

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER CERRAHI ANABİLİM DALI**

**TAVŞANLARDA DENEYSEL KORNEA ALKALİ YANIKLARININ  
SAĞALTIMINDA TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN MEMBRAN  
VE KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ MEMBRANI  
TEKNİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
Şule MELEK**

**Danışman  
Prof. Dr. Gültekin ATALAN**

**Doktora Tezi**

**Nisan 2019  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TAVŞANLARDA DENEYSEL KORNEA ALKALİ YANIKLARININ  
SAĞALTIMINDA TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN MEMBRAN VE  
KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ MEMBRANI TEKNİKLERİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
Şule MELEK**

**Danışman  
Prof. Dr. Gültekin ATALAN**

**Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2017-7319 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Nisan 2019  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

**Ad-Soyad:** Şule MELEK

**İmza:**



## YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

'Tavşanlarda Deneysel Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Trombositten Zengin Fibrin Membran Ve Konsantre Büyüme Faktörü Membranı Tekniklerinin Karşılaştırılması' adlı Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

### Tezi Hazırlayan

Şule MELEK

### Danışman

Prof. Dr. Gültekin ATALAN

### Veteriner Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Gültekin ATALAN

**Prof. Dr. Gültekin ATALAN** danışmanlığında **Şule MELEK** tarafından hazırlanan **‘Tavşanlarda Deneysel Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Trombositten Zengin Fibrin Membran Ve Konsantre Büyüme Faktörü Membranı Tekniklerinin Karşılaştırılması’** adlı bu çalışmada jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Veteriner Cerrahi** Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

26/04/2019

**JÜRİ:**

Danışman: Prof. Dr. Gültekin ATALAN

( Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı)

Üye: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

( Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı)

Üye: Prof. Dr. Enis KARABULUT

( Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı)

Üye: Prof. Dr. Servet KILIÇ

(Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı)

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Hanifi EROL

( Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı)

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun.....tarih.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

İlerlediğim bu yolda mesleki deneyimlerini bilgi ve becerilerini benden esirgemeyen başta değerli danışmanım Prof. Dr. Gültekin ATALAN'a,

Tez sürecim boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Galip Ertuğrul MİRZA'ya, Prof. Dr. Enis KARABULUT'a, Prof. Dr. Hayati YÜKSEL'e, Prof. Dr. Cihan GÜNAY'a, Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ'e, Dr. Öğr. Üyesi Sami ÜNSALDI'ya, Dr. Öğr. Üyesi Muharrem EROL'a, Dr. Öğr. Üyesi Hanifi EROL'a, Arş. Gör. Emre Şahin'e, Arş. Gör. Dr. M. Kaan YÖNEZ'e, Arş. Gör. Umut ALPMAN'a, doktora öğrencisi Veteriner Hekim Kübra YAĞLI'ya, yüksek lisans öğrencisi Veteriner Hekim Kardelen CEYDELİOĞLU'na, öğrencilerimiz Ali İhsan DAĞLAR'a, Neslihan ERKEK'e, Melike ÖZKAN'a, Alaaddin YAVAN'a,

Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ndeki tüm çalışanlarına,

Hayatım boyunca sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan maddi manevi her türlü fedakarlığı yapan çok kıymetli ailem canım anne ve babama, sevgi ve desteklerini hep hissettiğim canım ablalarımaya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

**Şule MELEK**

**Kayseri, Nisan, 2019**

**TAVŞANLARDA DENEYSEL KORNEA ALKALİ YANIKLARININ  
SAĞALTIMINDA TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN MEMBRAN VE  
KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ MEMBRANI TEKNİKLERİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Şule MELEK**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Veteriner Cerrahi Anabilim Dalı**

**Doktora Tezi, Nisan, 2019**

**Danışman: Prof.Dr. Gültekin ATALAN**

**ÖZET**

Sunulan çalışmada, tavşan korneasında deneysel oluşturulan alkali yanıkların sağaltımında trombositten zengin fibrin membran (TZFM) ve konsantre büyüme faktörü membranının (KBFM) erken dönemde iyileşmeye olan katkılarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 24 adet erişkin sağlıklı Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Çalışma materyalini oluşturan tavşanlar rastgele eşit sayıda 4 gruba ayrıldı. Grupları oluşturan tavşanların sol göz korneasına 1 Normal (N) sodyum hidroksit (NaOH) emdirilen 3 milimetre (mm) çapındaki filtre kağıdı kornea merkezinde 1 dakika süre ile tutulup uzaklaştırıldı. Bu işlemden sonra göz % 0.9 luk serum fizyolojik ile yıkandı. tüm gruplarda alkali yanık oluşturuldu. Grup I deki deneklere kendi kanlarından elde ettiğimiz TZFM korneayı kapsayacak şekilde konjunktivalara nonabsorbabl dikiş ipliği ile sabitlendi. Bu işlem sonunda ilgili göze geçici tarsorafi işlemi uygulandı. Grup II deki deneklere kendi kanlarından elde ettiğimiz KBFM korneayı kapsayacak şekilde konjunktivalara nonabsorbable dikiş ile sabitlendi. İlgili göze geçici tarsorafi uygulanarak işlem sona erdi. Grup III deki tavşanların gözlerine sadece geçici tarsorafi işlemi uygulandı. Grup IV deki tavşanların gözleri açık bırakıldı ve korneaya günlük olarak sadece %0.9 luk serum fizyolojik damlatıldı. Tüm gruplar postoperatif 10 gün boyunca yeme-içme, canlılık, enfeksiyon ve tarsorafi uygulanan gruplar dikiş devamlılığı yönünden takip edildi. Postoperatif 10.günün sonunda tüm gruplar kornea opaklığı yönünden değerlendirildi ayrıca schirmer gözyaşı testi, rebond tonometri ile göziçi basınçların

(GİB) ölçülmesi ve flouressein boyama uygulaması yapıldıktan sonra ötenazi edilerek histopatolojik olarak incelendi.

Grup I ve Grup II de postoperatif 10 günlük süreç boyunca enfeksiyon ve göz yaşı akıntısı bulgusuna rastlanılmazken, Grup III 3 denekte ve Grup IV de tüm deneklerde akıntı görüldü. Makroskobik bakıda 1. gün 1N NaOH uygulanan gözlerde şekillenen tam opaklık 10. günün sonunda Grup I ve Grup II deki deneklerde yarı saydam duruma geçtiği fakat Grup III ve Grup IV ise tam opasitenin devam ettiği saptandı. Grup I ve Grup II deki deneklere Schirmer gözyaşı testi uygulaması ve rebond tonometri ile GİB ölçüldüğünde çıkan sonuçların normal değerler aralığında oldukları, flouressein boyama uygulandığında reepitelizasyon yönünden olumlu sonuçlar verdiği not edildi. Grup III ve Grup IV de ise schirmer testinde gözyaşı miktarının ciddi olarak azaldığı, GİB değerlerinde artış olduğu, reepitelizasyon yönünden tatmin edici sonuçlar olmadığı belirlendi. Gruplardaki tüm deneklere yapılan histopatolojik uygulama sonucunda tüm gruplar karşılaştırıldığında en iyi epitelial rejenerasyon, kapillar damar proliferasyonu ve kollajen demetlerinin oluşumu Grup I de gözleendiği bunu Grup II nin takip ettiği görüldü. Grup III de iyileşmenin Grup I ve Grup II e göre daha az olduğu, Grup IV de iyileşmenin ise uygulama yapılan diğer gruplara göre en az şekillendiği tespit edildi.

Trombositten zengin fibrin membran ve konsantre büyüme faktörü membranı hazırlanması kolay ve hızlıdır, hastanın kendi kanından elde edildiği için herhangi bir immünolojik reaksiyon oluşturmeyen düşük maliyetli bir yöntem olduğu ve yaptığımız çalışma neticesinde kornea alkali yanıkta reepitelizasyona olan ciddi katkılarından dolayı güvenle kullanılabilceği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Trombositten zengin fibrin membran, konsantre büyüme faktörü membranı, göz, ülser, alkali yanık



**COMPARISON OF PLATELET RICH FIBRIN MEMBRANE AND  
CONCENTRATED GROWTH FACTORS MEMBRANE TECHNIQUES FOR  
THE TREATMENT OF EXPERIMENTALLY INDUCED CORNEAL ALKALI  
BURNS IN RABBITS**

**Şule MELEK**

**Erciyes University, Institute of Health Sciences**

**Department of Veterinary Surgery**

**phD Thesis, April 2019**

**Supervisor: Prof. Dr. Gültekin ATALAN**

**ABSTRACT**

In this study, we aimed to evaluate the contribution of platelet rich fibrin membrane (PRFM) and concentrated growth factor membrane (CGFM) for early recovering in the treatment of experimentally induced alkali burns in rabbit cornea.

Twenty four healthy New Zealand rabbits were used in the study. The rabbits consisted of the study material were randomly divided into 4 groups. Left eye of each rabbit was exposed to a 3 mm in diameter of filter paper impregnated with 1 Normal (N) sodium hydroxide (NaOH) for one minute. Eyes were then washed with 0.9% NaCl. In the all groups alkali burns were formed. Platelet rich fibrin membrane obtained from each rabbit own blood in Group I was fixed to the conjunctiva with nonabsorbable suture and covered cornea. At the end of this procedure, temporary tarsorrhaphy procedure was performed. Concentrated growth factors membrane obtained from each rabbit in Group II was fixed to the conjunctiva with nonabsorbable suture and covered cornea. Then temporary tarsorrhaphy procedure was performed. Only temporary tarsorrhaphy was applied to eye with corneal alkali burns for the rabbits in Group III. The eyes of the rabbits in Group IV were left open and only 0.9% NaCl was added to cornea daily. All rabbits were monitored for 10 days period taking into consideration infection, appetite, corneal opacity and continuity of suture material in tarsorrhaphy. At the end of postoperative 10th day, all groups were evaluated for corneal opacity. In addition, schirmer tear test, intraocular pressure by rebound tonometry(IOP) measurement and

fluorescein staining were performed. After euthanasia, the tissues were examined histopathologically.

No signs of infection and eye tearing were noted for the rabbits in Group I and II but available for 3 rabbits in Group III and all rabbits in Group IV. Full corneal opacity observed at first day of experiment was translucent at postoperatively 10 day for Group I and II rabbits but full opacity continued for other groups of rabbits. The measurement of schimer tear test and intraocular pressure by rebound tonometry were normal ranges and positive reepithelization findings by fluorescein staining observed for Groups I and II. However, Group III and Group IV, Schirmer test revealed a significant decrease in the amount of tears, increased IOP values, and no satisfactory results for reepithelization. Furthermore, the histopathological evaluations indicated that the best epithelial regeneration, capillar vessel proliferation and collagen bundle formation occurred in Group I and this was followed by Group II. In Group III, the improvement was less than in Group I and Group II, while the improvement in Group IV was the least developed according to the other groups.

As a result of our study, the preparation of platelet rich fibrin membrane and concentrated growth factor membrane is easy and fast, this is a low-cost method that does not produce any immunological reactions because it is derived from its own blood, it was concluded that it can be used safely due to its serious contribution to reepithelization in corneal alkali burns.

**Key words:** platelet rich fibrin membrane, concentrated growth factors membrane, eye, ulcer, alkali burns

## İÇİNDEKİLER

<b>BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....</b>	<b>ii</b>
<b>YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....</b>	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>v</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>KISALTMALAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ.....</b>	<b>xiv</b>
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Kornea.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.1. Epitelyum.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2. Stroma .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.3. Desement membran.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.4. Endoteliyum .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Kornea patofizyolojisi.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. Kornea lezyonlarının iyileşme şekilleri.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.1. Epiteliyal İyileşme .....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.2. Stromal İyileşme.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.3. Endoteliyal İyileşme .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4. Kornea Ülserleri .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.1. Kornea ülserlerinin nedenleri .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.2. Kornea ülserleşmesi klinik belirtiler .....</b>	<b>12</b>
<b>2.5.TEŞHİS .....</b>	<b>12</b>
<b>2.5.1. Fluorescein Sodyum .....</b>	<b>12</b>
<b>2.5.2.Rose Bengal .....</b>	<b>13</b>
<b>2.5.3. Schirmer gözyaşı testi uygulaması.....</b>	<b>14</b>
<b>2.5.4. Rebound tonometre ile göz içi basınçlarının ölçülmesi.....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.5. Direkt oftalmoskopi.....</b>	<b>16</b>

<b>2.6. Evcil hayvanlarda görülen kornea ülserleri .....</b>	<b>16</b>
<b>2.7. Deneysel kornea ülseri oluşturma yöntemleri .....</b>	<b>23</b>
<b>2.8. Kornea Ülserlerinde Kullanılan Güncel Cerrahi Yaklaşımlar .....</b>	<b>24</b>
<b>2.9.TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN UYGULAMASI .....</b>	<b>29</b>
<b>2.10. KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ UYGULAMASI.....</b>	<b>35</b>
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>39</b>
<b>_Toc4552374.BULGULAR .....</b>	<b>53</b>
<b>5.TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>70</b>
<b>6.KAYNAKÇA.....</b>	<b>93</b>

**EKLER**

**ÖZ GEÇMİŞ**

## KISALTMALAR

AMT	Amniyotik Membran Transplantasyonu
BAK	Benzalkonyum Klorür
BFZP	Büyüme Faktörlerinden Zengin Plazma
BÜDAM	Bingöl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
DEKAM	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi
Dk	Dakika
EBF	Epidermal Büyüme Faktörü
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
ERÜ	Erciyes Üniversitesi
FBF	Fibroblast Büyüme Faktörü
GİB	Göz içi basıncı
HBF	Hepatosit Büyüme Faktörü
HP-Guar	Hidroksipropil Guar
HxE	Hematoksilen-Eosine
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IL-1	İnterlökin 1
İM	İntramusküler
İV	İntravenöz
KBF	Konsantre Büyüme Faktörü
KBF	Keratinosit Büyüme Faktörü
KBFM	Konsantre Büyüme Faktörü Membranı
KKS	Kerato Konjunktivitis Sicca
MAPK	Mitojen ile Aktive Olan Protein Kinaz
ml	Mililitre
mm	Milimetre

MMP	Matriks Metalloproteinaz
N	Normal
NaOH	Sodyum Hidroksit
PED	Persistent Epitelyal Defekti
PEG	Polietilen Glikol
PG	Propilen Glikol
SC	Subkutan
STT	Schirmer Gözyaşı Testi
TEBF- $\beta$	Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
TKBF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
TKL	Terapötik Kontakt Lensler
TNF-A	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
TZF	Trombositten Zengin Fibrin
TZFM	Trombositten Zengin Fibrin Membran
TZP	Trombositten Zengin Plazma
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Şekil 2.2.1. At gözünde kornea ödeminin görünümü .....	7
Şekil 2.2.2. At gözünde kornea pigmentasyonu .....	8
Şekil 2.2.3. At gözünde kornea vaskülarizasyonu .....	8
Şekil 2.5.1. Köpekte fluoressein boya uygulaması.....	13
Şekil 2.5.2. Köpekte rose bengal boya uygulaması .....	14
Şekil 2.6.1. Atın gözünde meydana gelen descemetosel .....	18
Şekil 2.6.2. Köpekte gözde mikotik keratitisi .....	19
Şekil 2.6.3. Köpekte gözde melting ülseri .....	20
Şekil 2.6.4. Kedide gözde herpesvirus keratitisi .....	21
Şekil 2.6.5. Kedide gözde eozinofilik keratitisi .....	21
Şekil 2.6.6. Enfeksiyöz sıgır keratokonjunktivitisi.....	22
Şekil 2.9.1 Santrifüj sonrası elde edilen trombositten zengin fibrin .....	33
Şekil 2.9.2. Trombositten zengin fibrin .....	33
Şekil 3.4.1. Deneysel kornea alkali yanık oluşturulduktan sonra fluoressein boya ile tespit edilmesi. ....	41
Şekil 3.6.1. Schirmer gözyaşı testi .....	42
Şekil 3.6.2. Denekte schirmer gözyaşı testi uygulaması.....	42
Şekil 3.6.2. Denekte schirmer gözyaşı testi uygulaması.....	42
Şekil 3.8.1. Grup I deki 1 nolu denekte göz içi basıncının ölçülmesi .....	43
Şekil 3.8.1. Grup I deki 1 nolu denekte göz içi basıncının ölçülmesi .....	43
Şekil 3.9.1. Direk oftalmoskop ve +20'lik mercek.....	44
Şekil 3.10.1.1. En alt katta eritrosit, orta katta trombositten zengin fibrin ve en üst katta hücresiz plazmandan oluşmaktadır. ....	45
Şekil 3.10.1.2. Gazlı bez üzerinde ürünün görüntüsü.....	45

<b>Şekil 3.10.1.3.</b> Trombositten zengin fibrinli ürün .....	46
<b>Şekil 3.10.1.4.</b> TZFM'nin korneaya uygulanması.....	47
<b>Şekil 3.10.1.5.</b> Göz kapaklarına geçici tarsorafi işleminin uygulanması.....	47
<b>Şekil 3.10.2.1.</b> KBFM elde etmek için kullanılan santrifüj cihazı .....	48
<b>Şekil 3.10.2.2.</b> Bir penset yardımı ile tüpten dışarıya çıkarılan ürünün bir makasla en alt kattaki pıhtılı kısmın kesilerek uzaklaştırılması işlemi. ....	49
<b>Şekil 3.10.2.3.</b> KBFM'm konjunktivalara sabitlenmesi işlemi.....	49
<b>Şekil 3.10.2.3.</b> Geçici tarsorafi işleminin yatay U dikişi ile uygulanması.....	50
<b>Şekil 4.1.</b> TZFM uygulanan deneğin 10. gündeki görüntüsü.....	54
<b>Şekil 4.2.</b> TZFM uygulanan deneğin 10. gün flouressein boya uygulaması (mavi kobalt ışığı altında).....	54
<b>Şekil 4.3.</b> KBFM uygulanan deneğin 10. gündeki görüntüsü.....	55
<b>Şekil 4.4.</b> KBFM uygulanan deneğin 10. gün flouressein uygulaması (mavi kobalt ışığı altında) .....	55
<b>Şekil 4.5.</b> Tarsorafi uygulanan deneğin 10. gündeki görüntüsü.....	56
<b>Şekil 4.6.</b> Tarsorafi uygulanan deneğin 10. gün flouressein uygulaması (mavi kobalt ışığı altında).....	56
<b>Şekil 4.7.</b> Sadece %0,9 luk serum fizyolojik uygulanan deneğin 10. gündeki görüntüsü.....	57
<b>Şekil 4.8.</b> Sadece %0,9 luk serum fizyolojik uygulanan deneğin 10. gün flouressein uygulaması (mavi kobalt ışığı altında).....	57
<b>Şekil 4.9.</b> Grup I, Kornea epitelinde rejenerasyon (koyu ok), stromada kollajen demetleri (ok başları) ve kapillar damar proliferasyonlar (açık ok), HEx20µ .....	59
<b>Şekil 4.10.</b> Grup II Kornea epitelinde düzensiz rejenerasyon (ok), korneal stromada kollajen artışı (ok başı). HExµ .....	60
<b>Şekil 4.11.</b> Kornea epitelinde düzensiz rejenerasyon ve epitelial hiperplazi (ok), HEx 20µ .....	60



- Şekil 4.12.** Korneal stromada gevşek bağdoku oluşumu (ok), kapillar damar proliferasyonları (ok başı) ve mononuklear hücre infiltrasyonları, HEx20 $\mu$  ..... 61
- Şekil 4.13.** Grup III, Düzensiz epitel rejenerasyonu (ok), stromada kollajen demetleri ile mononuklear hücre infiltrasyonları (ok başları) , HEx20 $\mu$  ..... 62
- Şekil 4.14.** Düzensiz epitel rejenerasyonu (ok), HEx20 $\mu$  ..... 63
- Şekil 4.16.** Bar grafiği sırasıyla (A) 0., (B) 1. ve (C) 10. günlerde tavşandaki GİB değerlerini göstermektedir. Hata çubukları standart hata ortalamasını vermektedir. Her barın üstündeki küçük harfler gruplar arası istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir;  $p < 0,05$ , Turkey's Post hoc test ..... 67
- Şekil 4.15.** Bar grafiği sırasıyla (A) 0., (B) 1. ve (C) 10. günlerde tavşandaki schirmer seviyesini göstermektedir. Hata çubukları standart hata ortalamasını vermektedir. Her barın üstündeki küçük harfler gruplar arası istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir;  $p < 0,05$ , Turkey's Post hoc test. .... 65

## TABLULAR LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Tablo 4.1.</b> Gruplara ait flouressein boya tutma kapasitesini gösteren değerler.....	58
<b>Tablo 4.2.</b> 0., 1. ve 10. günlerde gruptaki schirmer test seviyeleri (mm/dk).....	64
<b>Tablo 4.3.</b> 0., 1. ve 10. günlerde gruptaki GİB değerleri (mm/Hg) .....	66
<b>Tablo 4.4.</b> Grupların flouressein boya tutma kapasitelerine göre derecelendirme..	68



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Göz çevreden topladığı ışık uyarılarını kaydedip bunları beyne ileten ve elektriksel sinyale dönüştüren pek çok bölümden oluşan görme organıdır (1). Bulbus oculi; sklera, kornea, koroidea, siliyer cisim, iris, retina ve bu yapılara ek olarak oküler kaslar, göz kapakları, lakrimal aparat, optik sinir ve serebral korteksin görme alanı gibi yapılardan meydana gelir. Hayvan türlerine göre bulbus oculinin şekli ve büyüklüğü farklılık arz eder. Bu büyüklükleri karnivorlarda 20-24 mm çapında ve hemen hemen daire şeklinde, sığırlarda 40-43 mm çapında ve atlarda 50 mm genişliğinde 42 mm uzunluğundadır (2). Kornea; saydam, damarsız ve görme olayını gerçekleştirmek için ışığı kırma gibi önemli bir fonksiyona sahip olan bir yapıdır (2). Korneadaki su miktarı, kollajen fibrillerinin ayrılması veya düzensiz dizilişi, prekorneal gözyaşı tabakasının olmaması, optik yüzeydeki bozukluklar ve kornea epitelyumun kaldırılması gibi faktörler korneanın saydamlığını etkiler. Bulbis oculi üzerine basınç uygulandığında kollajen fibrilleri arasında ödem meydana gelebilir, bu durumda intraoküler basınç artması ile birlikte fibrillerin kafes yapısı bozulur ve kornea da opasite şekillenir. İntraoküler basınç artışı kornea endotel hücrelerine zarar verir ve humor aközdan gelen su geri pompalanamaz. Bu nedenle de korneada yaygın ödem şekillenir. (3-5).

Korneanın saydam yapısını bozan ve en sık karşılaşılan göz hastalıklarından biri de kornea ülserleridir.

Kornea ülseri kendiliğinden iyileşmeyen kornea epitelyumu ile stromaya ilişkin doku kayıplarıyla karakterize yangısal bir olgudur (6). Evcil hayvanlarda travmalar, yabancı cisim, distikiyazis, keratitis, entropion, ektropion, kornea ödemi, gözkapığı tümörleri, ektopik siliyalar, Cushing Sendromu ve mantar kornea ülseri oluşumunda önemli etkenler arasındadır (1,6).

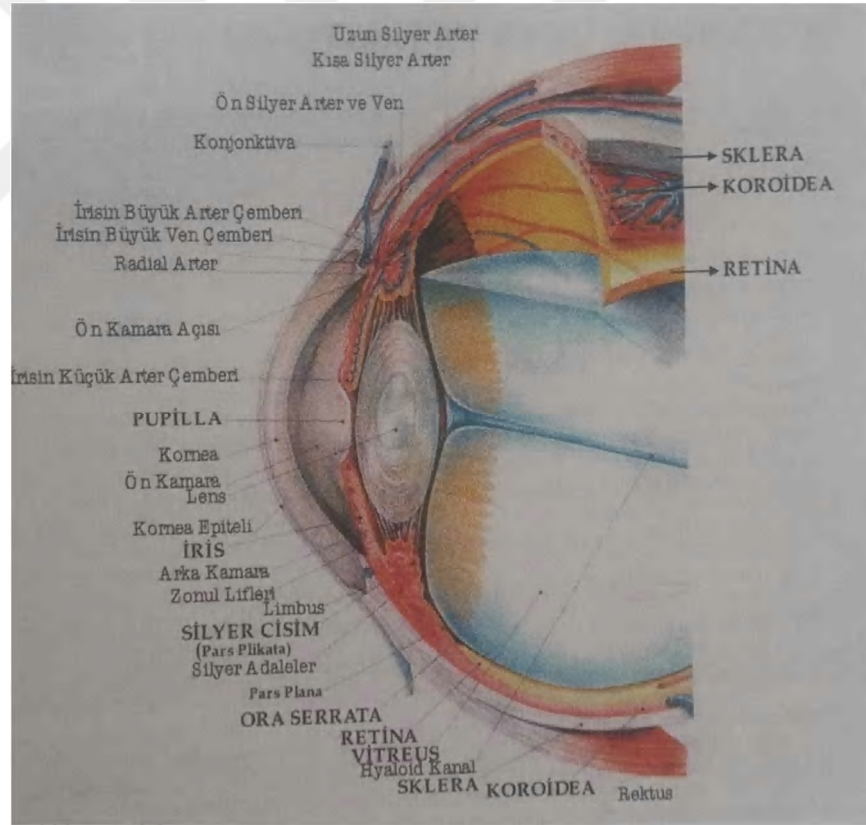
Geçmişten günümüze kadar kornea ülserleri için pek çok medikal ve operatif tedaviler uygulanmış ve kendi içlerinde pek çok avantaj, dezavantaj ve çeşitli komplikasyonlara sahip oldukları görülmüştür.

Trombositler hemostaz, anjiyogenez, hücre çoğalması, kollajen üretiminin artırılması, hücre farklılaşmasının uyarılması ve doku rejenerasyonu gibi iyileşme süreçlerine katkıda bulunmaktadır (7,8). Trombositlerin  $\alpha$ -granüllerden salınan büyüme faktörleri yaklaşık 6-45 kilodalton (kDa) molekül ağırlığına sahip polipeptidlerdir. Bu polipeptit yapıdaki büyüme faktörleri hücre çoğalmasını ve hücresel işlevleri düzenlemesi yanı sıra hasar sonrası yumuşak ve sert doku rejenerasyonunu uyarır. Büyüme faktörleri hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanır ve böylece protein sentezini, kollajen ve osteoid benzeri doku üretimini başlatır (9-11). Bu nedenle bilim insanları tarafından trombositlere olan ilgi artmış ve bu sayede rejeneratif tedavi seçeneği olarak trombosit konsantrasyonları ortaya çıkmıştır. Trombosit konsantrasyonlarından olan trombosit zengin fibrin (TZF) ve konsantre büyüme faktöründe (KBF) kilit büyüme faktörlerinden transforme edici büyüme faktörü (TEBF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), epidermal büyüme faktörü (EBF), insülin benzeri büyüme faktörü (İBBF) yoğun olarak bulunur (12-14). Çalışmamızda tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıkları oluşturularak kendi kanlarından elde ettiğimiz trombosit zengin fibrin membran (TZFM) ve konsantre büyüme faktörü membran (KBFM) uygulanarak erken dönem postoperatif bulguları ile histopatolojik bulgularının değerlendirilmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kornea

Kornea; sklera ile beraber bulbus oculinin dış katı olan tunika fibroza bulbiyi oluşturan saydam, damarsız ve görüş için de ışığı kırma gibi önemli bir fonksiyonu olan bir yapıdır (2).



Şekil 2.1.1. Gözün anatomisi (15).

Kornea histolojik olarak bazı kaynaklarda 5 katlı bir yapı bazı kaynaklarda ise 4 katlı yapılanmaya sahip olarak değerlendirilir (2).

Beş katlı bir yapılanmaya sahip olarak kabul edilen kaynaklarda epitelyumun bazal laminası ayrı bir kat olarak sayılırken 4 katlı yapılanmada ayrı bir kat olarak kabul edilmez.

Dört katlı yapılandırmada aşağıdaki terminoloji kullanılır

1- Epitelyum

2- Stroma

3- Desement membran

4- Endotelyum (2,6,16,17).

### **2.1.1. Epitelyum**

Kornea epitelindeki hücreler keratinize olmamalarına rağmen keratosit olarak da kabul edilir ve kendi içinde çok katlı yapılardır. Ayrıca bulbar konjuktivanın devamı şeklinde değerlendirilir. Epitel dokunun en alt tabakasinda bazal hücreler yer alır ve bu hücrelerin çoğalma aktivitesi vardır. Bazal hücreler hemidesmozomları aracılığı ile altındaki bazal laminaya bağlanır. Bu hücreler yüzeye doğru yaklaştıkça organellerini kaybederek kanat hücrelerine dönüşür. Kanat hücreleri çok köşeli ve kısmen yassılaştırmış yapıda olup en üst tabakada yassı epitel hücrelere dönüşür. Yassı epitel hücreleri skuamöz yapıdadır (2,17-20).

### **2.1.2. Stroma**

Kornea kalınlığının yaklaşık %90 ını oluşturan stroma başta kollajen lifleri olmak üzere keratositler, sinir telleri ve glikozaminglikanlardan oluşur. Korneadaki kollajen lifleri kornea yüzeyine paralel olarak devam eder ve lamelları oluştururlar. Lamellaların bu paralel ve düzenli yapısı korneanın saydamlığı için önemli bir unsurdur çünkü stromanın bu düzenindeki herhangi bir bozukluk saydamlık kaybı ile neticelenir. Korneanın sıvı dengesi, lamellar düzenin korunması dolayısıyla korneanın saydamlılığının devamlılığı açısından glikozaminglikanların önemli role sahip olduğu düşünülmektedir. Keratositlerin görevi ise derin kornea yaralanmalarında fibroblastlara dönüşerek saydam olmayan skar dokusunu oluşturmaktır (3,4,16-18).

### **2.1.3. Desement membran**

Stromanın posteriorda, endotelyumun anteriorunda yer alır ayrıca endotelyumunda temel membranıdır. Desement membran oldukça esnek bir yapıdadır fakat epitel ve

stroma katlarının tamamen yıkımlanarak açıkta kaldığı durumlarda kolayca yırtılabilir. Desement membran esnek yapısı ve göz içi basıncının etkisi ile derin yara ya da derin ülser olgularında öne doğru çıkıntı yapar ki bu olgu klinik olarak desementosel olarak adlandırılır. Desement membran fluorescein boyası ile boyanmadığından dolayı korneayaya fluorescein boyası yapıldığında desementosel tablosu var ise yara ya da ülserin merkezinde saydam, koyu renkli ve dışa bükülmüş bir görüntü verir (3,4,17,18).

#### **2.1.4. Endoteliyum**

Desement membranın posteriorunda korneanın en derin bölümünü oluşturur. Hekzagonal hücreler tarafından oluşturulan yaklaşık 4 mikrometre kalınlığında olan tek katlı bir yapıdır. Ayrıca yüksek metabolik aktiviteye sahip olması sebebiyle fazla miktarda mitokondri içerir. Endoteliyumun rejenerasyon yeteneği oldukça zayıftır ve yaş ile beraber hücre sayısı azalır (3,4,17,18).

## **2.2. Kornea patofizyolojisi**

Kornea saydam ve dış bükey bir yüzeye sahiptir.

Kornea dokusu saydamlığını;

- içinde kan ve lenf damarlarının bulunmamasına
- pigment bulunmaması
- lipid ya da mineral depolarının olmaması
- anterior yüzey epitelinin non-keratinize özellikte olması
- stromasındaki kollajen liflerin yapısının ince çaplı ve bir örnek olması
- prekorneal gözyaşı tabakası sayesinde düzgün bir optik yüzey bulunması gibi faktörlere borçludur (4,16,17,21).

Kornea gerekli olan biyokimyasal enerji ihtiyacını glukoz metabolizması ile sağlanan adenzin trifosfatdan karşılar. Kornea avasküler bir yapıya sahip olması nedeniyle oksijen ihtiyacını humor aköz, prekorneal gözyaşı tabakası ve atmosfer, limbusun kapillar pleksusu, palpebral konjunktivanın kapillar damarları aracılığı ile sağlar.

Kornea beslenmesini çoğunlukla perilimbal damarlardan diyaliz yolu ile gerçekleştirir. Bunun haricinde humor aköz ve gözyaşı tabakası da kornea beslenmesine katkı sağlar. Kornea atıklarının büyük bir kısmı epitelyum aracılığı ile dışarıya taşınır (3,4).

Kornea katlarından epitelyum ve endotelyum sahip olduğu özel pompalama sistemi ile korneaya giren suyu dışarıya çıkarma eğilimindedir. Bu mekanizma kornea saydamlılığının devam ettirilmesinde önemli rol oynar. Endotelyum hücreleri intraoküler basıncın aleyhine stromal suyu humor aköze pompalar, epitelyumda prekorneal gözyaşı tabakasından gelen suyu geri pompalar böylece “deturgens” olarak adlandırılan mekanizma korneanın relatif dehidrasyonun sürdürülmesinde önemlidir (22).

Korneanın patofizyolojik reaksiyonları:

- kornea ödemi
- kornea vaskularizasyonu
- kornea pigmentasyonu
- yangı kaynaklı kornea dejenerasyonu
- hücrel infiltrasyon
- granülasyon dokusu (3,4).

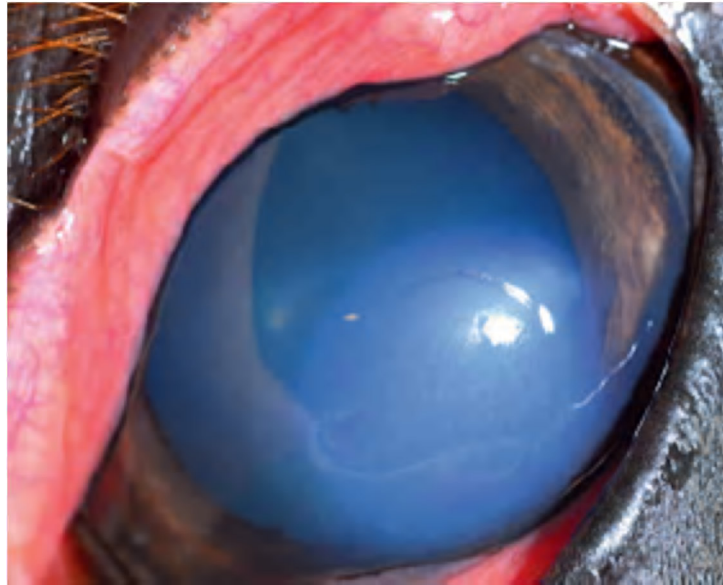
Epitelyuma oksijen girişinin olmaması ya da engellenmesi anaerobik glikolize neden olur. Bu durum kornea dokusunda su ve laktik asit birikimi ile birlikte korneada ödem oluşmasına sebep olur. Korneadaki su miktarı, kollajen fibrillerinin ayrılması veya düzensiz dizilişi, prekorneal gözyaşı tabakasının olmaması, optik yüzeydeki bozukluklar ve kornea epitelyumun kaldırılması gibi faktörler korneanın saydamlılığını etkiler. Bulbis oculi üzerine basınç uygulandığında kollajen fibrilleri arasında ödem meydana gelebilir, bu durumda intraoküler basınç artması ile birlikte fibrillerin kafes yapısı bozulur ve kornea da opasite şekillenir. İntraoküler basınç artışı kornea endotel hücrelerine zarar verir ve humor aközdan gelen su geri pompalanamaz. Bu nedenle de korneada yaygın ödem şekillenir (Şekil 2.2.1). Sıvı dengesi normale döndüğü takdirde bu durum spontan olarak iyileşebilir (3,4,5).



Normal şartlar altında sağlıklı bir kornea avaskülerdir. Korneada vaskularizasyonun görülmesi stromal iyileşme sırasında veya oluşan hasarlara karşı cevap olarak meydana gelir. Korneadaki vaskularizasyon yüzlek ya da derin olabilir. Yüzlek damarlar limbusta sonlanırlar. Parlak kırmızı ve ağaç gibi dallı budaklı görüntü verirler. Derin damarlar koyu renkli ve kısa olup limbusta uzantıları yoktur. Meydana gelen vaskularizasyonun tipi korneada meydana gelen patolojinin derinliğinin göstergesidir (3,4).

