T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAVŞANLARDA HİDROFLORİK ASİTLE OLUŞTURULAN KORNEAL YANIKLARIN İYİLEŞMESİNDE DİMETİLSÜLFOKSİT VE İNDOMETAZİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

“Semih ALTAN”

DOKTORA TEZİ

CERRAHİ (VET) ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Zeki OĞURTAN

KONYA-2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAVŞANLARDA HİDROFLORİK ASİTLE OLUŞTURULAN KORNEAL YANIKLARIN İYİLEŞMESİNDE DİMETİLSÜLFOKSİT VE İNDOMETAZİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

“Semih ALTAN”

DOKTORA TEZİ

CERRAHİ (VET) ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Zeki OĞURTAN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 10102019 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2013

ÖNSÖZ

Dünyada kayıt altına alınmış 70 milyondan fazla organik ve inorganik kimyasal madde vardır ve bunların yaklaşık 600 bin tanesi endüstriyel alanlarda farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Kullanımı sırasında sağlığı tehdit etme potansiyeli olan kimyasal madde sayısı ise yaklaşık 25 bin civarındadır. Yakıcı özellikteki bu kimyasal maddeler başta yapı ve temizlik maddeleri olmak üzere birçok endüstriyel alanda günümüzde yoğun biçimde kullanılmaktadır. Bundan dolayı, hem insanlar hem de hayvanlar kimyasal maddelerden daha fazla etkilenmektedir. Kimyasal yanıkların oluşmasına neden olan temel kimyasal maddeler; asitler, alkaliler, okside ve redükte edici ajanlar, şelatörler ve solventlerdir.

Kimyasal yanıklar; koroziv veya iritan bir kimyasalla gözün bir ya da birden çok biyokimyasal bileşeni arasında meydana gelen reaksiyonun sonucu olarak ortaya çıkar. Gözde meydana gelen kimyasal yanıklar; kornea, konjunktiva ve ön kamarada kalıcı hasarlara ve görme kaybına yol açabilen ciddi travmalardan birisidir. Bu yüzden zamanında ve doğru müdahaleler yapılmazsa kalıcı görme kaybına neden olabilir.

Asitler göze temas ettiğinde, membran proteinlerinde bir koagülasyon meydana gelir. Bu durum asidin daha derin dokulara penetrasyonuna karşı bir bariyer oluşturur. Hidroflorik (HF) asit diğer asitlerin aksine, alkaliler gibi hızlı bir şekilde penetre yeteneğine sahip olup, korneal stroma ve endotel tabakası başta olmak üzere iris, lens ve corpus ciliare gibi diğer ön kamara yapılarında da hasara neden olur.

Kimyasal yanıkların tedavisinde amaç; koroziv veya irritan maddenin zaman kaybetmeden (bu süre yaklaşık 10 sn) mevcut uygun bir sıvıyla dekontaminasyonunu sağlayarak oluşacak hasarın şiddetini azaltmaktır. Ancak çoğu zaman bu mümkün olamamakta ve dokuda bir hasar meydana gelmektedir. Bu hasarlar neticesinde hem yangı hücreleri hem de bunlar aracılığıyla oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR), korneadaki yangının devam etmesinde önemli bir etki oluşturmaktadır. Bu nedenle kimyasal maddelerin gözde oluşturacağı hasarların önlenmesi ve ilerlemesinin durdurulması için oluşan yangının ve serbest oksijen radikallerinin ortamdan uzaklaştırılması tedavi ve prognoz açısından çok önemlidir.

Dimetylsulfoxide (DMSO) başta antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi olmak üzere farklı birçok etkiye sahiptir. İndomethacin ise topikal formda gözdeki yangının giderilmesinde kullanılan indol türevi nonsteroid antiinflamatuvar bir ilaçtır. Yapılan literatür taramalarında % 20'lik DMSO tedavisinin alkali göz yanıklarında ilk üç günlük periyotta başarılı olduğu ve sonraki günlerde tek başına yetersiz kaldığı belirlenmiştir. İndomethacinin ise alkali göz yanıklarında en az steroidler kadar etkili olduğu ileri sürülmüştür. Ancak belirtilen bu ilaçların HF asit göz yanığında kullanılmadığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada bu ilaçların hem tek başlarına ve hem de kombine olarak kullanılarak HF asit göz yanıklarındaki etkinliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Doktora eğitimim süresince bilgilerinden yararlandığım başta danışmanım Prof. Dr. Zeki OĞURTAN olmak üzere, Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nuri YAVRU, Öğretim Üyeleri; Prof. Dr. Kadircan ÖZKAN, Prof. Dr. Celal İZCİ, Prof. Dr. Yılmaz KOÇ, Prof. Dr. Mustafa ARICAN, Prof. Dr. Fahrettin ALKAN, Anabilim Dalı asistanları ve yardımcı personeline, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ'e, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. İlhami ÇELİK, Doç. Dr. Yasemin ÖZNURLU ve Dr. Tuğba ÖZAYDIN'a, istatistik değerlendirmelerde yardımlarını esirgemeyen Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Enver YAZAR ve Doç. Dr. Kamil ÜNEY'e, deneysel çalışma süresince büyük yardımları olan Vet. Hekim Uğur UÇAR, Selim YILMAZ, İsmail DEMİRCİOĞLU ve adını yazamadığım tüm öğrenci arkadaşlarıma, tezimin her aşamasında büyük sabırla hep yanımda olan eşim Feray'a ve aileme, bu dönemde zorunlu sebeplerden dolayı sevgimi ve şefkatimi istemeyerek de olsa aksattığım kızım Duru'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından 10102019 proje no ile desteklendi.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ii
İÇİNDEKİLER iv
ÇİZELGELER DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
RESİMLER DİZİNİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR xv
1. GİRİŞ 1
1.1. Gözün Anatomi ve Histolojisi. 1
1.1.1. Kornea. 1
1.1.2. Sklera. 4
1.1.3. Konjunktiva ve 3. Göz Kapağı. 5
1.1.4. Prekorneal Gözyaşı Tabakası. 6
1.2. Korneadaki Fizyolojik Olaylar. 7
1.3. Korneada İyileşme Olayları. 9
1.3.1. Epitelyumun İyileşmesi. 9
1.3.2. Stromanın İyileşmesi. 10
Avasküler iyileşme. 11
Vasküler iyileşme. 11
1.3.3. Endotelyumun ve Descemet Membranın İyileşmesi. 12
1.4. Korneada Gözlenen Patolojik Reaksiyonlar. 12
1.4.1. Ödem. 12
1.4.2. Korneal Damarlaşma (Neovaskülarizasyon). 13
1.4.3. Sikatrizasyon (Skarlaşma-Fibrosis). 14
1.4.4. Korneal Melanosis. 15
1.4.5. Hücresel İnfiltrasyon. 15
1.4.6. Korneada Lipid ve Mineral Birikimi. 16
1.4.7. Stromal Yumuşama (Erime). 16
1.5. Korneal Hasarlarda Histolojik Parametreler. 16
1.5.1. Proliferating Cell Nuclear Antigen. 16
1.5.2. Korneal Hasarlarda Apoptosis. 17
1.5.3. Nitric oxide ve Nitric Oxide Syntase**.** 20
1.6. Kimyasal Göz Yanıkları. 22
1.6.1. Alkali Maddeler. 23
1.6.2. Asidik Maddeler. 24
1.6.3. Hidroflorik Asit Göz Yanıkları. 24

Etiyoloji. 24
Fizyopatoloji. 25
Klinik görünüm ve prognoz. 25
Tedavi. 26
1.7. Gözde Yangının Kontrolü. 29
1.7.1. Kortikosteroidler. 30
1.7.2. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar. 30
İndomethacin. 32
1.8. Gözde Antioksidanların Kullanımı. 33
1.8.1. Dimethylsulfoxide. 34
2. GEREÇ ve YÖNTEM 38
2.1. Hayvan Materyali. 38
2.2. Yöntem. 38
2.2.1. Araştırma Grupları. 38
2.2.2. Anestezi. 38
2.2.3. Kullanılan İlaçlar. 39
2.2.4. Deney Protokolü. 39
2.2.5. Klinik Değerlendirme. 41
Korneal bulanıklığın değerlendirilmesi. 41
Konjunktival yangının (konjunktivitis) değerlendirilmesi. 42
Konjunktival damarlarda gözlemlenen değişikliklerin değerlendirilmesi. 42
Korneal erozyon alanlarının ölçümü. 43
2.2.6. Histolojik Değerlendirme. 43
Histolojik ve immünohistokimyasal boyamalar. 43
2.2.7. İstatistiki Değerlendirme. 47
3. BULGULAR 48
3.1. Makroskobik Bulgular. 48
3.1.1. Tedavinin 1. Günü. 48
3.1.2. Tedavinin 2. Günü. 60
3.1.3. Tedavinin 7. Günü. 65
3.1.4. Tedavinin 14. Günü. 70
3.2. Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular. 76
3.2.1. Tedavinin 2. Günü. 76
3.2.2. Tedavinin 7. Günü. 76
3.2.3. Tedavinin 14. Günü. 77
3.2.4. İNOS İmmunohistokimyasal Analiz Bulguları. 91

3.2.5. Prolifere Hücre Nükleer Antijen Bulguları. 98
3.2.6. Apoptozis Bulguları. 105
4. TARTIŞMA 112
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 123
6. ÖZET 124
7. SUMMARY 125
8. KAYNAKLAR 126
9. EKLER 134
Ek A. Etik Kurul Kararı 134
10. ÖZGEÇMİŞ 135

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Deney grupları, uygulama süresi ve kullanılan toplam denek sayısı. 39

Çizelge 2.2. Tavşanlarda tedavi amacıyla 1 gün boyunca uygulanan ilaçların miktar ve uygulama zamanları. 41

Çizelge 3.1. Yanık sonrasında deney gruplarına ait tedavinin 1, 2, 7 ve 14. günlerinde korneal bulanıklık skorlama derecelerinin gruplara ve günlere göre dağılımı. 51

Çizelge 3.2. Yanık sonrasında deney gruplarına ait tedavinin 1, 2, 7 ve 14. günlerinde konjunktivitis skorlama derecelerinin gruplara ve günlere göre dağılımı. 52

Çizelge 3.3. Yanık sonrasında deney gruplarına ait tedavinin 1, 2, 7 ve 14. günlerinde konjunktival damar durumu skorlama derecelerinin gruplara ve günlere göre dağılımı. 53

Çizelge 3.4. Yanık sonrasında deney gruplarına ait korneal bulanıklığın skorlama ham verileri. 54

Çizelge 3.5. Yanık sonrasında deney gruplarına ait korneal bulanıklıkta gözlenen değişiklikler (Ort±SH). 54

Çizelge 3.6. Yanık sonrasında deney gruplarına ait konjunktivitis skorlama ham verileri. 55

Çizelge 3.7. Yanık sonrasında deney gruplarında konjunktivitiste gözlenen değişiklikler (Ort±SH). 55

Çizelge 3.8. Yanık sonrasında deney gruplarına ait konjunktival damar durum skorlama ham verileri. 56

Çizelge 3.9. Yanık sonrasında deney gruplarında konjunktival damarlarda gözlenen değişiklikler (Ort±SH). 56

Çizelge 3.10. Yanık sonrasında deney gruplarına ait korneal erozyon alanı ölçümü ham verileri. 57

Çizelge 3.11. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında tespit edilen korneal erozyon alanı ölçüm yüzdeleri (%, Ort±SH). 57

Çizelge 3.12. Yanık sonrasında deney gruplarına ait GİB ölçümü ham verileri. 58

Çizelge 3.13. Yanık sonrası deney gruplarındaki göz içi basıncı değerleri (mmHg, Ort±SH). 58

Çizelge 3.14. Yanık oluşturulduktan sonra tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde histolojik bulguların günlere ve gruplara göre dağılımı. 79

Çizelge 3.15. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında gözlenen yangısal hücre infiltrasyon için semikantitatif skorlama ham verileri. 80

Çizelge 3.16. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında gözlenen yangısal hücre infiltrasyon dereceleri (Ort±SH). 81

Çizelge 3.17. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında gözlenen vaskülarizasyon için semikantitatif skorlama ham verileri. 82

Çizelge 3.18. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında oluşan vaskülarizasyon dereceleri (Ort±SH). 83

Çizelge 3.19. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornealarında stromal kalınlık ölçümü ham verileri. 84

Çizelge 3.20. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının korneal stromal kalınlık ölçüm sonuçları (mm, Ort±SH). 85

Çizelge 3.21. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında kornea epiteli ve bağ dokusunda iNOS-pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin ham verileri. 93

Çizelge 3.22. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında kornea epitelinde iNOS-pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin oranı (Ort±SH). 93

Çizelge 3.23. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında korneal stromada iNOS-pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin oranı (Ort±SH). 94

Çizelge 3.24. Yanık oluşturulduktan sonra grupların kornea epitelinde PCNA-pozitivitesi gösteren hücrelerin ham verileri. 99

Çizelge 3.25. Yanık oluşturulduktan sonra grupların kornea epitelinde PCNA-pozitivitesi gösteren hücre oranları (Ort±SH). 100

Çizelge 3.26. Yanık oluşturulduktan sonra grupların kornea epitelinde TUNEL metoduyla saptanan ortalama apoptotik hücrelerin ham verileri. 106

Çizelge 3.27. Yanık oluşturulduktan sonra kornea epitelinde TUNEL metoduyla saptanan ortalama apoptotik hücre sayıları (Ort±SH). 107

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Yanık sonrası gruplara ait korneal bulanıklık grafiği. 59
Şekil 3.2. Yanık sonrası gruplara ait konjunktivitis grafiği. 59
Şekil 3.3. Yanık sonrası gruplara ait konjunktival damar durumu grafiği. 59
Şekil 3.4. Yanık sonrası gruplara ait korneal erozyon alanı grafiği. 60
Şekil 3.5. Yanık sonrası gruplara ait göz içi basıncı grafiği. 60
Şekil 3.6. Yanık sonrası korneal stromada yangısal hücre yoğunluğu grafiği. 81
Şekil 3.7. Yanık sonrası korneal stromada vaskülarizasyon grafiği. 83
Şekil 3.8. Yanık sonrası korneal stromal kalınlık grafiği. 85
Şekil 3.9. Yanık sonrası korneal epitelde iNOS grafiği. 94
Şekil 3.10. Yanık sonrası korneal stromada iNOS grafiği. 94
Şekil 3.11. Yanık sonrası korneal epitelde PCNA grafiği. 100
Şekil 3.12. Yanık sonrası korneal epitelde apoptozis grafiği. 107

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1. Hidroflorik asit uygulandıktan hemen sonra korneada oluşan opasite (A) ve sağlam gözün (B) görünümü (Kontrol 7 günlük grup 1 nolu tavşan). 50

Resim 3.2. Tedavinin 2. gününde DMSO grubunda 2 no'lu tavşanda episkleral vaskülarizasyon. 63

Resim 3.3. Tedavinin 2. gününde DMSO grubu 3 no'lu tavşanda konjunktivitis ve 3. göz kapağı üzerinde nekrotik alanlar. 63

Resim 3.4. Tedavinin 2. gününde İndomethacin grubu 4 no'lu tavşanda palpebral konjuktiva ve 3. göz kapağı üzerinde beyaz nekrotik alanlar. 63

Resim 3.5. Tedavinin 2. gününde DMSO-İndomethacin grubunda 5 no'lu tavşanda şemozis ve konjunktivitisin görünümü. 63

Resim 3.6. Tedavinin 2. gününde Kontrol grubu 3 no'lu tavşanda şemozis ve konjunktivitisin klinik görünümü. 64

Resim 3.7. Tedavinin 2. gününde DMSO grubu 6 no'lu tavşanda konjunktival damarlardaki ilerlemiş derecede çapsal değişiklikler. 64

Resim 3.8. Tedavinin 2. gününde İndomethacin grubunda 5 no'lu tavşanda konjunktival damarlarda ilerlemiş derecede çapsal değişimlerin görünümü. 64

Resim 3.9. Tedavinin 2. gününde DMSO-İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda beyaz nekrotik alanlar ve konjunktival damarlarda ilerlemiş düzeyde çapsal değişimler. 64

Resim 3.10. Tedavinin 7. gününde DMSO grubu 2 no'lu tavşanda pupilla sınırına uzanan vaskülarizasyonun klinik görünümü. 68

Resim 3.11. Tedavinin 7. gününde İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda palpebral ödem ve blefaritisin klinik görünümü. 68

Resim 3.12. Tedavinin 7. gününde DMSO-İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda 3. göz kapağı üzerinde nekrotik dokunun görünümü. 68

Resim 3.13. Tedavinin 7. gününde İndomethacin grubu 6 no'lu tavşanda korneal vaskülarizasyonun klinik görünümü. 69

Resim 3.14. Tedavinin 7. gününde DMSO-İndomethacin grubu 4 no'lu tavşanda korneal vaskülarizasyon ve konjunktival damarlarda çapsal değişimlerin görünümü. 69

Resim 3.15. Tedavinin 7.gününde İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda şemozis ve 3. göz kapağı üzerinde nekrotik dokunun görünümü. 69

Resim 3.16. Tedavinin 7. gününde Kontrol grubu 5 no'lu tavşanda 3. göz kapağının palpebral yüzünde beyaz nekroz alanları. 69

Resim 3.17. Tedavinin 14. gününde DMSO grubu 5 no'lu tavşanın iyileşmiş korneasının klinik görünümü. 73

Resim 3.18. Tedavinin 14. gününde Kontrol grubu 4 no'lu tavşanın iyileşmiş korneasının klinik görünümü. 73

Resim 3.19. Tedavinin 14. gününde Kontrol grubu 6 no'lu tavşanda konjunktivitisin klinik görünümü. 73

Resim 3.20. Tedavinin 14. gününde Kontrol grubu 5 no'lu tavşanda yüzeysel vaskülarizasyonun klinik görünümü. 73

Resim 3.21. Tedavinin 14. gününde İndomethacin grubu 4 no'lu tavşanın korneasında yoğun miktarda episkleral vaskülarizasyonun klinik görünümü. 74

Resim 3.22. Tedavinin 14. gününde İndomethacin grubu 3 no'lu tavşanda konjunktivitis ve blefaritis. 74

Resim 3.23. Tedavinin 14. gününde DMSO-İndomethacin grubu 5 no'lu tavşanda korneal vaskülarizasyon. 74

Resim 3.24. Tedavinin 14. gününde DMSO-İndomethacin grubu 4 no'lu blefaritis'in klinik görünümü. 74

Resim 3.25. Tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde küresel olarak çıkarılan gözlerin deney gruplarına göre fluoroscein ile boyamadan sonra belirlenen korneal erozyon alanlarının klinik görünümleri. 75

Resim 3.26. Tedavinin 2. gününde grupların kornea kesitleri. Deney gruplarında korneal epitelin dökülmüş olduğu ve stromanın ödeme bağlı daha kalın olduğu görülmektedir. A- Normal kornea, B- DMSO grubu, C-İndomethacin grubu, D- DMSO-İndomethacin grubu, E-Kontrol grubu, Triple boyama. Bar: 100 µm. 86

Resim 3.27. Tedavinin 2. gününde Kontrol grubundan bir tavşanın kornea kesitinde limbal sınırda ve stromanın ön yarımında yangısal hücre infiltrasyonu (Ok başı) ve vaskülarizasyon (Ok) görülmektedir B: Stroma. Triple boyama. Bar: 100 µm. 87

Resim 3.28. Tedavinin 2. günü İndomethacin grubundan bir tavşanın kornea kesitinde limbal bölgeden korneaya doğru gelişen vaskülarizasyon (oklar) görülmektedir. E: Epitel, B: Stroma, Triple boyama. Bar: 100 µm. 87

Resim 3.29. Tedavinin 7. gününde Kontrol grubundan bir tavşanın kornea kesitinde reepitelizasyondaki yetersizlik (ok) ve epitel ayrılması (ok başı), Epitel (E), Stroma (B), Triple boyama. Bar: 1000 µm. 87

Resim 3.30. Tedavinin 7. gününde grupların kornea kesitleri ve kesitlerde stromal kalınlıklar arasındaki farklar belirgin olarak görülmektedir. A: Normal stroma, B: DMSO grubu, C: İndomethacin grubu, D: DMSO-İndomethacin grubu, E: Kontrol grubu, Triple boyama. Bar: 100 µm. 88

Resim 3.31. Tedavinin 7. gününde grupların kornea kesitleri görülmektedir. Kesitlerde stromal kalınlıklar arasındaki farklar görülmektedir. A: Normal stroma, B: DMSO grubu, C: İndomethacin grubu, D: DMSO-İndomethacin grubu, E: Kontrol grubu, Triple boyama. Bar: 100 µm. 89

Resim 3.32. Tedavinin 14. gününde K grubundan bir hayvanın kornea kesitinde reepitelizasyonun görülmektedir. B: Stroma, E: Epitel, Triple boyama. Bar: 100 µm. 90

Resim 3.33. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir hayvanın kornea kesitinde yangı hücreleri (YH) ve yoğun vaskülarizasyon (KD) görülmektedir. B: Stroma, Triple boyama. Bar: 100 µm. 90

Resim 3.34. Normal kornea kesitinde iNOS'un immünohistokimyasal lokalizasyonu görülmektedir. iNOS pozitivitesi damar endotelleri (oklar) ve fibroblastlarda (ok başları) görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. İmmünohistokimyasal boyama. Bar: 50 µm. 95

Resim 3.35a. Tedavinin 7. gününde K grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E:Epitel. B:Stroma. KD: Kan damarı. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 25 µm. 95

Resim 3.35b. Tedavinin 14. gününde K grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: iNOS pozitif bağ doku hücreleri. Bar: 25 µm. 95

Resim 3.36a. Tedavinin 2. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: Pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm. 95

Resim 3.36b. Tedavinin 14. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 25 µm. 96

Resim 3.36c. Tedavinin 2. gününde D grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E:Epitel. B:Stroma. KD: Kan damarı. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm. 96

Resim 3.36d. Tedavinin 7. gününde D grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel, B: Stroma. KD: Kan damarı. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm. 96

Resim 3.37a. Tedavinin 2. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm. 96

Resim 3.37b. Tedavinin 7. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm. 97

Resim 3.37c. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm. 97

Resim 3.38. İmmünohistokimyasal boyanma görülmeyen negatif kontrol preperatı. E: Epitel. B: Stroma. Primer antikor kullanılmadan yapılan immünohistokimyasal boyama. Çekirdekler nuclear fast red ile boyanmıştır. Bar: 50 µm. 97

Resim 3.39. Pozitif PCNA kontrol preparatı: Oklar: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: PCNA-negatif hücreler. Bar:100 µm. 101

Resim 3.40. Yanık oluşturulmayan korneada PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren epitel hücreleri. Bar: 100 µm. 101

Resim 3.41a. Tedavinin 2. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren epitel hücreleri. Bar: 100 µm. 102

Resim 3.41b. Tedavinin 7. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başı: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 102

Resim 3.41c. Tedavinin 14. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başı: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 102

Resim 3.42a. Tedavinin 2. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel Ok: PCNA pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 102

Resim 3.42b. Tedavinin 7.gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreleri ve bu hücrelerin çoğunlukla bazal katman hücreleri oldukları dikkati çekmektedir. B:Stroma, E:Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 103

Resim 3.42c. Tedavinin 14. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 103

Resim 3.43a. Tedavinin 2. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 103

Resim 3.43b. Tedavinin 7. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 103

Resim 3.43c. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 104

Resim 3.44a. Tedavinin 2. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler, Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 104

Resim 3.44b. Tedavinin 7. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 104

Resim 3.44c. Tedavinin 14. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm. 104

Resim 3.45. Pozitif kontrol preparatı: Oklar: Apoptotik hücreler. Ok başları: negatif hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm. 108

Resim 3.46. Normal kornea epitelinde apoptotik aktivite gözlenmemiştir. B: Stroma. E: Epitel. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 108

Resim 3.47a. Tedavinin 2. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm. 108

Resim 3.47b. Tedavinin 7. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm. 108

Resim 3.47c. Tedavinin 14. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre görülmemektedir. B: Stroma. E: Epitel. TUNEL metodu. Bar:100 µm. 109

Resim 3.48a. Tedavinin 2. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. E: Epitel. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 109

Resim 3.48b. Tedavinin 7. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 109

Resim 3.48c. Tedavinin 14. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 109

Resim 3.49a. Tedavinin 2. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 110

Resim 3.49b. Tedavinin 7. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 110

Resim 3.49c. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 110

Resim 3.50a. Tedavinin 2. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm. 110

Resim 3.50b. Tedavinin 7. gününde K grubunun kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 111

Resim 3.50c. Tedavinin 14. gününde K grubunun kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm. 111

SİMGELER ve KISALTMALAR

α-MSH: α-Melanin Stimulan Hormon

$Ca[OH]_2$: Kalsiyum Hidroksit

c-GMP: Siklik Guanil Monofosfat

CH_3COOH: Asetik asit

COOH: Karboksil Grubu

COX: Siklooksijenaz

DAB: Diaminobenzidin

DMSO: Dimetilsülfoksit

DMS: Dimetilsülfit

$DMSO_2$: Dimetilsülfon

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentetaz

ESM: Ekstraselüler Matriks

GAG: Glikozaminoglikan

H_2CrO_4: Kromik asit

H_2SO_3: Sülfüröz asit

H_2SO_4: Sülfürik asit

HCl: Hidroklorik asit

HF: Hidroflorik Asit

IL-1β: İnterlökin-1β

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz

KOH: Potasyum Hidroksit

LOX: Lipooksijenaz

LPS: Lipopolisakkarid

MDA: Malondialdehid

$Mg[OH]_2$: Magnezyum Hidroksit

Mg: Miligram

Ml: Mililitre

µl: Mikrolitre

NacGA: N-Asetilglukozaminidaz

NaCl: Sodyum klorür

NaOH: Sodyum Hidroksit

NH_3: Amonyak

NK: Normal Kontrol

nNOS: Nöronal Nitrik Oksit Sentetaz

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentetaz

NSAİ: Nonsteroid antiinflamatuvar

OH^-: Hidroksil Molekülü

Ort±SH: Ortalama±standart hata

PAF: Platelet aktive edici faktör

PBS: Fosfat tamponlu salin

PCNA: Prolifere Cell Nuclear Antigen

PG: Prostaglandin

PGE_2: Prostaglandin E_2

PGT: Prekorneal Gözyaşı Tabakası

PMNL: Polimorf Nükleer Lökositler

sABC: Streptavidin biotin-peroksidaz kompleksi

SOD: Süperoksit Dismutaz

SOR: Serbest Oksijen Radikalleri

TBM: Tingible Body Macrophages

TNF- α: Tümör Nekroz Faktörü-α

tNOS: Temel Nitrik Oksit Sentetaz

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase (Tdt)-mediated dUTP-biotin nick-end labeling

VEGF: Vasküler Endotelyal Growth Faktör

1. GİRİŞ

1.1. Gözün Anatomisi ve Histolojisi

Göz, göz küresi (bulbus oculi) ve bunun koruyucu kısımları olan göz kapakları (palpebra) ve gözyaşı bezlerinden (Glandula lacrimalis, 3. göz kapağı bezi ve Meibomian bezleri) oluşur. Bulbus okulinin duvarı dıştan içe doğru 3 katmandan meydana gelir. Bunlar;

1-Tunica externa bulbi (Tunika fibroza bulbi): Kornea-Sklera
2-Tunica media bulbi (Tunika vaskuloza bulbi): Uvea-Koroidea-Korpus silyare-İris
3-Tunica interna bulbi (Tunika nervoza bulbi): Retina (Tanyolaç 1993).

1.1.1. Kornea

Göz küresi duvarının dış fibröz katını (Tunica fibrosa bulbi) sklera ile birlikte oluşturan kornea, bulbus oculinin küresel şeklinin devamlılığını sağlar (Samuelson 1999, Akın ve Samsar 2001, Gelatt ve Gelatt 2001a, Maggs 2008a). Korneanın dış yüz epiteli (kornea epiteli) embriyolojik olarak yüzey ektoderminden, iç yüz epiteli (kornea endoteli) ve bağ dokusuysa mezenşimden köken alır (Samuelson 1999, Crispin 2002a). Kornea, intraoküler yapılara destek görevi yanında göze gelen ışığın kırılması ve kırılan ışığın merkeze iletilmesini sağlar. Avasküler bir yapıdadır. Kornea, sklera ve bulbar konjunktivanın sınır noktası limbus olarak adlandırılır (Maggs 2008a). Limbusun eni yaklaşık 1-3 mm arasında değişir. Limbusta bulunan küçük kan damarları perilimbal korneaya 1-2 mm mesafede bulunur. Bu damarlar, anteriyör silyar (anterior ciliar) arterin terminal kollarıdır. Limbal bölgede bulunan bazal epitel hücreleri, hem sağlıklı gözlerin ve hem de oküler hasarları takiben oküler yüzey epitheliumunun bakım ve onarımından sorumludur. Yangı sırasında bunlar korneaya infiltre olurlar. Damarsız yapıya sahip olan korneanın beslenmesi dıştan gözyaşı tabakası, içten ise kamara sıvıları ve limbal kan damarlarından difüzyon yoluyla olur (Wagoner 1997, Wilkie ve Whittaker 1997, Samuelson 1999, Crispin 2002a, Maggs 2008a).

Kornea eliptik bir yapıya sahiptir (Samuelson 1999, Maggs 2008a). Tavşanlarda yatay çapı 15 mm, dikey çapı 13,5-14 mm'dir. Kedi, köpek ve

tavşanlarda bu iki çap arasındaki fark az olduğundan bu türlerde kornealar yuvarlağa yakındır. Genel olarak hayvan türlerinde yatay çap, dikey çaptan daha büyüktür (Samuelson 1999, Maggs 2008a). Korneanın kalınlığı türlere göre değişim göstermekle beraber ortalama 0,5-0,8 mm olup genellikle 1 mm'den azdır (Akın ve Samsar 2001, Crispin 2002a, Maggs 2008a).

Kornea duyu sinirlerinden ve ağrı reseptörlerinden oldukça zengindir. Bu durum korneanın korunmasına ve saydam yapısının sürdürülmesine yardım eder. Kornea trigeminal sinirin oftalmik kısmından köken alan uzun ciliar sinirlerle innerve edilir. Serbest sinir sonlanmaları ve ağrı reseptörleri, epitel tabakada lokalize olduğundan yüzeysel korneal hasarlar derin olanlara kıyasla daha fazla ağrılıdır (Samuelson 1999, Gelatt ve Gelatt 2001a).

Kornea, histolojik olarak 4 katlı bir yapılanma gösterir. Bu yapılar anterior epithelium (epitelyum), stroma (substantia propria), descemet membranı ve posterior epithelium veya endotheliumdur (Wilkie ve Whittaker 1997, Samuelson 1999, Gelatt ve Gelatt 2001a, Miller 2001, Maggs 2008a). Ancak Samuelson (1999), Akın ve Samsar (2001), Brooks ve Ollivier (2004), Dubielzig ve ark (2010) adlı araştırmacılar anterior epitheliumun bazal laminasını ayrı bir katman olarak kabul etmektedirler. Bu nedenle korneanın; ince bir bazal membran, onun üzerine oturmuş bir epitel tabakası, kalın ve kısmen asellüler bir stroma, descemet membranı ve tek katlı bir endotel tabakasından oluşan beş katmanlı bir yapıya sahip olduğu düşünülmektedir.

Korneanın epitelyum katmanı, 5-8 katlı non-keratinize yassı epitel hücrelerinden oluşmuş bir tabakadır (Dellman ve Brown 1987, Wagoner 1997, Gelatt ve Gelatt 2001a, Maggs 2008a, Dubielzig ve ark 2010). Epitel tabakası dıştan içe doğru 2-3 katlı skuamoz (squamous) hücrelerinden, ortada 2-3 katlı kanat (wing) hücrelerinden ve en içte ise bazal membran üzerine yerleşmiş tek katlı bazal hücrelerden oluşmuştur (Gelatt ve Gelatt 2001a, Crispin 2002a, Dubielzig ve ark 2010). Kornea epiteli, merkezden perifere doğru kalınlaşır. Limbusta epitelyum, yaklaşık 10 kattan oluştuğu için daha kalındır (Wagoner 1997). Epitel tabakanın bazal membranı; laminin, hyaluronan ve fibronektin ile birlikte çoğunluğu kollajen tip IV olmak üzere, tip VI ve VII kollagenlerini içerir. Bazal hücreler hemidesmozom (hemidesmosom) denen yapılarla bazal membrana bağlanırlar. Bazal

hücreler bölünüp çoğaldıkça yüzeye doğru bir güç uygulayarak kanat hücreleri gibi yassılaşır ve zamanla organellerinin birçoğunu kaybederler. Bazal hücreler limbusta sürekli mitoz geçiren ve merkeze doğru kayarak hareket eden limbal kök hücreleri tarafından yenilenir. Yüzeydeki yassı hücreler prekorneal gözyaşı tabakasının (precorneal tear film) derin müsin tabakasıyla ilişkili olan mikrovillusları oluşturur (Samuelson 1999, Akın ve Samsar 2001, Gelatt ve Gelatt 2001a, Brooks ve Ollivier 2004, Maggs 2008a, Dubielzig 2010).

Stroma**,** korneanın en büyük kısmını oluşturur (yaklaşık % 90) ve kollajen (tip I, III, V, VI ve XII), stromal glikozaminoglikan (glycosaminogylican-GAG) (keratan sulphate, dermathan sulphate ve chondroitin sulphate) ve glikoproteinlerin oluşturduğu bir ekstrasellüler matriks (extracellular matrix-ESM) ile çevrelenen çok sayıda ince ve uniform yapıdaki mikrofibril demetlerinden oluşmuştur. Bu demetler bir araya gelerek lamellaları biçimlendirir. Az sayıda stromal keratositler (modifiye fibroblast) ve fibroblastlar bulunur. Her bir lamella korneal yüzeye paralel seyreder ve tüm kornea boyunca çapraz uzanır. Bu lamellaların düzenli ve yüzeye paralel konumu korneal saydamlığın devamı için önemlidir. Keratositler, normal yetişkin bir korneada yavaş yenilenme hızına sahiptir. Ancak bir hasar durumunda aktif fibroblastlara dönüşerek kollajen ve temel madde üretimini başlatırlar. Lökosit, lenfosit ve makrofaj gibi hücreler normalde korneada nadiren gözlenirler ve epitel tabakada stromaya kıyasla daha çok bulunurlar (Dellman ve Brown 1987, Samuelson 1999, Gelatt ve Gelatt 2001a, Miller 2001, Brooks ve Ollivier 2004, Crispin 2002a, Maggs 2008a, Dubielzig ve ark 2010).

İntersitisyel boşlukları dolduran maddelerden olan GAG'ların, korneanın sıvı dengesi, lamellar düzenin korunması ve dolayısıyla korneal saydamlığın devam etmesinde önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Dellman ve Brown 1987, Tanyolaç 1993, Miller 2001).

Descemet membranı, stromanın gerisinde ve endotheliumun altında yerleşmiş olan endotheliumun aselüler bazal membranıdır. Yaklaşık 10 μm kalınlığındadır ve yaşlanmayla birlikte kalınlığı da artar. Descemet membranı limbusta üç bölüme ayrılır. Bir bölümü skleraya, bir bölümü ciliar kaslara, son bölümü de irisin pektinat (pectinate) ligamentlerine katılır. Kollajen tip-I, III, IV, V, VI ve VIII, laminin, fibronektin ve heparan sülfat içerir. İyi organize olmuş kollajen fibrillerden oluşur ve

bu fibriller endothelium tarafından yaşam boyunca üretilir. Bununla birlikte, elastik fibrillere de sahip olduğu için esneme özelliği gösterir ve stromada yıkımlanmaya sebep olan enzimlere karşı dirençli bir yapıya sahiptir (Gelatt ve Gelatt 2001a, Miller 2001, Crispin 2002a, Brooks ve Ollivier 2004, Maggs 2008a, Dubielzig ve ark 2010).

Endothelium, korneanın en gerisinde yer alan mezenşim (mesenchyme) kökenli tek katlı yassı epithelium hücrelerinden oluşur. Hücreler yüksek metabolik aktivitelerinden dolayı fazla miktarda mitokondriyon içerir. Son derece zayıf yenilenme kapasitesine sahiptirler ve sayıları yaşlanmayla birlikte azalır. Endotel tüm kornea boyunca descemet membranıyla birlikte seyreder. Stroma içerisinden humor akuoza (humor aqueous) iyon geçişi için bir pompa görevi görür. Bu iyonların geçişini takiben suyun taşınması, korneal stromanın kısmen dehidre kalmasını sağlar. Bu durum korneanın saydamlığı için çok önemlidir. Kornea boyunca ön kamarada bulunan akuoz sıvının giriş ve çıkışı endothelium aracılığıyla gerçekleşir. Hasara uğrarsa kornea ödemi görülebilir (Gelatt ve Gelatt 2001a, Crispin 2002a, Brooks ve Ollivier 2004, Maggs 2008a, Dubielzig ve ark 2010).

1.1.2. Sklera

Tunica fibrosa bulbinin en büyük kısmını oluşturan sklera, opak bir yapıya sahiptir. Ön tarafta perifer kornea ve bulbar konjunktiva ile birlikte limbal sınırı oluşturur. Bu noktada sklera pigmentli bir yapıdadır ve epiteli daha kalındır. Üç tabakaya sahiptir. Bunlar dıştan içe doğru episkleral (episclera) katman, skleral stroma (sclera proper) ve lamina fuscadır. Sklerayı tenon kapsülüne (sklerayı sararn zar) bağlayan oldukça iyi vasküler fibröz bir katman olan episklera; kollajen lifler, fibroblastlar, melanositler, proteoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşan fibroelastik bir yapıya sahiptir. Episkleradaki kollajen lifler yüzeysel skleral stromaya karışırlar. Skleral stroma, korneadaki gibi kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşur. Ancak bu kollajen lifler, farklı çap ve şekilde olmaları, farklı doğrultularda seyretmeleri ve düzensiz yapılarıyla korneadan ayrılır. Bu nedenle kornea gibi saydam değildir. Lamina fusca ise sklera ile korpus siliyare (corpus ciliare) ve koroideanın (choroidea) dış katmanı arasında geçiş bölgesidir (Samuelson 1999, Ramsey 2002, Maggs 2008a). Sklera içerisinde damar ve sinirlerin geçtiği birçok kanal vardır. Bu kanallar aynı zamanda enfeksiyon veya neoplazi gibi hastalıkların göze giriş ve çıkışı için aracılık eder. Optik sinir, skleranın arka kutubunda bulunan ve lamina cribrosa adı

verilen elek benzeri açıklıktan geçer. Gloakom esnasında lamina cribrosa üzerindeki basınç değişiklikleri, bu açıklığın daralmasına neden olarak buradan geçen optik sinirin aksonlarında ve aksoplazmik akışta bozukluğa ve dolayısıyla optik sinir dejenerasyonuna neden olur. İntraskleral venöz pleksus, skleral stromanın dış bölümünün heme önünde bulunur. Bu pleksus, anguler aköz pleksus ve aköz venler yoluyla iridokorneal açı bölgesinden humor akuozu alır ve daha sonra bu humor akuoz, koroideal venöz siteme geçer (Maggs 2008a).

1.1.3. Konjunktiva ve Üçüncü Göz Kapağı

Konjunktiva; göz kapaklarının iç yüzünü, palpebra tertia'nın (3. göz kapağı) ise hem iç ve hem de dış yüzünü kaplayan ve bulbus oculiyi korneal limbusa kadar saran hareketli müköz membrandır. Göz kapaklarının iç yüzü, palpebral konjunktiva olarak adlandırılan özel müköz bir membran ile sarılmıştır. Epiteli; göz kapakları sınırında daha çok skuamoz (squamous), diğer alanlarda ise çok katlı prizmatik (columnar) epitelden oluşur. Palpebral konjunktiva, orbital kemer düzeyinde göz küresi üzerine kıvrılır ve bu kısım bulbar konjunktiva olarak bilinir. Kıvrılma noktası, çok katlı kübik epitelden oluşan fornix conjunktiva (konjunktival kese) olarak adlandırılır. Bu kese, göz küresi ile göz kapakları arasında yer alan bir boşluktur ve içerisinde mukus ile gözyaşı bulunur. Mukusun kaynağı goblet hücresi adı verilen hücrelerdir (Cook ve ark 2008). Goblet hücreleri prekorneal gözyaşı tabakası'nın müköz tabakasının kaynağını oluşturur. Konjunktival goblet hücrelerinin oluşturduğu mukus, eksojen partiküller ile hücresel döküntüleri tutar ve immünglobulin A içerir (Samuelson 1999, Gelatt ve Gelatt 2001b, Cook ve ark 2008, Maggs 2008b).

Konjunktiva; prekorneal gözyaşı tabakası, epitel tabaka ve stromadan (substantia propria) oluşmaktadır. Konjunktivanın stroması iki katmandan oluşur. Yüzlek katmanı, köpek ve kedilerde lenf folikülleri ve bezleri içeren adenoid katmandır. Derin katman ise kan damarları ve sinirlerden zengin olan fibröz katmandır, tamamıyla gevşek bağ dokusundan oluşur ve stroması; fibrositler, mast hücreleri, plazma hücreleri, lenfositler ve makrofajlardan zengindir. Palpebral konjunktiva'nın hemen altındaki bağ dokusu daha kalındır. Damarlardan zengin olan konjunktiva; eksternal oftalmik arterlerin dalları olan anterior ciliar arterlerden beslenir ve bunlar konjunktivanın derin fibröz katından lokalize olmuştur (Akın ve

Samsar 2001, Gelatt ve Gelatt 2001b, Crispin 2002b, Maggs 2008b). Konjunktiva, hareketliliği ve iyi vaskülarize olmuş yapısıyla korneal defektlerin onarımında iyi bir gref kaynağı olarak kullanılabilmektedir (Kaya 1998, Akın ve Samsar 2001, Gelatt ve Gelatt 2001b). Palpebral ve bulbar konjunktivalar, 3. göz kapağının iç yüzündeki kadar bol olmasa da tür, ırk, yaş ve antijenik uyarıya göre değişen oranlarda lenfatik foliküller içerir (Akın ve Samsar 2001, Maggs 2008b).

Üçüncü göz kapağı (membrana nikitans), medial kantus üzerinden göz küresinin yüzeyini kaplayan ve konjunktivanın büyük bir kıvrımı olan koruyucu ve glanduler yapıda hareketli bir yapıdır. T şeklinde hyalin bir kıkırdak ile bunun iç yüzünü örten bulbar konjunktiva ve dış yüzünü örten palpebral konjunktiva ile bölgedeki salgı bezlerinden ibarettir. Üçüncü göz kapağının hem palpebral yüzü ve hem de bulbar yüzü nonkeratinize çok katlı epitelden oluşmaktadır. Bezler, hem iç ve hem de dış yüzlerde kıkırdağın kök kısmına yakın yerleşmiş olup; at ve kedilerde seröz, ruminantlar ve köpeklerde serömüköz bez karakteri gösterir. Köpeklerde yapılan gözyaşı salgısının yaklaşık % 50'si bu serömüköz bezler tarafından salgılanır. Bulbar yüzde, bez korpus glandulalarının üzerinde bol miktarda küçük lenfoid foliküller bulunur (Samuelson 1999, Gelatt ve Gelatt 2001b, Petersen-Jones 2002, Cook ve ark 2008, Maggs 2008c).

1.1.4. Prekorneal Gözyaşı Tabakası

Prekorneal gözyaşı tabakası, korneanın yapısal bir parçası olmamasına rağmen, anatomik ve fonksiyonel olarak korneayla yakından ilişki içerisindedir. Kornea, prekorneal gözyaşı tabakası ile yakın temas halinde olduğundan gözyaşı tabakasındaki proteinazlar, proteinaz inhibitörleri, büyüme faktörleri ile sitokinlerin korneal yara iyileşmesi ve korneal hücrelerin yenilenme döngüsünde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Ollivier ve ark 2007). Gözyaşının pH'sı 6.5-7.5 arasında ve ortalama 7.25'dir (Akın ve Samsar 2001, Baudouin 2001, Zierhut ve ark 2002). Otonom sinir sisteminin kontrolünde salgılanan gözyaşı tabakası birbirinden farklı olan göz kapaklarındaki Meibomian bezlerinden üretilen lipit (yüzeysel) katman, lakrimal (lacrimal) ile nikitans bezlerinden üretilen orta (akuoz) katman ve konjunktival goblet hücreleriyle korneal epitel hücreleri tarafından üretilen iç (mukoid) katmandan oluşmaktadır (Miller 2008).

Akuoz katman, prekorneal gözyaşı tabakasının en büyük kısmını oluşturduğundan (7 μm), gözyaşının temel fonksiyonları bu katmanda gerçekleşir. Müköz katman, prekorneal gözyaşı tabakasının korneal yüzeye tutunmasını ve korneal yüzeyin kayganlaşmasını sağlar. Lipit katman ise evoporasyonu azaltır ve prekorneal gözyaşı tabakasının yayılmasına izin verir. Prekorneal gözyaşı tabakası genel olarak korneaya oksijen transferini ve optik olaylar için korneanın düzgün bir yüzey oluşturmasını sağlar. Aynı zamanda ölü kornea epitel hücrelerinin uzaklaştırılması ve yangısal hücrelerin korneanın merkezine ulaşmasında aracılık yapar. Kornea ya da konjunktivanın yangılandığı durumlarda gözyaşı tabakası daha asidik yapıya dönme eğilimindedir. Gözyaşında bulunan albumin, immünglobulinler (IgA, IgG, IgD ve IgE), serüloplazmin, transferrin, histamin, plazminojen aktivatörü, komplement, interferon, prostaglandinler, lizozim, β-lizin ve laktoferrin gibi antimikrobiyal proteinlerle gözyaşı tabakası proteinazları enfeksiyöz ajanları kontrol etme ve yüzey gerilimini azaltma görevi görür. Ayrıca korneal ve konjunktival yüzeyin daha iyi bir şekilde gözyaşı tabakasıyla kaplanmasını sağlar (Morreale 2003, Brooks ve Ollivier 2004, Cook ve ark 2008, Miller 2008).

1.2. Korneadaki Fizyolojik Olaylar

Hayvan türlerinde göz ve optik sistem fizyolojisi hakkında yeterli düzeyde bilgi sahibi olunması klinik oftalmolojide oldukça önemlidir. Pekçok diagnostik prosedür, oküler ilaçlar, oftalmik hastalıklar ile cerrahi uygulamalar için gözün yapıları ve fizyopatolojisi ile birlikte normal fizyolojisinin iyi anlaşılması gereklidir. Gözün korunmasında en önemli faktör korneanın duyarlılığıdır. Korneada meydana gelen bir iritasyon refleks olarak göz kapaklarının hızlı bir şekilde kapanmasına neden olur. Korneadaki bu duyarlılık, hayvan türüne, iritasyon bölgesine ve başın şekline göre tür ve ırka bağlı önemli farklılıklar göstermektedir. Korneal duyarlılık periferde merkeze kıyasla daha yüksektir. Korneanın innervasyonu, trigeminal sinirin oftalmik dalları aracılığıyla olmaktadır. Korneanın periferindeki sinirler miyelinli iken; merkezdekiler kavisli bir seyir izledikleri için miyelinlerini kaybederler. Korneanın duyusal lifleri akson refleksi adı verilen bir reflekse sahiptir. Bu durum, herhangi bir stimülasyon durumunda miozis, hiperemi, oküler hipertansiyon ve humor akuoz protein seviyesindeki artışla kendini göstermektedir (Gum ve ark 1999, Gelatt ve Gelatt 2001a).

Kornea, sklera ile birlikte bulbus oculinin şeklini ve göz içi basıncının muhafazasını sağlar. Korneanın sağlıklı durumunun sürdürülmesi; prekorneal gözyaşı tabakası, humor akuoz, göz içi basıncı ve göz kapaklarına bağlıdır. Bunlardan herhangi birindeki problem, korneada saydamlık kaybına ve dolayısıyla da görüş kaybına neden olan korneal hastalığa yol açabilir (Gum ve ark 1999).

Kornea saydam yapısıyla göze gelen ışığın en fazla kırıldığı bölümdür. Korneanın saydamlığı; yapısında kan ve lenf damarları ile bu sistemlere ait hücrelerin bulunmamasına, pigment içermemesine, nonkeratinize yüzey epiteline, depolanmış mineral ya da lipitlerin bulunmamasına, sıvı dengesinin korunmasına, stromanın düzenli yapısına ve gözyaşı tabakası tarafından sağlanan düzgün optik yüzeye bağlıdır. (Samuelson 1999, He ve Bazan 2006, Maggs 2008a). Korneada saydamlığı bozan nedenler arasında; ödem, skar (granülasyon dokusu) oluşumu, pigmentasyon, korneal stroma içindeki infiltrat ve hücrelerin bulunması ile kan damarlarının oluşması (neovaskülarizasyon) sayılabilir (Gelatt ve Gelatt 2001a, Maggs 2008a).

