

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAVŞANLARDA DENEYSEL OLUŞTURULAN KORNEA  
ALKALİ YANIKLARININ SAĞALTIMINDA TARANTULA  
CUBENSİS ALKOLİK EKSTRAKTININ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Kadir SULU**

**DOKTORA TEZİ**

VETERİNERLİK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**Danışman**  
**Prof. Dr. Fahrettin ALKAN**

**KONYA-2022**

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAVŞANLARDA DENEYSEL OLUŞTURULAN KORNEA  
ALKALİ YANIKLARININ SAĞALTIMINDA TARANTULA  
CUBENSİS ALKOLİK EKSTRAKTININ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Kadir SULU**

**DOKTORA TEZİ**

VETERİNERLİK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**Danışman**

**Prof. Dr. Fahrettin ALKAN**

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı  
Koordinatörlüğü tarafından 2017-ÖYP-053 proje numarası ile desteklenmiştir.

**KONYA-2022**

## ÖNSÖZ

Yapılan literatür taramalarında, evcil hayvanlarda karşılaşılan kimyasal oküler yanık olgularının görülme sıklığına dair herhangi bir veriye ulaşılamamıştır. Ancak, klinik tecrübelerimiz neticesinde bu olgulara kedi ve köpeklerde daha sık rastlandığı ve genellikle nadir karşılaşılan vakalar olduğu bilinmektedir. Buna rağmen çalışmamızda deneysel kornea alkali yanık modelinin kullanılma nedeni; veteriner sahada oldukça sık karşılaşılan kornea ülseri gibi birtakım kornea lezyonlarıyla benzer fizyopatoloji ve iyileşme mekanizmalarına sahip olmasıdır.

Tarantula cubensis alkolik ekstraktı (TCAE) veya ticari adıyla Theranekron, son zamanlarda oldukça dikkat çeken ve veteriner sahada birçok farklı hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinen homeopatik bir üründür. Bilimsel çalışmalarda TCAE'ye atfedilen ve korneal yara iyileşmesinde de önemli olduğu bilinen birçok etki tanımlanmıştır. Ancak, literatür taramalarında deneysel kornea alkali yanıklarında TCAE'nin kullanımına dair ya da TCAE'nin korneal rejenerasyon üzerindeki etkilerini konu alan herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda TCAE'nin deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımında kullanılarak korneal iyileşme üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma neticesinde edinilen kanı ise; TCAE'nin korneal rejenerasyon üzerindeki etkinliğinin tam olarak ortaya konabilmesi için daha kapsamlı ve multidisipliner araştırmaların gerekli olduğudur.

Doktora eğitimim süresince bilgi ve görüşlerinden istifade ettiğim danışman hocam Prof. Dr. Fahrettin ALKAN başta olmak üzere tüm Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyelerine, bilimsel yardımlarını bir an olsun esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Enver YAZAR'a, tez sürecindeki değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Ertan ORUÇ ve Prof. Dr. Sadullah BAHAR'a, bilgi ve görüşlerine daima başvurduğum kıymetli arkadaşım Dr. Nimet TURGUT'a, yardımlarından ötürü değerli kardeşim Vet. Hek. Abdullah MAVİNEHİR'e, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi yöneticileri ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, hayatımın her aşamasında sevgi ve destekleriyle yanımda olan kıymetli aile üyelerim; annem Öznur SULU, babam Ali Ekber SULU ve kardeşlerim Nadir ve Mahir SULU'ya canı gönülden teşekkür ediyorum.

## İÇİNDEKİLER

<b>SİMGELER VE KISALTMALAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>xii</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Kornea .....	2
1.1.1. Embriyoloji.....	2
1.1.2. Anatomi.....	2
1.1.3. Histoloji.....	3
1.1.4. Fizyoloji .....	8
1.1.5. Tavşanlarla İlgili Temel Oftalmolojik Bilgiler .....	10
1.2. Korneal İyileşme Mekanizmaları .....	10
1.2.1. Epitelyal İyileşme.....	11
1.2.2. Stromal İyileşme .....	11
1.2.3. Endotelyal İyileşme ve Desement Membran İyileşmesi.....	12
1.3. Korneal İyileşme Süreci ve Etkileyen Faktörler .....	13
1.3.1. Büyüme Faktörleri ve Sitokinler .....	13
1.3.2. Bazal Membran .....	16
1.3.3. İntegrinler .....	17
1.3.4. Proteinazlar.....	17
1.3.5. Ekstraselüler Matriks.....	19
1.3.6. Fibronektin .....	19
1.3.7. Hyaluronik Asit .....	20
1.3.8. Duyusal İnnervasyon.....	20
1.3.9. İmmun Sistem .....	20
1.3.10. Limbal Epitelyal Kök Hücreler .....	21
1.4. Korneal Patolojik Yanıtlar .....	21

1.4.1. Korneal Ödem .....	21
1.4.2. Korneal Vaskülarizasyon .....	22
1.4.3. Korneal Fibrozis .....	23
1.4.4. Korneal Melanozis / Pigmentasyon.....	24
1.4.5. Stromal İnfiltrasyon.....	25
1.4.6. Korneada Anormal Madde Birikimi .....	25
1.4.7. Stromal Malasi / Erime .....	26
1.5. Kimyasal Kornea Yanıkları.....	26
1.6. Kimyasal Kornea Yanıklarının Tedavisi.....	28
1.6.1. Acil Müdahale .....	28
1.6.2. Epitelizasyonun Uyarılması .....	30
1.6.3. Onarımın Desteklenmesi ve Ülserasyonun Minimize Edilmesi .....	31
1.6.4. Yangının Kontrolü.....	32
1.6.5. Adjuvant Tedavisi .....	33
1.6.6. Topikal Biyolojik Sıvılar.....	33
1.6.7. Oksijen Tedavisi.....	34
1.7. Homeopati .....	35
1.8. Tarantula Cubensis Alkolik Ekstraktı .....	37
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>41</b>
2.1. Hayvan Materyali .....	41
2.2. Araştırma Gruplarının Oluşturulması.....	41
2.3. Deney Protokolü.....	42
2.3.1. Anestezi Protokolü .....	43
2.3.2. Alkali Yanık Modeli Oluşturma.....	43
2.3.3. Sağaltım Protokolü.....	45
2.4. Klinik Değerlendirme.....	47
2.4.1. Schirmer Gözyaşı Testi 1 .....	50

2.4.2. İntraoküler Basınç Ölçümü .....	50
2.4.3. Klinik Değerlendirme Skalalarının Uygulanması .....	51
2.5. Histopatolojik Değerlendirme .....	54
2.5.1. Histometrik Ölçümleme ve Histopatolojik Bulguların Skorlandırılması .....	55
2.6. İstatistiki Değerlendirme .....	55
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>57</b>
3.1. Klinik Muayene Bulguları .....	57
3.1.1. Korneal Opasite Bulguları .....	57
3.1.2. Schirmer Gözyaşı Testi 1 Muayene Bulguları .....	58
3.1.3. İntraoküler Basınç Muayene Bulguları .....	59
3.1.4. Korneal Erozyon Alanı Bulguları .....	60
3.2. Histopatolojik Muayene Bulguları .....	61
3.2.1. Korneal Epitelyum ve Stroma Kalınlıklarının Histometrik Ölçüm Sonuçları .....	61
3.2.2. Kornea Kesitlerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi .....	62
<b>4. TARTIŞMA .....</b>	<b>69</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>81</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>83</b>

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

ATP: Adenozin trifosfat

bFGF: Basic fibroblast growth factor - Temel fibroblast büyüme faktörü

BM: Bazal membran

BSS: Balanced salt solution - Dengeli fizyolojik tuzlu su solüsyonu

Ca(OH)<sub>2</sub>: Kalsiyum hidroksit

CH<sub>3</sub>COOH: Asetik asit

ECM: Extracellular matrix - Ekstraselüler matriks

EGF: Epidermal growth factor - Epidermal büyüme faktörü

FGF: Fibroblast growth factor - Fibroblast büyüme faktörü

GAG: Glikozaminoglikan

Gl: Glandula

H<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>: Kromik asit

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Sülfürik asit

HA: Hyaluronik asit

HB-EGF: Heparin-binding EGF-like growth factor - Heparin bağlayıcı EGF benzeri büyüme faktörü

HCl: Hidroklorik asit

HE: Hematoksilen-Eosin

HF: Hidroflorik asit

HGF: Hepatocyte growth factor - Hepatosit büyüme faktörü

HNO<sub>3</sub>: Nitrik asit

IGF: Insulin-like growth factors - İnsülin benzeri büyüme faktörü

IL: İnterlökin

İOB: İntroaküler basınç

kDa: Kilodalton

KGF: Keratinocyte growth factor - Keratinosit büyüme faktörü

KOH: Potasyum hidroksit

LESC: Limbal epithelial stem cell - Limbal epitelyal kök hücre

LSCD: Limbal stem cell deficiency - Limbal kök hücre eksikliği

µm: Mikrometre

mmHg: Milimetre civa

M: Musculus

Mg(OH)<sub>2</sub>: Magnezyum hidroksit

MMP: Matrix metalloproteinase - Matriks metalloproteinaz

N: Nervus

NaOH: Sodyum hidroksit

NE: Nötrofil elastaz

NGF: Nerve growth factor - Nöral büyüme faktörü

NH<sub>4</sub>OH: Amonyum hidroksit

NSAID: Nonsteroidal antiinflammatory drug - Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç

OH: Hidroksil

PBS: Phosphate buffered saline - Fosfat tampon çözeltisi

PDGF: Platelet derived growth factor - Trombositten türetilmiş büyüme faktörü

PG: Proteoglikan

PMNL: Polimorfonükleer lökosit

SIMP: Synthetic matrix metalloproteinase inhibitor - Sentetik matriks metalloproteinaz inhibitörü

SP: Serin proteaz/proteinaz

STT 1: Schirmer tear test 1 - Schirmer gözyaşı testi 1

TCAE: Tarantula cubensis alkolik ekstraktı

TGF: Transforming growth factor - Dönüştürücü büyüme faktörü

TIMP: Tissue inhibitors of metalloproteinases - Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri

TNF: Tümör nekroz faktörü

TrkA: Trofomiyozin reseptör kinaz A

T $\beta$ 4: Timosin- $\beta$ 4

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Korneanın mikroskopik görünümü.....	4
Şekil 2.1. Tavşanların numaralandırılması.....	42
Şekil 2.2. Sodyum hidroksit (NaOH) emdirilmiş Whatman #3 filtre kağıdı diskinin kornea merkezine yerleştirilerek yanık modelinin oluşturulması.....	44
Şekil 2.3. İrrigasyon sonrası gözlenen kornea alkali yanığı.....	44
Şekil 2.4. Theranekron'un damla şeklinde topikal uygulaması.....	46
Şekil 2.5. Theranekron'un subkonjuktival enjeksiyon şeklinde uygulaması.....	46
Şekil 2.6. Tavşan göz muayene formu.....	48
Şekil 2.7. Kontrol grubuna ait deneklerin STT 1 ölçüm değerlerinin kaydedildiği çizelge örneği.....	49
Şekil 2.8. Kontrol grubuna ait deneklerin diğer muayene bulgularının kaydedildiği çizelge örneği.....	49
Şekil 2.9. Schirmer gözyaşı testi 1'in uygulaması.....	50
Şekil 2.10. İntraoküler basınç ölçümü.....	51
Şekil 2.11. Floresein boya uygulaması.....	52
Şekil 2.12. Fotoğraflama işlemi.....	53
Şekil 2.13. Korneal erozyon alanının İmage J görüntü analiz programıyla ölçümü.....	53
Şekil 2.14. Enükleasyonu gerçekleştirilmiş göz kürelerinin %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içerisindeki ön tespiti.....	54
Şekil 3.1. S grubundan 14. deneğin 14. gün fotoğraflanan ve opasitesi devam ettiği görülen korneasının görünümü.....	58

<b>Şekil 3.2.</b> Negatif kontrol grubu, 3. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	64
<b>Şekil 3.3.</b> Pozitif kontrol grubu, 3. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	65
<b>Şekil 3.4.</b> Pozitif kontrol grubu, 14. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	65
<b>Şekil 3.5.</b> T grubu, 3. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	66
<b>Şekil 3.6.</b> T grubu, 3. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	67
<b>Şekil 3.7.</b> T grubu, 14. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	67
<b>Şekil 3.8.</b> S grubu, 3. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	68
<b>Şekil 3.9.</b> S grubu, 14. gün, histopatolojik kesitin mikroskopik görünümü.....	68

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 2.1.</b> Klinik muayene ile lezyon derecelendirme sistemi.....	45
<b>Tablo 2.2.</b> Korneal opasite skora sistemi.....	51
<b>Tablo 3.1.</b> Deney gruplarının muayene günlerine göre STT 1 değerleri.....	59
<b>Tablo 3.2.</b> Deney gruplarının muayene günlerine göre İOB değerleri.....	60
<b>Tablo 3.3.</b> Deney gruplarının muayene günlerine göre korneal erozyon alanı ölçüm değerleri.....	61
<b>Tablo 3.4.</b> Deney gruplarının doku örneği alınan günlere göre korneal epitelyum ve stroma kalınlıklarının histometrik ölçüm değerleri.....	62
<b>Tablo 3.5.</b> Doku örneği alınan günlere göre gözlemlenen histopatolojik bulguların şiddeti.....	63

## ÖZET

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### **Tavşanlarda Deneysel Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Tarantula Cubensis Alkolik Ekstraktının Etkilerinin Araştırılması**

**Kadir SULU**

**Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ / KONYA-2022**

Bu çalışmada, tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan kornea alkali yanıklarının medikal sağaltımında *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı (TCAE)'nin farklı oftalmik kullanımlarını içeren sağaltım protokolünün korneal iyileşme üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmanın hayvan materyalini 42 adet erkek Yeni Zelanda ırkı tavşan oluşturdu. Tavşanlar eşit sayıda ve tesadüfi örneklemeyle Kontrol (K), Topikal TCAE (T) ve Subkonjunktival TCAE (S) gruplarına ayrıldı. Alkali yanık modeli sağ gözlerin kornea merkeziyle sınırlı olacak şekilde 1 N (Normal) NaOH kullanılarak oluşturuldu. Sağaltım amacıyla kullanılan TCAE; T grubundaki tavşanların lezyon oluşturulan gözlerine günde 4 kez 4'er damla olacak şekilde, S grubundaki tavşanlarda ise çalışmanın 0, 3, 6, 9 ve 12. günlerinde 0,2'şer ml subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulandı. Çalışmanın 0, 1, 2, 3, 7 ve 14. günlerinde göz muayeneleri yapıldı. Bu muayenelerde; gözyaşı miktarı, intaoküler basınç, korneal opasite ve korneal erozyon alanı parametrelerine dair ölçümler yapıldı. Çalışmanın 3. ve 14. günlerinde her gruptan 7'şer tavşan ötanazi edildi. Enoküle edilen göz kürelerinden kornea kesitleri hazırlanarak histopatolojik muayeneleri yapıldı.

Muayene bulgularına göre; TCAE kullanımı ile gözyaşı miktarı ve intraoküler basınç değerleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilemezken, korneal opasite ve korneal erozyon alanı ölçümlerinden çalışmanın amacı doğrultusunda istatistiki olarak anlamlı sonuçlar alındı. Ayrıca, S grubunun; klinik ve histopatolojik muayeneler neticesinde epitelyal iyileşmenin en hızlı olduğu ve stroma kalınlığının histometrik ölçümlerine göre çalışma süresince normal değerlere en yakın kalınlığa ulaşan grup olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak, subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulanan TCAE'nin deneysel kornea alkali yanıklarının tedavisinde reepitelizasyonu kontrol grubuna kıyasla daha hızlı ve yeterli düzeyde sağladığı, damla şeklinde topikal uygulanan TCAE'nin ise tedavide etkinliğinin olmadığı görüldü. Ayrıca, Theranekron'un bileşimi itibariyle oküler yüzeylerde direkt damla şeklinde kullanıma uygun olmadığı kanaatine varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Kornea Alkali Yanığı; *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı; Tavşan; Theranekron

## **SUMMARY**

**REPUBLIC OF TURKEY  
SELÇUK UNIVERSITY  
HEALTH SCIENCES INSTITUTE**

### **Investigation of the Effects of Tarantula Cubensis Alcoholic Extract in the Treatment of Experimentally Induced Corneal Alkali Burns in Rabbits**

**Kadir SULU**

**Department of Veterinary Surgery**

**PhD THESIS / KONYA-2022**

In this study, it was aimed to investigate the effects of the treatment protocol including different ophthalmic uses of Tarantula cubensis alcoholic extract (TCAE) on corneal healing in the medical treatment of experimentally induced corneal alkali burns in rabbits.

The animal material of the study consisted of 42 male New Zealand rabbits. Rabbits were divided into control, Topical TCAE (T) and Subconjunctival TCAE (S) groups with equal and random sampling. The alkali burn model was created using 1 N (Normal) NaOH, limited to the corneal center of the right eyes. TCAE used for treatment; It was administered as 4 drops 4 times a day to the lesioned eyes of the rabbits in the T group, and 0.2 ml of subconjunctival injection was applied to the rabbits in the S group on days 0, 3, 6, 9 and 12 of the study. Eye examinations were performed on days 0, 1, 2, 3, 7 and 14 of the study. In these examinations; tear amount, intraocular pressure, corneal opacity and corneal erosion area parameters were measured. On the 3rd and 14th days of the study, 7 rabbits from each group were euthanized. Corneal sections were prepared from inoculated eyeballs and histopathological examinations were performed.

According to the examination findings; while no significant correlation could be detected between TCAE use and tear amount and intraocular pressure values, statistically significant results were obtained from corneal opacity and corneal erosion area measurements in line with the purpose of the study. In addition, the S group; as a result of clinical and histopathological examinations, it was determined that epithelial healing was the fastest and according to histometric measurements of stroma thickness, it was the group that reached the thickness closest to normal values during the study.

As a result, it was observed that TCAE administered by subconjunctival injection provided reepithelialization more rapidly and adequately in the treatment of experimentally induced corneal alkali burns compared to the control group, while TCAE applied topically in the form of drops was not effective in the treatment. In addition, it was concluded that Theranekron is not suitable for use as direct drops on ocular surfaces due to its composition.

**Key Words:** Corneal Alkali Burn; Rabbit; Tarantula cubensis alcoholic extract; Theranekron

## 1. GİRİŞ

Kornea, gözün tunica fibrosa bulbi katının özelleşmiş bir bölümüdür. Saydam bir yapıya sahip olan korneanın iki temel fonksiyonu vardır. Bunlar; göze yeterli miktar ve kalitede ışık girişini sağlamak ve göz ile çevre arasında sağlam bir fiziksel bariyer oluşturmaktır. Kornea, çevre ile olan iştirakine rağmen retinal görüntü oluşumunu sağlamak için gerekli olan pürüzsüz dış yüzey yapısını korumalıdır. Bu durum, yüzey epitelinin sürekli yenilenmesi ve sağlıklı bir prekorneal gözyaşı film tabakasının salgılanması ile mümkün olmaktadır (Ledbetter ve Gilger 2013, 2014).

Evcil hayvanlarda en sık karşılaşılan göz hastalıkları; klinik görünüm ve etiyoloji açısından oldukça çeşitlilik gösterebilen kornea hastalıklarıdır. Bu grup içerisinde keratitler önemli bir yer tutmaktadır. Korneal patolojiye sahip hayvanlarda genellikle klasik üçlü semptom olarak blefarospazm, fotofobi ve lakrimasyon gözlenmektedir. Ağrı ve korneal opasite ise bunlara eşlik eden diğer önemli bulgulardandır. Kornea hastalıklarının teşhis ve tedavi sürecinde mutlaka kontrolü yapılması gereken bir diğer önemli husus da; korneal ülserasyonun varlığı durumudur (Barnett 2006).

Kimyasal oküler yanıklar, oküler acil durum başlığı altında değerlendirilen ve kornea patolojileri arasında önemli bir yere sahip olan lezyon grubudur. Genellikle kimyasal maddenin göze kazara temas etmesi sonucu oluşan bu yanık olguları, görme kaybına kadar ilerleyebilen bir dizi oküler probleme neden olabilmektedirler. Alkali maddelerin sahip olduğu lipofilik özellikten dolayı alkali kaynaklı oküler yanıkların daha ciddi klinik tablolarına neden olabileceği belirtilmektedir (Singh ve ark 2013, Eslani ve ark 2014).

Kimyasal oküler yanıkların tedavisinde iritan ajanı ortadan kaldırmak ve oküler hasarı en aza indirmek amacıyla yapılan ilk müdahale irrigasyondur. Irrigasyonu takiben vaka profiline göre medikal ve/veya cerrahi tedavi modellerinden yararlanılmaktadır. Geleneksel medikal tedavide; yangının kontrol altına alınması, sikatriyel komplikasyonların önlenmesi ve epitelizasyonun uyarılmasını amaçlayan ajanlar kullanılırken, cerrahi tedavide; nekrotik dokuların debridementi, doku yapıştırıcıları, tenoplasti ve tektonik keratoplasti gibi uygulamalara başvurulmaktadır. Bunlara ek olarak, birçok farklı medikal ajanın korneal

rejenerasyondaki etkinliğinin araştırıldığı ve yeni cerrahi teknikler üzerinde çalışıldığı bilinmektedir (Sharma ve ark 2018).

## **1.1. Kornea**

### **1.1.1. Embriyoloji**

Embriyonik gelişim sürecinde; lens vezikülünün yüzey ektoderminden ayrılmasını takiben anterior kamara yapılarının gelişimi başlar. Bu süreçte kornea, yüzey ektodermi ve mezenşim dokudan (mezoderm ve nöral krest hücreleri) köken alır. Oluşan ilk yapı korneal epitelyumdur ve bu hücre katı yüzey ektodermi tarafından şekillendirilir. Yüzey ektodermi aynı zamanda glikozaminoglikanlar (GAG) ve kolajen fibrillerden oluşan bir aselüler primer stroma salgılar. Daha sonra mezenşimal nöral krest hücreleri (özelleşmiş nöral ektoderm hücre topluluğu), yüzey ektodermi ve optik cup arasına (daha sonra şekillenecek olan ön kamaraya) göç ederek korneanın stroma ve endotelyum katlarını şekillendirirler. Desement membran ise endotelyum tarafından oluşturulur (Crispin 2002b, 2005, Ofri 2008, Cook ve ark 2009).

### **1.1.2. Anatomi**

Gözyaşı film tabakası ile kaplanmış olan kornea, ışığın göz küresine girişini sağlayan bir pencere konumundadır. Kornea, gözün dış fibröz katınının anterior beşte birlik saydam kısmını oluştururken, geriye kalan posterior opak kısım sklera olarak adlandırılmaktadır. Limbus ise kornea, sklera ve bulbar konjunktivanın birleştiği anatomik çizgiye verilen addır (Stades ve ark 2007, Maggs 2008a, Samuelson 2013, 2014).

Kornea şekil olarak eliptiktir ve evcil hayvanlarda genellikle, horizontal ap vertikal çaptan daha büyüktür. Kedi ve köpeklerde belirtilen çaplar arasındaki fark az olduğu için bu türlerin kornea şekilleri neredeyse daireseldir. Toynaklılarda ise bu fark çok daha belirgindir. Bu durum, orbitaların kafatası içerisine lateral olarak konumlandırılmasıyla da desteklenen dikkate değer bir yatay görüş alanı sağlamaktadır. Herbivorlardaki abartılı kornea boyutları ve orbital yerleşim kombinasyonu; yırtıcı düşmanlarından daha fazla korunabilecekleri beslenme davranışlarına adaptasyonun bir sonucu olarak değerlendirilmektedir. Korneal

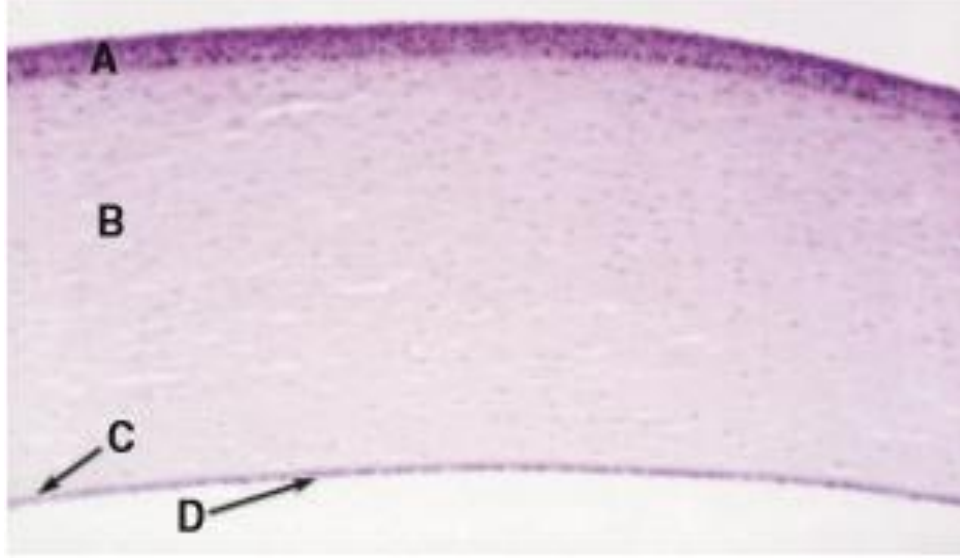
kolajen fibrillerin paralel dizilimi, korneanın merkezinden periferine kadar sürdürülür. Limbusta bir "örgü" oluşturmak için eş merkezli bir konfigürasyon geliştirirler. Böylece mukavemet sağlanır ve korneanın özgün şeklinin korunmasına yardımcı olunur (Crispin 2002b, Maggs 2008a, Samuelson 2013).

Kornea kalınlığının; türe, ırka, bireye ve korneanın bölümüne göre değişiklik gösterdiği ve çoğu evcil hayvan türünde bu değer 1 mm'den küçük olduğu belirtilmektedir (Maggs 2008a, Samuelson 2013, 2014). Örneğin, köpeklerin ortalama kornea kalınlığının ultrasonik pakimetri ve *invivo* konfokal mikroskopi ölçümlerine göre sırasıyla  $562\pm 6,2$   $\mu\text{m}$  ve  $585\pm 79$   $\mu\text{m}$  olduğu bildirilmiştir (Ledbetter ve Gilger 2013).

Korneanın innervasyonu, trigeminal sinirin oftalmik bölümünden orjin alan siliyer sinirin duyu dalları tarafından sağlanmaktadır. Miyelin kılıf ve Schwann hücrelerine sahip olmayan bu küçük sinir dalları, epitel hücreleri arasına oldukça yoğun bir şekilde dağılmaktadır. Bu sayede korneal epitelyumun innervasyonu hassas bir şekilde sağlanmış olmaktadır. Genel olarak korneanın yüzeysel katlarında ağrı reseptörleri yoğunlukta, stroma ve derin katlarında ise daha çok basınç reseptörleri bulunmaktadır. Bu durumun bir sonucu olarak, yüzeysel kornea lezyonlarının derin olanlara kıyasla daha ağırlı olduğu belirtilmektedir (Stades ve ark 2007, Samuelson 2013, 2014).

### **1.1.3. Histoloji**

Korneanın histolojik olarak beş katmandan oluştuğu belirtilmektedir. Bunlar; anterior epitelyum, bazal membran (BM), substantia propria, desement membran ve endotelyumdur (Crispin 2005). Güncel ve daha sık kullanılan bir diğer sınıflandırmaya göre ise bu histolojik yapı dıştan içe doğru; epitelyum, stroma, desement membran ve endotelyum şeklinde sıralanmış dört katmandan oluşmaktadır (Şekil 1.1) (Maggs 2008a, Samuelson 2013).



**Şekil 1.1.** Korneanın mikroskopik görünümü. **A**, Epitelyum; **B**, Stroma; **C**, Desement membran; **D**, Endotelyum (Maggs 2008a).

## **Epitelyum**

Epitelyum, birkaç farklı epitel hücre tabakasının diziliminden oluşan ve korneanın anterior yüzeyini kaplayan hücre katıdır. Evcil karnivorlarda kalınlığının yaklaşık olarak 25-40 µm olduğu belirtilen epitelyum, kornea merkezinde 7-12 hücre kalınlığına sahip olmasına rağmen konjunktival epitelyum ile birleştiği noktada bu sayı azalmaktadır. Bazal membran üzerine oturan tek sıralı ince bazal hücre tabakası, epitelyumu oluşturan hücrelerin ilk katını oluşturur. Bazal hücreler BM'ye hemidesmozom olarak adlandırılan yapılar aracılığıyla tutunurlar. Bu ince fibriller bazal epitelyumu, BM'yi ve subepitelyal stromayı birbirine bağlar. Bazal hücre tabakası, sürekli bölünen küboidal epitel hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler bölünüp çoğaldıkça yüzeye doğru uygulanan güç ile yassılaştır (yaklaşık 7 gün) ve zamanla organellerinin birçoğunu kaybederler. Yeni bazal hücreler, limbusta sürekli mitoz geçiren ve merkeze doğru kayarak hareket eden limbal kök hücreler tarafından oluşturulmaktadır. Hücresel dizilim bazal hücre tabakasından sonra iki veya üç kat polihedral (kanat hücresi) hücre ve iki veya üç kat nonkeratinize epitelyum (skuamöz yüzey hücreleri) hücre tabakasıyla yüzeyde son bulur. Yüzeydeki skuamöz hücreler; büyük, düz ve poligonal şekilli hücrelerdir. Süperfisial epitel hücrelerinin sitoplazmalarında çok sayıda tonofilament ve vezikül bulunur, ancak bazal hücreler ve kanat hücreleri genellikle mitokondri, endoplazmik retikulum ve ribozom gibi organeller açısından yoksundurlar. Çok sayıda dezmozomal bağlantıya sahip olan

yüzey hücrelerinin lateral membranlarında ise zonula okludens denilen yapılar mevcuttur. Kornea merkezindeki hücreler, periferdeki hücrelerden daha fazla çıkıntıya (mikroplikalar ve mikrovilliler) sahiptirler. Bu mikro çıkıntıların kornea yüzeyindeki prekorneal gözyaşı film tabakasını tuttuğu ve stabilize ettiği varsayılmaktadır. Yüzey alanını önemli ölçüde genişleten bu ince mikroplikalar ve mikrovillilerin; oksijen, potansiyel besin maddeleri ve çeşitli metabolik ürünlerin en dıştaki skuamöz epitel hücrelerin hücre zarı boyunca iletimini sağladıkları düşünülmektedir (Crispin 2002b, 2005, Maggs 2008a, Samuelson 2013, 2014).

## **Stroma**

Stroma, kornea kalınlığının yaklaşık olarak %90'ını oluşturan ve bulbus oculi'ye sertlik (direnç) kazandıran en kalın kornea katıdır. Stromal yapıyı; düzenli sıralanmış kolajen fibriller, keratositler, miyelinsiz sinirler (özellikle anterior kısımda), temel madde ve GAG'lar oluşturmaktadır (Crispin 2005, Stades ve ark 2007, Maggs 2008a, Samuelson 2013, 2014).

Kolajen fibriller, stromanın %15-25'ini; proteoglikanlar (PG), bunlarla ilişkili GAG'lar ve glikoproteinlerle birlikte şekillendirmekte ve korneanın temel destek yapısı olma görevini üstlenmektedirler. Eşit çaptaki bu fibriller, tüm kornea boyunca (limbustan limbusa) uzanan düz tabaka benzeri demetler halinde düzenlenmişlerdir. Lamella adı verilen geniş bant şeklindeki bu yapılar; paralel kolajen fibriller, fibriller arasına serpiştirilmiş şekilde bulunan keratositler, lenfositler, makrofajlar ve nötrofillerden oluşmaktadır. Kolajen fibriller demetler içerisinde paralel bir dizilim gösterirken, demetler birbirleriyle çaprazlaşmaktadırlar. Lamellalar, çoklu tabakalaşmada ortogonal olarak (yani birbirine yaklaşık 90°) dizilerek bir ızgara şekli almaktadırlar. Lamellalar arasındaki boşluğu da PG'ler, bunlarla ilişkili GAG ve glikoproteinlerin temel maddesi doldurmaktadır. Dizilim olarak posterior stromadaki lameller yapı anterior stromanın üçte birlik kısmından daha düzenlidir. Şöyle ki, anterior lameller yapı yüzeyde daha obliktir, daha fazla dallanma gösterir ve iç içe geçmiş haldedir (Crispin 2002b, 2005, Stades ve ark 2007, Maggs 2008a, Samuelson 2013). Korneal saydamlığın sürdürülmesi, stromanın bu kusursuz organizasyonuna bağlıdır. Aynı zamanda, stromal kolajen fibrillerin düzenli aralıklarla seyretmesi, korneayı skatriks dokusu ve skleranın kolajen yapısından farklı kılmaktadır. Tüm bu

lameller organizasyon sonucu şekillenen stromal yapı, korneaya giren ışığın %99'unun dağılmadan geçmesine izin vermektedir (Maggs 2008a, Samuelson 2013).

Kolajen lameller yapı içerisinde ve lamellalar arasında lokalize olan keratositler, normal erişkin korneada yavaş bir döngü içerisindeyler. Herhangi bir uyarana karşılaştıklarında aktifleşerek fibroblastlara dönüşebilir, kolajen ve temel maddenin öncüllerini salgılayabilirler. Fibroblastlar da stromada bulunan diğer hücreler gibi uyarılara yanıt olarak dokular aracılığıyla hareket ederler. Normal korneada lökosit, lenfosit ve makrofaj gibi yangı hücreleriyle nadiren karşılaşılırken, bu hücrelerin epitel katta bulunması stromaya nazaran daha muhtemeldir (Crispin 2002b, 2005).

Stroma en az beş tip kolajenden oluşmaktadır. Bunlar arasında en çok bulunanı Tip I kolajendir. Bu kolajen tipi eşit boyutlu küçük çizgili fibrillerin üretiminde rol oynamaktadır. Tip III ve Tip XII kolajenlerin ise gelişimsel formlar olduğu ve Tip III kolajenin daha yaygın olduğu belirtilmektedir. Tip V kolajenin çoğu türde çizgili küçük fibrillerin oluşumunda etkili olduğu varsayılmakla birlikte keratosit ile ilişkili olan Tip VI kolajenin özellikle gelişim ve onarım sırasında önemli olan hücre-matriks etkileşimlerinde rol oynadığı vurgulanmaktadır. Aynı zamanda Tip VI kolajenin, interfibriler matriks ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Samuelson 2013).