Kornea pigmentasyonu; limbal ya da perilimbal dokuda bulunan melanositlerin migrasyonundan kaynaklanır (Şekil 2.2.2). Bilhassa distikiasis, trikiasis, entropion, keratokonjunktivitis sikka gibi kronik kornea hastalıkları ile keratitis ülseroza ve korneanın perforasyonlarına karşı gelişen nonspesifik bir yanıttır (3,4).

Hücrel infiltrasyonda lökositler ön plandadır, bu hücreler yangı şekillendiğinde korneaya gözyaşı tabakası aracılığıyla ya da yeni şekillenen damarlar aracılığıyla gelebilir (Şekil 2.2.3). Komplike olmuş stroma lezyonlarında bilhassa korneadaki uyarının hala sürdüğü olgularda korneada damarlaşma artar ve granülasyon dokusu meydana gelir (3,4,17).



Şekil 2.2.1. Atta kornea ödeminin görünümü (23).



Şekil 2.2.2. Atta kornea pigmentasyonu (23).



Şekil 2.2.3. Atta kornea vaskülarizasyonu (23)

### 2.3. Kornea lezyonlarının iyileşme şekilleri

Korneada birbirinden farklı yüzeysel ya da derin lezyonlar meydana gelebilir. Bu çeşitli lezyonlar içerisinde en çok kornea ülseri görülmektedir (3).

Korneada meydana gelen iyileşme şekilleri:

- epiteliyal
- stromal
- endoteliyal iyileşmedir (4).

#### 2.3.1. Epiteliyal İyileşme

Kornea epiteliyumunun en önemli özelliklerinden biri de yüksek rejeneratif kapasitesine sahip olmasıdır. Oluşan hasardan kısa bir süre sonra lezyonun olduğu bölgenin etrafındaki sağlam hücreler lezyonlu bölgeye doğru kayar ve bu hücreler sayesinde lezyonlu bölge 4 ile 7 gün içerisinde kapanır. Lezyonlu bölgenin büyüklüğüne göre ilk başta kanat hücreleri daha sonrada bazal tabakadaki hücreler bazal lamina üzerinden 15. saatte lezyonlu bölgeye göç ederler. Hücreler lezyonlu bölgeyi kapattığı zaman mitozis şekillenir ve çok katlı epiteliyum doku tamamlanmış olur. Bu evrede polimorf nükleer lökositler gözyaşı tabakası ile bölgeye ulaşır ve yaranın proteolitik debridementini yapar. Bu hücreler bölgede 36 saat kalır sonrasında da zamanla kaybolurlar. Tüm olgularda gözlenmesede hücrelerin kayma aşamasında limbal bölgeden melanositler saydam bölgeye geçerek pigmentasyona sebep olabilir. Epiteliyumun bazal membranı travma esnasında hasar görür ise rejenerasyon haftalar ya da aylar sürebilir ve rejenerasyon tamamlanıncaya kadar yeni epiteliyum yerinden kolayca kalkabilir (3,4,18,21).

#### 2.3.2. Stromal İyileşme

Komplike olmayan stromal defektlerde avasküler iyileşme gözlenir. Avasküler iyileşmede olaylar şu şekilde gerçekleşir; öncelikle hasar görmüş bölgedeki keratositlerde öldüğü için çevredeki sağlıklı keratositler fibroblastlara dönüşüp bölgeye göç ederler ve kollajen ile extraselüler matrix sentezlerler. Yaralanmadan yaklaşık 48 saat sonra makrofajlar bölgeye göç eder ve hücre artıklarını ortadan kaldırır. Birbirini takip zamanlarda skarın yoğunluğu azalır fakat tam olarak yok olmaz bu şekilde kalır.

Yaranın iyileşmesinde tür ve yaş önemli kriterlerdir. Vasküler iyileşmede hücrel infiltrasyon daha şiddetlidir ve bölgeye limbustan köken alan kan damarları girmeye başlar ve granülasyon dokusu meydana gelir (3,18).

En sonunda bu damarlar kollapsa uğrasa bile tam olarak kaybolmazlar ve “hayalet damarlar” olarak adlandırılırlar. Oluşan lezyondan dolayı hasar gören korneal sinirler zamanla rejenere olur ve etkilenen bölgede duyarlılık yavaş yavaş yeniden şekillenir (3, 18).

### **2.3.3. Endotelial İyileşme**

Korneanın tüm katlarını kapsayan bir lezyon çoğunlukla mekanik etkiler sonucunda oluşur. Bu tip lezyonlarda yangılı aköz sıvı içindeki fibrinojen lezyon dudaklarında fibrin tıkaç şeklini alır ve bu tıkaç hem sızdırma olmaması noktasında hem de fibroblastik reparasyon biçimindeki iyileşme süreci için iskelet görevini üstlenir. Lezyonun meydana gelmesinden sonraki 5 saat içinde lezyonlu bölgeye polimofnükleer lökositler göç etmeye başlar. Bu hücrelerin öncelikli migrasyon kaynağı konjunktival kan damarları olmakla beraber gözyaşı ve humor aközdan da geçiş sağlanır ve lezyon kronikleştikçe perilimbal kan damarlarından da yine migrasyon sağlanır. Lezyonun meydana gelmesinden 1 saat sonra epitelial iyileşme fazı başlar, 12 saat sonra ise fibroblastik faz devreye girer ve 24 saat sonra ise endotelial iyileşme fazı başlar. Korneanın endotelial kattaki iyileşmenin temelinde endotelial hücreler ya amitotik olarak çoğalırlar ya da kayarak boşlukları doldurmaları yatar. Birkaç hafta içinde endotelial hücreleri aracılığıyla yeni bir descemet zarı oluşturulur. Lezyonun meydana gelmesinden 1 hafta sonra iyileşmenin son aşaması başlar. İyileşme dokusundaki kollajen fibrilleri kornea yüzeyine paralel olacak şekilde dizilirler ve fibroblastik dokunun hacmi gittikçe küçülmekle beraber içinde bulunan hücre sayılarında azalmasıyla ince bir skar dokusu şekillenmiş olur (4,18).

Kornea yaralarının iyileşmesinde rol alan hücreleri özetlemek gerekirse bunlar; epitel hücreleri, stroma keratositleri, yangı hücreleri ve gözyaşı bezleri tarafından üretilen pek çok proteaz, büyüme faktörleri ve sitokinlerin ortak katkısı ile gerçekleşen karmaşık bir olaydır. Gözyaşı bezi hücrelerinin ekzokrin aktivasyonları sonucu açığa çıkan pek çok faktör prekorneal gözyaşı tabakasına karışır. Kornea gözyaşı ve aköz sıvı ile daima temas halinde olduğundan korneada bir yara iyileşirken bu iki sıvı içindeki proteaz inhibitörü, büyüme faktörü ve sitokin gibi moleküller iyileşmeyi etkileyen unsurlardır.

Bu moleküllerin etkileri yalnızca korneadaki yara iyileşmesi ile sınırlı olmayıp aynı zamanda eski kornea hücrelerinin yeni hücrelerle değiştirilme hızında yine bu moleküller tarafından ayarlanır (4).

## **2.4. Kornea Ülserleri**

Korneal ülserleri; pek çok evcil hayvanda görülebilen ve sık karşılaşılan göz hastalıklarındandır.

Kendiliğinden iyileşmeyen kornea epitelyumu ile stromaya ilişkin doku kayıplarıyla karakterize yangısal olgulardır (6).

Kornea ülserlerinin sınıflandırılmasında ülserin derinliğine göre (yüzeysel, derin stromal, desementoselli gibi) ya da altında yatan nedene göre (bakteriyel, fungal, travmatik, immun kökenli gibi) sınıflandırılabilir (4).

### **2.4.1. Kornea ülserlerinin nedenleri**

Eksojen ve endojen nedenler olarak kategorize edilmektedir.

Evcil hayvanlarda travmalar başlıca kornea ülseri sebebi olarak kabul edilmekle beraber buna ek olarak eksojen nedenler arasında yabancı cisimler, ot başakları, kedilerde bilhassa tırmık yaraları önemli etiyolojik rol oynamaktadır. Bu eksojen nedenler dışında kornea ülseri oluşumunda enfeksiyonların, viral hastalıkların, mantarların ve immun hastalıklar (keratokonjunktivitis sikka ve pannus) etkileri vardır. Kornea ülserinin oluşumuna en çok sebebiyet veren başlıca nedenlerden biri travmadır. Direkt travma, yabancı cisim, distikiazis, keratitis, entropion, ektropion, kornea ödemi, gözkapağı tümörleri, ektopik siliyalar, Cushing Sendromu ve mantar kornea ülseri oluşumunda önemli etkenler arasındadır (1,6).

Kuru göz sendromu gibi gözyaşı sekresyon bozukluklarında direkt ya da endirekt olarak kornea ülserine sebebiyet verir. Entropion olgusunda direkt olarak kirpiklerin kornea üzerine sürtünerek korneanın epitelyum katmanında yıkımlanmaya neden olan bu tip göz kapağı anomalileri ve ektopik kirpik olarak adlandırılan meibomian bezlerden palpebral konjunktiva yönüne doğru çıkmış olan kirpiklerde yine epitelyumda

irritasyona ve epitelium kaybına neden olarak kornea ülseri şekillenmesine yol açar (4).

Streptokok, stafilokok, pseudomonase, basillus spp gibi bakteriler, köpek gençlik hastalığı virüsü, Candida ve Aspergillus gibi mantarlar yine korneada ülsere sebebiyet veren faktörlerdir (4,6).

#### **2.4.2. Kornea ülserinin klinik belirtileri**

- lakrimasyon

- blefarospazm

- fotofobi

- konjunktival hiperemi

- korneada ödem gözlenir bunlara ek olarak bazen miyozis ve aköz bulanıklık gibi klinik belirtilerde ortaya çıkabilir (3).

### **2.5.TEŞHİS**

#### **2.5.1. Fluorescein Sodyum**

Fluorescein sodyum epitel kaybı, kornea ülseri gibi epitelyal hasarları içeren göz hastalıklarının teşhisinde 19. yüzyıldan itibaren yaygın bir şekilde kullanılan turuncu renkli vital bir boyadır (2,24,25). Sağlıklı bir kornea epiteliumu hidrofobik özelliğine sahip olduğu için fluorescein ile boyanmaz (2).

Fluorescein boyası %10 luk ampul-damla ve strip olmak üzere 2 farklı şekilde piyasada bulunmaktadır. Damla şeklinde olan direk oküler yüzeye uygulanırken strip şeklinde olan ise inferior konjunktival keseye uygulanmaktadır. Her iki seçenekte de boya ile karışan gözyaşının tüm oküler yüzeye yayılmasını sağlamak için alt ve üst göz kapakları ile ovuşturma hareketi yapılır ve ardından serum fizyolojik ile yıkanır. Elde edilen boyama alanlarına kobalt mavisi filtre ışığı altında bakıldığında epitelyal bir lezyonun olduğu bölge fluoresans yeşili bir renkte görülmektedir (Şekil 2.5.1). Fluorescein boyasının gözde iyi tolere edildiği ve minimal irritasyona sebep olduğu belirtilmektedir (2,26).

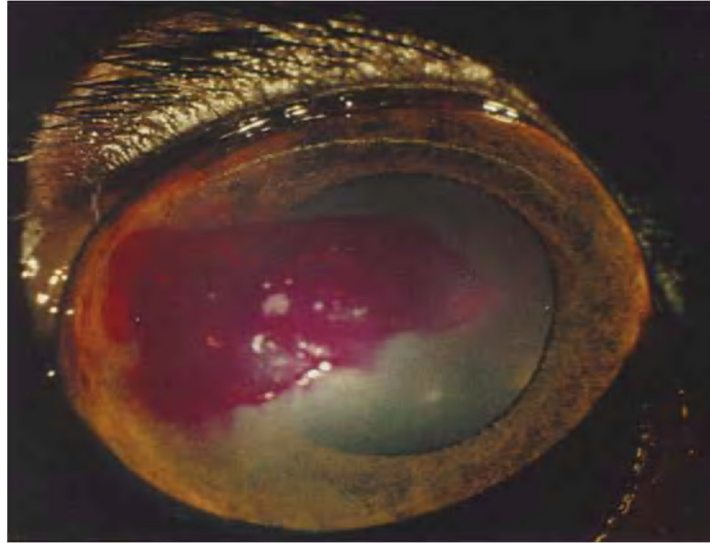


Şekil 2.5.1. Köpekte fluoresseın boya uygulaması (5).

### 2.5.2. Rose Bengal

Rose bengal kornea yüzeyine yapışık olup, ölmekte olan hasarlı kornea epiteliyal dokuyu boyar, feline herpes virüs enfeksiyonu ve keratokonjunktivitis sikkaların teşhisini yardımcı olarak kullanılır (2). Rose bengal beyaz ışık ile bakıldığında parlak pembe renkli olarak görülür (Şekil 2.5.2).

Rose bengal kullanımının bazı dezavantajlara sahip olduğu öne sürülmektedir. Bulbar konjunktivanın rose bengal boyama tekniği ile kolay bir şekilde muayenesi yapılabilirken kornea muayenesinin zor olduğu bunda da korneanın kontrast kalitesinin düşmesinden kaynaklanabileceği ihtimali üzerinde durulmuştur (25). Ayrıca rose bengal hücrelerde morfolojik değişiklikler, motilite kaybı, ayrılmalar ve ölümlere yol açan intrinsik bir toksisiteye sahiptir (27,28).



Şekil 2.5.2. Köpekte rose bengal boya uygulaması (5).

### 2.5.3. Schirmer gözyaşı testi uygulaması

Schirmer gözyaşı testi (STT) gözyaşı filminin aköz komponentinin kantitatif olarak değerlendirilmesi için kullanılır. STT eksternal göz hastalığı olan tüm hastalarda kullanılabilir. Anormal oküler bozukluk olduğu zamanlarda ya da korneal veya konjonktival hastalıkların varlığı sırasında uygulanmalıdır. STT yüz yılı aşkın süredir uygulanmaktadır ve klinik uygulamada tanı koymaya yardımcı bir yöntem olarak geçerliliği devam etmektedir. STT muayenesinin erken döneminde, göze herhangi bir sıvı uygulaması veya göz manipülasyonuna maruz bırakılmadan, diğer tüm prosedür ve testlerden önce uygulanmalıdır ayrıca göz içinde veya etrafında salgılar varsa bölge kuru bir pamukla irritasyon ve refleks lakrimasyonu önlemek için kuvvet uygulanmadan dikkatli bir şekilde temizlenmelidir (6,29)

STT'nin uygulanması kolay olduğu için çok fazla zapt-ı rapt a ihtiyaç duyulmaz. Standart test şeridi 5x35 mm boyutunda 41 numara filtre kâğıdıdır. Bu test şeridi çentik kısmından bükülür ve hayvanın alt göz kapağının orta ve medial 1/3'ünün birleşme noktası hizasında ve korneaya da temas edecek şekilde yerleştirilip 1 dakika (dk) boyunca burada kaldıktan sonra uzaklaştırılır. Test şeridi kıvrıldığı kısımdan başlanarak emdiği gözyaşı miktarı milimetre (mm) cinsinden ölçülerek elde edilen değer mm/dk şeklinde kayıt altına alınır. Topikal anestezi uygulanmadan gerçekleştirilen bu test tip I schirmer gözyaşı testidir. Tip I STT ile hem bazal gözyaşı hem de trigeminal/facial refleksler tarafından uyarılmış olan reflektörük gözyaşı miktarları beraber ölçülmüş olur (30). Tip II STT'nin uygulanış prosedürü Tip I STT ile aynıdır tek fark tip II STT



uygulanmadan önce kornea ve konjunktivaya topikal anestetik uygulanır. Tip II STT sadece bazal gözyaşı üretimi hakkında bilgi verir. Tip II STT'inde lokal anestetik damlatılıp 1 dakika beklenir sonrasında alt göz kapağının konjunktival forniksi ucu pamuklu bir çubukla hafifçe kurulanır ve test şeridi tıpkı tip I STT şeridindeki gibi yerleştirilir. Her iki tip test şeridinde de çentik kısmından bükme için mümkünse test şeridi ambalajından çıkarılmadan yapılırsa şeridin hekimin parmak derisindeki yağları absorbe etme ihtimalinin önüne geçilmiş olur.

Gözyaşı miktarını ölçmek için kullanılan bir diğer yöntem ise fenol kırmızısı emdirilmiş ipe yapılan gözyaşı testidir. Bu ip test 75 mm uzunluğunda olup 3mm lik uç kısmı çentik şeklindedir. Bu çentik kısmından kıvrılan uç kısım alt göz kapağı konjunktivasının forniksine yerleştirilir ve diğer test şeritlerinden farklı olarak 15 saniye beklenir. Gözyaşının hafif alkalik olma özelliğinden faydalanılarak donuk sarı renkli olan ip testi gözyaşının temas ettiği bölgelerde turuncu renge dönüşür. İp testinin emdiği gözyaşı milimetre cinsinden ölçülerek elde edilen değer mm/15 saniye şeklinde kayıt altına alınır (30).

#### **2.5.4. Rebound tonometre ile göz içi basınçlarının ölçülmesi**

Rebound tonometre (Tonovet) (RBT, Icare VET, Helsinki, Finland), veteriner oftalmolojide tanı amacıyla kullanımı son yıllarda yaygınlaşmıştır. Göz içi basıncı (GİB) ölçümü yapılacak olan hastanın gözüne kullanılmadan önce lokal anesteziye ihtiyaç duyulmaz ancak cihazın ucuna takılan portatif probun düşmemesi için dik olarak tutulması gerekir (31). 50 mm uzunluğunda olan paslanmaz çelik probu, 1x1.4 mm çaplı 2 adet koaksiyel mıknatıs sistem ihtiva eder. Probu ucuna korneaya 4-8 mm mesafede tutularak ölçüm gerçekleştirilir. Ölçüm sırasında probun korneaya temas etmesi sonucu manyetik sistemde meydana gelen voltaj, sensör aracılığı ile tespit edilerek, dijital bir sinyale çevrilir. Ölçülen değerler cihaz üzerindeki ekrandan mm/Hg olarak okunur. Probu korneaya temas eden kısmı, plastik bir sistem ile örtülmüş olup, korneal hasar riski en aza düşürülmüştür. Probu tek kullanımlık olması ile çapraz enfeksiyon riski önlenmiş olur (32-34). Rebound tonometre kullanılarak tavşanlarda (34,35), kedilerde (36), köpeklerde, atlarda (37), maymunlarda (38) ve insanlarda (39) güvenli ve tekrarlanabilir GİB ölçümlerinin yapılabildiği gösterilmiştir.

### **2.5.5. Direkt oftalmoskopi**

Direkt oftalmoskop güçlü bir ışık kaynağı ve eş eksenli bir optik sistemden meydana gelir. Bu güçlü ışık kaynağı değişik ışık seçenekleri sağlar. Oftalmoskopta bulunan bir ayna ya da prizma aracılığı ile hastanın gözüne gönderilen ışık yine hastanın gözünden yansyarak oftalmoskop içindeki mercekten geçerek hekimin gözüne ulaşır. Direkt oftalmoskop ile fundus, kornea, ön kamara, iris, lensin ön ve arka yüzleri, korpus vitreus muayene edilebilir. Bir hayvanın direkt oftalmoskopi ile muayene edilebilmesi için hayvanın sakin mizaçlı olması ya da uygun bir yöntemle zapt-ı rapt altına alınması gerekmektedir. Zapt-ı raptı sağlanmakta güçlük çekilen hastalarda ise sedasyon veya aurikülopalpebral sinir blokajı uygulanır. Direkt oftalmoskoplarda “diyoptri kadranı” olarak adlandırılan içinde içbükey ve dışbükey merceklerin bulunduğu dairesel bir kadran mevcuttur. Bu diyoptri kadranı döndürülerek hangi merceğin görme açıklığından yararlanacağı ayarlanır. Kornea muayenesinde +20’lik mercek, lensin arka kapsülü muayenesinde +8’lik mercek, retina muayenesinde 0 ya da eksi dereceli mercekler kullanılır. Direkt oftalmoskoplarda bulunan bir diğer kadranla da muayene edilecek hastanın gözüne gönderilecek ışık demetinin büyüklüğü, rengi ve şekli ayarlanır. Direkt oftalmoskoplarda farklı renk filtrelerine sahiptir bu sayede yeşil filtre ile damarların görüntülenmesi, kırmızı filtre ile pigmentli epitelyum üzerindeki kanamaların izlenmesi, kobalt mavisi filtresi ile de fundustaki oluşumların çaplarını belirlenmesinde yardımcı olur. Direkt oftalmoskopiyle yapılan muayenede alet hastaya 25-30 cm uzak tutularak gerçekleştirilir (32,40).

## **2.6. Evcil hayvanlarda görülen kornea ülserleri**

### **2.6.1. Boxer ülseri**

Kalıcı kornea erozyonu, yineleyici epitel erozyonu, tembel erozyon, tembel ülser, yineleyici köpek erozyonu, inatçı kornea ülseri, iyileşmeyen erozyon veya idiyopatik kalıcı kornea erozyonu gibi farklı isimlere sahip tüm türlerde gözlenen fakat bilhassa boxer ırkı köpeklerde predispozisyon sebebiyle boxer ülseri olarak adlandırılan kornea ülseridir (4,18).

Bu ülser tipinde erozyon korneanın epitelyum katında şekillenir, stroma kaybı gözlenmez ve erozyonlar çoğunlukla merkezde şekillenmekle birlikte periferik kornea

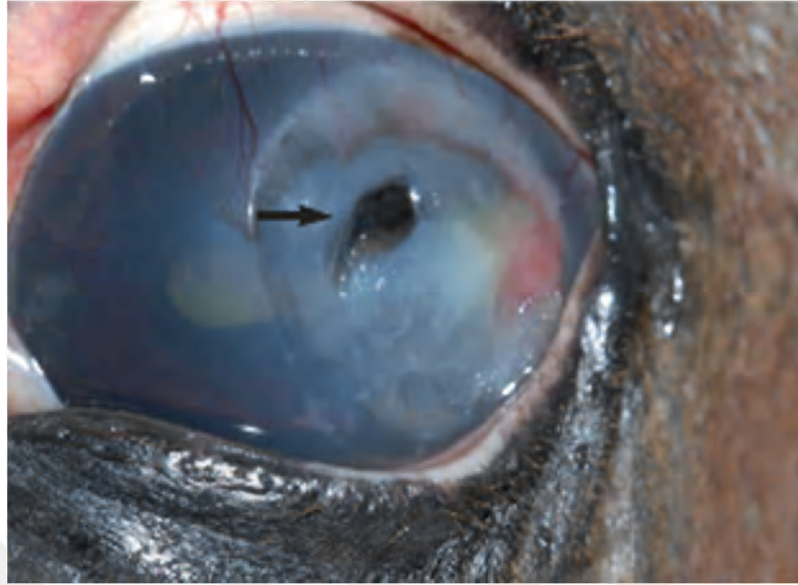
da veya korneanın herhangi bir alanında da şekillenmesi mümkündür. Periferal korneada meydana gelen erozyonlarda, merkezdekine nazaran daha çok vaskülarize olduğu görülür (4,41,42).

### **2.6.2. Stromal kornea ülserleri**

Korneanın stroma katmanının farklı derinliklerinde oluşabilen ve çoğunlukla stromanın yıkımlanmasına neden olan sekonder bir enfeksiyon ile daha az olarak stromaya kadar ulaşan derin kornea yaralanmalarını takiben şekillenir. Stromal kornea ülserleri ilerleyici olan ülserler ve ilerleyici olmayan ülserler şeklinde kategorize edilebilir. İlerleyici olan derin kornea ülserleri köpeklerde bulbus okuli ve görme yetisini tehlikeye sokan ülserlerdir bu yüzden en kısa sürede tedavi edilmelidir. İlerleyici olmayan derin kornea ülserleri kültür ve duyarlılık testi sonuçlarına göre medikal önlemlerle tedavi edilebilir (4).

### **2.6.3. Descemetosel**

Korneanın epitelyum ve stroma tabakalarının tamamen yıkımlanarak taban kısmında sadece descemet membranı ile endotelyum tabakasının kaldığı derin korneal defektlerdir. Bu defektler herhangi bir kornea ülserinin derinlemesine ilerlemesi sebebiyle oluşabileceği gibi direkt travma sonucundada oluşabilir. Normal şartlar altında elastik ve sert olan descemet membranı; üstündeki tabakaların erozyona uğramasıyla açıkta kaldığında kolaylıkla yırtılabilir (Şekil 2.6.1). Descemet membranının yırtılmasıyla korneanın tüm katmanlarını içine alan bir defekt şekillenir ki bu da aköz sıvının dışarı akmasıyla iris prolapsusu, ön kamaranın kontaminasyonu, endoftalmitis ve görüş kaybı gibi bir takım komplikasyonlara sebebiyet vereceğinden acil cerrahi uygulama gerektirir (3,4,17).



Şekil 2.6.1. Atın gözünde meydana gelen descemetosel (23).

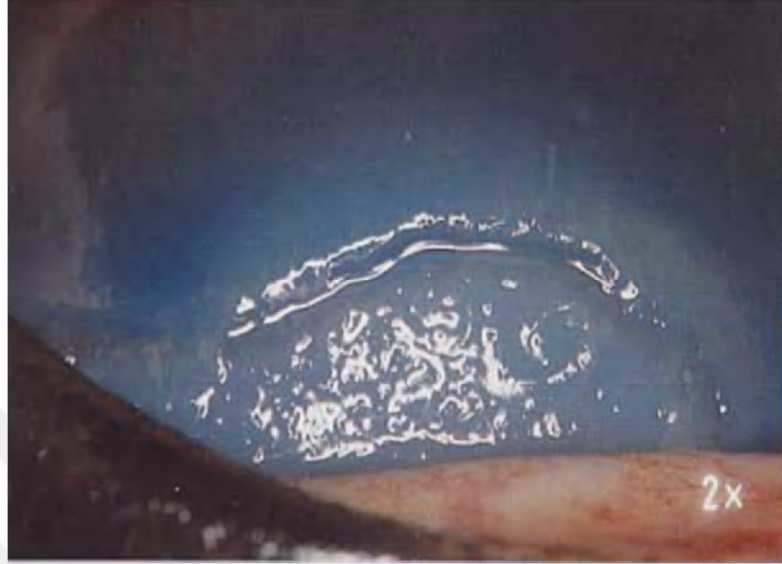
#### **2.6.4. Bakteriyel kornea ülseri**

Bakteriyel kornea ülserlerinin pek çoğu travma kaynaklı nedenlerle oluşmuş ve sonradan fırsatçı enfeksiyonlara maruz kalmış ülserlerdir. Bu fırsatçı enfeksiyonların kaynağı çoğunlukla forniksler ve göz kapağı kenarındaki bakterilerdir. En çok izole edilen bakteri başta *Staphylococcus* spp. olmak üzere onu takip eden *Streptococcus* spp. *Pseudomonas* spp. *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp. ve *Bacillus cereus*'tur. Kornea ülserlerinde bakteriyel bir enfeksiyonun varlığı korneadan alınacak örneklerde yapılan sitoloji, kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerine dayandırılır (4,16,18,21).

#### **2.6.5. Mikotik keratitler**

Evcil hayvanlar içerisinde en çok atlarda en az köpeklerde karşılaşılır ve köpeklerde çoğunlukla da *Candida albicans* ve *Aspergillus* spp. mantarlarının izole edildiği kornea ülserine neden olan keratitis türüdür (Şekil 2.6.2). Atlarda ise en çok izole edilen mantar *Fusarium* ve *Aspergillus* spp.'dir. Mantarlar atların normal konjunktival mikroflorasında bulunurlar ve kornea hasarlarında patojenite kazanırlar. *Candida albicans* kaynaklı keratitlerde sarı beyaz veya gri beyaz plak ya da ülseratif lezyonlar gözlemlenirken *Aspergillus* spp. nin neden olduğu keratitlerde çoğunlukla stromaya kadar ilerleyen yangı ve stromal erime ile karakterize ülseratif lezyonlar oluşur.

Sitolojik muayene, kültür ve keratektomi sonrası yapılan histopatolojik muayeneler ile tanı konulur (3,4,18).



Şekil 2.6.2. Köpekte gözde mikotik keratitisis (5).

#### 2.6.6. Eriyen kornea ülserleri

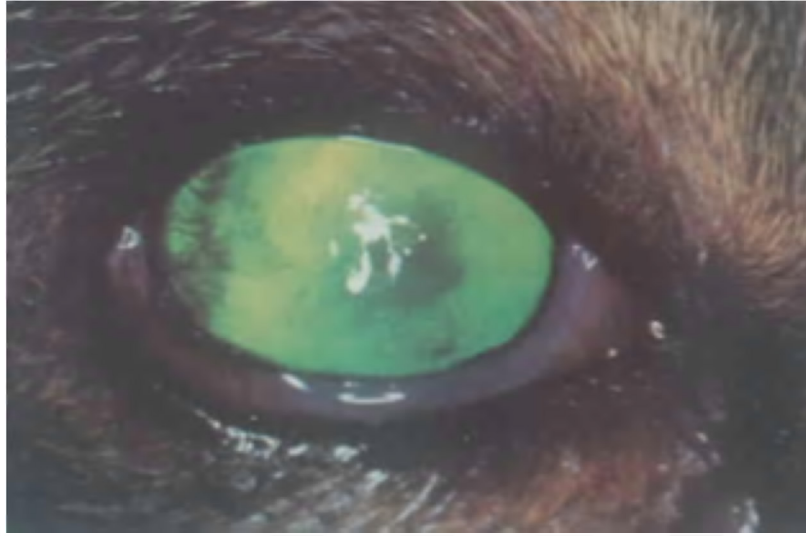
Eriyen kornea ülserleri aynı zamanda “melting ülserler” ve “kollajenaz ve proteaz ilişkili kornea ülserleri” olarak adlandırılır. Kornea ülserinin kompleks bir formudur ve kornea stromasında ilerleyici bir erime ile karakterizedir (Şekil 2.6.3). Eriyen kornea ülserleri acil müdahale gerektiren ülser tipidir çünkü 24-48 saat içinde kornea ya da göz kaybına neden olabilir. Kornea epitel hücreleri, fibroblastlar, polimorfnükleer lökositler gibi hasara uğramış korneada bulunan hücreler ile bakteri, mantar gibi mikroorganizmalar tarafından üretilen proteaz ve kollajenazların başlıca görevi korneal debridement ve ölmüş hücreleri korneadan uzaklaştırmaktır fakat bu enzimlerin aşırı üretimi kornea stromasının yıkımlanmasına ve ‘erimeye’ neden olur hatta ileri aşamada septik endoftalmitise yol açabilir (4,17,41,43).



Şekil 2.6.3. Köpekte korneada melting ülseri (5).

### 2.6.7. Herpesvirus keratitisi

Herpesvirus keratitisi kedilerde korneal epitelyuma yayılmasıyla karakterize ülserlerdir ve sekonder enfeksiyonla stromaya doğru ilerlemediği müddetçe ülser epitelyumda sınırlı kalır (Şekil 2.6.4). Bu tip kornea ülserinin ilk döneminde klasik şekilde dallı budaklı formda gözlenir ve kısa sürede epitelyumda geniş kayıplara neden olmaktadır. Kendiliğinden iyileşmekle beraber antiviral tedaviye rağmen kronik olarak tembel ülser şeklinde de kalabilir. Hastalık genelde unilateral olarak şekillenir. Çok ağrılı bir rahatsızlıktır ve sağaltım yapılmadığı takdirde görüş alanında azalma, endoftalmitis ve kornea perforasyonu şekillenebilir (4,16,21).



Şekil 2.6.4. Kedide gözde herpesvirus keratitisi (4).

#### 2.6.8. Eozinofilik keratitisi

Atlarda ve kedilerde karşılaşılan ve sığ kornea ülserleriyle karakterize bir göz hastalığıdır (Şekil 2.6.5). Etiyolojisi henüz bilinmemektedir. Çoğunlukla unilateraldir fakat bilateralde şekillenebilir. Tipik olarak ülserler ilk dönemde perilimbal korneada görülmekte ve perifere doğru uzanır fakat lezyonların yerleşimleri değişikende olabilir. Orta veya şiddetli ağrı, konjunktival hiperemi, şemozis ile sarı veya beyaz mukoid akıntı gözlenebilir (4,18).



Şekil 2.6.5. Kedide gözde eozinofilik keratitisi (5).

### 2.6.9. Enfeksiyöz sığır keratokonjunktivitisi

Pembe göz, bulaşıcı oftalmi ve new forest olarakta adlandırılır. Sığırlarda kornea ülserine neden olur (Şekil 2.6.6). Klinik belirtileri epifora, blefarospazm, fotofobi, konjunktival hiperemi ve şemozistir. Başlangıçta korneanın merkezinde sınırları belirgin küçük bir apse kabartması meydana gelir. Yirmi dört-48 saat sonra apse yerini sığ, yuvarlak-oval şekilli ve etrafında ödem olan yüzeysel bir ülser bırakır. Sonraki süreçlerde ülser hem genişleyip hem de derinleşebilir. Enfeksiyondan bir hafta sonra ülserin çevresinde yangısal alan ve korneal vaskülarizasyon şekillenir. Vaskülarizasyonun ülserle ulaşmasıyla korneal opasite kaybolur. Ülser rejenerasyon sayesinde yerini hafif çıkıntı yapan yoğun bir skar dokusuna bırakır ve korneal iyileşme ilerledikçe korneanın merkezinde soluk bir opasite kalabilir (4,5).



Şekil 2.6.6. Enfeksiyöz sığır keratokonjunktivitisi (5).



### **2.6.10. Kimyasal kökenli kornea ülseri**

Korneada alkali ve asit solüsyonları gibi kimyasal ajanlar kimyasal kökenli kornea ülserine neden olur. Alkali solüsyonlar asit solüsyonlara göre daha çok korneal hasara neden olur (18).

Alkali yanıklar korneal yüzeyde ülser, perferasyon, vaskülarizasyon ve opasifikasyon şekillenmesine neden olur (44,45).

### **2.7. Deneysel kornea ülseri oluşturma yöntemleri**

Deneysel ülser oluşturma amaçlı kullanılacak hayvan ilk etapta ksilazin ve ketaminin uygun dozları kullanılarak genel anestezi altına alınır. Göz çevresi tıraş ve dezenfekte edilip operasyon masasına lateral pozisyonda yatırılır. Gözün tam olarak açılması için göz kapaklarına blefarosta yerleştirilir. Deneysel ülser oluşturma işlemini hem doğru bölgeye yapabilmek hem de operatöre kolaylık sağlaması amacıyla korneayı daha iyi sabitleyebilmek için bulbus'a tespit dikişleri uygulanır. Bu aşamadan sonra deneysel ülser oluşturmak için alkali, asit gibi kimyasal kökenli ajanlar veya mekanik olarak ülser oluşturmak için trepan kullanılabilir.

Trepan 7.0, 7.5, 7.7 ve 8.5 mm çaplarında olabilen ve derinliği ayarlandıktan sonra korneanın merkezine yerleştirilip dairesel bir kesi oluşturulmasını sağlayan manuel bir alettir. Oluşturulan bu kesiden makas ve pens kullanılarak defekt şekillendirilebilir. Bu şekilde mekanik olarak korneada ülser oluşturulmuş olunur.

Korneada alkali yanığa en çok sebebiyet veren kimyasal ajanlar şunlardır; amonyum hidroksit, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, kalsiyum hidroksit ve magnezyum hidroksittir. Asite bağlı yanıklarda ise sülfirik asit, sülferez asit, hidroflorik asit, asetik asit ve hidroklorik asit kornea ülserine neden olabilen kimyasal kökenli ajanlardandır (2, 4).