Kornea dokusunun enerji ihtiyacı glikoz metabolizması ile karşılanır. Korneanın avasküler bir yapıya sahip olması nedeniyle oksijen ihtiyacı; humor akuoz'dan, limbusun kapiller pleksusu ve palpebral konjunktivanın kapillar damarlarından ve prekorneal gözyaşı tabakası ile alınan atmosferik oksijen aracılığıyla sağlanır. Endotel tabakası ve stromanın posteriorü daha çok humor akuoz'dan beslenirken, anterior kornea daha çok prekorneal gözyaşı tabakasından alınan atmosferik oksijenle beslenmektedir. Kornea epiteline oksijen girişinin engellenmesi anaerobik glikolize yol açar. Bu da kornea dokusunda laktik asit ve su birikimine dolayısıyla da kornea ödemi oluşumuna neden olur. Korneanın sıvı hacmi, kollajen fibrillerin ayrılması veya düzensiz dizilişi, optik yüzeydeki değişiklikler, prekorneal gözyaşı tabakasının olmaması ve kornea epitelinin kalkması gibi nedenler korneal saydamlığı etkiler (Gum ve ark 1999, Maggs 2008a).

Korneanın temel optik fonksiyonu, göze giren ışık ışınlarını kırmaktır. Kornea ile sağlanan ışık kırılımı, gözün toplam refraksiyon yeteneğinin % 70'ini oluşturmaktadır. Kornea tarafından kırılan ışık, lensin de yüksek odaklama yeteneğinin desteği ile retinada odaklanır. Kornea ile sağlanan normal ışık kırılımı,

korneanın saydamlığı ve konkavitesinin devam ettirilebilmesine bağlıdır (Wilkie ve Whittaker 1997).

Korneal dehidrasyon birçok faktöre bağlı olarak sağlanır. Epithelium ve endotheliumun bütünlüğünün korunması, humor akuoz ve gözyaşının kornea içerisine girişine karşı iki yollu bir bariyer oluşturur. Kornea epitelinin kaybı korneal hidrasyondan dolayı kornea kalınlığında % 200 oranında artışa neden olurken; endotel kaybında ise bu durum % 500 oranında kalınlık artışıyla sonuçlanır (Wilkie ve Whittaker 1997, Gum ve ark 1999, Samuelson 1999).

Korneal ödemin sebebi göz içi basıncı artışıdır. Bu durum, basınç normale döndüğünde düzelir. Bu olay, humor akuozun korneaya geçişi, endotelyal fonksiyon kaybı, stromal kollajen fibrillerin gerilmesine bağlı olarak stromanın düzenli yapısının bozulması veya bunların bazılarının birlikte görülmesiyle ortaya çıkar (Gum ve ark 1999).

1.3. Korneada İyileşme Olayları

Korneanın her katmanı farklı oran ve derecelerde, farklı mekanizmalar yoluyla iyileşir (Maggs 2008a). Korneanın iyileşmesi özel bir süreçtir. Oküler yüzeyin iyileşmesi korneal ve konjunktival epitelin rejenerasyon kapasitesiyle yakından ilişkilidir (Reim ve ark 1997).

Kornea hasarlarında iyileşme 3 farklı kategoride incelenmektedir. Bunlar; epithelium, stroma ve endothelium katmanlarının iyileşmesidir (Maggs 2008a).

1.3.1. Epitheliumun İyileşmesi

Kornea epitheliumu yüksek bir rejeneratif kapasiteye sahiptir (Maggs 2008a). Normal korneanın bazal epitel hücreleri her 7 günde bir mitoz bölünmeyle yenilenir (Peiffer ve ark 1999, Gelatt ve Gelatt 2001a, Crispin 2002a). Hasardan sonraki dakikalar içerisinde lezyonun sınırını çevreleyen epitel hücreleri yanlara doğru kaymaya ve etkilenen alanları kaplamaya başlar. Kayma esnasında, limbustaki melanositler önceden saydam olan alanlara taşınırlar ve korneal melanozis halinde gözle görülürler (Maggs 2008a). Bu hücreler kornea lezyonunu 4-7 gün ya da daha kısa bir sürede kapatır (Gelatt ve Gelatt 2001a, Maggs 2008a). Hücreler, oluşan defekti kapatmak için kaydıkça mitoz bölünme gerçekleşir ve çok katlı epitel dokusu

restore edilmiş olur (Whitley ve Gilger 1999, Akın ve Samsar 2001, Maggs 2008a). Bu arada ilk kayan hücreler, yüzey epitel hücreleri ile bazal hücreler arasında yerleşmiş olan poligonal epitel hücreleri halindeki kanat hücreleridir (Whitley ve Gilger 1999, Gelatt ve Gelatt 2001a). Oluşan yeni epithelium hücrelerinin hemidezmozomlar aracılığıyla bazal membrana sıkıca yapışması sağlanır (Maggs 2008a). Bu aşamada gözyaşı tabakası ile bölgeye ulaşan PMNL'ler tarafından salgılanan proteolitik enzimlerle yara artıklarının proteolitik sindirimle ortadan kaldırılması (debridementi) da sağlanır. Eğer sikatriks şekillendiyse bu olay en az düzeydedir (Collins 2009). Köpeklerde yapılan bir deneysel çalışmada östrojen progesteron kombinasyonunun kornea yaralarında epitel hücre göçünü ve mitozisini arttırarak yaranın kısa sürede kapanmasını sağladığı tespit edilmiştir (Dürgen 2002).

Kornea epitelinin tamamı kaybedilirse dahi defekt sahası, birçok türde 48-72 saat içerisinde konjunktival epithelium hücrelerinin yanlara kaymasıyla tamamen kaplanır. Normalde iyileşen epitel normal korneal epitelden daha incedir. Ancak mitotik hücre bölünmesiyle bu ince epitel normal kalınlığa gelir. Kornea epitelinin yerine gelen konjunktival epithelium, birkaç hafta ile birkaç ay içinde normal korneal epitheliumun morfolojik yapısını kazanır (Whitley ve Gilger 1999).

1.3.2. Stromanın İyileşmesi

Epithelium ve stromanın anterior 1/4'lük kısmını kapsayan daha derin korneal defektlerin iyileşmesi, başlıca epithelial kayma ve stromal replasman ile gerçekleşir (Whitley ve Gilger 1999). Yüzeysel stroma defektleri, epitel hücreleriyle doldurulur. Derin defektlerde ise epithelium kısa sürede defekt yüzeyini örter. Ancak stromada hücresel infiltrasyon ve rejenerasyon olayları gerçekleşir. Rejenerasyon tam olmadığından, iyileşme sonucu oluşan kornea normalden daha incedir. Stromadaki iyileşme epitel iyileşmesine kıyasla daha geç oluşur. Bundan dolayı yeni kollajen oluşumundan önce epitel iyileşir. Stromal rejenerasyon yeni epithelial yüzeyin altında gelişir (Maggs 2008a). Komplike olmayan stroma defektleri, avasküler iyileşme ile rejenere olurlar. Ancak enfekte olmuş yıkıcı lezyonlar, vücudun diğer bölgelerindeki gibi vaskülerize olarak iyileşirler (Cook 1997, Akın ve Samsar 2001, Maggs 2008a, Collins 2009).

Avasküler iyileşme

Gözde gerçekleşen avasküler iyileşme sırasıyla aşağıdaki düzende meydana gelir:

1- Kemotaktik etki ile nötrofiller lezyon sahasına infiltre olarak bölgeyi çevreler. Bu hücreler gözyaşı tabakası, humor akuoz ve limbal damarlardan çıkarak stroma yoluyla bölgeye ulaşırlar.

2- Etkilenen bölgedeki keratositler hemen ölür. Çevredeki sağlıklı keratositler, fibroblastlara dönüşerek bölgeye göç eder. Bu hücreler temel maddenin, kollajen ve mukopolisakkarit sentezini yaparlar. Stromal iyileşme süresince oluşan stromal rejenerayon düzensizdir ve bu durum korneal saydamlığı azaltır.

3- Hasardan yaklaşık 48 saat sonra makrofajlar lezyona yerleşir, hücresel debrisi ortadan kaldırır ve daha geç dönemde keratositlere dönüşür.

4- Sonraki haftalar ve aylar içinde skar yoğunluğu azalır ancak korneadaki defektlerin derinliği ve genişliğine bağlı olarak hayvan türlerine göre farklı sürelerde ödemin kalkması ve kollajen fibrillerin düzenlenmesi sonrasında kornea saydamlığına yeniden kavuşur. Ancak bir miktar sikatriks kalabilir (Maggs 2008a, Collins 2009).

Vasküler iyileşme

Yıkıcı lezyonların vasküler iyileşmesinde hücresel infiltrasyon çok daha şiddetlidir ve lezyon bölgesine limbustan köken alan kan damarları girmeye başlar. Böylece granülasyon dokusu şekillenir ve avasküler iyileşmeden daha yoğun bir skar oluşur. Sonunda vaskülarizasyon durur; ancak tam olarak ortadan kalkmaz. Bunlar hayalet damarlar (ghost vessels) olarak adlandırılır ve ancak slit-lamp mikroskopla gözlenebilirler. Yangı geç dönemde tekrarlarsa bu hayalet damarlar hızlı bir şekilde aktive olabilir ve lezyon sahasında önceki görünümünden daha şiddetli ve kronik bir yangısal klinik görünüm oluşabilir. Yüzeyde oluşan defektler epitel hücreleri tarafından kapatılır. Lezyon sahasında hasara uğrayan sinirler zamanla rejenere olur ve bölgede duyarlılık yavaş bir seyirle yeniden şekillenir (Maggs 2008a, Collins 2009).

1.3.3. Endotheliumun ve Descemet Membranın İyileşmesi

Descemet membranı, hasara uğradığında elastikiyetinden dolayı geri çekilir ve kıvrılarak posterior stromanın küçük bir bölümüne doğru yönlenir. Bölgeyi kapamak için komşu endotelyal hücreler de bu kıvrılmış bölgeye doğru kayar ve yeni descemet membranı şekillenir (Maggs 2008a). Ancak geniş lezyonlarda endothelium bölgeyi kapayamaz ve bölge şişerek stroma ödematöz bir durum alır (Akın ve Samsar 2001, Maggs 2008). Endotheliumun rejenerasyon yeteneği türe ve yaşa göre değişir. Ancak yaşlı hayvanlarda daha zayıftır (Crispin 2002a, Maggs 2008a).

1.4. Korneada Gözlenen Patolojik Reaksiyonlar

Sıkı ve avasküler yapıya sahip olması sebebiyle korneada meydana gelen patolojik reaksiyonlar ve iyileşme hızı oldukça yavaştır ve değişken bir özellik gösterir. Korneal hastalıkların ilk belirtisi, korneal saydamlığın kaybolmasıdır. Saydamlığın kaybı damarlaşma, pigmentasyon, fibrozis (skarlaşma), hücresel ve hücresel olmayan infiltrasyon ya da ödem sebebiyle oluşabilmektedir. Bu yüzden bu durum kornea için çok önemlidir. Korneal bozukluklar eksojen, endojen ve diğer oküler doku kaynaklı olabilmektedir (Morreale 2003, Maggs 2008a).

Korneal hastalıklarda oluşan patolojik durumlar; ödem, damarlaşma, sikatriks gelişmesi, pigmentasyon ve hücresel infiltrasyon, lipid ve mineral birikimi ve stromal yumuşamadır (Maggs 2008a).

1.4.1. Ödem

Kornea içine sıvı girişinin kontrolü ve kısmi dehidrasyon durumunun korunması korneal saydamlık için çok önemlidir (Maggs 2008a). Korneal ödem, stroma içerisine aşırı sıvı girdiğinde ortaya çıkar ve kollajen lamellerde ayrılmaya sebep olur (Wilkie ve Whittaker 1997, Whitley ve Gilger 1999, Crispin 2002a, Maggs 2008a). Bu da korneal saydamlıkta bozulmayla sonuçlanır. Endotel tabaka stromanın sıvı dengesinin sağlanmasında epitheliuma göre daha önemli bir fonksiyona sahiptir. Epithelium ve endotheliumun her ikisinin de fonksiyonu bozulduğunda stromal ödem ve sonucunda saydamlık kaybı oluşur (Crispin 2002a, Maggs 2008a). Korneal ödem spesifik bir hastalık değildir ancak korneal hasarın bir

belirtisidir (Crispin 2002a). Korneal ödem, nedene bağlı olmaksızın puslu mavi renkte görülür (Maggs 2008a). Anterior epiteldeki bir hasarda, fokal bir alanda ödem gözlenirken kimyasal ya da termal yanıklar gibi daha geniş alanları etkileyen yaralanmalarda daha yaygın bir korneal ödem gözlenir. Korneal ödem, sıvı dengesi tekrar kurulur ya da asıl neden ortadan kaldırılırsa düzelebilir. Şiddetli korneal ödem epithelial bulla (bullous kerathopaty) oluşumuna neden olabilir ve bazen de vaskülarizasyonla sonuçlanabilir (Akın ve Samsar 2001, Miller 2001, Crispin 2002a, Maggs 2008a, Towsend ve ark 2008).

1.4.2. Korneal Damarlaşma (Neovaskülarizasyon)

Normal kornea kan damarlarına sahip değildir. Damarlar, korneal stromaya keratit, kimyasal yanıklar ve viral etkenler gibi çeşitli patolojik etkilere cevap olarak ve özellikle de vaskülarize stromal iyileşme sırasında girer (Kwon ve ark 2005, Maggs 2008a). Korneal damarlaşma yüzeysel, derin veya her iki şekilde de olabilir. Yüzeysel damarlar stromanın ön 1/3'lük bölümünde oluşur ve ağaç benzeri bir görünüme sahiptir. Damarlaşma limbustan tek bir damar olarak başlar ve buradan kornea içerisine yoğun olarak dallanır. Derin intrastromal damarlar daha çok çit benzeri şekilde görünür. Kan damarları kısa ve düz şekilde seyrederler, dallanma azdır. Gözlenen damarların derinliği, genellikle lezyonun derinliği hakkında bilgi verir. Çünkü derin damarlar korneal stromal ya da intraoküler hastalıklarda gözlenirken, yüzeysel damarlar genellikle korneal epithelial hasarlarda gözlenir. Komplike ve kalıcı lezyonlarda şiddetli damarlaşma ile birlikte granülasyon dokusu oluşur (Maggs 2008a).

Damarlaşmayı uyaran faktörler arasında; spesifik immün kökenli yangı, prostaglandinler gibi kimyasal medyatörler, korneal oksijen yoğunluğundaki değişimler, vasküler endotelyal büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor - VEGF) gibi hücre çoğalma ve büyüme faktörleri ile korneanın fiziksel bozuklukları sayılabilir (Akın ve Samsar 2001, Crispin 2002a, Kwon ve ark 2005, Maggs 2008a). Spesifik olmayan yangının ilk hücreleri olan PMNL'ler, vaskülarizasyona neden olan etkenlerden birisidir. Vaskülarizasyonu uyaran nedenler çeşitlidir ve önemli olan bunların derecesi ile devamlılığıdır. Bununla beraber, vaskülarizasyonun stromal iyileşmede faydalı olduğu da bilinmektedir. Korneal yara iyileşmesinde hasarlı dokunun rejenerasyonu, yeniden biçimlenmesi ve onarımı için neovaskülarizasyon

çok önemlidir (Ye ve ark 2006). Ancak damarlaşma korneal saydamlığı azaltır, pigmentasyon artışına sebep olur. Bazı durumlarda taşıdığı antikor ve yangı hücreleri de korneal saydamlığı olumsuz yönde etkiler (Akın ve Samsar 2001, Maggs 2008a), şiddetli vakalarda ise körlüğe neden olabilir (Ma ve ark 2004).

1.4.3. Sikatrizasyon (Skarlaşma-Fibrosis)

Korneada yanığa bağlı oluşan perforasyon sonrasında gözde skar gelişerek göz küresinin hareketliliği sınırlanır. Şiddetli konjunktival skar, göz kapaklarının bozulması ile symblepheron'a (simblefaron), trichiasis'e (trişiyazis), lagophtalmus'a (lagoftalmus) ve oküler yüzeyde tekrarlayan sekonder hasara yol açar. Bu vakaların iyileşmesi, kornea yanıklarından sonra başlayan ve sonrasında da devam eden yangısal reaksiyonlar nedeniyle genellikle zor bir hal alır (Reim ve ark 1997). Kornea stromasının hasara uğramasıyla onarım, keratositler, fibroblast ve makrofajların yardımı ile gerçekleştirilir. Bu hücreler tarafından yapılan kollajen fibrilleri düzensizdir ve ışığı geçirmez. Bu aşamada sikatriks, yangının baskılanmasıyla büyük oranda geriletilebilir ancak asla ortadan kaldırılamaz (Akın ve Samsar 2001, Maggs 2008a). Sikatriksin ortadan kaldırılması genç hayvanlarla sığır, koyun ve kedilerde daha kolaydır. At ve köpeklerde ise sikatriks bölgesinde pigmentasyon şekillenebilir. Köpeklerde bu bölgelerde lipit birikimi görülebilir. Lezyonun derinliği arttıkça sikatriks daha koyu ve kalıcı bir hal alırken; korneal saydamlığın geri dönüşümü güçleşir. Korneal sikatriks, fibröz proliferasyonla ilişkilidir ve klinik olarak kornea ödeminden ayrılması gerekir. Kornea sikatriksinde kornea kalınlığı normal ya da azalmıştır. Bununla birlikte kornea ödeminde, kornea kalınlığının arttığı gözlenir. Kornea sikatriksinin görünümü, normal korneanın lamellar çatı noksanlığında yeni prolifere olan keratositler ve biriken kollajenden dolayı korneal ödem görünümüne göre daha yoğundur. Korneada sikatriks dokusu, yara iyileşmesinde beklenen bir sonuçtur. Ancak aşırı şekillendiğinde göz fonksiyonu için zararlıdır. Kornea sikatriksi daha çok derin stromal ülser iyileşmesiyle birlikte gözlenir. Korneal ülser iyileştikten sonra lokal ve sistemik steroidlerin kullanılması fibroplaziyi inhibe edip, vaskülarizasyon ve pigmentasyonu da azaltarak bulanıklığı sınırlandırabilir ve sonuçta saydamlığı sağlayabilir (Maggs 2008a).

1.4.4. Korneal Melanosis

Korneal pigmentasyon ya da keratitis pigmentosa olarak da adlandırılan korneal melanosis, bir tanıdan ziyade kronik korneal irritasyonun spesifik olmayan bir belirtisidir. Korneal yangı sırasında limbusta bulunan melanositlerin genellikle epitheliuma, bazen de anterior stromaya migrasyonuyla korneada pigment birikimi meydana gelir. Melanosise neden olan kronik olaylardan bazıları, lagophthalmus, facial sinirde fonksiyon kaybından dolayı gözün sürekli açık kalması, distichiasis, entropion gibi fiziksel iritasyonlar, keratoconjunctivitis sicca gibi prekorneal gözyaşı tabakası anormallikleri ya da kronik süperficial keratoconjunctivitis (pannus) gibi kronik immunolojik stimülasyon sayılabilir. Bu gibi olaylarda çoğunlukla uyarının ortadan kaldırılması ile pigmentasyon durdurulur. Kronik uyarı ya da prekorneal gözyaşı tabakasının olmadığı durumlarda kornea kalınlaşıp keratinizasyon şekillenebilir. Özellikle köpek ve atlarda şiddetli kornea yangısı ve vaskülarizasyon büyük stroma pigmentasyonuna yol açar (Maggs 2008a).

1.4.5. Hücresel İnfiltrasyon

Yangısal hücrelerin korneal stroma içerisine infiltrasyonunda kornea sarımtırak yeşil bir renkte gözlenir. Bu durum genellikle bir enfeksiyona ya da korneal yabancı bir cisime karşı oluşan reaksiyonla meydana gelir. Atlarda en yoğun biçimde gözlenirken, köpeklerde kedilere kıyasla daha yaygın gözlenir. Yangı hücreleri korneaya; prekorneal gözyaşı tabakası, limbus, yeni şekillenen korneal damarlar ve humor akuoz aracılığıyla uveal alandan gelerek hızlı bir şekilde birikirler. Korneal sitoloji ile birlikte kültür ve duyarlılık testleri yapılarak geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine başlanması gerekir. Yangı hücreleri; lenfokinler, dejeneratif enzimler ve serbest oksijen radikalleri gibi kemotaktik maddeler salgılayarak defekt sahasında kendileri gibi yangı hücrelerinin sayısını daha da arttıran bir etki gösterir. Bu durum önlenmediği takdirde yangı hücreleri, mikroplar ve korneal hücrelerden salınan litik enzimler kollajenolizis'e (collegenolysis-yumuşama-korneal erime) sebep olabilir (Maggs 2008a).

1.4.6. Korneada Lipid ve Mineral Birikimi

Kornea içerisinde lipit ve/veya mineral birikimi parlak, kristalize beyaz alanlar şeklinde görülür. Bu birikimler sıklıkla kolesterol ve/veya kalsiyum bileşikleri içerir. Korneanın tüm katmanlarında birikim olabilmesine karşın, çoğunlukla subepithelial birikim olur. Bu yüzden kornea fluorescein boyayı tutamaz. Lipit ve mineral birikimi hem kalıtsal (çoğunlukla köpeklerde corneal lipid dystrophy-korneal lipit distrofi), hem de sonradan yangısal olarak gözlenebilen (köpek ve atlarda corneal lipid degeneration-korneal lipit dejenerasyon) bir durumdur. Lipit distrofisi genellikle ağrısızdır ve her iki gözde gözlenir. Korneal lipit dejenerasyonda ise genellikle tek göz etkilenir ve sıklıkla yangıyla (keratitis, scleritis ya da uveitis) alakalıdır. Lipit birikimi genellikle ülserlerin iyileşmesinde gözlenirken, oküler travmaların iyileşmesinde de bazen görülebilmektedir. Ayrıca bazen uzun süreli kortikosteroid kullanımına bağlı olarak da lipit birikimi gözlenebilmektedir (Maggs 2008a).

1.4.7. Stromal Yumuşama (Erime)

Stromal malacia (yumuşama ya da erime); korneal stromaya infiltre olan lökositler (özellikle nötrofiller), mikroorganizmalar, korneal epithelial hücreler ve keratositlerden salınan kollejenaz enziminden dolayı gerçekleşen kollejenolizisin bir sonucu olarak meydana gelir (Maggs 2008a).

1.5. Korneal Hasarlarda Histolojik Parametreler

1.5.1. Proliferating Cell Nuclear Antigen

Proliferating cell nuclear antigen (Prolifere hücre nükleer (çekirdek) antijeni-PCNA), hem normal ve hem de dönüşüme uğramış yeni hücrelerde bulunan bir intranükleer polipeptid antijenidir. Prolifere hücre çekirdek antijeni, hücre bölünmesinin G1 fazında artar, S fazında maksimum seviyeye ulaşır ve G2/M fazında ise azalır (Gan ve ark 1995, Yew ve ark 2001, Kim ve ark 2009, Öznurlu ve ark 2009). Bundan dolayı PCNA yapımı, DNA sentezi yapan hücrelerde gözlenir. PCNA moleküllerinin yarılanma ömrünün yaklaşık 20 saat olduğu bilinir ve hücre mitozundan sonra hem kök ve hem de yeni oluşan hücrelerde PCNA'nın yapım hızı, hücrelerin çoğalma hızıyla bağlantılıdır. Bu yüzden PCNA immunreaksiyonunun,

hücresel çoğalmanın bir işareti olduğundan dolayı epitel hücre proliferasyonun güvenli bir belirleyicisi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Gan ve ark 1995, Gan ve ark 1998, Kim ve ark 2009). Kök hücrelerin kaynağı olan limbal alanda, PCNA-pozitif hücreler çok daha fazladır (Gan ve ark 1995). Korneal yara iyileşmesi sırasında limbal kök hücre aktivitesi ve hücre çoğalmasını saptamada PCNA immunohistokimya yöntemi kullanılır (Ye ve ark 2006).

Alkali yanıklı korneaların vasküler endotheliumunda PCNA yapımının artması, yeni damar oluşumu ve vasküler endotelyal hücre proliferasyonunun çok erken belirtisi olarak düşünülmektedir (Gan ve Fagherholm 2001).

Gan ve ark (1999) hem foto refraktif keratektomilerde ve hem de alkali yanıklarda PCNA pozitivitesinin lökositlerin varlığında arttığını ve bunun korneal iyileşme üzerinde çok önemli etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. PCNA-pozitif hücreler, genellikle epitel katmanın bazal hücrelerinde, hücre çekirdeklerinin kahverengiye boyanması tarzında gözlenir (Gan ve ark 1995, Ye ve ark 2006, Kim ve ark 2009).

Kim ve ark (2009) yaptıkları deneysel çalışmada; korneal epitel iyileşmesinin (reepitelizasyonun) en iyi olduğu tedavi gruplarında, PCNA pozitif hücre sayısının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ye ve ark (2006) ise yaptıkları deneysel çalışmada; proliferasyon hızı yüksek olan mezenkimal kök hücrelerde PCNA aktivitesininde yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

1.5.2. Korneal Hasarlarda Apoptozis

Apotozis; doku gelişimi, homeostazis ve yara iyileşmesi süresince gerçekleşen ve hücre yapısında karakteristik değişikliklerin eşlik ettiği kontrollü ve programlı hücre ölümüdür. Apoptozis geçiren bir hücre, nekrozun aksine yangısal olaylar gelişmeden ve çevresel dokularda hasar oluşturabilecek zararlı bileşenlerini ortama salmadan küçük veziküllere ayrılır (Helena ve ark 1998, Kim ve ark 2005). Hücrede, apoptotik işaretleri kontrol edebilen ve membranda yerleşmiş ölüm reseptörleri vardır. Tümör nekroz faktörleri (tumor necrosis factor-TNF) olarak da bilinen bu reseptör ailesinin aynı zamanda 6 farklı reseptör içeren 24 üyesi vardır (TNF-R, FAS, DR3, DR4, DR5, DR6) (Altunkaynak ve Özbek 2008). Kornea hasarı

neticesinde epitheliumdan salınan interlökin-1 (İL-1) ve Fas ligand'ın (plazma zarında bulunan ve biyolojik olarak aktif bir protein), keratositlerde apoptozisin başlamasında rol oynadığı ileri sürülmektedir (Wilson ve ark 1996, Mohan ve ark 1997, Kim ve ark 2006, Altunkaynak ve Özbek 2008).

Apoptotik süreç, ekstrasellüler olarak ölüm ligandlarının reseptörlere bağlanmasıyla ya da hücre içi olaylar serisini aktive eden iyonize radyasyon, ısı ve hipoksi gibi hücresel stress faktörleri aracılığıyla başlar. Ceramidler (seramitler) apoptozis sürecinde rol oynayan sekonder habercilerdir. Bu sekonder haberciler, TNF-α, fas ligand, radyasyon, antikanser ilaçları, interferon-β, interferon-γ, termal ve kimyasal hasar gibi çeşitli uyaranlara bir cevap olarak salınırlar. Kornea epitel hücrelerinin mekanik hasarı veya viral enfeksiyonun epithelium katmanı altında bulunan keratositlerde apoptozisi tetiklemektedir. Bu duruma hasarlı epitelden salınan sitokinlerin neden olduğu düşünülmektedir (Kim ve ark 2005).

Apoptozis, yapım-yıkım dengesinin sürdürülmesi için hücrelerde yaşam boyunca gerçekleşen bir olaydır. Örneğin kemik iliğinde hücre üretimi devam ederken, günde yaklaşık $5x10^{11}$ kan hücresi apoptozis ile ölmektedir. Bağırsak epitel hücrelerinin sürekli biçimde yenilenmesi, apoptozisle gerçekleşir. Apoptozis süreci ayrıca ısı şoku, radyasyon, hipoksi, etanol ve ağır metallere maruz kalma gibi durumlara cevap olarak da aktive olabilir (Ohyama ve ark 1985, Allan ve Harmon 1986, Dyson ve ark 1986, Lennon ve ark 1991). Apoptozis; kesin karar verme, uygulama ve temizleme olmak üzere üç evrede gerçekleşir. Karar evresinde hücre letal apoptotik uyarıyı alırken, uygulama evresi; kromatin kondenzasyonu, sitoplazma büzülmesi, hücre zarında tomurcukların şekillenmesi, DNA parçalanması ve apoptotik cisimciklerin şekillenmesi gibi hızlı hücresel değişiklikleri kapsar. Bu değişiklikler çeşitli enzimlerin (proteaz, lipaz ve nükleaz) aktivasyonu sonucu gerçekleşir. Temizleme evresinde ise; apoptotik cisimcikler, özel makrofajlar (tingible body macrophages-TBM) veya komşu hücreler tarafından fagosite edilir (Samali ve Orrenius 1998).

Apoptozis ve nekrozis arasındaki temel fark, meydana gelen hücre ölümünün sonucunda anlaşılır. Apoptotik hücreler içeriklerini ekstraselüler alana sızdırmazlar ve fagosite edilmeden önce genetik içeriklerini yıkımlarlar. Bütün bu olaylar virüsle enfekte hücreler ve aktive olmuş zararlı granüller içeren sitotoksik T lenfositlerin

ortadan kaldırılmasında büyük önem taşımaktadır. Bu bakımdan apoptozisin hücre ölümünün temiz bir yolu olduğu ifade edilmektedir (Abastado 1996, Altunkaynak ve Özbek 2008).

Apoptozis ve proliferasyon, uygunsuz şekilde çoğalan hücreleri belirlemek ve ortadan kaldırmak için gerekli olduğundan bu iki olay sıkı bir bağlantı içerisindedir. Hücre döngüsü düzenleyicileri, hem hücre bölünmesini hem de hücre ölümünü etkileyebilmektedirler (King ve Cidlowski 1998, Vermaulen ve ark 2003).

Programlı hücre ölümü olarakta bilinen apoptozis, hücre çoğalması ve farklılaşması kadar önemli bir süreçtir. Apoptotik hücre ölümü, genomik DNA'nın parçalanmasıyla karakterize olan ve aktif bir genin kendisini imha etme sürecidir. Bu olgu, parçalanan DNA'ların etiketlendiği yerde terminal deoxynucleotidyl transferase Tdt-mediated dUTP-biotin nick-end labeling (TUNEL) adı verilen metod kullanılarak saptanabilmektedir (Yew ve ark 2001).

Normalde korneal stroma ve endotel katmanda apoptozis görülmemesine rağmen epitheliumda çok az da olsa gözlenebildiği ileri sürülmektedir (Ren ve Wilson 1996, Podskochy ve ark 1998, Estil ve ark 2002). Tavşanlarda yapılan bir çalışmada, korneaya ultraviyole (UV) radyasyon uygulamasını takip eden 2 ve 3. günlerde epitel hücrelerin yaklaşık yarısında apoptotik hücreler görüldüğü ortaya konmuştur (Estil ve ark 2002). Podskochy ve ark (1998) ise; 280 nm-UV radyasyonunun uygulama sonrası 24. saatte korneal epitelde kayıplara neden olarak hem epitel katmanında ve hem de stromal keratositlerde önemli oranda apoptozise neden olduğunu, korneanın geri kalan kısımlarında apoptozis görülmediğini belirtmişlerdir. Ultraviyole radyasyon uygulandıktan sonraki 72. saatte ise 2-3 katlı bir reepitelizasyonun geliştiği ve bu tabakada birkaç adet apoptotik hücreye rastlandığını gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacıların 310 nm UV uyguladıkları grupta ise 24. saatte hasarın korneanın endotel katmanına kadar ilerlediğini, tüm stromal kalınlık boyunca ve epiteliyal hücrelerde yaygın bir apoptozisin gözlendiğini belirtmişlerdir. Radyasyon uygulamasını takip eden 72. saatte ise keratositlerin tamamen kaybolduğunu ve sadece birkaç epitel hücresinde apoptozis görüldüğünü bildirmişlerdir. Glassq ve ark (1993) ise; kimyasal abrazyondan sonra rat korneal epitheliumunun rejenerasyon aşaması süresince kahverengi hücrelerin görülmesini, korneal epithelium içerisinde apoptotik hücrelerin bulunmasına bağlamaktadırlar.

1.5.3. Nitric Oxide ve Nitric Oxide Syntase

Nitric oxide (nitrik oksit-NO), nitric oxide syntase (nitrik oksit sentetazlar-NOS) aracılığla üretilen ve çeşitli fizyolojik, inflamatuvar ve sitotoksik olaylarda önemli bir mediyatör olduğuna inanılan bir serbest radikaldir (Meisler ve ark 2004). Nitrik oksit sentetazlar 2 ana gruptan oluşur. Bunlardan biri vücutta üretilen temel NOS (constitutive NOS - tNOS), diğeri ise indüklenebilir NOS (inducible NOS - iNOS)'tur. Temel NOS kalsiyuma bağımlıdır ve iki farklı izoformu vardır. Bunlardan birincisi sinir doku formu olan neuronal NOS (nNOS), diğeri ise endothelial form olan endothelial NOS (eNOS)'tur. iNOS ise bunların aksine kalsiyuma bağımlı değildir. iNOS özellikle interleukin-1β (IL-1β), TNF-α ve lipopolisakkarid (LPS) gibi sitokinlerin sitümülasyonundan sonra fibroblastlar, makrofajlar ve corpus ciliare-iris epitheliumu gibi pekçok hücre tarafından yapılır (Chiou 2001, Kim ve ark 2002, Schwentker ve ark 2002). Sığır korneal endotel hücreleri ve keratositlerinin de in vitro olarak iNOS aracılığıyla büyük miktarlarda NO saldığı ve bu NO'nun in vivo yangısal korneal hastalıklarda rol alabileceği bildirilmiştir (Dihiero ve ark 1997).

Normal şartlarda NO, pikomolar seviyelerindeki küçük miktarlarda (10^{-12} M), bir substrat olan L-arginin aracılığıyla tNOS'lardan üretilir. Üretilen NO, guanyl cyclase'ı (guanil siklaz) aktive ederek cyclic guanyl monophosphate (siklik guanil monofosfatın-cGMP) yapımına aracılık eder. Bu durum sırasıyla vazodilatasyon, oküler kan akımında artış, göz içi basıncının azaltılması, platelet kümeleşmesinin önlenmesi, PMNL kemotaksisinin önlenmesi, merkezi ve perifer sinir sisteminde uyarı iletimi, tümör hücrelerinin azaltılması gibi çeşitli biyolojik olayların gerçekleşmesinde rol oynar. Anormal durumlarda ise nanomolar (10^{-12} M) seviyelerindeki büyük miktarlarda NO, L-arginin'den iNOS aracılığıyla üretilir. Bu yolla oluşan NO, daha fazla oksidasyona uğrayarak nitrat, nitrit, peroksinitrit ve serbest radikallerinin üretilmesine neden olur. Peroksinitrit ise; lipit peroksidasyonu, sülfidril gruplarının oksidasyonu, aromatik bileşiklerin nitrasyonu ve hidroksilasyonuna sebep olarak çeşitli canlı dokularda yıkıcı etkileri olduğu kanıtlanmış olan önemli bir biyolojik oksidandır. Bunların sonucu olarak hücrelerin biyolojik fonksiyonlarında değişimler, DNA hasarı ve apoptozis ile birlikte nörotoksisite, optik sinir dejenerasyonu ve çeşitli göz hastalıkları şekillenebilir

(Chiou 2001, Howe ve Boothe 2001, Kim ve ark 2002, Schwentker ve ark 2002, Meisler ve ark 2004).

Nitrik Oksit'in yara iyileşmesinde angiogenezisi teşvik ettiği bilinmektedir (Howe ve Boothe 2001, Bonfiglio 2006). Bu durum, özellikle damar endotel hücrelerinden VEGF'nin salınmasında doğrudan artışa neden olur. VEGF'nin salınması NOS inhibitörleriyle engellenebilir (Rizk ve ark 2004). Schaffer ve ark (1999) NOS blokörü olan N-nitro-L-arginine methyl esteri'nin (L-Arginin Nitro Metil Ester -L-NAME) tavşan korneasında ve yara iyileşmesi sırasında kollajen sentezini yavaşlattığını, Ziche ve ark (1997) ise VEGF nedenli angiogenezisi engellediğini bildirmişlerdir. Kim ve ark (2002), gözde NO donörü kullanılarak yapılan tedavinin in vitro olarak kornea fibroblastlarının ölümünü engellediğini ortaya koymuşlardır. Bu bulgular, oküler yüzey hücreleri üzerine NO'nun doza bağlı iki yönlü bir etkiye (hücrenin hayatta kalması) sahip olduğunu ortaya koymuştur (Bonfiglio ve ark 2006). Nitrik oksit ve yangı arasındaki ilişki, hem NO'yu hem de yangıyı baskılayan inhibitör NOS tedavisiyle teyit edilmiştir. Mevcut sonuçlar, NO'nun korneal yara iyileşmesinde olumlu etkisini desteklemektedir ve NO donörü ile tedavinin korneal onarım sürecini hızlandırdığı ve bu süreç üzerine α-melanosit stimülan hormon (alpha melanocyt stimulant hormone-α-MSH) salınımını sitümüle ettiği gösterilmiştir (Bonfiglio ve ark 2006).

Nitrik oksit, doku fibrozisinin önlenmesinde önemli bir role sahiptir. Bu etkisini kollajen oluşumu, hücre proliferasyonu ve yara kontraksiyonunu düzenleyerek gösterir (Howe ve Boothe 2001, Ferrini ve ark 2002, Witte ve Barbul 2002). Gaz halinde NO'nun hem aseptik hem de purulent deri yaralarında iyileşme süresini kısalttığı bildirilmiştir. Paradoksal olarak gaz NO'nun yara dokusunda yüksek miktarda üretilen eksojen NO ve süperoksit anyonları arasındaki reaksiyondan dolayı sınırlı miktarlardaki peroksinitrit oluşumu yoluyla yararlı olabildiği düşünülmektedir. Peroksinitrit güçlü bir peroksidan etkiye sahiptir ve yaralı dokuda süperoksit anyonlarının miktarını azaltan çeşitli antioksidan sistemleri aktive edebilir. Azalan süperoksit seviyeleri gaz uygulanan dokularda endojen NO düzeyinde artışa neden olur. Bu yüzden tedavinin yararlı etkisi, ortamda NO'nun artmasına bağlanmaktadır (Shekter ve ark 2005).

Stallmeyer ve ark (1999), ratlarda deneysel olarak oluşturulan eksizyonel yaralarda selektif iNOS inhibitörüyle yapılan tedavi sonucu reepitelizasyonun ciddi bir şekilde bozulduğunu ve iNOS'un normal yara reepitelizasyonu için hayati bir öneme sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Lee ve ark (2001), ratlarda yaptıkları bir deneysel çalışmada, kutanöz yara iyileşmesinde NOS aktivitesinin yaralanmadan sonraki 24. saatte pik yaptığını ve 10. güne kadar üretiminin devam ettiğini bildirmişlerdir.

Doku hasarından sonra iNOS aracılığıyla NO'nun lokal artışı normal yara iyileşmesini hızlandırır. NO donörleriyle NO'nun ortama verilmesi yara iyileşmesini hızlandırırken, NO inhibitörleri ise yara iyileşmesini geciktirir. Nitrik oksit, yara iyileşmesine anjiyogenez ve kollajen sentezini artırarak katkı sağlar (Howe ve Boothe 2001).

1.6. Kimyasal Göz Yanıkları

Dünyada Kimyasal Abstrakt Servis'e (Chemical Abstract Service-CAS) kayıtlı 70 milyondan fazla organik ve inorganik kimyasal madde bulunmaktadır (CAS 2013). Bunların yaklaşık 600 bin tanesi farklı endüstriyel alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır ve her yıl binlerce yeni molekül çeşitli araştırmalarla bu sayılara eklenmektedir. Kimyasal yanığa sebep olabilme potansiyeli olan kimyasal madde sayısı yaklaşık 25 bin'dir (Mathieu ve ark 2006). Kimyasal göz yanıkları koroziv veya iritan bir kimyasal maddenin göz dokusunun bir ya da birden fazla biyokimyasal bileşeni arasında meydana gelen kimyasal reaksiyonun bir sonucu olarak ortaya çıkar (Mathieu ve ark 2006). Kimyasal göz yanığı; kimyasal bir maddenin gözün koruyucu mekanizmalarını ortadan kaldırabilecek miktarda, sürede ve hızda oluşturduğu yangısal bir süreç olarak da tanımlanmaktadır. Yanığın derecesinde etkenin konsantrasyonu ve temas süresi çok önemlidir. Oküler kimyasal yanıklarda, göz iritan ve koroziv bir kimyasal maddeyle temas ettiğinden canlı dokulardaki hücrelerin biyokimyasal bileşenlerinde az ya da çok miktarda bir yıkımlanma gözlenir. Gözde iritasyon ve korozyon yapma yeteneğine sahip maddeler arasında; asitler, alkaliler, okside edici maddeler, redüktörler, şelatörler, alkilleyici maddeler ve solventler önemli yer tutar (Burgher ve ark 2011).

Kimyasal madde dokuya temas ettiği ilk anlarda çok ciddi bir hasara neden olmaz. Ancak bu madde derin katmanlara penetre olacak olursa hasarın şiddeti artar. Bir kimyasal maddenin etkinliği; kimyasal maddenin tabiatı ile konsantrasyonuna, kimyasal reaksiyonun şiddetine, temas süresi ile kimyasal maddenin fiziksel özelliğine (katı, sıvı vb.) ya da spesifik kullanım şekline (yüksek basınçlı veya yüksek sıcaklıkta olması vb) bağlıdır. Gözde görülen kimyasal kazalar oküler yapıların diğer dokulara göre hassas bir yapıya sahip olmaları nedeniyle daha önemlidir (Burgher ve ark 2011).

1.6.1. Alkali Maddeler

Alkali yanıklara en fazla sebep olan kimyasal maddeler amonyak (NH_3), sodyum hidroksit (NaOH, kül suyu), potasyum hidroksit (KOH), magnezyum hidroksit ($Mg[OH]_2$) ve kalsiyum hidroksit ($Ca[OH]_2$, kireç)'tir (Christmas 1991, Wagoner 1997, Kuckelkorn ve ark 2002).

Alkaliler, artı yüklü katyon ve hidroksil gruplarının bileşiminden oluşur. Hidroksil molekülü (OH), hücredeki biyolojik membranların yağ asidi içeren bölümlerinde sabunlaşmaya yol açarak hücre yıkımlanmasına ve ölümüne neden olurken, katyonlar alkali maddenin dokulara penetrasyonunda etkilidir. Katyonlar, stromal kollajen ve GAG'ların su tutan karboksil gruplarıyla (COOH) tepkimeye girer. Glikozaminoglikanların hidrasyonu, kornea stromasının saydamlığında kayba neden olur. Kollajen fibrillerin hidrasyonu bu ipliklerin kalınlaşmasına ve kısalmasına neden olur. Bu durum, trabeküleda yapısal bozulmaya neden olur ve salgılanan prostaglandinler yoluyla intraoküler basıncın yükselmesine yol açabilir. Bu değişiklikler, genellikle alkali bir yanıktan hemen sonra şekillenir (Morgan 1987, Christmas 1991, Wentworth ve ark 1992, Wagoner 1997, Merle ve ark 2005). Alkalinin pH'sı 11.5'in üzerinde ise hasarın restorasyonu mümkün değildir (Kuckelkorn ve ark 2002).

Penetrasyonun derecesine bağlı olarak kornea ve konjunktiva epitheliumu, bazal membranı, stromal keratositler ve sinir sonlanmaları, endothelium, lens epitheliumu, konjunktiva, episklera, iris ve corpus ciliare'nin vasküler epitel tabakası hasara uğrayabilir (Morgan 1987, Christmas 1991, Reim ve ark 1997, Wagoner 1997, Campos 2003, Merle ve ark 2005).

1.6.2. Asidik Maddeler

Asitler, yapısında artı yüklü hidrojen (H^+) ile eksi yüklü bir anyonun birleşmesiyle oluşan kimyasal maddelerdir. Asitlerde, anyon grubu korneal epithelium ve yüzeysel stromal proteinlerde denatürasyona yol açarken; hidrojen katyonu pH değişiminden dolayı hasara sebep olur. Proteinlerde meydana gelen koagülasyon ve denatürasyon, asitlerin derin dokulara penetrasyonunu engellemek için fonksiyonel bir bariyer oluşturarak korneal hasarın derinlere ilerlemesini engeller ve bu durum epitel tabakada karakteristik bir görüntü olan "buzlu cam" görüntüsünü oluşturur (Christmas 1991, Wagoner 1997, Kuckelkorn ve ark 2002). Stroma, genellikle nekrotik epitel katmanın uzaklaştırılmasından sonra şeffaf görünümünü tekrar kazanabilir (Kuckelkorn ve ark 2002).

Asit kazalarına sebep olan en yaygın asidik maddeler inorganik asitlerden sülfürik asit (H_2SO_4), sülfüröz asit (H_2SO_3), hidroflorik asit (HF), hidroklorik asit (HCl), kromik asit (H_2Cro_4) ile organik asitlerden asetik asittir (CH_3COOH). Bunların içerisinde en ciddi hasara sebep olanı ise HF asittir. Hidroflorik asit ile yanıklar nadiren gözlenir ancak çok tehlikelidir (Spöler ve ark 2007). Eksternal kimyasallardan asitlere karşı şekillenmiş doğal korneal direnç, alkalilere karşı var olan dirence kıyasla daha iyidir. Bunun sebebi, asitlerin lipofilik membranlara penetrasyonunu engelleyen hidrofilik özellikleridir. Hidroflorik asidin lipofilik özelliği, onun hücre membranlarını kolayca geçmesi ve korneanın derin katmanlarına hızlıca penetre olması sebebiyle onu bazik kimyasal maddelere benzer kılmaktadır (Beiran ve ark 1997, Spöler ve ark 2007). Sülfirik asit ise göz yanıklarına en sık neden olan asitlerdendir. Sülfirik asit, prekorneal gözyaşı tabakasındaki sıvılar ile tepkimeye girerek ısı oluşturur ve epithelium ile stromanın kömürleşmesine yol açar (Christmas 1991, Wagoner 1997).

1.6.3. Hidroflorik Asit Göz Yanıkları

Etiyoloji

Hidroflorik asit, başta yarı iletken endüstrisi ve cam sanayisi olmak üzere alüminyum parlatma, deri sanayii, petrokimya ve pas çıkarmada kullanıldığı gibi gübreler, pestisitler ve boya imalatı gibi birçok farklı endüstriyel alanda yaygın bir

biçimde kullanılmaktadır. Diğer asitlerin aksine biyolojik membranların lipit içeren bölgelerinden kolayca geçebilme yeteneğine (lipofilik) sahip olduğu için dokulara kuvvetli bir penetrasyon yeteneğine sahiptir. Flor iyonu, düşük atom ağırlığı ve küçük boyutu sebebiyle korneal stroma içerisine kolayca penetre olarak liqefaksiyon nekrozuyla beraber şiddetli kornea ve ön kamara hasarı oluşturur. Ayrıca derin dokularda kalsiyum ve magnezyum ile şelasyon da oluşturur (Cox ve Osgood 1994, Kirkpatrick ve ark 1995, Matsuno 1996, Beiran ve ark 1997, Wagoner 1997, Kuckelkorn ve ark 2002, Spöler ve ark 2007).

Fizyopatoloji

Hidroflorik asidin oküler yüzeye temasıyla kornea ve konjunktivanın epitel tabakası erozyona uğrar. Bununla beraber korneal stromal ödem, konjunktival işemi ve şemozis meydana gelir (Kirkpatrick ve ark 1995). Hidroflorik asit stromaya penetre olursa, dokularda alkali yanıklara benzer değişiklikler meydana gelir (Kirckpatrick ve ark 1995, Wagoner 1997). Bu durum; ekstraselüler GAG'ların yıkımlanmasına bağlı korneal opasifikasyona (Kirckpatrick ve ark 1995), trabekül yapısında bozulmaya dolayısıyla göz içi basıncında geçici bir artışa, kollajen fibrillerde bozulmaya, ön kamaranın hasarına ve pH değişimine neden olur. Etkisi genellikle 24 saat içerisinde görülmeye başlar. Tedavi edilmez ise; korneal epithelial erozyonlar, keratokonjunktivitis sikka, korneal stromada ilerleyici vaskülarizasyon ve simbleferon gelişebilir (Kirckpatrick ve ark 1995).

Korneal ve intraoküler hasarlara bağlı komplikasyonlar dışında; proksimal-distal bulbar konjunktiva, tarsal konjunktiva ve ön orbital dokularda gelişen hasarla ilişkili olarak, kısa veya uzun süreli komplikasyonlar da gözlenebilir. Bulbar konjunktival dokudaki nekroz; oküler yüzeydeki lökosit infiltrasyonuyla, korneal gözyaşında katepsin-D ve N-asetilglukozaminidazın (NacGA) miktarındaki artış sonucu gelişebilir (Wagoner 1997).

