



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DENEYSEL KORNEA NEOVASKÜLARİZASYONUNDA
DEXPANTHENOL'ÜN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Büşra İŞLEYEN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Semra ACER

ISPARTA – 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığına;

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı: Büşra İŞLEYEN

Uzmanlık tez tarihi: 01.02.2024

Tezin adı: Deneysel Kornea Neovaskülarizasyonunda Dexpanthenol'ün Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Semra ACER

Üye: Prof. Dr. Özlem TÖK

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Levent TÖK

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Semra ACER

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

ONAY: Bu uzmanlık tezi fakülte yönetim kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve fakülte yönetim kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nilgün ŞENOL

Dekan

BEYAN

“Deneysel Kornea Neovaskularizasyonunda Dexpanthenol’ün Etkinliğinin Değerlendirilmesi” adlı bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tezi Hazırlayan

Dr. Büşra İşLEYEN

Danışman

Doç. Dr. Semra ACER

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her türlü imkanı ve desteği sağlayan, klinik ve cerrahi eğitimimde sonsuz emeği geçen, mesleki tecrübelerini ve bilgilerini paylaştan, hekimlik etik ve nosyonlarıyla bana yol gösteren, öğrencisi olmaktan ve birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyduğum çok değerli hocalarım Prof. Dr. Özlem TÖK' e ve Prof. Dr. Levent TÖK' e,

Güler yüzünü hiçbir zaman bizden esirgemeyen, pozitif enerjisi ile içimizi ısıtan, her konuda yakın ilgi ve desteğini hissettiğim, birlikte çalışmaktan keyif aldığım çok değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Semra ACER'e,

Uzmanlık tezimin hazırlanmasında çokça emeği geçen, her konuda bana yol gösteren, nezaketine ve çalışkanlığına hayran kaldığım çok değerli hocam Prof. Dr. Ömer ÇELİK'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım çok değerli diğer öğretim üyesi hocalarıma,

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi çok şanslı hissettiğim, mutluluğu da hüznü de birlikte yaşadığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Yardımlarını esirgemeyen ve her zaman dostluklarıyla da yanımda olan birbirinden değerli servis, ameliyathane, poliklinik hemşirelerimize ve personellerimize,

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi, sevgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, sonsuz merhametli ve fedakar, hayatını çocuklarına adayan en büyük şansım, baş tacım çok kıymetli canım anneme,

Övgülerin en büyüğünü ve en özelini hak eden, en değerli hazinem, yol arkadaşım, biricik eşim Dr. Öğr. Üyesi Mustafa İŞLEYEN'e ve hayatımın tadı, tuzu, neşesi, herşeyi canım oğlum Kerem İŞLEYEN'e,

Sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Büşra İŞLEYEN

ISPARTA-2024

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kornea Anatomisi.....	3
2.1.1. Makroskopik Anatomi.....	3
2.1.2. Prekorneal Gözyaşı Film Tabakası.....	3
2.1.3. Mikroskopik Anatomi.....	4
2.1.3.1. Epitel ve Bazal Membran.....	5
2.1.3.2. Bowman Tabakası.....	7
2.1.3.3. Stroma.....	7
2.1.3.4. Dua Tabakası.....	8
2.1.3.5. Descemet Membranı.....	9
2.1.3.6. Endotel Tabakası.....	9
2.1.4. Limbus.....	10
2.1.5. Korneanın Duyusal İnnervasyonu.....	11
2.1.6. Korneanın Vasküler Sistemi.....	11
2.2. Kornea Embriyolojisi.....	12
2.3. Kornea Fizyolojisi ve Metabolizması.....	13
2.4. Korneal Yara İyileşmesi.....	13
2.4.1. Korneal Epitelyal Yara İyileşmesi.....	14
2.4.2. Korneal Stromal Yara İyileşmesi.....	15
2.4.3. Korneal Endotelyal Yara İyileşmesi.....	16
2.4.4. Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	16
2.5. Kornea Neovaskülarizasyonu.....	17
2.5.1. Epidemiyoloji.....	18
2.5.2. Etiyoloji.....	19
2.5.3. Patofizyoloji.....	20

2.5.4. Kornea Neovaskülarizasyonunda Proanjiyogenik Faktörler	22
2.5.5. Kornea Neovaskülarizasyonunda Antianjiyogenik Faktörler	23
2.5.6. Kornea Neovaskülarizasyonunda Tedavi Seçenekleri	23
2.5.6.1. Kornea Neovaskülarizasyonunda Medikal Tedavi	24
2.5.6.1.1. Kortikosteroidler	24
2.5.6.1.2. Non-Steroida Anti İnflamatuar İlaçlar (NSAİİ)	25
2.5.6.1.3. Siklosporin A	26
2.5.6.1.4. Anti-VEGF Ajanlar	26
2.5.6.1.5. MMP İnhibitörleri	27
2.5.6.2. Kornea Neovaskülarizasyonunda Cerrahi Tedavi	28
2.5.6.2.1. Lazer Tedavisi	28
2.5.6.2.2. Fotodinamik Terapi (FDT)	28
2.5.6.2.3. Diyatermi ve Koter	29
2.5.6.2.4. Yüzeysel Keratektomi	29
2.5.6.2.5. Amniyotik Membran Transplantasyonu	30
2.5.6.2.6. Limbal Kök Hücre Transplantasyonu	30
2.6. Dexpanthenol	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Deney Hayvanları	34
3.2. Çalışma Grupları	34
3.3. Anestezi Tekniği	37
3.4. İlaçların Hazırlanması	37
3.5. Kornea Neovaskülarizasyon Modelinin Oluşturulması	38
3.6. Kornea Neovaskülarizasyon Alanlarının Değerlendirilmesi	40
3.7. Enzim Bağlı İmmüno sorbent Test (ELISA) Yöntemi ile VEGF-A ve TNF- α Düzeyi Analizleri	41
3.8. Total Oksidan Seviye (TOS), Malondialdehit (MDA), Apoptozis ve İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Düzeylerinin Analizleri	41
3.9. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	44
4.1. Kornea Neovaskülarizasyon Alanlarının Karşılaştırılması	44
4.2. ELISA Yöntemi ile VEGF-A ve TNF- α Düzeyi Analizlerinin Bulguları	48
4.2.1. VEGF-A Düzeyi Analizinin Bulguları	48
4.2.2. TNF- α Düzeyi Analizinin Bulguları	49
4.3. Total Oksidan Seviye (TOS) Analizinin Bulguları	51
4.4. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Analizinin Bulguları	52

4.5. Apoptozis Analizinin Bulguları	54
4.6. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Düzeyi Analizinin Bulguları	55
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
ÖZET.....	71
ABSTRACT	73
KAYNAKLAR.....	75



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin Trifosfat
BEVA	: Bevacizumab
bFGF	: Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü
BSS	: Dengeli Tuz Solüsyonu
CoA	: Koenzim A
COX	: Siklooksijenaz
DEX	: Dexpanthenol
EBM	: Epitelyal Bazal Membran
ECM	: Ekstraselüler Matriks
ELISA	: Enzim Bağlı İmmünosorbent Test
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi
FDT	: Fotodinamik Terapi
GSH	: Glutasyon
HRP	: Avidin-Horseradish Peroxidase
IL-1	: İnterlökin-1
İİD	: İnce İğne Diyatermi
KNV	: Kornea Neovaskülarizasyonu
LEKH	: Limbal Epitelyal Kök Hücreler
MDA	: Malondialdehit
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
NSAİİ	: Non-Steroid Anti İnflamatuar İlaç
NV	: Neovaskülarizasyon
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGE2	: Prostaglandin E2
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit
TCA	: Triklorikasetik Asit
TGF-β	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta

TNF- α : Tümör Nekrozis Faktörü-Alfa
TOS : Total Oksidan Seviye
TSP : Trombospondin
VEC : Vasküler Endotel Hücreleri
VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
kDa : Kilodalton
nm : Nanometre
 μ m : Mikrometre
 μ L : Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Gözyaşı film tabakasının tabakaları (27).	4
Şekil 2: Kornea tabakaları (30).	5
Şekil 3: Kornea epiteli ve bazal membranı (33).	7
Şekil 4: Konfokal mikroskopide kornea endotel yapısı (31).	10
Şekil 5: Korneanın duysal innervasyonunun şematik gösterimi (57).	11
Şekil 6: KNV'yi etkileyen proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler (9).	21
Şekil 7: Göz anatomisi ve korneal iletim için ilaç uygulama yolları (3).	24
Şekil 8: Dexpanthenolün kimyasal yapısı (154).	32
Şekil 9: Deney sürecinde uygulanan işlemler şeması.	37
Şekil 10: Kornea neovaskülarizasyon alanının gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması.	45
Şekil 11: VEGF-A düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması.	49
Şekil 12: TNF- α düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması	50
Şekil 13: Total oksidan seviyenin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması.	52
Şekil 14: Malondialdehit düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması.	53
Şekil 15: Apoptozisin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması	55
Şekil 16: GSH düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması	56

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Anestezi için kullanılan anestezik çözeltiler	37
Resim 2: Tedavide kullanılan ilaçlar; A) Bevacizumab, B) Dexpanthenol	38
Resim 3: 7. günde KNV oluşturulan ratların gözlerine subkonjonktival enjeksiyon uygulaması.....	38
Resim 4: %75 gümüş nitrat ve %25 potasyum nitrat ile kaplanmış çubuk	39
Resim 5: KNV modeli oluşturulması için gümüş nitrat çubuğun kornea santraline uygulanması.....	39
Resim 6: KNV modeli oluşturulması için gümüş nitrat çubuğun kornea santraline uygulandıktan sonra makroskopik görünümü	40
Resim 7: Korneanın ameliyat mikroskobu altındaki görüntüleri A) Kimyasal koterizasyon öncesi görünüm, B) Kimyasal koterizasyondan hemen sonraki görünümü	40
Resim 8: Deneyin 7. gününde gruplardan elde edilen fotoğraflar ve KNV alanının imageJ programı ile alan analizi görüntüleri	46
Resim 9: Deneyin 14. gününde gruplardan elde edilen fotoğraflar ve KNV alanının imageJ programı ile alan analizi görüntüleri	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Kornea yara iyileşmesini etkileyen faktörler	16
Tablo 2: KNV'nin etiyolojisi.....	19
Tablo 3: Deney grupları	35
Tablo 4: KNV alanları analizinin bulguları.....	44
Tablo 5: VEGF-A düzeyi analizinin bulguları	48
Tablo 6: TNF- α düzeyi analizinin bulguları.....	50
Tablo 7: Total oksidan seviye analizinin bulguları.....	51
Tablo 8: Malondialdehit düzeyi analizinin bulguları.....	53
Tablo 9: Apoptozis analizinin bulguları.....	54
Tablo 10: İndirgenmiş glutatyon düzeyi analizinin bulguları	56

1. GİRİŞ

Kornea gözün en dış kısmını ve görme sisteminin en önemli refraktif yapısını oluşturmaktadır. Korneanın saydamlığı ve optimum görme işlevi için avasküler bir yapıda olması gerekmektedir. Kan damarları, kıkırdak ve kornea stroması hariç tüm mezenkimal dokularda mevcuttur. Avasküler bir stromanın oluşturulması ve sürdürülmesi, kornea gelişimi ve fizyolojisinin önemli bir noktasıdır (1).

Normal şartlar altında, korneanın avasküler yapısı proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerin dengesi ile korunmaktadır. Proanjiyogenik ve antianjiyogenik uyaranlar arasındaki dengenin bozulmasına yol açan durumlarda kornea vaskülerize hale gelebilmektedir (2). Kornea neovaskülarizasyonu (KNV) olarak adlandırılan bu süreç, önceden var olmayan kan damarlarının (hemanjiyogeneze) ve lenf damarlarının (lenfanjiyogeneze) korneal stromada anormal çoğalmasını ifade etmektedir (3). KNV'ye yol açan durumlar çoğunlukla hipoksi, enfeksiyon, inflamasyon ve zayıf limbal bariyer fonksiyonu ile ilişkilidir. Buna göre, kornea nakli, enfeksiyöz keratiti, oküler kimyasal veya travmatik yaralanması, otoimmün hastalıkları ve kronik kontakt lens kullanımı olan hastalar KNV gelişme riski altındadır (4).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), patolojik KNV ile ilişkili önemli bir proanjiyogenik faktördür. VEGF proteolitik aktivite, migrasyon, endotel hücre çoğalması ve kapiller tüp oluşumu gibi anjiyogenezin birçok basamağında görev almaktadır (5). İnsan korneasındaki VEGF'nin ana kaynakları epitelyal, stromal ve endotelial hücrelerin yanı sıra makrofajlar, inflamatuvar hücreler ve perisitlerdir (6). VEGF'nin KNV'de önemli bir rol oynadığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Oküler hastalıklar için anti-VEGF tedavisi esas olarak retinal vasküler koşullara yönelik olsa da, KNV tedavisinde kullanıldığında da etkili olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (7).

Tedavide KNV'ye neden olan etiyoloji ve patofizyolojiye odaklanılmaktadır. İnflamasyon, KNV patofizyolojisinde önemli bir faktör olduğundan, kortikosteroidler ve diğer antiinflamatuvar ilaçlar tedavinin temel dayanağı olmaya devam etmektedir (8). Korneada oluşan bu yeni damar oluşumunu engellemek amacıyla amniyotik membran transplantasyonu, lazer fotokoagülasyon, fotodinamik terapi, koter ve ince

iğne diyatermisi de diğer kullanılan tedavi yaklaşımlarındandır (9). Ancak başta kortikosteroidler olmak üzere mevcut olan tüm bu tedavi yöntemlerinin etkinliği sınırlıdır ve çok sayıda istenmeyen yan etkileri bulunmaktadır. Bu kısıtlamalar KNV üzerinde etkili yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasına neden olmaktadır.

Bevacizumab, VEGF'nin tüm izoformlarını tanıyan 149-kDa moleküler ağırlığa sahip bir monoklonal antikordur. Bevacizumab, çeşitli kanserlerin tedavisinde intravenöz uygulama için FDA onaylıdır. Çeşitli retinal patolojilerin tedavisinde ise off-label olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bazı çalışmalar bevacizumabın topikal, subkonjonktival ve intraoküler yollarla uygulanmasının KNV'yi kısmen azalttığını ve bazal membranın rejenerasyonunu hızlandırarak korneal alkali yanık hasarını takiben korneal şeffaflığı iyileştirdiğini göstermiştir (1).

Dexpanthenol, B kompleks vitaminlerinin bir üyesi olan pantotenik asidin alkolü bir analogudur. Dexpanthenol enzimatik olarak pantotenik aside oksitlenir ve esas olarak koenzim A yapısında dokulara dağıtılmaktadır (10). Pantotenik asit redükte glutatyon (GSH), koenzim A (CoA) ve adenosin trifosfat (ATP) yapımını artırarak hücrel savunmada antioksidan özellik göstermektedir (11,12). Ayrıca re-epitelizasyon ve granülasyon oluşumunu uyararak yara iyileşmesinde de rol almaktadır (13). Dexpanthenolün antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik etkileri de deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (14,15). Dexpanthenol, antioksidan etkinliği ile serbest radikalleri azaltarak ve doku hasarını en aza indirerek dokuların korunmasını sağlamaktadır (16).

Dexpanthenolün bilinen bu etkilerinin yanında anjiyogenez üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca dexpanthenol ve bevacizumab kombinasyonunun tedavi başarısında güçlü bir potansiyel oluşturabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan KNV modelinde, subkonjonktival dexpanthenol ve bevacizumab monoterapileriyle, dexpanthenol ve bevacizumab kombine tedavisinin KNV üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Kornea Anatomisi

2.1.1. Makroskopik Anatomi

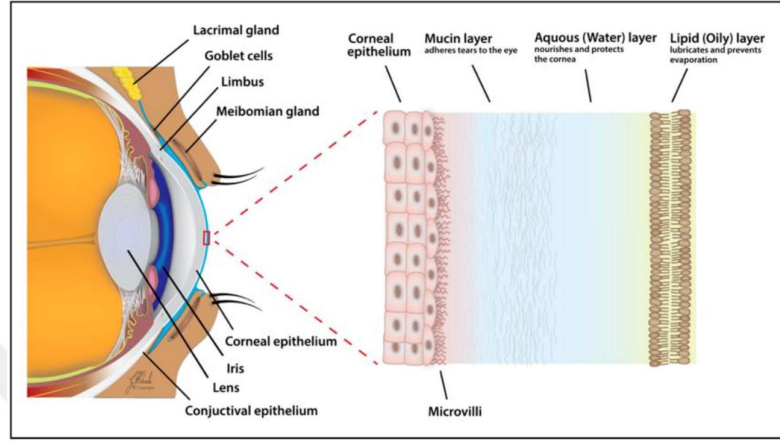
Kornea, ön kamara, iris ve göz bebeğinin hemen önünde yer alan, gözün en dıştaki saydam tabakasıdır. İnsan gözüne giren ışığın kırılmasında rol alan en önemli refraktif yüzeyi oluşturur (17). Ön kornea yüzeyi, korneayı dehidratasyondan koruyan ve epitel yüzeyinin korunmasına yardımcı olan gözyaşı sıvısı ile kaplıdır (18). Gözyaşı, göz kırpması işlemi sırasında göz yüzeyine yanal olarak yayılır. Lipid, aköz ve müküs bileşenleri ile gözyaşı, korneayı nemli ve temiz tuttuğundan kornea sağlığının korunması için önemlidir (19).

Kornea oval şekillidir. Yatay olarak 11-12 mm ve dikey olarak 9-11 mm ölçülerindedir. Ortalama kornea çapı erkeklerde 11.77 mm civarında iken, kadınlarda 11.64 mm civarındadır (20). Kornea konveks ve asferik yapıdadır. Ön eğrilik yarıçapı 7,8 mm ve arka eğrilik yarıçapı ise yaklaşık 6,5 mm'dir. Kornea, kırma gücüne yaklaşık 40-44 dioptri (D) katkıda bulunur ve toplam refraksiyonun yaklaşık %70'ini oluşturur. Korneanın kırılma indisi 1.376'dır. Korneanın merkezinden periferine doğru gidildikçe kalınlıkta bir artış meydana gelmektedir (21). Doku kalınlığındaki değişiklik, periferik stromada bulunan kollajen miktarının artışından kaynaklanmaktadır. Çeşitli değerlendirme yöntemleri ile normal gözlerde santral kornea kalınlığının 551 ila 565 µm arasında, periferik kornea kalınlığının ise 612 ila 640 µm arasında olduğu tespit edilmiştir (22). Korneanın zaman içerisinde artan yaşla birlikte kalınlığının azaldığı bildirilmiştir (23).

2.1.2. Prekorneal Gözyaşı Film Tabakası

Kornea yüzeyinde bulunan gözyaşı film tabakası; kalınlığı 3 µm ve hacmi 7-10 µL, avasküler korneaya oksijen ve besin desteği sağlayan, göz için uygun bir ön kırılma ortamı sağlayarak korneanın küçük yüzey düzensizliklerini örten yapıdır (24). Prekorneal gözyaşı filmi, bakteriyel yapışmayı önleyen ve aynı zamanda organizmaları öldüren salgısal IgA ve IgG, kompleman bileşenleri, laktoferrinler,

lizozim, β lizinler ve seruloplazmin içerir. Ayrıca bu tabaka oküler yüzeyin hidrofobik özelliğini azaltarak kayganlık sağlamaktadır (25,26).



Şekil 1: Gözyaşı film tabakasının tabakaları (27).

Gözyaşı filmi üç tabakadan meydana gelmektedir. Bu tabakalar;

1. Ön lipid tabaka: Bu tabaka meibomian bezlerin lipid salgılarından oluşmaktadır. Meibomian bezleri, sulu tabakanın buharlaşmasını azaltan ve hava/yırtılma yüzeyini elastik olarak stabilize edebilen yüzey lipid tabakasını üretmektedir.
2. Aköz tabaka: Önde bulunan lipid tabakanın hemen altında yer almaktadır. Lakrimal bezler besin, uygun osmolarite ve antimikrobiyal proteinler sağlayan orta kayganlaştırıcı sulu tabakayı üretmektedir.
3. Müsin tabaka: Konjonktivada yer alan goblet hücreleri, oküler yüzey kaplamasından sorumlu yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinler içeren ve epitel hücre hidrofobisitesini azaltan iç mukus tabakasını üretmektedir (26,27). Katmanların üst üste binmesi göz önüne alındığında, her üç katmanın da oküler yüzeyde yarı viskoz bir jel şeklinde olduğu söylenebilir (26).

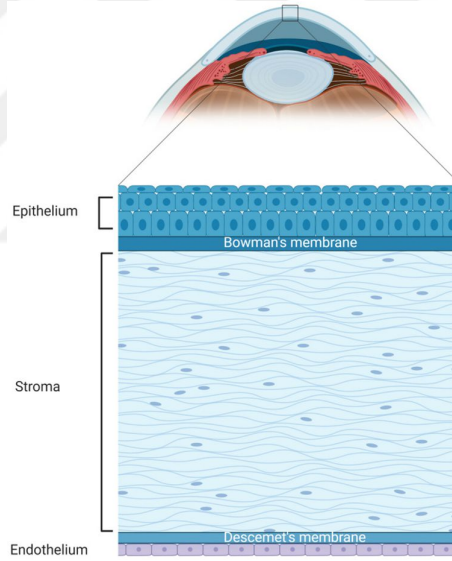
2.1.3. Mikroskopik Anatomi

Kornea, hücresel ve aselüler bileşenlerden oluşmaktadır. Korneanın hücresel bileşenleri; epitel hücreleri, endotel hücreleri ve keratositlerden oluşmaktadır. Aselüler bileşeni ise kollajen ve glikozaminoglikanlardan oluşmaktadır. Hücresel bileşeni oluşturan keratositler ve endotel hücreleri nöral krestten türemiştir. Epitel hücreleri ise

yüzey ektoderminden türemiştir. Kornea kabaca 5 tabakadan oluşmaktaydı. Ancak 2013 yılında posterior stromanın derinliklerinde, aselüler bir yoğunlaşmadan oluşan dua tabakası tanımlanmıştır (28,29).

Korneanın tabakaları dıştan içe doğru şu şekilde sıralanmaktadır;

1. Epitel
2. Bowman tabakası
3. Stroma
4. Dua tabakası
5. Descemet membranı
6. Endotel



Şekil 2: Kornea tabakaları (30).

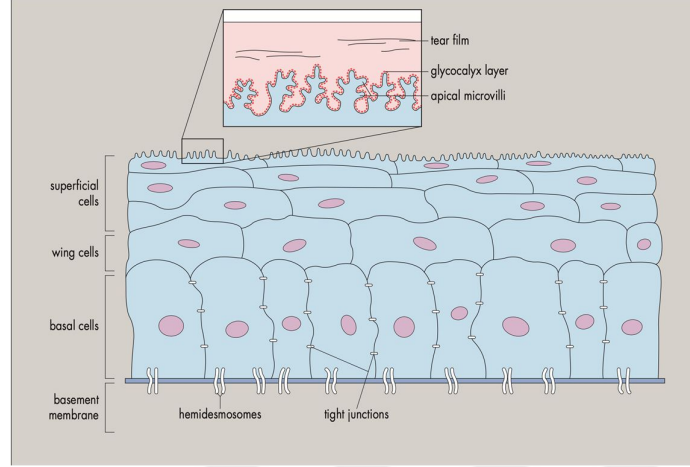
2.1.3.1. Epitel ve Bazal Membran

Kornea epitel tabakası, gebeliğin 5 ila 6. haftaları arasında yüzey ektoderminden türetilmiştir ve yaklaşık olarak 50 µm kalınlığında keratinize olmayan, tabakalı skuamöz epitel hücrelerinden oluşur. Kornea epitel hücreleri gözyaşı filmi ile yakın bir ilişki içindedir. Gözyaşı filminin müsin tabakası, korneanın yüzeyindeki epitel hücrelerinden üretilen glikokaliks tabaka ile doğrudan temas halindedir. Glikokaliks tabaka her göz kırıldığında gözyaşı filminin hidrofilik bir şekilde yayılmasını sağlar. Epitel, üç tip hücreden oluşan 5-6 katmanlı bir yapıdır: yüzeysel

hücreler, kanat hücreleri ve bazal hücreler. Yüzeysel hücreler, 2-3 katmanlı yassı poligonal hücrelerden oluşur. Apikal yerleşimli mikrovilluslar yüzey alanını arttırmaktadır (28). Kanat hücreleri 2-3 katmanlıdır ve şekilleri itibarıyla bu adı almışlardır. 64-kDa keratinleri eksprese ederler. Epitel tabakasının en derininde yer alan bazal hücreler tek katlı kuboidal veya kolumnar hücrelerden oluşur. Bol miktarda organelleri vardır ve mitotik olarak aktiftirler (28).

Hücrelerarası sıkı bağlantılar yüzeysel hücrelerin yan duvarlarında bulunur ve bariyer fonksiyonu görerek korneanın dehidratasyonunu korumaya yardımcı olmanın yanı sıra patojenlerin stromaya girişini de engeller (31). Desmozomlar ise tüm epitel hücrelerinin lateral membranları boyunca bulunur. Bazal hücreler altta yatan bazal membrana hemidesmozomal bir sistemle bağlanır. Bu bağlantının bozulması, korneal erozyonlara ve iyileşmeyen epitel defektlerine yol açabilir. Gap kavşakları, tüm epitel hücrelerinin yan taraflarında bulunan ve küçük moleküllerin difüzyonuna izin veren geçirgen kanallardır. (23,28). Kornea epitel hücreleri düzenli olarak apoptoz ve deskuamasyona uğrar ve limbustaki kök hücrelerden bölünerek yenilenir ve epitel hücrelerinin apikal yönde net bir hareketine katkıda bulunur. Epitel hücrelerinin ömrü ortalama 7-10 gündür (31).

Epitel hücrelerinin bazal membranı yaklaşık 40-60 nm kalınlığındadır ve yapısında tip IV kollajen ve laminin bulunmaktadır. Bazal epitel hücrelerinden gelen ankraj fibrilleri, bazal membranın içinden geçer ve ankraj plakları haline gelir. Bu ankraj fibrilleri tip VII kollajen içerirken, ankraj plakları tip I kollajenden oluşur. Eğer bazal membran zarar görürse, fibronektin seviyeleri artar ve iyileşme süreci 6 haftaya kadar uzayabilir. Santral ve periferik kornea epitelinde bazı farklılıklar bulunur. Santral korneada epitel yaklaşık 5-7 katmandan oluşur ve bazal hücreler kolumnar şekildedir. Bu bölgede melanositler veya Langerhans hücreleri bulunmaz. Ayrıca, pürüzsüz bir bazal hücre tabakası keratan sülfat içerir ve lenfatik damarlar yoktur. Periferik korneada ise epitel yaklaşık 7-10 katmandan oluşur ve bazal hücreler küboidal yapıdadır. Bu bölgede melanositler ve Langerhans hücreleri bulunabilir. Ayrıca, bazal tabakanın dalgalı uzantıları vardır, ancak keratan sülfat içermez ve lenfatik damarlar bulunmaz (28,32).



Şekil 3: Kornea epiteli ve bazal membranı (33).

2.1.3.2. Bowman Tabakası

Bowman tabakası epitelyal bazal membran (EBM) ile stroma arasında yer almaktadır. Yetişkin bir insanda Bowman tabakası 8 ila 12 μm kalınlığındadır ve aselüler olup randomize dağılmış kollajen fibrillerinden oluşmaktadır (34). Yaşla birlikte kalınlığının azaldığı bildirilmiştir. Bowman tabakasının arka yüzeyi stromanın yüksek oranda organize olmuş kollajen lamelleri ile birleşmektedir (35). Bowman tabakası, tip I ve tip V kollajen ile proteoglikanlardan oluşan bir yapıdır ve korneanın şeklini korumada önemli bir rol oynar. Bowman tabakası zarar gördüğünde, kendini yenileyemez ve genellikle bir yara izi oluşur (28).

2.1.3.3. Stroma

Stroma, korneanın ana yapısal desteğini sağlar ve yaklaşık %90'ını oluşturur. Bu tabaka hücre dışı matriks ile kollajen liflerin demetler (lameller) halinde düzenlenmesinden oluşur ve yaklaşık 500 μm kalınlığındadır. Stromanın 1/3 anterior kısmında kollajenler oblik yerleşirken, 2/3 posterior kısmında dik konumda yerleşirler (36,37). Stromal kollajen, tip I ve tip V kollajenin dar çaplı heterodimerik kompleksinden oluşur. Lumikan ve keratikan, stromadaki başlıca keratan sülfat proteoglikanlarıdır. Bunlar yapısal desteğe katkıda bulunmak için iki işlevli bir rol sergiler; protein kısımları çaplarını modüle etmek için kollajen fibrillerine bağlanırken, glikozaminoglikan zincirleri yüksek oranda yüklüdür ve fibriller arası boşluğu destekler (38). Lumikan stromanın bakteriyel enfeksiyonları sırasında nötrofil

göçünü düzenler. Dekorin, dermatan sülfat ile ilişkili önemli bir proteoglikandır ve benzer şekilde kollajen fibrillerini çevreler (28,39).

Kornea stromasının ana hücreleri olan keratositler, kollajeni, glikozaminoglikanları ve matriks metalloproteinazları üreterek bu tabakanın bütünlüğünü korur (23). Yaklaşık 2.4 milyon keratosit hücre bulunur ve stromanın %5'ini oluşturur (40).

Stromanın, ışığın saçılmayı önleyecek şekilde geçişini kolaylaştırarak hem korneaya yapısal destek hem de şeffaflık sağladığı bilinmektedir. Bu lamel modelindeki bozulmalar, ister hidrasyon ister anormal birikimler yoluyla olsun, saydamlığı bozar ve görme kaybına neden olur. Şeffaflığı kolaylaştırmak için kornea stromasının avaskülaritesi de gereklidir ve antianjiyogenik faktörlerin üretimi, proanjiyogenik faktörlerle dengeyi korumaya yardımcı olur (31,41). Stromal berraklık aynı zamanda uygun keratosit hücre farklılaşmasına da bağlıdır. Dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β) ve platelet kaynaklı büyüme faktörüne (PDGF) maruz kalındığında ortaya çıkabilen keratosit kaynaklı miyofibroblast oluşumu, korneal bulanıklık gelişimi ve düzensiz ekstraselüler matriks üretimi ile ilişkilidir (42). Epitelin yanı sıra stroma da kornea immünitesinde önemli bir rol oynamaktadır. Merkezi kornea olgunlaşmamış ve öncü tip dendritik hücreler içerirken, periferik kornea kemik iliği kaynaklı yerleşik dendritik hücreler içerir (43).

