

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KORNEAL  
PERFORASYONLARDA TOPIKAL ANKAFERD  
KULLANIMININ YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

Dr. GÜROL DEĞİRMENÇİ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. NURŞEN ARITÜRK

SAMSUN, 2016

## TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince, bilgi, düşünce ve deneyimleriyle yetişmemde büyük emekleri bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Nurşen ARITÜRK, Prof. Dr. Yüksel SÜLLÜ, Prof. Dr. Hakkı BİRİNCİ, Prof. Dr. İnci GÜNGÖR, Yard. Doç. Dr. Ertuğrul CAN, Yard. Doç. Dr. Adem GÜL, Yard. Doç. Dr. Leyla NİYAZ, Yard. Doç. Dr. Özlem EŐKI YÜCEL, Yard. Doç. Dr. Hilal ESER ÖZTÜRK'e,

Tüm eğitimim boyunca bana destek olan asistan arkadaşlarıma, tezime katkılarından dolayı Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ' e, hemşire ve sağlık personelimize sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Değerli hocam Prof. Dr. Nurşen ARITÜRK'e tezimin oluşumu sürecindeki katkılarından dolayı da ayrıca teşekkür ederim.

Saygılarımla...  
Dr. Gürol DEĞİRMENCİ  
SAMSUN, 2016

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER .....	II
KISALTMALAR.....	IV
TABLolar .....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kornea.....	2
2.1.1. Kornea Embriyolojisi.....	2
2.1.2. Kornea Anatomisi .....	2
2.1.2.1. Epitel ve Bazal membran.....	3
2.1.2.2. Bowman Tabakası.....	4
2.1.2.3. Stroma .....	5
2.1.2.4. Desme Membranı .....	5
2.1.2.5. Endotel .....	6
2.1.3. Kornea Metabolizması.....	6
2.1.4. Kornea Saydamlığı.....	6
2.2. Kornea Yara İyileşmesi .....	7
2.2.1. Epitel Yara İyileşmesi .....	7
2.2.2. Bazal Membran Yara İyileşmesi.....	9
2.2.3. Stroma Yara İyileşmesi.....	9
2.2.4. Endotel Yara İyileşmesi.....	10
2.3. Korneal Yara İyileşmesinin Endojen Modülasyonu .....	11
2.4. Korneal Perforasyonlar .....	13
2.4.1. Korneal Perforasyon Etiyolojisi.....	13
2.4.1.1. Enfeksiyon Nedenli Korneal Perforasyonlar .....	13
2.4.1.2. Enfeksiyon Nedenli Olmayan Korneal Perforasyonlar .....	14
2.4.2. Korneal Perforasyonların Tedavisi .....	15
2.4.2.1. Medikal Tedavi.....	15
2.4.2.2. Cerrahi Tedavi.....	16
2.4.2.2.1. Doku Yapıştırıcıları.....	16
2.4.2.2.1.1. Siyanoakrilat Yapıştırıcılar .....	16
2.4.2.2.1.2. Fibrin Yapıştırıcılar .....	18
2.4.2.2.2. Amniyon Membran Transplantasyonu (AMT) .....	19
2.4.2.2.3. Konjonktiva Flepleri .....	19
2.4.2.2.4. Tektonik Korneal Yama Grefti (TKYG) .....	20

2.4.2.2.5. Penetran Keratoplasti (PKP) .....	20
2.5. Kan .....	20
2.6. Ankaferd Kan Durdurucu-Ankaferd Blood Stopper (ABS) .....	21
2.6.1. ABS' nin İçeriği .....	21
2.6.2. ABS' nin Etki Mekanizması .....	24
2.6.3. ABS İle Yapılan Çalışmalar .....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	27
3.1. Anestezi Tekniği ve Operasyon Öncesi Hazırlık .....	27
3.2. Deney Hayvanlarında Korneal Perforasyon Oluşturulması ve Tedavi Uygulama Teknikleri .....	27
3.3. Mikroskopik ve Histopatolojik Değerlendirme .....	29
3.4. İstatistiksel Yöntem .....	30
4. BULGULAR .....	31
4.1. Mikroskopik Değerlendirme .....	31
4.2. Histopatolojik Değerlendirme .....	37
5. TARTIŞMA .....	42
6. SONUÇ .....	52
7. KAYNAKLAR .....	53

## KISALTMALAR

ESM	: Ekstrasellüler Matriks
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
GAG	: Glikozaminoglikan
İL	: İnterlökin
EGF	: Epitelyal Büyüme Faktörü
TGF	: Transforme edici Büyüme Faktörü
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
KGF	: Keratosit Büyüme Faktörü
PDGF	: Platelet kaynaklı Büyüme Faktörü
MAPK	: Mitojen aktive Protein Kinaz
PKC	: Protein Kinaz C
PI-3K	: Fosfatidilinozitol 3-Kinaz
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
IGF	: İnsülin Büyüme Faktörü
uPA	: Ürokinaz tip Plazminojen Aktivatörü
PÜK	: Periferik Ülseratif Keratit
MCA	: Metil-2-Siyanoakrilat
NBCA	: N-Bütil-2-Siyanoakrilat
OCA	: 2-Oktil-Siyanoakrilat
PRP	: Plateletten Zengin Plazma
ABS	: Ankaferd Kan Durdurucu

$\mu\text{m}$	: Mikron
mm	: Milimetre
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
AMT	: Amniyon Membran Transplantasyonu
TKYG	: Tektonik Korneal Yama Grefti
PKP	: Penetran Keratoplasti
KL	: Kontakt Lens
GTPaz	: Guanozin Trifosfataz
Grup 1	: Ankaferd ve kan kombinasyonu uygulanan grup
Grup 2	: Saadece kan uygulaması yapılan grup
Grup 3	: N-bütül-2-siyanoakrilat uygulaması yapılan grup
Grup 4	: Kontrol grubu
DEHAM	: Deney Havyanları Araştırma Merkezi
OMÜ	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1:</b> Kornea epiteli.	3
<b>Şekil 2:</b> Thoft' un XYZ hipotezi.	8
<b>Şekil 3:</b> ABS' nin etki mekanizması.	24
<b>Şekil 4:</b> ABS' nin plazma, serum ve kanda protein ağı oluşturmaları.	25
<b>Şekil 5:</b> Kornea merkezinden 1 mm çaplı disposable punch ile tam kat doku çıkarılması ve ön kamaranın silinmesi.	28
<b>Şekil 6:</b> Gruplara göre tedavi uygulama teknikleri.	28
<b>Şekil 7:</b> Çalışma gözlerinin formol içeren kaplara konulması.	29
<b>Şekil 8:</b> Sızıntı varlığı ve ÖK sığılaşması gözlenen denek yüzdelерinin zamansal grafiği.	32
<b>Şekil 9:</b> Ön kamarada inflamasyon görülen denek yüzdelерinin zamansal grafiği.	34
<b>Şekil 10:</b> Korneal ödem görülen denek yüzdelерinin zamansal grafiği.	35
<b>Şekil 11:</b> Grup 1' deki 1 numaralı denegin 1,7 ve 21. günlerdeki fotoğrafları.	35
<b>Şekil 12:</b> Grup 2' deki 4 numaralı denegin 1,7 ve 21. günlerdeki fotoğrafları.	36
<b>Şekil 13:</b> Grup 3' deki 4 numaralı denegin 1,7 ve 21. günlerdeki fotoğrafları.	36
<b>Şekil 14:</b> Grup 4' deki 1 numaralı denegin 1,7 ve 14. günlerdeki fotoğrafları.	36
<b>Şekil 15:</b> Ankaferd grubu 5 numaralı denekte epitel ve endotelde rejenerasyon, minimal düzeyde (+) fibrozis.	39
<b>Şekil 16:</b> Kan grubu 5 numaralı denekte epitel ve endotelde rejenerasyon, orta düzeyde (++) fibrozis, Hafif (+) yangısal hücre infiltrasyonu.	39
<b>Şekil 17:</b> Siyanoakrilat grubu 5 numaralı denekte epitel ve endotelde rejenerasyon, çok şiddetli (++++) fibrozis ve hafif (+) yangısal hücre infiltrasyonu.	40
<b>Şekil 18:</b> Kontrol grubu 5 numaralı denekte epitel ve endotelde rejenerasyon, şiddetli (+++) fibrozis ve yangısal hücre infiltrasyonu.	40
<b>Şekil 19:</b> Grup 1' deki 3 ve 10 numaralı denegin, ÖK inflamasyonu açısından karşılaştırılması.	46
<b>Şekil 20:</b> Ankafert 10 numaralı denekte çok şiddetli düzeyde fibrozis.	47
<b>Şekil 21:</b> Kornea onarımı sırasındaki hücresele etkileşimler.	50

## TABLÖLAR

<b>Tablo 1:</b> Ampul, tampon ve sprey formunda ABS' nin içeriği.	23
<b>Tablo 2:</b> Sızıntı varlığı ve ÖK sığılaşması gösteren denek sayılarının gruplar arası dağılımı.	32
<b>Tablo 3:</b> Ön kamarada inflamasyon görülen denek sayılarının gruplar arası dağılımı.	33
<b>Tablo 4:</b> Korneal ödem görülen denek sayılarının gruplar arası dağılımı.	35
<b>Tablo 5:</b> Histopatolojik kesitlerde görülen fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun gruplar arası dağılımı.	37
<b>Tablo 6:</b> Fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu derecesinin ortanca değere göre gruplar arası dağılımı.	38
<b>Tablo 7:</b> Grup 1 ve 3' ün ilk bir haftadaki mikroskopik ve histopatolojik değerlendirme sonuçları.	41



## ÖZET

### DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KORNEAL PERFORASYONLARDA TOPIKAL ANKAFERD KULLANIMININ YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

**AMAÇ:** Deneysel olarak oluşturulan doku kayıplı korneal perforasyonlarda N-bütül-2-siyanoakrilat ve Ankaferd uygulamasının tedavi etkinliğini, klinik ve histopatolojik olarak değerlendirmek ve karşılaştırmak.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Çalışmaya alınan 29 adet Yeni Zelanda tavşanının 34 gözü, rasgele olarak 4 gruba ayrıldı. 1. grup topikal Ankaferd ve kan uygulanan 10 tavşan, 2. grup sadece topikal otolog kan uygulanan 9 tavşan, 3. grup N-bütül-2-siyanoakrilat uygulanan 10 tavşan, 4. grup ise hiçbir uygulama yapılmayan 5 tavşandan oluşan kontrol grubu olarak belirlendi. Tavşanların bir gözünün santral korneasından “disposable punch” ile 1 mm boyutunda tam kat doku çıkarılarak perforasyon oluşturuldu. Uygulama sonrası tavşanların 1-2-3-7-14 ve 21. günlerdeki oftalmolojik muayenesinde korneal ödem, ön kamara (ÖK) derinliği, ön segmentte inflamasyon ve yara yerinden sızıntı varlığı değerlendirildi. 21. günde tüm tavşanlar sakrifiye edildi ve iyileşmiş yara dokusundaki korneal saydamlık mikroskopik olarak değerlendirildi. Histopatolojik inceleme; epitel tabakasının rejenerasyonu, fibrozisin şiddeti, yangısal hücre infiltrasyonunun varlığı ve vaskülarizasyon göz önüne alınarak yapıldı. Tüm deneklerin operasyon günü video ile postoperatif takip günleri ise fotoğraflanarak kayıt altına alındı.

**BULGULAR:** Postoperatif ilk gün grup 1 ve 3’ teki sızıntı yokluğu ve ÖK oluşumu grup 2 ve 4’ e göre istatistiksel olarak anlamlıydı (grup 2’ye göre  $p=0.018$ , grup 4’ e göre  $p<0.001$ ). İlk bir haftada sızıntı varlığı görülen deneklerin istatistiksel karşılaştırmasında, grup 1’ in diğer gruplara göre yara yeri sızıntı varlığının daha az olması anlamlı bulundu (grup 2’ ye göre  $p=0.033$ , grup 3’ e göre  $p=0.019$ , grup 4’ e göre  $p=0.001$ ). Benzer şekilde ilk bir haftadaki normal ÖK derinliği görülen deneklerin istatistiksel karşılaştırmasında, grup 1’ de diğer gruplara göre ÖK sığılması daha az olup anlamlı bulundu (grup 2’ ye göre  $p=0.011$ , grup 3’ e göre  $p=0.003$ , grup 4’ e göre  $p<0.001$ ). Postoperatif ilk 14 gün boyunca, grup 1 ve 3’ te kontrol grubuna göre daha az inflamasyon görülmesi istatistiksel açıdan anlamlıydı (ilk iki gün  $p=0.025$ , 3. gün

p=0.003, 7. ve 14. gün p=0.001). Grup 2' nin kontrol grubuyla karşılaştırılmasında ise ilk üç gün anlamlı sonuç görülmezken, 7. ve 14. günlerde istatistiksel olarak daha az inflamasyon görüldü (ilk üç gün p>0.05, 7. gün p=0.016, 14. gün p=0.001). İlk gün korneal ödem açısından gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (p=0.212). 2. gün grup 1' de grup 2 ve 4' e göre daha az korneal ödem görülürken (p=0.038), 3. gün sadece grup 1' in kontrol grubuyla karşılaştırılmasında korneal ödem açısından anlamlı fark bulundu (p=0.031). 14. gün ilk üç grupta kontrol grubuna göre korneal ödem yokluğu istatistiksel açıdan anlamlıydı (p=0.006). Ayrıca, grup 3' de 4 tavşana tekrar yapıştırıcı uygulaması yapılırken, diğer gruplarda ek uygulama yapılmadı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.012). Grup 1' in diğer gruplarla karşılaştırılmasında, iyileşmiş perforasyon alanındaki korneal saydamlık grup 1 lehine anlamlı bulundu (p=0.027). Histopatolojik incelemede; grup 1' in grup 2, 3 ve 4 ile karşılaştırılmasında, fibrozis yoğunluğunun ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun daha az görülmesi istatistiksel açıdan anlamlıydı (grup 2' ye göre; p=0.004 ve p=0.012, grup 3' e göre; p=0.002 ve p=0.007, grup 4' e göre; p=0.022 ve p=0.001).

**SONUÇ:** Doku kayıplı korneal perforasyonlarda Ankaferd uygulaması, oküler yüzeyde ciddi bir yan etki ve tekrar uygulama gereksinimi olmaksızın hızlı bir iyileşme sağlamaktadır. Oldukça yaygın kullanılan N-bütül-2-siyanoakrilat'a göre, "Ankaferd" daha başarılı bulunmuştur. Ayrıca, histopatolojik olarak diğer gruplara göre çok daha düşük seviyede stromal fibrozise yol açtığı görüldü. Deneysel olarak daha büyük çapta oluşturulan korneal doku defektlerinde, tedavi etkinliğinin diğer cerrahi doku yapıştırıcılarıyla karşılaştırılması uygun olacaktır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Ankaferd, N-bütül-2-siyanoakrilat, korneal perforasyon

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF TOPICAL ANKAFERD USE ON THE RECOVERY OF WOUND IN EXPERIMENTALLY FORMED CORNEAL PERFORATIONS

**OBJECTIVE:** To assess and to compare the treatment efficiency of N-butyl-2-cyanoacrylate and Ankaferd clinically and histopathologically in experimentally formed corneal perforations with tissue loss.

**MATERIAL AND METHOD:** 34 eyes of 29 New Zealand rabbits included in the study were randomly grouped in 4. The first group included 10 rabbits which received Ankaferd and blood, the second group included 9 rabbits which received only topical autologous blood, the third group included 10 rabbits which received N-butyl-2-cyanoacrylate and the fourth group included 5 rabbits which did not receive any application. Perforation was formed by taking out a full layer of 1 mm tissue from the central cornea of rabbits' eyes with "disposable punch". On the post-application first, second, third, seventh, fourteenth and twenty first days ophthalmologic examination of rabbits, corneal edema, anterior chamber (AC) depth, inflammation in the anterior segment and presence of leakage from the wound were assessed. On the 21st day, all the rabbits were sacrificed and corneal transparency on the healed wound tissue was assessed with microscopy. Histopathological examination was conducted by taking into consideration the regeneration of epithelium layer, the intensity of the fibrosis, presence of inflammatory cell infiltration and vascularization. The operation days of all the subjects were videoed while their postoperative follow-up days were recorded with photos.

**RESULTS:** Absence of leakage and formation of AC in groups 1 and 3 in the preoperative first day were statistically significant when compared with groups 2 and 4 ( $p=0.018$  when compared with group 2,  $p<0.001$  when compared with group 4). In the statistical comparison of the subjects which were found to have leakage in the first week, it was significant that Group 1 had less wound leakage when compared with other groups ( $p=0.033$  compared with group 2,  $p=0.019$  compared with group 3,  $p=0.001$  compared with group 4). Similarly, in the statistical comparison of the subjects which

were found to have normal AC depth in the first week, group 1 was found to have less AC shallowing when compared with the other groups ( $p=0.011$  compared with group 2,  $p=0.003$  compared with group 3,  $p<0.001$  compared with group 4). Less inflammation in groups 1 and 3 during the first 14 days when compared with the control group was statistically significant (first two days  $p=0.025$ , third day  $p=0.003$ , 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day  $p=0.001$ ). In the comparison of the second group with the control group, no significant results were seen in the first three days, statistically less inflammation was seen on the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days (the first three days  $p>0.05$ , 7<sup>th</sup> day  $p=0.016$ , 14<sup>th</sup> day  $p=0.001$ ). No significant difference was found between groups on the first day in terms of corneal edema ( $p=0.212$ ). On the 2<sup>nd</sup> day, less corneal edema was seen in group 1 when compared with groups 2 and 4 ( $p=0.038$ ), significant difference was found in the comparison of group 1 with the control group ( $p=0.031$ ). On the 14<sup>th</sup> day, absence of corneal edema in the first three groups was statistically significant when compared with the control group ( $p=0.006$ ). In addition, readhesion application was conducted on 4 rabbits in the third group, while no extra applications were conducted in the other groups and this difference was statistically significant ( $p=0.012$ ). In the comparison of group 1 with other groups, corneal transparency in the recovered perforation area was found to be in favor of group 1 ( $p=0.027$ ). In terms of histopathological examination, when group 1 was compared with groups 2, 3 and 4, volume of fibrosis and occurrence of less inflammatory cell infiltration were statistically significant ( $p=0.004$  and  $p=0.012$  when compared with group 2;  $p=0.002$  and  $p=0.007$  when compared with group 3;  $p=0.022$  and  $p=0.001$  when compared with group 4).

**CONCLUSION:** The application of Ankaferd in corneal perforations with tissue loss causes fast recovery without a serious side effect on ocular surface and the need for reapplication. “Ankaferd” has been found to be more successful when compared with N-butyl-2-cyanoacrylate, which is commonly used. In addition, a much lower level of stromal fibrosis was seen when compared with other groups. It will be suitable to compare treatment efficiency with other surgical tissue adhesives in corneal tissue defects which are formed experimentally in bigger sizes.

**KEY WORDS:** Ankaferd, N-butyl-2-cyanoacrylate, corneal perforation

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kornea perforasyonları ciddi görsel kayıplara ve oküler morbiditeye yol açar. Başta mikrobiyal keratit, travma ve immün hastalıklar olmak üzere enfektif ve enfektif olmayan nedenler kornea perforasyonu oluşturabilir. Düşük prevalansına rağmen sineşi, üveit, glokom ya da endoftalmi gibi komplikasyonları önlemek ve gözün anatomik bütünlüğünü korumak için acil müdahale edilmesi gerekmektedir. Lineer korneal laserasyonlar geleneksel sütür tedavisiyle onarılmaktadır. Ancak sütür tedavisinin aktif olarak yara iyileşmesine etkisi yoktur ve belli sakıncaları vardır. Kornea dokusunda ek travma oluşturması, korneal inflamasyon ve vaskülarizasyonu arttırarak skar oluşumuna yol açması, düzenli ve düzensiz astigmata yol açması, dikişler alındığı zaman oluşan ek travmanın yanında enfeksiyon riskinin oluşması, kazanılmış cerrahi deneyim gerektirmesi başlıca dezavantajlarıdır. Bununla birlikte, stromal erimeyle seyreden korneal ülserler ve doku kaybına yol açan travmatik yaralanmalarda tek başına sütür tedavisi yetersiz kalmaktadır. Perforasyon alanının büyüklüğüne, lokalizasyonuna ve doku kayıplı olup olmamasına bağlı olarak çeşitli cerrahi prosedürler (doku yapıştırıcıları, amniyon membran transplantasyonu, konjonktival flepler, tektonik yama grefti, penetran keratoplasti ve keratoprotez) uygulanmaktadır.

Siyanoakrilat doku yapıştırıcılarının progresif korneal incelmelerinde ve küçük korneal perforasyonlarda (<2-3 mm) kullanımı giderek artmaktadır. Fakat uygulama sonrası hemen sertleşir ve hastanın gözünde irritasyon oluşturur. Kolayca yerinden ayrılabilir ve tekrar uygulama gerektirebilir. Yerinde kaldığı sürece, klinik muayeneyi ve hastanın görmesini engeller. İntraoküler temasta toksik etkisi vardır. Fibrin doku yapıştırıcıların ise uzun hazırlık süresi gerektirmesi (30 dakika), potansiyel viral transmisyon riskini önlemek amacıyla otolog plazma gerektirmesi, otolog plazmanın en az 24 saatte hazırlanması ve işlemin pahalı olması, korneal yaraları kapatmak için kullanımındaki zorluk ve antibakteriyel etkilerinin olmaması dezavantajlarıdır.

Ankaferd, geleneksel olarak Türk tıbbında kullanılan beş bitkisel içeriğin çeşitli oranlarda kullanılması suretiyle hazırlanan hemostatik bir ajandır. Uygulanması kolay, antibakteriyel özelliğe sahip, antiinflamatuvar, hızlı etki gösteren, normal dokuya zarar vermeyen, antianjiyojenik etkili, iyi bir hemostatik ajanın sahip olması gereken özellikleri taşıyan bir bitkisel karışımdır. Ancak, korneal perforasyonlarda yara iyileşmesi üzerine etkisini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile Ankaferd' in, korneal yara iyileşmesi üzerindeki etkisi incelenecek ve diğer çalışma gruplarıyla karşılaştırılacaktır.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kornea**

#### **2.1.1. Kornea Embriyolojisi**

Kornea embriyolojik olarak incelendiğinde nöroektoderm, yüzeyel ektoderm ve mezenşim olmak üzere üç dokudan köken almıştır. Nöroektoderm korneanın endotel tabakası ile iris ve retina dokusunu, yüzeyel ektoderm lens ve korneanın epitel tabakasını, mezenşim ise kornea stromasını oluşturur.

6. haftada lens vezikülü yüzeyel ektodermden ayrılır. Lens vezikülünün önündeki ektoderm kornea epitelini, lens vezikülü ile yüzeyel ektoderm arasına gelecek hücreler ise stroma tabakası hariç korneanın diğer katlarını oluşturur. 8. haftada kornea endoteli ve Desme membranı oluşur. 5. ayda mezenşim dokusunun göçüyle kornea stroması ve yüzey tabakada bu hücrelerin yoğunlaşmasıyla da Bowman katı gelişir.

3. ayda korneaya giren duyu sinirleri, 5. ayda epitel katına ulaşır. İntrauterin hayatın dördüncü ayında saydamlaşan insan korneası hayatın altıncı yılında gelişimini tamamlar (1-3).

#### **2.1.2. Kornea Anatomisi**

Kornea göz küresinin ön tarafında bulunan, skleraya adeta saat camı gibi yerleşmiş olan saydam ve avasküler bir dokudur. Kornea dış yüzeyinin dikey çapı yaklaşık 11,7 milimetre (mm), yatay çapı ise 12,6 mm' dir (4). Ön yüzeyin kırma gücü +48,8 diyoptri, arka yüzeyin kırma gücü -5,8 diyoptri olmak üzere toplam kırma gücü +43 diyoptridir. Kornea gözün toplam kırma gücünün yaklaşık %70' ini oluşturur. Refraktif indeksi 1,376' dır (5). Kornea ön yüzeyinin eğrilik çapı merkezde ve periferde farklıdır. Hafifçe içe ve aşağı kaymış olan 4 mm' lik kornea merkezi tamamen sferiktir, perifere doğru gidildikçe kornea düzleşir. Bu düzleşme iç ve üst tarafta daha fazladır. Korneanın arka yüzeyi ön yüzeyinden daha eğimli olduğu için periferde yaklaşık 700 mikron (µm) olan kornea kalınlığı, santralde 500 µm civarındadır (6).

Kornea ciltten 300-400 kat daha yoğun olan sinir ağına sahiptir ve vücudun duysal innervasyonunu trigeminal sinirin oftalmik dalından gelen uzun posterior silyer sinirden alır. Limbus çevresinde sinir halkası oluşturan uzun silyer sinir, periferik stromaya derinden ve radyal olarak girer, limbusun 1-2 mm ilerisinde myelin kılıflarını kaybeder. Daha sonra Bowman tabakasını geçip plexus oluşturur ve kornea epitelinin

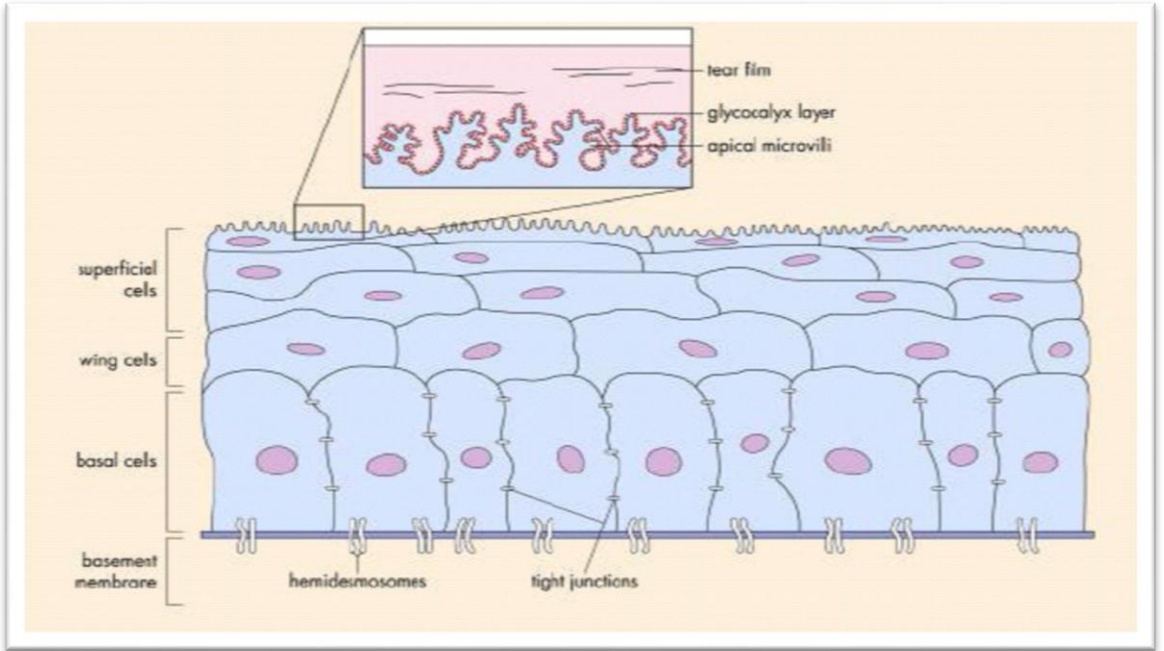
kanat hücreleri seviyesinde sonlanır. Buna karşılık endotel seviyesinde sinir lifi yoktur (7).