Klinik görünüm ve prognoz

Hidroflorik asit yanıklarının klinik belirtileri şiddetli ağrı, korneal stromada skar oluşumuyla ilerleyici vaskülarizasyon, konjunktival hemoraji, korneal epitelin tekrarlayan bozulması ve erozyonudur. Belirtiler, HF asitle temastan hemen sonra ya

da yıkama işlemini takip eden birkaç saat içerisinde görülmeye başlar (Hatai ve ark 1986). Klinik durum ve prognoz, limbal işeminin yaygınlığıyla ilişkilidir. Prognoz aynı zamanda hasara uğrayan konjunktival ve episkleral dokunun genişliğine, göz kapağındaki yanığın şiddetine ve intraoküler yapılardaki hasara bağlıdır. Birinci ve ikinci derece hafif yanıklarda korneal epitheliumun erozyonuyla birlikte şemozis, küçük konjunktival ekimozlar ve hiperemi gözlenir. Üçüncü ve özellikle de dördüncü derece yanıklarda geniş ve derin doku hasarı gözlenir. Özellikle konjunktival ve subkonjunktival dokuların geniş bir bölgesi hasara uğramış durumdadır. Görünen damarlarda tromboz geliştiğinden görünümleri koyulaşmıştır. Korneal keratositler kaybolur ve denatüre proteinlerin hidrasyonuyla da korneal opasite gelişir (Kuckelkorn ve ark 2002).

Tedavi

Hidroflorik asit yanıklarının tedavisinde temel amaç, temas eden kimyasalın ve meydana gelen yangı ürünlerinin uzaklaştırılmasını sağlayarak hasarlı dokuların tamiri ve en sonunda reepitelizasyonu sağlamaktır (Hatai ve ark 1986, Wagoner 1997).

Genel olarak tüm kimyasal kazalarda olduğu gibi temas sonrası ilk 1-3 dakika çok önemlidir. Kimyasal maddenin temas ettiği göz, olabildiğince erken dönemde toksik olmayan bir sıvı ile yıkanmalıdır. Yıkama için en sık kullanılan uygun sıvılar kaynatılmış ılık su, laktatlı ringer solüsyonu ve dengeli tuz çözeltisidir (balanced salt solution-BSS) (Schrage ve ark 2001, Kuckelkorn ve ark 2002, Probhat ve Sanaz 2007). Laktatlı ringer, tamponlu bir solüsyondur ve normal serum fizyolojikten daha etkilidir. Dengeli tuzlu çözeltinin ozmolaritesi humor akuoz'unkine yakın, pH'sı nötr olup, sodyumun asetat ve sitrat tuzlarını içerir. Dengeli tuz çözeltisi yüksek bir tamponlama kapasitesine sahiptir. Korneanın şişmesini önler ve korneal endoteli korur (Kuckelkorn ve ark 2002). Yıkamadan önce oküler yüzeyin pH'sını değerlendirmek için indikatör kağıtlarından faydalanılabilir. Eğer pH ölçen bu kâğıtlardan yoksa mevcut yıkama solüsyonlarından biriyle en az 1-2 litre kullanarak ya da en az 30 dakika boyunca yıkamaya devam edilmelidir (Probhat ve Sanaz 2007). Lokal anestezikli ajanların uygulanması ya da göz kapaklarının açık tutulması ilk girişimde gerekli olabilir (Morgan 1987, Christmas 1991, Kirckpatrick ve ark 1995, Matsuno 1996, Kuckelkorn ve ark 2002, Schiettecatte ve ark 2003).

Kimyasal göz yanıklarında, olayın ilk birkaç saniyesinde korneal epitheliumda bir kayıp oluştuğu için temas eden kimyasal maddenin yüksek ozmolaritesi sebebiyle oluşan ozmolar yük yanan maddeleri tutar. Yıkama işleminin amaçlarından birise de bu kimyasal yükü uzaklaştırmaktır. Normal çeşme suyu yıkama amacıyla hemen hemen her yerde kolayca bulunabilir ve bol miktarda kullanıldığında seyreltici bir etkiye sahiptir. Ancak intraoküler ortam ve korneal stroma için hipotoniktir. Korneal stromanın ozmolaritesinin 420 mOsm/L olduğu saptanmıştır. Korneal doku, çeşme suyu ile yıkanarak seyreltilebilir. Ancak bu işlem koroziv maddelerin korneanın derin tabakalarına difuzyonuna ve korneal ödemde artışa neden olabilir. Bu yüzden kornea içerisine sıvı girişini önlemek, koroziv maddenin atılımını ve suyun mobilizasyonunu sağlamak için daha yüksek ozmolariteye sahip sıvıların kullanılması önerilmektedir (Kuckelkorn ve ark 2002).

Son yıllarda amfoterler adı verilen, hem asit ve hem de alkalilerle bağlanabilen moleküller kimyasal yanıklarda yıkama solüsyonu olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu aktif yıkama solüsyonları bir osmotik gradient (gradyan-yükselme ve düşme) oluşturarak koroziv veya iritan kimyasalın doku içerisine penetrasyonunu durdururlar. Bunlar diphoterin ve hekzaflorin (hexafluorin) adı verilen maddelerdir. Dokular için iritan olmayan diphoterin, asit ve alkali maddeye bağlanarak bu maddelerin pH'sını fizyolojik sınırlara döndürür (Mathieu ve ark 2006). Hekzaflorin ise; spesifik olarak HF asit kaynaklı göz ve deri yanıklarının dekontaminasyonu amacıyla geliştirilen hipertonik, polivalan bir solüsyondur. Flor iyonlarıyla herhangi önemli bir eksotermik reaksiyon oluşturmadan şelasyon oluşturarak florun kalsiyuma bağlanmasını engeller. Böylece dokuda kalsiyum kaybı engellenmiş olur (Schrage ve ark 2000, Mathieu ve ark 2006). Ancak, yine de hekzaflorinin kalsiyum glukonat veya sodyum klorit gibi klasik yıkama solüsyonlarına karşı tedavi üstünlüğü olup olmadığının yapılacak çalışmalarla gösterilmesi gerektiği bildirilmiştir (Schrage ve ark 2000). Bu amaçla Spöler ve ark (2007) yaptıkları ex vivo bir çalışmada tavşan gözlerinde % 2,5'luk HF asit ile oluşturdukları yanıkta hekzaflorinin hem % 1'lik kalsiyum glukonattan ve hem de çeşme suyundan daha etkili bir dekontaminasyon yaptığını ileri sürmüşlerdir. Ancak, bunun hem canlı hayvanlarda hem de klinik olarak üstünlüğünün kanıtlanması gerektiğini belirtmişlerdir.

Yıkama işleminden sonra hızlı bir oftalmolojik değerlendirme yapmak çok önemlidir. Pupillayı genişletmek için sikloplejik damlalar (Atropin) gerekli olabilir ve bazen kornea içinde fibroblast oluşumunu azaltmak için steroidli damlalarla destekleyici tedavi yapılabilir (Kirckpatrick ve ark 1995). Rubinfeld ve ark (1992) iyileşmeye yardımcı olmak ve ortamdan daha fazla miktarda flor iyonu uzaklaştırılmasını sağlamak için soyulan nekrotik konjunktiva dokusu artıklarını uzaklaştırdıklarını bildirmişlerdir. Bu yaklaşımın gelecekteki deneysel protokollerde yer almasının değerli sonuçlar elde edilmesine olanak sağlayabileceği bildirilmiştir.

Hidroflorik asitli göz yanıkları için klinik ve deneysel olarak hem standart ve hem de kabul edilmiş bir tedavi protokolü yoktur. Çalışmalarda elde edilen sonuçlar da bunu desteklemektedir (Kirkpatrick ve ark 1995, Beiran ve ark 1997, Oğurtan ve ark 2002, Hatipoğlu ve ark 2008). Bu yanıkların tedavisinde toksik özelliği olan flor iyonlarının derin dokulara ilerlemesini önlemek tedavi için çok önemlidir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda önerilen protokoller arasında, gözün serum fizyolojik ile yıkanmasını takiben % 1'lik kalsiyum glukonat solüsyonunun göze damlatılması (Trevino ve ark 1983, Kirckpatrick ve Burd 1995) veya sadece % 1'lik kalsiyum glukonat solüsyonunun göze damlatılması (Upfal ve Doyle 1990) bulunmaktadır. Bununla birlikte, Bentur ve ark (1993), % 1'lik kalsiyum glukonatın HF asit yanıklarında etkili olduğunu belirtirken, Beiran ve ark (1997) ise başka bir çalışmada bunun herhangi bir avantaj oluşturmadığını ileri sürmüştür. McCulley ve ark (1990) ise; tavşanlarda deneysel olarak HF asitle çeşitli konsantrasyonlarda oluşturdukları göz yanığının tedavisinde, kutanöz HF asit yanıklarında kullanılan çeşme suyu, izotonik tuzlu su, magnezyum klorid, lanthanum klorid, % 0,2 hyamine, % 0,03 ve % 0,05 zephiran gibi solüsyonları kullanarak bu maddelerin göz yanıklarının tedavisinde de etkili olup olmadıklarını araştırmışlardır. Söz konusu çalışmada, bu maddelerden sadece çeşme suyu, izotonik tuzlu su ve izotonik magnezyum klorür ile yıkamanın yararlı olduğu gözlenmiştir.

Oğurtan ve ark (2002) tavşanlarda, antiinflamatuvar ve ödem önleyici etkisi bilinen alkanna tinktorya ile blephamide'nin® (sülfasetamid sodyum, prednizolon asetat, fenilefrin hidroklorür) HF asit göz yanığının tedavisinde olumlu, aculaın® (ketorolac tromethamin) ise olumsuz sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Hatipoğlu ve ark (2008) ise tavşanlarda deneysel olarak oluşturdukları HF göz yanığının

tedavisinde laminarin solüsyonunun kitozan jel formulasyonuna kıyasla daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Oftalmik steroidler, antibiyotikler, skopolamin siklolopentolat, uygulamaları HF asit tedavisinde başvurulan değişik alternatif tedavi seçenekleridir (Caravati 1988, Rubinfeld 1992, Beiran ve ark 1997).

1.7. Gözde Yangının Kontrolü

Dokudaki hasar; fiziksel etkenler, kimyasal maddeler, patojen mikroorganizmaların invazyonu, işemi ve otoimmün bozukluklar gibi nedenlerle ortaya çıkar. Yangı immün cevabı hızlandırır ve takip eden dönemde ortaya çıkan antijenik materyali ve ölü dokuları uzaklaştırır. İmmün tepkinin artması, yangı hücreleri, asidik lipitler, prostaglandinler, tromboksan, lökotrienler, vazoaktif aminler ve sitokinler gibi kimyasal mediyatörler aracılığıyla ortaya çıkar (Ahuja ve ark 2008).

Genel olarak kimyasal yanıklarda yangı, sağlam kalan kök hücre popülasyonunu önemli oranda tehdit eder, neovaskülarizasyonu şiddetlendirir, keratositlerde apoptozisi ve stromal erimeyi indükler. Bu nedenlerden ötürü tedavide antiinflamatuvar ajanlar hayati bir öneme sahiptir (Sheha ve ark 2010).

Topikal steroidler ve nonsteroid anti inflamatuvar (NSAİ) ilaçlar ön kamara yangılarının kontrolü amacıyla tek başlarına yaygın olarak kullanılırken; şiddetli intraoküler yangıda da diğer tedavilerle kombine olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Grahn ve Wolfer 2009). Oküler yangılarda, oral uygulamayla alakalı olan sistemik yan etkilerden kaçınmak için topikal kullanılan ilaçlar tercih edilmektedir. Bunun nedeni, topikal olarak uygulanan bir ilacın oküler dokuda daha yüksek konsantrasyona ulaşmasıdır. Ancak, gözün kendi fizyolojik özelliklerinden kaynaklanan bir takım sınırlamalar nedeniyle ve fizikokimyasal özellikleri itibariyle göze uygulanacak ilaç sayısı kısıtlıdır. Uygulanabilen ilaçlar da uygun dozlarda yangı giderici etkisini gösterebilmektedir (Ahuja ve ark 2008).

1.7.1. Kortikosteroidler

Yakıcı maddelerin gözün ön kısımlarında oluşturduğu hasarlar korneanın saydam yapısını değiştirebileceğinden oldukça tehlikelidir. Bu durum hastanın görme fonksiyonunda değişik derecelerde kayba neden olabilir. Bu nedenle tedavide asıl amaç yangıyı hızlı bir şekilde kontrol altına alarak korneanın saydam yapısını korumaktır. Bu durumlarda kullanılabilecek en etkili yangı önleyici maddeler kortikosteroidlerdir. Kortikosteroidlerin yangı giderici etkisi fosfolipaz A_2 üretiminin inhibisyonu yoluyla araşidonik asit oluşumunu azaltarak; prostaglandin, tromboksan ve lökotrienler gibi yangı mediyatörlerinin oluşumunun baskılanması şeklindedir (Hersh ve ark 1990). Bununla beraber kortikosteroidler, vazodilatasyonu, kapiller geçirgenliği, hücresel ve fibröz eksudat ile birlikte yangısal hücre infiltrasyonunu da azaltır (Donshik ve ark 1978, Wagoner 1997, Giuliano 2004, Maggs 2008a, Grahn ve Wolfer 2009). Prostaglandinler gibi yangı mediyatörlerinin salgılanmasını ve mast hücrelerinin degranülasyonunu (Hersh ve ark 1990, Maggs 2008a), keratosit göçü, fibroblast ve kollajen şekillenmesini inhibe eder (Philips ve ark 1983, Wagoner 1997, Hoang-Xuan ve Hannouche 2004, Maggs 2008a). Epithelial ve endothelial rejenerasyonla yenilenmeyi geciktirir (Donshik ve ark 1978, Hersh ve ark 1990, Giuliano 2004, Maggs 2008a). Yangı sonrası şekillenen neovaskülarizasyonu azaltır (Hersh ve ark 1990, Maggs 2008a). Humoral ve hücresel immün yanıtı inhibe eder. Bu nedenlerle kortikosteroidlerin kullanılması yara iyileşmesinde gecikme, oküler hipertansiyon, katarakt oluşumu, korneal erime ve perforasyon gibi ciddi yan etkilere neden olabilmektedir (Laria ve ark 1997, Wagoner 1997, Giuliano 2004, Hoang-Xuan ve Hannouche 2004).

Hidroflorik asit göz yanığında Oğurtan ve ark (2002), içerisinde prednizolon, sülfasetamid sodyum ve fenilefrin hidroklorür bulunan blephamid'in, içerisinde % 0,5'lik ketorolak tromethamin adlı NSAİ olan acular'a kıyasla iyileşme açısından daha etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

1.7.2. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar

Topikal olarak uygulanan NSAİ ilaçlar, oküler yangının önlenmesinde ve tedavisinde yangı giderici etkileriyle kortikosteroidlere alternatif olarak kullanılabilen diğer bir ilaç grubudur (Schalnus 2003). Topikal kullanılan NSAİ

ilaçlar intraoperatif miosisi engellemede; postoperatif yangının, dönemsel alerjik konjunktivitin, kistoid makular ödemin tedavisi ve fotorefraktif keratektominin önlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Giuliano 2004, Ahuja ve ark 2008).

Nonsteroid antiinflamauvar ilaçlar; kortikosteroidlerden farklı olarak araşidonik asidi, siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek engeller. Böylece prostaglandin, prostasiklin ve tromboksana dönüşecek olan endoperoksidazlar inhibe olur. Bu ilaçlar yangının potansiyel mediyatörleri olan prostaglandinlerin oluşmasını bloke ederek yangıyı durdururlar (Hersh ve ark 1990, Wagoner 1997, Schalnus 2003).

Endojen prostaglandin'ler; miosis, kan-göz bariyerinde permeabilite artışı, konjunktival hiperemi ve göz içi basıncında değişimler gibi pekçok farmakolojik etkiye sahiptir. Ayrıca kemokinetik aktiviteye sahip olduğu bilinen prostaglandinler yangısal cevabın humoral ve selüler fazları için bir mediyatör olarak görev alırlar ve alerjik reaksiyonlar ile ağrı cevabıyla ilgilerinin olduğu da bilinmektedir. Genelde NSAİ ilaçların lipooksijenaz (LOX) enzimi inhibisyonu ve dolayısıyla endojen lökotirienlerin oluşumunu doğrudan inhibe etme yeteneği olmamasına rağmen; diklofenak'ın, in vitro lökotirien oluşumunu azalttığı bilinmektedir. Ayrıca NSAİ ilaçların yangı sırasında yararlı olabilen serbest radikal temizleyici etkileri olduğunu gösteren kanıtlardan dolayı bu tür ilaçların COX enzimi inhibisyonu dışında da etkilerinin olduğu düşünülmektedir (Flach ve ark 2002).

Nonsteroid antiinflamauvar ilaçlar gözde konjunktival hiperemiyi, konjunktival lökosit göçünü, prekorneal gözyaşı tabakası içerisine nötrofil infiltrasyonunu, miosisi, prostaglandine bağlı göz içi basıncının artışı veya azalmasını, iris konjesyonunu ve korneal ödemi engeller. Analjezik etkileri de göz hastalıklarında tercih sebebidir (Maggs 2008d, Grahn ve Wolfer 2009). Spampinato ve ark (1991), naproksen sodyumun oküler yangıya bağlı oluşan prostaglandin E_2 (PgE_2), PMNL ve humor akuoz protein konsantrasyonunda önemli azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Kimyasal göz yanıklarında NSAİ ilaçların kullanıldığı çalışma sayısı sınırlıdır. Alio ve ark (1994); % 0,03 flurbiprofen, % 0,1 diklofenak, % 1'lik

indomethacin ve % 0,1'lik deksametazonun korneal alkali yanığındaki etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada, indomethacinin deneysel alkali yanıkta fluribiprofen ve diklofenaktan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Laria ve ark (1997) ise antioksidan olan dimetilüre, dimetilüre-indomethacin, dimetilüre-diklofenak sodyum ve deksametazonun etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, indomethacin-dimetilüre kombinasyonunun deneysel alkali yanığının tedavisinde kortikosteroidlere alternatif olabileceğini bildirmişlerdir.

Hersh ve ark (1990) yaptıkları deneysel çalışmada, % 0,03 flurbiprofen sodyum ile % 0.01'lik diklofenak sodyumun uygulama sonrası ilk 3 günde korneal epithelial iyileşmede gecikme gibi olumsuz yan etkilerinin olabildiğini ifade etmişlerdir.

Güçlü antiinflamatuvar etkinliğe ve farklı kimyasal özelliğe sahip birçok NSAİ ilaç olmasına rağmen oftalmolojide topikal olarak kullanılan NSAİ ilaçların sayısı azdır. Oftalmolojide topikal olarak kullanılan ilaçlardan bazıları suda çözünür salisilik asitler, indolasetik asitler (indomethacin gibi), arilasetik asitler, arilpropiyonik asitler ve enolik asitlerdir (Ahuja ve ark 2008).

İndomethacin

İndomethacin, indol grubu bir NSAİ ilaçtır. İlk başlarda susam tohumu ile yağlı solüsyon olarak hazırlanan indomethacin, bu formülasyonun lokal olarak iritan olması ve klinik kullanımında istenmeyen etkilerinden dolayı günümüzde % 0,1'lik akuoz solüsyon halinde hazırlanmaktadır (Koay 1996, Ahuja 2008). Oftalmolojide sodyum ve trometamin tuzları şeklinde kullanılmaktadır. Alkali ortamda stabil değildir. Asidik ortamda zayıf bir şekilde çözünür. Formülasyon pH'sı 6.0'ın altında olması durumunda solüsyonun dibine çökelir. Ancak yoğunlaştırıcı madde olarak hidroksipropil metilselüloz veya polivinil alkol içeren ve pH 5.6 ya tamponlanan oftalmik indomethacin süspansiyonunun, fiziksel ve kimyasal olarak stabil olduğu bulunmuştur. Çözücü olarak Poloxamer 407 kullanılarak indomethacinin akuoz formülasyonu (% 0,1wt/vol) üretilmiştir. Bu formülasyonun stabil olduğu gözlenirken, humor akuozda yüksek seviyelere ulaştığı ve piyasadaki formülasyonla kıyaslandığında immün kökenli uveitisteki yangısal semptomları daha hızlı giderdiği gözlenmiştir (Ahuja ve ark 2008).

İndomethacinin, insan korneasında PgE_2 seviyelerinde azalmaya neden olduğu (Koay 1996) ve steroidlerin aksine korneal ve konjunktival reepitelizasyonu geciktirmediği ileri sürülmüştür (Srinavasan 1982).

İndomethacin'in kimyasal yanıklarda kullanımıyla ilgili yapılan araştırmalar, çoğunlukla alkali yanıklar düzeyindedir (Alio ve ark 1994, Laria ve ark 1997). Tavşanlarda deneysel korneal alkali yanıklarda steroidlere alternatif olarak kullanılan indomethacin; hem tek başına hem de bazı antioksidan maddelerle kombine olarak kullanıldığında iyileşme açısından, steroidlerden daha etkili sonuçlar verdiği araştırıcılar tarafından bildirilmiştir (Alio ve ark 1994, Laria ve ark 1997).

1.8. Gözde Antioksidanların Kullanımı

Serbest radikal terimi, paramanyetik ve kimyasal bakımdan reaktif olan tek elektronlu bir molekül ya da atomu tanımlar. Serbest radikallerin kaynağı yangı hücrelerinin mitokondriyonlarıdır. Bunların pek çoğu DNA, proteinler ve lipitler gibi makromoleküller ile reaksiyona girerek biyolojik sistemlere zarar verirler. Oksijen kaynaklı serbest radikaller hidroksil, süperoksit, peroksil ve hidrojen peroksitten ibarettir. Bu serbest oksijen radikalleri oldukça reaktif olup, kısa ömürlüdür ve lipit peroksidasyonu gibi yıkıcı zincirleme kimyasal reaksiyonlara sebep olur. Kimyasal göz yanıkları gibi dejeneratif ve yangısal durumlarda hem lipit peroksidasyonu yoluyla toksik serbest radikaller ortaya çıkar ve hem de vücuttaki antioksidan aktivitesinde azalma meydana gelir. Serbest oksijen radikalleri çoğunlukla PMNL tarafından üretilirler ve yangı süresince de doku harabiyetine yol açan toksik bir mediyatör olarak ortamda bulunurlar. Korneal dokuda, çevresel ve iatrojenik faktörler de doku hasarına yol açan serbest radikal oluşumuna neden olur. Bu gibi durumlarda göz dokusunda gelişebilecek kalıcı hasarların engellenmesi için doğal antioksidan maddelerle birlikte NSAİ ilaçların tedavide kullanılmasının çok önemli olduğu çeşitli araştırıcılar tarafından bildirilmiştir (Jacob ve Hershler 1986, Shimmura ve ark 2003, Gakhramanov 2005).

Süperoksit dismutaz (SOD), vücutta üretilen süperoksit radikallerini hidrojen peroksite dönüştüren bir enzimdir. Bu şekilde reaktif peroksinitrit oluşumu için gerekli olan NO ile süperoksit anyonlarının etkileşim olasılığı azaltılmış olur.

Antioksidan savunma mekanizması hem enzimatik hem de nonenzimatik stratejilerle gerçekleşir. Bilinen en yaygın antioksidanlar A, C ve E vitaminleri ile SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzimleridir. Diğer antioksidanlar ise α-lipoik asit, karışık karotenoidler, koenzim Q_{10}, çeşitli biflavonoidler, antioksidan mineraller (bakır, çinko, manganez ve selenyum) ve kofaktör maddelerdir (folik asit B_1, B_2, B_6, B_{12}). Bütün bu maddelerin her biri, birbirleriyle sinerjik tarzda farklı serbest radikallere karşı çalışırlar. Örneğin Vit E lipit peroksidasyonunu baskılarken; Vit C, Vit E ile birlikte hidroperoksit oluşumunu inhibe eder (Maritim ve ark 2003).

Shimmura ve ark (2003), oküler yüzeyin yangısal problemlerinde lesitine bağlanan SOD'un damla şeklinde uygulanmasıyla oküler dokuda doğal SOD'dan daha uzun süre kaldığını gözlemişlerdir. Kimyasal yanıklar da dâhil olmak üzere bazı vakalarda kullanılan lesitine bağlı SOD'un, oluşan ülserlerde süperoksit radikallerini azalttığı; ancak bu kanıya varmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir.

Laria ve ark (1997); deneysel korneal alkali yanığında, antioksidan bir madde olan dimetilürenin, indomethacinle kombine olarak iyileştirici etkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Gakhramanov (2005) tavşanda yaptığı bir çalışmada; alkali göz yanığının tedavisinde oral olarak verilen antioksidan maddelerin gözdeki antioksidan kapasiteyi artırdığını ve malondialdehid (MDA) miktarını azalttığını ileri sürmüştür. Çalışmada klasik tedaviye destek olarak dışarıdan antioksidanların verilmesinin faydalı olacağı belirtilmiştir.

1.8.1. Dimethylsulfoxide

Dimethylsulfoxide (DMSO) ilk kez 1896 yılında bir Rus kimyacı olan Alexander Saylzeff tarafından keşfedilmiş, 1940 yılına kadar endüstride çözücü olarak kullanılmıştır. Medikal özellikleri ilk kez 1960'ta incelenmiş ve terapotik özelliklerinin genişliğinden dolayı "mucize ilaç" olarak ilan edilmiştir (Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986, Yavru ve ark 1987). Dimethylsulfoxide normal su kaynaklarında çok az miktarda bulunurken, metabolitleri olan dimetilsülfid (DMS)

ve dimetilsülfon ($DMSO_2$) normal sığır kanında ve böbreküstü bezlerinde bulunur (Brayton 1986).

Dimethylsulfoxide, Amerika Birleşik Devletleri'nde ticari olarak kâğıt imalat endüstrilerinde bir yan ürün olan ligninden (bitkisel özelliğini koruyan yumuşak kömürden) ucuz bir şekilde üretilirken, avrupada kömür ve petrolden elde edilmektedir (Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986, Yavru ve ark 1987).

Dimetylsulfoxide'in toz şekli parlak, renksiz veya hafif sarıdır. Likit şekli 18,5°C'de donar. DMSO bipolar, aprotik (protonsuz), yüksek derecede higroskopik bir solventtir. DMSO'nun aprotik olması, kimyasal reaksiyonlarda kendi protonlarını vermemesinden kaynaklanmaktadır. DMSO genellikle proton alıcıdır ve protonları hidrojen bağları alır. DMSO suya göre birçok madde için daha iyi bir solventtir. Birçok protein ve steroid DMSO'da çözünmektedir. Birçok biyolojik bariyer DMSO için oldukça geçirgendir ve DMSO'nun buradan geçmesi sırasında yapısında herhangi bir bozulma olmaz (Alsup 1984, Brayton 1986, Yavru ve ark 1987, Young ve ark 2005).

Dimethylsulfoxide, küçük moleküler yapılı olmasından dolayı deriden çok hızlı bir şekilde penetre olma özelliğine sahiptir. Deriye uygulandıktan birkaç dakika sonra kanda tespit edilirken, ağızda sarımsak tadı, burunda sarımsak kokusu belirir. Bu sarımsak kokusu DMSO'nun metabolitlerinden olan DMS'nin ortaya çıkışı ile ilgilidir. DMSO deriye uygulandıktan sonraki 20 dk içerisinde bütün organlarda, bir saat içinde de kemik ve dişlerde bulunur. DMSO ayrıca müköz membranlardan, kan-beyin bariyerinden, hücre ve organellerinden, mikrobiyolojik membranlardan geçebilmektedir (Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986, Young ve ark 2005).

Dimethylsulfoxide'in farmakolojik olarak; antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik, antibakteriyel, antiskemik, radyoprotektif, kriyoprotektif, antikolinerjik, diüretik, antiaggregan etkileri yanında, biyolojik membranlardan geçebilme, membran transportu (membranlardan kolayca geçebilmesi nedeniyle çözücü olarak kullanıldığında etken maddeyi de membranlardan geçirebilmesi), diğer ilaçların etkinliğini azaltmak veya arttırmak, organizmanın enfeksiyonlara karşı nonspesifik direncini yükseltmeyle birlikte damar genişletici ve kas gevşetici etkilere sahiptir (Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986, Yavru ve ark 1987). DMSO'nun

antioksidan etkisini; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu düzeltip, mitokondriyondaki hidroksil radikallerinin sitotoksik etkilerini ortadan kaldırarak gösterdiği tahmin edilmektedir (Brayton 1986, Jacob ve Hershler 1986, Young ve ark 2005). DMSO'nun iyi bir hidroksil yakalayıcısı olduğunun kanıtlarından birisi de, artrit olgularında PMNL'lerden salınan ya da gama ışınlarının oluşturduğu hidroksil radikallerinin hyaluronik asidi depolimerize etmesinin DMSO ile engellemesidir (Alsup 1984).

Dimethylsulfoxide'in yangı giderici etkisi tam olarak çözülememiştir (Alsup 1984, Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986), ancak bu etkisini yangı alanına fagositik hücre göçünü engelleyerek gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Antony ve ark 1983, Alsup 1984). Tavşanlarda deneysel olarak plöral boşluk enfekte edildikten sonra uygulanan DMSO'nun yangı alanına monosit ve PMNL göçünü önlediği gözlenmiştir. İn vitro çalışmalarla da aynı sonuçlar elde edilmiştir (Alsup 1984). DMSO'nun yangı giderici etkisi; monosit ve nötrofil aktivitesini inhibe edişine bağlanmış, yangı alanında nötrofillerden salınan sitotoksik serbest oksijen radikallerini temizlediği (Wong ve Reinertson 1984, Hillidge 1985) ve prostaglandinleri inhibe ettiği, bunların sonucu olarak da yangıyı hafiflettiği savunulmuştur (Welch ve ark 1989).

Yangı giderici etkisiyle ilgili bir teoride; yangı ürünlerini presipite ederek onların etkisini azalttığı, böylece mikrosirkülasyonu sağlayarak yangıda doku yıkımını azalttığı, diğer bir teoride ise; steroid hormonların yapımını artırarak hücreye giren bu hormonların, yangı oluşturan enzimlerle savaştığı savunulmuştur. Ayrıca, DMSO'nun akut yangılarda; hücre göçünü, kronik yangılarda ise; fibroblastların üremesini inhibe ettiği tespit edilmiştir (Yavru ve ark 1987). Bununla birlikte dimethylsulfoxide'in ada tavşanlarının gözlerine hardal yağı damlatılarak oluşturulan yangıda etkisiz kaldığı, farelerin ayaklarında kimyasal iritasyonla oluşturulan yangıya bağlı ödemde de yeterli etkiyi göstermediği saptanmıştır (Alsup 1984).

Köpeklerde kronik süperfisyal keratitisin tedavisinde % 50'lik DMSO-prednisolon ya da deksametazon kombinasyonları ile damla şeklinde uygulanmasının, steroidlerin tek başına uygulanmasından daha etkili olduğu ileri sürülmüştür (Balicki 2007).

Dimethylsulfoxide çeşitli araştırıcılar tarafından kalsiyumun penetrasyonunu artırmak amacıyla sadece HF asitle oluşan deri yanıklarında kullanılmıştır. Seyb ve ark (1995) ratlarda % 70'lik HF asit ile oluşturdukları deri yanığında; % 20'lik kalsiyum glukonat ve % 50'lik DMSO kombinasyonunun, kalsiyum glukonatın % 10'luk solüsyonunun deri altı uygulanması ile birlikte etkili olduğunu bildirmişlerdir. Zachary ve ark (1986); DMSO ile kombine edilen kalsiyum glukonatın, HF asitle oluşan el yanığını tedavi ettiğini bildirmişlerdir. Hatzifozis ve ark (2003) ise; klinikteki HF asitle oluşan deri yanıklarında, 30 dakika yıkama işleminden sonra tedavi olarak % 50 DMSO ve kalsiyum glukonat jel karışımının uygulanmasıyla başarılı sonuç elde ettikleri ileri sürmüşlerdir.

Skrypuch ve ark (1987) tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan korneal alkali göz yanığının tedavisinde; % 20'lik DMSO'nun yanık sonrası ilk 3 gün süresince korneal opasiteyi iyileştirdiğini, korneal ülser gelişim hızını düşürdüğünü, ancak ileriki günlerde iyileşme açısından herhangi bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Bu nedenle de klasik tedavide kullanılan ilaçlarla DMSO'nun kombine kullanılmasının daha faydalı olacağını bildirmişlerdir.

Korneada meydana gelen hasarlarda, öncelikle yangı oluşumu ve buna bağlı olarak da toksik radikallerin ortaya çıkışı iyileşme güçlüklerine ve görme kaybına sebep olabilmektedir. Yapılan literatür taramalarında, HF asit'in neden olduğu göz yanıklarının tedavisinde ne klinik ne de deneysel olarak DMSO gibi bir antioksidan madde ve indomethacin gibi NSAİ bir yangı giderici ilacın etkinliklerinin değerlendirildiği görülmemiştir. Bu deneysel çalışmada; korneal dokuda HF asit ile oluşturulan kimyasal yanıkta oluşacak yangıyı ve serbest oksijen radikallerini azaltmak için, bilinen en iyi antioksidan maddelerden biri olan DMSO ile en az steroidler kadar yangı giderici etkisinin olduğu bildirilen indomethacini tek başına ve/veya kombine kullanarak, korneal iyileşmenin sağlanması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan Materyali

Araştırmada hayvan materyali olarak ticari tavşan üretim çiftliğinden[A] temin edilen sağlıklı, cinsel erginliğe ulaşmış ve canlı ağırlıkları 2,0 kg±0,2 kg olan 72 adet erkek Yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Araştırma prosedürü S.Ü. Veteriner Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı[B]. Tavşanların bakım ve beslemeleri Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Deney Hayvanları Ünitesinde yapıldı. Tavşanlar araştırmaya başlamadan bir hafta önce bireysel kafeslere alınarak barındırma ortamına adapte olmaları sağlandı. Tavşanlar adaptasyon süresince standart tavşan pelet yemi ve su ile ad libitum beslendi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Araştırma Grupları

Araştırmada kullanılan 72 adet erkek tavşan aşağıdaki gibi gruplandırıldı;

1- DMSO (D) grubu,
2- İndomethacin (İ) grubu,
3- DMSO+İndomethacin (Dİ) grubu,
4- Kontrol (K) grubu: Yanık oluşturulup herhangi bir tedavi uygulanmayan grup.

Denekler 2, 7 ve 14. günlerde her bir zaman peryodunda 6 tavşan bulunacak şekilde alt gruplara ayrıldı.

Kontrol grubundan 6 tavşanın yanık oluşturulmayan ve tedavi uygulanmayan 6 adet normal sol gözü histolojik değerlendirmelerde kullanılmak üzere alındı. Çalışmada kullanılan tavşan grup dağılımları ve uygulama süreleri Çizelge 2.1.'de sunuldu.

2.2.2. Anestezi

Çalışmadaki tavşanların tamamına, intramuskuler olarak xylazine hydrochlorure (10 mg/kg, % 2 Rompun®, Bayer-İstanbul, Türkiye) ile preanesteziyi

[A] Sima Tavşancılık Ltd. Şti.

[B] 24.02.2010 tarih ve 2010/15 sayılı etik kurul onay yazısı (Ek-A)

takiben ketamine hydrochloride (30 mg/kg, % 10 Ketasol®, İnterhas-İstanbul, Türkiye) verilen genel anestezi protokolü uygulandı.

Çizelge 2.1. Deney grupları, uygulama süreleri ve denek sayıları.

Uygulama Süresi (gün)	Etken madde esas alınarak oluşturulan hayvan grupları				Toplam
	D	İ	Dİ	K	
2	6	6	6	6	24
7	6	6	6	6	24
14	6	6	6	6	24
Toplam	18	18	18	18	72

D: Dimetylsulfoxide, İ: Indomethacin, Dİ: Dimetylsulfoxide-İndomethacin, K: Kontrol.

2.2.3. Kullanılan İlaçlar

Çalışmada tedavi amacıyla, % 40'lık DMSO, % 0,1'lik indomethacin ve DMSO ile indomethacin'in aynı yoğunluklarındaki kombinasyonu kullanıldı. DMSO çözeltisini hazırlamak için 40 kısım saf DMSO (% 99,9 Merck, Almanya), 60 kısım % 0,9 NaCl (izotonik serum fizyolojik) karıştırılarak hazırlanan solüsyon 5 ml'lik steril damlalıklar içerisine konuldu. İndomethacin'in % 0,1'lik hazır ticari formu (İndocolir® % 0,1, 5 ml-Abdi-İbrahim-İstanbul, Türkiye) kullanılırken, tüm gruplarda olası enfeksiyonları engellemek için tobramisin (Tobrased® % 3, 5 ml-Bilim İlaç-İstanbul, Türkiye) kullanıldı.

2.2.4. Deney Protokolü

Tavşanların tamamının rutin muayeneleri yapıldıktan sonra deneysel uygulamaya alındı. Genel anesteziye alınan her tavşanın sağ gözüne yanık oluşturmak amacıyla; 0.05 ml % 2'lik HF asit (% 38-40, Merck, Almanya) damlatılıp, 60 sn sonra her bir göz 500 ml % 0,9'luk izotonik serum fizyolojik ile yıkandı (Beiran ve ark 1997). Tavşanların sol gözlerine herhangi bir işlem yapılmadı. Yanık oluşturulan her bir göze olası enfeksiyonları önlemek için çalışma süresince 12 saat arayla 2'şer damla tobramisin damlatıldı. Çalışmada kullanılan ilaçların bir günlük uygulama zaman ve miktarları Çizelge 2.2.'de belirtilmiştir.

D grubunda; Gordon ve Kleberger (1968)'in belirttiği 100-200 mg/kg/gün terapotik indeksine göre; DMSO uygulama dozu, günlük 175 mg/kg hesabıyla ortalama 16 damla olarak belirlendi. Bu 16 damla günde 4 defa 4'er damla şeklinde

uygulandı. Ancak her uygulama tavşan konjunktival forniksinin küçük olması ve 4 damlanın aynı anda uygulanmasıyla oluşacak ilaç kaybını önlemek için 2'ye bölünerek 30 dk arayla 2'şer damla şeklinde yapıldı.

DMSO miktarı 2 kg'lık bir tavşan için aşağıdaki şekilde hesaplandı:

Terapotik uygulama dozu günlük 175 mg/kg olarak belirlenen DMSO, 2 kg tavşan için 350 mg olarak hesaplandı. Prospektüse göre DMSO (% 40)'nun 1 ml'sinde 440 mg DMSO olduğu belirlendikten sonra günlük kullanılacak toplam miktarı bulmak için; 1 ml'de 440 mg varsa, 350 mg 0,8 ml'de (800 µl) vardır. Bulunan bu miktar damla hesabına dönüştürüldüğünde günlük toplam damla sayısı 16 olarak bulundu (1 damla:50 µl).

İ grubuna indomethacin 6 saat arayla DMSO uygulamasında olduğu gibi her uygulama 2'ye bölünerek 30 dk arayla 2'şer damla şeklinde toplam 16 damla uygulandı.

Dİ grubuna % 40'lık DMSO ve % 0,1'lik indomethacin'in herbirinden 6 saat arayla 4 defa 4'er damla uygulandı. Uygulamalar 1 saatlik dilim içerisinde her uygulama arasında 15'er dk olacak şekilde 2'şer damla şeklinde uygulandı.

K grubuna sadece tobramisin çalışma süresince 12 saat arayla günde 2 defa 2'şer damla uygulandı.

Gruplardaki tavşanların tamamının anestezi ve HF asit uygulama öncesi göz içi basınçları TonoVet® rebound tonometre (Tiolat Oy, Helsinki, Finlandiya) ile ölçülerek kayıt edildi. Tonometrik veriler, her bir gözde 5 ölçümün ortalamasıyla elde edildi. Her grup için göz içi basınçları; yanıktan sonraki 1, 2, 7 ve 14. günlerde sabah 9-10 saatleri arasında ölçüldü. Gözler; yanık oluşturulduktan hemen sonra 1, 2, 7 ve 14. günlerde hem fluoroscein boya uygulanmadan önce ve hem de fluoroscein (Haag Streit international- Koeniz Switzerland) boya uygulandıktan sonra el tipi slit-lamp (Heine HSL 150, Hanau, Almanya) ile muayene edilerek dijital kamera (Sony DSC-HX 1, Japonya) ile fotoğraflandı. Tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde alt gruplar dâhil tüm tavşanlar İV letal doz pentotal sodyum ile ötenazi edildikten sonra göz küreleri uygun şekilde bütünüyle çıkarıldı. Kontrol grubundan 6 tavşanın hem sağ hem de sol gözleri küresel olarak çıkarılırken, gözler fluoroscein ile boyandıktan

sonra hasarlı alanları saptamak için dijital kamerayla fotoğrafları çekildi. Daha sonra korneal doku, histolojik değişikliklerin belirlenmesi amacıyla % 10'luk tamponlu formol içerisine konularak tesbit edildi.

Çizelge 2.2. Tavşanlarda tedavi amacıyla 1 gün boyunca uygulanan ilaçların miktar ve uygulama zamanları.

	Uygulanan ilaç protokolü (damla)			
Uygulama Zamanı (Saat)	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**
00^{00}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	2d/ T
00^{15}	-	-	2d/ İ	-
00^{30}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	-
00^{45}	-	-	2d/ İ	-
01^{00}	2d/ T	2d/ T	2d/ T	-
06^{00}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	-
06^{15}	-	-	2d/ İ	-
06^{30}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	-
06^{45}	-	-	2d/ İ	-
12^{00}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	2d/ T
12^{15}	-	-	2d/ İ	-
12^{30}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	-
12^{45}	-	-	2d/ İ	-
13^{00}	2d/ T	2d/ T	2d/ T	-
18^{00}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	-
18^{15}	-	-	2d/ İ	-
18^{30}	2d/ D	2d/ İ	2d/ D	-
18^{45}	-	-	2d/ İ	-
Toplam	16d/ D+2d/ T	16d/ İ+2d/ T	16d/ D+16d/ İ+ 2d/ T	4d/ T

D: Dimetylsulfoxide, İ: İndomethacin, Dİ: Dimetylsulfoxide-İndomethacin, K: Kontrol, T: Tobramisin, d: damla.

2.2.5. Klinik Değerlendirme

Araştırmaya alınan tavşanlarda deneysel asit yanığı oluşturulduktan sonra klinik değerlendirmeler aşağıdaki kriterlere göre yapıldı.

Korneal bulanıklığın değerlendirilmesi

Korneadaki bulanıklığın değerlendirilmesi, Beiran ve ark (1997)'ın yöntemine göre ön kamara ayrıntılarının direkt inspeksiyondaki görünümüyle yapıldı. Buna göre korneal bulanıklık, 0'dan 4'e kadar derecelendirme yapılarak her gruptaki denekler; 0, 1, 2, 7 ve 14. günlerde muayene edilerek değerlendirildi.

Derecelendirme skorları:

0-Saydam kornea.
1-Hafif bulanıklık: Ön kamara ayrıntıları görülebilecek düzeyde saydam kornea.
2-Orta dereceli bulanıklık: Ön kamarayı net bir şekilde göremeyecek şekildeki bulanıklık.
3-İlerlemiş bulanıklık: Pupilla ve iris detayları görülemeyecek şekilde bir bulanıklık.
4-Şiddetli bulanıklık (total bulanıklık): Kornea dışında başka hiçbir yapının görülmediği bulanıklık.

Konjunktival yangının (konjunktivitis) değerlendirilmesi

Konjunktivitis, şiddetine göre 0-4 arasında derecelendirildi.

Derecelendirme skorları:

0-Yangı yok.
1-Hafif şiddetli: Hiperemik, az oranda şemozis (ödem).
2-Orta şiddetli: Hiperemik, orta derecede şemozis, palpebra tertia'nın palpebral yüzünde az sayıda dar ve beyaz nekrotik alanlar.
3-Şiddetli: Hiperemik, konjunktiva balonlaşmış halde, şiddetli şemozis, palpebra tertia'nın palpebral yüzünde az sayıda beyaz nekrotik alanlar.
4-Çok şiddetli; Hiperemik, konjunktiva balonlaşmış halde, şiddetli şemozis, palpebra tertia'nın palpebral yüzünde çok sayıda geniş ve beyaz nekrotik alanlar, göz kapakları bulbusu kapatacak şekilde.

Konjunktival damarlarda gözlemlenen değişikliklerin değerlendirilmesi

Konjunktival damarlarda gözlemlenen değişikliklerin değerlendirilmesi, Beiran ve ark (1997)'ın yöntemine göre konjunktival damarlarda oluşan değişikliklerle belirlendi. Konjunktival damarlar normalde uniform çapta ve düzenli bir seyir izlerler. Yakıcı maddelere maruz kaldıkları zaman bu damarların çapları, uniformitelerini kaybeder ve düzensiz yapılara dönüşür. Çaptaki değişikliklere ilaveten, konjunktival damarların seyri bozulur ve spiral bir tarzda seyreder. Konjunktival damarların çapındaki genişleme ve spiral seyri eroziv maddelerin neden olduğu konjunktival hasarın derecesi hakkında klinik ipuçları verir. Buna göre; konjunktival damar yapısı 0'dan 4'e kadar derecelendirme yapılarak her gruptaki denekler; 0, 1, 2, 7 ve 14. günlerde muayene edilerek değerlendirildi.

Derecelendirme skorları:

0-Damar yapısı normal.
1-Belli belirsiz spiral yapı.
2-Spiral yapı ve belli belirsiz çapsal değişiklikler.
3-İlerlemiş derecede çapsal değişimler ve kan akımında hafiften orta dereceye kadar olan bozukluk.
4-Kan akımında şiddetli derecede bozukluk ve konjunktival damarlarda intravasküler koagülasyonlar.

Korneal erozyon alanının ölçümü

Korneanın, fluoroscein ile boyanan hasarlı bölgesi korneanın erozyon alanı olarak kabul edilir. Bu alanın belirlenmesi; fluoroscein boyayla boyalı korneanın fotoğraflanıp bir görüntü analiz programı vasıtasıyla toplam kornea alanı içindeki hasarlı sahanın oranının (%) hesaplanmasıyla gerçekleştirilir. Grupların tamamında, yanık öncesi herhangi bir hasar olmadığından dolayı "0" olarak kabul edildi. Korneada yanık sonrasında oluşan hasarlı bölgenin alanı, toplam kornea alanının yüzdesi olarak ifade edildi. Bu amaçla tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde çıkarılan göz küreleri fluoroscein ile boyandıktan sonra, boyanan hasarlı kornea alanlarının çekilen dijital görüntüleri bilgisayara yüklenerek İmage J (Image Processing and Analysis in Java) adlı görüntü analiz programıyla korneal erozyon alanları ölçüldü. Bu program yardımıyla hem hasarlı kornea alanı ve hem de korneanın tüm alanı hesaplanarak, hasarlı alanın kornea alanı içindeki oranı (%) hesaplandı.

Yukarıdaki klinik değerlendirmeler dışında, klinik muayeneler sırasında gözlenen bazı bulgular şiddetlerine göre hafif, orta ve şiddetli şeklinde subjektif olarak değerlendirildi. Bunlar; episkleral vaskülarizasyon, palpebral ödem ve palpebra tertia üzerinde gözlenen beyaz nekrotik alanlar idi.

2.2.6. Histolojik Değerlendirmeler

Histolojik ve enzim immünohistokimyasal boyamalar

Bu amaçla tavşanların total olarak çıkarılan korneasının hasarlı alanlarını içeren bölgesinden doku örneği alındı. Tamponlu % 10'luk formal salinde (0,1 M, PH:7,4) 12 saat süreyle tespit edilen doku örneğinin rutin histolojik yöntemlerle takipleri yapılarak parafinde bloklandı. Her bir denekte korneadan alınan bloklardan

6 µm kalınlığında ve her boyama yöntemi için 5'er kesit alınarak aşağıdaki boyama yöntemlerinden biriyle boyandı;

1- Kesitler genel histolojik yapının belirlenmesi, korneanın histomorfometrik analizlerinin (stromal kalınlık, yangısal hücre infiltrasyonu, korneal damarlaşma) yapılması için Crossmon'un üçlü boyasıyla boyandı.

Stromal kalınlığın ölçümü her denekten alınan kornea örneklerinden hazırlanan preparatlar üzerinde İmage J (Image Processing and Analysis in Java)görüntü analiz programı yardımıyla yapıldı. Bunun için X10 objektif büyütmede kaydedilen dijital görüntüler üzerinde stromanın üst sınırı olan çok katlı yassı epitel katmanının bazal membranıyla tek katlı yassı epitel katmanın bazal membranı olan descemet membran arasındaki mesafe ölçülerek stromal kalınlık belirlendi. Ölçümler seri kesitlerde rastgele seçilen 5 farklı bölgede yapıldı. Daha sonra elde edilen değerlerin ortalaması alınarak her bir hayvan için elde edilen ortalama değerler istatistiksel analizde kullanıldı.