2.1.3.4. Dua Tabakası

Dua tabakası, Descemet membranının hemen önünde hücre içermeyen güçlü bir tabaka olarak bilinir. İlk kez 2013 yılında Dua ve ark. tarafından tanımlanan bu tabaka, stroma ile Descemet tabakası arasında bulunur. Dua ve ark.'ın çalışmalarına göre, bu tabakanın kalınlığı yaklaşık olarak 10.15 ± 3.6 μm civarındadır ve transvers, longitudinal ve oblik yönlerde düzenlenmiş ağırlıklı olarak tip 1 kollajen demetlerinden oluşan 5 ila 8 lamelden meydana gelir. Dua ve ark. bu çalışmaları ortalama yaşı 77.7 olan hastalar üzerinde gerçekleştirdiğinden, bu tabakanın çocuklarda özelliklerini tanımlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulabileceğini de belirtmişlerdir (29).

2.1.3.5. Descemet Membranı

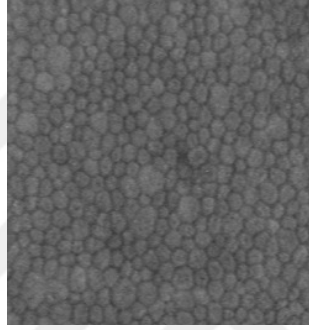
Descemet membranı, kornea endotel tabakasının bazal membranıdır. Bu membran, doğumda yaklaşık 3 µm kalınlığına sahipken, yetişkinlerde zamanla 10 µm'ye kadar kalınlaşır. Bu membran iki tabakadan oluşmakta olup; fetal dönemde tespit edilebilen, kalınlığı değişmeyen ön bantlı tabaka ve endotel hücreleri tarafından döşenen, yıllar içinde kalınlaşan arka bantsız tabaka şeklindedir. Descemet membranı, kornea dehidratasyonunun sürdürülmesine yardımcı olur. Bu nedenle özellikle Descemet membran yırtıklarının meydana gelebildiği kornea ektazilerinde fokal akut kornea ödemi atakları ile karakterize kornea hidropsu oluşabilir. İyatrojenik Descemet membran yırtığı veya göz içi cerrahisi sonrası dekolman da kornea ödeme neden olur (31,44). Descemet membranı yapısal olarak tip IV ve VIII kollajen fibrilleri içermektedir. Vücuttaki diğer bazal membranlarda tip IV kollajen yayginken, tip VIII nispeten Descemet membranına özgüdür ve elektron mikroskobu altında görülebilen merdiven benzeri yapılar oluşturmaktadır. Ön bantlı tabakada, kollajen fibrilleri 110 nm aralıklarla periyodik bantlanma ile kafes benzeri bir konfigürasyon göstermektedir (31,45). Arka bantsız tabaka homojenize ince granüler bir görünüme sahiptir ve zamanla kalınlığı artar. Stromaya benzer şekilde, keratan sülfat, heparan sülfat ve dermatan sülfatın yanı sıra laminin ve fibronektin de mevcuttur (31).

2.1.3.6. Endotel Tabakası

Kornea endoteli, korneanın arka yüzeyini kaplayan tek katlı hegzogonal hücre tabakasından oluşmaktadır. Yaklaşık 5 µm derinliğinde ve 20 µm çapındadır. Aktin filamentleri hücre göçüne aracılık eder, hücre şeklini korur ve apikalde yoğun periferik bantlar halinde bulunur (28,31,46). Kadherin apikal hücre bağlantılarında ince bir perisellüler bant oluşturur ve bazolateral hücre sınırları boyunca uzanır. Endotel hücrelerinin yan duvarlarında özellikle apikal yüzeye yakın alanda sıkı bağlantılar bulunur. Lateral duvarda yer alan bir diğer hücrelerarası bağlantı ise gap kavşaklarıdır ve endotel hücrelerinin elektriksel bağlantısına katkı sağlar (31,47,48).

Kornea endotel hücreleri, stromal tabakanın hidrasyon miktarını korumada önemli bir rol oynar ve bu dengenin sürdürülmesi, endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılara, Na/K-ATPaz pompasına ve bikarbonat bağımlı Mg-ATPaz ile ilgili

pompaların işlevine bağlıdır. Bu şekilde, korneadan geçen ışığın optik berraklığını en üst düzeye çıkarmaya yardımcı olurlar. Endotel hücre yoğunluğu doğumda yaklaşık 3000-4000 hücre/mm² iken geç yetişkinlikte 2500 hücre/mm² düzeylerine düşer. Konfokal mikroskopisi ile endotel hücre kaybının yaşam boyu yılda 10,92 hücre/mm² oranında olduğunu tespit edilmiştir. Göz içi cerrahisi veya travmalara bağlı kornea endotel hücre yoğunluğu mm² başına birkaç yüz hücreye düşebilir ve bunun sonucunda kornea ödemi gelişebilir (31,49).



Şekil 4: Konfokal mikroskopide kornea endotel yapısı (31).

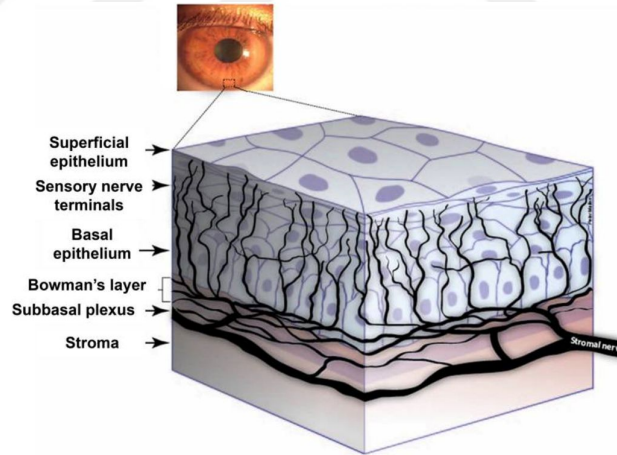
2.1.4. Limbus

Limbus, kornea ile sklera arasındaki geçiş bölgesidir. Önde Bowman ve Descemet membranlarının periferleri arasındaki kavramsal çizgi ile arkada skleral çıkıntıdan çizilen teğet bir çizginin geçtiği alanı kapsamaktadır (50). Histolojik olarak limbus, düzenli kornea lamellerinden düzensiz sklera kollajen demetlerine kademeli bir geçiş olan kornea ve skleral doku arasındaki birleşme yeridir. Limbal bant ortalama 1,5 ila 2 mm genişliğindedir. Küçük bir alan olmasına rağmen limbus, gözün düzenleyici işlevlerini kontrol eden birçok önemli yapı içerir. Trabeküler ağ, Schlemm kanalı ve burada bulunan aköz toplayıcı kanallar, aköz çıkışının geleneksel yolunu oluşturarak göz içi basıncını düzenler (51). Limbal kök hücreler, limbustaki epitelin bazal tabakasıdır. Bu kök hücreler sürekli yenilenen kornea epitelinin oluşmasını sağlar. Limbal kök hücreler aynı zamanda korneaya konjonktival proliferasyonun engellenmesinde de önemli bir bariyer rolü oynar (52). Limbusun vaskülaritesi oftalmik arterin bir dalı olan anterior siliyer arterlerden köken alır. Limbusta yüzeysel ve derin sirküler pleksusu besler. Yüzeysel perilimbal pleksus, sirküler limbal arter ve perilimbal venöz pleksus tarafından oluşturulur. Arteriyoller anteriora doğru

seyretmeye devam eder ve Bowman membranının kenarında sonlanan marjinal korneal arkusları oluşturur. Derin intraskleral pleksus aköz toplayıcı kanallardan, Schlemm kanalından ve trabeküler ağdan sıvı toplar. Derin ve yüzeysel pleksusu birbirine bağlayan aköz venler vardır ve bunların tümü orbital venöz sisteme drene olur (53,54).

2.1.5. Korneanın Duyusal İnnervasyonu

Kornea, vücudun en yoğun innervasyona sahip dokusudur (55). Kitano, 957 yılında kornea epitelinin sinir lifi bağlantısının, gebeliğin 5. ayında meydana geldiğini belirtmiştir. Korneanın duyusal sinirleri trigeminal sinirin oftalmik dalından köken alan nazosiliyer sinir ve onun siliyer dallarıyla ilerler ve korneaya penetre olur. Bu dallar, bazal epitel ve Bowman tabakası arasında korneanın yüzeyine paralel olarak seyreder ve üstteki kornea epitelini innerve eden subbasal sinir pleksusunu oluşturur. Merkezi kornea sinir yoğunluğu mm^2 başına yaklaşık 7.000 nosiseptörden oluşur. Böylece kornea deriden 300 ila 600 kat daha hassastır (56).



Şekil 5: Korneanın duyusal innervasyonunun şematik gösterimi (57).

2.1.6. Korneanın Vasküler Sistemi

Kornea vücuttaki az sayıdaki avasküler dokudan biridir. Normalde kornea kan damarları içermemesine rağmen, kandan elde edilen faktörler kornea metabolizmasında ve yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. Oftalmik arterden köken alan anterior siliyer arter, limbal bölgede eksternal karotid arterin fasiyal dalından köken alan damarlarla anastomoz göstererek vasküler bir yapı oluşturur.

Böylece kornea hem internal hem de eksternal karotid arterler tarafından kan bileşenleri ile beslenir. Bazı patolojik durumlarda, yeni damarlar limbustan kornea stromasına girer ve kornea şeffaflığının kaybına neden olabilir. (58).

2.2. Kornea Embriyolojisi

Kornea, nöral ektodermden köken alan üç hücresel katmandan oluşur. Tabakalı bir epitel (ektodermin doğrudan soyundan gelen) korneanın en dış yüzeyini kaplar ve yüzey ektoderminden köken alır. Korneal stroma ve endotel ise nöral krest hücrelerinden köken alır. Tüm bu hücresel katmanlar başlangıçta ön göz bölgesinde birleşerek farklılaşmamış halleriyle varsayımsal korneayı oluşturur. Daha sonra iyi düzenlenmiş hücresel etkileşimler ve moleküler sinyalizasyon olayları, farklılaşmalarını ve şeffaf korneanın eş zamanlı oluşumunu indükler (59). Nöronal optik çukurun üzerindeki yüzey ektodermi invajine olarak kristalin lensi geliştirirken, bu ilkel lens yuvarlaklaşır ve üstteki ektodermin kornea epiteline dönüşmesine neden olur. Bu süreç insanlarda gebeliğin yaklaşık 33. gününde gerçekleşir ve gebeliğin 5. haftasında iki katmanlı bir epitel mevcuttur (60).

Nöral krest hücreleri, embriyonun çeşitli bölgelerine göç ederek çok sayıda yapının ortaya çıkmasını sağlayan multipotent, kök hücre benzeri bir hücre popülasyonudur. Kornea endoteli ve stromal keratositlerin nöral krest hücre progenitörleri, embriyonun orta hat bölgesinde yer alan nöral tüpten köken alır. Nöral tüp ve komşu ektodermden gelen sinyaller nöral krest hücre indüksiyonu için gereklidir (59). İnsanlarda gebeliğin yaklaşık 7. haftasında, kapanmakta olan nöral tüp ile ektodermin birleştiği yerde ortaya çıkan ve perioküler alanı dolduran nöral krest hücrelerinin bir alt popülasyonu mezenkimal hücreleri geliştirir ve lens ile ilkel kornea epiteli arasındaki boşluğa göç ederek stroma, endotel, iris ve trabeküler ağa dönüşür (61). Descemet membranının kollajeni kornea endotel hücreleri tarafından salgılanır ve gebeliğin 12. haftasından itibaren tespit edilebilmektedir (44). Nöral krestten köken alan kornea endoteli oluşumu, stromanın gelişimi ile birlikte gerçekleşir ve stroma gelişimini bozan faktörler sıklıkla her iki tabakayı da etkiler (59).

2.3. Kornea Fizyolojisi ve Metabolizması

İnsan korneası, eşsiz bir doku olup iki hayati işlevi yerine getirir. Bir taraftan ön kısmı oluşturarak gözü dış etkenlerden korur. Diğer yandan, gözün en güçlü refraktif yüzeyi olarak toplam kırma gücünün %70'ine katkıda bulunur (62). Korneanın normal görmeyi sağlama fonksiyonu kısmen kornea epitelinin sürekli yenilenme yeteneğine bağlıdır. Epitel yenilenmesi esastır çünkü böylece hem zararlı çevresel ajanlara karşı bir bariyer görevi görür hem de epitel yüzeyinin pürüzsüz optik özellikleri bu yenilenme süreci sayesinde sürdürülür. Yenilenme hızı, kornea epitelinin çoğalması, farklılaşması ve hücre ölümü süreçleri arasındaki dengeye bağlıdır (63).

Kornea, göz küresinin yüzeyinde bir hava-sıvı arayüzü olarak hareket eder. Aköz hümörün basıncına ve ekstraoküler kas gerilimine dayanıklıdır. Kornea stromasındaki yüksek oranda organize olmuş kollajen fibrilleri tüm kornea yapısının ana bileşenidir. Böylece korneanın biyomekanik özellikleri olan viskozite (stres gevşemesi, sürtünme ve anizotropi), yapısal güç, elastikiyet, bütünlük, stabilite vb. öncelikle kornea stroması tarafından belirlenir (64). Kornea endoteli, aköz hümörden aldığı glikoz ile enerji ihtiyacını karşılayarak şeffaflığın ve dehidratasyonun devamlılığını sağlamaktadır. Epitel ve stroma ise bir miktar glikozu da limbal kapillerden ve gözyaşından alır. Oksijen kullanımı ile krebs siklüsü sürecine giren glikozdan nihayetinde enerji üretilmektedir. Korneanın epitel tabakasında glikoz glikojen olarak saklanabilmektedir. Glikojen, ATP ve enzimlerin en fazla miktarda bulunduğu tabaka epitel tabakasıdır. Enerji üretimi için ayrıca pentoz fosfat yolu da kullanılmaktadır. Kornea da yukarıda bahsettiğimiz bu maddelere ek olarak kollajen lifler, mukopolisakkaritler, albümin ve globülinin de bulunduğu bildirilmiştir (23).

2.4. Korneal Yara İyileşmesi

Kornea, gözün dış dünyaya açık olan bölümüdür ve bu nedenle çeşitli tehditlere karşı en savunmasız olan kısımdır. Korneal yaralanmaların iyileşmesi, önemli bir klinik sorun teşkil etmektedir. Bunun nedeni, korneanın sık sık travmatik hasara uğraması ve refraktif ameliyatların sayısının sürekli artmasıdır. Yara iyileşmesi, kornea hücreleri için bir dizi ilişkili olaydan oluşmaktadır. Epitel, stromal ve endotel hücrelerin iyileşmesinde hücre göçü, büyüme faktörlerine bağımlılık ve ekstraselüler

matriksin (ECM) yeniden şekillenmesi ile ilgili kesin benzerlikler vardır. Hatta epitel ve stromal hücrelerin iyileşmesi arasında iyi belgelenmiş bir karşılıklı etkileşim de söz konusudur. Öte yandan, farklı kornea hücrelerinin iyileşme mekanizmalarında önemli farklılıklar da bulunur. Epitel, limbal kök hücrelerinin migrasyonu ve farklılaşmasıyla iyileşir, ancak farklı hücre tiplerine dönüşemez. Bunun aksine stroma, keratositlerin fibroblastlara ve miyofibroblastlara dönüşümü ve dolaşımdaki bağışıklık sistemi hücrelerinin katılımı ile iyileşir (65).

Korneal yara iyileşmesi, yara bölgesinde apoptoz, hücreyel göç, proliferasyon, farklılaşma ve hücre dışı matris etkileşimlerini içeren çok aşamalı karmaşık bir süreçtir. Korneal yara iyileşmesi ile ilişkili birbiriyle örtüşen dört aşama vardır: latent veya gecikme aşaması, ardından yaranın kapanmasına yol açan göç aşaması, proliferasyon aşaması ve bağlanma/adhezyon aşamalarıdır. İlk latent evre, yara bölgesine göçü sağlamak için hemidesmozomal ayrılma ve subselüler aktin polimerizasyonu gibi hücreyel yeniden yapılanmayı içerir. Hücreler hareketli hale geldiğinde, artan hücreyel göçün bir sonucu olarak yaranın kapatılması başlatılır (65,66). Hücrelerin çoğalması, tabakalaşma yoluyla kornea kalınlığının restorasyonuna izin verir. Daha sonra dokuyu bazal membrana tutturmaya yardımcı olmak için hemidesmozom üretimi artar (67). Bağışıklık hücreleri latent fazın sonlarından itibaren korneaya sızar ve sonuçta ortaya çıkan inflamatuvar yanıt, kısmen Th1 bağışıklık yanıtının uyarılmasıyla hasarlı hücreleri ve bakterileri temizleyerek yara iyileşme sürecine daha fazla katkıda bulunan fibrositler ile doğuştan gelen bağışıklık işlevlerine yol açar (68).

2.4.1. Korneal Epitelyal Yara İyileşmesi

Epitel hücresinin herhangi bir kısmı bozulduğunda, genellikle hücrenin tamamı kaybolur ve epitel tabakasında bir hasar meydana gelir. Epiteldeki en yaygın yaralanma şekli mekanik yaralanmadır, ancak termal ve kimyasal yaralanmalar da mümkündür. Mekanik bir güç epitel bariyerinde bir hasar yarattığında, hasarın kenarındaki hücreler, hücre göçü ve hücre yayılmasının bir kombinasyonu ile dakikalar içinde defekti kapatmaya başlar. Bu süreçten önce, hücre zarı uzantılarının oluşturulması, bazal hücrelerden hemidesmozom adezyonlarının kaybolması ve mitokondriyal enerji üretiminde artış dahil olmak üzere anatomik, fizyolojik ve

biyokimyasal nitelikte neredeyse anında hazırlayıcı hücresel değişiklikler meydana gelir (69). ECM proteini fibronektinin, hücre-substrat yapışması ve hücre göçü ortamında kilit bir faktör olduğu düşünülmektedir. Yaralanmadan 24 ila 30 saat sonra mitoz bölünme epitel hücre popülasyonunu yeniden oluşturmaya başlar. Sadece bazal hücreler, geçici çoğaltıcı hücreler ve limbal kök hücreler bu yeniden oluşturulan mitoz katılır (70).

2.4.2. Korneal Stromal Yara İyileşmesi

Stromal yara iyileşmesi 3 aşamadan oluşur; onarım, rejenerasyon ve yeniden şekillenmedir (71). Cilt yaralarındaki yara iyileşme sürecine benzer şekilde, stromal yara iyileşmesinin sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve kemokinlerin karmaşık bir etkileşimini içerdiği gösterilmiştir; ancak önemli bir fark, iyileşmede vasküler bir unsurun bulunmayışdır (72). Stromal keratositlerin aktivasyonu ve göçü, stromal bir hasara verilen ilk tepkilerdir ve saatler içinde ortaya çıkabilir. Bu hücreler aktifleştikçe fibroblasta benzer bir görünüm ve davranış sergilerler. Yaralanma alanındaki keratositler apoptozise uğrar ve ilk hakareten 4 saat sonra zirveye ulaşırlar. Apoptozisin, komşu keratositlerin aktivasyonunu etkileyerek yara iyileşmesi cevabını yönlendirdiği düşünülmektedir. İlk hakareten sonraki 1-2 hafta içinde, kontraktil özelliklere sahip miyofibroblastlar yara bölgesine girer ve stromal yeniden şekillenmeye dahil olur. Bu hücreler, ECM'nin yeniden şekillenmesinden, hücre-matriks etkileşiminden, inflamatuvar hücre alımından ve sitokin aktivasyonundan sorumlu bir proteolitik enzim ailesi olan matriks metalloproteinazların (MMP) artan ekspresyonunu kullanır (23,73). Korneadaki MMP'lerin stromal yarada bulunan kollajenin yeniden düzenlenmesinde çok önemli olduğu düşünülmektedir. Bu MMP'lerin aşırı ekspresyonunun, aktive olmuş inflamatuvar sitokinlerle birlikte, epitelyal bazal membrandaki spesifik tip IV kollajen izoformlarının kaybından sorumlu olabileceği ve bunun da skarlaşma veya bulanıklığa yol açabileceği öne sürülmüştür. Bu sitokinler, MMP'ler ve diğer araçlar arasındaki etkileşim, bu proteinlerin yalnızca varlığı veya yokluğundan ziyade, korneal yara iyileşmesi sırasındaki karmaşık yeniden şekillenme sürecinin düzenlenmesinde genellikle belirleyici bir rol oynar (74). Bu sürecin tamamlanması aylar hatta yıllar alabilir;

sonuçta bazen birincil yara iyileşmesi gerçekleştikten çok sonra kornea berraklığı azalır (23).

2.4.3. Korneal Endotelyal Yara İyileşmesi

Korneanın ön bölgesinin doğrudan endoteli içermeyen delici olmayan yaralanmaları, hücre tabakasının hızlı fokal bozulmasından kaynaklanan endotelde konsantrik lezyonlara neden olabilir. Endotel tabakasının zedelenmesi korneanın aşırı bükülmesinden veya katarakt ameliyatı sırasında lens parçalarının endotele çarpmasından kaynaklanabilir ve bazen klinik olarak endotel üzerinde kıvrımlı, grimsi çizgiler şeklinde görülen salyangoz izi lezyonlarına neden olabilir. Hasarlı hücreler, çevredeki hücrelerin genişlemesi ve hasarlı bölgeye doğru göç etmesiyle hızla yer değiştirir. Daha şiddetli travmalarda Descemet membranı yırtılabilir veya kopabilir. Böyle durumlarda, yırtılan Descemet membranı stromaya doğru kıvrılır, çevredeki endotel hücreleri kayarak defekti kapatır ve yeni Descemet membranını üretir (75). Endotelin in vivo olarak çoğalmadığı görülse de, son kanıtlar endotel hücrelerinin yetişkinlikte bile sınırlı mitotik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (76).

2.4.4. Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Korneada yara iyileşmesini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1: Kornea yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Etkileyen Faktörler	Sebepleri
Yaş	Artan yaş yara iyileşmesini olumsuz olarak etkilemektedir (77).
Beslenme	Kötü beslenme yara iyileşmesini belirgin bir şekilde olumsuz etkilemektedir (77).
Travma	Travmanın korneada ne şekilde olduğu önemlidir (77).
Yara Apozisyonu	Yara kenarlarının iyi bir şekilde apozisyonu iyileşmeyi olumlu etkiler (77).
İnflamasyon	Farklı inflamatuvar yanıtlar iyileşmeyi geciktirebilir (78).

Enfeksiyon	Mikroorganizmalar inflamatuvar yanıtı arttırarak yara iyileşmesini geciktirebilmektedir (77).
Duyusal İnnervasyon	Hücre göçü ve adezyon duyusal innervasyonun olmaması durumunda azalmaktadır (79).
İntraoküler Basınç	Yüksek basınç değerleri skar dokusunun kontraksiyonunu bozmaktadır (79).
Gözyaşının Etkisi	Gözyaşının kalitesi epitelin bütünlüğünün sağlanması için oldukça önemlidir (77).
Vaskülarizasyon	Çeşitli mediyatörler ve travma vaskülarizasyona neden olabilmektedir (80).
İlaçlar	Kortikostreoidlerin, bazı antibiyotiklerin, lokal anesteziğin, asetilkolinin ve antiviral ilaçların epitelyal yara iyileşmesini geciktirdiği, fibronektinin, interlökin-6'nın ve retinoik asitin iyileşmeyi olumlu etkilediği bildirilmiştir (81–86).
Büyüme Faktörleri	Büyüme faktörleri hücrelerin çoğalması ve göçü üzerinde önemli rol oynamaktadır (87).
Sitokinler	Epitelde meydana gelen hasar sonucu birçok sitokinin iyileşme sürecinde rol aldığı bilinmektedir (88).

2.5. Kornea Neovaskülarizasyonu

KNV, kornea üzerinde önceden bulunmayan yeni damarların oluştuğu bir süreçtir. Bu, henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış bir mekanizmadır ve mevcut damar ağının genişlemesine yol açan farklı hücre türlerini içermektedir. Tümör gelişiminin anjiyogeneze bağlı olduğu hipotezi, 1971 yılında Judah Folkman tarafından önerilmiştir. Bu keşif, anjiyogenezin moleküler yollarını engellemeye dayalı yeni bir anti-tümör tedavi sınıfının başlangıcı olmuştur. İlk antianjiyogenik tedaviler 1990'lı yıllarda ortaya çıkmıştır. O'Reilly, 1997'de endostatinlerle tedavi edilen tümörlerin tamamen küçüldüğü ilk vakaları tanımlamıştır. 1999 yılında,

VEGF'yi hedefleyen ilk monoklonal antikor olan bevacizumab geliştirilmiş ve 2004 yılında kolorektal kanser tedavisi için piyasaya sürülmüştür (89).

Neovaskülarizasyon (NV), daha önce avasküler olan bölgelerde yeni vasküler yapıların oluşmasıdır. Neovaskülarizasyon süreçlerinde muhtemelen birbiriyle örtüşen iki mekanizma söz konusudur. Vaskülogenez, özellikle embriyogenez sırasında kemik iliğinden gelen anjiyoblastlar tarafından yeni kan damarlarının oluşturulmasıdır. Anjiyogenez ise önceden mevcut vasküler yapılardan yeni damarların oluşumunu içerir. Proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki denge, proanjiyogenik faktörlere doğru kaydığında anjiyogenez meydana gelir. Korneanın kanlanması, oftalmik arterin dalları olan ve limbus bölgesinde perikorneal pleksusta ikiye bölünerek sonlanan ön siliyer arterlerden kaynaklanır. KNV, esasen perikorneal pleksusun kapillerlerinden ve venüllerinden yeni damarların filizlenmesini içerir (90). KNV'nin üç klinik görünümü vardır. Bunlardan ilki olan vasküler pannus, oküler yüzey hastalığından kaynaklanır. İkincisi stromal keratit veya alkalin hasarından kaynaklanan stromal NV'dir. Üçüncüsü ise herpes veya interstisyel keratitte görülebilen Descemet membranını örten derin NV'dir. Klinik olarak sıklıkla karışık görünümüler gözlenmektedir (4). Çoğu dokuda, oksijen ve besin sağlamak, hücre dışı sıvıyı boşaltmak ve patojenlere karşı korunmak için kan ve lenfatik damarlara ihtiyaç vardır. Ancak, kornea damarlanmanın olmadığı eşsiz bir dokudur. Aköz hümörden difüze olan glikoz ve gözyaşı filminden difüze olan oksijen korneanın metabolit ihtiyacını karşılar, bu nedenle sağlıklı bir kornea avasküler kalabilmektedir. Bazı hastalıklı durumlarda, patolojik korneal hemanjiyogenez veya lenfanjiyogenez meydana gelir ve bu da kornea saydamlığını azaltır. Korneal anjiyogeneze yol açan durumlar çoğunlukla hipoksi, enfeksiyon, inflamasyon ve zayıf limbal bariyer fonksiyonu ile ilişkilidir. Buna göre; kornea nakli, enfeksiyöz keratit, oküler kimyasal veya travmatik yaralanma, otoimmün hastalıklar ve kronik kontakt lens kullanımı KNV gelişme riskini artırır (91,92).

2.5.1. Epidemiyoloji

Korneanın ve gözün diğer bölgelerinin neovasküler ve enfeksiyöz hastalıkları, halk sağlığı için önemli bir sorun teşkil etmektedir. ABD'de KNV riski taşıyan yaklaşık 1.4 milyon hasta bulunduğu, ABD nüfusunun %4'ünde kornea

neovaskülarizasyonu olduğu ve kornea nakli sırasında alınan kornea örneklerinin %20'sinin histopatolojik olarak vaskülarizasyon belirtileri gösterdiği tahmin edilmektedir (93). KNV ayrıca kontakt lens kullanımında, özellikle de yumuşak hidrojel lenslerin uzun süreli kullanımında görülebilmektedir ve 9 milyon kişinin 120.000'inde (%1,3) KNV olduğu tahmin edilmektedir (94). Anjiyogenez, kornea nakline yol açan hastalıkların yaygın bir histopatolojik özelliğidir ve 1 çalışmada eksize edilen insan kornealarının %19,9'unda bulunmuştur (95).

2.5.2. Etiyoloji

KNV'yi tetikleyen temel risk faktörleri Tablo 2'de özetlenmiştir (4,96).

Tablo 2: KNV'nin etiyojisi

KNV'nin Etiyolojisi	
<u>Enfeksiyon</u> • <i>Viral</i> ◦ <i>Herpes simpleks keratiti</i> ◦ <i>Herpes zoster keratiti</i> • <i>Bakteriyel</i> ◦ <i>Bakteriyel keratit</i> ◦ <i>Sifilitik stromal keratit</i> ◦ <i>Trahoma</i> • <i>Fungal</i> ◦ <i>Candida</i> ◦ <i>Aspergillus</i> ◦ <i>Fusarium</i> • <i>Parazitik</i> ◦ <i>Oküler onkoserkiyazis</i> ◦ <i>Acanthamoeba keratiti</i>	<u>İnflamatuvar</u> • <i>Korneal greft reddi</i> • <i>Graft-versus-host hastalığı</i> • <i>Stevens-Johnson sendromu</i> • <i>Atopik konjonktivit</i> • <i>Oküler rozesea</i> • <i>Pemfigoid</i>
<u>Dejenerasyon/Limbal bariyerin kaybı</u> • <i>Konjenital</i> • <i>Aniridia</i> • <i>Konjenital epidermal displazi</i> • <i>Turner sendromu</i> • <i>Kimyasal yaralanma (özellikle alkali)</i> • <i>Termal yaralanma</i> • <i>Birincil limbal kök hücre eksikliği</i> • <i>Pterjium</i>	<u>Hipoksi</u> • <i>Kontakt lens kullanımı</i> • <i>Alkali yaralanma</i>
<u>Travma</u> • <i>Mekanik travma</i> • <i>Kimyasal/termal yaralanma</i>	<u>Neoplazi</u> • <i>Intraepitelyal neoplazi</i> • <i>Skuamöz hücreli karsinom</i>

- *Kontakt lens kullanımına bağlı mekanik yaralanma*
- *Enfeksiyöz olmayan korneal ülser*
- *Korneal yabancı cisim*
- *Von Hippel Lindau hastalığı*

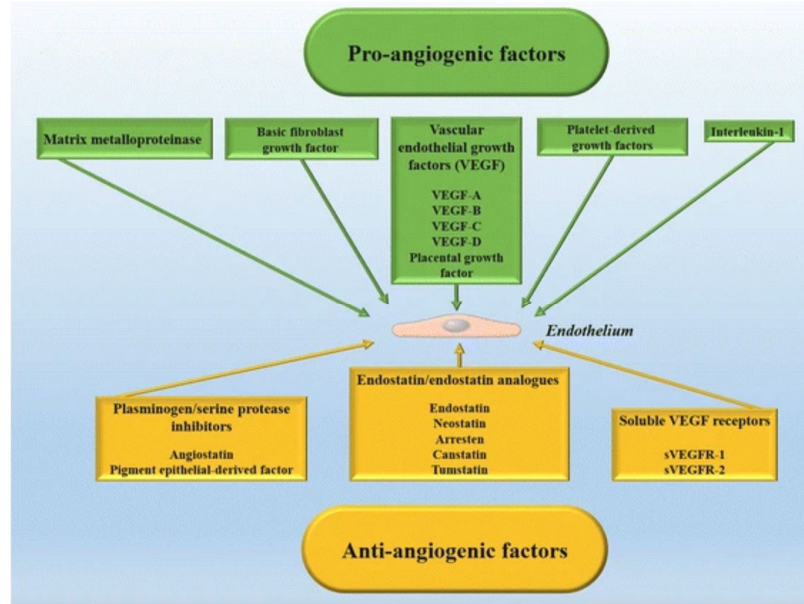
2.5.3. Patofizyoloji

Hem vaskülogenez hem de anjiyogenez, vasküler ağların oluşumu için gerekli olan süreçlerdir. Vaskülogenez, mezoderm kökenli progenitör hücrelerinden türeyen endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilen kan damarı gelişimi sürecini ifade eder (97). Anjiyogenez, anjiyogenik faktörlere tepki olarak yeni damarların oluşumunu ifade eder; bu yeni damarlar, önceden mevcut damarlar içindeki endotel hücrelerinin tomurcuklanması yoluyla meydana gelir (98). Anjiyogenez, embriyogenez sırasında belirgin bir şekilde ortaya çıkar, ancak yetişkin dokularda yara iyileşmesi ve tümör gelişimi gibi belirli koşullar altında da gerçekleşebilir (99). Hem vaskülogenez hem de anjiyogenez neovaskülarizasyonda rol oynar (100). Olgun kan damarları genellikle sakın kalır ve anjiyogenez fizyolojik koşullar altında gerçekleşmez. Bununla birlikte, çeşitli uyaranlar neovaskülarizasyonu tetikleyebilir ve genellikle patogeneze yol açabilir. Örneğin, kronik hipoksi insan dokularında anjiyogenik faktörlerin üretimini indükleyerek önceden var olan damarlardan vasküler büyümeyi teşvik eder (101). Anjiyogenez birkaç adımda gerçekleşir. Anjiyogenik faktörler endotel hücre filizlenmesini tetikler, bunu çoğalma, göç ve damar uzaması izler. Aktive olmuş endotel hücrelerinin bir alt kümesi çok sayıda filopodia uzatan uç hücreler haline gelir; uç hücreler damar filizini VEGF ve delta benzeri ligand 4 (DLL4) gibi anjiyogenik faktörlere doğru yönlendirir (102). Notch sinyali üzerine, uç hücrelere bitişik endotel hücreleri, lümen oluşumunu teşvik eden sap hücrelerine dönüşür. Yeni damarlar, perisitler ve vasküler düz kas hücreleri tarafından bazal membran oluşumundan sonra olgunlaşır (103).