Kornea avasküler bir dokudur. Korneanın besleyici damarları olan siliyer arterler oftalmik arterden köken alarak limbus bölgesindeki epitel altında yüzeyel marjinal pleksus oluştururlar. Kornea vaskülarizasyonu yüzeyel marjinal pleksusta yer alan kapiller ve venüllerden kaynaklanmaktadır (8). Korneada lenfatik sistem bulunmaz. Limbusta epitel altında bulunurlar. Dış taraftakiler preauriküler lenf bezlerine, iç taraftakiler submandibüler lenf bezlerine drene olurlar (9).

Kornea anatomik açıdan epitel ve bazal membran, Bowman tabakası, stroma, Desme membranı ve endotel tabakası olmak üzere beş farklı tabakadan oluşmaktadır.

### 2.1.2.1. Epitel ve Bazal membran

Kornea epiteli; en üstte bulunan ve yaklaşık 50 µm kalınlığında, keratinize olmayan, skuamöz, çok katlı yassı epitel yapısındadır. Konjonktiva epitelinin devamıdır ve kornea kalınlığının yaklaşık %10' unu oluşturur. Santralde 5-6 kat, periferde ise 8-10 kat dizilmiş hücre grubu bulunur (Şekil 1). Bu yerleşim pürüzsüz yüzey ve saydam ortam oluşumu için gereklidir (10). Kornea epiteli; bazal hücreler, kanatsız hücreler ve yüzeyel hücreler olmak üzere üç farklı tipte hücre grubundan oluşur.



**Şekil 1:** Kornea epiteli (Yanoff & Duker. Ophthalmology. 3. baskı, Elsevier, 2008).

Gerçek membran yapısına sahip bazal membran tip IV kollajen, fibronektin, laminin, heparin ve fibrin içerir. Bu glikoproteinler epitel hücrelerinin migrasyonu ve adezyonunda rol oynarlar. Epitel hücrelerini stromadan ayırır ve epitel tabakasına yapısal destek sağlar. Yokluğunda epitel hücreleri stromaya invaze olur. Travma durumunda epitel hücreleri tarafından bazal membran yenilenir (11).

En altta bulunan bazal epitel hücreleri küboidal şekilde olup, tek sıra halinde dizilirler. Altlarındaki bazal membrana hemidesmozomlarla, çevresindeki hücrelere de desmozomlarla bağlanmışlardır. Bu bağlantıların bozulması tekralayan ve persistan epitel defektlerine neden olur. Bazal epitel hücrelerinin kaynağı limbusta yerleşmiş olan kök hücrelerdir. Bazal hücrelerde aktin filamanlar ve tonofilamanlar bulunur. Tonofilamanlar ile hücrenin iskeleti korunur. Aktin filamanlar ise yara iyileşmesi döneminde hücre göçünde rol alır (12). Limbusta oluşan hücreler çoğalarak merkeze, daha sonra da yüzeye göç ederek kornea epitel tabakasının diğer katlarını meydana getirirler. Epitel tabakasının %50' sini oluştururlar.

Bazal hücrelerin üzerinde bulunan, yassı, iki-üç sıra halinde dizilim gösteren kanatsız hücreler, bazal hücrelerin çoğalıp farklılaşmasıyla oluşurlar. Bu hücreler az miktarda mitokondri içerirler ve birbirleriyle olan bağlantıları bazal hücre bağlantılarına göre daha sağlamdır (13).

En üstte bulunan ve en yaşlı olan yüzeyel hücreler ise çok yassı, iki-üç sıra halinde dizilim gösterirler. Bunlar çok sayıda mikrovillus ve mikrofilaman içerirler. Bu yapılar gözyaşı filminin mukus tabakasıyla sıkı teması sağlarlar ve bu sayede yüzeyin düzgünlüğü sağlanır. Yüzeyel hücreler diğer hücre gruplarına göre birbirlerine daha sıkı bağlanmışlardır. Mikroorganizmaların, suyun ve elektrolitlerin korneaya girmesini engellerler. Kornea epiteli sadece yağda eriyen maddelere karşı geçirgendir (13).

#### **2.1.2.2. Bowman Tabakası**

Epitel bazal membranın altında yer alan, 8-14 µm kalınlığında, hücre içermeyen bir tabakadır. Embiyonel hayatta stromanın ön yüzünde bulunan keratositler tarafından salgılanmıştır. Lifleri stromaninkilere göre daha kısa ve düzensizdir. Korneal sinir dallarının geçiş noktaları için çok sayıda kanal içerir. Travmaya karşı dirençlidir ancak yenilenme yeteneği yoktur. Bu nedenle travmada hasara uğrarsa, yerinde skar dokusu gelişir (14). Mikroorganizma ve tümör hücrelerinin korneaya invazyonuna karşı bariyer oluşturur. Bowman tabakasının kalınlığı hayat boyu değişmez (15).



### **2.1.2.3. Stroma**

Yaklaşık 500 µm kalınlığındadır ve kornea kalınlığının %90' ını oluşturur. Korneanın fiziksel gücü, şekli, şeffaflığı ve birçok anatomik ve biyokimyasal özelliği stromanın yapısına bağlıdır. Stroma yaklaşık %78 oranında su içermektedir. Geriye kalan kuru ağırlığının %80' i kollajen fibrillerden, %15' i ekstrasellüler matriksten (ESM) ve %5' i hücresel yapılardan oluşmuştur. Başta keratan ve kondritin sülfat içeren mukopolisakkarit ara madde içerisinde birbirine paralel sıralanmış büyük oranda Tip I, az miktarda Tip III ve Tip V kollajen, çok az sayıda keratosit bulunmaktadır (16).

Kollajen lifler paralel ve sabit açılarla birbirine bağlı, 250-300 banddan oluşan stromal lamelleri meydana getirirler ve kollajen lifler aynı çapta olup yaklaşık 300µm boyutundadır. Kollajen lifler stromanın ön 1/3' ünde oblik, arka 2/3' ünde ise paralel lameller oluşturur. Glikozaminoglikan (GAG) ve proteoglikan yapıya sahip ESM, keratan sülfat, kondritin sülfat ve dermatan sülfat içerir. Major proteoglikan keratan sülfattır. Heparan sülfat ise bazal membranda bulunur. Kollajen lifler arasında bulunan matriks, lifler arasındaki mesafeyi koruyarak korneanın saydamlığını sağlar. Bununla birlikte ESM hücrelerin gelişimi, migrasyonu, proliferasyonu, şekillenmesi ve metabolik fonksiyonlarının sağlanmasında ve fiziksel yapı ve iskeletin korunmasında aktif rol oynar. ESM' nin yıkımı matriks metalloproteinazlarla (MMP) olur (17,18).

Stroma içerisinde az oranda bulunan tek hücre grubu olan keratosit adı verilen fibroblast kökenli hücreler bulunmaktadır. Sayıları 200 milyon ile 1,5 milyar arasında değişmektedir. Sitoplazmalarında bulunan glikojen granülleri, damarsız korneanın enerji deposunu oluştururlar. Keratositler kollajen lameller arasında yerleşmişlerdir. Normal koşullarda yavaş ama sürekli bir aktivite ile ESM' nin devamlılığını sağlayan bu hücreler, akut ödem veya yaralanma sonrasında fibroblastlara dönüşebilirler (19).

### **2.1.2.4. Desme Membranı**

Yaklaşık 10 µm kalınlığında olan Desme membranı, kornea endotelinin bazal membranıdır. Anterior çizgili zon ve posterior çizgisiz zon olmak üzere iki kısımdan oluşur. Öndeki stromaya komşu kısım, intrauterin dönemde kollajen lifler ve glikoproteinden oluşmuştur. Arkadaki endotele bitişik kısım, doğumdan sonra endotel tarafından salgılanmıştır. Yapısında bulunan kollajenler stromadakilere göre kollajenazlara karşı daha dirençlidir. Bu nedenle ağır korneal ülserlerde perforasyona karşı bariyer fonksiyonu görür. Desme membranı stromaya gevşek olarak tutunmaktadır ve göz içi basıncı sayesinde stromaya yapışık kalmaktadır (20,21).

### **2.1.2.5. Endotel**

Korneanın arka yüzeyinde bulunan, humör aközle temasta olan tek katlı dizilmiş altıgen şekilli hücrelerden oluşmuştur. Endotel hücreleri yaklaşık 5 µm kalınlıkta, 18-20 µm genişliktedir. Endotel hücrelerinin mitotik aktiviteleri doğum sonrasında durur. Travma nedeniyle hasar gördüğünde, çıplak kalmış olan Desme zarı yüzeyi, komşu endotel hücrelerinin uzaması ve genişlemesi ile doldurulur. Endotel hücre sayısı yaşla birlikte azalır. Doğumda 3500-4000 hücre/mm<sup>2</sup> iken erişkinde bu sayı 2500-3500 hücre/mm<sup>2</sup> civarında olup, 500 hücre/mm<sup>2</sup> altına indiğinde korneal fonksiyonlar bozulmaya başlar. Hasar gördüğünde stromada ödem oluşmakta, kollajen lifleri arasındaki mesafe artmakta ve kornea saydamlığını kaybetmektedir (22,23).

### **2.1.3. Kornea Metabolizması**

Endotel için gerekli oksijen humör aközden, epitel için kapak konjonktivasından, limbal damarlardan ve gözyaşında çözülmüş olan oksijenden, stroma için ise her iki kaynaktan elde edilir. Humör aköz yetersizliğinde limbus damarları ve gözyaşı kornea beslenmesini sağlayamaz. Normalde humör aközden glukoz alınımı ile humör aköze laktat atılımı arasında bir denge vardır. Ancak korneadaki oksijen konsantrasyonu azaldığında stromadaki laktat miktarı artar. Laktat birikimi osmotik yük oluşumuna ve lokal stromal asidoza yol açar. Sonuçta stromal ödem, endotel yapısında ve fonksiyonunda bozukluklar meydana gelir (24). Katarakt ameliyatlarında kullanılan infüzyon sıvılarının (laktatlı ringer solüsyonu, Bss plus) osmotik basınçları yüksek olduğundan bu sıvıların kornea stromasına girmesini önlenir. Yanlışlıkla fizyolojik serum gibi osmotik basıncı düşük solüsyonlar kullanılırsa, ameliyattan sonra stromada su miktarı çok artar ve kornea saydamlığını kaybeder (1,11,25).

### **2.1.4. Kornea Saydamlığı**

Kornea gözün en fazla kırma gücüne sahip olan kısmıdır. Bu özelliğinden dolayı düzgün yüzeyli ve saydam olması gerekmektedir. Epitel yüzeyinde bulunan mikrovillus ve mikrofilamanlar sayesinde, gözyaşı filminin en altında bulunan müsün tabakası korneaya yapışarak pürüzsüz bir yüzey elde edilir. Bununla birlikte, epitel hücrelerinin plazma zarlarında bulunan lipidler, epitel yüzeyinin hidrofobik olmasını ve suyu geçirmemesini sağlayarak korneanın saydamlığına katkıda bulunur (11).

Korneanın avasküler ve kısmen asellüler yapısı da saydamlığı için gerekli olan bir diğer özelliğidir. Kollajen liflerinin çapının küçük olması, birbirlerine yakın ve aynı uzaklıkta bulunmaları sebebiyle ışık saçılmadan korneadan geçer. Stroma hidrasyonu arttığında kollajen liflerin arası açıldığından saydamlık bozulur. Stromada bulunan glikozaminoglikanların suyu stroma içine çeken yaklaşık 60 mmHg' lik osmotik basınca sahip olması ve göz içi basıncının etkisinden dolayı kornea stroması suyu içine çeker. Epitel ve endotel ise bu hidrofilik eğilime karşı bariyer fonksiyonu ile suyun stromaya geçişini azaltır, pompa fonksiyonu ile de suyun stromadan atılmasını sağlar. Korneanın hidrasyonu su ağırlığının kuru ağırlığına oranıdır ve bu oran 3.45/1' dir. Bowman tabakası elastik değildir, ancak Desme membranı elastik yapıdadır. Bundan dolayı korneal ödemde şişme arkaya doğru olmaktadır (26,27).

## **2.2. Kornea Yara İyileşmesi**

Kornea yara iyileşmesi; epitel hücreleri, stromal keratositler, kornea sinirleri, lakrimal bezler, gözyaşı tabakası ve immün sistem hücreleri arasındaki sitokin aracılı etkileşimi kapsayan karmaşık bir süreçtir. Korneal yara iyileşmesiyle ilgili bilgilerin çoğu deneysel çalışmalardan elde edilmiştir. Ancak türler arasında anatomik farklılıklar vardır. Örneğin tavşanlarda Bowman tabakası yoktur, bu nedenle insan ve hayvanlar arasında klinik bulguları değerlendirirken dikkatli olmak gerekir (28).

### **2.2.1. Epitel Yara İyileşmesi**

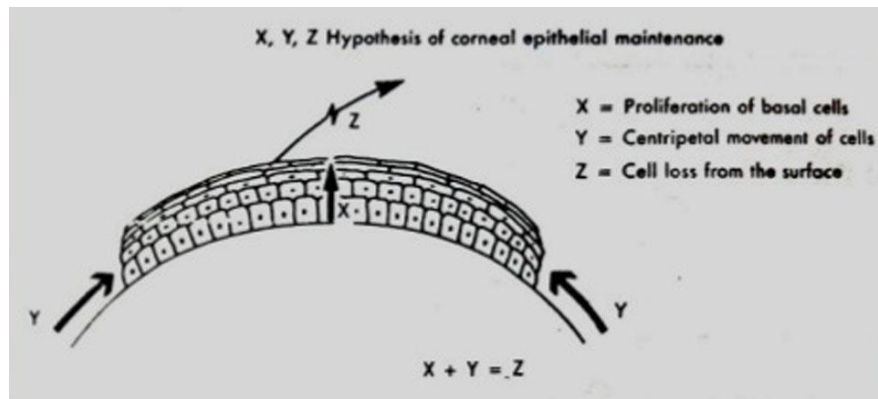
Hayvan çalışmalarında epitel yara iyileşmesinin latent faz, migrasyon fazı ve proliferasyon fazı olmak üzere üç aşamadan oluştuğu gözlemlenmiştir (29).

**Latent faz:** Tavşan ve maymunlarda yapılmış bir çalışmada, deneysel olarak oluşturulan kornea debrimanını takiben 4-6 saat içinde korneal yara kenarlarından bazal epitel hücrelerinin hareketinin başladığı görülmüştür (28). Bu gecikme süreci hızlı hücre proliferasyonu ve migrasyonu öncesinde anatomik, fizyolojik ve biyokimyasal hazırlık için gereklidir. Hasarlanan epitel hücreleri veya üzeri açılan bazal membrandan, komşu sağlıklı hücrelere dolaşım yoluyla veya gözyaşı filmi aracılığıyla sinyaller yayılır. Daha sonra komşu hücrelerin yapısında ve hücreler arası bileşkelerde değişimin başladığı bir latent dönem yaşanır (30). Bazal hücrelerdeki sıkı hemidesmozom bağları kaybolur. Latent fazın son aşamasında yara yerini çevreleyen bazal epitel hücreler filopodia,

lamellopodia ve tırtıklı kenarlar gibi uzantılarla hareket kazanırlar ve bu hücrelerin bazal membran üzerinden defektif alana göç etmesiyle ikinci aşama başlar (31).

**Migrasyon fazı:** Latent faz tamamlandığında, oküler yüzey epitelini yeniden meydana getirmek için yaraya komşu bazal hücreler göçe başlar. Bazal hücrelerin hareketi başta hücre içi aktin filamanlarının kontraksiyonu ve formasyonu olmak üzere talin, vinkülin ve integrin gibi protein komponentleri sayesinde olmaktadır. Hücre zarının sitoplazmik tarafında fokal yapışma plaklarında bulunan vinkülin proteini aracılığı ile aktin lifleri hücre zarı proteinine bağlanır. Talin proteini ise bir yapışma proteini olan integrin ile bağlanır. Bu yapışma protein kompleksleri (vinkülin-talin-integrin) göçeden hücrelerin ilerleyen kenarında yoğundur ve hemidesmozom yokluğunda bazal membrana yapışmayı sağlarlar (32). Hücreler bir başka hücre ile temas ettiğinde göç hareketleri durur. Defekt tek hücre katıyla örtüldükten sonra mitozla normal epitel kalınlığı sağlanır (33).

**Proliferasyon Fazı:** 3. aşamada epitel mitoz bölünmeyle normal kalınlığına ulaşmaktadır. Mitotik aktiviteye sahip bazal epitel hücrelerinin kaynağı ise limbusta bulunan limbal kök hücreleridir. Kök hücreler yüksek çoğalma kapasitesine sahip, dokuda bulunan en az gelişmiş hücre grubudur (34,35). Büyüme faktörleri hücre çoğalmasını stimüle ederken, keratositleri de aktive ederler ve kollajen sentezini hızlandırır. Böylece, yüzey gerilimi kuvvetini artırarak da yara yerini desteklerler (36). Epitel iyileşmesi sırasında bazal hücrelerle limbal kök hücreler arasında bir denge bulunmaktadır. Bu görüş Thoft' un "X,Y,Z" hipotezi ile ortaya konmuştur (Şekil 2).



**Şekil 2:** Thoft' un XYZ hipotezi (Steele ve arkadaşlarının çalışmasından (28) alınmıştır).

X; bazal epitel hücre çoğalmasını, Y; limbal hücre çoğalmasını ve santrale göçünü, Z; yüzeyden epitel hücre kaybını yansıtmak üzere denge konumunda  $X+Y=Z$

olmalıdır. Epitel tabakası normal kalınlığına ulaştıktan sonra epitel yüzey hücrelerinde mikrovillusların, mikropikaların ve glikokalikslerin gelişimi başlar. Bu sırada hücreler ve ESM ile bazal membran arası bağlantı kompleksleri oluşturulur (37).

### **2.2.2. Bazal Membran Yara İyileşmesi**

Korneada bazal membran, bazal epitel hücreleri tarafından salgılanır ve bazal epitel hücreleri migrasyon sırasında zemin olarak bazal membranı kullanır. Eğer yaralanma bazal membranı da içeriyorsa, yeni bazal membran gelişimi bir haftadan uzun zaman aldığından, yaralanmadan hemen sonra sentezlenen fibronektin geçici subepitelyal matriks oluşturarak hücre göçüne zemin oluşturur. Ayrıca hücreler arası adezyonu güçlendirerek bazal membranın hasar gördüğü olgularda hücre dökülmesini önler. Fibronektin ile geçici matriks oluşurken lezyona komşu alanda göçe hazırlanan bazal epitel hücrelerinin hemidesmozom ve bağlantı filamentleri çözülür. Hücreler bir başka hücre ile temas ettiğinde göç hareketleri durur. Bu aşamada bazal epitel hücrelerinden plazminojen aktivatörü üretimi uyarılır ve plazminojen plazmine dönüşerek epitel hücrelerinin altındaki subepitelyal matriksle olan bağlantıları kesilmiş olur. Bazal membranın gelişiminin tamamlanmasını takiben, bazal membran ile Bowman tabakası ya da stroma arasında sıkı bağlantılar oluşmalıdır. Eğer, bu bağlantılar oluşmazsa klinikte tekrarlayan epitel erozyonları görülür. Bazal membranda bulunan Tip VII kollajen içeren bağlantı filamentleri, stroma içindeki kollajen fibrillerle bağlantı kurarlar (38-40). Kalıcı hemidesmozal bağlantıların ne kadar hızlı oluşacağını, korneal yaralanma sonrası bazal membranın sağlam olup olmaması belirler. Maymun gözlerinde yapılan çalışmada, fotorefraktif keratektomi sonrası parçalanmış bazal membran tabakasının tip VII kollajen içeren bağlantı filamentlerinden yoksun olduğu ve iyileşmenin 18 aya kadar sürdüğü gösterilmiştir (28).

### **2.2.3. Stroma Yara İyileşmesi**

Stroma kısmen avasküler olduğundan, diğer bağ dokulara oranla daha yavaş iyileşir. Yaralanma sonrası hasar gören asellüler Bowman ise iyileşmez ve hasar görmüş uçları retrakte olur, geri çekilir. Stromal iyileşme epitel hücreleri ve keratositler arasındaki koordineli etkileşime bağlıdır ve peptit yapılı büyüme faktörleri ve sitokinler bu etkileşimde önemli rol oynamaktadır. Hasar gören epitel tabakasının altındaki keratositlerde apoptozis gözlenir. Hasarlı epitel ve apoptozise uğrayan keratositlerden sitokinlerin salınmasıyla iyileşme kaskadı başlamaktadır. Kornea yeni epitel ile

tamamen örtülene kadar keratositler aktifleşemez. Yara yerinin çevresindeki keratositler yaklaşık 48-72 saat sonra mitozla miyofibroblastlara dönüşüm gösterir ve yeni bağ doku sentezlenirken bu dönüşüm 3-6 günde maksimuma ulaşır. Miyofibroblastlar yeni stromal ESM için kollajen, glikoprotein ve proteoglikanları üretir. İnsan stroması, Tip I-III-V ve VI kollajen içerir. Tip VI kollajen, stromal kollajen liflerinin arasındaki bağlantı filamentlerinde bulunan en baskın kollajen tipidir. Tip 1 kollajen ise stromada yaklaşık %71 oranla en fazla bulunan kollajen tipidir. Normal stroma Tip I kollajenden oluşurken, korneal skar dokusu ise büyük oranda Tip III kollajenden oluşur. Yaralanmadan sonra yeni sentezlenen kollajen fibrillerinin çapı normal fibrillere göre daha büyük ve kondroidin, dermatan sülfat konsantrasyonu yaralanmadan sonra üç-dört aya kadar daha yüksektir. Normal stromada ise dermatan sülfat konsantrasyonları daha düşüktür. Bu kollajen fibrillerinin çaplarındaki değişiklik, yara iyileşmesi sonrası kornea saydamlığının bozulmasına ve skar oluşumuna yol açmaktadır. Proteoglikanlar sülfatlı GAG içerdiğinden dolayı asidiktir ve güçlü hidrofilik yapıya sahiptirler. Buda erken yara iyileşmesi döneminde normal stromadaki düzenli sıralanmış kollajen fibrillerin dağınık olarak yerleşmesine neden olmaktadır. MMP, jelatinaz ve kollajenazların etkisi sayesinde stromal yara iyileşmesinin kontrollü olduğu gösterilmiştir. Hasarlı kollajen fibrillerinin uzaklaştırılması, epitel yara iyileşmesinde olduğu gibi PMNL' ler ve proteolitik enzimler tarafından sağlanır. Bu yüzden insanlarda stromal skar oluşumu dinamik bir süreçtir ve yaralanmadan iki yıl sonra kollajen fibrillerinin deseni normal desene yaklaşır, ancak korneal skar dokusunun dayanıklılığı asla yaralanmamış kornea dokusunun dayanıklılığına ulaşamaz (41-45).

#### **2.2.4. Endotel Yara İyileşmesi**

İnsanlarda ve primatlarda endotel hücreleri mitozla çoğalamaz, bu nedenle yara alanının çevresindeki endotel hücrelerinin genişleyip göç etmesiyle endotel yara iyileşmesi sağlanır. Tavşanlarda ise endotel hücrelerinin yoğun, kedilerde ise sınırlı mitotik aktivitesi vardır (46). İnsanlarda ise stroma ve Desme membranı seviyesinde fibronektin alt matriksi üzerinde kayan endotel hücreleri ile endotel tabakası tamiri olur. Endotelin santralinde oluşan bir hasar sonrası periferel ve santral hücre yoğunluğu ile hegzagonal hücre yüzdesi düşer, buna karşın hücre boyutlarındaki çeşitlilik yani polimegatizm artar (47). Defekt bir kez kapatıldıktan sonra, normal hegzagonal yapının oluşturulması için hücreler yeniden düzenlenir. Bu düzenlenme sırasında hücreler birbirinden kopmaz. Birkaç hafta sonra zedelenme alanını kaplayan endotel yeni Desme

membranını salgılayarak ortalama iki-üç ay içinde homojen, hegzagonal bir yapı oluşturur (28,48).

### **2.3. Korneal Yara İyileşmesinin Endojen Modülasyonu**

Yara iyileşmesinin düzenlenmesinde başta interlökin (İL) 1 ve IL 6 olmak üzere sitokinler anahtar rol oynamaktadır. Bu sitokinler Epitelyal Büyüme Faktörü (Epithelial Growth Factor, EGF), Transforme edici Büyüme Faktörü (Transforming Growth Factor, TGF), Hepatosit Büyüme Faktörü (Hepatocyte Growth Factor, HGF), Keratosit Büyüme Faktörü (Keratocyte Growth Factor, KGF) ve Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (Platelet Derived Growth Factor, PDGF) gibi büyüme faktörlerinin sentezini etkilemektedir (49). Bu sitokinler ve büyüme faktörleri korneal yara iyileşmesi döneminde hücrelerde görülen apoptoz, migrasyon, proliferasyon ve diferansiyasyon aşamalarını düzenlemektedir. Epitel hücrelerinin iç kısmında bulunan Mitojen aktive Protein Kinaz (MAPK), Fosfatidilinozitol 3-Kinaz (Phosphatidylinositol 3-Kinase, PI-3K), Rho ailesi ve Protein Kinaz C (PKC) tarafından aktive edilen sinyal yolları sayesinde yara iyileşmesi düzenlenir (50). Ayrıca proteaz aktivasyonu ve ESM proteinlerindeki yara iyileşmesi döneminde etkileri vardır.

Kornea epiteli travmasını takiben epiteldeki çeşitli sitokinlerin seviyesi artar. Bunların en önemlileri İL-1, İL-6 ve Tümör Nekroz Faktör alfa (TNF-a)' dır. İL 1 ve 6 düzeylerinin yaralanma şiddetiyle doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir. İL 6, epitel hücrelerinde integrin reseptörlerinin sentezini arttırarak epitel hücre göçünü kolaylaştırır (51,52). İL 1' in ise EGF ile sinerjik etki oluşturarak yara iyileşme hızını arttırdığı ve HGF ile KGF' nin ekspresyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (53). Aynı zamanda keratosit apoptozu, lökosit infiltrasyonu ve MMP üretimi gibi stromal değişiklikleride uyardığı gösterilmiştir (54,55). Anjiyojenik ve nötrofil kemotaktik faktör olan İL 8' in düzeyleri de İL1 tarafından arttırılmaktadır. TNF a ise İL 1 ile benzer şekilde yara iyileşmesini hızlandırır, ancak daha az seviyede keratosit apoptozu ve lökosit göçünü destekler, bunula birlikte İL 8 düzeylerini arttırdığı görülmüştür (56). Yani sitokinler epitel travması sonrası büyüme faktörlerini uyarır, epitel migrasyonunu teşvik eder ve stromal yara iyileşmesine aracılık eder.