Yangı hücrelerinin değerlendirilmesinde X40 büyütmeli objektifle incelenen preparatlar üzerinde yangısal hücre yoğunlukları semikantitatif olarak 0 ile 3 arasında skorlandı.

Semikantitatif skorlama:

0-Stromada yangı hücresi yok.
1-Stromada yangı hücresi limbal bölgede ve az sayıda (her sahada ≤10).
2-Stromada limbal alanda yangı hücresi orta düzeyde (her sahada 10-50 arası).
3-Stromanın her tarafında yangı hücresi yoğun miktarda (her sahada <100).

Korneal stromal katmanın damarlaşması X20 büyütmeli objektifle damarlaşma yoğunluğu 0 ile 3 arasında semikantitatif olarak skorlandı.

Semikantitatif skorlama:

0-Stromada damarlaşma yok.
1-Stromada damarlaşma limbal bölgede az (limbal alanda ≤5).
2-Stromada damarlaşma her iki limbal bölgede orta düzeyde (limbal alanda 5-10 arası).
3-Stromada damarlaşma her iki limbal bölgede ve stromanın merkezine doğru artış (limbal alanda ve stromanın merkezinde >10).

2- Hücre siklusunun proliferasyon evresindeki hücrelere özgü PCNA, immünohistokimyasal yöntemle belirlendi. İmmünohistokimyasal işlemler için alınan doku örneklerinin boyanması streptavidinbiotin-peroksidaz kompleksi (sABC) esasına dayanan prosedürle gerçekleştirildi. Bu amaçla poli-L-lizin kaplı lamlara alınan 6 µm kalınlığındaki kesitler bir gece 37°C'lik etüvde bekletilerek kurutuldu. Takiben, kesitler deparafinize ve rehidre edildi. Kesitler antijenik epitopların açığa çıkarılması (antijen retrieval) için; sitratlı tampon solüsyonunda (1 M, pH:6) mikrodalga fırınına konularak 5 dakika kontrollü bir şekilde bekletildi. Bu aşamadan sonra, Mayer's hematoksileniyle çekirdek boyaması aşamasına kadarki işlemlerin tamamı nemli kutu içinde gerçekleştirilerek, işlem boyunca kesitlerin kurumasının önüne geçildi. Yıkamalar fosfat tamponlu salinle (PBS, 0.1M, pH: 7.4) yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu için; % 3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 20 dakika bekletilen kesitler, normal keçi serumuyla 5 dakika inkübe edilerek, nonspesifik bağlanma bölgeleri bloke edildi. Kesitler daha sonra, oda sıcaklığında 1 saat süreyle 1:100 oranında sulandırılmış primer antikorlarla (GeneTex, anti-rabbit PCNA, Katalog no: GTX719451, USA), takiben de biotinli keçi polivalan antikoruyla (antijen spesifitesi: fare, tavşan, rat, kobay) yarım saat süreyle inkübe edildi. Yıkanan kesitler streptavidin-peroksidazla oda sıcaklığında yarım saat süreyle inkübe edildi. Kromojen olarak kullanılan 3,3'Diaminobenzidin (DAB) solüsyonu, kesitleri tamamen kaplayacak şekilde ilave edilerek 5 dakika beklendi. Yıkanan kesitler, çekirdek boyaması için Mayer's hematoksileniyle 3 dakika boyandı. Alkol ve ksilen serilerinden geçirilen kesitler sentetik resin (Entellan, Merck, Almanya) kullanılarak lamelle kapatıldı ve ışık mikroskobunda incelendi. İmmunohistokimyasal boyama esnasında kesitlerden birine primer antikor yerine sadece PBS solüsyonu damlatılarak negatif kontrol preparatları hazırlandı.

3- Apoptotik hücreler, i*n situ* DNA fragmantasyonunu belirleyen TUNEL metoduyla boyandı. Bu amaçla TdTFragEL TM DNA Fragmentation Detection Kit (Calbiochem Katalog no: QIA33, USA) kullanıldı. Boyamalarda firmanın önerilerine sıkı bir şekilde uyuldu.

Kısaca; poli-L-lizin kaplı lamlara alınan 6 µm kalınlığındaki kesitler, deparafinizasyon ve rehidrasyonu takiben 1: 100 oranında sulandırılan proteinaz K ile muamele edilerek hücre zarı permeabilizasyonu gerçekleştirildi. Tris-HCL

tamponunda (pH: 7.6) yıkanan kesitler endojen peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu için, % 3'lük hidrojen peroksitte 5 dakika inkübe edildi. Tekrar Tris-HCL tamponunda 3 kez çalkalanan kesitler TdT labelling solüsyonunda (TdT enzyme, labeled and unlabeled deoxynucleotides) 37°C'de 1.5 saat inkübe edildi. Takiben, Tris-HCL tamponunda tekrar 3 kez yıkanan kesitler 1:50 oranında sulandırılan peroksidaz-streptavidin konjugatında oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra Tris-HCL tamponunda yıkanan kesitler, kromojen olarak kullanılan DAB solüsyonunda 15 dakika bekletildi. Methyl green solüsyonuyla çekirdek boyası uygulanan kesitler alkol ve ksilenden geçirilerek sentetik resinle kapatıldı. Kontrol preparatları kitle birlikte gelen, apoptozisi indüklemek için 0,5 µg/ml aktinomisin D ile inkübe edilmiş kornea preparatlarının boyanmasıyla hazırlandı.

Hazırlanan preparatlar dijital kameralı ışık mikroskobuyla (Nikon Eclipse, E-400 equipped with Nikon DS Camera Control Unit DS-L1 with DS Camera Head DS-5M, Nikon, Japonya) incelendi ve gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi.

4- Korneal dokuda nitrik oksit salınımına neden olan indüklenebilir nitrik oksit sentetaz enzimi immünohistokimyasal yöntemle belirlendi. Kesitlere streptavidin peroksidaz immünohistokimya yöntemi uygulandı. Parafin kesitler, deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra distile suda yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için kesitler metanolde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksit ile 20 dakika muamele edildikten sonra 0.01 M PBS'de iki kez 5'er dakika yıkandı. İmmünoglobulinlerin özgül olmayan bağlanmalarını engellemek için bloking serumda (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed, USA) 15 dakika muamele edilen kesitler 1:200 oranında sulandırılmış fare mono klonal anti-iNOS primer antikoru (RD System, Katalog no: MAB9502, USA) ile +4°C'de 1 gece süreyle inkübe edildi. İnkübasyonu takiben 0.01 M PBS'de 4 kez yıkanan kesitler, biotinli sekonder antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed, USA) ile 20 dakika oda sıcaklığında (20°C) inkübe edilip, tekrar 4 kez PBS ile yıkandıktan sonra enzim konjugatlı streptavidinle (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed, USA) 20 dakika muamele edildi. Kesitler, tekrar 4 kez PBS ile yıkandıktan sonra DAB kromojen solüsyonunda 5-7 dakika bekletildi. Nuclear Fast Red ile 3 dakika çekirdek boyaması uygulanan kesitler distile suda yıkandı. Daha sonra kesitler alkol ve ksilen serilerinden geçirilip entellan ile

kapatıldı. İmmunohistokimyasal boyanmanın doğruluğunu kanıtlamada negatif kontroller kullanıldı. Negatif kontrol olarak alınan doku örnekleri ise primer antikor yerine PBS ile muamele edildi.

Hazırlanan preparatlar Nikon Eclipse-400, coolpix-4500 (Nikon, Japonya) dijital fotoğraf makinesi ataçmanlı araştırma mikroskobunda incelenerek fotoğraflandı.

İmmunohistokimyasal sonuçlar, oransal skor (proportional score) olarak isimlendirilen derecelendirme yöntemi kullanılarak semikantitatif olarak değerlendirildi. Seri kesitlerde, x40 objektif büyütmede gelişi güzel seçilen üç farklı bölgede 100 adet epitel ve bağ doku hücresi sayıldı. Daha sonra elde edilen değerlerin ortalaması alınarak her bir hayvan için tek bir sonuç elde edildi.

2.2.7. İstatistiksel Değerlendirmeler

Elde edilen bütün veriler bilgisayara girildi ve SPSS 19.0 (IBM SPSS, Inc., an IBM co., Somers, NY, USA) programı ile istatistiksel analizleri yapıldı. Tüm değerler ortalama±standart hata (Ort±SH) olarak gösterildi. Uygulama yapılan gruplarda sayılabilir kriterler için tedavi günleri ve grupları arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için non-parametrik testlerden Kruskall-Wallis testi, farklılık bulunduğunda ise hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için de Mann-Whitney U testi uygulandı. Ölçüm yapılarak elde edilen veriler için ise uygulama yapılan gruplarda tedavi günleri ve grupları arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için varyans analizi (ANOVA-analysis of variance) yapıldı. Ardından çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testiyle analiz edilerek grupların ortalama değerleri arasındaki farkların önem dereceleri belirlendi. $P<0.05$ değeri istatistiki olarak önemli kabul edildi. Apoptozis ve PCNA verilerinin istatistiki değerlendirmesinde bazı gruplarda homojeniteyi bozan abartılı veriler çıkarılarak n sayısı 6 yerine 5 kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Makroskobik Bulgular

Korneal bulanıklık, HF asit uygulamasından hemen sonra en yüksek seviyede bulundu (Resim 3.1A). Tüm gruplara ait korneal bulanıklık, konjunktivitis ve konjunktival damarlaşma ile ilgili makroskobik bulgulara ait skorlama verileri; sırasıyla Çizelge 3.1., 3.2., 3.3.'de, ham verileri sırasıyla 3.4., 3.6., 3.8.'de, istatistiki sonuçlar sırasıyla Çizelge 3.5., 3.7. ve 3.9.'da verilirken, bunlara ait grafiksel görüntüler ise sırasıyla Şekil 3.1., 3.2. ve 3.3.'de sunuldu. Korneal erozyon alanı ve göz içi basıncı ölçümü ham verileri; Çizelge 3.10. ve 3.12., istatistiki sonuçları sırasıyla Çizelge 3.11. ve 3.13.'de sunulurken, bunlara ait grafiksel görüntüler sırasıyla Şekil 3.4. ve 3.5.'de sunuldu.

3.1.1. Tedavinin 1. Günü

Grupların tümünde yanık oluşturulan gözlerde değişik derecelerde şemozis, konjunktivitis, konjunktival hiperemi görüldü. Tüm tedavi gruplarında korneal erozyon yakma işleminden hemen sonra oluşmazken, fluoroscein boyama sonucuna göre 1. günde en yüksek düzeydeydi.

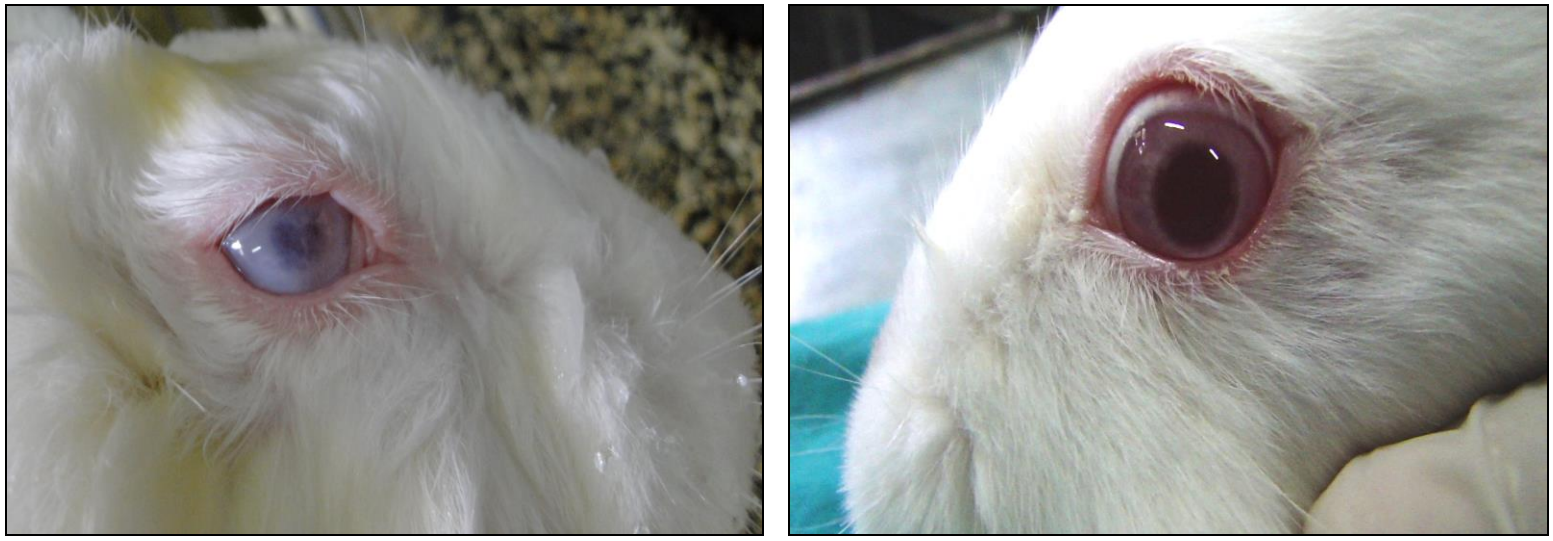
Korneal bulanıklık, asit uygulamasından hemen sonra en yüksek seviyede bulundu. İ ve K gruplarına ait deneklerin tümünde şiddetli bulanıklık belirlenirken, D grubunda, deneklerin 3'ünde şiddetli, 3'ünde ilerlemiş bulanıklık gözlendiği saptandı. Dİ grubunda, deneklerin 5'inde şiddetli, 1'inde ise ilerlemiş bulanıklık tespit edildi (Çizelge 3.1.). Korneal bulanıklık istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; grupların tamanında yanık sonrası yapılan muayeneye kıyasla önemli bir değişiklik ($p>0,05$) gözlenmezken, deney grupları arasında, D grubunda, İ ve K grubundan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az bulunduğu tespit edildi. Bununla birlikte, D grubu ile Dİ grubu arasında ve İ, Dİ ve K grupları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık saptanmadı (Çizelge 3.5.).

Konjunktivitis, İ grubunda, deneklerin 1'inde çok şiddetli, 5'inde şiddetli olarak belirlenirken; D grubunda, 3'ünde çok şiddetli, 3'ünde şiddetli olarak saptandı. Dİ grubunda, deneklerin tamamında çok şiddetli olarak belirlenirken, K grubunda, deneklerin 5'inde çok şiddetli, 1'inde ise şiddetli olarak belirlendi

(Çizelge 3.2.). Konjunktivitis verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; grupların tümünde konjunktivitis bulgularının yanık sonrası yapılan muayeneye benzer bir tablo gösterdiği belirlendi. Deney grupları arasında yangının; İ grubunda Dİ grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha hafif gözlendiği belirlenirken, D ve K gruplarına kıyasla daha hafif gözlenmesine rağmen bu durum istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) bulunmadı. D grubunun, Dİ ve K gruplarına, Dİ grubunun ise K grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) olmayan daha hafif bir konjunktivitis gösterdiği belirlendi (Çizelge 3.7.).

Konjunktival damar durumu; K grubunda deneklerin tamamında kan akımında şiddetli derecede bozukluk şeklinde saptanırken, D ve İ gruplarında; deneklerin 1'inde kan akımında şiddetli derecede bozukluk, 5'inde ilerlemiş derecede çapsal değişimler şeklinde belirlendi. Dİ grubunda; deneklerin 5'inde kan akımında şiddetli derecede bozukluk, 1'inde ise ilerlemiş derecede çapsal değişimler şeklinde saptandı (Çizelge 3.3. ve 3.8.). Konjunktival damar durumu verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; D ve İ grubunda, yanık sonrası yapılan muayeneye kıyasla önemli derecede ($p<0,05$) az damar hasarı belirlendi. D ve İ gruplarının, K grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az hasar gösterdiği tespit edilirken, Dİ grubuna kıyasla daha az bir hasar saptanmasına rağmen bu durum istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) bulunmadı. D ile İ gruplarının; aynı derecede hasar gösterdiği saptanırken, Dİ grubunun, K grubuna kıyasla daha az bir hasar gösterdiği tespit edilmesine rağmen, bu durum istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) bulunmadı (Çizelge 3.9.).

Göz içi basıncının; D grubunda yakma işlemi öncesine kıyasla, istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) yüksek olduğu belirlendi. D grubunda; göz içi basıncı diğer gruplara göre daha yüksek bulunurken, bu yükseklik K grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemliydi ($p<0,05$). Bununla birlikte göz içi basıncı; İ grubunda Dİ ve K grubundan, Dİ grubunun da K grubundan istatistiksel olarak önemli olmayan şekilde yüksek ($p>0,05$) olduğu gözlendi (Çizelge 3.13.).



Resim 3.1. Hidroflorik asit uygulandıktan hemen sonra korneada oluşan opasitenin (A) ve sağlam gözün (B) görünümü (Kontrol 7 günlük grup 1 nolu tavşan).

Çizelge 3.1. Yanık sonrasında deney gruplarına ait tedavinin 1, 2, 7 ve 14. günlerinde korneal bulanıklık skorlama derecelerinin gruplara ve günlere göre dağılımı.

Makroskobik Bulgular	1. Gün				2. Gün				7. Gün				14. Gün			
	D	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**
Korneal Bulanıklık Derecesi	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$
0	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$
1	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$
2	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$
3	$3^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$
4	$3^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$

*****Gruptaki toplam tavşan sayısı, $^{\#}$Grup içerisinde korneal bulanıklık için derecelendirilen skoru gösteren tavşan sayısı, $^{-}$ Grup içerisinde korneal bulanıklığın değerlendirilmesi için derecelendirilen skorda tavşan bulunmadığını göstermektedir.

0- Saydam kornea.
1-Hafif bulanıklık: Ön kamara ayrıntıları görülebilecek düzeyde saydam kornea.
2-Orta dereceli bulanıklık: Ön kamarayı net bir şekilde göremeyecek şekildeki bulanıklık.
3-İlerlemiş bulanıklık: Pupilla ve iris detayları görülemeyecek şekilde bir bulanıklık.
4-Şiddetli bulanıklık (total bulanıklık): Kornea dışında başka hiçbir yapının görülmediği bulanıklık.

Çizelge 3.2. Yanık sonrasında deney gruplarına ait tedavinin 1, 2, 7 ve 14. günlerinde konjunktivitis skorlama derecelerinin gruplara ve günlere göre dağılımı.

Makroskobik Bulgular	1. Gün				2. Gün				7. Gün				14. Gün			
	D	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**
Konjunktivitis	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$
0	$^{-}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$^{-}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$
1	$^{-}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$^{-}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$
2	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$
3	$3^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$
4	$3^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$

*****Gruptaki toplam tavşan sayısı, $^{\#}$Grup içerisinde konjunktivitis için derecelendirilen skoru gösteren tavşan sayısı, $^{-}$ Grup içerisinde konjunktivitis için derecelendirilen skorda tavşan bulunmadığını göstermektedir.

0-Yangı yok.
1-Hafif şiddetli: Hiperemik, az oranda şemozis (ödem).
2-Orta şiddetli: Hiperemik, orta derecede şemozis, palpebra tertia'nın palpebral yüzünde az sayıda dar ve beyaz nekrotik alanlar.
3-Şiddetli: Hiperemik, konjunktiva balonlaşmış halde, şiddetli şemozis, palpebra tertia'nın palpebral yüzünde az sayıda beyaz nekrotik alanlar.
4-Çok şiddetli; Hiperemik, konjunktiva balonlaşmış halde, şiddetli şemozis, palpebra tertia'nın palpebral yüzünde çok sayıda geniş ve beyaz nekrotik alanlar, göz kapakları bulbusu kapatacak şekilde.

Çizelge 3.3. Yanık sonrasında deney gruplarına ait tedavinin 1, 2, 7 ve 14. günlerinde konjunktival damar durumu skorlama derecelerinin gruplara ve günlere göre dağılımı.

Makroskobik Bulgular	**1. Gün**				**2. Gün**				**7. Gün**				**14. Gün**			
	D	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**	**D**	**İ**	**Dİ**	**K**
Konjunktival Damar Durumu	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$
0	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$
1	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$
2	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$3^{\#}/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$
3	$5^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$4^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$2^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$
4	$1^{\#}/6^{*}$	$1^{\#}/6^{*}$	$5^{\#}/6^{*}$	$6^{\#}/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$	$-/6^{*}$

*****Gruptaki toplam tavşan sayısı, $^{\#}$Grup içerisinde konjunktival damar durumu için derecelendirilen skoru gösteren tavşan sayısı, $^{-}$Grup içerisinde konjunktival damar durumu için derecelendirilen skorda tavşan bulunmadığını göstermektedir.

0-Damar yapısı normal.
1-Belli belirsiz spiral yapı.
2-Spiral yapı ve belli belirsiz çapsal değişiklikler.
3-İlerlemiş derecede çapsal değişimler ve kan akımında hafiften orta dereceye kadar olan bozukluk.
4-Kan akımında şiddetli derecede bozukluk ve konjunktival damarlarda intravasküler koagülasyonlar.

Çizelge 3.4. Yanık sonrasında deney gruplarına ait korneal bulanıklığın skorlama ham verileri

Gruplar	Denekler	1. Gün	2. Gün	7. Gün	14. Gün
D	**1**	3	2	0	0
	2	4	3	2	1
	3	3	3	1	0
	4	4	3	1	0
	5	3	3	0	0
	6	4	3	1	0
İ	**1**	4	3	3	2
	2	4	4	3	2
	3	4	4	3	2
	4	4	3	3	2
	5	4	3	3	2
	6	4	3	3	3
Dİ	**1**	4	4	3	3
	2	4	4	3	3
	3	4	4	3	3
	4	4	4	3	3
	5	4	3	3	2
	6	3	3	3	2
K	**1**	4	3	2	2
	2	4	3	1	0
	3	4	3	2	1
	4	4	3	1	0
	5	4	3	2	1
	6	4	3	1	2

D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

Çizelge 3.5. Yanık sonrasında deney gruplarına ait korneal bulanıklıkta gözlenen değişiklikler (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
YÖ	$0,00\pm0,00^{dA}$	$0,00\pm0,00^{eA}$	$0,00\pm0,00^{cA}$	$0,00\pm0,00^{dA}$
YS	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$
1. gün	$3,50\pm0,22^{aB}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$3,83\pm0,17^{aAB}$	$4,00\pm0,00^{aA}$
2. gün	$2,83\pm0,17^{bB}$	$3,33\pm0,21^{bAB}$	$3,67\pm0,21^{aA}$	$3,17\pm0,17^{bAB}$
7. gün	$0,83\pm0,31^{cC}$	$3,00\pm0,00^{cA}$	$3,00\pm0,00^{bA}$	$1,50\pm0,22^{cB}$
14. gün	$0,17\pm0,17^{cC}$	$2,17\pm0,17^{dA}$	$2,67\pm0,21^{bA}$	$1,00\pm0,37^{cB}$

Aynı sütun (a, b, c, d, e) ve aynı satırdaki (A,B,C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). YÖ: Yanık öncesi, YS: Yanık sonrası.

Çizelge 3.6. Yanık sonrasında deney gruplarına ait konjunktivitis skorlama ham verileri.

Gruplar	Denekler	1. Gün	2. Gün	7. Gün	14. Gün
D	**1**	3	2	1	0
	2	4	3	2	1
	3	3	3	1	1
	4	3	3	1	1
	5	4	3	1	0
	6	4	3	2	1
İ	**1**	4	3	2	2
	2	4	4	1	1
	3	4	3	2	2
	4	3	3	1	1
	5	4	2	2	1
	6	4	3	2	2
Dİ	**1**	4	3	3	2
	2	4	4	4	3
	3	4	4	4	3
	4	4	4	4	3
	5	4	3	2	2
	6	4	3	2	2
K	**1**	3	3	2	2
	2	3	2	1	1
	3	4	4	3	2
	4	3	2	1	1
	5	3	2	2	1
	6	4	4	3	2

D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

Çizelge 3.7. Yanık sonrasında deney gruplarında konjunktivitiste gözlenen değişiklikler (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
YÖ	$0,00\pm0,00^{eA}$	$0,00\pm0,00^{dA}$	$0,00\pm0,00^{dA}$	$0,00\pm0,00^{dA}$
YS	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$
1.gün	$3,50\pm0,22^{aAB}$	$3,33\pm0,21^{abB}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$3,83\pm0,17^{aAB}$
2.gün	$2,83\pm0,17^{bA}$	$2,83\pm0,40^{bA}$	$3,50\pm0,22^{abA}$	$3,00\pm0,26^{bA}$
7.gün	$1,33\pm0,21^{cB}$	$2,00\pm0,37^{cB}$	$3,17\pm0,40^{bA}$	$1,67\pm0,21^{cB}$
14.gün	$0,67\pm0,21^{dC}$	$1,50\pm0,22^{cB}$	$2,50\pm0,22^{cA}$	$1,50\pm0,22^{cB}$

Aynı sütun (a, b, c, d, e) ve aynı satırdaki (A,B,C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). YÖ: Yanık öncesi, YS: Yanık sonrası.

Çizelge 3.8. Yanık sonrasında deney gruplarına ait konjunktival damar durum skorlama ham verileri.

Gruplar	Denekler	1. Gün	2. Gün	7. Gün	14. Gün
D	**1**	3	2	1	0
	2	3	3	2	1
	3	4	3	1	1
	4	3	2	1	1
	5	3	3	1	1
	6	4	3	2	1
İ	**1**	3	2	2	1
	2	3	3	2	1
	3	4	3	3	2
	4	3	3	2	1
	5	3	3	2	2
	6	4	3	3	2
Dİ	**1**	3	3	3	2
	2	4	3	3	3
	3	4	3	3	3
	4	4	3	3	3
	5	4	3	3	2
	6	4	3	2	2
K	**1**	4	3	2	2
	2	4	4	2	2
	3	4	3	2	2
	4	4	3	2	1
	5	4	3	2	1
	6	4	3	2	2

D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

Çizelge 3.9. Yanık sonrasında deney gruplarında konjunktival damarlarda gözlenen değişiklikler (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
YÖ	$0,00\pm0,00^{fA}$	$0,00\pm0,00^{fA}$	$0,00\pm0,00^{dA}$	$0,00\pm0,00^{eA}$
YS	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$	$4,00\pm0,00^{aA}$
1. gün	$3,33\pm0,21^{bB}$	$3,33\pm0,21^{bB}$	$3,83\pm0,17^{aAB}$	$4,00\pm0,00^{aA}$
2. gün	$2,67\pm0,21^{cA}$	$2,83\pm0,17^{cA}$	$3,00\pm0,00^{bA}$	$3,00\pm0,00^{bA}$
7. gün	$1,33\pm0,21^{dC}$	$2,33\pm0,21^{dAB}$	$2,83\pm0,17^{bcA}$	$2,00\pm0,00^{cB}$
14. gün	$0,83\pm0,17^{eB}$	$1,50\pm0,22^{eB}$	$2,50\pm0,22^{cA}$	$1,67\pm0,21^{dB}$

Aynı sütun (a, b, c, d, e, f) ve aynı satırdaki (A,B,C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). YÖ: Yanık öncesi, YS: Yanık sonrası.

Çizelge 3.10. Yanık sonrasında deney gruplarına ait korneal erozyon alanı ölçümü ham verileri

Gruplar	Denekler	YS	2. Gün	7. Gün	14. Gün
D	**1**	100	49	4	0
	2	100	44	19	5
	3	100	35	7	0
	4	100	23	6	0
	5	100	71	0	0
	6	100	50	6	0
İ	**1**	100	52	56	39
	2	100	88	83	44
	3	100	76	45	31
	4	100	97	64	56
	5	100	86	61	32
	6	100	89	66	54
Dİ	**1**	100	72	63	75
	2	100	61	69	55
	3	100	88	81	66
	4	100	87	59	66
	5	100	81	56	45
	6	100	75	66	26
K	**1**	100	73	23	26
	2	100	86	0	0
	3	100	82	9	9
	4	100	63	0	0
	5	100	87	48	7
	6	100	88	0	8

D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

Çizelge 3.11. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında tespit edilen korneal erozyon alanı ölçüm yüzdeleri (%, Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
YÖ	0 ± 0^{cA}	0 ± 0^{eA}	0 ± 0^{dA}	0 ± 0^{eA}
1. Gün	100 ± 0^{aA}	100 ± 0^{aA}	100 ± 0^{aA}	100 ± 0^{aA}
2. Gün	45 ± 7^{bB}	81 ± 6^{bA}	77 ± 4^{bA}	80 ± 4^{bA}
7. Gün	7 ± 3^{cB}	63 ± 5^{cA}	66 ± 4^{bcA}	13 ± 8^{cB}
14. Gün	1 ± 1^{cB}	43 ± 4^{dA}	56 ± 7^{cA}	8 ± 4^{dcB}

Aynı sütun (a, b, c, d, e) ve aynı satırdaki (A,B,C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). YÖ: Yanık öncesi.

Çizelge 3.12. Yanık sonrasında deney gruplarına ait göz içi basıncı ölçümü ham verileri

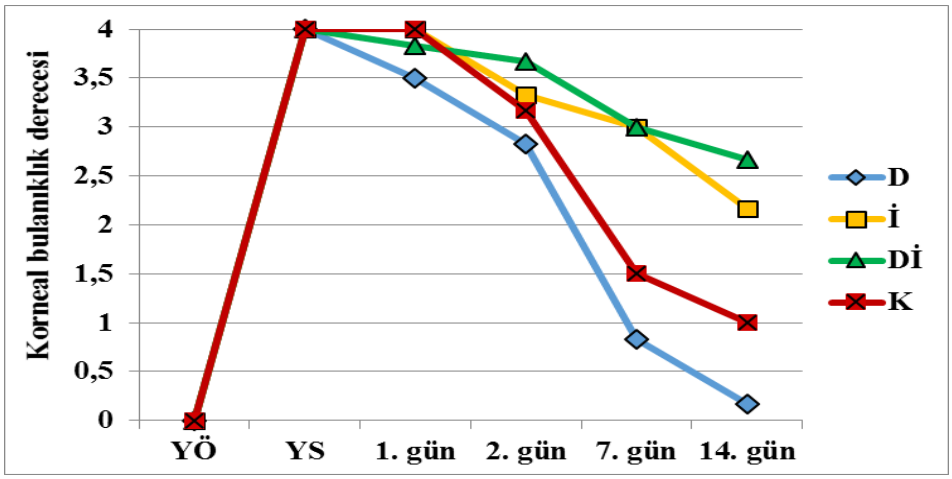
Gruplar	Denekler	YÖ	1. Gün	2. Gün	7. Gün	14. Gün
D	**1**	11,2	15,6	14,8	9	12,2
	2	11,6	13	11,4	14,2	11
	3	11,2	16,6	18,2	8,8	13
	4	11,6	13,4	19,8	9,6	12,2
	5	12,2	14	19,4	14,8	12,2
	6	9	13,2	13,2	6	11,2
İ	**1**	14	15,2	13,8	13,8	15,2
	2	14,8	14,2	13,4	13,4	10
	3	11,8	10,2	11	11,8	16,6
	4	11	12,4	13	10,8	11
	5	12,8	11	9,8	12	10
	6	12,4	9	8,4	13	12
Dİ	**1**	9	8,6	10,8	12,6	14,2
	2	12,6	14,2	17,8	17,8	12,8
	3	12,4	12,2	13,6	17,2	13
	4	11,8	11,2	12,2	12	12
	5	11,4	11,2	11	10,2	11
	6	12	14,2	13,4	12,6	7,6
K	**1**	13,4	13,8	20,8	9	8,2
	2	12	10,6	15,4	7	10,4
	3	12,2	11,4	12,6	8,2	12,8
	4	9,2	12,2	12,6	10,8	11,4
	5	11	8,4	11,8	7,2	8,2
	6	11,2	9,4	14,8	6,2	9,8

D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

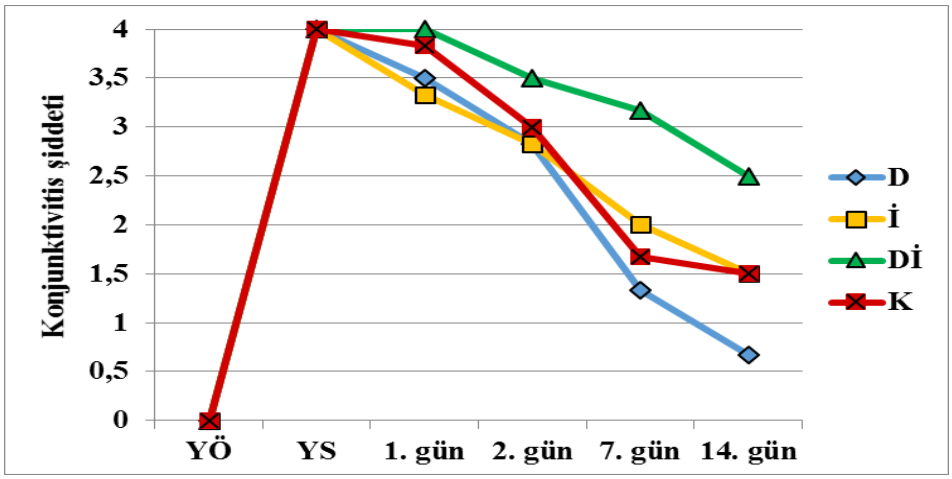
Çizelge 3.13. Yanık sonrası deney gruplarındaki göz içi basıncı değerleri (mmHg, Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
YÖ	$11,13\pm0,45^{cdA}$	$12,80\pm0,57^{aA}$	$11,53\pm0,54^{aA}$	$11,50\pm0,58^{bA}$
1. gün	$14,30\pm0,60^{abA}$	$12,00\pm0,97^{aAB}$	$11,93\pm0,87^{aAB}$	$10,97\pm0,79^{bcB}$
2. gün	$16,13\pm1,43^{aA}$	$11,57\pm0,89^{aB}$	$13,13\pm1,05^{aAB}$	$14,67\pm1,35^{aAB}$
7. gün	$10,40\pm1,39^{dBC}$	$12,47\pm0,46^{aAB}$	$13,73\pm1,25^{aA}$	$8,07\pm0,68^{cdC}$
14. gün	$11,97\pm0,30^{bcdA}$	$12,47\pm1,14^{aA}$	$11,77\pm0,94^{aA}$	$10,13\pm0,74b^{cdA}$

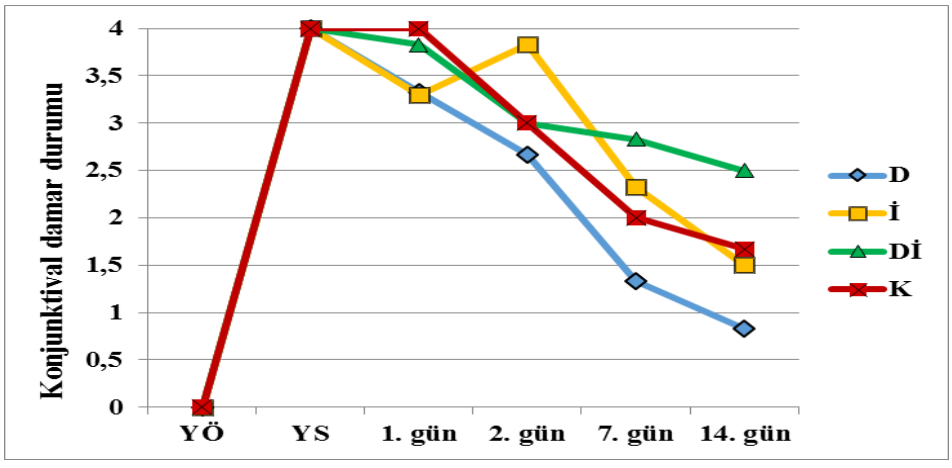
Aynı sütun (a, b, c, d, e) ve aynı satırdaki (A,B,C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). YÖ: Yanık öncesi.



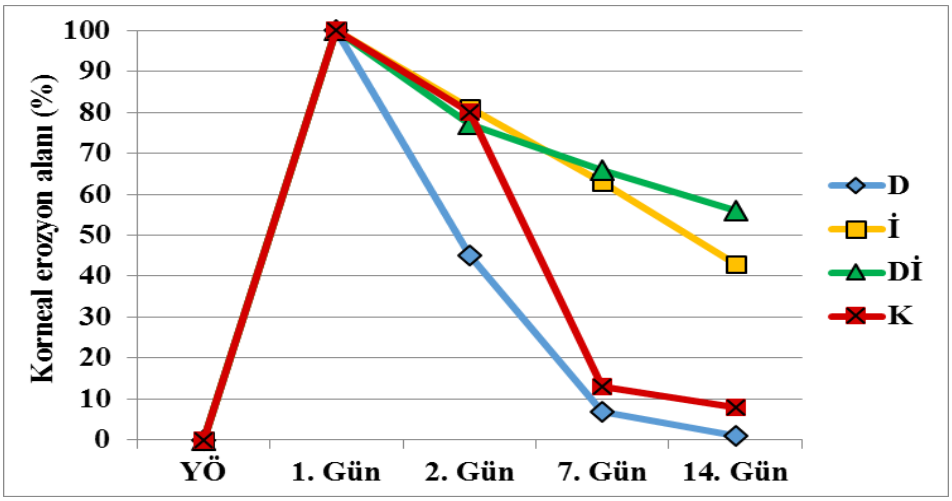
Şekil 3.1. Yanık sonrası gruplara ait korneal bulanıklık grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu, YÖ: Yanık öncesi, YS: Yanık sonrası.



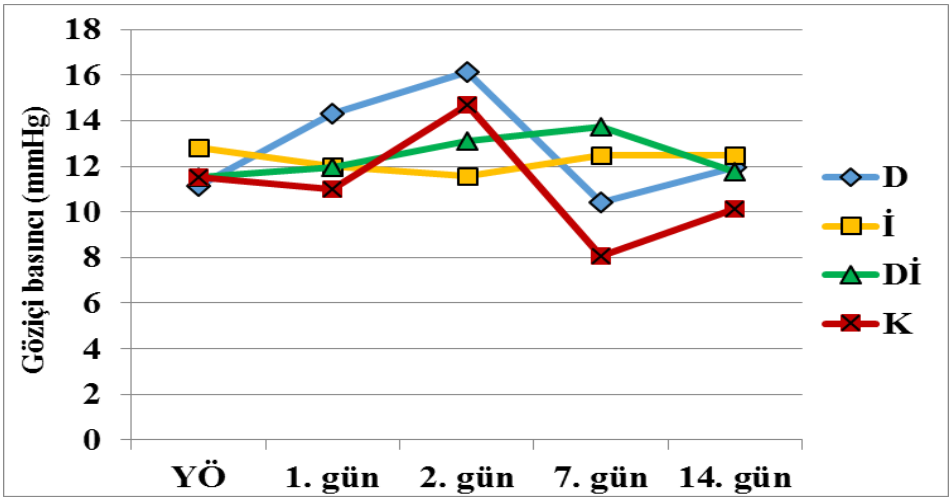
Şekil 3.2. Yanık sonrası gruplara ait konjunktivitis şiddet grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu, YÖ: Yanık öncesi, YS: Yanık sonrası.



Şekil 3.3. Yanık sonrası gruplara ait konjunktival damar durumu grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu, YÖ: Yanık öncesi, YS: Yanık sonrası.



Şekil 3.4. Yanık sonrası gruplara ait korneal erozyon alanı (%) grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu, YÖ: Yanık öncesi.



Şekil 3.5. Yanık sonrası gruplara ait göz içi basıncı (mm Hg) grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu, YÖ: Yanık öncesi.

3.1.2. Tedavinin 2. Günü

Episkleral vaskülarizasyonun; D ve İ grubu deneklerinin 3'ünde korneanın süperiöründe bariz olarak gözlenirken (Resim 3.2), K ve Dİ grupları deneklerinde gözlenmediği belirlendi.

Üçüncü göz kapağının palpebral yüzündeki nekrotik alanlara; DMSO grubu deneklerinin 4'ünde şiddetli, 2'sinde orta şiddetli, İ grubunda; deneklerin 3'ünde çok şiddetli (Resim 3.4), 2'sinde orta şiddetli, 1'inde ise hafif şiddetli olarak saptandı. Dİ grubunda; deneklerin 5'inde çok şiddetli (Resim 3.9), 1'inde orta şiddetli olarak

gözlenirken, K grubunda ise; deneklerin 4'ünde orta şiddetli, 2'sinde şiddetli olarak belirlendi.

Tavşanların göz kapaklarında yangıya bağlı ödem ve blefaritis; DMSO ve İ grubunda deneklerin tamamında hafif şekilde saptanırken, Dİ ve K grubunda; deneklerin 4'ünde hafif, 2'sinde orta şiddette saptandı.

Korneal bulanıklık; D grubunda, deneklerin 5'inde ileri derecede, 1'inde orta dereceli bir bulanıklık saptandı. İ grubunda; deneklerin 4'ünde ilerlemiş düzeyde, 2'sinde ise şiddetli bulanıklık belirlendi. Dİ grubunda; deneklerin 4'ünde şiddetli bulanıklık gözlenirken, 2'sinde ise orta derecede bulanıklık saptandı. K grubunda; deneklerin 5'inde ilerlemiş düzeyde bir bulanıklık, 1'inde şiddetli bulanıklık saptandı (Çizelge 3.1. ve 3.4.). Korneal bulanıklık verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; hem yanık sonrasına ve hem de 1. güne kıyasla grupların tamamında bir azalma saptanırken; Dİ grubu dışındaki gruplardaki azalma, istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulundu. Gruplar arasında ise; D grubu deneklerindeki bulanıklık azalması, Dİ grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunurken; İ ve K gruplarına kıyasla, istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir azalma gözlendi. Bununla birlikte K grubunun, İ ve Dİ gruplarından; İ grubununda, Dİ grubundan istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir azalma gösterdiği belirlendi (Çizelge 3.5.).

Hiperemi ve şemozis ile karakterize konjunktivitis, grupların tümünde tespit edildi. Bu yangısal durum D grubunda; deneklerin 5'inde şiddetli, 1'inde ise orta şiddetli olarak bulundu (Resim 3.3.). İ grubunda; deneklerden 2'sinde çok şiddetli, 3'ünde orta şiddetli, 1'inde ise şiddetli olarak gözlendi. Dİ grubunda; deneklerin 3'ünde çok şiddetli (Resim 3.5.), 3'ünde şiddetli olarak belirlendi. K grubunda; deneklerin 1'inde çok şiddetli, 4'ünde şiddetli (Resim 3.6.), 1'inde ise hafif şiddetli olarak tespit edildi (Çizelge 3.2. ve 3.6.). Konjunktivitis verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; D ve K gruplarında konjunktivitisin, hem yanık sonrasına ve hem de 1. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı belirlenirken ($p<0,05$), İ grubunda; yanık sonrasına kıyasla istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$), 1. güne göre ise, önemsiz ($p>0,05$) bir azalma saptandı. Dİ grubunda ise; istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalma ($p>0,05$) belirlendi. Gruplar arasında ise

konjunktivitisin, tüm gruplarda birbirlerine benzer şiddette gözlendiği tespit edildi (Çizelge 3.7.).

Konjunktival damarlarda meydana gelen değişiklikler değerlendirildiğinde; D grubunda, deneklerin 4'ünde konjunktival damarlarda ilerlemiş derecede çapsal değişimler saptanırken (Resim 3.7), 2'sinde damarlarda spiral bir yapı ve belli belirsiz çapsal değişiklikler saptandı. İ grubunda; deneklerin 1'inde konjunktival damarlarda spiral yapı ve belli belirsiz çapsal değişiklikler gözlenirken, 5'inde ise ilerlemiş derecede çapsal değişimler belirlendi (Resim 3.8). Dİ (Resim 3.9) ve K gruplarında ise; deneklerin tümünde ilerlemiş derecede çapsal değişimler tespit edildi (Çizelge 3.3 ve 3.8). Konjunktival damarlardaki durumu gösteren skorlama verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; grupların tümünde hem yanık sonrasına ve hem de 1. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) saptanırken, deney grupları arasında D grubunun diğer gruplara, İ grubunun Dİ ve K gruplarına kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) derecede daha az damar hasarı gösterdiği tespit edildi (Çizelge 3.9.).

Korneal erozyon alanı; D grubunda % 45, İ grubunda % 81, Dİ grubunda % 77 ve K grubunda % 80 olarak saptanırken, grupların tamamında 1. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) belirlendi. Bununla birlikte D grubunun diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az korneal erozyon alanı yüzdesine sahip olduğu belirlenirken, diğer 3 grup arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık ($p>0,05$) belirlenmedi (Çizelge 3.11.)

Göz içi basıncında; D, K ve Dİ gruplarında hem yanık öncesine ve hem de 1. güne kıyasla bir artış belirlendi. K grubundaki bu artış istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunurken, D grubundaki artış ise; yanık öncesine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$), 1. güne göre önemsiz ($p>0,05$) bulundu. İ grubunda ise 1. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalış ($p>0,05$) saptandı. Deney grupları arasında ise; D grubundaki basıncın, İ grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha yüksek bulunduğu belirlenirken; K grubundaki basıncın, İ ve Dİ grubundan, Dİ grubundaki basıncın da İ grubundan istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) derecede daha düşük bulunduğu belirlendi (Çizelge 3.13.).



Resim 3.2. Tedavinin 2. gününde DMSO grubunda 2 no'lu tavşanda episkleral vaskülarizasyon.



Resim 3.3. Tedavinin 2. gününde DMSO grubu 3 no'lu tavşanda konjunktivitis ve 3. göz kapağı üzerinde nekrotik alanlar.



Resim 3.4. Tedavinin 2. gününde İndomethacin grubu 4 no'lu tavşanda palpebral konjuktiva ve 3. göz kapağı üzerinde beyaz nekrotik alanlar.



Resim 3.5. Tedavinin 2. gününde DMSO-İndomethacin grubunda 5 no'lu tavşanda şemozis ve konjunktivitisin görünümü.



Resim 3.6. Tedavinin 2. gününde Kontrol grubu 3 no'lu tavşanda şemozis ve konjunktivitisin klinik görünümü.



Resim 3.7. Tedavinin 2. gününde DMSO grubu 6 no'lu tavşanda konjunktival damarlardaki ilerlemiş derecede çapsal değişiklikler.



Resim 3.8. Tedavinin 2. gününde İndomethacin grubunda 5 no'lu tavşanda konjunktival damarlarda ilerlemiş derecede çapsal değişimlerin görünümü.



Resim 3.9. Tedavinin 2. gününde DMSO-İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda beyaz nekrotik alanlar ve konjunktival damarlarda ilerlemiş düzeyde çapsal değişimler.

3.1.3. Tedavinin 7. Günü

Episkleral vaskülarizasyon; D grubu deneklerinin tamamında limbal bölgeden korneaya doğru yayılırken, 1 denekte bu yayılma pupilla sınırına kadar ilerlemiş durumdaydı (Resim 3.10). İ grubunda; deneklerin tümünde episkleral vaskülarizasyon gözlenirken, 2 denekte daha belirgindi (Resim 3.13). Dİ grubunda vaskülarizasyon; deneklerin 3'ünde gözlenirken, 1'inde daha belirgindi (Resim 3.14). Kontrol grubunda, deneklerin 5'inde çok yüzeysel seyrettiği belirlendi.

Göz kapaklarındaki palpebral ödemin, D grubunda 1 denek dışında azaldığı belirlendi. İ grubunda, 3 denekte ve bunların 1'inde daha şiddetli olduğu belirlendi (Resim 3.11). Dİ grubunda, 4 denekte görülürken 1'inde daha şiddetliydi. K grubunda ise 3 denekte hafif şiddette palpebral ödem belirlendi.

Palpebra tertia üzerinde 2. günde gözlenen beyaz nekrotik artıklar 7. günde; D grubu deneklerinde saptanmazken, İ grubunda; şiddetli konjunktivitis gelişen 3 denekte, nekrotik doku artıkları ve şemozis belirgindi (Resim 3.15). Dİ grubunda, deneklerin tümünde palpebra tertia ve konjunktiva üzerinde nekrotik yapılar saptandı (Resim 3.12). K grubunda, deneklerin 1'inde daha belirgin olmak üzere 2'sinde nekrotik alanlar saptandı (Resim 3.16).

Korneal bulanıklık; D grubunda deneklerin 1'inde orta, 3'ünde hafif bulanıklık saptanırken, 2 olguda kornea saydam duruma geldi. İ ve Dİ grubunda, deneklerin tümünde korneanın ilerlemiş düzeyde bulanık olduğu belirlendi. K grubunda; deneklerin 3'ünde orta, 3'ünde ise hafif bir bulanıklık saptandı (Çizelge 3.1. ve 3.4.). Korneal bulanıklık dereceleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; grupların tamamında yanık sonrası ile birlikte 1 ve 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azalma saptanırken, deney grupları arasında; istatistiksel olarak en önemli azalmalar ($p<0,05$), D ve K gruplarında gözlendi. D grubundaki bulanıklık azalması, K grubundan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha fazlaydı. İ ve Dİ grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık ($p>0,05$) saptanmadı (Çizelge 3.5.).