Korneadaki GAG'lar; heparan sülfat, hyaluronik asit (HA), kondroitin sülfat, kondroitin 6-sülfat, kondroitin 4-sülfat, keratan sülfat ve dermatan sülfat'tır. En çok bulunanı keratan sülfat olmakla birlikte bunu dermatan sülfat takip etmektedir. Hemen hemen tüm keratan sülfatlar stromal fibroblastlar tarafından üretilirken, heparan sülfat büyük oranda korneal epitelyum tarafından salgılanır. Hyaluronik asit ise büyük oranda korneal endotelyum tarafından salgılanmaktadır. Ayrıca neredeyse tüm korneal hücre tipleri, kendi özel GAG sınıf düzeniyle ve diğer glikokonjugatlarla birlikte korneanın ekstraselüler matriks (ECM)'inin oluşumuna katkıda bulunurlar (Samuelson 2013).

### **Desement membran**

Desement membran, posterior stroma ile endotelyum arasında uzanan ve endotelyal hücre katının bazal membranı konumunda olan homojen aselüler elastik

bir zarftır. Korneal endotelyum tarafından üretilen desement membran, yaşlanmaya bağlı olarak ve endotelyumun incelmesiyle birlikte kalınlaşmaktadır. Oldukça esnek bir yapıya sahip olmasına rağmen intraoküler basıncı (İOB) artıran durumlarda, delici mekanik yaralanmalarda ve perforasyona sebebiyet veren ülserlerde bütünlüğü bozulabilmektedir. Desement membran, normalde bir miktar gerilim altında olduğu için olası bir ruptur durumunda parşömen kağıdı gibi katlanmaktadır. Stromanın tamamen kaybıyla sonuçlanan bazı kornea lezyonlarında ise açığa çıkmakta ve zaman zaman merkezde lokalize olmuş dışa doğru bir kabartı şeklinde görülebilmektedir. Desementosel olarak isimlendirilen bu lezyon, floresein ile boyanmayan koyu transparan bir görünüme sahiptir (Crispin 2002b, 2005, Maggs 2008a, Samuelson 2013, 2014).

### **Endotelyum**

Endotelyum, hekszagonal şekilli hücrelerden oluşan korneanın tek katlı hücre tabakasıdır. Desement membranın posteriorunda, yani kamara okuli anteriorun n kısmını kaplayacak şekilde bir yerleşim göstermektedir. Bünyesindeki pompa mekanizması sayesinde korneal dehidrasyon ve dolayısıyla korneal saydamlığın sürdürülmesinde hayati bir role sahiptir. Endotelyal hücrelerin metabolik olarak aktif hücreler olduğu bilinmektedir. Yapılarında çok sayıda mitokondri, endoplazmik retikulum ve pinositotik vezikülün bulunması yüksek metabolik aktiviteyi vurgular niteliktedir. Endotelyal hücreler aynı zamanda postmitotiktir ve çoğu türde sınırlı yenilenme kapasitesine sahiptirler. Bu nedenle, hayvanlar yaşlandıkça endotelyal hücre yoğunluğunun kademeli olarak düştüğü belirtilmektedir. Örneğin, sağlıklı erişkin köpeklerde endotelyal hücre sayısı mm<sup>2</sup>de ortalama 3000 iken, bu değerin bir yaşından kk köpeklerde yaklaşık 3600 kadar olduğu belirtilmiştir. Yaşlı köpeklerdeki endotelyal hücre sayısının ise genellikle mm<sup>2</sup>de 2100 hücreden daha az olduğu vurgulanmaktadır. Sayıca azalan endotel hücreleri hacmen büyümekte ve artan sızıntıyı giderebilmek için daha fazla pompa sahası üretmeye çalışmaktadırlar. Bu nedenle, endotel hücrelerinin yoğunluğundaki yaşla ilişkili azalma, kornea kalınlığında kk bir değişikliğe neden olabilmektedir. Bu durum devam ettiğinde endotelyal hücreler oldukça zayıflamakta ve artan sızıntıya dayanamayan yetersiz pompa mekanizması sonucu gelişen stromal ödem ile birlikte korneal kalınlaşma ve saydamlık kaybı şekillenmektedir. Korneal dekompansasyon olarak bilinen bu

durumun endotelial hücre sayısının  $\text{mm}^2$ 'de 500-800 hücrenin altına düştüğü hallerde şekillendiği belirtilmektedir. Yaştan bağımsız olarak genetik yatkınlık (endotelial distrofi), travma (eksojen ya da anterior lens luksasyonu kaynaklı), intraoküler cerrahi, kornea cerrahisi, intraoküler yangı (üveitis) ve glaukom gibi durumlarda da endotelial hücre kayıplarının şekillenebileceği bildirilmiştir. Çevre hücrelerin lezyonu telafi etme yeteneğinin ötesindeki bu gibi durumlarda genellikle kalıcı korneal ödem ve opasitenin şekilleneceği belirtilmektedir (Crispin 2002b, 2005, Maggs 2008a, Samuelson 2013, 2014).

#### **1.1.4. Fizyoloji**

Kornea, gözün en güçlü optik kırılma sağlayan yüzeyidir. Bu durum, özellikle korneanın özgün şekli ve saydamlığına bağlıdır. Korneal saydamlık, birçok özelleşmiş anatomik ve fizyolojik özellik tarafından sürdürülür. Kan damarlarının olmayışı, nispeten düşük hücre yoğunluğu, melanin ve diğer pigmentlerin yokluğu, kısmi dehidre yapının korunması, pürüzsüz bir optik yüzey, stromal kolajen fibrillerin son derece düzenli bir yapılanmaya sahip olması ve keratinizasyonun olmaması gibi özellikleri korneanın saydam olmasını sağlar. Optik yüzeydeki kolajen fibriller arasındaki boşlukları ve dizilimlerini ya da kolajen tipini değiştiren faktörlerin tümü korneal saydamlığı olumsuz yönde etkiler. Bu duruma verilebilecek yaygın örnekler arasında; korneal ödem, korneal skatriks oluşumu, epitelyal kayıplar, prekorneal gözyaşı film tabakasındaki değişimler, yüksek intraoküler basınç, endotelyum hasarı, değişen GAG içeriği, melanozis, korneal vaskülarizasyon ve stromal hücre infiltrasyonları sayılabilir (Maggs 2008a).

Kornea nispeten "dehidre" ve korneanın bu kısmi dehidrasyon veya "deturgens" durumunun sürdürülmesi birçok faktöre bağlıdır. Öncelikle epitelyum ve endotelyumun anatomik bütünlüğü, gözyaşı akışına ve humor aköze karşı iki yönlü bir fiziksel bariyer görevi görür. Bunun dışında korneal hidrasyonun düzenlenmesinde endotelyumda bulunan ve stromadaki sıvının anterior kamara içerisine transportunu sağlayan fizyolojik pompa (iyon taşıma sistemleri) mekanizması da önemli bir yere sahiptir. Endotelyum hasar gördüğünde kornea çok miktarda sıvı alır ve bunun sonucunda kalınlığı 3-4 kat artar. Epitelyum hasarında ise korneal kalınlık iki katına çıkar ve ödem çoğunlukla lezyonun bulunduğu alanla sınırlı kalır. Bir başka ifadeyle, epitel kaybına bağlı şekillenen hidrasyon nedeniyle

kornea kalınlığında %200 artış görülürken, bu oranın endotel kaybında yaklaşık %500 olduğu bildirilmiştir (Stades ve ark 2007, Gum ve MacKay 2013, 2014 Samuelson 2013, 2014 ).

Kornea, avasküler yapısından dolayı oksijen ve besin maddelerinin temini ve metabolitlerin uzaklaştırılması noktasında alternatif yollar kullanmak zorundadır. Humor aköz, prekorneal gözyaşı film tabakası, atmosfer, skleranın yanı sıra bulbar ve palpebral konjunktivadaki yakın kapıllar damar yatakları bu yolların başlıcalarıdır. Endotelyum ve posterior stroma, gerekli besinlerinin çoğunu humor aközden temin etmesine karşın anterior korneanın ana kaynağı prekorneal gözyaşı film tabakası ve atmosferik oksijendir (Maggs 2008a).

Kornea, özellikle kısmi dehidrasyon durumunu sürdürebilmek için glikozun parçalanmasıyla elde edilen adenozin trifosfat (ATP) formunda enerjiye ihtiyaç duyar. Gerekli olan glikoz, limbal kılcal damarlar ve gözyaşı tarafından sağlanır. Korneal epitelyum, glikozun çoğunu glikoz-6-fosfata dönüştürür ve bu metabolik ürünün %85'i daha sonra glikolitik yolla piruvata metabolize olur. Piruvatın çoğu laktik aside metabolize edilir, ancak bir kısmı ATP üretmek için sitrik asit döngüsüne yönlendirilir. Glikoz, korneal epitelyumda glikojen olarak depolanır ve stresli koşullar altında (travma ve cerrahi müdahaleler gibi) enerji elde etmek amacıyla kullanılabilir. Oksijen yokluğu veya göz kapaklarının kapalı olduğu durumlarda ise enerji anaerobik glikolizis yoluyla sağlanır. Bunun sonucunda aşırı miktarda laktik asit üretimine bağlı olarak korneal hidrasyon meydana gelir (Gum ve MacKay 2013, 2014).

Kornea, duyu sinir ağı yönünden oldukça zengindir. Bu özellik, korneanın ve korneal saydamlığın korunmasında etkili bir faktördür. Blefarospazm, bulbus oculi'nin retraksiyonu ve membrana niktitansın prolebe olması korneaya dokunulduğunda veya irritasyonunda gözlenen temel reflekslerdir. Korneal duyarlılık; hayvan türüne, korneanın bölümüne ve köpeklerde kafatası tipine göre değişebilmektedir. Genel olarak, korneanın merkezi en duyarlı kısmıdır. Bunu nazal, temporal, dorsal ve ventral kornea kısımları takip eder. Basınç, soğuk ve sıcaklığı algılayan somatosensörük duyular, kornea ve konjunktivadaki dokunma ve ağrı reseptörleri ile benzerdir. Korneanın duyuşal lifleri uyarıldığında miyozis, hiperemi,

oküler hipertansiyon ve humor aközde artan protein seviyeleri ile sonuçlanan bir "akson refleksi" oluşmaktadır (Gum ve MacKay 2013, 2014).

Normal kornea defektsiz, pürüzsüz, yansıtıcı, saydam ve oldukça hassas olan muntazam bir prekorneal gözyaşı film tabakasına sahiptir. Prekorneal gözyaşı film tabakası bu yapısından dolayı kornea sağlığı ile yakın ilişki içerisinde. Bu nedenle herhangi bir kornea hastalığı durumunda gözyaşı film tabakasının üretimi, dağılımı ve drenajının değerlendirilmesi oldukça önemlidir (Crispin 2005, Stades ve ark 2007).

### **1.1.5. Tavşanlarla İlgili Temel Oftalmolojik Bilgiler**

Birçok av hayvanı türünde olduğu gibi tavşanlarda da gözler; büyük ve kafatasının yanlarına konumlandırılmış şekildedirler. Tavşan korneası ortalama 15 mm'lik çapı ve yaklaşık 7 mm'lik eğrilik yarıçapıyla göz boyutuna göre oldukça büyüktür. Bu haliyle korneanın yarıçapı skleranın yarıçapı ile hemen hemen aynıdır. Kornea kalınlığının ise ortalama 0,36 mm olduğu belirtilmektedir. Üçüncü göz kapağı kası yoktur, ancak m. retractor bulbi sayesinde pasif olarak hareket ettirilebilir. Yağ yastıkları olmadığı için orbita; retrobulbar kaslar, orbita bezleri ve bulbus oculi tarafından doldurulur ve orbital sinüs olarak adlandırılan bir vasküler pleksusa sahiptir. Prekorneal gözyaşı film tabakasının stabilitesi dört orbital bezin varlığıyla sürdürülmektedir. Bunlar; gl. lacrimalis, gl. lacrimalis accessorius (retrobulbar, orbital ve infraorbital loblara sahip), süperfisial üçüncü göz kapağı bezi (gl. palpebra tertia süperficialis) ve üçüncü göz kapağının derin bezi (harder bezi)'dir. Tavşanlarda orbitalar arasındaki açı yaklaşık olarak 150-175°dir. Bu durum neredeyse 360°lik bir görüş alanına izin verir. Stereoptik görüşleri ise, yalnızca 10 ila 35°lik bir binoküler görüşle oldukça zayıftır (Holmberg 2008, Williams 2013).

### **1.2. Korneal İyileşme Mekanizmaları**

Her bir kornea katının; farklı derecede, farklı hızda ve tamamen farklı mekanizmalarla iyileştiği belirtilmektedir. Bu farklılıkların anlaşılması; iyileşmenin doğru bir şekilde değerlendirilmesini ve bu süreçte uygun adımların atılmasını mümkün kılmaktadır (Maggs 2008a).

### 1.2.1. Epitelyal İyileşme

Korneal epitelyum; yüzey epitel hücrelerinde meydana gelen dökülme, bazal hücrelerin mitoz bölünmesi ve limbal kök hücrelerin merkezci göçü sayesinde devamlılığını sağlamaktadır. Herhangi bir patoloji durumunda bu fizyolojik süreç sekteye uğramakta ve epitelyal iyileşme süreci başlamaktadır. Yüksek rejeneratif kapasiteye sahip epitel hücrelerinin bu süreçteki rolü oldukça önemlidir. Genel hatlarıyla epitel katta şekillenen bir lezyon; epitel hücrelerinin lezyonu örtme yönündeki ameboid hareketleri/kayması (erken yanıt) ve epitelyal mitozis (sonraki yanıt) ile onarılmaktadır. Detaylandırmak gerekirse; ilk olarak epitelyal hasar sonucu lezyonun etrafındaki normal epitel yapı düzleşir, geri çekilir, kalınlaşır ve BM ile olan hemidesmozomal bağlantılarını kaybeder. Yaralanmayı takip eden birkaç dakika içinde lezyonun kenarlarını çevreleyen epitel hücreleri ameboid hareketlerle kaymaya ve etkilenen bölgeyi örtmeye başlar. Reepitelizasyon 4 ila 7 gün içinde şekillenir, ancak epitel katın tamamen normal yapısını kazanması daha uzun süre almaktadır. Oluşan yeni epitel tabakası normale göre daha incedir ve mitoz bölünmelerle normal kalınlığını zamanla geri kazanır. Epitelyal iyileşmede son aşama; yeni oluşan epitel hücrelerinin hemidesmozomlar aracılığıyla BM'ye sağlam bir şekilde yapışmasıdır. Total epitelyum kaybıyla sonuçlanan lezyonların ise, konjunktival epitelyumun defektli bölgeye kaymasıyla 48-72 saat içinde örtüldüğü belirtilmektedir (Crispin 2002b, 2005, Maggs 2008a, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014).

### 1.2.2. Stromal İyileşme

Epitelyum ve anterior stromayı içeren derin kornea defektlerinin onarımı stromal iyileşmeyi gerektirmektedir. Stromal onarım kabaca; epitel hücrelerin defekti doldurması, limbustan hücre göçü ve stromal yapıların üretilmesiyle gerçekleşir. Bu süreçte üretilen yeni kolajen, normal stromal kolajenden tip ve dizilim olarak farklı olduğu için etkilenen bölgede saydamlık kaybı şekillenir (Crispin 2002b, 2005, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014).

Stromal iyileşme; komşu limbustan köken alan fibrovasküler yapı (vasküler iyileşme) ve/veya keratositlerin aktif fibroblastlara aktivasyonu (avasküler iyileşme) ile gerçekleşmektedir. Komplike olmayan lezyonlar avasküler iyileşme

eğilimindeyken, enfekte ve şiddetli lezyonlar genellikle vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi vaskülarizasyonla iyileşmeyi uyarır ve gerektirir. Avasküler iyileşmede; stromal defekt sonucu erken dönemde ödem oluşumu, ardından (sonraki 1-2 saat içinde) prekorneal gözyaşı film tabakası, humor aköz ve limbal damarlardan bölgeye nötrofil akışı görülür. Kemotaktik etkiyle bölgeye göç eden nötrofiller lezyona nüfuz eder ve lezyonu çevreler. Yakın bölgelerdeki keratositler ölür. Komşu keratositler, kolajeni ve ECM'nin diğer bileşenlerini hızla salgılayan fibroblastlara dönüşerek hasarlı bölgeye göç ederler. Böylece stromal hasardan kısa bir süre sonra fibroblastik proliferasyon başlamış olur. Yaralanmadan yaklaşık 48 saat sonra makrofajlar lezyonu istila eder ve hücrel debrisini uzaklaştırırlar. İzleyen haftalar ve aylarda oluşan skatriks yoğunluğu azalır, ancak tam olarak kaybolmaz. Bu süreç, etkilenen hayvanın türü ve yaşına göre de değişmektedir. Vasküler iyileşmede ise hücrel infiltrasyon daha yoğundur ve lezyon limbustan köken alan kan damarları tarafından kuşatılır. Granülasyon dokusu oluşur ve avasküler iyileşmeye göre daha yoğun bir skatriks formasyonu şekillenir. Son olarak kan damarlarının perfüzyonu sonlanır. Ancak, "hayalet damarlar" olarak adlandırılan bu damarlar herhangi bir yangı durumunda tekrar perfüze olabilirler. Stromal kolajenin replasman oranı ve onarımı türe göre oldukça değişkenlik göstermekte ve bu süreç yıllar alabilmektedir. Epitelyum stromadan daha hızlı iyileştiğinden, stromal defektler çoğu zaman yeni oluşan epitelyum tarafından örtülür. Dolayısıyla, stromal rejenerasyon epitelyum katının altında ve reepitelizasyondan sonra şekillenir. Lezyon sonucu hasar gören korneal sinirler ise yavaşça onarılır ve etkilenen bölgenin duyuusal hissi zamanla geri kazanılır (Maggs 2008a, Ledbetter ve Gilger 2013).

### **1.2.3. Endotelyal İyileşme ve Desement Membran İyileşmesi**

Endotelyal iyileşme veya endotelyumun uyarılara karşı yanıtı; normale göre daha ince ve tek katlı bir hücre tabakası oluşturmaktır. Endotelyumun rejeneratif kapasitesi türe ve yaşa göre değişmekle birlikte genellikle evcil türlerin erişkinlerinde sınırlıdır. Bu nedenle çoğu hayvanda endotelyum yetersiz bir şekilde onarılmaktadır. Desement membran ise perforasyonunu takiben retrakte olur ve onarımı endotel hücrelerinin ameboid hareketlerle defekti kapatması yoluyla gerçekleşir. Ancak bu durum, geniş çaplı lezyonlarda olduğu gibi her zaman mümkün olmayabilir (Crispin 2002b, 2005, Maggs 2008a).

### 1.3. Korneal İyileşme Süreci ve Etkileyen Faktörler

Korneal iyileşme; hücre ölümü, hücre göçü, hücrel farklılaşma ve ECM'nin yeniden şekillenmesini içeren kompleks bir süreçtir. Epitelyal ve stromal iyileşmeler arasındaki bağlantı, korneal iyileşme sürecinin karmaşıklığına katkıda bulunan bir diğer önemli noktadır. Epitelyum, stroma ve endotelyum katlarının iyileşme şekillerinde birtakım hücrel farklılıklar gözlenmektedir. Epitelyal iyileşmede limbal kök hücrelerin hareketi ve farklılaşması ön plandayken, stromal iyileşmede bunun yerini keratositlerin hareketli ve kasılma yeteneği olan miyofibroblastlara dönüşmesi alır. Endotelyal iyileşmede ise çoğunlukla hücre göçü ve yayılması öne çıkmaktadır (Ljubimov ve Saghizadeh 2015).

Korneal iyileşme sürecinde epitel hücreleri, keratositler, korneal sinirler, lakrimal bezler ve immun sistem hücrelerinden salgılanan büyüme faktörleri, sitokinler, proteazlar ve nöropeptitler hücrel olayların düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu süreçte hücrel unsurların yanı sıra bir dizi sitoaktif faktör, ECM bileşeni, ekstraselüler ortamın kimyasal yapısı ve biyomekanik kuvvetler arasındaki etkileşim de oldukça önemlidir (Bentley ve Murphy 2004).

#### 1.3.1. Büyüme Faktörleri ve Sitokinler

Büyüme faktörleri ve sitokinler; yara iyileşmesinde rol oynayan hücrelerin büyümesini, göçünü, farklılaşmasını, yapışmasını, ECM oluşumunu ve proteinaz aktivitesinin düzenlenmesini uyaran önemli düzenleyicilerdir. Epidermal büyüme faktörü (EGF), trombositten türetilmiş büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)  $\alpha$  ve  $\beta$ , asidik ve bazik fibroblast büyüme faktörleri (FGF), insülin benzeri (IGF), keratinosit (KGF), hepatosit (HGF) büyüme faktörleri, timosin- $\beta$ 4 (T $\beta$ 4), interlökin (IL) -1, -6 ve -10 ve tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$  gibi epitel hücreleri üzerinde spesifik etkileri olan birçok büyüme faktörü ve sitokin tanımlanmıştır (Ljubimov ve Saghizadeh 2015). Büyüme faktörleri ilk olarak hücre mitozunu uyarma kabiliyetine dayalı olarak tanımlanmış ve dokudaki veya kaynaklarındaki davranışlarına göre adlandırılmışlardır. Sitokinler ise yangı hücrelerinin mitozu ve farklılaşmasını etkileyen faktörler olarak kabul edilmiştir. Araştırmaların artmasıyla birlikte, bu iki sınıf arasındaki kesin

ayrım kısmen ortadan kalkmıştır. Zira, büyüme faktörlerinin yangı hücrelerini sitokinlerin de doku hücrelerini etkilediği görülmüştür (Bentley ve Murphy 2004).

Büyüme faktörlerinin kornea dokularına etki ettiği kabaca iki mekanizma vardır. Bunlar; otokrin ve parakrin mekanizmalardır. Tipik olarak, KGF ve HGF parakrin mekanizmayla korneal hücre proliferasyonuna etki ederken; TGF otokrin mekanizmayı kullanır. PDGF ve EGF, hem otokrin hem de parakrin sistemler aracılığıyla etkili olurlar. Ayrıca, birçok büyüme faktörünün korneal hücre göçünü uyarma yönü de vardır. Bu duruma örnek olarak; kornea endotel hücrelerinin ve keratositlerin göçünü uyaran PDGF ve korneal epitel hücre göçünü uyaran EGF verilebilir. IGF de korneal keratositlerin göçünü uyarır. Büyüme faktörleri bu şekilde korneanın fizyolojik fonksiyonlarını, özellikle kornea hücrelerinin proliferasyonunu düzenleyerek ve göçlerini uyararak korneal saydamlığın korunmasında önemli bir rol oynarlar. Sadece büyüme faktörleri değil, aynı zamanda birçok yangısal mediyatör de korneal iyileşme sürecine katkıda bulunur (Imanishi ve ark 2000).

EGF ailesi 13 üyeden oluşur. Bunlar arasında en önemlileri epitelyal yara iyileşmesine katılan EGF, TGF- $\alpha$  ve heparin bağlayıcı EGF benzeri büyüme faktörü (HB-EGF)'dür (Yu ve ark 2010). EGF, KGF-1 (KGF-1, FGF 7; KGF-2, FGF-10 olarak da bilinir) ve HGF gibi düşük moleküler ağırlıklı büyüme faktörleri korneal doku yenilenmesinde aktif olarak yer alırlar. Bu faktörler kornea epitel hücreleri için güçlü mitojendirler (Liu ve Kao 2015).

EGF; tükürük bezi, gözyaşı bezi, böbrekler, tiroid bezi ve pankreas gibi bir dizi dokudan salgılanan 6 kDa'lık bir prototipik polipeptit büyüme faktörüdür (Imanishi ve ark 2000, Bentley ve Murphy 2004). *In vitro* olarak kornea epitel hücre proliferasyonunu desteklediği, diğer trofik faktörlerle uyum içinde epitel hücre göçünü, BM bileşenleri ve ECM bileşenlerinin sentezini stimüle ettiği belirtilmektedir (Bentley ve Murphy 2004). EGF'nin trombositler, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından da salgılanabileceği bildirilmiştir (Yu ve ark 2010).

HB-EGF, tip-1 transmembran proteini olarak sentezlenir. Transmembran formu komşu hücelere sinyal iletimi görevi içerisinde yer alırken, HB-EGF'nin çözünür formu keratinositler ve epitel hüceler de dahil olmak üzere birçok hücre tipi için mitojenik ve kemotaktik etkilidir (Yu ve ark 2010).

KGF, 28 kDa'lık bir polipeptittir. FGF ailesinin (FGF-7 olarak da bilinir) bir üyesidir. Mezenşimal kökenli hüceler tarafından üretilir ve FGF reseptör izoformlarının bir alt kümesini ifade eden epitel hüceler için güçlü bir mitojendir (Yu ve ark 2010).

HGF, esas olarak mezenşimal hüceler tarafından üretilir. Kültürlenmiş epitel hücre kolonilerinin saçılmasını indüklemeye ve hepatosit büyümesini desteklemesinin yanında, çeşitli hücre tiplerinin büyümesini, hareketliliğini ve morfogenezisini kolaylaştırmak gibi birçok işleve sahiptir. KGF'ye benzer şekilde, HGF'nin de fibroblastlar tarafından üretildiği ve korneal epitelyum üzerinde parakrin tarzda etkili olduğu belirtilmektedir (Yu ve ark 2010).

TGF ailesi iki alt gruba ayrılır. Bunlar TGF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$ 'dir. TGF- $\alpha$  EGF'ye benzer ve ortak bir reseptörleri vardır. Öte yandan TGF- $\beta$ , EGF'den çok farklıdır. TGF- $\beta$ , hemen hemen tüm çekirdekli hücelerden, özellikle kanser hücelerinden salgılanan 25 kDa'lık bir proteindir. Memelilerde TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 ve TGF- $\beta$ 3 olmak üzere üç üyesi vardır. TGF ailesi korneal yara iyileşmesinin önemli bir parçası olarak dikkat çekmektedir. Hücre tiplerine, farklılaşma durumuna ve mevcut diğer büyüme faktörlerine bağlı olarak çeşitli etkilere sahip olabilmektedirler. Bu etkilerin başlıcaları; hücre proliferasyonu, ECM sentezi, anjiyogenezis, immun yanıt, apoptozis ve hücrel farklılaşmadır. Aynı zamanda matriks metalloproteinaz (MMP) sentezini azaltıp fibroblastlar tarafından matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP)'nin salınımını uyarabilirler (Imanishi ve ark 2000, Bentley ve Murphy 2004, Yu ve ark 2010).

Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF); epitel hüceler, keratinositler ve endotelial hüceler tarafından salgılanır. Bu büyüme faktörünün kornea

hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu artırdığı ve tavşanlarda kornea yaralarında iyileşmeyi hızlandırdığı bildirilmiştir (Bentley ve Murphy 2004).

IGF-1, proinsülin ile yapısal benzerliği olan çok işlevli düzenleyici bir peptiddir. İlgili reseptörlere bağlanarak hücrel proliferasyonu ve hücrelerin hayatta kalması için gerekli mekanizmaları düzenler (Yu ve ark 2010).

Nöropeptidler ve nörotrofinler de korneal iyileşme sürecinde önemli bir yere sahiptirler. Duyusal sinirlerde bulunan P maddesi (Substance P), korneal homeostazda rol oynayan bir nöropeptiddir. Korneal epitel hücre göçü ve proliferasyonunu uyarmakla beraber çok çeşitli trofik etkilere sahiptir. Nörotrofin gen ailesinin en iyi karakterize edilmiş üyesi ise nöral büyüme faktörü (NGF)'dür. Trofomiyozin reseptör kinaz A (TrkA), NGF için yüksek afiniteli bir reseptördür ve etkilerinin çoğunu bu reseptör aracılığıyla meydana getirir (Bentley ve Murphy 2004).

Korneal iyileşme süreci ve korneal saydamlığın korunmasında çeşitli sitokinlerin rol oynadığı bilinmektedir (Imanishi ve ark 2000, Bakunowicz-Lazarczyk ve Urban 2016). Sitokinler özellikle epitelyal yara iyileşmesinde etkilidir ve birden fazla role sahiptirler. Korneal epitelyal hasar sonrası aktive olan sitokinler arasında en dikkat çekenler proinflamatuvar IL-1 $\alpha$  ve IL-6'dır (Liu ve Kao 2015).

### **1.3.2. Bazal Membran**

Korneal epitelyal BM, bazal epitel hücreleri ile stroma arasında konumlanmıştır. Bu son derece özelleşmiş ECM bileşeni, yalnızca epitel hücreleri stromaya tutturmak ve embriyonik gelişim sırasında yapısal iskeletin oluşmasını sağlamakla kalmaz aynı zamanda hücrel göç, hücrel farklılaşma ve farklılaşmış epitelyal fenotipin korunmasında da rol oynar. Bazal membranın yapısında fibronektin gibi bileşenlere ek olarak kolajen, laminin, heparan sülfat ve nidojenler de bulunmaktadır. Korneal homeostaz ve yara iyileşmesindeki bir diğer kritik işlevi ise; sitokinlerin epitelyumdan stromaya veya stromadan epitelyuma penetre olmalarını engelleyici bir bariyer görevi görmesidir. Ayrıca, epitelyal BM birçok kalıtsal ve edinsel kornea hastalığında da rol oynamaktadır (Torricelli ve ark 2013). Bazal membran bütünlüğünün bozulması, korneal reepitelyalizasyon sürecini birkaç farklı şekilde etkileyebilir. Çünkü BM'nin korneal iyileşme sürecinde epitel hücre

göçü, integrin oluşumunun uyarılması, korneal epitelyumun debridementi ve stabil bir yapışma kompleksinin oluşması gibi önemli görevleri vardır (Liu ve Kao 2015). Bazal membran bütünlüğü bozulmadığı takdirde epitelyal yara iyileşmesinin daha hızlı ve iyi bir şekilde meydana geleceği ve BM'nin tamamen yok olması durumunda epitelyal yara iyileşmesinde ciddi aksaklıkların yaşanacağı belirtilmektedir (Bentley ve Murphy 2004).

### **1.3.3. İntegrinler**

İntegrinler, fizyolojik ve patolojik birçok hücrel süreçte önemli işlevlere sahip olan, ayrıca hücre-hücre ve hücre-ECM yapışmasına aracılık eden bir transmembran heterodimerik glikoprotein ailesidir (Carter 2009, Liu ve Kao 2015). İmmüoglobulin süper geni, selektin ve kaderinler de benzer işlevlere sahip olan diğer hücre yapışma molekülleridir. Hücre yapışma moleküllerinin bu hayati işlevleri olmadan migrasyon, proliferasyon, farklılaşma ve aktivasyon gibi hücrel süreçlerin gerçekleşmeyeceği vurgulanmaktadır. Ayrıca, integrinlerin yara onarımı, embriyogenesis, tümör invazyonu ve immünolojik süreçlerde de rol oynadığı belirtilmektedir (Carter 2009).

### **1.3.4. Proteinazlar**

Prekorneal gözyaşı film tabakası ve humor aköz içerisinde bulunan çeşitli proteinazlar, proteinaz inhibitörleri, büyüme faktörleri ve sitokinler; kornea hücrelerinin doğal döngüsünde ve korneal iyileşmede önemli role sahiptirler. Özellikle stroma üzerinde etkili olan proteinazlar lökosit kemotaksisinde, enfekte korneadaki patojen yıkımında, korneal ülserasyonda, epitel hücre göçünde ve korneal anjiyogeneziste görev alırlar (Brooks ve Ollivier 2004, Ledbetter ve Gilger 2014). Bu proteolitik enzimler; mikroorganizmalar, yangı hücreleri (polimorfonükleer lökositler (PMNL) ve makrofajlar), kornea epitel hücreleri ve aktif fibroblastlar tarafından salgılanabilirler. Kornea ve yangı hücreleri tarafından salgılananlar endojen proteinazlar, mikroorganizmalar tarafından salgılananlar ise eksojen proteinazlar olarak isimlendirilmektedir (Ollivier ve ark 2007, Ledbetter ve Gilger 2014).

Kornea dokusu ve gözyaşı film tabakasındaki proteinazlar, doğal proteinaz inhibitörleri ( $\alpha$ 1-proteinaz inhibitörü,  $\alpha$ 2-makroglobulin ve TIMP'ler) ile bir denge

içerisindedirler. Bu sayede sağlıklı kornea dokusunda kontrolsüz degradasyon önlenmektedir (Bentley ve Murphy 2004, Ollivier ve ark 2007, Ledbetter ve Gilger 2014). Bazı ciddi kornea ülserleriyle ilişkili korneal stromanın hızlı degradasyonu; stromal ECM'nin kolajen, PG'ler ve diğer bileşenleri üzerinde etkili olan proteolitik enzim aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Bu durum keratomalazi veya "korneal erime" olarak adlandırılmaktadır. Bu bağlamda korneal ülserasyon, bir proteinaz denge bozukluğudur (Brooks ve Ollivier 2004, Ledbetter ve Gilger 2014).