Kornea hasar gördüğünde, genellikle limbal epitel tarafından epitel defektleri iyileştirilir. Limbal epitel, normal kornea epiteline farklılaşabilen kök hücreler bakımından zengindir. Ancak, bu hücrelerin apoptozise uğraması ile konjonktival epitel anormal şekilde onarıma katılabilir ve kusurlar ortaya çıkabilir (104). Sorun, konjonktival epitelin goblet hücreleri bakımından zengin ve yoğun damarlanmış

olmasından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, oluşan fenotip optik açıdan daha düşüktür ve görme problemlerine yol açar. Ayrıca, bu süreç düzensiz bir optik yüzey, azalmış gerilme dayanıklılığı ve yetersiz bariyer fonksiyonuna da sebep olabilir (105).

Kornea dokusunda hasarlandığında VEGF gibi bir dizi proanjiyogenik sitokin, kornea epitel ve endotel hücreleri, stromal keratositler, immün hücreler (örneğin T hücreleri ve makrofajlar), vasküler endotel hücreleri (VEC) ve perisitler dahil olmak üzere birçok hücre tipi tarafından salgılanır (6). Proanjiyogenik faktörlerin bu yukarı regülasyonuna, normal fizyolojide KNV'yi yapısal olarak inhibe eden antianjiyogenik faktörlerin aşağı regülasyonu eşlik eder. Bu durum, perilimbal VEC'lerin aktivasyonu ile başlayan düzenli bir süreçte yeni kan damarı oluşumunu teşvik eder. Böylece VEC'ler vasküler bazal membranı ve çevreleyen korneal ekstraselüler matriksi bozan proteolitik enzimler salgılayarak korneal stroma içinde göç edebilir (106). VEC'ler kemotaksis yoluyla inflamasyon bölgesine (yani proanjiyogenik faktörlerin kaynağına) doğru hareket ederken çoğalır, yeni bir vasküler lümen ve ilişkili dallar filizlenir. Kornea anjiyogenezinde en iyi çalışılan sinyal etkileşimleri hücre yüzeyi-reseptör aracılı olsa da, hücre içi içeriklerin hücreler arasında aktarılmasına aracılık eden ekzozom olarak bilinen nanoveziküller yoluyla parakrin sinyallemenin önemine dair artan kanıtlarda bulunmaktadır (107).



Şekil 6: KNV'yi etkileyen proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler (9).

2.5.4. Kornea Neovaskularizasyonunda Proanjyogenik Faktörler

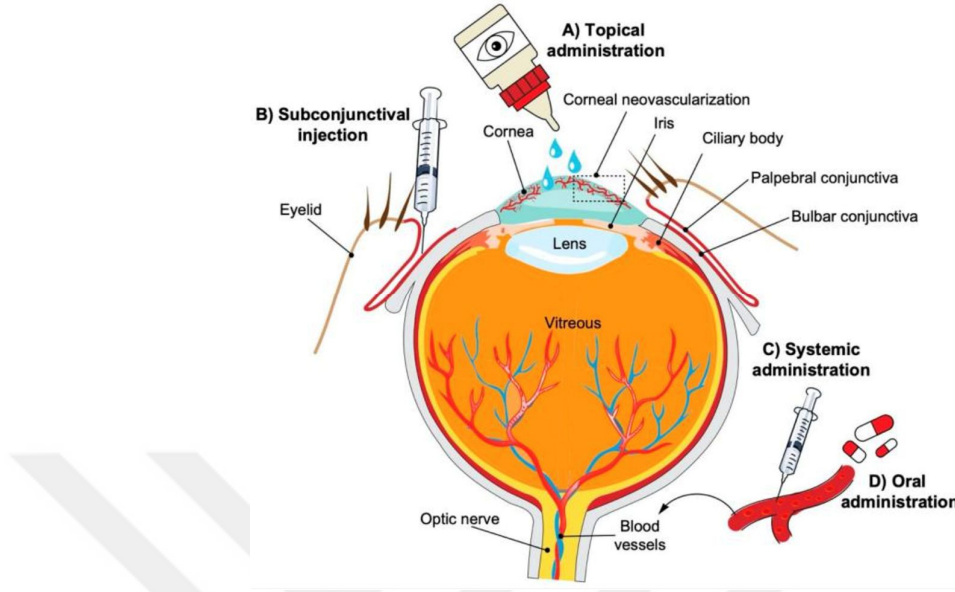
Anjiyogenezi uyarıcı faktörleri incelediğimizde; VEGF, matriks metalloproteinaz (MMP), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF), PDGF'ler ve interlökin-1 (IL-1) gibi bileşenlerin yer aldığını gözlemlemekteyiz (108). VEGF, retinal vasküler hastalıklarda ve yaşa bağlı maküler dejenerasyonunda önemli rolü nedeniyle yoğun bir şekilde incelenmiştir. VEGF ekspresyonu hem hayvan modellerinde hem de inflamatuvar KNV'li insan kornealarında artmıştır ve VEGF çoklu hücre tipleri tarafından salgılanmaktadır. Gerçekte, VEGF tek bir proteinden ziyade, VEGF-A, B, C, D ve PGF dahil olmak üzere beş farklı üyenin reseptörünü bağlayan bir protein ailesidir. Retina ve korneada, patolojik neovaskularizasyonu yönlendiren baskın VEGF üyesi, çeşitli ilaçların hedefi olan VEGF-A'dır. VEGF-A reseptörleri, VEGFR1 ve VEGFR2, VEC'ler tarafından yüksek oranda eksprese edilir ve inflamasyon varlığında ekspresyonları artar. VEGF-A'nın etkinleştirilmesi, vasküler sızıntıyı, VEC'lerin damarlardan serbest kalmasını, VEC proteolizini, göçünü ve mitozunu teşvik eder. Bu nedenle VEGF-A, KNV oluşumunda bir dizi kritik adımın temel itici gücü olarak görev yapar. VEGF-A aynı zamanda makrofajlar için bir kemoatraktandır ve kendileri de VEGF-A salgılar, bu da yine inflamasyon ve KNV oluşumunun patolojik pozitif geri bildirim potansiyelini göstermektedir (96). VEGF gibi, bFGF veya FGF-2'de hücre yüzeyindeki tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak VEC aktivasyonunda rol oynayan bir grup proteinden biridir (105). VEC'lerin stroma içindeki hareketi, VEC bazal membranının ve çevresindeki ECM'nin proteolitik olarak parçalanmasını zorunlu kılar. Bu işlevi kolaylaştıran önemli bir enzim grubu, yara iyileşmesi ve anjiyogeneizde rol oynayan çinko içeren büyük bir endopeptidaz grubu olan MMP'lerdir. MMP-2 ve MMP-9'un proanjyogenik etkileri en iyi çalışılmış olanlardır. Her ikisi de bazal membranların önemli bir bileşeni olan kollajen tip IV'ü parçalayabilmektedir (109). PDGF, yeni oluşan damarlarda VEC'ler tarafından salınan bir büyüme faktörüdür. VEGF ile yapısal benzerlik gösterir ve VEGF gibi etkilerini bir tirozin kinaz reseptörü olan PDGFR β 'ye bağlanarak gösterir. PDGF, mural hücrelerin toplanması yoluyla, yeni oluşan kan damarları üzerinde dengeleyici bir etki gösterir (110).

2.5.5. Kornea Neovaskularizasyonunda Antianjiyogenik Faktörler

Antianjiyogenik faktörlere bakıldığında; endostatin analogları, anjiyostatin ve çözünür VEGF reseptörlerinin bulunduğu görülmektedir. Anjiyostatin, plazminojenden ayrılan endojen bir anjiyogenez inhibitörüdür. Anjiyostatin, VEC'lerde birçok yüzey proteinine bağlanabilir, bunların migrasyonunu ve ayrıca tübül oluşumunu inhibe edebilir (111). Fare modellerinde kornea epitelinin yapısal olarak çözünür VEGFR1 salgıladığı gösterilmiştir. Çözünür VEGFR1 büyük olasılıkla MMP-14'ün etkisiyle hücre yüzeyinden salınmaktadır (112). Bu çözünür reseptör, VEGF-A dahil VEGF izoformlarını bağlayarak ve böylece endotel hücreleri ile makrofajların aktivasyonunu önleyerek endojen bir VEGF "tuzağı" olarak işlev görür. Yapılan bir fare deneyinde, çözünür VEGFR1'i nötralize eden antikorların enjeksiyonu KNV ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca çözünür VEGFR1'den yoksun fare PAX6 genlerinde de KNV'nin kendiliğinden geliştiği bulunmuştur. Bu durumun, PAX6 mutasyonları olan aniridik hastalarda bulunan spontan KNV ile benzer olduğu görülmüştür (41). Trombospondinler (TSP), yara iyileşmesinin düzenlenmesi ve anjiyogenezin inhibisyonu gibi birçok farklı işlevi olan, evrimsel olarak korunmuş bir ECM glikoprotein ailesidir. Korneada, TSP-1 ve TSP-2'nin özel bir öneme sahip olduğu düşünülmektedir. TSP'lerin antianjiyogenik özellikleri için birkaç olası mekanizma bulunmaktadır. Örneğin, TSP-1'in VEC'ler üzerinde CD36'ya bağlandığında apoptozu tetiklediği gösterilmiştir. Ayrıca, TSP-1 ve 2, anjiyogenezi tamamen farklı bir mekanizma olan MMP'lerin inhibisyonu yoluyla azaltabilir (113).

2.5.6. Kornea Neovaskularizasyonunda Tedavi Seçenekleri

KNV tedavisi genellikle zor ve karmaşık bir süreç olabilir. KNV'nin kontrol altına alınması için birçok tıbbi ve cerrahi seçenek bulunmaktadır ve bu seçenekler farklı düzeylerde başarı elde etmiştir. KNV'ye terapötik yaklaşım ya antianjiyogenez ya da anjiyoregresyon sağlamayı amaçlamaktadır. Antianjiyogenik tedavi, anjiyogenik olarak uyarılmış bir korneada neoanjiyogenezi durdurmayı amaçlar ve KNV seyrinin erken dönemlerinde uygulandığında en etkili sonuçlar elde edilmektedir. Regresif tedavi ise oluşan olgunlaşmamış veya eski yerleşik damarların regresyonunu indüklemeyi amaçlamaktadır. Tedavi yöntemleri genellikle medikal veya cerrahi olarak kategorize edilir (94).



Şekil 7: Göz anatomisi ve korneal iletim için ilaç uygulama yolları (3).

2.5.6.1. Kornea Neovaskülarizasyonunda Medikal Tedavi

2.5.6.1.1. Kortikosteroidler

İnflamasyon, çoğu patolojik durumda korneal anjiyogenez sürecinde önemli bir rol oynamaktadır (105). Yaralı korneaya infiltre olan inflamatuvar hücreler IL-1, TNF- α ve VEGF gibi güçlü anjiyogenik mediatörlerin ana kaynağıdır (114). Ayrıca, prostaglandinler gibi inflamatuvar reaksiyon ürünleri de anjiyogenik özelliklere sahiptir (115). İlk kez 1950 yılında topikal kortikosteroidlerin antianjiyogenik etkisi gösterilmiştir. Daha sonra birçok çalışmada; kortizon, deksametazon, hidrokortizon, metilprednizolon, prednizolon, medroksiprogesteron, triamsinolon ve tikabeson propiyonat dahil kortikosteroidlerin KNV'yi inhibe etme etkisini incelenmiştir (94). Kortikosteroidler güçlü inflamasyon inhibitörleridir ve KNV'de antiinflamatuvar ve antianjiyogenik özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Kortikosteroidlerin yan etkilerine rağmen, inflamasyonu ve dolayısıyla KNV'yi kontrol altına almak adına klinikte mevcut en güçlü ilaçlardan biri olduğu kabul edilir. Bu nedenle, özellikle inflamasyonun varlığında KNV için birincil tedavi seçeneği olarak düşünülebilirler (116). Klintworth, anjiyogenezin baskılanmasında kortikosteroid kullanımına ilişkin derlemesinde, kortikosteroidlerin kornea hasarından önce veya hemen sonra

uygulandığında en etkili olduğuna işaret etmektedir. 24 saat sonra uygulanması, korneanın NV ve lökositler tarafından bir dereceye kadar infiltrasyonu ile sonuçlanmıştır, ancak bu yanıt kontrollere göre daha az belirgin izlenmiştir (117). Kortikosteroidlerin antianjiyogenik etkisinin, hücre kemotaksisinin inhibisyonu, yeni damarların oluşumundan önce gelen VEC'lerin proteolitik aktivitelerinin modülasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 ve IL-6) inhibisyonu, plazminojen aktivatörünün inhibisyonu ve prostaglandin sentezini azaltmasını içeren çoklu antiinflamatuvar özelliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kortizonun antianjiyogenik etkisinin heparin ve siklodekstrinlerle arttırdığı gösterilmiştir. Heparinle uygulanan kortizonun antianjiyogenik olduğunun gözlemlenmesi, "anjiyostatik steroidler" olarak adlandırılan yeni bir bileşik sınıfının keşfedilmesine yol açmıştır. Kortikosteroidler KNV'nin tam olarak bastırılmasını sağlamamaktadır. Yeni damarlarla ilişkili inflamasyonu azaltırlar ancak anjiyoregresif değildirler. Bu durum ve bilinen yan etkileri (glokom, katarakt, süperenfeksiyon ve herpes simpleks nüksü gibi) nedeniyle, daha etkili tedaviler hala aranmaya devam etmektedir (94).

2.5.6.1.2. Non-Steroid Anti İnflamatuvar İlaçlar (NSAİİ)

NSAİİ'ler aynı zamanda antianjiyogenez özellikleri bilinen antiinflamatuvar ajanlardır. Siklooksijenaz-1 (COX-1) ve COX-2, her ikisi de korneada bulunur ve anjiyogenezde görev alırlar. İndometazin ve ketoprofen gibi seçici olmayan COX-1 ve COX-2 inhibitörlerinin, fare korneasında bFGF ve VEGF tarafından tetiklenen anjiyogenezi önemli ölçüde bastırdığı belirlenmiştir. Kortikosteroidlere benzer şekilde, topikal NSAİİ'lerin uzun süreli kullanımı, yakın takip gerektiren potansiyel korneal yan etkilerle sınırlıdır (118). COX-2'nin seçici inhibisyonu, bazal prostaglandin E2'nin (PGE2) sentezinde %20'lik bir inhibisyon oranına sahiptir ve bu inhibisyon oranı yaralanmadan sonra %80'e yükselir. Bunun yanı sıra, COX-2 inhibisyonu, indometazin gibi COX-1 ve 2 inhibitörleriyle benzer bir antianjiyogenik etki göstererek KNV'yi önemli ölçüde engeller (119). Flurbiprofen gibi NSAİİ'ler kortikosteroidlerin birçok yan etkisinden kaçınmaktadır, ancak sınırlı antianjiyogenik etkilere ve korneal yüzey toksisitesine sahip olma dezavantajına sahiptir (9,94).

2.5.6.1.3. Siklosporin A

Siklosporin A, organ nakillerinin reddini kontrol etmek ve çeşitli otoimmün ve inflamatuvar durumları tedavi etmek için kullanılan T hücresine özgü bir immünosupresif ilaçtır. Oküler hastalıkların tedavisinde siklosporin A; klinik uygulamada genellikle %0,05 ile %2,5 arasındaki konsantrasyonlarda göz damlası veya merhem şeklinde kullanılmıştır (120). Topikal olarak uygulanan siklosporin A'nın immün aracılı KNV'yi etkili bir şekilde baskılayarak MMP-9, indüklenebilir nitrik oksit sentetaz, VEGF ve aktif kaspaz-3 ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (121). Bir deneysel tavşan çalışmasında, topikal %0,05 siklosporin A'nın etkinliği bevacizumabdan daha iyi, ancak immün aracılı KNV tedavisinde deksametazondan daha az olmuştur (122). Ancak, ikinci bir çalışmada, yüksek dozda subkonjonktival siklosporin A implantının insan kornea nakillerinde KNV üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır (123).

2.5.6.1.4. Anti-VEGF Ajanlar

Bevacizumab gibi birkaç anti-VEGF ajan, antianjiyogenik özellikleri nedeniyle çoklu kanserlerde kullanım için onaylanmıştır ve KNV dahil olmak üzere oküler anjiyogenez tedavisi için off-label kullanılmaktadır. Ranibizumab ise, özellikle yaşa bağlı makula dejenerasyonu tedavisi için 2006 yılında FDA onayı almıştır. Bu ajanlar en çok aktif olarak büyüyen damarların tedavisinde etkilidir ve iyi yapılandırılmış KNV'de sınırlı etkinliğe sahiptir (2,124). Topikal bevacizumab, hayvan çalışmalarında ve klinik gözlemlerde geleneksel antiinflamatuvar ilaçlara yanıt vermeyen vakalarda KNV'nin azaltılması için başarıyla kullanılmıştır. Topikal bevacizumab etkilenen vaskülarizasyon alanını azaltarak faydalı bir etki göstermiştir (125). Epitel sağlam olduğunda topikal bevacizumabın korneaya penetrasyonu zayıf olsa da, vaskülerize bir korneaya iyi nüfuz eder. Aynı çalışma, subkonjonktival bevacizumabın sağlam bir epitelde bile stromaya nüfuz ettiğini göstermiştir (126,127). Bununla birlikte, sıçanlarda kimyasal hasarı takiben, topikal bevacizumab subkonjonktival bevacizumabdan daha uzun süreli antianjiyogenik etkiler göstermiştir (128). VEGF-A'ya karşı ranibizumab da KNV'yi azaltmak için kullanılmıştır. Bir hayvan modelinde, ranibizumabın erken subkonjonktival uygulaması KNV'yi inhibe etmiştir. Sadece kornea ve bulber konjonktivada değil, aynı zamanda aköz hümör ve

iriste de VEGF seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır (129). Aflibercept güçlü anti-VEGF aktivitesine sahiptir ve VEGFR-1 ile 2 için bağlanma alanlarına sahip çözünür bir füzyon proteinidir. Diyabetik maküler ödem tedavisinde intravitreal enjeksiyon için 2011 yılında FDA tarafından onaylanmıştır (130). Tavşanlarda sütürle indüklenen KNV üzerinde yapılan bir çalışmada afliberceptin %0,1 ve %0,01 konsantrasyonlarının topikal kullanımı, KNV ve VEGF ekspresyonunda ciddi bir azalma ile ilişkilendirilmiştir (131).

Anti-VEGF ajanların etkinliğini araştıran çalışmalar kornea neovaskülarizasyonunda yalnızca kısmi gerileme sağlamıştır (2). Bu durum, anti-VEGF tedavisinin yalnızca daha yeni, aktif olarak büyüyen kan damarlarına karşı etkili olmasına bağlanabilir. Bu yeni damarlar, VEC sağkalımının VEGF gibi proanjiyogenik faktörlerin varlığına bağlı olduğu bir dönemden geçmektedir. İki hafta sonra, bu damarların çoğu perisitler tarafından kaplanır, bu da endotel hücreleri için proanjiyogenik faktörlerin bağımlılık döneminin sonunu gösterir ve bu olgun damarları anti-VEGF ajanlarıyla tedavi etmek genellikle yetersiz kalmaktadır (132).

2.5.6.1.5. MMP İnhibitörleri

Doksisiklinin antiinflamatuvar ve MMP inhibisyon özellikleri bilinir. Hayvanlarda ve sınırlı insan çalışmalarında topikal uygulama ile KNV'nin gerilemesine neden olduğu gösterilmiştir. Doksisiklinin ayrıca MMP'ler üzerindeki etkilerinden bağımsız olarak anjiyogenezi inhibe ettiği görülmektedir. MMP-9 ekspresyonunu inhibe eden doğal ürünlerden biri olan kurkumin farelerde KNV'yi önlemektedir, ancak zayıf biyoyararlanımları şu anda pratik klinik kullanımlarını sınırlamaktadır ve daha fazla araştırma gerektirmektedir (96). Minosiklin, antikollajenaz ve antianjiyogenik özelliklere sahip yarı sentetik bir tetrasiklidir. Alkali oküler hasar oluşturulan bir hayvan modelinde, sistemik minosiklin epitelyal iyileşmeyi hızlandırmada ve KNV'yi azaltmada etkili olmuştur (133).

2.5.6.2. Kornea Neovaskülarizasyonunda Cerrahi Tedavi

2.5.6.2.1. Lazer Tedavisi

Argon lazer fotokoagülasyon, retinal neovaskülarizasyonun tedavisi için genel olarak kabul edilmiş bir yaklaşımdır. Hemoglobinin argon enerjisini yüksek oranda emer ve lazer tedavisi hemoglobin dolu korneal damarları koagüle edebilir. Sarı lazer ve Nd:YAG lazer, KNV tedavisi için önerilmiştir, ancak her ikisi de genellikle rutin olarak klinik uygulamada kullanılmamaktadır. Lipid keratopatinin argon lazer tedavisi ile başarılı sonuçlarına rağmen, çeşitli nedenler argon lazerin KNV için kullanımını kısıtlamaktadır. Özellikle, kornea damarlarının görüntülenmesi zor olduğundan ve hızlı pulsatil bir akışa sahip olduğundan prosedürün uygulanması teknik olarak zordur. Tıkaçıcı etkinin geçici olduğu gösterilmiştir. Damarlarda lazer kaynaklı termal hasar, çevredeki stromada inflamatuvar mediatörlerin ve VEGF'nin yukarı regülasyonuna yol açabilir, bu da paradoksal olarak daha fazla NV'a neden olabilir. Ayrıca, yüksek lazer enerjisi iris atrofisi, kornea incilmesi, pupiller ektazi, periferik kornea kanaması ve nekrotizan sklerit gibi komplikasyonlara zemin hazırlamaktadır. Bu teknik zorluklar ve ilgili yan etkiler nedeniyle, KNV'nin lazerle ablasyonu yaygın kabul görmemiştir (134). Yapılan bir çalışmada, durağan KNV'li 40 gözü tedavi etmek için frekansı iki katına çıkarılmış Nd:YAG lazer (532 nm) kullanılmıştır. 3 ay sonra, damarların %53'ünde tam oklüzyon gözlenirken, damarların %37'si yine kanallaşmıştır. Komplikasyonlar arasında korneal hemoraji, korneal incelme, vaskülarizasyon alevlenmesi ve damar lümeninin yeniden açılması yer almaktadır (135).

2.5.6.2.2. Fotodinamik Terapi (FDT)

FDT, verteporfin gibi bir ışığa duyarlaştırıcı ajanın uygulandığı ve neovasküler yapılarda spesifik olarak emilip tutulduğu bir tedavi şeklidir. Bu ajan daha sonra belirli bir ışık dalga boyu ile aktive edilirse, sitotoksik serbest radikaller üretilir, bu da endotel hücre hasarı ve damar tıkanıklığı ile sonuçlanır. FDT, gözün arka segmentindeki çeşitli neovasküler hastalıkların tedavisinde klinik olarak geliştirilmiştir ve KNV tedavisi için de kullanılmıştır (136,137). Yapılan bir çalışmada, verteporfin kullanarak FDT'nin KNV'yi geriletmediğini ve kornea nakil öncesi FDT'nin fare modelinde sonraki greft sağkalımını önemli ölçüde iyileştirdiğini deneysel olarak göstermiştir (138).

Çalışmalar, FDT yanıt mekanizması içinde hem apoptoz hem de nekrozun yer alabileceğini düşündürmektedir. Genel olarak, hidrofilik ışığa duyarlaştırıcılar kan damarlarına zarar verirken, hidrofobik ışığa duyarlaştırıcılar doğrudan tümör hücrelerine saldırır (139,140). Küçük hasta serileri, bu yaklaşımın klinikte de başarılı olabileceğini ve kornea nakli sonrası greft reddini azaltabileceğini göstermektedir (136). Ancak, muhtemelen FDT'nin fototoksisite gibi sistemik yan etkilerle ilişkisi ve nispeten yüksek maliyetleri nedeniyle daha büyük çalışmalar yapılamamıştır. KNV'nin geriletilmesinde FDT'yi diğer modalitelerle karşılaştıran raporlar da şimdiye kadar yayınlanmamıştır.

2.5.6.2.3. Diyatermi ve Koter

KNV'nin ince iğne diyatermi (İİD) ile oklüzyonu, paslanmaz çelikten 3/8 daire şeklinde yandan kesici, tek kollu bir iğnenin oklüzyon yapılacak kan damarı seviyesinde limbusa veya damar büyüğe doğrudan damar lümenine yerleştirilmesini içeren bir tekniktir. Koagülasyon moduna ayarlanmış bir unipolar diyatermi ünitesi daha sonra oklüzyon sürecini başlatmak için korneadaki iğneye bağlanır (141). İİD'nin etkili ve gerçekleştirilmesi nispeten kolay bir prosedür olduğu bildirilmiştir (141,142). Ancak diyatermi yalnızca afferent damarlara uygulanmalıdır ve İİD'nin potansiyel yan etkileri dikkate alınmalıdır (142,143,143). Kollajen büzüşmesi ve diyatermi bölgesinin komşu stromasında hasar olabilir. Korneaya uygulanan ısı kornea eğriliğini de değiştirir (144). İİD, VEGF'leri yukarı regüle ettiğinden, rekürrens oranlarını azaltmak için topikal anti-VEGF'lerle kombine edilmesi önerilmiştir (125). İİD'nin korneaya uzun vadeli etkileri henüz net değildir. Dahası, İİD'nin kendisi proanjiyogenik faktörlerin ikincil salınımını tetikleyerek daha fazla KNV'yi uyarabilir. Afferent damarları hedeflemek için anjiyografik rehberle birlikte İİD, KNV alanını azaltmada umut verici bir prosedürdür (142,145).

2.5.6.2.4. Yüzeysel Keratektomi

Qian ve arkadaşları tarafından 2 hastada bevacizumab kullanımı ile yüzeysel keratektomi tanımlanmıştır (146). Yüzeysel KNV'si olan 2 hastanın kornea epiteli ve yüzeysel damarları bir bıçakla kazınarak bowman tabakası sağlam bırakılmıştır. Sonrasında, patolojik kan damarlarının bitişiğindeki subkonjonktivaya bevacizumab

enjeksiyonu uygulanmıştır. Üç aylık takipte herhangi bir nüks belirtisi görülmemiştir. Yazarlar bu tekniğin yüzeysel damarlarla sınırlı olduğunu kabul etmektedir (147).

2.5.6.2.5. Amniyotik Membran Transplantasyonu

Amniyotik membran transplantasyonunun oküler yaralanmaları takiben inflamasyon ve anjiyogenezi önlemede etkili olduğu gösterilmiştir. Akut kimyasal yaralanmalarda insan amniyotik membranının geçici veya kalıcı transplantasyonu yeniden epitelizasyonu arttırıp inflamasyon ve vaskülarizasyonu azaltmaktadır (148). Kondrosit kaynaklı ekstraselüler matriks (CDECM), güçlü antifibrotik ve antianjiyogenik etkileri nedeniyle oküler yüzey rekonstrüksiyonunda amniyotik membrana alternatif olarak sunulmuştur. Korneanın alkali hasarının akut fazında CDECM nakli, bir tavşan modelinde KNV ve opasitenin önemli ölçüde azalmasıyla sonuçlanmıştır (149).

