



**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ALKALİ HASARA BAĞLI GELİŞEN KORNEAL ANJİOGENEZ MODELİNDE  
TOPIKAL, SUBKONJONKTİVAL BEVACİZUMAB VE FLOROMETOLON  
ASETATIN TOPIKAL UYGULANMASI**

**Dr. Ayhan DURSUN**

**UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS**

**2010**

**T.C**  
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ALKALİ HASARA BAĞLI GELİŞEN KORNEAL ANJİOGENEZ**  
**MODELİNDE TOPİKAL, SUBKONJONKTİVAL BEVACİZUMAB VE**  
**FLOROMETOLON ASETATIN TOPİKAL UYGULANMASI**

**Dr. Ayhan Dursun**  
**UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı**  
**Prof. Dr. M. Kemal ARICI**

**SİVAS**  
**2010**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA**

Bu çalışma jürimiz tarafından Göz Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr. M. Kemal ARICI .....

Üye :Prof.Dr. Ayşen TOPALKARA .....

Üye :Doç.Dr. İlker TOKER .....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../2010

Prof.Dr. Mehmet ŞENCAN

DEKAN

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fakülte Kurulu'nun 12.03. 2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü'nün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen 'Tez Yazım Klavuzu'na göre hazırlanmıştır.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle yetişmemde ve bilimsel gelişimimde emekleri geçen değerli hocalarım, başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. M. Kemal ARICI olmak üzere Prof. Dr. Ayşen TOPALKARA'ya, Doç. Dr. Haydar ERDOĞAN'a, Doç. Dr.M. İlker TOKER'e, Yrd. Doç. Dr. Ayşe VURAL ÖZEÇ'e teşekkür ve saygılarımı sunarım. Tezimin konu seçiminden itibaren her aşamasında, oluşumunda ve yönlendirilmesinde yardım eden sayın tez hocam Prof. Dr. M. Kemal ARICI'ya minnettarlığımı sunarım.

Eğitimim esnasında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin tüm hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Değerli eşime ve aileme her zaman yanımda oldukları ve sevgilerini hiç eksik etmediklerinden içtenlikle teşekkür ederim.

## ÖZET

Bu çalışma; topikal ve subkonjonktival bevacizumabın alkali yanığa bağlı gelişen korneal anjiogenez modelindeki yeni damar gelişimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapıldı.

Çalışmada 24 adet Wistar-Albino cinsi rat kullanıldı. Kornealarda kimyasal koterizasyonu takiben ratlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Grup 1'e suni gözyaşı damlası günde iki kez, grup 2'ye, topikal florometolon asetat günde iki kez, grup 3'e, subkonjonktival bevacizumab 2,5 mg olarak tek doz, grup 4'e ise topikal bevacizumab 5mg/ml konsantrasyonunda uygulandı. Tüm damlalar koterizasyonu takiben hemen damlatılmaya başlandı ve 21 gün boyunca uygulandı. Üç hafta sonra rat korneaları yarık lamba biyomikroskopuyla muayene edildi ve kornea fotoğrafları çekilip denekler sakrifiye edildi. Alkali yanığa bağlı gelişen korneal neovaskülarizasyonu değerlendirmek için toplam korneal alan, neovaskülarize alan, neovaskülarize alanın oranı ve gelişen en uzun damarın boyu ölçüldü. Korneal ödem ve opasite skoru değerlendirildi.

Subkonjonktival ve topikal bevacizumab grupları ile florometolon asetat grubunda korneal neovaskülarizasyon alanı, en uzun damar boyu, korneal ödem ve opasite skoru; kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü ( $p<0.05$ ). Subkonjonktival ve topikal bevacizumab grubunda yine aynı parametreler florometolon asetat grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde düşüktü ( $p<0.05$ ). Subkonjonktival ve topikal bevacizumab grupları arasında korneal neovaskülarizasyon alanı, korneal ödem ve opasite açısından anlamlı bir fark yoktu. Fakat en uzun damar boyu topikal bevacizumab grubunda istatistiksel açıdan anlamlı şekilde düşüktü ( $p<0.05$ ).

Sonuç olarak; topikal florometolon asetat, topikal ve subkonjonktival bevacizumab, deneysel kornea neovaskülarizasyonunun kontrolünde etkili yöntemlerdir. Bununla birlikte topikal bevacizumab, kornea neovaskülarizasyonunun kontrolünde subkonjonktival bevacizumab ve florometolon asetattan daha etkili olarak görüldü.

**Anahtar kelimeler:** Korneal neovaskülarizasyon, Bevacizumab, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), florometolon asetat

## SUMMARY

This study aimed to investigate the effect of topical and subconjunctival bevacizumab on corneal neovascularization in alkali burn induced model of corneal angiogenesis.

Twenty four Wistar-Albino rats were used in our study. After chemical cauterization of the cornea, the rats were divided randomly into four groups. Group 1 received artificial tears twice a day, group 2 received topical fluorometholone acetate twice a day, group 3 bevacizumab (2.5mg) was administered by a subconjunctival single dose, group 4 received 5mg/ml bevacizumab twice a day. All drops were initiated immediately after cauterization and applied for 21 days. Three weeks later rat corneas were evaluated by slit-lamp biomicroscopy and corneal photographs were taken with a digital camera after subjects were sacrificed. Total corneal area, corneal neovascularization area, proportional area of vascularized cornea and longest neovascular pedicle length were assessed for evaluate alkali burn induced corneal neovascularization. Corneal oedema and corneal opacity score were evaluated.

Statistically significant decrease was observed in corneal neovascularization area, longest neovascular pedicle length, corneal oedema and corneal opacity score in subconjunctival, topical bevacizumab groups and fluorometholone acetate group than control group ( $p < 0.05$ ). Statistically significant decrease was observed in same parameters in subconjunctival and topical bevacizumab groups than fluorometholone acetate group ( $p < 0.05$ ). Corneal neovascularization area, corneal oedema and corneal opacity were not significant between subconjunctival and topical bevacizumab groups. However statistically significant decrease was observed in longest neovascular pedicle in topical bevacizumab group ( $p < 0.05$ ).

As a result, topical fluorometholone acetate, topical bevacizumab and subconjunctival bevacizumab are effective methods in controlling experimental corneal neovascularization. However we observed topical bevacizumab is more

efficient than subconjunctival bevacizumab and fluorometholone acetate in controlling corneal neovascularization.

**Keywords:** Corneal neovascularization, Bevacizumab, Vascular endothelial growth factor (VEGF), Fluorometholone acetate



**TABLULAR DİZİNİ**

<b>Tablo 1:</b> Anjiogenezi uyaran ve inhibe eden faktörler .....	11
<b>Tablo 2:</b> Gruplardaki ortalama toplam korneal alan (mm <sup>2</sup> ), neovaskularizasyon alanı(mm <sup>2</sup> ), neovaskularizasyon alanı / toplam korneal alan (oran) ve en uzun damar boyu (mm).....	27
<b>Tablo 3:</b> Gruplardaki korneal ödem düzeyleri .....	28
<b>Tablo 4:</b> Gruplardaki korneal opasite skoru dağılımı .....	29

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<b>Şekil 1:</b> VEGF reseptörlerinin çeşitleri ve yapıları .....	14
<b>Şekil 2:</b> VEGF ailesi üyeleri ve bağlandıkları reseptörler.....	15
<b>Şekil 3:</b> Gruplardaki toplam korneal alan (mm <sup>2</sup> ).....	22
<b>Şekil 4:</b> Deneklerin makroskopik fotoğrafları.....	23
<b>Şekil 5:</b> Gruplardaki ortalama korneal neovaskülarizasyon alanı .....	24
<b>Şekil 6:</b> Gruplardaki neovaskülarizasyon alanının toplam korneal alana oranı	25
<b>Şekil 7:</b> Tüm gruplardaki ortalama en uzun damar boyu (mm) .....	26
<b>Şekil 8:</b> Gruplardaki Korneal ödem skorları.....	28
<b>Şekil 9:</b> Gruplardaki korneal opasite skorları .....	30

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

D	: Dioptri
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EPO	: Eritropoietin
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
IL	: İnterlökin
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PEDF	: Pigment epitel kaynaklı faktör
PIGF	: Plasental büyüme faktörü
SD	: Standart sapma
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
TNF	: Tümör nekroz faktörü
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü

## İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. KORNEA .....	3
2.1.1. Korneanın Embriyolojisi .....	3
2.1.2. Korneanın Makroskopik Anatomisi .....	3
2.1.3. Korneanın Mikroskopik Anatomisi.....	4
2.1.3.1. Epitel Tabakası.....	4
2.1.3.2. Bowman Tabakası.....	5
2.1.3.3. Stroma Tabakası .....	5
2.1.3.4. Descemet Membranı .....	5
2.1.3.5. Endotel Tabakası .....	6
2.1.4. Korneanın Optik Özellikleri.....	6
2.1.5. Korneanın Duyusal İnnervasyonu.....	7
2.1.6. Korneanın Oksijenizasyonu ve Beslenmesi .....	7
2.1.7. Gözyaşı Filmi .....	7
2.2. KORNEAL YARA İYİLEŞMESİ ve VASKÜLARİZASYON .....	8
2.2.1. Korneal Fibrozis ve Vaskülarizasyon.....	8
2.2.2. Stromal Vaskülarizasyon .....	8
2.3. ANJİOGENEZİS.....	10
2.3.1. Vaskülogenezis ve Anjiogenezis .....	10
2.3.2. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü .....	12
2.3.3. VEGF İzofomları .....	12
2.3.4. VEGF Üretim Regülasyonu .....	13