Korneal yara iyileşmesinde rol oynayan başlıca iki önemli enzim ailesi; MMP'ler ve nötrofil elastaz (NE)'ı içeren serin proteazlar (SP)'dir (Bentley ve Murphy 2004, Ollivier ve ark 2007). MMP'ler; büyüme faktörlerini, sitokinleri ve adezyon moleküllerini aktive etmek için çeşitli substratlara (ECM ve BM proteinleri, proteinazlar ve bunların inhibitörleri) etki eden çinko bağlayıcı geniş bir endopeptidaz ailesidir. Bunların çoğu proenzim olarak salgılanır ve daha sonra proteolitik aktivasyona uğrarlar. MMP salınımı, aynı zamanda büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından da düzenlenir. ECM'nin degradasyonu yoluyla ya da hücrelerin adheziv özelliklerini değiştirerek hücre göçünü etkilerler. MMP-10 gibi bazı MMP'ler korneal epitelyal yara iyileşmesini geciktirebilirken, MMP-9 gibi MMP'ler ise bu süreçte birçok karmaşık rol üstlenebilirler. Ancak, MMP'lerin etkileri önemli oranda MMP aktivitesinin doğal modülatörleri olan TIMP'lerin mevcudiyetine ve miktarına bağlı olarak şekillenmektedir (Ljubimov ve Saghizadeh 2015). Matriks metalloproteinazların doku inhibitörlerinin 4 izoformu (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4) vardır ve öncülleri de dahil olmak üzere tümü MMP'lere bağlanabilir. Her bir TIMP, çoğu MMP'yi inhibe edebilir ve MMP'leri salgılayan hücreler tarafından üretilirler. Özellikle TIMP-1, MMP-9 için; TIMP-2 ise MMP-2 için yüksek affiniteye sahiptir (Brooks ve Ollivier 2004). MMP'ler, substrat özgüllüklerine göre farklı gruplara ayrılırlar. Bunlar; kolajenazlar (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13), jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9), stromelisinler (MMP-3, MMP-10 ve MMP-11) ve matrilisinler (MMP-7)'dir (Bentley ve Murphy 2004). Bunlar arasında MMP-2 ve MMP-9 stromal kolajenin yeniden şekillenmesi ve degradasyonu açısından büyük öneme sahiptirler. Normal kornea epiteli ve stromada bulunan MMP-2'nin korneal hasara bağlı olarak arttığı ve MMP-9'un ise sadece hasarlı korneada bulunduğu belirtilmektedir. MMP-2, korneal keratositler tarafından sentezlenmekte ve normal korneada hasar görmüş kolajenleri parçalamak

için aktive olmaktadır. MMP-9 ise korneal yaralanmayı takiben epitel hücreleri ve polimorfonükleer nötrofiller tarafından salgılanmaktadır (Ollivier ve ark 2007). Ek olarak, korneal epitelial yara iyileşmesinin (özellikle ECM'nin yeniden şekillenmesinde) erken evrelerinde MMP-9'un, daha sonraki evrelerinde ise MMP-2'nin etkin görev aldığı belirtilmektedir (Brooks ve Ollivier 2004).

Serin proteinazlar, kornea üzerinde etkili olan bir başka enzim ailesidir. NE'nin insan, köpek ve at gözyaşında en çok bulunan serin proteinaz olduğu belirtilmektedir. Bunlar; PMNL ve makrofajlar tarafından sentezlenirler. Doğal Tip III ve Tip IV kolajenin yanı sıra korneal ECM bileşenlerinden olan laminin ve fibronektini de yıkımlarlar (Brooks ve Ollivier 2004).

Proteinazlar içerisinde yer alan bir diğer aile katepsinlerdir. Bunlar; hücre yüzeyinde ya da ekstraselüler olarak bulunabilen ve ECM degradasyonunda rol oynayan lizozomal proteinazları içerirler (Ljubimov ve Saghizadeh 2015).

### **1.3.5. Ekstraselüler Matris**

ECM, kolajen fibrillerin ve çeşitli PG'lerin düzenli organizasyonu neticesinde korneal saydamlığın sağlanmasında önemli bir role sahiptir (Lorenzo-Martín ve ark 2019). Keratositler, ECM yapısını oluşturan başlıca hücre tipidir. Bu hücreler pasif bir şekilde stromal lamellalar arasına yerleşmiş durumdadırlar (West-Mays ve Dwivedi 2006, Petroll ve Miron-Mendoza 2015). Yara iyileşmesi sırasında aktive olarak fibroblast ve miyofibroblastlara dönüşebilirler. Miyofibroblastlar lezyonlu bölgeye göç eder ve doku onarımını kolaylaştırmak için Tip I, III, IV ve V kolajenleri de içeren ECM proteinlerini sentezlerler (Chaurasia ve ark 2015, Gallego-Muñoz ve ark 2016). Bu süreçte şekillenen korneal opasitenin Tip I/Tip III kolajen oranının bozulması neticesinde şekillendiği bildirilmiştir (Chen ve ark 2005). Ayrıca, miyofibroblastlar PG'leri de üretebilmektedirler (Massoudi ve ark 2016).

### **1.3.6. Fibronektin**

Fibronektin, kornea epitel hücreleri de dahil birçok farklı hücre tipinin bağlanması, yayılması ve göçünde etkili olan bir glikoproteindir. Aynı zamanda ECM'nin önemli bir bileşenidir. Epitelial hasar sonrası yara yüzeyinde şekillenen fibronektinin, yara iyileşmesini olumlu yönde etkileyen bir dizi

hücre içi sinyal olayını başlattığı ve epitelyal yara iyileşme süreci ilerledikçe fibronektin üretiminin yavaş yavaş azaldığı belirtilmektedir (Bentley ve Murphy 2004).

### **1.3.7. Hyaluronik Asit**

Hyaluronik asit, yüksek moleküler ağırlıklı ve korneadaki kolajen matriksin interfibriler boşluğunda bulunan temel GAG'lardandır. ECM bileşeni olmakla beraber aynı zamanda trofik bir faktördür (Bentley ve Murphy 2004, Yang ve ark 2010). Hücre proliferasyonu, yangının önlenmesi ve yara onarımı gibi çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynayan HA, biyouyumlu ve viskoelastik bir bileşiktir. Aynı zamanda, yüksek su tutma kapasitesine sahiptir. Hyaluronik asit reseptörü olarak CD44 tanımlanmıştır. Bu reseptör, ekstraselüler bir HA bağlanma alanına sahip olmakla birlikte hücresel proteinlerle etkileşime girebilen ve çeşitli işlevleri (hücre sel sinyal iletimi, hücre göçü ve çoğalması gibi) yerine getiren hücre içi bir alana sahiptir (Ho ve ark 2013).

### **1.3.8. Duyusal İnnervasyon**

Trigeminal gangliyonun oftalmik dalından köken alan duyu sinir lifleri, korneanın epitel hücreleri arasında çok sayıda ince dala ayrılarak sonlanmaktadır. Sinir liflerinin bütünlüğü normal kornea fonksiyonu açısından oldukça önemlidir. Çünkü; korneal homeostaz ve yara iyileşmesinde etkili olan nörotrofinlerin salınması için termal, mekanik ve kimyasal uyarıların algılanması gerekmektedir (Ljubimov ve Saghizadeh 2015).

### **1.3.9. İmmun Sistem**

Yangı hücrelerinin hasarlı kornea dokusuna göçü, korneal iyileşme sürecinin önemli bir aşamasıdır. Uyarılara yanıt olarak dokulara göç eden ilk hücreler PMNL'dir. Süperfisial epitelyal hasar ya da alkali yanık gibi çeşitli kornea lezyonlarında ilk 2 gün limbus ve hasarlı bölgelerde PMNL'ler bulunur. Üçüncü gün itibarıyla PMNL sayısı azalmaya başlar ve neovaskülarizasyonla birlikte mononükleer fagositler gibi diğer hücre tipleri sayıca baskın hale gelir. Kornea alkali yanığından sonra şekillenen doku yıkımı, stromal erime ve neovaskülarizasyon karakteristik olarak PMNL'lerin infiltrasyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir. Yangısal süreç

koruyucu fonksiyonuna ek olarak, hücrel proliferasyonun başlatılması ve skatriks oluşumunda da etkilidir. Yara iyileşmesi sırasında lezyonlu alana göç eden yangı hücreleri, karmaşık hücrel etkileşim ağını düzenleyen sitokinler aracılığıyla diğer hücreler üzerindeki etkilerini gösterirler. Sitokinlerin çoğu yangı hücreleri (özellikle monosit, makrofaj ve PMNL'lerin) tarafından üretilmektedir. Bununla birlikte granülositlerin, lezyonlu alana en çok göç eden yangısal hücre tipi olması sebebiyle en önemli sitokin kaynağı oldukları belirtilmektedir (Gan ve ark 1999).

### **1.3.10. Limbal Epitelyal Kök Hücreler**

Korneal epitelyum, insanlar da dahil pek çok türde sadece korneoskleral kavşakta (limbus) bulunan limbal epitelyal kök hücreler (LESC) tarafından sürekli olarak yenilenmektedir. Limbal kök hücrelerin sağlıklı hücre yapısının sürdürülmesinde ve reepitelizasyon sürecinde hayati role sahip oldukları bilinmektedir. Öyle ki, bu hücrelerin hasarına bağlı olarak korneal yara iyileşmesinin yavaşladığı, kimi durumlarda ise hiç şekillenmediği belirtilmektedir. Limbal epitelyal kök hücrelerin genetik veya edinsel (oküler yanıklar ve enfeksiyon kaynaklı hasar) patolojileri, limbal kök hücre eksikliği (LSCD) başlığı altında toplanmaktadır. Bu durumun klinik yansıması; korneal yara iyileşmesindeki değişimler, stromal neovaskülarizasyon ve konjunktivalizasyondur. Bu semptomlar sonucu korneal opasite ve görme kaybı şekillenebilmektedir (Ljubimov ve Saghizadeh 2015, Kethiri ve ark 2019).

## **1.4. Korneal Patolojik Yanıtlar**

Korneal patolojik reaksiyonların oluşumu ve iyileşme hızları, korneanın avasküler ve kompakt yapısından dolayı oldukça değişkenlik göstermektedir. Ödem, hafif skatriks oluşumu ve lipit birikimi gibi diğer dokularda hafif hatta fark edilmeyecek seviyedeki patolojiler, korneal saydamlığı büyük ölçüde etkileyebilmektedir. Bu nedenle, bu tip lezyonların korneada oluşumu diğer dokulara kıyasla çok daha önemlidir (Maggs 2008a).

### **1.4.1. Korneal Ödem**

Saydamlık kaybıyla karakterize olan korneal ödem, korneanın sıvı içeriğinin artmasına bağlı olarak şekillenen kalınlık ve yoğunluk artışıdır. Korneal ödem

genellikle stromal GAG'ların kaybına bağlı olarak stroma içinde fazla miktarda sıvı birikimi ve biriken sıvının kolajen lamelleri ayırmaya zorlamasıyla oluşmaktadır. Korneal saydamlığın sürdürülmesi, hem korneanın fiziksel yapısına hem de aşırı hidrasyonu engelleyen mekanizmalara bağlıdır. Bu bağlamda, ödem oluşumunun önündeki başlıca engel endotelyum ve epitelyum'dur. Endotelyum, sıvının stromadan humor aköz içerisine iletimini sağlayarak stromal sıvı dengesinin kontrol edilmesini sağlar. Aynı zamanda korneal dehidrasyonun sürdürülebilmesi için  $Na^+/K^+$  pompası mekanizmasının yanı sıra fiziksel bir bariyer olarak da görev yapar. Endotelyumun bu bariyer fonksiyonu, zonula okludens olarak bilinen sıkı hücresel bağlantılar sayesinde. Epitelyum ise prekorneal gözyaşı film tabakasından stromaya sıvı girişini önlemek gibi basit ama kritik bir role sahiptir. Epitelyum hücrelerindeki herhangi bir işlev bozukluğu stromal ödeme ve saydamlık kaybına neden olur ancak, endotel hücre kaybına bağlı oluşan kornea ödemi daha belirgin ve daha ciddi boyutlara ulaşabilmektedir. Yaşlanmaya bağlı şekillenen fizyolojik endotelyum kaybı kayda değer bir klinik ödem tablosuna neden olmazken, hızlı gelişen patolojik ödem sonrası görüş kaybı dahi şekillenebilmektedir. Bu durum; primer olarak kornea hastalıklarında ya da korneal endotelyal distrofi, glaukom, üveitis ve ön lens luksasyonu gibi intraoküler hastalık süreçlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Maggs 2008a, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014). Korneal ödemin nedenleri arasında küt ya da penetran travmalar, cerrahi müdahaleler, intraoküler dokuların yangısı, intraoküler neoplaziler ve endotelyal distrofiler de sayılabilir. Puslu mavi bir görünüme sahip olan korneal ödem; anterior epitelyum hasarında fokal alanlar şeklindeyken, yaygın endotelyal kayıplara neden olan derin lezyonlarda diffuz bir yayılım göstermektedir. Altta yatan neden ortadan kaldırıldığında yeterli endotelyal hücre işlevi mevcutsa ve sıvı dengesi yeniden kurulabilirse korneal ödem geri dönüşümlü olabilmekte, şiddetli korneal ödemin ise epitelyal bulla oluşumuna (bullöz keratopati) ve korneal vaskülarizasyona neden olabildiği belirtilmektedir (Crispin 2002b, 2005, Maggs 2008a).

#### **1.4.2. Korneal Vaskülarizasyon**

Vaskülarizasyon, tüm dokularda karşılaşılabilen onarıcı yanıtın normal bir bileşenidir. Ancak, bu yanıt korneada şekillendiğinde doğal olarak korneanın saydam yapısı bozulmakta ve dolayısıyla görüş kaybı şekillenmektedir. Korneada

vaskülarizasyon, çeşitli korneal patolojilere yanıt olarak ve özellikle stromal iyileşme sırasında meydana gelmektedir. Normal şartlarda sağlıklı korneanın avasküler yapısı, anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki denge ile aktif olarak korunmaktadır. Bu denge anjiyogenik faktörler lehine bozulduğunda korneal vaskülarizasyon meydana gelmektedir. Korneal damarlar konjunktival, skleral ve iridal damarlardan köken alır ve korneaya nüfuz ettikten sonra kolajen lameller düzlem boyunca yayılırlar. Bu damarlaşma yüzeysel, derin ya da miks şekilde olabilir. Yüzeysel seyreden damarlar stromanın anterior üçte birlik kısmında subepitelyal ve anterior stromal bölgede yerleşim gösterirler. Konjunktival damarlardan köken alan bu ince açık kırmızı süperfisial damarlar “ağaç kökü” benzeri bir görünüme sahiptirler. Yani, limbusta tek bir damar olarak başlayıp kornea içinde yoğun bir şekilde dallanırlar. Bu damarlar, konjunktival sirkülasyonun devamı niteliğinde olduğu ve yüzeysel seyrettikleri için limbusu geçerken görülebilirler. Derin korneal damarlaşma posterior stromada lokalize olmaktadır. Anterior siliyer damarlardan köken alan bu çok ince yapıdaki derin intrastromal damarlar daha çok koyu kırmızı renkte ve “çit” benzeri bir görünüme sahiptirler. Daha kısa ve düzdürler. Daha az dallanırlar ve görünüşleri bir nevi fırça darbelerini andırır. Siliyer dolaşımın devamı oldukları için limbusun altından ortaya çıkıyormuş gibi görünürler. Korneada oluşan damarlaşmanın derinliği genellikle lezyonla ilgili fikir vermektedir. Derin damarlar stromal ya da intraoküler hastalıkları düşündürürken, yüzeysel damarlar genellikle korneal epitelyum ile alakalı hastalıkları akla getirmektedir. Komplike ve inatçı kornea lezyonlarında görülen agresif vaskülarizasyona granülasyon dokusu oluşumu da eşlik edebilmektedir (Maggs 2008a, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014).

### **1.4.3. Korneal Fibrozis**

Stromal iyileşme sonucu oluşan yeni kolajen fibriller düzenli bir örüntüye sahip olmadıkları için korneal saydamlık kaybına ve dolayısıyla ışık iletiminin engellenmesine neden olmaktadır. Bu yeni oluşan kolajen fibriller, korneal epitelyum altında gri renkli “iplik” veya “tüy” benzeri yapılar olarak görülmektedirler. İyileşme sürecinden sonra korneal skatriks dokusunun optik yüzeylerden tam olarak temizlenmesi ve buna bağlı olarak görüşün yeniden sağlanması her zaman mümkün olmamaktadır. Genellikle skatriks oluşumuna neden

olan kornea lezyonu ne kadar derin olursa, skatriks formasyonu da o oranda yoğun ve kalıcı olmaktadır. Bu nedenle şiddetli durumlarda korneal saydırlılığın geri kazanılma şansı azalmakta ve kalıcı hale gelen skatriks dokusu nebula, makula ve lökoma olarak isimlendirilmektedir (Maggs 2008a).

#### **1.4.4. Korneal Melanozis / Pigmentasyon**

Korneal melanozis sıklıkla korneal pigmentasyon veya pigmenter keratitis olarak adlandırılmaktadır. Bu terim kullanılırken, melanin dışındaki pigmentlerin (hemoglobın veya kedilerin korneal sekesterindeki çözünür pigment gibi) varlığı ve neden olabilecekleri korneal opaklaşma gerçeğı göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle, melanin birikiminde spesifik olarak korneal melanozis terimi de kullanılabilir. Bu patolojik yanıt çoğunlukla klinik bir tanıymış gibi kullanılsa da aslında her biri farklı tedavi ve prognoza sahip olan ve birçok nedenden kaynaklanabilen kronik korneal irritasyonun yalnızca bir işaretidir. Korneal pigmentasyon (melanozis) sıklıkla kronik yangı ile ilişkilendirilmektedir. Yangı sonrası normal limbal melanositlerin proliferasyonu ve yer değıştirmesi (limbal ve perilimbal dokulardan göç etmesi) sonucu korneal melanozis şekillenmekte ve melanin birikimi çoğu zaman korneal epitelyum ve anterior stromada olmaktadır (Maggs 2008a, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014). Pigment birikimi, kalıcı pupiller membran veya diğerk anterior segment disgenezisi tiplerinde olduğı gibi konjenital bir anomali olabilmektedir, ancak edinsel korneal pigmentasyonun daha yaygın olduğı belirtilmektedir. Pigment birikiminin lokasyonu, genişliğı ve derinliğı genellikle bu duruma neden olan uyarana bağılıdır. Pigmentasyon kaynaklı sorunlar ise pigment birikiminin genişliğine ve derinliğine bağılıdır. Bunun da, limbusta bulunan pigment miktarıyla ilişkili olduğı belirtilmiştir (Crispin 2002b, 2005). Korneal melanozis, kronik korneal irritasyona verilen nonspesifik bir yanıt olmakla birlikte diğerk bazı hastalıkların mevcudiyetinde (lagoftalmus, n. facialis disfonksiyonu ve makropalpebral fissur gibi), sürtünmeye bağılı oluşan irritasyonlarda, prekorneal gözyaşı film tabakası anormalliklerinde (özellikle keratokonjunktivitis sikka) ve pannus (kronik süperfisyal keratokonjunktivitis) gibi durumlarda da şekillenebilmektedir. Şiddetli ve/veya kronik irritasyon sonucu oluşan korneal melanozise; kalınlaşma, rete peg oluşumu, metaplazi, vaskularizasyon ve keratinizasyon gibi kornea epitelinde meydana gelen değışiklikler de eşlik edebilmektedir. Korneal melanozisin oluşumunda tür çeşitliliğı

etkilidir. Örneğin, kuşlar melanozis oluşumuna aşırı derecede dirençliyen atlar ve kedilerin orta derecede dirençli oldukları belirtilmektedir. Köpeklerin ise aşırı duyarlı oldukları bildirilmiştir. Ayrıca, korneal melanozisin duyarlı ırklarda (Pug gibi) hızla ilerlemediği veya görmeyi engellemediği sürece tedavi edilmesine gerek olmadığı belirtilmektedir. Bununla birlikte, korneal melanozisin tespiti her zaman altta yatan irritasyon kaynağının araştırılmasını gerektirmektedir. Mümkün olduğunda altta yatan neden ortadan kaldırılmalıdır. Uyarının ortadan kaldırılması veya hastalık tablosunun tedavi edilmesi genellikle melanin birikimini yavaşlatmakta veya önlemektedir. Oluşmuş olan korneal melanozisin tamamen temizlenmesi ise her zaman mümkün olmamaktadır (Maggs 2008a).

#### **1.4.5. Stromal İnfiltrasyon**

Stromanın yangısal hücre infiltrasyonu, klinik olarak korneada gözlenen sarımsı yeşil renk değişikliğiyle kendini belli etmektedir. Enfektif bir durum neticesinde veya nonseptik olarak şekillenebilmektedir. Bu durumun en çok atlarda, genellikle köpeklerde ve nispeten nadir olarak kedilerde görüldüğü belirtilmiştir. Nonseptik infiltrasyon durumunda yangı hücreleri gözyaşı, limbus veya üveal bölgeden (humor aköz yoluyla) kaynaklanarak hızlı bir şekilde korneal stroma içerisinde birikmektedirler. Bu süreçte yangı hücrelerinden serbest kalan litik enzimlerin etkisiyle bir stromal kolajenolizis (stromal malasi veya korneal erime) durumu da oluşabilmektedir (Maggs 2008a).

#### **1.4.6. Korneada Anormal Madde Birikimi**

Korneada lipit ve/veya mineral birikimi ışıltılı, kristal veya parlak beyaz alanlar olarak görülmektedir. Bu birikimler sıklıkla farklı miktarlarda kolesterol ve kalsiyum içermektedirler. Kornea total olarak etkilenebilmekle birlikte lipit ve mineral birikintileri genellikle subepitelyal yerleşimlidirler. Bu nedenle etkilenmiş kornea floresein ile boyanmamaktadır. Bu tür korneal birikimlerin birçok köpek ırkında kongenital olarak (korneal lipit distrofisi) şekillenebildiği ve kedilerde nadir olmakla birlikte köpek ve atlarda yangısal bir sebeple edinsel olarak (korneal lipit dejenerasyonu) da oluşabileceği belirtilmektedir. Korneal lipit distrofisi bilateral ve ağrısızdır, görüşe çok az etki etmekte ve tedavi gerektirmemektedir. Korneal lipit dejenerasyonu ise genellikle tek taraflı ve sıklıkla yangı ile ilişkilidir (Maggs 2008a).

#### **1.4.7. Stromal Malasi / Erime**

Stromal malasi veya erime; korneal hasarı takiben bölgeye infiltre olan akyuvarlar (özellikle stromadaki nötrofiller), mikroorganizmalar, kornea epitel hücreleri ve keratositlerden serbest kalan kolajenaz enzimine bağlı olarak oluşan kolajenolizisin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Artan kolajenolitik aktivite sonucu kolajen yapı bozulmakta ve stroma yerçekiminin etkisiyle alt göz kapağı üzerine doğru "akıntı" şeklinde bir görüntü oluşturmaktadır. Bu tablo daha sonra derin korneal ülserasyon ya da desementosel ile sonuçlanabilmektedir. Stromal malasinin akyuvar infiltrasyonu ve kornea ödemi gibi kolajenaz üretimini uyaran kornea patolojilerine bağlı olarak da şekillenebileceği vurgulanmaktadır (Maggs 2008a).

#### **1.5. Kimyasal Kornea Yanıkları**

Kornea ve diğer oküler yapıların kimyasal yanıkları oküler acil durum başlığı altında değerlendirilmektedir. Tüm evcil hayvan türlerinde kimyasal kornea yanıklarıyla karşılaşılabilirken bekçi köpekleri, polis köpekleri ve atlarda bu durumun daha olası olduğu belirtilmektedir. Kimyasalla maruziyeti takiben, konjunktivada hafif hiperemi ve şemozisten ileri derece limbal iskemiye kadar varabilen bir klinik tablo ile karşılanabilirken; korneada fokal veya diffuz korneal bulanıklıkla kendini belli eden punktat epitelyal erozyondan pankorneal opaklaşmaya, ülserasyon ve bazen de perforasyona kadar değişen bir klinik tablo şekillenebilmektedir. Anterior segmentte ise hafif aköz parlama, üveitis ve generalize yangı gibi farklı değişiklikler görülebilmektedir. Lens zonüllerinin kimyasaldan etkilendiği durumlarda lens luksasyonu dahi şekillenebilmektedir (Crispin 2002b, Crispin 2005).

Oküler hasarın şiddeti; maruz kalınan kimyasalın türü, miktarı, konsantrasyonu (pH) ve kimyasalla maruziyet süresine göre değişmektedir (Crispin 2002b, Kuckelkorn ve ark 2002). Hasarın boyutu düşünüldüğünde kimyasal maddenin; kornea, konjunktiva ve skleraya olan penetrasyon yeteneğinin de oldukça önemli olduğu görülmektedir. Korneanın hem epitel hem de endotel katı suda çözünür (polar) maddelere karşı bariyer görevi görürken, korneal stroma sadece yağda çözünen maddelere (nonpolar) karşı bir engeldir. Bu nedenle, hem suda hem

de yağda çözünen maddeler dokulara daha kolay nüfuz edebilmektedirler (Lemp 1974).

Korneada şekillenebilecek iki genel kimyasal yanık türü vardır. Bunlar; asidik ve alkali yanıklardır. Her iki kimyasal yanık türünde de görülebilen ortak semptomlar; korneal ödem ve opasite artışı, epitelyal doku kaybı, ağrı, stromal erime ve anterior üveitis'tir. Korneada kimyasal yanıklara neden olabilecek asidik maddelerin başında sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ), hidroklorik asit (HCl), nitrik asit ( $HNO_3$ ), asetik asit ( $CH_3COOH$ ), kromik asit ( $H_2CrO_4$ ) ve hidroflorik asit (HF) gelmektedir. Asitler, korneal epitelyumdaki proteinlerin koagülasyonuna (çökme) neden olarak daha derin dokulara penetrasyonlarını engellemiş olurlar. Dolayısıyla göze daha fazla zarar vermeleri bu mekanizma sayesinde önlenmiş olur. Bir başka ifadeyle, oküler yanığa sebep olan kimyasal madde güçlü bir asit ( $pH \leq 2,5$ ) değilse kornea epitelinin ötesine geçemez ve genellikle yanık yüzeysel bir lezyonla sonuçlanır (Crispin 2005, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014). Bununla birlikte, HF ve  $H_2SO_4$  gibi güçlü asitlerin oküler yapılara alkaliler kadar hızlı nüfuz edebildikleri belirtilmektedir (Kuckelkorn ve ark 2002).

Kornea alkali yanıklarına neden olan başlıca kimyasallar; amonyum hidroksit ( $NH_4OH$  -  $pH$  12,5), potasyum hidroksit (KOH -  $pH$  14), sodyum hidroksit (NaOH -  $pH$  14), kalsiyum hidroksit ( $Ca(OH)_2$ ) ve magnezyum hidroksit ( $Mg(OH)_2$ )'tir. Bu bileşikleri içeren maddeler arasında kül suyu, çimento, kireç, amonyak, maytaplar ve işaret fişekleri bulunmaktadır (Crispin 2002b, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014). Oküler yanıklarda sık karşılaşılan bu alkalilerin penetrasyon yeteneği hızlıdan yavaşa doğru;  $NH_4OH$ , NaOH, KOH ve  $Ca(OH)_2$  şeklinde sıralanmaktadır. Bu alkaliler, penetrasyon derecelerine bağlı olarak korneal ve konjunktival epitelyumda, stromal keratositlerde ve endotelyumda ciddi kayıplara neden olmaktadır. Alkalilerin yapısındaki hidroksil (OH) grubu, hücre zarındaki yağ asidi bileşenlerini sabunlaştırarak hücrel yapıların bozulmasına ve hücre ölümüne neden olurken, kation grubu daha çok alkalinin penetrasyonu ile ilişkilidir (Kuckelkorn ve ark 2002, Crispin 2005). Dolayısıyla, yanık sonrası oluşan korneal hasarın derecesini büyük ölçüde alkalinin yapısındaki OH konsantrasyonu belirlemektedir. Bir başka ifadeyle, alkali madde ne kadar güçlüyse penetrasyonu o kadar hızlı, yıkıcılığı o kadar şiddetli olmaktadır. Geri dönüşümsüz doku hasarının ise 11,5'in üzerinde  $pH$  değerine sahip

alkali maddelerin neden olduğu oküler yanıklarda meydana geldiği belirtilmektedir. Alkalilerin oküler dokular üzerindeki bir diğer önemli etkisi de; alkalinin hücrelerin dehidrasyonunu indükleyen higroskopik özelliği sayesinde neden olduğu hücre ölümüdür. Bu kimyasallar aynı zamanda hücresel proteinler üzerinde derin bir etkiye sahiptirler. Bu yönüyle hem enzimatik süreçleri etkileyebilir hem de yapısal proteinleri tahrip edebilirler. Oküler alkali yanıkların en önemli sonuçlarından biri de yaralanmayı takip eden birkaç hafta içinde oluşan kornea ülserleridir. Bu ülserler sıklıkla korneal perforasyonla sonuçlanmakta ve ciddi olgularda göz kayıplarına kadar ilerleyebilmektedirler (Lemp 1974, Kuckelkorn ve ark 2002).

## **1.6. Kimyasal Kornea Yanıklarının Tedavisi**

Oküler dokuların herhangi bir kimyasala maruz kalması durumunda yapılması gereken ilk müdahale irrigasyondur. İrrigasyon işleminden sonra meydana gelen hasarın derecesi belirlenerek uygun bir tedavi planlanmalıdır. Tedavi protokolü genellikle yanığa sebep olan kimyasal maddeye ve oküler dokulardaki yanığın şiddetine göre değişmektedir. Dolayısıyla, zayıf asitlerle yaralanmalarda olduğu gibi hafif şiddetli oküler yanıklarda basit bir tedavi yeterliyken; kuvvetli asit ve alkalilerden kaynaklanan komplike oküler yanıkların tedavisinde birçok medikal ve cerrahi sağaltım şekli uygulanmaktadır (Crispin 2002b, Ledbetter ve Gilger 2013).

Kimyasal oküler yanıkların medikal tedavisinde amaç; yangıyı kontrol altına almak, kolajenaz aktivitesine bağlı oluşabilecek korneal ülserasyonu ve erimeyi en aza indirmek, sikatrisyel komplikasyonların önüne geçmek, kolajen üretimini destekleyerek korneal onarımı artırmak ve yüzey epitelinin iyileşmesini (reepitelizasyon) desteklemektir. Bu doğrultuda uygulanabilecek birçok medikal sağaltım seçeneği mevcuttur (Wagoner 1997, Sharma ve ark 2018).

### **1.6.1. Acil Müdahale**

Kimyasal oküler yaralanmalarda acil müdahale olarak irrigasyon ve parasentez işlemleri uygulanmaktadır. İrrigasyon ile; kimyasalı seyreltmek, partikül halindeki maddeleri uzaklaştırmak ve oküler yüzey pH'sını normal seviyelere (yaklaşık olarak pH 7,5) getirmek amaçlanmaktadır. İrrigasyon işlemi tüm oküler yüzeyler, üçüncü göz kapağının altı ve konjunktival forniksleri kapsayacak şekilde yapılmalı ve oküler yüzey pH'sı normal seviyelere dönene kadar sürdürülmelidir. Bu

amaçla klinik pratikte iritan olmayan (ve tercihen steril) birçok farklı solüsyon kullanılmaktadır (Crispin 2002b, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014, Sharma ve ark 2018). Bunların başlıcaları; fizyolojik tuzlu su çözeltisi, laktatlı ringer, dengeli/tamponlanmış fizyolojik tuzlu su solüsyonu (BSS) ve fosfat tampon çözeltisi (PBS)'dir. İrrigant olarak sık kullanılan fizyolojik tuzlu suyun, gözyaşından daha düşük ozmolariteye sahip olduğu ve uzun süreli irrigasyonlarda bile ön kamaranın pH'sını normalize edemediği belirtilmektedir. Laktatlı ringer, tamponlu bir solüsyondur ve normal fizyolojik tuzlu sudan daha etkilidir. Humor aköz ile benzer ozmolariteye sahip olan BSS nötr pH'ya sahiptir ve yapısında sodyum asetat ve sitrat vardır. BSS gelişmiş bir tamponlama kapasitesine sahiptir. Bu yönüyle korneal ödem oluşumunu önler ve korneal endotelyumu korur. Fosfat tampon çözeltisinin de ideal bir tampon çözelti olduğu belirtilmektedir. Acil oküler durumlarda kullanılacak bir diğer irrigant grubu; asit ve bazlarla nonspesifik bağlanma yeteneğine sahip olan amfoterik solüsyonlardır. Diphoterine, bu amaçla kullanılacak bir amfoterik çözelti örneğidir. Fizyolojik irrigasyon solüsyonlarının bulunmadığı acil durumlarda irrigasyon amacıyla musluk suyunun kullanılacağı belirtilmektedir. İlk aşamada temiz musluk suyu ile irrigasyon, oküler yanıkların şiddetini azaltabilmekte ve indirekt olarak iyileşme süresini kısaltabilmektedir. Ancak, musluk suyu stroma ve intraoküler ortam için hipotoniktir. Bu durum, musluk suyuyla irrigasyonda korneanın fazla su almasına (korneal ödem) ve bu şekilde koroziv maddenin korneanın daha derin katlarına taşınmasına neden olabilmektedir (Kuckelkorn ve ark 2002, Sharma ve ark 2018).

İrrigasyon amacıyla kullanılan bu solüsyonların, korneal alkali yanık süreci ve korneal yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini konu alan birçok araştırma (Schrage ve ark 2001, Kompa ve ark 2002, Schrage ve ark 2002, Kompa ve ark 2005, Merle ve ark 2005, Ikeda ve ark 2006, Rihawi ve ark 2006, Mathieu ve ark 2007, Rihawi ve ark 2008, Said ve ark 2009, Schrage ve ark 2019) mevcuttur. Sonuç itibarıyla, acil müdahale gerektiren durumlarda önemli olanın; kullanılacak solüsyon seçiminden ziyade irrigasyon işlemine bir an evvel başlanması olduğu vurgulanmaktadır (Sharma ve ark 2018).

Kimyasal oküler hasarı takip eden 1-30 dakika içinde uygulanan parasentez ve ön kamara irrigasyonunun intrakameral pH'yı düşürdüğünü bildiren

araştırmacılara (Grant 1950, Paterson ve ark 1975) rağmen, akut kimyasal oküler yanıklarda parasentez ve ön kamara irrigasyonunun rolü klinik çalışmaların azlığı nedeniyle tam olarak belirlenememiştir. Bu nedenle, parasentezin uygulanabilirliği ve yararlılığının tartışmalı olduğu belirtilmektedir (Sharma ve ark 2018).