Kornea ülserlerin sağaltımında bakteriyel enfeksiyonları önlemek için geniş spektrumlu antibiyotikler, akut oküler ağrılarda lokal %1' lik atropin, korneada şiddetli ödem varsa dehidrasyonu sağlamak için % 2-5' lik NaCl gibi hipertonic topikal ilaçlar, antiproteaz uygulamalar için EDTA, asetilsistein, suni gözyaşı kullanımı, kollajen sentezini arttırma yoluyla korneayı korumak için sistemik C vitamini uygulamaları medikal tedavi

seçeneklerindendir. Lokal kortikosteroid uygulaması yaparken dikkat edilmelidir epiteliyal kayıp bulunan ülserlerde kullanımı kontraendikedir, kullanıldığı takdirde fibroplaziyi ve kollojenizasyonu geciktirir, lokal immunitenin zayıflamasına neden olur, kollajenaz enzimini ortamda çoğaltır ve epitelizasyonu geciktirir. Bu sebeplerden dolayı yüzeysel ülserlerde bile reepitelizasyon öncesi kullanılması kontraendikedir. Aynı şekilde nonstreoid antienflamatuvar ilaçlarında epitelizasyonu geciktirme gibi olumsuz bir etkisi vardır bu nedenden dolayı hem kortikostreoidler hem de nonsteroid antienflamatuvar ilaçlar ancak reepitelizasyon sağlandıktan sonra korneadaki yangının giderilmesi ve iz dokusu azaltılarak mümkün olabildiğince saydam bir kornea elde etmek amacıyla kullanılabilirler (2,4,6,17). Derin kornea ülseri, sağaltıma yanıt vermeyen ülserler, descemetosel, ilerleyici karakterli ülserlerde medikal sağaltım tek başına yeterli olmayabilir bu durumda operatif sağaltımlara başvurulur.

## **2.8. Kornea Ülserlerinde Kullanılan Güncel Cerrahi Yaklaşımlar**

### **2.8.1. Korneal doku yapıştırıcıları**

Küçük kornea perforasyonu, derin kornea ülseri, descemetosel ve boxer kornea ülserlerinde siyanoakrilat içeren doku yapıştırıcıları kullanılabilir. Çapı 2 mm'yi geçmeyen defektlerde kullanılması uygundur. Bu tedavi yönteminde dikkat edilmesi gereken husus dolgu maddesi ya da yapıştırıcıların yaradan içeri girmemesidir. Aksi halde yabancı cisim reaksiyonuna sebep olabilirler. Bir diğer önemli husus ise yapıştırıcının mümkün olduğunca az kullanılmasıdır (4,18,21).

### **2.8.2. Konjunktiva greftleri**

Kronik, enfekte olmuş ya da ilerleyici karakterli ülserler, descemetoseller ve sağaltıma yanıt vermeyen kornea ülserlerinde en çok tercih edilen tedavi tekniklerindendir. Teknik; konjunktivadan kaldırılan bir parçanın kornea lezyonu üzerine kaydırılarak tespit edilmesi esasına dayanan ve kornea ülserinin iyileşmesini hızlandıran bir tekniktir. Lezyonlu korneal bölgeyi dış etkilerden koruması, defektin fibrovasküler bir doku ile dolmasını sağlaması, lezyonlu alana kan dolaşım desteği sağlaması ile kan kökenli immun bileşenler, sistemik olarak verilmiş antibiyotikler ve alfa 2-makroglobulin gibi doğal antikollajenazların ulaşmasını sağlar. Kısmi konjunktiva

fleplerinin, tam konjunktiva fleplerine göre belli avantajları vardır. Kısmi konjunktiva fleplerinde kaldırılan konjunktiva parçası tüm kornea yüzeyine değil de sadece lezyonlu bölgeye uygulandığı için topikal yoldan ilaç uygulama mümkündür ve hekim içinde geri kalan kornea yüzeyini ve ön segmenti görsel olarak muayene etme imkanı sağlar ayrıca hastanın bütün olarak görüşüne de engel olmaz. Konjunktival greft uygulamalarında karşılaşılabilecek en önemli komplikasyon ise greft üzerinde fazla gerilme olduğunda ya da fibröz kapsülün grefte yapışık kalması gibi durumlarda greft korneal lezyondan atılır. Bir diğer komplikasyon skar doku oluşumudur. Konjunktival greft uygulama sonrasında kalıcı skar doku oluşumu her zaman beklenilmelidir. Ancak medikal uygulamalar ile azaltılabilir. Bu yüzden ince ve saydam konjunktival greft kullanılması ve üzerinde aşırı gerilme yaratmadan uygun dikiş tekniğiyle sabitlenerek ve medikal sağaltımında eksiksiz yapılmasıyla konjunktival greftlerin komplikasyonları azaltılabilir. Konjunktiva greftleri farklı kurgulanmalarıyla çeşitli uygulama teknikleri geliştirilmiştir (4,43,46,47,48).

Bunlar:

- total veya 360 derece konjunktiva grefti
- köprülü veya iki pediküllü konjunktiva grefti
- şapka şeklinde veya 180 derece konjunktiva grefti
- ada şeklinde konjunktiva grefti
- tek pediküllü konjunktiva grefti

Günümüzde en çok tercih edilen köprülü veya iki pediküllü konjunktiva grefti, şapka şeklinde veya 180 derece konjunktiva grefti ve tek pediküllü konjunktiva greftidir (4,43,46,48).

### **2.8.3. Üçüncü göz kapağı flebi**

Üçüncü göz kapağı flebi zayıflamış korneanın korunması amacıyla üzerinin kapatılması tekniğine dayanır bir nevi bandaj görevinde görür (18). Yüzeysel korneal ülserlerde kullanımı olmakla beraber derin kornea ülserleri, descemetoseller ya da korneal perforasyonlarında kullanımı yetersiz kalmaktadır (4, 16).

#### **2.8.4. Keratoplasti**

Sağlam ve normal olmayan kornea dokusunun sağlam kornea ile değiştirilmesi işlemine keratoplasti ya da diğer adıyla kornea nakli denir. İki çeşit keratoplasti prosedürü vardır. Birincisi tam kat korneal defektlerin sağaltımında kullanılan penetre keratoplasti tekniğidir, ikinci teknik ise tüm katlarda görülmeyen korneal ülserler, kedi kornea nekrozu, descemetoseller, enfeksiyöz ve pigmenter keratitiser gibi tam kat olmayan korneal defektlerin sağaltımında kullanılan lameller keratoplasti tekniğidir. Penetre keratoplasti görüşü engelleyen merkezi opasitelerin varlığında endikedir, bu teknikte korneanın tüm katları ensize edilir ve homolog tam kalınlıktaki greft yerine konulur. Lameller keratoplastide epiteliyum ve ön stroma kaldırılır aynı kalınlıkta ve ölçüdeki greft yerleştirilir. Her iki teknikte de uygulanan greftin saydam kalması tekniğin başarılı olduğu anlamına gelir (2, 3, 22, 47-49).

#### **2.8.5. Tarsorafi**

Kornea ülserlerinin tedavisinde kullanılan yöntemlerden biride tarsorafi yöntemidir. Bu yöntemde alt ve üst göz kapağı birbirine geçici veya kalıcı olarak dikilebileceği gibi bu işlem tüm göz kapağı aralığı uzamınca ya da bir bölümü açıkta bırakılacak şekilde de yapılabilir. Bir bölümü açıkta bırakılarak yapılan tarsorafi işlemine kısmi tarsorafi de denir ve bu teknikte medial, lateral veya ortadan bırakılan açıklıktan günlük göz muayenesi ve topikal ilaç uygulamaları yapılmasını sağlar. Kalıcı tarsorafi uygulamasında alt ve üst kapaklarının kenarları şerit şeklinde tamamen eksize edilerek uzaklaştırıldıktan sonra göz kapakları birbirine dikilir. Geçici tarsorafi uygulamasında alt ve üst kapakları 2-3 adet yatay U dikişi ile birbirine dikilir (4).

#### **2.8.6. Yumuşak kontakt lens uygulaması**

At ve köpeklerde kornea ülserlerinde basınçlı bandaj benzeri etkisiyle yeni oluşan epiteliyum katını koruduğu ve stromaya yapışmasına yardımcı olduğu yapılan çalışmalarda gözlenmiştir (18, 50).

### **2.8.7. Keratotomi**

Kanülle bazal membranın çok sayıda noktalanması ya da çapraz çizgilerle çizilmesi tarzında yapılabilir. Tembel yüzlek epiteliyal ülserlerde uygulanır. Nokta ya da çizgi her iki teknikte de sağlam epiteliyal bölgeden başlanır ülserli bölgede dahil oraya kadar ilerlenir derinlik olarakta ön stromaya kadar ulaşılmalıdır (4).

### **2.8.8. Amniyotik membran uygulaması**

Derin kornea ülserleri, descemetoseller ve küçük kornea perforasyonlarında greft olarak uygulanabilir. Medikal yöntemlerle sağlanan tedavi başarısız olduğunda amniyotik membran nakli etkili yöntemlerden biridir. Amniyotik membran bazal membran olarak görev görür ve epitel hücrelerinin göçünü hızlandırır (51).

Amniyotik membranın sağladığı belli avantajlar vardır. Bunlar; antifibrotik, antianjiogenik, antiproteaz ve antiinflamatuvar özellikleri sayesinde kornea da en az düzeyde skar dokusu şekillenir ve aynı zamanda kolayca emilebilen, toksik olmayan ve biyolojik uyumluluğu olan bir dokudur (4,52,53).

### **2.8.9. İnce bağırsak submukoza uygulaması**

Domuzların ince bağırsaklarından elde edilir. Steril paketler içinde çeşitli ebatlarda kullanıma hazır greftler şeklinde bulmak mümkündür, ayrıca konjunktiva greftleriyle beraber kullanılabilir (4).

Derin melting ülserli kornea hastalığı bulunan kedi ve köpeklerde ve kedi kornea sekesterlerinde ince barsak submukozasıyla yapılan sağaltım neticesinde korneada istenilen saydamlığın elde edildiği gözlenmiştir (54-56).

### **2.8.10. Renal kapsül uygulaması**

Atların renal kapsülü kullanılarak köpeklerde descemetoseller, derin ülserler, kornea perfore yaralarının sağaltımında kullanılarak korneal iyileşmeye olumlu katkıları olduğu gözlenmiştir (57).

### **2.8.11. Perikard uygulaması**

Sığır perikardı kullanılmıştır, ince bağırsak submukozasında olduğu gibi steril ve hücresiz şekilde paketlenmiş olarak bulmak mümkündür. Derin kornea ülserleri ve korneal sekester sağaltımında keratektomi sonrasında kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir (58).

### **2.8.12. Kök hücre uygulamaları**

Kornea epitel kök hücreleri limbustan köken alır ve bu hücreler kornea hasarında sentripedal olarak korneanın sentraline doğru göç ederler. Proliferatif özellikleri sayesinde çevre hücreleri uyarak iyileşmeye katkı sağlarlar nitekim yapılan çalışmalarda bunu göstermektedir. Otogreft veya allogreft limbal kök hücre nakli yapılabilir ve limbal kök hücrelerin ex vivo üretilerek çoğaltılması bu alanda gelecek vaat eden konulardan biridir (58). Kornea hasarlarında tek başlarına kullanılabilecekleri gibi amniyotik membran ya da perikartla kombine olarakta kullanımında kornea yaraları sağaltımında fayda sağlamaktadır (59-63).

### **2.8.13. Trombositten zengin plazma**

Trombositten zengin otojen ürünler güncel sağaltımlarda en çok başvurulan tedavi yöntemlerinden biridir. Trombositten zengin otojen ürünler çok çeşitli büyüme faktörleri ve proteinler yönünden zengin olduğu için sert ve yumuşak dokuların iyileşmesi gibi pek çok alanda kullanımı yaygın hale gelmiştir.

Trombositten zengin plazma (TZP) uygulaması kornea ülserlerinin tedavisinde kullanılan yöntemlerden biridir. Trombositten zengin plazma hastanın kendi kanından elde edilen otojen bir plazmadır ve kan alınırken antikoagulanlı bir tüp kullanılır. TZP elde edebilmek için iki aşamalı santrifüj tekniği kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra farklı santrifüj teknikleri farklı hazırlama yöntemleride geliştirilmiştir. Ticari preparatları da mevcuttur. Tüm bu değişik yöntemlerde farklı konsantrasyonlarda trombositten zengin plazma elde edilmiştir (64-67).

TZP protokolünde; iki aşamalı bir santrifüj prosedürü uygulanır. Birinci aşamada; tam kan antikoagülanlarla toplanır ve düşük devirde kısa süreliğine santrifüj işlemi uygulanır ve bu sayede üç katman elde edilir: kırmızı kan hücreleri, buffy coat tabakası

ve trombosit açısından zayıf plazma. Buffy coat tabakası tipik olarak beyazımsı renktedir, içerik olarak trombositlerin ve lökositlerin büyük bir kısmını içerir. İkinci aşamada: trombositten zengin plazma üretimi için, trombosit açısından zayıf plazma ve yüzeysel buffy coat tabakası başka bir tüpe aktarılır. Yüksek devirde ve uzun süreli santrifüj işleminden sonra trombositten zayıf plazma tabakasının çoğu atılır. Böylece trombositten zengin plazma elde edilir. Trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu için içerisine Trombin, kalsiyum klorid eklenir ve jel formunda kullanılabilir. Trombositten zengin plazma içeriğindeki büyüme faktörleri sayesinde hem yara iyileşmesini sağlar hem de iyileşme sürecini kısaltır (12-14,68-71). Antikoagülan ile işlem gören trombositten zengin plazma 8 saat boyunca stabil kalabilmektedir. Bu süre zarfında ilgili bölgeye uygulanmalıdır. Trombositlerin alfa granüllerinde önceden sentezlenmiş depo halde bulunan büyüme faktörlerinin %95'i bir saat içinde salgılanmaktadır. Trombositten zengin plazmanın uygulandığı bölgedeki etkinliği 7 gün sürmektedir. Bu yüzden hızlı bir şekilde kullanılması önerilmektedir (72,73)

## **2.9.TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN UYGULAMASI**

Trombositten zengin otojen ürünlerden biri olan trombositten zengin fibrin uygulaması veteriner hekimlik, tıp ve diş hekimliği gibi sağlık alanlarında yara iyileşmesini sağlamak ve hızlandırmak için güncel olarak uygulanan yöntemlerdendir. Fibrin yapıştırıcıların kullanılmasıyla, yaklaşık 47 yıl önce başlamıştır. Fibrin aslında fibrinojenin aktive olmuş halidir ve molekül plazma ve trombositlerin alfa granüllerinde yüksek miktarda bulunurlar. Fibrinler hemostaz esnasında trombosit agregasyonunda önemli bir rol oynar. Fibrinojen tüm koagülasyon reaksiyonlarının en son ürünüdür. Fibrinojen çözünebilir bir yapıya sahiptir ama trombin sayesinde çözünemez bir yapı olan fibrine dönüşür. Fibrin dolaşımdan gelen kök hücrelerini yakalar ve hasarlı bölgede vaskülarizasyonu aktive eder (74-77).

Trombositler kanda bulunan renksiz çekirdeksiz en küçük kan hücreleridir. Kanama sırasında kanın pıhtılaşmasını sağlayan ve aşırı kan kaybını önleyen trombositler kemik iliğinde bulunan megakaryositler tarafından üretilirler. Trombositler görevlerini hücre içi granüllerde sentezlenen, depolanan ve salgılanan ekstraselüler proteinler yardımı ile

gerçekleştirirler. Trombositler trombin, kollajen veya diğer matriks proteinleri ile temas sonrasında bu proteinleri salgılamaya başlarlar (78).

Üç tip trombosit salgı granülü vardır bunlar; yoğun granüller, lizozomlar ve  $\alpha$ -granüller'dir. Yoğun granüllerde ATP, ADP, serotonin, kalsiyum, fosfat, guanin nükleotid bulunmaktadır.

Lizozomal granüllerde asit hidrolazlar ( $\beta$ -Galaktosidaz,  $\beta$ -Glukuronidaz,  $\alpha$ -arabinosid, N-asetil-glukozamidaz, Elastaz, Kollajenaz, Katepsin) yer alır. Trombositlerde en fazla bulunan salgı granülü olan  $\alpha$ -granüllerin içerisinde ise enzimler ( $\alpha$ 1- antitripsin,  $\alpha$ 2-makroglobulin,  $\alpha$ 2-antiplasmin, C1-esteraz inhibitörü), adhezyon proteinleri (fibrinojen, fibronektin, von willebrand faktör, trombospondin, vitronektin, GP IIbIIIa, P-selektin), sitokin benzeri proteinler (IL 1, CD 40 Ligand, trombosit faktör 4,  $\beta$ -Tromboglobulin), koagülasyon faktörleri (HMWK, plazminojen, PAI-1, faktör V, faktör XI, fibrinojen, protein S) ve büyüme faktörleri (TEBF- $\beta$  (Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta), TKBF (Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü), VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü), EBF (Epidermal Büyüme Faktörü), IBBF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1) bulunur. Bu büyüme faktörleri proliferasyon, kemotaksis, farklılaşma ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretimi gibi pek çok hücrel aktiviteyi stimule eden hormonlardır (79,80,81).

Trombositler pıhtılaşmanın ilk aşamalarında kemotaksisi uyarır ve doku hasarı olan bölgede pıhtı oluşumuna katılır. Vasküler endotelin zarar görmesiyle ortaya çıkan kollajen ile temas eden trombositler aktifleşir ve şekil değiştirir. Şekil değiştiren bu trombositler doku onarımı esnasında yoğun granüller ile pıhtılaşma faktörleri ve trombosit büyüme faktörlerini içeren  $\alpha$ -granüllerini serbest bırakır (82,83).

Alfa granüllerden salgılanan proteinler şu şekildedir:

*Adeziv proteinler:* Fibronektin, vitronektin, trombospondin, laminin-8 gibi proteinler hücreler arası tutunma, hemostaz, pıhtı ve matriks oluşumunda görevli proteinlerdir.

*Pıhtılaşma faktörleri ve inhibitörleri:* Faktör V/Va, faktör XI, multimerin, protein S, protein C inhibitörü gibi proteinler trombinin farklılaşmasını sağlayan veya inhibe eden moleküller olup hücre çoğalmasında rol oynarlar.

*Fibrinolitik proteinler ve inhibitörleri:* Plasminojen,  $\alpha$ 2-antiplasmin,  $\alpha$ 2-makroglobulin gibi proteinler plasmin üretimi ve damarsal şekillenmeyi sağlar.



Proteinazlar ve anti-proteinazlar: Anjiyogenesis, vasküler şekillenme, pıhtılaşmanın regülasyonunda görevlidirler.

*Büyüme ve mitojenik faktörler:* Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), transforme edici büyüme faktörü (TEBF), epidermal büyüme faktörü (EBF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF), fibroblast büyüme faktörü (FBF), bağ dokusu büyüme faktörü (BBF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IBBF) kemotaksis, hücre proliferasyonu ve farklılaşması, anjiyogenesisi sağlayan proteinlerdir.

*Kemokinler ve sitokinler:* Kemotaksis, kemik oluşumu, hücrelerarası tutunma gibi fonksiyonlara sahiptir.

*Anti mikrobiyal proteinler:* Bu grupta trombositin ve kinoidinler yer alır bakteriosit ve fungusit etki gösterirler.

*Membran glikoproteinleri:* Trombosit agregasyonu ve adezyonu, proteinlerin endositozu, sekresyon, inflamasyon, trombin üretimi, trombosit-lökosit ve trombosit-vasküler hücre etkileşimleri gibi fonksiyonlarda rol oynar (78).

Trombositler hemostaz, anjiyogenez, hücre çoğalması, kollajen üretiminin artırılması, hücre farklılaşmasının uyarılması ve doku rejenerasyonu gibi iyileşme süreçlerine katkıda bulunmaktadır (7,8).

Bu durum trombositlere olan ilgiyi arttırmış ve bu sayede rejeneratif tedavi seçenekleri olarak trombosit konsantrasyonları ortaya çıkmıştır.

Trombosit konsantrasyonları birinci kuşak trombosit konsantrasyonları ve ikinci kuşak trombosit konsantrasyonları olarak gruplandırılabilir.

Birinci kuşak trombosit konsantreler; trombositten zengin plazma ve büyüme faktörlerinden zengin plazma bu grupta yer almaktadır.

İkinci kuşak trombosit konsantreler; trombositten zengin fibrin, titanyum ile hazırlanan trombositten zengin fibrin, enjekte edilebilir trombositten zengin fibrin, konsantre büyüme faktörü bu grupta yer almaktadır.

$\alpha$ -granüllerden salınan büyüme faktörleri yaklaşık 6-45 kDa molekül ağırlığına sahip polipeptidlerdir. Bu polipeptit yapıdaki büyüme faktörleri hücre çoğalmasını ve hücresel işlevleri düzenlemesi yanı sıra hasar sonrası yumuşak ve sert doku rejenerasyonunu uyarır. Büyüme faktörleri hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanır ve böylece protein sentezini, kollajen ve osteoid benzeri doku üretimini başlatır. Büyüme faktörlerinin etkileri hücre yüzeyindeki reseptörlerin dağılımı ve oranı ile ilişkilidir (9-11).

Kilit büyüme faktörlerinden TEBF, VEGF, TKBF, EBF, İBBF trombositlerde yoğun olarak bulunur (11-13).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü 30000 dalton ağırlığındadır. A ve B olarak adlandırılan 2 polipeptit zincirden oluşan bir moleküldür. TKBF-AA ve TKBF-BB olarak homodimer ve TKBF-AB olarakta heterodimer formları bulunmaktadır. TKBF asıl kaynağı trombositte bulunan alfa granülleri olmak üzere monositler, makrofajlar, fibroblastlar ve endotelial hücrelerden de izole edilmiştir (84).

TKBF tek başına da etkisini gösterebilir ancak İBBF, TEBF ve EBF ile birlikte bulunduğu durumlarda daha güçlü kemotaktik ve mitojenik etkisi olduğu tespit edilmiştir (85,86).

Transforme edici büyüme faktörü embriyolojik gelişimde, yara iyileşmesinde ve immun cevabın regülasyonunda rol oynar. Asıl kaynağı trombositler olmasına rağmen makrofajlar, fibroblastlar ve tümör hücrelerinden de salgılandığı bilinmektedir (84).

Vasküler endotelial büyüme faktörü endotelial hücrelerinin çoğalmasının stimülasyonunda, vasküler permeabilitenin artırılmasında ve anjiyogenesisin başlama ve devam etmesinde rol oynamaktadır. VEBF trombositler haricinde makrofajlardanda salgılandığı bildirilmiştir (84,87).

İnsülin benzeri büyüme faktörü: Hücre kemotaksisi, çoğalması, olgunlaşması ve farklılaşmasında, embriyolojik gelişimde organların gelişimi ve büyüme gelişim döneminde organların özel fonksiyonlarını kazanmasında rol oynayan polipeptid yapıda bir büyüme faktörüdür. Trombosit haricinde makrofaj, kondrosit ve osteoblasttan da salgılandığı bildirilmiştir. Yapısal ve fonksiyonel açıdan insüline benzer (84,88).

Epidermal büyüme faktörü tek zincirli bir polipeptiddir. Asıl kaynakları üriner ve tükürük bezleridir bunun yanı sıra serebrospinal ve amniyotik sıvıdan da izole edilebilir (84).

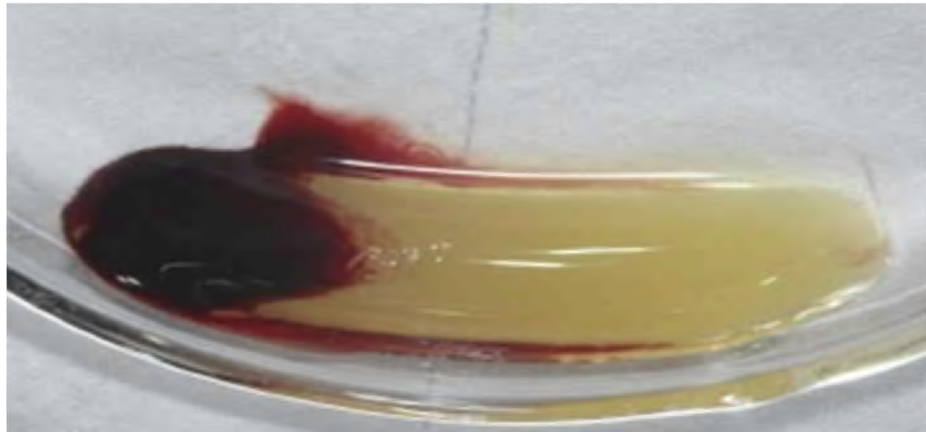
Büyüme faktörleri sert ve yumuşak doku iyileşmelerinde önemli rol oynar. Trombositlerin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkisinden dolayı çalışmalar yapılmış ve 17 yıl önce Choukron tarafından trombositten zengin fibrin geliştirilmiştir.

Trombositten zengin fibrin elde etmek için hastanın kendi venöz kanı kullanılır. Kan herhangi bir antikoagulan içermeyen cam kaplı silikon veya cam tüpe alınabilir. Kan antikoagulan içermeyen bir tüpe alındığından vakit geçirmeden santrifüj edilmelidir. Trombositten zengin fibrin elde etmek için tek sefer santrifüj yapılır (13).

Santrifüj yapıldıktan sonra steril bir penset veya benzeri bir alet yardımıyla kolayca dışarı çıkarılan trombositten zengin fibrin bir makas yardımıyla eritrositlerin bulunduğu kısım uzaklaştırılır. Sonrasında elde edilen trombositten zengin fibrinin serumu, iki steril gazlı tampon arasında emdirilerek yüksek dirençli bir membran elde edilmiş olunur. Bu membran kullanılacağı alana veya alanın boyutuna göre istenilen şekil verilebilir hatta gerek duyulursa üst üste çok katman halinde kullanılabilir uygulanacağı bölgeye sabitlenebilmektedir.



Şekil 2.9.1 Santrifüj sonrası elde edilen trombositten zengin fibrin (89).



Şekil 2.9.2. Trombositten zengin fibrin (90).

Hayvanlar üzerinde çeşitli alanlarda kullanılan trombositten zengin fibrinin kullanıldığı bazı çalışmalar şöyledir;

- maksiller sinüs defektleri
- tibia defektleri
- ağız mukoza defektleri
- diş pulpası tedavileri
- diz eklemi kırık defektleri (90-93).

Yumuşak doku iyileşmesi ve matürasyonun sağlanması için 3 ana unsur vardır.

Bunlar;

- anjiogenez
- bağışıklık
- epiteliyal kapanmadır.

Trombositten zengin fibrin, trombositlerin ve sitokinlerin fibrin ağı içinde yoğunlaştırılmasıyla elde edilir ve bu şekilde oluşturulmaya çalışılan kuvvetli fibrin ağı bu 3 ana unsuru biyolojik ve mekanik olarak yerine getirebilecek kapasiteye sahiptir (94, 95).

Trombositten zengin fibrinin elde edilmesinin kolay olması, hastanın kendi kanının kullanılmasıyla nedeniyle immünolojik risk oluşturmaması, maliyetinin uygun olması ve en önemlisi içerdiği büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde yara iyileşmesini ve iyileşme süresini kısaltması gibi olumlu etkilerinden dolayı gelecek vadede tedavi yöntemlerinden biri olduğu düşünülmektedir.

## 2.10. KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ UYGULAMASI

Kayıp ya da hasarlı doku parçalarını yeniden oluşturabilme isteği ve ihtiyacı modern tıbbın en çok araştırılan tedavi yöntemlerinden biri olmuştur. Bu araştırmalar sonucu ortaya çıkan konsantre büyüme faktörü (KBF) 2006 yılında Sacco tarafından geliştirilmiştir. Diğer otolog kan ürünleri olan trombositten zengin plazma ve trombositten zengin fibrin gibi konsantre büyüme faktörünün de iyileşme üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür. KBF diğer kan ürünlerine benzer şekilde venöz kanın santrifüjü ile elde edilir. Venöz kandan hücreleri ayırmak için KBF'de kullanılan santrifüj cihazı 4 fazda çalışmaktadır. Santrifüj cihazının çalışma süre ve rpm'leri şu şekilde dir; 30 saniye hızlanmada 2700 rpm 2 dakika, 2400 rpm 4 dakika, 2700 rpm 4 dakika, 3000 rpm 3 dakika, 36 saniye yavaşlama ve durma. Bu farklı çalışma prensibi sayesinde diğer kan ürünleri olan TZP, TZF den daha büyük boyutta, yoğun ve büyüme faktörü yönünden daha zengin bir fibrin matriks elde edilebileceği ve böylece daha iyi bir rejeneratif kapasiteye sahip olabileceği düşünülmektedir. KBF nin TZP ve TZF den bir diğer önemli farkı ise CD34 kök hücreleri içermesidir (96-99). Hücrelerdeki CD34 anjiyogenez, neovaskülarizasyon ve vasküler süreklilik sağladığı bildirilmiştir. Konsantre büyüme faktörü otojen bir materyal olduğundan dolayı, herhangi bir enfeksiyona veya immünolojik reaksiyona neden olmazlar. Ürünün elde edilme işlemleri boyunca herhangi kimyasal bir madde kullanılmamaktadır. KBF diğer materyallere göre daha az enflamasyona, kanamaya ve ağrıya sebep olmaktadır. İçeriğinde CD34 kök hücrelerin bulunması sebebiyle TZP ve TZF ye göre rejenerasyon kapasitesi daha yüksektir (97).

KBF, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TEBF-  $\beta$ ), insülin benzeri büyüme faktörü (IBBF), epidermal büyüme faktörü (EBF), fibroblast büyüme faktörü (FBF) ve kemik morfogenetik proteini (KMP) gibi büyüme faktörlerine sahiptir. İlk olarak Ross tarafından 1974'te tanımlanan TKBF, dev hücreler tarafından üretilir ve anjiyogenez, osteoblastik proliferasyon, farklılaşma ve mezenkimal hücre bölünmesini uyarır. TKBF ayrıca fibroblastta hücre proliferasyonunu ve kollajen sentezini de kolaylaştırır. TEBF- $\beta$  yaralanmaların ilk safhalarında degranülasyona uğramış trombositler tarafından üretilir. Hücre dışı matris proteinlerinin sentezlenmesine neden olur ve gelişimin erken bir safhasında osteoblastları etkiler ve fibroblastlar ile kemik ve kırıkdağın rejenerasyonunu kolaylaştıran kollajen sentezini

taklit eder. Kemik Morfogenetik Proteinler (KMP), pluripotent hücreleri, kemik ve kırıkta üretebilen hücelere farklılaşmaya yönlendirir. Kırıklardan sonra kemik kallus oluşumunda rol oynar ayrıca kalp, böbrekler, diş, yumurta, prostat gibi birçok doku ve organın morfogenezinde ve gelişiminde rol alırlar. İnsülin benzeri büyüme faktörleri, hormona bağlı olmayan polipeptidlerdir ve IBBF-I ve IBBF-II'ye bölünebilirler. Fibroblastlar için büyüme faktörüdür, in vitro olarak mesodermal hücre türleri üzerine mitojenik etkisi vardır ve kollajenaz sentezini arttırır. Kemik hücreleri aracılığı ile kollajen ve matriks sentezini uyarır ve eklem kırıklarının metabolizmalarını düzenler. Fibroblast büyüme faktörü (FBF) büyük bir polipeptit ailesidir (FBF-1'den FBF-18'e) ve en önemlisi, heparin bağlı büyüme faktörleri olarak da adlandırılan FBF-a (asit) ve FBFb (baz) 'dır. Angiogenesis, kemotaksis ve mitogenezise yardımcı olurlar, fibroblastlar, miyoblastlar, osteoblastlar, endotel ve nöronal hücrelerin büyümesini uyarırlar. Epidermal büyüme faktörü (EBF) fibroblastların ve emriyjenik hücrelerin proliferasyonunu stimüle eder. Re-epitelizasyonu stimüle eder, anjiogenezisi arttırır. Ekstraselüler matriks yenilenmesi (turn-over) ve sentezini etkiler (96,100,101).

KBF 4 faz ile karakterizedir:

1. Serum
2. Çok geniş ve kalın polimersileşmiş fibrin bloğundan oluşan geçiş fazı
3. Stimulasyon ve özel hücre tiplerine diferentasyon için hazır büyüme faktörleri, beyaz çizgi hücreleri ve kök hücreler içeren sıvı faz
4. Alttaki kırmızı kısım ise akışmaz, kalın platelet zengini pıhtı (96).

### **1. Serum:**

Serum kanın en hafif ve akışkan kısmıdır. Fibrinojeni yoktur ve sadece birkaç hücre içerir. Serin bir ortamda saklanmalıdır ve proteinlerin denatüre olmaması için hızlı bir şekilde karıştırılması gerekir. Rengi açık sarıdır ve içeriğinde şunlar bulunur:

% 92 H<sub>2</sub>O

% 7 Proteinler, mineral tuzlar, C<sub>2</sub>O:

- Proteinler: Albumin, antikorlar
- Besinler: Glösid, amino asitler, lipidler
- Enzimler
- Hormonlar
- İnorganik elektrolitler (96).

## 2. Fibrin Beyaz Kan Hücreleri (Buffy Coat)

Medifuge faz ayırıcısıyla (Silfradent, İtalya) yapılan kalibre santrifüj sayesinde fibrinojen moleküllerinin polimerizasyonu yoluyla birbirine bağlı olduğu üç boyutlu polimer şebekelerinden oluşan fibrin bloğu elde edilir. Polimerizasyon esnasında, reaksiyonun sonuna kadar fibrinlerin boyutları büyür. Bu durum, aşağıdaki ayarları kontrol ederek kanın potansiyelinden maksimum faydalanmayı garanti eden ekipmanın neden özel olarak ayarlanması gerektiğini açıklamaktadır:

- Hız
- Sıcaklık
- Zaman
- Hızlandırma ve kontrollü hız
- Yaklaşık RCF200'lük yer çekimsel hızlandırma

Santrifüj ve özellikle polimerizasyon aşaması esnasında fibrin jel bloğunun gelişmesi ve büyümesi her yöndeki bağların büyümesine olanak sağlamaktadır.

Bu bağlamda, birçok kan hücresi bileşeninin etrafı çevrilerek aşağıdaki gibi birçok tedavisel eylemde bulunmaları sağlanır:

- Plazma ve platelet sitokinleri: onarım, anti inflamatör etki
- Plateletler: Sinyallerin iletilmesi ve büyüme faktörlerinin salınımı. En önemlileri TKBF, TBF-1 ve IBBF-1'dir (96).

## 3. Büyüme Faktörleri ve unipotent Kök Hücreler:

Beyaz kan hücrelerinin hemen altında yoğun pıhtı tabakasının ise üstünde yer alırlar. Bu faz bir pipetle çekilip yüksek performanslı aktive graft elde etmek için otolog kemik ile karıştırılabilir.

#### **4. Pıhtı:**

KBF tekniğinde kırmızı faz konsantre kırmızı ve beyaz kan hücreleri, plateletler ve pıhtı faktörleri içerir. Koyu kırmızımsı yoğun bir jele benzer ve geniş kaviteler doldurulurken tek başına ya da fibrin partikülleriyle ve/veya otolog veya heterolog kemikle karıştırılarak kullanılır. Bu yüzden rejeneratif tıpta KBF'nin multifaktör stimülasyon sistemi olarak düşünülmesi gerektiği sonucunu çıkarıyoruz. Aslında tüm fazlar ve bileşenler belli gerekliliklerle ilgili olarak kullanılır. Aplikasyondaki bu çokyönlülüğü onu şimdiye kadar öne sürülen tüm diğer tekniklerden farklı kılar (96).

Bu çalışmanın amacı trombosit zengin fibrin membran ve konsantre büyüme faktörü membranının deneysel olarak oluşturulan kornea ülserinin akut dönemdeki sağaltımı üzerindeki etkinliğini araştırmaktır.



### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi (ERÜ) Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEKAM)'da yürütülen bu çalışma ERÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 15.02.2017 tarih ve 17/013 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1.Hayvan Materyali

Çalışma materyalini Bingöl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (BÜDAM)'dan temin edilen toplam 24 adet 1 yaşlı 2-4 kg arasında ağırlıkları değişen Yeni Zelanda cinsi tavşanlar oluşturdu. Tavşanlara Erciyes Üniversitesi DEKAM bünyesinde bir hafta karantina uygulandı. Tavşanların beslenmesi ERÜ DEKAM bünyesinde bulunan tekli kafeslerde ad libitum olarak gerçekleştirildi. Ayrıca tavşanlar çalışma boyunca 12 saat aydınlık 12 saat karanlık, ortam sıcaklığı  $21\pm 1$  ve nem oranı %50 olacak şekilde standart bir ortamda tutuldu.