2.3.5. VEGF Reseptörleri.....	13
<b>2.4. KORNEAL NEOVASKÜLARİZASYONDA TEDAVİ.....</b>	<b>16</b>
2.4.1. Medikal Tedavi.....	16
2.4.2. Cerrahi tedavi.....	16
2.4.3. Bevacizumab .....	17
2.4.4. Florometolon Asetat.....	17
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>19</b>
3.1. ANESTEZİ TEKNİĞİ .....	19
3.2. ALKALİ YANIK OLUŞTURULMASI .....	19
3.3. GRUPLAR .....	19
3.4. KORNEA NEOVASKÜLARİZASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİ .	20
3.5. KORNEAL ÖDEM VE OPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	20
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>22</b>
4.1. TOPLAM KORNEAL ALAN .....	22
4.2. NEOVASKÜLARİZASYON ALANI .....	24
4.3. NEOVASKÜLARİZASYON ALANININ TOPLAM KORNEAL ALANA ORANI.....	25
4.4. KORNEALARDA GELİŞEN EN UZUN DAMAR BOYU .....	26
4.5. KORNEAL ÖDEM .....	27
4.6. KORNEAL OPASİTE .....	29
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>31</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>39</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>40</b>

## 1. GİRİŞ

Kornea lenfatik ve kan damarlarından yoksun, avasküler bir yapıya sahiptir. İnflamatuar, enfeksiyöz, travmatik veya dejeneratif hastalıklar korneal neovaskülarizasyona yol açabilmektedir (1). Yeni oluşan bu damarlar korneal iyileşme ve enfeksiyonlara karşı savaşta oldukça faydalı olmakla birlikte, korneanın iyileşme süreci tamamlandıktan sonra ise istenmeyen bir durumdur. Korneal neovaskularizasyon stromal ödem, lipit birikimi ve skar oluşumu ile görme keskinliğinde azalma ile sıklıkla ilgilidir (2). Steroidler (3,4), indometazin (5), siklosporin (6), methetroxate (7), düşük moleküler ağırlıklı heparan sulfat (8), rafamisin (9) ve talidomid (10) gibi çok sayıda ajanın deneysel ve klinik olarak korneal neovaskularizasyonu inhibe ettiği gösterilmiş olmasına rağmen hala korneal neovaskülarizasyonun en iyi şekilde tedavisi hakkında bir konsensus sağlanamamıştır. Korneada anjiogenik faktörler (vasküler endotelial growth faktörü, fibroblast growth faktörü vb.) ve anti anjiogenik faktörler (angiostatin, endostatin vb.) arasında bir denge söz konusudur. Korneal neovaskularizasyon oluşumu sürecinde, anjiogenetik faktörlerde bir upregülasyon sözkonusu iken, büyük olasılıkla antianjiogenetik faktörlerde de bir down regülasyon mevcuttur (1). Vasküler endotelial büyüme faktörü tavşanlarda korneal neovaskülarizasyonu stümüle etmektedir (11). Neovaskülarizasyon gelişmiş insan kornealarında hem VEGF hemde reseptörlerinin konsantrasyonunun normal kornealardan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (12). Anti VEGF ajanlar yeni kan damarlarının büyümesini inhibe etmekte ve yavaşlatmakta etkilidirler (13).

Bevacizumab (Avastin®) tüm insan VEGF-A izoformlarının biyolojik aktivitesini bağlanarak inhibe eden rekombinan humanize murin yapısında monoklonal antikordur (14). Özellikle inflame ve vaskülarize kornealarda epitel ve endotel hücreleri, limbal damarların endotel hücreleri ve skar dokusundaki makrofaj ve fibroblastların VEGF ekskrete ettikleri gösterilmiştir (15, 16, 17). Bu nedenle VEGF antagonistleri, VEGF ekspresyonunu inhibe ederek, neovaskülarizasyonu azaltabilir ve hatta önleyebilirler (18). Bevacizumab (Avastin®) kolorektal kanserlerin yanısıra yaygın bir şekilde (off label) yaşa

bağlı makula dejenerasyonu, iskemik retinopatiler ve neovasküler glokomda tedavide kullanılmaktadır (19).

Bu alışma bevacizumabın topikal ve subkonjonktival kullanımının alkali yanığa bağlı gelişen korneal neovaskularizasyon modelindeki yenidoamar oluşumu, ödem ve opasite gelişimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KORNEA

Kornea, göz küresinin en öndeki 1/6'lık kısmını oluşturan saydam, esnek ve damarsız bir dokudur. Korneanın ön yüzü gözyaşı film tabakası ile arka yüzü ise aköz hümörle temas halindedir. Bitişiginde opak sklera ve onu örten yarı saydam konjonktiva vardır. Korneanın şekli, büyüklüğü ve optik özellikleri, yaşla birlikte küçük değişimlere uğrar (20,21).

#### 2.1.1. Korneanın Embriyolojisi

Kornea embriyolojik olarak incelendiğinde nöroektoderm ve mezenşim olmak üzere iki dokudan köken almıştır. Yüzeyel ektoderm, lens vezikülünden ayrılınca iki katlı epitele dönüşür. Bazal laminanın kalıntısı olan bu yapı primitif korneadır. Altıncı haftanın sonunda bu yapıdaki hücreler arasında bağlantı kompleksleri oluşur. Yedinci haftada nöral krestten oluşan mezenkimal hücreler, lens vezikülü çevresinden öne doğru dalga halinde hareket ederler. Yüzeyel ektoderm ile lens arasından göç eden birinci dalga hücreler, kornea ve trabeküler endoteli yaparlar (22). Kornea epiteli ile endoteli arasından göç eden ikinci dalga hücreler, kornea stromasını yaparlar (23).

Kornea endoteli, iki tabakalı küboidal hücrelerden oluşmuştur. Sekizinci haftada bu hücreler "Descemet membranını" oluştururlar (24,25). Üçüncü ayda fibroblast ve kollajen lifler ortaya çıkar. Fibroblastlar glikozaminoglikan sentezine başlar. Dördüncü ayda ilk kez Bowman tabakası belirginleşir. Bowman tabakasını epitelin bazal laminasından uzanan flamanlar oluşturur. Daha sonra korneanın genişlemesi ve saydam bir yapı oluşturması için stromada dehidratasyon başlar (26).

#### 2.1.2. Korneanın Makroskopik Anatomisi

Erişkinlerde kornea çapı ön yüzde yatayda 11,7 (11-12) mm, dikeyde 10,6 (9-11) mm'dir (27,28). Arka yüzeyde yatay ve dikey çap 11,7 mm'dir. Bu nedenle kornea önden bakıldığında eliptik, arkadan bakıldığında küreseldir. Kornea çapı yenidoğanda 10mm'dir. Erişkin çapına ise yaklaşık 6 yaşında



ulaşır. Korneanın merkezdeki kalınlığı ortalama 500 mikrondur. Perifere gittikçe, kalınlık belirgin olarak artar ve 700 mikrona ulaşır (29).

### **2.1.3. Korneanın Mikroskopik Anatomisi**

Kornea histolojik olarak ve önden arkaya doğru 5 ayrı tabakadan oluşur. Bunlar; epitel, Bowman tabakası, stroma, Descemet membranı ve endoteldir. Kornea, önde gözyaşı filmi ile arkada ise aköz hümörle temas halindedir.

#### **2.1.3.1. Epitel Tabakası**

Epitel tabakası kornea kalınlığının %10'unu oluşturur. Keratinize olmayan, çok katlı hücrelerden meydana gelir. Yaklaşık olarak 50 µm kalınlığında olup 5-6 hücre katından meydana gelmiştir. Üç tip hücre içerir:

- 1- Yüzeyel hücre
- 2- Poligonal kanatsız hücre
- 3- Kolumnar bazal hücre

Yüzeyel hücreler elektron mikroskopik incelemede çok sayıda mikrovillus ve plika içerir. Ayrıca mikrokalik ile yüzeyi örtülmüştür. Bu yapıları ile epitelin gözyaşı filmine yapışmasını sağlar. Hücreler arası sıkı bağlantılar ile hücreler arasında anatomik bariyer oluşturulur (30).

Kolumnar hücreler, tek sıra halinde bazal membran üzerinde dizilir. Bu hücrelerin mitotik aktivitesi vardır. Çoğalıp öne doğru ilerleyerek kanatsız hücreleri oluştururlar. Kolumnar hücrelerde aktin filamanlar ve tonofilamanlar bulunur. Tonofilamanlar ile hücrenin iskeleti korunur. Aktin filamanlar ise yara iyileşmesi sırasında hücre göçünde rol alır (30).

Epitel tabakasında çoğalabilme yeteneği sadece bazal hücrelerde mevcuttur. Mitoz yeteneği ile uyumlu olarak, çok zengin hücre içi organel yapısına sahiptirler. Bazal hücrelerin yanlarında “gap junction” ve “zonula adherensler” ile karakterize hücreler arası bağlantıları vardır. Bazal hücreler, altlarındaki bazal membrana yaygın bir hemidesmozom sistemi ile bağlıdır.