### **1.6.2. Epitelizasyonun Uyarılması**

Kimyasal oküler yanıkların medikal tedavisinde olumlu sonuç alındığını gösteren en önemli parametre; sağlam ve fenotipik olarak normal bir korneal epitelyumun şekillenmiş olmasıdır (Wagoner 1997).

#### **Yapay gözyaşı**

Yapay gözyaşı, reepitelizasyonu desteklemek amacıyla rutin olarak kullanılmaktadır. Koruyucu içermeyen yapay gözyaşı preparatlarının kalıcı epiteliyopatiyi engellediği, tekrarlayan epitelyal erozyon riskini azalttığı ve görsel rehabilitasyonu hızlandırdığı belirtilmektedir (Wagoner 1997, Sharma ve ark 2018).

#### **Fibronektin**

Fibronektin, ECM'deki hücre-hücre ve hücre-matriks yapışmasını destekleyen ve epitel hücreleri ve keratositler tarafından sentezlenen multimerik bir glikoproteindir (Wagoner 1997). Oküler alkali yanık tedavisinde fibronektin uygulamalarının korneal yara iyileşmesi üzerinde bazı olumlu etkiler gösterdiğini bildiren alışmalar (Berman ve ark 1983, Phan ve ark 1991) mevcuttur.

#### **Epidermal büyüme faktörü**

EGF, farelerin submaksillar bezlerinden elde edilen bir polipeptittir (Wagoner 1997). EGF'nin deri, kornea ve gastrointestinal sistem gibi dokuların yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. Ayrıca, oküler alkali yanık modellerinde reepitelizasyonu uyardığını bildiren birçok alışma (Singh ve Foster 1987, Reim ve ark 1988, Brazzell ve ark 1991, Schultz ve ark 1991) mevcuttur.

#### **A vitamini**

Epitelyumun normal doku gelişimi için A vitaminine ihtiyaı vardır. Aynı zamanda A vitaminin, şiddetli kimyasal oküler yaralanmalarda konjunktival

epitelyumun korneal epitelyumun yerini almasını teşvik ettiği, goblet hücre salgısını artırdığı, gözyaşı film tabakasının stabilizasyonunu sağladığı ve oküler yüzey nemliliğinin artırılmasında etkili olduğu belirtilmektedir (Wagoner 1997, Sharma ve ark 2018). Ek olarak, A vitamini eksikliğine bağlı olarak goblet hücre kaybı, epidermal keratinizasyonda artış ve mukoz membranların skuamöz hücrelerinde metaplazi şekillendiği bildirilmiştir (Hatchell ve Sommer 1984).

### **Hyaluronik asit**

Hücre proliferasyonunu destekleyen yüksek moleküler ağırlıklı bir GAG ve ECM bileşenidir. Yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini hücre göçü, hücresel proliferasyon ve protein degradasyonu gibi aşamalara etki ederek gösterdiği belirtilmektedir (Wu ve ark 2013). Topikal HA kullanımının, deneysel olarak indüklenen oküler yanıklarda korneal epitelyal yara iyileşmesini desteklediğini bildiren çalışmalar (Chung ve ark 1989, Chung ve ark 1996, Yang ve ark 2010) mevcuttur.

### **1.6.3. Onarımın Desteklenmesi ve Ülserasyonun Minimize Edilmesi**

#### **C vitamini**

Vücudun ihtiyaç duyduğu miktarda günlük alınması gereken ve suda çözünen temel bir vitamindir (Wagoner 1997). Korneal onarım sürecinde oldukça önemli olan kolajen sentezinin C vitamini eksikliğinde durma noktasına geldiği ve sistemik veya topikal C vitamini uygulamalarının korneal ülserasyon ve perforasyon riskini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Pfister ve ark 1980, Wishard ve Paterson 1980). Kimyasal oküler yanıkların tedavisinde topikal ve sistemik sodyum askorbatın yararını ortaya koyan birçok deneysel çalışma (Wishard ve Paterson 1980, Pfister ve ark 1991, Saika ve ark 1993) mevcuttur.

#### **Tetrasiklinler**

Oküler yanıkların tedavisinde kullanılan topikal ve sistemik tetrasiklinlerin kolajenolitik aktivite sonucu şekillenecek olan korneal bozulmayı önlediği belirtilmektedir (Sharma ve ark 2018). Bu bağlamda, Seedor ve ark (1987) deneysel oküler alkali yanık oluşturulmuş tavşanlarda oküler dokularda artan tetrasiklin seviyesinin ülserasyon olasılığını azalttığını bildirmişlerdir. Perry ve ark (1993) ise

korneal ülserasyonu önlemede doksisisiklinin, minosiklin ve tetrasiklinden daha etkili olduğunu ve tetrasiklinlerin bu antikolajenolitik etkilerini; antimikrobiyal özelliklerinden bağımsız ve MMP sentezini inhibe ederek oluşturduklarını bildirmişlerdir.

### **Kolajenaz inhibitörleri**

Başlıca dikkat çeken kolajenaz inhibitörleri N-asetil sistein ve sentetik matriks metalloproteinaz inhibitörleri (SIMP)'dir. Bunların oküler alkali yanık vakalarında kolajen yıkımına etki ederek korneal ülserasyonu önemli oranda geciktirdiği veya önlediği belirtilmektedir (Burns ve ark 1990, Schultz ve ark 1992, Pfister ve ark 1997, Huang ve ark 2001, Kubota ve ark 2011). SIMP'lerin antikolajenaz etkinliği yanında PMNL kemotaksisini inhibe ettiği ve alkali hasarlı kornealarda PMNL'in birikiminde önemli bir azalmaya neden oldukları bildirilmiştir (Burns ve ark 1990, Pfister ve ark 1997).

#### **1.6.4. Yangının Kontrolü**

Oküler yanıklarda yangıyı kontrol etmek için genellikle kortikosteroidler ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) kullanılmaktadır. Kortikosteroidler özellikle akut ya da kronik yangı ile ilişkili doku hasarının önlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Etkilerini yangı hücrelerinin kemotaksisini önleyerek ve PMNL'nin sitoplazmik ve lizozomal membranlarını stabilize ederek gösterirler. Korneal yıkımlanmanın olmadığı oküler alkali yanıklarda kortikosteroidlerin kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu amaçla topikal kullanımda en sık tercih edilen steroidler prednizolon (%1) ve deksametazon (%0.1)'dur (Wagoner 1997, Sharma ve ark 2018). Steroidler, antiinflamatuvar ve antianjiyogenik özellikleri sebebiyle korneal neovaskülarizasyon tedavisinde de kullanılan başlıca ilaç grubudur. Steroidlerin antianjiyogenik etkileri; kemotaksis inhibisyonu, vasküler endotelial hücrelerin proteolitik fonksiyonlarının modülasyonu ve proinflamatuvar sitokinlerin inhibisyonu yoluyla oluşmaktadır. Bunun yanında, kullanımlarına bağlı olarak mantarlar ve herpes simpleks virüsü gibi patojenlerin replikasyonuna neden olup korneal iyileşmeyi geciktirebilirler. Uzun süreli steroid kullanımlarının ise İOB artışına ve katarakt gelişimine neden olabildiği belirtilmiştir (Bakunowicz-Lazarczyk ve Urban 2016). Steroidlerin korneal ülserasyonu artırma mekanizmasının kolajenaz

aktivitesinin doğrudan artırılmasıyla değil muhtemelen onarım sürecinin baskılanması yoluyla gerçekleştiği bildirilmiştir (Donshik ve ark 1978).

Topikal oftalmik NSAID'ler antiinflamatuvar olarak güvenli ve etkili terapötik ajanlar olarak kabul edilmektedirler. Klinik etkilerini siklooksijenaz enzim sistemini, dolayısıyla prostaglandin sentezini inhibe ederek oluşturmaktadırlar (Bakunowicz-Lazarczyk ve Urban 2016). Sıklıkla kullanılan oftalmik NSAID'ler; diklofenak sodyum, ketorolak trometamin, lipogenaz ve lökotrien inhibitörleri'dir. Bunlar PMNL'lerinin etkili inhibitörleridirler (Wagoner 1997, Sharma ve ark 2018).

Progestasyonel steroidler, kortikosteroidlerden daha az antiinflamatuvar etkinliğe sahip olan ve yangı kontrolünde kullanılan bir başka ilaç grubudur. Kortikosteroidlerden farklı olarak stromal onarım ve kolajen sentezi üzerindeki olumsuz etkileri çok daha azdır (Wagoner 1997, Sharma ve ark 2018). Etkilerini dokudaki kolajenaz üretimini baskılayarak gösterdikleri belirtilmektedir (Newsome ve Gross 1977, Huang ve ark 2001). Stromal onarımın baskılanmadan yangının kontrol edilmesi gerektiği durumlarda kortikosteroidlerin yerine ilk 10-14 günlük zaman diliminde kullanılabilecekleri belirtilmektedir (Wagoner 1997, Sharma ve ark 2018).

#### **1.6.5. Adjuvant Tedavisi**

Özellikle epitelyal hasarın olduğu oküler yanıkların tedavisinde sekonder enfeksiyon oluşumunu önlemek için profilaktik olarak topikal antibiyotiklerin kullanımı oldukça yaygındır. Kimyasal oküler yanıklara bağlı artan İOB'nin dengelenmesi amacıyla da tedavi süresince topikal aköz baskılayıcıların kullanılabileceği belirtilmektedir. Siliyer spazmı yönetmek için topikal sikloplejik ajanların, ağrı kontrolü için ise analjeziklerin kullanımı gerekebilmektedir. Bu noktada dikkat edilmesi gereken husus; oküler yüzey hasarının hızlanmasına sebebiyet vermemek ve ilaca bağlı sekonder toksisiteyi önlemek için koruyucu içermeyen topikal ilaçların tercih edilmesi gerekliliğidir (Sharma ve ark 2018).

#### **1.6.6. Topikal Biyolojik Sıvılar**

Oküler yanıkların medikal tedavisinde epitelizasyonu desteklemek ve yara iyileşmesini hızlandırmak için kullanılan biyolojik sıvılar arasında otolog serum,

göbek kordonu serumu, amniyotik membran süspansiyonu ve otolog trombosit zengin plazma bulunmaktadır. Bu biyolojik sıvıların bileşiminde korneal iyileşmeyi olumlu yönde etkileyen çeşitli maddelerin ve büyüme faktörlerinin olduğu belirtilmektedir (Sharma ve ark 2018). Otolog serumun bileşiminde EGF, FGF, bFGF, PDGF, HGF, TGF- $\beta$ , IGF-1 ve NGF gibi büyüme faktörlerine ek olarak A vitamini, P maddesi, fibronektin, immüoglobulinler ve serum anti-proteazların (alfa-2 makroglobulin gibi) olduğu bildirilmiştir (Poon ve ark 2001, Matsumoto ve ark 2004, Liu ve ark 2005). Göbek kordonu serumunun bileşimi otolog serumla benzer olduğu, ancak göbek kordonu serumunda bulunan büyüme faktörlerinin periferik kan serumundakinden birkaç kat yüksek olduğu belirtilmektedir (Sharma ve ark 2018). Ayrıca, A vitamini ve IGF-1 konsantrasyonlarının göbek kordonu serumuna göre otolog serumda daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Yoon ve ark 2007). Bir diğer biyolojik sıvı olan amniyotik membran süspansiyonu, zengin bir büyüme faktörü kaynağı olmakla birlikte antiinflamatuvar ve skatriks dokusu oluşumunu önleyici özelliklere sahiptir. Otolog trombosit zengin plazmada ise büyüme faktörleri ve sitokinlere ek olarak trombosit bulunmaktadır. Trombositlerin, yara iyileşmesindeki olumlu etkilerine ek olarak büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin uzun süreli salınımına katkıda buldukları belirtilmiştir (Sharma ve ark 2018).

### **1.6.7. Oksijen Tedavisi**

Hiperbarik oksijenin neden olduğu hiperoksinin yara iyileşmesindeki faydalı etkilerini açıklamak için birçok mekanizma tanımlanmıştır. Bunların başlıcaları; vazokonstriksiyonu indüklemek, fibroblast proliferasyonunu desteklemek, lökosit kemotaksisini artırmak, toksin inhibisyonu ve antibiyotik sinerjisini kolaylaştırmaktır (Sharma ve ark 2018).

Kimyasal oküler yanıkların medikal sağaltımında etkinliği araştırılan diğer seçenekler arasında; sitrat (Haddox ve ark 1989, Pfister ve ark 1991, Haddox ve ark 1996), siklosporin (Den ve ark 2004, Cejkova ve ark 2016), kök hücre uygulamaları (Yao ve ark 2012, Almaliotis ve ark 2015, Zhang ve ark 2021), bevacizumab (Lee ve ark 2009, Ekinci ve ark 2013, Lee ve ark 2013), pirfenidone (Chowdhury ve ark 2013, Jiang ve ark 2018), bitkisel ekstraktlar (Atiba ve ark 2015, Estrella-Mendoza ve ark 2019, Yılmaz ve ark 2019, Moghadam ve ark 2020), bal (Bashkaran ve ark 2011) ve propolis (Öztürk ve ark 2000, Martin ve ark 2013) sayılabilir.

## 1.7. Homeopati

Homeopati kelimesi; benzer anlamına gelen "homios" ve hastalık anlamına gelen "pathos" sözcüklerinden türetilmiştir. Alman bir doktor olan Samuel Hahnemann'ın 1796'da homeopatinin temeli olan "benzer, benzeri iyileştirir" ilkesini o sırada kullanılan diğer tedavi yöntemlerine alternatif olarak önermesiyle sistematik bir şekilde uygulanmaya başlanmıştır. Geleneksel tıpta; semptomların veya belirtilerin hastalığın kendisini temsil ettiği ve bunların kontrol edilmesi ya da ortadan kaldırılması gerektiği varsayılırken, homeopatide; bir semptom veya belirti hastalığın kendisi olarak değil, hastalığın yalnızca bir sinyali olarak görülmektedir. Bu bağlamda homeopati; etkili ve kalıcı bir tedavi sağlamak için hastada görülen fiziksel ve psikolojik belirtilerin tamamına uygun ilacı bulma sistemi olarak tanımlanmaktadır (Vockeroth 1999, Lees ve ark 2017a).

Homeopatik ürünler, her biri Hahnemann'ın yazılarında özellikle de "Organon of Medicine" adlı kitabında yer alan, "benzerlik ilkesi" (similia similibus curantur), "minimum doz kuralı" ve "çalkalama kuralı" olmak üzere üç ana ilkeye dayanmaktadır. Benzerlik ilkesine göre; hastalığa bağlı oluşan belirti ve semptomlar, sağlıklı bireylerde bu belirti ve semptomlara neden olabilecek maddelerle tedavi edilebilir. Başka bir ifadeyle, belirli semptomları indükleyen/oluşturan bir şeyin aynı semptomları iyileştirmesidir. Minimum doz kuralının pratiğinde; homeopatik ürün hazırlamak için seçilen madde tekrar tekrar seyreltilir. Böylece nihai üründe orjinal maddeden sadece küçük bir miktar bulunduğu varsayılır. Üçüncü yasa ise her seyreltme aşamasında belirli bir şekilde uygulanan şiddetli çalkalama işleminden oluşur. Bu işlemin homeopatik ürünü güçlendirdiğine (potentizasyon) veya dinamize ettiğine inanılır. Yeni bir homeopatik ürün elde etmek için neyin "aktif" materyal olarak kullanılabileceği konusunda herhangi bir kısıtlama yoktur. Bu materyal; virüs, bakteri, hayvan, bitki, mineral, kimyasallar, geleneksel ilaçlar, insan yapımı nesnelere, radyasyon ve hatta enerji alanları olabilmektedir. Homeopatik ürünler ilk aşamada daha çok likit/sıvı halde hazırlanmakta daha sonra kullanım amaçlarına göre merhem, hap, toz vb. diğer farmasötik formlara dönüştürülebilmektedirler (Vockeroth 1999, Lees ve ark 2017a)

Homeopatik bir ürün seçerken; görünüşte primer problemle ilgisi olmayanlarla birlikte hayvanın tüm klinik belirtileri dikkate alınmaktadır. Bu

semptomlar toplanıp analiz edildikten sonra vakaya en uygun homeopatik ürün, yıllar içinde sınıflandırılmış homeopatik ürünler arasından seçilmektedir. Seçilen homeopatik ürün daha sonra uygun sertlikte veya "potenste" uygulanmaktadır. Çoğunlukla tek bir uygulamanın yeterli olduğu belirtilmektedir. Çünkü hayvanı etkileyen hastalık sürecine ve belirtilere uygun olan doğru homeopatik ürün seçilmiş ise, hayvanın yaşam gücünü veya iyileşmek için ihtiyaç duyduğu dürtüyü kazanabileceği vurgulanmaktadır (Vockeroth 1999).

Pratikteki homeopati uygulamalarının, hem çiftlik hem de pet hayvanlarında birçok hastalığı tedavi etmek için kullanılabileceği homeopatlar tarafından kabul edilmektedir. Homeopatinin küçük hayvan pratiğinde kullanılabileceği patolojik durumlara örnek olarak; travma ve akut yaralanmalar, akut ve kronik ishal, kronik gingivitis, akut ve kronik respiratorik rahatsızlıklar, enfeksiyonlar, alerjiler, eklem hastalıkları ve deri hastalıkları verilmiştir. Hatta uygun şekilde kullanıldığında immun kökenli hastalıkların dahi tedavilerinde etkili olabileceği vurgulanmıştır. Öte yandan homeopatinin çiftlik hayvanlarındaki kullanım endikasyonları pet hayvanlarıyla hemen hemen aynıdır. Homeopatinin, sığır ve atlarda görülen birçok akut ve kronik hastalıkta kullanılabileceği belirtilmektedir. İneklerde downer sendromu ve mastitis; atlarda ise kolik gibi bazı yaygın durumlarda faydalı bir tedavi yöntemi olabileceği belirtilmiştir. Çiftlik hayvanlarında homeopatinin tercih edilme nedenleri arasında, geleneksel terapötiklerin olumsuz ve istenmeyen etkilerini ekarte etmek de gösterilmektedir. Bu bağlamda, ilaca dayalı terapötiklerin dezavantajları arasında; tedavide başarısız olunması, ilaç toksisitesi, et ve sütteki ilaç rezidüsü, antimikrobiyal ve antihelmintik direncin artması gibi örnekler verilmektedir (Vockeroth 1999, Lees ve ark 2017b).

Günümüzde homeopatiyi de kapsayan tamamlayıcı ve alternatif tedaviler, veteriner hekimlikte farklı kullanım alanları bulmaktadırlar. Bu bağlamda homeopati ve homeopatinin veteriner hekimlikte kullanımıyla ilgili yayımlanmış birçok çalışma (Kuru ve Oral 2013, Pekmezci ve Gültiken 2015, Kızıl ve Atam 2016, Yaramış ve ark 2016, Özpek ve Altıntaş 2019, Özyurtlu ve Küçükaslan 2019) mevcuttur.

## 1.8. Tarantula Cubensis Alkolik Ekstraktı

Tarantula cubensis alkolik ekstraktı (TCAE) veteriner sahada yaygın olarak kullanılan homeopatik bir üründür (Coşkun 2017). Lotfollahzadeh ve ark (2012)'nin belirttiği üzere, TCAE'nin homeopatik etkilerini Mezger (1977); antiflojistik ve demarkasyonu uyarıcı yönlerini içeren sistemik etkilerini ise Stampa (1986) tanımlamıştır. TCAE ülkemizde Theranekron D6® enj (İnterhas, Ankara, Türkiye) ticari ismiyle ruhsatlandırılmış ve satışa sunulmuştur (Anonim 2013). Bu preparatın prospektüsü (Anonim 2013) bilgisinde ve üretici firmanın ürün tanıtımında (Anonim 2019) belirtilen hedef türler arasında; at, sığır, köpek, kedi, domuz, koyun ve keçi vardır. Bu hayvan türlerinde TCAE'nin; septik durumlar, dermatitler, sığırların yangısal ayak derisi hastalıkları, flegmon, ülser, apse ve çeşitli patolojik durumlarda (irinli, proliferatif ve nekrotik dokular gibi) tedavi amacıyla kullanılabileceği ve demarkasyon, rejenarasyon, antiflojistik ve rezolitif etkilere sahip olduğu ifade edilmiştir (Anonim 2013, 2019).

Yapılan literatür taramalarında farklı hayvan türlerinde farklı amaçlarla yapılmış birçok bilimsel TCAE çalışmasının olduğu görülmüştür. Bu bağlamda, sığırlarda TCAE'nin; meme başı papillomlarının tedavisinde ivermektine (Babu ve ark 2020) ve levamizole (Paksoy ve ark 2015) göre daha etkili, kutanöz papillomatozis tedavisinde ise levamizol kadar etkili olmadığı (Çam ve ark 2007) bildirilmiştir. Ayrıca, TCAE'nin şap hastalığının tedavisinde etkili olduğu (Duz ve ark 2012, Lotfollahzadeh ve ark 2012, Lotfollahzadeh 2019), mavi dil hastalığıyla ilişkili oral lezyonlarda hızlı bir iyileşme sağladığı (Albay ve ark 2010) ve mastitis tedavisinde başarıyla kullanılabileceği (Akçay ve ark 2014, Gürbulak ve ark 2014) bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada (Kaçar ve ark 2007) ise ineklere postpartum dönemde uygulanan Theranekron'un retentio secundinarum oluşumunu engelleyebileceği, vaginal akıntıları azaltabileceği ve uterus involusyonunu hızlandırabileceği vurgulanmıştır.

Dik ve ark (2014) Theranekron uygulaması sonrasında yapılan analizlerde TCAE'nin; hematolojik ve biyokimyasal parametreleri olumsuz etkilemediği, antioksidan etkinlik gösterebileceği ve kısa süreli değerlendirilmesi dikkate alındığında koyunlarda Theranekron kullanımının güvenli olabileceğini belirtmişlerdir. Koyunlarda TCAE'nin bazı serum enzimleri, iz elementler ve

kardiyovasküler sistem üzerindeki akut etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada (Gonul ve ark 2015); Theranekron uygulamasına bağlı bazı olumsuz etkilerin oluşabileceği vurgulanmıştır. Corum ve ark (2016) ise TCAE'in koyunlarda akut faz yanıt üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Sardari ve ark (2011) Theranekron uygulamasının sağlıklı atlarda hematolojik ve serum biyokimyasal değerler açısından istatistiki bir değişikliğe neden olmadığını ve uygulama sonrası herhangi bir yan etki görülmediğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada (Alpman ve ark 2018) göğüs, yüz ve tarsal eklem bölgelerinde derin ve enfekte yaralar bulunan bir atın tedavi protokolü içerisinde kullanılan TCAE'nin yara iyileşmesinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Köpekler üzerinde yapılan çalışmalarda TCAE'nin; deneysel oluşturulmuş deri yarasının iyileşme sürecinde önemli olumlu etkilere sahip olduğu (Rezaei ve ark 2014), oral papillomatozis tedavisinde oral izoterapiyle birlikte uygulanmasının güvenli ve etkili bir tedavi seçeneği olabileceği (Tekelioglu ve ark 2017) ve deneysel oluşturulan umbilikal yaralarda iyileşmeyi hızlandırdığı (Zedan ve ark 2020) bildirilmiştir. Ayrıca, meme adenokarsinomu olgularında TCAE uygulamasının apoptozisi uyararak bölgesel tümör gelişiminin kontrol altına alınmasında etkili olabileceği (Gultiken ve ark 2015) ve meme tümörü olgularında preoperatif uygulamaların benign tümörlerde regresyon ve sertleşme, malign tümörlerde ise sadece sertleşme oluşturduğu ve ayrıca postoperatif dönemde kullanımının yeni tümör oluşumlarını önleyebileceği (Gültiken ve Vural 2007) belirtilmiştir. Bir başka çalışmada (Al-Qadhi ve ark 2022) deneysel bağırsak anastomuzu yapılan köpeklerde TCAE'nin rezeke edilmiş ve anastomoz yapılmış bağırsak segmentinin iyileşme sürecini olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir.

Evcil bir tavşanda karşılaşılan meme neoplazisinin tedavisinde kullanılan TCAE'nin tümöral yapının büyümesini durdurarak ve tümörün boyutunu küçülterek etki gösterdiği (Küçükaslan ve ark 2017), tavşanlarda deneysel oluşturulan kemik defektlerinin tedavisinde TCAE'nin kemik iyileşmesinde olumlu etkisinin olduğu (Sharifi ve ark 2020a, 2020b) ve kemik iyileşmesi sırasında ostekalsin ve osteonektin ekspresyonlarını artırarak erken kemik iyileşmesinin desteklenmesinde önemli potansiyele sahip olduğu (Altan ve Sağsöz 2020) bildirilmiştir. Tavşanlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada (Oryan ve ark 2012); deneysel tenotomi uygulanmış

tavşanlarda TCAE'nin klinik, morfolojik ve biyomekanik özellikler açısından tendo iyileşmesinde olumlu yönde etkili olduğu bildirilmiştir.

Ratların kullanıldığı bazı deneysel çalışmalarda TCAE'nin; deneysel aflatoksikozisin neden olduğu zararlı etkileri kısmen nötralize ettiği (Karabacak ve ark 2015), endometriozis modelinde, endometriotik odakların gerilemesinde medroksiprogesteron asetat ve leuprolide asetata göre daha belirgin etkilere sahip olduğu ve tedaviden sonra nüks oranının diğer gruplara göre daha düşük olduğu (Dolapcioglu ve ark 2013), gentamisinle indüklenen akut böbrek hasarında tek doz uygulanmasının böbrekteki hasarı kısmen azalttığı (Akyüz ve ark 2021) ve indometazin ile indüklenmiş gastrik ülser olgularında ranitidine göre daha düşük gastrik erozyona neden olduğu ve tedavide daha iyi etkinlik gösterdiği (Makav ve ark 2020) bildirilmiştir. Ayrıca, ratlarda deneysel sıyatik sinir hasarı modelinde sistemik uygulanan TCAE'nin; aksonal ve miyelin hasarını azalttığı ve bu nöroprotektif etkinin, başta TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 olmak üzere proinflamatuvar sitokin seviyelerinin değiştirilmesiyle sağlanabileceği bildirilmiştir (Kizilay ve ark 2019). Periferik sinir hasarında TCAE ve alfa-lipoik asitin birlikte etkinliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada (Sencar ve ark 2021) bu kombinasyonun yapısal iyileşmeyi teşvik ettiği bildirilmiştir. Er ve ark (2019) ratlarda deneysel oluşturulmuş kolon kanseri modelinde TCAE'nin kolon kanseri tedavisinde antikanser özellik gösterebileceğini ve bu özelliklerin TCAE'nin sitokinler üzerindeki uyarıcı etkilerinden kaynaklanıyor olabileceğini belirtmişlerdir.

Deneysel hayvan modelleri ve klinik vakalar dışında TCAE'nin in vitro ortamda özellikle kanser hücreleri üzerindeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Örneğin; TCAE'nin mide kanseri hücreleri üzerindeki etkisini otofaji yönünden değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada (Yenigun ve ark 2021) Theranekron'un hücre ölümüyle sonuçlanan otofaji sürecini stümüle ettiği, ancak bu etkinin kanser hücrelerinin yanı sıra normal hücreler için de geçerli olduğu bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada (Ilhan 2021) farklı bir TCAE preparatı olan Logoplex® (Richter pharma AG, Wels, Avusturya)'in insan kanser hücrelerine kıyasla normal hücreler üzerinde daha düşük sitotoksik etki gösterdiği ve bu durumun TCAE'nin kanser hücrelerine spesifik etkiye sahip olabileceği anlamına geldiği belirtilmiştir. Benzer bir çalışmada (Pulat 2021) Theranekron'un insan meme

kanseri, akciğer kanseri, glioblastoma ve prostat kanseri hücre dizilerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu, ancak en yüksek etkinin insan meme kanseri hücrelerinde görüldüğü bildirilmiştir. Tosun ve ark (2021) ise insan meme kanseri, akciğer kanseri ve osteosarkom hücre dizilerinde Theranekron'un iyi bir apoptozis indükleyici ajan olduğunu bildirmişlerdir. Kanser çalışmaları dışında Ghasemi-Dizgah ve Amirmozafari (2015), in vitro ortamda TCAE'nin *E.coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde antibakteriyel etkinliğe sahip olmadığını bildirmişlerdir.

Sunulan çalışmada, TCAE'nin; antiinflamatuvar (Oryan ve ark 2012, Kizilay ve ark 2019, Tanyeli ve ark 2019, Cankara ve ark 2020, Al-Qadhi ve ark 2022), rejeneratif (Kaçar ve ark 2007, Oryan ve ark 2012, Zedan ve ark 2020), rezolitif (Kaçar ve ark 2007) ve özellikle epitelizasyonu ve yara iyileşmesini hızlandırıcı (Sardari ve ark 2007, Rezaei ve ark 2014, Satar ve ark 2017, Zedan ve ark 2020, Al-Qadhi ve ark 2022) etkileri göz önünde bulundurularak, kornea alkali yanıklarının sağaltımında oftalmik TCAE kullanımının korneal iyileşmeyi olumlu yönde etkileyebileceği düşünüldü. Bu bağlamda, tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan kornea alkali yanıklarının medikal sağaltımında etkili olabileceği düşünülen TCAE'nin, topikal ve subkonjuktival uygulamalarını içeren sağaltım protokolünün gözyaşı miktarı, İOB değerleri, korneal opasite ve korneal erozyon alanı parametreleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

## **2. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1. Hayvan Materyali**

Araştırmada hayvan materyali olarak; sağlıklı vücut ve göz yapısına sahip, canlı ağırlıkları yaklaşık 2-3 kg ve yaşları ortalama 6 aylık olan 42 adet erkek Yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Çalışmanın başlaması ve yürütülebilmesi için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu tarafından verilen 29.11.2019 tarih ve 2019-50 sayılı karar ile onay alındı. Tavşanlar, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hayvanların bakım ve beslemelerinin yanı sıra, çalışmanın tüm aşamaları aynı kurumun ilgili birimlerinde gerçekleştirildi. Uygun çevre koşullarına sahip odalardaki tekli kafeslerde bakılan tavşanlar, araştırmaya başlanmadan bir hafta önce bakılacakları bireysel kafeslere alınarak ortama adapte olmaları sağlandı. Hayvanlar standart tavşan pelet yemi ve su ile ad libitum olarak beslendi.

### **2.2. Araştırma Gruplarının Oluşturulması**

Genel muayene ve temel (rutin) göz muayeneleri neticesinde sağlıklı olduğu belirlenen 42 adet tavşan tesadüfi örnekleme yöntemiyle 3 gruba ayrıldı.

**1. Kontrol (K) grubu (n: 14):** Kornea yanığı oluşturulduktan sonra profilaktik antibiyotik uygulaması (topikal tobramisin damla) dışında herhangi bir tedavi uygulanmayan grup.

**2. Topikal TCAE (T) grubu (n: 14):** Kornea yanığı oluşturulduktan sonra TCAE'nin göz damlası şeklinde uygulandığı grup.

**3. Subkonjunktival TCAE (S) grubu (n: 14):** Kornea yanığı oluşturulduktan sonra TCAE'nin subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulandığı grup.

Çalışmaya dahil edilen her bir tavşan, kulak kepçesinin iç kısmına doku kalemiyle grup harfi ve grup içinde kaçınıcı denek olduğu yazılarak numaralandırıldı (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** Tavşanların numaralandırılması.

Temel göz muayenesinde (Featherstone ve Heinrich 2013);

- Hayvanın genel görünüşü, tavrı, hareketleri ve çevreye olan ilgisinin değerlendirilmesi,
- Orbital ve periorbital bölgelerin değerlendirilmesi,
- Bulbus oculi'nin boyut, pozisyon, hareketlilik ve simetri yönünden değerlendirilmesi,
- Palpebra, konjunktiva ve fornikslerin değerlendirilmesi,
- Palpebral, korneal ve pupiller reflekslerin kontrolü,
- Gözyaşı miktarının değerlendirilmesi,
- İntraoküler basıncın değerlendirilmesi,
- Floresein boyama ve direkt oftalmoskopi işlemleri yapıldı.

### **2.3. Deney Protokolü**

Deneysel prosedüre başlanmadan önce, tavşanların tamamının uygulama yapılacak olan sağ gözlerine Schirmer gözyaşı testi 1 (STT 1) ve floresein testi

uygulandı, İOB değerleri ölçüldü ve gözler fotoğraflandı. Alkali yanık modeli, tavşanların sadece sağ gözlerinde ve NaOH kullanılarak oluşturuldu. Tavşanların sol gözlerine ise herhangi bir işlem veya ilaç uygulaması yapılmadı.

### **2.3.1. Anestezi Protokolü**

Tavşanların genel anestezisi; intramuskuler ksilazin hidroklorür (10 mg/kg, %2 Rompun®, Bayer, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu ile sağlanan sedasyonu takiben intramuskuler ketamin hidroklorür (30 mg/kg, %10 Ketazol®, İnterhas, Ankara, Türkiye) enjeksiyonu uygulanarak gerçekleştirildi. Genel anestezi altındaki deneklerin alkali yanık oluşturulacak sağ gözlerine lokal anestezi ve korneal analjeziyi sağlamak amacıyla 2-3 damla proparakain hidroklorür (%0,5 Alcaine® oftalmik solüsyon, Alcon, İstanbul, Türkiye) damlatıldı.