2.5.6.2.6. Limbal Kök Hücre Transplantasyonu

Limbal epitelyal kök hücreler (LEKH), epitelyal hücrelerin yenilenmesi ve yara defektlerinin iyileşmesi için kritik bir rol oynar. Korneadaki epitel hücrelerinin ömrü 7 ila 10 gün arasındadır (150). Kornea bariyerinde bir defekt varsa, defektin sınırında bulunan sağlıklı hücrelerin göçü ve hücre yayılımı ile mitotik olmayan bir yara iyileşmesi görülür ve ardından doku homeostazını yeniden oluşturmak için mitotik hücre yenilenmesi gerçekleşir (65). Kök hücre bölgelerinin hasarı ile LEKH'nin işlevsiz hale gelmesi veya tükenmesi, doku denge durumunu ciddi şekilde etkileyen bir limbal kök hücre eksikliğine yol açabilir. Limbal kök hücre eksikliğine yol açan durumlar konjenital nedenler veya termal yanıklar, inflamatuvar göz hastalığı, kontakt lensle ilişkili hipoksi gibi edinsel olabilmektedir (151). Limbal kök hücre eksikliğinde, LEKH'lerin doğrudan tükenmesinin, yokluğunun veya proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki dengesizliğin neden olduğu kalıcı bir doku iltihabına bağlı doku homeostazında değişiklikler oluşur ve kornea yüzeyinin yapısal bütünlüğü bozulur. Böylece, kornea şeffaflığı ve görme fonksiyonu artık korunamaz ve sonuç olarak, tekrarlayan epitel defektleri ile KNV, kornea skarlaşması, kornea konjonktivalizasyonu ve fibrovasküler pannus oluşumu meydana gelir. Limbal kök

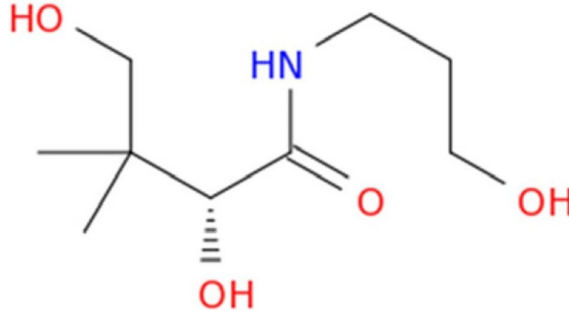
hücre eksikliği tanısı muayenede görülen tipik klinik bulgulara dayanır ve semptomları genellikle görme bozukluğu, rahatsızlık, kızarıklık ve fotofobiyi içermektedir (152).

LEKH'lerin kornea epitelini yeniden oluşturduğunun keşfedilmesinin ardından, Kenyon ve arkadaşları limbal kök hücre eksikliği tedavisi için ilk başarılı limbal greft transplantasyonunu gerçekleştirmiştir. İlk vakalarda otolog bir greft kullanılmış ve daha sonraki araştırmalarda hem allojenik kadavra hem de donör greftleri kullanarak çeşitli derecelerde başarı gösterilmiştir. Allojenik transplantasyon limbal alanda LEKH'leri başarılı bir şekilde yeniden oluşturabilse de, allojenik bir greftin uzun vadeli başarısı terapötik bir immünoşüpresif rejim gerektirmektedir (153).

2.6. Dexpanthenol

Dexpanthenol, Roger J. Williams tarafından tanımlanan pantotenik asidin alkol analogudur. Bu suda çözünen vitamin, asidik formuna kıyasla daha iyi biyolojik aktivite ve stabilite göstermiştir. Pantotenik asidin veya tuzlarından herhangi birinin oral veya parenteral uygulamasını takiben toksik etki olduğuna dair bir rapor bulunmamaktadır. Dexpanthenol, yenileyici ve antiinflamatuar özellikleri nedeniyle çeşitli multivitaminlerde, cilt ve saç bakım preparatlarında ve kozmetik formülasyonlarda kullanılmaktadır (154).

Bu maddeye 1933 yılında Williams ve Saunders tarafından verilen pantotenik asit adı, doğada yaygın olarak bulunduğunu göstermektedir. 1934 yılında pantotenik asidin maya hücre çoğalması üzerinde güçlü bir uyarıcı etkisi olduğu gösterilmiştir ve bu, ilk topikal dexpanthenol preparatının (Bepanthen) geliştirilmesine yol açmıştır. Pantotenik asidin aksine, deri yoluyla iyi emilir. Bepanthen ilk olarak yaklaşık 1944 yılında merhem olarak piyasaya sürülmüştür. Topikal olarak kullanıldığında, dexpanthenol hızlıca emilir ve hızla pantotenik aside dönüşen koenzim A'nın bir bileşeni haline gelir. Şu anda, pediatrik kullanımdan yetişkin kullanımına kadar farklı bireysel ihtiyaçlara uygun çeşitli topikal dexpanthenol ürünleri bulunmaktadır. Bu ürünler krem, nemlendirici, damla, jel, losyon, yağ, merhem, çözelti ve sprey şeklinde sunulmaktadır (155). Topikal kullanımının haricinde sistemik olarak uygulanabilmektedir (13).



Şekil 8: Dexpanthenolün kimyasal yapısı (154).

Dexpanthenol içeren topikal formülasyonların yanık ve deri nakli sonrası yara izlerinin günlük bakımında faydalı etkileri bildirilmiştir. Farklı deri lezyonlarından sonra yara izi kalitesinde iyileşme için dexpanthenol içeren formülasyonların topikal olarak uzun süreli uygulanmasıyla yapılan klinik çalışmalar da bulunmaktadır (13). Kuru gözlerin dexpanthenol (30 mg/ml) ile tedavisinden sonra ve kornea erozyonlarının %5 pantenol göz merhemi veya pantenol oftalmik jel ile tedavisinden sonra olumlu klinik deneyimler bildirilmiştir (156,157). Lazer ile kornea yüzeyi ablasyonu uygulanan hastalar arasında %2 dexpanthenol, yapay gözyaşı damlalarına kıyasla 7 gün sonra önemli ölçüde daha iyi görme ile sonuçlanmıştır (158). Dexpanthenol, lameller lipid hareketliliğini artırır ve yara iyileşmesinin üç aşaması boyunca cildin lipid çift katmanlarındaki akışkanlığı artırır, bu da taze bir yara izinin hidrasyonuna katkıda bulunabilmektedir (155). Domuz derisi kesilerek yapılan deneysel bir çalışmada dexpanthenol uygulamasının stratum korneum lipidlerinin ve protein segmentlerinin bir kısmının moleküler hareketliliğini arttırdığı ve stratum korneumun susuz koşullarda bile hidrate bir cildin özelliklerini kazanmasını sağladığı bildirilmiştir (159).

Vücudun enfeksiyonlarla savaşan serbest radikalleri tolere etmesi ve aynı zamanda kendisini bunların zararlı etkilerinden koruması gerekir. Dexpanthenol, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini azaltarak ve doku hasarını minimize ederek bu sürece katkıda bulunabilir. Bir in vitro deney, hem pantenol hem de pantotenik asidin insan deri fibroblastlarında ROS üretimini inhibe ettiğini bulmuştur (16). Pantenolün iki enantiyomeri vardır, bunlar D ve L formundadır. Sadece D-pantenol (dexpanthenol) biyolojik olarak aktiftir. Pantenol veya pantotenik asit tedavisi ile sitoprotektif ve antiinflamatuvar etkilerin olduğu, aynı zamanda ROS oluşumunda da

bir azalma olduğu gösterilmiştir (160). Dexpanthenol, yara iyileşmesi ve yeniden epitelizasyonda yer alan hücrelerin çoğalmasını başlatarak vücudun yaranılmaya karşı doğal tepkisini destekler (155).

 nflamasyonun yara iyileşme süreci boyunca dikkatli bir şekilde düzenlenmesi gerektiğinden, vücudun kendi modülatör süreçlerini destekleyen bileşikler yara iyileşme preparatlarında değerlidir. Dexpanthenol hem proinflatuar hem de antiinflamatar genlerin ifadesini değiştirebilmektedir, böylece yaranma sonrası inflamasyonu düzenlerken vücudun doğal tepkisini destekleyebilir. Hem in vivo hem de in vitro çalışmalardan elde edilen gen ifadesi verileri, dexpanthenol veya kalsiyum pantotenat ile tedavinin, proinflatuar sitokinlerden IL-6, IL-1  ve HO-1 dahil olmak üzere yara iyileşmesinin    aşamasında işlev gören genlerin ifadesini arttırdığını göstermektedir (16,161,162). Dexpanthenol bu nedenle yara iyileşmesinin inflamatar fazının modülasyonuna katkıda bulunabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 26.01.2023 tarihinde 01 sayılı toplantı, 113 sayılı karar ile etik kurul onayı alındıktan sonra başlandı.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Bu deneysel çalışma için 250-300 gram ağırlığında, ortalama 3 aylık 40 adet dişi wistar albino cinsi rat kullanıldı. Bu ratların tümü Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışma öncesinde, çalışmamızda kullanılacak olan ratların tamamının kornealarında herhangi bir hasar ve neovaskülarizasyon olmadığı kontrol edildi. Ratlar, her bir kafeste 8 adet olacak şekilde toplamda 5 adet konvansiyonel kafese yerleştirilerek, deneysel çalışmaya başlamadan önce 1 hafta bulundukları ortama alışmaları beklendi. Çalışmamız, 22 ± 2 °C sıcaklıkta ve %55 bağıl nem seviyesinde, günde 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık bir ortamda gerçekleştirildi. Çalışma süresince, her gün aynı miktarda standart yem ve su serbestçe sunuldu.

3.2. Çalışma Grupları

Çalışmamızda toplam 40 adet dişi wistar albino cinsi rat kullanıldı. Anestezi ve analjezi sağlandıktan sonra çalışma öncesi tüm ratların ön segment muayenesi yapılarak kornealarında herhangi bir hasar ve neovaskülarizasyon olmadığı teyit edildi. Ardından KNV modeli ratların sağ gözlerine uygulandı ve sol gözlerine herhangi bir işlem yapılmadı. 7. gün bütün gözlerde belirgin miktarda KNV olduğu fotoğraflanarak konfirme edildikten sonra ratlar randomize olarak her grup 8 adet rat içerecek şekilde 5 gruba ayrıldı. Ratların herhangi bir işlem yapılmayan sol gözleri kontrol grubu olarak değerlendirildi. Tüm ratların gözlerine, limbuslarından 1 mm uzaklıkta 30 gauge iğne kullanılarak subkonjonktival enjeksiyon yapıldı. Tüm enjeksiyonlar tek doz insülin enjektörleri kullanılarak gerçekleştirildi. Oftalmolojik klinik işlemlerde serum fizyolojik yerine dengeli tuz solüsyonu (BSS) kullanıldığından

çalışmamızda da BSS tercih edildi. Enfeksiyon oluşumunu önlemek için 0-7. günler arası topikal moksifloksasin (Vigamox, Alcon, Teksas) günde 1 kez damlatıldı. 14.günde tüm gruplardaki ratlara sakrifikasyon uygulandı. Tüm gruplardaki ratların sağ ve sol gözlerinin korneal dokuları enükle edildi.

Tablo 3: Deney grupları

GRUPLAR	0. Gün	0-7 Gün	7. Gün	14. Gün
Kontrol Grubu (Sol göz)	-	-	-	SAKRİFİKASYON
KNV Grubu (n=8)	Gümüş nitrat ile KNV modeli	Lokal ab	-	SAKRİFİKASYON
KNV+BSS Grubu (n=8)	Gümüş nitrat ile KNV modeli	Lokal ab	SC 0,1 ml BSS	SAKRİFİKASYON
KNV+BEVA Grubu (n=8)	Gümüş nitrat ile KNV modeli	Lokal ab	SC 0,1 ml BEVA	SAKRİFİKASYON
KNV+DEX Grubu (n=8)	Gümüş nitrat ile KNV modeli	Lokal ab	SC 0,1 ml DEX	SAKRİFİKASYON
KNV+BEVA+DEX Grubu (n=8)	Gümüş nitrat ile KNV modeli	Lokal ab	SC 0,1 ml BEVA + SC 0,1 ml DEX	SAKRİFİKASYON

KNV: Kornea neovaskülarizasyonu,

BSS: Dengeli tuzlu solüsyon,

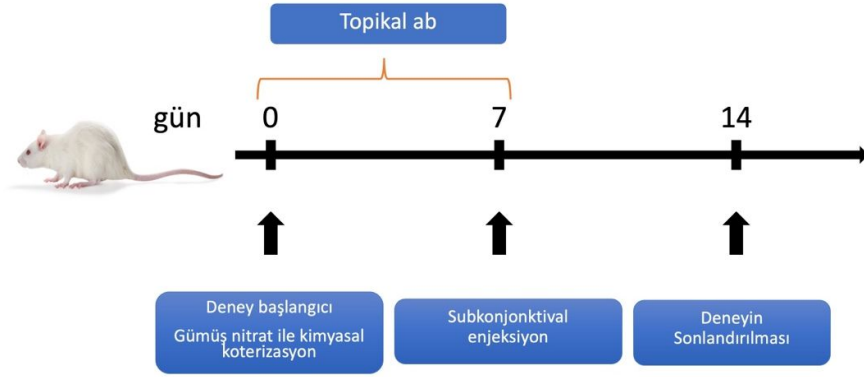
SC: Subkonjonktival,

BEVA: Bevacizumab,

DEX: Dexpanthenol,

ab: Topikal moksifloksasin antibiyotik damla.

- **Kontrol Grubu :** Ratların herhangi bir işlem yapılmayan sol gözleri kontrol grubu olarak kullanıldı.
- **KNV Grubu (n=8):** KNV grubundaki ratların sağ gözlerine 0. günde KNV modeli oluşturuldu. 7. gün herhangi bir enjeksiyon yapılmadı.
- **KNV+BSS Grubu (n=8):** BSS grubundaki ratların sağ gözlerine 0. günde KNV modeli oluşturuldu. 7. gün sağ gözlere limbusun 1 mm gerisinden tek doz subkonjonktival 0,1 ml dengeli tuz solüsyonu (BSS, Alcon, Teksas) enjeksiyonu uygulandı.
- **KNV+BEVA Grubu (n=8):** Bevacizumab grubundaki ratların sağ gözlerine 0. günde KNV modeli oluşturuldu. 7. gün sağ gözlere limbusun 1 mm gerisinden tek doz subkonjonktival 2,5mg/0,1 ml bevacizumab (Altuzan; Roche, San Francisco, ABD) enjeksiyonu uygulandı.
- **KNV+DEX Grubu (n=8):** Dexpanthenol grubundaki ratların sağ gözlerine 0. günde KNV modeli oluşturuldu. 7. gün sağ gözlere limbusun 1 mm gerisinden tek doz subkonjonktival 0,1 ml dexpanthenol (Bepanthene amp 500mg/2 ml, Roche, Berlin, Germany) enjeksiyonu uygulandı.
- **KNV+BEVA+DEX Grubu (n=8):** Bevacizumab + dexpanthenol grubundaki ratların sağ gözlerine 0. günde KNV modeli oluşturuldu. 7. gün sağ gözlere limbusun 1 mm gerisinden tek doz subkonjonktival 2,5mg/0,1 ml bevacizumab + 0,1 ml dexpanthenol enjeksiyonu uygulandı.



Şekil 9: Deney sürecinde uygulanan işlemler şeması

3.3. Anestezi Tekniği

Anestezi ve analjezi uygulaması sırasında, Xylazine HCl (Rompun, Bayer, Almanya) adlı ilacın 10 mg/kg dozu ile Ketamin HCl (Ketasol, Richter Pharma, Avusturya) adlı ilacın 90 mg/kg dozu kombinasyonu ile genel anestezi sağlandı. Genel anestezi sonrasında göz hareketlerini minimize etmek amacıyla %0,5'lik proparakain hidroklorid damlası (Alcaine® %0,5 Steril Oftalmik Solüsyon, Alcon-Couvreur n.v. Belçika) ek olarak uygulandı.

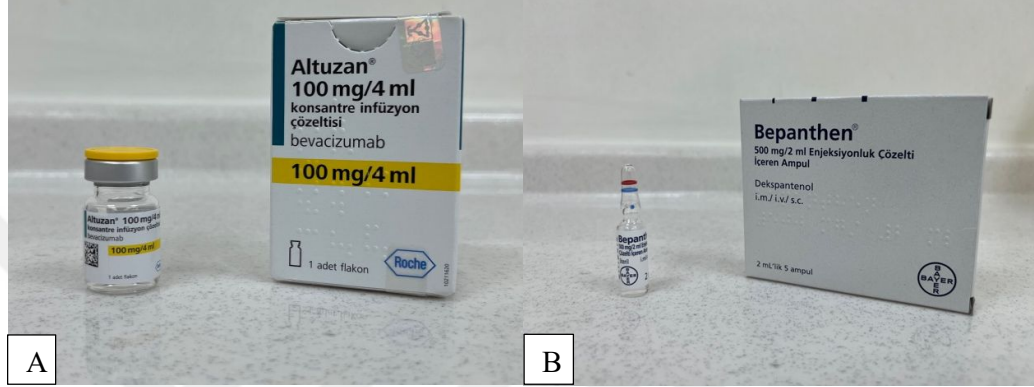


Resim 1: Anestezi için kullanılan anestetik çözeltiler

3.4. İlaçların Hazırlanması

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan KNV modelinde tedavi amacıyla kullanılan ilaçlar;

- BSS 0,1 ml subkonjonktival olarak uygulandı.
- Bevacizumab (100 mg/4 ml) 2,5 mg/0,1 ml dozajında hazırlanarak subkonjonktival olarak uygulandı.
- Dexpanthenol (Bepanthen amp 500 mg/2 ml) 25mg/0,1 ml dozajında hazırlanarak subkonjonktival olarak uygulandı.



Resim 2: Tedavide kullanılan ilaçlar; A) Bevacizumab, B) Dexpanthenol



Resim 3: 7. günde KNV oluşturulan ratların gözlerine subkonjonktival enjeksiyon uygulaması

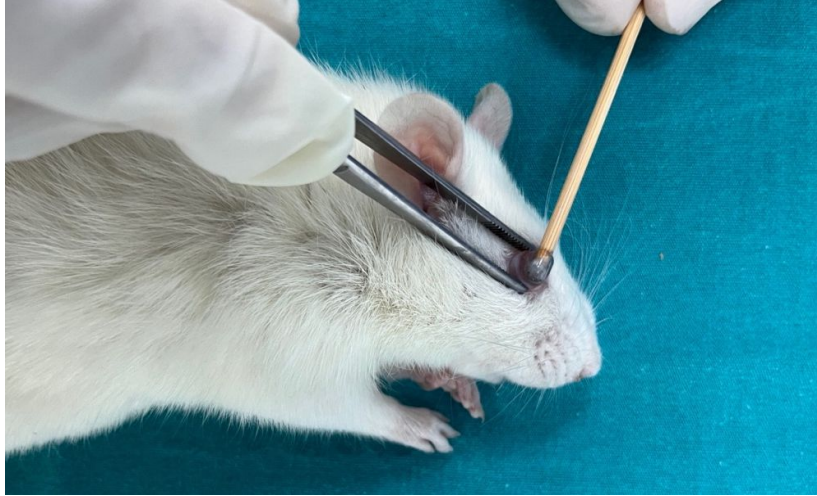
3.5. Kornea Neovaskülarizasyon Modelinin Oluşturulması

Bu çalışmada, KNV modelini oluşturmak için uygulanan deney protokolünde, anestezi ve analjezi sağlandıktan sonra tüm ratların gözleri muayene edildi ve her iki

gözü de sağlam ve sağlıklı olan ratların sağ gözlerine KNV oluşturmak amacıyla Mahoney ve Waterbury tarafından tanımlandığı gibi, %75 gümüş nitrat ve %25 potasyum nitrat ile kaplanmış çubukla (HemoStop; Hizmet Medikal, İstanbul, Türkiye) 10 saniye boyunca koter yapılarak yaklaşık 2 mm genişliğinde kimyasal yanık oluşturuldu (163). Kimyasal koterizasyon işlemi sonrasında oluşabilecek kimyasal partiküllerin temizlenmesi için kornea ve forniksler, 10 mL BSS ile yıkanarak arındırıldı.



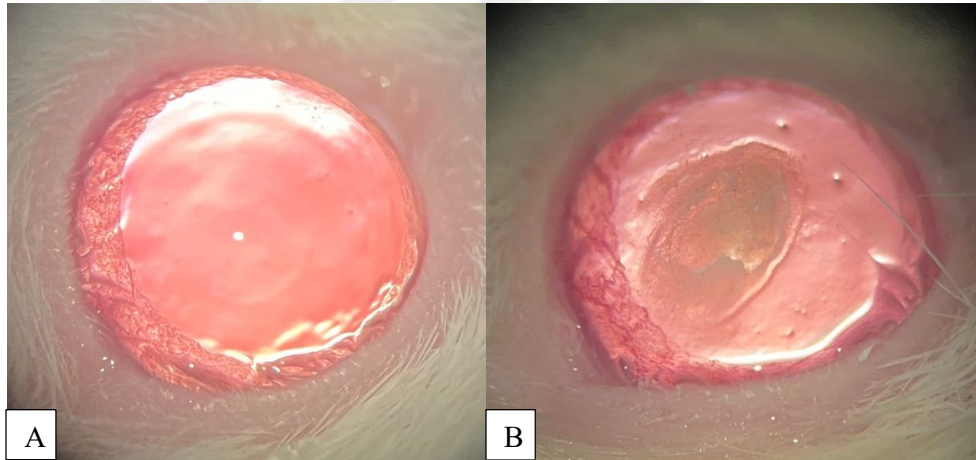
Resim 4: %75 gümüş nitrat ve %25 potasyum nitrat ile kaplanmış çubuk



Resim 5: KNV modeli oluşturulması için gümüş nitrat çubuğun kornea santraline uygulanması



Resim 6: KNV modeli oluşturulması için gümüş nitrat çubuğun kornea santraline uygulandıktan sonra makroskopik görünümü



Resim 7: Korneanın ameliyat mikroskobu altındaki görünümüleri A) Kimyasal koterizasyon öncesi görünüm, B) Kimyasal koterizasyondan hemen sonraki görünümü

3.6. Kornea Neovaskülarizasyon Alanlarının Değerlendirilmesi

KNV alanları, 7. ve 14. günlerde, bir ameliyat mikroskobu olan LEICA M655 (Wild Heerbrugg) ve bu mikroskoba entegre edilmiş bir kayıt sistemi kullanılarak x16 büyütmeyle standart görüntüler alınarak kaydedildi. Korneadaki neovasküler bölgeler, ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, Wayne Rasband at Research Services Branch) programı kullanılarak değerlendirildi. Fotoğraflardaki KNV alanları, program üzerinde 8-bit renk skalasına dönüştürüldükten sonra threshold özelliğİ kullanılarak otomatik olarak belirlendi ve standardizasyon amaçlı toplam kornea

alanına oranı yüzdesel olarak hesaplandı. Enjeksiyonlardan sonra 14. günde kalan neovaskülarizasyon alanları tekrar yüzdesel olarak hesaplandı. 7. ve 14. günde elde edilen neovaskülarizasyon yüzdeleri kaydedildi.

3.7. Enzim Bağlı İmmünosorbent Test (ELISA) Yöntemi ile VEGF-A ve TNF- α Düzeyi Analizleri

3.7.1. VEGF-A Düzeyinin Analizleri

VEGF-A düzeyleri Sandwich-ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Örnekler, VEGF-A'ya özgü biyotinlenmiş saptama antikorları ile kaplanmış mikro ELISA plaklarının kuyucuklarına eklendi. VEGF-A ve özgül biyotinlenmiş saptama antikorları birleştirildikten sonra her kuyucuğa sırasıyla Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatı eklendi ve inkübe edildi. Serbest bileşenler yıkandıktan sonra VEGF-A, biyotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar önce mavi renk aldı, ardından enzim-substrat reaksiyonu reaksiyon durdurma çözeltisi eklenince maviden sarıya döndü. Optik yoğunluk, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen değer, VEGF-A konsantrasyonu ile doğru orantılı saptandı. Numunelerin optik yoğunluğu standart eğri ile karşılaştırılarak VEGF-A konsantrasyonu pg/ml cinsinden hesaplandı (164).

3.7.2. Tümör Nekrozis Faktörü-alfa (TNF- α) Düzeyinin Analizleri

TNF- α ölçümü, ELISA kit uygulama protokollerine uygun olarak yapıldı. Numunelerdeki sitokinlerin absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda çoklu kuyucuk okuyucu (Infinite pro200) kullanılarak ölçüldü. Sitokin düzeyleri pg/ml cinsinden ifade edildi.

3.8. Total Oksidan Seviye (TOS), Malondialdehit (MDA), Apoptozis ve İndirgenmiş Glutatyon (GSH) Düzeylerinin Analizleri

3.8.1. Total Oksidan Seviye (TOS) Analizleri

TOS düzeyi, otomatik bir ölçüm yöntemi kullanılarak belirlendi (165). Sonuçlar mmol H₂O₂ eşdeğeri olarak ifade edildi.

3.8.2. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Analizleri

Lipid peroksidasyon seviyelerini gösteren malondialdehit düzeyi, tiyobarbitürik asit (TBARS) reaksiyonu kullanılarak spektrofotometre cihazında ölçüldü (166). Tüm örnekler, 1/9 oranında (2,25 ml) TBARS solüsyonu ile sulandırıldı. Kör bir örnekle karşılaştırma yapmak için ise 0,25 ml fosfat tamponu ile 1/9 oranında TBARS karışımı kullanıldı. Örnekler ve kör numune, 100°C'lik bir su banyosunda 20 dakika boyunca ısıtıldıktan sonra çeşme suyu altında soğutuldu. Daha sonra, 2500 devirde 5 dakika süreyle santrifüj edilip üstteki pembe bölge otomatik bir pipetle alınarak, 532 nm dalga boyundaki spektrofotometrede kör numuneye karşı ölçüm yapıldı. Standart olarak ise aynı oranlarda hazırlanan 1,1,3,3-tetraethoxy propane solüsyonu kullanıldı. Sonuçlar nmol/gr cinsinden verildi.

3.8.3. Apoptozis Analizleri

Ultrasonik homojenizatör ile işlenmiş doku, 1 ml 1xPBS ile seyreltildi. Seyreltilmiş hücre homojenatından 150 µl'si apoptoz testi için ayrıldı ve her bir ependorf tüpünde 50 µl olacak şekilde 3 parçaya bölündü. Daha sonra her birine 950 µl 1x PBS eklenip pipetle karıştırıldıktan sonra, 3-5 µl apoptoz boyası (APOPercentage, Biocolor, Kuzey İrlanda) ilave edildi. Ependorf içerisindeki hücreler, boyanmaya bırakılmak üzere 30 dakika süreyle çalkalama yapan bir su banyosuna yerleştirildi, ardından 3500 RPM hızında 5 dakika süreyle santrifüj edilip süpernatant atıldı. Pelet, 1x PBS ile yıkandı ve 200 µl APOPercentage Dye Release ilave edildikten sonra tekrar santrifüj edildi. Son olarak süpernatant atıldıktan sonra kalan çökelti kuyucuklara aktararak ve 550 nm dalga boyunda Plate Reader cihazı (Infinite pro200) kullanılarak ölçüm yapıldı. Elde edilen değerler kontrol değerleri ile karşılaştırılarak hesaplandı (167).

3.8.4. İndirgenmiş Glutatyon (GSH) Analizleri

GSH düzeyleri literatüre uygun olarak spektrofotometre cihazı ile ölçüldü (168). GSH düzeyini belirlemek için kullanılan %10 triklorikasetik asit (TCA) solüsyonu olan tris tamponu (0,4 M pH:8,9); 1 litrede 48,46 gram tris-hydroxymethyl-aminomethan'ın hidroklorik asit (HCl) ile pH 8,9 olacak şekilde çözülmesi ile elde

edildi. 0,4 ml TCA solüsyonu ile 0,1 ml kan homejenatı karıştırıldı. 20 sn karıştırıcıda vortekslendikten sonra 3000 rpm de 5 dk santrifüj edildi ve 0,1 ml süpernatant temiz bir tüp içine alındı. Üzerine 0,9 ml distile su, 2,0 ml tris tamponu ve 0,1 ml DTNB solüsyonu eklendi. Oluşan sarı renk distile suya karşı spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar $\mu\text{mol/gr}$ cinsinden ifade edildi.

3.9. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu. Gruplar arasında incelenen parametrelerin aritmetik ortalama değerleri arasındaki farklar, lisanslı Prism 8 bilgisayar yazılımı (GraphPad Software, CA, ABD) kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda gümüş nitrat ile oluşturulan KNV modeli ve tedavi amaçlı uygulanan subkonjonktival enjeksiyonlar sonrası hiçbir gözde enfeksiyon, perforasyon gibi herhangi bir komplikasyon veya ilaca bağlı yan etki izlenmedi.

4.1. Kornea Neovaskülarizasyon Alanlarının Karşılaştırılması

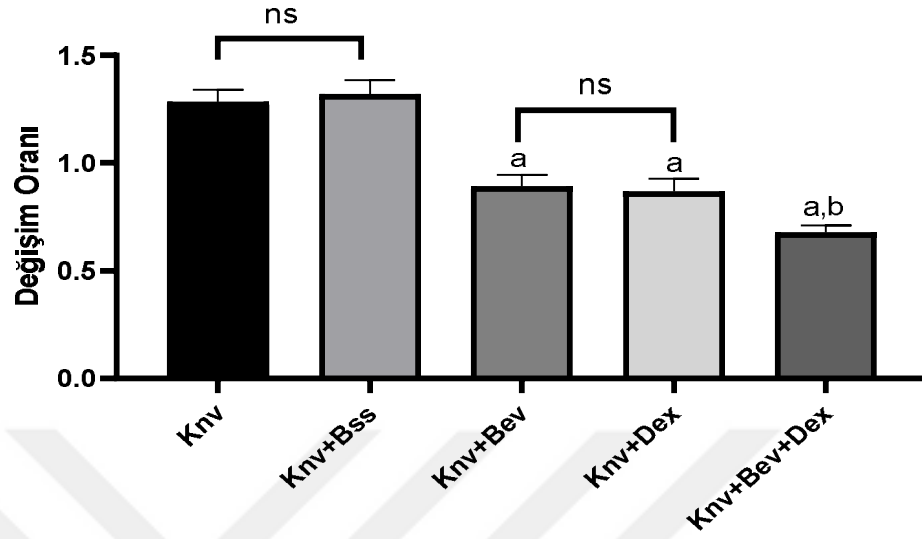
KNV alanlarının düzeyleri şekil 10'da sunulmuştur. Çalışmamızda KNV modeli 7. gün oluşturulmuş ve KNV alan hesaplaması (ImageJ) yapılmıştır. Tüm gruplarda 14. gün KNV alanları tekrar hesaplanarak elde edilen veriler 7. Gün değerlerine bölünüp KNV alan değişim oranı hesaplanmıştır.

KNV alanı değişim oranları bakımından, KNV (1,28) ve KNV+BSS (1,32) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır. KNV+BEVA (0,89) ve KNV+DEX (0,86) gruplarının, hem KNV hem de KNV+BSS gruplarıyla kıyaslandığında KNV alanı değişim oranlarını istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı ($p<0,0001$) bir şekilde azalttığı görülmüştür. KNV+BEVA ve KNV+DEX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır.

KNV+BEVA+DEX (0,67) grubunun, diğer tüm gruplarla kıyaslandığında ise KNV alanı değişim oranını istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı ($p<0,0001$ ve $p<0,0001$) bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir.