Bazal hücrelerden doğan hücreler, önce kanat hücreleri, ardından yüzeyel hücrelere değişim gösterirler. Bazal hücrelerden yüzeyel hücrelere değişim sürecinin döngü süresi 7–14 gündür. Ultraviyole, hipoksi ve mekanik stres, apoptozisi tetikleyerek programlı epitel hücresi ölümüne neden olur (21).

### **2.1.3.2. Bowman Tabakası**

8 –14 µm kalınlıktadır (31). Kısa tip I ve tip III kollajen fibrillerden oluşur. Kollajen fibriller, stromal keratositler tarafından sentezlenir. Travmaya karşı dirençlidir. Mikroorganizma ve tümör hücrelerinin korneaya invazyonuna karşı bariyer oluşturur. Yenilenme yeteneği yoktur. Korneal hasar sonrasında rejenere olmayıp, fibrozis ile iyileşir (32).

### **2.1.3.3. Stroma Tabakası**

Kornea kalınlığının %90'ını oluşturur. %78'i sudur. 500 µm kalınlığındadır (31,33). Kollajen lif demetleri mukopolisakkaritlerle lameller tarzda ayrılmıştır. Bu da lameller greftte alt tabakaların kolayca ayrılmasını sağlar. Kollajen fibriller birbirlerine paralel olarak uzanır. Fibril dizilişlerindeki anormallik şeffaflığı etkiler. Travma, enfeksiyon ve distrofiler stromada ödem ve skar dokusuna neden olur.

Stromanın %78'i sudan oluşurken, kuru ağırlığının %70'ini kollajen fibriller meydana getirir. Kollajen fibrillerin büyük bölümü tip I, kalan kısmı ise tip III, V, VI fibrillerdir. Çapları 22,5–35 nanometre olan bu lifler, son derece düzenli bir diziliş gösterir. Fibriller arasında ise glikozaminoglikanlar yer alır. Glikozaminoglikanlar, büyük çoğunluğu keratan- sülfat olmak üzere, kondroitin sülfat ve dermatan sülfattan oluşur (32).

### **2.1.3.4. Descemet Membranı**

Descemet zarı kornea endotelinin bazal membranıdır. Stroma ile endotel arasında yer alır. Her ikisinden de kolaylıkla ayrılabilir. Limbusda sonlanır ve iridokorneal açıda Schwalbe çizgisini oluşturur. Descemet zarı önde ve arkada iki kısımdan oluşmuştur. Öndeki stromaya komşu kısım, embriyoner yaşamda kollajen lifler ve glikoproteinden oluşmuştur. Arkadaki endotele bitişik kısım, doğumdan sonra endotel tarafından salgılanmıştır. Elastik olan arka kısım,

yaralanmalardan sonra endotel tarafından tekrar salgılanır. Doğumda 3  $\mu\text{m}$  kalınlığında olan bu zar, giderek kalınlaşarak erişkinlerde 8-10  $\mu\text{m}$  kalınlığına ulaşır (34). Descement zarında en çok tip 4 kollajen ve laminin bulunur (35). Az miktarda fibronektin de bu zarın yapısında mevcuttur (36,21).

#### **2.1.3.5. Endotel Tabakası**

Endotel hücreleri yaklaşık doğumda 3.500 – 4.000 hücre /  $\text{mm}^2$ , erişkinlerde 2.500-3.000 hücre /  $\text{mm}^2$  düzeyindedir. Toplam yaklaşık 350 – 400 bin endotel hücresi bulunmaktadır (37). Poligonal hücrelerdir 4-5  $\mu\text{m}$  kalınlığında ve 18-20  $\mu\text{m}$  genişliğindedir. Aközle direkt temastadır. Korneanın beslenmesini üstlenmiştir. Keratoplastiden sonra endotelyal geçirgenlik yükselir ve zamanla normale döner. Endotelde aktif pompa mekanizması vardır. Bu pompa ısıyla değişir. Endotelyal hücre bölünmesi çocuklarda mevcut iken yetişkinlerde nadirdir. Yaşla, hücre sayısında azalma ve büyüklüğünde artma olur. Bu yüzden genç donörlerin kullanılması tavsiye edilmektedir. Hücre sayısı 300-400 /  $\text{mm}^2$  nin altında düşerse ödem gelişir. Aşırı stres ve travma sonucu endotel hücreleri fibroblast benzeri hücrelere değişebilmektedir. Kornea endotel kaybı olduğunda çoğalamayan endotel hücreleri kendilerini genişleterek kayıp olan yerleri doldururlar (38,39).

#### **2.1.4. Korneanın Optik Özellikleri**

Korneanın kırıcılık gücü 40 ile 44 dioptri (D) arasındadır. Yaklaşık olarak gözün toplam kırıcılığının 2/3'ünü oluşturur. Korneanın ön ve arka yüzünün de optik fonksiyonu vardır. Toplam kırıcılık indisi, bu iki yüzeydeki kırıcılık indislerinin toplamıdır. Havanın, gözyaşı film tabakasının, kornea dokusunun ve aköz hümörün kırıcılık indisleri sırasıyla 1,000, 1,336, 1,376, 1,336'dır. Kornea merkezinin kırıcılık gücü yaklaşık +43 D'dir. Hava-gözyaşı (+44 D), gözyaşı kornea (+5 D), kornea-ön kamara sıvısı (-6 D) geçiş ortamlarının kırıcılıklarının toplamına esittir. Korneanın standart kırıcılık indisi olarak pek çok keratometrik ve topografik ölçümlerde 1,3375 değeri kullanılmaktadır (27).

### **2.1.5. Korneanın Duyusal İnnervasyonu**

Vücudun duyusal innervasyonu en yoğun dokularından birisi olan kornea, ciltten 300–400 kat daha yoğun sinir yoğunluğuna sahiptir (32). Duyusal innervasyonu, trigeminal sinirin oftalmik dalından alır (32). Limbus çevresinde sinir halkası oluşturan uzun siliyer sinir, periferik stromaya derinden ve radyal olarak girip kısa bir mesafe sonra miyelinsiz hale gelir ve öne doğru yer değiştirerek Bowman tabakasını geçer. Daha sonra kornea epiteli kanat hücreleri seviyesinde pleksus oluşturarak sonlanır (21,32).

### **2.1.6. Korneanın Oksijenizasyonu ve Beslenmesi**

Korneanın epitel ve endotel hücreleri, metabolik olarak son derece aktif olup, saydamlığının ve dehidratasyonunun sürdürülebilmesi bu aktivite ile sağlanmaktadır. Enerji kaynağı olarak glukoz kullanılmaktadır. Oksijenli glikolizde glukozun kaynağı aköz hümör, oksijenin kaynağı ise ağırlıklı olarak gözyaşıdır. Göz kapakları kapalı olduğunda ise yüzeysel limbal-konjonktival damarlardan gaz geçişi ile korneanın oksijen ihtiyacı karşılanır. Kornea, karbonhidrat, vitamin, aminoasit gibi besin gereksinimlerini limbustaki damarlardan ve endotelden aktif transport veya difüzyon aracılığı ile aköz hümörden karşılar. Karbondioksit ve diğer metabolik ürünler de benzer yollarla gözyaşı filmine, limbal damarlara ve aköz hümöre geçer (20,21,27).

### **2.1.7. Gözyaşı Filmi**

Kornea yüzeyi gözyaşı film tabakası ile örtülüdür. Bu tabaka epitelyumun beslenmesine yardımcı olarak korneanın kurumasını engeller. Göz kırıldığında kalınlaşır ve ikinci kırpma hareketine kadar giderek incelir. Epitel ile birlikte pürüzsüz bir yüzey oluşturmaz. Gözyaşı film tabakasının kalınlığı ve hacmi yaklaşık 7 µm ve  $6,5 \pm 0,3$  µl'dir (40). Üç tabakadan oluşmaktadır; Yüzeysel lipid tabaka ( $\approx 0,1$  µm), aköz tabaka ( $\approx 0,7$  µm) ve musin tabaka ( $\approx 0,02$ - $0,05$  µm). Meibomious ve Zeis bezleri tarafından salgılanan dış lipid tabakanın görevleri, aköz tabakanın buharlaşmasını geciktirmek ve gözyaşı filminin yüzey gerilimini arttırmaktır. Ana ve yardımcı lakrimal bezlerden salgılanan aköz tabakanın görevleri, avasküler kornea epitelyumuna atmosferdeki oksijeni

iletmek, antibakteriyel fonksiyonu sağlamak, anterior kornea yüzeyi üzerindeki küçük düzensizlikleri ortadan kaldırmak ve yıkıntı ürünlerinin yıkanıp, uzaklaştırılmasını temin etmektir. Konjonktivadaki goblet hücreleri, Henle kriptaları ve Manz bezleri tarafından salgılanan iç musin tabaka ise kornea epitelyum yüzeyinin hidrofobik karakterini hidrofiliğe çevirerek gözyaşı tabakasının aköz komponentiyle ıslanmasını sağlar (41).