#### Klinik Muayeneler

Fiziksel ve klinik muayeneler ile sağlıklı oldukları anlaşılan tavşanların göz muayenesi yapıldı. Rutin göz muayenesinde rebound tonometri ile ölçüm yapılarak göz içi basınçları normal sınırlarda bulunan (normotansif), schirmer test, flouressein test uygulanması sonucu herhangi bir oküler rahatsızlığı bulunmayan tavşanlar çalışmaya dahil edildi.

Gruplardaki tüm tavşanlar caudalde kulak altı bölgesinden başlayıp cranialde os zygomaticum'a kadar olan periorbital bölgeleri rutin tıraş ve dezenfeksiyon işlemlerinden geçirilerek, gerekli antisepsi sağlanıp steril olarak operasyona hazır hale getirildi. TZFM (Grup I) ve KBFM (Grup II) uygulanacak gruplardaki tavşanların v.marginalisinden kan alınacağı için kulaklarının lateral yüzü de rutin tıraş ve dezenfeksiyon işlemlerinden geçirildi.

### 3.2. Gruplar

Çalışmaya dahil edilen tavşanlar rastgele seçilerek eşit sayıda hayvan içeren dört grup oluşturuldu. Çalışma 24 adet tavşanın 24 gözü üzerinde yapıldı. Her bir tavşanın sol gözü deneysel alkali yanığı oluşturmak için kullanıldı.

**Grup I:** Sol korneasında deneysel alkali yanık oluşturulan 6 adet tavşana trombosit zengin fibrin membran (TZFM) uygulandıktan sonra göz kapaklarına geçici tarsorafi uygulanarak kapatıldı. Postoperatif 10. günün sonunda 100 mg/kg intravenöz (İ.V) dozunda Na-pentobarbital (Ekipental 0.5 gr, Tüm Ekip İlaç, İstanbul, Türkiye) uygulanarak ötenazi yapıldı.

**Grup II:** Sol korneasında deneysel alkali yanık oluşturulan 6 adet tavşana konsantre büyüme faktörlü membran (KBFM) uygulandıktan sonra göz kapaklarına geçici tarsorafi uygulanarak kapatıldı. Postoperatif 10. günün sonunda 100 mg/kg intravenöz (İ.V) dozunda Na-pentobarbital (Ekipental 0.5 gr, Tüm Ekip İlaç, İstanbul, Türkiye) uygulanarak ötenazi yapıldı.

**Grup III:** Sol korneasında deneysel alkali yanık oluşturulan 6 adet tavşana geçici tarsorafi (T) uygulandı. Postoperatif 10. günün sonunda 100 mg/kg intravenöz (İ.V) dozunda Na-pentobarbital (Ekipental 0.5 gr, Tüm Ekip İlaç, İstanbul, Türkiye) uygulanarak ötenazi yapıldı.

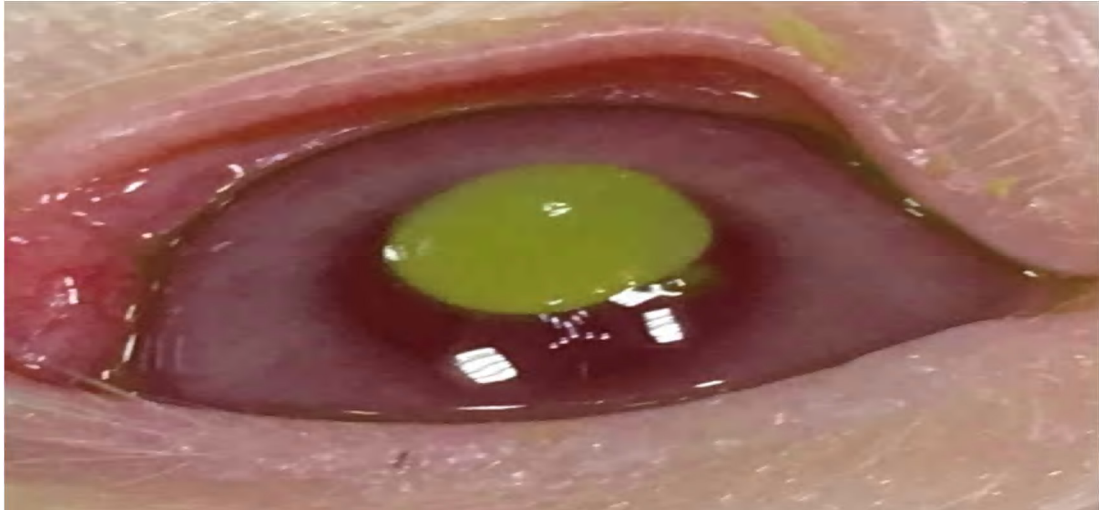
**Grup IV:** Sol korneasında deneysel alkali yanık oluşturulan 6 adet tavşana %0,9 luk serum fizyolojik damlatıldı tarsorafi işlemi uygulanmadı gözler açık bırakıldı. Postoperatif 10. günün sonunda 100 mg/kg intravenöz (İ.V) dozunda Na-pentobarbital (Ekipental 0,5 gr, Tüm Ekip İlaç, İstanbul, Türkiye) uygulanarak ötenazi yapıldı.

### 3.3. Anestezi Protokolü

Tüm tavşanlar anesteziden önce 12 saat aç bırakıldı. Her bir tavşan için preanestezik olarak 5mg/kg dozunda Ksilazin HCL (Rompun %2, Bayer, Almanya) ve genel anestezi amacıyla 35mg/kg dozunda Ketamine-HCL (Ketasol %10, Richter Pharma AG, Avusturya) kombinasyonu intramusküler (İM) olarak uygulandı. Sonrasında tavşanlar entübe edilerek inhalasyon anestezi cihazına (SMS 2000 Classic Anesthesia, Sms Medikal, Ankara, Türkiye) bağlandı ve %2-3 sevofloran (Sevorane Likid %100, AbbVie, Queenborough, İngiltere) ile anestezinin devamlılığı sağlandı.

### 3.4. Deneysel kornea ülserinin oluşturulması

Anestezi eşliğinde Grup I-II-III-IV deki toplam 24 tavşana dorsalde os frontale ventralde os zygomaticuma kadar periorbital bölgeye rutin tıraş işlemi uygulandı ve dezenfeksiyon işlemlerinden geçirilerek bölge steril olarak hazır hale getirildi. Tavşanlar operasyon masasına sol gözü üstte kalacak şekilde baş lateral pozisyonda tutuldu. 3mm çapındaki filtre kağıdına bir normal (1N) sodyum hidroksit (NaOH) emdirildi ve ilgili göz korneasının merkezine 1 dakika boyunca sabitlendi. Uygulanan süre bitiminde 1N NaOH emdirilmiş filtre kağıdı kaldırıldı ve göz %0,9 serum fizyolojik ile 2 dakika boyunca yıkandı. Sonrasında floressein test uygulandı (Şekil 3.4.1).



Şekil 3.4.1: Deneysel kornea alkali yanık oluşturulduktan sonra floressein boya ile tespit edilmesi.

### 3.5. Floressein boya uygulaması

Gruplardaki tüm deneklere 0., 1. ve 10. gün olmak üzere 3 defa floressein boya uygulaması yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki şekilde derecelendirildi (102).

- 0: tüm korneal yüzeyin hiç boyanmamış olması
- 1: tüm korneal yüzeyin 1/8 ya da daha az bir kısmının boyanması
- 2: tüm: tüm korneal yüzeyin 1/4 ya da daha az bir kısmının boyanması
- 3: tüm korneal yüzeyin 1/2 ya da daha az bir kısmının boyanması
- 4: tüm korneal yüzeyin boyanması

### 3.6. Schirmer gözyaşı testi uygulaması

Tavşanlar her grupta 6 tavşan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve her biri numaralandırıldı. Test şeritleri (Schirmer Tear Test Strip, ERC Sağlık, TÜRKİYE) işaretlenmiş olduğu yerden katlandı ve ardından paketlerinden çıkarılarak alt gözkapağı konjonktival kesesinin anteromedial üçte birlik kısmına yerleştirildi (Şekil 3.6.1 ve 3.6.2).

Bir kronometre aracılığıyla 60 saniyelik süre ölçülerek test şeridi konjonktival keseden uzaklaştırıldı ve test şeridindeki ıslaklık milimetre olarak değerlendirilerek kayıt altına alındı.



Şekil 3.6.1 Schirmer gözyaşı testi



Şekil 3.6.2 Denekte schirmer gözyaşı testi uygulaması.

### 3.8. Rebound tonometre ile göz içi basınçlarının ölçülmesi

Çalışmada Tonovet (RBT, Icare VET, Helsinki, Finland) marka rebound tonometre kullanıldı. Kullanımı kolay ve pratik olan bu tonometrenin sağladığı en büyük avantajlarından biri ölçüm sırasında topikal anestezi kullanımına ihtiyaç duyulmamasıdır. Cihaz üretici firmanın kullanma talimatına göre kalibre edildi. Uygulama gruplardaki tüm deneklere 0.gün, 1.gün ve 10.günlerde yapıldı. Çalışma sırasında oluşabilecek çapraz enfeksiyon riskine karşı her uygulamadan sonra prob değiştirildi. Ölçüm öncesi tavşanlara anestezi uygulanmadı. Bir yardımcı tarafından ölçüme uygun şekilde gözlerine basınç uygulanmadan tutulan tavşanların sol gözlerinin göziçi basınçları ölçüldü (Şekil 3.8.1). Kullanımına uygun şekilde dik olarak tutulan tonometre ile bütün hayvanlarından en az beş ölçüm elde edilip ortalamaları alındı.



Şekil 3.8.1. Grup I deki 1 nolu denekte göz içi basıncının ölçülmesi

### 3.9. Direkt oftalmoskopi

Gruplardaki tüm denekler muayene edilirken oftalmoskop hastaya 25-30 cm uzak tutuldu. Kornea muayenesinde +20'lik mercek kullanıldı. Direkt oftalmoskopun üzerinde bulunan bir kadranla muayene edilecek denegin gözüne gönderilecek ışık demetinin büyüklüğü, rengi ve şekli ayarlandı. Uygulama gruplardaki tüm deneklere 0.gün, 1.gün ve 10.günlerde yapıldı.

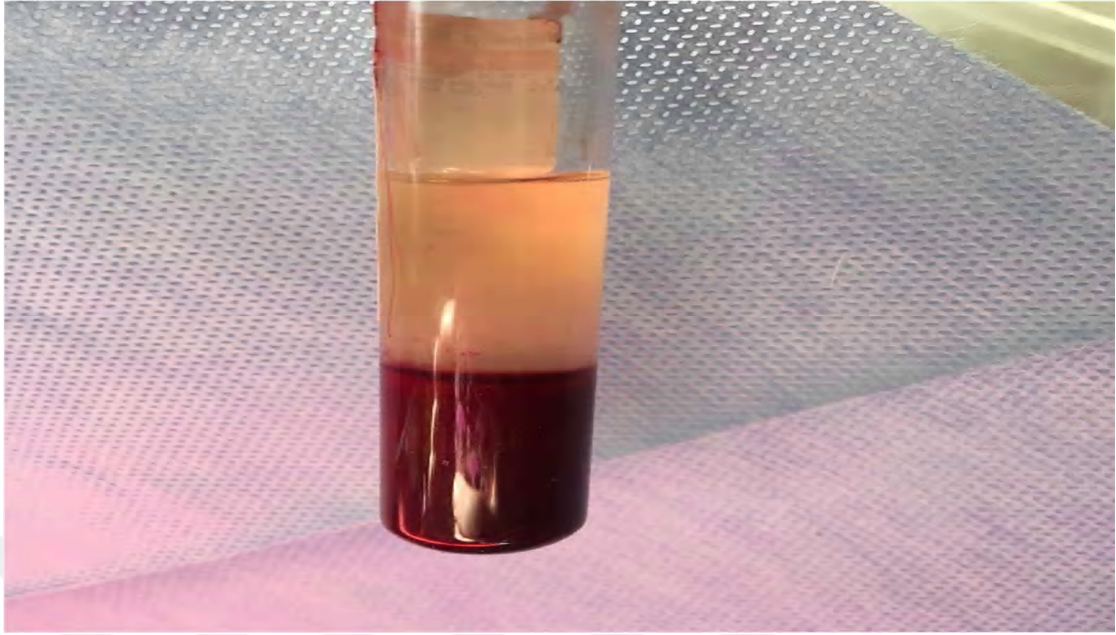


Şekil 3.9.1. Direk oftalmaskop ve +20'lik mercek

### 3.10. Membranların Uygulanması

#### 3.10.1. TZFM'nin elde edilmesi ve uygulanması

Grup I'de bulunan her bir tavşan için dorsalde os frontale, ventralde os zygomaticuma kadar olan periorbital bölgenin tıraş edildi kulaklarının lateral yüzü rutin tıraşlanma işleminden sonra dezenfekte edildi. Kulağın periferinde yer alan vena marginalisten alınan 5 ml kan antikoagülansız steril bir tüpte toplanıp santrifüj cihazında (Hettich - Rotofix 32 A) 400 g de 12 dakika santrifüj edildi. Bu işlem sonunda tüpteki ürün 3 katmana ayrıldı. Bu katmanlar sırası ile en alt katta eritrosit, orta katta trombosit zengin fibrin ve en üst katta hücresiz plazmandan oluştu (Şekil 3.10.1.1).



Şekil 3.10.1.1. En alt katta eritrosit, orta katta trombositten zengin fibrin ve en üst katta hücresiz plazmandan oluşmaktadır.

Bir penset yardımıyla tüpten dışarıya çıkarılan kan ürünü (Şekil 3.10.1.2) bir makas yardımıyla en alt kattaki eritrositli kısım kesilerek uzaklaştırıldı (Şekil 3.10.1.3).



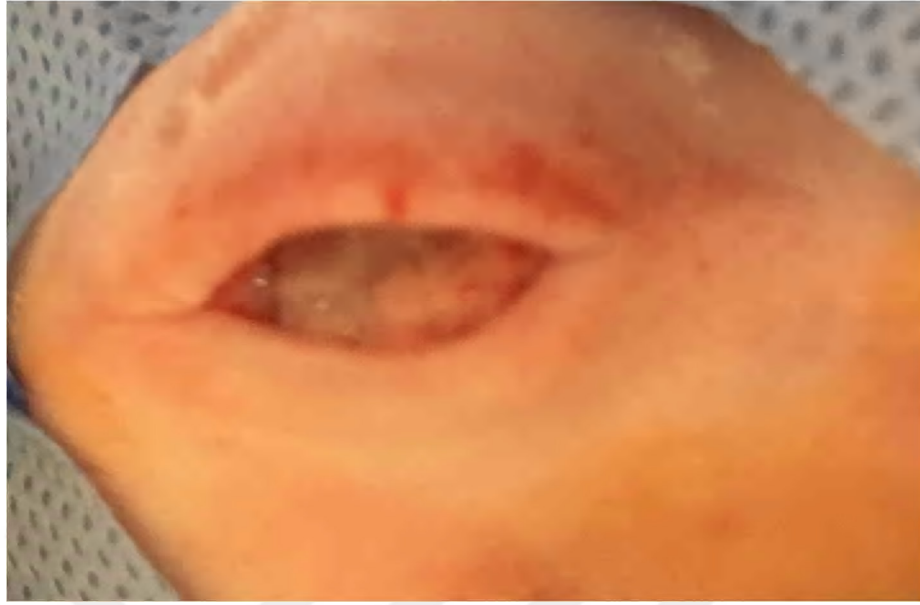
Şekil 3.10.1.2. Gazlı bez üzerinde ürünün görüntüsü



Şekil 3.10.1.3.Trombositten zengin fibrinli ürün

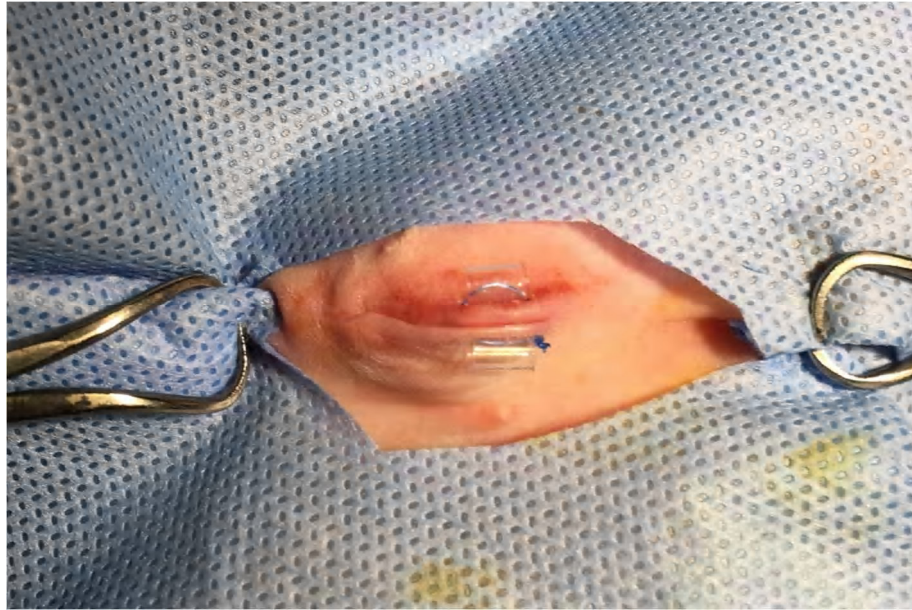
Trombositten zengin fibrin iki gazlı bez arasına alınıp parmaklarla hafif basınç uygulanarak serum kısmı çıkartılıp trombositten zengin fibrin membran elde edildi. Membran deneysel alkali yanık oluşturulan sol göz korneası üzerine yerleştirildi (Şekil 3.10.1.4) ve 6/0 nylon suturela basit ayrı dikiş uygulanarak konjunktivalara sabitlendi ve göz kapakları 3/0 nylon suturela birbirine dikilerek geçici tarsorafi yapıp işlem tamamlandı (Şekil 3.10.1.5).





Şekil 3.10.1.4.TZFM'nin korneaya uygulanması

Geçici tarsorafi işlemi 1 adet destekli yatay U dikişi ile alt ve üst göz kapağının medial hattından uygulandı. Dikiş amacıyla kullanılan ipliğin göz kapaklarına zarar vermemesi için serum hortumu bir makas yardımıyla kesilerek küçük parçalara ayrıldı. Bu parçalar hem üst hem de alt göz kapaklarında kullanıldı ve işlem tamamlandı.



Şekil 3.10.1.5. Gözkapaklarına geçici tarsorafi işleminin uygulanması

### 3.10.2. KBFM'nin elde edilmesi ve uygulanması

Grup II'de bulunan altı adet tavşanın kulaklarının lateral yüzü rutin tıraşlanma işleminden sonra dezenfekte edildi. Kulağın periferinde yer alan vena marginalisten alınan 5 ml kan antikoagülsüz steril bir tüpte toplanıp santrifüj cihazında ( Medifuge CGF) 30 saniye hızlanmada 2700 rpm 2 dakika, 2400rpm 4 dakika, 2700 rpm 4 dakika, 3000 rpm 3 dakika, 36 saniye yavaşlama ve durma şeklinde işleme tabi tutuldu (Şekil 3.10.2.1).



Şekil 3.10.2.1.KBFM elde etmek için kullanılan santrifüj cihazı

Bu işlem sonunda tüpteki ürün 4 katmana ayrıldı en üst katta serum (4. Katman), onun altında fibrin beyaz kan hücreleri (buffy coat) (3.katman), onun altında büyüme faktörleri ve unipotent kök hücreleri (2.katman)ve en alt katta ise pıhtı şekillendi(1.katman).

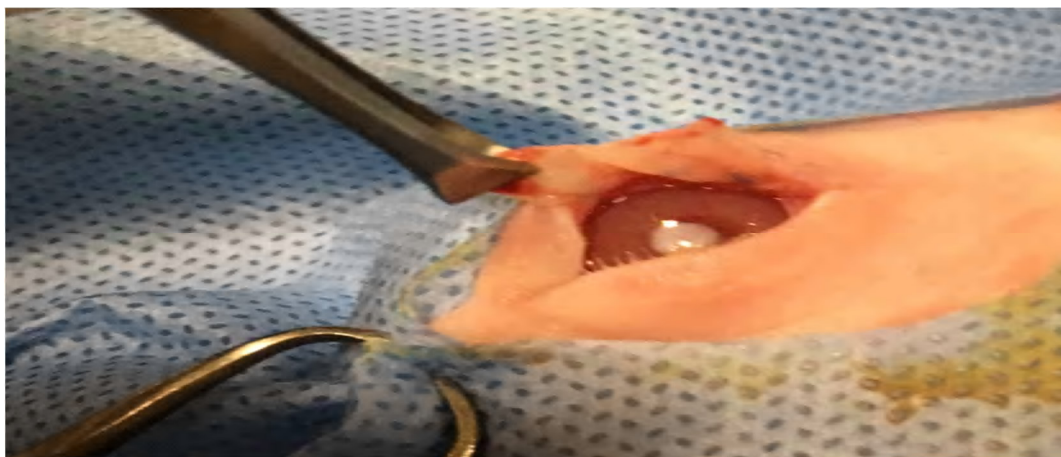
Bir penset ile tüpten dışarıya çıkarılan ürün bir makas yardımıyla en alt kattaki pıhtılı kısım kesilerek uzaklaştırıldı (Şekil 3.10.2.2).



Şekil 3.10.2.2. Bir penset yardımı ile tüpten dışarıya çıkarılan ürünün bir makas ile en alt kattaki pıhtılı kısmın kesilerek uzaklaştırılması işlemi.

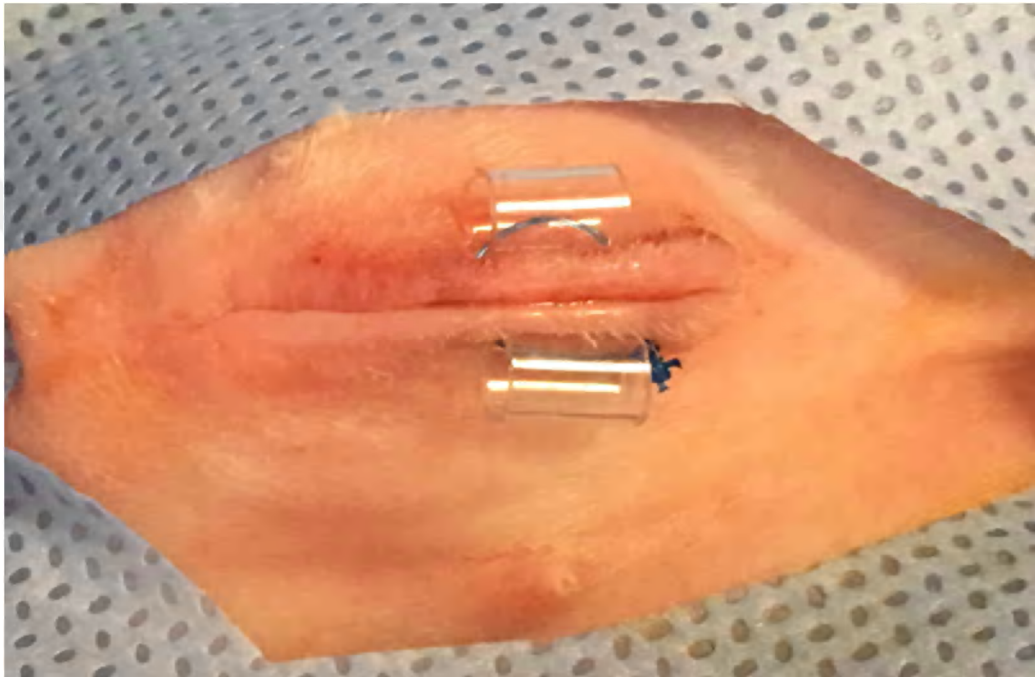
Konsantre büyüme faktörü olan orta kısım steril iki gazlı bez arasına alınarak parmaklar yardımıyla hafif basınç uygulanarak serum kısmı çıkartıldı ve dirençli bir membran elde edildi.

Membran deneysel alkali yanık oluşturulan sol gözdeki kornea üzerine yerleştirildi ve 6/0 nylon suturele basit ayrı dikiş uygulanarak konjunktivalara sabitlendi (Şekil 3.10.2.3). Göz kapakları 3/0 nylon iplikle birbirine dikilerek geçici tarsorafi yapılip işlem tamamlandı (Şekil 3.10.2.4).



Şekil 3.10.2.3.Konsantre büyüme faktörlü membranın konjunktivalara sabitlenmesi işlemi.

Geçici tarsorafi işlemi 1 adet yatay U dikişi ile alt ve üst göz kapaklarının medial gerçekleştirildi. Dikiş amacıyla kullanılan sütürün göz kapaklarına zarar vermemesi için serum hortumu bir makas yardımıyla kesilerek küçük aparatlar elde edildi. Bu aparatlar hem üst hem de alt göz kapaklarında kullanıldı. Bu son uygulamayla beraber operasyon işlemi tamamlandı ve hayvanlar anesteziden uyandırılarak ERÜ DEKAM bünyesinde bulunan kafeslere yerleştirildi.



Şekil 3.10.2.4. Geçici tarsorafi işleminin yatay U dikişi ile uygulanması.

### **3.10.3. Tarsorafi uygulaması (Grup III)**

Altı adet tavşanın sol göz deneysel alkali yanık oluşturulan korneasındaki göz kapakları 3/0 nylon iplikle birbirine dikilerek geçici tarsorafi işlemi tamamlandı. Hayvanlar anesteziden uyandırılarak ERÜ DEKAM bünyesinde bulunan kafeslere yerleştirildi.

### **3.10.4. Serum fizyolojik uygulaması (Grup IV)**

Altı adet tavşanın sol deneysel alkali yanık oluşturulan korneasına 10 gün boyunca her gün %0,9 luk serum fizyolojik uygulaması yapıldı.

### 3.11. Postoperatif Uygulamalar

Operasyondan hemen önce ve postoperatif olarak 4 gruptaki her bir tavşana 5 gün boyunca profilaksisi amacıyla 100 mg/kg dozunda İM yolla seftriakson (Rocephin 1gr, Roche, Amerika) uygulandı. Operasyon öncesi ve sonrası tüm tavşanlara butorphanol (Butomidor, Richter Pharma AG, Avusturya) analjezik amaçlı 0,3 mg/kg dozunda subkutan (SC) yolla enjekte edildi.

Postoperatif olarak tavşanların yeme-içme gibi iştah durumları, dikiş uygulanan sol göz kapakları enfeksiyon, göz yaşı akıntısı ve tarsorafi işlemi için uygulanan dikişlerin devamlılığı açısından takip edildi.

### 3.12.Ötenazi İşlemi

Dört farklı grupta bulunan tüm tavşanlar 10. günün sonunda Na-pentobarbital (Ekipental 0,5 gr, Tüm Ekip İlaç, İstanbul, Türkiye) 100 mg/kg dozunda intravenöz (İV) yolla uygulanarak ötenazi işlemi gerçekleştirildi.

### 3.13.Histopatolojik Değerlendirme

Deneklerin sol gözlerinde deneysel olarak oluşturulan kornea ülserli bölge dahil normal kornea dokusunda kapsayacak şekilde örnekler alındı. Alınan örnekler ayrı ayrı küçük gazlı bezlere numara ve grupları belirtilerek %10 luk formol solüsyonuna bırakılarak tespit edildi. Tespit işleminin ardından doku örnekleri trimlenerek alkol-ksilol serilerinden geçirilip boncuk parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 5-6 mikron kalınlığında kesitler hazırlanıp Hematoksilen-Eosine (HxE) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Histopatolojik bakıda deneysel kornea alkali yanık oluşturulan bölgedeki mononükleer hücre infiltrasyonu, kollajen demetleri, yeni kan damarları ve rejenerasyonu incelendi.

### 3.14. İstatiksel Değerlendirme

Sonuçlar ortalama  $\pm$  Standart hata ortalaması (SEM) olarak gösterilmiş ve  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arası farklılıkları göstermek için Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmış ve karşılaştırmalar için post hoc olarak Tukey's testi seçilmiştir. Skorlamalarda istatistiksel farklılığı belirlemek için Kruskal-Wallis testi ve sonrasında ikili karşılaştırmalar için Mann Whitney U-testi post hoc

olarak seçilmiştir. Verilerin dağılımlarının normalliğini belirlemek için Shapiro–Wilk testi yapıldı. İstatiksel analizler için IBM SPSS 22.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL) paket programı kullanıldı. Grafik oluşturmak için GraphPad Prism 5.0 (GraphPad software Inc., SanDiego, CA, USA) programı tercih edildi.



## 4. BULGULAR

Gruptaki tüm tavşanlarda alkali yanık oluşumunu takiben kornea merkezinde epitel kayıplar not edildi. Deneysel kornea yanığı oluşturmak için standart uygulama yapıldığından tüm gruptaki tavşanlarda kornea yanığının eşit olduğu gözlemlendi. Sonrasında flouressein test uygulanarak oluşan hasar tespit edildi.

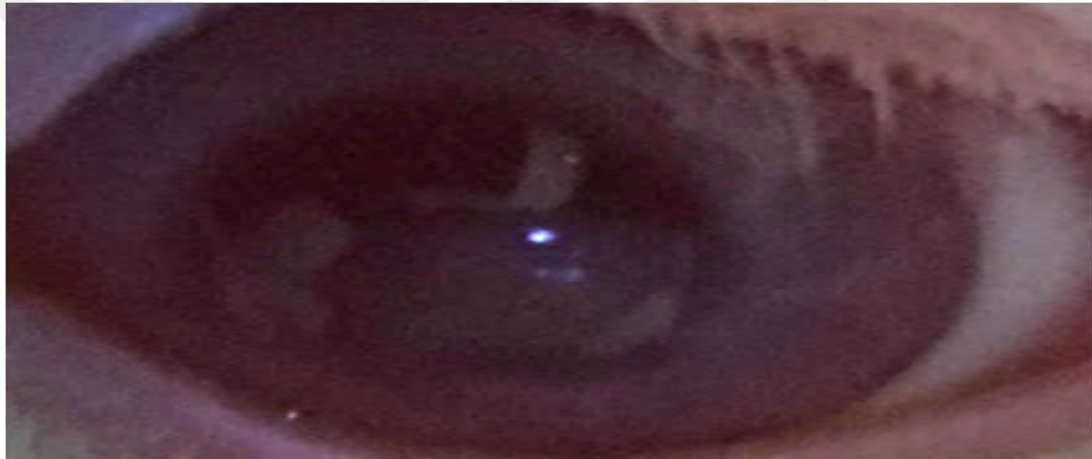
Deneysel alkali yanık oluşturmak için yapılan işlem sonucunda deneklerin sadece kornea merkezlerinde alkali yanık olduğu limbal bölgenin, üçüncü göz kapağının, konjunktivanın, alt ve üst göz kapaklarının alkali ajandan etkilenmediği belirlendi.

Gruplardaki tüm deneklerde deneysel kornea alkali yanık oluşturulduktan sonra ilk gün yapılan muayenede tüm deneklerde fotofobi, kornea opasitesi, ağrı, bleforaspozizm gibi klinik bulgular gözlemlendi.

Grup I: TZFM uygulanan bu grupta operasyon öncesi, sırası ve sonrasında herhangi bir komplikasyonla karşılaşılma. Deneklerin dikiş uygulanan sol göz kapakları enfeksiyon ve tarsorafi işlemi için uygulanan dikişlerin devamlılığı açısından 10 gün boyunca takip edildi ve bu süreç içinde göz yaşı akıntısı veya enfeksiyonla karşılaşılma. Onuncu günün sonunda tarsorafisi açılan deneklerin konjunktivalarına sabitlenen sütürler uzaklaştırıldı. Gözlerde herhangi bir akıntı enfeksiyon, pigmentasyon ve kornea ödemine rastlanılmadı. Kornea opasitesi yönünden değerlendirildiğinde bu gruptaki tüm deneklerde 1.gün %100 oranında tam bir opaklaşma gözlenirken 10.günde yapılan sol gözlerin muayenesi sonucunda opaklaşmanın tüm deneklerde yarı saydam durumuna geçtiği belirlendi (Şekil 4.1.). Flouressein boyama yapılarak mavi kobalt ışığı altında bakıldı (Şekil 4.2.).



Şekil 4.1. TZFM uygulanan deneğin 10.gündeki görüntüsü



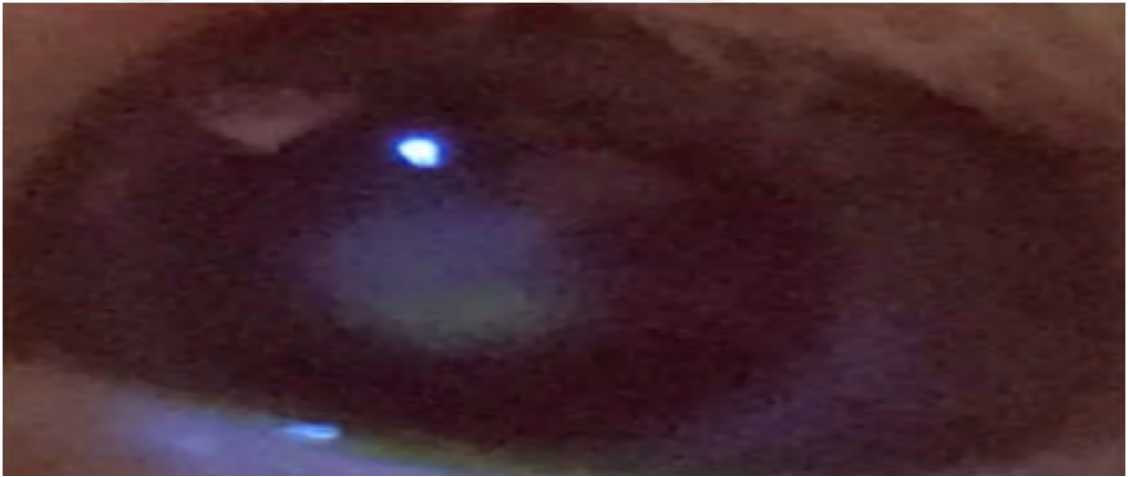
Şekil 4.2. TZFM uygulanan deneğin 10.gün flouressein boya uygulaması (mavi kobalt ışığı altında)

Grup II: KBFM uygulanan bu grupta operasyon öncesi, sırasında ve sonrasında herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmadı. Deneklerin dikiş uygulanan sol göz kapakları enfeksiyon ve tarsorafî işlemi için uygulanan dikişlerin devamlılığı açısından 10 gün boyunca takip edildi. Bu süre boyunca gözyaşı akıntısı veya enfeksiyonla karşılaşılmadı. Onuncu günün sonunda tarsorafisi açılan deneklerin konjunktivalarına sabitlenen sütürler uzaklaştırıldı. Gözlerde herhangi bir akıntı enfeksiyon, pigmentasyon ve kornea ödemine rastlanılmadı. Kornea opasitesi yönünden değerlendirildiğinde bu gruptaki tüm deneklerde 1.gün %100 oranında tam bir opaklaşma gözlenirken 10.günde yapılan sol gözlerin muayenesi sonucunda opaklaşmanın tüm deneklerde yarı saydam durumuna geçtiği belirlendi (Şekil 4.3.). Flouressein boyama yapılarak mavi kobalt ışığı altında bakıldı (Şekil 4.4).





Şekil 4.3.KBFM uygulanan deneğin 10.gündeki görüntüsü



Şekil 4.4.KBFM uygulanan deneğin 10.gün flouressein uygulaması (mavi kobalt ışığı altında)

TZFM ile KBFM, mikro ve makro mimarisi yönünden hem oküler yüzeyin rekonstrüksiyonu için ideal bir yapıda oldukları hem de sağlam yapılarından dolayı rahatlıkla dikiş atılabilir materyaller oldukları görüldü.