Tablo 4: Kornea Neovaskülarizasyon Alanları Analizinin Bulguları

Kornea Neovaskülarizasyon Alanları	Gruplar	Ortalama	Standart sapma
	KNV	1,28	0,06
	KNV+BSS	1,32	0,06
	KNV+BEVA	0,89	0,05
	KNV+DEX	0,86	0,06
	KNV+BEVA+DEX	0,67	0,03



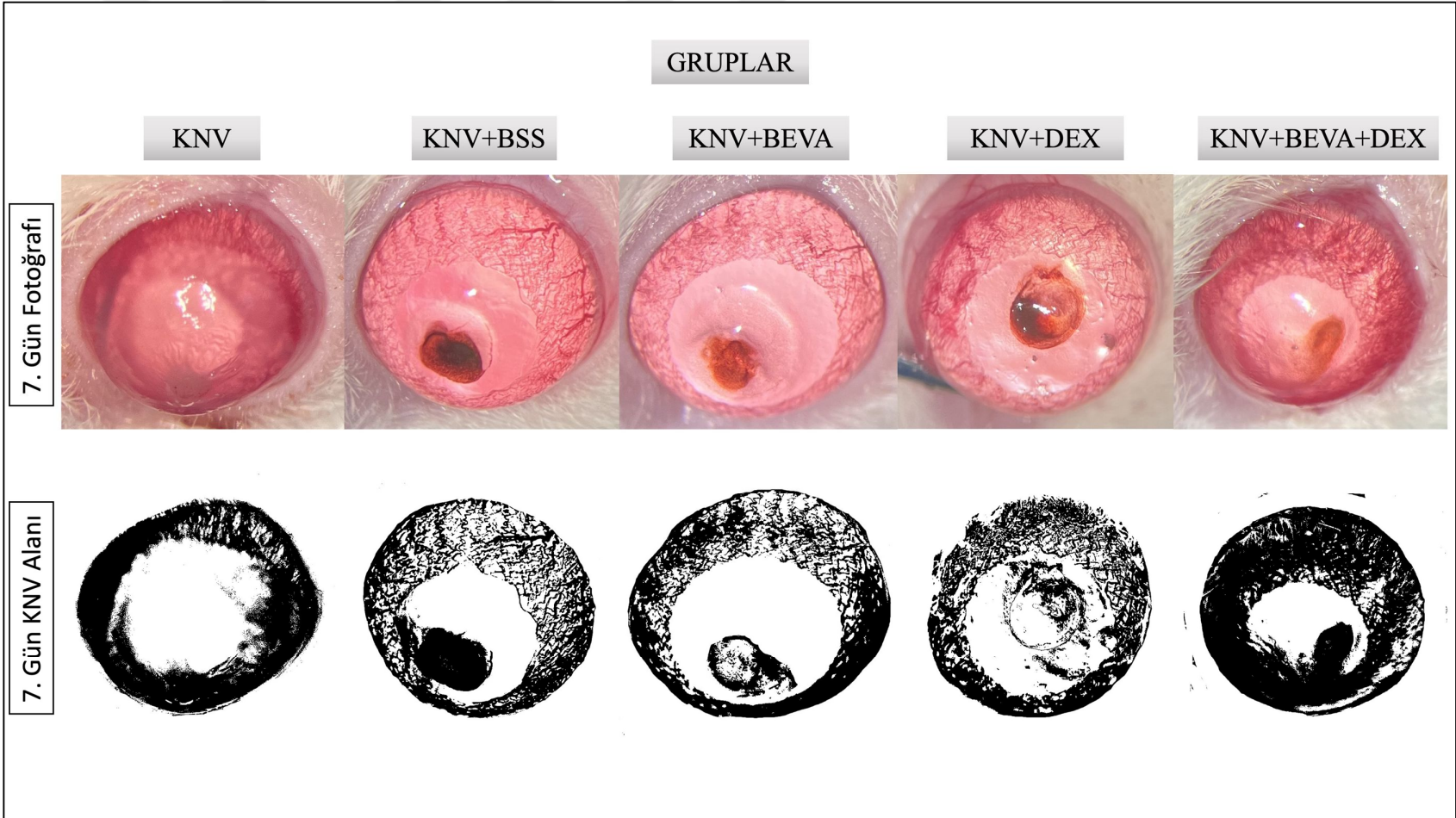
Şekil 10: Kornea neovaskülarizasyon alanının gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

*KNV Alanı Değişim Oranı (14. Gün / 7. Gün)

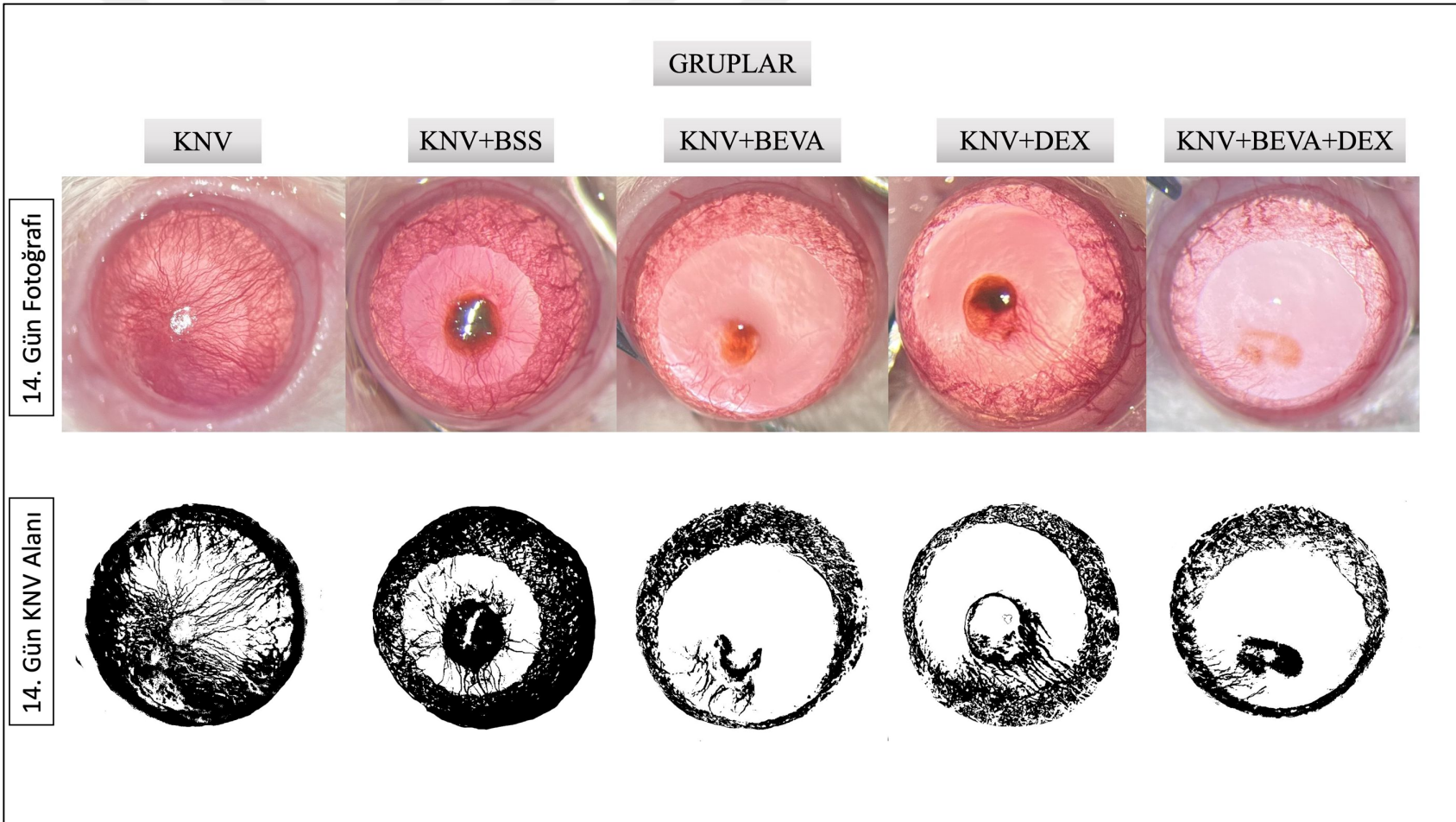
^ap<0,0001 KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla

^bp<0,0001 KNV+BEVA ve KNV+DEX gruplarına kıyasla

ns; No significance – Gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.



Resim 8: Deneyin 7. gününde gruplardan elde edilen fotoğraflar ve KNV alanının ImageJ programı ile alan analizi görüntüleri



Resim 9: Deneyin 14. gününde gruplardan elde edilen fotoğraflar ve KNV alanının imageJ programı ile alan analizi görüntüleri

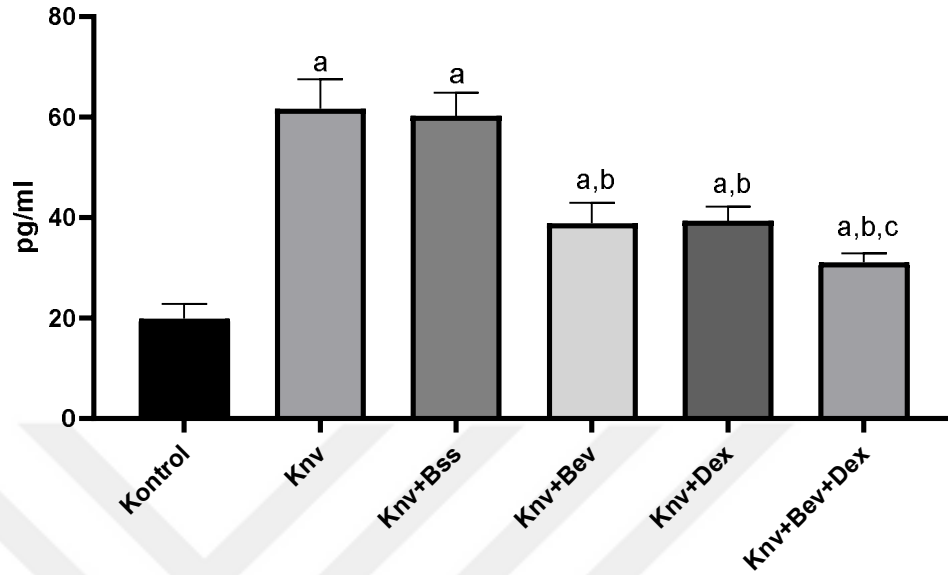
4.2. ELISA Yöntemi ile VEGF-A ve TNF- α Düzeyi Analizlerinin Bulguları

4.2.1. VEGF-A Düzeyi Analizinin Bulguları

VEGF-A düzeyleri şekil 11’de sunulmuştur. Gruplardaki VEGF-A pg/ml olarak verilmiştir. Kontrol grubuna (KNV oluşturulmamış)(19,83 $\pm$ 3,00) kıyasla, KNV (61,61 $\pm$ 5,88), KNV+BSS(60,19 $\pm$ 4,56), KNV+BEVA(38,82 $\pm$ 4,10), KNV+DEX (39,27 $\pm$ 2,90) ve KNV+BEVA+DEX (31,07 $\pm$ 1,84) gruplarında VEGF-A düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ap<0,0001) artmıştır. KNV ve KNV+BSS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. KNV+BEVA, KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX gruplarındaki VEGF-A düzeyleri KNV ve KNV+BSS grupları ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma (^bp<0,0001) olduğu belirlenmiştir. VEGF-A düzeyleri bakımından KNV+BEVA ve KNV+DEX grupları arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. KNV+BEVA+DEX grubu; KNV+BEVA ve KNV+DEX gruplarıyla kıyaslandığında ise VEGF-A düzeylerinde istatistiki açıdan önemli derecede anlamlı (^cp<0,0001) bir azalma olduğu bulunmuştur.

Tablo 5: VEGF-A Düzeyi Analizinin Bulguları

VEGF-A	Gruplar	Ortalama	Standart sapma
	Kontrol	19,83	3,00
	KNV	61,61	5,88
	KNV+BSS	60,19	4,56
	KNV+BEVA	38,82	4,10
	KNV+DEX	39,27	2,90
	KNV+BEVA+DEX	31,07	1,84



Şekil 11: VEGF-A düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

^ap<0,0001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,0001 KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla

^cp<0,01 KNV+BEVA ve KNV+DEX gruplarına kıyasla

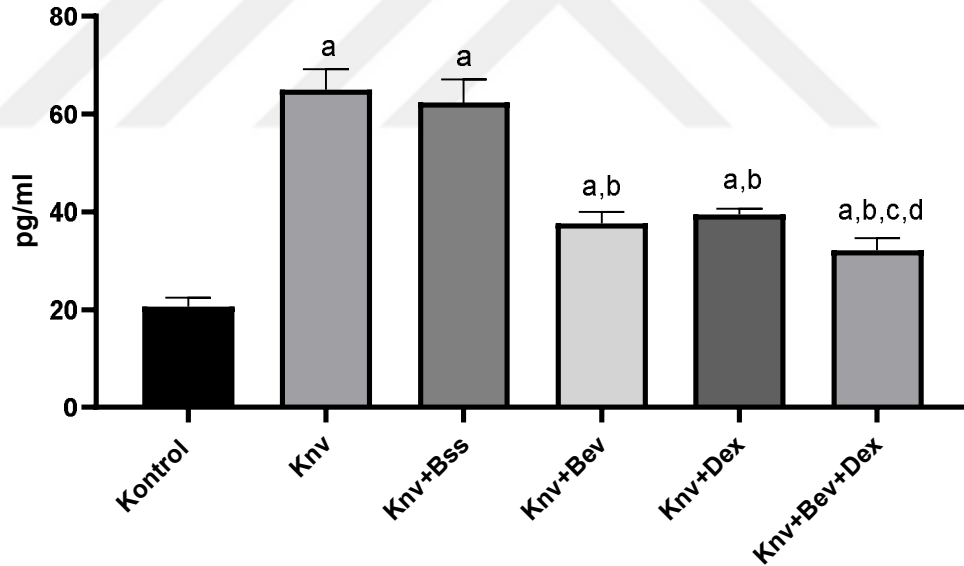
4.2.2. TNF- α Düzeyi Analizinin Bulguları

TNF- α düzeyleri şekil 12’de sunulmuştur. Gruplardaki TNF- α düzeyleri pg/ml olarak verilmiştir. Kontrol grubuna (KNV oluşturulmamış) ($20,58 \pm 1,85$) kıyasla, KNV ($64,90 \pm 4,21$), KNV+BSS ($62,26 \pm 4,84$), KNV+BEVA ($37,57 \pm 2,34$), KNV+DEX ($39,37 \pm 1,27$) ve KNV+BEVA+DEX ($32,07 \pm 2,52$) gruplarında TNF- α düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ap<0,0001) artmıştır. KNV ve KNV+BSS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. KNV+BEVA, KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX gruplarındaki TNF- α düzeyleri KNV ve KNV+BSS grupları ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma (^bp<0,0001) olduğu belirlenmiştir. KNV+BEVA ve KNV+DEX grupları karşılaştırıldığında TNF- α düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık saptanamamıştır. KNV+BEVA+DEX grubundaki TNF- α düzeyi, KNV+BEVA ve KNV+DEX gruplarıyla kıyaslandığında her iki gruba da istatistiki

açından önemli derecede anlamlı düzeyde (^cp<0,05 KNV+BEVA grubuna kıyasla ve ^dp<0,001 KNV+DEX grubuna kıyasla) bir azalma olduğu görülmüştür.

Tablo 6: TNF- α Düzeyi Analizinin Bulguları

	Gruplar	Ortalama	Standart sapma
TNF- α	Kontrol	20,58	1,85
	KNV	64,90	4,21
	KNV+BSS	62,26	4,84
	KNV+BEVA	37,57	2,34
	KNV+DEX	39,37	1,27
	KNV+BEVA+DEX	32,07	2,52



Şekil 12: TNF- α düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

^ap<0,0001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,0001 KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla

^cp<0,05 KNV+BEVA grubuna kıyasla

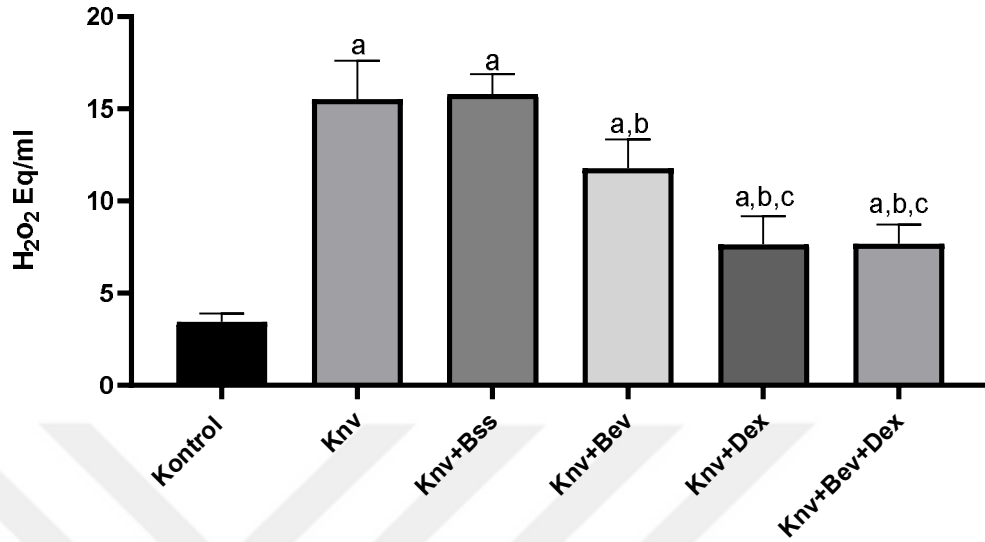
^dp<0,001 KNV+DEX grubuna kıyasla

4.3. Total Oksidan Seviye (TOS) Analizinin Bulguları

TOS sonuçları şekil 13’de sunulmuştur. Gruplardaki TOS sonuçları H_2O_2 Eq/ml olarak verilmiştir. Kontrol grubuna (KNV oluşturulmamış) ($3,41 \pm 0,48$) kıyasla, KNV ($15,53 \pm 2,07$), KNV+BSS ($15,81 \pm 1,06$), KNV+BEVA ($11,78 \pm 1,54$), KNV+DEX ($7,63 \pm 1,54$) ve KNV+BEVA+DEX ($7,67 \pm 1,05$) gruplarında TOS istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^a p < 0,0001$) artmıştır. KNV ve KNV+BSS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. KNV+BEVA, KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX gruplarındaki TOS düzeylerinin KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla önemli düzeyde ($^b p < 0,0001$) azaldığı tespit edilmiştir. KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ancak KNV+BEVA grubu ile TOS düzeyi bakımından kıyaslandığında her iki grupta da istatistiksel olarak önemli derecede ($^c p < 0,0001$) bir azalmanın olduğu saptanmıştır.

Tablo 7: Total Oksidan Seviye Analizinin Bulguları

	Gruplar	Ortalama	Standart sapma
Total Oksidan Seviye	Kontrol	3,41	0,48
	KNV	15,53	2,07
	KNV+BSS	15,81	1,06
	KNV+BEVA	11,78	1,54
	KNV+DEX	7,63	1,54
	KNV+BEVA+DEX	7,67	1,05



Şekil 13: TOS'un gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

^ap<0,0001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,0001 KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla

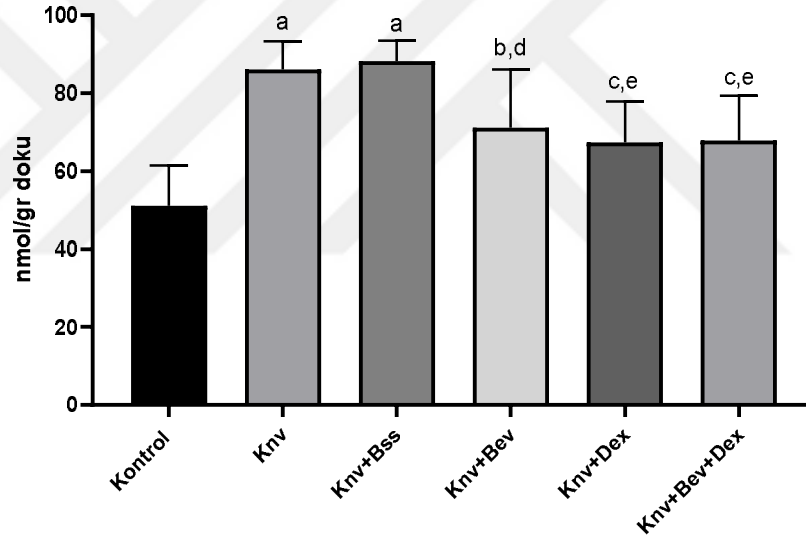
^cp<0,0001 KNV+BEVA grubuna kıyasla

4.4. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Analizinin Bulguları

MDA düzeyi sonuçları şekil 14'de sunulmuştur. Deney gruplarındaki MDA düzeyleri nmol/gram protein olarak verilmiştir. MDA düzeyinin, kontrol grubuna (51,06±10,30) kıyasla sırasıyla KNV (86,06±7,14), KNV+BSS (88,20±5,22) gruplarında (^ap<0,0001) ve KNV+BEVA (71,15±14,96) grubunda (^bp<0,01) önemli düzeyde arttığı bulunmuştur. KNV+DEX (67,41±10,45) ve KNV+BEVA+DEX (67,78±11,51) gruplarındaki MDA düzeyleri kontrol grubuyla kıyaslandığında önemli düzeyde (^cp<0,05) arttığı ancak bu iki grup KNV grubu ile kıyaslandıklarında ise MDA düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde (^cp<0,05) azaldığı görülmüştür. KNV+BEVA grubundaki MDA düzeyinin KNV+BSS grubuna kıyasla önemli ölçüde (^dp<0,05) azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX gruplarındaki MDA düzeylerinin KNV+BSS grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ep<0,01) azaldığı görülmüştür.

Tablo 8: Malondialdehit Düzeyi Analizinin Bulguları

Malondialdehit	Gruplar	Ortalama	Standart sapma
	Kontrol	51,06	10,30
	KNV	86,06	7,14
	KNV+BSS	88,20	5,22
	KNV+BEVA	71,15	14,96
	KNV+DEX	67,41	10,45
	KNV+BEVA+DEX	67,78	11,51



Şekil 14: Malondialdehit düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

^ap<0,0001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,01 Kontrol grubuna kıyasla

^cp<0,05 Kontrol ve KNV gruplarına kıyasla

^dp<0,05 KNV+BSS grubuna kıyasla

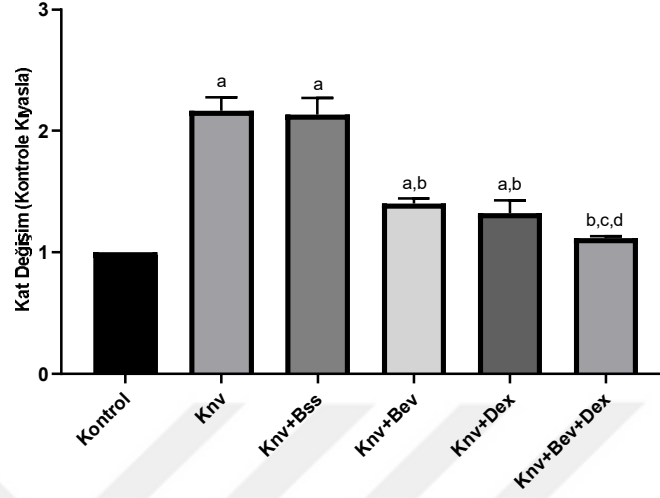
^ep<0,01 KNV+BSS grubuna kıyasla

4.5. Apoptozis Analizinin Bulguları

Apoptozis sonuçları şekil 15’de sunulmuştur. Kontrol grubundaki (KNV uygulanmayan) apoptozis düzeyi % 100 (1) kabul edilerek diğer gruplardaki apoptozis düzeyi kontrol grubuna kıyasla nispi değişim (kat artma veya azalma) olarak hesap ve ifade edilmiştir. Apoptozis düzeyi kontrol grubu ile kıyaslandığında KNV ($2,16 \pm 0,11$), KNV+BSS ($2,13 \pm 0,13$), KNV+BEVA ($1,40 \pm 0,04$) ve KNV+DEX ($1,32 \pm 0,10$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^a p < 0,0001$) artış olduğu gözlenmiştir. KNV+BEVA, KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX grupları KNV ve KNV+BSS gruplarıyla karşılaştırıldığında apoptozis seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^b p < 0,0001$) azaldığı görülmüştür. KNV+BEVA+DEX ($1,11 \pm 0,01$) grubundaki apoptozis düzeyinin KNV+BEVA ($^c p < 0,0001$) ve KNV+DEX ($^d p < 0,001$) gruplarıyla kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlı düzeyde azaldığı, kontrol grubuyla kıyaslandığında ise istatistiksel anlamda önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak; KNV grubuna kıyasla KNV+BSS grubunda ve KNV+BEVA grubuna kıyasla KNV+DEX grubunda apoptozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. KNV+BEVA+DEX grubu dışındaki tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla apoptozis seviyesinde artış gözlemlenirken, KNV+BEVA+DEX grubunda apoptozis seviyesi her ne kadar kontrol grubuna göre yüksek olsa da iki grup ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 9: Apoptozis Analizinin Bulguları

Apoptozis	Gruplar	Ortalama	Standart sapma
	Kontrol	1	0
	KNV	2,16	0,11
	KNV+BSS	2,13	0,13
	KNV+BEVA	1,40	0,04
	KNV+DEX	1,32	0,10
	KNV+BEVA+DEX	1,11	0,01



Şekil 15: Apoptozisin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

^ap<0,0001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,0001 KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla

^cp<0,0001 KNV+BEVA grubuna kıyasla

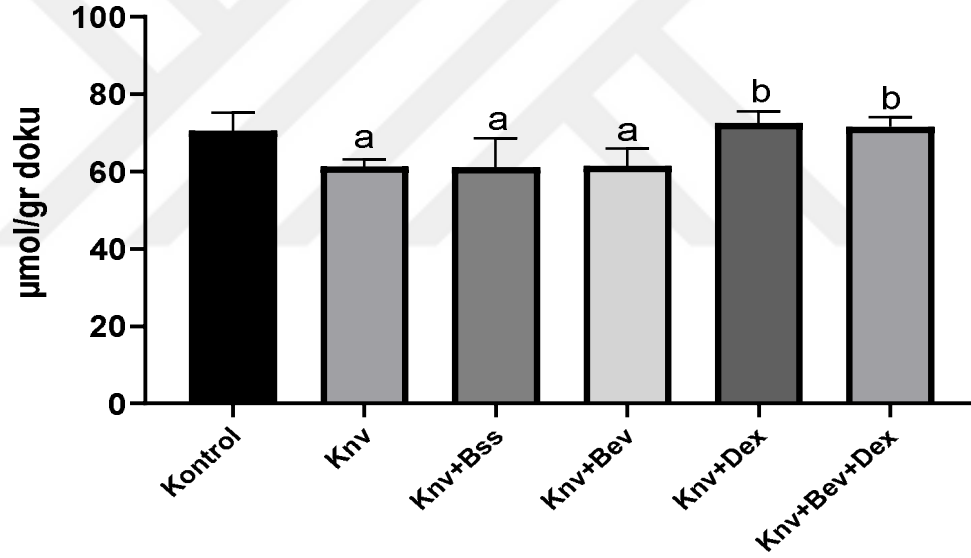
^dp<0,001 KNV+DEX grubuna kıyasla

4.6. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Düzeyi Analizinin Bulguları

GSH düzeyi sonuçları şekil 16'da sunulmuştur. Deney gruplarındaki GSH seviyeleri $\mu\text{mol/gram}$ protein olarak verilmiştir. KNV ($61,15 \pm 2,06$), KNV+BSS ($61,02 \pm 7,76$) ve KNV+BEVA ($61,26 \pm 4,87$) gruplarındaki GSH düzeyi kontrol grubu (KNV oluşturulmamış) ($70,43 \pm 4,89$) ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı (^ap<0,0001) bir azalma gözlemlenirken, KNV+DEX ($72,39 \pm 3,19$) ve KNV+BEVA+DEX ($71,48 \pm 2,71$) grupları, kontrol grubu ile kıyaslandığında ise önemli bir istatistiki farklılık olmadığı belirlenmiştir. Dexpanthenol uygulanan gruplar (KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX), dexpanthenol uygulanmayan gruplarla (KNV, KNV+BSS, KNV+BEVA) karşılaştırıldığında GSH düzeyinin dexpanthenol uygulanan gruplarda belirgin bir şekilde ve istatistiksel olarak oldukça yüksek bir anlamlılık (^bp<0,0001) düzeyinde arttığı tespit edilmiştir. GSH düzeyleri bakımından KNV, KNV+BSS ve KNV+BEVA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Tablo 10: İndirgenmiş Glutasyon Düzeyi Analizinin Bulguları

İndirgenmiş Glutasyon	Gruplar	Ortalama	Standart sapma
	Kontrol	70,43	4,89
	KNV	61,15	2,06
	KNV+BSS	61,02	7,76
	KNV+BEVA	61,26	4,87
	KNV+DEX	72,39	3,19
	KNV+BEVA+DEX	71,48	2,71



Şekil 16: GSH düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

^ap<0,0001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,0001 KNV, KNV+BSS ve KNV+BEVA gruplarına kıyasla

5. TARTIŞMA

Sağlıklı bir kornea, iris ve pupil önünde bulunan saydam ve damarsız bir dokudur. Optimum görmeyi sürdürmek, gözü enfeksiyonlardan ve yapısal zararlardan korumak için bu şeffaflık ve damarsızlık korunmalıdır. Anormal yeni damarlar, genellikle korneanın şeffaflığını koruyan normalde dengede tutulan anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerin dengesinin bozulmasının bir sonucu olarak, önceden var olan perikorneal yapılardan korneanın stromasına girebilir ve böylece KNV'ye yol açabilir (169). Enfeksiyon, inflamasyon, iskemi, travma ve limbal kök hücre bariyerinin kaybı gibi durumlar, korneanın saydamlığının kaybolmasına ve görmenin bozulmasına yol açmaktadır. Lipid keratopati, kornea ülserleri, herpes simpleks stromal keratiti, kimyasal yanıklar ve kontakt lens kullanımı gibi patolojiler sonucunda KNV gelişebilmektedir (170).

Kornea, proanjiyogenik uyarıların antianjiyogenik faktörlerle dengelendiği ve böylece damarsızlığın korunduğu bir homeostaz sağlar. Bu denge, insan gözyaşında bulunan çeşitli proanjiyogenik maddelerin varlığı ile belirginleştirilmiştir. KNV, bu dengede proanjiyogenik uyarıların daha baskın hale gelmesinden kaynaklanmaktadır. KNV'yi uyaran proanjiyogenik faktörler; VEGF, bFGF, MMP'ler, sitokinler, kemokinler ve PDGF'yi içermektedir. Bu faktörler arasında VEGF, en önemli proanjiyogenik faktör olarak kabul edilir ve VEGF-A, diğer izoformlarına kıyasla göz içi anjiyogeneizde en büyük rolü üstlenmektedir. KNV'yi inhibe eden antianjiyogenik faktörler; endojen VEGF tuzakları, vasküler endotel hücre inhibitörleri, trombospondinler ve metalloproteinazların doku inhibitörlerini içermektedir (96,171).