Sitokinler tarafından uyarılan büyüme faktörleri hücre çoğalmasını, göçünü ve hayatının devamını uyarır, bazı durumlarda ise bunları engelleyen peptid yapısında moleküllerdir. KGF ve HGF' nin sentezi İL 1 tarafından uyarılır ve bu faktörler epitel

hücre proliferasyon hızını arttırmaları (57). İn vitro çalışmalarda HGF' nin merkezdeki keratositler, KGF' nin ise limbal bölgedeki keratositler üzerinde etkilerinin daha güçlü olduğu gösterilmiştir (58). EGF' nin yara iyileşmesi hızlandırdığı, ancak etkinliğinin yaralanmanın tipine bağlı olduğu gösterilmiştir. Epitel hücreleri, fibroblastlar ve endotel hücrelerinin yüzeyinde transmembran glikoproteinlerden oluşmuş EGF reseptörleri bulunmaktadır. Deneysel bir çalışmada EGF' nin korneal epitel yara iyileşmesini %25-45 oranında hızlandırdığı görülmüştür (28). EGF varlığı gözyaşında gösterilebilmişken, aköz hümörde gösterilememiştir. Bu nedenle, gözyaşı bezinin EGF için ana kaynak olduğu düşünülmüştür. TGF alfa ise EGF' ye yapısal olarak çok benzeyen bir başka polipeptit hormondur, gözyaşı bezinden salgınır ve gözyaşında bulunur. Bu iki ana büyüme faktörü gözyaşı bezinden salgınarak otokrin ve parakrin yollarla epitel hücrelerine etki ederler (59). İn vitro yapılan bir çalışmada TGF alfa' nın epitel migrasyonunu arttırdığı, diferansiyasyonunu ise inhibe ettiği gösterilmiştir (60). PDGF ise, epitel hücrelerinin göçünü arttırmasının yanında stromal keratositlerin migrasyonu ve proliferasyonunu uyarır, ayrıca TGF beta' nın keratosit-miyofibroblast farklılaşması etkisini arttırır (61). Benzer şekilde TGF beta' da epitelde lokalize olmasına rağmen bazal membranın hasarlandığı yaralanmalarda stroma içine girer ve keratositleri etkiler. TGF beta epitel hücreleri üzerindeki EGF, KGF ve HGF' nin mitojen aktivitelerini inhibe eder. Yara yeri kenarlarında göç eden lokal hücrelerin proliferasyonunun engellenmesinden ve stromal yara iyileşmesi döneminde keratosit-miyofibroblast farklılaşması ile tip III kollajen sentezinden yani skar oluşumundan sorumludur (62,63). Fibroblast Büyüme Faktörü (Fibroblast Growth Factor, FGF) ve İnsülin benzeri Büyüme Faktörü (Insulin-like Growth Factor, IGF) özellikle stromada bulunmaktadır. FGF ve EGF keratosit, endotel ve epitel hücrelerinin proliferasyonunu uyarır. IGF, keratositleri uyarır ve EGF' nin endotele etkisi arttırır (64). Yaralanma sonrası artan bu büyüme faktörleri epitel migrasyonunu uyarır, proliferasyonu düzenler ve ek olarak stromal yara iyileşme üzerine etkilidirler.

Yaralanma döneminde büyüme faktörleri ve sitokinlerin hücre membran reseptörlerine bağlanmasıyla hücre içi sinyal yolları aktifleşir. Epitelyal EGF reseptörlerinin stimülasyonunu takiben hücre içi MAPK ve PI-3K sinyal yolları aktifleşir. Bu reseptör ya da hücre içi yolların bloke edilmesiyle hücre migrasyon ve proliferasyonu inhibe edilir (65). ESM proteinleri ve büyüme faktörlerinin integrinlerle bağlanması, lamellipodia, filopodia şeklinde hücre uzantıları için gerekli olan



sitoskeletal aktin filamentlerin polimerizasyonunu ve fokal adezyonları sağlar (66). Rho GTPaz, yara iyileşmesinin geç döneminde sıkı bağlantıların kurulması ve hücre proliferasyonundada rol oynar. HGF ve KGF' nin kendi reseptörlerine bağlanmasını takiben MAPK, PI-3K ve PKC aracılığıyla hücre içi sinyal yolları uyarılır. PKC izoenzimleri migrasyon veya proliferasyonun her ikisi içinde seçicidir, HGF her ikisi için, KGF ise sadece migrasyon için sinyal yollarını uyarır (67-69).

Yara iyileşmesi protezların akivasyonuna bağlıdır. Hücrelerin göçe devam etmeleri için bağlandıkları ESM' den ayrılmaları gerekmektedir. İn vitro çalışmada yara yeri kenarlarında ürokinaz tip plazminojen aktivatörünün (uPA) bulunduğu gösterilmiştir. Proteinaz ve uPAinhibitörleri hücre migrasyon hızını doza bağımlı olarak azaltır. uPA gözyaşı, stroma ve yara kenarlarında bulunur, plazminojeni plazmine dönüştürür. Bir serin proteaz olan plazmin ise fibronektini parçalayarak migrasyonun devamını sağlar (70,71). Plazmin TGF beta ve MMP-1' i aktifleştirir. TGF beta tarafından uyarılan, İL 1 ile düzenlenen MMP-9 ise yara kenarlarındaki subepitelyal geçici matriksi yıkar ve inflamasyonu azaltır (72).

#### **2.4. Korneal Perforasyonlar**

Kornea perforasyonları ciddi görsel kayıplara ve oküler morbiditeye yol açar. Düşük prevalansına rağmen sineşi, üveit, glokom ya da endoftalmi gibi komplikasyonları önlemek ve gözün anatomik bütünlüğünü korumak için acil müdahale edilmesi gerekmektedir. Tedavi spektrumu, bandaj kontakt lens ve doku yapıştırıcıları gibi geçici uygulamalar ile keratoplasti gibi kesin tedavi uygulamaları arasında değişmektedir (73).

##### **2.4.1. Korneal Perforasyon Etiyolojisi**

Başta mikrobiyal keratit, travma ve immün hastalıklar olmak üzere enfektif ve enfektif olmayan nedenler kornea perforasyonu oluşturabilir.

##### **2.4.1.1. Enfeksiyon Nedenli Korneal Perforasyonlar**

Şiddetli ve inatçı kornea enfeksiyonları, kornea perforasyonlarının sık görülen bir nedenidir. Gelişmekte olan ülkelerde bakteriyel ve fungal keratitler, gelişmiş ülkelerde ise stromal nekroza yol açan rekürren herpetik keratitler kornea perforasyonlarının ana nedenleridir (74).

Bakteriyel keratitler genellikle korneal perforasyonlarına ilerleyen korneal ülserlere neden olurlar. Çoğu bakteri epitel hasarında kolaylıkla stromaya invaze olabilir. İL 1 ve TNF alfa gibi sitokileri salarak PMNL' leri enfeksiyon alanına doğru çekerler. TNF ise kornea epitel ve stromadaki makrofaj, T hücre ve PMNL' lerden proinflamatuvar sitokin salınımını uyarır. Sitokinler arasında doğal olmayan dengesizlik gelişir. Psödomonas gibi virülan mikroorganizmalar kollajenaz gibi enzimleri salarak korneal perforasyon oluşma hızını arttırmaktadır. Stromal nekroz ilerledikçe enfeksiyon kornea derinliklerine uzanır ve sonuçta korneal perforasyon gelişir. Santralde korneanın daha ince olması, limbustaki kök hücreler ve damar yapılarından uzak olması sebebiyle merkezi korneal ülserlerde perforasyon riski daha fazladır (75,76).

Herpetik keratitlerde görülen korneal perforasyonun nedeni stroma nekrozudur. Kişinin immün durumuna bağlı olarak enfeksiyon oluşturabilir. PMNL ve makrofajlardan salınan MMP ve kollajenazlar stromal nekrozdan sorumludur (77).

Fungal mikroorganizmalar diğer enfeksiyöz ülseratif keratite yol açan patojenlere göre daha az görülürler ve daha yavaş progresyon gösterirler. Mevcut antifungal tedavinin oküler penetrasyonu düşük olduğundan maksimum etkiye sahip değildir. Tüm fungal keratitlerin üçte biri, tedavi başarısızlığı ya da korneal perforasyon sebebiyle cerrahi uygulama gerektirir (78).

#### **2.4.1.2. Enfeksiyon Nedenli Olmayan Korneal Perforasyonlar**

**Oküler yüzey bozuklukları:** Kserozis ve ekspojur keratopati korneal perforasyon nedeni olabilir. Azalmış gözyaşı kronik epitel defektine yol açmakta ve inflamatuvar hücreler tarafından kollajenin enzimatik yıkımı nedeniyle stromal incelmeye sebep olmaktadır. Kserozis idiyopatik ya da oküler skatrisyel pemfigoid, Sjögren sendromu, Stevens-Johnson sendromu ve vitamin A eksikliğine bağlı olarak görülebilir (79). Ekspojur keratopati ise yedinci kraniyal sinir felci, tiroid oftalmopati, involüsyonel ektropiyon, gevşek göz kapağı sendromu veya kronik skatrisyel gözkapağı hastalıklarında görülebilir. Ayrıca trikiyazis ve entropiyon korneal travmaya sebep olarak ülserasyona yol açabilir (80).

**Otoimmün hastalıklar:** Periferik ülseratif keratit (PÜK), korneada perforasyon ve görme kaybına yol açabilen inflamatuvar bir süreçtir. Perilimbal korneada meydana gelen kornea ülserasyonu ve perforasyonu; romatoid artrit, Sjögren sendromu, Wegener

granülomatozu, poliarteritis nodoza ve Stevens Johnson sendromu gibi birçok otoimmün kollajen vasküler hastalık neticesinde, ayrıca Mooren ülseri, Terrien marjinal dejenerasyonu, travma, mikrobiyal keratit ve cerrahiye sekonder meydana gelebilir. En sık altta yatan hastalık romatoid artritir (81). PÜK' de görülen hızlı keratolizisin sebebi, MMP-1'in lokal kollajenaz seviyeleri arasında dengesizlik oluşturmalarıdır (82).

**Travmatik korneal perforasyonlar:** Travma kimyasal, termal, cerrahi ya da penetran olabilir ve korneal perforasyonların sık görülen nedenlerindedir. Kimyasal yaralanmalar limbus ve konjonktivada geniş hücre yıkımına neden olabilir. Persistan inflamasyon epitelizasyonu önler, ülserasyonu hızlandırır, limbal iskemi ve kollajenazın etkisiyle perforasyona neden olur (83). Termal yaralanmalar genellikle yüzeysel korneal hasara yol açar, ancak aşırı sıcak ve mekanik temas halinde korneal perforasyona yol açabilir (84). Korneal ülserasyon ve perforasyonların, katarakt ekstraksiyonu, fotorefraktif keratektomi, mitomisin C ile yapılmış pterijium eksizyonu ve nadiren argon lazer fotokoagülasyon sonrası görülebildiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (85-88). Keratokonus, keratoglobus ya da pellusid marjinal dejenerasyonlar gibi korneal ektatik hastalıklar korneada aşırı incelmeye ve ektaziye neden olabilirler. Bu durumlarda minimal travmayla korneal perforasyon oluşabilir (89). Keratokonustaki akut hidropstan sonra spontan korneal rüptür ve fistülizasyon görülebilir (90).

#### **2.4.2. Korneal Perforasyonların Tedavisi**

Korneal perforasyon meydana geldiğinde görsel prognoz kötü sonuçlar doğuracağından, öncelikli amaç bu durumu önlemeye yönelik olmalıdır. Eğer perforasyon gelişmişse göz bütünlüğünü korumak için cerrahi tedavi yapılmalı ve perforasyonunun tekrarlamaması için altta yatan hastalığa uygun, destekleyici medikal tedavi verilmelidir. Lineer korneal laserasyonlar geleneksel sütün tedavisiyle onarılmaktadır. Ancak stromal erimeyle seyreden korneal ülserler ve doku kaybına yol açan travmatik yaralanmalarda tek başına sütün tedavisi yetersiz kalmaktadır. Uygun tedavi seçeneği perforasyon alanının büyüklüğüne, lokalizasyonuna ve altta yatan hastalığın durumuna bağlıdır (91).

##### **2.4.2.1. Medikal Tedavi**

Enfeksiyöz ve inflamatuvar kornea ülserlerinde perforasyon oluşumunu önlemek amacıyla ya da cerrahi onarım sonrası destekleyici olarak medikal tedavi verilmektedir.

Enfeksiyon açısından antimikrobiyal ajanlar, sineşi ve inflamasyonu azaltmak için sikloplejiler, stromada virüs replikasyonunun olduğu nekrotizan stromal keratitlerde, stromal incelmeyi önlemek için antiviral tedavi şemsiyesi altında steroidler, şiddetli korneal incelmelerde kollajenaz aktivitesini inhibe etmek için antikollajenazlar, MMP inhibisyonu yapan doksisisiklin, steril korneal incelmelerde immünsupresif ilaçlar, persistan epitel defektlerinde otolog serum, kollajen ve ESM sentezini arttıran C vitamini medikal tedavide kullanılabilir (92-99).

#### **2.4.2.2. Cerrahi Tedavi**

Perforasyon alanının büyüklüğüne, lokalizasyonuna ve doku kayıplı olup olmamasına bağlı olarak çeşitli cerrahi prosedürler (doku yapıştırıcıları, amniyon membran transplantasyonu, konjonktival flepler, tektonik yama grefti ve penetran keratoplasti) uygulanmaktadır.

##### **2.4.2.2.1. Doku Yapıştırıcıları**

Oftalmolojide kullanılan doku yapıştırıcıları, sentetik yapıştırıcılar (örneğin, siyanoakrilat türevleri) ve biyolojik yapıştırıcılar (örneğin, fibrin-temelli yapıştırıcılar) olarak iki sınıfta incelenebilir (100). Bu yapıştırıcıların, canlı dokuya zarar vermeyen, biyolojik yapıyla uyumlu, uygulanan kuvvetler altında ve buldukları ortamda bütünlüklerinin bozulmayacakları bir yapıda olmaları gerekmektedir.

##### **2.4.2.2.1.1. Siyanoakrilat Yapıştırıcılar**

İlk siyanoakrilat 1949 yılında Alman kimyager Ardis tarafından sentezlenmiştir (101). Ancak doku yapıştırıcısı olarak 1959 yılında kullanılmıştır (102). Siyanoakrilatlar, tıpta farklı dallarda farklı cerrahi operasyonlarda kullanılmaktadır. Oftalmoloji alanında korneal incelme ve perforasyonlarda, aşırı filrasyonu olan bleblerde, punktal oklüzyon ve geçici tarsorafi gibi oküloplastik cerrahi preosedürlerinde kullanılabilir (103). Tıpta kullanılan ilk türevi metil-2-siyanoakrilat (methyl-2-cyanoacrylate, MCA) olup, yapılan çalışmalar sonucunda dokuya oldukça toksik etkisi olduğu tespit edilmiştir (104). Bugün için klinikte kullanılan türevler n-bütül-2-siyanoakrilat (n-butyl-2-cyanoacrylate, NBCA, Histoacryl) ve 2-oktil-siyanoakrilat (2-octyl-cyanoacrylate, OCA, Dermabond) preparatlarıdır. Bunların hiçbiri oftalmik kullanım açısından Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nden (Food and Drug Administration, FDA) onay alamamıştır. Dermabond türevinin cilt üzerine kullanımı

FDA tarafından onaylanmıştır ve korneal perforasyon tamirinde etkili bulunmuştur (105).

Siyanoakrilatların yapısında siyanoakrilik asit esterleri (alkil yan zincirler) bulunmaktadır. Aktif çift bağına sahip oksijen polimerizasyonda anahtar rol oynamaktadır. Alkil yan zincirler düzenlenerek farklı yapışma gücüne sahip siyanoakrilat türevleri üretilebilir. Refojo ve arkadaşları, siyanoakrilatların kornea üzerinde yapışma gücünü değerlendirmek için yaptıkları bir çalışmada, OCA'ya göre daha uzun alkil yan zincire sahip NBCA'nın yapışma gücünün daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (106). Yan zincirde bulunan karbon sayısı arttıkça bileşiğin biyolojik uyumu da artar. Karbon sayısı az olan (<4) yan zincirlere sahip bileşiklerin, doku üzerinde toksik etkisi çok daha fazladır. Sitotoksisite aynı zamanda dokunun vaskülarizasyonuna da bağlıdır. İyi damar yapısına sahip yumuşak dokularda toksik etki daha fazla görülmektedir (107).

Siyanoakrilat doku yapıştırıcısının korneal ülserlerdeki başarı oranının, PMNL'ler stromada birikmeden önce uygulanmasıyla daha yüksek olduğu öne sürülmüştür. Fogle ve arkadaşları, progresif korneal incelmeye yol açan korneal ülserlerde erken siyanoakrilat uygulamasının etkin olduğunu göstermişlerdir. Üstelik bu durumlarda yapıştırıcı uygulaması perfore olmuş gözlere göre daha kolay olmaktadır. Siyanoakrilatların, kollajenolitik ve proteolitik etkiye yol açan PMNL'lerin yara yerine göçünü engelleyerek etkili olduklarını belirtmişlerdir (108). Dohlman ve arkadaşları yara iyileşmesi aşamasında epitel ve altındaki keratositler arasındaki etkileşimin, korneal stromaya PMNL'lerin göçünden sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Siyanoakrilatlar ise yara alanına doğru epitelizasyonu engelleyerek PMNL göçünü ve kollajenolitik etkiyi inhibe etmektedir (109).

Siyanoakrilat bileşiklerinin antibakteriyel özellikleri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Eiferman ve Synder, 1983 yılında NBCA'nın antibakteriyel etkinliğini değerlendiren bir çalışma yapmışlar ve NBCA'nın gram negatif bakteriler üzerinde hiçbir etkisi yokken, gram pozitif bakteriler üzerinde önemli derecede bakteriyostatik etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Bunun nedeni olarak da bakterihücre duvarı yapısındaki farklılığı ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar, gram pozitif bakterilerin hücre duvarındaki serbest amino ve hidroksil gruplarıyla NBCA molekülünün etkileşmesi sonucu bakteriyostatik etki oluştuğunu, ancak gram negatif bakterilerde hücre duvarını çevreleyen lipopolisakkarid kapsül yüzünden antibakteriyel etki oluşmadığını düşünmektedirler (110).

Siyanoakrilatlar, küçük (<3 mm) ve merkezi korneal perforasyonlarda en iyi etkinliğe sahiptir. Periferdeki ülserlere uygulanan yapıştırıcı, konjonktivaya iyi yapışmadığından kolayca yerinden çıkabilir. Desmatosellerden ziyade korneal ülserasyonlarda daha kolay uygulanır, çünkü desmatosellerin yüzeyi konveks, ülserasyon alanı ise konkav yapıdadır (111). Uygulandıktan hemen sonra etkisi gösterir ve göz bütünlüğünü sağlar. Korneal perforasyondan sonra sineşi oluşumu, glokom, üveit gibi inflame durumların oluşması penetran keratoplasti sonrası greft reddi ve başarısızlığı arttırmaktadır. Bu durumlarda doku yapıştırıcıları kullanıldığında, gözde daha az inflamasyon ve daha sağlıklı oküler yüzey oluşturularak penetran keratoplasti uygulamasının başarısı arttırılabilir (112).

Konjonktivada skar, semblefaron ve dev papiller konjonktivite yol açtığı gösterilmiştir (113,114). Kornea uygulamalarında lens ve endotele direk temas ettiğinde önemli yan etkilere (endotel polimerizasyonu, katarakt, iridokorneal ve iridolentiküler yapışıklar) neden olur (115). Aynı zamanda altta yatan oküler patolojinin değerlendirilmesini (örneğin kimyasal yanık) zorlaştırır. Puntal oklüzyon için kullanıldığında, obstrüktif dakriyosistit ve reaktif ksantogranüloma komplikasyonları görülmüştür (116). Korneal uygulamalarda, immün sistemi baskılanmış ve altı haftadan uzun süre yapıştırıcının yerinde kaldığı hastalarda enfeksiyon açısından yakın takip yapılmalıdır. Ön kamara sığ ve defekt 2 mm' den büyükse, ön kamaraya viskoelastik ya da hava vermek uygulamayı kolaylaştırır ve komplikasyonları azaltır. Bazı yazarlar yapıştırıcı 3-5 hafta hala yerinde duruyorsa, alttaki korneal kalınlığa, epitelizasyona ve vaskülarizasyona bakarak yapıştırıcının çıkarılmasını önermektedir (114,117).

#### **2.4.2.2.1.2. Fibrin Yapıştırıcılar**

Fibrin doku yapıştırıcı (Tisseel) koagülasyon aşamasının son basamağına etki etmektedir. Trombin aracılığı ile fibrinojen doku yüzeyinde fibrine dönüştürülür (118). Fibrin yapıştırıcılar, daha düşük gerilim gücü ve daha yavaş polimerize olma özelliklerine rağmen, biyolojik ürün olmaları ve çözünmeleri sebebiyle, konjonktiva ve amnion membran gibi bir yüzeyin altında kullanılabilirler. Siyanoakrilata göre daha yumuşak ve pürüzsüz yüzey sağladığından, hasta gözlerindeki irritasyon semptomları daha az görülür. Bununla birlikte sentetik yapıştırıcılarda görülen, neovaskülarizasyon ve doku nekrozu gibi yabancı cisim reaksiyonlarına yol açmazlar, sadece bir hafif inflamasyon oluşturabilirler (119). Ancak, hiçbir bakteriyostatik etkiye sahip olmamalarının yanında kan ürünü olduğu için az da olsa enfeksiyon riskinin bulunmasından dolayı, enfeksiyöz keratitlerde kullanımında dikkatli olunmalıdır (120).

İçeriğindeki plazma, homolog ya da otolog olarak hazırlanır. Homolog plazmada viral transmisyon riski bulunmakla beraber otolog plazma böyle bir risk mevcut değildir. Ancak otolog plazmadan hazırlanması için en az 24 saat gereklidir.

#### **2.4.2.2.2. Amniyon Membran Transplantasyonu (AMT)**

İnsan amniyon zarı; tek sıralı epitel tabakası, kalın bazal membran tabakası ve avasküler stromal matriks olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır. Kalın bazal membran tabakasındaki tip IV kollajen ve lamininler kornea epitel ve kök hücre adezyonunu kolaylaştırmada etkindir. Amnion zarının stromasında EGF, KGF, HGF ve FGF' ler bulunmaktadır (121). Ayrıca amnion zarının stromasının, oküler yüzey epitelinden salgılanan IL-1a, IL-1b gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini baskıladığı gösterilmiştir (122).

AMT, korneal ülserlerde genellikle stromal incelmanın restorasyonunu sağlamak ve perforasyonu önlemek amacıyla kullanılır. Persistan epitel defektlerinde tek katlı, derin korneal incelmelerde ve küçük perforasyonlarda çok katlı uygulanır (123). Rodriguez ve arkadaşları 1,5' mm den küçük korneal perforasyonlarda çok katlı AMT yapmışlar ve %73' lük başarı oranı elde etmişlerdir (124). Hick ve arkadaşları 3 mm' ye kadar olan korneal perforasyonlarda, konvansiyonel sütür ve fibrin yapıştırıcıyla uygulanan AMT' nin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Fibrin yapıştırıcıyla uygulanan AMT' de başarı oranının daha yüksek olduğu belirtmişler ve bu başarı oranını sinerjistik etkiye bağlamışlardır (125).

#### **2.4.2.2.3. Konjonktiva Flepleri**

Konjonktiva fleplerinin ana işlevi, korneanın iyileşmesi için oküler yüzey bütünlüğü oluşturup, metabolik ve mekanik destek sağlamaktır (126). Vasküler bağ dokusunun beslenme, enzimatik ve immünolojik katkısı sayesinde trofik etki yapan konjonktiva flepleri, hem infeksiyöz hem de steril inflamatuvar korneal ülserlerini tedavi etmekte kullanılabilir. Özellikle medikal tedavi ile düzeltilemeyen keratoplasti greft infeksiyonlarında, konjonktiva flebi greft bütünlüğünü sağlayıp, infeksiyonu kontrol altına alarak, tekrar uygulanacak keratoplasti başarısını arttırabilir (127). Çoğunlukla iyileşmeyen yüzeysel kornea ülserlerinde Tenon kapsülü bulunmayan ince konjonktiva flepleri hedeflenirken, derin kornea ülserleri ve perforasyon durumlarında dah güçlü mekanik destek sağlamak için Tenon kapsülü ile birlikte kalın konjonktiva flepleri tercih edilmektedir (128).

#### **2.4.2.2.4. Tektonik Korneal Yama Grefti (TKYG)**

Periferik ülseratif keratit (PÜK), korneada perforasyon ve görme kaybına yol açabilen inflamatuvar bir süreçtir. Perilimbal korneada meydana gelen kornea ülserasyonu ve perforasyonu tedavisinde penetran keratoplasti (PKP) uygun olmamakla birlikte, çok büyük çapta (>9,5 mm) PKP uygulanabilir. Bu da greft reddi ve sekonder glokom riskini beraberinde getirir. Bu olgular küçük tam kat TKYG ile etkili biçimde tedavi edilebilirler (129).

Periferik kornea lezyonu olan hastalarda TKYG cerrahisi sırasında optik aks dışında çalışılmakta, greft sütürleri kornea parasantralinden geçmektedir. Hastanın kornea santralindeki sağlam nitelikteki kendi korneası muhafaza edilmektedir. Böylece kabul edilebilir görsel sonuç ve yeterli kornea kalınlığı sağlanmaktadır. Raizman ve arkadaşları, ilerleyici ülseratif keratit nedeniyle tektonik keratoplasti yaptıkları 17 olgunun 15' inde başarılı olduklarını bildirmişlerdir (130).

#### **2.4.2.2.5. Penetran Keratoplasti (PKP)**

Perforasyonun nedenine, büyüklüğüne ve lokalizasyonuna bağlı olarak PKP ile korneanın tamiri perforasyondan hemen sonra yapılabileceği gibi, primer tedaviyi takiben ileri bir tarihte elektif olarak da yapılabilir. Korneal perforasyonlarda anatomik bütünlüğün korunması için acil PKP gereksede cerrahinin zamanı tartışmalıdır. Akut dönemde inflamasyonlu ve perfore bir gözde PKP cerrahisi teknik olarak zordur ve ön kamara yapılarında hasar ihtimali fazladır. Ayrıca bu olgularda postoperatif katarakt, glokom, üveit ve greft reddi riski artmıştır. Bu nedenle, eğer mümkünse primer nedene yönelik tedavi ile birlikte alternatif tedavi yöntemlerinin uygulanması doğru bir yaklaşım olacaktır (131).

### **2.5. Kan**

Kan, hücrelerden ve plazma adı verilen bir sıvıdan oluşmuştur. Kan türevi preparatlar, kornea yara iyileşmesi sırasında gerekli olan büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer sinyal proteinlerini içerirler (132). Korneanın avasküler yapısı sebebiyle, yara iyileşmesi sürecindeki gereksinimleri gözyaşı, aköz hümör ve limbal kan damarları tarafından sağlanır. Serum ve gözyaşının yapısı incelendiğinde, benzer pH, ozmolarite ve biyomekanik özellikler yanında yapışma proteinleri, proteazlar, antimikrobiyal proteinler, sitokinler, lipidler, vitaminler ve büyüme faktörleri açısından da benzer



yapıya sahip oldukları görülmüştür (133). Bununla birlikte, büyüme faktörlerinin ana kaynağı trombositlerin alfa granülleridir (134). Tüm bu ortak özellikler nedeniyle serum türevleri kornea yara iyileşmesini hızlandırmak için kullanılabilir.