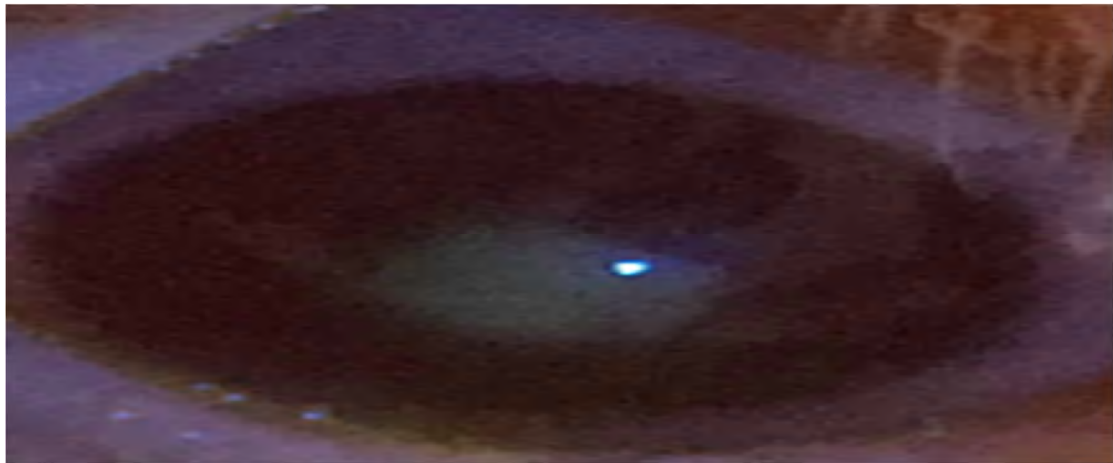
TZFM uygulanan grupta 10. günün sonunda geçici tarsorafisi açıldığında membranların kaybolduğu, KBFM uygulanan grupta ise 10.günün sonunda sadece konjunktivalara sabitlenen 6/0 nylon sütürün çevresinde membran kalıntılarına rastlanıldı.

Grup III: Sadece tarsorafî işlemi uygulanan bu grupta operasyon esnasında herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmadı. Postoperatif dönemde deneklerden 1,3,4 nolu

tavşanların gözlerinde akıntı vardı. Tedavi amaçlı ilgili göze topikal yolla ofloksasin %0,3 (Exocin, Allergan) sabah-akşam 2 damla 5 gün boyunca kullanıldı. Kornea opasitesi yönünden değerlendirildiğinde bu gruptaki tüm deneklerde kornea opaklaşması olarak 1.gün %100 oranında tam bir opaklaşma gözlenirken 10.günde yapılan sol gözlerin muayenesi sonucunda opaklaşmanın tüm deneklerde kornea ülserinin periferallerinde yarı saydam durumuna geçtiği merkezde ise hala opaklaşma olduğu (%100) belirlendi (Şekil 4.5.). Flouressein boyama yapılarak mavi kobalt ışığı altında bakıldı (Şekil 4.6.).

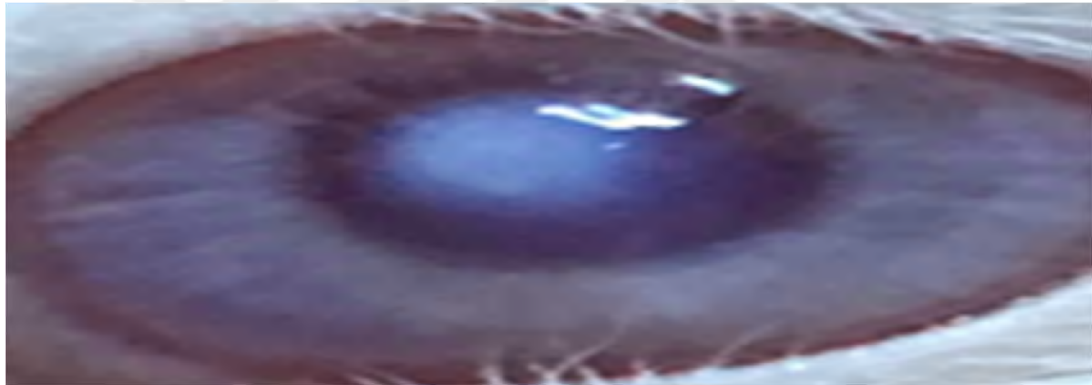


Şekil 4.5. Tarsorafi uygulanan deneğin 10.gündeki görüntüsü

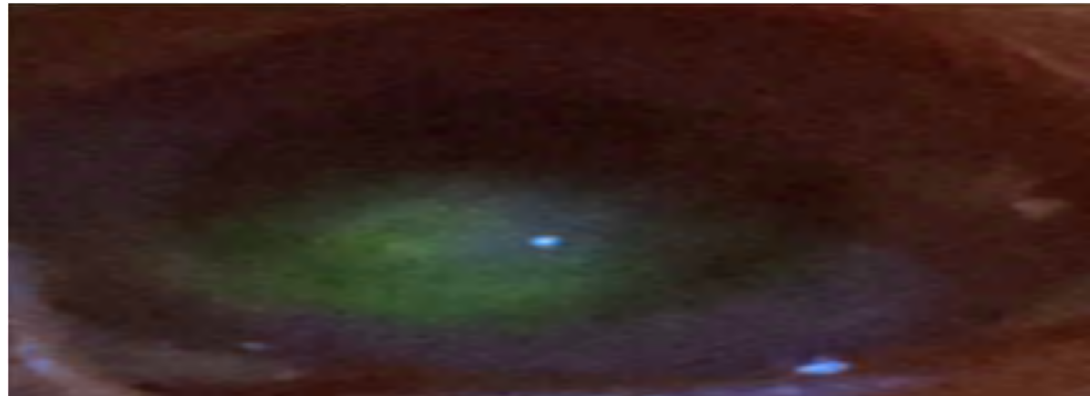


Şekil 4.6. Tarsorafi uygulanan deneğin 10.gün flouressein uygulaması (mavi kobalt ışığı altında)

Grup IV: Bu grupta yer alan tavşanların sol gözlerindeki kornea ülserine %0,9 luk serum fizyolojik damlatıldı tarsorafi işlemi uygulanmadı gözler açık bırakıldı. Bu gruptaki tüm deneklerde postoperatif dönemde oküler akıntı, fotofobi, korneal opasite, bleforaspazm görüldü. Enfeksiyonun kontrolü amacı ile günlük ilgili göze topikal yolla ofloksasin %0,3 (Exocin, Allergan) sabah-akşam 2 damla 5 gün süresince kullanıldı. Kornea opasitesi yönünden değerlendirildiğinde bu gruptaki tüm deneklerde kornea opaklaşması olarak 1.gün %100 oranında tam bir opaklaşma gözlenirken 10.günde yapılan sol gözlerin muayenesi sonucunda opaklaşmanın tüm deneklerde hala devam ettiği (%100) sadece kornea ülserinin periferal kısmındaki bölgesinde yarı saydama yakın bir durumda olduğu ama merkez dahil pek çok yerde tam bir opaklaşma belirlendi (Şekil 4.7.). Flouressein boyama yapılarak mavi kobalt ışığı altında bakıldı (Şekil 4.8.).



Şekil 4.7. sadece %0,9 luk serum fizyolojik uygulanan deneğin 10.gündeki görüntüsü



Şekil 4.8.sadece %0,9 luk serum fizyolojik uygulanan deneğin 10.gün flouressein uygulaması (mavi kobalt ışığı altında)

Sıfırncı gün gruplardaki tüm tavşanların gözleri sağlıklı olduğu için flouressein boyaması yapıldığında kornea epitelinin boya tutmadığı için dereceleme skalasına göre bu değer 0 olarak belirlendi. Birinci gün gruplardaki tüm tavşanların gözlerine standart işlem olarak 3mm çapındaki filtre kağıdına 1N NaOH emdirildi ve ilgili göz korneasının merkezinde 1 dakika süresince tutuldu. Uygulanan süre bitiminde 1N NaOH emdirilmiş fitre kağıdı kaldırıldı ve göz %0,9 serum fizyolojik ile 2 dakika boyunca yıkandı. Bu şekilde meydana gelen kornea ülserine flouressein boyama yapıldığında dereceleme skalasına göre bu değer 4 çıktı. Onuncu gün tüm gruplardaki tavşanlara flouressein boya uygulaması yapıldığında en çok boyama Grup IVdeki deneklerde sonra ise sırayla Grup III, Grup II ve en az Grup I deneklerin en az flouressein boya tutma kapasitesinde olduğu görülmüştür (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Gruplara ait flouressein boya tutma kapasitesini gösteren değerler

Olgular	0.gün	1.gün	10.gün
Grup I	0	4	0-1
Grup II	0	4	2
Grup III	0	4	3
Grup IV	0	4	4

0: tüm korneal yüzeyin hiç boyanmamış olması

1: tüm korneal yüzeyin 1/8 ya da daha az bir kısmının boyanması

2: tüm: tüm korneal yüzeyin 1/4 ya da daha az bir kısmının boyanması

3: tüm korneal yüzeyin 1/2 ya da daha az bir kısmının boyanması

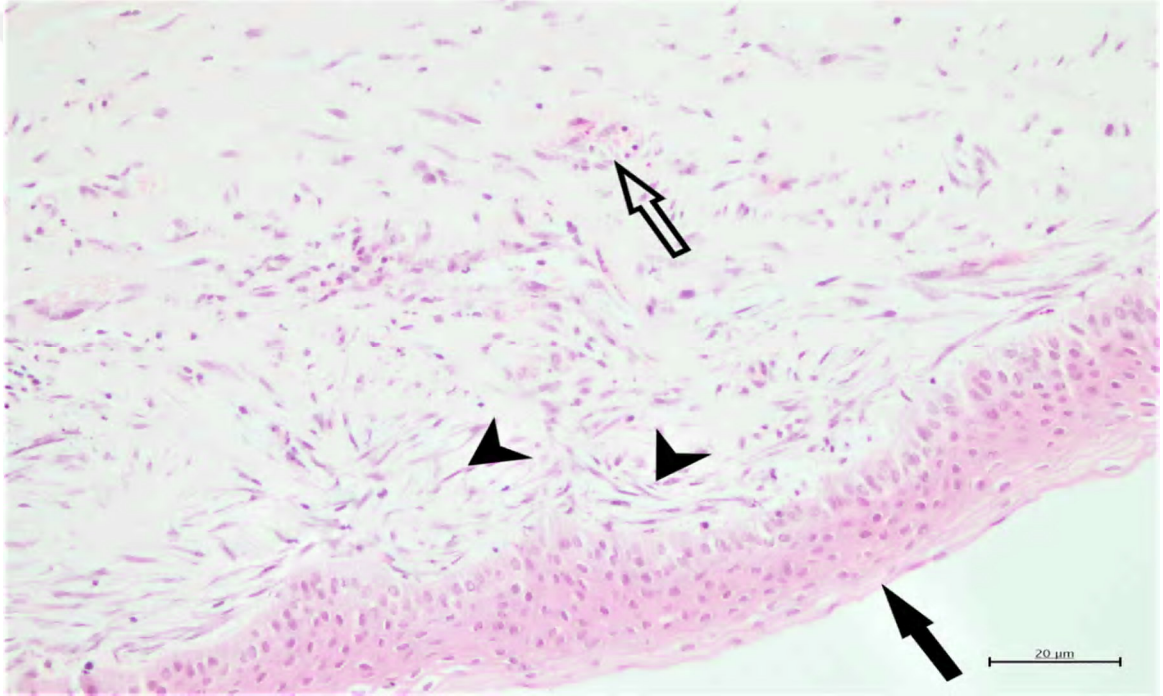
4: tüm korneal yüzeyin boyanması

## 4.2.Histopatolojik Bulgular

### Kornea hasarı ve rejenerasyon

**Grup I:** Bu gruptaki tavşanlarda korneal stromada yoğun fibroblast proliferasyonları ile kollajen demetlerinin iyi şekillendiği, limbus bölgesinde stromada kapillar damar proliferasyonlarının olduğu tespit edildi.

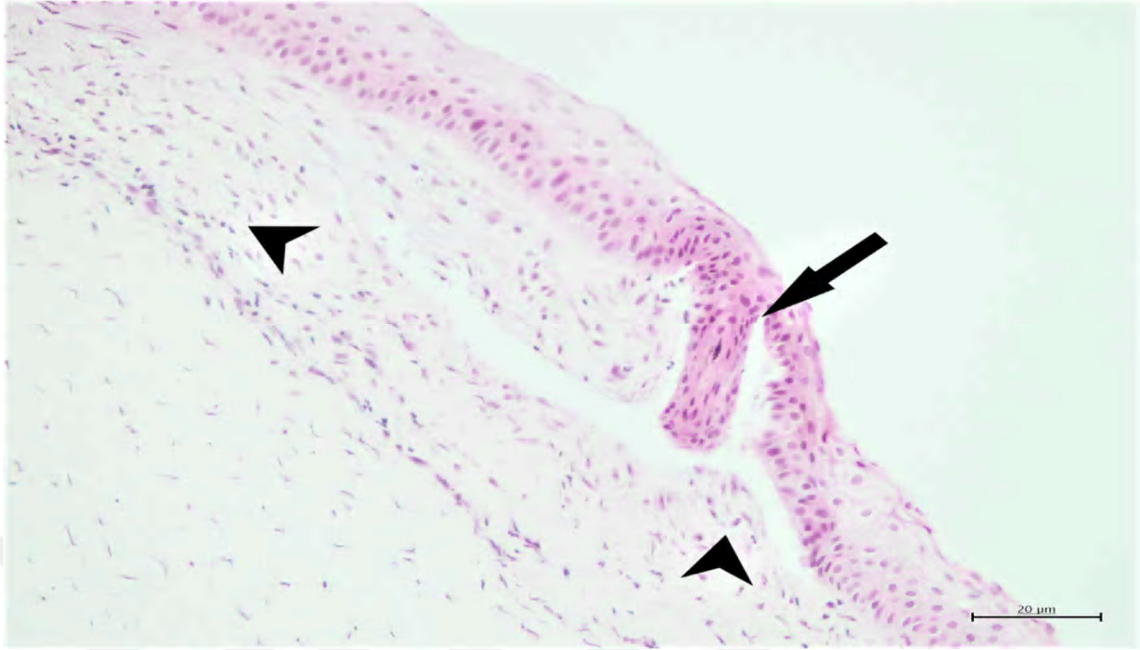
Anteriyör kornea sınırlayıcı membranının bir tavşan hariç diğerlerinde iyi derecede şekillendiği ve diğer uygulama yapılan gruplara nazaran epitelial rejenerasyonun daha iyi olduğu görüldü (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Grup I, Kornea epitelinde rejenerasyon (koyu ok), stromada kollajen demetleri (ok başları) ve kapillar damar proliferasyonlar (açık ok), HEx20μ

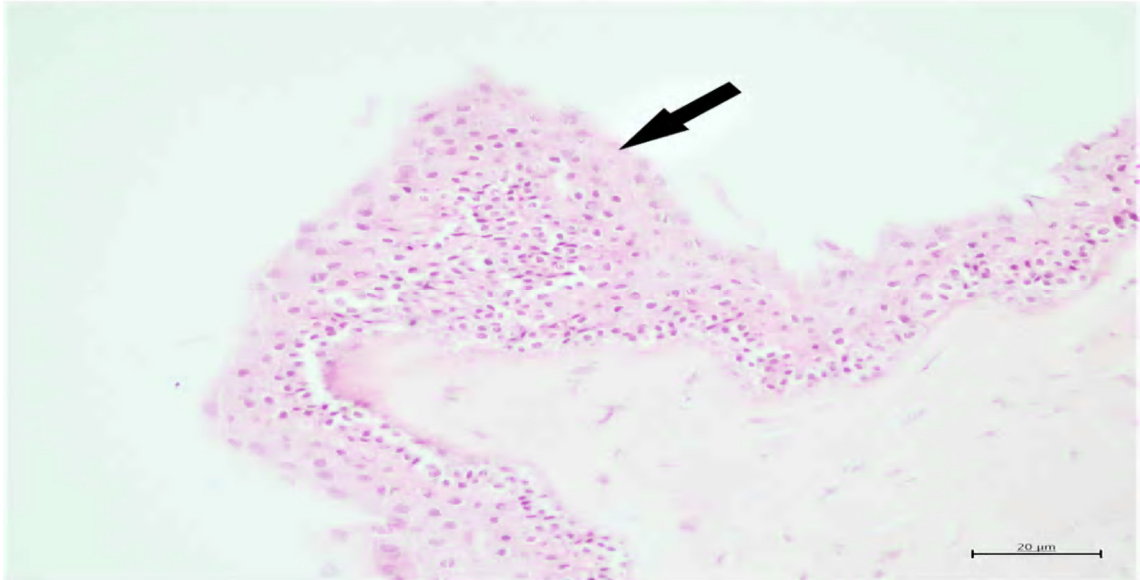
Bu gruptaki hayvanlarda uygulama alanlarında hafif yangısal reaksiyon ile az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonları gözlenirken epitel hücreleri tespit edilmedi.

**Grup II:** Mikroskobik olarak uygulama yapılan kornea epitelinde rejenerasyon şekillendiği ve epitel hücrelerinin sitoplazmaları vakuollü görünümdeydi. Anteriyör sınırlayıcı membran ile epitelial rejenerasyon trombositten zengin fibrin membran grubuna göre daha düzensiz şekillenmişti. Korneal stromada kollajen liflerinin belirgin olarak olduğu görüldü ( Şekil 4.10.)



Şekil 4.10. Grup II Kornea epitelinde düzensiz rejenerasyon (ok), korneal stromada kollajen artışı (ok başı). HEx $\mu$

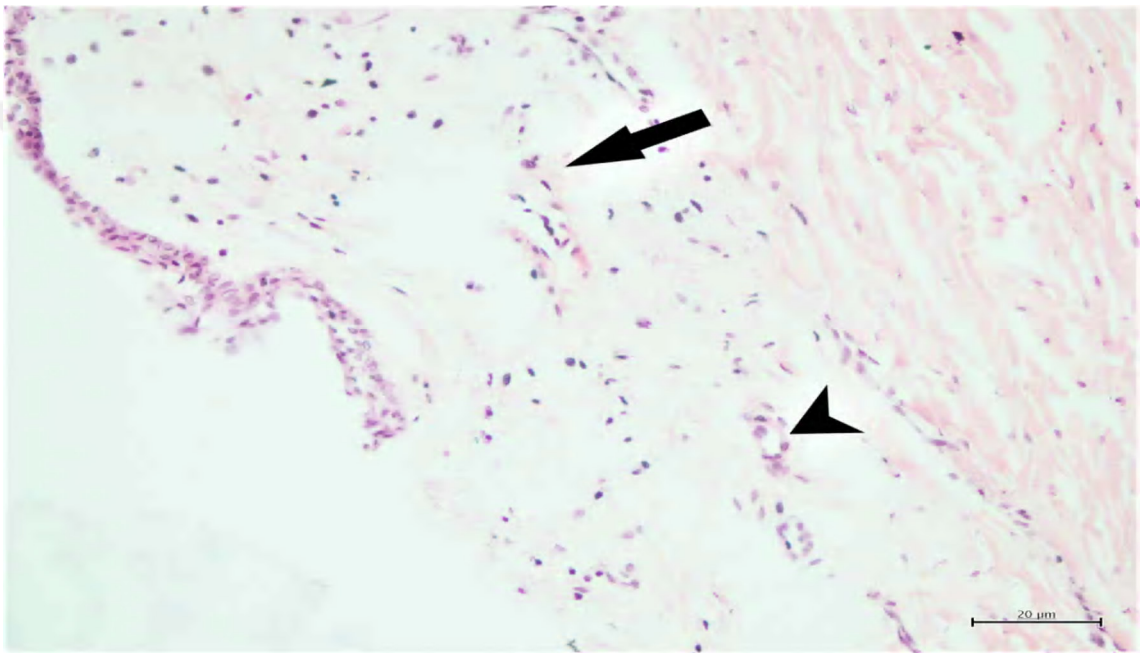
Bu grupta uygulama yapılan bir tavşanda kornea epitelinin düzensiz bir şekilde dışarı doğru taşkın bir görünümde hiperplaziye uğradığı saptandı ( Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Grup II Kornea epitelinde düzensiz rejenerasyon ve epitelial hiperplazi (ok), HEx 20 $\mu$

Diğer bir tavşanda ise tedavi uygulanan bölgedeki epitel tabakanın devamında kollajen şekillenmesine rağmen epitelial rejenerasyon tam olarak şekillenmemiştir ve rejenerasyon epitelin bulunduğu bölgedeki alanda nekrotik hücreler saptandı.

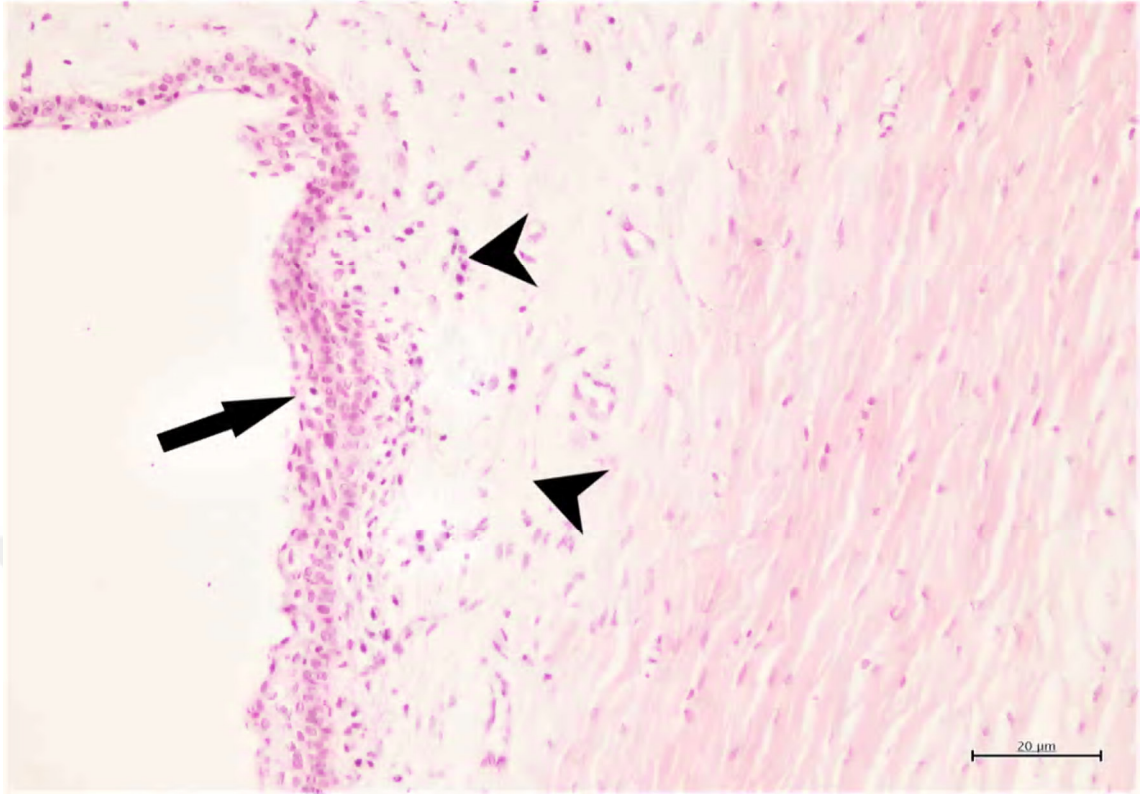
Genel olarak bu grupta korneal stromada kollajen demetleri iyi şekillenmiş olup gevşek bağdoku görünümündeydi. Limbus bölgesinde bağ doku içerisinde kapillar damar proliferasyonları mevcuttu. Bağ dokuda hafif derecede yangısal reaksiyon ile mononükleer hücre infiltrasyonları saptandı (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. Grup II Korneal stromada gevşek bağdoku oluşumu (ok), kapillar damar proliferasyonları (ok başı) ve mononükleer hücre infiltrasyonları, HEx20µ

**Grup III:** Mikroskopik olarak korneal stromada diğer iki gruptaki hayvanlara nazaran fibroblast proliferasyonu ve kollajen demetlerinin daha az ve düzensiz şekillendiği, limbus bölgesindeki stromadaki kapillar damar proliferasyonlarının daha az olduğu görüldü.

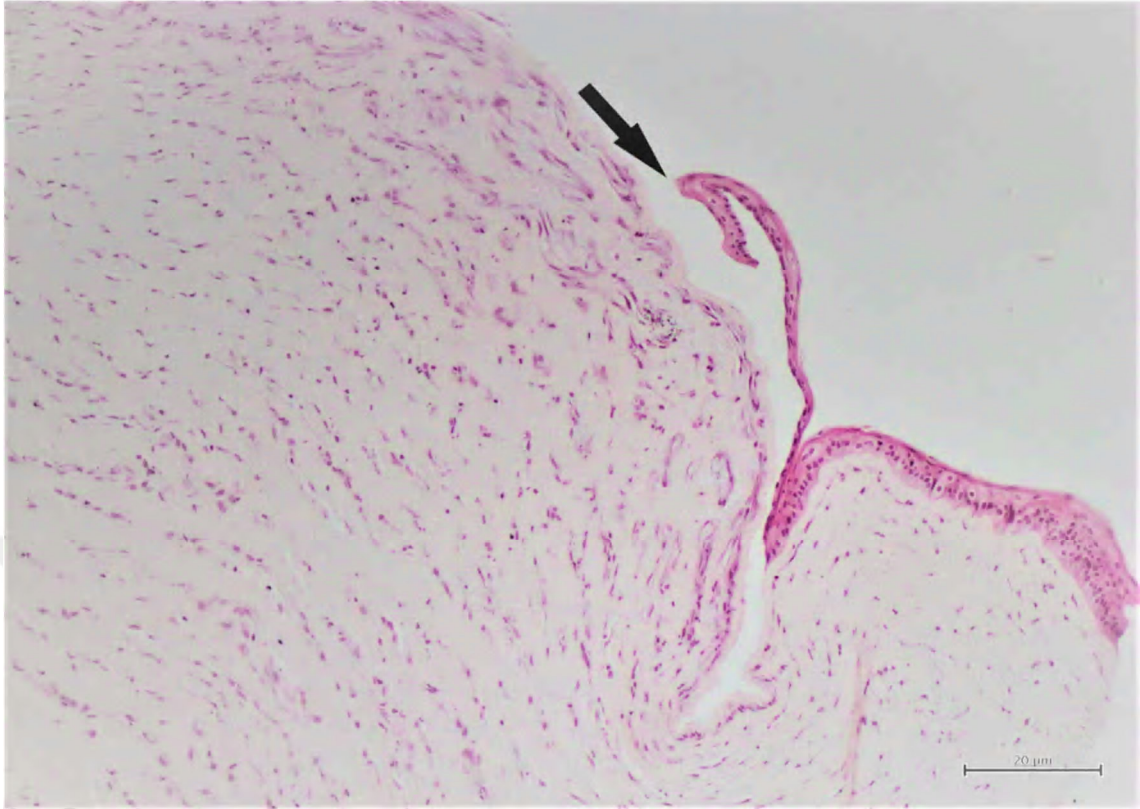
Stromal bağdokuda yangısal reaksiyon ile mononükleer hücre infiltrasyonları tespit edildi. Epitel tabakada nekrotik hücrelere rastlanılmadı. Anterior sınırlayıcı membran ile epitelial rejenerasyon diğer iki gruba göre daha düzensiz olarak şekillenmişti (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. Grup III, Düzensiz epitel rejenerasyonu (ok), stromada kollajen demetleri ile mononuklear hücre infiltrasyonları (ok başları) , HEx20μ

**Grup IV:** Epitelial rejenerasyonun tam olarak şekillenmediği yer yer tek katlı epitel hücrelerin düzensiz dizilişlerinin şekillendiği görüldü. Stromada hafif derecede kollajen artışı ve mononuklear hücre infiltrasyonları ile birlikte gevşek bir bağdokunun şekillendiği not edildi (Şekil 4.14).





Şekil 4.14. Grup IV Düzensiz epitel rejenerasyonu (ok), HEx20µ

Tüm gruplar karşılaştırıldığında en iyi epitelial rejenerasyon, kapillar damar proliferasyonu ve kollajen demetlerinin oluşumu Grup I de gözleendiğini bunu Grup II nin takip ettiğini görüldü. Grup III de iyileşmenin Grup I ve Grup II e göre daha az olduğu, Grup IV de iyileşmenin ise uygulama yapılan diğer gruplara göre en az şekillendiğini tespit edildi.

### 4.3. İstatiksel Bulgular

**Tablo 4.2.** 0., 1. ve 10. günlerde gruplardaki schirmer test seviyeleri (mm/dk)

Gruplar	Günler		
	0.Gün	1.Gün	10.Gün
Grup I	8±1	10,5±0,85	7,33±0,71 <sup>a</sup>
Grup II	8,17±0,7	10,83±0,7	8±0,68 <sup>a</sup>
Grup III	7,83±0,6	11±0,73	3,67±0,56 <sup>b</sup>
Grup IV	9,17±0,31	12,17±0,31	3,33±0,33 <sup>b</sup>
p Değeri*	p>0,5	p>0,5	p<0,001

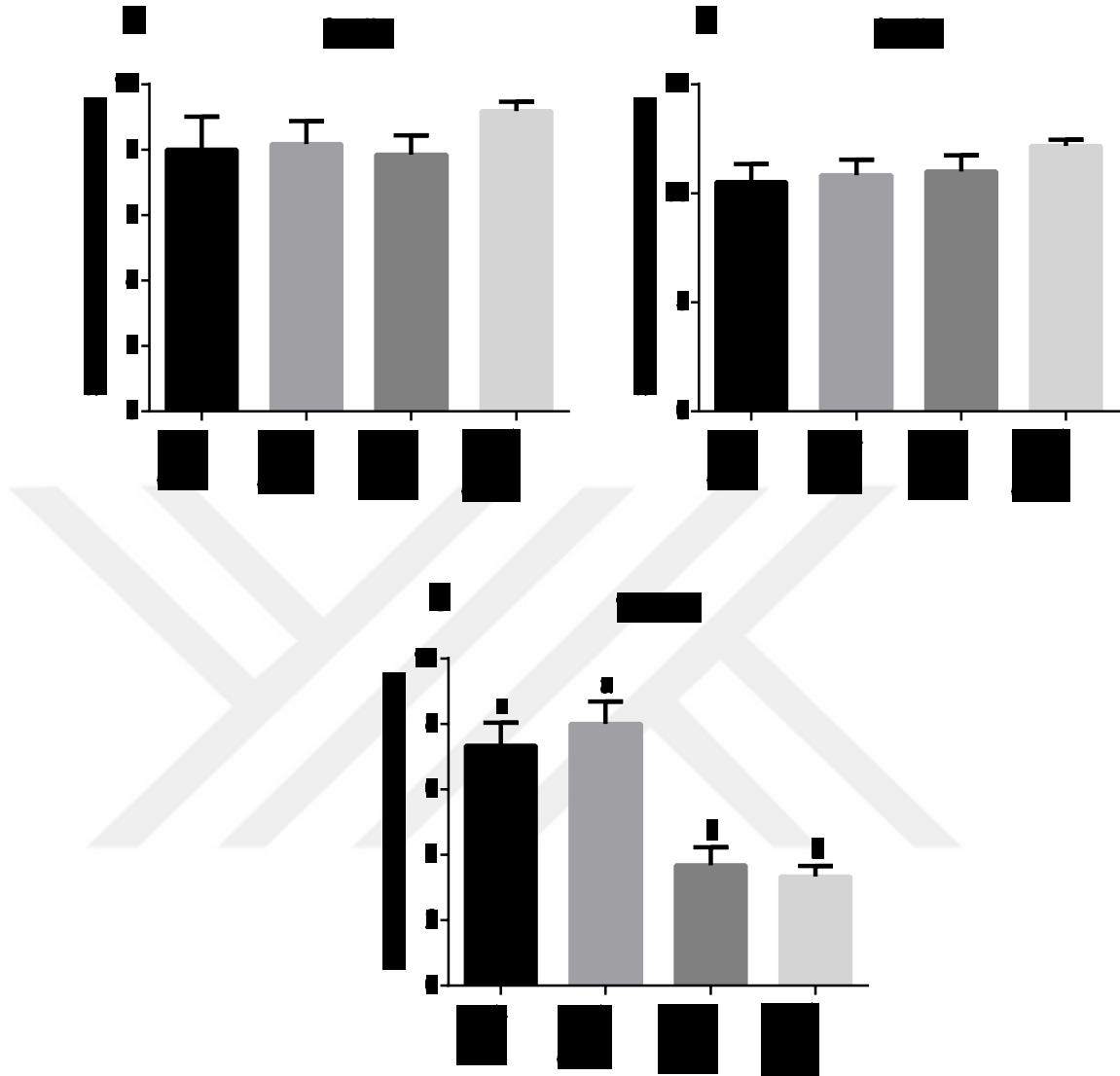
Veriler ortalama ± SEM olarak verilmiştir.

\* Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır.

İkili karşılaştırmalar için post hoc olarak Tukey's testi seçilmiştir.

Farklı üst simgeler (a–b) aynı sütundaki grup ortalamalarının farklılıklarını göstermektedir (p<0.05).

Schirmer test değerleri karşılaştırmasında gruplarda sağlıklı olarak kabul edildikleri 0.gün ve sol gözlere 1N NaOH uygulandığı 1.günde gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı (p>0,5) 10.günde ise grup I ile grup II nin grup III ile grup IV'e göre istatiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (p<0,001) (Tablo 4.2.).



Şekil 4.15. Bar grafiği sırasıyla (A) 0., (B) 1. ve (C) 10. Günlerde tavşandaki schirmer seviyesini göstermektedir. Hata çubukları standart hata ortalamasını vermektedir. Her barın üstündeki küçük harfler gruplar arası istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir;  $p < 0,05$ , Turkey's Post hoc test.

**Tablo 4.3.** 0., 1. ve 10. günlerde gruplardaki GİB değerleri (mm/Hg)

Gruplar	Günler		
	0.Gün	1.Gün	10.Gün
Grup I	12,5±0,99	26,67±0,95 <sup>ab</sup>	13,83±0,98 <sup>b</sup>
Grup II	12,5±0,89	24,83±1,08 <sup>ab</sup>	14±1,15 <sup>b</sup>
Grup III	12±1,03	27,17±1,08 <sup>a</sup>	18,67±0,49 <sup>a</sup>
Grup IV	12,67±1,17	22,33±1,28 <sup>b</sup>	20,5±0,43 <sup>a</sup>
p Değeri*	p>0,5	p<0,5	p<0,001

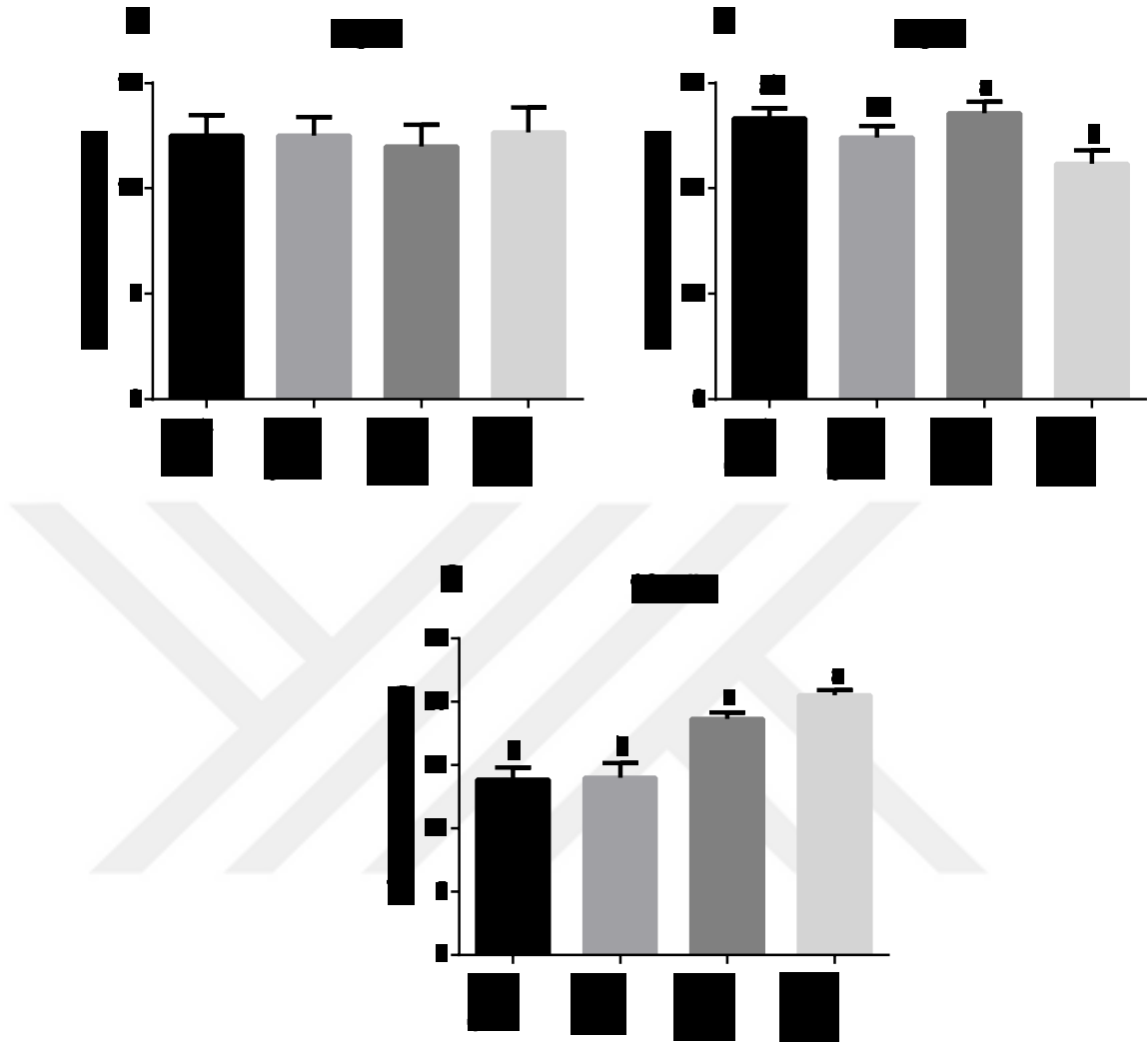
Veriler ortalama ± SEM olarak verilmiştir.

\* Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır.

İkili karşılaştırmalar için psot hoc olarak Tukey's testi seçilmiştir.

Farklı üst simgeler (a–b) aynı sütundaki grup ortalamalarının farklılıklarını göstermektedir (p<0.05).

GİB değerleri karşılaştırmasında gruplarda sağlıklı olarak kabul edildikleri 0.gün gruplararası istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı (p>0,5), sol gözlere 1N NaOH uygulandığı 1.günde gruplararası istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı (p<0,5) 10.günde ise grup I ile grup II nin grup III ile grup IV e göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (p<0,001) (Tablo 4.3.).



Şekil 4.16. Bar grafiği sırasıyla (A) 0., (B) 1. ve (C) 10. Günlerde tavşandaki GİB değerlerini göstermektedir. Hata çubukları standart hata ortalamasını vermektedir. Her barın üstündeki küçük harfler gruplar arası istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir;  $p < 0,05$ , Turkey's Post hoc test.

Tablo 4.4. Grupların flouressein boya tutma kapasitelerine göre derecelendirme

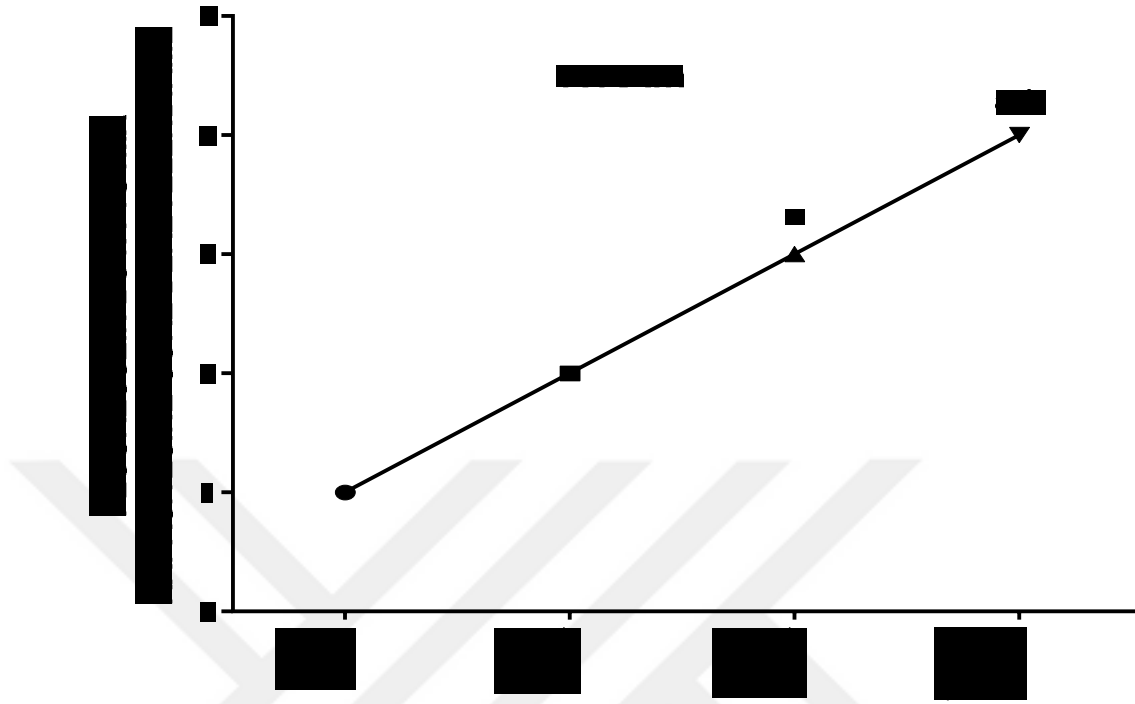
Olgular	0.gün	1.gün	10.gün
Grup I	0±0	4±0	0,5±0,5
Grup II	0±0	4±0	2±0
Grup III	0±0	4±0	3±0 <sup>a</sup>
Grup IV	0±0	4±0	4±0 <sup>a,b</sup>
p değeri <sup>*</sup>	>0,05	>0,05	<0,0001

Veriler ortalama±Standart hata ortalaması şeklinde verilmiştir.

\* İstatiksel farklılığı belirlemek için Kruskal–Wallis testi ve sonrasında ikili karşılaştırmalar için Mann Whitney U-testi post hoc olarak seçilmiştir.

<sup>a</sup> Aynı sütunda Grup I'e karşı anlamlı farklılığı belirtir.

<sup>b</sup> Aynı sütunda Grup II'ye karşı anlamlı farklılığı belirtir.



Çizgi grafiği, tavşanların 10.gündeki flouressein boya tutma kapasitesine göre derecelendirme göstermektedir. Her çizgi noktasındaki küçük harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir (Kruskal–Wallis testi ve sonrasında ikili karşılaştırmalar için

Mann Whitney U-testi post hoc olarak seçilmiştir).

<sup>a</sup> Grup I'e karşı anlamlı farklılığı belirtir.

<sup>b</sup> Grup II'ye karşı anlamlı farklılığı belirtir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Korneanın alkali ajanlara maruz kalmasıyla şekillenen alkali yanıklar kornea bütünlüğünü bozarak kornea ülserlerine neden olabilmektedir. Korneal ülserleri; birçok evcil hayvanda görülebilen ve sık karşılaşılan göz hastalıklarındandır. Kendiliğinden iyileşmeyen kornea epitelyumu ile stromaya ilişkin doku kayıplarıyla karakterize yangısal olgulardır. Bu sebeplerden dolayı korneada şekillenen ülserin primer olarak onarımı ve eski kapasitesine ulaştırılması gerekmektedir (103, 104).

Kornea ülserlerinin tedavisinde pek çok yöntem denenmiştir. Bu amaçla korneal doku yapıştırıcıları, konjunktiva greftleri, üçüncü göz kapağı flebi, keratoplasti, tarsorafı, yumuşak kontakt lens uygulaması, keratotomi, amniyotik membran uygulaması, ince bağırsak submukoza uygulaması, renal kapsül uygulaması, perikard uygulaması, kök hücre uygulamaları yapılmıştır. Son yıllarda ise trombositten zengin plazma yine kornea ülseri tedavisinde kullanılan yöntemlerden biri olmuştur (4, 14, 18, 48, 51, 56, 57, 60).

Kornea da kimyasal yanıklar alkali ve asit yanıklar olmak üzere iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Asit ajanlarının sebep olduğu yanıklar kornea katmanlarından olan epiteldeki proteinleri koagüle eder. Asit yanıkların çoğu ilerleyici olmadığı için epitel katmandan daha derine inmekten ziyade yüzeyseldir. Alkali yanıklar lipofilik karakterde olduğu için hücre zarındaki yağ asitlerini yıkılmayarak hücrenin ölümüne yol açmakla beraber sahip oldukları hidrosil iyonları hücre içindeki glikozaminoglikanları hidrolize eder ve kollajenin yıkımlanmasına yol açar. Doku olarak korneanın alkali yanıkları asit yanıklarına göre daha şiddetli seyredir. Kimyasal ajanlara maruz kalan gözde şekillenen hasarın şiddeti temas bölgesine, etkileyen kimyasal ajana, etkime süresine ve penetrasyon derecesiyle doğru orantılıdır. Kimyasal ajanların neden olduğu kazaların medikal sağaltımında 4 temel amaç vardır bunlar; 1-kimyasal ajanın ilgili bölgeden uzaklaştırılması, 2- reepitelizasyonun sağlanması, 3- kornea epitel hücreleri olan keratositler aracılığı ile kollajen dokunun yeniden oluşturulmasını sağlayarak yıkıcı



matriks metalloproteinaz (MMP) enzimlerinin baskılanması, 4- yangının kontrol altına alınmasıdır (104-109).

Çalışmamızda uygun anestezi altında kornea merkezine 3mm çapında filtre kağıdı yardımıyla 1 N NaOH uygulanan tüm deneklerin sıfırıncı gününde ani bir opaklaşma görüldü. Opaklaşmada alkalilerde bulunan hidroksil molekülü hücre membranının yağ asitli kısımlarında sabunlaşma yapmasıyla hücrenin ölümüne neden olur aynı zamanda katyonlar stromal kollajen ile glikozaminglikanların karboksil molekülleriyle tepkimeye girmesi sonucu bu yapılarda hidrasyon şekillenir (110).

Deneklere alkali ajan ile muamele edilmesinden sonra meydana gelen hasarı tespit etmek için flouressein boya kullanıldı. Flouressein boyası 10.gün de tekrarlandı, epitel kaybı olan bölgeler ve reepitelizasyon durumu belirlendi. Literatürdeki bilgiler de çalışmamızdaki gibi oküler yüzeyin durumunu belirlemek amacıyla flouressein boya kullanımını önermektedir (109, 111).

Kanda bulunan trombosit hemostazda önemli bir rol oynar, vasküler yaralanmalarda pıhtılaşmayı sağlar. Aynı zamanda trombositler, alfa granüllerinde depolanan büyüme faktörlerinin, hücre adezyon moleküllerinin ve sitokinlerin doğal rezervuarlarını oluşturur. Bu büyüme faktörleri ile mitojenik faktörler arasında epitel büyüme faktörleri, trombosit kaynaklı büyüme faktörleri, fibroblast büyüme faktörleri, insülin benzeri büyüme faktörleri ve transforme edici büyüme faktörleri bulunmaktadır. Ayrıca büyüme faktörü etkinliklerini arttıran fibrin, fibronektin ve vitronektin gibi önemli hücre adezyon molekülleri de içerirler (78). Bu moleküllerin yaralanma bölgesinde serbest bırakılması, yara iyileşmesinin başlatılmasına ve modüle edilmesine yardımcı olur (112) böylece hem yumuşak hem de sert dokularda doku onarımını teşvik eder. Otolog trombosit açısından zengin preparatlar, 1999'dan beri ağız ve maksillofasiyal cerrahisi (113-115), tendon onarımı (116), artiküler cerrahi (117) ve cilt ülserlerinde (118) başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Kornea yüzeyinin iyileşme süreci, diğer dokularda olduğu gibi, doku rejenerasyonunun ana biyolojik olayları ile etkileşime giren ve koordine eden karmaşık bir büyüme faktörü havuzuna bağlıdır. Trombositten zengin plazma, trombositten zengin fibrin ve konsantre büyüme faktörü gibi konsantre trombosit içeren kan kaynaklı ürünlerde, epidermal büyüme faktörü (EBF), transforme edici büyüme faktörü beta (TEBF-β1), keratinosit büyüme faktörü (KBF), hepatosit büyüme faktörü (HBF), trombosit kaynaklı

büyüme faktörü (TKBF) ve fibroblast büyüme faktörü (FBF) gibi büyüme faktörleri yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunda yer alan mekanizmaları düzenler (119-127).

Cerrahi olarak kornea ülserlerin tedavisi genellikle zordur. Bu amaçla çeşitli tedaviler denenmiş ve büyüme faktörlerinin kullanımının önemli bir potansiyel rolü olduğu gösterilmiştir (128-136). Trombosit granüllerinde bulunan çok sayıda büyüme faktörü için korneal reseptörlerin varlığı gösterilmiştir (137). Bu büyüme faktörlerinin migrasyon, mitoz ve kornea hücrelerinin farklılaşmasının yanı sıra hücre dışı matriks üretimini desteklemedeki etkisi de gösterilmiştir (138). Bu kanıt ışığında hızlı iyileşme ve doku rejenerasyonunun gerekli olduğu çoklu klinik durumlarda konsantre trombosit preparatları kullanılmıştır (139, 140). Çalışmamızda bu bilgilerden yola çıkarak tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımında trombosit zengin fibrin membran ile konsantre büyüme faktörü membranı tekniklerinin iyileşmeye olan katkılarının araştırılması amaçlanmıştır.

Kornea ülserinde travma sonrası iyileşme süreci epitel lezyonundan hemen sonra interlökin 1 (IL-1), tümör nekroz faktörü alfa (TNF-A) gibi sitokinlerin ve büyüme faktörlerin sekonder salınımıyla başlar (141). Bu yüzden, hastalar için daha iyi bir prognoz sağlanması amacıyla, Marquez ve ark. (142), Geremicca ve ark. (143) ve Panda ve ark. (144) tarafından oküler ülserlerde, trombosit konsantrelerinin fibrin iskelet yapısının bir membran haline getirilerek kullanımının uygun olduğu rapor edilmiştir. Genel olarak, kornea ve konjunktivanın tamir ve epitelizasyon süresinde azalma ve daha iyi korneal berraklık ve görme keskinliği sağladığı düşünülmektedir (142). Çalışmamızda bu bilgilere paralel olarak tedavide trombosit konsantrelerinden TZFM uyguladığımız Grup I ve KBFM uyguladığımız Grup II'deki deneklerdeki epitelizasyon ve korneal berraklık yönünden tarsorafi uygulanan Grup III ile %0,9 luk serum fizyolojik uygulanan Grup IV'e göre tatmin edici görüldü. Trombosit konsantrelerinden çalışmamızda kullandığımız ve klinik olarak en tatmin edici iyileşmenin görüldüğü TZFM ile KBFM'yi kendi içlerinde kıyasladığımızda ise TZFM uygulanan Grup I'deki deneklerin KBFM uygulanan Grup II'deki deneklerden epitelizasyon ve korneal berraklık yönünden daha üstün olduğu tespit edildi. Klinik sonuçlarımızın histopatolojik sonuçlarla da uyumlu olduğu tespit edildi.

Choukroun ve ark. (145) tarafından tarif edilen trombosit zengin fibrin ile Sacco ve ark. (146) tarafından tarif edilen konsantre büyüme faktörü hemostaz ve yara iyileşmesinde kilit rol oynayan birçok büyüme faktöründen ve sitokinlerden oluşan trombosit konsantreleridir. Bu büyüme faktörlerinin, spesifik hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, göçünü ve matriks sentezini teşvik ettiği bilinmektedir (147, 148).

Çalışmamızda tüm gruplara uygun anestezi prosedürleri altında 1 N NaOH emdirilmiş 3 mm çapındaki filtre kağıdı sol göz kornea merkezine 1 dakika boyunca bekletildi. Sonrasında filtre kağıdı uzaklaştırılarak ilgili göz %0,9 luk serum fizyolojik ile yıkandı. Kornea hasarını tespit etmek amacıyla literatürlerde de belirtildiği gibi flouressein boyama uygulandı (109, 149, 150). Tüm gruplarda flouressein boya uygulaması boyadığı alana göre 4'ten 0'a kadar derecelendirildi. Buna göre 4 en çok boyama alanı (iyileşme olmayan) 0 ise hiç boya almayan iyileşmiş doku olarak kabul edildi. Çalışmamızda %80 ve üzeri boya almayan bölgeler iyileşmiş doku olarak kabul edildi. Buna göre derecelendirmede 0 ve 1 bu grupta yer aldı. Deneysel olarak oluşturulan kornea alkali yanık ilk günde tüm gruplarda 4 olarak derecelendirildi. Onuncu günde tekrarlanan flouressein boyama uygulamasında en anlamlı iyileşme TZFM uygulanan grupta görüldü, gruptaki değerlendirmeye göre değerler 0-1 arasındaydı. KBFM uygulanan grupta değerler 2 olarak gözlemlendi. Geçici tarsorafi uygulanan grupta değerler 3 olarak gözlemlendi. Sadece %0,9luk serum fizyolojik uygulan grupta ise değerlerin 4 olduğu ve iyileşmenin olmadığı not edildi.

2007 yılında yapılan bir çalışmada Alio ve ark. (151) kornea ülseri olan hastaların %92'sinde trombosit zengin plazma tedavisinden sonra inflamasyon ve oküler ağrıyı azalttığı gösterilmiş ve hastaların %50'sinde kornea ülserlerinin iyileştiği görülmüştür. Yine 2013 yılında Alio ve ark. (152) perfore kornea ülseri olan 11 hastada E-PRP ile kombine otolog fibrin membran uyguladıkları çalışmalarında tüm hastalarda perforasyon kapatılmış hiçbir hasta da enfeksiyon, yangı, ağrı, rahatsızlık ve herhangi bir komplikasyonla karşılaşmamıştır. Otolog fibrin membran 3 ila 5 gün içinde kaybolmuştur. 2007 yılında Rezende ve ark. (153) ayrıca, geleneksel tedavilere yanıt vermeyen ve trombosit konsantrasyonu kullanımından sonra önemli klinik iyileşme gösteren bir kornea ülser vakası bildirmiştir. Lopez-Plandolit ve ark. (154) prospektif bir çalışmada, 18 gözde trombosit konsantresinin etkisini değerlendirmişlerdir.

Sonuçlar, epitelyal defektin %85'inde (20 gözün 17'si) tam olarak iyileştiğini göstermiştir. Enfeksiyon ve keratit sonrası kalıcı epitel defektleri olan hastalarda karşılaştırmalı, retrospektif ve nonrandomize bir çalışmada, Kim ve ark (155) benzer sonuçları başarıyla bildirmiştir. Oküler yanıkların tedavisinde, subkonjunktival enjeksiyonla trombosit zengin plazma uygulanan bir çalışmada, enjeksiyonun korneal iyileşme süresinde ve konjunktival sikatrizasyonunda önemli bir istatistiksel azalma olduğu ifade edilmiştir (156). Anitua ve ark. (157) büyüme faktörlerinden zengin plazma ile tedavi edilen tüm hastalarda korneal perforasyonun istikrarlı bir kapanış gösterdiğini ve bu tedavi ile hastaların hiç birinde enfeksiyon, yangı veya ağrı görülmediğini kaydetmiştir. Yine aynı çalışmada gözyaşı hacminde belirgin bir iyileşme ile tedavisinden sonra oküler boyamada azalma gözlenmiştir. Sanchez-Avilla ve ark. (158) farklı oküler patolojilerde (korneal ve konjunktival) büyüme faktörlerinden zengin plazma (BFZP) membranının cerrahi olarak, güvenliliği ve etkinliği hakkında bir çalışma yapmışlardır. Nörotrofik korneal ülser (NCU), persistant epitelyal defektlerin (PED), travmatik korneal perforasyon, başarısız keratoplasti, bant keratopati ve pterijyum gibi farklı cerrahi patolojileri olan toplam 15 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışma daha önce kortikosteroidler, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, yapay gözyaşları, terapötik kontakt lensler (TKL) gibi medikal tedaviler ile AMT, keratoplasti gibi cerrahi girişimlerinde başarısız olan hastalardan oluşmaktadır. Sonuçlar çalışmaya katılan hastaların %87'sinde tam bir iyileşme göstermektedir ve BFZP membran ile tedavi edilen tüm hastalarda hiçbir yan etki görülmediği bildirilmiştir. Tüm bu çalışmaların ortak noktası, yapılarında normal kandan daha fazla büyüme faktörleri içermeleridir. Büyüme faktörleri hasarlı dokuda transmembran reseptörlerine bağlanır ve bu reaksiyonlar bir dizi hareketi tetikler: endojen sinyal proteininin aktivasyonu, hücre proliferasyonundan sorumlu genlerin ekspresyonu, hücre matrislerinin oluşumu ve kollajenin sentezi. Bütün bu mediatörler hücre farklılaşması, proliferasyon ve migrasyon, anjiyogenez ve aynı şekilde hasarlı dokunun rejenerasyon sürecini başlatır (159). Bu sayede çeşitli kornea lezyonlarında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda iyileşme üzerinde ciddi etkileri olan kan kaynaklı ürünlerden TZFM ve KBFM kullanıldı. Yaptığımız tek uygulamada dahi 10 gün içerisinde kornea iyileşmesi üzerinde büyük etkileri olduğu görüldü. Bunun yanı sıra TZP ve BFZP gibi sodyum sitrat kullanımı gerektirmeyen TZFM ve KBFM'nin sadece hastanın kendi kanından

elde edilmesi büyük kolaylık sağlarken pratik, hızlı ve maliyet açısından uygun olmaları da bir diğer önemli avantajlarıdır.

Kim ve ark. (13) 2014 yılında yaptıkları çalışmada TZF ve KBF nün içerik olarak hemen hemen aynı bileşenlerden oluştuğunu fakat KBF'nin daha yüksek gerilme mukavemeti ve viskozitesi nedeniyle büyüme faktörlerini proteolizden daha iyi koruduğunu ortaya koymuşlardır. Can ve ark (160) sundukları çalışmada TZF membranındaki büyüme faktörlerinin ekspresyonunun postoperatif 7. günde azalıp, kaybolduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda TZFM uygulanan grupta 10. günün sonunda geçici tarsorafisi açıldığında membranların kaybolduğu, KBFM uygulanan grupta ise 10.günün sonunda sadece konjunktivalara sabitlenen 6/0 nylon sütürün çevresinde membran kalıntılara rastlanıldı. Ayrıca, trombositler antibiyotik etkisi olan antibakteriyel proteinler salgılar (159), çalışmamızda bu bilgiyle paralel olarak TZFM ve KBFM uygulanan gruplarda 10 gün boyunca herhangi bir yangı ve enfeksiyon bulgularıyla karşılaşılması trombositlerin antibakteriyel protein salgılamasına bağlanabilir. Geçici tarsorafisi grubunda üç tavşanda ve %0,9'luk serum fizyolojik uygulanan grupta bulunan tüm tavşanlarda göz yaşı akıntısı ve enfeksiyon bulguları gösterdiği için ofloksasin %0,3 (Exocin, Allergan) damla sabah-akşam 2'şer damla şeklinde 5 gün boyunca kullanıldı.

Feng ve ark.(161)'na göre oküler yüzey rekonstrüksiyonu için kullanılacak materyalin şu özelliklere sahip olması gerekir; transparan, biyolojik olarak uyumlu, oküler yüzey dokularına dikilebilmesi için yeterli biyomekanik sağlamlıkta ve düşük maliyetle tekrar üretilebilir olmalıdır. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda kullandığımız TZFM ile KBFM, mikro ve makro mimarisi yönünden hem oküler yüzeyin rekonstrüksiyonu için ideal bir substrattır hem de sağlam yapısından dolayı rahatlıkla dikiş atılabilir materyallerdir. Aynı zamanda hastanın kendi kanından elde edildiği için biyolojik olarak uyumlu ve düşük maliyetlidir. Bu sonuçlar oküler yüzey bozukluklarında TZFM ve KBFM kullanılmasını son derece cazip kılmaktadır. Bu anlamda sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri olan konjunktival greflerin korneada görmeye engel olabilecek kalıntılar (korneal lökom) bırakabileceği bildirilmektedir (56). Çalışmamızda TZFM ve KBFM da korneal lökomlara rastlanılmamıştır. Ayrıca hem kornea ülseri hem de geniş konjunktiva kaybı bulunan olgularda, korneaya konjunktival greft uygulaması yetersiz kalmaktadır, bu da konjunktival greftlerin bir diğer dezavantajıdır. Bu durumdaki bir

hastaya kendi kanından elde edilen TZFM hem konjunktivaya hem de korneaya rahatlıkla uygulanabilir olması çalışmamızın bir diğer önemli avantajlarından biridir.

Can ve ark. (160) konjunktival yaralanmalar üzerinde yaptıkları çalışmada kullandıkları TZFM'nin biyolojik ve fiziksel özellikleri nedeniyle yara iyileşmesini desteklediğini belirtmişlerdir. Ayrıca iyileşmenin erken safhasında, TZF membranının, normal yara iyileşme döngüsünden daha yüksek miktarlarda büyüme faktörlerinin salınmasını teşvik ettiğini ileri sürmüşlerdir. Biz de çalışmamızda deneysel alkali yanık oluşturulan korneaya TZFM ve KBFM uygulayarak iyileşme üzerinde tatmin edici sonuçlar aldık. Ayrıca uygulanma kolaylığı, operasyon süresinin kısalığı, iyileşmenin hızlı olması bakımından değerlendirildiğinde TZFM ve KBFM nin avantajlı olduğu görüldü.

Oküler yüzeyin rekonstrüksiyonu için kullanılan bir diğer yöntem ise amniyotik membran transplantasyonudur (AMT). Amniyotik membran yirminci yüzyılın başlarından itibaren yaygın olarak kullanılmaktadır. Aslında, 1940'lı yıllarda oftalmoloji alanında ilk kez alkali yanık geçirmiş olan hastalarda kullanılmıştır. Amniyotik membran persistent epitelyal defektlerin, nörotrofik ülserlerin, kimyasal ajanların neden olduğu korneal hasarın, pterijyumun ve korneal yüzey rekonstrüksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (51, 158, 162, 163).

Amniyotik membran TZFM ve KBFM gibi iyileşme için önemli olan epitel büyüme faktörü ve keratosit büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerini serbest bırakarak epitelizasyonu destekler. Ayrıca, kronik dönemde TEBF-beta sinyalleşmesinin inhibisyonu ile anti-enflamatuar ve antiscarring etkileri vardır. Amniyotik membran cerrahi olarak uzun yıllardır geçici veya kalıcı bir greft olarak kullanılırken hücrel proliferasyon özellikleri nedeniyle, aynı zamanda epitel limbal kök hücre kültürleri için iskele olarak da kullanım alanı bulmuştur (158, 164, 165). Fakat bazı göz çalışmalarında amniyotik membran transplantasyonu (AMT), doku yapıştırıcıları (kollajen veya fibrin) ve hayvanlardan elde edilen doku greftlerinin tedavi etmede yetersiz kaldıkları görülmüştür (161). Nörotrofik ülserlerin tedavisinde, Khokhar ve ark. (166) AMT' yi kontakt lens, tarsorafi gibi geleneksel tedavilerle karşılaştırıldığında iyileşme açısından anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Amniyotik membranın işlenmesi ve korunma yönteminin biyolojik özelliklerini ve buna bağlı olarak muhtemelen etkililiğini değiştirebileceği gösterilmiştir (167). Ayrıca amniyotik membran yapısında hem anti-inflamatuar hem de proinflamatuar sitokinler ile ters etkileri olan diğer molekülleri

içerir. Bununla birlikte, amniyotik membran kalitesindeki değişkenliklerden dolayı düzensiz bir biyolojik dokudur (168). Biyolojik bir kontaminasyona maruz kalma riski, standart olmayan üretim protokolleri, hazırlanmasının komplike ve pahalı olmasına ek olarak amniyotik membranın üretimi için bir doku bankasına ihtiyaç duyulması, donör tarafından viral enfeksiyon bulaşma riski ve depolama ihtiyacı gibi dezavantajlara sahiptir (169). Ayrıca, amniyotik membran doğal ama allojenik bir greft olduğundan immünolojik yanıt önemli bir sorundur. Bununla birlikte, TZF membran ile KBF membran otolog olup hastanın kendi kanından hazırlanır ve bu sayede ilgili dokuda immünolojik reddetme riski yoktur. TZF membran ile KBF membranın hazırlanması basit ve pratiktir. Birkaç alet ile yapılabilir. Bu süreç karmaşık ve pahalı ekipman gerektirmez. Ayrıca, kan örnekleri kolaylıkla alınabilir ve TZF membran ile KBF membranı, kan örneklerinin santrifüj edilmesinden sonra kısa bir sürede kolaylıkla hazırlanabilir.

Büyüme faktörleri oküler yüzeyin homeostazını korurlar. Bu nedenle eksikliğinde kan kaynaklı ürünlerde bulunan büyüme faktörleri ve sitokinlerin karışımı rejenerasyon sürecinde önemli bir rol oynar. Bilindiği üzere moleküllerin çoğu ilk saatte salgılanır ve daha sonra trombositler 7 gün boyunca sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgırlar (7 ila 10 gün olan kan trombositlerinin ortalama yaşam süresi ile ilgilidir (170-172)). Bu sebeple çalışmamızda deneklerden alınan kanlar bekletilmeden hemen santrifüj edildi ve elde edilen membranlar yine aynı hızla korneada deneysel alkali yanık oluşturulan gözlerin konjunktivalarına 6/0 nylon ip kullanılarak sabitlendikten sonra aynı göze son işlem olarak geçici tarsorafi uygulandı. Literatür bilgilerine göre benzer içeriklere sahip olan TZFM ve KBFM'de her iki grupta da operasyon aşamaları kan alma, ürün elde etme ve elde edilen ürünün uygun anestezi prosedürleri altında ilgili göze uygulanmasındaki tüm aşamalar olası uygulama farklılıklarını ortadan kaldırmak için aynı kişi tarafından gerçekleştirildi.

Alio ve ark. (152) yaptıkları çalışmada oküler yüzeye bağlı otolog fibrin zarını ve pıhtıyı korumak ve göz kapağı hareketlerinden kaçınmak için hastalarına geçici tarsorafi uygulamışlardır. Böylece yara iyileşmesinin kolaylaştırdığını ileri sürmüşlerdir. Aynı zamanda, hastanın rahatsızlığının da azaldığını belirtmişlerdir. Geçici tarsorafinin bir diğer uygulama amacının da herhangi bir enfeksiyon veya yangı belirtisini tespit edebilecek kadar göz kapaklarının açılmasına izin vermesi olduğunu belirtmişlerdir.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda biz de çalışmamızda TZFM ve KBFM uyguladığımız gruplara geçici tarsorafi uyguladık bu sayede göz kapağı hareketlerinden kaçınıldı deneklerin ön veya arka extremiteleriyle membrana erişimi engellendi ve herhangi bir enfeksiyon ya da yangı belirtisini tespit edebilecek kadar göz kapaklarının açılması sağlanarak kontrolleri kolaylaştırdığı görüldü.

Can ve ark. (160) yaptıkları çalışmada TZF membranının konjunktival yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin biyolojik ve fiziksel özellikleri nedeniyle destekleyici olduğunu yara iyileşmesinin erken safhasında, TZF membranının, normal yara iyileşme döngüsünden daha yüksek miktarlarda büyüme faktörlerinin salınmasını teşvik ettiği ileri sürmüştür. Çalışmamızda 10. günde yaptığımız muayeneler sonucunda TZFM ve KBFM uyguladığımız Grup I ve II'deki deneklerin iyileşme açısından Grup III ve Grup IV ile karşılaştırdığımızda arada ciddi bir farkın bulunduğu tespit edildi. TZFM ve KBFM nin normal yara iyileşme döngüsüne kıyasla daha yüksek miktarlarda büyüme faktörlerinin salınmasını teşvik ettiği görüldü.

Kornea, konjunktiva, meibomian bezleri, goblet hücreleri ve lakrimal bezler gibi çeşitli oküler yapılar, gözyaşı filmi kompozisyonuna ve dolayısıyla normal korneal bütünlüğün korunmasına katkıda bulunur. Bütün bu bileşenler nöral, hormonal ve kimyasal geri bildirim mekanizmaları birbiriyle ilişkilidir (173, 174). Bu bileşenlerin herhangi birinin değiştirilmesi, gözyaşı filminin bileşimi ve korneal dokuların homeostazisine müdahale ederek bu karmaşık sistemi etkileyebilir ve kuru göz sendromu gibi bir kornea bozukluğuna yakalanma riskini artırır (175, 176). Gözyaşı filmi, oküler yüzey epitel sağlığının korunmasında kritik bir işlev görür. Kurumayı önler ve epidermal büyüme faktörü (EBF), fibronektin, vitamin A ve nörotrofik büyüme faktörü gibi antibakteriyel, besleyici ve epiteliotrofik faktörler sağlar (177). Gözyaşı üretiminin azalması veya aşırı gözyaşı buharlaşmasının neden olduğu gözyaşı eksikliği osmolariteyi artırabilir ve oküler yüzey üzerinde zararlı etkileri olabilir. Hiperosmolarite, azalmış hücre hacmi, DNA onarım sistemlerinde hasar, artmış apoptoz ve artmış oksidatif stres de dahil olmak üzere epitel hücreler üzerindeki olumsuz etkilere sahip kuru göz sendromunun temel patojenik mekanizması ile ilişkilidir (178). Ayrıca, metalloproteinaz-9 (MMP-9), tümör nekrozu faktör alfa (TNF-a) ve mitojen ile aktive olan protein kinaz (MAPK) içeren çoklu inflamatuvar olayları uyarır. Oküler yüzeydeki proinflamatuvar sitokinlerin/kemokinlerin aşırı ekspresyonunun, interlökin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IL-22,



tümör nekroz faktörü  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), kemokin (C-Cmotif) ligand 2 (CCL2) ve matris metalloproteinazları dahil olmak üzere kuru göz belirtileri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Kurumaya ek olarak, kuru göz ile ilişkili semptomlar arasında ağrı, yanma hissi, göz yorgunluğu, kızarıklık, bulanık görme, akıntı, kontakt lens intoleransı, ışığa duyarlılık ve oküler bölgede bulunan yabancı cisim hissi sayılabilir (178-182). Koç ve ark. (183) Yeni Zelanda beyaz tavşanlarına schirmer test-1 uyguladıkları çalışmalarında ortalama STT-1 değerleri  $7,91 \pm 3,56$  mm/dk olarak ölçmüşlerdir. Erol ve ark. (35) iki gruba ayırdıkları sağlıklı 20 adet Yeni Zelanda tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada I.gruptaki (n=10) tavşanların ortalama STT-1 değerleri sağ gözde  $13,25 \pm 0,70$  mm/dk sol gözde  $12,12 \pm 0,70$  mm/dk II.gruptaki (n=10) tavşanların ortalama SST-1 değerleri sağ gözde  $7,75 \pm 0,70$  mm/dk, sol gözde  $8,12 \pm 0,70$  mm/dk olarak saptamışlardır. Bir başka çalışmada sağlıklı Yeni Zelanda tavşanlara uygulanan schirmer test sonucunda sol gözler ortalama  $8,69 \pm 1,65$  mm/dk ölçülmüştür. Kahraman E.'nin (185) yaptığı çalışmasında tavşanlarda keratokonjuntivitis sikka oluşturmak için 14 gün boyunca günlük olarak benzalkonyum klorür (BAK) uygulanmış ve 14.günün sonunda schirmer test sonucunda sol gözde ortalama değer  $4,47 \pm 1,4$  mm/dk olarak saptamıştır. Başlangıç değerleri (sol göz  $8,69 \pm 1,65$  mm/dk) ile kıyaslandığında istatistik açıdan anlamlı bulmuş ve tavşanlara KSS teşhisi konulmuştur. ( $p < 0,001$ ) (184). Çalışmamızda aynı zamanda STT-1 ile TZFM ve KBFM kullanımı arasındaki ilişki de incelenmiştir. Bu amaçla çalışmamızda klinik olarak sağlıklı gözlere sahip 24 adet Yeni Zelanda tavşanına STT-1 uyguladık. Gruplar schirmer test açısından kendi aralarında değerlendirildiğinde Grup I'deki deneklerin sıfıncı günde schirmer test ortalama değeri  $8 \pm 1$  mm/dk 1.gün  $10,5 \pm 0,85$  mm/dk ve 10.gün tekrarlanan schirmer test sonucunda ortalama değer  $7,33 \pm 0,71$  mm/dk, Grup II'deki deneklerin sıfıncı gün  $8,17 \pm 0,7$  mm/dk, 1.gün  $10,83 \pm 0,7$  mm/dk ve 10.günde  $8 \pm 0,68$  mm/dk, GrupIII'deki deneklerin sıfıncı gün  $7,83 \pm 0,6$  mm/dk, 1.gün  $11 \pm 0,73$  mm/dk ve 10.günde  $3,67 \pm 0,56$  mm/dk ve GrupIV'deki deneklerin sıfıncı gün  $9,17 \pm 0,31$  mm/dk, 1.gün  $12,17 \pm 0,31$  mm/dk ve 10.günde  $3,33 \pm 0,33$  mm/dk olarak ölçüldü. Bu sonuçlara bakarak Grup I ve Grup II teki deneklerde 0. ve 10.gün de ölçülen schirmer test değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamasına rağmen Grup III ve Grup IV teki deneklerde sıfıncı ve 10. gün de ölçülen schirmer test değerleri arasındaki fark istatistik açıdan anlamlı bulundu ve her iki grupta da 10. günün sonunda KKS şekillendiği görüldü.