KNV'nin oluşumunu baskılamak ve korneanın saydamlığını korumak önemlidir. KNV'nin prognozu, tedavi yöntemlerine bağlıdır. KNV'nin tedavisi amacıyla birçok tedavi modalitesi denenmesine karşın literatürde kabul görmüş etkili ve kesin bir tedavi seçeneği yoktur. KNV'nin tedavisi amacıyla topikal steroidler, NSAİİ'ler, MMP inhibitörleri ve anti-VEGF ajanlar medikal tedavi olarak uygulanmıştır. Ayrıca argon lazer fotokoagülasyonu, fotodinamik terapi, koter ve kornea nakli gibi invaziv tedavi seçenekleri de KNV'nin tedavisinde kullanılmıştır (172). Ancak mevcut tüm bu tedavi girişimlerinin yüksek maliyeti, düşük etkinlik

göstermesi ve ciddi yan etkilere yol açması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu dezavantajlardan dolayı, görmeyi önemli ölçüde etkileyen KNV'nin tedavisinde yeni ve alternatif bir tedaviye ihtiyaç duyulmaktadır. Bizde çalışmamızda KNV'nin tedavisinde etkili bir tedavi seçeneği bulmayı amaçladık.

İlaç etkinliğini değerlendiren KNV modellenli deneysel çalışmalarda; alkali yanık, kornea sütürasyonu veya stroma içine proanjiyogenik madde enjeksiyonu gibi teknikler kullanılarak KNV modeli oluşturulmaya çalışılmıştır. Cogan ve ark. ilk kez kornea yüzeyinde alkali yanık oluşturarak KNV'yi oluşturmayı başarmışlardır (173). KNV modeli ayrıca literatürde kornea yüzeyine sütür yerleştirilerek de elde edilmiştir. Her iki modelde başarılı bir şekilde ilaç etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda kullanılmaktadır. Jia ve ark.'nın sütür ve alkali yanık ile oluşturulan KNV modellerinde gen ekspresyonlarını karşılaştırdıkları çalışmada, sütürlerin yalnızca lokalize bir epitel kaybına neden olduğu, sütür alanı ile limbus arasında sınırlı bir inflamasyon olduğu, KNV'nin sadece bu alanda geliştiği ve korneanın diğer alanlarında ise herhangi bir etkilenme olmadığı gözlenmiştir. Alkali yanık ile oluşturulan modelde ise merkezi korneada tüm epitelin tahrip olduğu ve korneanın tamamına yayılan yoğun bir inflamasyon geliştiği belirtilmiştir. İki durum arasındaki belirgin reaksiyon farkına rağmen her iki KNV modelini oluşturma tekniğinin deneysel olarak aynı etkinliği sağlayacağı, sadece KNV görünümü ve ilerleme hızlarının muhtemelen yoğun inflamasyona bağlı maskelenebileceğinden alkali yanıkta biraz daha yavaş olacağı (en hızlı ilerleme sütür ile 5. gün, alkali yanık ile 6. gün) belirtilmiştir (174). Alkali yanıklarda gözlenen ve temelde endotel harabiyetinin nedeni, iskemiden kaynaklanan büyüme faktörlerinin inflamatuvar sitokinleri aşırı arttırarak nitrik oksit seviyelerini değiştirip damar iltihaplanmasına yol açmasıdır. Ayrıca, neovaskülarizasyon sırasında anjiyogenik faktörler artarken, antianjiyogenik faktörler azalır (90). Hipoksik ortamda yoğun bir şekilde salgılanan VEGF, yalnızca bir proanjiyogenik faktör olarak değil, ayrıca endotel ve bazal membranları uyarak hasar görmüş veya normal hücre fonksiyonlarının da yenilenmesini teşvik etmektedir (175). Aynı zamanda alkali yanık sonrası humör aközde VEGF düzeyinin arttığı gösterilmiştir (176). Bizde çalışmamızda dexpanthenolün etkinliğini değerlendirmek için VEGF düzeyinin yükselmesini daha çok sağlayan KNV modeli oluşturmak

amacıyla Mahoney ve Waterbury tarafından tarif edilen gümüş nitrat aracılı alkali yanık ile KNV modelini oluşturmaya tercih ettik (163).

VEGF; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plasental büyüme faktörünü içeren gen ailesine ait bir büyüme faktörüdür. VEGF-A, anjiyogenezin ana düzenleyicisi olarak kabul edilir, ayrıca VEGF-C ve VEGF-D lenfanjiyogenezin önemli düzenleyicilerindendir. Tümör hücre çoğalmasında VEGF-A'nın aşırı üretimi, KNV oluşumuna benzer bir şekilde gözlenmiştir. VEGF-A, proteolitik aktivite, vasküler endotel hücre çoğalması, göç ve kapiller lümen oluşumu dahil olmak üzere anjiyogenezin çeşitli aşamalarını destekler. VEGF-A'nın korneal anjiyogenezdeki önemi, anti-VEGF-A antikoru uygulamasıyla neovaskülarizasyonun hayvan modellerinde deneysel olarak inhibe edilmesi yoluyla gösterilmiştir (177). Bevacizumab, VEGF-A'nın biyolojik olarak aktif tüm izoformlarına bağlanarak onları engelleyen bir rekombinant humanize monoklonal antikordur. Bu antikor, anormal kan damarı yapısının oluşmasını ve damar geçirgenliğinin azalmasını önleyerek VEGF'yi etkisiz hale getirir. Bevacizumab, ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından metastatik kolon kanseri tedavisi için onaylandı. Bevacizumab'ın gözle ilgili kullanım alanları henüz FDA tarafından onaylanmamış olmasına rağmen, eksüdatif yaşa bağlı maküler dejenerasyon, proliferatif diyabetik retinopati ve iris rubeosisinin tedavisinde off-label kullanımı umut verici kısa vadeli sonuçlar göstermiştir. Bu umut verici sonuçlardan yola çıkarak çok sayıda araştırmacı, bevacizumabın deneysel modellerde ve insan klinik vakalarında KNV'nin inhibisyonu veya gerilemesi için kullanımıyla ilgili veriler sunmaktadır (178). Bevacizumabın off-label olarak birçok çalışmada gözde; topikal, subkonjonktival ve intravitreal olarak literatürde kullanıldığı bildirilmektedir (179). Metastatik kolon kanseri tedavisi için FDA onayı olan bevacizumab'ın; hipertansiyon, lenfopeni, trombositopeni, tromboembolik olay, mide bulantısı ve kusma, hipokalemi ve konvülsiyon gibi yan etkileride bildirilmiştir. Ancak göz de kullanımı sonrasında bu yan etkilerle sık olarak karşılaşmadığı da bildirilmiştir (180).

Manzano ve ark. ratlarda oluşturdukları KNV modelinde topikal bevacizumab (4 mg/ml) uygulamasının KNV'yi sınırladığını göstermiştir (181). You ve ark. kornea skarlaşması, greft reddi, lipid ve büllöz keratopatiye bağlı KNV'si olan hastaların 29 gözüne, farklı dozlarda tek bir subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu (1,25

mg/0,05 ml, 2,5 mg/0,1 ml ve 5,0 mg/0,2 ml) ile tedavi uygulamış ve 1,25 mg bevacizumab enjekte edilen göz bölgelerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadığını, 2,5 ve 5 mg bevacizumab ile tedavi edilen gözlerde ise kornea neovaskülarizasyonunda kısmi bir azalma gözlemlendiğini bildirmişlerdir (182). Doctor ve ark. KNV'si olan hastaların 8 gözünü içeren bir vaka serisinde, hastalara 1-3 kez 2,5 mg/0,1 ml subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapmışlar ve 8 gözün tamamında subkonjonktival bevacizumab'ın korneada yan etki oluşturmaksızın KNV'yi belirgin bir şekilde azalttığını bildirmişlerdir (183). KNV modeli üzerinde bevacizumab tedavisinin etkili olduğu literatürde yapılan birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Biz de çalışmamızda dexpanthenolün etkinliğini değerlendirmek amacıyla bevacizumabı seçtik.

Dastjerdi ve ark. kornea nakli sonrası sağkalımda topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkinliğini araştırdıkları çalışmada, bir tedavi grubuna topikal bevacizumab %2,5 (25 mg/ml) 3 hafta boyunca günde 3 kez; diğer bir gruba ise subkonjonktival 0,02 ml bevacizumab %2,5 (0,5 mg) 0, 4, 8 ve 15. günlerde uygulamıştır. KNV alanındaki ortalama azalma yüzdesi 8. haftaya göre, subkonjonktival bevacizumab ile tedavi edilen grupta %55 iken topikal bevacizumab ile tedavi edilen grupta %33 olarak ölçülmüştür. Ayrıca hem kontrol hemde topikal bevacizumab uygulanan gruplardaki tüm kornea nakilleri 4 hafta sonra reddedilmiştir. Ancak subkonjonktival bevacizumab uygulanan gruptaki kornea nakillerinin %33'ü sağkalmıştır. Bu sonuçlara göre subkonjonktival uygulamanın topikal uygulamaya kıyasla daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (184). Topikal olarak kullanılan bevacizumab, damar baskılamasının yanı sıra epitel bütünlüğünün kendiliğinden bozulmasına ve stromal incelmanın ilerlemesine neden olabilmektedir. Topikal bevacizumabın kornea epitel kusurlarını tetikleyebilme potansiyeli bulunmaktadır. VEGF fonksiyonunun engellenmesi aynı zamanda yara iyileşmesini olumsuz etkileyerek iskemiye yol açabilir ve genel doku hasarını artırabilir. Topikal bevacizumab tedavisinin farklı nedenlere sahip KNV üzerindeki etkisi araştırılmış ve ilk ayda KNV'yi azaltmada etkili olduğu sonucuna varılmış ancak ikinci aydan itibaren olumsuz etki riski artmaya başlamıştır (185). Zaki ve ark. farklı oküler yüzey bozukluklarının neden olduğu KNV'li 10 gözü inceledikleri çalışmada, subkonjonktival bevacizumab (2,5 mg/0,1 ml) enjeksiyonunun 3 aya kadar KNV'nin

toplam alanı ve yaygınlığında önemli bir şekilde azalma sağladığını bildirmişlerdir (186). Rocher ve ark. anti-VEGF antikorumun ratlarda etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada subkonjonktival uygulamanın topikal uygulamaya kıyasla daha etkili sonuçlar verdiğini bildirmiştir (187). Literatürdeki yapılan çalışmalar incelendiğinde topikal bevacizumab uygulamasının kornea epitel kusurlarını tetikleyebilme potansiyeli ve subkonjonktival uygulamanın topikal uygulamaya kıyasla daha etkili olması nedeniyle çalışmamızda ilaçları subkonjonktival yolla uygulamayı tercih ettik.

Awadein ve ark. keratoplasti sonrası KNV gelişen 3 hastada, tek doz subkonjonktival bevacizumab (2,5 mg/0,1 ml) enjeksiyonunun erken dönemde kornea damarlanmasında ve bulanıklığında ani gerileme sağladığını bildirmişlerdir (188). Hosseini ve ark. 20 yeni Zelenda tavşanının gözünde oluşturdukları KNV modeli üzerinde yaptıkları çalışmada, subkonjonktival bevacizumab (2,5 mg/0,1 ml) enjeksiyonunun toplam KNV alanını anlamlı bir şekilde azalttığını göstermişlerdir (189). Acar ve ark. farklı dozlarda bevacizumab uygulamasının KNV üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmada, gruplardan birine subkonjonktival olarak bevacizumab 2,5 mg/0,1 ml uygulanırken diğer gruba ise 5 mg/0,2 ml dozda uygulanmıştır. 6 ay takip ettikleri hastalarda herhangi bir oküler veya sistemik bir yan etki ile karşılaşmadıklarını ve 6. ayın sonunda 2,5 mg/0,1 ml bevacizumab alan grupta KNV'nin 32.0 ± 3.0 oranında gerilediğini, 5 mg/0,2 ml bevacizumab alan grupta ise KNV'nin 31.0 ± 2.3 oranında gerilediğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar her iki bevacizumab dozunun birbirlerine karşı istatistiksel olarak anlamlı farklılık sağlamadığını ancak KNV'yi etkili bir şekilde azalttığını göstermektedir (190). Bizde çalışmamızda kimyasal yanık sonrası 7. günde KNV için bevacizumabı tek doz subkonjonktival olarak ve 2,5 mg/0,1 ml dozda olacak şekilde uygulamayı tercih ettik.

Pantotenik asit, B kompleks vitaminlerinin bir parçası olup, Roger J. Williams tarafından 1931 yılında mikrobiyal büyüme faktörleri üzerine yapılan araştırmalar sırasında keşfedildi. 1934 yılında pantotenik asidin mayadaki hücre çoğalmasını önemli ölçüde teşvik ettiği gösterildi ve bu durum nihayetinde ilk topikal dexpanthenol preparatı (Bepanthen™) geliştirilmesine yol açtı. Dexpanthenol, pantotenik asidin kararlı bir alkolik türevidir ve pantotenik asidin aksine cilt tarafından iyi emilir. Bepanthen™ ilk kez yaklaşık 80 yıl önce (1944'te) merhem olarak piyasaya sürüldü. Günümüzde pediatrik kullanımdan yetişkin kullanımına kadar kişisel ihtiyaçlara

uygun çeşitli dexpanthenol preparatları bulunmaktadır (krem, losyon, damla, jel, yağ, merhem, ampul ve sprej). CoA, stratum korneumun lipit tabakaları için önemli olan yağ asitleri ve sfingolipidlerin sentezini hızlandırır, bu nedenle pantotenik asit, epitel fonksiyonlarının sürdürülmesi için gereklidir (155). Aynı zamanda, hücre büyümesi, enerji üretimi ve nörotransmitter sentezi gibi metabolizmanın farklı yönlerinde de birçok biyokimyasal etkiye sahiptir (191). İndirgenmiş glutasyonu ve antioksidan enzimlerini artırarak, hücrel savunma sistemini oksidatif strese ve inflamatuvar saldırılara karşı destekler (192). Bilgiç ve ark. çalışmalarında dexpanthenolün sisplatin kaynaklı hepatotoksisteye karşı sitoprotektif, antioksidan ve antiinflamatuvar etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir (193). Amikasin ve bleomisin enjeksiyonlarından bir saat önce başlayarak ve deneyin 14. günü sonuna kadar uygulanan dexpanthenolün, böbrek ve akciğer dokularındaki oksidatif hasara karşı koruyucu olduğu bulunmuştur (194,195). Yara iyileşme süreci genellikle üç aşamada gerçekleşir: inflamasyon, hücre çoğalması ve ekstraselüler matriks birikimi. Dokunun yeniden şekillenmesi için hücrelerin artan yenilenmesi, pantotenik asite olan ihtiyacı artırır. Dexpanthenolün yara iyileşmesine yönelik rapor edilen faydalı etkisinin, artan fibroblast çoğalması ve hızlanmış epitelleşmenin bir sonucu olduğu öne sürülmüştür (196,197). Mencucci ve ark. içinde dexpanthenol bulunan oftalmik antiseptik solüsyonun, korneal hücre yara iyileşmesini destekleyerek hücre canlılığını arttırdığını bildirmiştir (198). Sabur ve ark. keratokonusu bulunan hastalarda korneal epitelyal iyileşmeyi değerlendirdikleri çalışmada, dexpanthenol %2 göz damlasının kornea ödemi azalttığını ve daha hızlı korneal epitelizasyon gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir (199). Toplu ve ark. yaptıkları çalışmada, ratlara sisplatin ile aynı anda enjekte edilen ve 5 gün boyunca uygulanan dexpanthenolün, sisplatin kaynaklı ototoksisteyi önleyici etkisinin olduğunu bildirmişlerdir (200). Dexpanthenolün literatürdeki yapılan çalışmalarda antioksidan, antiinflamatuvar, re-epitelizan ve yara iyileşmesini indükleyen etkileri bilinmektedir. Ancak anjiyogenez mekanizmaları üzerine etkisi pek bilinmemektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar dexpanthenolün KNV üzerine etkilerini ilk kez ortaya koymuştur. Bu sebeple literatüre sağlayacağı katkıdan dolayı özgün değerinin yüksek bir çalışma olacağını düşündük. Dexpanthenolün KNV üzerindeki etkilerini bevacizumab ile karşılaştırmalı olarak incelerken, bevacizumab ile aynı hacimde ve aynı uygulama

protokolü ile 25 mg/0,1 ml dozda dexpanthenolü subkonjonktival olarak uygulamaya karar verdik.

Çelenk ve ark. deneysel KNV modeli üzerinde topikal motesanibin etkisini değerlendirdikleri çalışmada, KNV alanı KNV grubunda en yüksek seviyede izlenmiş olup, bevacizumab ve motesanib uygulanan tedavi gruplarında anlamlı bir şekilde azaldığını ancak tedavi grupları arasında anlamlı farklılık olmadığını bildirmişlerdir (201). Claros-Chacaltana ve ark. ratlarda oluşturulan KNV modelinde metronidazol oftalmik solüsyonun etkisinin araştırdıkları çalışmada, %0,1 ve %0,5 metronidazol alan gruplarda sırasıyla %60,9 ve %38,91 oranında KNV'nin azaldığını, tedavi görmeyen KNV grubunda ise %87,04 oranında KNV'nin arttığını bildirmişlerdir (202). Mehrjardi ve ark. ratlarda KNV'nin önlenmesi amacıyla bevacizumaba yardımcı olarak triamsinolon asetonidin etkisini araştırmışlardır. Çalışmada KNV alanı değerlendirmesi için 7. ve 14. günlerde kornea fotoğrafları elde edilerek ImageJ programı üzerinde yüzdeleri hesaplanmıştır. KNV alanı hiçbir tedavi uygulanmayan grupta artış gösterirken, bevacizumab ve triamsinolon asetonid uygulanan gruplarda azalma göstermiştir. Ancak en çok azalma triamsinolon asetonid uygulanan gruplarda kaydedilmiştir (203). Şener ve ark. subkonjonktival olarak enjekte ettikleri EGF ve VEGF inhibitörlerinin (trastuzumab, ranibizumab, bevacizumab, pegaptanib) deneysel KNV modeli üzerine etkisini araştırmışlardır. Deney sonunda KNV alanları analiz edildiğinde, tedavi gruplarında kontrol grubuna kıyasla KNV yüzdesi anlamlı bir şekilde azalmıştır. Elde edilen sonuçlar bevacizumabın KNV oluşumunu diğer ilaçlara kıyasla daha fazla inhibe ettiğini göstermiştir (204). Çalışmamızda ise, KNV ve KNV+BSS gruplarında en yüksek KNV alanı kaydedilmiştir. KNV+BEVA ve KNV+DEX grupları hem KNV hem de KNV+BSS gruplarıyla kıyaslandığında ise KNV alanlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma izlenmiştir. Bevacizumab ve dexpanthenol uygulanan gruplar arasında farklılık bulunamamıştır. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde bevacizumab uygulanan grupta KNV alanı azalmıştır. Ancak burada dikkat çeken sonuç dexpanthenol uygulanan grupta elde edilmiştir. Dexpanthenol enjeksiyonu bevacizumaba yakın düzeyde KNV alanını azaltmıştır. Ayrıca çalışmamızda diğer gruplara kıyasla en yüksek KNV alanı gerilemesi KNV+BEVA+DEX grubunda izlenmiştir. Bu sonuç bevacizumab ile dexpanthenolün

kombine uygulanmasının, tek başlarına uygulanmalarından KNV alanının azaltılmasında daha etkili sonuçlar doğuracağını düşünmemizi sağlamıştır.

Eski ve ark. subkonjonktival bevacizumab, ranibizumab ve afliberceptin KNV üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmada, immunohistokimyasal VEGF boyama ile sadece salin uygulanan grupta en yüksek boyanmanın elde edildiği ancak ranibizumab, aflibercept ve bevacizumabın boyanmayı kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (205). Yıldırım ve ark. deneysel KNV modeli üzerinde nilotinib ve bevacizumabın etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada, ELISA yöntemiyle gruplar arasındaki VEGF düzeylerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada tedavi uygulanmayan KNV grubunda sağlıklı gözlere oranla VEGF düzeyinin anlamlı bir şekilde arttığını, tedavi uygulanmayan KNV grubuna kıyasla bevacizumab uygulanan grupta ise VEGF düzeylerinin anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir. Nilotinibin 20 ve 40 µM uygulanan dozu bevacizumaba eşdeğer etki göstermiştir (206). Sarı ve ark. subkonjonktival tocilizumabın deneysel KNV modelindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmada, gruplardan birisine tocilizumab diğerine ise salin uygulamışlardır. ELISA yöntemiyle gruplar arasındaki VEGF düzeylerini karşılaştırmışlar ve tocilizumabın VEGF düzeyini anlamlı bir şekilde azalttığını bildirmişlerdir (207). Kadar ve ark. tavşanlarda yaptıkları çalışmada KNV modeli üzerinde topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkinliğini değerlendirmişlerdir. ELISA yöntemiyle tespit ettikleri VEGF düzeylerinin, subkonjonktival uygulanan grupta anlamlı bir şekilde azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca hem topikal hem de subkonjonktival bevacizumab uygulaması KNV üzerine etkili bulunmuştur (208). Kim ve ark.'nın tavşanlarda oluşturulan KNV modeli üzerinde bevacizumabın etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkinliği kontrol grubuyla kıyaslanmıştır. Korneadaki VEGF düzeyleri ELISA yöntemiyle değerlendirilmiş olup kontrol grubuna kıyasla hem topikal hem de subkonjonktival bevacizumab uygulaması VEGF düzeyini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır (209). Çalışmamızda KNV ve KNV+BSS gruplarında VEGF-A düzeyi sağlıklı gözlerin olduğu kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yükselmiş olup bevacizumab ve dexpanthenol uygulanan gruplar durumu tersine çevirerek VEGF-A düzeyini azaltmıştır. Literatürde yapılan çalışmalarla benzer şekilde bevacizumab uygulaması VEGF-A düzeyini azaltmıştır. Ancak bu sonuçların dikkat çeken noktası

subkonjonktival dexpanthenolün VEGF-A düzeyini subkonjonktival bevacizumaba benzer oranda azaltmasıdır. Bu sonuç anjiogenez üzerine etkisi bilinmeyen dexpanthenolün aslında antianjiogenetik bir ajan olabileceğini göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda kombine bevacizumab ve dexpanthenol uygulamasının diğer tüm gruplara kıyasla VEGF-A düzeyini anlamlı bir şekilde azaltarak kombine tedavinin daha etkili sonuçlar verebileceğini göstermiştir.

Zhao ve ark. deneysel fare modeli ile sepsis kaynaklı böbrek ve karaciğer hasarında dexpanthenolün rolünü araştırdıkları bir çalışmada, dexpanthenolün fare serumunda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 ekspresyonlarını azalttığını ve böbrek dokusundaki fonksiyonel bozukluğu, patolojik hasarı, inflamasyonu ve hücre apoptozunu hafiflettiğini belirtmişlerdir (15). Wang ve ark. farelerdeki KNV modeli üzerinde kanstatinin etkinliğinin değerlendirdikleri çalışmada, gruplar arasındaki TNF- α düzeylerinin KNV grubuna kıyasla kanstatin ile anlamlı düzeyde azaldığını bildirmiştir (210). Canacankatan ve ark. axitinibin deneysel KNV modelinde inflamasyona etkisini araştırdıkları çalışmada, ELISA yöntemiyle TNF- α düzeyleri ölçülmüştür. TNF- α düzeyleri KNV grubunda en yüksek düzeyde izlenmiş olup %0,08 axitinib uygulaması durumu tersine çevirerek KNV grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde TNF- α düzeyini azaltmıştır (211). Wen ve Yang ratlarda KNV modeli üzerinde hidrojenli göz damlasının etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, ELISA yöntemiyle TNF- α düzeylerini gruplar arasında karşılaştırmışlardır. Hidrojen içeren göz damlası ile tedavi edilen grubun TNF- α düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur (212). Cho ve ark.'nın albendazolün kornea üzerindeki antianjiyogenez etkisini bevacizumab ile karşılaştırmalı olarak inceledikleri çalışmalarında, TNF- α düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile değerlendirilmiş, albendazol uygulanan gruplar salin uygulanan gruplara kıyasla TNF- α düzeyini anlamlı bir şekilde azaltmıştır (213). Periferik bağışıklık hücreleri, TNF- α ve interlökin-1 β gibi inflamatuvar mediyatörleri salgırlar, bu da yara iyileşme sürecini olumsuz etkileyebilir. Göz travması sonrası TNF- α inhibisyonunun, korneal re-epitelizasyonu artırdığı, korneal skarı azalttığı, endotel hücrelerinin hayatta kalmasını desteklediği ve periferik ön sineşiyi engellediği gösterilmiştir (214). Çalışmamızda KNV ve KNV+BSS gruplarında en yüksek TNF- α düzeyi izlenmiş olup bevacizumab ve dexpanthenol uygulaması literatürdeki çalışmalarla benzer olarak TNF- α düzeyini

anlamalı bir şekilde azaltmıştır. Bevacizumab ve dexpanthenolün tek başlarına uygulandıkları gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ve farklılığın bulunmaması dexpanthenolün TNF- α ekspresyonunu geriletmede bevacizumab kadar etkili olduğunu düşündürmüştür. Kombine bevacizumab ve dexpanthenol uygulanan grupta, diğer KNV oluşturulan gruplara kıyasla daha düşük TNF- α düzeyi izlenmiştir. Böylece çalışmamız dexpanthenol uygulamasının TNF- α düzeyini azaltarak, korneal re-epitelizasyon ve stromal yara iyileşmesine katkı sağlayacağını düşündürmüştür.

Özden ve ark. lipopolisakkarit kaynaklı akut böbrek hasarına karşı dexpanthenolün koruyucu etkisini değerlendirdikleri çalışmada, böbrek dokularındaki oksidatif stresi belirlemek için total oksidan ve antioksidan seviye düzeylerini hesaplamışlardır. Lipopolisakkarit uygulamasının TOS düzeylerini arttırdığını ancak dexpanthenol uygulamasının anlamlı bir şekilde TOS düzeylerini azalttığını göstermişlerdir. Çalışmalarında dexpanthenol tedavisinin oksidatif strese ve apoptoza karşı iyileştirici bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir (215). Tutun ve ark. diyabetik nefropati ve renal oksidatif stres üzerinde dexpanthenolün etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, dexpanthenolün anlamlı bir şekilde TOS düzeyini azalttığını göstermişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre dexpanthenolün oksidatif strese karşı antioksidan enzimleri arttırdığını ve serbest radikal temizleyicisi olarak görev yaptığını bildirmişlerdir (216). Kalkan ve ark. ratlarda izoproterenol kaynaklı kalp hasarında dexpanthenolün koruyucu etkisini değerlendirdikleri çalışmada, dexpanthenolün TOS düzeylerini azaltarak antioksidan etkinlik gösterdiğini ve kalp dokusu üzerinde izoproterenolün toksik etkisine karşı kardiyoprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir (217). Dinç ve ark. kafeik asit fenetil ester ve bevacizumabın insan retina pigment epitelinde hidrojen peroksitin neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu etkisini değerlendirdikleri hücre kültürü çalışmasında, bevacizumab uygulaması TOS düzeylerini düşürerek hidrojen peroksitin neden olduğu oksidatif stresi azaltmıştır (218). Çalışmamızda da KNV ve KNV+BSS gruplarında TOS düzeyleri kontrole kıyasla artış göstermiştir. BSS uygulamasının TOS düzeylerini geriletmemesi deneyin beklenen bir sonucudur. Bevacizumab uygulaması TOS düzeylerini KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla anlamlı bir şekilde geriletsede, dexpanthenol uygulaması bevacizumab uygulamasına kıyasla TOS düzeylerini anlamlı bir şekilde daha fazla azaltmıştır. Dexpanthenol uygulanan

KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX gruplarında diğer gruplara kıyasla en düşük TOS düzeyleri izlenmiştir. Bu sonuçlar dexpanthenol uygulamasının KNV modelinde oksidatif strese karşı koruyucu etkilerini göstermiştir. Ayrıca literatürdeki yapılan çalışmalara benzer olacak şekilde hem bevacizumab hem de dexpanthenol TOS düzeylerini anlamlı bir şekilde azaltsada, oksidatif stresin engellenmesi üzerine dexpanthenol uygulaması bevacizumab uygulamasına göre daha etkili sonuçlar vermiştir.

Tutun ve ark. dexpanthenolün ratladaki diyabetik nefropati ve renal oksidatif stres üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, MDA düzeyi diyabet grubunda kontrole kıyasla yükselmiş ve dexpanthenol uygulanan diyabet grubunda MDA düzeyi azalmıştır (216). Gürler ve ark. metotreksatın neden olduğu karaciğer oksidatif hasarına karşı dexpanthenolün etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, dexpanthenol uygulaması MDA düzeylerini anlamlı bir şekilde azaltarak, metotreksatın neden olduğu oksidatif stresi önemli ölçüde engellemiştir (219). Lipid oksidasyonunun bir ürünü olan MDA, oksidatif stresin yaygın olarak kullanılan bir indeksidir. Yüksek düzeyde hücre içi reaktif oksijen türlerinin birikimi, hücre apoptozuna neden olabilecek hücrel organellerin işlev bozukluğuna neden olabilmektedir (220). Çalışmamızın sonuçları bevacizumab ve dexpanthenol uygulamasının MDA düzeyini azalttığını göstermiştir. Ancak dexpanthenol uygulaması bevacizumaba kıyasla daha etkili bir şekilde MDA düzeylerini azaltmıştır. Böylece dexpanthenol uygulamasının kornea hücrelerinin homeostazını koruduğunu göstermiştir. Bu KNV'nin, inflamasyonun ve kornea şeffaflığının dexpanthenol uygulaması ile iyileştirilmesine bağlanabilir.

Apoptosis düzeyi KNV ve KNV+BSS gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artmış olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre KNV modeli korneadaki hücrelerin oksidatif strese ve hücrelerin apoptozise uğradığını göstermiştir. Ancak bevacizumab ve dexpanthenol uygulanan gruplarda apoptozisin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı, bevacizumab ve dexpanthenolün kombine olarak uygulandığı grupta en düşük apoptozis düzeyinin izlenmesi ise bevacizumab ile dexpanthenolün hücreleri oksidatif strese karşı koruduğunu göstermiştir. Ayrıca kombine ilaç tedavisinin hücrelerin canlılıklarını ve işlevlerini düzgün bir şekilde sürdürebilmesi için daha etkili olacağını düşündürmüştür.