## **2.2. KORNEAL YARA İYİLEŞMESİ ve VASKÜLARİZASYON**

### **2.2.1. Korneal Fibrozis ve Vaskülarizasyon**

Vaskülarizasyon ve fibrozis bağ dokusu tamirinin normal bir parçası olup, genellikle enflamasyonu takiben gelişir. Bu tür yara iyileşmesi, birçok doku için gerekli olmakla birlikte, korneal fibrozis ve vaskülarizasyon ise optik fonksiyonların bozulmasına neden olmaktadır. Korneanın fibrozis ile tamiri sırasında, stromal kollajen ve diğer ekstrasellüler matriks elemanları, normal düzenini kaybeder. Bu durum ise kornea opasitesine ve ışık saçılmasına neden olur (42,43).

Kornea epiteli bağ dokusu içermediğinden, geniş ve derin korneal epitelyal yaralanmalardaki fibrozis ve vaskülarizasyonun kaynağı, subepitelyal ön stroma ve komşu konjonktivadan farklılaşan hücrelerdir (42,44). Hasarlı dokunun tamiri sırasında, subepitelyal vaskülarizasyon ve fibrozis gelişir. Bu süreçte lökositler, proliferen olan vasküler endotelyal hücreler ve aktif fibroblastlar yeni ekstrasellüler matriksi sentezlemektedirler. Kontakt lens kullanımı gibi korneanın kısmen hipoksik kaldığı durumlarda ise limbustan ince fibrovasküler doku göç eder. Korneanın ağır şekilde tahribatı ile sonuçlanan alkali yanık gibi durumlarda ise fibrovasküler doku oldukça kalın olup tüm korneayı kaplayabilir (42).

### **2.2.2. Stromal Vaskülarizasyon**

Stromal vaskülarizasyon, nonspesifik bir patolojik cevaptır. Damarların sayısı ve lokalizasyonu, enflamatuvar cevabın şiddetine ve yerine bağlı olarak değişmektedir. Korneal vaskülarizasyon, patolojiye bağlı olarak stromanın üç ayrı bölgesinde gelişmektedir:

1. Subepitelyal ve ön stromal damarlar; kronik blefarit, fliktenüler konjonktivit, kontakt lens kullanımı, tekrarlayıcı epitelyal defekt gibi yüzeyel korneal hastalıklarda görülebilmektedir.

2. Orta stromal damar oluşumu; nekrotizan herpes simpleks keratiti, bakteriyel veya fungal abseler, kimyasal yanıklar gibi kronik enflamasyonlarda görülebilmektedir.

3. Derin stromal ve ön Descemet membranında damar oluşumu; keratoüveitlerde görülebilir.

Stromaya yayılan kan damarları; yüzeyel konjonktival damarlardan, derin skleral damarlardan veya irisin kornea ile temas ettiği ya da irisin korneal bir yaranın içine inkarsere olduğu durumlarda ise iris damarlarından kaynaklanır. Fibrotik komponentin olmadığı hallerde, korneal damarlar, Bowman tabakası ve stromal kollajen lameller arasında yer alırken, fibrozisin eşlik ettiği hallerde ise hem ön hem de arka stromaya doğru ilerleyebilmektedir.

Damar endotelinden köken alan yeni damarların büyük bir kısmı venüllerden oluşurken, az bir kısmı ise arteriollerden oluşur. Bu damarlar, stromaya doğru progresif olarak ilerleyerek; arteriol, venül ve kapillerleri oluşturmak üzere matürasyona uğrarlar (42,45). Vaskülarizasyon süreci limbustan başlar, eğer kornea ile iris arasında temas varsa, iris damarları korneaya penetre olur ve korneal skar boyunca yayılır. Sonuçta, genellikle korneanın bir tabaka veya bölgesinde sınırlandırılmış, skatrisyel dokunun içinde anastomozların görüldüğü yaygın vasküler bir ağ oluşur (42).

Enflamatuar durumlarda damarların oluşumu, sıklıkla lökosit infiltrasyonunu takip eder ve üçgen şeklindeki damar kümeleri enflamasyon odağına doğru büyürler. Penetran keratoplastide, konak-greft bileşke yerinde ve limbal vernal keratokonjonktivitteki vaskülarizasyon halkası ise korneayı dairesel bir şekilde çevreler. Trahomdaki süperior limbal pannus ve süperior limbal keratokonjonktivit hariç olmak üzere, genellikle belirli bir hastalık tek bir vaskülarizasyon paterni ile karakterize değildir. Aktif enflamasyon sırasında, stromal damarlar genişleyip içi kan ile dolarken, enflamasyon baskılanınca ise

içi boş hayalet damarlara dönüşürler. Enflamasyonun tekrarladığı veya iskeminin geliştiği durumlarda ise damarların içi tekrar kan ile dolar (42).

Korneal vaskülarizasyon; inhibe edici faktörlerin azalması ya da özellikle lökositler tarafından üretilen anjiogenetik faktörlerin artması sonucunda oluşur (42, 46-48).

## **2.3. ANJİOGENEZİS**

### **2.3.1. Vaskülojenenezis ve Anjiogenenezis**

Damar gelişimi iki farklı şekilde meydana gelir.

1. Vaskülojenenezis, embriyoda endotel hücre öncüllerinin farklılaşması ile damar oluşumudur.

2. Anjiogenenezis ise daha önce oluşmuş damarlardan yeni damarların gelişimidir.

Erişkinlerde anjiogenenezis, kadınların üreme döngüsü, kılıbüyümesi ve kan basıncı düzenlenmesini içeren normal biyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Normal biyolojik fonksiyonlar dışında iskemi, enflamasyon ve tümör gelişimi gibi bazı patolojik durumlarda da görülür. Anjiogenenezis oldukça karmaşık bir süreçtir ve çeşitli evreleri vardır bunlar:

1. Anjiogenik stimulus (ör. alkali yanık, herpes simpleks enfeksiyonu ve hipoksi).

2. Latent periyot.

3. Limbal damarların dilatasyonu.

4. Venül ve kapillerlerin bazal membranlarının enzimatik yıkımı.

5. Endotel hücre proliferasyonu ve uyarı alanına göçü.

6. Endotel hücrelerinde, tomurcuk oluşturacak şekilde uzama ve lümen oluşumu.

7. Damar tomurcuklarının birleşerek, kan akımını sağlayan vasküler tüp oluşturması.

8. Periendotelial hücrelerin, endotelial tüpleri desteklemek için toplanması.

9. Oluşan damarların matürasyonu.

İnsanlarda angiogenesis, angiogenic ve antiangiogenic faktörlerin dağılımına bağlı olarak gelişir (49, 50, 51). Tablo 1'de angiogenic ve antiangiogenic faktörler yer almaktadır.

**Tablo 1:** Angiogenesisi uyaran ve inhibe eden faktörler (52, 53, 54)

<b>Angiogenesisi Uyararan Faktörler</b>	<b>Angiogenesisi Engelleyen Faktörler</b>
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	Kallistatin yada Kallikrein bağlayan protein
Anjiopoetin-1, Anjiopoetin-2	Arrestin
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	Endorepellin
Eritropoietin(EPO)	Endostatin
Fibroblast büyüme faktörleri(FGF)	Fibulin
İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)	Trombospondin-1 (TSP-1)
İntegrinler	Trombospondin-2 (TSP-2)
İnterlökin-8	Tumstatin
Hepatosit büyüme faktörü, Anjiogenin	İnterferonlar (alfa,beta,gama)
Leptin	İnterlökinler (IL-4,IL-12,IL-18)
Matriks metalloproteinazlar	Pigment epitel kaynaklı faktör (PEDF)
Nitrik oksit sentataz	Trombosit faktör-4
Plasental büyüme faktörü (PIGF)	Troponin 1
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)	Anjiostatin Antitrombin
Pleotrophin	Plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI)
Doku faktörü/ PAR	Prolaktin fragmanı
Transforming growth faktör- $\alpha$ (TGF- $\alpha$ )	T2-TrpRS
Tümör nekrozis faktör- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )	Taurolidin
VE-kadherin	TIMP



### 2.3.2. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

Endotel hücrelerine özgül olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ailesi ilk olarak 1980'lerde bulunmuştur. VEGF, damar endotel hücrelerine özgü, homodimerik, glikoprotein yapısında, heparin bağlayan büyüme faktörüdür. VEGF geni kromozom 6p21.3 üzerinde yer alır (54). 45 KD büyüklüğündedir. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), özellikle endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir (55, 56). Bu büyüme faktörü, özellikle damar oluşumunda kritik rol oynarken, endotel hücrelerinin yaptığı birçok fonksiyonda da gerekli olup, ayrıca yara iyileşmesi, oküler neovasküler hastalıklar ve kronik enflamatuar hastalıklar gibi birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olayda görev almaktadır (56).

### 2.3.3. VEGF İzofomları

VEGF ailesi şunlardan oluşmaktadır; VEGF-A (Human-VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F (svVEGF) ve PlGF (plasenta büyüme faktörü) (57, 58, 59,60).