KKS' nin standart tedavisinde yapay gözyaşları, topikal kortikosteroid ve siklosporinler kullanılmıştır (185-187). Topikal kortikosteroidler hücreyel infiltrasyonu azaltmanın, vasküler geçirgenliği geri kazanmanın ve kemotaksiyi inhibe etmenin yanı sıra, kortikosteroidler fibroblast proliferasyonunu azaltır, kılcal dilatasyonu azaltır ve kollajen birikimini bastırır. İmmun aracılı inflamatuvar hastalıkların tedavisinde son derece etkili olarak kabul edilirler. Bununla birlikte, etkinliği kısa süreli kullanım (4 hafta veya daha az) ile sınırlıdır, çünkü uzun süreli kullanım göz içi basıncına ve katarakt oluşumuna neden olur (182, 188-190). Siklosporin, KKS için uzun süreli bir tedavi olarak kortikosteroid yerine tercih edilmektedir. Siklosporin A, ilk olarak 2002 yılında FDA tarafından, gözyaşı üretimini arttırarak ve 2015 te Avrupa Birliđi tarafından KKS'yi tedavi etmek için onaylanan topikal bir immünomodülatördür (186, 187). Bu ilaç, anti-inflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırırken, hücre aracılı reaksiyonları inhibe eder ve proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını önleyerek anti-inflamatuvar özellikleri ortaya çıkarır (186). Çoklu çalışmalar, gözyaşı üretimini ve konjunktival goblet hücre yoğunluğunu arttıran koşullar altında siklosporin A'nın topikal uygulaması ile ilişkili minimal yan etkiler bildirilmiştir (182, 187, 191). KKS tedavisinde kullanılan kortikosteroid ve siklosporin A'nın istenmeyen yan etkilere sahip olması nedeniyle şüana kadar bilinen hiçbir yan etkisi olmayan TZF ve KBF gibi kan kaynaklı otolog ürünlerin kullanımının daha faydalı ve avantajlı olacağı düşünölmektedir.

KKS tedavisinde kullanılan bir diğer yöntem ise yapay gözyaşlarıdır. Bunların ana fonksiyonları, nemi arttırmak ve oküler yüzeyin yağlanması sağlamaktır. Osmolarite, viskozite, elektrolit içeriği, koruyucu madde ve çözönen kombinasyonlar bakımından farklı olan çeşitli yapay gözyaşı formölasyonları mevcuttur (192, 193). Yapay gözyaşları hücre hacmini geri kazanmak, hücre stresini azaltmak ve hiperosmotik koşullar altında ortaya çıkan inflamatuvar reaksiyonları azaltmak amacıyla günümüzde osmoprotektanlar (hücre içi ozmotik potansiyelin düzenlenmesi) olarak formüle edilmiştir (194). Bu amaçla polipaterniyum-1 koruyucu ile propilen glikol (PG), polietilen glikol (PEG) ve hidroksipropil guar (HP-Guar) kullanır, bu da oküler yüzeyin yangısını ve KKS semptomlarının şiddetini azaltmıştır (195). Benzer şekilde, yine göz damlası olarak kullanılan hiyalüronik asit (HA) bilipid zarlarını stabilize eder ve labil proteinleri kurutmadan korur ve oksidatif hasarı önler (196, 197). Fakat yapay gözyaşlarının ciddi dezavantajları da vardır bunlar büyüme faktörleri,

immünoglobulinler, albümin ve vitaminlerin yanı sıra lipidler, tuzlar, proteinler ve hidrokarbonlar gibi doğal gözyaşındaki bazı bileşenlerinin eksikliğidir (182, 194, 197, 198). Yapay gözyaşlarının dezavantajlarına ek olarak koruyucular ve diğer potansiyel toksik ve alerjenik bileşikler içermesidir. Göz damlalarında en sık kullanılan koruyucu madde olan benzalkonyum klorür (BAK) gözyaşı filmlerini bozarak hiperosmolariteye katkıda bulunabilir. BAK indüklenen hasar, goblet hücrelerinin, korneal epitel bariyerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımı, oksidatif stres ve apoptoz dahil olmak üzere daha derin oküler dokuların yok edilmesine kadar uzanır (198). KKS'nin medikal tedavilerinde bu faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. KKS'nin tedavisinde kullanılan bir diğer yöntem otolog serum (AS) dur. Otolog serum tam kanın berrak sıvı kısmıdır. 1984'te Fox ve ark. (199) ilk kez Sjögren sendromunda otolog serum (AS) uygulamasının yararlı etkilerini bildirmişlerdir. Otolog serum oküler yüzeyde sadece bir yağlayıcı olarak işlev görmekle kalmaz, aynı zamanda içerdiği A vitamini, EBF, fibronektin ve çeşitli sitokinler de dahil olmak üzere hasar görmüş bir epitelin iyileşmesini sağlar (197, 198, 200-203). AS'nin gözyaşında da bulunan bir çok maddeyi barındırdığı bildirilmiştir; EBF, TEBF-  $\beta$ , fibronektin ve A vitamini de dahil olmak üzere bu faktörlerin bazıları, serumda daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu tespit edilmiştir (204). EBF, TEBF-  $\beta$ , fibronektin ve A vitamini, kornea epitel hücrelerinin proliferasyonu ve bakımı için esas maddelerdendir ve oküler yüzey bozukluklarının tedavisinde yararlı olduğu kanıtlanmıştır. EBF travmatik epitel aşınmalarını iyileştirmede yararlı olduğunu kanıtlanmış ve anti-apoptotik özelliği ile reepitelizasyonu kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür (126, 205-207). TEBF-  $\beta$  sitokin ailesi, yara iyileşmesinde fibroblastların aktivasyonundan sorumludur (208). Fibronektin, yara iyileşmesi sürecinde korneal epitel hücrelerinin göç ettiği geçici bir matris olarak işlev görmesi nedeniyle hücre göçünün en önemli bileşenlerinden biridir (208, 209).

A vitamininin normal epitel hücre büyümesi için önemli bir faktördür ve eksikliğinde oküler yüzey ve diğer organların kserosisine yol açabilir (210, 211).

Otolog serum ve trombosit konsantresi kanda bulunan çeşitli büyüme faktörlerine ve benzer bileşimlere sahip oldukları görülmüştür (157, 214). Bununla birlikte, otolog serum, immünolojik bozukluklar veya hastalıkları olan hastalara zarar verebilen lökositlerden ve monositlerden türetilen proinflamatuvar sitokinleri içerir (203, 213). Trombosit konsantresi, inflamasyonun bu immünoglobülinlerini içermemekle beraber

hücrel iletişim ve farklılaşmayı sağlamaktadır (214). Kim ve ark. (155) PED'li hastaları dahil ettikleri çalışmalarında TZP ve AS'de transforme edici büyüme faktörü (TGF)  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, epidermal büyüme faktörü (EBF), vitamin A ve fibronektin konsantrasyonları analiz edilip karşılaştırılmıştır. TZP ve AS'de TEBF- $\beta$ 1, TEBF- $\beta$ 2, EBF, A vitamini ve fibronektin konsantrasyonları istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte, TZP'deki EBF konsantrasyonları AS'den önemli ölçüde daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir. 28 hastadan 11 gözde TZP 17 gözde AS uygulanmış ve TZP ile tedavi edilen gözlerin kornea epitelinin iyileşme oranları AS ile tedavi edilenlerden anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. TZP, PED'lerin tedavisinde etkili olmuştur. Bu, özellikle EBF olmak üzere yüksek konsantrasyonda trombosit içeren büyüme faktörlerine bağlanabilir. Büyüme faktörlerinin daha yüksek bir konsantrasyonu zararlı etkilere neden olabilir. Gospodarowicz ve ark. (215) EBF'nin yüksek konsantrasyonun, korneal neovaskülarizasyonu teşvik edici bir faktör olduğunu kanıtlanmıştır. Sunulan çalışmamızda hem TZFM hem de KBFM ile tedavi edilen gruplarında korneada hem iyileşme sağlanması hem de belirgin bir neovaskülarizasyon olmaması EBF'nin uygun konsantrasyonda olduğunu ama yine de bu tür çalışmalarda konsantrasyon oranına dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Son yıllarda, KKS tedavisi için büyüme faktörlerinden zengin plazma (BFZP) göz damlaları da kullanılmaktadır. BFZP Anitua ve ark tarafından 1999 yılından beri çeşitli amaçlar için kullanılmıştır (113). BFZP başında "büyüme faktörlerinden zengin plazma" olarak anıldı (216) ve birden fazla tıbbi ortamda rejeneratif amaçlar için farklı formülasyonlar elde etme olasılığı nedeniyle daha yakın zamanda "büyüme faktörlerinden zengin preparat" olarak değiştirildi (217). BFZP teknolojisi, antikoagülan olarak sodyum sitrat ve aktivatör olarak kalsiyum klorür kullanılarak tek adımlı santrifüj işlemi ile hazırlanan % 100 otolog ve biyo-uyumlu ürünleri tanımlamaktadır. TZP ve BFZP, yirmi yıldan uzun bir süredir oral ve maksillofasiyal cerrahi, rekonstrüktif ortopedi, kardiyovasküler cerrahi ve plastik cerrahi gibi doku rejenerasyon işlemleri için bir bileşen olarak başarıyla kullanılmaktadır (83, 216, 218). Oküler yüzey hastalıklarını tedavi etmek için tasarlanmış ve trombosit bakımından zengin plazma preparasyonlarından tıbbi olarak kullanılan trombosit bakımından zengin bir plazma preparasyonunu ayırt etmek için E-PRP terimi oluşturuldu. Buna dayanarak, E-PRP'yi oküler yüzey bozukluklarını tedavi etmek için tasarlanmış otolog trombosit bakımından

zengin bir formülasyon olarak tanımlandı (219). Alio ve ark. (150) E-PRP'nin tam kanla karşılaştırıldığında trombositlerin 1,6 ila 2,5 kat zenginleştirdiğini ve orta ve şiddetli kuru göz sendromlu hastalar üzerinde yapılan prospektif bir çalışmada, hastalara günde 4-6 kez E-PRP uygulandı ve hastaların %89'unda anlamlı bir iyileşme ve semptomların ortadan kalktığı ve fluoressin boyamada da ciddi farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Özetle, E-PRP göz damlaları ile topikal tedavi, göz kuruması semptomlarını hafifletmek ve oküler yüzeyin rejenerasyonunu iyileştirmek için başarılı bir terapötik yöntem olduğu kanıtlanmıştır (14). Çalışmamızda bu bilgiler ile paralel sonuçlar elde edildiği görüldü. Sıfırncı, birinci ve onuncu günlerde tüm gruptaki tavşanların sol gözlerine SST-1 uygulanmıştır. Buna göre sıfırncı gün tüm gruptaki tavşanların schirmer test sonuçlarına göre gözyaşı değerleri normal sınırlarda çıkmıştır. Deneysel kornea alkali yanığının oluşturulduğu 1. gün tüm gruplarda gözyaşı değerlerinde artış görülmüştür. 10. gün tekrarlanan schirmer test sonuçlarına göre TZFM uygulanan Grup I ile KBFM uygulanan Grup II de STT-1 sonucuna göre belirgin bir düzelmeye beraber normal gözyaşı değerleri içerisinde olduğu, geçici tarsorafi uygulanan Grup III ve sadece %0,9 luk serum fizyolojik uygulanan Grup IV de ise gözyaşı değerlerinin belirgin olarak azaldığı tesbit edildi. Bu sonuçlara bakılarak kan kaynaklı ürünlerden olan TZF ve KBF nin ileride kuru göz sendromunda tedavi edici olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Glokom göz içi basınç değerlerinin patolojik olarak artmasıdır. Artan göz içi basıncı optik sinir başına ve retinal gangliyon hücrelerine zarar vermesi neticesinde görme de azalma veya kalıcı körlük meydana gelmektedir (220-222). Glokomlu hastalarda oküler yüzey hastalığı belirtileri yüksek oranda görülmektedir. Oküler yüzey hastalığı gözyaşının kantitatif yetersizliği, anstabil göz yaşı film tabakası, oküler yüzey bozukluğu ve/veya irritasyon yanma yabancı cisim hissi, kuruluk, fotofobi, görme keskinliğinde değişimler gibi belirtilerle karakterize bir grup hastalıklar olarak izah edilmektedir (223, 224). Glokom hem insanlarda hem de hayvanlarda yaşam kalitesini ciddi anlamda etkileyen göz hastalıkları arasında yer almaktadır. Bu yüzden hasta hemen tedavi altına alınmalı ve göz içi basıncı 20 mm/Hg altında tutulmalıdır aksi takdirde 25-30 mm/Hg arasında olduğunda dahi gangliyon hücrelerinde yavaş yavaş kayıplar şekillenmeye başlar (222, 225). Tavşanların göz içi basınç değerleri ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur buna göre Wang ve ark. (226) 2013 yılında yaptıkları çalışmalarında, normotansif tavşanlarda günlük ortalama GİB değerini sağ gözde  $10.25 \pm 2.3$  ve sol gözde  $9.07 \pm 2.47$  olarak, Doğan Z. (222) tavşanlarda antiglokomatöz

ilaçların göz içi basıncı ve orbital kan akımı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada ise günlük GİB ortalamaları sağ gözde  $12.99 \pm 2.67$ , sol gözde ise  $12.69 \pm 3.16$  olarak saptamışlardır. Erol ve ark. (35) iki gruba ayırdıkları sağlıklı 20 adet Yeni Zelanda tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada I. gruptaki (n=10) tavşanların ortalama GİB değerleri sağ gözde  $14.2 \pm 0.75$  mmHg sol gözde  $14 \pm 0.80$  mmHg II. gruptaki (n=10) tavşanların ortalama GİB değerleri sağ gözde  $12.0 \pm 0.75$  mmHg sol gözde  $12.2 \pm 0.80$  mmHg olarak saptamışlardır. Çalışmalar sonucunda elde edilen farklı GİB değerlerinin sebebi; hayvanların ölçüm sırasında tutulma şekilleri ve bu durum esnasındaki manipülasyonlar olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda tüm gruptaki tavşanlar aynı kişi tarafından aynı şekilde tutuldu ve ölçümler yine aynı kişi tarafından gerçekleştirildi. Tüm gruplarda 0, 1 ve 10. günlerde göziçi basıncını ölçmek amacıyla Tonovet (RBT, Icare VET, Helsinki, Finland) marka rebound tonometre kullanıldı. Buna göre Grup I'in GİB ortalamaları 0.günde  $12,5 \pm 0,99$  mm/Hg, 1.günde  $26,67 \pm 0,95$  mm/Hg ve 10.günde  $13,83 \pm 0,98$  mm/Hg, Grup II'nin GİB ortalamaları 0.günde  $12,5 \pm 0,89$  mm/Hg, 1.günde  $24,83 \pm 1,08$  mm/Hg ve 10.günde  $14 \pm 1,15$  mm/Hg, Grup III'ün GİB ortalamaları 0.günde  $12 \pm 1,03$  mm/Hg 1.günde  $27,17 \pm 1,08$  mm/Hg ve 10.günde  $18,67 \pm 0,49$  mm/Hg ve Grup IV'ün GİB ortalamaları 0.günde  $12,67 \pm 1,17$  mm/Hg, 1.günde  $22,33 \pm 1,28$  mm/Hg ve 10.günde  $20,5 \pm 0,43$  mm/Hg olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre deneysel kornea alkali yanığının oluşturulduğu 1.günde gruplardaki tüm tavşanların GİB değerlerinde ciddi artış gözlemlendi. Aynı zamanda göz içi basınç değerleri ile TZFM ve KBFM kullanımı arasındaki ilişki de incelenmiştir ve bu gruptaki tavşanların glokom yönünden değerlendirildiğinde 10.günde GİB lerinin normal sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür. Grup III ve Greup IV'de 10.günde rebond tonometre ile ölçümlerinde 0.gündeki ölçümlere kıyasla GİB te artış olduğu normal sınırların üstüne çıktığı görüldü.

Glokomun medikal tedavisi çeşitli ilaç grupları da dahil olmak üzere topikal göz damlalarını içerir: prostaglandin (PG) analogları, alfa agonistleri, betablokerler, karbonik anhidraz inhibitörü, kolinerjik veya kombine. PG analogları hal hazırda piyasadaki en güçlü topikal oküler hipotensörlerdir (227). 2007 International Dry Eye Workshop raporuna göre, topikal glokom ilaçları ve koruyucuları, oküler yüzey üzerindeki patolojik yan etkileri ile indüklenen ekstrinsik buharlaşma sonucu KKS şekillenmektedir (228). Glokomun medikal tedavisinde topikal ilaçların uzun süreli kullanımı ile ilişkili benzalkonyum klorür (BAK) koruyucu, iritasyon, gözyaşı filmi

instabilitesi, konjunktival inflamasyon, konjunktival fibrozis, epitel apoptozu ve kornea yüzey bozukluğu gibi bir takım semptomlara ve işaretlere neden olabilir (229). Oküler yüzey bozukluğu indüksiyonuna BAK'ın dahil olduğu mekanizmalar hala tartışılıyor, ancak potansiyel olarak özellikle proinflamatuvar, toksik veya alerjik bir etiyolojiye neden olabilir. Oküler yüzey patolojilerinin tedavisinde, TZP kullanılmaya başlanılmıştır (150, 152). BFZP de bunun bir başka çeşiti olan göz damlası formatıdır. Sánchez ve ark. Mevcut vaka serisi çalışma raporunda, BFZP göz damlasının AS kıyasla önemli avantajlara sahip yeni bir kan bazlı otolog göz damlası olarak değerlendirmişlerdir (230). BFZP göz damlaları, bileşimlerinde proinflamatuvar sitokin içermez (231). Temel ve klinik çalışmalar, oküler yüzeyin çeşitli bozukluklarında BFZP göz damlalarının kullanımını desteklemektedir (230-233). Sánchez-Avila ve ark. (230) yaptıkları çalışmada ilk kez oküler yüzey bozukluğu olan GİB li hastalar üzerinde BFZP göz damlalarının etkinliği araştırmışlardır. BFZP göz damlası, etkilenen gözde 6 hafta boyunca günde dört kez topikal olarak (konjunktival kesede) uygulanmıştır. BFZP göz damlası 12 ila 36 hafta arasında uygulanmış ve ortalama tedavi süresi 21.8 hafta olarak saptanmıştır. Kornea ülserinin kapanması için ortalama süre 14.5 hafta olarak saptanmıştır. Rahatsızlık, kuruluk, yanma/batma, fotofobi, yabancı cisim hissi, bulanık görme, kaşıntı ve ağrı ile ilgili olarak önemli bir azalma ile görülmüştür. Bu etkiler için birkaç potansiyel açıklama olduğunu belirtmişlerdir. Buna göre ilk olarak, BFZP göz damlaları trofik ajanları içerir. Örneğin korneal yaralanmalarda hızlandırılmış yara iyileşme süresinin desteklenmesini sağlayan büyük miktarlarda epitel büyüme faktörü içerdiği saptanmıştır (214, 230, 234, 235). Buna ek olarak, BFZP göz damlası, oküler yüzey dokularında stromal fibroblastların çoğalmasını ve göçünü teşvik etmede kritik rollere sahip olan fibroblast büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-1 ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü de içerir. BFZP göz damlası, korneada nörotrofik özellikleri ile sinir büyüme faktörüne sahiptir. Bunun yanı sıra BFZP göz damlalarının, TKBF/TEBF- $\beta$ 1 dengesi nedeniyle skar oluşumunu azalttığını ve güçlü anti-enflamatuvar etkilere sahip olduğu ileri sürülmüştür (157, 231). İnflamasyon üzerinde daha iyi bir kontrol, glokom hastalarında daha yüksek bir tedavi sağlayabilir. Son olarak, BFZP göz damlaları, orta-şiddetli kuru göz, çeşitli epitel kusurları, korneal ülserler ve nörotrofik keratit üzerinde kullanımlarında etkili sonuçlar elde edildiği görülmüştür (154, 232, 233, 236-238).

TEBF- $\beta$ , pleitropik özelliklerinden dolayı, normal hücresel fizyolojik süreçlere ve aynı zamanda glokom veya kornea skarları gibi oftalmolojik patolojilerin gelişimine katkıda bulunur. TEBF- $\beta$ 'nin artmış aktivitesinin, trabeküler dokunun hücre dışı matrisinde birikintilerin artmasına, humör aközün çıkış direncinde artışa ve bunun sonucunda göz içi basıncının yükselmesine neden olduğu bilinmektedir; anti-TEBF- $\beta$  ilaçlar glokom için olası terapötik seçenekler olarak geliştirilmektedir ( 230, 239, 240). In vitro ve in vivo çalışmalar BFZP göz damlalarının TEBF- $\beta$  aktivitesini modüle edebildiğini, doku fibrozunu azalttığını ve hücre yenilenmesini desteklediğini göstermiştir (241). Bu mekanizmaların göz içi basıncındaki azalmayı açıklayabildiği düşünülmüştür (230). Bu bilgiler ışığında kan kaynaklı ürünlerden olan TZF ve KBF den elde edilen membranların glokom tedavisinde kullanılabileceği yaptığımız çalışmada deneysel kornea alkali yanığı oluşturulan tüm gruplarda ilk gün GİB değerlerinde ciddi bir artış görülüp daha sonra 10.günde yapılan ölçümler sonucunda TZFM ve KBFM uygulanan tavşanlarda GİB in normal sınırlarda olduğu sadece tarsorafi uygulanan Grup III deki tavşanlardan iki tanesinin GİB değerinin 20mm/Hg ve üstünde olduğu diğer 4 tavşanında bu değerlere yakın olduğu, sadece %0,9 luk serum fizyolojik uygulanan Grup IVdeki tavşanlardan 4 tanesinin GİB değerinin 20mm/Hg ve üzerinde olduğu, geriye kalan 2 tavşanında bu değerlere yakın GİB e sahip olduğu saptandı. Çalışmamızda Sanchez ve ark.( 237) yaptığı çalışmayı destekleyici sonuçlar elde etmemizin nedeni BFZP de bulunan büyüme faktörlerinin TZF ve KBF de de bulunması ve inflamasyon görülmemesidir. TZF ve KBF ile çalışmak BFZP ye göre bazı avantajlara sahiptir. BFZP elde etmek için hastadan alınan kan 8 dk boyunca 580 G de santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatant 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiş ve daha sonra 60 dakika boyunca 56°C'de ısıtılma tabi tutulmuştur oysaki TZFM ve KBFM elde etmek daha kolay ve hızlı olmasına ek olarak daha düşük maliyetlidir. Ameliyathanede operasyona başlanılmadan hemen önce kan alınarak uygun prosedürler altında TZFM veya KBFM elde edip hemen uygulamak mümkündür.

Sonuç olarak sunduğumuz çalışmada kan kaynaklı ürünlerden olan TZF ve KBF den elde edilen membranların hayvanın kendi kanından elde edildiğinden immünolojik reaksiyona sebep olmadığı bu nedenle güvenle kullanılabileceği düşünüldü. Membranların elde edilmesinin son derece kolay olduğu, operasyondan hemen önce kısa bir sürede elde edilip bekletilmeden kullanılması nedeniyle de oldukça pratik yöntemler oldukları görüldü. Çalışmamızda TZFM ve KBFM uygulamalarının pratik



olmaları kadar aynı zamanda kornea üzerinde iyileşmeye olumlu katkılar sağladıkları da görüldü.

Trombositler antibiyotik etkisi olan antibakteriyel proteinler salgıladığından TZFM ve KBFM grubundaki tavşanlarda gözde enfeksiyon, yangı semptomlarının olmadığı saptandı. Bu da postoperatif dönemde topikal yolla antibiyotikli preparatlar kullanımına gerek kalmadan iyileşmeyi sağlayabileceği düşünüldü. Bu özelliğinden dolayı, organik hayvansal üretimde de rahatlıkla kullanılabileceği kanısına varıldı. Ayrıca bu iki grupta 10. günde uygulanan STT-1 testi sonucuna göre gözyaşı hacminde belirgin bir iyileşme olduğu ve normal sınırlar içerisine döndüğü görüldü. Rebond tonometre ile GİB ölçüldüğünde deneysel kornea alkali yanığın oluşturulduğu 1. gündeki GİB ölçümüne kıyasla yine bu iki grupta GİB in anlamlı derece azaldığı ve normal sınırlar içerisinde olduğu saptandı. Flouressein boyama yapıldığında ise kornea boyama alanında ciddi azalmalar gözlemlendi. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde 10 gibi kısa bir süre de dahi kornea da reepitelizasyonun tatmin edici boyutlarda olduğu görüldü.

En tatmin edici sonuçların TZFM uygulanan Grup I de olduğu klinik ve histopatolojik olarak ispatlandı. Elde edilen bu veriler doğrultusunda TZFM ve KBFM kornea alkali yanıklarının tedavisinde güvenli ve yan etkisi olmayan bir yöntem olduğu kanısına varıldı. TZFM ve KBFM'nın korneal yara iyileşmesindeki etkinliği klinik ve histopatolojik olarak tarsorafi ve %0,9luk serum fizyolojik uygulanan iyileşmesine göre daha üstün olduğu saptandı.

Çalışmamız literatür taramalarımıza göre deneysel kornea alkali yanık sağaltımında TZFM ve KBFM kullanılan ilk çalışmadır. Bu sebeple daha fazla klinik çalışmayı hak ettiği düşünülmektedir. Bununla beraber TZFM ve KBFM ile tedavinin, kornea alkali yanıklı hastalarda klinik bulguları ve ilişkili patolojinin semptomlarını iyileştirmede hem beşeri hem de veteriner oftalmoloji alanında klinik pratiğe katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Alkali yanıklara bağlı oluşan keratitis ile beraber seyreden KKS ve glokomlu hastalarda TZFM ve KBFM ile ilgili henüz bir çalışma yapılmamış olmasına rağmen yaptığımız çalışma sonucunda her iki hastalığın sağaltımında da kullanıldıklarında olumlu katkılar sağlayacaklarını düşünmekteyiz.

## 6.KAYNAKLAR

1. Liebich HG, Sotonyi P, König HE. Organum Visus In: König H.E,Liebich H.G(eds), Veterinary Anatomy 6th ed. Viyana, Münih 2013:579-600
2. Şaroğlu M. Veterinerlik Oftalmoloji Kedi ve Köpek Göz Hastalıkları.Nobel Matbaacılık Hadımköy-İstanbul, 2013:15-16,139-187
3. Maggs DJ, Miller PE, Ofri R.Slater's Fundamentals Of Veterinary Ophthalmology(5th ed) Elsevier; 2013:184-216
4. Gelatt KN. Essentials Of Veterinary Ophthalmology (2nd ed) Blackwell Publishing 2008:119-154, 293-330, 331-378, 379-418
5. Barnett K. Cornea. Diagnostic Atlas of Veterinary Ophthalmology. 2nd ed. Spain:Elsevier; 2006:52-63
6. Akın F, Samsar E. Göz Hastalıkları (3.baskı), Medipres,Ankara,2005:135-167
7. Broos K, De Meyer SF, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Blood platelet biochemistry. Thromb Res 2012;129(3):245-249
8. Kiran NK, Mukunda KS, Tilak Raj TN. Platelet concentrates. A promising innovation in dentistry. J Dent Sci Res 2011;2:50-61
9. Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andia I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (BFZP) in different medical fields. Biomaterials 2007;28(31):4551-4560.
10. Borzini P, Mazzucco L. Platelet gels and releasates. Curr Opin Hematol 2005;12(6):473-479.
11. Mihaylova Z, Mitev V, Stanimirov P, et al. Use of platelet concentrates in oral and maxillofacial surgery: an overview. Acta Odontol Scand 2017;75(1):1-11.

12. Arora S, Agnihotri N. Platelet Derived Biomaterials for Therapeutic Use: Review of Technical Aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2016:1-9
13. Kim TH, Kim SH, Sandor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives Of Oral Biology* 2014;59:550-558
14. Alio JL, Rodriguez AE, WróbelDudzińska D. Eye platelet-rich plasma in the treatment of ocular surface disorders. *Current Opinion in Ophthalmology* 2015;26(4):325-332
15. Özçetin H. Göziçi basıncı ve glokomlar, In: *Klinik Göz Hastalıkları, Özçetin H(ed), Nobel Tıp Kitapevleri, 2003:138-184*
16. Hedlund CS. Surgery Of The Eye. In: *Small Animal Surgery. 3rd ed. China, Mosby Elsevier, 2007:260-288*
17. Slatter D, Dietrich U. Cornea And Sclera. In: *Textbook Of Small Animal Surgery. Ed: D.Slatter, W.B.Sounders Company 2002:1368-1376*
18. Martin CL. Ophthalmic Disease In Veterinary Medicine. *Manson Publishing Ltd.UK 2010:242-280*
19. Dua HS, Gomes JAP. Corneal epithelial wound healing. *british journal of ophthalmology* 1994;78:401-408
20. Dua HS, Azuaro-Blanco A. Limbal Stem cell of the corneal epithelium. *Survey Of Ophthalmology* 2000;44:415-425
21. Tobias KM, Johnston SA. *Veterinary Surgery: Small Animal. Ed: K.Tobias,S.A Johnston. Saunders Publishing Ltd. 2015:5401-5416*
22. Gelatt KN, Gelatt JP. Surgery Of The Cornea And Sclera . In: *Small Animal Ophthalmic Surgery: Practical Techniques For The Veterinarian. Ed:KN Gelatt. Butterworth-Heinemann 2001:180-196*
23. Gilger BC. *Equine Ophthalmology. 2nd ed. China:Elsevier;2011:181-266*

24. Barabino S, Chen W, Dana MR. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. *Exp Eye Res* 2004;79(5):613-621
25. Savini G, Prabhawasat P, Kojima T, Grueterich M, Espana E, Goto E. The challenge of dry eye diagnosis. *Clin Ophthalmol* 2008;2(1):31-55
26. Bron AJ. Diagnosis of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001;2:221-226
27. Kim J, Foulks GN. Evaluation of the effect of lissamine green and rose bengal on human corneal epithelial cells. *Cornea* 1999;18(3):328-332.
28. Feenstra RP, Tseng SC. Comparison of fluorescein and rose bengal staining. *Ophthalmology* 1992;99(4):605-617.
29. Rosolen SG, Multari D, Woods M, Jongh O. *Diagnostics. Small Animal Ophthalmology*. 4 thEd. China. RDC Group Limited; 2009;2:15
30. Gelatt KN. *Essentials Of Veterinary Ophthalmology* (2nd ed), Blackwell Publishing 2008:4-20
31. Ollivier FJ, Plummer CE, Barrie KP (2008). Ophthalmic examination and diagnostics, Section 1: the eye examination and diagnostic procedures. In: *Essentials of 86 Veterinary Ophthalmology*. 2 nd ed. Gelatt KN, (edt), Blackwell publishing, USA: 3-22
32. Kravetz de Oliveira J, Montiani-Ferreira F, Williams DL. The influence of the tonometer position on canine intraocular pressure measurements using the Tonovet® rebound tonometer *Open Veterinary Journal*, 2018;8(1): 68-76
33. Sarıcaoğlu MS. Yeni tonometreler ve göz içi basıncı ölçümünde yeni tartışma: korneanın biyomekanik özellikleri. *Glo-Kat* 2010;5:67-74
34. Wang X, Dong J, Wu Q. Twenty-four-hour measurement of IOP in rabbits using rebound tonometer. *Veterinary Ophthalmology* 2013; 16: 6: 423-428

35. Erol M, Erol H, Atalan G. et al. Effects of Systemically Used Midazolam, Ketamine and Isoflurane Anesthetic Agents on Intraocular Pressure and Tear Production in Rabbits, *Harran Üniv Vet Fak Derg* 2018; 7 (1): 21-25
36. McLellan GJ, Kemmerling JP, Kiland JA. Validation of the TonoVet rebound tonometer in normal and glaucomatous cats. *Veterinary Ophthalmology* 2013; 16: 2: 111-118
37. Knollinger AM, Croix NC, Barrett PM Miller PE. Evaluation of a rebound tonometer for measuring intraocular pressure in dogs and horses. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 244-248
38. Yu W, Cao G, Qiu j, et al. Evaluation of monkey intraocular pressure by rebound tonometer. *Molecular vision* 2009; 15: 2196-2201
39. Martinez-de-la-Casa JM, Garcia-Feijoo J, Castillo A, Sanchez JG. Reproducibility and cilinical evaluation of rebound tonometry. *Invastigate ophtalmology&visual science* 2005; 46: 12: 4579
40. Şaroğlu M. Veterinerlik Oftalmoloji Kedi ve Köpek Göz hastalıkları. Nobel Matbaacılık Hadımköy-İstanbul, 2013:3
41. Gilger BC, Whitley RD. Surgery Of The Cornea And Sclera. In: *Veterinary Ophthalmology*. Ed: KN Gelatt 1991:675-700
42. Jones ML, Gilmour MA, Streeter RN. Use of grid keratotomy for the treatment of indolent corneal ulcer in a llama. *Can Vet J* 2007; 48:416-419
43. Sandmeyer LS, Bauer BS, Grahn BH. Diagnostic Ophthalmology. *CVJ* 2016; 57(7):789-790
44. Yang LL, Zhou QJ, Wang Y, Gao Y, Wang YQ. Comparison of The Therapeutic Effects of Extracts From and Amnion Membrane on Inflammation-associated Corneal Neovascularization. *Int J Ophthalmol* 2012; 5(1):32-37
45. Kim EC, Kim TK, Park SH, Kim MS. The wound Healing Effects of Vitamin A Eye Drops After A Corneal Alkali Burn in Rats. *Acta Ophthalmol* 2012; 90:540-546
46. Cullen CL, Grahn BH. Diagnostic Ophthalmology. *Can Vet J* 2005;46:1054-1055
47. Gökçe P, Sarıtas Z, Tong S. Köpeklerde Deneysel Lamellar Korneal Otoallogreft Uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2001;48(1):59-65