GSH, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipid peroksidlerin giderilmesine katılan önemli bir antioksidandır. Glutasyon, NADPH kullanan glutasyon redüktaz tarafından indirgenmiş glutasyon formunda tutulur. Gürler ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada, GSH düzeylerinin metotreksat ile azaldığını ancak dexpanthenol ile anlamlı bir şekilde arttığını bildirmişlerdir (219). Köse ve ark. dexpanthenol tedavisinin septik bir durumda kalp dokusunda GSH'ı arttırdığını bildirmiştir (221). Dexpanthenol dokularda pantotenik aside okside edilir. Pantotenik asit ve onun türevleri, hücre içinde GSH seviyelerini, özellikle mitokondriyal CoA ve ATP sentezini artırır (11,12). Pantotenik asit ve türevleri, hücrel savunmaya, oksidatif strese karşı onarım sistemlerine ve inflamatuvar yanıtı katılırlar (222). Pantotenik asit metabolik yollardaki rolü nedeniyle normal epitel fonksiyonları için gereklidir (223). ROS'un neden olduğu hücre hasarına karşı koruyucu etkisi başka çalışmalarda da rapor edilmiştir (194). Çalışmamızda KNV, KNV+BSS ve KNV+BEVA gruplarında GSH düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalmıştır. Sadece bevacizumab uygulaması yapılması hücrel antioksidan savunma mekanizmasına olumlu yönde katkı sağlayabilecek bir seviyede glutasyon düzeyinde artışa öncülük edemeyeceği sonucuna varmamızı sağlamıştır. Çalışmamızda da literatürdeki çalışmalara benzer şekilde dexpanthenol uygulaması GSH düzeylerinin artmasını sağlamıştır. Dexpanthenol uygulanan gruplarda GSH düzeylerinin yüksek çıkması, GSH üretimi için dexpantenolün öncül olarak görev yaptığını desteklemektedir. Bu iki grupta (KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX) GSH düzeyinin yüksek olması hücrelerin antioksidan savunma sistemini destekleyerek apoptozis düzeylerinin azalmasına yol açıp hücre canlılığı üzerine olumlu etkiler sağladığını göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamız literatürdeki araştırmalarımız sonucunda bildiğimiz kadarıyla, antioksidan, antiinflamatuvar ve re-epitelizan etkileri bilinmekte olan dexpanthenolün, KNV üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği ilk deneysel çalışmadır.
2. KNV alanı değişimi üzerine dexpanthenol ve bevacizumabın tek başına uygulandığı gruplarda benzer şekilde etkili olduğu ancak birlikte uygulandıklarında KNV'nin azaltılmasında daha güçlü bir potansiyele sahip oldukları görülmüştür.
3. Bevacizumabın anti-VEGF etkinliği literatürde bilinmektedir. Ancak çalışmamız etkinliği bevacizumab ile karşılaştırmalı olarak incelenen dexpanthenolün, VEGF-A düzeylerini bevacizumaba yakın düzeyde azalttığını göstermiştir. Bu sonuçlar, dexpanthenolün yeni damar oluşumunu azaltarak KNV'yi gerilettiğini ve bevacizumab'a eşdeğer etki gösterdiğini düşünmemizi sağlamıştır.
4. İnflamasyonun önemli bir belirteci olan TNF- α düzeylerini bevacizumab ve dexpanthenolün tek başına uygulandığı gruplarda benzer şekilde azaltarak antiinflamatuvar etkinlik göstermişlerdir. Ancak birlikte uygulandıklarında daha güçlü bir etki ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar bevacizumab ve dexpanthenolün korneadaki inflamatuvar süreçlerin hafiflemesini, re-epitelizasyonu ve endotel hücrelerinin hayatta kalmasını desteklediğini düşünmemizi sağlamıştır.
5. Dexpanthenolün antioksidan etkinliği literatürde yapılmış çalışmalarca otaya konmuştur. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde dexpanthenolün uygulandığı gruplarda belirgin antioksidan etkinlik gözlenmiştir. KNV'nin yol açtığı oksidatif stresi azaltmada dexpanthenol, bevacizumaba üstünlük sağlamıştır.
6. Bevacizumab ve dexpanthenol uygulamaları apoptozis düzeyinde azalma sağlasada, en etkili azalma birlikte uygulandıkları grupta izlenmiştir. Bu sonuçlar, bevacizumab ve dexpanthenol kombinasyonunun KNV'ye bağlı apoptozisi azaltacağını, hücrelerin sağlıklı bir şekilde faaliyet göstermesini destekleme konusunda daha etkili olabileceğine dair bir kanıt sunmuştur.
7. Çalışmamız dexpanthenolün KNV'ye bağlı GSH düzeylerini artırabileceğini ve bu nedenle antioksidan savunma mekanizmalarını iyileştirebileceğini göstermektedir. Bu

bulgular, dexpanthenolün bevacizumaba anlamlı derecede üstünlük göstererek oksidatif stresin azaltılmasında potansiyel bir rolü olduğunu vurgulamaktadır.

8. Çalışmamızın sonuçlarına göre dexpanthenol, KNV'nin gelecekteki tedavisinde önemli bir rol oynayabilir. Bu sonuca, KNV'yi etkili bir şekilde azaltması ve TNF- α ile VEGF düzeylerini bevacizumab kadar düşürmesi nedeniyle ulaştık. Ancak KNV patofizyolojisi göz önüne alındığında dexpanthenolün etkilerini daha iyi anlayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. KNV'li hastaların tedavisinde yeni bir tedavi seçeneği olarak dexpanthenolün kullanımı önerilebilir. Ancak dexpanthenolün klinik uygulamalardaki etkinliğini ve güvenilirliğini daha net anlayabilmek için, daha fazla denekle çalışılan, farklı dozajlar, uygulama teknikleri ve süreleri içeren ileri düzeyde in vitro ve in vivo araştırmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Deneyisel Kornea Neovaskülarizasyonunda Dexpanthenol'ün Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Kornea gözün optik gücünün büyük bir kısmından sorumlu bir dokudur. Bu optik güç, sağlıklı bireylerde korneanın şeffaf ve kan damarı içermeyen bir yapıya sahip olmasına dayanır. Ancak kornea çeşitli nedenlerle zarar gördüğünde, korneal neovaskülarizasyon (KNV) adı verilen ciddi bir patoloji gelişebilir ve görme yetisini tehlikeye sokabilir. Ne yazık ki, KNV'nin etkili ve güvenli bir tedavi yöntemi henüz bulunmamaktadır. Pantotenik asidin alkol analogu olan dexpanthenolün antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik ve re-epitelizan etkileri deneyisel çalışmalarda gösterilmiştir, ancak anjiyogenez üzerine etkisi bilinmemektedir. Çalışmamızın amacı; deneyisel kornea neovaskülarizasyonu modelinde dexpanthenolün etkinliğini bevacizumab ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmektir.

Bu çalışmada 40 adet Wistar-Albino cinsi dişi rat kullanıldı. Çalışma öncesinde ön segment muayenesi yapılarak ratların kornealarında herhangi bir hasar ve neovaskülarizasyon olmadığı teyit edildi. Ardından ratların sağ gözlerine gümüş nitrattlı çubuklarla koterizasyon uygulanarak KNV modeli oluşturuldu. 7. gün bütün gözlerde belirgin miktarda KNV olduğu fotoğraflanarak konfirme edildikten sonra ratlar randomize olarak her grup 8 adet rat içerecek şekilde 5 gruba ayrıldı. Ratların herhangi bir işlem yapılmayan sol gözleri kontrol grubu olarak değerlendirildi. KNV grubuna koterizasyon sonrası herhangi bir tedavi uygulanmadı. BSS grubuna 0,1 ml dengeli tuz solüsyonu (BSS), BEVA grubuna 2,5mg/0,1 ml bevacizumab, DEX grubuna 25mg/0,1 ml dexpanthenol, BEVA+DEX grubuna ise 2,5mg/0,1 ml bevacizumab + 25mg/0,1 ml dexpanthenol tek doz subkonjonktival enjeksiyon olarak uygulandı. 14.günde tekrar kornea fotoğrafları çekildikten sonra sakrifikasyon uygulandı. Tüm ratların her iki gözüne enükleasyon uygulanarak korneal dokular izole edildi. 7. ve 14. günde elde edilen fotoğraflardaki KNV alanının tüm kornea alanına oranı ImageJ programı yardımıyla hesaplandı. Ayrıca korneal dokulardaki tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), vasküler endotelyal büyüme faktörü-A (VEGF-A), malondialdehit (MDA), apoptozis, indirgenmiş glutatyon (GSH) ve total oksidan seviye (TOS) düzeyleri ölçüldü.

KNV alanlarının tüm korneaya yüzdesi incelendiğinde, KNV+BEVA ve KNV+DEX gruplarında KNV alanının, KNV ve KNV+BSS gruplarına göre anlamlı bir şekilde gerilediği görülmüştür. Ancak en fazla gerileme KNV+BEVA+DEX grubunda gözlemlenmiştir. VEGF-A düzeyleri incelendiğinde, bevacizumab ve dexpanthenol uygulanan gruplarda, KNV ve KNV+BSS gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi. VEGF-A düzeyinde en fazla azalma KNV+BEVA+DEX uygulanan grupta gözlemlendi. TNF- α düzeyleri incelendiğinde, bevacizumab ve dexpanthenol uygulanan gruplarda KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu bulundu. En fazla azalma bevacizumab ve dexpanthenolün birlikte uygulandığı grupta gözlemlendi. TOS düzeyleri değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak en fazla azalma KNV+DEX ve KNV+BEVA+DEX gruplarında gözlemlendi. Bevacizumab uygulaması tek başına TOS düzeyini azaltsa da en fazla azalma dexpanthenol uygulanan grupta izlendi. MDA düzeyleri incelendiğinde, istatistiksel olarak en fazla azalma KNV+DEX ve

KNV+BEVA+DEX gruplarında izlendi. Apoptozis düzeyleri incelendiğinde, bevacizumab ve dexpantenol uygulanan gruplarda KNV ve KNV+BSS gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu bulundu. Ancak en fazla azalma bevacizumab ve dexpantenolün kombine olarak uygulandığı grupta izlendi. GSH düzeyleri incelendiğinde, dexpantenol uygulanan gruplar dexpantenol uygulanmayan gruplara göre GSH düzeyini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırmıştır.

Sonuçlar, KNV modeli oluşturulan ratlarda, dexpantenol ve bevacizumab'ın KNV'yi belirgin bir şekilde azalttığını göstermektedir. En etkili azalma bevacizumab ve dexpantenolün kombine kullanıldığı grupta elde edilmiştir. Bu anlamlı sonuçlar kornea neovaskülarizasyonu tedavisinde dexpantenolün yeni bir potansiyel ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Dexpantenolün KNV üzerindeki etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirmek için farklı dozlar, uygulama zamanlamaları ve yöntemleri kullanarak daha ileri preklinik ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Bevacizumab, Dexpantenol, Korneal Neovaskülarizasyon, VEGF

ABSTRACT

Evaluation of the Efficacy of Dexpanthenol in Experimental Corneal Neovascularization

The cornea is responsible for a significant portion of the eye's optical power. This optical power relies on the cornea having a transparent and avascular structure in healthy individuals. However, when the cornea is damaged for various reasons, it can lead to a serious pathology known as corneal neovascularization (CNV), which can jeopardize visual acuity. Unfortunately, an effective and safe treatment method for CNV has not been found yet. Dexpanthenol, an alcohol analogue of pantothenic acid, has been shown to have anti-inflammatory, antioxidant, anti-apoptotic, and re-epithelialization effects in experimental studies, but its impact on angiogenesis is not known. The purpose of our study is to evaluate the efficacy of dexpanthenol in an experimental corneal neovascularization model in comparison to bevacizumab.

In this study, 40 female Wistar-Albino rats were utilized. Prior to the study, anterior segment examinations were conducted to confirm the absence of any damage or neovascularization in the corneas of the rats. Subsequently, corneal neovascularization (CNV) models were established by applying cauterization with silver nitrate sticks to the right eyes of the rats. On the 7th day, after confirming the presence of a significant amount of CNV in all eyes through photography, the rats were randomly divided into five groups, each containing 8 rats. The left eyes of the rats, where no procedures were performed, served as the control group. In the CNV group, no treatment was administered following cauterization. In the BSS group, 0.1 ml of balanced salt solution (BSS) was applied. The BEVA group received 2.5mg/0.1 ml bevacizumab, the DEX group received 25mg/0.1 ml dexpanthenol, and the BEVA+DEX group received a single-dose subconjunctival injection of 2.5mg/0.1 ml bevacizumab + 25mg/0.1 ml dexpanthenol. Sacrifice was performed after taking corneal photographs on the 14th day. Enucleation was applied to isolate corneal tissues from both eyes of all rats. The ratio of the CNV area in the photographs obtained on the 7th and 14th days to the total corneal area was calculated using the ImageJ program. Additionally, levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A), malondialdehyde (MDA), apoptosis, reduced glutathione (GSH), and total oxidant status (TOS) were measured in corneal tissues.

When the percentage of CNV areas relative to the entire cornea was examined, it was observed that the CNV area in the CNV+BEVA and CNV+DEX groups regressed significantly compared to the CNV and CNV+BSS groups. However, the most significant regression was observed in the CNV+BEVA+DEX group. In terms of VEGF-A levels, a statistically significant decrease was noted in groups where bevacizumab and dexpanthenol were applied, compared to the CNV and CNV+BSS groups. The most notable reduction in VEGF-A levels was observed in the CNV+BEVA+DEX group. When TNF- α levels were examined, a statistically significant decrease was found in groups where bevacizumab and dexpanthenol were applied, compared to the CNV and CNV+BSS groups. The most significant decrease was observed when bevacizumab and dexpanthenol were combined. When evaluating

the levels of TOS, the most significant decrease was observed in the CNV+DEX and CNV+BEVA+DEX groups. While bevacizumab application alone reduced TOS levels, the most substantial reduction was seen in the group where dexpanthenol was applied. MDA levels were examined, and the most significant decrease was found in the CNV+DEX and CNV+BEVA+DEX groups. In terms of apoptosis levels, a statistically significant reduction was observed in groups where bevacizumab and dexpanthenol were applied, compared to the CNV and CNV+BSS groups. However, the most pronounced decrease was observed when bevacizumab and dexpanthenol were administered in combination. When GSH levels were examined, the groups where dexpanthenol was applied showed a statistically significant increase in GSH levels compared to the groups without dexpanthenol application.

The results indicate that in rats with the CNV model, dexpanthenol and bevacizumab significantly reduce CNV. The most effective reduction was achieved when bevacizumab and dexpanthenol were used in combination. These significant findings suggest that dexpanthenol may be a potential new agent in the treatment of corneal neovascularization. Further preclinical and clinical studies are needed to evaluate the efficacy and safety of dexpanthenol on CNV, using different doses, application timings, and methods.

Key words: Bevacizumab, Corneal Neovascularization, Dexpanthenol, VEGF

KAYNAKLAR

1. Voiculescu O, Voinea L, Alexandrescu C. Corneal neovascularization and biological therapy. *J Med Life*. 2015;8(4):444-8.
2. Chang JH, Garg NK, Lunde E, Han KY, Jain S, Azar DT. Corneal Neovascularization: An Anti-VEGF Therapy Review. *Surv Ophthalmol*. 01 Eylül 2012;57(5):415-29.
3. Barry Z, Park B, Corson TW. Pharmacological Potential of Small Molecules for Treating Corneal Neovascularization. *Molecules*. 30 Temmuz 2020;25(15):3468.
4. Hsu CC, Chang HM, Lin TC, Hung KH, Chien KH, Chen SY, vd. Corneal neovascularization and contemporary antiangiogenic therapeutics. *J Chin Med Assoc JCMA*. Haziran 2015;78(6):323-30.
5. Ho QT, Kuo CJ. Vascular Endothelial Growth Factor: Biology and Therapeutic Applications. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(7-8):1349-57.
6. Philipp W, Speicher L, Humpel C. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptors in Inflamed and Vascularized Human Corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 01 Ağustos 2000;41(9):2514-22.
7. Kim JH, Seo HW, Han HC, Lee JH, Choi SK, Lee D. The effect of bevacizumab versus ranibizumab in the treatment of corneal neovascularization: a preliminary study. *Korean J Ophthalmol KJO*. Ağustos 2013;27(4):235-42.
8. Roshandel D, Eslani M, Baradaran-Rafii A, Cheung AY, Kurji K, Jabbehdari S, vd. Current and emerging therapies for corneal neovascularization. *Ocul Surf*. 01 Ekim 2018;16(4):398-414.
9. Feizi S, Azari AA, Safapour S. Therapeutic approaches for corneal neovascularization. *Eye Vis*. 10 Aralık 2017;4(1):28.
10. Gorski J, Proksch E, Baron JM, Schmid D, Zhang L. Dexpanthenol in Wound Healing after Medical and Cosmetic Interventions (Postprocedure Wound Healing). *Pharmaceuticals*. 29 Haziran 2020;13(7):138.
11. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett*. 02 Temmuz 2004;569(1-3):169-72.
12. Slyshenkov VS, Piwocka K, Sikora E, Wojtczak L. Pantothenic acid protects jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 01 Haziran 2001;30(11):1303-10.
13. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical Use of Dexpanthenol in Skin Disorders. *Am J Clin Dermatol*. 01 Ağustos 2002;3(6):427-33.
14. Gülmez A, Kuru Bektaşoğlu P, Tönge Ç, Yaprak A, Türkoğlu ME, Önder E, vd. Neuroprotective Effects of Dexpanthenol on Rabbit Spinal Cord Ischemia/Reperfusion Injury Model. *World Neurosurg*. 01 Kasım 2022;167:e172-83.

15. Zhao X, Zhang S, Shao H. Dexpanthenol attenuates inflammatory damage and apoptosis in kidney and liver tissues of septic mice. *Bioengineered*. 13(5):11625-35.
16. Wiederholt T, Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Jousen S, Erdmann K, vd. Calcium pantothenate modulates gene expression in proliferating human dermal fibroblasts. *Exp Dermatol*. Kasım 2009;18(11):969-78.
17. Laibson PR. Cornea and sclera. *Arch Ophthalmol Chic Ill* 1960. Kasım 1972;88(5):553-74.
18. Li DQ, Tseng SC. Three patterns of cytokine expression potentially involved in epithelial-fibroblast interactions of human ocular surface. *J Cell Physiol*. Nisan 1995;163(1):61-79.
19. Ludwig PE, Lopez MJ, Sevensma KE. Anatomy, Head and Neck, Eye Cornea. İçinde: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [a.yer 21 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470340/>
20. Rüfer F, Schröder A, Erb C. White-to-white corneal diameter: normal values in healthy humans obtained with the Orbscan II topography system. *Cornea*. Nisan 2005;24(3):259-61.
21. Fares U, Otri AM, Al-Aqaba MA, Dua HS. Correlation of central and peripheral corneal thickness in healthy corneas. *Contact Lens Anterior Eye J Br Contact Lens Assoc*. Şubat 2012;35(1):39-45.
22. Feizi S, Jafarinasab MR, Karimian F, Hasanpour H, Masudi A. Central and peripheral corneal thickness measurement in normal and keratoconic eyes using three corneal pachymeters. *J Ophthalmic Vis Res*. 2014;9(3):296-304.
23. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg*. Mart 2011;37(3):588-98.
24. Masoudi S. Biochemistry of human tear film: A review. *Exp Eye Res*. 01 Temmuz 2022;220:109101.
25. Haynes RJ, Tighe PJ, Dua HS. Antimicrobial defensin peptides of the human ocular surface. *Br J Ophthalmol*. 01 Haziran 1999;83(6):737-41.
26. Gipson IK. The Ocular Surface: The Challenge to Enable and Protect Vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Ekim 2007;48(10):4390-8.
27. Yazdani M, Elgstøen KBP, Rootwelt H, Shahdadfar A, Utheim ØA, Utheim TP. Tear Metabolomics in Dry Eye Disease: A Review. *Int J Mol Sci*. 01 Ağustos 2019;20(15):3755.
28. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*. Şubat 2018;66(2):190-4.
29. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human Corneal Anatomy

Redefined: A Novel Pre-Descemet's Layer (Dua's Layer). *Ophthalmology*. 01 Eylül 2013;120(9):1778-85.

30. Pang K, Lennikov A, Yang M. Hypoxia adaptation in the cornea: Current animal models and underlying mechanisms. *Anim Models Exp Med*. 28 Kasım 2021;4(4):300-10.

31. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Chapter Two - Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. İçinde: Hejtmancik JF, Nickerson JM, editörler. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* [Internet]. Academic Press; 2015 [a.yer 22 Mayıs 2023]. s. 7-23. (Molecular Biology of Eye Disease; c. 134). Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877117315000629>

32. Meek KM, Boote C. The organization of collagen in the corneal stroma. *Exp Eye Res*. Mart 2004;78(3):503-12.

33. Yanoff M, Duker JS, editörler. *Ophthalmology*. Fifth edition. Edinburgh London New York Oxford Philadelphia St. Louis Sydney: Elsevier; 2019. 1411 s.

34. Germundsson J, Karanis G, Fagerholm P, Lagali N. Age-related thinning of Bowman's layer in the human cornea in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 11 Eylül 2013;54(9):6143-9.

35. Jacobsen IE, Jensen OA, Prause JU. Structure and composition of Bowman's membrane. Study by frozen resin cracking. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. Şubat 1984;62(1):39-53.

36. Hassell JR, Birk DE. The molecular basis of corneal transparency. *Exp Eye Res*. 01 Eylül 2010;91(3):326-35.

37. Møller-Pedersen T. Keratocyte reflectivity and corneal haze. *Exp Eye Res*. 01 Mart 2004;78(3):553-60.

38. Kao WWY, Liu CY. Roles of lumican and keratocan on corneal transparency. *Glycoconj J*. 01 Mayıs 2002;19(4):275-85.

39. Wu F, Vij N, Roberts L, Lopez-Briones S, Joyce S, Chakravarti S. A Novel Role of the Lumican Core Protein in Bacterial Lipopolysaccharide-induced Innate Immune Response *. *J Biol Chem*. 07 Eylül 2007;282(36):26409-17.

40. Oliveira-Soto L, Efron N. Morphology of Corneal Nerves Using Confocal Microscopy. *Cornea*. Mayıs 2001;20(4):374.

41. Ambati BK, Nozaki M, Singh N, Takeda A, Jani PD, Suthar T, vd. Corneal avascularity is due to soluble VEGF receptor-1. *Nature*. Ekim 2006;443(7114):993-7.

42. Wilson SE, Liu JJ, Mohan RR. Stromal-epithelial interactions in the cornea. *Prog Retin Eye Res*. 01 Temmuz 1999;18(3):293-309.

43. Hamrah P, Dana MR. Corneal antigen-presenting cells. *Chem Immunol*

Allergy. 2007;92:58-70.

44. Murphy C, Alvarado J, Juster R. Prenatal and postnatal growth of the human Descemet's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 01 Aralık 1984;25(12):1402-15.
45. Johnson DH, Bourne WM, Campbell RJ. The Ultrastructure of Descemet's Membrane: I. Changes With Age in Normal Corneas. *Arch Ophthalmol*. 01 Aralık 1982;100(12):1942-7.
46. Olsen EG, Davanger M, Moen T. The role of microfilaments in the healing of the corneal endothelium. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1985;63(1):104-8.
47. Petroll WMM, Hsu JKWJ, Bean JJ, Cavanagh HDD, Center JVJ. The spatial organization of apical junctional complex-associated proteins in feline and human corneal endothelium. *Curr Eye Res*. 01 Ocak 1999;18(1):10-9.
48. Barry P, Petroll W, Andrews P, Cavanagh H, Jester J. The spatial organization of corneal endothelial cytoskeletal proteins and their relationship to the apical junctional complex. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 01 Haziran 1995;36:1115-24.
49. Gambato C, Longhin E, Catania AG, Lazzarini D, Parrozzani R, Midena E. Aging and corneal layers: an in vivo corneal confocal microscopy study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 01 Şubat 2015;253(2):267-75.
50. Van Buskirk, Michael E. The anatomy of the limbus. *Eye. Mart* 1989;3(2):101-8.
51. Fautsch MP, Johnson DH. Aqueous humor outflow: what do we know? Where will it lead us? *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Ekim 2006;47(10):4181-7.
52. Hatch KM, Dana R. The structure and function of the limbal stem cell and the disease states associated with limbal stem cell deficiency. *Int Ophthalmol Clin*. 2009;49(1):43-52.
53. van der Merwe EL, Kidson SH. Advances in imaging the blood and aqueous vessels of the ocular limbus. *Exp Eye Res*. Ağustos 2010;91(2):118-26.
54. Meyer PAR. The circulation of the human limbus. *Eye. Mart* 1989;3(2):121-7.
55. Bonini S, Rama P, Olzi D, Lambiase A. Neurotrophic keratitis. *Eye Lond Engl*. Kasım 2003;17(8):989-95.
56. Yang AY, Chow J, Liu J. Corneal Innervation and Sensation: The Eye and Beyond. *Yale J Biol Med*. 28 Mart 2018;91(1):13-21.
57. Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease. *Ocul Surf*. Ocak 2017;15(1):15-47.
58. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. Cornea [Fundamentals, Diagnosis and Management] [Internet]. 2011 [a.yer 23 Mayıs 2023]. Erişim adresi: [http://4eyes.gr/images/4eyes/pdf/cornea/Cornea%20\[Fundamentals,%20Diagnosis%](http://4eyes.gr/images/4eyes/pdf/cornea/Cornea%20[Fundamentals,%20Diagnosis%20and%20Management].pdf)

59. Lwigale PY. Chapter Four - Corneal Development: Different Cells from a Common Progenitor. İçinde: Hejtmancik JF, Nickerson JM, editörler. Progress in Molecular Biology and Translational Science [Internet]. Academic Press; 2015 [a.yer 23 Mayıs 2023]. s. 43-59. (Molecular Biology of Eye Disease; c. 134). Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877117315000642>
60. Wolosin JM, Budak MT, Akinci MAM. Ocular surface epithelial and stem cell development. *Int J Dev Biol*. 01 Kasım 2004;48(8-9):981-91.
61. Lwigale PY, Bronner-Fraser M. Semaphorin3A/neuropilin-1 signaling acts as a molecular switch regulating neural crest migration during cornea development. *Dev Biol*. 15 Aralık 2009;336(2):257-65.
62. Mobaraki M, Abbasi R, Omidian Vandchali S, Ghaffari M, Moztarzadeh F, Mozafari M. Corneal Repair and Regeneration: Current Concepts and Future Directions. *Front Bioeng Biotechnol*. 11 Haziran 2019;7:135.
63. Lu L, Reinach PS, Kao WWY. Corneal Epithelial Wound Healing. *Exp Biol Med*. 01 Temmuz 2001;226(7):653-64.
64. Maurice DM. CHAPTER 6 - The Cornea and Sclera. İçinde: Davson H, editör. Vegetative Physiology and Biochemistry [Internet]. Academic Press; 1962 [a.yer 24 Mayıs 2023]. s. 289-368. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781483230900500137>
65. Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res*. Kasım 2015;49:17-45.
66. Fortingo N, Melnyk S, Sutton SH, Watsky MA, Bollag WB. Innate Immune System Activation, Inflammation and Corneal Wound Healing. *Int J Mol Sci*. 29 Kasım 2022;23(23):14933.
67. Bukowiecki A, Hos D, Cursiefen C, Eming SA. Wound-Healing Studies in Cornea and Skin: Parallels, Differences and Opportunities. *Int J Mol Sci*. 12 Haziran 2017;18(6):1257.
68. Oliveira D, Stegmayr C, Heinzl A, Ermert J, Neumaier B, Shah NJ, vd. High uptake of 68Ga-PSMA and 18F-DCFPyL in the peritumoral area of rat gliomas due to activated astrocytes. *EJNMMI Res*. 25 Mayıs 2020;10(1):55.
69. Matsuda M, Ubels JL, Edelhauser HF. A larger corneal epithelial wound closes at a faster rate. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Haziran 1985;26(6):897-900.
70. Wiley L, SundarRaj N, Sun TT, Thoft RA. Regional heterogeneity in human corneal and limbal epithelia: an immunohistochemical evaluation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Mart 1991;32(3):594-602.
71. Fini ME, Stramer BM. How the cornea heals: cornea-specific repair mechanisms affecting surgical outcomes. *Cornea*. Kasım 2005;24(8 Suppl):S2-11.

72. Netto MV, Mohan RR, Ambrósio R, Hutcheon AEK, Zieske JD, Wilson SE. Wound healing in the cornea: a review of refractive surgery complications and new prospects for therapy. *Cornea*. Temmuz 2005;24(5):509-22.
73. Gabison EE, Mourah S, Steinfelds E, Yan L, Hoang-Xuan T, Watsky MA, vd. Differential Expression of Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer (CD147) in Normal and Ulcerated Corneas. *Am J Pathol*. Ocak 2005;166(1):209-19.
74. Gabison EE, Huet E, Baudouin C, Menashi S. Direct epithelial-stromal interaction in corneal wound healing: Role of EMMPRIN/CD147 in MMPs induction and beyond. *Prog Retin Eye Res*. Ocak 2009;28(1):19-33.
75. Choi SO, Jeon HS, Hyon JY, Oh YJ, Wee WR, Chung T young, vd. Recovery of Corneal Endothelial Cells from Periphery after Injury. *PLoS ONE*. 17 Eylül 2015;10(9):e0138076.
76. Konomi K, Zhu C, Harris D, Joyce NC. Comparison of the proliferative capacity of human corneal endothelial cells from the central and peripheral areas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Kasım 2005;46(11):4086-91.
77. Dua HS, Forrester JV. Clinical patterns of corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol*. 15 Kasım 1987;104(5):481-9.
78. Philipp W, Göttinger W. Leukocyte adhesion molecules in diseased corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Temmuz 1993;34(8):2449-59.
79. Kaufman HE, Barron BA, McDonald MB. *The Cornea*. Elsevier - Health Sciences Division; 1998. 109 s.
80. Auerbach W, Auerbach R. Angiogenesis inhibition: a review. *Pharmacol Ther*. Eylül 1994;63(3):265-311.
81. Petroustos G, Guimaraes R, Giraud J, Pouliquen Y. Antibiotics and corneal epithelial wound healing. *Arch Ophthalmol Chic Ill* 1960. Kasım 1983;101(11):1775-8.
82. Phillips K, Arffa R, Cintron C, Rose J, Miller D, Kublin CL, vd. Effects of prednisolone and medroxyprogesterone on corneal wound healing, ulceration, and neovascularization. *Arch Ophthalmol Chic Ill* 1960. Nisan 1983;101(4):640-3.
83. Prajna NV. *Peyman's Principles & Practice of Ophthalmology: Two Volume Set*. Jaypee Brothers Medical Publishers; 2019. 896 s.
84. Fibronectin promotes epithelial migration of cultured rabbit cornea in situ. *J Cell Biol*. 01 Kasım 1983;97(5):1653-7.
85. Nishida T, Nakamura M, Mishima H, Otori T, Hikida M. Interleukin 6 facilitates corneal epithelial wound closure in vivo. *Arch Ophthalmol Chic Ill* 1960. Eylül 1992;110(9):1292-4.
86. Ubels JL, Edelhauser HF, Austin KH. Healing of experimental corneal wounds treated with topically applied retinoids. *Am J Ophthalmol*. Mart

1983;95(3):353-8.