Otolog serum trombosit aktivasyonunu içeren pıhtılaşma sonrası elde edilir ve büyük miktarda serbest büyüme faktörleri içerirler. Ayrıca yapısında lökositler bulunur. Bazı yazarlar korneal yara iyileşme sürecinde lökosit varlığının antimikrobiyal etkisi sebebiyle yararlı olduğu düşünürken (135,136), bazı yazarlar proinflamatuvar etkilerinden dolayı lökosit varlığının zararlı olduğunu düşünmektedir (137,138). Plateletten zengin plazma üretimi aşamasında pıhtılaşma oluşmaz. Plateletler ise ne aktive edilir, ne de çıkarılır. Freire ve arkadaşlarının çalışmasında; otolog serumun, plateletten zengin plazmaya göre kornea epitelinde daha hızlı yara iyileşmesi sağladığı görülmüştür ve bu durum kan preparatları arasındaki büyüme faktörleri (özellikle EGF) düzeyine bağlanmıştır (139).

## **2.6. Ankaferd Kan Durdurucu-Ankaferd Blood Stopper (ABS)**

ABS geleneksel olarak Türk tıbbında kullanılan beş bitkisel içeriğin çeşitli oranlarda kullanılması suretiyle hazırlanan hemostatik bir ajandır. Uygulanması kolay, antibakteriyel özelliğe sahip, antiinflamatuvar, hızlı etki gösteren, normal dokuya zarar vermeyen, nöral yapı üzerinde bası etkisi oluşturmayan, kanama ve pıhtılaşma bozukluğu olan vakalarda etkin, iyi bir hemostatik ajanın sahip olması gereken özellikleri taşıyan bir bitkisel karışımdır (140). ABS, etki mekanizmasının ortaya çıkarılmasını takiben stabilite, toksisite, sterilite, iritabilite testlerinden başarıyla geçmesi sonrası Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından ruhsatlandırılmıştır.

### **2.6.1. ABS' nin İçeriği**

ABS, *Thymus vulgaris*, *Glycyrrhiza glabra*, *Vitis vinifera*, *Alpinia officinarum* ve *Urtica dioica* bitkilerinin standardize karışımından oluşmaktadır (140). Bu bitkilerin damar endoteli, kan hücreleri, hücrel proliferasyon ve mediatörler üzerinde hemostatik etkileri vardır.

**Thymus vulgaris (Kekik):** Tıbbi kısmı, taze, çiçek açmış bitki, kurutulmuş yapraklar ve dilimlenmiş kuru yapraklardan elde edilen yağıdır. Antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiprotozoan özelliklere sahiptir (141). *Thymus vulgaris*

yapraklarının, bilinen antioksidanlar olan alfa-tokoferol ve bütile hidrokstitoluen ile kıyaslanabilir düzeyde, canlılardaki oksidatif hasarı azaltacak antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir. Ancak bu etkisini kaybetmemesi için yapısındaki uçucu yağın ısı işlemler gibi etmenlere maruz kalmaması gerekmektedir (142).

**Glycrrhiza glabra (Meyan):** Bitkinin tıbbi olarak kullanılan kısımları soyulmamış kurutulmuş kök ve saçakları, soyulmuş kurutulmuş kökler ve köklü rizomlarıdır (143). Meyan içerisindeki bazı bileşiklerin, metisiline dirençli ve duyarlı *Staphylococcus aureus* türleri üzerinde antibakteriyel etkileri olduğu gösterilmiştir (144). Meyan yaprakları fitoaleksinin, izomukronutalal gibi antifungal ve antibakteriyel etkili bileşikler içerir (145). Glisirizin, tip 2 sitokinleri baskılayan CD4 T hücrelerini indüklemektedir. Bu durum *Candida albicans* rezistansını düzeltir (146). Hepatit A virüsü ile enfekte olmuş insan hepatoma hücrelerinde viral antijen ekspresyonunu baskılayarak ve hücre membran akışkanlığını azaltarak virüsün penetre olmasını önlemektedir (147). Virüs hücre bağlanmasını engelleyip, replikasyonu inhibe ederek ve dev hücre formasyonunu baskılayarak HIV virüsü üzerinde antiviral etki göstermektedir (148). Meyan köklerinden elde edilen ekstraktın in vitro hücre dizilerinde anjiogenezini inhibe ettiği, vasküler endotelial büyüme faktörü üretimini azalttığı ve sitokinlerle indüklenen neovaskülarizasyonu azalttığı bildirilmiştir (149). Meyan kökünde baskın olarak bulunan likorisidin adlı bileşik izoPAF (trombosit aktive edici faktör) asetiltransferazı inhibe etmekte ve anti-inflamatuvar etkinlik göstermektedir (150). Glabridin tirozin kinaz aktivitesini, süperoksit anyonu üretimini ve siklooksijenaz aktivitesini inhibe etmek suretiyle anti-inflamatuvar etki gösterir (151). Topikal likokalkon A, farelerde inflamasyonu inhibe etmektedir (152). Glisirizin, glisiretik asit ve likiritinin steroid benzeri etkisi meyanın anti-inflamatuvar etkisine aracılık eder (153).

**Vitis vinifera (Asma):** Bitkinin tıbbi olarak kullanılan kısmı yapraklar, meyve ve meyvenin suyudur. Üzüm çekirdeği ekstresindeki proantosiyanidin serbest oksijen radikalleri üzerinde konsantrasyon bağımlı inhibisyon yapmaktadır. Bir çalışmada, proantosiyanidin antioksidan etkisinin vitamin C ve vitamin E' ye göre daha potent olduğu görülmüştür (154). Polisiyanidolik oligomerler in vitro şartlarda kollajende etkin bir çapraz bağlanmaya neden olur. Facino ve arkadaşları, prosiyanidinlerin kollajen, ESM, elastin ve hyalüronik asidin yapısını etkileyen bazı proteolitik enzimlerin

aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir (155). Bileşiğin güçlü antioksidan etkilerine bağlı olan antitümör destekleyici aktivitesi deneysel hayvan modellerinde de gösterilmiştir (156,157).

**Alphina officinarum (Havlıcan):** Bitkinin tıbbi olarak kullanılan kısmı rizomudur. Lipopolisakkarit ile aktive edilmiş fare peritoneal makrofajında nitrik oksit üretimini inhibe ettiği saptanmıştır (158). Bitkinin antispazmotik ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (159).

**Urtica dioica (Isırgan):** Isırgan otunun tıbbi kısmı taze, kurutulmuş çiçek açmış bitki ve kökleridir. Taze yapraklarda batıcı tüyler bulunur, fakat bunlar antiinflamatuvar ve analjezik etkilidir. Kafeoil asit, in vitro ortamda 5-lipoksijenaza bağımlı lökotrien sentezini inhibe eder (160). Isırganın sulu ekstresi immünolojik bakımdan 5 aktif polisakkarit ve lektin karışımı içermektedir. Lektinlerin virüs ve hedef hücre membranı arasında oluşan füzyonu engellediği düşünülmektedir (161). Polisakkarit fraksiyonu antiinflamatuvar ve immünoestimulan özellik göstermektedir (162). Lektin ısırgan aglütinini, kitini bağlama yeteneğine ek olarak antifungal aktivite göstermiştir (163). Isırgan aglütinini immünoestimulan aktivite gösteren ve EGF reseptörüne bağlanma yeteneği olan bir lektindir (162).

Bu bitkilerin tümünün tek başına etkileri olduğu gibi, birlikte kullanıldıklarında pıhtılaşma faktörlerinin etkisini bozmadan doku oksijenasyonunu ve fizyolojik hemostatik süreci sağladığı gösterilmiştir (140).

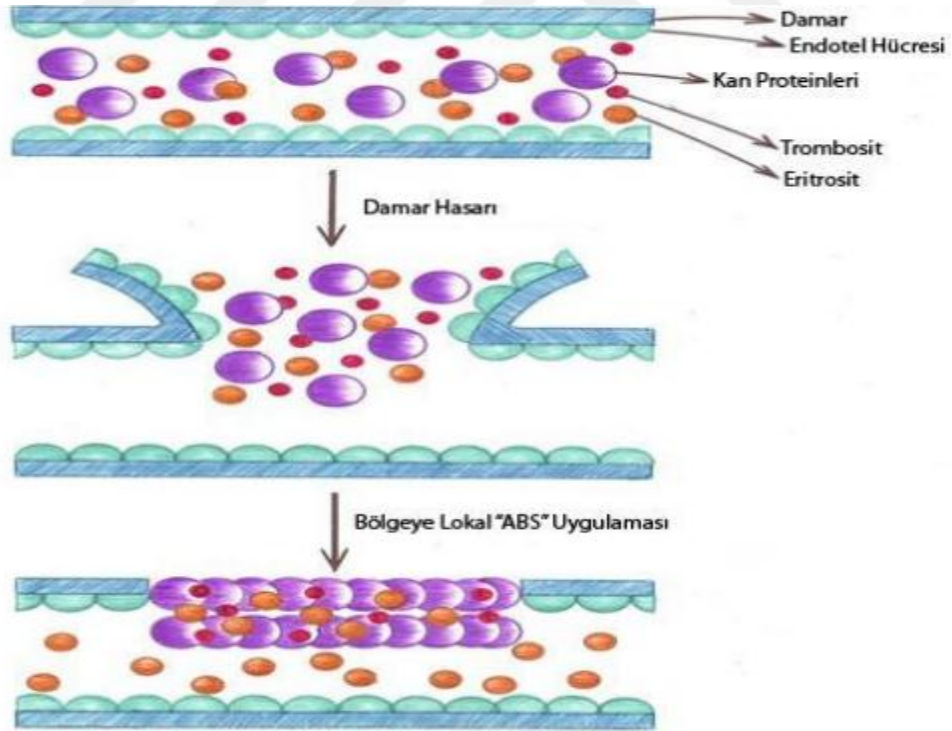
ABS ampul, tampon ve sprej olmak üzere üç farklı farmasötik formda hazırlanmıştır. Birim farmasötik formda bulunan etkin madde miktarları Tablo 1' de özetlenmiştir.

ABS' nin içeriği	Etkin madde miktarı (mg)				
	Ampul	Tampon		Sprej	
	2 ml	3 ml	10 ml	100 ml	mg/ml
Urtica dioica	0.12	0.18	0.6	6	0.06
Vitis vinifera	0.16	0.24	0.8	8	0.08
Glycrrhiza glabra	0.18	0.27	0.9	9	0.09
Alpinia officinarium	0.14	0.21	0.7	7	0.14
Thymus vulgaris	0.10	0.15	0.5	5	0.10

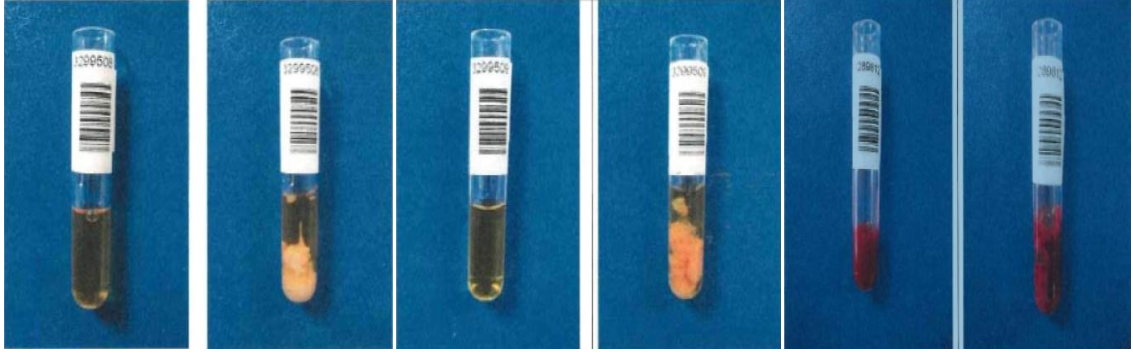
**Tablo 1:** Ampul, tampon ve sprej formunda ABS' nin içeriği.

### 2.6.2. ABS' nin Etki Mekanizması

ABS' nin temel etki mekanizması, eritrosit hücreleri için odak noktaları olan kapsülleşmiş protein ağının oluşumudur. Bu ağ, ABS' nin kan proteinleri ile (özellikle fibrinojen) karşılıklı kurduğu etki sayesinde oluşmaktadır. Kan hücreleri de (özellikle eritrositler) bu protein ağına katılmak için birleşirler (Şekil 3). Ayrıca plazmada pıhtılaşma faktörlerinin (koagülasyon faktör II, V, VII, VIII, IX, X, XI ve XIII) düzeylerini etkilememiş olduğu, trombin zamanı uzamasına paralel olarak plazma fibrinojen aktivitesinin düştüğü, ayrıca ABS ile etkileşim sonucu serumda total protein, albümin ve globülin düzeylerinin anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Kan hücreleri, ABS varlığında hızla kümeleşmiş (<1 saniye) ve ağ oluşumuna katılmışlardır. Göker ve arkadaşları, ABS' nin plazma, serum ve kanda çok hızlı bir şekilde (<1 saniye) protein ağı oluşturduğunu göstermişlerdir (Şekil 4). ABS, doku oksijenasyonu ile birlikte herhangi bir pıhtılaştırıcı faktörü etkilemeden fizyolojik hemostazı sağlamaktadır (140).



Şekil 3: ABS' nin etki mekanizması (Göker ve arkadaşlarının (140) çalışmasından alınmıştır).



plazma

serum

kan

**Şekil 4:** ABS' nin plazma, serum ve kanda protein ağı oluşturması (Göker ve arkadaşlarının (140) çalışmasından alınmıştır).

### 2.6.3. ABS İle Yapılan Çalışmalar

ABS ile yapılan ilk in vivo çalışmada, kedi ve köpek yaralarında kanamanın kontrolü ve durdurulmasında etkili olduğu, ayrıca herhangi bir toksik reaksiyon oluşturmadığı gösterilmiştir (164).

ABS klinikte ilk olarak, sünnet sonrası sızıntı tarzında kanaması olan, yüksek dozda faktör VIII tedavisine yanıt vermeyen bir hemofili A hastasında denenmiş ve başarılı olduğu belirtilmiştir (165).

Üst gastrointestinal sistem kanamalarında, nazal cerrahi sırasında, koroner arter bypass greft cerrahisinde, lokal kanaması olan Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalarında, yüzeysel ve derin cilt kesisi kanamalarında, kalıtsal trombositopeni ve faktör eksikliği olan hastaların kontrol altına alınamamış kanamalarında ABS uygulamasıyla başarı sonuçlar elde edilmiş ve ciddi bir yan etki görülmediği çalışmalarda bildirilmiştir (166-169).

ABS' nin çok sayıda patojen için antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Bu patojenlere *A.baumani*, *E.coli*, *K.pneumonia*, *P.aeruginosa*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas maltophilia*, metilisin direçli koagülaz negatif Stafilokok, vankomisin duyarlı ve direçli Enterokok dâhildir (170). Akkoç ve arkadaşlarının çalışmasında, ABS'nin antifungal etkilerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Agar kuyu diffüzyon testine tabi tutulan ABS, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida albicans*, *Mucor rouxii*, *Mucor brunnea*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'a yüksek düzeyde antifungal etkinlik göstermiştir (171).

ABS' nin erken dönem kemik doku iyileşmesi ve cilt üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, yara iyileşmesini hızlandırdığı gözlenmiştir (172-174).

Alpay ve arkadaşlarının yaptığı deneysel bir çalışmada, topikal ABS uygulamasının oküler yüzey üzerinde toksik etkiye yol açmadığı gösterilmiştir (175). Ancak diğer çalışmalarında, ABS' yi ratların ön kamarasına uygulamışlar ve yoğun inflamatuvar reaksiyona yol açtığını belirtmişlerdir. Histopatolojik incelemede iris ve siliyer cisimde eritrosit agregasyonu, kahverengi pigment birikimi, inflamatuvar hücre ve yabancı cisim reaksiyonu görmüşlerdir. İntraoküler ABS uygulamasının toksik etkiye yol açmasından ve ABS' nin ph düzeyinin 1,8 olmasından dolayı, intraoküler ABS kullanımının uygun olmayacağını belirtmişlerdir (176-178).



### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma Mayıs 2015-Mart 2016 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından planlandı ve gerçekleştirildi. Histopatolojik değerlendirme OMÜ Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından yapıldı. Çalışma öncesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay alındı. Tüm prosedürler Helsinki Bildirgesi'ndeki etik standartlara uygun olarak yapıldı. Çalışmada en az 120 günlük olan, 2-3,5 kg ağırlığında 29 adet sağlıklı Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DEHAM) bulunan bireysel kafeslerde tutuldu. Hayvanlar 20-25 derece oda sıcaklığında, % 50-60 oranında nemli, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık dönemleri sağlanan laboratuvar ortamında tutuldular. Su ve yem kısıtlaması yapılmadı. Tüm hayvanlara önceden var olan ön segment anormalliklerini ekarte etmek için mikroskopik göz muayenesi yapıldı. Tüm cerrahi müdahaleler aynı ekip tarafından, DEHAM ameliyathanesinde steril koşullar altında yapıldı.

Çalışmada uygulama yapılan 29 adet Yeni Zelanda tavşanının 34 gözü rasgele olarak 4 gruba ayrıldı. 1. grup topikal ABS ve kan uygulanan 10 tavşan, 2. grup topikal olarak sadece kan uygulaması yapılan 9 tavşan, 3. grup NBCA (Histoacryl, Braun, Melsungen, Almanya) uygulanan 10 tavşan, 4. grup ise hiçbir uygulama yapılmayan 5 tavşandan oluşan kontrol grubu olarak belirlendi.

#### **3.1. Anestezi Tekniği ve Operasyon Öncesi Hazırlık**

Tüm hayvanlar cerrahi müdahale sırasında ve daha sonraki takip günlerinde genel anestezi aldı. Anestezi ve analjezi uygulamasında intramüsküler 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) kombinasyonu kullanıldı. İşlem öncesi deneklerin gözlerine % 0,5'lik proparakain hidroklorid (Alcain) ve %1'lik tropikamid (Tropamid) damla damlatıldı.

#### **3.2. Deney Hayvanlarında Korneal Perforasyon Oluşturulması ve Tedavi Uygulama Teknikleri**

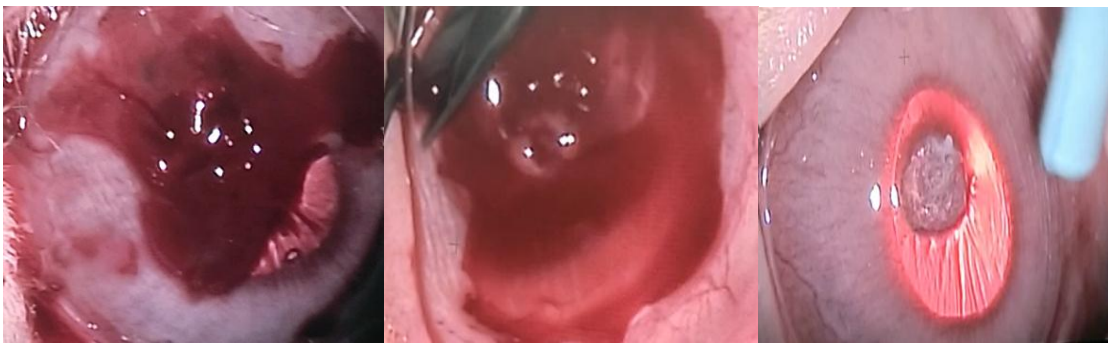
Operasyon gözü steril olarak hazırlandıktan sonra, 1 mm çaplı disposable biyopsi punch ile kornea merkezinden tam kat doku çıkarılıp perforasyon oluşturuldu (Şekil 5).



**Şekil 5:** Kornea merkezinden 1 mm çaplı disposable punch ile tam kat doku çıkarılması ve ön kamaranın silinmesi.

Çalışma süresi boyunca, uygulama yapılan göze günde iki kez topikal %1' lik siklopentolat HCL (Sikloplejin), antibiyotik ve steroid kombinasyonu (%0,3 tobramisin ve %0,5 loteprednol etabonat, Zylet) damlatıldı. Ayrıca iki gün boyunca subkutan morfin sülfat (1mg/kg, her 12 saate bir) uygulaması yapıldı.

Grup 1' de perforasyon alanına otolog kan damlatılmasından hemen sonra ABS uygulaması yapıldı ve kontakt lens (KL) takıldı. Sadece kan uygulaması yapılan grup 2' de kanın pıhtılaşması beklenildi ve oluşan pıhtı formasyonunun etrafı makasla kesilerek KL takıldı. Grup 3' de perforasyon bölgesine üçgen sponge' nin arka ucu ile siyanoakrilat yapıştırıcı uygulaması yapıldı ve KL takıldı. Grup 4' de ise sadece KL uygulaması yapıldı (Şekil 6).



Grup 1

Grup 2

Grup 3

**Şekil 6:** Gruplara göre tedavi uygulama teknikleri.

İlk üç grupta bulunan tavşanların sağ gözüne uygulama yapıldı. Kontrol grubu ise, 2. grupta bulunan tavşanların sağ gözüne topikal kan uygulaması yapıldıktan bir hafta sonra sol gözüne uygulama yapılması ile oluşturuldu ve 14 gün takip edildi. Tüm



gruplara uygulama sonrası bandaj kontakt lens takıldı. Grup 1 ve 2' de KL ertesi gün çıkarıldı, ancak yara yerinden sızıntının devam ettiği tavşanlar KL ile takip edildi. Siyanoakrilat uygulanan grup (yapıştırıcının irritasyona yol açmaması ve yerinden ayrılmaması için) ve kontrol grubu çalışma süresi boyunca kontakt lens ile takip edildi. Yapıştırıcının perforasyon alanından tamamen ayrıldığı grup 3' deki deneklerde, tekrar yapıştırıcı uygulaması yapıldı.

### 3.3. Mikroskopik ve Histopatolojik Değerlendirme

Gözler postoperatif 1-2-3-7-14 ve 21. günlerde mikroskopik olarak incelendi. Genel anestezi altında yapılan muayenede yara yerinden sızıntı varlığı, korneal ödem, ön kamarada sığlaşma, ön kamarada inflamasyon varlığı, iris prolapsusu ve travmatik katarakt oluşumu değerlendirildi. Yapılan kesi hattının en az 1 mm etrafında homojen dağılım gösteren korneal ödem ve ön kamarada 2 mm' den büyük inflamatuvar membran varlığı değerlendirmeye alındı. Ayrıca, postoperatif 21. gün iyileşmiş yara dokusundaki korneal saydamlık mikroskopik olarak değerlendirildi. İyileşmiş yara dokusu üzerinden retinal refle alınması, korneal saydamlık lehine değerlendirildi. Tüm hayvanların operasyon günü video ile postoperatif takip günleri ise fotoğraflanarak kayıt altına alındı.

21. günde tüm tavşanlar, intravenöz pentobarbital sodyum verilerek (100mg/kg) sakrifiye edildi. Çalışma gözleri enükleasyonla çıkarılarak %10' luk formaldehit içeren patoloji kaplarına kondu (Şekil 7).



Şekil 7: Çalışma gözlerinin formol içeren kaplara konulması.

Göz örnekleri %10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra, travmatize edilen korneanın tam sınırından trimlenerek alkol ve ksilol serilerinden geçirildi ve parafinde bloklandı. Sonrasında mikrotom ile 5 mikron kalınlıkta kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen Eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Histopatolojik inceleme; epitel ve endotelin rejenerasyonu, Desme membranının oluşumu, fibrozisin şiddeti, yangısal hücre infiltrasyonunun varlığı ve vaskülarizasyon göz önüne alınarak yapıldı. Tüm parametreler çalışma gruplarını bilmeyen iki patolog (T.G. ve E.K.) tarafından çift-kör olarak incelendi. Yangısal hücre infiltrasyonu ve fibrozis semikantitatif olarak değerlendirildi. Bu değerlendirme yok (-), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) ve çok şiddetli (++++) olarak yapıldı.

### **3.4. İstatistiksel Yöntem**

Çalışmanın istatistiksel analizi çalışmaya uygun olan “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS) 16 paket programı ile yapıldı. Takip günlerindeki mikroskopik incelemede görülen yara yerinden sızıntı varlığı, ÖK oluşumu, korneal ödem, 21. günde iyileşmiş yara dokusundaki saydamlık, ön kamarada inflamasyon varlığı ve yapılan işlem tekrarının gruplar arası karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. 21. gündeki histopatolojik incelemede görülen fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun gruplar arası ikili karşılaştırması için, Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 29 tavşan, çalışma süresi içerisinde sağlıklı görünümüne sahipti ve hiçbir tavşanda ölüm görülmedi.

### 4.1. Mikroskopik Değerlendirme

Çalışma süresi boyunca kontrol grubunda bir denekte keratit görülmesi dışında, hiçbir grupta postoperatif mikrobiyal keratit, sineşi, katarakt ve endoftalmi gibi komplikasyonlar görülmedi.

Tüm gruplarda perforasyon alanından sızıntı varlığı ve ÖK oluşumu değerlendirildi (Tablo 2). ABS ve kan kombine uygulaması yapılan 1. grupta, postoperatif 1. gün tüm tavşanlarda ÖK oluşumu gözlemlendi ve yara yerinden sızıntı yoktu. 2. gün bir tavşanda (%10) normal ÖK derinliğiyle birlikte minimal sızıntı görüldü ve kontakt lens uygulamasıyla takip edildi. 3-7-14 ve 21. gün takiplerinde ise tüm tavşanlarda yara yerinden sızıntı yoktu.

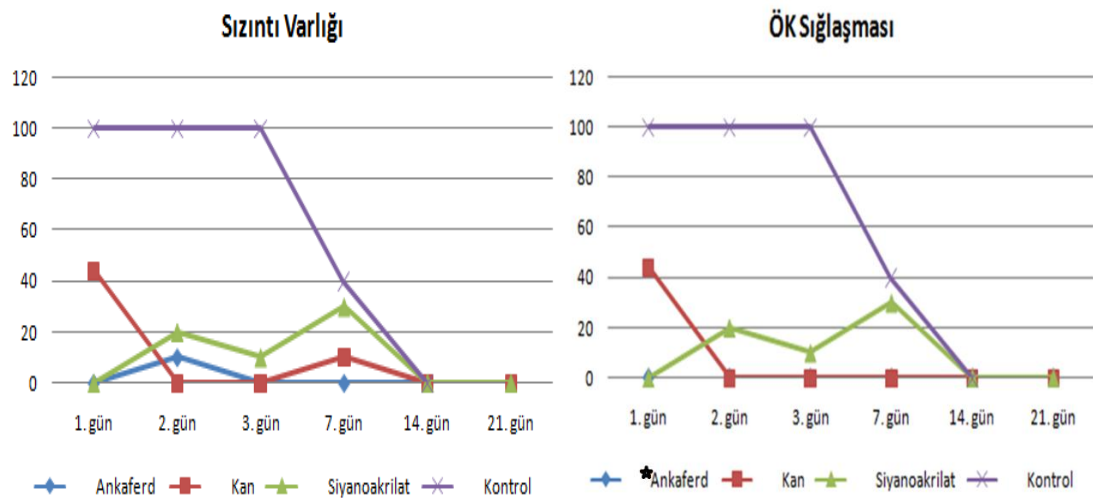
Siyanoakrilat grubunda ise, postoperatif ilk gün tüm tavşanlarda normal derinlikte ÖK mevcuttu ve yara yerinden sızıntı yoktu. 2. gün 2 ve 8 numaralı tavşanda (%20), 3. gün 5 numaralı tavşanda (%10), 7. gün ise 4, 6 ve 7 numaralı tavşanda (%30) olmak üzere, postoperatif 2. günden itibaren toplam 6 tavşanda (%60) ön kamara sığılaşması ile birlikte yara yerinden sızıntı varlığı görüldü. Yapıştırıcının tamamen yerinden ayrıldığı 4, 6, 7 ve 8 numaralı deneklerde tekrar uygulama yapıldı.