48. Soontornvipart K, Tuntivanich N, Kecova H, Rauser P. Conjunctival Pedicle Graft In Dogs And Cats: Retrospective Study Of 88 Cases *Acta Vet* 2003 ;72:63-69
49. Zhang MC, Liu X, Jin Y et al. Lamellar Keratoplasty Treatment of Fungal Corneal Ulcers With Acellular Porcine Corneal Stroma. *American Journal of Transplantation* 2015;15:1068-1075
50. Grinninger P, Verbruggen AM, Kraijer-Huver IM et al. Use of Bandage Contact Lenses For Treatment of Spontaneous Chronic Corneal Epithelial Defects in Dogs. *J Small Anim Pract.* 2015 Jul;56(7):446-9
51. Fernandes M, Sridhar MS, Sangwan VS, Rao GN. Amniotic Membrane Transplantation for Ocular Surface Reconstruction. *Cornea* 2005;24:643-653
52. Li W, Che WJ, Zhang MC. Study of Self -Made Freeze -Dried Bilayered Fibrinbinding Amniotic Membrane In Ocular Trabeculectomy In Rabbits. *Int J Ophthalmol* 2011;4(6):582-589
53. Heiligenhaus A, Li H, Hernandez Galindo EE, et al. Management Of Acute Ulcerative And Necrotising Herpes Simplex And Zoster Keratitis With Amniotic Membrane Transplantation. *Br J Ophthalmol* 2003;87: 1215-1219
54. Vanore M, Chahory S, Payen G, Clerc B. Surgical Repair of Deep Melting Ulcers With Porcine Small Intestinal Submucosa (SIS) Graft In Dogs And Cats. *Veterinary Ophthalmology* 2007;10, 2:93-99
55. Featherstone H, Sansom J, Heinrich CL. The Use Porcine Small Intestinal Submucosa In Ten Cases Of Feline Corneal Disease. *Veterinary Ophthalmology* 2001;4,2:147-153
56. Bussieres M, Krohne SG, Stiles J, Townsend WM. The Use Of Porcine Small Intestinal Submucosa For The Repair Of Full-Thickness Corneal Defects In Dogs, Cats And Horses. *Veterinary Ophthalmology* 2004;7,5:352-359
57. Andrade AL, Laus JL, Figueiredo F, Batista CM. The Use of Preserved Equine Renal Capsule to Repair Lamellar Corneal Lesions in Normal Dogs. *Veterinary Ophthalmology* 1999;2:79-82

58. Dulaurent T, Azoulay T, Gouille F, et al. Use Of Bovine Pericardium (Tutopatch) Graft For Surgical Repair Of Deep Melting Corneal Ulcers In Dogs And Corneal Sequestra In Cats. *Veterinary Ophthalmology* 2014; 17, 2:91-99
59. Liang L, Sheha H, Li J, Tseng SCG. Limbal Stem Cell Transplantation: New Progresses And Challenges. *Eye (Lond)* 2009; 23(10):1946-1953.
60. Morita M, Fujita N, Takahashi A, et al. Evaluation Of ABCG2 And p63 Expression In Canine Cornea And Cultivated Corneal Epithelial Cells. *Veterinary Ophthalmology* 2015;18, 1:59-68
61. Rocca CJ, Kreymerman A, Ur SU, et al. Treatment of Inherited Eye Defects by Systemic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *The Association for Research in Vision and Ophthalmology* 2015;56,12:7214-7223
62. Ke Y, Wu Y, Cui X, et al. Polysaccharide Hydrogel Combined with Mesenchymal Stem Cells Promotes the Healing of Corneal Alkali Burn in Rats. *PLoS ONE* 2015;10(3):1-18
63. Jiang TS, Cai L, Ji WY, et al. Reconstruction Of The Corneal Epithelium With Induced Marrow Mesenchymal Stem Cells In Rats. *Molecular Vision* 2010; 16:1304-1316
64. Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen JA, Creugers NH. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(6):539-45
65. Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg* 2005;16(6):1043-54
66. Simon D, Manuel S, Geetha V, Naik BR. Potential for osseous regeneration of platelet-rich plasma- a comparative study in mandibular third molar sockets. *Indian J Dent Res* 2004;15(4):133-6
67. Everts PA, Brown Mahoney C, Hoffmann JJ, et al. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications for platelet activation and platelet growth factor release. *Growth factors* 2006;24(3):165-71)

68. Ronci C, Ferraro AS, Lanti A, et al. Platelet Rich Plasma As Treatment For Persistent Ocular Epithelial Defects. *Transfusion and Apheresis Science* 2015;52:300-304
69. Gilger BC. Diseases and Surgery of The Cornea. In: Ruldolph P, Harms L. *Equine Ophthalmology*. 2nd ed. China: Elsevier 2011:237-243
70. Jiang X, McClellan SA, Barrett RP, et al. VIP and Growth Factors in the Infected Cornea. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2011;52,9:6154-6161
71. Wilkie DA, Whittaker C. Surgery Of The Cornea. *The Veterinary Clinics Of North America Small Animal Practice: Surgical Management Of Ocular Disease* 1997;27(5):1067-1107
72. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 1998;85(6):638-46
73. Choi BH, Zhu SJ, Kim BY, et al. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005;34(4):420-24
74. Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates; from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte and platelet rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology* 2011;27(3):158-167
75. Gibble JW, Ness PM. Fibrin glue: the perfect operative sealant. *Transfusion* 1990;30:741-747
76. Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;936:11-30
77. Chatterjee A, Agarwal P, Subbaiah S.K. Platelet rich fibrin: an autologous bioactive membrane. *Apollo Medicine* 2014;11(1):24-26
78. Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2011;105(1):13-33



79. Wachowicz B, Morel A, Miller E, Saluk J. The physiology of blood platelets and changes of their biological activities in multiple sclerosis. *Acta Neurobiol Exp* 2016;76:269-81
80. Toker H, Alpan AL, Hocaoglu TP. Management of Mandibular Osteomyelitis Combined with Platelet Rich Fibrin (PRF) and Ozone. *Cumhuriyet Dental Journal* 2016;19(3):189-96
81. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. *Journal of periodontology* 2009;80(2):244-52
82. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev* 2009;23(4):177-189
83. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med* 2009;37(11):2259-2272
84. Dereka XE, Markopoulou CE, Vrotsos IA. Role of growth factors on periodontal repair. *Growth factors* 2006, 24:260-267
85. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI, Genco RJ. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol* 1992;63(6):515-525
86. Giannobile WV, Whitson SW, Lynch SE. Non-coordinate control of bone formation displayed by growth factor combinations with IGF-I. *J Dent Res* 1997;76(9):1569-1578.
87. Unlu F, Guneri PG, Hekimgil M, Yesilbek B, Boyacioglu H. Expression of vascular endothelial growth factor in human periodontal tissues: comparison of healthy and diabetic patients. *J Periodontol* 2003;74(2):181-187.
88. Stavropoulos A, Wikesjo UM. Growth and differentiation factors for periodontal regeneration: a review on factors with clinical testing. *J Periodontal Res* 2012;47(5):545-553

89. Chen Y, Niu Z, Xue Y, et al. Improvement in the repair of defects in maxillofacial soft tissue in irradiated minipigs by a mixture of adipose-derived stem cells and platelet-rich fibrin. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2014;52(8):740-745
90. Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, Phurisat K. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects *J Craniomaxillofac Surg* 2013;41(8):191-200
91. Mohanty S, Pathak H, Dabas J. Platelet rich fibrin: A new covering material for oral mucosal defects. *J Oral Biol Craniofac Res* 2014;4(2):144-146
92. Kazemi D, Fakhrjou A, Dizaji V.M, Alishahi M.K. Effect of Autologous Platelet Rich Fibrin on the Healing of Experimental Articular Cartilage Defects of the Knee in an Animal Model *Biomed Res Int* 2014; 2014: 486436
93. Yang PP, Zhan Y, Li SL, Liu H. Effects of platelet-rich fibrin on canine dental pulp cells in vitro. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2013;45(5):787-91
94. Choukroun J, Antonie D, Alain S. Platelet-rich fibrin (PRF): A second generation platelet concentrate. Part 4: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:56-60
95. Choukroun J, Antoine D, Alain S, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101:299-303
96. Corigliano M, Sacco L, Baldoni E, The CGF-A therapeutic proposal for regenerative medicine, *e-Dentico*, 2011; 1-29:48-64
97. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microscopy Research and Technique* 2011;74(8):772-777
98. Sohn, DS, Heo JU, Kwak DH, et al. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant Dentistry*, 2011;20(5):389-395
99. Sohn DS. The effect of concentrated growth factors on ridge augmentation. *Dentalinc*, 2009;10:34-40.

100. Bernardi S, Mummolo S, Tecco S, et al. Histological characterization of Sacco's concentrated growth factors membrane. *Int. J. Morphol* 2017;35(1):114-119
101. Karakış S, Ünsal B. Trombosit konsantrelerinin dişeti çekilmelerinin tedavisi amacıyla kullanımları: Derleme. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg* 2016;16:85-98
102. Karabulut K, Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Tedavisinde Amniyon Sıvısının Etkinliğinin Araştırılması, Yüksek lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 2018:68
103. Gelatt KN. *Temel Veteriner Oftalmoloji*. Medipress Matbaacılık Malatya, 2012: 157-161
104. Gelatt KN. *Temel Veteriner Oftalmoloji*. Medipress Matbaacılık Malatya, 2012:180-190
105. Şaroğlu M. *Veterinerlik Oftalmoloji Kedi ve Köpek Göz hastalıkları*. Nobel Matbaacılık Hadımköy-İstanbul, 2013:140-153
106. Morgan SJ. Chemical burns of the eye: causes and management. *Br J Ophthalmol* 1987;71:854-857
107. Christmas R. Management of chemical burns of the canine cornea. *Can. Vet. J.* 1991;32:608-612
108. Arffa RC. *Grayson's Diseases of the Cornea*. 4. Ed. Mosby. , St. Louis 1997; 690-707
109. Micheal DW. Chemical injuries of the eye: Current concept in patophysiology and therapy. *Survey of ophthalmology* 1997;41:275-307
110. Şaroğlu M, Arıkan N. Tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında bazı antikoijenazik ilaçların karşılaştırılması üzerine araştırmalar. *Istanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2002;28 (2):287-300
111. Kaya F.S, Akova Y.A, Çeşitli Nedenlere Bağlı Göz Yüzeyi Sorunlarında Topikal Otolog Serum Damla Uygulamasının Epitelizasyona Etkisi ve Güvenilirliği. *Turk J Ophthalmol* 2012; 42: 336-41

112. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden A.T. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb. Haemost* 2004;91(1): 4-15
113. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:529–535
114. Torres J, Tamimi F, Martinez PP, et al. Effect of platelet-rich plasma on sinus lifting: a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2009;36:677–687
115. Mazor Z, Peleg M, Garg AK, Luboshitz J. Platelet-rich plasma for bone graft enhancement in sinus floor augmentation with simultaneous implant placement: patient series study. *Implant Dent.* 2004;13(1):65-72
116. Sanchez M, Anitua E, Azofra J, et al. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med* 2007;35:245-251
117. Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Aguirre JJ, Andia I. Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. *Clin Exp Rheumatol* 2008;26(5):910-913
118. Anitua E, Aguirre JJ, Algorta J, et al. Effectiveness of autologous preparation-rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008;84:415-421
119. Bornfeldt KE, Raines EW, Graves LM, et al. Platelet-derived growth factor. Distinct signal transduction pathways associated with migration versus proliferation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1995;766:416-30
120. Nurden AT. The biology of the platelet with special reference to inflammation, wound healing and immunity. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2018;23:726–751
121. Harlan JM, Thompson PJ, Ross RR, Bowen-Pope DF. Alpha-thrombin induces release of platelet-derived growth factor-like molecule(s) by cultured human endothelial cells. *Journal of Cell Biology* 1986;103(3): 1129-1133

122. Bauer EA, Cooper TW, Huang JS, Altman J, Deuel TF. Stimulation of in vitro human skin collagenase expression by platelet-derived growth factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1985;82(12): 4132-4136
123. Cohen S. Isolation and Biological Effects of an Epidermal Growth-stimulating Protein. *Natl Cancer Inst Monogr.* 1964;13:13-37
124. Yu FX, Yin J ,Xu K, Huang J. Growth factors and corneal epithelial wound healing. *Brain Res Bull* 2010 Feb 15; 81(2-3): 229-235
125. Hori K, Sotozono C, Hamuro J, et al. Controlled-release of epidermal growth factor from cationized gelatin hydrogel enhances corneal epithelial wound healing. *J Control Release* 2007;118(2):169–176
126. Scardovi C, De FG, Gazzaniga A. Epidermal growth factor in the topical treatment of traumatic corneal ulcers. *Ophthalmologica* 1993;206(3):119-124
127. Van Setten G, Schultz G. Transforming growth factor-alpha is a constant component of human tear fluid. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol* 1994;232(9):523–526
128. Wilson SE, He YG, Weng J, et al. Effect of epidermal growth factor, hepatocyte growth factor, and keratinocyte growth factor, on proliferation, motility and differentiation of human corneal epithelial cells. *Exp. Eye Res* 1994;59(6):665-678
129. Rubin JS, Osada H, Finch PW, et al. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1989;86(3):802-806
130. Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat. Rev. Cancer* 2008;8(12):915-928
131. Wilson SE, He YG, Weng J, et al. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp. Eye Res* 1996;62(4):325-327

132. Lee HK, Lee JH, Kim M, et al. Insulin-like growth factor-1 induces migration and expression of laminin-5 in cultured human corneal epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci* 2006;47(3):873-882
133. Roberts AB. The ever-increasing complexity of TGF-beta signaling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002;13(1):3-5
134. Kay EP, Lee MS, Seong GJ, Lee YG. TGF-beta s stimulate cell proliferation via an autocrine production of FGF-2 in corneal stromal fibroblasts. *Curr. Eye Res* 1998;17(3):286-293
135. Andresen JL, Ledet T, Ehlers N. Keratocyte migration and peptide growth factors: the effect of PDGF, bFGF, EGF, IGF-I, aFGF and TGF-beta on human keratocyte migration in a collagen gel. *Curr. Eye Res* 1997;16(6):605-613
136. Shaheen BS, Bakir M and Jain S. Corneal nerves in health and disease. *Surv Ophthalmol* 2014; 59(3): 263-285
137. Schultz G, Khaw PT, Oxford K, MaCauley S, Van Setten G, Chegini N. Growth factors and ocular wound healing. *Eye (Lond)*. 1994;8(2):184-187
138. Tandon A, Tovey JC, Sharma A, Gupta R, Mohan RR. Role of transforming growth factor  $\beta$  in corneal function, biology and pathology. *Curr Mol Med* 2010;10(6):565-578
139. Taylor DW, Petrera M, Hendry M, et al. A systematic review of the use of platelet-rich plasma in sports medicine as a new treatment for tendon and ligament injuries. *Clin J Sport Med* 2011; 21(4): 344-352
140. Albanese A, Licata ME, Polizzi B, et al. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immun Ageing* 2013; 10(1): 23
141. Vieira Netto M, Ambrósio Jr R, Chalita MR, Krueger RR, Wilson SE. Resposta cicatricial corneana em diferentes modalidades de cirurgia refrativa. *Arq Bras Oftalmol* 2005; 68(1):140-149

142. Marquez De Aracena Del Cid R, Montero De Espinosa Escoriaza I. Subconjunctival application of regenerative factor-rich plasma for the treatment of ocular alkali burns. *Eur J Ophthalmol* 2009;19(6):909-915
143. Geremicca W, Fonte C, Vecchio S. Blood components for topical use in tissue regeneration: evaluation of corneal lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms. *Blood Transfusion* 2010; 8(2):107-112
144. Panda A, Jain M, Vanathi M, et al. Topical autologous platelet-rich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury. *Cornea* 2012;31(9):989-993
145. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en paroiimplantologie: le PRF. *Implantodontie* 2001;42(55):62
146. Sohn DS, Moon JW, Moon YS, Park JS, Jung HS. The use of concentrated growth factors (CGF) for sinus augmentation. *Journal of Oral Implant (Japan)* 2009;38:25-35
147. Dohan D. M, Choukroun J, Diss A. et al. "Platelet-Rich Fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution," *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2006;101(3):37-44
148. Lee H.J, Choi B.H, Jung J.H et al. Maxillary sinus floor augmentation using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue with simultaneous implant placement. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 2007;103(3):329-333
149. Reim M, The results of ischaemia in chemical injuries. *Eye* 1992;6:376-380
150. Alio JL, Colecha JR, Pastor S, Rodriguez A, Artola A. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. *Ophthalmic Res* 2007;39(3):124-129
151. Alio JL, Abad M, Artola A, et al. Use of autologous platelet-rich plasma in the treatment of dormant corneal ulcers. *Ophthalmology* 2007;114(7):1286-1293

152. Alio JL, Rodriguez AE, Martinez LM, Rio AL. Autologous fibrin membrane combined with solid platelet-rich plasma in the management of perforated corneal ulcers: a pilot study. *JAMA Ophthalmol* 2013; 131(6):745-751
153. Rezende MS, Silva CA, Antunes VC, Ribeiro LE, Tatsui N, Cvintal T. Uso do concentrado de plaquetas em doença da superfície ocular. *Rev Bras Oftalmol* 2007; 66(4):257-261
154. López-Plandolit S, Morales MC, Freire V, Etxebarria J, Durán JA. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. *Cornea* 2010; 29(8/1):843-848
155. Kim KM, Shin YT, Kim HK. Effect of autologous platelet rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. *Jpn Ophthalmol* 2012; 56(6): 544-550
156. Márquez-de-Aracena R, Montero-de-Espinosa I, Muñoz M, Pereira G. Aplicación subconjuntival de concentrado de plaquetas plasmáticas en el tratamiento de quemaduras oculares. Resultados Preliminares. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2007; 82(8): 475-482
157. Anitua E, Muruzabal F, Tayebba A, Riestra A, Perez VL, Merayo-lloves J, et al. Autologous serum and plasma rich in growth factors in ophthalmology: preclinical and clinical studies. *Acta Ophthalmol* 2015; 93(8):605-614
158. Sanchez-Avila R.M, Merayo-Lloves J, Riestra A.C, et al. Plasma rich in growth factors membrane as coadjuvant treatment in the surgery of ocular surface disorders. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Apr;97(17):e0242
159. Drago L, Bortolin M, Vassena C, Taschieri S, and Fabbro MD. Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity. *BMC Microbiology* 2013;13(1): 47-51
160. Can M.E, Çakmak H.B, Can G.D, et all. A Novel Technique for Conjunctivoplasty in a Rabbit Model: Platelet-Rich Fibrin Membrane Grafting. *Journal of Ophthalmology* 2016:1-11



161. Feng Y, Borrelli M, Reichl S, Schrader S, Geerling G. Review of alternative carrier materials for ocular surface reconstruction. *Curr Eye Res* 2014;39:541-552
162. Liu J, Sheha H, Fu Y. Update on amniotic membrane transplantation. *Expert Rev Ophthalmol* 2010;5:645-661
163. Alemañy G.J, Camacho R.F. Usos de la membrana amniótica humana en oftalmología. *Rev Cuba Oftalmol* 2006;19:1-7
164. Sabater AL, Perez VL. Amniotic membrane use for management of corneal limbal stem cell deficiency. *Curr Opin Ophthalmol* 2017;28:363-369
165. Zhao Y, Ma L. Systematic review and meta-analysis on transplantation of ex vivo cultivated limbal epithelial stem cell on amniotic membrane in limbal stem cell deficiency. *Cornea* 2015;34:592-600
166. Khokhar S, Natung T, Sony P, et al. Amniotic membrane transplantation in refractory neurotrophic corneal ulcers: a randomized, controlled clinical trial. *Cornea* 2005;24(6):654-660
167. Hopkinson A, McIntosh RS, Tighe PJ, James DK, Dua HS. Amniotic membrane for ocular surface reconstruction: donor variations and the effect of handling on TGF- $\beta$  content. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(10):4316-4322
168. Rahman I, Said DG, Maharajan VS, Dua HS. Amniotic membrane in ophthalmology: indications and limitations. *Eye (Lond)*. 2009;23(10):1954-1961
169. Grerory DG, Holland EJ, Mannis MJ, Barry LW. Amniotic membrane transplantation: indications and techniques. *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film Elsevier, Amsterdam* 2013;309-313
170. Dudzinska DW, Alio J, Rodriguez A, et al. Clinical Efficacy of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Neurotrophic Corneal Ulcer. *Hindawi Journal of Ophthalmology* 2018: 7
171. Cole BJ, Seroyer ST, Filardo G, Bajaj S, Fortier LA. Platelet-rich plasma: where are we now and where are we going?. *Sports Health* 2010; 2(3):203-10
172. McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. *J Orthop Res* 2009; 27(8):1033-1042

173. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998;17:584-589
174. Pflugfelder SC, Wilhelmus KR, Osato MS, Matoba AY, Font RL. The autoimmune nature of aqueous tear deficiency. *Ophthalmology* 1986;93:1513-1517
175. Pflugfelder SC, Solomon A, Dursun D, Li DQ. Dry eye and delayed tear clearance: “acalltoarms”. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:739-743
176. Nasu M, Matsubara O, Yamamoto H. Post-mortem prevalence of lymphocytic infiltration of the lacrymal gland: a comparative study in autoimmune and non-autoimmune diseases. *J Pathol* 1984;143:11-15
177. Watanabe K, Nakagawa S, Nishida T. Stimulatory effects of fibronectin and EGF on migration of corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1987;28(2):205-211
178. Barabino S, Labetoulle M, Rolando M, Messmer EM. Understanding symptoms and quality of life in patients with dry eye syndrome. *Ocul Surf* 2016;14(3):365-376
179. Mrugacz M, Ostrowska L, Bryl A, et al. Pro-inflammatory cytokines associated with clinical severity of dry eye disease of patients with depression. *Adv Med Sci* 2017;62(2):338-344
180. Luo L, Li DQ, Doshi A, et al. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(12):4293-4301
181. Tan X, Sun S, Liu Y, et al. Analysis of Th17-associated cytokines in tears of patients with dry eye syndrome. *Eye (Lond)* 2014;28(5):608-613
182. Drew VJ, Tseng C-L, Seghatchian J, Burnouf T. Reflections on Dry Eye Syndrome Treatment: Therapeutic Role of Blood Products. *Front. Med.* 2018;5:33
183. Koç Y, Alkan F, Tepeli C. Schirmer tear test in different rabbit breeds. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*; 2005. 15, 2: 1-5

184. Kahraman E Siklosporin A ve Timokinon'un etkinliğinin tavşan kerato konjunktivitis sikka modelinde karşılaştırılması, Doktora tezi, Aydın Adnan Menderes üni. Sağlık bilimleri enstitüsü, Aydın 2018:88
185. Yang CQ, Sun W, Gu YS. A clinical study of the efficacy of topical corticosteroids on dry eye. *J Zhejiang Univ Sci B* 2006; 7:675-678
186. Wan KH, Chen LJ, Young AL. Efficacy and safety of topical 0.05% cyclosporine eye drops in the treatment of dry eye syndrome: a systematic review and meta-analysis. *OculSurf* 2015;13(3):213-225
187. Agarwal P, Rupenthal ID. Modern approaches to the ocular delivery of cyclosporine A. *Drug Discov Today* 2016;21(6):977-988
188. Tauber J, Karpecki P, Latkany R, Luchs J, Martel J, Sall K, et al. Lifitegrast ophthalmic solution 5.0% versus placebo for treatment of dry eye disease: results of the randomized phase III OPUS-2 study. *Ophthalmology* 2015;122(12):2423-2431
189. Bielory BP, Shah SP, O'Brien TP, Perez VL, Bielory L. Emerging therapeutics for ocular surface disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2016;16(5):477-486
190. Cutolo CA, Barabino S, Bonzano C, Traverso CE. The use of topical corticosteroids for treatment of dry eye syndrome. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017:1-10
191. Wilson SE, Perry HD. Long-term resolution of chronic dry eye symptoms and signs after topical cyclosporine treatment. *Ophthalmology* 2007;114(1):76-9
192. Pan Q, Angelina A, Zambrano A, et al. Autologous serum eye drops for dry eye. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;27:8
193. Pucker AD, Ng SM, Nichols JJ. Over the counter (OTC) artificial tear drops for dry eye syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;23:2
194. Simmons PA, Liu H, Carlisle-Wilcox C, Vehige JG. Efficacy and safety of two new formulations of artificial tears in subjects with dry eye disease: a 3-month, multicenter, active-controlled, randomized trial. *Clin Ophthalmol* 2015;9:665-675
195. Fernandez KB, Epstein SP, Raynor GS, et al. Modulation of HLA-DR in dry eye patients following 30 days of treatment with a lubricant eyedrop solution. *Clin Ophthalmol* 2015;9:1137-1145

196. Pinto-Bonilla JC, del Olmo-Jimeno A, Llovet-Osuna F, Hernández-Galilea E. A randomized crossover study comparing trehalose/hyaluronate eyedrops and standard treatment: patient satisfaction in the treatment of dry eye syndrome. *Ther Clin Risk Manag* 2015;11:595
197. Chiambaretta F, Doan S, Labetoulle M, et al. A randomized, controlled study of the efficacy and safety of a new eyedrop formulation for moderate to severe dry eye syndrome. *Eur J Ophthalmol* 2017;27(1):1-9
198. Baudouin C, Labbé A, Liang H, Pauly A, Brignole-Baudouin F. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog Retin Eye Res* 2010;29(4):312-34
199. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 1984;27(4):459-461
200. Nishida T, Nakamura M, Ofuji K, et al. Synergistic effects of substance P with insulin-like growth factor-1 on epithelial migration of the cornea. *J Cell Physiol* 1996;169(1):159-166
201. van Setten GB, Viinikka L, Tervo T, et al. Epidermal growth factor is a constant component of normal human tear fluid. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1989;227(2):184-187
202. Gupta A, Monroy D, Ji Z, Yoshino K, Huang A, Pflugfelder SC. Transforming growth factor beta-1 and beta-2 in human tear fluid. *Curr Eye Res.* 1996;15(6):605-614
203. Lopez-Garcia JS, Garcia-Lozano I, Rivas L, Martinez-Garchitorena J. Use of autologous serum in ophthalmic practice. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2007;82:9–20
204. Tsubota K, Higuchi A. Serum application for the treatment of ocular surface disorders. *Int Ophthalmol Clin* 2000;40(4):113-122
205. Pastor JC, Calonge M. Epidermal growth factor and corneal wound healing: a multicenter study. *Cornea* 1992;11:311-314
206. Collins MK, Perkins GR, Rodriguez-Tarduchy G, Nieto MA, López-Rivas A. Growth factors as survival factors: regulation of apoptosis. *Bioessays* 1994;16:133-138

207. Haber M, Cao Z, Panjwani N, et al. Effects of growth factors (EGF, PDGF-BB and TGF beta 1) on cultured equine epithelial cells and keratocytes: implications for wound healing. *Vet Ophthalmol* 2003;6:211-217
208. Nishida T, Nakagawa S, Awata T, et al. Fibronectin promotes epithelial migration of cultured rabbit cornea in situ. *J Cell Biol.* 1983;97:1653-1657
209. Nishida T, Ohashi Y, Awata T, Manabe R. Fibronectin. A new therapy for corneal trophic ulcer. *Arch Ophthalmol* 1983;101:1046-1048
210. Pfister RR, Renner ME. The corneal and conjunctival surface in vitamin A deficiency: a scanning electron microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978;17:874-83
211. Sommer A. Xerophthalmia and vitamin A status. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:9-31
212. Wu TE, Chen JC, Hu C, Cheng CK. Easy-to-prepare autologous platelet-rich plasma in the treatment of refractory corneal ulcers. *Taiwan J Ophthalmol* 2015;5(3):132-135
213. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(11):1467-1474
214. Freire V, Andollo N, Etxebarria J, Durán JA, Morales MC. In vitro effects of three blood derivatives on human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(9):5571-5578
215. Gospodarowicz D, Bialecki H, Thakral TK. The angiogenic activity of the fibroblast and epidermal growth factor. *Exp Eye Res* 1979;28:501-514
216. Anitua, E. The use of plasma-rich growth factors (BFZP) in oral surgery. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001;13(6):487-493
217. Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andía I. The potential effects of the preparation rich in growth factors (BFZP) in different medical fields. *Biomaterials* 2007;28(31):4551-4560
218. Intini, G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. *Biomaterials* 2009;30(28):4956-4966

219. Alió JL, Arnalich-Montiel F, Rodríguez A. The role of “eye platelet rich plasma” (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1257-1265
220. Alio JL, Colecha JR, Pastor S, Rodriguez A, Artola A. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. *Ophthalmic Res* 2007;39(3):124-129
221. Miller PE. The glaucomas. In: Slatter’s Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4 nd ed. Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, (eds.), Saunders, St.Louis 2008: 230-257
222. Doğan Z. Tavşanlarda antiglokomatöz ilaçların göz içi basıncı ve orbital kan akımı üzerine etkilerinin araştırılması, Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2014:110
223. Miljanovic B, Dana R, Sullivan DA, et al. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. *Am J Ophthalmol* 2007;143:409-415
224. Çınık R, Yüksel N, Pirhan D. Glokom Hastalarında Oküler Yüzey Hastalık Prevalansı, *Kocaeli Tıp Dergisi* 2016;5(1):6-10
225. Stades FC, Wyman M, Boeve MH, Neumann W, Spiess B. Intraocular pressure and glaucoma. In: *Ophthalmology for the Veterinary Practitioner*. 2 nd English ed. Schlütersche GmbH&Company, Hannover, 2007:157-170
226. Wang X, Dong J, Wu Q. Twenty-four-hour measurement of IOP in rabbits using rebound tonometer. *Veterinary Ophthalmology* 2013;16(6):423-428
227. Lachkar Y, Hamard P. Nonpenetrating filtering surgery. *Curr Opin Ophthalmol*. 2002;13(2):110-115
228. Michael AL, Christophe B, Jules B, et al. The definition and classification of dry eye disease: report of the definition and classification subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*.2007;5(2):75-92
229. Monaco G, Cacioppo V, Consonni D, Troiano P. Effects of osmoprotection on symptoms, ocular surface damage, and tear film modifications caused by glaucoma therapy. *Eur J Ophthalmol*. 2011;21(37):243-250
230. Sánchez-Avila RM, Merayo-Lloves J, Fernández ML, Rodríguez-Gutiér LA, Rodríguez-Calvo PP. Plasma rich in growth factors eye drops to treat secondary

- ocular surface disorders in patients with glaucoma, *International Medical Case Reports Journal* 2018;11 97-103
231. Anitua E, Muruzabal F, de la Fuente M, et al. Plasma rich in growth factors for the treatment of ocular surface diseases. *Curr Eye Res* 2016;41(7):875-882
232. Merayo-Llodes J, Sanchez RM, Riestra AC, et al. Autologous plasma rich in growth factors eyedrops in refractory cases of ocular surface disorders. *Ophthalmic Res* 2015;55(2):53-61
233. Merayo-Llodes J, Sanchez-Avila RM, Riestra AC, et al. Safety and efficacy of autologous plasma rich in growth factors eye drops for the treatment of evaporative dry eye. *Ophthalmic Res* 2016;56(2):68-73
234. Freire V, Andollo N, Etxebarria J, Hernández-Moya R, Durán JA, Morales MC. Corneal wound healing promoted by 3 blood derivatives: an in vitro and in vivo comparative study. *Cornea* 2014;33(6):614-620
235. Anitua E, Muruzabal F, Alcalde I, Merayo-Llodes J, Orive G. Plasma rich in growth factors (BFZP-Endoret) stimulates corneal wound healing and reduces haze formation after PRK surgery. *Exp Eye Res* 2013;115:153-161
236. Alio JL, Pastor S, Ruiz-Colecha J, Rodriguez A, Artola A. Treatment of ocular surface syndrome after LASIK with autologous platelet-rich plasma. *J Refract Surg* 2007;23(6):617-619
237. Lopez-Plandolit S, Morales MC, Freire V, Grau AE, Duran JA. Efficacy of plasma rich in growth factors for the treatment of dry eye. *Cornea* 2011;30(12):1312-1317
238. Sanchez-Avila RM, Merayo-Llodes J, Riestra AC, et al. Treatment of patients with neurotrophic keratitis stages 2 and 3 with plasma rich in growth factors (BFZP-Endoret) eye-drops. *Int Ophthalmol*. 2018 Jun;38(3):1193-1204
239. Wang J, Harris A, Prendes MA, et al. Targeting transforming growth factor-beta signaling in primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma* 2017;26(4):390-395
240. Agarwal R, Agarwal P. Future target molecules in antiglaucoma therapy: tgf-Beta may have a role to play. *Ophthalmic Res* 2010;43(1):1-10
241. Riestra AC, Alonso-Herreros JM, Merayo-Llodes J. Plasma rico en plaquetas en superficie ocular. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2016;91(10):475-490



T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(EÜHADYEK)



Tarih: 15.02.2017

Toplantı Sayısı: 02

Karar No:17/013

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 15.02.2017 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	KATILMADI
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Serpil SARIÖZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	KATILMADI
Nükhet KÜTÜK	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	KATILMADI
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Yard.Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Hamiyet ÜNAL	Yard.Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Osman İBİŞ	Yard.Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	
Serap ALTUNTAŞ EROĞLU	Avukat	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	KATILMADI
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Derneği Başkanı	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi A.D.'dan Prof. Dr. Gültekin ATALAN tarafından sunulan "Tavşanlarda Deneysel Kornea Alkali Yanıklarının Sağıltımında Trombositten Zengin Fibrin Membran ve Konsantre Büyüme Faktörü Membranı Tekniklerinin Karşılaştırılması." başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 15.02.2017

Etik kurul Başkan Vekili : Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA

İmza :



# ŞULE .docx

## ORIGINALITY REPORT

7%

### SIMILARITY INDEX

#### PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://www.sunray.com.tr">www.sunray.com.tr</a> Internet	340 words — 2%
2	<a href="http://adumilas.adu.edu.tr">adumilas.adu.edu.tr</a> Internet	134 words — 1%
3	DOĞAN, Zafer and KİBAR, Murat. "Tavşanlarda Bazı Antiglomatöz İlaçların Göz İçi Basıncı Üzerine Etkileri", Erciyes Üniversitesi, 2015. Publications	122 words — 1%
4	<a href="http://dspace.baskent.edu.tr:8080">dspace.baskent.edu.tr:8080</a> Internet	58 words — < 1%
5	Kürşad YİĞİTARSLAN, Şefika ERCAN, Candemir ÖZCAN, Ümran AKIN ÖZCAN. "Platelet Rich Plasma and its Utilization Areas in Veterinary Medicine", Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences, 2018 Crossref	56 words — < 1%
6	<a href="http://dent.ege.edu.tr">dent.ege.edu.tr</a> Internet	53 words — < 1%
7	<a href="http://www.ctf.edu.tr">www.ctf.edu.tr</a> Internet	52 words — < 1%
8	<a href="http://dergi.cumhuriyet.edu.tr">dergi.cumhuriyet.edu.tr</a> Internet	51 words — < 1%
9	ULAŞLI, Alper Murat. "Kas iskelet sistemi yaralanmalarında plateletten zengin plazma	46 words — < 1%

# ÖZ GEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Şule MELEK

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 5 Ocak 1989, Hatay

Medeni Durumu: Bekâr

email: sulemelek@gmail.com

Yazışma Adresi: Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi ABD Merkez/Bingöl

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Kırıkkale Üniversitesi	2013
Lisans	Kırıkkale Üniversitesi	2013
Lise	Hatay Osman Ötken Anadolu Lisesi	2007

## İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014- Halen	Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi	Araştırma Görevlisi
2013–2014	Poliklinik	Veteriner Hekim

## YABANCI DİL

İngilizce

## YAYINLAR

### Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Açık MN, Ünsaldi S, Melek Ş, Çetinkaya B: First isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from ear abscess of a red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2018, 24 (4): 623-625

**Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler.**

Erol M., Erol H., Atalan G., Doğan Z., Yönez M.K., Atalan G., Melek Ş., "An Experimental Study of Systemically Used Midazolam, Ketamine and Isoflurane Anaesthetic Agents Effects on Intraocular Pressure and Tear Production of Rabbits", 32 nd World Veterinary Congress , İSTANBUL, TÜRKİYE, 13-17 Eylül 2015, pp.401-401

Dörtbudak MB., Ünsaldı S., Ulucan A., Melek Ş., Yüksel H., Bir Köpekte Ekstragenital Transmissible Veneral Tümörün(TVT) Subkutan İnguinal Metastazı. IX.Veteriner Patoloji Kongresi, 25-28 Ekim 2018

Dörtbudak MB., Ünsaldı S., Ulucan A., Melek Ş., Yüksel H., Bir İnekte Oküler Yassı Hücreli Karsinom Olgusu. IX.Veteriner Patoloji Kongresi, 25-28 Ekim 2018

**Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler**

Erol M, Melek Ş. Kardiyovasküler ve Solunum Sistemi Acil Olgularına Yaklaşımlar Türkiye Klinikleri J Vet Sci Surg-Special Topics 2015;1(3):88-94

Erol M., Erol H., Atalan G., Doğan Z., Yönez M.K., Melek Ş., Effects of Systemically Used Midazolam, Ketamine and Isoflurane Anesthetic Agents on Intraocular Pressure and Tear Production in Rabbits Harran Üniv Vet Fak Derg, 2018; 7 (1): 21-25