87. Schultz G, Khaw PT, Oxford K, MaCauley S, Van Setten G, Chegini N. Growth factors and ocular wound healing. *Eye Lond Engl*. 1994;8 (Pt 2):184-7.
88. Sotozono C. Second Injury in the Cornea. *Cornea*. 01 Kasım 2000;19:S155-9.
89. Benayoun Y, Casse G, Forte R, Dallaudière B, Adenis JP, Robert PY. Néovascularisation cornéenne : aspects épidémiologiques, physiopathologiques et cliniques. *J Fr Ophtalmol*. 01 Eylül 2013;36(7):627-39.
90. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol*. Ağustos 2001;12(4):242.
91. Tshionyi M, Shay E, Lunde E, Lin A, Han KY, Jain S, vd. Hemangiogenesis and lymphangiogenesis in corneal pathology. *Cornea*. Ocak 2012;31(1):74-80.
92. Menzel-Severing J. Emerging techniques to treat corneal neovascularisation. *Eye*. Ocak 2012;26(1):2-12.
93. Lee P, Wang CC, Adamis AP. Ocular neovascularization: an epidemiologic review. *Surv Ophthalmol*. 1998;43(3):245-69.
94. Gupta D, Illingworth C. Treatments for Corneal Neovascularization: A Review. *Cornea*. Ağustos 2011;30(8):927.
95. Cursiefen C, Kuehle M, Naumann GO. Angiogenesis in corneal diseases: histopathologic evaluation of 254 human corneal buttons with neovascularization. *Cornea*. Kasım 1998;17(6):611-3.
96. Nicholas MP, Mysore N. Corneal neovascularization. *Exp Eye Res*. 01 Ocak 2021;202:108363.
97. Moccia F, Negri S, Shekha M, Faris P, Guerra G. Endothelial Ca²⁺ Signaling, Angiogenesis and Vasculogenesis: just What It Takes to Make a Blood Vessel. *Int J Mol Sci*. 14 Ağustos 2019;20(16):3962.
98. Moriya J, Minamino T. Angiogenesis, Cancer, and Vascular Aging. *Front Cardiovasc Med*. 2017;4:65.
99. Ratajska A, Jankowska-Steifer E, Czarnowska E, Olkowski R, Gula G, Niderla-Bielińska J, vd. Vasculogenesis and Its Cellular Therapeutic Applications. *Cells Tissues Organs*. 2017;203(3):141-52.
100. Afzal A, Shaw LC, Ljubimov AV, Boulton ME, Segal MS, Grant MB. Retinal and choroidal microangiopathies: therapeutic opportunities. *Microvasc Res*. 2007;74(2-3):131-44.
101. Kim JY, Lee JY. Targeting Tumor Adaption to Chronic Hypoxia: Implications for Drug Resistance, and How It Can Be Overcome. *Int J Mol Sci*. 25 Ağustos 2017;18(9):1854.
102. Viallard C, Larrivée B. Tumor angiogenesis and vascular normalization:

- alternative therapeutic targets. *Angiogenesis*. Kasım 2017;20(4):409-26.
103. Duran CL, Howell DW, Dave JM, Smith RL, Torrie ME, Essner JJ, vd. Molecular Regulation of Sprouting Angiogenesis. *Compr Physiol*. 12 Aralık 2017;8(1):153-235.
104. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol*. 2000;44(5):415-25.
105. Clements JL, Dana R. Inflammatory corneal neovascularization: etiopathogenesis. *Semin Ophthalmol*. 2011;26(4-5):235-45.
106. Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res*. 16 Şubat 2001;49(3):507-21.
107. Mansoor H, Ong HS, Riau AK, Stanzel TP, Mehta JS, Yam GHF. Current Trends and Future Perspective of Mesenchymal Stem Cells and Exosomes in Corneal Diseases. *Int J Mol Sci*. Ocak 2019;20(12):2853.
108. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. Ocak 1999;13(1):9-22.
109. Cui N, Hu M, Khalil RA. Chapter One - Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. İçinde: Khalil RA, editör. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* [Internet]. Academic Press; 2017 [a.yer 26 Mayıs 2023]. s. 1-73. (Matrix Metalloproteinases and Tissue Remodeling in Health and Disease: Cardiovascular Remodeling; c. 147). Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877117317300327>
110. Jo N, Mailhos C, Ju M, Cheung E, Bradley J, Nishijima K, vd. Inhibition of Platelet-Derived Growth Factor B Signaling Enhances the Efficacy of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Multiple Models of Ocular Neovascularization. *Am J Pathol*. 01 Haziran 2006;168(6):2036-53.
111. Troyanovsky B, Levchenko T, Månsson G, Matvijenko O, Holmgren L. Angiomotin: An Angiostatin Binding Protein That Regulates Endothelial Cell Migration and Tube Formation. *J Cell Biol*. 19 Mart 2001;152(6):1247-54.
112. Han KY, Dugas-Ford J, Lee H, Chang JH, Azar DT. MMP14 Cleavage of VEGFR1 in the Cornea Leads to a VEGF-Trap Antiangiogenic Effect. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 18 Ağustos 2015;56(9):5450-6.
113. Adams JC, Lawler J. The Thrombospondins. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 10 Ocak 2011;3(10):a009712.
114. Bock F, Maruyama K, Regenfuss B, Hos D, Steven P, Heindl LM, vd. Novel anti(lymph)angiogenic treatment strategies for corneal and ocular surface diseases. *Prog Retin Eye Res*. 01 Mayıs 2013;34:89-124.
115. Liclican EL, Nguyen V, Sullivan AB, Gronert K. Selective Activation of the Prostaglandin E2 Circuit in Chronic Injury-Induced Pathologic Angiogenesis. *Invest*

Ophthalmol Vis Sci. 01 Aralık 2010;51(12):6311-20.

116. Clark AF. Mechanism of Action of the Angiostatic Cortisene Anecortave Acetate. Surv Ophthalmol. 01 Ocak 2007;52(1, Supplement):S26-34.

117. Klintworth GK. Corneal angiogenesis : a comprehensive critical review. 1st ed. 1991. New York, New York: Springer-Verlag; 1991.

118. Pakneshan P, Birsner AE, Adini I, Becker CM, D'Amato RJ. Differential Suppression of Vascular Permeability and Corneal Angiogenesis by Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. Invest Ophthalmol Vis Sci. 01 Eylül 2008;49(9):3909-13.

119. Yamada M, Kawai M, Kawai Y, Mashima Y. The effect of selective cyclooxygenase-2 inhibitor on corneal angiogenesis in the rat. Curr Eye Res. Ekim 1999;19(4):300-4.

120. Ulusoy DM, Kahraman N, Balcıoğlu E, Duru Z. Comparison of the inhibitory effect of topical cyclosporine A 0.1% and topical anti-VEGF application in an experimental model of corneal neovascularization. Arq Bras Oftalmol. 10 Eylül 2021;85:19-24.

121. Lyu N, Zhao Y, Xiang J, Fan X, Huang C, Sun X, vd. Inhibiting corneal neovascularization by sustainably releasing anti-VEGF and anti-inflammation drugs from silica-thermogel nanohybrids. Mater Sci Eng C. 01 Eylül 2021;128:112274.

122. Bucak YY, Erdurmus M, Terzi EH, Kükner A, Çelebi S. Inhibitory effects of topical cyclosporine A 0.05 % on immune-mediated corneal neovascularization in rabbits. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 01 Kasım 2013;251(11):2555-61.

123. Bock F, Matthaei M, Reinhard T, Böhringer D, Christoph J, Ganslandt T, vd. High-Dose Subconjunctival Cyclosporine A Implants Do Not Affect Corneal Neovascularization after High-Risk Keratoplasty. Ophthalmology. 01 Eylül 2014;121(9):1677-82.

124. Keating AM, Jacobs DS. Anti-VEGF Treatment of Corneal Neovascularization. Ocul Surf. 01 Ekim 2011;9(4):227-38.

125. Koenig Y, Bock F, Horn F, Kruse F, Straub K, Cursiefen C. Short- and long-term safety profile and efficacy of topical bevacizumab (Avastin®) eye drops against corneal neovascularization. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 01 Ekim 2009;247(10):1375-82.

126. Dastjerdi MH, Sadrai Z, Saban DR, Zhang Q, Dana R. Corneal Penetration of Topical and Subconjunctival Bevacizumab. Invest Ophthalmol Vis Sci. 07 Kasım 2011;52(12):8718-23.

127. Chu HS, Hu FR, Yang CM, Yeh PT, Chen YM, Hou YC, vd. Subconjunctival Injection of Bevacizumab in the Treatment of Corneal Neovascularization Associated With Lipid Deposition. Cornea. Ocak 2011;30(1):60.

128. Kim J, Kim D, Kim ES, Kim MJ, Tchah H. Topically administered bevacizumab had longer standing anti-angiogenic effect than subconjunctivally

injected bevacizumab in rat corneal neovascularization. *Int J Ophthalmol.* 18 Ekim 2013;6(5):588-91.

129. Liarakos VS, Papaconstantinou D, Vergados I, Douvali M, Theodossiadis PG. The effect of subconjunctival ranibizumab on corneal and anterior segment neovascularization: study on an animal model. *Eur J Ophthalmol.* 2014;24(3):299-308.

130. Oliveira HB, Sakimoto T, Javier JAD, Azar DT, Wiegand SJ, Jain S, vd. VEGF Trap(R1R2) suppresses experimental corneal angiogenesis. *Eur J Ophthalmol.* 2010;20(1):48-54.

131. Park YR, Chung SK. Inhibitory Effect of Topical Aflibercept on Corneal Neovascularization in Rabbits. *Cornea.* Ekim 2015;34(10):1303.

132. Cursiefen C, Hofmann-Rummelt C, Kuchle M, Schlötzer-Schrehardt U. Pericyte recruitment in human corneal angiogenesis: an ultrastructural study with clinicopathological correlation. *Br J Ophthalmol.* 01 Ocak 2003;87(1):101-6.

133. Xiao O, Xie Z lian, Lin B wu, Yin X fang, Pi R biao, Zhou S you. Minocycline Inhibits Alkali Burn-Induced Corneal Neovascularization in Mice. *PLOS ONE.* 25 Temmuz 2012;7(7):e41858.

134. Liu S, Romano V, Steger B, Kaye SB, Hamill KJ, Willoughby CE. Gene-based antiangiogenic applications for corneal neovascularization. *Surv Ophthalmol.* 01 Mart 2018;63(2):193-213.

135. Kumar J, Gehra A, Sirohi N. Role of Frequency Doubled Nd: Yag Laser in Treatment of Corneal Neovascularisation. *J Clin Diagn Res JCDR.* Nisan 2016;10(4):NC01-4.

136. Yoon KC, You IC, Kang IS, Im SK, Ahn JK, Park YG, vd. Photodynamic therapy with verteporfin for corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol.* Eylül 2007;144(3):390-5.

137. Fossarello M, Peiretti E, Zucca I, Serra A. Photodynamic therapy of corneal neovascularization with verteporfin. *Cornea.* Temmuz 2003;22(5):485-8.

138. Hou Y, Le VNH, Clahsen T, Schneider AC, Bock F, Cursiefen C. Photodynamic Therapy Leads to Time-Dependent Regression of Pathologic Corneal (Lymph) Angiogenesis and Promotes High-Risk Corneal Allograft Survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 01 Kasım 2017;58(13):5862-9.

139. Ambati BK, Joussen AM, Kuziel WA, Adamis AP, Ambati J. Inhibition of corneal neovascularization by genetic ablation of CCR2. *Cornea.* Temmuz 2003;22(5):465-7.

140. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B.* Mayıs 1997;39(1):1-18.

141. Pillai CT, Dua HS, Hossain P. Fine Needle Diathermy Occlusion of Corneal

Vessels. Invest Ophthalmol Vis Sci. 01 Temmuz 2000;41(8):2148-53.

142. Spiteri N, Romano V, Zheng Y, Yadav S, Dwivedi R, Chen J, vd. Corneal Angiography for Guiding and Evaluating Fine-Needle Diathermy Treatment of Corneal Neovascularization. Ophthalmology. 01 Haziran 2015;122(6):1079-84.

143. Romano V, Steger B, Kaye SB. Fine-Needle Diathermy Guided by Angiography. Cornea. Eylül 2015;34(9):e29.

144. Barsam A, Patmore A, Muller D, Marshall J. Keratorefractive effect of microwave keratoplasty on human corneas. J Cataract Refract Surg. 01 Mart 2010;36(3):472-6.

145. Romano V, Spiteri N, Kaye SB. Angiographic-Guided Treatment of Corneal Neovascularization. JAMA Ophthalmol. 12 Mart 2015;133(3):e143544.

146. Qian CX ya, Bahar I, Levinger E, Rootman D. Combined use of superficial keratectomy and subconjunctival bevacizumab injection for corneal neovascularization. Cornea. Ekim 2008;27(9):1090-2.

147. Leigh AG. Treatment of Gross Corneal Opacification by Lamellar and Annular Lamellar Keratoplasty. Br J Ophthalmol. Kasım 1955;39(11):641-6.

148. Kheirikhah A, Johnson DA, Paranjpe DR, Raju VK, Casas V, Tseng SCG. Temporary sutureless amniotic membrane patch for acute alkaline burns. Arch Ophthalmol Chic Ill 1960. Ağustos 2008;126(8):1059-66.

149. Lee HS, Lee JH, Kim CE, Yang JW. Anti-neovascular effect of chondrocyte-derived extracellular matrix on corneal alkaline burns in rabbits. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol. Haziran 2014;252(6):951-61.

150. Hanna C, Bicknell DS, O'brien JE. Cell turnover in the adult human eye. Arch Ophthalmol Chic Ill 1960. Mayıs 1961;65:695-8.

151. Notara M, Alatza A, Gilfillan J, Harris AR, Levis HJ, Schrader S, vd. In sickness and in health: Corneal epithelial stem cell biology, pathology and therapy. Exp Eye Res. Şubat 2010;90(2):188-95.

152. Jawaheer L, Anijeet D, Ramaesh K. Diagnostic criteria for limbal stem cell deficiency-a systematic literature review. Surv Ophthalmol. 2017;62(4):522-32.

153. Masood F, Chang JH, Akbar A, Song A, Hu WY, Azar DT, vd. Therapeutic Strategies for Restoring Perturbed Corneal Epithelial Homeostasis in Limbal Stem Cell Deficiency: Current Trends and Future Directions. Cells. 16 Ekim 2022;11(20):3247.

154. Mahboubi A, Gholamreza Alviri M, Afshar M, Farhangi M. Development and Validation of A Fast, Simple And Specific Stability Indicating RP-HPLC Method for Determination of Dexpanthenol in Eye Gel Formulation. Iran J Pharm Res IJPR. 2019;18(2):670-6.

155. Proksch E, de Bony R, Trapp S, Boudon S. Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *J Dermatol Treat.* 17 Kasım 2017;28(8):766-73.
156. Göbbels M, Gross D. Klinische Studie zur Wirksamkeit eines dexpanthenolhaltigen Tränenersatzmittels (Siccaprotect®) bei der Behandlung Trockener Augen. İçinde: *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* [İnternet]. 1996 [a.yer 27 Mayıs 2023]. s. 84-8. Erişim adresi: <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=3219163>
157. Christ T. Therapie der Erosio corneae mit einem neuen panthenolhaltigen Gel. *Spektrum Augenheilkd.* 01 Ekim 1994;8(5):224-6.
158. Hamdi IM. Effect of D-Panthenol on Corneal Epithelial Healing after Surface Laser Ablation. *J Ophthalmol.* 2018;2018:6537413.
159. Björklund S, Pham QD, Jensen LB, Knudsen NØ, Nielsen LD, Ekelund K, vd. The effects of polar excipients transcitol and dexpanthenol on molecular mobility, permeability, and electrical impedance of the skin barrier. *J Colloid Interface Sci.* 01 Ekim 2016;479:207-20.
160. Baron JM, Glatz M, Proksch E. Optimal Support of Wound Healing: New Insights. *Dermatology.* 17 Ocak 2020;236(6):593-600.
161. Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Czaja K, Sebastian K, Kurschat P, vd. Dexpanthenol modulates gene expression in skin wound healing in vivo. *Skin Pharmacol Physiol.* 2012;25(5):241-8.
162. Marquardt Y, Amann PM, Heise R, Czaja K, Steiner T, Merk HF, vd. Characterization of a novel standardized human three-dimensional skin wound healing model using non-sequential fractional ultrapulsed CO2 laser treatments. *Lasers Surg Med.* Mart 2015;47(3):257-65.
163. Mahoney JM, Waterbury LD. Drug effects on the neovascularization response to silver nitrate cauterization of the rat cornea. *Curr Eye Res.* Mayıs 1985;4(5):531-5.
164. Subramani M, Ponnalagu M, Krishna L, Jeyabalan N, Chevour P, Sharma A, vd. Resveratrol reverses the adverse effects of bevacizumab on cultured ARPE-19 cells. *Sci Rep.* 25 Eylül 2017;7(1):12242.
165. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* Aralık 2005;38(12):1103-11.
166. Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, Ambrósio R, Hong J, Lee J. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res.* Eylül 2001;20(5):625-37.
167. Yazıcı T, Koçer G, Nazıroğlu M, Övey İS, Öz A. Zoledronic Acid, Bevacizumab and Dexamethasone-Induced Apoptosis, Mitochondrial Oxidative Stress, and Calcium Signaling Are Decreased in Human Osteoblast-Like Cell Line by Selenium Treatment. *Biol Trace Elem Res.* Ağustos 2018;184(2):358-68.

168. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 24 Ekim 1968;25(1):192-205.
169. Beebe DC. Maintaining transparency: a review of the developmental physiology and pathophysiology of two avascular tissues. *Semin Cell Dev Biol.* Nisan 2008;19(2):125-33.
170. Abdelfattah NS, Amgad M, Zayed AA, Salem H, Elkhanany AE, Hussein H, vd. Clinical correlates of common corneal neovascular diseases: a literature review. *Int J Ophthalmol.* 18 Şubat 2015;8(1):182-93.
171. Zakaria N, Grasdorff SV, Wouters K, Rozema J, Koppen C, Lion E, vd. Human Tears Reveal Insights into Corneal Neovascularization. *PLOS ONE.* 09 Mayıs 2012;7(5):e36451.
172. Ahmed M, Sahibzada MUK, Rasheed HM, Khan T, Wahid F, Farooq U, vd. Inhibition of Inflammation Associated Corneal Neovascularization by *Dalbergia sissoo* and *Catharanthus roseus* Leaf Extracts in an Animal Model. *South Afr J Bot.* 01 Aralık 2022;151:379-86.
173. Cogan DG. Vascularization of the Cornea. Its Experimental Induction by Small Lesions and a New Theory of Its Pathogenesis. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1948;46:457-71.
174. Jia C, Zhu W, Ren S, Xi H, Li S, Wang Y. Comparison of genome-wide gene expression in suture- and alkali burn-induced murine corneal neovascularization. *Mol Vis.* 02 Eylül 2011;17:2386-99.
175. Tripathi RC, Li J, Tripathi BJ, Chalam KV, Adamis AP. Increased level of vascular endothelial growth factor in aqueous humor of patients with neovascular glaucoma. *Ophthalmology.* Şubat 1998;105(2):232-7.
176. Bashkaran K, Zunaina E, Bakiah S, Sulaiman SA, Sirajudeen K, Naik V. Anti-inflammatory and antioxidant effects of Tualang honey in alkali injury on the eyes of rabbits: Experimental animal study. *BMC Complement Altern Med.* 09 Ekim 2011;11(1):90.
177. Krizova D, Vokrojova M, Liehneova K, Studeny P. Treatment of Corneal Neovascularization Using Anti-VEGF Bevacizumab. *J Ophthalmol.* 2014;2014:178132.
178. Papathanassiou M, Theodoropoulou S, Analitis A, Tzonou A, Theodossiadis PG. Vascular Endothelial Growth Factor Inhibitors for Treatment of Corneal Neovascularization: A Meta-Analysis. *Cornea.* Nisan 2013;32(4):435.
179. Sheyman AT, Cohen BZ, Friedman AH, Ackert JM. An Outbreak of Fungal Endophthalmitis After Intravitreal Injection of Compounded Combined Bevacizumab and Triamcinolone. *JAMA Ophthalmol.* 01 Temmuz 2013;131(7):864-9.

180. Diaz RJ, Ali S, Qadir MG, De La Fuente MI, Ivan ME, Komotar RJ. The role of bevacizumab in the treatment of glioblastoma. *J Neurooncol.* 01 Temmuz 2017;133(3):455-67.
181. Manzano RPA, Peyman GA, Khan P, Carvounis PE, Kivilcim M, Ren M, vd. Inhibition of experimental corneal neovascularisation by bevacizumab (Avastin). *Br J Ophthalmol.* Haziran 2007;91(6):804-7.
182. You IC, Kang IS, Lee SH, Yoon KC. Therapeutic effect of subconjunctival injection of bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 2009;87(6):653-8.
183. Doctor PP, Bhat PV, Foster CS. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Cornea.* Ekim 2008;27(9):992-5.
184. Dastjerdi MH, Saban DR, Okanobo A, Nallasamy N, Sadrai Z, Chauhan SK, vd. Effects of Topical and Subconjunctival Bevacizumab in High-Risk Corneal Transplant Survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 01 Mayıs 2010;51(5):2411-7.
185. Kim SW, Ha BJ, Kim EK, Tchah H, Kim T im. The effect of topical bevacizumab on corneal neovascularization. *Ophthalmology.* Haziran 2008;115(6):e33-38.
186. Zaki AA, Farid SF. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol (Copenh).* Aralık 2010;88(8):868-71.
187. Rocher N, Behar-Cohen F, Pournaras JAC, Naud MC, Jeanny JC, Jonet L, vd. Effects of rat anti-VEGF antibody in a rat model of corneal graft rejection by topical and subconjunctival routes. *Mol Vis.* 11 Ocak 2011;17:104-12.
188. Awadein A. Subconjunctival bevacizumab for vascularized rejected corneal grafts. *J Cataract Refract Surg.* Kasım 2007;33(11):1991.
189. Hosseini H, Nejabat M, Mehryar M, Yazdchi T, Sedaghat A, Noori F. Bevacizumab inhibits corneal neovascularization in an alkali burn induced model of corneal angiogenesis. *Clin Experiment Ophthalmol.* Kasım 2007;35(8):745-8.
190. Acar BT, Halili E, Acar S. The effect of different doses of subconjunctival bevacizumab injection on corneal neovascularization. *Int Ophthalmol.* 01 Ekim 2013;33(5):507-13.
191. Sanvictores T, Chauhan S. Vitamin B5 (Pantothenic Acid). İçinde: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [a.yer 19 Ekim 2023]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563233/>
192. Ucar M, Aydogan MS, Vardı N, Parlakpınar H. Protective Effect of Dexpanthenol on Ischemia-Reperfusion-Induced Liver Injury. *Transplant Proc.* Aralık 2018;50(10):3135-43.
193. Bilgic Y, Akbulut S, Aksungur Z, Erdemli ME, Ozhan O, Parlakpınar H, vd. Protective effect of dexpanthenol against cisplatin-induced hepatotoxicity. *Exp Ther Med.* Kasım 2018;16(5):4049-57.

194. Ermis H, Parlakpınar H, Gulbas G, Vardi N, Polat A, Cetin A, vd. Protective effect of dexpanthenol on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* Aralık 2013;386(12):1103-10.
195. Doğan EE, Erkoç R, Ekinci İ, Hamdard J, Döner B, Çıkrıkçıoğlu MA, vd. Protective effect of dexpanthenol against nephrotoxic effect of amikacin: An experimental study. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* Mayıs 2017;89:1409-14.
196. Oguz A, Uslukaya O, Alabalık U, Turkoglu A, Kapan M, Bozdog Z. Topical N-acetylcysteine improves wound healing comparable to dexpanthenol: an experimental study. *Int Surg.* Nisan 2015;100(4):656-61.
197. Weimann BI, Hermann D. Studies on wound healing: effects of calcium D-pantothenate on the migration, proliferation and protein synthesis of human dermal fibroblasts in culture. *Int J Vitam Nutr Res Int Z Vitam- Ernahrungsforschung J Int Vitaminol Nutr.* Mart 1999;69(2):113-9.
198. Mencucci R, Favuzza E, Bottino P, Mazzantini C, Zanutto E, Pellegrini-Giampietro DE, vd. A new ophthalmic formulation containing antiseptics and dexpanthenol: In vitro antimicrobial activity and effects on corneal and conjunctival epithelial cells. *Exp Eye Res.* Aralık 2020;201:108269.
199. Sabur H, Acar M. Dexpanthenol/sodium hyaluronate eye drops for corneal epithelial healing following corneal cross-linking in patients with keratoconus. *Int Ophthalmol.* 01 Ekim 2023;43(10):3461-9.
200. Toplu Y, Sapmaz E, Parlakpınar H, Kelles M, Kalcıoglu MT, Tanbek K, vd. The Effect of Dexpanthenol on Ototoxicity Induced by Cisplatin. *Clin Exp Otorhinolaryngol.* Mart 2016;9(1):14-20.
201. Çelenk M, Yıldırım H, Tektemur A, Balbaba M, Erdağ M. Effect of topical motesanib in experimental corneal neovascularization model. *Int Ophthalmol.* 01 Ağustos 2023;43(8):2989-97.
202. Claros-Chacaltana FDY, Aldrovani M, Kobashigawa KK, Padua IRM, Valdetaro GP, de Barros Sobrinho AAF, vd. Effect of metronidazole ophthalmic solution on corneal neovascularization in a rat model. *Int Ophthalmol.* 01 Mayıs 2019;39(5):1123-35.
203. Mehrjardi HZ, Ghaffari R, Mahbod M, Hashemi H. Triamcinolone Acetonide as an Adjunct to Bevacizumab for Prevention of Corneal Neovascularization in a Rat Model. *J Ophthalmic Vis Res.* Nisan 2014;9(2):162-8.
204. Sener E, Yuksel N, Yildiz DK, Yilmaz B, Ozdemir O, Caglar Y, vd. The Impact of Subconjunctivally Injected EGF and VEGF Inhibitors on Experimental Corneal Neovascularization in Rat Model. *Curr Eye Res.* 01 Kasım 2011;36(11):1005-13.
205. Eski M, Teberik K, Oltulu P, Ankaralı H, Kaya M, Alpay M. The effects of subconjunctival bevacizumab, ranibizumab, and aflibercept on corneal

- neovascularization. *Hum Exp Toxicol*. 01 Ocak 2022;41:09603271221084674.
206. Yildirim H, Balbaba M, Erdağ M, CanleblebiCi M, Dal A, İlhan N, vd. Evaluation of effect of nilotinib in an experimental corneal neovascularization model. *Anatol Curr Med J*. 22 Ekim 2022;4(4):431-7.
207. Sari ES, Yazici A, Aksit H, Yay A, Sahin G, Yildiz O, vd. Inhibitory effect of sub-conjunctival tocilizumab on alkali burn induced corneal neovascularization in rats. *Curr Eye Res*. Ocak 2015;40(1):48-55.
208. Kadar T, Amir A, Cohen L, Cohen M, Sahar R, Gutman H, vd. Anti-VEGF therapy (bevacizumab) for sulfur mustard-induced corneal neovascularization associated with delayed limbal stem cell deficiency in rabbits. *Curr Eye Res*. Mayıs 2014;39(5):439-50.
209. Kim WJ, Jeong HO, Chung SK. The Effect of Bevacizumab on Corneal Neovascularization in Rabbits. *Korean J Ophthalmol KJO*. Ağustos 2010;24(4):230-6.
210. Wang Y, Yin H, Chen P, Xie L, Wang Y. Inhibitory effect of canstatin in alkali burn-induced corneal neovascularization. *Ophthalmic Res*. 2011;46(2):66-72.
211. Canacankatan N, DiNç E, KiBar D, Yalaza C, Antmen ŞE, Gürler HM, vd. Effect of axitinib on inflammation in experimental corneal neovascularization model in rats. *Cukurova Med J*. 29 Aralık 2018;43(Ek 1):275-84.
212. Wen S, Yang W. Inhibitory effects of hydrogen on corneal neovascularization in rats with alkali burn. *Recent Adv Ophthalmol*. 2018;39-43.
213. Cho YK, Shin EY, Uehara H, Ambati B. Antiangiogenesis Effect of Albendazole on the Cornea. *J Ocul Pharmacol Ther*. Mayıs 2019;35(4):254-61.
214. Zhou C, Singh A, Qian G, Wolkow N, Dohlman CH, Vavvas DG, vd. Microporous Drug Delivery System for Sustained Anti-VEGF Delivery to the Eye. *Transl Vis Sci Technol*. 02 Temmuz 2020;9(8):5.
215. Özden ES, Aşcı H, Büyükbayram Hİ, Sevük MA, İmeci OB, Doğan HK, vd. Dexpanthenol protects against lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by restoring aquaporin-2 levels via regulation of the silent information regulator 1 signaling pathway. *Korean J Anesthesiol*. Ekim 2023;76(5):501-9.
216. Tutun B, Elbe H, Vardi N, Parlakpınar H, Polat A, Gunaltılı M, vd. Dexpanthenol reduces diabetic nephropathy and renal oxidative stress in rats. *Biotech Histochem*. 17 Şubat 2019;94(2):84-91.
217. Kalkan F, Parlakpınar H, Disli OM, Tanriverdi LH, Ozhan O, Polat A, vd. Protective and therapeutic effects of dexpanthenol on isoproterenol-induced cardiac damage in rats. *J Cell Biochem*. 2018;119(9):7479-89.
218. Dinc E, Ayaz L, Kurt AH. Protective Effect of Combined Caffeic Acid Phenethyl Ester and Bevacizumab Against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in Human RPE Cells. *Curr Eye Res*. 02 Aralık 2017;42(12):1659-66.

219. Gürler M, Selçuk EB, Özerol BG, Tanbek K, Taşlıdere E, Yıldız A, vd. Protective effect of dexpanthenol against methotrexate-induced liver oxidative toxicity in rats. *Drug Chem Toxicol.* 04 Temmuz 2023;46(4):708-16.
220. Shi H, Yu HJ, Wang HY, Wang WT, Jin SH, Zhu P, vd. Topical Administration of Peroxiredoxin-6 on the Cornea Suppresses Inflammation and Neovascularization Induced by Ultraviolet Radiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 07 Aralık 2012;53(13):8016-28.
221. Kose A, Parlakpınar H, Özhan O, Ermis N, Yıldız A, Vardi N, vd. Therapeutic effects of dexpanthenol on the cardiovascular and respiratory systems following cecal ligation and puncture-induced sepsis in rats. *Biotech Histochem.* 17 Ağustos 2020;95(6):428-37.
222. Slyshenkov VS, Rakowska M, Moiseenok AG, Wojtczak L. Pantothenic acid and its derivatives protect Ehrlich ascites tumor cells against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* Aralık 1995;19(6):767-72.
223. Bayrak O, Seckiner I, Solakhan M, Karakok M, Erturhan SM, Yagci F. Effects of intravesical dexpanthenol use on lipid peroxidation and bladder histology in a chemical cystitis animal model. *Urology.* Mayıs 2012;79(5):1023-6.