### **2.3.2. Alkali Yanık Modeli Oluşturma**

Anesteziye alınan tavşanlar, sağ gözleri üste gelecek şekilde yan yatırılarak alt ve üst göz kapakları arasına göz kapağı spekulumu yerleştirildi. Üçüncü göz kapağı, alkali ajandan etkilenmemesi için dişsiz penset yardımıyla medial kantusa doğru ekarte edildi. Kornea yüzeyinde biriken fazla gözyaşı pamuk sarılmış bir portkoton yardımıyla uzaklaştırıldı. Kornea yanıkları, Kuşcu (2018) tarafından tanımlanan model baz alınarak oluşturuldu. Bu modele göre; 25 µl 1 N (Normal) NaOH emdirilmiş 6 mm çaplı Whatman #3 filtre kağıdı diskleri pupilla ortalanarak kornea merkezine steril bir penset yardımıyla yerleştirildi ve 1 dakika süreyle burada tutuldu (Şekil 2.2). Diskler uzaklaştırıldıktan sonra kornea yüzeyi 1 dakika boyunca 15-20 ml serum fizyolojik (Polifleks %0,9 İzotonik sodyum klorür, Polifarma, İstanbul, Türkiye) ile yıkandı (Şekil 2.3). Korneadaki lezyon derinliğinin değerlendirilmesinde Sancak (2009)'ın belirtmiş olduğu derecelendirme sistemi (Tablo 2.1) kullanıldı. Daha sonra sırasıyla; lezyonlar fotoğraflandı, floresein boyama yapıldı, lezyonların boyama sonrası tekrar fotoğrafları çekildi, klinik değerlendirme skalaları uygulandı ve grupların sağaltım protokollerine başlandı. Tavşanların sağ gözlerinde alkali ajanla korneada sınırlı lezyon oluşturulan gün, 0. gün olarak kabul edildi.



**Şekil 2.2.** Sodyum hidroksit (NaOH) emdirilmiş Whatman #3 filtre kağıdı diskinin kornea merkezine yerleştirilerek yanık modelinin oluşturulması.



**Şekil 2.3.** İrrigasyon sonrası gözlenen kornea alkali yanığı.

**Tablo 2.1.** Klinik muayene ile lezyon derecelendirme sistemi (Sancak 2009).

1	Sadece epitelyal hasarı olanlar
2	Yüzlek ülserasyonu olanlar
3	Derin ülserasyonu olanlar
4	Desementosel olanlar
5	Korneaları perfore olanlar

### 2.3.3. Sağaltım Protokolü

Tüm deneklerin yanık oluşturulan sağ gözlerine olası enfeksiyonları önlemek için 14 gün boyunca 12 saat arayla 2'şer damla tobramisın (Tobrased® %3, Bilim İlaç, İstanbul, Türkiye) damlatıldı. Bunun dışında, grup bazlı sağaltım uygulamaları aşağıda verildiği gibi gerçekleştirildi.

**K grubu:** Bu gruptaki deneklerin yanık oluşturulan gözlerine tobramisın damla dışında herhangi bir sağaltım uygulaması yapılmadı.

**T grubu:** Bu grubu oluşturan deneklerin yanık oluşturulan gözlerine; günde 4 kez (06:00, 12:00, 18:00 ve 00:00 saatlerinde) 4'er damla (~0,2 ml) TCAE damlatıldı (Şekil 2.4).

**S grubu:** Bu grubu oluşturan deneklerin yanık oluşturulan gözlerine; çalışmanın 0, 3, 6, 9 ve 12. günlerinde 0,2 ml TCAE subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulandı (Şekil 2.5).



**Şekil 2.4.** Theranekron'un damla şeklinde topikal uygulanişı.



**Şekil 2.5.** Theranekron'un subkonjunktival enjeksiyon şeklinde uygulanişı.

## 2.4. Klinik Değerlendirme

Korneada alkali yanık oluşturulduktan sonra çalışmanın 0, 1, 2, 3, 7 ve 14. günlerinde, grupların ilaç uygulamaları dikkate alınarak günün belirli saatlerinde (08:00-12:00) göz muayeneleri yapıldı. Rutin göz muayenesiyle birlikte sırasıyla; STT 1, İOB lm, klinik değerlendirme skalalarının uygulanması, fotoğraflama, floresein boyama, boyama sonrası tekrar fotoğraflama işlemleri yapıldı. Rutin klinik göz muayenesinde Maggs (2008b)'ten modifiye edilerek hazırlanan göz muayene formu (ēekil 2.6) kullanıldı. Ölüm değerleri ise her bir grup ve parametre için hazırlanan çizelgelere (ēekil 2.7) kaydedildi. Muayenelerde gözlenen diğer bulguların (episkleral vaskülarizasyon, fotofobi, blefarospazm, konjunktivitis ve korneal vaskülarizasyon) varlığı ise subjektif olarak değerlendirildi (ēekil 2.8).

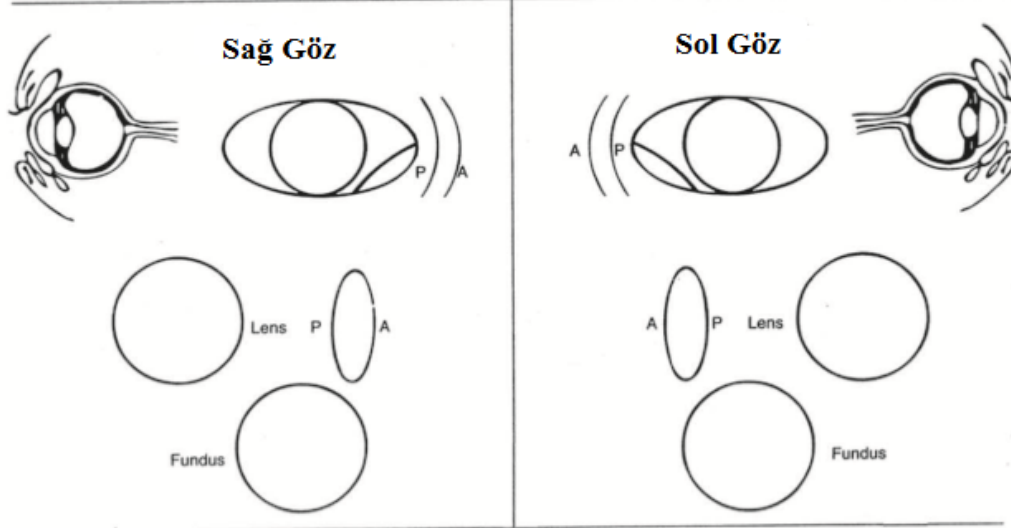
## Tavşan Göz Muayene Formu

Tarih:

Grup:

Olgu no:

Pupiller ışık refleksi: .....  
Korneal refleksi: .....  
Palpebral refleksi: .....  
STT 1: .....  
İOB: .....  
Floresin: .....  
Direkt oftalmoskopi: .....



Gözlemler: .....  
.....  
.....  
.....

Şekil 2.6. Tavşan Göz Muayene Formu.

<i>Schirmer</i>	0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün
K1						
K2						
K3						
K4						
K5						
K6						
K7						
K8						
K9						
K10						
K11						
K12						
K13						
K14						

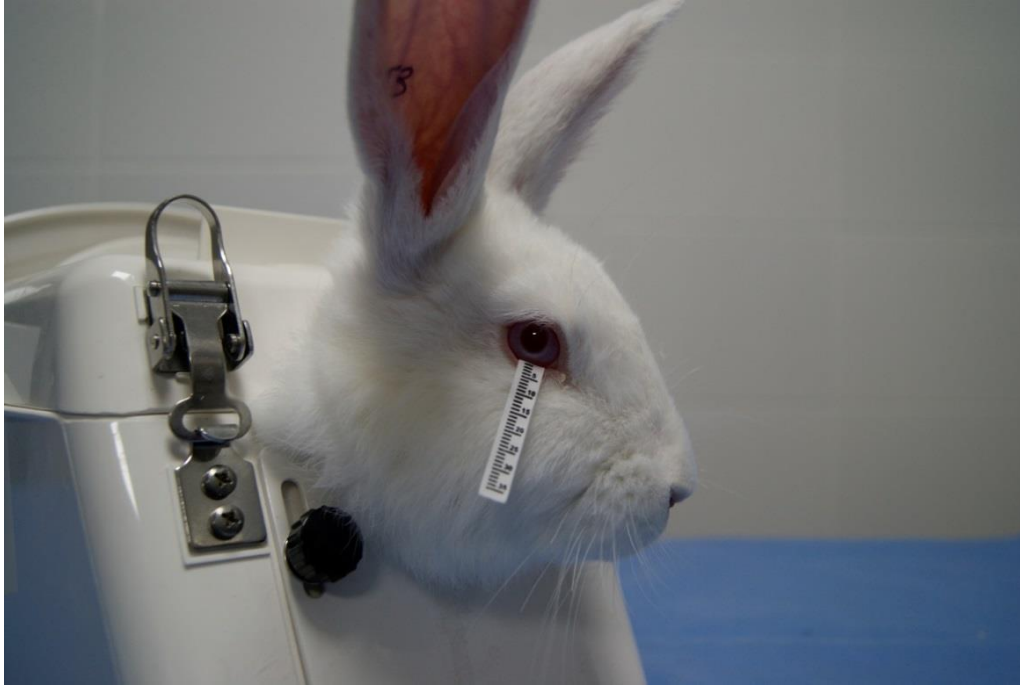
**Şekil 2.7.** Kontrol grubuna ait deneklerin STT 1 ölçüm değerlerinin kaydedildiği çizelge örneği.

E - Epifora B - Blefarospazm F - Fotofobi V - Vaskülarizasyon		H - HAFİF O - ORTA Ş - ŞİDDETLİ				
K	0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün
K1						
K2						
K3						
K4						
K5						
K6						
K7						
K8						
K9						
K10						
K11						
K12						
K13						
K14						

**Şekil 2.8.** Kontrol grubuna ait deneklerin diğer muayene bulgularının kaydedildiği çizelge örneği.

#### 2.4.1. Schirmer Gözyaşı Testi 1

STT 1, gruplardaki tavşanların tamamına deney prosedürü öncesi ve belirtilen muayene günlerinde uygulandı. Bu işlem; test şeritlerinin (Bio Schirmer, biotech, İsviçre) işaretli yerden bükülerek alt göz kapağındaki konjunktival kesenin anteromedial üçte birlik kısmına yerleştirilmesi ve burada 60 saniye tutulduktan sonra ıslanma derecesine göre üzerindeki değer okunarak ortalama gözyaşı miktarlarının mm/dk olarak ölçülmesi şeklinde gerçekleştirildi (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Schirmer gözyaşı testi 1'in uygulanışı.

#### 2.4.2. İntraoküler Basınç Ölçümü

İOB ölçümü, gruplardaki tavşanların tamamında deney prosedürü öncesi ve belirtilen muayene günlerinde yapıldı. Rebound tonometre (Icare® TONOVET Plus, Finlandiya) ile yapılan ölçümlerin tonometrik verileri, her bir uygulamada 6 ölçümün ortalamasıyla elde edildi (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. İntraoküler basınç ölçümü.

### 2.4.3. Klinik Değerlendirme Skalalarının Uygulanması

#### a) Korneal opasitenin değerlendirilmesi

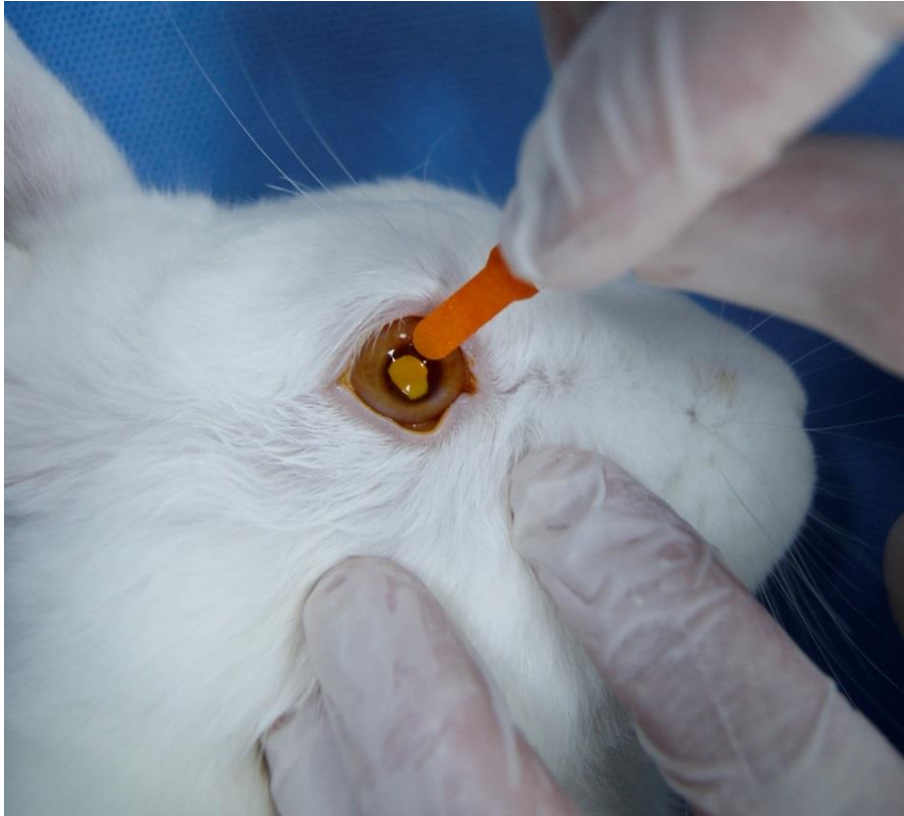
Korneal opasite (bulanıklık), Beiran ve ark (1997)'in kullanmış olduğu yönteme göre değerlendirildi. Bu değerlendirmede, ön kamara ayrıntılarının direkt inspeksiyondaki görünümü baz alınarak 0 ile 4 arası bir skora yapıldı (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Korneal opasite skora sistemi (Beiran ve ark 1997).

0	Saydam kornea
1	Ön kamara detaylarının incelenmesine imkân tanıyan hafif bir bulanıklık
2	Ön kamaranın net olarak değerlendirilmesine imkân vermeyen orta derecede bir bulanıklık
3	Pupilla ve iris detaylarının görülmesine imkân tanımayan ileri derecede bir bulanıklık
4	Kornea dışında hiçbir yapının görülmediği total bir bulanıklık

## b) Korneal erozyon alanının ölçümü

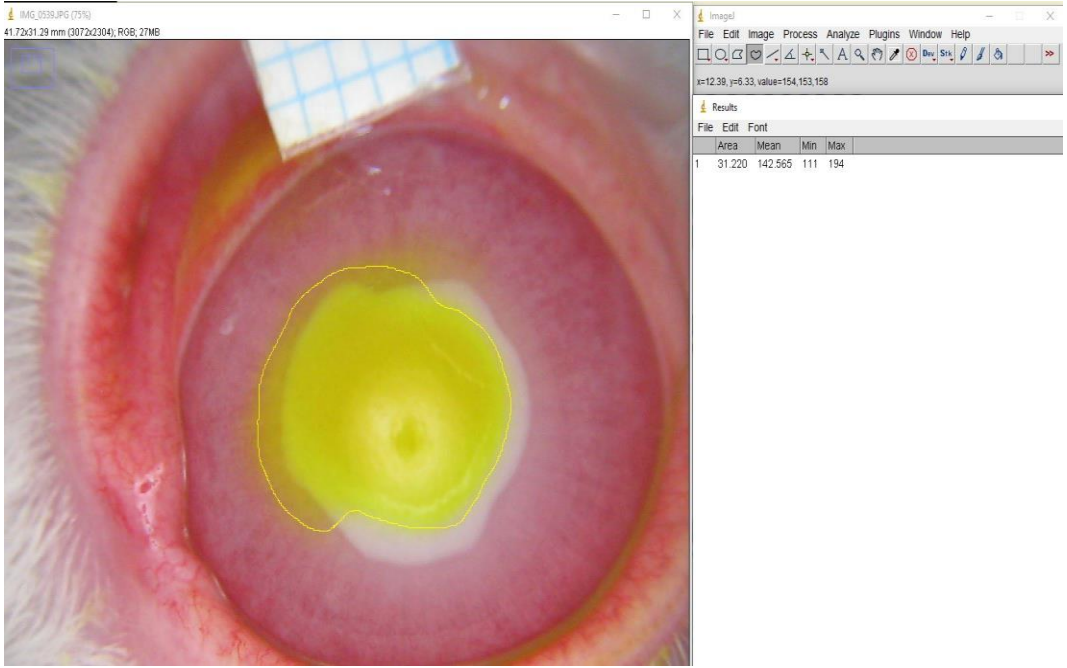
Korneanın floresein ile boyanan kısımları, korneal erozyon alanları olarak kabul edildi. Floresein boyama, test stripleri (AkFlou, Trusted Partner in Healthcare, ABD) kullanılarak yapıldı (Şekil 2.11). Fotoğraflar, dijital fotoğraf makinesiyle (Canon DIGITAL IXUS 75 7.1 PIXELS) objektifine loupe (DIGITAL MICRO LENS 10X, Lumos-ITRC) takılarak çekildi (Şekil 2.12). Bu sayede, görüntüler tüm hayvanlarda aynı mesafeden ve aynı açıdan alınmış oldu. Kullanılan görüntü analiz programına referans olarak tanıtılması amacıyla kenar uzunluğu 5 mm'lik karelerden oluşan grafik kağıdı şeritleri kullanıldı. Bu şeritler, fotoğraflama esnasında limbus sınırına konuldu. Deney prosedürü öncesi normal gözler fotoğraflandıktan sonra belirtilen muayene günlerinde her bir gözün floresein boyama öncesi ve sonrası birer fotoğrafı çekildi. Bilgisayar ortamına aktarılan bu görüntülerdeki korneal erozyon alanları ( $\text{mm}^2$ ), İmage J (Image Processing and Analysis in Java) adlı görüntü analiz programıyla ölçüldü (Şekil 2.13). Ölçüm değerleri, farklı zamanlarda yapılan 3 ölçümün ortalaması alınarak elde edildi.



Şekil 2.11. Floresein boya uygulaması.



Şekil 2.12. Fotoğraflama işlemi.



Şekil 2.13. Korneal erozyon alanının İmage J görüntü analiz programıyla ölçümü.

## 2.5. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmanın 3. ve 14. günlerinde her gruptan 7'şer tavşan yüksek doz ksilazin/ketamin kombinasyonu ile (Gökmen ve ark 2019) ötanazi edildi. Ötanazi uygulandıktan sonra sağ göz kürelerinin total enükleasyonu gerçekleştirildi. İlk ötanazi edilen K grubundaki 7 tavşanın, histopatolojik incelemede negatif kontrol olarak kullanılması amacıyla sağlam sol gözleri de alındı.

Enükleasyondan sonra göz kürelerinin göz içi sıvıları bir enjektör yardımıyla boşaltıldı ve yerine boşaltılan sıvı miktarı kadar %5-10'luk tamponlu formalin solüsyonu enjekte edildi. Sonrasında ise her bir göz küresi, deney protokolüne göre numaralandırılarak, yaklaşık 10 katı kadar %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içeren kavanozlara alınarak 24 saat süreyle tespit sıvısında bekletildi (Şekil 2.14). Ön tespitleri tamamlanan göz küreleri, lezyonlu bölgeyi ortalayacak şekilde (korneanın tepe noktasından) 2 parçaya ayrıldı ve her iki yara yüzeyini ve tüm kornea hattını temsil edecek şekilde trimleme yapılarak numaralı doku kasetlerine yerleştirildi. Doku kasetleri 2. defa yeni hazırlanmış tespit solüsyonuna (%10'luk tamponlu formalin) alınarak 12 saat süreyle bekletildi. Bu aşamadan sonra tüm doku örnekleri 24 saat süre ile akan çeşme suyu altında bekletilerek dokulardan formalinin uzaklaştırılması sağlandı.



**Şekil 2.14.** Enükleasyonu gerçekleştirilmiş göz kürelerinin %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içerisindeki ön tespiti.

Yıkama işlemi sonrasında doku örnekleri, alkol-ksilol serilerinden geçirilmek üzere otomatik doku takip cihazına (Leica TP 1020, ABD) alındı. Yapılan dehidrasyon ve şeffaflaştırma işlemi sonrasında doku örneklerinden yara yüzeylerini temsil edecek şekilde parafin bloklar hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) aracılığıyla 5 mikron kalınlığında seri kesitler alındı. İstatistiksel veri oluşturmak üzere aynı göze ait her iki yarımından, yara yüzeylerini temsil edecek şekilde kesitlerin alınmasına dikkat edildi. Tüm kesitler Hematoksilin-Eosin (HE) boyama prosedürüne göre boyandı (Luna 1968, Presnell ve Schreibma 1997).

### **2.5.1. Histometrik Ölçümleme ve Histopatolojik Bulguların Skorlandırılması**

Histopatolojik incelemeler ışık mikroskobunda (DP21 kameralı Olympus BX51F) yapıldı. Skorlama amacıyla tüm kornea kesitleri ışık mikroskobunda 10'luk objektif altında incelendi. Tüm kornea katmanını temsil edecek şekilde 5 farklı bölgeden, korneal epitelium katmanı bazal membrana kadar ölçüldü. Bazal membrandan başlayarak endotelyuma kadar olan stroma kalınlığı da benzer şekilde ölçüldü. Ölçümler Olympus EPview resim analiz programıyla yapıldı. Ölçümlere ilave olarak tüm kesit alanında; erozyon, ülser, ödem, hiperemi, kanama, damarlaşma, yangısal hücre infiltrasyonu ve epitel hücre hiperplazisi gibi bulgular semikantitatif olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede her bir deney hayvanına ait örnek ayrı ayrı incelenerek bulguların kesit alanındaki yaygınlığına göre derecelendirme yapıldı ve elde edilen pozitif (+) sonuçlar her bir grupta incelenen hayvan sayısına bölünerek ortalama şiddet tespit edildi. Ayrıca, gerek duyulan alanlardan mikroskobik resimler alındı.

### **2.6. İstatistik Değerlendirme**

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 22.0 (IBM Electronics, ABD) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler Ortalama±Standart Hata (Ort±SH) olarak ifade edildi. STT 1, İOB ve korneal erozyon alanı ölçümü sonuçlarının değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA testi) uygulandı ve çoklu karşılaştırmalarda DUNCAN testi kullanıldı. Epitel ve stroma kalınlıklarının günlere göre karşılaştırılmasında ise

bağımsız örneklem T testi (Independent Sample T) kullanıldı. Sonuçlar  $p < 0,05$ 'te istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

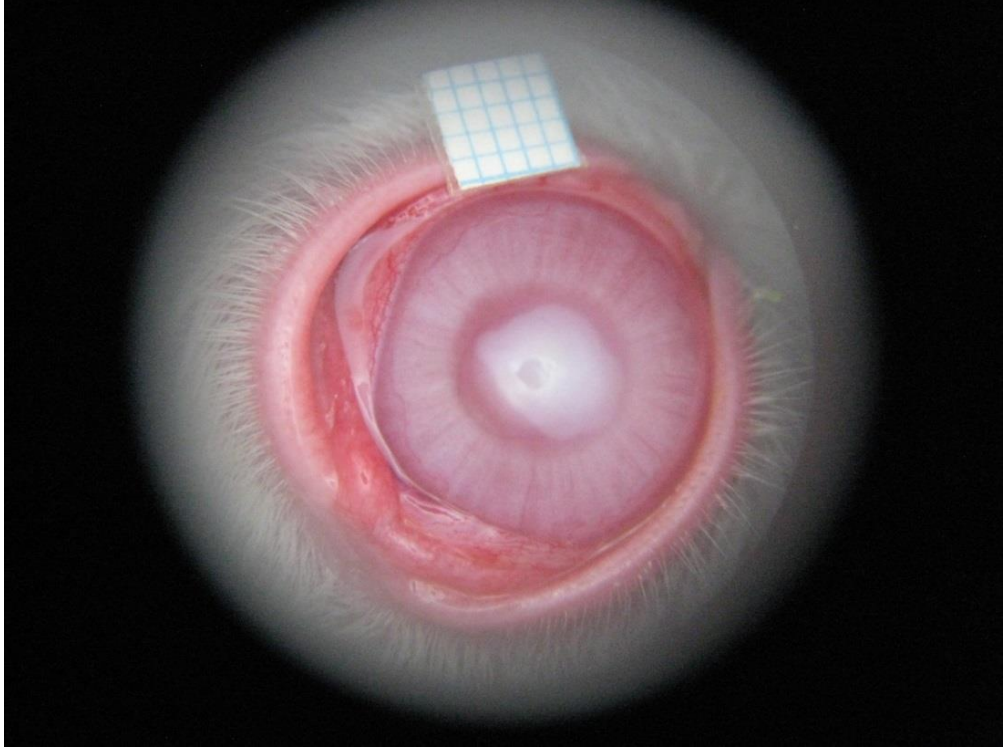
Sunulan çalışmada Yeni Zelanda ırkı tavşanlarda deneysel kornea alkali yanığı oluşturulduktan sonra göze topikal olarak damlatılan ve subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulanan TCAE'nin korneal rejenerasyon üzerindeki etkileri, klinik ve histopatolojik muayene bulguları başlıkları altında sunuldu. Klinik muayene bulgularını; korneal opasite, STT 1 (mm/dk), İOB (mmHg) ve korneal erozyon alanı (mm<sup>2</sup>) ölçümleri oluşturdu. Histopatolojik muayene bulgularını ise; korneal epitelyum ve stromanın histometrik ölçümlerinin yanı sıra yapılan subjektif histopatolojik değerlendirmeler oluşturdu.

#### 3.1. Klinik Muayene Bulguları

Yanığın oluşturulduğu gün, yapılan klinik muayeneler neticesinde tüm deneklerin yanık oluşturulan kornealarında lezyon derecelendirme sistemine (Tablo 2.1) göre yüzlek ülserasyonun (skor 2) şekillendiği belirlendi. Yanığa bağlı şekillenen lezyonların ortalama çapı 6,13 mm olarak ölçüldü. Kornea merkezinde oluşturulan bu dairesel şekilli lezyonlar; erozyon alanları ve görünümleri itibariyle bir örnek yapıya sahipti. Yanığa bağlı oluşan epitelyal kayıplar ve korneal bulanıklık, lezyonun şekillendiği alanla sınırlı olup diğer oküler yapıların alkali ajandan etkilenmediği görüldü. Grupların tümünde yanık oluşturulan gözlerde değişik derecelerde epifora, blefarospazm ve fotofobi gözlemlendi.

##### 3.1.1. Korneal Opasite Bulguları

Çalışmanın sıfırıncı günü, korneal opasite skora sistemi (Tablo 2.2) baz alınarak yapılan değerlendirmelerde; tüm deneklerde, kornea dışında hiçbir yapının görülmediği total bir bulanıklık (skor 4) durumu gözlemlendi. Devam eden muayenelerde çalışma süresince korneal bulanıklığın şiddetinde herhangi bir değişikliğin olmadığı görüldü (Şekil 3.1). Dolayısıyla korneal opasitenin istatistiki olarak değerlendirilmesine imkân tanıyacak bir ham veri elde edilemedi.



**Şekil 3.1.** S grubundan 14. deneğin 14. gün fotoğraflanan ve opasitesi devam ettiği görülen korneasının görünümü.

### **3.1.2. Schirmer Gözyaşı Testi 1 Muayene Bulguları**

Çalışmada, K grubunun 1. ve 2. gün ölçülen STT 1 değerlerinin, diğer muayene günlerinde ölçülen değerlere göre istatistiki olarak yüksek olduğu görüldü ( $p<0,05$ ). T ve S gruplarına ait ölçümlerde ise; istatistiki olarak en yüksek STT 1 değerlerinin 1. gün, en düşük değerlerin ise 14. gün ölçüldüğü tespit edildi ( $p<0,05$ ). Ayrıca, K ve T gruplarının muayenelerinde 14. güne ait STT 1 değerlerinin 0. günde ölçülen değerler ile istatistiki olarak benzer ( $p>0,05$ ), S grubunun 14. gün muayenesine ait STT 1 değerinin ise 0. gün ölçülen değerden istatistiki olarak düşük ( $p<0,05$ ) olduğu görüldü. Çalışma sonucunda elde edilen STT 1 ölçümlerine ait istatistiki veriler Tablo 3.1’de sunulmuştur.

**Tablo 3.1.** Deney gruplarının muayene günlerine göre STT 1 değerleri (mm/dk, Ort±SH).

Gruplar	0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün
K	5,00±0,36 <sup>b</sup>	8,28±0,78 <sup>a</sup>	7,28±0,72 <sup>a</sup>	5,07±0,53 <sup>b</sup>	4,28±0,42 <sup>b</sup>	5,28±0,74 <sup>b</sup>
T	4,50±0,53 <sup>cd</sup>	8,14±0,66 <sup>a</sup>	6,00±0,41 <sup>bcd</sup>	6,92±0,72 <sup>ab</sup>	6,42±0,57 <sup>abc</sup>	4,28±0,52 <sup>d</sup>
S	6,85±0,52 <sup>b</sup>	8,71±0,88 <sup>a</sup>	6,00±0,41 <sup>bc</sup>	5,64±0,48 <sup>bc</sup>	6,00±0,53 <sup>bc</sup>	4,28±0,47 <sup>c</sup>

K: Kontrol grubu, T: Topikal TCAE grubu, S: Subkonjunktival TCAE grubu. <sup>a, b, c, d</sup>: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (P<0,05).

### 3.1.3. İntaoküler Basınç Muayene Bulguları

Grupların İOB ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde; K grubunda 0. gün ölçülen değer; 1, 2 ve 3. günlerde ölçülen değerlerden istatistiki olarak yüksek (p<0,05), 14. gün ölçülen değerden ise düşük olduğu görüldü (p<0,05). T grubunda ise; 14. gün ölçülen İOB değerinin, 3. gün değerinden istatistiki olarak yüksek olduğu görüldü (p<0,05). Ayrıca, 14. günde ölçülen istatistiki olarak en yüksek İOB değerinin S grubuna ait olduğu tespit edildi (p<0,05). Çalışma sonunda; K ve S gruplarının 14. gün İOB değerlerinin 0. gün ölçülen değerlerden istatistiki olarak yüksek (p<0,05), T grubunda ise bu değerlerin benzer olduğu görüldü (p>0,05). Çalışma sonucunda elde edilen İOB ölçümlerine ait istatistiki veriler Tablo 3.2’de sunulmuştur.

**Tablo 3.2.** Deney gruplarının muayene günlerine göre İOB değerleri (mmHg, Ort±SH).

Gruplar	0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün
K	9,64±0,28 <sup>b</sup>	7,00±0,54 <sup>c</sup>	8,64±0,92 <sup>c</sup>	6,78±0,63 <sup>c</sup>	8,71±1,30 <sup>bc</sup>	13,57±1,67 <sup>a</sup>
T	9,42±0,37 <sup>abc</sup>	8,50±0,53 <sup>bc</sup>	10,71±1,02 <sup>ab</sup>	8,07±0,61 <sup>c</sup>	10,28±1,06 <sup>abc</sup>	11,57±0,84 <sup>a</sup>
S	10,71±0,42 <sup>bc</sup>	7,85±0,72 <sup>cd</sup>	10,35±1,14 <sup>bcd</sup>	7,64±0,84 <sup>d</sup>	13,14±1,53 <sup>b</sup>	17,00±1,23 <sup>a</sup>

K: Kontrol grubu, T: Topikal TCAE grubu, S: Subkonjunktival TCAE grubu. <sup>a, b, c, d</sup>: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (P<0,05).

#### 3.1.4. Korneal Erozyon Alanı Bulguları

Muayene günleriyle uyumlu bir şekilde tüm grupların korneal erozyon alanı ölçüm değerlerinde istatistiki olarak anlamlı düşüşlerin olduğu tespit edildi (p<0,05). Ayrıca, korneal erozyon alanı; K ve T gruplarında en son 3. günde ölçülebilirken, S grubunda bu alan 2. günden sonraki muayenelerde 0 olarak ölçüldü. Çalışma sonucunda elde edilen korneal erozyon alanı ölçümlerine ait istatistiki veriler Tablo 3.3'de sunulmuştur.

**Tablo 3.3.** Deney gruplarının muayene günlerine göre korneal erozyon alanı ölçüm değerleri (mm<sup>2</sup>, Ort±SH).

Gruplar	0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün
K	28,98±1,65 <sup>a</sup>	12,80±1,00 <sup>b</sup>	7,50±1,68 <sup>c</sup>	1,82±1,14 <sup>d</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>
T	28,62±0,95 <sup>a</sup>	23,20±1,02 <sup>b</sup>	14,36±1,37 <sup>c</sup>	2,07±0,82 <sup>d</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>
S	31,24±0,99 <sup>a</sup>	18,15±1,49 <sup>b</sup>	11,76±1,74 <sup>c</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>

K: Kontrol grubu, T: Topikal TCAE grubu, S: Subkonjunktival TCAE grubu. <sup>a, b, c, d</sup>: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (P<0,05).

### 3.2. Histopatolojik Muayene Bulguları

#### 3.2.1. Korneal Epitelyum ve Stroma Kalınlıklarının Histometrik Ölçüm Sonuçları

Her bir sakrifikasyondan elde edilen örneklerin histometrik verileri incelendiğinde; PK (pozitif kontrol) grubuna ait epitelyum kalınlığı değerlerinin diğer gruplara ait epitelyum kalınlığı değerlerinden istatistiki olarak düşük olduğu (p<0,05) görüldü. Gruplar, stroma kalınlıklarına göre karşılaştırıldıklarında ise; 3. gün alınan örneklerde istatistiki olarak en yüksek değer T grubuna ait olduğu görüldü (p<0,05). Ayrıca, 14. gün alınan örneklerde NK (negatif kontrol) grubuna ait değer T gurubuna ait değerden istatistiki olarak düşük olduğu belirlendi (p<0,05). Epitelyum kalınlıkları yönünden 3. ve 14. gün örnekleri karşılaştırıldığında PK ve T gruplarında istatistiki olarak anlamlı farklılıklar görülürken (p<0,05), gruplarda stroma kalınlıkları yönünden örnek alınan günler arası istatistiki bir fark tespit edilemedi (p>0,05). Çalışma sonucunda elde edilen korneal epitelyum ve stroma kalınlıklarının histometrik ölçümlerine ait istatistiki veriler Tablo 3.4'de sunulmuştur.

**Tablo 3.4.** Deney gruplarının doku örneği alınan günlere göre korneal epitelyum ve stroma kalınlıklarının histometrik ölçüm değerleri ( $\mu\text{m}$ , Ort $\pm$ SH).