VEGF A, aynı zamanda İnsan-VEGF'si olarak bilinmekte olup, VEGF-A bazı yayınlarda sadece VEGF olarak adlandırılmaktadır (57). VEGF-A'nın şu ana kadar bilinen altı tane izoformu tanımlanmıştır. Bunlar VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub> ve VEGF<sub>206</sub> olarak isimlendirilmiş ve beraberindeki sayılar içerdikleri aminoasit sayısını göstermektedir (61, 62,63). Bunlardan göz patolojileri ile en yakın ilişkide olanın ise VEGF<sub>165(164)</sub> olduğu bildirilmektedir (64). VEGF-A, VEGF-R1 ve VEGF-R2 reseptörlerine bağlanarak anjiogenezde önemli bir mediatör olarak görev alır. VEGF sayesinde, endotel hücreleri proliferer olup, göç edip, dizilerek, yeni damarlar için öncü olan tüp formasyonu oluşmasını sağlayarak anjiogenezisi uyarmaktadır (65).

VEGF-B; vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1)'e bağlanarak monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmasında rol alır (66). VEGF-C; lenfatik damarların oluşmasında (lenfanjiogenez) rol oynamaktadır. VEGFR-2

ve VEGFR-3'e bağlanarak vasküler ve lenfatik endotel hücrelerde mitojenik etki yapar (58, 66). VEGF-D; VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak VEGF-C ile benzer işlevler yapar (59, 66).

VEGF-E; güçlü bir mitojen ve permeabilite artırıcı faktörü olup, VEGFR-2'ye seçici olarak bağlanarak etkisini gösterir (66).

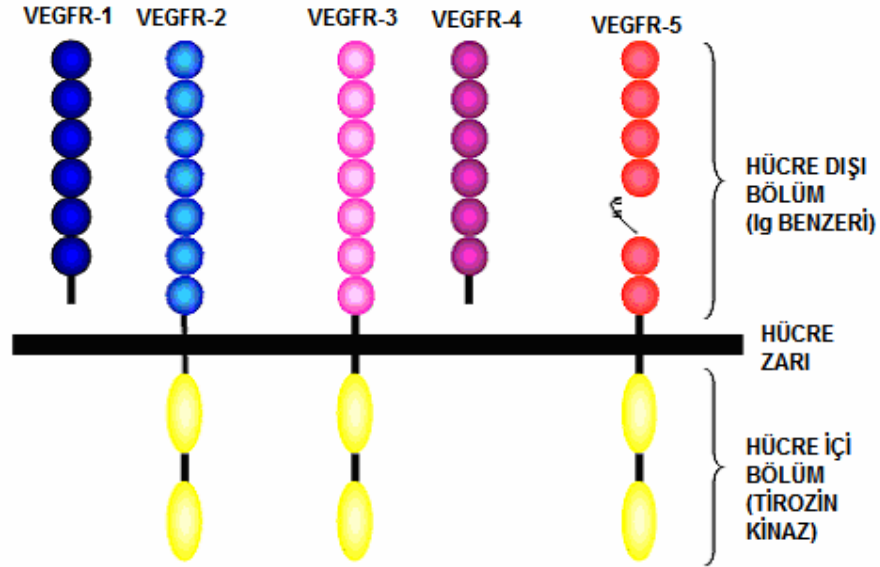
VEGF-F (svVEGF); ilk kez yılan zehirinde tespit edilmiş olup, VEGF'nin moleküler yapısına çok benzeyen bir moleküldür. Anjiogenezisi ve damar permeabilitesini artırır (60). PlGF; VEGF ailesinin tanımlanan ilk üyesi olup, VEGF-B gibi VEGFR-1'e bağlanarak etki gösterir (66).

#### **2.3.4. VEGF Üretim Regülasyonu**

Genellikle makrofajlar -T hücreleri, retina pigment epitel hücreleri, astrositler ve düz kas hücreleri- tarafından üretilmektedir. VEGF üretimini motive eden faktörler; fibroblast büyüme faktör 4, PDGF, tümör nekrosis faktör, transforming büyüme faktör, keratinosit büyüme faktör, interlökin 1, ve interlökin-6 dır. IL-10 ve IL-13 ise VEGF salınımını inhibe eder. Yara yerini işgal eden nötrofiller tarafından salınan keratinosit büyüme faktörü ve hidrojen peroksidler VEGF'lerin keratinositler tarafından üretimini stimüle eder. VEGF düzeyi yükselmesine neden olan bir diğer molekül nitrik oksittir. Nitrik oksitler, VEGF'un vazodilatasyon ve damar sızması fonksiyonunu artırır. Nitrik oksit üretimi ise VEGF'e bağlı olup aralarında kapalı devre ilişkisi mevcuttur. VEGF ekspresyonunun majör stimilatörü hipoksi ve hipoglisemidir. Hipoksi VEGF mRNA transkripsiyonuna neden olmaktadır, bu mekanizma Hipoksi-inducible faktör 1 ile VEGF promoter üzerindeki Hipoksi-inducible faktör 1 reseptörün bağlanması ile açıklanmaktadır (67).

#### **2.3.5. VEGF Reseptörleri**

Bu büyüme faktörü ailesinin endotel hücresinde etki gösterebilmesi için öncelikle ona bağlanabilmesi gerekir. Endotel hücreleri VEGF'den faydalanabilmek için onun bağlanabileceği özgül reseptörleri sentezler. Bu reseptörler 5 tanedir: VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 (Şekil 1).

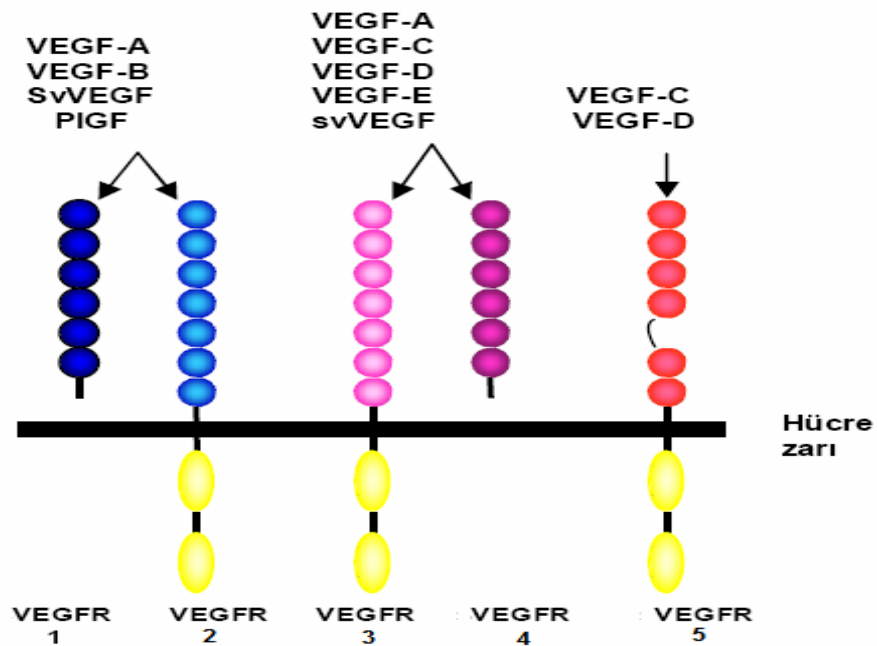


**Şekil 1:** VEGF reseptörlerinin çeşitleri ve yapıları

İlk bulunan reseptörler VEGF reseptör-1 (VEGFR-1, flt-1) ve VEGF reseptör-2 (VEGFR-2, flk-1, KDR)'dir. VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin farklı sinyal özellikleri olduğu gösterilmiştir (68). VEGFR-1 reseptörü, VEGF-A, VEGF-B, svVEGF ve PlGF'nin etkilerine aracılık etmekte olup, anjiogeneziste sinyalizasyonu baskılayarak negatif yönde bir etki göstermektedir (55).

VEGFR-2 ise VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve svVEGF'nin etkilerine aracılık eder. Farelerde yapılan bazı çalışmalarında, VEGFR-2'nin eksik veya bozuk ekspresyonu durumunda, hematopoetik prekürsörlerin, farklılaŐmıŐ endotel hücrelerinin ve organize kan damarlarının gelişmediği görülmüştür. Bu da VEGFR-2'nin hem endotelial hem de hematopoetik öncül hücrelerin gelişimi için zorunlu olduğunu göstermektedir. VEGFR-1'in yapımındaki aksaklıklarda ise olgun endotel hücreleri oluşabilmekle birlikte, bu damarların aşırı genişlediği ve yapısal bazı bozukluklara sahip olduğu bildirilmiŐtir. Bu olay da VEGFR-1'in hücre-hücre veya hücre-matriks etkileŐimleri ile doku mimarisinin belirlenmesinde rolü olduğunu göstermektedir (68).

VEGFR-1, VEGF-A ve PlGF'ye yüksek affinite ile bağlanır ama iyi bir proliferasyon ve kemotaktik yanıt elde edilemez. Ancak PlGF'ye bağlanmayan ama VEGF'ye sıkıca bağlanan VEGFR-2 ile iyi cevap alınır (69). Yapılan bir çalışmada, bu reseptörlerden yoksun domuz aortik endotel hücrelerine sadece VEGFR-2 kodlayan bir plazmid verildiğinde, bu hücrelerin mitoz geçirdikleri ve kemotaksiste yer aldıkları gösterilmiştir (70). Bu da bize VEGFR-2'nin mitoz ve kemotaksisten sorumlu olduğunu göstermektedir. İnsan göbek kordonu veninden elde edilen endotel hücre kültüründe VEGFR-2 aktive edildiğinde, anti-apoptotik etkilerin gerçekleştiği gösterilmiştir (57). VEGFR-3 (flt-4); özellikle lenfatik damarların gelişiminde rol alan VEGF-C ve VEGF-D'nin bağlandığı reseptördür ve lenfanjiogenezi rol alır (68). (Şekil 2) sVEGFR-1; bu form VEGFR-1'in kompetitif inhibitörü olarak görev yapmaktadır (71). sVEGFR-2; VEGFR-2'nin plazmada serbest olarak dolaşan çözünebilir bir formu olup, anjiogenezi engelleyici rol oynadığı düşünülmektedir (65, 72).