Konjunktivitis; D grubunda deneklerin 4'ünde hafif, 2'sinde ise orta şiddette saptanırken, İ grubunda; deneklerin 2'sinde hafif, 2'sinde orta, 2'sinde ise şiddetli

olarak bulundu (Resim 3.15). Dİ grubunda, deneklerin 3'ünde çok şiddetli, 2'sinde orta ve 1'inde şiddetli olarak belirlenirken, K grubunda ise deneklerin 1'inde çok şiddetli, 4'ünde şiddetli, 1'inde ise hafif şiddetli olarak tespit edildi (Çizelge 3.2. ve 3.6.). Konjunktivis, istatistiki olarak değerlendirildiğinde; grupların tamamında yanık sonrasıyla birlikte 1. ve 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azalma gözlenirken, deney grupları arasında; D, İ ve K gruplarında gözlenen konjunktivitis, Dİ grubundan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az bulundu (Çizelge 3.7.).

Konjunktival damarlardaki hasar ve düzensizliklerin 2. güne kıyasla azalması dikkati çekti. Konjunktival damarlar D grubunda; deneklerin 4'ünde belli belirsiz spiral yapıda gözlenirken, 2'sinde ise spiral yapıda ve belli belirsiz çapsal değişiklikler gösterdiği saptandı. İ grubunda; deneklerin 4'ünde spiral yapıda ve belli belirsiz çapsal değişiklikler, 2'sinde ise ilerlemiş derecede çapsal değişimler gösterdiği belirlendi. Dİ grubunda; deneklerin 5'inde ilerlemiş derecede çapsal değişimler (Resim 3.14.), 1'inde ise spiral yapıda ve belli belirsiz çapsal değişiklikler gösterdiği saptandı. K grubunda ise; deneklerin tamamında belli belirsiz çapsal değişiklikler tespit edildi (Çizelge 3.3. ve 3.8.). Konjunktival damarlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; grupların tümünde yanık sonrası yapılan muayeneye kıyasla istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) derecede daha az hasar belirlendi. Dİ dışındaki gruplarda, hem 1 ve hem de 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede daha az hasar gözlendi ($p<0,05$). Deney grupları arasında ise; D grubunun tüm gruplardan, K grubunun da Dİ grubundan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha iyi olduğu belirlendi (Çizelge 3.9.).

Korneal erozyon alan yüzdesi; D grubunda % 7, İ grubunda % 63, Dİ grubunda % 66 ve K grubunda % 13 olarak saptandı. Grupların tümünde erozyonun; yanık sonrası yapılan ölçümlere kıyasla istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) derecede azaldığı tespit edildi. D, İ ve K gruplarında, hem 1 ve hem de 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli azalma ($p<0,05$) belirlenirken; Dİ grubunda 1. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$), 2. güne kıyasla ise istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir azalma saptandı. Deney grupları arasındaki erozyon alanı; D ve K gruplarında İ ve Dİ gruplarından istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az bulundu. İ grubu olgularında, Dİ grubuna kıyasla daha düşük bir

korneal erozyon alanı belirlenirken, bu durum istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) bulunmadı (Çizelge 3.11.).

Göz içi basıncında; D grubunda yanık öncesine kıyasla istatitiksel olarak önemsiz ($p>0,05$), 1 ve. 2. güne kıyasla ise istatitiksel olarak ise önemli ($p<0,05$) bir azalma saptanırken; K grubunda, hem yanık öncesine ve hem de 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli oranda ($p<0,05$) azaldığı tespit edildi. İ grubunda; yanık öncesine kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) azalma, 1 ve 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir artış belirlendi. Dİ grubunda; yanık öncesiyle birlikte 1 ve 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli bulunmayan ($p>0,05$) bir artış bulundu. Deney grupları arasında ise; D grubundaki olguların Dİ grubundan, K grubundaki olguların ise hem İ ve hem de Dİ grubundan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az göz içi basıncına sahip olduğu belirlenirken; İ ve Dİ grupları arasında istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) bir farklılık saptanmadı (Çizelge 3.13.).



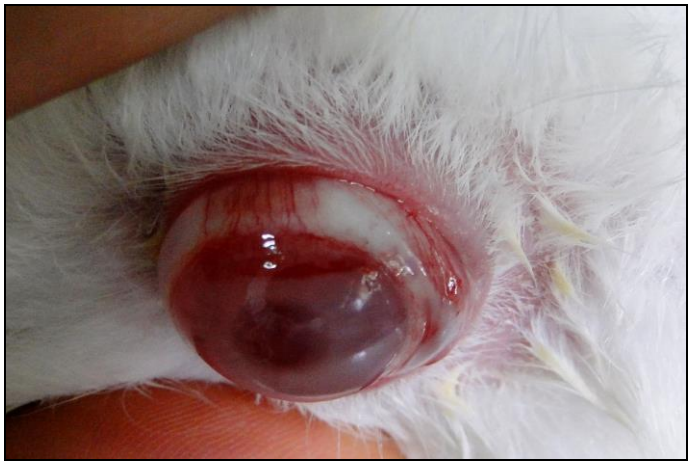
Resim 3.10. Tedavinin 7. gününde DMSO grubu 2 no'lu tavşanda pupilla sınırına uzanan vaskülarizasyonun klinik görünümü



Resim 3.11. Tedavinin 7. gününde İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda palpebral ödem ve blefaritisin klinik görünümü.



Resim 3.12. Tedavinin 7. gününde DMSO-İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda 3. göz kapağı üzerinde nekrotik dokunun görünümü



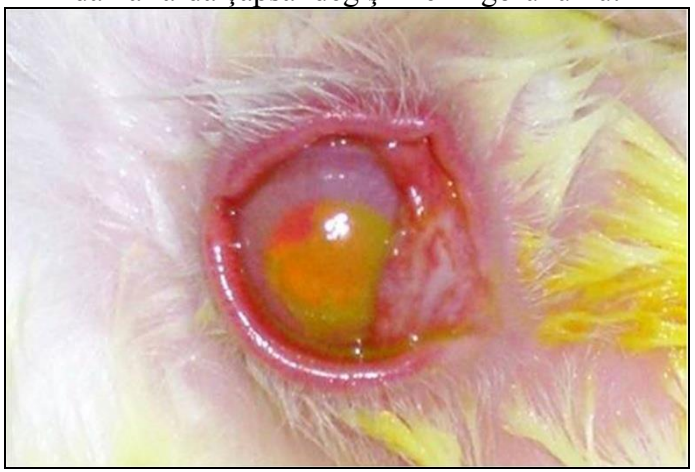
Resim 3.13. Tedavinin 7. gününde İndomethacin grubu 6 no'lu tavşanda korneal vaskülarizasyonun klinik görünümü.



Resim 3.14. Tedavinin 7. gününde DMSO-İndomethacin grubu 4 no'lu tavşanda korneal vaskülarizasyon ve konjunktival damarlarda çapsal değişimlerin görünümü.



Resim 3.15. Tedavinin 7.gününde İndomethacin grubu 2 no'lu tavşanda şemozis ve 3. göz kapağı üzerinde nekrotik dokunun görünümü.



Resim 3.16. Tedavinin 7. gününde Kontrol grubu 5 no'lu tavşanda 3. göz kapağının palpebral yüzünde beyaz nekroz alanları.

3.1.4. Tedavinin 14. Günü

Episkleral vaskülarizasyon; D grubunda deneklerin 3'ünde hafif derecede saptanırken, İ ve Dİ grubunda deneklerin tamamında ve şiddetli derecede belirlendi (Resim 3.21., Resim 3.23.). K grubunda, deneklerin 3'ünde kornea periferini ince bir hat halinde çepeçevre saran yüzeysel vaskülarizasyon saptandı (Resim 3.20.).

Palpebral ödem ve blefaritis; D grubunda deneklerin 1'inde hafif derecede, İ grubunda; 2'sinde şiddetli olmak üzere 3'ünde (Resim 3.22.), Dİ grubunun tamamında şiddetli derecede (Resim 3.24.) ve K grubunda, 3'ünde hafif derecede saptandı.

Palpebra tertia üzerinde gözlenen beyaz nekrotik alanlar, D ve K gruplarında saptanmazken, İ grubunda deneklerin 1'inde, Dİ grubunda deneklerin 2'si orta şiddette olmak üzere 5'inde belirlendi.

Korneal bulanıklık, D grubunda 1 denekte az bulanıklık şeklinde gözükürken 5'inde tamamen saydam kornea haline ulaştığı belirlendi (Resim 3.17.). İ grubunda; deneklerin 5'inde orta, 1'inde şiddetli bir bulanık belirlendi. Dİ grubunda; deneklerin 4'ünde ilerlemiş, 2'sinde ise orta derecede bir bulanıklık saptandı. K grubunda; deneklerin 2'sinde korneanın normal saydam yapısına ulaştığı belirlenirken (Resim 3.18), 2'sinde hafif bir bulanıklık ve 2'sinde orta derecede bir bulanıklık tespit edildi. (Çizelge 3.1. ve 3.4.). Korneal bulanıklık dereceleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; D ve İ grubunda yanık sonrasıyla birlikte 1, 2 ve 7. günlere kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azaldığı görüldü. Dİ ve K grubundaki olgularda; yanık sonrasıyla birlikte 1 ve 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) saptanırken, 7. güne göre istatistiksel olarak önemsiz bir azalma ($p>0,05$) belirlendi. D grubundaki olguların korneal bulanıklığı; İ, Dİ ve K gruplarına kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az bulundu. K grubu, hem İ grubuna hem de Dİ grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az korneal bulanıklığa sahipti. İ grubundaki olgularda ise, Dİ grubuna kıyasla daha az bir korneal bulanıklık saptanmasına rağmen bu istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) bulunmadı (Çizelge 3.5.).

Konjunktivitisin D grubunda, deneklerin 4'ünde hafif şiddette görüldüğü, 2'sinde ise tamamen ortadan kalktığı saptandı. İ grubunda; deneklerin 3'ünde orta (Resim 3.22.), 3'ünde ise hafif şiddette belirlendi. Dİ grubunda; deneklerin 3'ünde şiddetli, 3'ünde ise orta şiddetli görüldü. K grubunda; 3'ünde orta şiddetli (Resim 3.19.), 3'ünde ise hafif şiddetli olarak tespit edildi (Çizelge 3.2. ve 3.6.). Konjunktivitis verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; D ve Dİ gruplarında yanık sonrasıyla birlikte 1, 2 ve 7. günlere kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede bir azalma belirlendi. İ ve K gruplarında; yanık sonrasıyla birlikte 1 ve 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) saptanırken, 7. güne kıyasla istatistiksel olarak önemsiz bir azalma ($p>0,05$) tespit edildi. Deney grupları arasında; D grubu olgularının, diğer 3 gruba kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az bir konjunktivitis gösterdiği saptanırken; İ ve K grubunun, Dİ grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli bir ($p<0,05$) azalma gösterdiği belirlendi (Çizelge 3.7.).

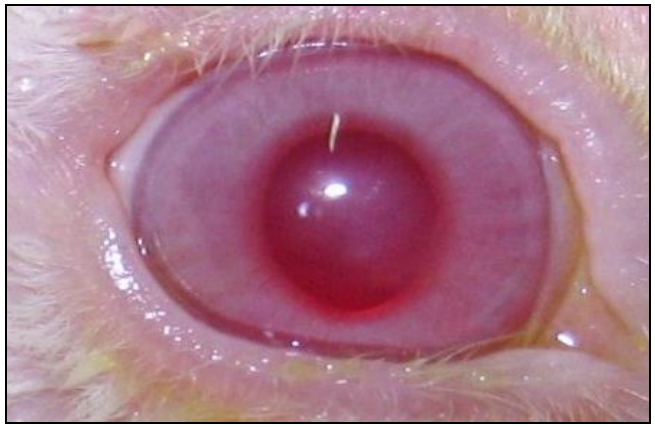
Konjunktival damarlar D grubunda; deneklerin 5'inde belli belirsiz spiral yapıda gözlendiği saptanırken, 1'inde ise damar yapısının normal uniform yapısına döndüğü belirlendi. İ grubunda; deneklerin 3'ünde spiral yapıda ve belli belirsiz çapsal değişiklikler gösterdiği belirlenirken, 3'ünde belli belirsiz spiral yapı gösterdiği tespit edildi. Dİ grubunda; deneklerin 3'ünde ilerlemiş derecede çapsal değişimler gösterdiği saptanırken, 3'ünde ise spiral yapı ve belli belirsiz çapsal değişiklikler belirlendi. K grubunda; deneklerin 4'ünde spiral yapı ve belli belirsiz çapsal değişiklikler belirlenirken, 2'sinde ise belli belirsiz spiral yapı saptandı (Çizelge 3.3. ve 3.8.). Konjunktival damar hasarı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; Dİ dışındaki gruplarda; yanık sonrasıyla birlikte, 1, 2 ve 7. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı tespit edilirken ($p<0,05$), Dİ grubunda; yanık sonrasıyla birlikte, 1. ve 2. günlere kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı tespit edildi. Deney grupları arasında; D, İ ve K gruplarında, Dİ grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p<0,05$) daha az damar hasarı tespit edildi (Çizelge 3.9.).

Korneal erozyon alanı; D grubunda % 1, İ grubunda % 43, Dİ grubunda % 56 ve K grubunda % 8 olarak saptandı. D, Dİ ve K gruplarında; 1 ve 2. günlere kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azaldığı görülürken, 7. güne kıyasla

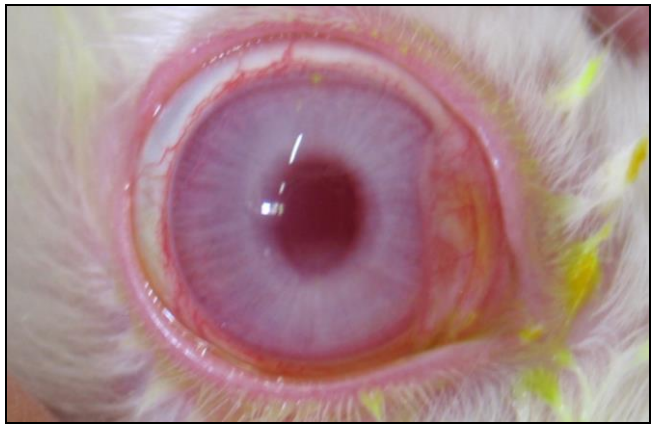
istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir azalma belirlendi. İ grubunda ise; 1, 2 ve 7. günlere kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azaldığı saptandı. Deney grupları arasında; 7. günde olduğu gibi D ve K gruplarında, İ ve Dİ gruplarındaki olgulardan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha az bir erozyon alanı tespit edildi. İ grubunun ise, Dİ grubu olgularına kıyasla istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bir erozyon alanına sahip olduğu belirlendi (Çizelge 3.11.).

Göz içi basıncının; D ve Dİ grupları olgularında yanık öncesi ölçümlere kıyasla istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bir yükselme belirlenirken, İ ve K gruplarında yanık öncesi ölçümlere kıyasla istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bir düşüş saptandı. D ve K grubunda; 1. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir düşüş belirlenirken, 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli bir düşüş ($p<0,05$) belirlendi. 7. güne kıyasla ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bir yükselme saptandı. İ grubunda; 1 ve 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir yükselme saptanırken, 7. günle aynı ölçüm değerlerine sahip olduğu belirlendi. Dİ grubunda ise; 1, 2 ve 7. günlere kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0,05$) bir düşme tespit edildi. Deney grupları arasında istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) bir farklılık tespit edilmedi (Çizelge 3.13.).

Her bir tedavi peryodu sonunda tüm deneklerden elde edilen göz kürelerinin, fluorescein ile boyandıktan sonra çekilen görüntülerde, grupların klinik tedaviye verdikleri yanıtın özeti görülmektedir (Resim 3.25.). Bu görüntülerde D grubunun yakma işleminden sonra tedaviye verdiği yanıtta klinik iyileşmenin sağlandığı görülürken; İ ve Dİ gruplarında klinik iyileşmenin tam oluşmadığı ve korneal hasarın devam ettiği gözlenmektedir. K grubunda ise; korneal hasarın az da olsa devam ettiği görülmektedir.



Resim 3.17. Tedavinin 14. gününde DMSO grubu 5 no'lu tavşanın iyileşmiş korneasının klinik görünümü.



Resim 3.18.Tedavinin 14. gününde Kontrol grubu 4 no'lu tavşanın iyileşmiş korneasının klinik görünümü.



Resim 3.19.Tedavinin 14. gününde Kontrol grubu 6 no'lu tavşanda konjunktivitisin klinik görünümü.



Resim 3.20.Tedavinin 14. gününde Kontrol grubu 5 no'lu tavşanda yüzeysel vaskülarizasyonun klinik görünümü.



Resim 3.21. Tedavinin 14. gününde İndomethacin grubu 4 no'lu tavşanın korneasında yoğun miktarda episkleral vaskülarizasyonun klinik görünümü.



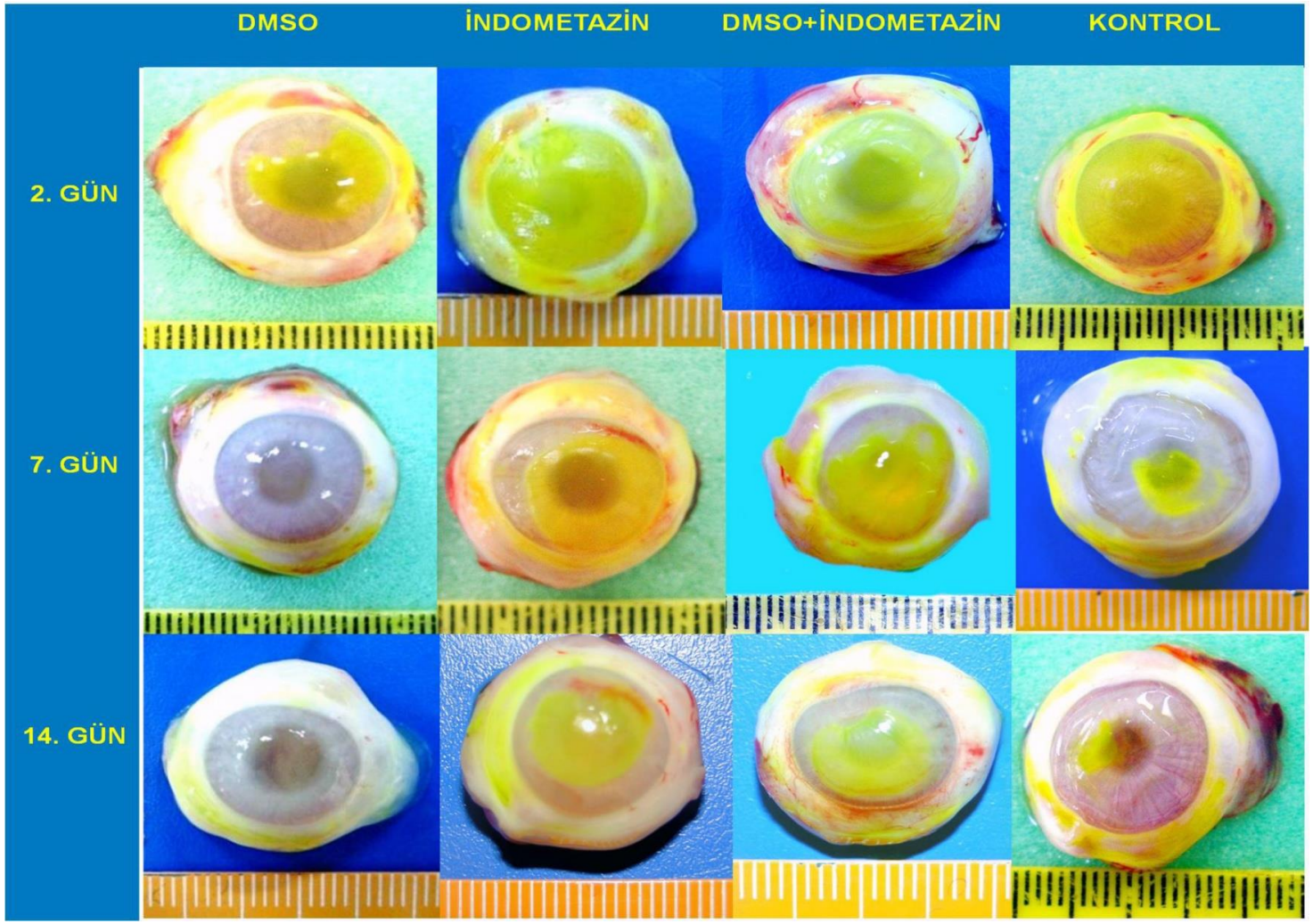
Resim 3.22. Tedavinin 14. gününde İndomethacin grubu 3 no'lu tavşanda konjunktivitis ve blefaritis.



Resim 3.23. Tedavinin 14. gününde DMSO-İndomethacin grubu 5 no'lu tavşanda korneal vaskülarizasyon.



Resim 3.24. Tedavinin 14. gününde DMSO-İndomethacin grubu 4 no'lu blefaritis'in klinik görünümü.



Resim 3.25. Tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde küresel olarak çıkarılan gözlerin deney gruplarına göre fluoroscein ile boyamadan sonra belirlenen korneal erozyon alanlarının klinik görünümleri.

3.2. Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular

Tüm gruplara ait epithelial nekroz, reepitelizasyon, yangısal hücre infiltrasyonu, vaskülarizasyon ve stromal kalınlık ile ilgili histolojik bulgulara ait skorlar ve ham verileri Çizelge 3.14., 3.15., 3.17. ve 3.19.'da, istatistiki sonuçlar ise sırasıyla Çizelge 3.16., 3.18. ve 3.20.'de, bunlarla ilgili grafik görüntüleri ise Şekil 3.6., 3.7. ve 3.8.'de sunuldu.

3.2.1. Tedavinin 2. Günü

Deney gruplarının tamamında, korneal epitel nekrozuna bağlı olarak gelişen epitel kaybı ile bağ dokusu ödemiyle ilgili şekillenen stromal kalınlaşma dikkati çekti (Resim 3.26.). Stromal kalınlaşma; grupların tamamında, normal korneal doku kesitleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) artmış iken, deney grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulundu (Çizelge 3.20.). Stromal kalınlaşma, epitel desquamasyonu (epitelin soyulması) şekillenen bölgelerde daha belirgindi.

Deney gruplarının tamamındaki olgularda; normal kontrol kornealarına kıyasla, yangısal hücre infiltrasyonu istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) artmıştı. Deney gruplarının yangısal hücre infiltrasyonu birbirine oldukça yakındı (Çizelge 3.16.). Grupların tamamında, yangısal hücre infiltrasyonu limbal bölgede ve stromanın ön yarımında daha yoğundu (Resim 3.27.).

Grupların tamamındaki deneklerde; limbal bölgeden korneaya doğru gelişen vaskülarizasyon (Resim 3.28.), normal kontrol kornealarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) artmış olmakla birlikte, deney gruplarındaki olguların kornealarındaki vaskülarizasyon dereceleri birbirine yakın olup, aralarındaki farklar istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0,05$, Çizelge 3.18.).

3.2.2. Tedavinin 7. Günü

İ ve Dİ gruplarının tamamında; korneal epitelde rejenerasyonunun gerçekleşmediği gözlenirken, D ve K gruplarında 4 denekte reepitelizasyonun tamamlanmış olduğu gözlendi (Çizelge 3.14.). Ancak K grubunda oluşan reepitelizasyonun, bazı deneklerde normal yapı olan çok katlı epithelium karakteri

kazanmadığı, bazılarında ise epitelin bazal laminadan ayrılmış olduğu gözlendi (Resim 3.32.).

Deney gruplarının tamamında; yangısal hücre infiltrasyonu 2. gündekine yakın derecedeyken ($p>0,05$), deney grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulundu (Çizelge 3.16.).

Stromal kalınlaşma; 2. günkü değerle karşılaştırıldığında sadece D grubunda istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı görülürken ($p<0,05$, Resim 3.30.), deney gruplarındaki olgularda stroma kalınlığı birbirine oldukça yakındı (Çizelge 3.20.).

Limbal alandan korneaya doğru gelişen vaskülarizasyon; D grubunda 1 denekte, K grubunda ise 2 denekte gözlenmezken, İ ve Dİ gruplarındaki deneklerin tamamında farklı derecelerde vaskülarizasyon gözlendi (Çizelge 3.14.). Ancak sadece K grubu deneklerinin korneal vaskülarizasyonu, diğer deney gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azalmış durumdaydı (Çizelge 3.18.).

3.2.3. Tedavinin 14. Günü

Korneal reepitelizasyonun; İ ve Dİ gruplarında tamamlanmadığı, D grubunda 5, K grubunda ise 2 denekte tamamlanmış olduğu görüldü (Çizelge 3.14.). Ancak K grubunda, reepitelizasyonu tamamlanmış olan deneklerde bazı bölgelerde epitel katman hem çok katlı yapı kazanmamıştı ve hem de bazal laminadan ayrılmış durumdaydı (Resim 3.29.). Bu durum, D grubunda sadece 1 denekte gözlendi.

Stromal kalınlık 7. günkü ölçümlerle karşılaştırıldığında; sadece D grubunda stromal kalınlığın istatistiksel olarak önemli derecede azalmış olduğu belirlenirken ($p<0,05$), bu durum ölçülen normal stroma kalınlığına benzer bulundu. (Çizelge 3.20., Resim 3.31.). Stromal kalınlaşma; deney gruplarında sadece D grubunda, İ grubundan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha düşük bulundu.

Yangısal hücre infiltrasyonu; 7. günküyle karşılaştırıldığında D grubunda istatistiksel olarak önemli derecede azalma, İ ve Dİ gruplarında ise istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) artma vardı (Resim 3.33.). Deney grupları arasında yangısal hücre yoğunluğu, D grubunda, diğer deney gruplarına, K grubunda ise; İ ve

Dİ gruplarına kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha düşük bulundu (Çizelge 3.16.).

Limbal alandan korneaya doğru gelişen vaskülarizasyon; D grubunda 7. günküne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azalırken, İ ve Dİ (Resim 3.33.) gruplarında ise istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) artmış durumdaydı. D ve K gruplarındaki vaskülarizasyon, diğer deney gruplarından istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) düşük olarak saptandı (Çizelge 3.18.).

Çizelge 3.14. Yanık oluşturulduktan sonra tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde histolojik bulguların günlere ve gruplara göre dağılımı.

Histolojik Bulgular	2. Gün				7. Gün				14. Gün			
	D	İ	Dİ	K	D	İ	Dİ	K	D	İ	Dİ	K
Epitel hasarı	#6/*6	#6/*6	#6/*6	#6/*6	#2/*6	#6/*6	#6/*6	#2/6	#1/*6	#6/*6	#6/*6	#4/*6
Reepitelizasyon	-/*6	-/*6	-/*6	-/*6	#4/*6	-/*6	-/*6	#4/6	#5/*6	-/*6	-/*6	#2/*6
Yangısal hücre infiltrasyonu	#6/*6	#6/*6	5/*6	#6/*6	#5/*6	#6/*6	#6/*6	#4/6	#3/*6	#6/*6	#6/*6	#6/*6
Az (1)	#4/*6	#3/*6	2/*6	#2/*6	#3/*6	#2/*6	#3/*6	#2/6	#3*/6	-/*6	-/*6	#5/*6
Orta (2)	#2/*6	#3/*6	2/*6	#4/*6	#2/*6	#3/*6	#3/*6	#2/6	-/*6	#1/*6	#1/*6	#1/*6
Şiddetli (3)	-/*6	-/*6	1/*6	-/*6	-/*6	#1/*6	-/*6	-/6	-/*6	#5/*6	#5/*6	-/*6
Vaskülarizasyon	#4/*6	#3/*6	5/*6	#4/*6	#5/*6	#6/*6	#6/*6	#2/6	#2/*6	#6/*6	#6/*6	#3/*6
Az (1)	#3/*6	#2/*6	5/*6	#1/*6	#3/*6	#3/*6	#2/*6	#2/6	#2/*6	-/*6	-/*6	#2/*6
Orta (2)	#1/*6	#1/*6	-/*6	#3/*6	#2/*6	#3/*6	#4/*6	-/6	-/*6	#2/*6	#1/*6	#1/*6
Şiddetli (3)	-/*6	-/*6	-/*6	-/*6	-/*6	-/*6	-/*6	-/6	-/*6	#4/*6	#5/*6	-/*6

*****Gruptaki toplam tavşan sayısı, #Grup içerisinde belirtilen histolojik bulguları gösteren tavşan sayısı, -Grup içerisinde histolojik bulguyu gösteren tavşan bulunmadığını göstermektedir. D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu

Çizelge 3.15. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında gözlenen yangısal hücre infiltrasyon için semikantitatif skorlama ham verileri.

Gruplar	Denekler	2. Gün	7. Gün	14. Gün
D	**1**	1	2	0
	2	2	2	1
	3	1	1	0
	4	1	1	1
	5	2	0	1
	6	1	1	0
İ	**1**	1	2	2
	2	2	3	3
	3	1	2	3
	4	1	1	3
	5	2	1	3
	6	2	2	3
Dİ	**1**	3	1	3
	2	2	2	3
	3	1	2	3
	4	0	1	2
	5	1	2	3
	6	2	1	3
K	**1**	1	1	1
	2	2	0	1
	3	2	2	1
	4	2	0	1
	5	1	2	2
	6	2	1	1

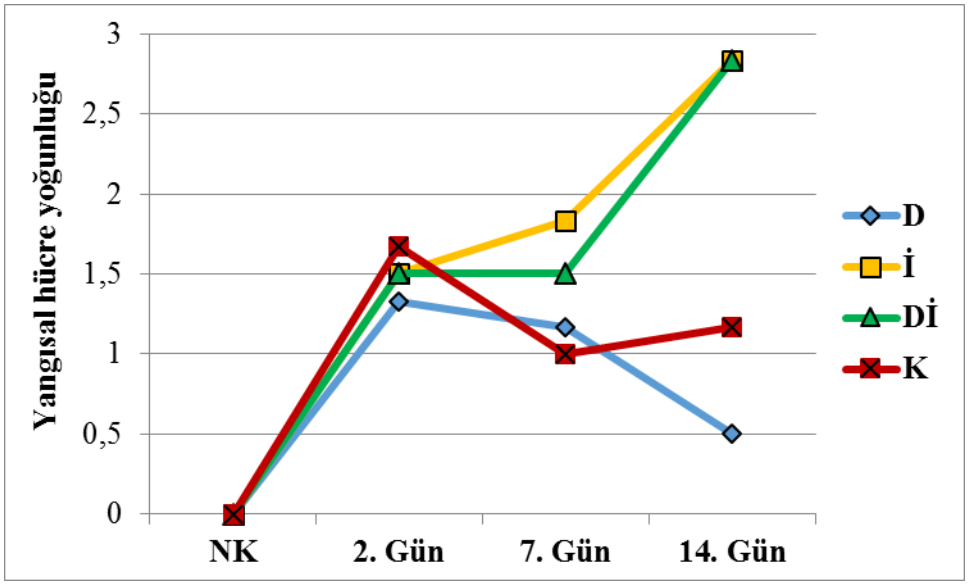
D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu

0-Stromada yangı hücresi yok.
1-Stromada yangı hücresi limbal bölgede ve az sayıda (her sahada ≤10).
2-Stromada limbal alanda yangı hücresi orta düzeyde (her sahada 10-50 arası).
3-Stromanın her tarafında yangı hücresi yoğun miktarda (her sahada <100).

Çizelge 3.16. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında gözlenen yangısal hücre infiltrasyon dereceleri (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
NK	0.00 ± 0.00^{cA}	0.00 ± 0.00^{cA}	0.00 ± 0.00^{dA}	0.00 ± 0.00^{bA}
2. Gün	1.33 ± 0.21^{aA}	1.50 ± 0.22^{bA}	1.50 ± 0.93^{bA}	1.67 ± 0.21^{aA}
7. Gün	1.17 ± 0.31^{aA}	1.83 ± 0.31^{bA}	1.50 ± 0.22^{bA}	1.00 ± 0.37^{aA}
14. Gün	0.50 ± 0.22^{bC}	2.83 ± 0.17^{aA}	2.83 ± 0.17^{aA}	1.17 ± 0.17^{aB}

Aynı sütun (a, b, c) ve aynı satırdaki (A, B, C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). NK: Normal kornea. D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu



Şekil 3.6. Yanık sonrası korneal stromada yangısal hücre yoğunluğu grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

Çizelge 3.17. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında gözlenen vaskülarizasyon için semikantitatif skorlama ham verileri.

Gruplar	Denekler	2. Gün	7. Gün	14. Gün
D	**1**	0	2	0
	2	1	2	0
	3	0	1	0
	4	1	1	1
	5	2	0	1
	6	1	1	0
İ	**1**	1	2	2
	2	0	2	3
	3	1	1	3
	4	0	1	3
	5	0	1	3
	6	2	2	2
Dİ	**1**	1	1	3
	2	1	2	3
	3	1	2	3
	4	0	1	2
	5	1	2	3
	6	1	2	3
K	**1**	0	0	0
	2	2	0	1
	3	1	0	0
	4	2	0	1
	5	0	1	2
	6	2	1	0

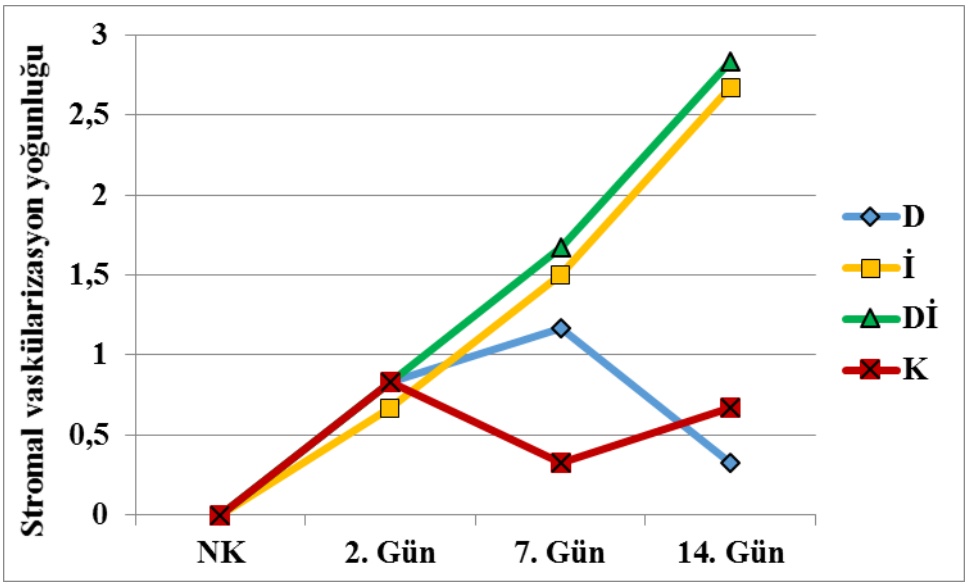
D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu

0-Stromada damarlaşma yok.
1-Stromada damarlaşma limbal bölgede az (limbal alanda ≤5).
2-Stromada damarlaşma her iki limbal bölgede orta düzeyde (limbal alanda 5-10 arası).
3-Stromada damarlaşma her iki limbal bölgede ve stromanın merkezine doğru artış (limbal alanda ve stromanın merkezinde >10).

Çizelge 3.18. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornea stromasında oluşan vaskülarizasyon dereceleri (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
NK	0.00 ± 0.00^{cA}	0.00 ± 0.00^{cA}	0.00 ± 0.00^{dA}	0.00 ± 0.00^{bA}
2. Gün	0.83 ± 0.31^{abA}	0.67 ± 0.33^{cA}	0.83 ± 0.17^{cA}	0.83 ± 0.30^{aA}
7. Gün	1.17 ± 0.31^{aA}	1.50 ± 0.22^{bA}	1.67 ± 0.21^{bA}	0.33 ± 0.217^{abB}
14. Gün	0.33 ± 0.21^{bcB}	2.67 ± 0.21^{aA}	2.83 ± 0.17^{aA}	0.67 ± 0.33^{abB}

Aynı sütun (a, b, c) ve aynı satırdaki (A, B) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.



Şekil 3.7. Yanık sonrası korneal stromada vaskülarizasyon grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

Çizelge 3.19. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının kornealarında stromal kalınlık ölçümü ham verileri.

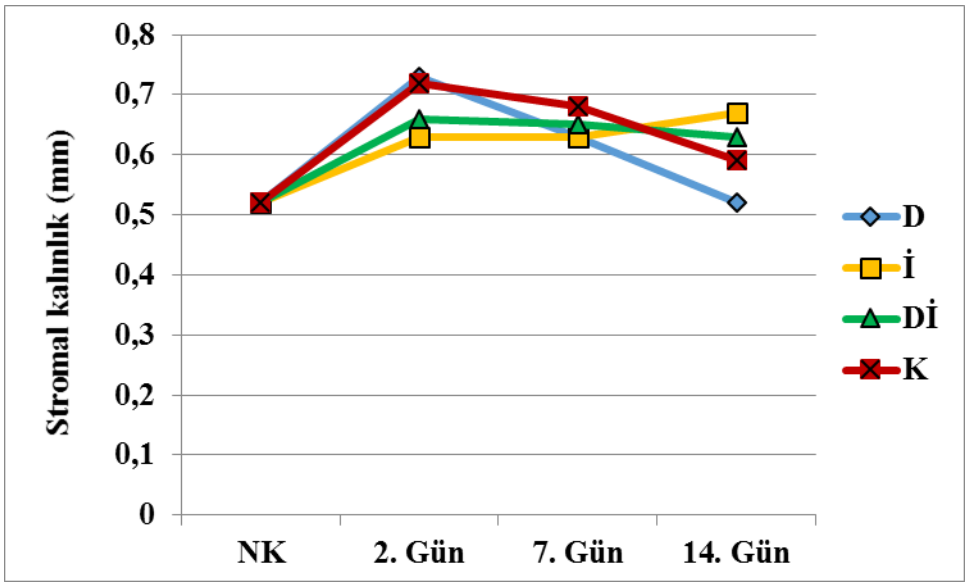
Gruplar	Günler	Stromal kalınlık verileri (mm)	
NK	-	**1-** 0,45	**4-** 0,55
		2- 0,46	**5-** 0,58
		3- 0,55	**6-** 0,54
D	2	**1-** 0,74	**4-** 0,72
		2- 0,71	**5-** 0,59
		3- 0,91	**6-** 0,69
	7	**1-** 0,54	**4-** 0,63
		2- 0,62	**5-** 0,64
		3- 0,62	**6-** 0,72
	14	**1-** 0,54	**4-** 0,63
		2- 0,47	**5-** 0,56
		3- 0,46	**6-** 0,44
İ	2	**1-** 0,70	**4-** 0,63
		2- 0,64	**5-** 0,59
		3- 0,59	**6-** 0,61
	7	**1-** 0,68	**4-** 0,71
		2- 0,47	**5-** 0,61
		3- 0,69	**6-** 0,63
	14	**1-** 0,63	**4-** 0,70
		2- 0,61	**5-** 0,68
		3- 0,78	**6-** 0,60
Dİ	2	**1-** 0,52	**4-** 0,66
		2- 0,62	**5-** 0,64
		3- 0,75	**6-** 0,75
	7	**1-** 0,66	**4-** 0,61
		2- 0,56	**5-** 0,71
		3- 0,64	**6-** 0,69
	14	**1-** 0,77	**4-** 0,62
		2- 0,61	**5-** 0,47
		3- 0,64	**6-** 0,64
K	2	**1-** 0,77	**4-** 0,82
		2- 0,72	**5-** 0,78
		3- 0,58	**6-** 0,66
	7	**1-** 0,81	**4-**0,61
		2- 0,64	**5-**0,76
		3- 0,63	**6-**0,60
	14	**1-** 0,55	**4-** 0,57
		2- 0,45	**5-** 0,61
		3- 0,55	**6-** 0,83

D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu

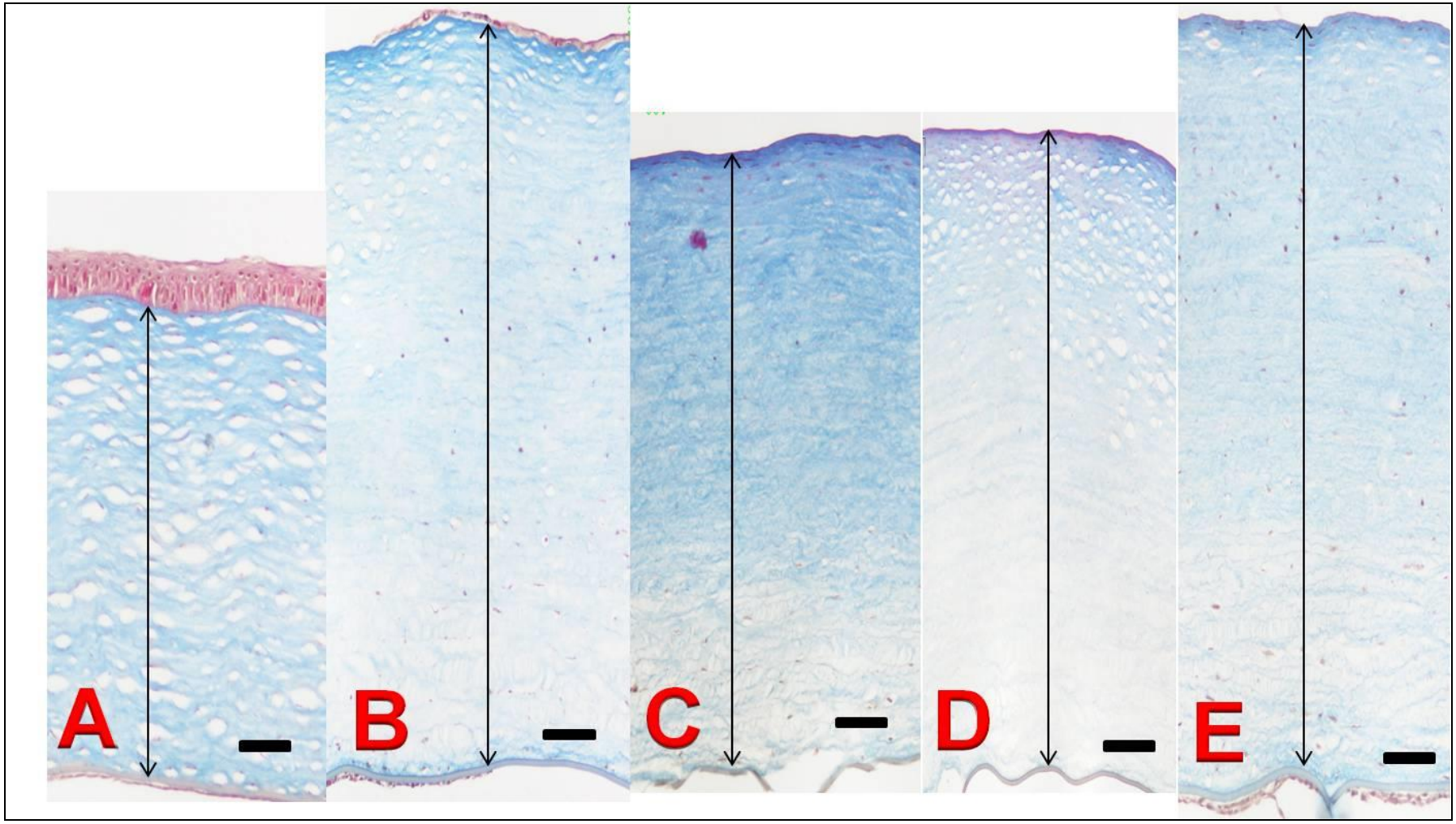
Çizelge 3.20. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarının korneal stromal kalınlık ölçüm sonuçları (mm, Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
NK	0.52 ± 0.02^{cA}	0.52 ± 0.02^{bA}	0.52 ± 0.02^{bA}	0.52 ± 0.02^{cA}
2. Gün	0.73 ± 0.04^{aA}	0.63 ± 0.02^{aA}	0.66 ± 0.04^{aA}	0.72 ± 0.04^{aA}
7. Gün	0.63 ± 0.02^{bA}	0.63 ± 0.04^{aA}	0.65 ± 0.02^{aA}	0.68 ± 0.04^{abA}
14. Gün	0.52 ± 0.03^{cB}	0.67 ± 0.05^{aA}	0.63 ± 0.04^{aAB}	0.59 ± 0.05^{bcAB}

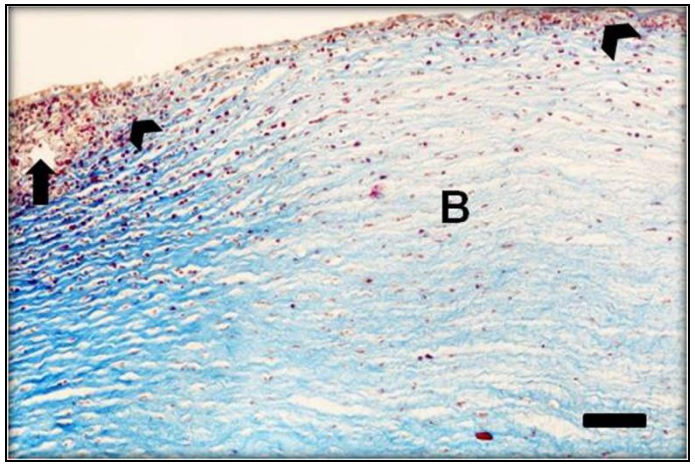
Aynı sütun (a, b, c) ve aynı satırdaki (A, B) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.



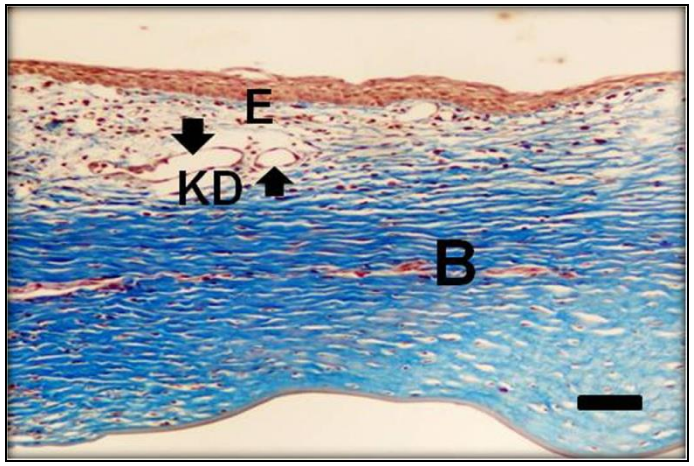
Şekil 3.8. Yanık sonrası korneal stromal kalınlık grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.



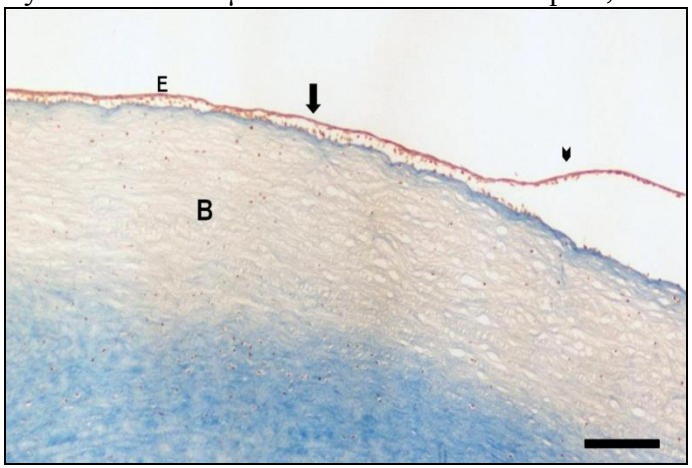
Resim 3.26. Tedavinin 2. gününde grupların kornea kesitleri. Deney gruplarında korneal epitelin dökülmüş olduğu ve stromanın ödeme bağlı daha kalın olduğu (⟷) görülmektedir. A: Normal kornea, B:DMSO grubu, C:İndomethacin grubu, D: DMSO-İndomethacin grubu, E: Kontrol grubu, Triple boyama. Bar: 100 µm.