GRUPLAR	EPİTELYUM KALINLIĞI ( $\mu\text{m}$ )		STROMA KALINLIĞI ( $\mu\text{m}$ )	
	3. GÜN	14. GÜN	3. GÜN	14. GÜN
NK	53,05 $\pm$ 1,48 <sup>a,X</sup>	53,05 $\pm$ 1,48 <sup>ab*,X</sup>	738,46 $\pm$ 17,11 <sup>b,X</sup>	738,46 $\pm$ 17,11 <sup>b*,X</sup>
PK	37,12 $\pm$ 4,34 <sup>b,X</sup>	22,33 $\pm$ 1,93 <sup>c,Y</sup>	955,16 $\pm$ 39,11 <sup>b,X</sup>	908,84 $\pm$ 61,31 <sup>a,X</sup>
T	62,95 $\pm$ 6,47 <sup>a,X</sup>	61,78 $\pm$ 3,77 <sup>a,Y</sup>	1073,00 $\pm$ 49,87 <sup>a,X</sup>	894,42 $\pm$ 28,77 <sup>a,X</sup>
S	56,39 $\pm$ 5,18 <sup>a,X</sup>	49,05 $\pm$ 3,71 <sup>b,X</sup>	869,56 $\pm$ 42,56 <sup>b,X</sup>	844,35 $\pm$ 37,64 <sup>ab,X</sup>

NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol, T: Topikal TCAE, S: Subkonjunktival TCAE. <sup>a, b, c</sup>: Aynı sütundaki ve <sup>X, Y</sup>: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (P<0,05). (\*3. gün NK grubu verileri kullanıldı)

### 3.2.2. Kornea Kesitlerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

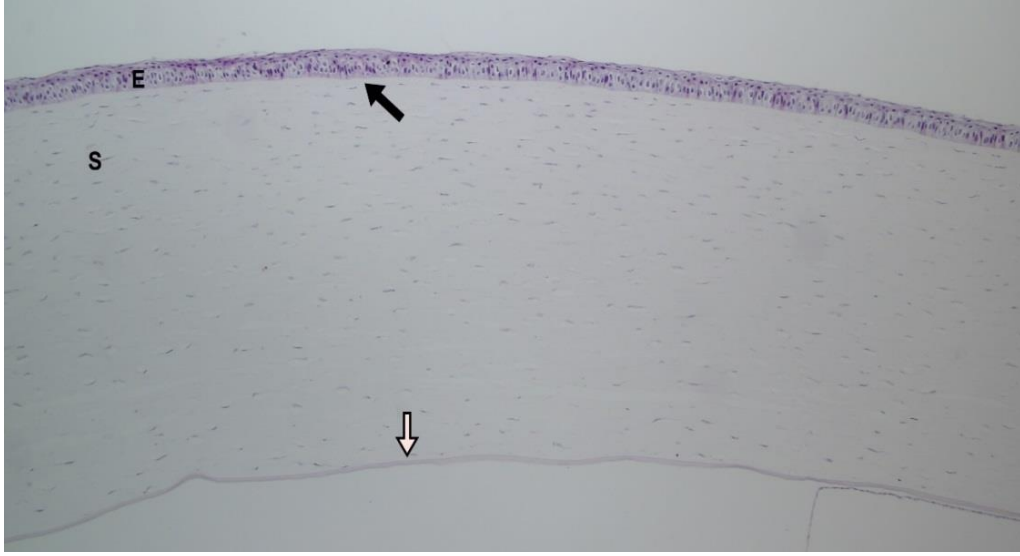
Kornea kesitlerinin histopatolojik incelemelerinde gözlenen; erozyon, ülser, hiperemi, ödem, kanama, damarlaşma, yangısal hücre infiltrasyonu ve epitel hücre hiperplazisi gibi bulgular semikantitatif olarak değerlendirildi. Bu histopatolojik bulguların gruplar ve örnek alınan günlere göre şiddeti Tablo 3.5'te sunulmuştur.

**Tablo 3.5.** Doku örneği alınan günlere göre gözlemlenen histopatolojik bulguların şiddeti.

Histopatolojik Bulgu	NK		PK		T		S	
	3. gün	14. gün	3. gün	14. gün	3. gün	14. gün	3. gün	14. gün
Epitelyal erozyon	-	-	+++	++	+++	++	++	+
Epitelyal ülser	-	-	++	++	++	++	++	+
Hiperemi	-	-	++	+++	+++	++	++	+
Ödem	-	-	+++	+++	+++	++	++	+
Kanama	-	-	++	+	++	+	+	-
Hiperplazi	-	-	-	+	-	+	+	++
Damarlaşma	-	-	++	+++	++	+++	+++	+++
Hücre infiltrasyonu	-	-	++	++	++	+++	+++	++

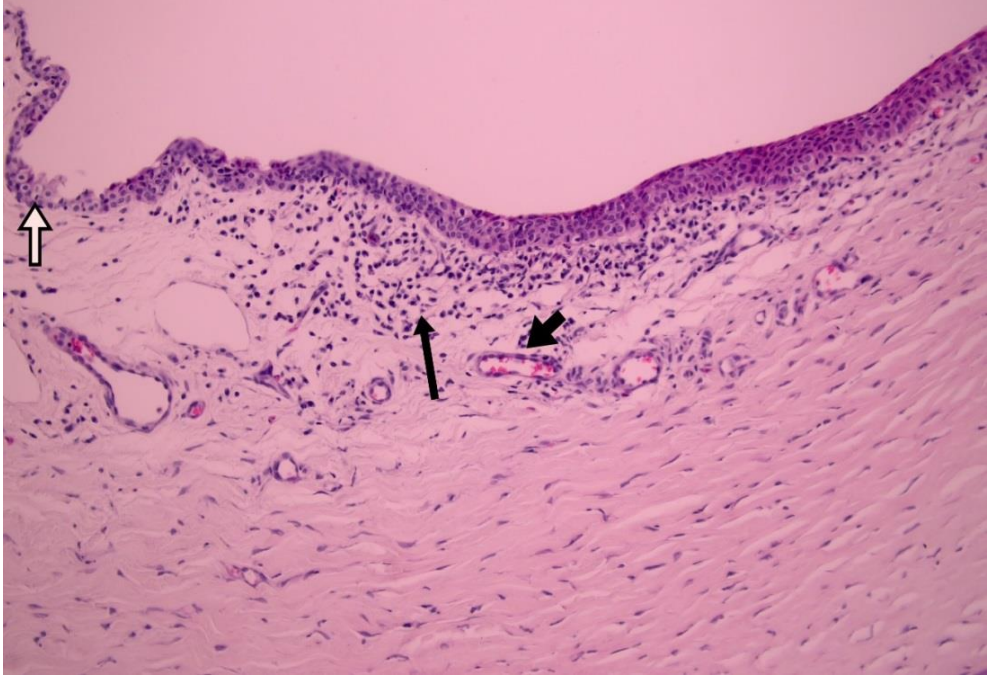
NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol, T: Topikal TCAE, S: Subkonjunktival TCAE. Normal (-): kesit alanında hiç yok, hafif (+): kesit alanının 1/3'lük kısmına kadar var, orta şiddette (++) kesit alanının 1/3-1/2'lik kısmında var, şiddetli (+++): kesit alanının 1/2-1 kısmında var olarak tanımlandı.

**Negatif kontrol grubu:** Histopatolojik incelemelerde herhangi bir patolojik durum gözlenmedi (Şekil 3.2).

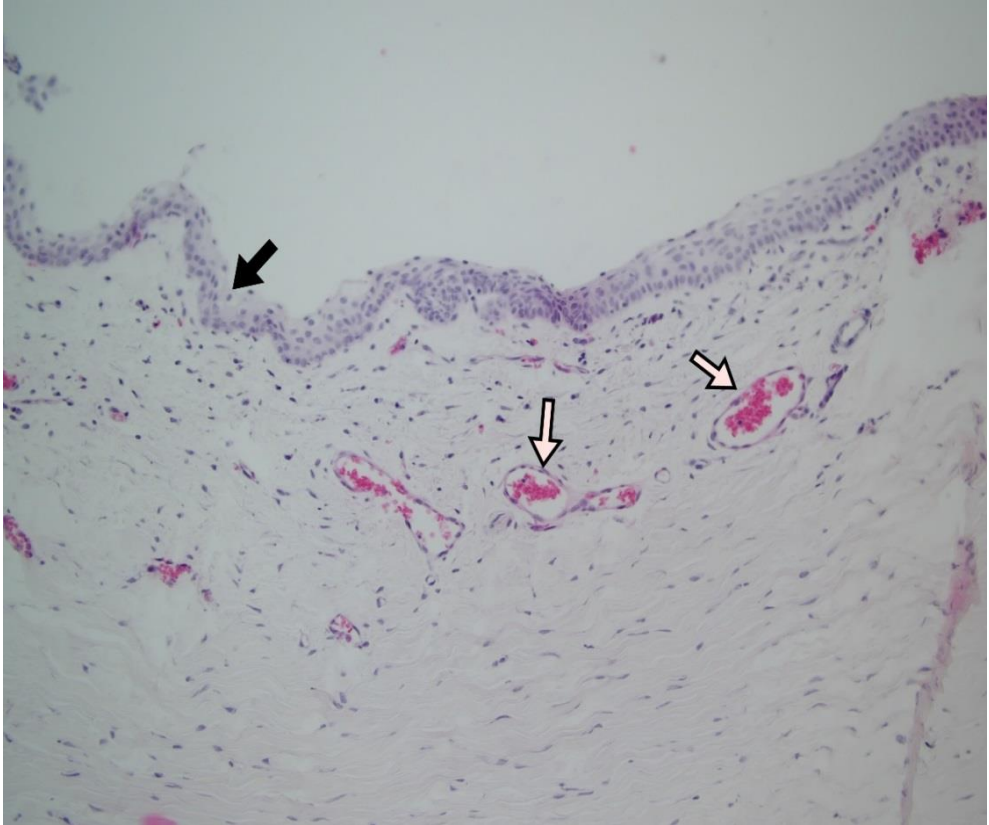


**Şekil 3.2.** Negatif kontrol grubu, 3. gün. Kornea epiteli (E), stroma (S) ve BM (siyah ok) ve kornea endoteli (beyaz ok)'nin normal görünümü. HE.

**Pozitif kontrol grubu:** Bu grupta 3. güne ait örneklerin histopatolojik incelemesinde; erozyon, epitel hücre dejenerasyonu, bazı hücrelerin çekirdeklerinde piknotik değişiklikler ve epitel hücre sayısında azalma gözlemlendi. Ek olarak, stromada; ödem, yangısal hücre infiltrasyonu, damarlaşma ve hafif şiddette hipereminin varlığı tespit edildi (Şekil 3.3). Benzer bulgular, 14. güne ait örneklerin histopatolojik kesitlerinde de gözlemlendi ancak, hiperemi tablosunun bu örneklerde daha şiddetli olduğu tespit edildi (Şekil 3.4).

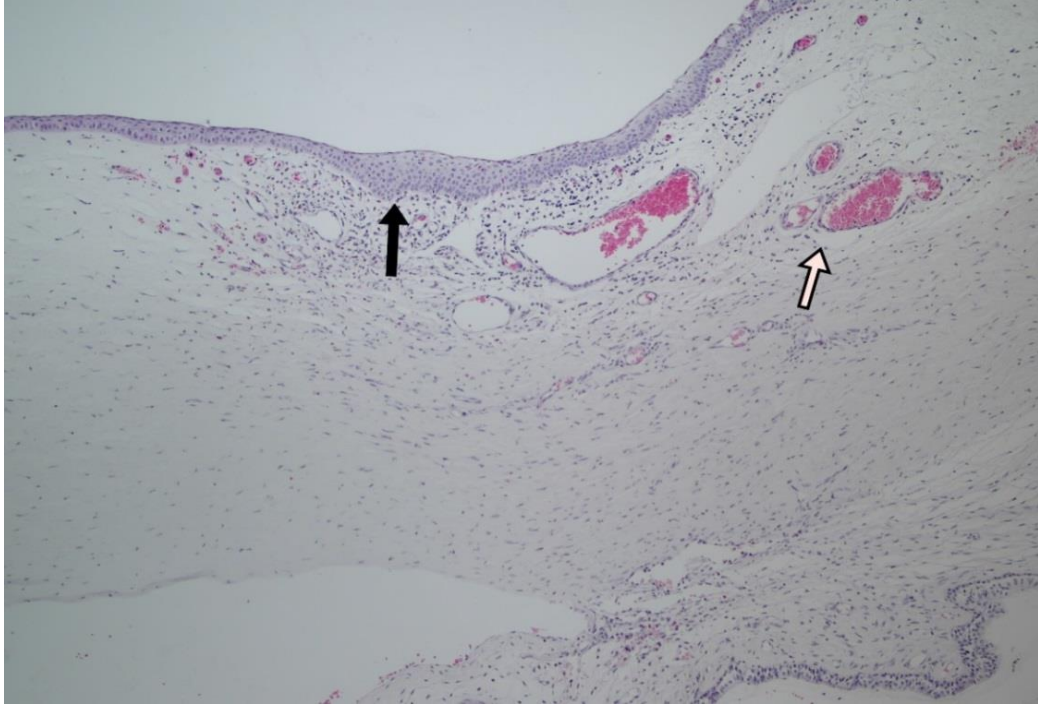


**Şekil 3.3.** Pozitif kontrol grubu, 3. gün. Kornea epitelinde erozyon ve dejenere epitel hücreleri (beyaz ok), yangısal hücre infiltrasyonu (siyah ince ok) ve hiperemik kan damarları (kalın siyah ok). HE.

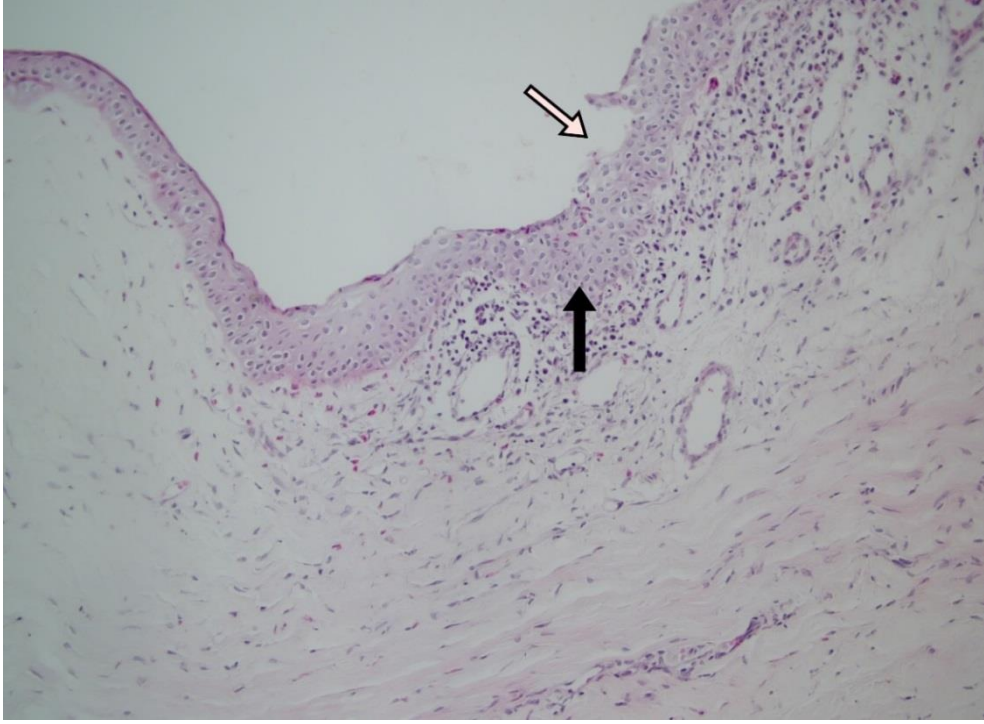


**Şekil 3.4.** Pozitif kontrol grubu, 14. gün. Dejenere epitel hücreleri (siyah ok), stromada ödemle birlikte hiperemik kan damarları (beyaz oklar). HE.

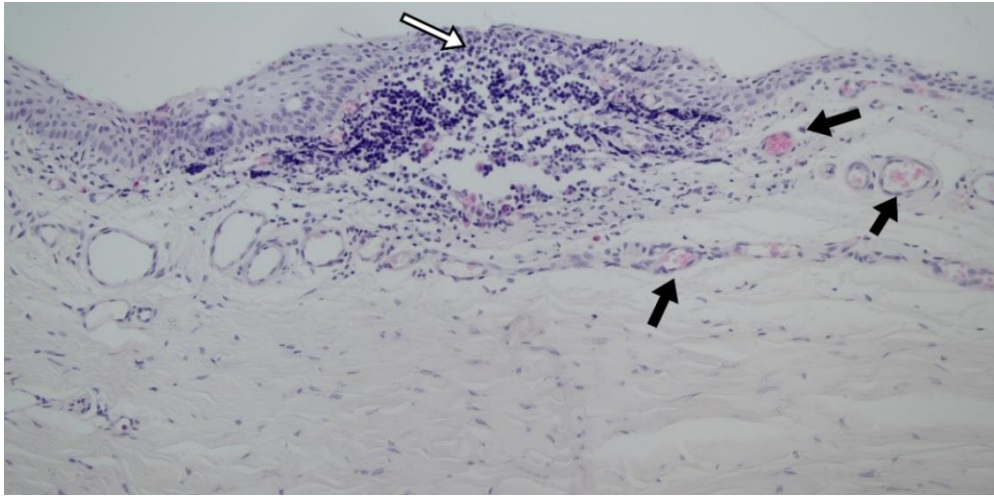
**T grubu:** Bu grupta 3. gün alınan örnekler incelendiğinde, epitel katmanda erozyon ve sınırlı ülserler; stromada ise ödem, genişlemiş hiperemik kan damarları, yer yer fokal kanama odakları ve yangısal hücre infiltrasyonları görüldü. Bu gözlemlere ek olarak bazı bölgelerde şekillenmiş olan epitel hücre hiperplazileri de dikkati çekti (Şekil 3.5-6). Benzer şekilde, 14. günde alınan örneklerde erozyon, yer yer şiddetli ülserler, ülserli alanlarda yangısal hücre infiltrasyonu ve stromada yer alan az sayıda hiperemik kan damarı ile birçok boş kan damarı gözlemlendi (Şekil 3.7).



**Şekil 3.5.** T grubu, 3. gün. Epitelyal hiperplazi (siyah ok), hiperemik kan damarları (beyaz ok) ve sol üst kısımda subepitelyal stromada sınırlı kanama alanları. HE.



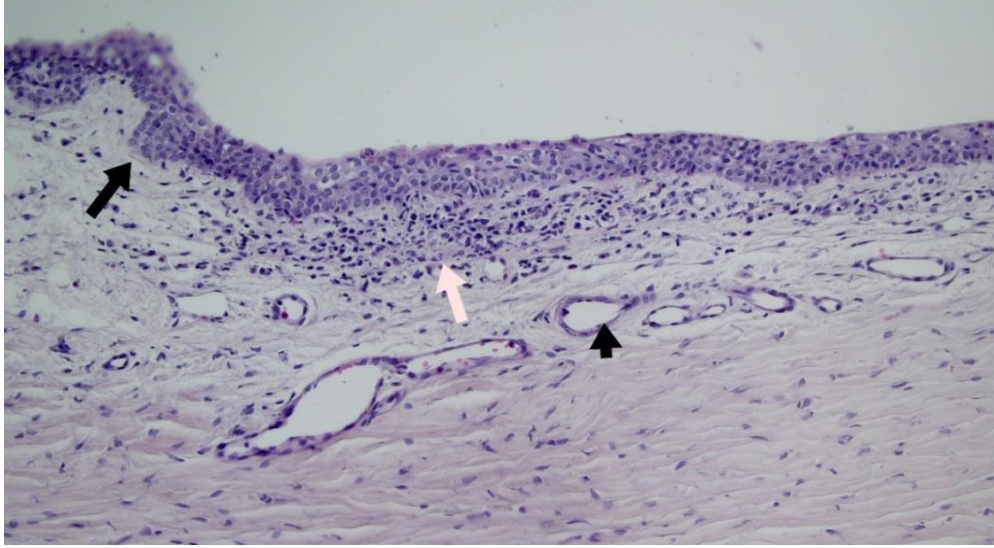
**Şekil 3.6.** T grubu, 3. gün. Epitelyumda erozyonla birlikte dejenerasyona uğramış epitel hücreleri (beyaz ok) ve hiperplazik epitel kısımları (siyah ok). HE.



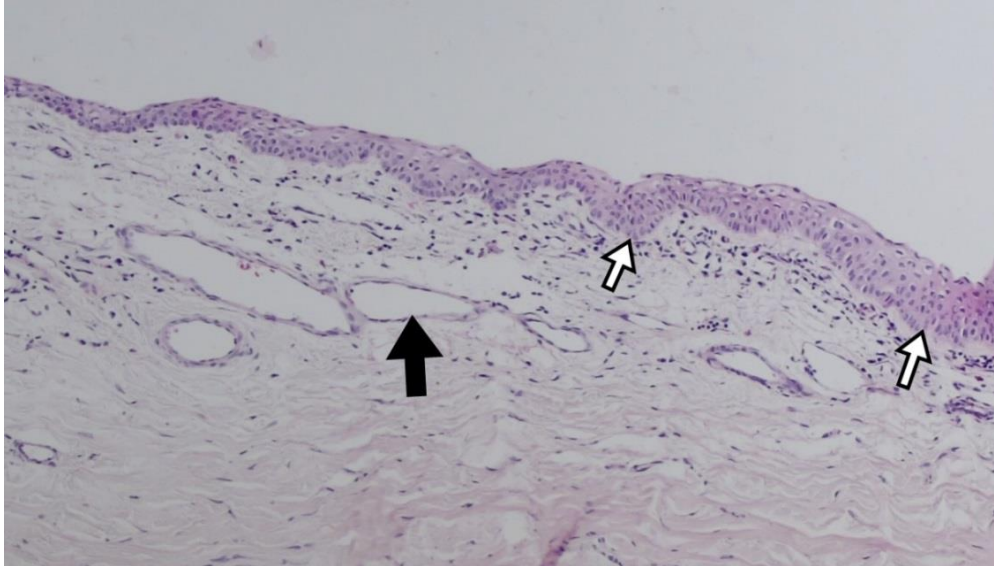
**Şekil 3.7.** T grubu, 14. gün. Korneal ülser (beyaz ok) ve ülserli alanda yangısal hücre infiltrasyonu ile stromada çok sayıda hiperemik kan damarı (siyah oklar). HE.

**S grubu:** Bu grubun 3. gün örneklerinde epitel hücre hiperplazisinin gözlemlendiği alanların diğer gruplara göre daha belirgin olduğu dikkati çekti. Önceki gruplarda olduğu gibi stromada ödem ve yangısal hücre infiltrasyonu ile çok sayıda damar oluşumu gözlemlendi (Şekil 3.8). Belirgin epitel hücre hiperplazileri ve

stromada şekillenmiş hiperemik olmayan çok sayıda kan damarı oluşumu 14. gün örneklerinde de gözlenen bulgular arasındaydı (Şekil 3.9).



**Şekil 3.8.** S grubu, 3. gün. Hiperplazik epitel kısımları (uzun siyah ok), yangısal hücre infiltrasyonu (beyaz ok) ve çok sayıda damar oluşumu (kısa siyah ok). HE.



**Şekil 3.9.** S grubu, 14. gün. Hiperplazik epitel kısımları (beyaz oklar), çok sayıda boş kan damarı (siyah ok). HE.

#### 4. TARTIŞMA

Kimyasal oküler yaralanmalar, birçok evcil hayvan türünde karşılaşılabilen ve kalıcı görme kaybıyla sonuçlanabilen önemli oküler acil durumlardandır (Wagoner 1997, Crispin 2005, Almaliotis ve ark 2015). Oküler hasarın şiddeti; maruz kalınan kimyasalın türüne, miktarına, konsantrasyonuna (pH) ve kimyasalla maruziyet süresine göre değişiklik göstermektedir (Crispin 2002b, Kuckelkorn ve ark 2002). Maruziyet açısından nispeten daha yüksek risk altında oldukları belirtilen hayvanlar; bekçi köpekleri, polis köpekleri ve atlardır (Crispin 2005). Başlıca iki tür kimyasal kornea yanığı tanımlanmıştır. Bunlar; asidik ve alkali yanıklardır. Alkaliler; neden oldukları lezyonun şiddeti, derin dokulara daha hızlı penetre olmaları ve geç komplikasyon riski taşımalarından dolayı asitlere kıyasla daha ciddi boyutta oküler yanıklara sebebiyet vermektedirler (Lemp 1974, Crispin 2005, Ledbetter ve Gilger 2013, 2014). Ayrıca, evlerde kullanılan temizlik malzemeleri ve birçok inşaat malzemesinin içeriğinde daha çok bulunması nedeniyle alkali kaynaklı yaralanmaların daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Wagoner 1997).

Oküler yanık olgularında ilk olarak irrigasyon ile kimyasalın uzaklaştırılması amaçlanmaktadır. Daha sonra yapılan medikal sağaltım uygulamaları ise; yangının kontrol altına alınmasına, korneal onarımı artırmaya ve oküler yüzeyin reepitelizasyonunu sağlamaya yöneliktir. Bu amaçla genellikle antikollajenazik ilaçlar, topikal ve sistemik antibiyotikler, midriyatikler, steroid ve nonsteroid ilaçlar kullanılmaktadır (Wagoner 1997, Ledbetter ve Gilger 2014).

Homeopati, beşeri ve veteriner hekimlik alanında kullanımı gittikçe yaygınlaşan alternatif bir tedavi yöntemidir (Hektoen 2005). Bilimsel disiplinlerle açıklanması gereken belirsizliklere sahip olmasına karşın, birçok ülkede kabul gördüğü ve klinik pratikte uygulama alanı bulduğu belirtilmektedir (Vockeroth 1999, Lees ve ark 2017a, 2017b). Homeoptik bir ürün olan *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı (TCAE) ise, özellikle veteriner sahada -ülkemizde *Theranekron* ticari ismiyle- kullanımı gün geçtikçe artan bir ilaç haline gelmiştir. Klinik pratikte farklı amaçlarla kullanılan bu ürün, birçok bilimsel çalışmanın da konusu olmuştur.

Sunulan çalışmada, deneysel kornea alkali yanıklarının medikal sağaltımında TCAE'nin farklı şekillerde oftalmik kullanımlarını içeren sağaltım

protokolünün korneal opasite, gözyaşı miktarı, İOB değeri ve korneal erozyon alanı parametreleri üzerindeki etkileri sonucu elde edilen istatistiki ve histopatolojik veriler, mevcut literatür bilgileri ışığında yorumlanmaya çalışılmıştır.

Çalışmada hayvan materyali olarak Yeni Zelanda ırkı tavşanların seçilmesinde; tavşanların göz ile ilgili bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaları ve tavşan gözünün kedi/köpek gözüyle arasındaki benzerlikler (Williams 2013) etkili olmuştur. Uygulanan kornea alkali yanık modeli; Ormerod ve ark (1989)'nın kullanmış olduğu modelden modifiye edilmiş olan Kuşcu (2018)'nin yanık modeli referans alınarak oluşturulmuştur. Sağaltım amacıyla kullanılan TCAE ise, eksperimental olarak doze edilip oküler ilaçların veteriner sahadaki bilinen yaygın kullanımlarına (Maggs 2008c) uygun olarak; damla şeklinde ve subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulanmıştır.

Rutin muayeneler ve ilaç uygulamalarında dikkat çeken başlıca bulgular; tüm gruplarda yanık oluşturulan gözlerde karşılaşılan epifora, blefarospazm, fotofobi ve vaskülarizasyon olmuştur. Çalışma boyunca farklı derecelerde devam eden bu akut yangı belirtileri, Şaroğlu (1999) tarafından da belirtilmiştir. Araştırmacı, tavşanlarda deneysel oküler alkali yanık oluşturduğu çalışmasında yangı belirtilerinin sağaltım uygulamalarına rağmen net bir şekilde azalmaması durumunu Micheal (1997)'in ortaya koyduğu yangının iki dönemli seyir mekanizmasıyla açıklamıştır. Ayrıca, çalışmamızda gözlemlenen bu yangısal bulguların T gurubundaki hayvanlarda nispeten daha şiddetli olduğu görülmüştür. Özellikle topikal uygulama sonrası artan gözyaşı akıntısı ve hiperemik konjunktiva yapısı akla bunun Theranekron içerisinde bulunan alkolün iritasyon etkisiyle ilgili olabileceği fikrini getirmiştir.

Çalışmada, alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra dikkati çeken ilk klinik bulgu korneada şekillenen ani opasifikasyondur. Oluşan bu korneal bulanıklık durumu bazı araştırmacılar (Şaroğlu 1999, Kuşcu 2018, Görücü 2021) tarafından da bildirilmiş ve muhtemel nedeninin; alkalilerin hücre zarındaki lipid yapıyla tepkimeye girerek hücre ölümüne neden olmaları ve korneal yıkımlanmaya bağlı olarak şekillenen stromal kolajen ve GAG'ların hidrasyonu ile ilgili olabileceği vurgulanmıştır. Çalışmamızda oluşturulan alkali yanık modeli ve buna bağlı olarak kornea merkezinde şekillenen opasitenin literatür verileriyle (Ormerod ve ark 1989, Kuşcu 2018, Görücü 2021) uyumlu olduğu görülmüştür. Korneal opasitenin

değerlendirmesinde; Beiran ve ark (1997), Altan (2013) ve Görücü (2021)'nın kullanmış olduğu skorlama sisteminden (Tablo 2.2) yararlanılmış ve 0. gün tüm deneklerin kornealarında total bir bulanıklığın (skor 4) şekillendiği görülmüştür. Ayrıca, bu durumun çalışma boyunca devam ettiği, dolayısıyla korneal opasifikasyon derecesinin değişmeden kaldığı kaydedilmiştir. Subasi ve ark (2017) tavşanlarda deneysel kornea alkali yanığı oluşturup farklı sağaltım protokollerinin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında korneal opasite açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığını belirtmişlerdir. Tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımında medikal ozonun etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada (Kuşcu 2018) da gruplar arasında opasite açısından istatistiki olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı, ancak 21. günün sonunda bir tedavi grubunda gözlenen opasifikasyonun diğer gruplara göre bir miktar daha az olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde, deneysel kornea alkali yanığı oluşturulmuş tavşanlarda trombositten zengin fibrin membran ve konsantre büyüme faktörü membranı tekniklerinin sağaltım açısından karşılaştırıldığı bir çalışmada (Melek 2019), korneal saydamlığın hiçbir grupta tam anlamıyla elde edilemediği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, Altan (2013) tavşanlarda deneysel hidroflorik asitle oluşturduğu korneal lezyonların iyileşmesinde dimetilsülfoksit ve indometazinin etkilerini araştırmış ve korneal saydamlığın dimetilsülfoksit ve kontrol grubundaki hayvanlarda geri kazanıldığını bildirmiştir. Kornea alkali yanıklarında mezenşimal kök hücre uygulamasının iyileşme üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada (Almaliotis ve ark 2015) korneal opasite açısından tedavi ve kontrol grupları arasında ciddi farklılıkların gözlemlendiği ve çalışma sonunda tedavi grubunda korneal saydamlığın geri kazanıldığı bildirilmiştir. Farklı bir yaklaşım olarak Şaroğlu (1999), korneal opasitenin devam etmesinde; alkali yanıkla birlikte şekillenen ani korneal bulanıklığa daha sonra eşlik eden korneal ödem, yangısal hücre infiltrasyonu ve stromal kalınlaşma gibi patolojilerin de etkili olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda gözlenen histopatolojik muayene bulguları da bu sonuçları destekler niteliktedir. Bu bağlamda, çalışma boyunca korneal saydamlığın geri kazanılamamasında etkili olduğu düşünülen iki başlık öne çıkmaktadır. Bunlar; TCAE'nin korneal iyileşmedeki etkinliği ve gerekli olan tedavi süresidir. Yapılan literatür taramalarında, kornea alkali yanıklarında TCAE'nin etkinliğini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle korneal saydamlığın geri kazanılmasında, dolayısıyla korneal rejenerasyonda TCAE'nin bireysel etkinliğinin değerlendirilmesi için daha

kapsamlı araştırmalar gerekmektedir. Herhangi bir sebepten ötürü opasifikasyon gelişmiş korneanın saydamlığını geri kazanması için gerekli olan temel kriterin; normal stroma yapısının yeniden şekillenmesi olduğu belirtilmektedir. Stromal replasman veya remodeling olarak adlandırılan bu süreç; kolajen ve PG senteziyle birlikte aşamalı olarak stromal yapının yeniden şekillenmesini gerektirmektedir (Ledbetter ve Gilger 2013, 2014). Normal stromal yapının oluşumu ve buna bağlı olarak korneal saydamlığın geri kazanılması için ay hatta yıl gibi bir sürenin gerekli olabileceği belirtilmiştir (Çınar 2020). Kuşcu (2018) 21 günlük çalışma süreci sonunda, alkali yanık kaynaklı korneal opasitenin sağaltımında uzun dönem sonuçlarına ihtiyaç olduğunu belirtmiştir. Benzer şekilde, tavşanlarda penetran keratoplasti sonrası çeşitli sağaltım seçeneklerinin korneal iyileşme üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Çınar 2020), stromal bütünlüğün sağlanması için penetran kertoplasti sonrası en az 3 aylık bir sürenin geçmesi gerektiği bildirilmiştir. Literatür veriden de anlaşılacağı üzere, korneal saydamlığın geri kazanılması için korneal (özellikle stromal) iyileşmenin tamamlanması ve göze gelen ışığın geçişine imkân tanıyan fonksiyonel bir lameller yapının oluşması gerekmektedir. Bu bağlamda, oluşan lezyonun şiddeti ve uygulanan sağaltım protokolünün yanı sıra karmaşık korneal iyileşme sürecinin sağlıklı bir şekilde neticelenmesi ve korneal saydamlığın geri kazanılması için daha uzun tedavi sürelerine ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Çalışmada gözyaşı sekresyonunun değerlendirilmesinde; veteriner sahada oldukça yaygın kullanılan ve uygulama öncesi anestezi gerektirmeyen (Mould 2002, Maggs 2008b) STT 1 kullanıldı. Oluşabilecek hata payını minimize etmek için muayenelere STT 1 ölçümüyle başlandı ve alkali yanığın oluşturulduğu gün (0. gün) ölçüm yapılmadı. Bu nedenle, 0. gün verilerini sağlıklı tavşanların deney öncesi ölçülen normal gözyaşı miktarları oluşturmuş oldu. Çalışmada sağlıklı Yeni Zelanda ırkı tavşanlarda ortalama STT 1 değerleri; K grubunda  $5,00 \pm 0,36$  mm/dk, T gurubunda  $4,50 \pm 0,53$  mm/dk ve S grubunda  $6,85 \pm 0,52$  mm/dk olarak ölçüldü (Tablo 3.1). Yeni Zelanda ırkı tavşanlarda yapılmış olan farklı çalışmalarda ise bu değerin;  $5,30 \pm 2,96$  mm/dk (Abrams ve ark 1990),  $4,47 \pm 1,26$  mm/dk (şaroğlu 1999),  $7,91 \pm 3,56$  (Koç ve ark 2005),  $5,3 \pm 2,9$  mm/dk (Williams 2007),  $7,27 \pm 2,51$  mm/dk (Oriá ve ark 2014),  $6,22 \pm 0,40$  mm/dk (Kuşcu 2018) ve  $6,77 \pm 2,45$  mm/dk (Görücü 2021) olarak ölçüldüğü bildirilmiştir. Ancak, Erol ve ark (2018) iki grup üzerinde