**Şekil 2:** VEGF ailesi üyeleri ve bağlandıkları reseptörler

## **2.4. KORNEAL NEOVASKÜLARİZASYONDA TEDAVİ**

Kornea neovaskülarizasyonu stromal ödem, yağ depolanması veya nedbe dokusunun gelişmesine bağlı görme azalmasına neden olmaktadır ve bu durum ciddi bir medikal veya cerrahi tedavi ihtiyacı ortaya çıkartmaktadır.

### **2.4.1. Medikal Tedavi**

Korneal neovaskülarizasyonu azaltmak için klinik ve deneysel çalışmalarda kortikosteroidler, nonsteroid antienflamatuarlar, heparin, siklosporin A, rapamisin, FK 506, somatostatin analogu (octreotid asetat), izoflovanoidler, doksisisiklin, heparan sülfat, genistein, suramin, metotreksat, talidomid, spironolakton, topikal IL-1 reseptör antagonistleri, bevacizumab gibi medikal tedavi yöntemleri mevcuttur. Korneal neovaskülarizasyon tedavisinde çok fazla ajan denenmiş olmakla birlikte, topikal kortikosteroidler hala en sık kullanılan ilaçlardır (73, 74, 75-86).

### **2.4.2. Cerrahi tedavi**

Cerrahi tedavi ile ilgili ilk çalışmalar, damarın argon lazer, elektrokoagülasyon ve fotodinamik tedavi gibi değişik yöntemlerle kapatılması yönünde olmuştur. Oluşmuş kornea neovaskülarizasyonun tedavisinde sarı boya (577 nm) lazer fotokoagülasyon kullanılmıştır. Bu tekniğin hayvan modelinde güvenli olduğu gösterilmiş (87,88) ve daha sonra insanlarda ciddi kornea neovaskülarizasyonu olan olgularda (medikal tedaviye dirençli), keratoplasti öncesi (neovaskülarizasyonu önlemek için) ve keratoplasti sonrası (neovaskülarizasyon tedavisinde) denenmiştir. Her ne kadar bu tedavi, ciddi kornea neovaskülarizasyonu ve keratoplasti sonrası damar gerilemesinde bir miktar etkili olsa da, yüksek risk keratoplasti hastalarında cerrahi öncesinde uygulandığında etkisi pek fazla açık olmamakla birlikte ve bu tekniğin yaygın kornea neovaskülarizasyonlarda faydalı olmadığı gösterilmiştir (89, 90). Bunlara ilave olarak, kornea neovaskülarizasyonunda limbal kök hücre ve amnion zarı transplantasyonu, uygun olgularda yararlı olabilmektedir (91,92).

Yukarıda anlatılan tedavi modalitelerine ek olarak enfeksiyöz keratitlerin anti bakteriyel veya antiviral tedavisi; iatrojenik kornea

neovaskularizasyonunda sütür veya kontakt lensin çıkarılması; meibomian bezi disfonksiyonunda lbrikasyon ve göz kapağı hijyeni; atopik dermatitlerde allerjenden uzak durmak ve oküler skatrisyel pemfigoidde sistemik immünosupresan tedavi gibi altta yatan nedenlere yönelik tedaviler ve kornea neovaskularizasyonuna neden olan spesifik hastalıkların tedavisi büyük önem arz etmektedir.

### **2.4.3. Bevacizumab**

Bevacizumab VEGF-A'nın tüm izoformlarını inhibe eden rekombinant humanize edilmiş murin yapısında bir monoklonal antikordur (93). Bevacizumab, VEGF-A'nın bütün izoformlarına bağlanır (94). Bevacizumab, VEGF'nin damar endotelial hücrelerinin yüzeyindeki VEGFR-1 ve VEGFR-2 reseptörlerine bağlanmasını inhibe ederek damar oluşumunu baskılar (94, 95, 96). Bu etkisinden dolayı ilk olarak metastatik kolorektal kanserlerde antianjiogenik ajan olarak intravenöz yolla kullanılmaya başlanmıştır (97). Tümör dokusunda oksijenizasyon ve besin yoksunluğuna yol açarak ve anormal damarlanma üzerinde geçici bir düzelme sağlayarak etki gösterdiği düşünülmektedir. Bu nedenle neovaskularizasyon ve demle giden oküler hastalıklarda da etkili olabileceği düşünülmüştür. Bevacizumab son yıllarda kolorektal kanserlerin yanısıra yaygın bir şekilde yaşa bağlı makula dejenerasyonu, iskemik retinopatiler ve neovaskuler glokomda tedavide kullanılmaktadır (19).

Bevacizumabın korneal neovaskularizasyondaki etkinliği ise son yıllarda araştırılmakta olup, yapılan klinik çalışma ve hayvan modellerinde subkonjonktival ve topikal kullanım ile korneal neovaskularizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (94,98).

### **2.4.4. Florometolon Asetat**

Florometolon Asetat, sentetik kortikosteroid analoğu, bir antiinflamatuvar ajandır. Gözde birçok enflamatuvar ve immün hastalıkta kullanılmaktadır. Kortikosteroidler, korneal neovaskularizasyonun tedavisinde hala asıl tedaviyi teşkil etmektedirler. Klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmalarına

rağmen, Fluorometolon Asetat ve diğler steroidlerin antianjiogenik etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, kortikosteroidlerin, membran fosfolipidlerinden araşidonik asit oluşumunu inhibe ederek, prostaglandin ve lökotrienler gibi enflamatuar mediatörlerin azalması yoluyla anjiogenezisi inhibe ettiğı öne sürölmektedir (99).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi T-391 nolu proje kapsamında ve Üniversitemiz Deney Hayvanları Etik Kurulunun 2009/291 sayılı onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada toplam 24 adet Wistar-Albino cinsi (250–300 gr) erişkin rat kullanıldı. Tüm denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda normal oda sıcaklığında (22°C) tutuldu. Tüm denekler standart rat yemi ile beslendi, şebeke suyu kullandı ve düzenli olarak kafes bakımları yapıldı ve sadece sağ gözleri çalışmaya dahil edildi.

#### 3.1. ANESTEZİ TEKNİĞİ

Bütün deneklere intraperitoneal 90 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®; Eczacıbaşı, Türkiye) ve 3 mg/kg xylazine (Rompun®; Bayer, Türkiye) kombinasyonu ile sağlanan genel anestezi uygulandı. Kornealarda alkali yanık oluşturma öncesinde tüm gözlere topikal %0.5 proparakain hidroklorid (Alcaine®; Alcon, Fort Worth, Texas-ABD), damlatılarak analjezi sağlandı.

#### 3.2. ALKALİ YANIK OLUŞTURULMASI

Standart kornea alkali yanığı; her bir deneğin sağ gözüne, Kwon ve arkadaşları tarafından tanımlanan model (100), modifiye edilerek uygulandı. Alkali yanık oluşturulacak denekler, anestezi uygulandıktan sonra ameliyat masasına alındı ve yüzü cerrahi masasına gelecek şekilde yan olarak yatırıldı. Göz çevresi % 10'luk batikonla silinerek ve üzeri steril örtüyle kaplanıp steril ortam sağlandı. Alkali yanık oluşturmak için kornea santraline 1 N NaOH' le ıslatılmış künt uçlu pamuk aplikatör 10 saniye süreyle uygulanarak ortalama 2-2.5 mm çapında yanık oluşturuldu. Sonrasında artık kimyasalların ortamdaki uzaklaştırılması için kornea ve forniksler bol miktarda dengeli tuz solüsyonu ile yıkandı.

#### 3.3. GRUPLAR

Denekler randomize olarak dört gruba ayrıldı:



**Grup 1** (n=6): Korneada alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra başlamak üzere, Sodyum Karboksimetilselüloz (Refresh®, Allergan, USA) topikal günde iki kez, yirmi bir gün boyunca damlatıldı. (Kontrol grubu )

**Grup 2** (n=6): Korneada alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra başlamak üzere, topikal %0.1 florometolon asetat (Flarex®, Allergan, USA), günde iki kez, yirmi bir gün boyunca damlatıldı.

**Grup 3** (n=6): Korneada alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra, 0.1 ml, 2.5 mg bevacuzimab (Altuzan®, Roche, Sanfransisko, ABD), limbusun 1 mm gerisine üst subkonjonktival alana bir kez yapıldı.

**Grup 4** (n=6): Korneada alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra başlamak üzere, topikal 5 mg/ml'lik bevacuzimab (Altuzan®, Roche, San Francisco, ABD), günde iki kez, yirmi bir gün boyunca damlatıldı.