Sadece kan uygulaması yapılan grupta, 1. gün 4 tavşanda (%44,4) ön kamara sığılığı ve yara yerinden sızıntı mevcuttu. 7. günde ise 1 tavşanda (%11,1) sızıntı varlığına rağmen normal derinlikte ÖK görüldü. Kontrol grubunda ise ilk 3 gün tüm tavşanlarda (%100), 7. gün 2 tavşanda (%40) yara yerinden sızıntı görüldü. Sızıntı görülen tavşanlarda ÖK normal derinlikte değildi. 14. günde ise tüm tavşanlarda ön kamara oluşmuştu ve sızıntı yoktu. 1. gün grup 1 ve 3' teki sızıntı yokluğu ve ÖK oluşumu grup 2 ve 4' e göre istatistiksel olarak anlamlıydı (grup 2'ye göre  $p=0.018$ , grup 4' e göre  $p<0.001$ ). 2. ve 3. günde, ilk iki gruptaki sızıntı yokluğu ve normal ÖK derinliği kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösterirken ( $p<0.001$ ), grup 3' e göre istatistiksel açıdan farklılık göstermedi ( $p=0.156$ ). Grup 3' ün grup 4' le karşılaştırılmasında ise anlamlı fark görüldü (2. gün  $p=0.003$ , 3. gün  $p=0.001$ ). 7.gün gruplar arası sızıntı yokluğu açısından sadece grup 1' in, ÖK derinliği açısından ise grup 1 ve 2' nin kontrol grubuyla karşılaştırılmasında istatistiksel fark görüldü ( $p=0.040$ ). İlk bir hafta içinde grup 1' de 1, grup 2' de 4, grup 3' te 6 ve grup 4' te 5 tavşanda sızıntı

varlığı görüldü. İlk bir haftada sızıntı varlığı görülen deneklerin istatistiksel karşılaştırmasında, grup 1' in diğer gruplara göre yara yeri sızıntı varlığının daha az olması anlamlı sonuç verdi (grup 2' ye göre  $p=0.033$ , grup 3'e göre  $p=0.019$ , grup 4' e göre  $p=0.001$ ). Benzer şekilde ilk bir haftadaki normal ÖK derinliği görülen deneklerin istatistiksel karşılaştırmasında, grup 1' in diğer gruplara göre ÖK sığlaşmasının daha az olması anlamlı sonuç verdi (grup 2' ye göre  $p=0.011$ , grup 3' e göre  $p=0.003$ , grup 4' e göre  $p<0.001$ ). Şekil 8' de sızıntı varlığı ve ÖK sığlaşması gözlenen denek yüzdelerinin zamana göre karşılaştırılma grafiği gösterilmiştir. Grup 3' de yapılan tekrar uygulamaların, diğer gruplara göre fazla sayıda olması istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ( $p=0.012$ ).

Gruplar - (Denek Sayısı)	Sızıntı Varlığı						Ön Kamarada Sığlaşma					
	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün	1. gün	2.gün	3.gün	7. gün	14. gün	21. gün
Ankaferd - (10)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kan - (9)	4	0	0	1	0	0	4	0	0	0	0	0
Siyanoakrilat - (10)	0	2	1	3	0	0	0	2	1	3	0	0
Kontrol - (5)	5	5	5	2	0		5	5	5	2	0	

**Tablo 2:** Sızıntı varlığı ve ÖK sığlaşması gösteren denek sayılarının gruplar arası dağılımı.



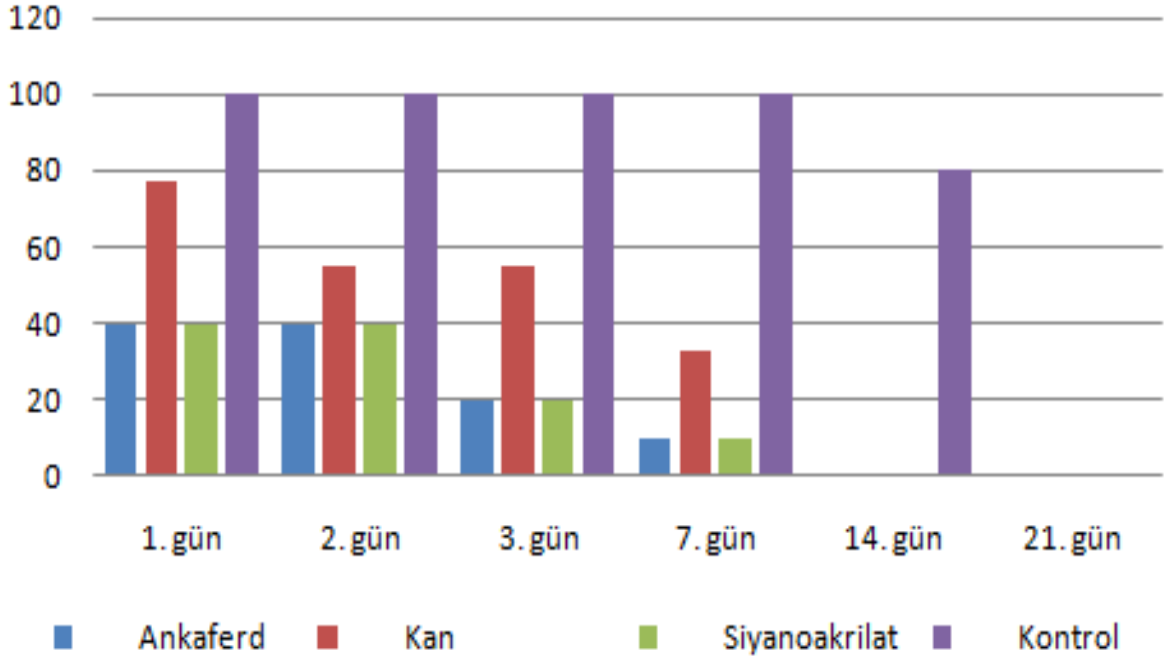
**Şekil 8:** Sızıntı varlığı ve ÖK sığlaşması gözlenen denek yüzdelerinin zamansal grafiği. ★: Hiçbir denekte ÖK sığlaşması yok.

Gruplar arası ön kamarada inflamasyon varlığı değerlendirildi (Tablo 3). ABS ve kan kombine uygulaması yapılan grupta, postoperatif ilk 2 gün 4 tavşanda (%40), 3. gün 2 tavşanda (%20), 7. gün 1 tavşanda (%10) ÖK' de inflamasyon görüldü. 10 numaralı denekte yoğun, diğerlerinde ise hafif-orta derecede inflamasyon mevcuttu. Siyanoakrilat grubunda da benzer şekilde, ilk 2 gün 4 tavşanda (%40), 3. gün 2 tavşanda (%20), 7. gün 1 tavşanda (%10) hafif-orta derece inflamasyon görüldü. Sadece kan uygulaması yapılan grupta, ilk gün 7 tavşanda (%77,7), 2. ve 3. gün 5 tavşanda (%55,5), 7. gün 3 tavşanda (%33,3) inflamasyon görüldü. 6 numaralı denekte yoğun, diğerlerinde ise hafif-orta derece inflamasyon vardı. Kontrol grubunda, postoperatif 1-2-3 ve 7. günlerde tüm tavşanlarda (%100), 14. gün ise 4 tavşanda (%80) inflamasyon görüldü. 3 tavşanda yoğun, 2 tavşanda orta derece inflamasyon mevcuttu. Postoperatif ilk gün ön kamara inflamasyonu görülmeyen tüm deneklerde, diğer takip günlerinde de inflamasyon görülmedi. Postoperatif ilk 14 gün boyunca grup 1 ve 3' te kontrol grubuna göre daha az inflamasyon görülmesi istatistiksel açıdan anlamlıydı (ilk iki gün  $p=0.025$ , 3. gün  $p=0.003$ , 7. ve 14. gün  $p=0.001$ ). Grup 2' nin kontrol grubuyla karşılaştırılmasında ise ilk 3 gün anlamlı sonuç görülmezken, 7. ve 14. gün istatistiksel olarak daha az inflamasyon görüldü (ilk üç gün  $p>0.05$ , 7. gün  $p=0.016$ , 14. gün  $p=0.001$ ). Şekil 9' da ön kamarada inflamasyon görülen denek yüzdelерinin zamana göre karşılaştırılma grafiği gösterilmiştir.

Gruplar - (Denek Sayısı)	Ön Kamarada İnflamasyon					
	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
<b>Ankaferd - (10)</b>	4	4	2	1	0	0
<b>Kan - (9)</b>	7	5	5	3	0	0
<b>Siyanoakrilat - (10)</b>	4	4	2	1	0	0
<b>Kontrol - (5)</b>	5	5	5	5	4	

**Tablo 3:**Ön kamarada inflamasyon görülen denek sayılarının gruplar arası dağılımı.

## Ön kamarada inflamasyon

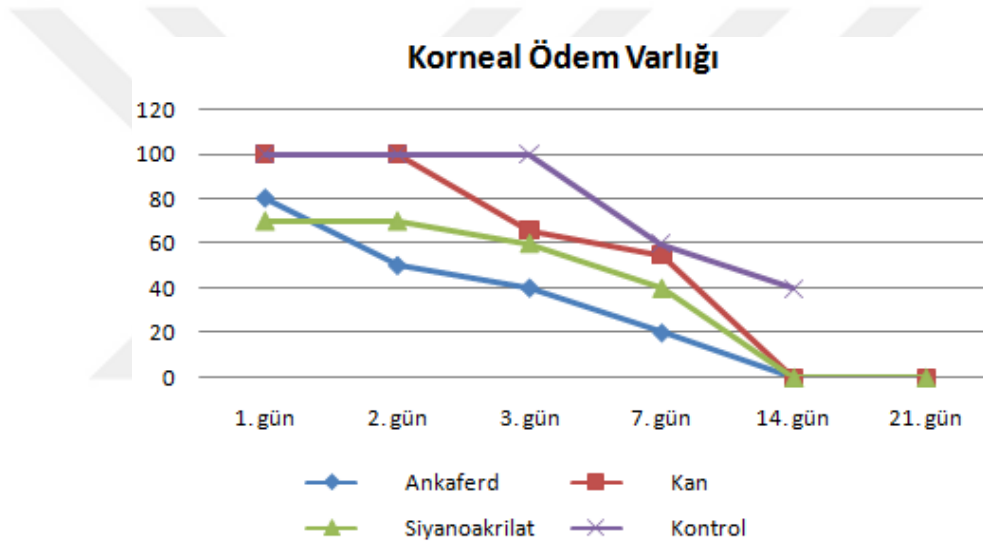


**Şekil 9:** Ön kamarada inflamasyon görülen denek yüzdelerinin zamansal grafiği.

Gruplar arası perforasyon alanı etrafında korneal ödem varlığı değerlendirildi (Tablo 4). ABS ve kan kombine uygulaması yapılan grupta, ilk gün 8 tavşanda (%80), 2. gün 5 tavşanda (%50), 3. gün 4 tavşanda (%40), 7. gün 2 tavşanda (%20) korneal ödem görüldü. Siyanoakrilat grubunda ise, ilk 2 gün 7 tavşanda (%70), 3. gün 6 tavşanda (%60), 7. gün 4 tavşanda (%40) korneal ödem mevcuttu. Sadece kan uygulanan grupta, ilk 2 gün tüm tavşanlarda (%100), 3. gün 6 tavşanda (%66,6), 7. gün 5 tavşanda (%55,5) korneal ödem görüldü. Kontrol grubunda ilk 3 gün tüm tavşanlarda (%100), 7. gün 3 tavşanda (%60), 14. gün 2 tavşanda (%40) korneal ödem görüldü. Postoperatif ilk gün korneal görülmeyen tüm deneklerde, diğer takip günlerinde de korneal ödem görülmedi. İlk gün istatistiksel açıdan gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.212$ ). 2. gün grup 1' in grup 2 ve 4' le karşılaştırılmasında daha az korneal ödem görülürken ( $p=0.038$ ), grup 3' ün grup 2 ve 4 ile karşılaştırılmasında anlamlı fark ortaya çıkmadı ( $p=0.091$ ). 3. gün sadece grup 1' in kontrol grubuyla karşılatırılmasında korneal ödem açısından anlamlı fark bulundu ( $p=0.031$ ). 7. gün gruplar arası anlamlı fark yoktu ( $p=0.334$ ). 14. gün ilk 3 grupta kontrol grubuna göre korneal ödem yokluğu istatistiksel açıdan anlamlıydı ( $p=0.006$ ). Şekil 10' da korneal ödem görülen denek yüzdelerinin zamana göre karşılaştırılma grafiği gösterilmiştir.

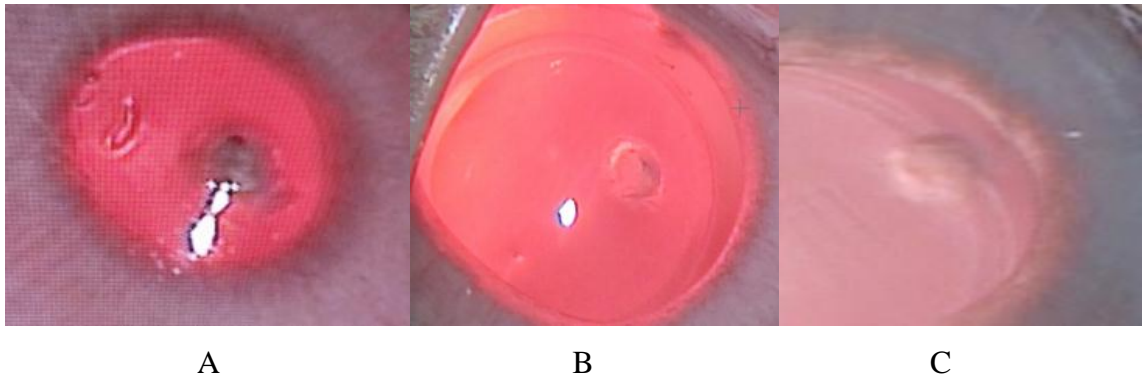
Gruplar - ( Denek Sayısı)	Korneal Ödem Varlığı					
	1. gün	2. gün	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Ankaferd - (10)	8	5	4	2	0	0
Kan - (9)	9	9	6	5	0	0
Siyanoakrilat - (10)	7	7	6	4	0	0
Kontrol - (5)	5	5	5	3	2	

**Tablo 4:** Korneal ödem görülen denek sayılarının gruplar arası dağılımı.

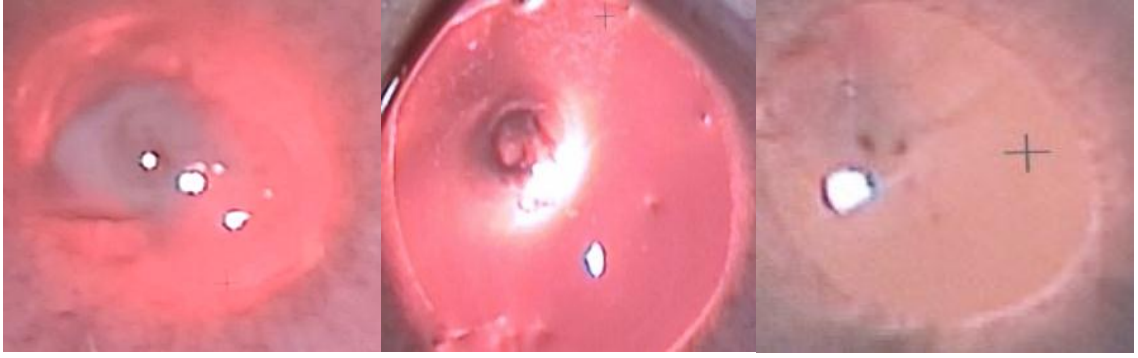


**Şekil 10:** Korneal ödem görülen denek yüzdelerinin zamansal grafiği.

Şekil 11-12-13 ve 14' de her gruptan bir deneğin postoperatif takip günlerinden fotoğraflar gösterilmektedir.



**Şekil 11:** Grup 1' deki 1 numaralı deneğin 1,7 ve 21. günlerdeki fotoğrafları. A: Postoperatif 1.gün perforasyon alanında tıkaç oluşumu ve normal derinlikte ÖK. B: 7. günde korneal ödem, inflamasyon ve sızıntı yokluğu. C: 21. günde iyileşmiş kornea.



A

B

C

**Şekil 12:** Grup 2' deki 4 numaralı deneğin 1,7 ve 21. günlerdeki fotoğrafları. A: Postoperatif 1.gün perforasyon alanından sızıntı varlığı ile birlikte korneal ödem ve inflamasyon. B: 7. günde devam eden korneal ödem birlikte inflamasyon ve sızıntı yokluğu. C: 21. günde iyileşmiş kornea.



A

B

C

**Şekil 13:** Grup 3' deki 4 numaralı deneğin 1,7 ve 21. günlerdeki fotoğrafları. A: Postoperatif 1.gün perforasyon alanındaki yapıştırıcı ve normal derinlikte ÖK. B: 7. günde yapıştırıcının yerinden ayrılmasıyla sızıntı varlığı ve ön kamaranın şişmesi. C: 21. günde iyileşmiş kornea.



A

B

C

**Şekil 14:** Grup 4' deki 1 numaralı deneğin 1,7 ve 14. günlerdeki fotoğrafları. A: Postoperatif 1.gün yoğun ödem ve inflamasyonla birlikte ÖK sıklığı. B: 7. günde yoğun ödem ve inflamasyonla birlikte sızıntı devam etmekte. C: 14. günde sızıntı yokluğu ve normal derinliğe sahip ÖK ile birlikte inflamasyon.



Postoperatif 21. günde yara yerindeki korneal saydamlık mikroskopik olarak değerlendirildi. Grup 1' in diğer gruplarla karşılaştırılmasında, iyileşmiş perforasyon alanındaki korneal saydamlık grup 1 lehine anlamlı bulundu (p=0.027).

#### 4.2. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirmede tüm gruplarda epitelizasyonun tamamlandığı görüldü ve vaskülarizasyon hiçbir denekte görülmedi. Epitel tabakasında hiperkeratoz ve parakeratotik bant hiçbir denekte görülmedi. Perforasyon alanından alınan kesitlerdeki fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun gruplar arası karşılaştırması Tablo 5' de gösterilmektedir.

Ankaferd			Kan			Siyanoakrilat			Kontrol		
Denek no	Fibrozis	İnf.	Denek no	Fibrozis	İnf.	Denek no	Fibrozis	İnf.	Denek no	Fibrozis	İnf.
1	-	-	1	++	+	1	+++	+	1	++	+
2	+	-	2	++	-	2	+	-	2	+	++
3	+	+	3	+	-	3	++++	+	3	+++	++++
4	-	-	4	+++	-	4	++++	+	4	+++	+
5	+	-	5	++	+	5	++++	+	5	+++	++
6	-	-	6	++++	++++	6	+++	-			
7	-	-	7	++	+	7	++	-			
8	+	-	8	++	+	8	++++	+			
9	-	-	9	++	+	9	++++	++			
10	++++	-				10	+++	+			

**Tablo 5:** Histopatolojik kesitlerde görülen fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun gruplar arası dağılımı.

Ankaferd grubunda epitel ve endotel tabakasının tam olarak rejenere olduğu ve fibrozisin minimal düzeyde olduğu dikkati çekti. Desme membranında rejenerasyonun tam olmadığı saptandı. Yangısal hücre infiltrasyonlarına rastlanmadı.

Kan grubunda anterior epitel tabakasının rejenere olduğu saptandı. Endotel tabakasının da rejenerasyonunu tamamladığı, buna karşın Desme membranının rejenere olmadığı dikkati çekti. Hafif derecede hücresel infiltrasyon ve orta düzeyde fibrozis bulunduğu belirlendi.

Siyanoakrilat grubunda epitel ve endotel tabakasının tam olduğu, Desme membranının ise rejenerere olmadığı görüldü. Fibrozisin en şiddetli olarak siyanoakrilat grubunda şekillendiği belirlendi. Yangısal hücre infiltrasyonunun ise hafif düzeyde olduğu dikkati çekti.

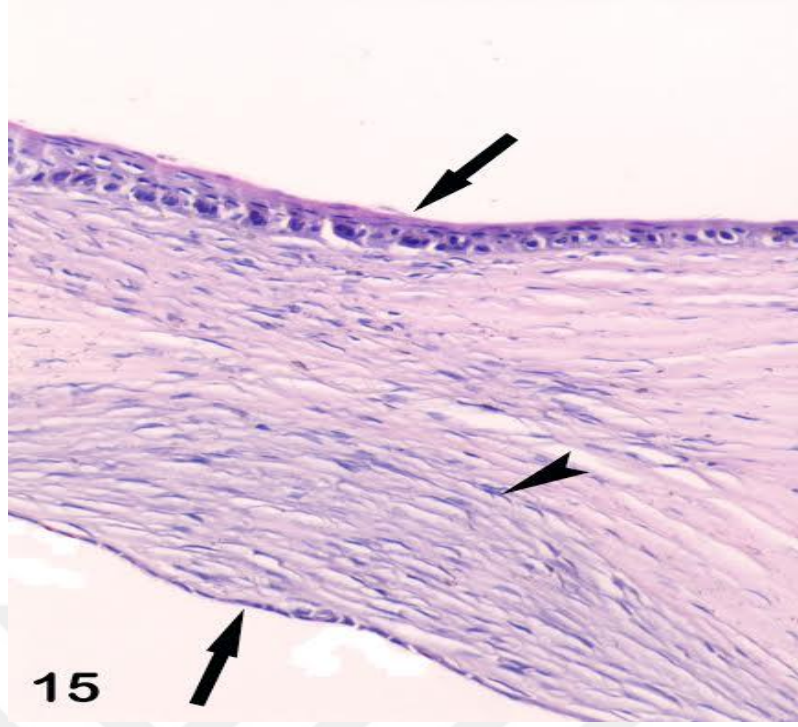
Kontrol grubunda endotel tabakasının rejenerasyonunun tam olduğu, Desme membranının rejenerasyonunun tamamlanmadığı görüldü. Epitel tabakasında ise rejenerasyona bağlı kalınlaşma dikkati çekti. Yangısal hücre infiltrasyonlarının orta şiddette olduğu belirlendi.

Grup 1' in grup 2, 3 ve 4 ile karşılaştırılmasında, fibrozis yoğunluğunun ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun daha az görülmesi istatistiksel açıdan anlamlıydı (grup 2' ye göre;  $p=0.004$  ve  $p=0.012$ , grup 3' e göre;  $p=0.002$  ve  $p=0.007$ , grup 4' e göre;  $p=0.022$  ve  $p=0.001$ ). Grup 2' nin grup 3 ve 4 ile karşılaştırılmasında, fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından anlamlı istatistiksel fark ortaya çıkmadı (grup 3' e göre;  $p=0.069$  ve  $p=0.963$ , grup 4' e göre;  $p=0.516$  ve  $p=0.062$ ). Grup 3' ün grup 4 ile karşılaştırılmasında ise fibrozis yoğunluğu açısından anlamlı fark görülmezken, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun daha az görülmesi istatistiksel açıdan anlamlıydı ( $p=0.180$  ve  $p=0.032$ ). Tablo 6' da histopatolojik olarak değerlendirilen kesitlerdeki fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu derecesinin ortanca değere göre gruplar arası karşılaştırılması gösterilmektedir.

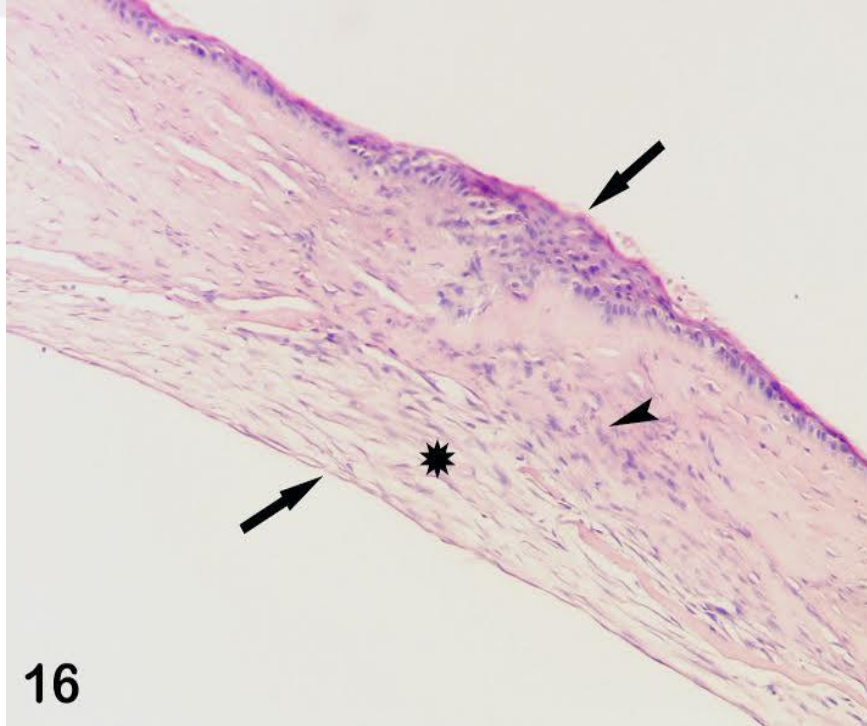
Gruplar	Fibrozis	İnflamasyon
Ankaferd	+	-
Kan	++	+
Siyanoakrilat	++++	+
Kontrol	+++	++

**Tablo 6:** Fibrozis yoğunluğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu derecesinin ortanca değere göre gruplar arası dağılımı.