yaptıkları ölçümlerde sağlıklı Yeni Zelanda ırkı tavşanlarda ortalama STT 1 değerlerini; 1. grupta (n=10) sağ göz 13,25±0,70 mm/dk sol göz 12,12±0,70 mm/dk, 2. grupta (n=10) sağ göz 7,75±0,70 mm/dk, sol göz 8,12±0,70 mm/dk olarak ölçmüşlerdir. Bu veriler değerlendirildiğinde çalışmamız sonucunda elde edilen ortalama STT 1 değerlerinin literatür veriyle büyük oranda uyumlu ve referans aralığında olduğu söylenebilir. Ancak, çalışmamız da dahil olmak üzere bildirilen ortalama STT 1 değerlerinin oldukça değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Bazı araştırmacılar bu durumu farklı yönleriyle ele almış ve bazı çıkarımlarda bulunmuşlardır. Şöyle ki, Abrams ve ark (1990) ortalama STT 1 değerini 5,3±2,9 mm/dk olarak bildirmelerine rağmen, farklı tavşan ırklarının farklı gözyaşı üretim oranlarına veya gözyaşı drenajına sahip oldukları hususuna dikkat çekmişlerdir. Gerekçe olarak da STT 1'in yalnızca şerit tarafından 1 dakikada emilen mevcut gözyaşını ölçmesi ileri sürülmüştür. Benzer şekilde kedi ve köpeklerdeki normal STT 1 değerlerinin gözler, bireyler ve ırklar arasında farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (Crispin 2002a). Alkan ve ark (2004) Akbaş ve Kangal çoban köpeklerinin Schirmer gözyaşı miktarlarını (STT 1 ve STT 2) değerlendirdikleri çalışmalarında; vücut ağırlığı ve yaşın bu değerler üzerinde istatistiki bir etkinliğe sahip olmadığını ve her iki ırkta da cinsiyet, ırk ve ölçüm zamanının STT 1 ve STT 2 değerlerini istatistiki olarak önemli oranda etkilediğini bildirmişlerdir. Koç ve ark (2005) ise üç farklı tavşan ırkı üzerinde yapmış oldukları STT 1 değerlendirmesi sonucunda elde edilen değerlerin normal sınırlar içerisinde olmakla beraber cinsiyete ve ölçüm zamanına göre farklılık gösterebildiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar, tavşanlarda gözyaşı sekresyonunun doğru değerlendirilebilmesi için ırk, yaş, cinsiyet ve hayvanın içinde bulunduğu ekolojik koşulların dikkate alınması gerektiğini vurgulamışlardır. Bu veriler ışığında; tür ve ırk ayrımı yapılmaksızın hayvanlardaki ortalama STT 1 değerinin test şeridi, testin uygulanışı ve hayvana ait bireysel farklılıklar gibi birçok faktörden etkilendiği görülmektedir. Çalışmamızdan elde edilen istatistiki veriler değerlendirildiğinde; en yüksek STT 1 değerleri K grubunda 1. ve 2. gün, T ve S gruplarında ise 1. gün yapılan muayenelerde ölçülmüştür. Benzer şekilde Görücü (2021) de deneysel kornea alkali yanık modeli oluşturduğu tavşanlarda STT 1 sonuçlarının 0. gün referans değerlerinin üstünde olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda STT 1 değerleri açısından T ve S gruplarına ait en düşük değerler 14. gün kaydedilmiştir. Çalışma sonunda K ve T grupların STT 1 sonuçları yanık öncesi sağlıklı gözlerde ölçülen değerler ile benzer bulunurken, S grubunda bu

değer 0. gün ölçülen değerden düşük bulunmuştur. Araştırmacılar (Şaroğlu ve Arıkan 2002, Almaliotis ve ark 2015, Görücü 2021) sağlıklı gözlere ait ortalama bir STT 1 değeri bildirmelerine rağmen, sağıltım protokollerinin uygulanmasıyla beraber çalışma sonunda STT 1 değerleri açısından anlamlı bir farklılık belirtmemişlerdir. Çalışmamız, grup bazlı STT 1 değerlerinin düzenli bir değişime sahip olmaması yönünden literatür (Şaroğlu ve Arıkan 2002, Kuşcu 2018, Görücü 2021) veriyle örtüşmektedir. Ayrıca, çalışma sonucunda elde edilen STT 1 değerinin tüm gruplarda 1. gün yapılan muayenede en yüksek ve ortalama değer üstünde olması, akla alkali yanığa bağlı şekillenen yangısal cevabın ilk 2 gün daha şiddetli olduğu fikrini getirmiştir. S grubunda 14. gün ölçülen değer normalin altında olması ise subkonjuntival TCAE uygulamasının konjunktival Goblet hücre sayısı üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabileceği ihtimalini düşündürmüştür.

Göz hastalıklarında önemli tanı prosedürlerinden biri de, intraoküler basıncın ölçülmesi işlemidir (Featherstone ve Heinrich 2013). Anestezi uygulaması İOB değerlerini etkileyeceğinden (Maggs 2008b, Featherstone ve Heinrich 2013) dolayı, çalışmanın alkali yanık oluşturulan 0. günü İOB ölçümü yapılmadı. Bu nedenle sıfırinci gün verilerini sağlıklı tavşanların lezyon oluşturulmadan önceki İOB ölçüm değerleri oluşturdu. Ölçümler, veteriner sahada kullanımı yaygın olan Rebound tonometre ile yapıldı. Çalışmada sağlıklı tavşan gözlerinin ortalama İOB değerleri; K grubunda  $9,64 \pm 0,28$  mmHg, T grubunda  $9,42 \pm 0,37$  mmHg ve S grubunda  $10,71 \pm 0,42$  mmHg olarak ölçüldü (Tablo 3.2). Tavşanlar üzerinde yapılan farklı çalışmalarda ise bu değer;  $9,51 \pm 2,62$  mmHg (Pereira ve ark 2011),  $11,02 \pm 1,65$  mmHg (Ma ve ark 2016),  $11,39 \pm 0,92$  mmHg (Aillegas ve ark 2019) ve  $10,4 \pm 1,62$  mmHg (Görücü 2021) olarak bildirilmiştir. Wang ve ark (2013) çalışmalarına dahil ettikleri sağlıklı tavşanlardaki 1 günlük ortalama İOB değerini sağ gözde  $10,25 \pm 2,3$  mmHg ve sol gözde  $9,07 \pm 2,47$  mmHg olarak ölçtüklerini bildirmişlerdir. Bu değerlerin yanı sıra Rebound tonometre ölçümlerinin gerçek İOB değerinden kısmen düşük, ancak tekrarlanabilirlik yönünden bu tonometrinin kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar, aydınlık periyotta (07:00-19:00) ölçülen İOB değerinin karanlık periyotta (20:00-06:00) ölçülen değere göre daha düşük olduğunu, İOB yönünden cinsiyetler arasında istatistiki bir anlamlılığın olmadığını ve sağ gözlerdeki İOB değerinin sol gözlerdekinden biraz daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Tavşanlarda bazı antiglaukomatöz ilaçların İOB üzerine etkilerini

araştıran Doğan ve Kibar (2015) ise, sağ gözde ölçülen günlük ortalama İOB değerini  $12,99 \pm 2,67$  mm/Hg olarak bildirmiş, İOB değerlerinin gün içerisinde minör farklılıklar gösterebileceğini ve çalışmalarında en düşük İOB'nin saat 10:00'da, en yüksek İOB'nin ise saat 20:00'de ölçüldüğünü belirtmişlerdir. Tavşanlarda bazı anestezi maddelerinin İOB ve gözyaşı üretimi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Erol ve ark 2018) da, anestezi uygulanmadan önce ölçülen normal ortalama İOB değerlerinin 1. grupta (n=10) sağ gözde  $14,2 \pm 0,75$  mmHg, sol gözde  $14 \pm 0,80$  mmHg; 2. grupta (n=10) sağ gözde  $12,0 \pm 0,75$  mmHg, sol gözde  $12,2 \pm 0,80$  mmHg olarak ölçüldüğü bildirilmiştir. Melek (2019) ise, dört deney grubu üzerinde yapmış olduğu çalışmada normal İOB değerlerini sırasıyla  $12,5 \pm 0,99$  mm/Hg,  $12,5 \pm 0,89$  mm/Hg,  $12 \pm 1,03$  mm/Hg ve  $12,67 \pm 1,17$  mm/Hg olarak ölçtüğünü bildirmiştir. Çalışmamızdan elde edilen diğer sonuçlar da değerlendirildiğinde; K grubunda 0. gün ölçülen İOB değerinin 1, 2 ve 3. gün muayenelerinde ölçülen değerlerden yüksek, 14. gün ölçülen değerden düşük olduğu; T grubunun 14. gün İOB değerinin 3. gün ölçülen İOB değerinden yüksek olduğu ve S grubunda 14. gün muayenesinde ölçülen İOB değerinin tüm gruplardan yüksek olduğu görülmüştür. Çalışma sonunda K ve S gruplarının 14. gün İOB değerleri 0. günde ölçülen değerlerden yüksek bulunurken, T grubunda bu değerlerin benzer olduğu görülmüştür. Çalışmamızda Rebound tonometre kullanılarak, gündüz saatlerinde ve tamamı erkek hayvanlarda ölçüm yapıldığı dikkate alındığında, elde edilen ortalama İOB değerlerinin literatür veriyle uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak, çalışmada kullanılan tavşanların normal İOB değerleri fizyolojik sınırlar içerisinde ölçülmüşse de sonraki ölçümlerde önemsiz farklılıklar dışında tam bir korelasyon elde edilememiştir. Benzer durum bazı araştırmacılar (Melek 2019, Görücü 2021) tarafından da bildirilmiştir.

Floresin boyama, oküler yüzey patolojilerinin varlığı ve yaygınlığının değerlendirilmesinde ve aynı zamanda iyileşmenin takibinde yaygın olarak kullanılan önemli bir muayene yöntemidir (Wagoner 1997, Altan 2013, Almaliotis ve ark 2015, Kuşcu 2018, Melek 2019). Çalışmamızda, bazı araştırmacıların (Altan 2013, Almaliotis ve ark 2015, Kuşcu 2018) da belirttiği gibi, korneanın floresin ile boyanan kısımları erozyon alanları olarak kabul edilmiştir. Boyama sonrası fotoğraflanan lezyonlu kornealardaki bu erozyon alanlarının ölçümü ise İmage J adlı görüntü analiz programıyla yapılmıştır. Bu alanların belirlenmesi; oluşan korneal

defekti ortaya koyarken, aynı zamanda uygulanan sağaltım protokolüne göre sağlanan korneal/epitelyal iyileşmeyi de değerlendirme imkânı sunmuştur. lçm sonuçları değerlendirildiğinde; korneal erozyon alanının grupların tamamında küçüldüğü görülmüştür. Ayrıca, 7. gün yapılan muayeneden itibaren K ve T gruplarında, 3. gün yapılan muayeneden itibaren ise S grubunda istatistiki olarak sonuç verecek bir erozyon alanı ölçümü yapılamamıştır. Daha açık bir ifadeyle, 7. gün floresein ile boyanmayan K ve T gruplarındaki birkaç deneğin korneası 14. gün ölçüm programıyla değerlendirilemeyecek Şekilde düzensiz veya belli belirsiz bir boya tutulumu göstermiştir. Dolayısıyla bu deneklerde, belirtilen gün ve sonrasındaki muayene günlerinde erozyon alanı 0 olarak ölçülmüştür. Benzer Şekilde Kuşcu (2018) da çalışması süresince (21 gün) korneal erozyon alanının tüm deneklerde küçüldüğünü belirtmiştir. Medikal ozonun tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımındaki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmanın sonunda; en hızlı epitelyal iyileşmenin sağaltım protokolü olarak 3'er gün aralıklarla subkonjuktival yolla ozonlanmış kan uygulanan M grubundaki hayvanlarda, en yavaş ise kontrol grubundaki hayvanlarda olduğu bildirilmiştir. Görücü (2021) tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıklarında farklı tedavi uygulamalarının yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini karşılaştırdığı çalışmasında; 7. günden sonra hiçbir denekte korneanın floresein ile boyanmadığını, yani korneal iyileşmenin tüm hayvanlarda Őekillendiđini bildirmiştir. Çalışmamızda K ve T gruplarında karşılan; epitelyal iyileşme Őekillendikten sonra tekrarlayan erozyonların görülmesi durumu Şaroğlu (1999) ve Görücü (2021) tarafından da bildirilmiştir. Şöyle ki, bazı antikollajenazik ilaçların tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımındaki etkilerini karşılaştırdığı çalışmasında Şaroğlu (1999); 7. günde reepitelizasyonunu tamamlamış bazı deneklerde çalışmanın 14. gününde tekrar korneal erozyonun Őekillendiđini bildirmiştir. Aynı durumun reepitelizasyon açısından 14 ve 21. günlerde yapılan karşılaştırmalarda da görüldüğü belirtilmiştir. Araştırmacı bu durumu; histopatolojik bulgular ışığında BM'de yeterli rejenerasyonun Őekillenmemesine bağlı olarak epitel katın sağlam bağlanamaması ve reepitelize olan katın kolaylıkla ayrılması fikriyle açıklamıştır. Çalışmamızda en hızlı reepitelizasyon S grubundaki deneklerde 3 gün içinde ve erozyon nüksü görülmeden Őekillenmiştir. T ve S gruplarında reepitelizasyon süreleri ve tekrarlayan erozyonlar açısından oluşan farklılığın TCAE'nin uygulanma yoluyla ilgili olabileceği düşünülmektedir. Zira, topikal TCAE uygulamasında gerek homepatik ürünün özü gerekse taşıt maddenin yeni oluşan

epitel kat hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterebileceği ihtimali akla gelmektedir. Kornea dokusunda çalışılmamış olmasına rağmen TCAE'nin normal hücreler ve kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğunu bildiren çalışmalar (Ilhan 2021, Pulat 2021, Yenigun ve ark 2021) mevcuttur. Tavşanlarda oluşturulan kemik defekti modelinde Thranekron ve otogreft kemik uygulamalarının iyileşme üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Sharifi ve ark 2020a); kemik iyileşmesi açısından iyi sonuçlar alınmakla birlikte Theranekron içerisindeki alkolün onarım süreçleri üzerinde bazı olumsuz etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde, Yenigun ve ark (2021) da sitotoksik etkinin oluşmasında Theranekron içerisindeki alkolün önemli bir role sahip olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda S grubunda görülen hızlı reepitelizasyonun bir diğer muhtemel izahı da TCAE'nin reepitelizasyonu destekleyici ve dolayısıyla iyileşmeyi hızlandırıcı etkisinden kaynaklanıyor olabileceğidir. Çünkü; TCAE'nin farklı dokularda yara iyileşmesini ve epitelizasyonu hızlandırdığı pekçok araştırmacı (Kaçar ve ark 2007, Albay ve ark 2010, Oryan ve ark 2012, Rezaei ve ark 2014, Alpman ve ark 2018, Kizilay ve ark 2019, Altan ve Sağsöz 2020, Sharifi ve ark 2020a, 2020b, Zedan ve ark 2020, Sencar ve ark 2021, Al-Qadhi ve ark 2022) tarafından vurgulanmıştır. Örneğin; Sardari ve ark (2007) ineklerde deri altı uygulanan Theranekron'un iyileşmenin ilk 14 günü boyunca tam kalınlıktaki yaralarda epitelizasyonu önemli ölçüde uyardığını bildirmişlerdir. Ratlarda oluşturulan açık yara modelinde TCAE'nin klinik ve histopatolojik etkilerinin değerlendirildiği bir başka çalışmada (Satar ve ark 2017) ise; TCAE'nin epitelizasyonu hızlandırdığı, belirgin yara kontraksiyonunu indüklediği ve daha fazla granülasyon dokusu oluşumu ile yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen kornea örneklerinin histometrik ölçümleri neticesinde normal epitelyum ve stroma kalınlıkları sırasıyla;  $53,05 \pm 1,48 \mu\text{m}$  ve  $738,46 \pm 17,11 \mu\text{m}$  olarak ölçüldü (Tablo 3.4). Tavşanlar üzerinde yapılan benzer çalışmalarda; Altan (2013) normal stroma kalınlığını  $0,52 \pm 0,02 \text{ mm}$ , Kuşcu (2018)  $285,74 \mu\text{m}$  olarak ölçtüğünü bildirmişlerdir. Görücü (2021) ise normal total kornea kalınlığını  $423,02 \pm 49,66 \mu\text{m}$  olarak ölçtüğünü bildirmiştir. Bu bağlamda histometrik ölçümler sonucu elde ettiğimiz normal stroma ve total kornea kalınlık değerlerinin literatür veriyle uyumlu olmadığı görülmektedir. Ayrıca, çalışmalarında Altan (2013) korneal rejenerasyonu stroma kalınlığına göre yorumlarken, Görücü (2021) total

kornea kalınlığı üzerinden bir değerlendirme yapmış ve alkali yanıklarda kornea kalınlığının artacağını bildirmiştir. Çalışmamızda elde edilen epitelyum ve stroma kalınlıklarının değerlendirilmesinde NK grubu referans alındığında; normal epitel ve stroma kalınlıklarına en yakın değeri kazanan grubun S grubu olduğu görülmüştür. Ayrıca, tüm gruplarda total kornea kalınlığının arttığı ve bu artışta daha çok stromal kalınlaşmanın payının olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonunda epitelyum, stroma ve total kornea kalınlığı açısından normale en yakın değerlere ulaşan S grubu için; erozyon alanı ölçüm sonuçlarının da desteklediği üzere epitelyal iyileşmenin en iyi bu grupta şekillendiği ve stromal reaksiyonun en hızlı bu grupta gerilediği, dolayısıyla stromal onarımın en hızlı bu gurupta şekillenmiş olduğu söylenebilir.

Kornea kesitlerinin histopatolojik incelemelerinde; PK ve T gruplarına ait 3. gün örneklerinin epitelyal erozyon, epitel hücre dejenerasyonu, stromal ödem, stromada şekillenen hiperemik kan damarları ve yangısal hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik bulgular yönünden benzer olduğu görüldü. Farklı olarak, 14. güne ait T grubu örneklerinde stromada az sayıda hiperemik kan damarıyla çok sayıda boş kan damarının varlığı ve PK grubunda daha şiddetli hipereminin olduğu belirlendi. S grubunun 3. ve 14. gün örneklerinde; stromal ödem, yangısal hücre infiltrasyonu ve çok sayıda damar oluşumu gibi histopatolojik bulgulara ek olarak, belirgin epitelyal hiperplazik alanlar da tespit edildi. Ayrıca, tüm gruplarda lezyonun epitelyum ve stroma katlarında şekillendiği ve desement membranın alkali ajandan etkilenmediği görüldü. Benzer alkali yanık modeli ile tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında farklı tedavi seçenekleri üzerinde çalışan araştırmacılar (şaroğlu 1999, Sancak 2009, Kuşcu 2018, Melek 2019, Görücü 2021) da alkali maddeden korneanın sadece epitelyum ve stroma katlarının etkilendiğini ve hemen hemen tüm çalışmalarda stromal damarlaşma ve yangısal hücre infiltrasyonunun oluştuğunu vurgulamışlardır. Bu bağlamda stromada görülen damarlaşma ve yangısal hücre infiltrasyonunun normal vasküler stromal iyileşme sürecinin bir parçası olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, çalışmamızı oluşturan tüm gruplarda stroma katında benzer histopatolojik bulguların görülmesi, uygulanan sağaltım protokolünün değerlendirilmesinde epitelyal iyileşmenin daha geçerli olduğunu göstermektedir. Birtakım farklılıklara sahip olmakla birlikte, esas itibariyle korneal rejenerasyon da yara iyileşmesi başlığı altında değerlendirilmektedir. Yapılan literatür taramalarında TCAE'nin korneal rejenerasyon üzerindeki etkilerini

açıklayan herhangi bir çalışmaya rastlanmamasına karşın, TCAE'nin farklı dokulardaki yara iyileşme sürecine olan olumlu etkileri birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır. Özellikle konuyla alakalı olarak TCAE'ye atfedilen birçok özelliğin yara iyileşmesinde rol oynayan oldukça önemli parametreler olduğu görülmüştür. Örneğin; Theranekron'un tendo iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (Oryan ve ark 2012); dokunun daha fazla bozulmaya karşı korunmasında TCAE'nin yangıyı hafifletici özelliğinin etkili olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda hasarlı dokuda gerçekleşen degradasyon, lizis ve debridement olaylarında TCAE'nin direkt etkili olduğu, bunu yangı hücreleri ve diğer hücrelerden kemotaktik maddeler ve sitokin salımını azaltarak, dolayısıyla lezyon bölgesinde daha fazla yangısal hücre birikimini sınırlayarak yaptığı belirtilmiştir. Bu çalışmada dikkati çeken bir diğer önemli nokta da nekrotik dokuların atılmasını ve dolayısıyla iyileşmeyi olumlu yönde etkileyen demarkasyon sürecinin TCAE tarafından uyarıldığıdır. TCAE'nin iyileşmeyi olumlu yönde etkilediğini bildiren bir diğer çalışma da Satar ve ark (2017)'nin yapmış olduğu ve ratlarda oluşturulan deneysel yara modelinde TCAE'nin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarıdır. Tanyeli ve ark (2019) da ratlarda oluşturulmuş modifiye polimikrobiyal sepsis modelinde TCAE'nin antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antioksidan etkilere sahip olduğunu ve polimikrobiyal sepsis kaynaklı akciğer hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada (Kizilay ve ark 2019), ratlarda deneysel siyatik sinir hasarı modelinde TCAE'nin akson ve miyelin hasarını azalttığı bildirilmiş ve bu nöroprotektif etkinin TCAE'nin antiinflamatuvar özelliğinin proinflamatuvar sitokin (başta TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6) seviyesi üzerindeki etkisi sonucu oluştuğu vurgulanmıştır. TCAE'nin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerini vurgulayan bir başka çalışmada (Cankara ve ark 2020), bu etkilerin ratlarda oluşturulmuş indometazine bağlı peptik ülserleri iyileştirdiği belirtilmiştir. Benzer şekilde Makav ve ark (2020) TCAE'nin indometazine bağlı gastrik ülserin tedavisindeki etkinliğini ve mide koruyucu özelliğini; özellikle IL-1 $\beta$  ve IL-6 sitokinlerin seviyelerindeki azalmaya neden olmasıyla ilişkilendirmişlerdir. Köpeklerde deneysel oluşturulan umbilikal yaralarda TCAE kullanımının iyileşmeyi hızlandırdığını belirtilen bir çalışmanın (Zedan ve ark 2020) histopatolojik muayenelerinde ise; Theranekron grubunda kontrol grubuna göre daha az ödem, daha çok yeni kan damarı, granülasyon dokusu ve kolajen oluşumu bildirilmiştir. Yapılan klinik ve makroskobik gözlemler sonucu kontrol grubuna nazaran Theranekron grubundaki deneklerde yara dudakları arasında daha

iyi bir yapışma ve daha az skatriks doku formasyonunun şekillendiği belirtilmiştir. Al-Qadhi ve ark (2022) da köpeklerde deneysel olarak yaptıkları bağırsak anastomozunda TCAE'nin ilgili bağırsak segmentinin iyileşmesini desteklediğini ve sınırlanan lokal yangının iyileşme sürecini hızlandığını vurgulamışlardır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmada, tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanık olgularında damla şeklinde ve subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulanan TCAE'nin korneal iyileşme üzerine olan etkileri klinik ve histopatolojik veriler ışığında belirlenmeye çalışılmıştır.

Klinik muayenelerde ölçümü yapılan gözyaşı miktarı ve İOB değerleri ile TCAE kullanımı arasında anlamlı korelasyonlar elde edilemezken; korneal opasite ve korneal erozyon alanı ölçümlerinden çalışmanın amacı doğrultusunda anlamlı sonuçlar alınmıştır. Oluşturulan alkali yanık modeli ve tedavi süresi dikkate alındığında çalışma neticesinde daha çok epitelyal iyileşme değerlendirilebilmiş, histopatolojik incelemeler ve histometrik ölçüm sonuçlarına dayanarak stromal iyileşmeye dair de birtakım fikirler edinilmiştir. Histopatolojik muayene sonuçlarına göre; epitelyal iyileşmenin en hızlı olduğu grup TCAE'nin subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulandığı S grubu olmuştur. Ayrıca, diğer iki grubun aksine S grubunda şekillenen yeni korneal epitelyum katında tekrarlayan bir epitelyal erozyon durumu oluşmamış ve vasküler stromal iyileşmenin bu yeni epitelyal katın altında devam ettiği görülmüştür. Aynı zamanda, teknik imkân ve ekonomik nedenlerden dolayı planlanan sağaltım süresinin korneal rejenerasyonun tam olarak şekillenmesi için yeterli olmadığı ve bu süre içerisinde stromal iyileşmenin tamamlanmadığı görülmüştür. Dolayısıyla stromal organizasyona bağlı olan korneal opasite devam etmiş, çalışma süresince korneal saydamlık geri kazanılamamıştır. Ancak, stroma kalınlığının histometrik ölçümü dikkate alındığında, çalışma süresince normal değerlere en yakın kalınlığa ulaşan grup S grubu olmuştur. Tüm bu histopatolojik veriler klinik muayene bulguları, floresein boyama ve erozyon alanı ölçüm sonuçlarıyla da örtüşmektedir.

Çalışma neticesinde; subkonjunktival enjeksiyon yoluyla uygulanan TCAE'nin deneysel kornea alkali yanıklarının tedavisinde reepitelizasyonu yeterli düzeyde sağladığı, damla şeklinde topikal uygulanmış TCAE'nin ise tedavide etkinliğinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, Theranekron'un bileşimi itibariyle oküler yüzeylerde direkt damla şeklinde kullanıma uygun olmadığı kanaati oluşmuştur.

Çalışmamız, yapılan literatür taramalarına göre deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımında TCAE'nin kullanıldığı ve etkinliğinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Spesifik ve komplike bir iyileşme mekanizmasına sahip olan kornea dokusunda, etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamış homeopatik bir ürünün kullanıldığı dikkate alındığında; TCAE'nin oküler dokularda kullanımını konu alan birçok kapsamlı çalışmanın gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu sayede TCAE'nin etki mekanizması daha net açıklanmış olacaktır. Dolayısıyla, nedeni alkali bir ajan olmasa da korneal ülserasyonla seyreden ve korneal iyileşme sürecine olumlu müdahaleyi gerektirecek tüm olgularda, TCAE kullanımının mümkün olabileceği dikkate alınmalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abrams KL, Brooks DE, Funk RS, Theran P, 1990. Evaluation of the schirmer tear test in clinically normal rabbits. *Am J Anim Vet Sci*, 51(12), 1912-3 (Abstract).
- Aillegas NA, Tártara LI, Caballero G, Campana V, Allemandi DA, Palma SD, 2019. Antioxidant status in rabbit aqueous humor after instillation of ascorbyl laurate-based nanostructures. *Pharmacol Rep*, 71(5), 794-7.
- Akçay A, Sariözkan S, Abay M, Canoğlu E, Gürbulak K, 2014. Sütçü ineklerde mastitis tedavisinde homeopatik ilaç kullanımının finansal analizi. *Vet Hekim Der Derg*, 85(1), 1-8.
- Akyüz E, Makav M, Kuru M, Bayram P, 2021. The effect of tarantula cubensis extract on gentamicin-induced acute kidney injury in ovariectomized rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 27(5), 559-66.
- Albay MK, Şahinduran Ş, Kale M, Karakurum MÇ, Sezer K, 2010. Influence of tarantula cubensis extract on the treatment of the oral lesions in cattle with bluetongue disease. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (4), 593-6.
- Alkan F, Izci C, Tepeli C, Koc Y, 2004. Evaluation of the schirmer tear test in two turkish breeds of shepherd dogs. *Rev Med Vet*, 155(2), 67-70.
- Almaliotis D, Koliakos G, Papakonstantinou E, Komnenou A, Thomas A, Petrakis S, Nakos I, Gounari E, Karampatakis V, 2015. Mesenchymal stem cells improve healing of the cornea after alkali injury. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 253(7), 1121-35.
- Alpman U, Yönez MK, Atalan G, Ekinci G, 2018. Bir atta derin enfekte yara olgusu. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 15(2), 190-6.
- Al-Qadhi AS, Zedan IA, Al-Ajeli RR, Salem MT, Ali AK, 2022. The effect of Theranekron D6 on the healing of intestinal anastomosis in dogs. *Iraqi J Vet Sci*, 36(1), 261-5.
- Altan S, 2013. Tavşanlarda hidroflik asitle oluşturulan korneal yanıkların iyileşmesinde dimetilsülfoksit ve indometazin etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Altan S, Sağsöz H, 2020. Tavşanlarda tarantula cubensis ekstraktı ve düşük enerjili lazer uygulanan deneysel kemik defektlerinin iyileşmesinde osteonektin ve osteokalsinin etkilerinin araştırılması. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 13(2), 149-56.
- Anonim A, 2013. Prospektüs. Erişim tarihi, 17 Temmuz 2022. Erişim adresi, <https://interhas.com.tr/wp-content/uploads/pdf/theranekronD6.pdf>
- Anonim B, 2019. Summary of product characteristics. Erişim tarihi, 17 Temmuz 2022. Erişim adresi, [https://www.richter-pharma.com/fileadmin/media/SPC/SPC\\_Theranekron\\_ENG\\_2019.pdf](https://www.richter-pharma.com/fileadmin/media/SPC/SPC_Theranekron_ENG_2019.pdf)
- Atiba A, Wasfy T, Abdo W, Ghoneim A, Kamal T, Shukry M, 2015. Aloe vera gel facilitates re-epithelialization of corneal alkali burn in normal and diabetic rats. *Clin Ophthalmol*, 9, 2019-26.
- Babu MVS, Veena P, Kumar RVS, Amaravathi P, Vani G, 2020. Efficacy of ivermectin and tarantula cubensis extract in the treatment of bovine teat papillomatosis. *Int J Chem Stud*, 8(3), 229-31.
- Bakunowicz-Lazarczyk A, Urban B, 2016. Assessment of therapeutic options for reducing alkali burn-induced corneal neovascularization and inflammation. *Adv Med Sci*, 61(1), 101-12.
- Barnett KC, 2006. Diagnostic atlas of veterinary ophthalmology. Second ed. Spain, Elsevier, p. 47-68.
- Bashkaran K, Zunaina E, Bakiah S, Sulaiman SA, Sirajudeen KNS, Naik V, 2011. Anti-inflammatory and antioxidant effects of tualang honey in alkali injury on the eyes of rabbits: experimental animal study. *BMC Complement Altern Med*, 11(1), 90.
- Beiran I, Miller B, Bentur Y, 1997. The efficacy of calcium gluconate in ocular hydrofluoric acid burns. *Hum Exp Toxicol*, 16(4), 223-8.
- Bentley E, Murphy CJ, 2004. Topical therapeutic agents that modulate corneal wound healing. *Vet Clin Small Anim*, 34(3), 623-38.
- Berman M, Manseau E, Law M, Aiken D, 1983. Ulceration is correlated with degradation of fibrin and fibronectin at the corneal surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 24(10), 1358-66.