### **3.4. KORNEA NEOVASKÜLARİZASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yirmi bir gün sonra tüm denekler biyomikroskopla muayene edildi ve ön segment fotoğrafları TRC-50IX retina kamerasına (Itabashiku, Tokyo, Japonya) monte edilmiş Nikon dijital kamera (D-200 model) kullanılarak fotoğraflandı. Toplam kornea alanı, neovaskülerizasyon alanı ve neovaskülerizasyon alanının toplam kornea alanına yüzdesi dijital bilgisayar imaj analizi programı kullanılarak hesaplandı. (Topcon Image Net 2000, Itabashiku, Tokyo, Japonya)

### **3.5. KORNEAL ÖDEM VE OPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Korneal ödem ve opasitenin değerlendirilmesi biyomikroskopik muayeneye göre ; Yoeruek ve arkadaşlarının tarif ettikleri şekilde yapıldı (101). Buna göre; korneal ödem varlığı 0-2 arasında skorlandı. Korneal ödem skoru ödem yok ise ;0, hafif ise ;1, çok fazla ise 2 olarak değerlendirildi. Korneal opasite 0-4 arasında skorlandı. Korneal opasite skoru kornea tamamıyla şeffaf ise; 0, az puslu, iris ve pupil kolayca görülebiliyor ise; 1, az opak, iris ve pupil hala değerlendirilebiliyor ise; 2, opak, pupil zorla seçilebiliyor ise; 3, tamamıyla opak, pupil seçilemiyor ise 4 olarak değerlendirildi. Deney sonunda tüm denekler yüksek doz pentobarbital (Pentotal®; Abbott, ABD) ile sakrifiye edildi.

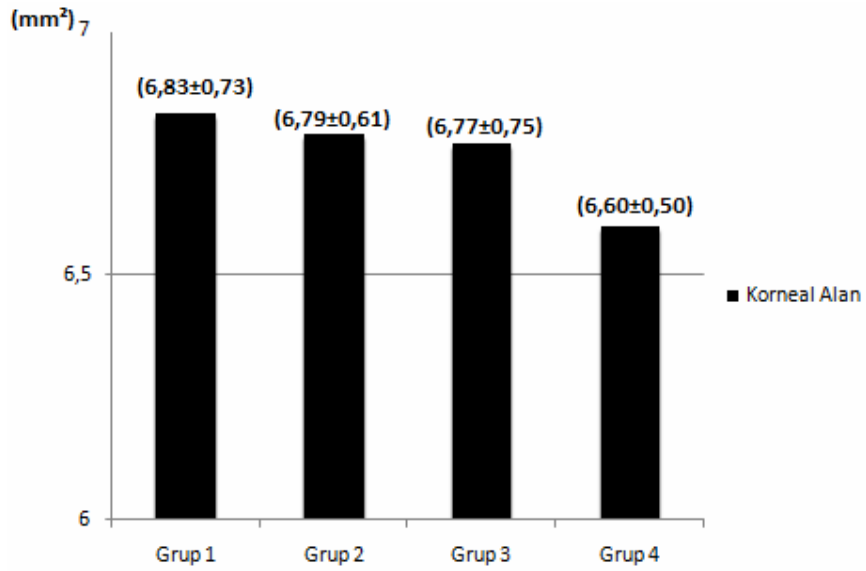
### **İstatistiksel Analiz**

Çalışmadaki değişkenlerin dağılımlarının değerlendirilmesi Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. Normal dağılım gösteren veriler için tanımlayıcı istatistikler ortalama  $\pm$  standart sapma, normal dağılmayan veriler için ortanca (en küçük değer ve en büyük değer), nominal veriler için oran (%) olarak ifade edildi. İki grubun ortalamalarının karşılaştırılması, parametrik test varsayımları sağlandığında iki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi (independent-samples-t-testi), sağlanmadığında ise Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. İki ya da daha fazla grupta nominal değerlerin karşılaştırılması “ki kare” testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık 0.05’in altında olan p değerleri olarak kabul edildi. Veri analizi için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 16.0 for Windows kullanıldı. Bütün değerler ortalama  $\pm$  SD olarak belirlendi. Tüm grafikler GraphPad Prism 5.0 programı yardımıyla çizildi.

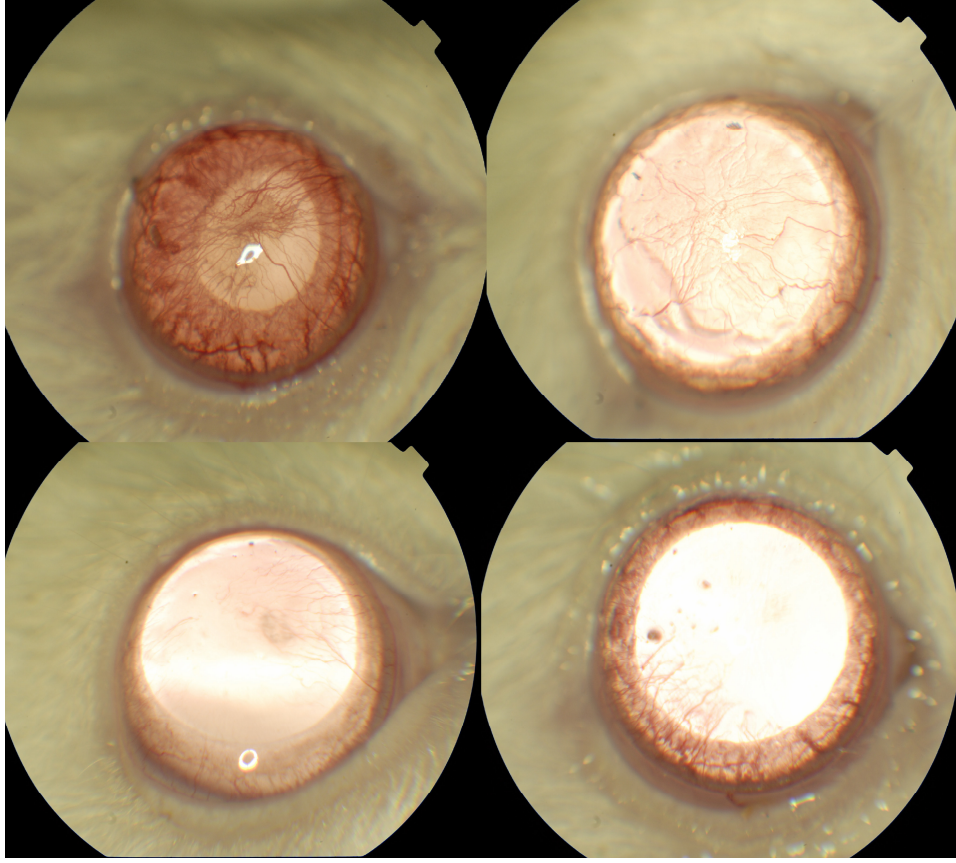
## 4. BULGULAR

### 4.1. TOPLAM KORNEAL ALAN

Tüm gruplarda toplam korneal alan mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Gruplardaki ortalama toplam korneal alan sırasıyla şöyleydi: Birinci grupta 6,83±0,73 mm<sup>2</sup>, 2. grupta 6,79±0,61 mm<sup>2</sup>, 3. grupta 6,77±0,75 mm<sup>2</sup>, 4. grupta ise 6,60±0,50 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. (Şekil 3) Dört grubun toplam korneal alan ortalaması 6,75±0,62 mm<sup>2</sup> idi. Toplam korneal alan açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05). Deneklerin makroskopik fotoğrafları Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 3: Gruplardaki toplam korneal alan (mm<sup>2</sup>)

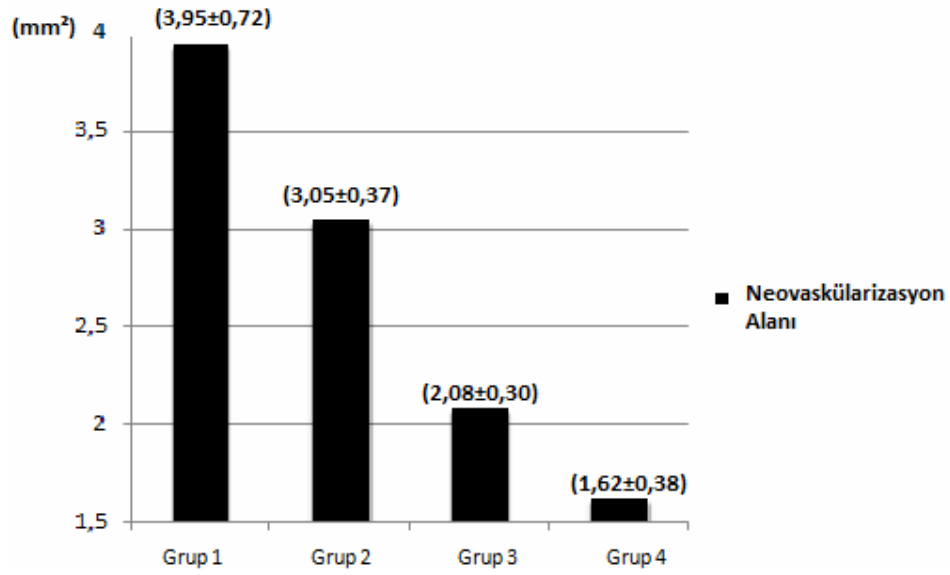


**Şekil 4:** Deneklerin makroskopik fotoğrafları

(Sağ üstte Grup 1, sol üstte Grup 2, sağ altta Grup 3, sol altta Grup 4'e ait makroskopik fotoğraflar)

#### 4.2. NEOVASKÜLARİZASYON ALANI

Kornea merkezinde oluşturulan standart alkali yanığına bağlı damarlanma cevabı tüm kornealarda gözlemlendi. Neovaskülarizasyon alanı açısından grupların ortalama değerleri sırasıyla şöyleydi: Birinci grup  $3,95 \pm 0,72$  mm<sup>2</sup>, 2. grup  $3,05 \pm 0,37$  mm<sup>2</sup>, 3. grup  $2,08 \pm 0,30$  mm<sup>2</sup>, 4. grup  $1,62 \pm 0,38$  mm<sup>2</sup>. Tüm grupların toplam ortalama korneal neovaskülarizasyon alanı ise  $2,68 \pm 1,01$  mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı.