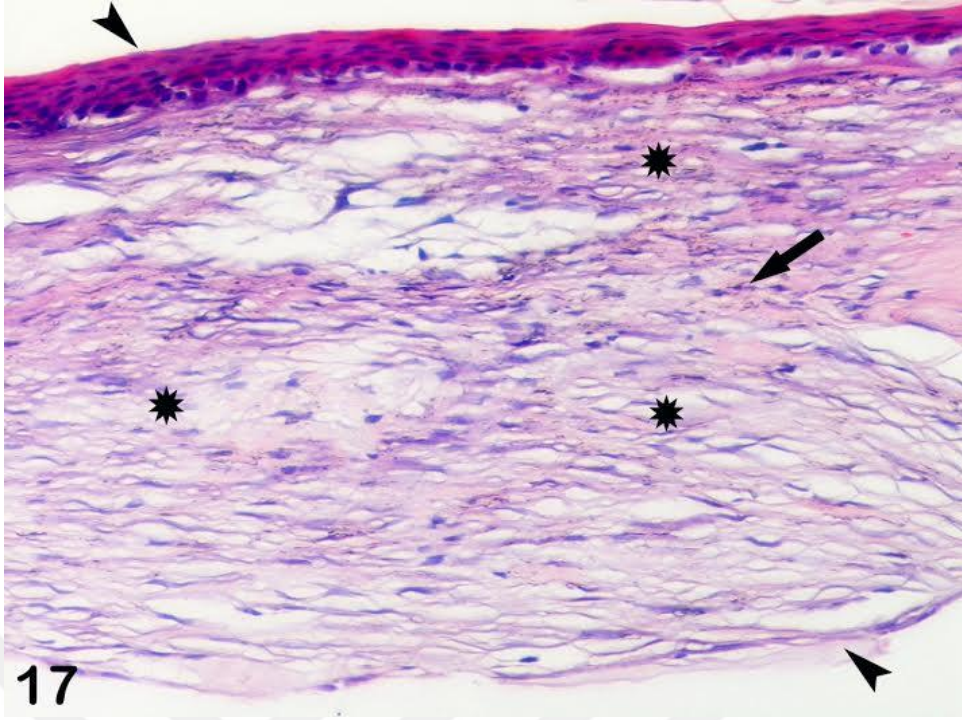
Şekil 15-16-17 ve 18' de, her gruptan bir deneğe ait histopatolojik kesitlerin fotoğrafları gösterilmektedir.



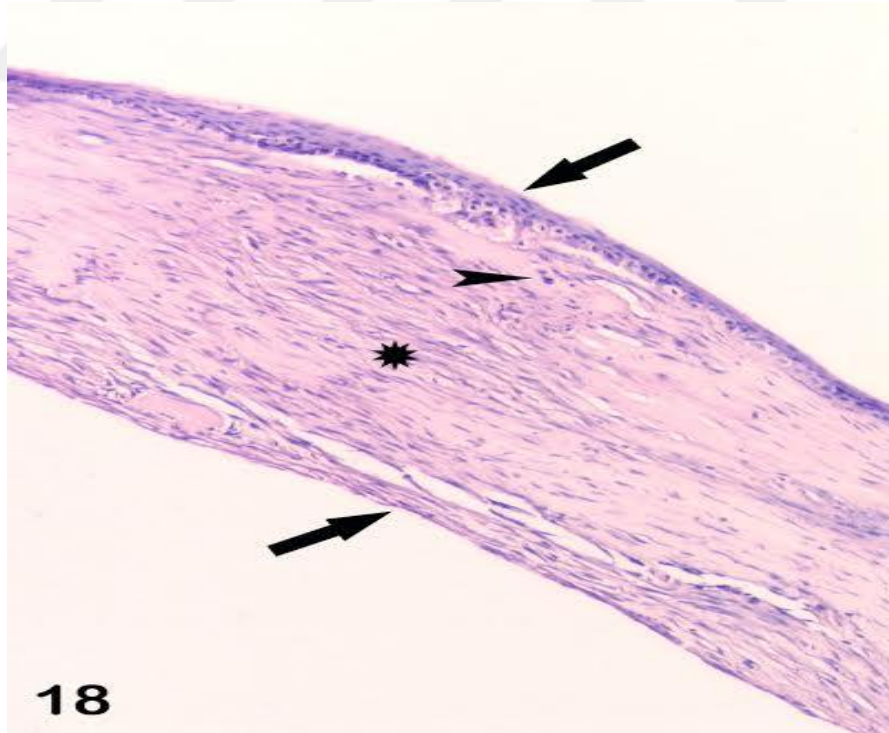
**Şekil 15:** Ankaferd grubu 5 numaralı denekte epitel ve endotelde rejenerasyon (Oklar). Minimal düzeyde (+) fibrozis (Ok başı). Hematoksilen/eosin boyama, 20x objektif.



**Şekil 16:** Kan grubu 5 numaralı denekte epitel ve endotelde rejenerasyon (Oklar). Orta düzeyde (++) fibrozis (Yıldız). Hafif yangısal hücre infiltrasyonu (Ok başı). Hematoksilen/eosin boyama, 10x objektif.



**Şekil 17:** Siyanoakrilat grubu 5 numaralı denekte epitel ve endotelde rejenerasyon (Ok başları). Çok şiddetli (++++) fibrozis (Yıldızlar) ve hafif yangısal hücre infiltrasyonu (Ok). Hematoksilen/eosin boyama, 20x objektif.



**Şekil 18:** Kontrol grubu 5 numaralı denekte epitelyal kalınlaşma ve endotelde rejenerasyon (Oklar). Şiddetli (+++) fibrozis (Yıldız) ve orta düzeyde (++) yangısal hücre infiltrasyonu (Ok başı). Hematoksilen/eosin boyama, 10x objektif.

**Ankaferd ve kan kombine uygulaması yapılan grubun mikroskopik ve histopatolojik değerlendirme sonuçları**

Denek numarası	Takip günü	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SIZINTI	1.gün	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.gün	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	3.gün	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7.gün	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÖK DERİNLİĞİ	1.gün	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2.gün	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	3.gün	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	7.gün	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
KORNEAL ÖDEM	1.gün	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	2.gün	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+
	3.gün	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+
	7.gün	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
ÖK İNFLAMASYONU	1.gün	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
	2.gün	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
	3.gün	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
	7.gün	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Korneal saydamlık	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-
İşlem tekrarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopatolojik fibrozis	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	++++
Histopatolojik inflamasyon	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
İlk hafta sızıntı görülenler	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
İlk hafta ÖK sığılması olanlar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Siyanoakrilat uygulaması yapılan grubun mikroskopik ve histopatolojik değerlendirme sonuçları**

Denek numarası	Takip günü	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SIZINTI	1.gün	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.gün	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
	3.gün	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	7.gün	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
ÖK DERİNLİĞİ	1.gün	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	2.gün	N	S	N	N	N	N	N	S	N	N
	3.gün	N	N	N	N	S	N	N	N	N	N
	7.gün	N	N	N	S	N	S	S	N	N	N
KORNEAL ÖDEM	1.gün	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	2.gün	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	3.gün	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-
	7.gün	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
ÖK İNFLAMASYONU	1.gün	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+
	2.gün	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+
	3.gün	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
	7.gün	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Korneal saydamlık	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İşlem tekrarı	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
Histopatolojik fibrozis	+++	+	++++	++++	++++	+++	++	++++	++++	+++	
Histopatolojik inflamasyon	+	-	+	+	+	-	-	+	++	+	
İlk hafta sızıntı görülenler	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	
İlk hafta ÖK sığılması olanlar	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	

**Tablo 7:** Grup 1 ve 3' ün ilk bir haftadaki mikroskopik ve histopatolojik değerlendirme sonuçları.

N: Normal. S: Sığ.

İki grubun istatistiksel karşılaştırmasında grup 1 lehine anlamlı bulunan sonuçlar; ilk hafta sızıntı yokluğu (p=0.003), ilk hafta normal ÖK derinliği (p=0.003), işlem tekrarının olmaması (p=0.033), korneal saydamlık (p=0.01), histopatolojik olarak fibrozis (p=0.002) ve inflamasyonun (p=0.007) daha az görülmesi oldu. Anlamlı bulunmayan sonuçlar ise; postoperatif 1-2-3 ve 7.günlerde ön kamarada inflamasyon varlığı (p=1), postoperatif 1.gün (p=0.606) - 2.gün (p=0.361) - 3.gün (p=0.371) ve 7.günde (p=0.329) korneal ödem varlığı oldu.

## 5. TARTIŞMA

Literatürde kornea yara iyileşmesiyle ilgili primatlar, kediler, köpekler, sığanlar, tavuklar ve tavşanlar üzerinde çeşitli deneysel çalışmalar yapılmıştır (179-183). Bu hayvan modelleri arasında, genellikle primat gözünün insan gözüne en fazla benzediği kabul edilmektedir (184). Bununla birlikte, başlangıç aşamasındaki in vivo deneysel çalışmalar için primat gözü kullanımını gerektirecek bir durum yoktur. İn vivo deneylerde en yaygın olarak tavşanlar kullanılmıştır (183,185). Tavşanlarda Bowman tabakası yoktur (28). Bowman membranı epitele dayanıklılık sağlar ve infeksiyonların yayılmasına karşı bariyer oluşturur. Hayashi ve arkadaşları ise tavşan, fare, rat ve sıgırlarda Bowman tabakasının olduğunu, ancak insanlarla karşılaştırıldığında yapısının çok ince olduğunu bildirmişlerdir (186). Bu çalışmada, korneal perforasyon sonrası yara iyileşmesini değerlendirmek için Yeni Zelanda tavşan modeli seçildi.

Korneal perforasyona yol açan travma, enfeksiyon ve otoimmün hastalıklarda siyanoakrilat kullanımı ile çok sayıda çalışma yapılmıştır. Setlik ve arkadaşlarının çalışmasında, 3 mm' den küçük korneal perforasyonlarda tek izobutil siyanoakrilat uygulaması ile 22 gözün %41' nin iyileştiği, %32' sinde penetran keratoplastinin gerektiği ve %27' sinin ise birden çok siyanoakrilat uygulamasıyla iyileştiği rapor edilmiştir (187). Garg ve arkadaşlarının çalışmasında, fungal keratite bağlı korneal perforasyon gelişen 66 gözün %64' ü NBCA ile topikal % 5 natamisin ve oral ketakonazol kombinasyonu ile tedavi edilmiştir. % 12' sinde NBCA uygulaması penetran keratoplastiye kadar göz bütünlüğünü korumuştur, %38' inde ise birden çok uygulama yapılmıştır (188). Moorthy ve arkadaşlarının çalışmasında ise, herpetik stromal keratit nedeniyle korneal perforasyonlarda antiviral tedaviye ek olarak uygulanan NBCA uygulamasıyla 46 gözün %37' sinde başarılı sonuç elde edilmiştir. %57' sinde yapıştırıcı başarısız olduğundan terapotik keratoplasti, %20' sinde ise birden çok uygulama yapılmıştır (74). Weiss ve arkadaşları, siyanoakrilatla tedavi edilen herpetik perforasyonlarda düşük başarı oranı gösterdiler (189). Bir başka çalışmada ise bu düşük başarı oranı şiddetli immün yanıt, hızlı stromal erime ve herpes virüs tarafından yapılan glikoprotein sekresyonuna bağlanmıştır (190). Kasetuwan ve arkadaşları kısa yan alkil zincire sahip etil siyanoakrilatı, karışık etyolojilere sahip korneal perforasyonlu 6 göze uygulayarak %91' lik başarı elde ettiler. Bu başarı oranı başarısız uygulama sonrası birden çok uygulama yapılmasıyla elde edilmiştir (191). Literatürde farklı başarı oranları bildirilmiştir ve başarısızlıkta tekrar yapıştırıcı uygulama ya da farklı cerrahi prosedüre geçme klinisyenin kararına bağlı olduğundan bildirilen başarı oranları

değişken olmaktadır. Mevcut çalışmalarda tek uygulama ile başarı oranları %40-60 arasında bildirilmiştir. Çalışmamızda ise tek NBCA uygulamasıyla %40, birden çok uygulama ile %100' lük başarı oranına ulaştık. Ayrıca siyanoakrilatın korneaya tutunma süresi ortalama  $6,6 \pm 1,75$  gün oldu (2-21 gün). Diğer çalışmalara bakıldığında tutunma süresi, perfore herpetik keratitlerde ortalama 39 gün (1-395 gün),perfore fungal keratitlerde ortalama 12 gün (1-255 gün) olarak belirtilmiştir. Barbosa ve arkadaşlarının çalışmasında ise, 3 mm' lik lameller keratektomi yapılan tavşan kornealarında etil siyanoakrilatın ortalama tutunma süresi 7,66 gün olarak belirtilmiştir (192). Siyanoakrilat doku yapıştırıcıları epitel tabakasına göre daha düşük hücre devir oranına sahip stromaya daha sıkı yapışmaktadır. Daha yüksek hücre devir oranına sahip epitel tabakasında ise yapıştırıcı uzun süre tutunmamakta ve yara yerinden ayrılmaktadır (193). Eğer uzun süreli yapışma arzu ediliyorsa, uygulamadan önce yüzeysel epitel tabakasının kaldırılması düşünülebilir. Çalışmamızda, histopatolojik incelemeyi etkilememesi için uygulamadan önce perforasyon alanının çevresindeki yüzeysel epitel tabakasını kaldırmadık.

Literatürde korneal perforasyonlarda direkt olarak kan uygulaması yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak bir kan ürünü olan fibrin doku yapıştırıcılarının, korneal perforasyonlardaki tedavi başarısını araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Lagoutte ve arkadaşları, 2 mm' ye kadar olan korneal perforasyonlarda fibrin yapıştırıcı uygulamışlar ve %93 oranında başarılı sonuç elde etmişlerdir (194). Siatiri ve arkadaşları, 18 hastada çeşitli etyolojilere sekonder, 0,6-3 mm boyutlarındaki korneal perforasyonlarda fibrin yapıştırıcı uygulamışlar ve %83,3' lük başarı oranı belirtmişlerdir. 2 mm' ye kadar olan korneal perforasyonlarda %100, 2-3 mm arası perforasyonlarda ise %40' lük başarı oranı bildirmişlerdir (195). Sharma ve arkadaşları, 3 mm' ye kadar olan korneal perforasyonlarda %78,9 başarı oranı bildirdiler, ancak çalışmalarındaki %68,3 olguda 1 mm' den küçük korneal perforasyon mevcuttu. Ayrıca, çalışmalarında fibrin yapıştırıcının NBCA' ya göre daha hızlı yara iyileşmesi sağladığını belirtmişlerdir (196). Bu çalışmada ise sadece kan uygulaması yapılan grupta postoperatif 1. gün %55,5 tavşanda başarılı sonuç elde edildi. 2. gün ise başarı oranı %100' e ulaştı. 7. günde bir tavşanda perforasyon alanından sızıntı görüldü. Her ne kadar postoperatif ilk gün NBCA' nın kan grubuna yara yeri sızıntısı açısından üstünlüğü bulunsa da ( $p=0.018$ ), postoperatif 2-7. gün arası sızıntı görülen toplam denek sayıları karşılaştırıldığında kan grubundaki yara iyileşmesinin istatistiksel açıdan NBCA' ya göre daha hızlı olduğu görüldü ( $p=0.027$ ). Dohlman ve arkadaşları, yara

iyileşmesi aşamasında epitel tabakası ile altındaki keratositler arasındaki etkileşimin stromaya lökositlerin göçünden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir (109). Siyanoakrilatlar ise yara alanına doğru epitelizasyonu engelleyerek lökosit göçünü ve kollajenolitik etkiyi inhibe etmektedir (197). Kan türevi preparatlar ise, avasküler olan kornea yara iyileşmesi sırasında gerekli olan büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer sinyal proteinlerini içerirler (132). Bu özellikler sebebiyle, kan grubunun NBKA' ya göre daha hızlı yara iyileşmesi sağlamış olabileceğini düşünüyoruz.

Literatürde korneal perforasyonlarda ABS uygulaması yapılan bir çalışma yoktur. Bu çalışmada, ABS ve kan kombinasyonu uygulanan grupta postoperatif 1. gün %100' lük başarı sağlandı. 2. gün bir tavşanda normal derinlikte ÖK ile beraber minimal sızıntı görülürken, diğer takip günlerinde hiçbir tavşanda sızıntı görülmedi. Sadece kan uygulaması yapılan gruba göre, perforasyon alanında makroskopik ve histopatolojik olarak daha güçlü tıkaç oluştuğu gözlemlendi ve istatistiksel olarak en hızlı yara iyileşmesi bu grupta görüldü. ABS ve kan kombine uygulamasının güçlü tıkaç oluşturmasının yanında, hücresel düzeyde de sinerjik etkiyle yara iyileşmesini hızlandırdığını düşünüyoruz. Çünkü ABS' nin yara iyileşmesini hızlandırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (172-174). ABS' nin erken dönem kemik doku iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, yeni kemik doku yapımını anlamlı derecede arttırdığı, iltihap ve nekroz oranlarını anlamlı derecede düşürdüğü, sonuç olarak ABS' nin erken dönem kemik doku iyileşmesini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (172). Yeşilada ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada, ABS'nin McFarlane flebi oluşturulan 32 ratta nekroz oranını azalttığı, doku beslenmesini ve flep sağ kalımını artırdığı gözlemlenmiştir (173). Sezgin ve arkadaşlarının deneysel çalışmasında ise, sırt ciltlerinde yara oluşturulan ratlarda ABS uygulamasının sekonder yara iyileşmesini hızlandırdığı gözlemlenmiştir (174). Facino ve arkadaşları, asma yapraklarında bulunan prosiyanidinlerin kollajen, ESM, elastin ve hyalüronik asidin yapısını etkileyen bazı proteolitik enzimlerin aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir (155). Isırgan aglütinini immünoestimulan aktivite gösteren ve EGF reseptörüne bağlanma yeteneği olan bir lektindir (162).

Merkez korneasından 1 mm çapında doku çıkarılan tavşanlardaki perforasyon alanının, kendiliğinden iyileşme süresi ile ilgili yapılmış çalışma yoktur. Nuhoglu ve arkadaşları, 2 mm boyutunda tam kat, lineer formda merkezi kornea perforasyonu oluşturdukları 5 ratda ilk üç gün yara yerinden sızıntının devam ettiğini, sonraki takip günü olan 10. günde ise hiçbir denekte sızıntının görülmediğini bildirmişlerdir (198).

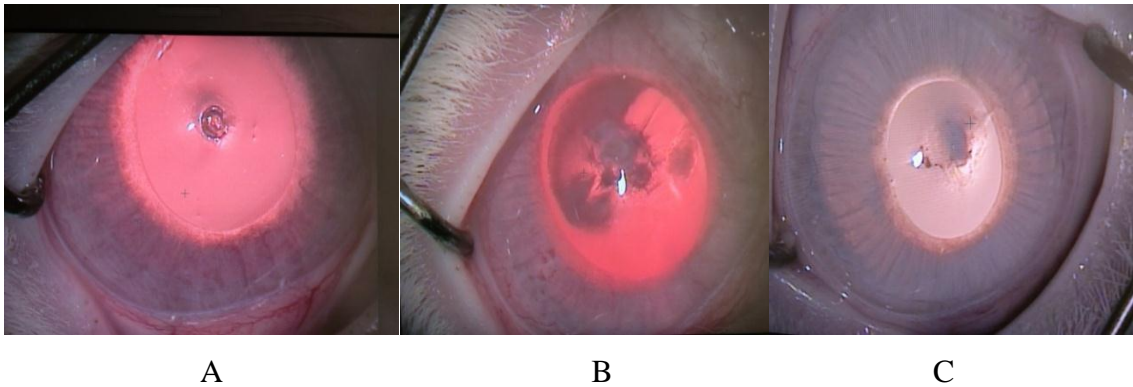


Miki ve arkadaşları, 3 mm boyutunda tam kat, stelat formda merkezi kornea perforasyonu oluşturdukları 5 tavşanın hepsinde, postoperatif 7. günde sızıntının devam ettiğini bildirmişlerdir (199). Bu çalışmada ise, postoperatif 7. günde 5 tavşanın 3 tanesinde sızıntının kaybolduğu ve ön kamaranın olduğu gözlemlendi. Perforasyon alanının 1 mm boyutunda olmasından dolayı, yara yerindeki sızıntının daha erken kaybolduğunu düşündük.

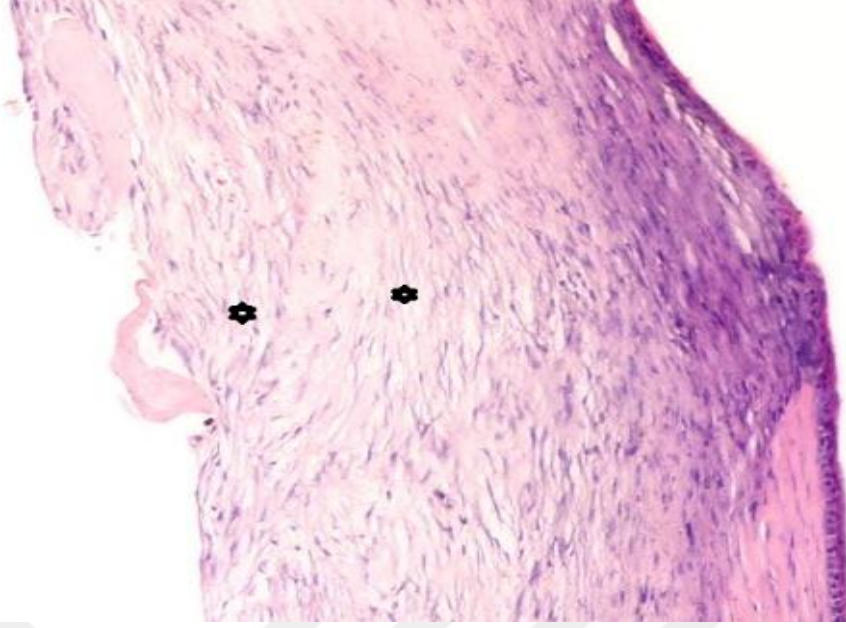
Epitel ve endotel tabakalarının bariyer etkisi sayesinde stromadaki su oranı sabit kalmaktadır. Eğer bu tabakalarda defekt oluşursa, stroma suyu çekerek kornea ödeme yol açar (27). Oluşturduğumuz perforasyon alanındaki en iyi tıkaç oluşumunu, gruplar arasında değerlendirmek için yara kenarları etrafındaki korneal ödemi değerlendirdik. Grup 1' deki korneal ödem varlığı postoperatif 2. gün kan ve kontrol grubuna, 3.gün ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu. Siyanoakrilat grubunda ise korneal ödem açısından diğer gruplara göre farklılık yoktu. Yapıştırıcının yerinden ayrılması, yara iyileşmesini geciktirmesi ve belki de sentetik yapıda olduğu için toksik etkisinden dolayı bir farklılık oluşturmadığı düşünmekteyiz. Bununla birlikte, takip eden günlerde korneal ödeme sahip tavşan sayısı göreceli olarak en fazla grup 1' de düşüş gösterdi (Şekil 10). ABS' nin en iyi tıkaç oluşumunu sağladığını ve yara iyileşmesini hızlandırdığını tespit ettik.

Bu çalışmada, postoperatif ön kamara inflamasyon varlığı değerlendirildi. Postoperatif tüm takip günleri boyunca, grup 1 ve 3' te kontrol grubuna göre daha az inflamasyon görülmesi istatistiksel açıdan anlamlıydı. Grup 2' nin kontrol grubuyla karşılaştırılmasında ise ilk 3 gün anlamlı sonuç görülmezken, 7. ve 14. gün istatistiksel olarak daha az inflamasyon görüldü. Gözyaşı kaynaklı lökositlerin ve dış ortamdaki mikroorganizmaların ön kamaraya girişi inflamasyonu arttırmaktadır (200). Bu çalışmada, ABS ve siyanoakrilatın postoperatif ilk günde tüm tavşanlarda başarılı tıkaç oluşumu sağlamanın yanında, muhtemelen lökosit göçünü de inhibe etmesinden dolayı, en düşük inflamasyonun bu gruplarda görüldüğünü düşünmekteyiz. Histopatolojik değerlendirme sonuçlarında da, grup 1' de diğer gruplara göre, grup 3' de ise kontrol grubuna göre daha az inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmesi dikkati çekti. Sadece kan uygulaması yapılan grubun kontrol grubuyla kıyaslanmasında, histopatolojik olarak inflamasyon açısından anlamlı fark oluşmamasının sebebi, kan uygulamasının gevşek tıkaç oluşturmasının yanında, kanın antibakteriyel ve antiinflamatuvar etkilerinin olmaması sayılabilir. Siyanoakrilatın antibakteriyel etkinliği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (110,201). Mota ve arkadaşları, tavşanlarda korneal

perforasyon oluşturup NBCA uygulamışlar ve histopatolojik değerlendirmede (15. gün) minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu görmüşlerdir (202). Daha kısa alkil yan zincire sahip olan NBCA, diğer siyanoakrilat preparatlarına göre daha az inflamasyon yapmaktadır. ABS' nin hem kendisinin hem de içeriğinde bulunan bitkisel bileşimin, antimikrobiyal etkinliği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (141,144-148,163, 170,171). Ayrıca, antiinflamatuvar etkisi de çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (150-153,158,160,162). Bu etkilerden dolayı, ABS ve kan kombine uygulamasının daha az ÖK inflamasyonuna yol açtığını düşünüyoruz. Ayrıca bu çalışmada, grup 1' deki 10 numaralı denekte yoğun ön kamara inflamasyonu saptandı (Şekil 19). Alpay ve arkadaşları, ratlarda ABS' yi ön kamara içine uygulamışlar ve yoğun inflamatuvar reaksiyona yol açtığını belirtmişlerdir. Histopatolojik incelemede ise iris ve siliyer cisimde eritrosit agregasyonu, kahverengi pigment birikimi, inflamatuvar hücre ve yabancı cisim reaksiyonu görmüşlerdir (176). İntraoküler ABS uygulamasını sınırlayan bir diğer neden ise, ABS' nin ph düzeyinin 1,8 olmasıdır (177, 178). Bu çalışmada, grup 1' deki ilk 9 tavşanın perforasyon alanına önce kan, sonra ABS damlatıldı. Ancak ön kamarada reaksiyon oluşumunu teyit etmek için 10 numaralı tavşanın perforasyon alanına ise önce ABS, sonra kan damlatıldı. Bu nedenle, ABS' nin ön kamaraya geçip yoğun reaksiyon oluşturduğunu düşünmekteyiz. Histopatolojik değerlendirmede ise, çok şiddetli düzeyde fibrozis görülmesi dikkati çekti (Şekil 20). Göz içi yapılara toksik etkisi olan ABS' nin, perforasyon alanına direkt olarak uygulanmamasını önermekteyiz.



**Şekil 19:** Grup 1' deki 3 ve 10 numaralı deneğin ÖK inflamasyonu açısından karşılaştırılması. A: 3. gün, 3 numaralı denekte ÖK inflamasyonu yokluğu. B: 3. gün, 10 numaralı denekte şiddetli ÖK inflamasyonu. C: 21.gün, 10 numaralı denekte gerileyen ÖK inflamasyonu.



**Şekil 20:** Ankaferd 10 numaralı denekte çok şiddetli düzeyde fibrozis (Yıldız). Hematoksilen/eosin boyama, 20x objektif.