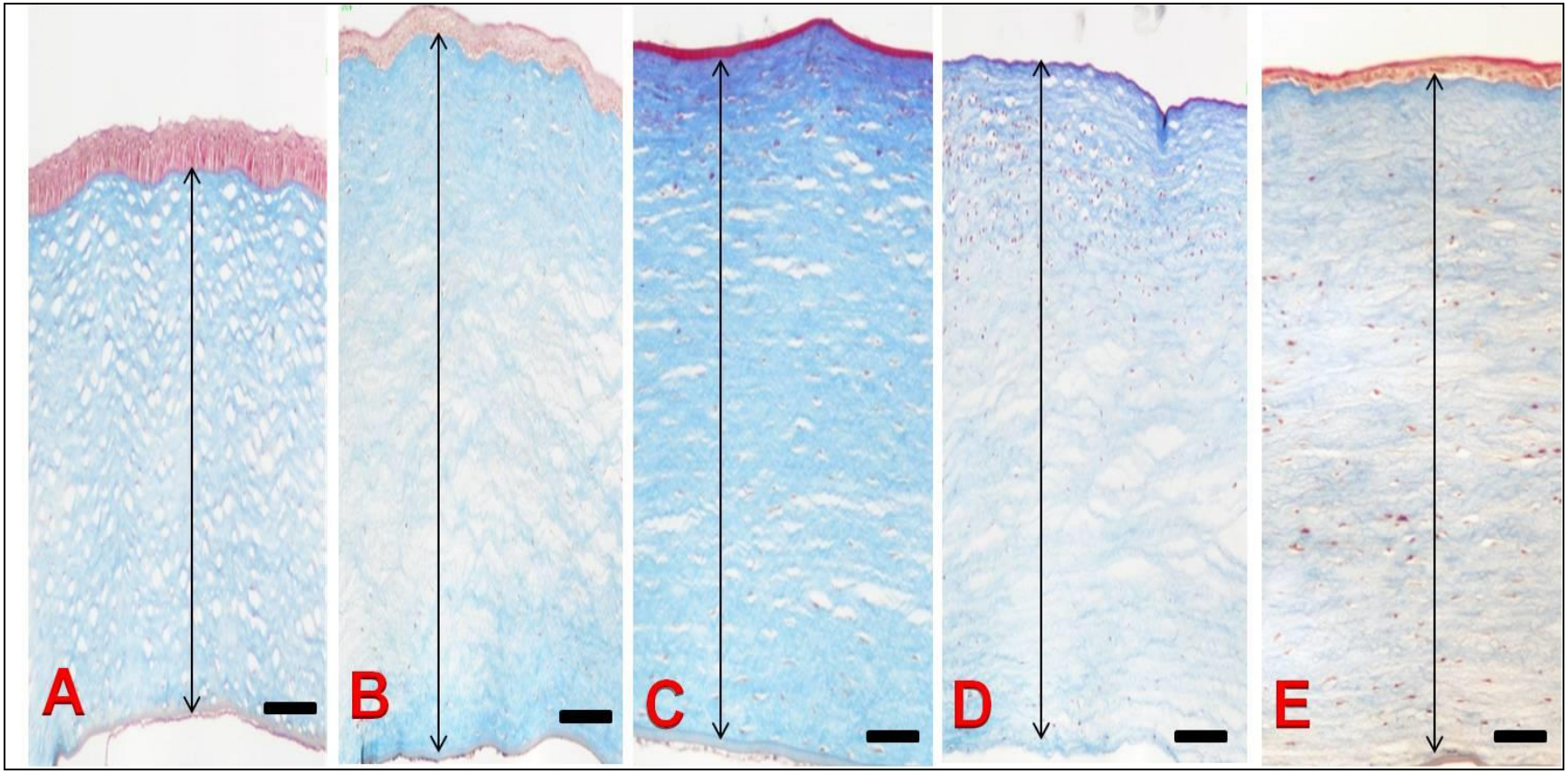
Resim 3.27. Tedavinin 2. gününde Kontrol grubundan bir tavşanın kornea kesitinde limbal sınırda ve stromanın ön yarımında yangısal hücre infiltrasyonu (Ok başı) ve vaskülarizasyon (Ok) görülmektedir B: Stroma. Triple boyama. Bar: 100 µm.



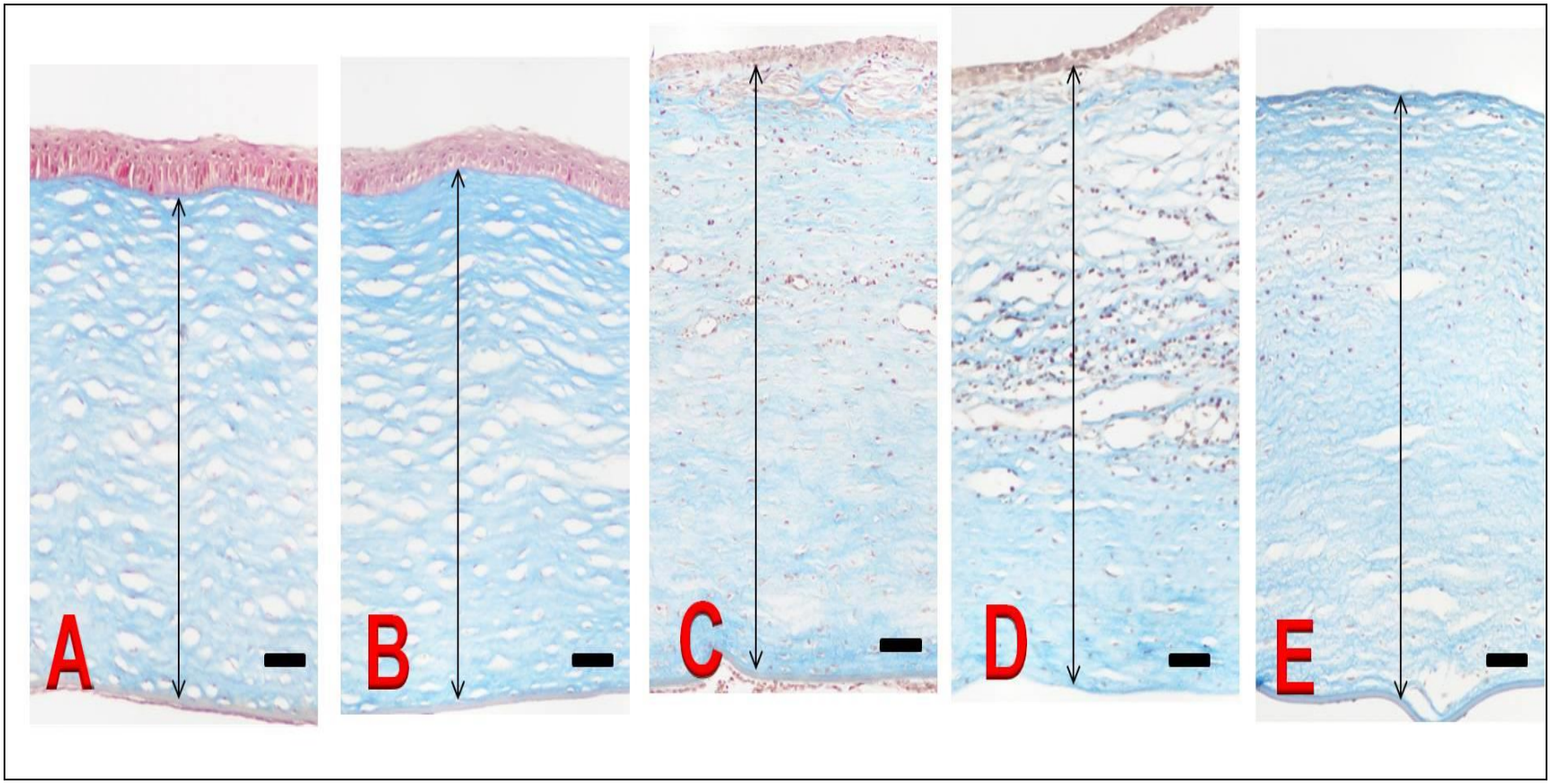
Resim 3.28. Tedavinin 2. günü İndomethacin grubundan bir tavşanın kornea kesitinde limbal bölgeden korneaya doğru gelişen vaskülarizasyon (oklar) görülmektedir. E: Epitel, B: Stroma, Triple boyama. Bar: 100 µm.



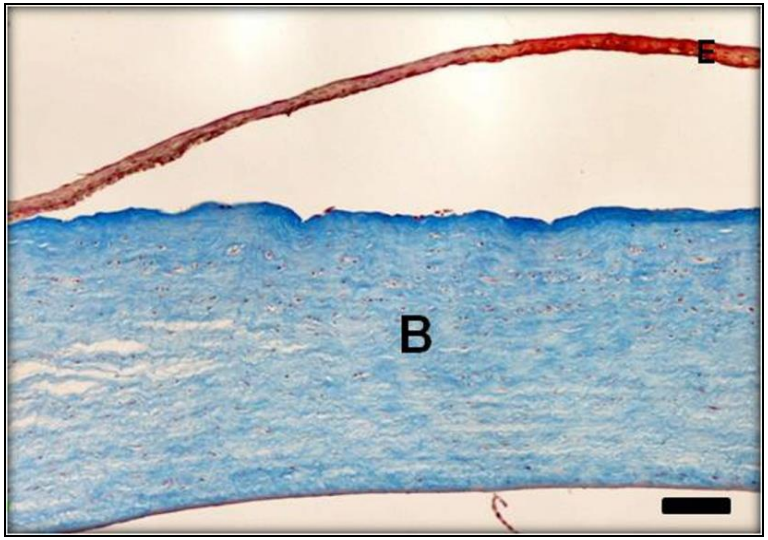
Resim 3.29. Tedavinin 7. gününde Kontrol grubundan bir tavşanın kornea kesitinde reepitelizasyondaki yetersizlik (ok) ve epitel ayrılması (ok başı), Epitel (E), Stroma (B), Triple boyama. Bar: 1000 µm.



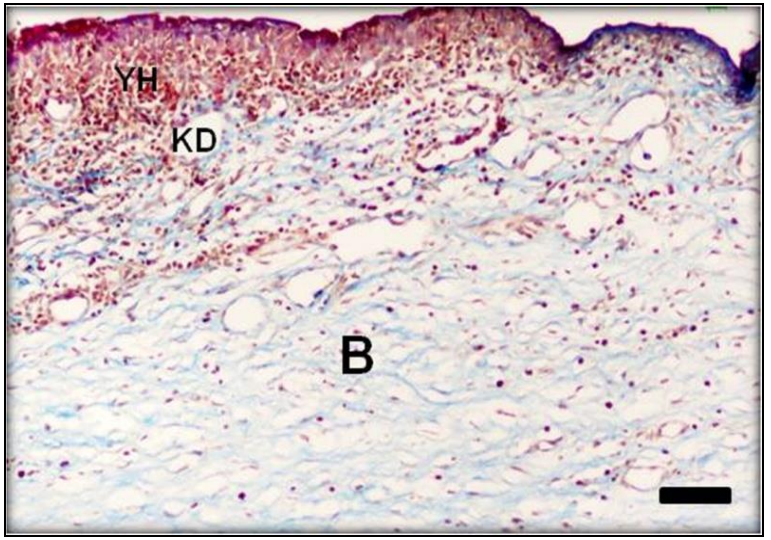
Resim 3.30. Tedavinin 7. gününde grupların kornea kesitleri ve kesitlerde stromal kalınlıklar arasındaki (↔) farklar belirgin biçimde görülmektedir. A: Normal stroma, B: DMSO grubu, C: İndomethacin grubu, D: DMSO-İndomethacin grubu, E: Kontrol grubu, Triple boyama. Bar: 100 µm.



Resim 3.31. Tedavinin 14. gününde grupların kornea kesitleri ve kesitlerdeki stromal kalınlıklar arasındaki farklar (⟷) belirgin olarak görülmektedir. A: Normal stroma, B: DMSO grubu, C: İndomethacin grubu, D: DMSO-İndomethacin grubu, E: Kontrol grubu, Triple boyama. Bar: 100 µm.



Resim 3.32. Tedavinin 14. gününde K grubundan bir hayvanın kornea kesitinde reepitelizasyon görülmektedir. B: Stroma, E: Epitel, Triple boyama. Bar: 100 µm.



Resim 3.33. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir hayvanın kornea kesitinde yangı hücreleri (YH) ve yoğun vaskülarizasyon (KD) görülmektedir. B: Stroma, Triple boyama. Bar: 100 µm.

3.2.4. İNOS İmmunohistokimyasal Analiz Bulguları

Deney gruplarından elde edilen inos ham verileri; Çizelge 3.21.'de, istatistiki veriler, Çizelge 3.22. ve 3.23.'de, grafik görüntüleri ise Şekil 3.9. ve 3.10.'da sunulmuştur. Yakma işlemi ve tedavi uygulanmayan normal kornealarda; iNOS pozitif immün reaksiyon epitel hücrelerinden ziyade, bağ doku ve kan damarlarının endotel hücrelerinde görüldü (Resim 3.34.). Pozitif boyanan epitel hücrelerinin özellikle lateral ya da apikal membranlarında zayıf bir immün reaksiyon dikkati çekti.

Yakma işlemi uygulanan ancak tedavi edilmeyen kontrol grubunda, çoğunlukla bağ dokusu ve yangı hücreleri iNOS pozitivitesi göstermekteydi. Çok katlı epitelin bazal ve poligonal hücrelerinde sitoplazma ve membran boyanması dikkat çekti. Kan damarlarının endotel hücreleri, üç dönemde de (2, 7 ve 14. günler) oldukça güçlü iNOS pozitif reaksiyon gösterdi. Ayrıca dönemler arasında pozitif reaksiyon gösteren epitel ve bağ dokusu hücreleriyle (fibrosit, fibroblast) yangı hücrelerinin yoğunluğu; 7. günde, 2 ve 14. güne oranla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$,) daha fazlaydı (Resim 3.35a,b., Çizelge 3.22. ve 3.23.).

Pozitif iNOS immün reaksiyon gösteren epitel ve bağ dokusu hücreleri; D grubunda, İ grubundan daha yoğundu. Hem D hem de İ gruplarında; tedavinin 2. gününde, iNOS-pozitif epitel ve bağ dokusu hücrelerinin sayısının diğer günlere kıyasla daha fazla olduğu dikkati çekti. Ayrıca D grubunda; hem epitel ve hem de bağ dokusu hücrelerinde 7 ve 14. günlere doğru gidildikçe, iNOS-pozitif hücrelerin sayısının istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azaldığı dikkati çekti (Çizelge 3.22. ve 3.23.). Epitelizasyon olmayan bölgelerde, bağ doku ve yangı hücrelerinin oldukça güçlü pozitif reaksiyon gösterdiği belirlendi. Hem D hem de İ gruplarında kan damarları iNOS pozitifti (Resim 3.36a,b,c,d.).

Dİ grubunda; çalışmanın her üç döneminde de bağ dokusu hücrelerinin, epitel hücrelerine kıyasla daha yoğun boyandığı belirlendi. Özellikle yanık oluşturulan bölgedeki bağ dokusu ve bazı yangı hücrelerinin, korneanın diğer bölümlerindeki bağ dokusu hücrelerine oranla daha fazla boyandığı görüldü. Kan damarlarında da pozitif reaksiyon devam etmekteydi (Resim 3.37a,b,c.). Primer antikor kullanılmadan

yapılan immünohistokimyasal boyama ile elde edilen negatif kontrollerde ise boyanma yoktu (Resim 3.38.).

Tedavinin 2. gününde D grubunda; diğer uygulama gruplarına kıyasla epitel tabakasında istatistiksel olarak daha yüksek iNOS pozitivitesi gözlenirken ($p<0,05$), bunu K, İ ve Dİ grupları takip etmekteydi ve gruplar arası fark istatistiksel olarak önemliydi ($p<0,05$). Tedavinin 7. gününde iNOS pozitivitesi çoktan aza doğru; K, D, İ ve Dİ şeklinde sıralanırken, gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu bulundu. Tedavinin 14. gününde sıralama 7. güne benzer şekilde olmakla birlikte, iNOS pozitivitesinin daha az yoğun olduğu ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($p<0,05$) belirlendi (Çizelge 3.22.).

Çizelge 3.21. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında kornea epiteli ve bağ dokusunda iNOS-pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin ham verileri

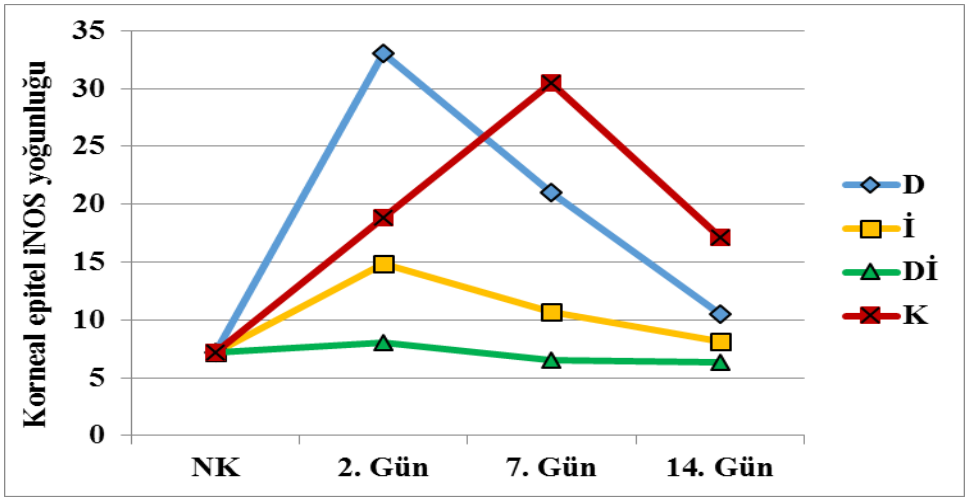
Gruplar	Günler	ÇKE hücrelerinde iNOS (%)		Bağ doku hücreleri iNOS (%)	
NK	---	**1-** 8	**4-** 6	**1-** 12	4- 12
		2- 7	**5-** 8	**2-** 11	5- 13
		3- 9	**6-** 5	**3-** 13	6- 12
D	2	**1-** 36	**4-** 33	**1-** 38	**4-** 37
		2- 30	**5-** 36	**2-** 29	**5-** 38
		3- 32	**6-** 31	**3-** 36	**6-** 37
	7	**1-** 26	**4-** 18	**1-** 29	**4-** 26
		2- 25	**5-** 17	**2-** 30	**5-** 22
		3- 22	**6-** 18	**3-** 31	**6-** 21
	14	**1-** 10	**4-** 7	**1-** 13	**4-** 12
		2- 11	**5-** 12	**2-** 14	**5-** 16
		3- 9	**6-** 14	**3-** 15	**6-** 15
İ	2	**1-** 21	**4-** 12	**1-** 20	**4-** 18
		2- 19	**5-** 11	**2-** 18	**5-** 17
		3- 14	**6-** 12	**3-** 13	**6-** 17
	7	**1-** 11	**4-** 10	**1-** 14	**4-** 18
		2- 10	**5-** 10	**2-** 17	**5-** 19
		3- 12	**6-** 11	**3-** 17	**6-** 21
	14	**1-** 9	**4-** 9	**1-** 19	**4-** 21
		2- 6	**5-** 9	**2-** 19	**5-** 23
		3- 8	**6-** 8	**3-** 19	**6-** 19
Dİ	2	**1-**10	**4-** 6	**1-** 28	**4-** 19
		2-11	**5-** 7	**2-** 28	**5-** 18
		3- 8	**6-** 6	**3-** 23	**6-** 14
	7	**1-** 10	**4-** 6	**1-** 23	**4-** 25
		2- 7	**5-** 4	**2-** 28	**5-** 19
		3- 7	**6-** 5	**3-** 26	**6-** 18
	14	**1-** 6	**4-** 7	**1-** 19	**4-** 18
		2- 4	**5-** 7	**2-** 21	**5-** 19
		3- 7	**6-** 7	**3-** 19	**6-** 18
K	2	**1-** 10	**4-** 19	**1-** 17	**4-** 27
		2- 12	**5-** 26	**2-** 23	**5-** 29
		3- 21	**6-** 25	**3-** 29	**6-** 26
	7	**1-** 36	**4-** 27	**1-** 27	**4-** 27
		2- 35	**5-** 29	**2-** 28	**5-** 26
		3- 29	**6-** 27	**3-** 29	**6-** 27
	14	**1-** 22	**4-** 16	**1-** 28	**4-** 29
		2- 21	**5-** 12	**2-** 27	**5-** 28
		3- 18	**6-** 14	**3-** 27	**6-** 29

D: DMSO grubu, İ:İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu, NK: Normal kornea, ÇKE: Çok katlı epithelium, iNOS: indüklenebilir nitrik oksit sentetaz.

Çizelge 3.22. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında kornea epitelinde iNOS-pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin oranı (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
NK	$7,17\pm0,60^{dA}$	$7,17\pm0,60^{cA}$	$7,17\pm0,60^{aA}$	$7,17\pm0,60^{cA}$
2. Gün	$33,00\pm1,03^{aA}$	$14,83\pm1,70^{aB}$	$8,00\pm0,86^{aC}$	$18,83\pm2,70^{bB}$
7. Gün	$21,00\pm1,59^{bB}$	$10,67\pm0,33^{bC}$	$6,50\pm0,85^{aD}$	$30,50\pm1,63^{aA}$
14. Gün	$10,50\pm0,99^{cB}$	$8,17\pm0,48^{cBC}$	$6,33\pm0,49^{aD}$	$17,17\pm1,60^{bA}$

Aynı sütun (a, b, c, d) ve aynı satırdaki (A, B, C, D) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). NK: Normal kornea.

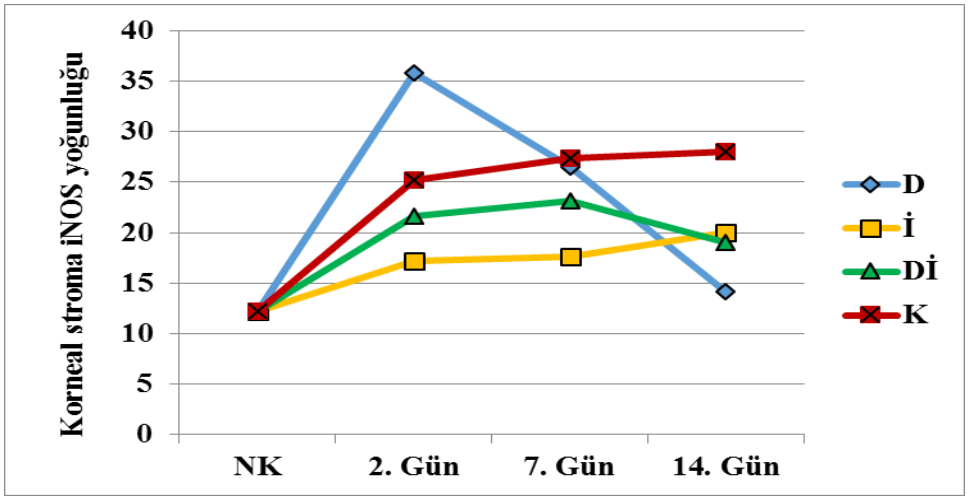


Şekil 3.9. Yanık sonrası korneal epitelde iNOS grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.

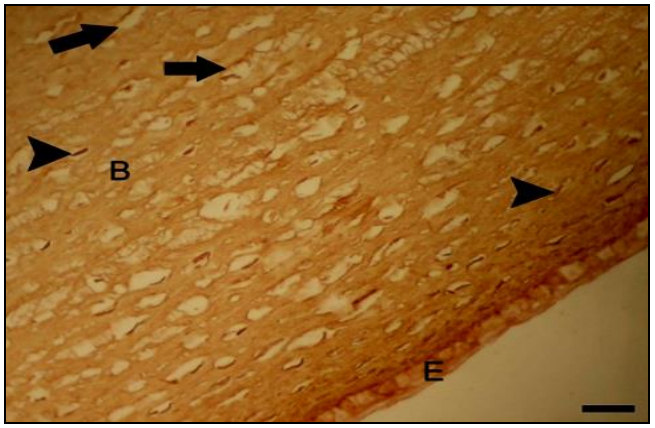
Çizelge 3.23. Yanık oluşturulduktan sonra deney gruplarında korneal stromada iNOS-pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin oranı (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
NK	12,17±0,31^{dA}	12,17±0,31^{cA}	12,17±0,31^{bA}	12,17±0,31^{bA}
2. Gün	35,83±1,40^{aA}	17,17±0,95^{bC}	21,67±2,32^{aBC}	25,17±1,87^{aB}
7. Gün	26,50±1,73^{bAB}	17,67±0,95^{bC}	23,17±1,62^{aB}	27,33±0,42^{aA}
14. Gün	14,17±0,60^{cC}	20,00±0,68^{aB}	19,00±0,45^{aB}	28,00±0,37^{aA}

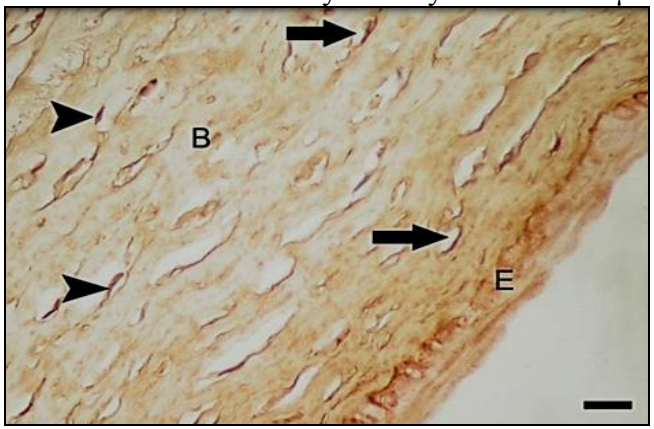
Aynı sütun (a, b, c, d) ve aynı satırdaki (A, B, C, D) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). NK: Normal kornea.



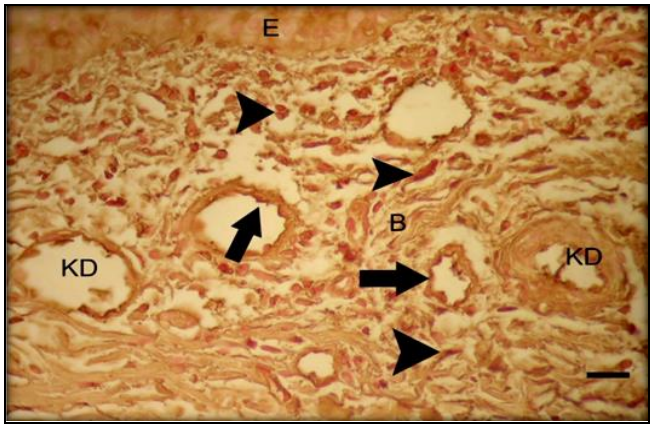
Şekil 3.10. Yanık sonrası korneal stromada iNOS grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.



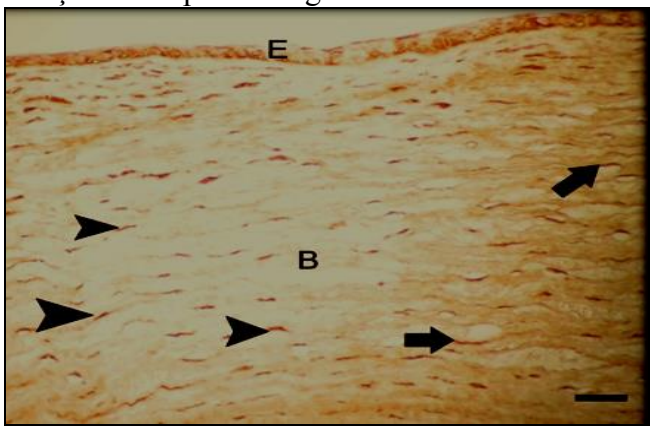
Resim 3.34. Normal kornea kesitinde iNOS'un immünohistokimyasal lokalizasyonu görülmektedir. iNOS pozitivitesi damar endotelleri (oklar) ve fibroblastlarda (ok başları) görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. İmmünohistokimyasal boyama. Bar: 50 µm.



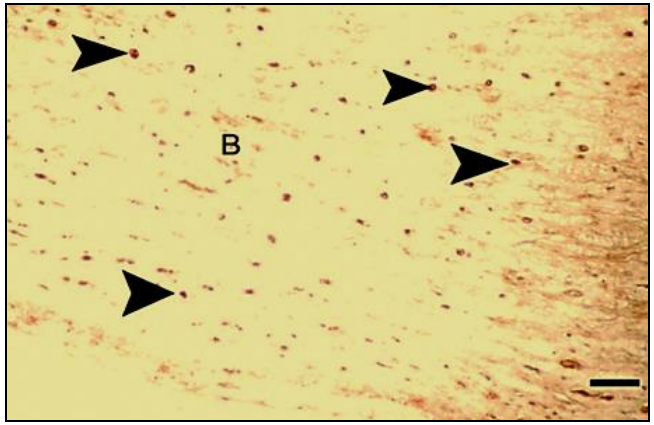
Resim 3.35b. Tedavinin 14. gününde K grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: iNOS pozitif bağ doku hücreleri. Bar: 25 µm.



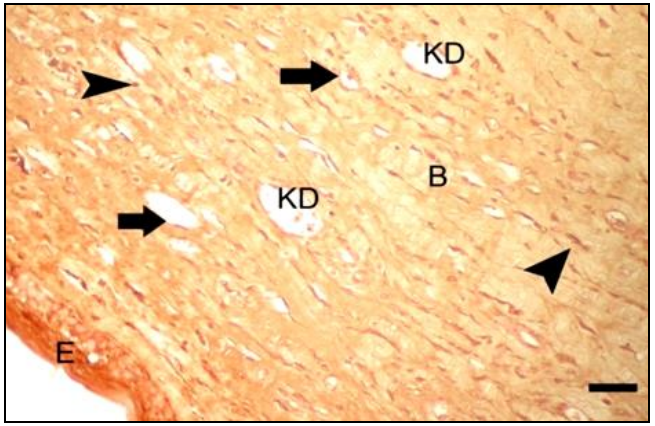
Resim 3.35a.Tedavinin 7. gününde K grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. KD: Kan damarı. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 25 µm.



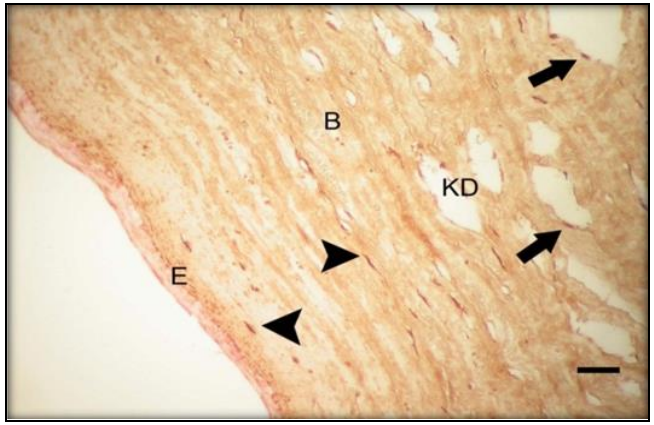
Resim 3.36a. Tedavinin 2. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: Pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm.



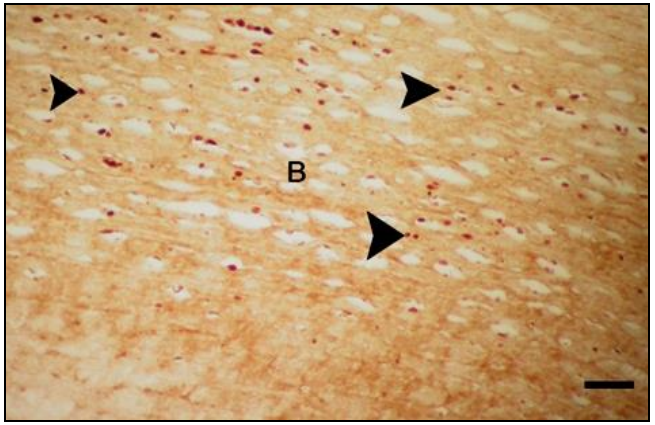
Resim 3.36b. Tedavinin 14. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 25 µm.



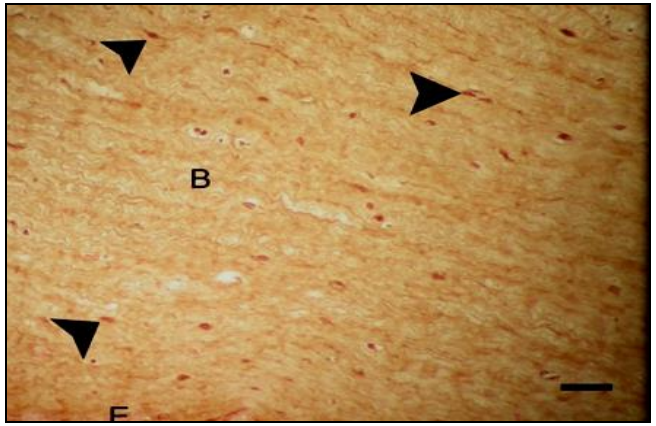
Resim 3.36c. Tedavinin 2. gününde D grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. KD: Kan damarı. Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm.



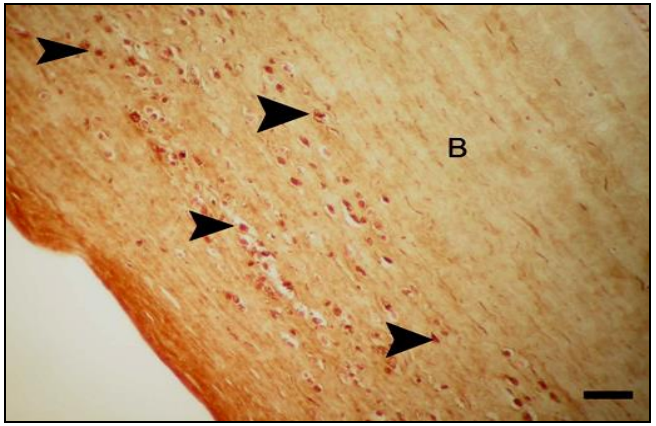
Resim 3.36d. Tedavinin 7. gününde D grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel, B: Stroma. KD: Kan damarı, Ok: iNOS pozitif damar endotel hücreleri, Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm.



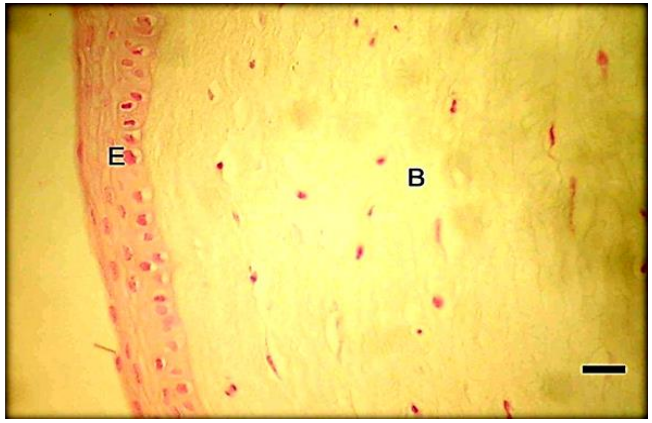
Resim 3.37a. Tedavinin 2. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm.



Resim 3.37b. Tedavinin 7. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm.



Resim 3.37c. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea kesitinde iNOS lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok başı: iNOS pozitif bağ dokusu hücreleri. Bar: 50 µm.



Resim 3.38. İmmünohistokimyasal boyanma görülmeyen negatif kontrol preperatı. E: Epitel. B: Stroma. Primer antikor kullanılmadan yapılan immünohistokimyasal boyama. Çekirdekler nuclear fast red ile boyanmıştır. Bar: 50 µm.

3.2.5. Prolifere Hücre Nükleer Antijen Bulguları

Bu amaçla yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda; pozitif kontrol preparatlarında (Resim 3.39.) olduğu gibi, karakteristik kahverengi-siyah çekirdeğe sahip hücreler PCNA-pozitif hücreler olarak değerlendirildi. Uygulama yapılan gruplardan elde edilen ham ve istatistiksel veriler; Çizelge 3.24. ve 3.25.'de, grafik görüntüsü Şekil 3.11.'de verildi. Kornea epitel tabakasının bazal epitel hücreleri daha fazla PCNA-pozitivitesi gösterirken, yer yer poligonal hücrelerde de pozitif boyamalar gözlendi.

Tedavinin 2. Gününde; PCNA aktivitesinin, normal kornea kesitindekine kıyasla (Resim 3.40.) sadece D grubunda istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) arttığı gözlendi (Resim 3.41a.). Deney gruplarından; İ ve K gruplarındaki (Resim 3.42a., Resim 3.44a.) artış ile Dİ grubundaki (Resim 3.43a.) azalma istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) değilken; D grubundaki PCNA pozitivitesi diğer deney gruplarına kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha yüksekti (Çizelge 3.25.).

Tedavinin 7. Gününde; grupların PCNA aktivitesinde 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli bir farklılık ($p>0,05$) gözlenmezken, PCNA pozitivitesi Dİ grubunda (Resim 3.43b.); D, İ ve K gruplarından (Resim 3.41b., Resim 3.42b., Resim 3.44b.) istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha düşük gözlendi (Çizelge 3.25.).

Tedavinin 14. Gününde; Dİ grubunun PCNA aktivitesi, 7. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) artmıştı. D ve Dİ grupları (Resim 3.41c., Resim 3.43c.) İ ve K gruplarına kıyasla (Resim 3.42c., Resim 3.44c.), istatistiksel olarak daha yüksek ($p<0,05$) PCNA pozitivitesine sahipti (Çizelge 3.25.).

Çizelge 3.24. Yanık oluşturulduktan sonra grupların kornea epitelinde PCNA-pozitivitesi gösteren hücrelerin ham verileri.

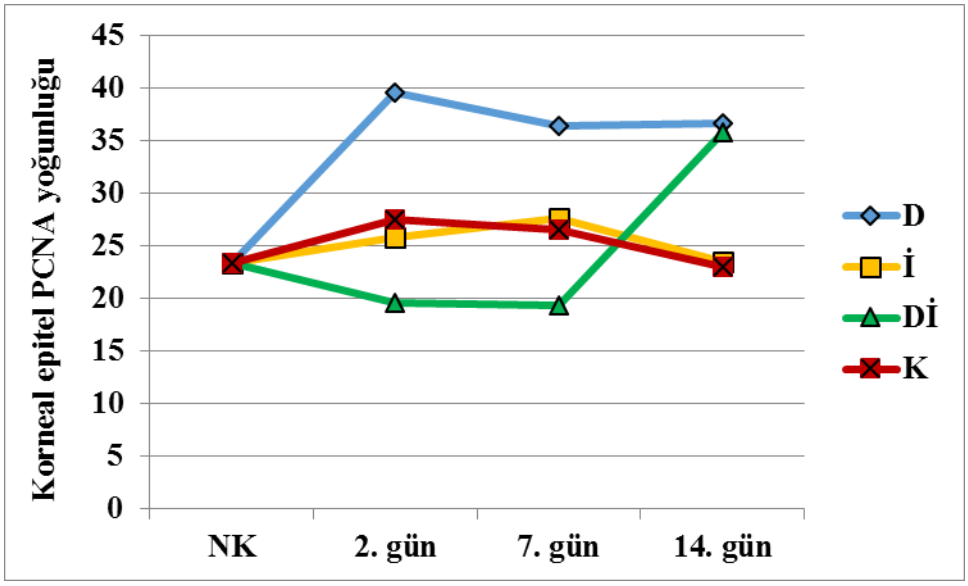
Gruplar	Günler	ÇKE hücrelerinde PCNA (%)	
NK	-	**1-** 13	**4-** 35
		2- 31	**5-** 49
		3- 22	**6-** 16
D	2	**1-** 31	**4-** 30
		2- 43	**5-** 46
		3- 37	**6-** 50
	7	**1-** 48	**4-** 44
		2- 44	**5-** 41
		3- 36	**6-** 26
	14	**1-** 27	**4-** 44
		2- 30	**5-** 45
		3- 38	**6-** 36
İ	2	**1-** 16	**4-** 30
		2- 30	**5-** 35
		3- 24	**6-** 20
	7	**1-** 31	**4-** 15
		2- 21	**5-** 59
		3- 34	**6-** 37
	14	**1-** 27	**4-** 19
		2- 24	**5-** 25
		3- 14	**6-** 32
Dİ	2	**1-** 27	**4-** 21
		2- 13	**5-** 42
		3- 22	**6-** 15
	7	**1-** 23	**4-** 47
		2- 16	**5-** 24
		3- 14	**6-** 20
	14	**1-** 33	**4-** 41
		2- 32	**5-** 39
		3- 39	**6-** 31
K	2	**1-** 28	**4-** 31
		2- 27	**5-** 21
		3- 20	**6-** 25
	7	**1-** 25	**4-** 25
		2- 24	**5-** 32
		3- 28	**6-** 25
	14	**1-** 16	**4-** 22
		2- 24	**5-** 30
		3- 19	**6-** 27

D: DMSO grubu, İ:İndomethacin grubu, Dİ-DMSO-İndomethacin grubu, K-Kontrol grubu. PCNA; Prolifere cell nuclear antijen. ÇKE: Çok katlı epithelium. NK: Normal kornea.

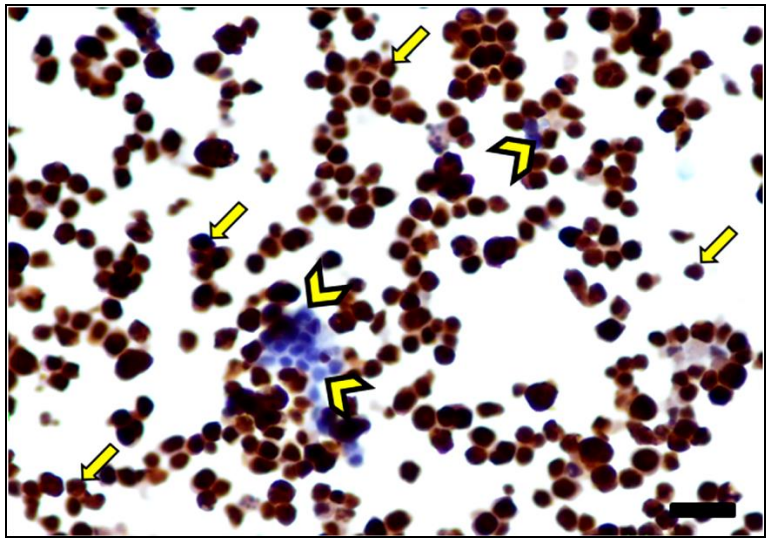
Çizelge 3.25. Yanık oluşturulduktan sonra grupların kornea epitelinde PCNA-pozitivitesi gösteren hücre oranları (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
NK	23.40 ± 4.23^{bA}	23.40 ± 4.23^{aA}	23.40 ± 4.23^{bA}	23.40 ± 4.23^{aA}
2. gün	39.50 ± 3.33^{aA}	25.83 ± 2.90^{aB}	19.60 ± 2.52^{bB}	27.50 ± 2.72^{aB}
7. gün	36.33 ± 4.09^{abAB}	27.60 ± 4.14^{aB}	19.40 ± 1.94^{bC}	26.50 ± 1.23^{aB}
14. gün	36.67 ± 2.96^{aA}	23.50 ± 2.57^{aB}	35.83 ± 1.76^{aA}	23.00 ± 3.29^{aB}

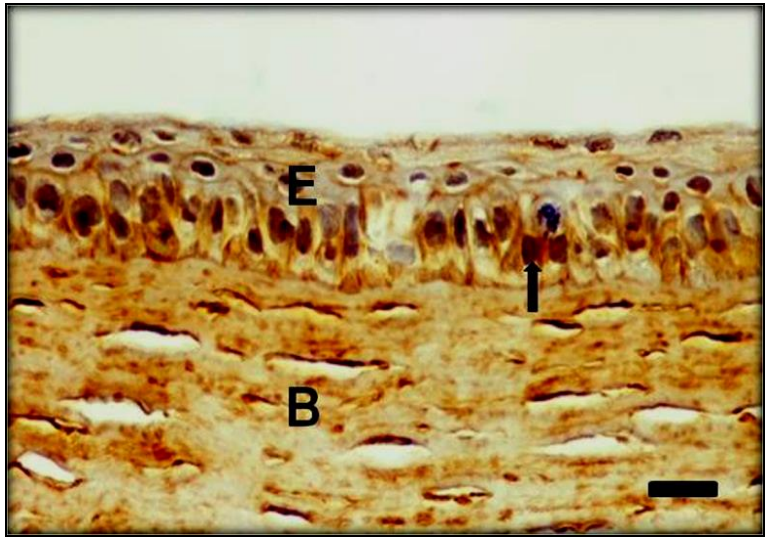
Aynı sütun (a, b) ve aynı satırdaki (A, B, C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). NK: Normal kornea.



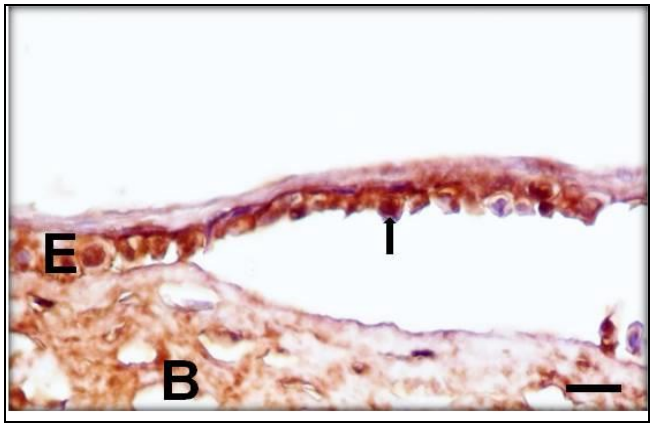
Şekil 3.11. Yanık sonrası korneal epitelde PCNA grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.



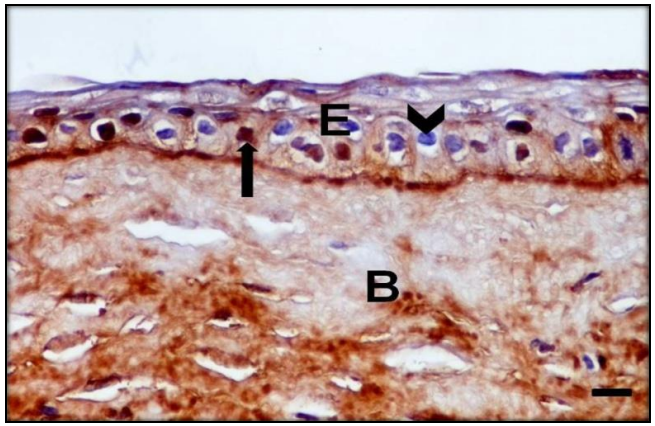
Resim 3.39. Pozitif PCNA kontrol preparatı: Oklar: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: PCNA-negatif hücreler. Bar:100 µm.



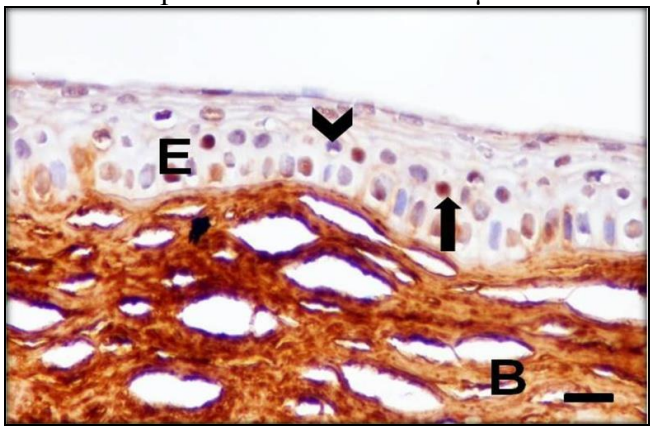
Resim 3.40. Yanık oluşturulmayan korneada PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren epitel hücreleri. Bar: 100 µm.



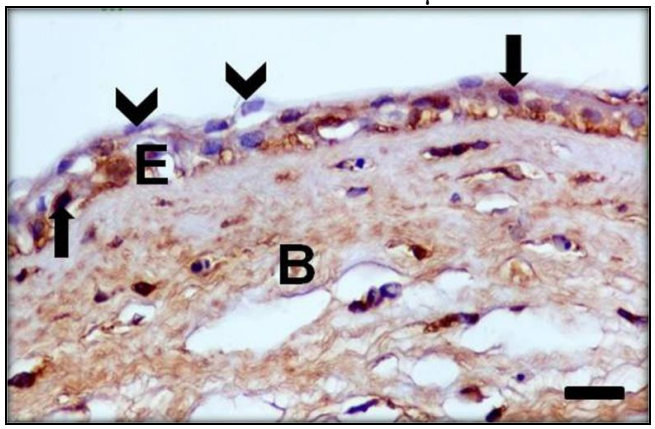
Resim 3.41a. Tedavinin 2. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren epitel hücreleri. Bar: 100 µm.