- Brazzell RK, Stern ME, Aquavella JV, Beuerman RW, Baird L, 1991. Human recombinant epidermal growth factor in experimental corneal wound healing. *Investig Ophthalmol Vis Sci*, 32(2), 336-40.
- Brooks DE, Ollivier FJ, 2004. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 34(3), 611-22.
- Burns FR, Gray RD, Paterson CA, 1990. Inhibition of alkali-induced corneal ulceration and perforation by a thiol peptide. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 31(1), 107-14.
- Cankara FN, Özmen Ö, Savaş HB, Şahin Y, Günaydın C, 2020. Gastroprotective effect of tarantula cubensis extract in the indomethacin-induced peptic ulcer model in rats. *Acta Medica Alanya*, 4(3), 278-84.
- Carter RT, 2009. The role of integrins in corneal wound healing. *Vet Ophthalmol*, 12, 2-9.
- Cejkova J, Cejka C, Trosan P, Zajicova A, Sykova E, Holan V, 2016. Treatment of alkali-injured cornea by cyclosporine a-loaded electrospun nanofibers—an alternative mode of therapy. *Exp Eye Res*, 147, 128-37.
- Chaurasia SS, Lim RR, Lakshminarayanan R, Mohan RR, 2015. Nanomedicine approaches for corneal diseases. *J Funct Biomater*, 6(2), 277-98.
- Chen L, Kato T, Toshida H, Nakamura S, Murakami A, 2005. Immunohistochemical characterization of epithelial cells implanted in the flap–stroma interface of the cornea. *Jpn J Ophthalmol*, 49(2), 79-83.
- Chowdhury S, Guha R, Trivedi R, Kompella UB, Konar A, Hazra S, 2013. Pirfenidone nanoparticles improve corneal wound healing and prevent scarring following alkali burn. *PLoS One*, 8(8), e70528.
- Chung JH, Fagerholm P, Lindström B, 1989. Hyaluronate in healing of corneal alkali wound in the rabbit. *Exp Eye Res*, 48(4), 569-76.
- Chung JH, Kim HJ, Fagerholmb P, Cho BC, 1996. Effect of topically applied Na-hyaluronan on experimental corneal alkali wound healing. *Korean J Ophthalmol*, 10(2), 68-75.
- Cook CS, Peiffer Jr RL, Landis Jr, Landis ML, 2009. Clinical basic science. In: *Small animal ophthalmology a problem-oriented approach*. Eds: Peiffer Jr RL, Petersen-Jones SM, 4th ed. China, Saunders Elsevier, p. 1-13.
- Corum O, Er A, Dik B, 2016. Investigation of the effect of tarantula cubensis extract on acute phase response. *Acta Sci Vet*, 44(1), 1414.
- Coşkun D, 2017. Veteriner destek tedavi: Tarantula cubensis alkolik ekstraktı, inaktif parapoxvirüs ovis ve corynebacterium cutis lizati. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 10(1), 30-7.
- Crispin S, 2002a. The lacrimal system. In: *BSAVA manual of small animal ophthalmology*. Eds: Petersen-Jones S, Crispin S, 2nd ed. Grafos, Barcelona, Spain, British Small Animal Veterinary Association (BSAVA), p.105-23.
- Crispin S, 2002b. The cornea. In: *BSAVA manual of small animal ophthalmology*. Eds: Petersen-Jones S, Crispin S, 2nd ed. Grafos, Barcelona, Spain, British Small Animal Veterinary Association (BSAVA), p. 134-54.
- Crispin S, 2005. *Notes on veterinary ophthalmology*. First ed. India, Blackwell Publishing Company, p. 54-112.
- Çam Y, Kıbar M, Atasever A, Atalay Ö, Beyaz L, 2007. Efficacy of levamisole and Tarantula cubensis venom for the treatment of bovine cutaneous papillomatosis. *Vet Rec*, 160(14), 486.
- Çınar H, 2020. Yeni zelanda tavşanında (oryctolagus cuniculus) penetran keratoplasti sonrası trombositten zengin plazma, otolog serum ve göbek kordonu serumunun kornea iyileşmesi üzerine etkileri. *Doktora Tezi*, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur.
- Den S, Sotozono C, Kinoshita S, Ikeda T, 2004. Efficacy of early systemic betamethasone or cyclosporin a after corneal alkali injury via inflammatory cytokine reduction. *Acta Ophthalmol Scand*, 82(2), 195-9.
- Dik B, Er A, Çorum O, 2014. Koyunlarda tarantula cubensis alkolik ekstraktının (Theranekron®) serum tiyobarbitürük asit reaktif ürünlerine etkisi. *Eurasian J Vet Sci*, 30(2), 68-71.

- Doğan Z, Kibar M, 2015. Tavşanlarda bazı antiglokomatöz ilaçların göz içi basıncı üzerine etkileri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 12(2), 99-107.
- Dolapcioglu K, Dogruer G, Ozsoy S, Ergun Y, Ciftci S, Karapinar OS, Aslan E, 2013. Theranekron for treatment of endometriosis in a rat model compared with medroxyprogesterone acetate and leuprolide acetate. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 170(1), 206-10.
- Donshik PC, Berman MB, Dohlman CH, Gage J, Rose J, 1978. Effect of topical corticosteroids on ulceration in alkali-burned corneas. *Arch Ophthalmol*, 96(11), 2117-20.
- Duz E, Icen H, Arserrim NB, Cakmak F, Bakir B, Uysal E, 2012. Comparison of classic, theranekron and classic-plus theranekron treatment on the foot and mouth disease lesions in cattle in Van, Diyarbakir and Ankara regions in Turkey. *J Anim Vet Adv*, 11(18), 3258-61.
- Ekinci M, Çağatay HH, Yazar Z, Bingöl SA, Kaplan A, 2013. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival injection of ranibizumab and bevacizumab in rabbit cornea. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 19(Suppl A), 125-32.
- Er A, Ozdemir O, Coskun D, Dik B, Bahcivan E, Faki HE, Yazar E, 2019. Effects of tarantula cubensis alcoholic extract and nerium oleander distillate on experimentally induced colon cancer. *Revue Méd Vét*, 170 (1-3), 15-21.
- Erol M, Erol H, Atalan G, Doğan Z, Yönez MK, Melek Ş, 2018. Effects of systemically used midazolam, ketamine and isoflurane anesthetic agents on intraocular pressure and tear production in rabbits. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 7(1), 21-5.
- Eslani M, Baradaran-Rafii A, Movahedan A, Djalilian AR, 2014. The ocular surface chemical burns. *J Ophthalmol*, 2014, 1-9.
- Estrella-Mendoza MF, Jiménez-Gómez F, López-Ornelas A, Pérez-Gutiérrez RM, Flores-Estrada J, 2019. Cucurbita argyrosperma seed extracts attenuate angiogenesis in a corneal chemical burn model. *Nutrients*, 11(5), 1184.
- Featherstone HJ, Heinrich CL, 2013. Ophthalmic examination and diagnostics, Part 1: The eye examination and diagnostic procedures. In: *Veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ, 5th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 533-613.
- Gallego-Muñoz P, Ibares-Frías L, Garrote JA, Valsero-Blanco MC, Cantalapiedra-Rodríguez R, Merayo-Llodes J, Martínez-García MC, 2016. Human corneal fibroblast migration and ECM synthesis during stromal repair: role played by PDGF-BB, bFGF, and TGFβ1 (HCFs migration and ECM synthesis during stromal repair: GFs effects). *J Tissue Eng Regen Med*, 1-30.
- Gan L, Fagerholm P, Kim HJ, 1999. Effect of leukocytes on corneal cellular proliferation and wound healing. *Investig Ophthalmol Vis Sci*, 40(3), 575-81.
- Ghasemi-Dizgah A, Amirmozafari N, 2015. Evaluation of antibacterial effect of tarantula cubensis venom (Theranekron). *Int J Bioplogy Pharm Appl Sci*, 4, 5980-9.
- Gonul R, Koenhems L, Aydın H, Gulyasar T, Yardibi HD, Or E, Hosturk G, Uysal A, Barutcu B, 2015. Effects of tarantula cubensis extract on electrocardiographic and trace element status in sheep. *J Fac Vet Med Istanbul Univ*, 41 (1), 79-83.
- Gökmen S, Pehlivan A, Aksoy A, 2019. Laboratuvar hayvanlarında ötenazi yöntemleri. *Etlık Vet Mikrobiyol Derg*, 30(1), 87-94.
- Görücü F, 2021. Tavşanlarda deneysel alkali kornea yanıklarında myrtus communis (mersin ağacı; yaprak ve gövde) ekstresi, e-prp (eye platelet rich plasma) ve gentamisin sülfat ajanlarının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Grant WM, 1950. Experimental investigation of paracentesis in the treatment of ocular ammonia burns. *Arch Ophthalmol*, 44(3), 399-404.
- Gultiken N, Guvenc T, Kaya D, Agaoglu AR, Ay SS, Kucukaslan I, Emre B, Findik M, Schäfer-Somi S, Aslan S, 2015. Tarantula cubensis extract alters the degree of apoptosis and mitosis in canine mammary adenocarcinomas. *J Vet Sci*, 16(2), 213-9.
- Gum GG, MacKay EO, 2013. Physiology of the eye. In: *Veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ, 5th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 171-207.

- Gum GG, MacKay EO, 2014. Physiology of the eye. In: Essentials of veterinary ophthalmology. Eds: Gelatt KN, 3th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 40-54.
- Gültiken N, Vural MR, 2007. The effect of *Tarantula cubensis* extract applied in pre and postoperative period of canine mammary tumours. *J İstanbul vet sci*, (2), 13-23.
- Gürbulak K, Akçay A, Gümüşsoy KS, Sist B, Steiner S, Abay M, Canooğlu E, Bekyürek T, 2014. Investigation of the efficacy of *tarantula cubensis* extract (Theranekron D6) in the treatment of subclinical and clinical mastitis in dairy cows. *Turk J Vet Anim Sci*, 38(6), 712-8.
- Haddox JL, Pfister RR, Slaughter SE, 1996. An excess of topical calcium and magnesium reverses the therapeutic effect of citrate on the development of corneal ulcers after alkali injury. *Cornea*, 15(2), 191-5.
- Haddox JL, Pfister RR, Yuille-Barr D, 1989. The efficacy of topical citrate after alkali injury is dependent on the period of time it is administered. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30(6), 1062-8.
- Hatchell DL, Sommer A, 1984. Detection of ocular surface abnormalities in experimental vitamin A deficiency. *Arch Ophthalmol*, 102(9), 1389-93.
- Hektoen L, 2005. Review of the current involvement of homeopathy in veterinary practice and research. *Vet Rec*, 157(8), 224-9.
- Ho WT, Chiang TH, Chang SW, Chen YH, Hu FR, Wang IJ, 2013. Enhanced corneal wound healing with hyaluronic acid and high-potassium artificial tears. *Clin Exp Optom*, 96(6), 536-41.
- Holmberg BJ, 2008. Ophthalmology of exotic pets. In: Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. Eds: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, 4th ed. China, Saunders Elsevier, p. 427-41.
- Huang Y, Meek KM, Ho MW, Paterson CA, 2001. Analysis of birefringence during wound healing and remodeling following alkali burns in rabbit cornea. *Exp Eye Res*, 73(4), 521-32.
- Ikeda N, Hayasaka S, Hayasaka Y, Watanabe K, 2006. Alkali burns of the eye: effect of immediate copious irrigation with tap water on their severity. *Ophthalmologica*, 220(4), 225-8.
- Ilhan S, 2021. Can a veterinary drug be repurposed for human cancers?: cytotoxic effect of *tarantula cubensis* venom on human cancer cells. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(3), 1763-9.
- Imanishi J, Kamiyama K, Iguchi I, Kita M, Sotozono C, Kinoshita S, 2000. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res*, 19(1), 113-29.
- Jiang N, Ma M, Li Y, Su T, Zhou XZ, Ye L, Yuan Q, Zhu P, Min Y, Shi W, Xu X, Lv J, Shao Y, 2018. The role of pirfenidone in alkali burn rat cornea. *Int Immunopharmacol*, 64, 78-85.
- Kaçar C, Zonturlu AK, Oral H, Yıldız S, Arı UÇ, 2007. İneklerde eken puerperal dönemde Theranekron® uygulamalarının uterus involusyonu ve vaginal akıntı üzerine etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 13(1), 11-5.
- Karabacak M, Eraslan G, Kanbur M, Sarıca ZS, 2015. Effects of *tarantula cubensis* D6 on aflatoxin-induced injury in biochemical parameters in rats. *Homeopathy*, 104(03), 205-10.
- Kethiri AR, Raju E, Bokara KK, Mishra DK, Basu S, Rao CM, Sangwan VS, Singh V, 2019. Inflammation, vascularization and goblet cell differences in LSCD: Validating animal models of corneal alkali burns. *Exp Eye Res*, 185, 107665.
- Kızıl Ö, Atam S, 2016. Homeopati ve veteriner hekimlikte homeopatik tedavi uygulamaları. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 30(3), 243-6.
- Kizilay Z, Aktas S, Cetin NK, Kilic MA, Ozturk H, 2019. Effect of *tarantula cubensis* extract (Theranekron) on peripheral nerve healing in an experimental sciatic nerve injury model in rats. *Turk Neurosurg*, 29(5), 743-9.
- Koç Y, Alkan F, Tepeli C, 2005. Schirmer tear test in different rabbit breeds. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 15(2), 1-5.
- Kompa S, Redbrake C, Hilgers C, Wüstemeyer H, Schrage N, Remky A, 2005. Effect of different irrigating solutions on aqueous humour pH changes, intraocular pressure and histological findings after induced alkali burns. *Acta Ophthalmol Scand*, 83(4), 467-70.

- Kompa S, Schareck B, Tympner J, Wüstemeyer H, Schrage NF, 2002. Comparison of emergency eye-wash products in burned porcine eyes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 240(4), 308-13.
- Kubota M, Shimmura S, Kubota S, Miyashita H, Kato N, Noda K, Ozawa Y, Usui T, Ishida S, Umezawa K, Kurihara T, Tsubota K, 2011. Hydrogen and N-acetyl-L-cysteine rescue oxidative stress-induced angiogenesis in a mouse corneal alkali-burn model. *Investig. Ophthalmol Vis Sci*, 52(1), 427-33.
- Kuckelkorn R, Schrage N, Keller G, Redbrake C, 2002. Emergency treatment of chemical and thermal eye burns. *Acta Ophthalmol Scand*, 80(1), 4-10.
- Kuru M, Oral H, 2013. Mastitis tedavisinde fitoterapi ve homeopatinin kullanımı. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 2(2), 112-6.
- Kuşcu Y, 2018. Tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında medikal ozonun etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Küçükaslan İ, Özyurtlu N, Al Ö, Ünver Ö, 2017. An uncommon case in domestic rabbit (*oryctolagus cuniculus*): mammary neoplasm. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 10(2), 182-6.
- Ledbetter EC, Gilger BC, 2013. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In: *Veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ, 5th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 976-1049.
- Ledbetter EC, Gilger BC, 2014. Canine cornea: diseases and surgery. In: *Essentials of veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, 3th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 216-248.
- Lee KJ, Lee JY, Lee SH, Choi TH, 2013. Accelerating repaired basement membrane after bevacizumab treatment on alkali-burned mouse cornea. *BMB Rep*, 46(4), 195-200.
- Lee SH, Leem HS, Jeong SM, Lee K, 2009. Bevacizumab accelerates corneal wound healing by inhibiting TGF- $\beta$  expression in alkali-burned mouse cornea. *BMB Rep*, 42(12), 800-5.
- Lees P, Chambers D, Pelligand L, Toutain PL, Whiting M, Whitehead ML, 2017a. Comparison of veterinary drugs and veterinary homeopathy: part 1. *Vet Rec*, 181(7), 170-6.
- Lees P, Chambers D, Pelligand L, Toutain PL, Whiting M, Whitehead ML, 2017b. Comparison of veterinary drugs and veterinary homeopathy: part 2. *Vet Rec*, 181(8), 198-207.
- Lemp MA, 1974. Cornea and sclera. *Arch Ophthalmol*, 92(2), 158-70.
- Liu CY, Kao WWY, 2015. Corneal epithelial wound healing. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 134, 61-71.
- Liu L, Hartwig D, Harloff S, Herminghaus P, Wedel T, Geerling G, 2005. An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 243(7), 706-14.
- Ljubimov AV, Saghizadeh M, 2015. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res*, 49, 17-45.
- Lorenzo-Martín E, Gallego-Muñoz P, Mar S, Fernández I, Ciudad P, Martínez-García MC, 2019. Dynamic changes of the extracellular matrix during corneal wound healing. *Exp Eye Res*, 186, 107704.
- Lotfollahzadeh S, Alizadeh MR, Mohri M, Dezfouli MRM, 2012. The therapeutic effect of tarantula cubensis extract (Theranekron®) in foot-and-mouth disease in cattle: a randomised trial in an endemic setting. *Homeopathy*, 101(03), 159-64.
- Lotfollahzadeh S. Comparative therapeutic effects of Theranekron D2® and Theranekron D6® in the treatment of foot-and-mouth disease (FMD) in cattle. *International VETEXPO-2019 Veterinary Sciences Congress*, September 20-22, 2019. Double Tree by Hilton Hotel, Avcılar /Istanbul, Turkey.
- Luna LG, 1968. *Manuals of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. McGraw-Hill Book Company, New York, USA.
- Ma D, Chen CB, Liang J, Lu Z, Chen H, Zhang M, 2016. Repeatability, reproducibility and agreement of intraocular pressure measurement in rabbits by the TonoVet and Tono-Pen. *Sci Rep*, 6(1), 1-7.

- Maggs DJ, 2008a. Cornea and sclera. In: Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. Eds: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, 4th ed. China, Saunders Elsevier, p. 175-202.
- Maggs DJ, 2008b. Basic diagnostic techniques. In: Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. Eds: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, 4th ed. China, Saunders Elsevier, p. 81-106.
- Maggs DJ, 2008c. Ocular pharmacology and therapeutics. In: Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. Eds: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, 4th ed. China, Saunders Elsevier, p. 33-61.
- Makav M, Gelen V, Gedikli S, Uslu GA, Uslu H, Eroğlu HA, 2020. Therapeutic effect of Tarantula cubensis extract on indomethacin induced gastric ulcers in rats. *Thai J Vet Med*, 50(4), 559-66.
- Martin LFT, Rocha EM, Garcia SB, Paula JS, 2013. Topical Brazilian propolis improves corneal wound healing and inflammation in rats following alkali burns. *BMC Complement Altern Med*, 13(1), 337.
- Massoudi D, Malecaze F, Galiacy SD, 2016. Collagens and proteoglycans of the cornea: importance in transparency and visual disorders. *Cell Tissue Res*, 363(2), 337-49.
- Mathieu L, Burgher F, Blomet J, 2007. Comparative evaluation of the active eye and skin chemical splash decontamination solutions diphoterine and hexafluorine with water and other rinsing solutions: effects on burn severity and healing. *J Chem Health Saf*, 14(4), 32-9.
- Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ohashi Y, Kojima T, Ishida R, Tsubota K, 2004. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology*, 111(6), 1115-20.
- Melek Ş, 2019. Tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımında trombositten zengin fibrin membran ve konsantre büyüme faktörü membranı tekniklerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Merle H, Donnio A, Ayeboua L, Michel F, Thomas F, Ketterle J, Leonard C, Josset P, Gerard M, 2005. Alkali ocular burns in Martinique (French West Indies): evaluation of the use of an amphoteric solution as the rinsing product. *Burns*, 31(2), 205-11.
- Mezger J, 1977. Prospected homeopathic pharmaceutical product device. *Australas Nurses*, 2, 1418-21.
- Micheal DW, 1997. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol*, 41, 275-307.
- Moghadam MR, Jafarinasab MR, Yousefi Z, Moghaddam AS, Memarzadeh H, Kanavi MR, 2020. Aloe vera gel-derived eye drops for alkaline corneal injury in a rabbit model. *J Ophthalmic Vis Res*, 15(1), 7-15.
- Mould JRB, 2002. Ophthalmic examination. In: BSAVA manual of small animal ophthalmology. Eds: Petersen-Jones S, Crispin S, 2nd ed. Grafos, Barcelona, Spain, British Small Animal Veterinary Association (BSAVA), p. 1-12.
- Newsome DA, Gross J, 1977. Prevention by medroxyprogesterone of perforation in the alkali-burned rabbit cornea: inhibition of collagenolytic activity. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 16(1), 21-31.
- Ofri R, 2008. Development and congenital abnormalities. In: Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. Eds: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, 4th ed. China, Saunders Elsevier, p. 20-32.
- Ollivier FJ, Gilger BC, Barrie KP, Kallberg ME, Plummer CE, O'Reilly S, Gelatt KN, Brooks DE, 2007. Proteinases of the cornea and precocular tear film. *Vet Ophthalmol*, 10(4), 199-206.
- Oriá AP, Gomes Junior DC, Arraes EA, Estrela-Lima A, Pinna MH, Meneses ÍDS, Martins Filho EF, 2014. Tear production, intraocular pressure and conjunctival microbiota, cytology and histology of New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Pesq Vet Bras*, 34(10), 1024-8.
- Ormerod LD, Abelson MB, Kenyon KR, 1989. Standard models of corneal injury using alkali-immersed filter discs. *Investig Ophthalmol Vis Sci*, 30(10), 2148-53.
- Oryan A, Moshiri A, Raayat AR, 2012. Novel application of Theranekron® enhanced the structural and functional performance of the tenotomized tendon in rabbits. *Cells Tissues Organs*, 196(5), 442-55.
- Özpek AÖ, Altıntaş L, 2019. Homeopatik remediler. *Vet Farm Toks Dern Bult*, 10(1), 31-9.

- Öztürk F, Kurt E, Çerçi M, Emiroğlu L, İnan Ü, Türker M, Ilker S, 2000. The effect of propolis extract in experimental chemical corneal injury. *Ophthalmic Res*, 32(1), 13-18.
- Özyurtlu N, Küçükaslan İ, 2019. Veteriner doğum ve jinekolojide kullanılan bazı alternatif tedavi yöntemleri. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 12(1), 60-5.
- Paksoy Z, Gülesci N, Kandemir FM, Dinçel GÇ, 2015. Effectiveness of levamisole and *Tarantula cubensis* extract in the treatment of teat papillomatosis of cows. *Indian J Anim Res*, 49(5), 704-8.
- Paterson CA, Pfister RR, Levinson RA, 1975. Aqueous humor pH changes after experimental alkali burns. *Am J Ophthalmol*, 79(3), 414-9.
- Pekmezci D, Gültiken N, 2015. Homeopatinin prensipleri ve veteriner hekimlikte kullanımı. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 12(1), 49-56.
- Pereira FQ, Bercht BS, Soares MG, da Mota MGB, Pigatto JAT, 2011. Comparison of a rebound and an applanation tonometer for measuring intraocular pressure in normal rabbits. *Vet Ophthalmol*, 14(5), 321-6.
- Perry HD, Hodes LW, Seedor JA, Donnenfeld ED, McNamara TF, Golub LM, 1993. Effect of doxycycline hyclate on corneal epithelial wound healing in the rabbit alkali-burn model. Preliminary observations. *Cornea*, 12(5), 379-82.
- Petroll WM, Miron-Mendoza M, 2015. Mechanical interactions and crosstalk between corneal keratocytes and the extracellular matrix. *Exp Eye Res*, 133, 49-57.
- Pfister RR, Haddox JL, Sommers CI, 1997. Effect of synthetic metalloproteinase inhibitor or citrate on neutrophil chemotaxis and the respiratory burst. *Investig Ophthalmol Vis Sci*, 38(7), 1340-9.
- Pfister RR, Haddox JL, Yuille-Barr D, 1991. The combined effect of citrate/ascorbate treatment in alkali-injured rabbit eyes. *Cornea*, 10(2), 100-4.
- Pfister RR, Paterson CA, Spiers JW, Hayes SA, 1980. The efficacy of ascorbate treatment after severe experimental alkali burns depends upon the route of administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 19(12), 1526-9.
- Phan TM, Foster CS, Shaw CD, Zagachin LM, Colvin RB, 1991. Topical fibronectin in an alkali burn model of corneal ulceration in rabbits. *Arch Ophthalmol*, 109(3), 414-9.
- Poon AC, Geerling G, Dart JKG, Fraenkel GE, Daniels JT, 2001. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol*, 85(10), 1188-97.
- Presnell J, Schreibma MP, 1997. Animal tissue techniques. Fifth ed. The John Hopkins University Press Ltd, London, UK, pp: 269-71.
- Pulat ÇÇ, 2021. In vitro cytotoxic activity of tarantula cubensis alcoholic extract on different human cell lines. *Cumhuriyet Sci J*, 42(2), 252-9.
- Reim M, Busse S, Leber M, Schulz C, 1988. Effect of epidermal growth factor in severe experimental alkali burns. *Ophthalmic Res*, 20(5), 327-31.
- Rezaei M, Fathi B, Sardari K, 2014. Effect of alcoholic extract of tarantula cubensis on wound healing in dogs. *J Vet Res*, 18(10), 823-9.
- Rihawi S, Frentz M, Reim M, Schrage NF, 2008. Rinsing with isotonic saline solution for eye burns should be avoided. *Burns*, 34(7), 1027-32.
- Rihawi S, Frentz M, Schrage NF, 2006. Emergency treatment of eye burns: which rinsing solution should we choose?. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 244(7), 845-54.
- Said T, Dutot M, Labbé A, Warnet JM, Rat P, 2009. Ocular burn: rinsing and healing with ionic marine solutions and vegetable oils. *Ophthalmologica*, 223(1), 52-9.
- Saika S, Uenoyama K, Hiroi K, Tanioka H, Takase K, Hikita M, 1993. Ascorbic acid phosphate ester and wound healing in rabbit corneal alkali burns: epithelial basement membrane and stroma. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 231(4), 221-7.
- Samuelson DA, 2013. Ophthalmic anatomy. In: *Veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ, 5th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 39-170.

- Samuelson DA, 2014. Ophthalmic structures. In: Essentials of veterinary ophthalmology. Eds: Gelatt KN, 3th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 12-39.
- Sancak İG, 2009. Tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımında kornea-konjunktival transpozisyon ile limbal kök hücre transplantasyon tekniklerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Sardari K, Kakhki EG, Mohri M, 2007. Evaluation of wound contraction and epithelialization after subcutaneous administration of Theranekron® in cows. *Comp Clin Pathol*, 16(3), 197-200.
- Sardari K, Mohri M, Sabzevari S, Fathi B, 2011. Effects of the Theranekron®’ an alcoholic extract of the *Tarantula cubensis*’ on hematology and serum biochemical properties in horses. *Iran J Vet Sci Technol*, 3(2), 9-16.
- Satar NYG, Cangul IT, Topal A, Kurt H, Ipek V, Onel GI, 2017. The effects of tarantula cubensis venom on open wound healing in rats. *J Wound Care*, 26(2), 66-71.
- Schrage NF, Abu SS, Hermanns L, Panfil C, Dutescu RM, 2019. Irrigation with phosphate-buffered saline causes corneal calcification during treatment of ocular burns. *Burns*, 45(8), 1871-9.
- Schrage NF, Kompa S, Haller W, Langefeld S, 2002. Use of an amphoteric lavage solution for emergency treatment of eye burns: first animal type experimental clinical considerations. *Burns*, 28(8), 782-6.
- Schrage NF, Schloßmacher B, Aschenbrenner W, Langefeld S, 2001. Phosphate buffer in alkali eye burns as an inducer of experimental corneal calcification. *Burns*, 27(5), 459-64.
- Schultz G, Rotatori DS, Clark W, 1991. EGF and TGF- $\alpha$  in wound healing and repair. *J Cell Biochem*, 45(4), 346-52.
- Schultz GS, Strelow S, Stern GA, Chegini N, Grant MB, Galardy RE, Grobelny D, Rowsey JJ, Stonecipher K, Parmley V, Khaw PT, 1992. Treatment of alkali-injured rabbit corneas with a synthetic inhibitor of matrix metalloproteinases. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 33(12), 3325-31.
- Seedor JA, Perry HD, McNamara TF, Golub LM, Buxton DF, Guthrie DS, 1987. Systemic tetracycline treatment of alkali-induced corneal ulceration in rabbits. *Arch Ophthalmol*, 105(2), 268-71.
- Sencar L, Coşkun G, Şaker D, Sapmaz T, Kara S, Çelenk A, Polat S, Yılmaz DM, Dağlıoğlu YK, Polat S, 2021. Effects of Theranekron and alpha-lipoic acid combined treatment on GAP-43 and Krox-20 gene expressions and inflammation markers in peripheral nerve injury. *Ultrastruct Pathol*, 45(3), 167-81.
- Sharifi S, Bigham-Sadegh A, Oryan A, Alavi Y, 2020a. The effect of Thranekron and autograft bone on bone defect healing in rabbit model. Research Square. Erişim tarihi, 13 Temmuz 2022. Erişim adresi, <https://assets.researchsquare.com/files/rs-9440/v2/e995cc4f-c2a5-43b5-817b-3cbd63f2cbdb.pdf?c=1631831913>
- Sharifi S, Bigham-Sadegh A, Oryan A, Alavi Y, 2020b. The effect of hydroalcoholic extract of tarantula cubensis on the distal radius fracture healing in rabbits. *Iranian Journal of Orthopedic Surgery*, 18(4), 134-44.
- Sharma N, Kaur M, Agarwal T, Sangwan VS, Vajpayee RB, 2018. Treatment of acute ocular chemical burns. *Surv Ophthalmol*, 63(2), 214-35.
- Singh G, Foster CS, 1987. Epidermal growth factor in alkali-burned corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol*, 103(6), 802-7.
- Singh P, Tyagi M, Kumar Y, Gupta KK, Sharma PD, 2013. Ocular chemical injuries and their management. *Oman J Ophthalmol*, 6(2), 83-6.
- Stades FC, Wyman M, Boevé MH, Neumann W, Spiess B, 2007. Ophthalmology for the veterinary practitioner. Second ed. Hannover, Germany, Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, p. 13-140.
- Stampa S, 1986. A field trial comparing the efficacy of sulphamonomethoxine, penicillin, and tarantula poison in the treatment of pododermatitis circumspecta of cattle. *J S Afr Vet Assoc*, 57(2), 91-3.

- Subasi S, Altintas O, Yardimoglu M, Yazir Y, Karaman S, Rencher SF, Kavram K, 2017. Comparison of collagen cross-linking and amniotic membrane transplantation in an experimental alkali burn rabbit model. *Cornea*, 36(9), 1106-15.
- Şaroğlu M, 1999. Tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında bazı antikollajenazik ilaçların karşılaştırılması üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Şaroğlu M, Arıkan N, 2002. Tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında bazı antikollajenazik ilaçların karşılaştırılması üzerine araştırmalar. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 28(2), 287-300.
- Tanyeli A, Eraslan E, Guler MC, Sebin SO, Celebi D, Ozgeris FB, Toktay E, 2019. Investigation of biochemical and histopathological effects of tarantula cubensis D6 on lung tissue in cecal ligation and puncture-induced polymicrobial sepsis model in rats. *Med-Science*, 8(3), 644-50.
- Teklioglu BK, Parkan C, Yilmaz A, Turan N, Gurel A, Berber K, Haktanir D, Sonmez K, Noelle-Issautier M, Yilmaz H, 2017. Canine papillomatosis: clinical outcome after oral isotherapy, subcutaneous Tarantula cubensis venom and oral levamisole azithromycin treatment. *Bulg J Vet Med*, 20(1), 248-53.
- Torricelli AAM, Singh V, Santhiago MR, Wilson SE, 2013. The corneal epithelial basement membrane: structure, function, and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 54(9), 6390-400.
- Tosun NG, Kaplan Ö, Özgür A, 2021. Apoptosis induced by Tarantula cubensis crude venom (Theranekron® D6) in cancer cells. *Rev Bras Farmacogn*, 31(6), 824-31.
- Vockeroth WG, 1999. Veterinary homeopathy: an overview. *Can Vet J*, 40(8), 592.
- Wagoner MD, 1997. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol*, 41(4), 275-313.
- Wang X, Dong J, Wu Q, 2013. Twenty-four-hour measurement of IOP in rabbits using rebound tonometer. *Vet Ophthalmol*, 16(6), 423-8.
- West-Mays JA, Dwivedi DJ, 2006. The keratocyte: corneal stromal cell with variable repair phenotypes. *Int J Biochem Cell Biol*, 38(10), 1625-31.
- Williams D, 2007. Rabbit and rodent ophthalmology. *EJCAP*, 17(3), 242-52.
- Williams D, 2013. The rabbit. In: *Veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ, 5th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 1725-49.
- Wishard P, Paterson CA, 1980. The effect of ascorbic acid on experimental acid burns of the rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 19(5), 564-6.
- Wu CL, Chou HC, Li JM, Chen YW, Chen JH, Chen YH, Chan HL, 2013. Hyaluronic acid-dependent protection against alkali-burned human corneal cells. *Electrophoresis*, 34(3), 388-96.
- Yang G, Espandar L, Mamalis N, Prestwich GD, 2010. A cross-linked hyaluronan gel accelerates healing of corneal epithelial abrasion and alkali burn injuries in rabbits. *Vet Ophthalmol*, 13(3), 144-50.
- Yao L, Li ZR, Su WR, Li YP, Lin ML, Zhang WX, Liu Y, Wan Q, Liang D, 2012. Role of mesenchymal stem cells on cornea wound healing induced by acute alkali burn. *PLoS One*, 7(2), e30842.
- Yaramış ÇP, Issautier MN, Saka SU, Demirtaş B, Erdikmen DO, Or ME, 2016. Homeopathic treatments in 17 horses with stereotypic behaviours. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 22, 793-9.
- Yenigun VB, Azzawri AA, Acar MS, Kaplan MB, Ucar VB, Tastekin D, Acar H, 2021. Alcoholic extract of tarantula cubensis (Theranekron®) induce autophagy on gastric cancer cells. *Exp Biomed Res*, 4(2), 89-98.
- Yılmaz U, Kaya H, Turan M, Bir F, Şahin B, 2019. Investigation the effect of hypericum perforatum on corneal alkali burns. *Cutan Ocul Toxicol*, 38(4), 356-9.
- Yoon KC, You IC, Im SK, Jeong TS, Park YG, Choi J, 2007. Application of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of neurotrophic keratitis. *Ophthalmology*, 114(9), 1637-42.

- Yu FSX Yin J, Xu K, Huang J, 2010. Growth factors and corneal epithelial wound healing. *Brain Res Bull*, 81(2-3), 229-35.
- Zedan IA, Al-Anaaz MT, Ibrahim SM, 2020. The effect of Therankeron on full-thickness umbilical wound healing in dogs. Erişim tarihi, 14 Temmuz 2022. Erişim adresi, [https://www.researchgate.net/profile/Sahar-Ibrahim-4/publication/353807050\\_THE\\_EFFECT\\_OF\\_THERANKERON\\_ON\\_FULL-THICKNESS\\_UMBILICAL\\_WOUND\\_HEALING\\_IN\\_DOGS/links/6112bc8b1e95fe241ac2685a/THE-EFFECT-OF-THERANKERON-ON-FULL-THICKNESS-UMBILICAL-WOUND-HEALING-IN-DOGS.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Sahar-Ibrahim-4/publication/353807050_THE_EFFECT_OF_THERANKERON_ON_FULL-THICKNESS_UMBILICAL_WOUND_HEALING_IN_DOGS/links/6112bc8b1e95fe241ac2685a/THE-EFFECT-OF-THERANKERON-ON-FULL-THICKNESS-UMBILICAL-WOUND-HEALING-IN-DOGS.pdf)
- Zhang N, Luo X, Zhang S, Liu R, Liang L, Su W, Liang D, 2021. Subconjunctival injection of tumor necrosis factor- $\alpha$  pre-stimulated bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhances anti-inflammation and anti-fibrosis in ocular alkali burns. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 259(4), 929-40.