Postopertatif dönemde tüm tavşanlarda konjonktival hiperemi, kemozis ve blefarospazm değerlendirildi. İlk gün kontakt lensi spontan olarak düşmüş siyanoakrilat grubunda, yapıştırıcıya bağlı olarak 3 tavşanda blefarospazm görüldü. Hiçbir tavşanda yoğun kemozis ve konjonktival hiperemi görülmedi. Neden olarak, konjonktiva üzerinde cerrahi manipülasyon yapılmamasını ve perforasyon alanının nispeten küçük boyutta oluşturulmasını görmekteyiz. Tüm gruplarda sadece ilk 3 gün hafif derecede konjonktival hiperemi görüldü. ABS' nin oküler toksisitesinin araştırıldığı bir çalışmada, histopatolojik incelemede konjonktiva ve kornea üzerinde inflamasyon, dejenerasyon, dev hücre formasyonu ve nekroz görülmemiştir (175). Bu çalışmada da, ABS uygulamasının oküler yüzeyde önemli bir yan etkisi görülmemiştir.

Uzun alkil yan zincirlere sahip yeni geliştirilen siyanoakrilat türevlerinin (NBCA) biyolojik uyumluluğu daha iyidir. Dokuda biriken toksik yan ürünlerin daha az olması sayesinde sitotoksiteleri daha düşüktür. Toksik etki aynı zamanda siyanoakrilat tipinden bağımsız olarak doku vaskülarizasyonu da artar. Bu nedenle konjonktiva, sklera ve deri uygulamalarında, korneaya göre daha fazla doku reaksiyonu görülür. Konjonktivada skar, semblefaron ve dev papiller konjonktivite yol açtığı gösterilmiştir (113,114). Kornea uygulamalarında ise, lens ve endotele direk temas ettiğinde önemli yan etkilere (katarakt, iridokorneal ve iridolentiküler yapışıklar) neden olur (115). Pontes ve arkadaşları, Yeni Zelanda tavşanlarının santral kornealarından 2 mm büyüklükte doku

çıkarak perforasyon oluşturmuşlardır. NBCA uyguladıkları grupta katarakt ve ön sineşi gibi komplikasyonlar bildirmişlerdir (203). Bu çalışmada ise hiçbir grupta ön sineşi, iris prolapsusu ve katarakt görülmedi. Oluşturduğumuz perforasyon alanımızın nispeten küçük olmasından dolayı benzer komplikasyonlar görülmediğini düşünüyoruz. Hirst ve De Juan, 1 mm' den büyük korneal perforasyonlarda benzer komplikasyonları önlemek için ön kamaraya viskoelastik verilmesini önermişlerdir (204). Bu uygulamayla, ABS' nin de ön kamarada oluşturabileceği komplikasyonlar önlenir.

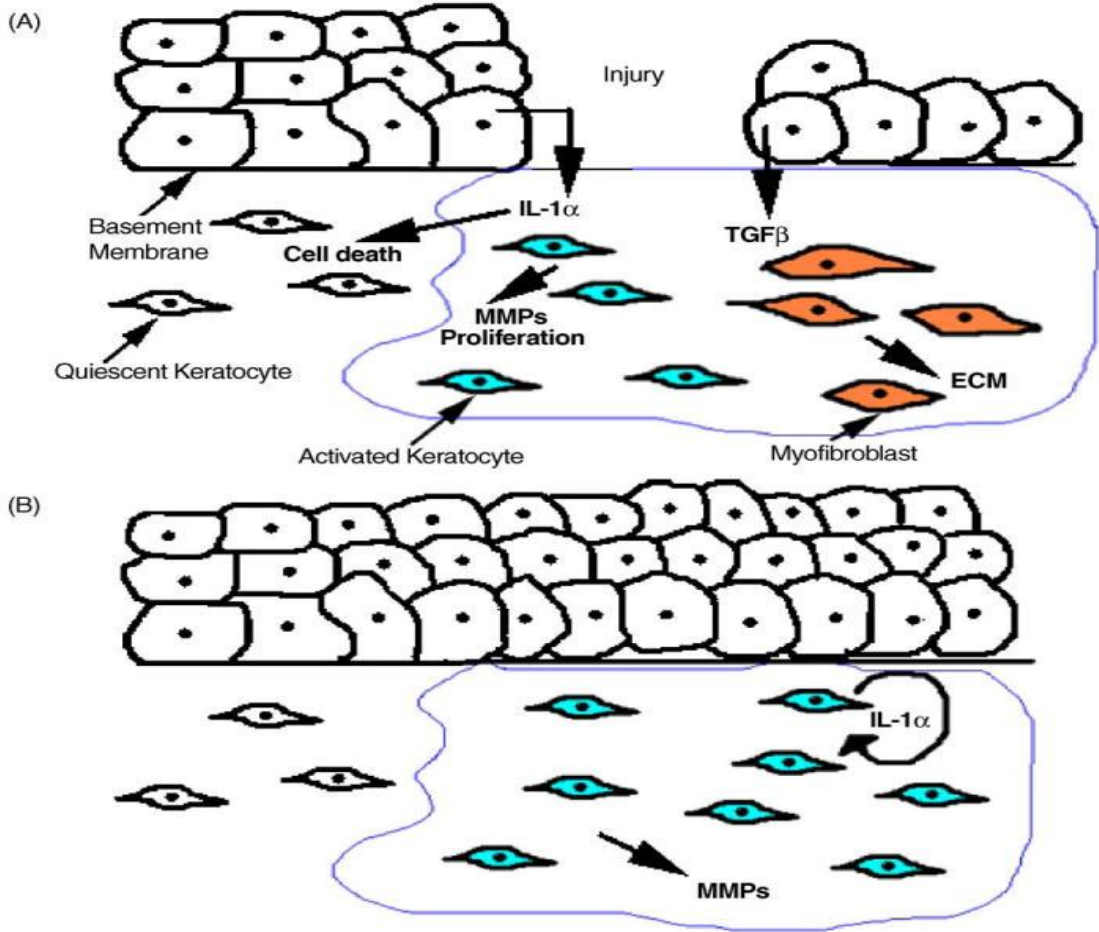
Bu çalışmada, hiçbir grupta mikroskopik ve histopatolojik olarak korneal neovaskülarizasyon görülmedi. Sharma ve arkadaşları, 3 mm' ye kadar olan korneal perforasyonlarda fibrin yapıştırıcı ile NBCA uygulamasını karşılatmışlar ve fibrin yapıştırıcının, NBCA' ya göre daha az korneal neovaskülarizasyona yol açtığını belirtmişlerdir (196). Ollivier ve arkadaşları, tavşan kornealarına intrastromal NBCA uygulamışlar ve çok hafif düzeyde vaskülarizasyonda artış görmüşlerdir (205). Bunun aksine, Aronson ve arkadaşları oktil-siyanoakrilat uygulamasıyla daha şiddetli olarak korneal vaskülarizasyonda artış tespit etmişlerdir (206). Oktil-siyanoakrilatın NBCA' ya göre daha kısa alkil yan zincire sahip olması vaskülarizasyonu arttırmış olabilir. Pontes ve arkadaşları, Yeni Zelanda tavşanlarının santral kornealarından 2 mm büyüklükte doku çıkararak oluşturdukları perforasyon alanına NBCA uygulamışlar ve vaskülarizasyonda artış görmemişlerdir (203). Gülşen ve arkadaşlarının çalışmasında, ABS' nin antianjiyojenik etkili olduğu belirtilmiştir (207). Aynı zamanda, içerisinde bulunan Glycrrhiza glabraköklerinden elde edilen ekstraktın in vitro hücre dizilerinde anjiogenezi inhibe ettiği, vasküler endotelial büyüme faktörü üretimini azalttığı ve sitokinlerle indüklenen neovaskülarizasyonu azalttığı bildirilmiştir (149). Bu çalışmada, oluşturulan perforasyon alanı merkezde ve küçük boyutta olduğundan neovaskülarizasyon görülmemiş olabilir. Ancak periferde bulunan, daha büyük boyutta olan, enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklara sekonder şiddetli korneal incelmeye yol açan durumlarda, ABS uygulaması oluşabilecek korneal neovaskülarizasyonu belki azaltabilir ya da önleyebilir.

Bu çalışmada, tüm gruplarda epitelizasyonun tamamlandığı görüldü. Bununla birlikte, kontrol grubunda rejenere olmuş epitel tabakasındaki kalınlaşma dikkati çekti. Barbosa ve arkadaşlarının çalışmasında, 3 mm' lik lameller keratektomi yapılan tavşan kornealarında etil ve oktil siyanoakrilat uygulaması yapılmıştır. Postoperatif 14. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede, her iki grupta epitelial hiperplazi ve hipertrofi ile birlikte epitel tabakasının tam olarak rejenere olduğu görülmüş. Ancak 21.günde

yapılan histopatolojik değerlendirmede, etil siyanoakrilat uygulanan grupta epitelyal hiperplazi ve hipertrofi kademeli olarak azalmış, OCA uygulanan grupta ise epitel normal yapısına dönmüştür. Ayrıca, OCA uygulanan grupta inflamatuvar hücre infiltrasyonunun hafif düzeyde, etil siyanoakrilat uygulanan grupta ise daha yüksek düzeyde görüldüğünü bildirmişlerdir (192). Pontes ve arkadaşları, Yeni Zelanda tavşanlarının santral kornealarından 2 mm büyüklükte doku çıkararak oluşturdukları perforasyon alanına NBCA uygulamışlar ve postoperatif 30.günde 15 denekten 2' sinde epitelyal hiperplazi, 1' inde ise epitelizasyonun tamamlanmadığını belirtmişlerdir (203). Çalışmamızda ise, kontrol grubunun histopatolojik değerlendirmesi 14. günde yapıldı. Bu dönemdeki epitelyal hücre migrasyonuna bağlı olarak, epitel tabakasında kalınlaşma görülmüş olabilir. Mota ve arkadaşları, tavşanlarda 4 mm' lik korneal perforasyon oluşturup NBCA uygulamışlar ve 30. günde yapılan histopatolojik değerlendirmede Desme membranı hariç, epitel ve endotel tabakasının tamamen rejenere olduğunu bildirmişlerdir (202). Bu çalışmada da, tüm gruplarda Desme membranı hariç, epitel ve endotel tabakalarının rejenere olduğu gözlemlendi.

Bu çalışmada 21. gündeki yara iyileşmesi, histopatolojik olarak stromal fibrozis açısından değerlendirildi. Grup 1' in diğer gruplarla karşılaştırılmasında, daha az fibrozis görülmesi istatistiksel açıdan anlamlı fark ortaya çıkardı ( $p=0.004$ ). Orta düzey ve altındaki stromal fibrozis seviyeleri ( $<++$ ) karşılaştırıldığında ise, grup 2' nin grup 3'e göre daha az fibroze yol açması anlamlı bulundu ( $p=0.012$ ). Grup 3 ile 4 arasında ise anlamlı fark bulunmadı. Epitel ve stroma yaralanmalarını takiben, kornea yara iyileşmesi yanıtı bir dizi karmaşık süreç içerir. Bu yanıt enfeksiyon, travma ve cerrahi (özellikle fotorefraktif keratektomi) sonrası görülen skar oluşumu açısından kritik öneme sahiptir. Stromal fibrozis, keratositlerin miyofibroblastlara dönüşümü ve anormal ESM sentezlenmesi ile karakterize uygunsuz yara iyileşmesi sonucu görülmektedir. Epitel bazal membranı, myofibroblast gelişimi ve devamlılığında anahtar rol oynamaktadır. Epitel bazal membranı hasarı durumunda, hasarlı epitel hücrelerinden altındaki stromaya İL-1a ve TNF $\alpha$  salgınır. Özellikle İL-1a, apoptotik mediatör olan Fas ligand üretimini arttırarak keratosit apoptozuna yol açar. Yaralanmadan yaklaşık 6 saat sonra, lezyon kenarındaki keratositler aktifleşerek hareket kazanır ve hasarlı bölgeye göç ederler. İL-1a aynı zamanda, aktif keratositlerin sentezlediği ESM' nin düzenlenmesi için gerekli olan MMP üretimini de uyarır. Ayrıca, hasarlı epitel hücrelerinden TGF beta salgınarak keratositlerin miyofibroblastlara dönüşümü gerçekleşir ve miyofibroblastların salgıladığı anormal ESM ile fibröz doku oluşur (Şekil

21-A). Bazal membran onarımı gerçekleşirse, TGF beta stromaya ulaşamaz ve keratosit-miyofibroblast dönüşümü engellenir. Hasarlı epitel hücrelerinden salınan İL-1a' da engelleneceği için, ESM düzenlenmesinde gerekli olan İL-1a keratositler tarafından otokrin olarak salgılanır (Şekil 21-B). TGF beta, matür miyofibroblast gelişimi uyarır ve İL-1 bağımlı miyofibroblast ve prekürsör hücrelerin apoptozunu inhibe eder (208).



**Şekil 21:** Kornea onarımı sırasındaki hücresel etkileşimler (Judith ve arkadaşlarının çalışmasından (208) alınmıştır).

Chaurasia ve arkadaşları, fotorefraktif keratektomi sonrası miyofibroblastlardaki proteinlerin analizini yapmışlar ve 4. haftada Vimentin-Aktin-Desmin tip matür miyofibroblastların oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Yaralanmadan 1-2 hafta sonra bazal membran rejenerasyonu gerçekleşirse, TGF beta' nın stromal seviyelerini düşer, immatür miyofibroblastlar apoptoza uğrar, keratositler tekrar stromayı doldurur, anormal ESM emilir ve korneal saydamlık geri kazanılır (209). Jester ve arkadaşları, lameller keratektomi yaptıkları tavşanlarda topikal monoklonal anti-TGF beta antikoru uygulamışlar ve kontrol grubuna göre stromal fibrozisin önemli derece az görüldüğünü

belirtmişlerdir (210). Bazal membran değerlendirmesi transmisyon elektron mikroskobu ya da immünohistokimyasal boyama ile yapılabilir. Bu çalışmada ise, sadece Hematoksilen-Eozin boyama yapıldı. Bazal membranın gelişiminin tamamlanmasını takiben, bazal membrandaki Tip VII kollajen içeren bağlantı filamentleri stroma içindeki kollajen fibrillerle bağlantı kurarak, epitel ve stroma arasındaki adezyonu sağlarlar (38-40). Bu çalışmadaki histopatolojik kesitlerde, grup 1 ve 2' deki epitel ve stroma arası adezyonun daha güçlü olduğu dikkati çekti (Şekil 15-18). Ayrıca, iyileşmiş yara dokusunun mikroskopik değerlendirmesinde grup 1' de 5 (%50), grup 2' de ise 2 denekte (%22) korneal saydamlık görüldü. Grup 1' in diğer gruplarla karşılaştırılmasında, iyileşmiş perforasyon alanındaki korneal saydamlık grup 1 lehine anlamlı bulundu ( $p=0.027$ ). Bu nedenle, ABS ve kan kombine uygulamasında bazal membranın daha hızlı iyileştiğini ve buna bağlı olarak stromal fibrozisin daha az görüldüğünü düşünürüz.

## 6. SONUÇ

Bu çalışmada en iyi sonuçlar, Ankaferd ve kan kombine uygulaması yapılan grupta alındı. Siyanoakrilat yapıştırıcı sert kıvamı nedeniyle oküler irritasyona yol açtığı gibi, üzerine örtülen bandaj kontakt lensle birlikte spontan olarak yerinden ayrılabilir. Diğer çalışmalarda olduğu gibi, bu çalışmada da tekrar yapıştırıcı uygulamaları yapıldı. Ankaferd ve kan kombine uygulamasıyla oküler yüzeyde ciddi bir yan etki görmeden, tekrar uygulama yapmadan, 1 mm' lik korneal perforasyon başarıyla tedavi edildi. Ayrıca, diğer gruplara göre çok daha düşük oranda stromal fibrozis görüldü. Oldukça yaygın kullanılan N-bütül-2-siyanoakrilata göre, Ankaferd ve kan kombine uygulaması daha başarılı bulundu. Deneysel olarak daha büyük çaplarda oluşturulan korneal perforasyonlarda, tedavi etkinliğinin diğer cerrahi doku yapıştırıcılarıyla karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz. Ancak, göz içi yapılara toksik etkisi olmasından dolayı, perforasyon alanına önce kan uygulaması yapılmadan uygulanmamasını önermekteyiz.



## 7. KAYNAKLAR

1. Bengisu Ü. Kornea. Göz hastalıkları. Palme yayın dağıtım Tic. Ltd.Şti. 4.basım. 1998: p. 69-90.
2. Hagedoorn A. The early development of the endothelium of Descemet's membrane, the cornea and the anterior chamber of the eye. *Br J Ophthalmol.* 1928. 12(9): p. 479-495.
3. Hay ED. Development of the vertebrate cornea. *Int Rev Cytol.* 1980. 63: p. 263-322.
4. American Academy Of Ophthalmology. Fundamentals and principles Ophthalmology. 2005-2006. 2: p. 44-45.
5. Arffa RC. Disease of the cornea, fourth edition. Mosby Co. 1997: p. 6-7.
6. Eysteinnsson T, Jonasson F, Sasaki H, Arnarsson A, Sverrisson T, Sasaki K, Stefánsson E. Central corneal thickness, radius of the corneal curvature and intraocular pressure in normal subjects using non-contact techniques: Reykjavik Eye Study. *Acta Ophthalmol Scand.* 2002. 80: p. 11-15.
7. Müller LJ, Vrensen GFJM, Pels L, Cardozo BN, Willekens B, Architecture of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997. 38: p. 985–994.
8. Burger PC, Chandler DB. Experimental corneal neovascularization; biomicroscopic, angiographic and morphologic correlation. *Cornea.* 1985. 4: p.35-41.
9. Grüntzig J, Nolte S, Schad P, Pfankuchen R. Lymph drainage of the cornea, limbus and conjunctiva. *Klin Monbl Augenheilkd.* 1987. 190: p. 5-9.
10. American Academy Of Ophthalmology. Fundamentals and principles Ophthalmology. 2005-2006. 2: p. 45.
11. Klyce SD, Beuerman RW. Structure and function of the cornea. In Kaufman HE, Baron BA, McDonald M,eds. *The Cornea*, 2nd ed. Boston: Butterworth-Heinemann. 1999: p. 3-50.
12. Farjo A, McDermott M, Soong H. Corneal anatomy, physiology, and wound healing. *Yanoff Duker Ophthalmology (Wigss J, Duker JS eds).* Third edition. St. Louis, Elsevier Inc. 2009: p. 203-304.
13. Soong HK. Corneal Epitelium. In: Yanoff M, Duker JS, eds. *Ophthalmology*, second ed. London, UK: Mosby, section 5. 1999. 2: p. 1-81.
14. Kathryn AH. Anatomy. Fundamentals and principles of ophthalmology (Cibis GW ed). Revised edition. USA, American Academy of opthalmology. Vol. 2. 2007: p. 45-46.

15. Kanski J. *Clinical Ophthalmology* ( fifth edition). Oxford: Butterworth Heinemann. 2003: p. 96
16. Waltman RS, Hart WM. The Cornea In: Moses R.A, editor, *Physiology of the eye*. St. Louis, CV Mosby. 1987: p. 36-59.
17. Robert L, Legeasis JM, Robert AM. Corneal collagens. *Pathol Biol*. 2001. 49: p.353-363.
18. Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell E. *Histology of the human eye*. WB Saunders.1971. 55: p. 11.
19. Fini EM. Keratocyte and fibroblast phenotypes in repairing cornea. *Progress in Retinal and eye Research*.1999. 18: p. 529-551.
20. Williams PL, Warwick R. *Gray's Anatomy*, 36th ed. Edinburg. Churchill Livingstone. 1980: p. 1152-1156.
21. Kim T, Palay DA. Developmental abnormalities of the cornea: developmental corneal anomalies of size and shape. In: Kratchmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds). *Cornea*, St. Louis: Mosby-Year Book, Inc. 1997: p. 871-884.
22. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 1985. 4: p.671-677.
23. William M. *Adler's Physiology Of The Eye*. Ninth ed. 1992: p. 29-70.
24. Thorft RA, Friend J. Corneal glucose flux. *Arch Ophthalmol*. 1971. 86: p. 685.
25. Derek W. DelMonte, Terry Kim MD. *Anatomy and physiology of the cornea*, From the Department of Ophthalmology, Duke University Eye Center, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA 2011. 3: p. 588-598.
26. Randall VT, Edelhauser HF, Leibowitz HM, Freddo TF. Corneal structure and function. In Leibowitz HM, Waring GO. *Corneal Disorders: Clinical diagnosis and*. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1998: p. 2-31.
27. Dohlman CH. *Physiology of the Corneal Edema*. In *The Cornea Scientific Foundations and Clinical Practise*, eds. Smolin G, Thoft RA. Little, Brown andCompany, Boston. 1983: p. 3-16.
28. Chris Steele BS. Corneal wound healing: a review. *Optometry today*, Sunderland. 1999: p. 28-32
29. Agrawal VB, Tsai RJ. Corneal epithelial wound healing. *Indian J Ophthalmol*. 2003. 51: p. 5-15.
30. Zieske JD, Gipson IK. Protein synthesis during corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1986. 27: p. 1-7.

31. Crosson CE, Klyce SD, Beuerman RW. Epithelial wound closure in the rabbit cornea. A biphasic process. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1986. 27: p. 464-473
32. Zeiske JD, Gipson IK. Agent that affect corneal wound healing; Modulation of structure and function. Albert DM, Jacobiec FA eds. *Principles and practice of ophthalmology.* Philadelphia saunders. 1994: p. 1093-1099.
33. Soong HK. Vinculin in focal cell-to-substrate attachments of spreading corneal epithelial cells. *Arch Ophthalmol.* 1987. 105: p. 1129-1132.
34. Zeiske JD. Perpetuation of stem cells in the eye. *Eye* 8. 1994: p.163-169.
35. Zeiske JD, Bukuşoğlu G, Yankauckas MA. Characterization of a potential marker of corneal epithelial stem cells. *Invest Ophthalmology Vis. Sci.* 1192. 33: p. 143-151.
36. Yu FS, Yin J, Xu K, Huang J. Growth factors and corneal epithelial wound healing. *Brain Res Bull.* 2010. 81: p. 229-235.
37. Dua HS, Gomes JA, Singh A. Corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol.* 1994. 78: p. 401-408
38. Cameron JG. Corneal Reaction to Injury. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management.* China: Elsevier Mosby. 2005: p. 115-131.
39. Tuli SS, Goldstein M, Schultz GS. Modulation of Corneal Wound Healing. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management.* China: Elsevier Mosby. 2005: p. 133-150
40. Frangieh G, Hayashi K, Teekhasaene C, Wolf G, Colvin RB, Gibson HK, Kenyon KR. Fibronectin and corneal epithelial wound healing in the vitamin-A deficient rat. *Arch Ophthalmol.* 1989. 107: p. 567-571.
41. Wilson SE, Kim WJ. Keratocyte apoptosis: implications on corneal wound healing, tissue organization, and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998. 39: p.220-226.
42. Wilson SE, He YG, Weng J, Li Q, Mcdowall AW, Vital M. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: Hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Experimental Eye Research.* 1996. 62: p. 325-337.
43. Fini ME. Keratocyte and fibroblast phenotypes in the repairing cornea. *Prog Retin Eye Res.* 1999. 18: p. 529-551.

44. Matsubara M, Girard MT, Kublin CL, Cintron C, Fini ME. Differential roles for two gelatinolytic enzymes of the matrix metalloproteinase family in the remodelling cornea. *Dev Biol.* 1991. 147: p. 425-439.
45. Gabison EE, Huet E, Baudouin C, Menashi S. Direct epithelial-stromal interaction in corneal wound healing: Role of EMMPRIN/CD147 in MMPs induction and beyond. *Prog Retin Eye Res.* 2009. 28: p. 19-33.
46. Morton PL, Ormsby HL, Basu PK. Healing of endothelium and Descemet's membrane of rabbit cornea. *Am J Ophthalmol.* 1958. 46: p. 62-67.
47. Chi HH, Kelman CD. Effects of freezing on ocular tissues. I. Clinical and histologic study of corneal endothelium. *Am J Ophthalmol.* 1966. 61: p.630-641.
48. Matsuda M, Sawa M, Edelhauser HF. Cellular migration and morphology in corneal endothelial wound repair. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985. 26: p. 443.
49. Yu FS, Yin J, Xu K, Huang J. Growth factors and corneal epithelial wound healing. *Brain Res Bull.* 2010. 81: p. 229-235.
50. Chandrasekher G, Bazan HE. Corneal epithelial wound healing increases the expression but not long lasting activation of the alpha subunit of phosphatidylinositol-3 kinase. *Curr Eye Res.* 1999. 18: p. 168-176.
51. Rousselle P, Lunstrum GP, Keene DR, Burgeson RE. Kalinin: an epithelium specific basement membrane adhesion molecule that is a component of anchoring filaments. *J Cell Biol.* 1991. 114: p. 567-576.
52. Nishida T, Nakamura M, Mishima H. Interleukin 6 promotes epithelial migration by a fibronectin-dependent mechanism. *J Cell Physiol.* 1992. 153: p.1-5.
53. Boisjoly HM, Laplante C, Bernatchez SF, Salesse C, Giasson M, Joly MC. Effects of EGF, IL-1 and their combination on in vitro corneal epithelial wound closure and cell chemotaxis. *Exp Eye Res.* 1993. 57: p. 293-300.
54. Girard MT, Matsubara M, Fini ME. Transforming growth factor-beta and interleukin-1 modulate metalloproteinase expression by corneal stromal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1991. 32: p. 2441-2454.
55. Stapleton WM, Chaurasia SS, Medeiros FW, Mohan RR, Sinha S, Wilson SE. Topical interleukin-1 receptor antagonist inhibits inflammatory cell infiltration into the cornea. *Exp Eye Res.* 2008. 86: p. 753-757.
56. Saika S. Yin and yang in cytokine regulation of corneal wound healing: roles of TNF-alpha. *Cornea.* 2007. 26: p. 70-74.
57. Wilson SE, He YG, Weng J, Zieske JD, Jester JV, Schultz GS. 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: p. 665-678.
58. Li DQ, Tseng SC. Differential regulation of keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor/scatter factor by different cytokines in human corneal and limbal fibroblasts. *J Cell Physiol.* 1997. 172: p. 361-372.
  59. Zieske JD, Takahashi H, Hutcheon AE, Dalbone AC. Activation of epidermal growth factor receptor during corneal epithelial migration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000. 41: p. 1346-1355.
  60. Tuli SS, Liu R, Chen C, Blalock TD, Goldstein M, Schultz GS. Immunohistochemical localization of EGF, TGF-alpha, TGF-beta, and their receptors in rat corneas during healing of excimer laser ablation. *Curr Eye Res.* 2006. 31: p. 709-719.
  61. Denk PO, Knorr M. The in vitro effect of platelet-derived growth factor isoforms on the proliferation of bovine corneal stromal fibroblasts depends on cell density. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1997. 235: p. 530-534.
  62. Jester JV, Barry-Lane PA, Cavanagh HD, Petroll WM. Induction of alpha smooth muscle actin expression and myofibroblast transformation in cultured corneal keratocytes. *Cornea.* 1996. 15: p. 505-516.
  63. Honma Y, Nishida K, Sotozono C, Kinoshita S. Effect of transforming growth factor-beta1 and -beta2 on in vitro rabbit corneal epithelial cell proliferation promoted by epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, or hepatocyte growth factor. *Exp Eye Res.* 1997. 65: p. 391-396.
  64. Andresen JL, Ehlers N. Chemotaxis of human keratocytes is increased by platelet-derived growth factor-BB, epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha, acidic fibroblast growth factor, insulin-like growth factor-I, and transforming growth factor-beta. *Curr Eye Res.* 1998. 17: p. 79-87.
  65. Boucher I, Yang L, Mayo C, Klepeis V, Trinkaus-Randall V. Injury and nucleotides induce phosphorylation of epidermal growth factor receptor: MMP and HB-EGF dependent pathway. *Exp Eye Res.* 2007. 85: p. 130-141.
  66. Nobes CD, Hall A. Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell.* 1995. 81: p. 53-62.
  67. Hall A, Nobes CD. Rho GTPases: molecular switches that control the organization and dynamics of the actin cytoskeleton. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2000. 355: p. 965-970.