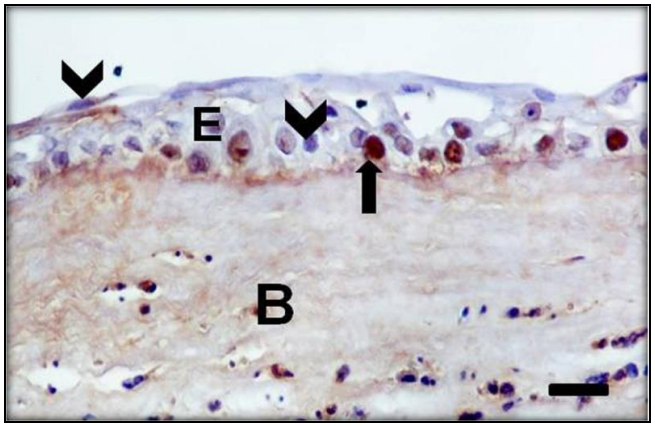
Resim 3.41b. Tedavinin 7. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başı: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



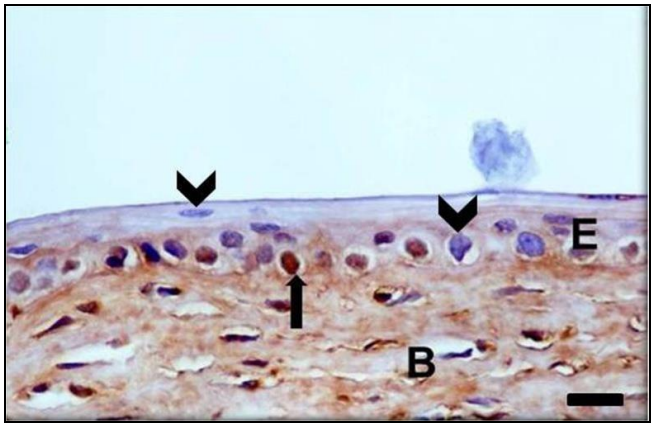
Resim 3.41c. Tedavinin 14. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başı: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



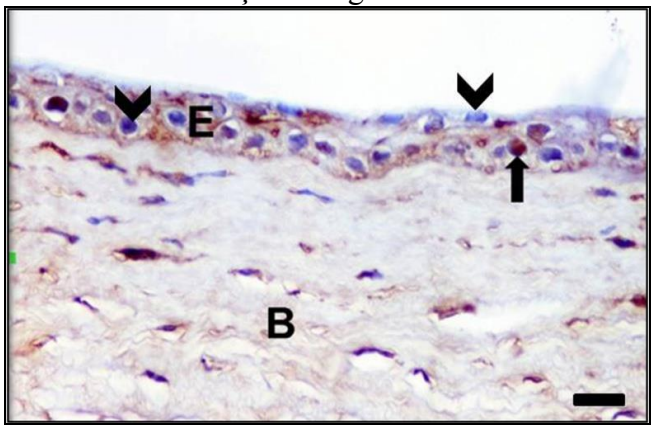
Resim 3.42a. Tedavinin 2. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel Ok: PCNA pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



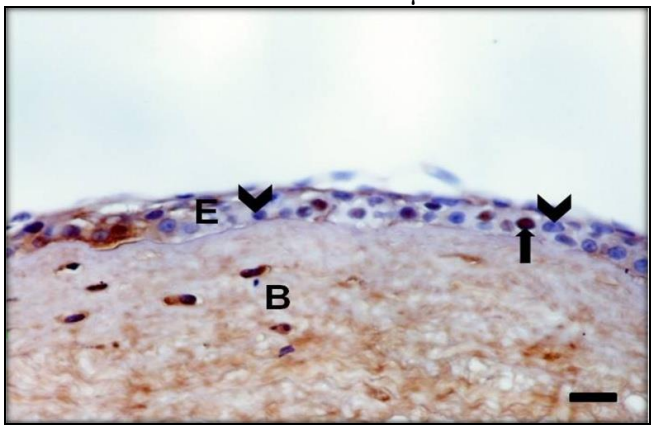
Resim 3.42b. Tedavinin 7. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreleri. Pozitif hücrelerin çoğunlukla bazal katman hücreleri oldukları dikkati çekmektedir. B: Stroma, E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



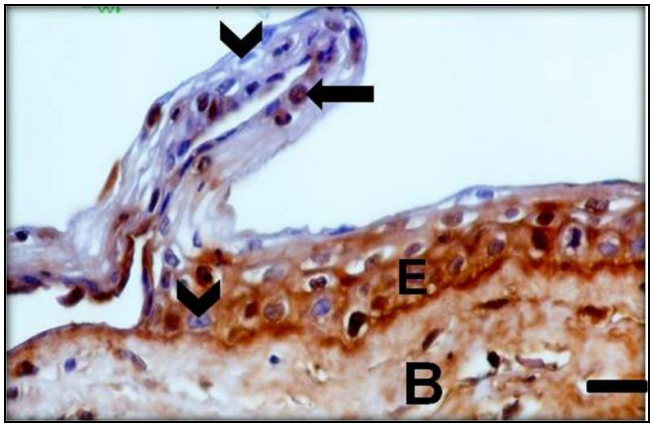
Resim 3.42c. Tedavinin 14. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



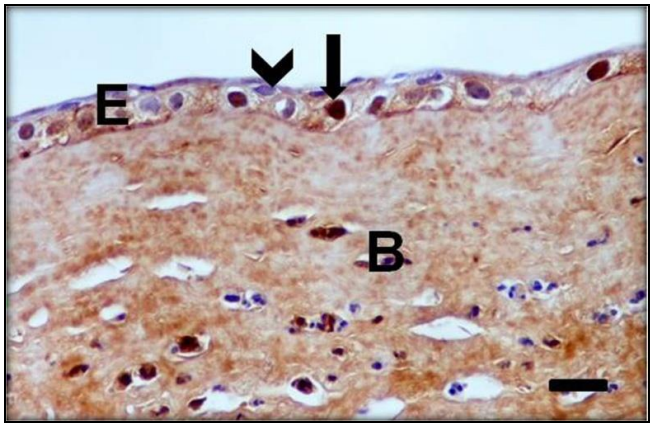
Resim 3.43a. Tedavinin 2. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



Resim 3.43b. Tedavinin 7. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



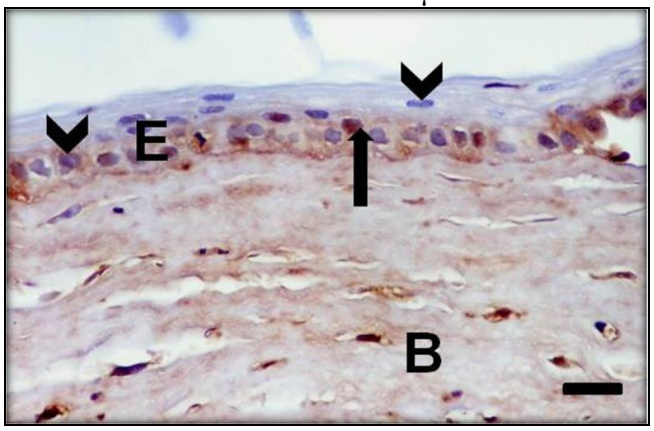
Resim 3.43c. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



Resim 3.44a. Tedavinin 2. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler, Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



Resim 3.44b. Tedavinin 7. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.



Resim 3.44c. Tedavinin 14. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde PCNA-pozitif hücreler. B: Stroma. E: Epitel. Ok: PCNA-pozitivitesi gösteren hücreler. Ok başları: Negatif hücreler. Bar: 100 µm.

3.2.6. Apoptozis Bulguları

Bu amaçla yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda; pozitif kontrol preparatlarında (Resim 3.45.) olduğu gibi, karakteristik kahverengi çekirdeğe sahip hücreler apoptotik hücreler olarak değerlendirildi. Grupların apoptotik hücrelerini gösteren kornea kesitleri; Resim 3.47a,b,c., 3.48a,b,c., 3.49a,b,c., 3.50a,b,c.'de gösterilirken, korneanın epitel katmanındaki apoptotik hücre yoğunluğu ham ve istatistiki verileri Çizelge 3.26. ve 3.27.'de verilmiştir.

Tüm gruplarda, apoptotik hücrelerin bazal laminadan ayrılan epitel bölgelerinde yerleşik olması dikkati çekti (Resim 3.47a., 3.49b.). Yakma ve tedavi uygulanmayan normal kornealarda ise, apoptotik hücreye rastlanılmadı (Resim 3.46.).

Grupların tamamında; tedavinin 2. gününde, normal kornea kesitleriyle karşılaştırıldıklarında, apoptotik hücre aktivitesinin istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) yüksek olduğu dikkati çekti. Bu dönemde, deney gruplarından D grubunda (Resim 3.47a.), İ grubundan (Resim 3.48a.) istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha fazla apoptotik hücre gözlendi (Çizelge 3.27.).

Tedavinin 7. Gününde; deney gruplarının tamamında apoptotik hücre yoğunluğu artarken, İ ve K gruplarında (Resim 3.48b. ve 3.50b.) gözlenen bu artış 2. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) derecede yüksekti. Deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada; tedavinin 7. gününde D grubunun (Resim 3.47b.), İ ve Dİ gruplarından, K grubunun da Dİ (Resim 3.49b.) grubundan istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) daha fazla apoptotik aktivite gösterdiği dikkati çekti (Çizelge 3.27.).

Deney gruplarının tamamında; tedavinin 14. gününde apoptotik hücre aktivitesi 7. güne kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) azalırken, D grubunda (Resim 3.47c.) 14. günde apoptotik hücreye ($p<0,05$) rastlanmadı. Deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada; 14. günde D grubu dışındaki İ, Dİ ve K (Resim 3.48c., 3.49c., 3.50.c) gruplarının birbirine benzer düzeyde ($p>0,05$) apoptotik hücre aktivitesi gösterdiği tespit edildi (Çizelge 3.27.).

Çizelge 3.26. Yanık oluşturulduktan sonra grupların kornea epitelinde TUNEL metoduyla saptanan ortalama apoptotik hücrelerin ham verileri.

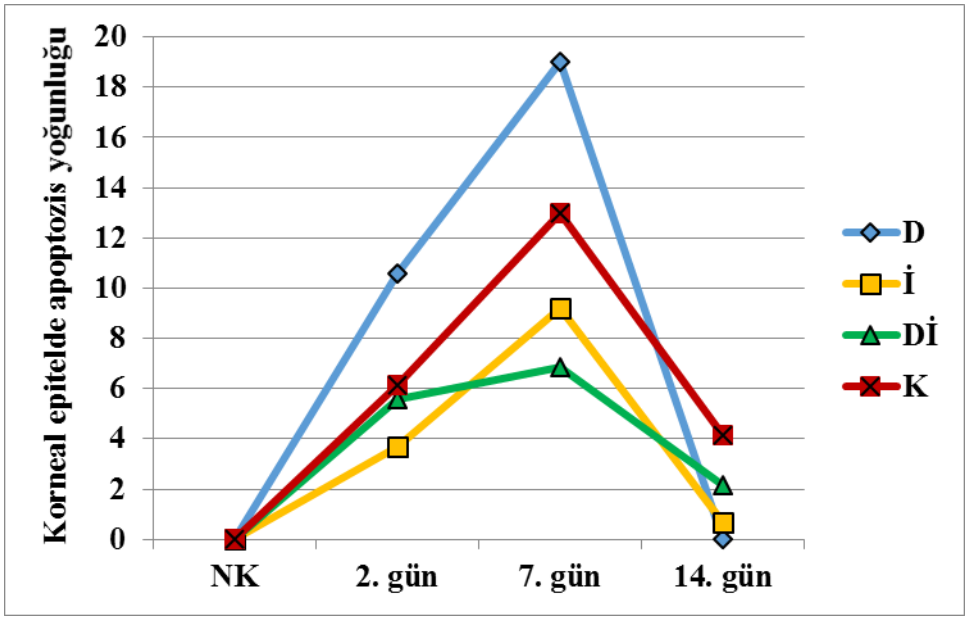
Gruplar	Günler	ÇKE katmanda apoptozis (%)	
NK	-	**1-** 0	**4-** 0
		2- 0	**5-** 0
		3- 0	**6-** 0
D	2	**1-** 0	**4-** 14
		2- 9	**5-** 17
		3- 4	**6-** 9
	7	**1-** 0	**4-** 16
		2- 37	**5-** 10
		3- 16	**6-** 16
	14	**1-** 0	**4-** 0
		2- 0	**5-** 0
		3- 0	**6-** 0
İ	2	**1-** 4	**4-** 4
		2- 2	**5-** 5
		3- 3	**6-** 4
	7	**1-** 0	**4-** 14
		2- 5	**5-** 8
		3- 11	**6-** 8
	14	**1-** 1	**4-** 1
		2- 1	**5-** 0
		3- 0	**6-** 1
Dİ	2	**1-** 1	**4-** 9
		2- 0	**5-** 6
		3- 3	**6-** 9
	7	**1-** 6	**4-** 8
		2- 9	**5-** 7
		3- 4	**6-** 7
	14	**1-** 2	**4-** 0
		2- 2	**5-** 3
		3- 0	**6-** 6
K	2	**1-** 8	**4-** 3
		2- 4	**5-** 7
		3- 2	**6-** 13
	7	**1-** 13	**4-** 11
		2- 0	**5-** 23
		3- 7	**6-** 11
	14	**1-** 6	**4-** 0
		2- 0	**5-** 4
		3- 11	**6-** 4

D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu. ÇKE: Çok katlı epithelium. NK: Normal kornea.

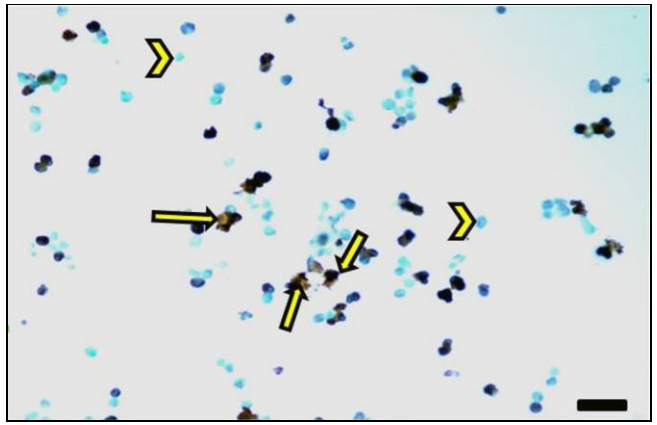
Çizelge 3.27. Yanık oluşturulduktan sonra kornea epitelinde TUNEL metoduyla saptanan ortalama apoptotik hücre sayıları (Ort±SH).

Zaman	D	İ	Dİ	K
NK	0,00±0,00^{bA}	0,00±0,00^{dA}	0,00±0,00^{cA}	0,00±0,00^{cA}
2. gün	10.60±2,25^{aA}	3,67±0,42^{bB}	5.60±1.60^{abAB}	6.16±1.58^{bAB}
7. gün	19.00±4.65^{aA}	9.20±1.53^{aBC}	6,83±0,70^{aB}	13.00±2.68^{aAC}
14. gün	0,00±0,00^{bB}	0,67±0,21^{cA}	2,17±0,91^{bA}	4,17±1,68^{bA}

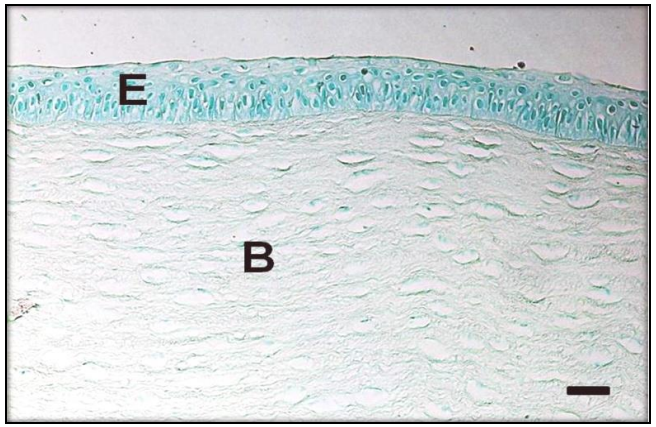
Aynı sütun (a, b, c, d) ve aynı satırdaki (A, B, C) farklı harfleri taşıyan ortalama değerler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). NK: Normal kornea.



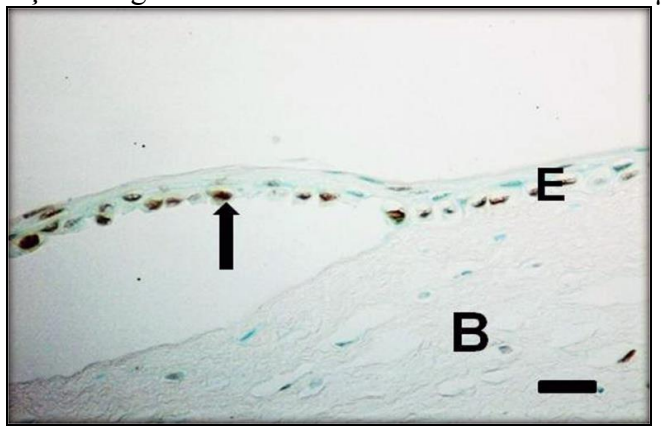
Şekil 3.12. Yanık sonrası korneal epitelde apoptozis grafiği. NK: Normal kornea, D: DMSO grubu, İ: İndomethacin grubu, Dİ: DMSO-İndomethacin grubu, K: Kontrol grubu.



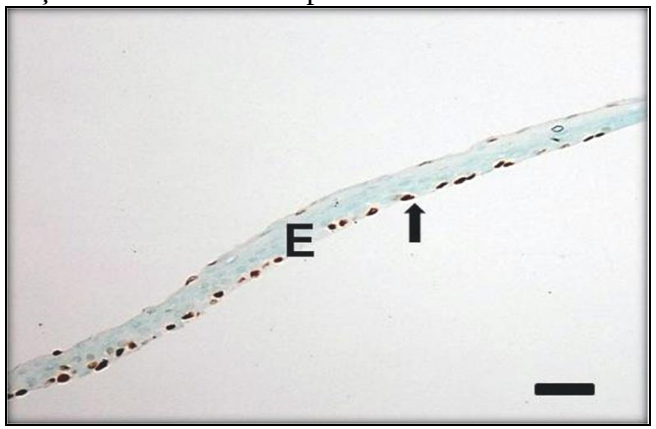
Resim 3.45. Pozitif kontrol preparatı: Oklar: Apoptotik hücreler. Ok başları: negatif hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm.



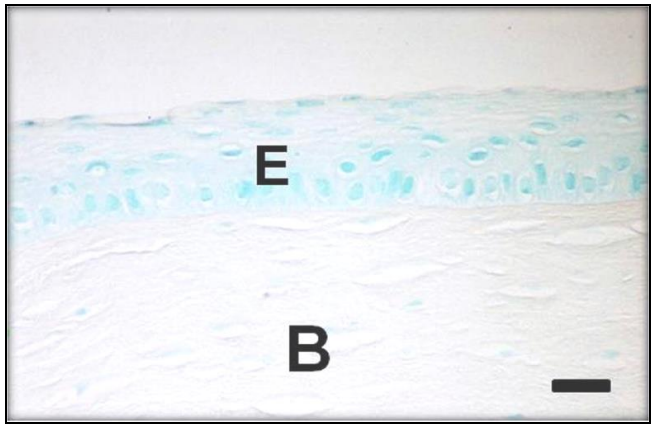
Resim 3.46. Normal kornea epitelinde apoptotik aktivite gözlenmemiştir. B: Stroma. E: Epitel. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.



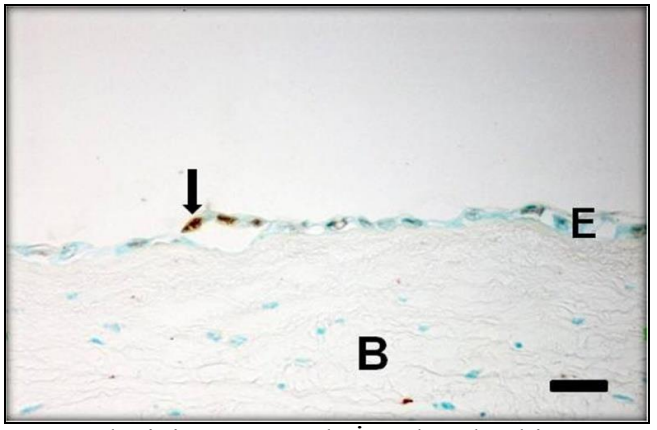
Resim 3.47a. Tedavinin 2. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm.



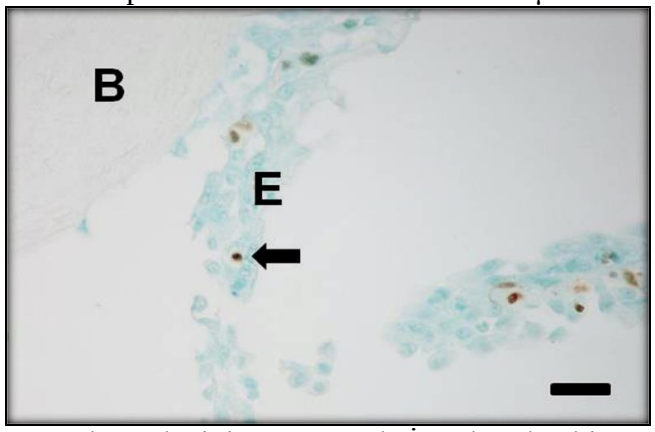
Resim 3.47b. Tedavinin 7. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm.



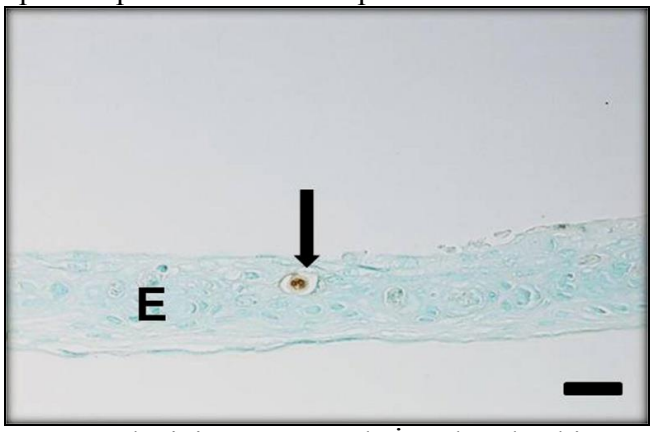
Resim 3. 47c. Tedavinin 14. gününde D grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre görülmemektedir. B: Stroma. E: Epitel. TUNEL metodu. Bar:100 µm.



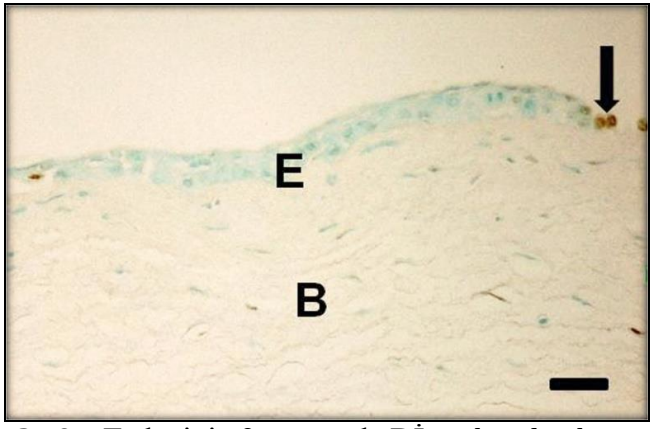
Resim 3.48a. Tedavinin 2. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. E: Epitel. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.



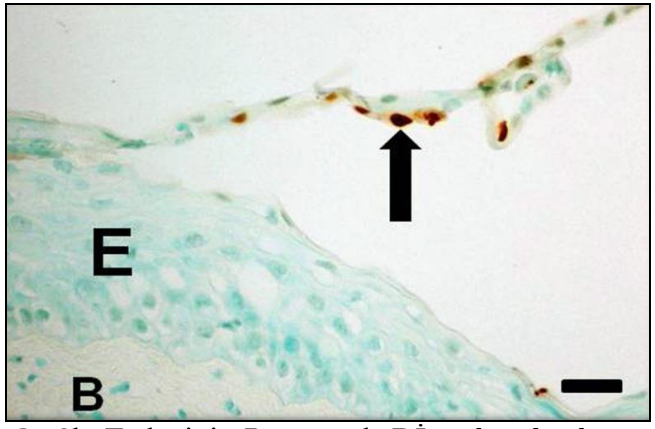
Resim 3. 48b. Tedavinin 7. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm



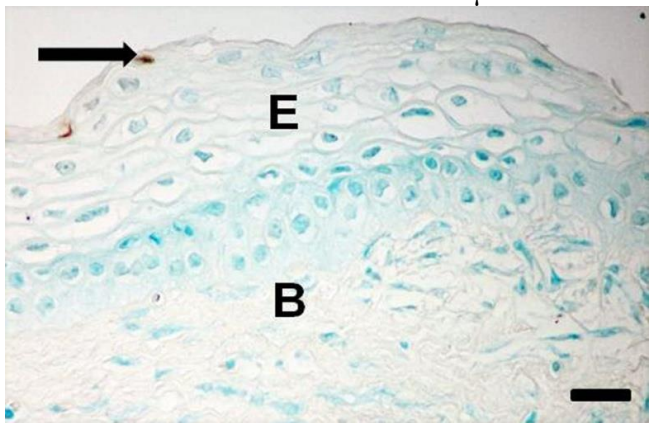
Resim 3. 48c. Tedavinin 14. gününde İ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.



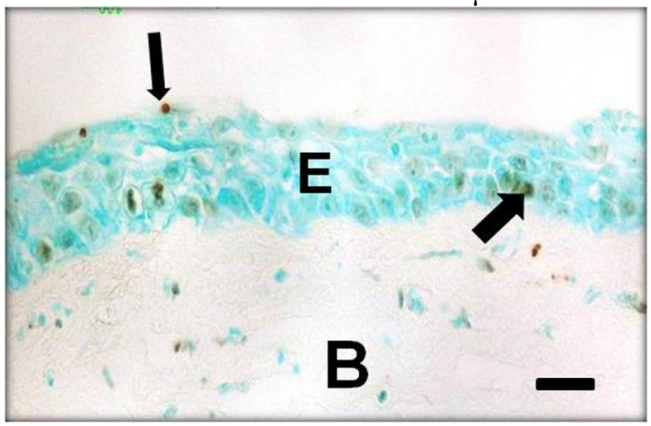
Resim 3.49a. Tedavinin 2. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.



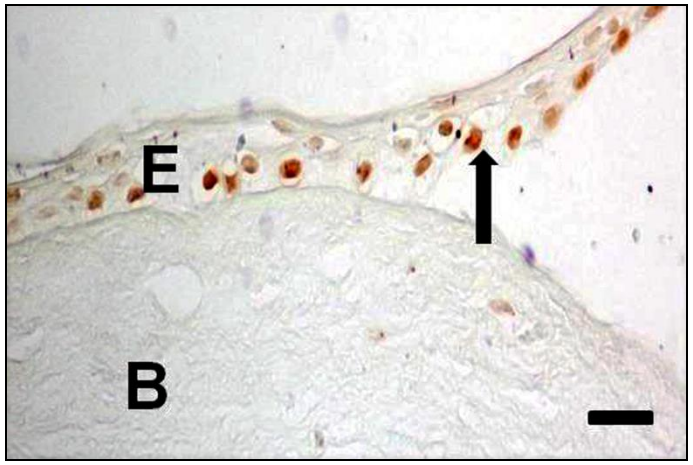
Resim 3.49b. Tedavinin 7. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.



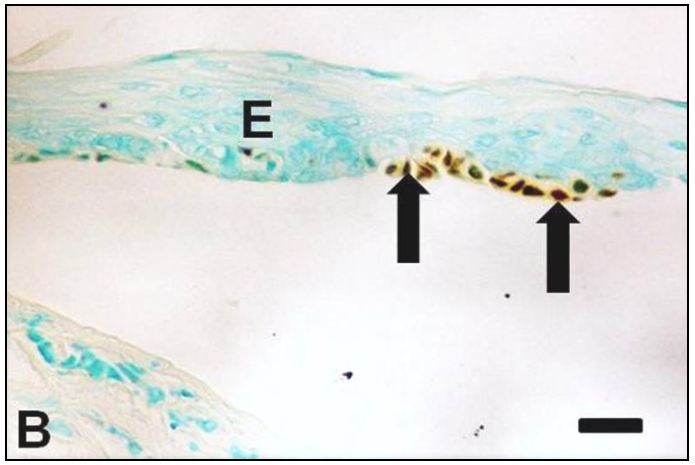
Resim 3.49c. Tedavinin 14. gününde Dİ grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.



Resim 3.50a. Tedavinin 2. gününde K grubundan bir tavşanın kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar:100 µm.



Resim 3.50b. Tedavinin 7. gününde K grubunun kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.



Resim 3.50c. Tedavinin 14. gününde K grubunun kornea epitelinde apoptotik hücre lokalizasyonu görülmektedir. B: Stroma. E: Epitel. Ok: Pozitif apoptotik epitel hücreler. TUNEL metodu. Bar: 100 µm.

4. TARTIŞMA

Asit kazaları içerisinde en ciddi hasara sebep olan yanıklar HF asit tarafından oluşturulur. HF asit, başta cam sanayisi olmak üzere birçok sanayi alanında geniş şekilde kullanılmasının yanında, birçok temizlik malzemesinin bileşiminde de bulunmaktadır (Kirkpatrick ve ark 1995, Kuckelkorn ve ark 2002, Spöler ve ark 2007). Geniş kullanım alanıyla orantılı olarak bu kimyasalla ilgili kazalar ve yanıklar daha sık gözlenmektedir. Bu asit ile ilgili göz yanıklarının tedavisiyle ilgili araştırmalar kısıtlı sayıdadır.

Hidroflorik asit göz yanıklarında genelde tedavinin temelini flor iyonunun toksik etkisini engellemeye yönelik flor bağlayan maddeler oluşturmaktadır. HF aside bağlı deri yanıklarında tedavi amacıyla kullanılan maddelerin gözde oluşturduğu etkileri çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Mc Culley 1983, McCulley ve ark 1990, Beiran ve ark 1997). Bu çalışmalardan birinde (McCulley ve ark 1990) HF asidin sebep olduğu deri yanıklarında kullanılan çeşme suyu, izotonik tuzlu su, magnezyum klorid, lanthanyum klorür, hyamin, zephiran gibi yıkama solüsyonları HF asit göz yanığının tedavisi amacıyla kullanılmıştır. Ancak, son yıllarda HF aside bağlı oluşan göz yanıklarında yıkama işlemini takiben alternatif tedavi edici maddelerin etkinlikleride deneysel olarak araştırılmıştır (Oğurtan ve ark 2002, Hatipoğlu ve ark 2008).

Hidroflorik aside bağlı göz yanıklarında kesin bir tedavi protokolünün olmamasından dolayı, sunulan bu çalışmada yakma işlemini takip eden ilk dakikada gözler izotonik tuzlu suyla yıkandıktan sonra, antioksidan etkili ve NSAİ ilaçlar uygulanarak oluşan kornea hasarının yangısal aşamada tedavi edilmesi amaçlanmıştır. Sunulan çalışmada tedavi amacıyla uygulanan ilaçlar, daha önceleri farklı araştırıcılar tarafından alkali yanıklarında benzeri amaçlarla kullanılmıştır. Ancak sunulan bu çalışmada deneysel hasar hidroflorik asit ile oluşturulmuştur. Bu açıdan alkali yanık oluşturulmuş ve de benzeri ilaçları içeren çalışmalar da, bu ilaçların benzer ya da farklı etkisini ortaya koymak amacıyla tartışmaya dâhil edilmiştir.

Hidroflorik asidin neden olduğu göz yanıklarını takiben oluşan kimyasal hasarın ilerlemesini önlemede en önemli faktör, gözün hemen yıkanmasıdır (Hatai ve

ark 1986, Schrage ve ark 2000, Gerard ve ark 2002). Böylelikle kornea ve konjunktivada oluşan kimyasal yükün uzaklaştırılması sağlanır. Yıkama amacıyla kullanılan solüsyonların yüksek bir ozmolariteye sahip olması, hem korneal ödemi önler hem de oluşan kimyasalların ve mediyatörlerin düşük ozmolariteye sahip korneadan dışarıya doğru çıkışını sağlar (Schrage ve ark 2000). Oğurtan ve ark (2002) yaptıkları bir çalışmada, HF asit yanığı oluşturulan gözleri sadece 2 gün boyunca günde 3 kez 500 ml izotonik serum fizyolojik (SF) ile yıkamışlardır. Yapılan muayenede 7. güne kadar bazı düzelmeler görmelerine rağmen, 14. gündeki klinik ve histopatolojik muayeneler neticesinde durumun daha da kötüye gittiğini bildirmişlerdir. Hatipoğlu ve ark (2008) ise yaptıkları çalışmada, HF asit göz yanığında 2, 7 ve 14 gün süresince, günde 2 defa 500 ml izotonik SF kullandıkları grupta korneal erozyon alanının azalması, stromal kalınlığın küçülmesi ve reepitelizasyonun 6 denekten 3'ünde gerçekleşmesi sebebiyle ilerleyici korneal iyileşme sağlandığını bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada ise yanık sonrası 1. dakikada tek bir kez 500 ml izotonik SF kullanılan grupta ne klinik ne de histolojik olarak 2. günde yeterli iyileşmenin sağlanmadığı, 7. günde ise iyileşmenin 2. güne kıyasla çok daha iyi olduğu (reepitelizasyonu tamamlanan denek sayısı 4/6, Çizelge 3.14.) gözlendi. Ancak 14. günde hem klinik (korneal erozyon alanı, konjunktivitis, konjunktival damar durumu, korneal bulanıklık) hem de histolojik olarak (reepitelizasyonu tamamlanan denek sayısı 2/6, vaskülarizasyon, yangısal hücre infiltrasyonu) 7. günle ya benzer ya da daha kötü olduğu gözlendi. Bu durum, Oğurtan ve ark (2002)'ın sonuçlarına benzer bulunmuştur. Bununla birlikte Hatipoğlu ve ark (2008)'ın 7 ve 14. günlerde stromal kalınlığın azalmasına karşın, normal kalınlığa ulaşmamasının yapılan bu çalışmayla uyumlu olduğu belirlendi. Yanık sonrası sadece yıkama yapılıp sonrasında kendi haline bırakılan kontrol grubunda 7. günden sonraki yangı belirtilerinin azalmaması araştırmacının (Wagoner 1997) ortaya koyduğu gibi yangının iki dönemli (1. dönem ilk 12-24 saat, 2. dönem 7. gün başlayıp 1-2 hafta boyunca devam eder) seyrettiği düşüncesini destekler nitelikli olup, yıkamanın düzenli ve devamlı bir şekilde yapılmasının iyileşme üzerine olumlu etkisinin olduğunu göstermektedir.

Sunulan bu çalışmada yanık oluşturulduktan sonra tedavi uygulanmayan kontrol grubunun 7. günde korneal erozyon alanının ve korneal bulanıklığın 2. güne kıyasla DMSO grubundan sonra iyileşme açısından en iyi grup olması kimyasal

yanıklardan sonra uygun bir sıvıyla yıkama işleminin tek başına yapılmasının bile iyileşme açısından yeterli olabileceğini düşündürdü.

Çalışmada kullanılan % 2'lik HF asidin göz üzerine 1 dakika süreyle uygulanmasıyla orta şiddetli bir yanık oluşur. İnsanlarda HF asitle oluşan yanıklarda gözlenen semptomlar göz kapağında ödem, şemozis, intravasküler koagülasyon, konjunktival damarlarda işemik değişimler ve korneal erozyonlardır (Beiran ve ark 1997). Tavşanlarda deneysel olarak yapılan çalışmalarda da (Beiran ve ark 1997, Oğurtan ve ark 2002, Hatipoğlu ve ark 2008) bunlara benzer semptomların gözlendiği bildirilmektedir. Ayrıca bu çalışmalarda korneal bulanıklığın yanıktan hemen sonra ve erozyonun ise yanık oluşturulduktan sonraki günde oluştuğu gözlenmiştir (Beiran ve ark 1997, Oğurtan ve ark 2002, Hatipoğlu ve ark 2008). Sunulan bu çalışmada, deneklerin gözlerine HF asit uygulanmasından 12 saat sonra göz kapaklarında ödem ve şemozis dikkat çekici boyuttaydı. Yanık sonrasında tüm gruplarda korneal opasite hemen gelişirken, korneal erozyonun yanık sonrası 1. günde gözlenmesi, araştırıcıların (Beiran ve ark 1997, Oğurtan ve ark 2002, Hatipoğlu ve ark 2008) verileriyle benzerlik göstermektedir.

Korneanın bir bölgesindeki epithelial kayıp, çevrede bulunan sağlam korneal epitel hücreleriyle düzeltilir. Korneanın tüm epitel katmanında meydana gelen bir hasar durumunda ise limbustaki epitelyum hücrelerine ihtiyaç vardır. Geniş korneal ve limbal hasarın olduğu durumlarda konjunktivayı saran epitelyum epithelial rejenerasyon için tek kaynaktır. Kimyasal göz yanıklarında iyileşmeyi etkileyen nedenlerden birisi de limbal ve bulbar konjunktivalardaki hasarın derecesidir (Wagoner 1997, Dua 1998). Bundan dolayı, konjunktivanın da hasar görmesi iyileşmeyi geciktirebilmektedir. Yapılan araştırmalarda (Beiran ve ark 1997, Wagoner 1997) konjunktivalardaki hasarın korneada reepitelizasyonu geciktirdiği ileri sürülmüştür. Şaroğlu ve Arıkan (1999)'ın yaptığı deneysel bir çalışmada, alkali maddeyle hem sadece kornea üzerinde sınırlı bir alanda ve hem de tüm oküler yüzeyde hasar oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, sadece korneal hasar oluşturulan deneklerde vaskülarizasyon ve reepitelizasyonun, tüm oküler yüzeyde hasar oluşturulan deneklere kıyasla daha hızlı gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Bunun nedeninin, tüm oküler yüzeyde hasar oluşturulan deneklerde limbal ve bulbar konjunktivalarda oluşan hasara bağlı vasküler ağın yıkımlanması neticesinde

neovaskülarizasyonun gerçekleşmemesine ve konjunktival epitelyum hücre eksikliğine bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Sunulan bu çalışmada, deneklerde tüm oküler yüzeyin HF asit ile teması sonucunda konjunktivaların şiddetli derecede hasara uğramış olduğu görüldü (Resim 3.3.). Deney gruplarından indomethacin ve DMSO-indomethacin gruplarının korneal erozyon alanı, korneal bulanıklık ve konjunktivalardaki damar durumunun, konjunktivitisle de paralel olarak tüm uygulama günlerinde diğer deney gruplarından daha kötü olduğu gözlendi. Konjunktival damar hasarı ve konjunktivitisin devam ettiği gruplarda korneal bulanıklığın ve korneal erozyon alanının azalmadığı ve reepitelizasyonun şekillenmediği dikkati çekti. Bu durum yukarıdaki araştırıcıların (Beiran ve ark 1997, Wagoner 1997, Şaroğlu ve Arıkan 1999) verileriyle uyumlu bulundu.

Hidroflorik asit, lipit içeren biyolojik membranları kolayca geçebilme yeteneğine sahip olduğundan, dokulara güçlü bir penetrasyon kapasitesine sahiptirler (Spöler 2007). Hidroflorik asit yanıklarında, hasardan hemen sonra korneada opasite artışı ve korneal bulanıklık gözlendiği araştırıcılar tarafından bildirilmiştir (Beiran ve ark 1997, Oğurtan ve ark 2002). Sunulan bu çalışmada, HF asit uygulandıktan hemen sonra tüm gruplarda korneada bulanıklık ve opasite artışı gözlendi (Resim 3.1A.). Korneanın saydamlığının devamı için gerekli olan şartlardan birisi kollajen lamellerin düzenli bir şekilde birbirine paralel seyretmesidir. Ayrıca, yangıya bağlı olarak stromal ödem ve dolayısıyla stromal kalınlık artışı, kollajen lamellerin yapısının bozulmasına ve sonuçta, korneal opasite ve korneanın saydamlığını kaybetmesiyle sonuçlanır (He ve Bazan 2006, Maggs 2008a). Bu çalışmada, korneal bulanıklığın kontrolü; yanıktan sonra, 1, 2, 7 ve 14. günlerde yapıldı. DMSO grubunun, 14. gün sonunda gruplar arasında korneal saydamlığı en iyi olan grup olduğu istatistiki bulgularla desteklendi. Bu gruptaki deneklerin 2 tanesi 7. günde, 5 tanesi 14. günde saydam yapıya ulaştı. İndomethacin ve DMSO-indomethacin gruplarındaki deneklerin hiçbirinde 14 günlük tedavi sonunda kornea saydam yapıya ulaşmazken; kontrol grubundan 2 denek yeterli korneal saydamlığı kazandı. Denekleri 14 gün sonunda korneal saydamlığa ulaşan DMSO grubunda, stromal kalınlık artışı 2. ve 7. günlere kıyasla önemli derecede azalarak normal stromal kalınlığa ulaşması (Çizelge 3.20.) ve indomethacin kullanılan gruplarda (İ ve Dİ) stromal kalınlığın normale kıyasla fazla olması korneal saydamlığın stromal

kalınlıkla ilişkili olduğu ve bu sonucun, yukarıdaki çalışmalarla uyum gösterdiği belirlendi.

Hidroflorik asit korneal stromaya penetre olduğunda trabeküler yapıda meydana gelen bozukluktan ve yangıya bağlı prostaglandin artışından dolayı göz içi basıncında geçici bir yükselme oluşabilir (Paterson ve ark 1979, Kirckpatrick ve ark 1995, Wagoner 1997). Bu yükselme zamanla azalarak belirgin bir hipotoni şekillenebilir (Morgan 1987, Christmas 1991, Wagoner 1997). DMSO ve kontrol grubunda yukarıda adı geçen literatürlerle benzer şekilde yanık sonrası 2. günde göz içi basıncında önemli bir artıştan sonra, 7. günde belirgin bir azalma gözlendi. İndomethacin ve DMSO-indomethacin gruplarında deneysel süreç içerisinde göz içi basıncında istatistiki olarak önemli bir değişiklik gözlenmemesi ($p>0,05$), indomethacinin güçlü bir prostaglandin inhibitörü olmasına bağlandı (Paterson ve ark 1979).

DMSO grubunda yanık sonrası gözlenen şiddetli konjunktivitis ve konjunktival damar oklüzyonlarının, tedavinin ilerleyen günlerinde düzelmesi, DMSO'nun mast hücrelerinden histamin salınımına neden olarak damarlarda dilatasyona neden olması (Brayton 1986), platelet agregasyonunu önemli oranda engellemesi (Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986) ve vazodilatasyona neden olan PgE_1 salınımını artırıcı etkilerine (Rand-Luby ve ark 1996) bağlı olabilir. Ayrıca, serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak da bilinmesi ve böylece işemiden sonra oluşan oksidatif stresi azaltması da DMSO'nun iyileştirici etkilerinden biri olabilir (Carpenter ve ark 1994, Shimuzu ve ark 1997).

DMSO'nun bilinen en önemli etkilerinden ikisi, iyi bir antioksidan ve yangı giderici olmasıdır (Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986). Yangı giderici etkisi monosit ve nötrofil aktivitesini inhibe etmek, yangı alanında nötrofillerden salınan serbest oksijen radikallerini temizlemek (Wong ve Reinertson 1984, Hillidge ve Sanford 1985) ve prostaglandinleri inhibe etmek yoluyla ortaya çıkar (Welch ve ark 1989). Antioksidan etkisini ise doku hasarı sonrası ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini temizleyerek gösterir (Wong ve Reinertson 1984). Ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri doku nekrozuna yol açar, kapillar geçirgenliği artırır ve damar duvarında nötrofil trombosit adezyonlarına neden olurlar. Sonuçta, mikrosirkülasyon bozuklukluğu ve damar tıkanıklığı şekillenir. Ayrıca, stromal ve epithelial hücre

membranlarında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu yoluyla kollajen yıkımına neden olur (Hayashi ve ark 1997, Buddi ve ark 2002). Sunulan bu çalışmada, DMSO grubunda makroskobik olarak değerlendirilen korneal erozyon alanı, korneal bulanıklık, konjunktivitis ve konjunktival damar hasarının 14 günlük tedavi sonunda belirgin derecede gerilemesinin (Resim 3.17.), DMSO'nun serbest oksijen radikal kaynaklarından birisi olan PMNL'lerin (Hayashi ve ark 1997, Shimmura ve ark 2003) yangı alanına göçünü önleyerek yangı oluşumunu azaltmasına neden olur ki, bu durum histopatolojik olarak korneal stromada daha az oranda yangısal hücre infiltrasyonu görülmesiyle de desteklenmektedir (Çizelge 3.16.).

Korneal erozyon alanı indomethacin uygulanan gruplarda (İ ve Dİ grupları) diğer gruplara kıyasla istatistiki olarak önemli oranda ($p<0,05$) daha genişti (Çizelge 3.11.). Tedavinin her 3 döneminde de (2, 7 ve 14. günler) tedrici bir azalma olmasına rağmen 14. günün sonunda korneanın yaklaşık % 50'sinde hasarın devam ettiği belirlendi (Çizelge 3.11.). Bununla birlikte makroskobik olarak bakılan korneal bulanıklık, konjunktival damar hasarı ve konjunktivitis; indomethacin uygulanan her iki grupta da tedavinin 3 döneminde diğer gruplardan önemli derecede ($p<0,05$) daha genişti (Resim 3.22., Resim 3.24.). İndomethacin uygulanan gruplarda (İ ve Dİ) 14 günlük tedaviden sonra reepitelizasyonun tamamlanmadığı gözlendi. Yangısal hücre infiltrasyonu, tedavinin 14. gününde indomethacin uygulanan gruplarda diğer gruplardan önemli derecede ($p<0,05$) daha fazlayken, korneal vaskülarizasyon hem DMSO hem de kontrol grubundan önemli derecede ($p<0,05$) daha genişti. İndomethacin; intraoperatif myozisi engellemede, postoperatif ve anterior segment yangılarında, kistoid makular ödem tedavisinde ve fotorefraktif keratektomiler gibi çeşitli yangısal ve şirürjikal olaylarda yaygın olarak kullanılmaktadır. İndomethacinin kimyasal göz yanıklarında steroidlere alternatif bir yangı giderici olduğunu belirten bir çalışmada Alio ve ark (1994); aralarında % 1'lik indomethacinin de bulunduğu üç NSAİ ilaç ile kortikosteroid olan % 0,1'lik deksametozonun korneal alkali yanıktaki etkinliklerini karşılaştırmışlardır. Araştırmada bakılan parametrelerde, gruplar içerisinde indomethacin uygulanan grubun en iyi grup olduğu bildirilmiştir. Normal tavşan korneal kalınlığının 0,32±0,02 mm olduğu çalışmada, indomethacin grubunun korneal kalınlığının (0,48±0,075 mm) gruplar içerisinde en az orana dolayısıyla normale en yakın değere

sahip olduğu belirtilmiştir. Sunulan bu çalışmada ise tüm gruplarda reepitelizasyonun tamamlanmamasından dolayı korneal kalınlık yerine stromal kalınlık değerlendirildi. Çalışmada normal tavşan stromal kalınlığı 0,52±0,02 mm olarak ölçülürken, indomethacin grubunda tedavinin 14. gününde 0,67±0,05 mm olduğu gözlendi. Diğer gruplarla kıyaslandığında, indomethacin grubunun en yüksek stromal kalınlığa dolayısıyla normalden en uzak değere sahip olduğu dikkati çekti. Laria ve ark (1997) ise yaptıkları korneal alkali yanık çalışmasında, antioksidan olan dimetilürea (% 0,5), dimetiülürea-indomethacin (% 1), deksametazon (% 1) ve dimetilürea-diklofenak sodyum (% 0,1) kombinasyonlarını karşılaştırmışlardır. Çalışmada korneal erozyon alanının en az olduğu grup dimetilürea-indomethacin kombinasyonu bulunurken, korneal saydamlığın spektrofotometrik olarak değerlendirildiği çalışmada en iyi grupların dimetilürea-indomethacin ve dimetilürea-diklofenak gruplarının olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada ise indomethacin ve DMSO-indomethacin gruplarının hem korneal erozyon alanı, hem de korneal saydamlık yönünden Laria ve ark (1997)'nın aksine en kötü gruplar olması dikkati çekti. Yukarıdaki araştırmacılardan (Alio ve ark 1994, Laria ve ark 1997) farklı olarak, sunulan bu çalışmada hem klinik hem de histolojik olarak en kötü grupların indomethacin uygulanan gruplar (İ ve Dİ) olmasının olası nedenlerinden birisi olarak yukarıdaki belirtilen çalışmada indomethacinin % 1'lik solüsyonu kullanılırken, sunulan bu çalışmada piyasada bulunan % 0,1'lik solüsyonun kullanılmasına bağlı konsantrasyon farklılığından kaynaklanabileceği düşünüldü. NSAİ ilaçlar gözde konjunktival hiperemi, yanma, kaşıntı gibi oküler iritasyonlara sebep olabilir (Koay 1996, Flach 2002, Gaynes ve Fiscella 2002, Giuliano 2004). Gueudry ve ark (2010) insanlarda katarakt cerrahisinden sonra % 0,1'lik indomethacin damla kullanan 8 hastanın 6'sında perforasyon, 1'inde ülserasyon, 1'inde ise desementosel gelişmesinden dolayı indomethacinin % 0,1'lik solüsyonunu epithelial bozukluğu, korneal erime ve perforasyon riski olan hastalarda kullanımında dikkat edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Bu tip olumsuz etkilere neden olan NSAİ ilacın etken maddesinden ziyade formülasyonda kullanılan koruyuculardan kaynaklanabileceği çeşitli araştırıcılar tarafından bildirilmiştir (Koay 1996, Flach 2002, Gaynes ve Fiscella 2002, Hendrix ve ark 2002, Giuliano 2004). Hendrix ve ark (2002) köpeklerde yaptıkları çalışmada; % 0,1'lik indomethacin solüsyonunda bulunan thimerosalın, uygulanan bütün konsantrasyonlarda korneal epithelial hücre migrasyonunda inhibisyona ve dolayısıyla reepitelizasyonda yetersizliklere neden

olabileceğini ileri sürmüştür. Thimerosal gibi koruyucu maddeler direkt olarak sitotoksik etki yanında PgE üretiminde inhibisyona ve dolayısıyla matriks metalloproteinazların aktivitesinde artışa neden olur (Gaynes ve Fiscella 2002). Sunulan çalışmada, yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı indomethacin uygulanan gruplarda; bu maddenin stromal kollajenlerin yeniden üretiminde ve korneal reepitelizasyondaki gecikmenin kaynağı olabileceği düşünüldü.