68. Chandrasekher G, Kakazu AH, Bazan HE. HGF- and KGF-induced activation of PI-3K/p70 s6 kinase pathway in corneal epithelial cells: its relevance in wound healing. *Exp Eye Res.* 2001. 73: p. 191-202.
69. Sharma GD, Kakazu A, Bazan HE. Protein kinase C alpha and epsilon differentially modulate hepatocyte growth factor-induced epithelial proliferation and migration. *Exp Eye Res.* 2007. 85: p. 289-297.
70. Morimoto K, Mishima H, Nishida T, Otori T. Role of urokinase type plasminogen activator (u-PA) in corneal epithelial migration. *Thromb Haemost.* 1993. 69: p. 387-391.
71. Zieske JD, Bukusoglu G. Effect of protease inhibitors on corneal epithelial migration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1991. 32: p. 2073-2078.
72. Mohan R, Chintala SK, Jung JC, Villar WV, McCabe F, Russo LA. Matrix metalloproteinase gelatinase B (MMP-9) coordinates and effects epithelial regeneration. *J Biol Chem.* 2002. 277: p. 2065-2072.
73. Portnoy SL, Insler MS, Kaufman HE. Surgical management of corneal ulceration and perforation. *Surv Ophthalmol.* 1989. 34: p. 47-58.
74. Moorthy S, Jhanji V, Constantinou M, Beltz J, Graue-Hernandez EO. Clinical experience with N-butyl cyanoacrylate tissue adhesive in corneal perforations secondary to herpetic keratitis. *Cornea.* 2010. 29: p. 971-975.
75. Titiyal JS, Negi S, Anand A. Risk factors for perforation in microbial corneal ulcers innorth India. *Br JOphthalmol.* 2006. 90: p. 9-26.
76. Hyndiuk RA. Experimental pseudomonas keratitis. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1981. 79: p.541-624.
77. Foster CS, Duncan J. Penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis. *Am J Ophthalmol.* 1981. 92: p. 36-43.
78. Xie L, Zhai H, Shi W. Penetrating keratoplasty for cornealperforations in fungal keratitis. *Cornea.* 2007. 26: p. 58-62.
79. Lim P, Ridges R, Jacobs D, Rosenthal P. Treatment of persistent corneal epithelial defect with overnight wear of a prosthetic device for the ocular surface. *American Journal of Ophthalmology.* 2013. 156: p. 1095-1102.
80. Mercieca F, Suresh P, Morton A, Tullo A. Ocular surface disease in intensive care unit patients. *Eye (Lond).* 1999. 13: p. 6-31.
81. Yağcı A. Update on peripheral ulcerative keratitis. *Clin Ophthalmol.* 2012. 6: p.47-54.

82. Riley GP, Harrall RL, Watson PG. Collagenase (MMP--1) and TIMP--1 in destructive corneal disease associated with rheumatoid arthritis. *Eye (Lond)*. 1995. 9: p. 3-18.
83. Wagoner, M.D. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Survey of ophthalmology*. 1997. 41: p. 275-313.
84. Banla M, Balo KP, Soboslay P, Meda DN. Corneal perforated wounds treatment by "thermal contact": report of 25 cases. *Dakar Med*. 2003. 48: p. 4-7.
85. Praidou A, Brazitikos P, Dastiridou A, Androudi S. Severe unilateral corneal melting after uneventful phacoemulsification cataract surgery. *Clin Exp Optom*. 2013. 96: p. 9-11.
86. Kymionis GD, Kankariya VP, Kontadakis GA. Combined treatment with flap amputation, phototherapeutic keratectomy, and collagen crosslinking in severe intractable post-LASIK atypical mycobacterial infection with corneal melt. *J Cataract Refract Surg*. 2012. 38: p. 3-5.
87. Fujitani A, Hayasaka S, Shibuya Y, Noda S. Corneoscleral ulceration and corneal perforation after pterygium excision and topical mitomycin C therapy. *Ophthalmologica*. 1993. 207: p. 2-4.
88. Keithahn MA, Gross RH, Mannis MJ, Morales RB, Morse LS. Corneal perforation associated with argon laser photocoagulation for a retinal tear. *Am J Ophthalmol*. 1997. 123: p. 5-7.
89. Gharebaghi D, Fallahi B, Javadzadeh A. Spontaneous Corneal Hydrops and Perforation in Pellucid Marginal Degeneration; A Case Report. *J Ophthalmic Vis Res*. 2009. 4: p.174–176.
90. Herbert J, Ingraham MD, Eric D, Donnenfeld MD, Henry D, Perry MD. Keratoconus With Spontaneous Perforation of the Cornea *Arch Ophthalmol*. 1991. 109: p. 1651-1652.
91. Jhanji V, Alvin L, Mehta MD, Vajpayee MS. Management of Corneal Perforation. *Surv Ophthalmol*. 2011. 56: p. 522-538.
92. Kowalski RP, Dhaliwal DK, Karenchak LM. Gatifloxacin and moxifloxacin: an in vitro susceptibility comparison to levofloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin using bacterial keratitis isolates. *Am J Ophthalmol*. 2003. 136: p. 1-5.
93. Wilhelmus KR, Gee L, Hauck WW. Herpetic Eye Disease Study. A controlled trial of topical corticosteroids for herpes simplex stromal keratitis. *Ophthalmology*. 1994. 101: p. 1883-1895.

94. Kessler E, Mondino BJ, Brown SI. The corneal response to *Pseudomonas aeruginosa*: histopathological and enzymatic characterization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977. 16: p. 16-25.
95. De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res.* 2006. 83: p. 26-35.
96. Tandon R, Chawla B, Verma K. Outcome of treatment of Mooren ulcer with topical cyclosporine 2%. *Cornea.* 2008. 27: p. 59-61.
97. Huerva V, Sanchez MC, Traveset A. Rituximab for peripheral ulcerative keratitis with Wegener granulomatosis. *Cornea.* 2010. 29: p. 8-10.
98. Tsubota K, Goto E, Fujita H. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol.* 1999. 83: p. 1-5.
99. Lee MY, Chung SK. Treatment of corneal neovascularization by topical application of ascorbic acid in the rabbit model. *Cornea.* 2012. 31: p. 1165-1169.
100. Chan SM, Boisjoly H. Advances in the use of adhesives in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol.* 2004. 15: p. 305-310.
101. Ardis AE. US patent nos. 2467926 and 2467927, 1949.
102. Coover HW, Joyner FB, Shearer NH, Wicker TH. Chemistry and performance of Cyanoacrylate adhesives. *J Soc Plast Eng.* 1959. 15: p. 413-417.
103. Hirst LW, Stark WJ, Jensen AD. Tissue adhesives: new perspectives in corneal perforations. *Ophthalmic Surg.* 1979. 10: p. 58-64.
104. Woodward SC, Herrmann J.B. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesives. *Ped. Proc.* 1964. 23: p. 495-499.
105. US Food and Drug Administration. FDA Dermabond Approval Order. Available at [http://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf/P960052b.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf/P960052b.pdf). Accessed: February 10, 2011.
106. Refojo MF, Dohlman CH. The tensile strength of adhesive joints between eye tissues and alloplastic materials. *Am. J. Ophthalmol.* 1969. 68: p. 248-255.
107. Trott AT. Cyanoacrylate tissue adhesives – an advance in wound care. *JAMA.* 1997. 277: p. 1559-1560.
108. Fogle JA, Kenyon KR, Foster CS. Stromal melting in the cornea. *Am. J. Ophthalmol.* 1980. 89: p. 795-802.
109. Dohlman CH, Slansky HH, Laibson PR, Gnadinger MC, Rose J. Artificial corneal epithelium in acute alkali burns. *Ann. Ophthalmol.* 1969. 1: p. 357-364.



110. Eiferman RA, Snyder JW. Antibacterial effect of cyanoacrylate glue. *Arch. Ophthalmol.* 1983. 101: p. 958-960.
111. Grinstaff MW. Designing hydrogel adhesives for corneal wound repair. *Biomaterials.* 2007.28: p. 5-14.
112. Leahy AB, Gottsch JD, Stark WJ. Clinical experiences with n-butyl cyanoacrylate tissue adhesive. *Ophthalmology.* 1993. 100: p. 173-180.
113. Carlson AN, Wilhelmus KR. Giant papillary conjunctivitis associated with cyanoacrylate glue. *Am. J. Ophthalmol.* 1987. 104: p. 437-438.
114. Leahy AB, Gottsch JD, Stark WJ. Clinical experience with N-butyl cyanoacrylate (Nexacryl) tissue adhesive. *Ophthalmology* 1993. 100: p.173-180.
115. Markowitz GD, Orlin SE, Frayer WC, Andrews AP, Prince RB. Corneal endothelial polymerisation of histoacryl adhesive: a report of a new intraocular complication. *Ophthalmic Surg.* 1995. 26: p. 256-258.
116. Stempel I. Complications of liquid plastics in ophthalmic surgery. *Histopathologic study. Dev. Ophthalmol.* 1987. 13: p. 137-146.
117. Weiss JL, Williams P, Lindstrom RL, et al. The use of tissue adhesives in corneal perforations. *Ophthalmology.* 1983. 90: p. 610-615.
118. Batman C, Özdamar Y, Aslan Ö. Using Tissue Glue For the Closure of Scleral Sites in Vitreoretinal Surgery. *Ret-Vit.* 2007. 15: p. 243-248.
119. Chan SM, Boisjoly H. Advances in the use of adhesives in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol.* 2004. 15: p. 305-310.
120. Chen WL, Lin CT, Hsieh CY. Comparison of the bacteriostatic effects, corneal cytotoxicity, and the ability to seal corneal incisions among three different tissue adhesives. *Cornea.* 2007. 26: p. 1228-1234.
121. Koizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res* 2000. 20: p. 173-177.
122. Solomon A, Rosenblatt M, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC, Tseng SCG. Suppression of interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta in the human limbal epithelial cells cultured on the amniotic membrane stromal matrix. *Br J Ophthalmol* 2001. 85: p. 444-449.
123. Prabhasawat P, Tesavibul N, Komolsuradej W. Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *Br J Ophthalmol.* 2001. 85: p.1455-1463.

124. Rodriguez Ares MT, Tourin R, Lopez-Valladares MJ. Multilayer amniotic membrane transplantation in the treatment of corneal perforations. *Cornea*. 2004. 23: p. 577-583.
125. Hick S, Demers PE, Brunette I. Amniotic membrane transplantation and fibrin glue in the management of corneal ulcers and perforations: a review of 33 cases. *Cornea*. 2005. 24: p. 369-377.
126. Thoft R. Conjunctival transplantation. *Arch Ophthalmol*. 1977. 95: p.1425-1427.
127. Geria RC, Wainsztein RD. Infectious keratitis in the corneal graft: Treatment with partial conjunctival flaps. *Ophthalmic Surg lasers imaging*. 2005. 36: p.298-302.
128. Paton D, Milauskas AT. Gunderson-type thin conjunctival flaps for the cornea. *Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1976: p. 203-212.
129. Soong HK, Farjo AA, Katz D, Meyer RF, Sugar A. Lamellar corneal patch grafts in the management of corneal melting. *Cornea*. 2000. 19: p. 126-134.
130. Raizman MB, Sainz M, Foster CS. Tectonic keratoplasty for peripheral ulcerative keratitis. *Cornea*. 1991. 10: p. 312-316.
131. Nobe JR, Moura BT, Robin JB. Results of kerathoplasty for the treatment of corneal perforations. *Arch Ophthalmol*. 1990. 108: p. 939-941.
132. Klenkler B, Sheardown H, Jones L. Growth factors in the tear film: role in tissue maintenance, wound healing, and ocular pathology. *Ocul Surf*. 2007. 5: p. 228-239.
133. Tsubota K, Goto E, Fujita H, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol*. 1999. 83: p.390-395.
134. Hartwig D, Harloff S, Liu L, et al. Epitheliotropic capacity of a growth factor preparation produced from platelet concentrates on corneal epithelial cells: a potential agent for the treatment of ocular surface defects? *Transfusion*. 2004. 44: p. 1724-1731.
135. Cieslik-Bielecka A, Gazdzik TS, Bielecki TM. Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007. 103: p. 303-305.
136. Moojen DJ, Everts PA, Schure RM. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Res*. 2008. 26: p. 404-410.

137. Trindade-Suedam IK, Leite FR, de Morais JA. Avoiding leukocyte contamination and early platelet activation in platelet-rich plasma. *J Oral Implantol.* 2007. 33: p. 334-339.
138. Anitua E, Alonso R, Girbau C. Antibacterial effect of plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains. *Clin Exp Dermatol.* 2012. 37: p. 652-657.
139. Freire V, Andollo N, Etxebarria J. Corneal Wound Healing Promoted by 3 Blood Derivatives: An In Vitro and In Vivo Comparative Study. *Cornea* 2014: p. 1-7.
140. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazli S, Akman U, Ozturk Y. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Res.* 2008. 36: p. 163-170.
141. Thomson Healthcare Inc. *Thymus vulgaris*. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. 2007. p. 846-847.
142. Lee S-J et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005. 91: p. 131-137.
143. Thomson Healthcare Inc. *Glycyrrhiza glabra*. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. 2007: p. 522-530.
144. Hatano T, Shintani Y, Aga Y et al. Phenolic constituents of licorice. Structures of glicophenone and glicoisoflavone, and effects of licorice phenolics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2000. 48: p. 1286-1292.
145. Saleh MM, El-Olemy MM, Metawie HM et al. Response of licorice (*glycyrrhiza glabra*) leaves to certain stress factors. *Planta Med.* 1990. 56: p.610.
146. Utsunomiya T, Kobayashi M, Pollard RB, Suzuki F. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus. *Antimicrob Agents Chemother* Mar. 1997. 41: p. 551-556.
147. Van Rossum TGJ, Vulto AG, De Man RA et al. Review article: glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther.* 1998. 12: p. 199-205.
148. Nakashima H, Matsui T, Yoshida O et al. A New anti-human immunodeficiency virus substance, glycyrrhizin sulfate: endowment of glycyrrhizin with reverse transcriptase-inhibitory activity by chemical modification. *Jpn. J Cancer Res* Aug. 1987. 78: p. 767-771.

149. Sheela M, Ramakrishna M, Salimath B. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by Glycyrrhiza glabra. *Int Immunopharmacol.* 2006. 6: p. 494-498.
150. Nagumo S, Fakuju A, Takayama M et al. Inhibition of IysoPAF acetyltransferase activity by components of licorice root. *Biol Pharm Bull Oct.* 1999. 22: p. 1144-1146.
151. Yokota T, Nishio H, Kubota Y, Mizoguchi M. The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. *Pigment Cell Res.* 1998. 11: p. 335-361.
152. Shibata S. Antitumor-promoting and anti-inflammatory activities of licorice principles and their modified compounds, in *Food Phytochemicals II: Teas, Spices, and Herbs.* American Chemical Society. 1994
153. Bradley P.R. *British herbal compendium: a handbook of scientific information on widely used plant drugs.* Boamemouth: Brit. Herb Med. Assoc. 1992: p. 239.
154. Bagchi D, Garg A, Krohn RL, et al. Protective effect of Grape Seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen Pharmacol.* 1998. 30: p. 771-776.
155. Facino MR, Carini M, Adini G, et al. Free radicals scavenging action and anti-enzyme activities of procyanidines from *Vitis vinifera*: a mechanism for their capillary protective action (German). *Arzneimittelforschung.* 1994. 44: p.592-601.
156. Zhao J, Wang J, Chen Y, Agarwal R. Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis.* 1999. 20: p.1737-1745.
157. Barka A, Belarbi A, Hachet C, Nowak J, Audran J. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2000. 186: p. 91-95.
158. Matsuda H, Ando S, Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M. Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorg Med Chem.* 2006. 14: p. 138-142.

159. Thomson Healthcare Inc. Lesser galangal. PDR for Herbal Medicines. 4th edition. 2007: p. 520-521.
160. Obertreis B. Anti-inflammatory effect of *Urtica dioica* folia extract in comparison to caffeic malic acid. *Arzneimittel Forsch.* 1996. 46: p. 52-56.
161. Balzarini J, Neyts J, Schols D. The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium* hybrid and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine)<sub>n</sub>-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro. *Antivir Res.* 1992.18: p. 191-207.
162. Lichius JJ, Muth C. The inhibiting effects of *Urtica dioica* root extracts on experimentally induced prostatic hyperplasia in the mouse. *Planta Med.* 1997.63: p. 307-310.
163. Bombardelli E, Morazzoni P. *Urtica dioica* L. *Fitoterapia.* 1997. 68: p. 387-402.
164. Bilgili. Ankaferd Blood Stopper hemostatik test raporları. Rapor no 2. 2006: p.34.
165. Oner A, Dogan M, Kaya A, Sal E, Bektas MS, Yesilmen O, Ayhan H, Acikgoz M. New coagulant agent (ankaferd blood stopper) for open hemorrhages in hemophilia with inhibitor. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2010. 16: p.705-707.
166. Kurt M, Oztas E, Kuran S, Onal K, Haznedaroglu I. Tandem oral, rectal, and nasal administrations of Ankaferd Blood Stopper to control profuse bleeding leading to hemodynamic instability. *Am J Emerg Med.* 2009. 27: p. 631-632.
167. Dogan O, Ozyurda O, Uymaz S, Ercetin C, Haznedaroglu I. New anticoagulant agent for CABG surgery. *Eur. J. Clin. Invest.* 2008. 38: p. 341.
168. Bakir M, Uğurlu M, Bodur H. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol.* 2005. 54: p. 385-389.
169. Turgut M, Tutkun F, Celebi N, Muglali M, Goker H, Haznedaroglu IC. Topical ankaferd bloodstopper in the management of critical bleedings due to hemorrhagic diathesis. *UHOD Int J Hematol Oncol.* 2011. 21: p. 160-165.
170. Tasdelen N, Tanriverdi Y, Coban Y, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, Tulek N. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper. *Fitoterapia.* 2009. 80: p. 48-50.
171. Akkoc N, Akcelik M, Haznedaroglu IC. In-vitro anti-fungal of medicinal plant extracts Ankaferd activity events as [in Turkish]. 34. National Hematology Congress; October 2008; Cesme Izmir, Turkey; S017.

172. Isler S, Demircan S, Cakarer S, Cebi Z, Keskin C, Soluk M, Yuzbasioglu E. Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper on early bone healing. *J Appl Oral Sci.* 2010. 18: p. 409-414.
173. Karasoy Yesilada A, Bayraktaroglu SB, Sakız D, Bai L. Ankaferd Blood Stopper hemostatik ajanın flep yasanabilirliğine etkisinin ratlarda değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma. 34.Ulusal hematoloji kongresi. İzmir. 2008
174. Sezgin S, Saraç G, Şamdancı E, Şenol M. The effects of Ankaferd, a hemostatic agent, on wound healing *TURKDERM.* 2015. 49: p. 218-221.
175. Alpay A, Evren C, Bektaş S, Çınar F. Effects of the folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper® on the ocular surface. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 2011. 30(4): p. 280-285.
176. Alpay A, Bektas S, Alpay A, Ugurbas S, Evren C. Effects of a new hemostatic agent Ankaferd Blood Stopper® on the intraocular tissues in rat model. *Cutaneous and Ocular Toxicology.* 2011: p. 1-4.
177. Ankaferd blood stopper hemostatic agent. ABS formula. Available from <http://www.ankaferd.com/eng/abs-formul.php>. Accessed on June 13, 2011.
178. Karabiyik A, Yilmaz E, Gulec S, Haznedaroglu I, Akar N. Dual diverse dynamic reversible actions of Ankaferd on EPCR and PAI-1 inside vascular endothelial cells with and without LPS. *Turk J Hematol.* 2012. 24: p. 361-366.
179. Del Pero RA, Gigstad JE, Roberts AD, Klintworth GK, Martin CA, L'Esperance FA Jr, Taylor DM. A refractive and histopathologic study of excimer laser keratectomy in primates. *Am J Ophthalmol.* 1990. 109: p. 419-429.
180. Tripoli NK, Cohen KL, Proia AD. Cat keratoplasty wound healing and corneal astigmatism. *Refract Corneal Surg* 1992. 8: p. 196-203.
181. Wilkie DA, Whittaker C. Surgery of the cornea. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997. 27: p. 1067-1107.
182. Sandvig KU, Kravik K, Haaskjold E. Epithelial wound healing of the rat cornea after excimer laser ablation. *Acta Ophthalmol Scand.* 1997. 75: p. 115-119.
183. Bito LZ. Species differences in the responses of the eye to irritation and trauma: a hypothesis of divergence in ocular defense mechanisms, and the choice of experimental animals for eye research. *Exp Eye Res.* 1984. 39: p. 807-829.
184. Merindano MD, Canals M, Potau JM, Costa J, Ruano D. Morphological and morphometric aspects of primate cornea: a comparative study with human cornea. *Eur J Morphol.* 1997. 35(2): p. 95-104.

185. Goodman GL, Trokel SL, Stark WJ, Munnerlyn CR. Corneal healing following laser refractive keratectomy. *Arch Ophthalmol*. 1989. 107(12): p. 1799-1803.
186. Hayashi S, Osawa T, Tohyama K. Comparative observations of cornea, with special reference to Bowman's layer and Descemet's membrane in Mammals and Amphibians. *J Morphol*. 2002. 254: p. 247-58.
187. Setlik DE, Seldomridge DL, Adelman RA, Semchyshyn TM, Afshari NA. The effectiveness of isobutyl cyanoacrylate tissue adhesive for the treatment of corneal perforations. *Am J Ophthalmol*. 2005. 140: p. 920-921.
188. Garg P, Gopinathan U, Nutheti R, Rao GN. Clinical experience with N-butyl cyanoacrylate tissue adhesive in fungal keratitis. *Cornea*. 2003. 22: p. 405-408.
189. Weiss JL, Williams P, Lindstrom RL, Doughman DJ. The use of tissue adhesive in corneal perforations. *Ophthalmology*. 1983. 90: p. 610-615.
190. Holland EJ, Brilakis HS, Schwartz GS. Herpes simplex keratitis. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea-Fundamentals, Diagnosis and Management (2nd edn)*, Elsevier Mosby, Philadelphia, 2005: p. 1043-1074.
191. Kasetsuwan N, Sukharoch P, Meesoupong P, Reinprayoom U, Puangsricharern V. Efficacy and safety of ethyl-2- cyanoacrylate adhesives for corneal gluing. *Asian Biomedicine*. 2013. 7: p. 437-441.
192. Barbosa T, Thiesen R, Machado M, Laus J. Effects of ethyl-cyanoacrylate and octyl-cyanoacrylate on experimental corneal lesions in rabbits. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009. 61(5): p. 1067-1076.
193. Tan J, Wechsler AW, Watson S. Long-term adhesion of cyanoacrylate on human cornea. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2014. 42: p. 791-793.
194. Lagoutte FM, Gauthier L, Comte PRM. A fibrin sealant for perforated and preperforated corneal ulcers. *Br J Ophthalmol* 1989. 73: p. 757-761.
195. Siatiri H, Moghimi S, Pourabdollah E, Rahimi F. The Efficacy of Fibrin Glue in Corneal Perforations. *Iranian Journal of Ophthalmology*. 2008. 20(2): p. 10-14.
196. Sharma A, Kaur R, Kumar S, Gupta P, Pandav S, Patnaik B, Gupta A. Fibrin glue versus Nbutyl-2-cyanoacrylate in corneal perforations. *Ophthalmology*. 2003. 110: p. 291-298.
197. Vote BJ, Elder MJ. Cyanoacrylate glue for corneal perforations: a description of a surgical technique and a review of the literature. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2000. 28(6): p. 437-442.

198. Nuhoglu F, Altiparmak U, Hazirolan D, Kasim R, Duman S. Comparison of Sutures and Cyanoacrylate Tissue Adhesives for Wound Repair in a Rat Model of Corneal Laceration. *Ophthalmic Res.* 2013. 49: p. 199-204.
199. Miki D, Dastgheib K, Kim T, Pfister-Serres A, Smeds KA, Inoue M, Hatchell DL, Grinstaff MW. A photopolymerized sealant for corneal lacerations. *Cornea.* 2002. 21: p. 393-339.
200. Wilcock B. General pathology of the eye. In: SLATTER D. *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology* 4.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2008: p. 62-80.
201. Schmeissner H, Weber HJ. Bacteriological examinations of histoacryl as a direct pulp covering medium. *Deutsche Zeitschrift.* 1970. 26: p. 285-289.
202. Mota F, Duvaldo E, Patricia MCF, Marcelo EB. Use of the n-butyl cyanoacrylate adhesive and the polyglactine thread suture for corneal rhapsy in rabbit. *J. Vet. Sci.* 2004. 5: p. 267-270.
203. Pontes K.C, Borges A.P, Eleotério R.B. A new surgical technique to treat corneal perforations using amniotic membrane and surgical adhesive. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2014. 66: p. 655-664.
204. Hirst L, Juan D. Sodium hyaluronate and tissue adhesive in treating corneal perforations. *Ophthalmol.* 1982. 89: p. 1250-1253.
205. Ollivier F, Delvendier M. Tolerance of the rabbit cornea to an n-butyl-ester cyanoacrylate adhesive (Vetbond®). *Vet. Ophthalmol.* 2001. 4: p. 261-266.
206. Aronson S, McMaster P, Moore T. Toxicity of the cyanoacrylates. *Arch. Ophthalmol.* 1970. 84: p. 342-349.
207. Gülşen M, Uzunay N, Fermanlı O. Anti-angiogenic role of Ankaferd on chick chorioallantoic membrane model. *Gulhane Med J.* 2015. 57(3): p. 274-279.
208. Judith A. West-Mays, Dhruva. The keratocyte: Corneal stromal cell with variable repair phenotypes. *Int. J. Biochem Cell Biol.* 2006. 38: p. 1625-1631.
209. Chaurasia S, Kaur H, Medeiros F, Smith S, Wilson S. Dynamics of the expression of intermediate filaments vimentin and desmin during myofibroblast differentiation after corneal injury. *Exp. Eye Res.* 2009. 89: p. 133-139.
210. Jester JV, Barry-Lane PA, Petroll WM, Olsen DR, Cavanagh HD. Inhibition of corneal fibrosis by topical application of blocking antibodies to TGF beta in the rabbit. *Cornea.* 1997. 16: p. 177-187.