Oğurtan ve ark (2002), korneal HF asit yanığında NSAİ bir ilaç olan % 0,5 ketorolac tromethamin'in (Acular) korneal erozyondaki iyileştirici etkisinin konjunktival hasar ve korneal bulanıklıktaki kadar iyi olmadığını ileri sürmüşlerdir. Sunulan çalışma sonuçları NSAİ bir ilaç olan indomethacinin, korneal erozyondaki iyileştirici etkisi Oğurtan ve ark (2002)'ın bulgularıyla uyumluyken, konjunktival hasar ve korneal bulanıklığı yeterli düzeyde iyileştirememesinden dolayı farklı bulundu.

Skrypuch ve ark (1987) tavşanlarda deneysel korneal alkali göz yanığının tedavisinde % 20'lik DMSO'nun yanık sonrası ilk 3 gün süresince korneal opasiteyi azalttığı ve korneal ülser gelişim hızını düşürdüğünü ancak 8. günden sonraki günlerde iyileşme açısından kontrol grubuna kıyasla herhangi bir farklılık ortaya koymadığını gösterirken, klasik tedavide kullanılan ilaçlarla DMSO'nun kombine kullanılmasının daha faydalı olacağını bildirmişlerdir. Bu çalışmaya paralel olarak yapılan literatür taramalarında HF asit göz yanıklarında DMSO'nun etkinliğini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sunulan bu çalışmada DMSO'nun % 40'lık solüsyonu kullanılmıştır. Skyrpuch ve ark (1987)'ın yaptıkları çalışmadan farklı olarak bizim değerlendirmemizde 3. gün değerlendirmesi yerine 2. gün değerlendirmesine kıyasla iyileşme açısından gruplar içerisinde en iyi grubun DMSO grubu olduğu (Resim 3.17.) ve bu durumunda adı geçen çalışmayla uyumlu olduğu gözlendi. Ancak takip eden günlerde Skyrpuch ve ark (1987)'ın aksine DMSO grubunun diğer deneme gruplarına kıyasla makroskobik ve histolojik iyileşme açısından belirgin bir üstünlüğünün ($p<0,05$) olmasıyla ayrılmıştır. Bu durum araştırma öncesinde yaptığımız ön deneme doz çalışmalarında % 40'lık DMSO'nun, % 20'lik DMSO uygulamasından daha iyi sonuç vermesinden dolayı % 40'lık yoğunluktaki DMSO'nun etkinliğinin daha fazla olmasına bağlanabilir.

Doku hasarından sonra iNOS oluşumunun artması ve yangı bölgesinde lokal NO üretimi yara iyileşmesini hızlandırır (Howe ve Boothe 2001). Deney grupları içerisinde immünohistokimyasal boyamaya göre DMSO grubunun tedavinin 2. gününde hem bağ doku hem de epitel hücrelerinde önemli oranda ($p<0,05$) en yoğun iNOS pozitivitesi gösteren grup olması, NO üretiminin de en fazla olduğu grup olduğunu göstermektedir. Bu artışın tedavinin 7 ve 14. günlerinde 2. güne kıyasla düzenli olarak azaldığı görüldü (Çizelge 3.22. ve 3.23.). Yara iyileşmesinin erken döneminde oldukça yüksek oranda gözlenen iNOS aktivitesi, iyileşmenin geç döneminde yangı cevabında ya da sitokin salınımındaki gerilemeye bağlı olarak azalma gösterir. (Witte ve Barbul 2002). Tedavinin 14. gününde DMSO grubunda iNOS hücre aktivitesindeki azalmanın reepitelizasyonun tamamlanması ve dolayısıyla yangının gerilemesinden kaynaklanabileceği düşünüldü. Kontrol grubunun DMSO grubuna kıyasla önemli olarak daha yoğun ($p<0,05$) iNOS aktivitesi göstermesi epithelial iyileşmenin ve yangının hala devam etmesinden dolayı araştırmacının (Witte ve Barbul 2002) görüşleriyle uyum göstermektedir. En yoğun ($p<0,05$) iNOS hücre aktivitesinin kontrol grubunda 7. günde gözlenmesi, NO üretiminin daha yoğun ve doku iyileşmesinin daha aktif olduğunun bir göstergesi olabilir. İndomethacin ve özellikle DMSO-indomethacin grubunda iNOS hücre aktivitesinde çok önemli bir değişim gözlenmemesi bu gruplarda yeterli düzeyde reepitelizasyon olmamasına ve NSAİ ilaçların iNOS oluşumunu azaltıcı etkisine (Howe ve Boothe 2001) bağlı olabilir. Diğer bir sebep ise iNOS aktivitesindeki yetersizliğin, NO üretiminde eksikliğe sebep olması nedeniyle dokudaki iyileştirici etkisinin istenilen düzeyde olmamasıyla ilişkili olabileceğidir.

Deney gruplarında bağ doku katmanındaki iNOS hücre aktivitesi grupların tümünde 14. günde normal iNOS değerlerine kıyasla önemli derecede ($p<0,05$) yoğun gözlenirken, DMSO grubu dışındaki gruplarda iNOS yoğunluğu önemli derecede daha fazlaydı. DMSO dışındaki bu gruplarda iNOS üretim kaynaklarından biri olan yangısal hücre infiltrasyonunun (Howe ve Boothe 2001) önemli derecede ($p<0,05$) daha yoğun olması (Çizelge 3.16.) bu gruplarda iNOS hücre aktivitesinin fazla olabileceği sonucuna varılmasına sebep oldu.

Nitrik oksit aşırı miktarlarda üretildiğinde doku toksisitesine neden olan güçlü bir serbest radikaldir. Dokudaki aşırı NO, süperoksit ile reaksiyona girerek çeşitli

canlı dokularda yıkıcı etkileri kanıtlanmış önemli bir biyolojik oksidan madde olan peroksinitrit oluşumuna neden olur (Meisler ve ark 2004). Oluşan bu serbest radikaller, biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonu yoluyla doku yıkımına neden olurlar. Dimetylsulfoxide, serbest radikallerin hidroksil grubuna veya hidrojen atomuna bağlanarak onları yakalar (Brayton 1986, Jacob ve Herschler 1986, Hayashi ve ark 1997, Buddi ve ark 2002). Dimetylsulfoxide grubunda hem epitel katmanda hem de bağ dokuda tedavinin ilerleyen günlerinde iNOS aktivitesindeki azalma DMSO'nun iyi bir hidroksil yakalama yeteneğine sahip olmasına bağlanabilir.

Dokularda hücre çoğalmasının önemli bir belirleyicisi olan PCNA (Gan ve ark 1995), korneada immünohistokimyasal yöntemle gösterildi (Çizelge 3.25.). Tedavinin 2. gününde PCNA pozitif hücre sayısı hem günler hem de gruplar arasında en fazla ($p<0,05$) DMSO grubunda gözlendi. Tedavinin 2. gününde korneal erozyon alanının en çok azaldığı grubun DMSO grubu olması ve bu grupta reepitelizasyonun daha hızlı olması ile PCNA hücre aktivitesi arasında bir paralellik olabileceği kanısına varıldı.

Gan ve ark (1999) yaptıkları bir çalışmada deneysel olarak oluşturdukları kornea hasarında stromada gözlenen lökosit (PMNL, makrofajlar, nötrofil) yoğunluğunun, PCNA hücre aktivitesinin artışına neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Tedavinin 14. gününde, hem stromadaki yangısal hücre infiltrasyonunun, hem de PCNA hücre aktivitesinin DMSO-indomethacin grubunda önemli oranda ($p<0,05$) fazla olması araştırmacının (Gan ve ark 1999) bilgisini destekler niteliktedir. Ancak DMSO grubunda stromadaki yangısal hücre infiltrasyonunun en az düzeyde seyretmesine rağmen PCNA hücre aktivitesinin indomethacin ve kontrol gruplarına kıyasla önemli oranda fazla olması ise adı geçen araştırmacının (Gan ve ark 1999) bilgisiyle farklılık göstermektedir. Bundan dolayı korneal stromada lökosit yoğunluğunun tek başına PCNA hücre aktivitesi üzerine etkili olamayabileceği düşünüldü.

Apotozis, doku gelişimi, homeostazis ve yara iyileşmesi süresince meydana gelen ve hücre yapısında karakteristik değişikliklerin eşlik ettiği hücre ölümünün kontrollü bir şeklidir (Helena ve ark 1998). Bir dokudaki homeostazis, hücrelerdeki çoğalma, farklılaşma ve hücre ölümü arasındaki düzenli ilişkiye bağlı bir durumdur (King ve Cidlowski 1998, Vermaulen ve ark 2003). Normal korneal epitelde

apoptotik hücrelere genellikle rastlanmaz. Ancak bazen epitel katmanın yüzeydeki hücrelerinde çok az sayıda görülebileceği çeşitli araştırmacılar (Ren ve Wilson 1996, Gao ve ark 1997, Estil ve ark 2002) tarafından bildirilmektedir. Mevcut çalışmada sağlam kornea epitelinde apoptotik hücrelere rastlanmazken (Çizelge 3.27.), tüm gruplarda dikkati çeken en önemli bulgu apoptotik hücrelerin sadece epitelin bazal membrandan ayrılan ve yeni rejenere olan epitel alanlarında olmasıydı (Resim 3.47a., 3.49.b.). Bu durum yakma işleminden sonra kornea periferinden merkeze doğru gerçekleşen reepitelizasyon sırasında, bir taraftan proliferasyon olurken diğer taraftan hasara uğramış epitel kısımlarının uzaklaştırılmasının, apoptozisle gerçekleştiğini düşündürdü. Gruplardaki apoptotik hücre farklılıkların sebebinin ise tedavilere bağlı olarak gerçekleşen reepitelizasyon hızıyla alakalı olduğu düşünüldü. Çünkü epithelial nekrozun fazla olduğu gruplarda (indomethacin uygulanan İ ve Dİ grupları) tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde diğer grupların aynı günlerine kıyasla apoptozisin daha az olmasına karşın (Çizelge 3.27.), epithelial nekrozun az, dolayısıyla reepitelizasyonun hızlı olduğu gruplarda (DMSO ve kontrol) tedavinin 2, 7 ve 14. günlerinde indomethacin uygulanan grupların aynı günlerine kıyasla apoptozisin daha yoğun olması bu düşünceyi destekler niteliktedir. Sonuçta DMSO grubunun reepitelizasyonu hızlandırmasından dolayı apoptozisin, iyileşmenin yangısal fazında (2. gün) artmaya başladığı, çoğalma ve farklılaşma aşamasında pik yaptığı (7. gün) ve olgunlaşma aşamasında tamamen kaybolduğunun (14. gün) gözlenmesi bu kanıyı desteklemektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak % 40'lık konsantrasyonda DMSO'nun deneysel olarak oluşturulan % 2'lik HF asit oküler yanığının tedavisinde reepitelizasyonu yeterli düzeyde sağladığı, bununla birlikte % 0,1'lik indomethacin'in hem tek başına ve hem de dimetylsulfoxide ile birlikte kullanıldığında % 2'lik hidroflorik asit oküler yanığının tedavisinde reepitelizasyonu sağlamadığı, var olan yangıyı daha da şiddetlendirdiği kanısına varıldı. Dolayısıyla dimetylsulfoxide'in % 2'lik HF asit oküler yanığının tedavisinde uygun bir yıkama solüsyonuyla gözün yıkanmasını takiben kullanılabileceği tavsiye edilmektedir. Ayrıca Dimetylsulfoxide'in veteriner sahada sıklıkla karşılaşılan oküler bozukluklarda ümit verici olduğu düşünülerek klinik çalışmaların yapılması gerektiği önerilmektedir. Buna karşın % 0,1'lik indomethacinin kullanılmasının hasarlı olan göz için toksik olduğu ve kullanılması durumunda dikkat edilmesinin gerektiği önerilmektedir. Ancak çalışmada tedavinin 14 gün sürmesi nedeniyle indomethacinle ilgili daha uzun süreli tedavinin nasıl bir sonuç vereceğinin görülebilmesi açısından ileri çalışmaların yapılmasının gerektiği önerilmektedir.

6.ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tavşanlarda Hidroflorik Asitle Oluşturulan Korneal Yanıkların İyileşmesinde Dimetilsülfoksit ve İndometazinin Etkilerinin Araştırılması

"Semih ALTAN"

Cerrahi (Vet) Anabilim Dalı

Danışman

Prof. Dr. Zeki OĞURTAN

DOKTORA TEZİ / KONYA-2013

Bu çalışmada hidroflorik asitle korneal yanık oluşturulmuş tavşanlarda, antioksidan ve antinflamatuvar etkinliği iyi olarak bilinen Dimetilsülfoksit (DMSO) ile Nonsteroid antiinflamatuvar olan indometazin'in tek başına ve kombine kullanımlarının, korneal iyileşme üzerine olan etkinliklerinin araştırılması amaçlandı.

Araştırmada toplam 72 adet erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar, her bir grupta 18 tavşan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Gruplar 2, 7 ve 14. günlerde alınacak örnekler dikkate alınarak her birinde 6 tavşan bulunacak şekilde alt gruplara ayrıldı. Genel anesteziye alınan tavşanların sağ gözlerine 0.05 ml % 2'lik hidroflorik asit 60 sn süreyle uygulandıktan sonra gözler 500 ml % 0,9'luk serum fizyolojik ile yıkandı. Tedavi amacıyla D grubuna günde 4 defa 4'er damla % 40'lık DMSO uygulanırken, İ grubuna günde 4 defa 4'er damla % 0,1'lik indometazin uygulandı. Dİ grubuna DMSO ve İndometazin kombine olarak D ve İ gruplarında uygulanan dozlarda uygulanırken K grubuna kontrol amacıyla herhangi bir tedavi uygulanmadı. Klinik muayeneler yanık sonrası 1, 2, 7 ve 14. günlerde yapıldı. Tavşanlar, histopatolojik incelemeler için 2, 7 ve 14 günlük tedavi dönemleri sonunda ötenazi edildi. Tedavi etkinlikleri klinik (korneal saydamlık, konjunktival damar durumu, konjunktivitis, korneal erozyon alanı ve göz içi basıncı) ve histopatolojik olarak (yangısal hücre infiltrasyonu, vaskülarizasyon, stromal kalınlık, reepitelizasyon, prolifere hücre nükleer antijen (PCNA), apoptozis ve indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS)) değerlendirildi.

Klinik değerlendirmeler neticesinde D grubu hem 7. günde hem de 14. günde istatistiki olarak en iyi grup olurken, herhangi bir tedavinin uygulanmadığı K grubunun, D grubundan sonra klinik olarak en iyi grup olduğu saptandı. Bu iki grubun aksine İ ve Dİ gruplarında 14. güne doğru klinik belirtilerde azalmalar meydana gelmesine rağmen tam bir iyileşme gözlenmedi. Histopatolojik değerlendirmelere göre ise 14 günlük tedavi sonunda en iyi grubun D grubu olduğu gözlendi. Gruplarda D grubunda 5/6 denekte reepitelizasyon sağlanırken, K grubunda 2/6 denekte reepitelizasyonun sağlandığı buna karşılık, diğer iki grubun ise hiçbir deneğinde repitelizasyonun tam olarak gerçekleşmediği saptandı.

Sonuç olarak % 40'lık dimetilsülfoksitin korneal hidroflorik asit yanığının tedavisinde reepitelizasyonu yeterli düzeyde sağladığı düşünülürken, % 0,1'lik indometazin'in hem tek başına hem de dimetilsülfoksit ile kombine kullanımında yeterli derecede reepitelizasyonu sağlamadığı, var olan yangıyı daha da şiddetlendirdiği kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler: Dimetilsülfoksit; Kornea; İndometazin; Yanık; Hidroflorik asit.

7. SUMMARY

Effect of Indomethacin and Dimethylsulfoxide on the Healing of Corneal Burns Induced with Hydrofluoric acid in Rabbits

The aim of this study was to investigate the effect of indomethacin, as nonsteroid anti-inflammatory, and dimethyl sulfoxide as antioxidant and anti-inflammatory drugs on the healing of corneal burns induced with hydrofluoric acid (HF) in rabbits.

72 male New Zealand rabbits were used in study. Right eyes were burned by instillation of 0.05 ml of 2% HF acid for 60 seconds under general anesthesia, followed by irrigation with 500 cc normal saline. Rabbits were divided into four different groups each having 18 rabbits. The right eyes of the rabbits in Group 1 as D were instilled 4 drops of 40% DMSO four times per day, in Group 2 as I were instilled 4 drops of 0,1% indomethacin four times per day; in Group 3 as DI were instilled the same amount of dose for DMSO and indomethacin together as in groups D and I. No therapeutic agent was instilled in Group 4 as C which was kept as the control. The groups were divided into three subgroups according to the duration of treatment for 2, 7 and 14 days. The eyes were clinically examined immediately after the chemical burning and at the follow up periods of days 1, 2, 7 and 14. The animals were euthanatized at the end of the treatment periods, and the eyes were processed for histopathological examination. Treatment efficacies were evaluated as clinical (corneal haziness, conjunctival status, conjunctivitis, corneal erosion area and intra ocular pressure) and histopathological (inflammatory cell infiltration, vascularization, stromal thickness, reepithelization, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), apoptosis, and inducible nitric oxide synthases (iNOS)).

According to the clinical findings at days 7 and 14, the group D was the best among other groups. On the other hand, group K was better than groups I and DI. Although improvement was seen clinically in the groups I and DI, no complete healing was observed. Histopathological findings revealed that, the group D was better at day 14 compared to other groups.

As a result, while 40% dimethylsulfoxide efficiently ensured reepithelization on the corneal hydrofluoric acid burns, 0,1% indomethacin both alone and along with DMSO did not and actually it was thought to exacerbate the inflammation.

Keywords: Dimethylsulfoxide; Cornea; Indomethacin; Burn; Hydrofluoric acid.

8. KAYNAKLAR

1. Abastado JP. Apoptosis: Function and regulation of cell death. Res Immunol. 1996; 147: 443-56.

2. Ahuja M, Dhake AS, Sharma SK, Majumdar DK. Topical Ocular Delivery of NSAIDs. The AAPS Journal. 2008; 10(2): 229-41.

3. Akın F, Samsar E. Göz Hastalıkları. Ankara: Medipres Yayıncılık; 2001.

4. Alio JL, Ayala MJ, Mulet ME, Artola A, Ruiz JM. Topical treatment of experimental acute corneal inflammation by dexamethasone and nonsteroidal drug. Ophthalmic Res. 1994; 26: 87-94.

5. Allan DJ, Harmon BV. The morphologic categorization of cell death induced by mild hyperthermia and comparison with death induced by ionizing radiation and cytotoxic drugs. Scan Electron Microsc. 1986; 3: 1121-33.

6. Alsup EM. Dimethyl sulfoxide. Topics in drug therapy. JAVMA. 1984; 185: 1011-14.

7. Altunkaynak BZ, Özbek E. Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir? Tıp Araştırmaları Dergisi. 2008; 6(2): 93-104.

8. Antony VB, Sahn SA, Repine JE. Effect of dimethyl sulfoxide on chemotaxis of phagocytic cells. Ann N Y Acad Sci. 1983; 411: 321-23.

9. Balicki I. The use of dexamethasone and dimethyl sulfoxide for chronic superficial keratitis treatment in dogs. Proceeding book ECVO meeting. Vet Ophthalmol. 2007; 10: 323-35.

10. Baudouin C. The Pathology of Dry Eye. Surv Ophthalmol. 2001; 45(2): 211-20.

11. Beiran I, Miller B, Bentur Y. The efficacy of calcium gluconate in ocular hydrofluoric acid burns. Hum Exp Toxicol. 1997; 16: 223-28.

12. Bentur Y, Tanenbaum S, Yaffe Y, Halpert M. The role calcium gluconate in the treatment of hydrofluoric acid eye burn. Am Emerg Med. 1993; 22: 488-90.

13. Bonfiglio V, Camillieri G, AvitabileT, Leggio GM, Drago F. Effects of the COOH-terminal tripeptide a-$MSH_{11\ 13}$ on corneal epithelial wound healing: Role of nitric oxide. Exp Eye Res. 2006; 83: 1366-72.

14. Brayton CF. Dimethyl sulfoxide (DMSO): A review. Cornell Vet. 1986; 76: 61-90.

15. Brooks DE, Ollivier FJ. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration. Vet Clin Small Anim. 2004; 34: 611-22.

16. Buddi R, Lin B, Atilano SR, Zorapapel NC, Kenney MC, Brown DJ. Evidence of oxidative stress in human corneal disease. J Histochem Cytochem. 2002; 50(3): 341–51.

17. Burgher F, Mathieu L, Blomet J. Chemical agents and the involved chemical reactions. In: Tseng SCG, editor. Chemical Ocular Burns New Understanding and Treatments. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2011. p. 17-48.

18. Campos CF, Jorge AT, Talieri IC, Vicenti FAM, Toledo-Pisa E, Laus JL. Ocular alkali lesions in dogs. Acetylcystein and blood serum effects. Braz J Vet Res Anim Sci. 2003; 40: 36-44.

19. Caravati EM. Acute hydrofluoric acid exposure. Am J Emerg Med. 1988; 6: 143-50.

20. Carpenter RJ, Angel MF, Morgan RF. Dimethyl sulfoxide increases the survival of primarily ischemic island skin flaps. Otolaryngol Head Neck Surg. 1994; 110: 228-31.

21. Chemical abstract substances (CAS). The gold standard for chemical substance information. A Division of the American Chemical Society. http://www.cas.org/content/chemical-substances. Erişim tarihi: 14.01.2013.

22. Chandrasekher G, Ma X, Lallier TE, Bazan HEP. Delay of corneal epithelial wound healing and induction of keratocyte apoptosis by platelet-activating factor. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2002; 43: 1422-28.

23. Chiou GCY. Review: Effects of nitric oxide on eye disease and their treatment. J Ocul Pharmacol Ther. 2001; 17: 189-98.

24. Christmas R. Management of chemical burns of the canine cornea. Can Vet J. 1991; 32: 608-12.

25. Chung JH, Kang YG, Kim HJ. Effect of 0,1% dexamethasone on epithelial healing in experimental corneal alkali wounds: morphological changes during the repair process. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. 1998; 236: 537-45.

26. Collins BK. Keratitis ulcerative. https://www.vetconnect.com.au/5min/data/07530755.htm Erişim Tarihi: 17.04.2009.

27. Cook CS, Peiffer RL, Landis ML. Clinical basic science. In: Peiffer B, Peterson-Jones S, editors. Small Animal Ophthalmology: A problem-oriented Approach. 4th ed. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier, 2009. p. 1-13.

28. Cox RD, Osgood KA. Evaluation of intravenous magnesium sulfate for the treatment of hydrofluoric acid burns. Clin Toxicol. 1994; 32(2): 123-36.

29. Crispin S. The cornea. In: Crispin S, Petersen-Jones S, editors. BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology. Gloucester, England, British Small Animal Veterinary Association, 2002a. p. 134-54.

30. Crispin S. The conjunctiva. In: Crispin S, Petersen-Jones S, editors. BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology. Gloucester England, British Small Animal Veterinary Association, 2002b. p. 124-33.

31. Dellman HD, Brown EM. Textbook of Veterinary Histology. Philadelphia, Lea and Febiger, 1987. p. 416-19.

32. Dighiero P, Behar-Cohen F, Courtois Y, Goureau O. Expression of inducible nitric oxide synthase in bovine corneal endothelial cells and keratocytes in vitro after lipopolysaccharide and cytokines stimulation. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1997; 38: 2045-52.

33. Donshik PC, Berman MB, Dohlman CH, Gage J, Rose J. Effect of topical corticosteroid on ulceration in alkali-burned cornea. Arch Ophthalmol. 1978; 96: 2117-20.

34. Dua HS. The conjunctiva in corneal epithelial wound healing. Br J Ophthalmol.1998; 82: 1407-11.

35. Dubielzig RR, Ketring K, McLellan GJ, Albert DM. Disease of the cornea and sclera. Veterinary Ocular Pathology a comparative review. Chapter:8. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier; 2010. p. 201-43.

36. Dürgen A**.** Köpeklerde deneysel olarak oluşturulan kornea yaralarında chymotrypsin alfa ve östrojen progesteron kombinasyonunun iyileşme hızı üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırılması. Konya, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahi Anabilim Dalı, Doktora Tezi. 2002.

37. Dyson JE, Simmons DM, Daniel J, McLaughlin JM, Quirke P Bird CC. Kinetic and physical studies of cell death induced by chemotherapeutic agents or hyperthermia. Cell Tissue Kinet. 1986; 19: 311-24.

38. Estil S, Kravik K, Haaskjold E, Refsum SB, Bjerknes R, Wilson G. Pilot study on the time course of apoptosis in the regenerating corneal epithelium. Acta Ophthalmol Scand. 2002; 80: 517-23.

39. Ferrini MG, Vernet D, Magee TR, Shahed A, Qian A, Rajfer A, Gonzalez-Cadavid NF. Antifibrotic Role of Inducible Nitric Oxide Synthase. Nitric Oxide. 2002; 6: 283-94.

40. Flach AJ. Topical nonsteroidal antiinflammatory drugs in ophthalmology. Int Ophthalmol Clin. 2002; 42(1): 1-11.

41. Gakhramanov FS. Effect of natural antioxidants on antioxidant activity and lipid peroxidation in eye tissue of rabbits with chemical burns. Bull Exp Biol Med. 2005; 140: 289-91.

42. Gan L, Fagerholm P. Leukocytes in the early events of corneal neovascularization. Cornea. 2001; 20: 96-99.

43. Gan L, Fagerholm P, Ekenbark S. Expression of proliferating cell nuclear antigen in corneas kept in long term culture. Acta Ophthalmol Scand. 1998; 76: 308–13.

44. Gan L, Fagerholm P, Kim HJ. Effect of leukocytes on corneal cellular proliferation and wound healing. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1999; 40: 575-81.

45. Gaynes BI, Fiscella R. Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for ophthalmic use. A safety review. Drug Saf. 2002; 25 (4): 233-50.

46. Gelatt KN, Gelatt JP. Surgery of the Cornea and Sclera. Small Animal Ophthalmic Surgery: Practical Techniques for the Veterinarian. First Ed. Philedhelphia, Butterworth-Heinemann, 2001a; 180-96.

47. Gelatt KN, Gelatt JP. Surgical Procedures for the Conjunctiva and the Nictitating Membrane. Small Animal Ophthalmic Surgery: Practical Techniques For The Veterinarian. First Ed. Philedhelphia, Butterworth Heinemann, 2001b. p. 150-63.

48. Gerard M, Merle H, Chiambaretta F, Rigal D, Schrage N. An amphoteric rinse used in the emergency treatment of serious ocular burn. Burns. 2002; 18: 670-73.

49. Giuliano EA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in veterinary ophthalmology. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2004; 34: 707-23.

50. Glassq M, Sandvig KU, Haaskjold E. Apoptosis in the corneal epithelium during regeneration: A transmission electron microscopic study. APMIS. 1993; 101: 914-22.

51. Gordon DM, Kleberger KE. The effect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) on Animal and Human Eyes. Arch Ophthal. 1968; 68: 423-27.

52. Grahn BH, Wolfer J. Therapeutics. In: Peiffer B, Peterson-Jones S, editors. Small Animal Ophthalmology: A problem-oriented Approach. 4th ed. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier, 2009. p. 50-66.

53. Gueudry J, Lebel H, Muraine M. Severe corneal complications associated with topical indomethacin use. Br J Ophthalmol. 2010; 94: 133-34.

54. Gum GG, Gelatt KN, Ofri R. Physiology of the Eye. In: Gelatt NK, editor. Veterinary Ophthalmology. Third ed. Philedelphia, USA, Lippincott Williams-Wilkins, 1999. p. 151-216.

55. Hatai JK, Weber JN, Doizaki K. Hydrofluoric acid burns of the eye: report of possible delayed toxicity. J Toxicol-Cut and Ocular Toxicol. 1986; 5(3): 179-84.

56. Hatipoglu F, Ogurtan Z, Sezer AD, Uney K, Erol M, Ozdemır O, Bas AL, Akbuga J. Effect of laminarin and chitosan gel formulations on the treatment of hydrofluoric acid induced corneal burns in the rabbits. Revue Méd Vét. 2008; 159: 207-14.

57. Hatzifotis M, Williams A, Muller M, Pegg S. Hydrofluoric acid burns. Burns. 2004; 30: 156-59.

58. Hayashi S, Ishimoto S, Wu GS, Wee WR, Rao NA, McDonnel PJ. Oxygen free radical damage in the cornea after excimer laser therapy. Brit J Ophthalmol. 1997; 81: 141-44.

59. He J, Bazan HEP. Synerjistic effect of platelet-activating factor and tumor necrosis factor-α on corneal myofibroblast apoptosis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006; 47: 883-91.

60. Helena MC, Baerveldt F, Kim WJ, Wilson SE. Keratocyte apoptosis after corneal surgery. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1998; 39: 276–83.

61. Hendrix DVH, Ward DA, Barnhill MA. Effects of anti-inflammatory drugs and preservatives on morphologic characteristics and migration of canine corneal epithelial cells in tissue culture. Vet Ophthalmol. 2002; 5(2): 127–35.

62. Hersh PS, Rice BA, Baer JC, Wells PA, Lynch SE, McGuigan LJB, Foster CS. Topikal nonsteroidal agents and corneal wound healing. Arch Ophthalmol. 1990; 108: 577-83.

63. Hillidge CJ. The case for dimethyl sulphoxide (DMSO) in equine practice. Equine Vet J. 1985; 17(4): 259-61.

64. Hoang-Xuan T, Hannouche D. Medical treatment of ocular burns. J Fr Ophtalmol. 2004; 27: 1175-78.

65. Howe LM, Boothe HW. Nitric oxide: A review for veterinary surgeons. Vet Surg. 2001; 30: 44-57.

66. Jacob SW, Herschler R. Pharmacology of DMSO. Cryobiology.1986; 23: 14-27.

67. Kaya M. Göz hastalıkları. In: İmren HY, editor. Kedi ve Köpek Hastalıkları. Ankara Medisan, 1998. s. 601-20.

68. Kim JY, Choi YM, Jeong SW, Williams DL. Effect of bovine freeze-dried amniotic membrane (Amnisite-BA^{TM}) on uncomplicated canine corneal erosion. Vet Ophthalmol. 2009; 12: 36-42.

69. Kim T, Lee SY, Pak JH, Tchah H, Kook MS. Mitomycin C, ceramide, and 5-fluoracil inhibit corneal haze and apoptosis after PRK. Cornea. 2006; 25: 55-60.

70. Kim JC, Park GS, Kim JK, Kim YM. The Role of Nitric Oxide in Ocular Surface Cells. J Korean Med Sci. 2002; 17: 389-94.

71. Kim T, Pak JH, Tchah H, Lee SA, Kook MS. Ceramid-induced apoptosis in corneal fibroblasts Cornea. 2005; 24: 72-79.

72. King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. Annu Rev Physiol. 1998; 60: 601-17.

73. Kirkpatrick JR, Burd DAR. An algorithmic approach to the treatment of hydrofluoric acid burns. Burns. 1995; 21: 495-99.

74. Kirkpatrick JR, Enion DS, Burd DAR. Hydrofluoric acid burns: a review. Burns. 1995; 21: 483-93.

75. Koay P. The emerging roles of topical non-steroidal anti-inflammatory agents in ophthalmology. Brit J Ophthal. 1996; 80: 480-85.

76. Kuckelkorn R, Schrage N, Keller G, Redbrake C. Emergency treatment of chemical and thermal eye burns. Acta Ophthalmol Scand. 2002; 80: 4-10.

77. Kwon YS, Hong HS, Kim JC, Shin JS, Son YS. Inhibitory effect of rapamycin on corneal neovascularization in vitro and in vivo. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005; 46: 454-60.

78. Laria C, Alio JL, Ruiz-Moreno JM. Combined non-steroidal therapy in experimental corneal injury. Ophthalmic Res. 1997; 29: 145-53.

79. Lee RH, Efron D, Tantry U, Barbul A. Nitric Oxide in the healing wound: A Time-Course Study. J Surg Res. 2001; 101: 104–08.

80. Lennon SV, Martin SJ, Cotter TC. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli. Cell Prolif. 1991; 24(2): 203-14.

81. Ma X, Ottino P, Bazan HEP, Bazan NG. Platelet-acitvating factor (PAF) induces corneal neovascularization and upregulates VEGF expression. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004; 45: 2915-21.

82. Maggs DJ. Cornea and Sclera. In: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, editors. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4th ed. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier, 2008a. p. 175-202.

83. Maggs DJ. Conjunctiva. In: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, editors. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4th ed. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier, 2008b. p. 135-50.

84. Maggs DJ. Third eyelid. In: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, editors. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4th ed. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier, 2008c. p. 151-74.

85. Maggs DJ. Ocular pharmacology and therapeutics. In: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, editors. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4th ed. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier, 2008d. p. 33-61.

86. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB III. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review. J Biochem Mol Toxicol. 2003; 17: 24-38.

87. Mathieu L, Burgher F, Blomet J. 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. 2007; 14(4): 32-39.

88. Matsuno K. The treatment of hydrofluoric acid burns. Occup Med. 1996; 46: 313-17.

89. McCulley JP. Ocular hydrofluoric acid burns: animal model, mechanism of injury and therapy. Trans Am Ophthalmol Soc. 1990; 88: 649-84.

90. McCulley JP, Whiting DW, Petitt MG, Lauber SE. Hydrofluoric acid burns of the eye. J Occup Med. 1983; 25: 447-50.

91. Meisler DM, Koeck T, Connor JT, Aulak KS, Jeng BH, Hollyfield JG, Stuehr DJ, Shadrach KG. Inhibition of nitric oxide synthesis in corneas in storage media. Exp Eye Res. 2004; 78: 891–94.

92. Merle H, Donnio A, Ayeboua L, Michel F, Thomas F, Ketterle J, Leonard C, Josset P, Gerard M. Alkali ocular burns in Martinique (French West Indies) evaluation of the use of an amphoteric solution as the rinsing product. Burns. 2005; 3: 205-21.

93. Miller PE. Lacrymal system. In: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, editors. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4th ed. Philedelphia, USA, Saunders Elsevier, 2008. p. 157-74.

94. Miller WW. Evaluation and management of corneal ulcerations: A systematic approach. Clin Tech Small Anim Pract. 2001;16: 51-57.

95. Miller WW. Using polysulfated glycosaminoglycan to treat persistent corneal erosions in dogs. Vet Med. 1996; 91: 916-22.

96. Mohan RR, Liang QL, Kim WJ, Helena MC, Baerveldt F, Wilson SE. Apoptosis in the cornea: Further characterization of fas/fas ligand system. Exp Eye Res. 1997; 65: 575-89.

97. Morgan SJ. Chemical burns of the eye: causes and management. Br J Ophthalmol. 1987; 71: 854-57.

98. Morreale RJ. Corneal diagnostic procedures. Clin Tech Small Anim Pract. 2003; 18: 145-51.

99. Ohyama H, Yamada T, Ohkawa A, Watanabe I. Radiation-induced formation of apoptotic bodies in rat thymus. Radiat Res. 1985; 101: 123-30.

100. Oğurtan Z, Hatipoğlu F, Ceylan C, Izci C. Treatment of corneal hydrofluoric acid burns in rabbits. Revue Med Vet. 2002; 153: 269-74.

101. Ollivier FJ, Gilger BC, Barrie KP, Kallberg ME, Plummer CE, O'Reilly S, Gelatt KN, Brooks DE. Proteinases of the cornea and preocular tear film. Vet Ophthalmol. 2007; 10: 199-206.

102. Öznurlu Y, Çelik İ, Sur E, Telatar T, Özparlak H. Comparative skin histology of the White New Zealand and Angora Rabbits: Histometrical and Immunohistochemical evaluations. J Anim Vet Adv. 2009; 8(9): 1694-701.

103. Paterson CA, Eakins KE, Paterson E, Jenkins RM, Ishikawa R. The ocular hypertensive response following experimental acid burns in the rabbit eye. Invest Ophthalmol Visual Sci. 1979; 18(1): 67-74.

104. Petersen-Jones S. The eyelids and nictitating membrane. In: Crispin S, Petersen-Jones S, editors. BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology. Gloucester, England, British Small Animal Veterinary Association, 2002. p. 78-104.

105. Phillips K, Arffa R, Cintron C, Rose J, Miller D, Kublin CL, Kenyon KR. Effects of prednisolone and medroxyprogesterone on corneal wound healing, ulceration, and neovascularization. Arch Ophthalmol. 1983; 101: 640-43.

106. Podskochy A, Gan L, Fagerholm P. Apoptosis in UV-exposed rabbit corneas. Cornea. 2000; 19(1): 99-103.

107. Probhat KP, Sanaz AL. Ocular emergencies. Am Fam Physician. 2007; 76(6): 829-86.

108. Ramsey DT. The sclera, episclera and corneoscleraI limbus. In: Crispin S, Petersen-Jones S, editors. BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology. Gloucester, England, British Small Animal Veterinary Association, 2002; 155-61.

109. Rand-Luby L, Pommier RF, Williams ST, Woltering EA, Small KA, Fletcher WS. Improved outcome of surgical flaps treated with topical dimethylsulfoxide. Ann Surg. 1996; 224: 583-89.

110. Reim M, Kottek A, Schrage N. The cornea surface and wound healing. Prog Ret Eye Res. 1997; 16(2): 183-25.

111. Ren H, Wilson G. Apoptosis in the corneal epithelium. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1996; 37: 1017-25.

112. Rizk M, Witte MB, Barbul A. Nitric oxide and wound healing. World J Surg. 2004; 28: 301-06.

113. Rubinfeld RS, Silbert DI, Arentsen JJ, Laibson PR. Ocular hydrofluoric acid bums. Am J Ophthalmol. 1992; 114: 420-23.

114. Samali A, Orrenius S. Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis. Cell Stress Chaperones. 1998; 3(4): 228-36.

115. Samuelson DA. Ophtalmic Anatomy. In: Gelatt NK, editor. Veterinary Ophthalmology. Third ed. Philadelphia, USA, Lippincott Williams-Wilkins 1999. p. 31-150.

116. Schaffer MR, Tantry U, Van Wesep RA, Barbul A. Nitric Oxide Metabolism in Wounds. J Surg Res. 1997; 71: 25-31

117. Schalnus R. Topical Nonsteroidal Anti-Inflammatory Therapy in Ophthalmology. Ophthalmologica. 2003; 217: 89-98.

118. Schiettecatte D, Mullie G, Depoorter M. Treatment of Hydrofluoric Acid Burns. Acta Chir Belg. 2003; 103: 375-78.

119. Schrage NF, Langefeld S, Zschocke J, Kuckelkorn R, Redbrake C, Reim M. Eye burns: an emergency and continuing problem. Burns. 2000; 26: 689-99.

120. Schrage NF, Schlobmacher B, Aschenbernner W, Langefeld S. Phosphate buffer in alkali eye burns as an inducer of experimental corneal calcification. Burns. 2001; 27: 459-64.

121. Schwentker A, Vodovotz Y, Weller R, Billiar TR. Nitric oxide and wound repair: role of cytokines? Nitric Oxide. 2002; 7: 1-10.

122. Seyb S, Noordhoek L, Botens S, Mani MM. A study to determine the efficacy of treatments for hydrofluoric acid bums. J Burn Care Rehabil. 1995; 16(3): 253-57.

123. Sheha H, Hashem H, Liang L, Ramzy M, Zaki A. Amniotic membrane extract for acute ocular chemical burns. J Am Sci. 2010; 6(11): 427-33.

124. Shekhter AB, Serezhenkov VA, Rudenko TG, Pekshev AV, Vanin AF. Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds. Nitric Oxide. 2005; 12: 210-19.

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

126. Shimmura S, Igarashi R, Yaguchi H, Ohashi Y, Shimazaki J, Tsubota K. Lecithin-bound superoxide dismutase in the treatment of noninfectious corneal ulcers. Am J Ophthalmol. 2003; 135: 613-19.

127. Shukla A, Rasik AM, Shankar R. Nitric oxide inhibits wound collagen synthesis. Mol Cell Biochem. 1999; 200: 27-33.

128. Skrypuch OW, Tokarewicz AC, Willis NR. Effects of dimethyl sulfoxide on amodel of corneal alkali injury. Can J Ophthalmol. 1987; 22(1): 17-20.

129. Spampinato S, Marino A, Bucolo C, Canossa, M, Bachetti T, Mangiafico S. Effects of sodium naproxen eye drops on rabbit ocular inflammation induced sodium arachidonate. J Ocul Pharmacol. 1991; 7: 125-33.

130. Spöler F, Frentz M, Först M, Kurz H, Schrage NF. Analysis of hydrofluoric acid penetration and decontamination of the eye by means of time-resolved optical coherence tomography. Burns. 2007; 34(4): 549-55.

131. Srinivasan BD. Corneal reepithelization and anti-inflammatory agents. Tr Am Ophth Soc. 1982; 80: 758-822.

132. Stallmeyer B, Kampfer H, Kolb N, Pfeilschifter J, Frank S. The Function of Nitric Oxide in Wound Repair: Inhibition of Inducible Nitric Oxide-Synthase Severely Impairs Wound Reepithelialization. J Invest Dermatol. 1999; 113: 1090-98.

133. Şaroğlu M, Arıkan N. Tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında bazı antikollajenezik ilaçların karşılaştırılması üzerine araştırmalar. İstanbul Üniv Vet Fak Derg. 2002; 28(2): 287-300.

134. Tanyolaç A. Özel Histoloji. Ankara; Yorum Matbaacılık. 1993.

135. Townsend W, Bedford P, Jones G. Abnormal appearance. In: Peiffer B, Peterson-Jones S. Small Animal Ophthalmology: A problem-oriented Approach. 4th ed. Philedelphia, USA, Elsevier Saunders, 2009. p. 67-115.

136. Trevino MA, Hermann GH, Sprout WL. Treatment of severe hydrofluoric acid exposure. J Occup Med. 1983; 25: 861-63.

137. Upfal M, Doyle C. Medical management of hydrofluoric acid exposure. J Occup Med. 1990; 32: 726-31.

138. Vermeulen K, Berneman ZN, Van Bockstaele DR**.** Cell cycle and apoptosis. Cell Prolif. 2003; 36: 165-75.

139. Wagoner MD. Chemical injuries of the eye. Current consepts in Pathophysiology and Therapy. Surv Ophthalmol.1997; 41: 275-313.

140. Welch RD, De Bowes RM, Liepold HW. Evaluation of the effects of intra-articular injection of dimethly sulfoxide on normal equine articular tissues. Am J Vet Res. 1989; 50(7): 1180-82.

141. Wentworth JS, Paterson JA, Gray RD. Effect of Q metalloproteinase inhibitor on established corneal ulcers after an alkali burn. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1992; 33: 2174-79.

142. Wilkie DA, Whittaker C. Surgery of the cornea. Vet Clin North Am-Small Anim Pract. 1997; 27: 1067-107.

143. Wilson SE, Li Q, Weng J, Barry-Lane PA, Jester JV, Liang Q, Wordinger RJ. The fas-fas ligand system and other modulators of apoptosis in the cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1996; 37: 1582-92.

144. Witley RD, Gilger BC. Disease of Canine Cornea and Sclera. In: Gelatt NK, editor. Veterinary Ophthalmology. Third ed. Philadelphia, USA, Lippincott Williams-Wilkins, 1999. p. 635-74.

145. Witte MB, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. Am J Surg. 2002; 183: 406-12.

146. Wong LK, Reinertson EL. Clinical consideration of dimethyl sulfoxide. Iowa State University Veterinarian. 1984; 46(2):89-95.

147. Yavru N, Samsar E, Akın F. Büyük ve küçükbaş hayvanların bazı travmatik lezyonlarında DMSO (Dimethylesulfoxide) uygulamaları üzerinde klinik çalışmalar. SÜ Vet Fak Derg. 1987; 3(1): 221-32.

148. Ye J, Yao K, Kim JC. Mesenchymal stem cell transplantation in a rabbit corneal alkali burn model: engraftment and involvement in wound healing. Eye. 2006; 20: 482-90.

149. Yew DT, Sha O, Li WWY, Lam TT, Lorke DE. Proliferation and apoptosis in the epithelium of the developing human cornea and conjunctiva. Life Sci. 2001; 68: 2987-3003.

150. Young L, Boswell CB, Centeno RF, Watson ME. DMSO: Applications in plastic surgery. Aesthetic Surg J. 2005; 25: 201-09.

151. Zachary LS, Reus W, Gottlieb J, Heggers JP, Robson M. Treatment of experimental hydrofluoric acid burns (Abstract). J Burn Care Rehabil. 1986; 7: 35-39.

152. Ziche M, Morbidelli L, Choudhuri R, Zhang HT, Donnini S, Granger HJ, Bicknell R. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis. J Clin Invest. 1997; 9: 2625-34.

153. Zierhut M, Dana RM, Stern ME, Sullivan DA. Immunology of the Lacrimal Gland and Ocular Tear Film. The Workshop "Immunology of the Ocular Surface and Tear Film". Trends Immunol. 2002; 23(7): 333-35.

9. EKLER

EK A. Etik Kurul Kararı

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ
ETİK KURUL (SÜVFEK) KARARLARI

Toplantı Tarihi	24.02.2010	Toplantı Sayısı	2010/04	Karar Sayısı	2010/015

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Zeki OĞURTAN tarafından sunulan **"Tavşanlarda Hidroflorik Asitle Oluşturulan Korneal Yanıkların İyileşmesinde DMSO ve İndometazin'in Etkilerinin Araştırılması"** isimli tez projesi değerlendirilmiştir.

Projede, S.Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden ve yasal üreticilerden temin edilecek olan toplam 72 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılacağı, hayvanlara anestezi altında göze HF uygulanacağı, sonra DMSO ve İndometazinin ayrı ayrı veya kombine olarak 2, 7, 14 gün süreyle göze damlatılacağı, gözle ilgili çeşitli ölçümler ve histolojik incelemeler yapılacağı, çalışma sonunda tüm hayvanlara uygun yöntemle ötenazi uygulanacağı bildirilmektedir.

Başvuruda, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesi ilkelerine uyulduğuna, projenin hayvan kullanım etiği açısından **"Uygun olduğuna"** oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet MADEN Başkan	Prof. Dr. Enver YAZAR Başkan Yardımcısı
Prof. Dr. Sadettin TIPIRDAMAZ Üye	Gürkan HIZLI Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi
Prof. Dr. Fatma İNAL Raportör Üye	Prof. Dr. Vahdettin ALTUNOK Üye
Hüseyin AYDIN Sivil Üye	

10. ÖZGEÇMİŞ

Diyarbakır'ın Çermik ilçesinde 1978 tarihinde doğdu. İlköğrenimini 1989'da, Orta öğrenimini 1992'de, Liseyi ise 1995'te tamamladıktan sonra 1996 yılında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesini (Diyarbakır) kazandı. 2001'de mezun olduktan sonra 2003'te askerlik hizmetini tamamladı. 2004-2005 yıllarında Eczacıbaşı İlaç Pazarlama AŞ'de Tıbbi Tanıtım Sorumlusu olarak çalıştı. 2005 Aralık ayında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalında açılan Araştırma Görevlisi sınavını kazanarak akademik hayata başladı. 2007 yılında S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahi Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. Evli ve bir kız çocuk babasıdır.