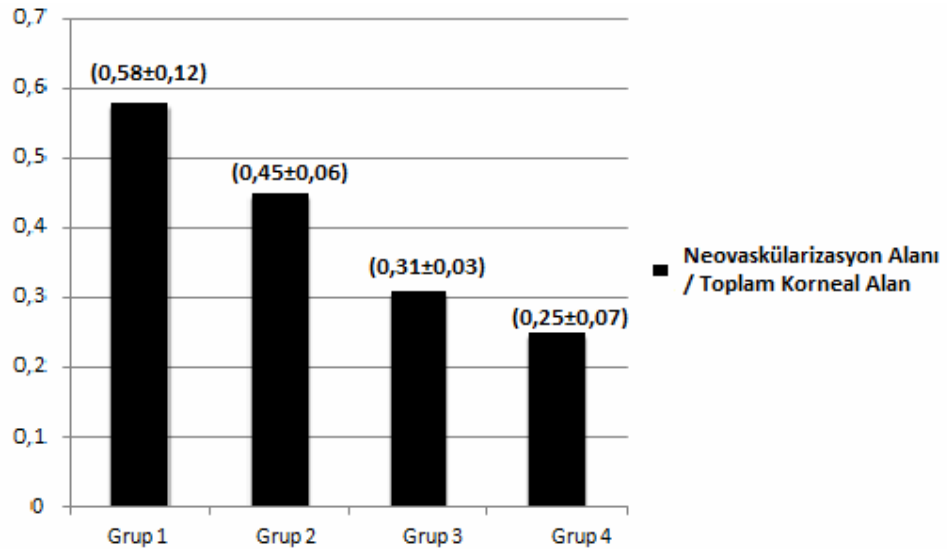


**Şekil 5:** Gruplardaki ortalama korneal neovaskülarizasyon alanı

İkinci, 3. ve 4. grupta ortalama korneal neovaskülarizasyon alanı kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ). Üçüncü ve 4. grupta korneal neovaskülarizasyon alanı 2. gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu. Dördüncü grupta ortalama korneal neovaskülarizasyon alanı 3. gruba göre daha düşük olmakla birlikte bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ).

#### 4.3. NEOVASKÜLARİZASYON ALANININ TOPLAM KORNEAL ALANA ORANI

Neovaskülarizasyon alanının toplam korneal alana oranı açısından grupların ortalama oranları sırasıyla şöyleydi: Birinci grup  $0,58 \pm 0,12$ , 2. grup  $0,45 \pm 0,06$ , 3. grup  $0,31 \pm 0,03$  4. grup  $0,25 \pm 0,07$ . Tüm grupların toplam ortalama korneal neovaskülarizasyon alanının toplam korneal alana oranı ise  $0,40 \pm 0,15$  olarak hesaplandı (Şekil 5).

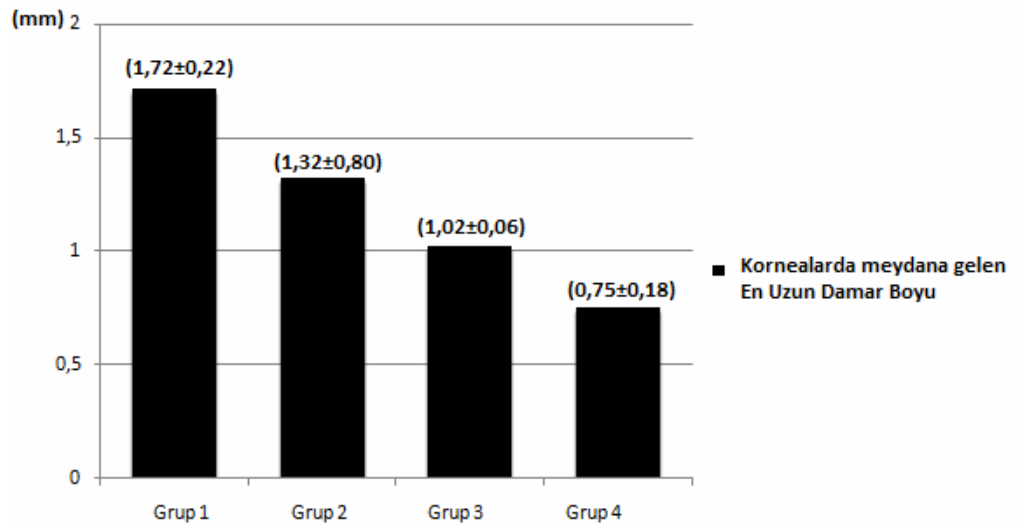


**Şekil 6:** Gruplardaki neovaskülarizasyon alanının toplam korneal alana oranı

İkinci, 3. ve 4. grupta neovaskülarizasyon alanının toplam korneal alana oranı kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ). Üçüncü ve 4. grupta neovaskülarizasyon alanının toplam korneal alana oranı 2. gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu. Dördüncü grupta neovaskülarizasyon alanının toplam korneal alana oranı 3. gruba göre daha düşük olmakla birlikte bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ).

#### 4.4. KORNEALARDA GELİŞEN EN UZUN DAMAR BOYU

Kornealarda meydana gelen en uzun damar boyu (mm) açısından gruplar değerlendirildiğinde grupların ortalama değerleri sırasıyla şöyleydi: birinci grup  $1,72\pm0,22$  mm, 2. grup  $1,32\pm0,80$  mm, 3. grup  $1,02\pm0,06$  mm, 4. grup  $0,75\pm0,18$  mm. Dört grubun toplam ortalama en uzun damar boyu ise  $1,20\pm0,40$  mm olarak hesaplandı (Şekil 6).



**Şekil 7:** Tüm gruplardaki ortalama en uzun damar boyu (mm)

İkinci, 3. ve 4. grupta meydana gelen en uzun damar boyu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha kısa olarak bulundu ( $p<0,05$ ). Üçüncü ve 4. grupta meydana gelen en uzun damar boyu 2. gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha kısa bulundu. Dördüncü grupta diğer parametrelerden farklı olarak, ölçülen en uzun damar boyu 3. gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı şekilde daha kısaydı ( $p<0,05$ ).

Tüm gruplardaki ortalama toplam korneal alan ( $\text{mm}^2$ ), neovaskülarizasyon alanı ( $\text{mm}^2$ ), neovaskülarizasyon alanı / toplam korneal alan (oran) ve en uzun damar boyu (mm) değerleri toplu halde Tablo 2 de gösterilmektedir.

**Tablo 2:** Gruplardaki ortalama toplam korneal alan (mm<sup>2</sup>), neovaskularizasyon alanı(mm<sup>2</sup>), neovaskularizasyon alanı / toplam korneal alan (oran) ve en uzun damar boyu (mm)

	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>	<b>Grup 4</b>
<b>Toplam Alan(mm<sup>2</sup>)</b>	6,83 ± 0,73	6,79 ± 0,61	6,77 ± 0,75	6,60 ± 0,50
<b>NV alanı (mm<sup>2</sup>)</b>	3,95 ± 0,72	3,05 ± 0,37	2,08 ± 0,30	1,62 ± 0,38
<b>NV/Toplam Alan</b>	0,58 ± 0,12	0,45 ± 0,06	0,31 ± 0,03	0,25 ± 0,07
<b>En Uzun Damar Boyu (mm)</b>	1,72 ± 0,22	1,32 ± 0,80	1,02 ± 0,06	0,75 ± 0,18

#### 4.5. KORNEAL ÖDEM

Korneal ödem açısından gruplar değerlendirildiğinde 1. grupta korneaların %16,7' si (n=1) hafif ödemli, %83'ü (n=5) ciddi ödemli olarak saptandı. İkinci grupta korneaların %33,3' ü (n=2) hafif ödemli, %66,7'si (n=4) ciddi ödemli olduğu, 3.üncü grupta korneaların %50' sinde (n=3), ödem saptanmazken, %50'sinin (n=3) hafif ödemli olduğu görüldü. Dördüncü ve son grupta ise korneaların %50' sinde (n=3), ödem saptanmazken, %50'sinin (n=3) hafif ödemli olduğu gözlemlendi. Bütün gruplar göz önüne alındığına tüm korneaların %25'inde (n=6) ödem saptanmazken, %37,5'inde (n=9) hafif ödem, %37,5'inde (n=9) ciddi ödem görüldü (Tablo 3-Şekil 7).

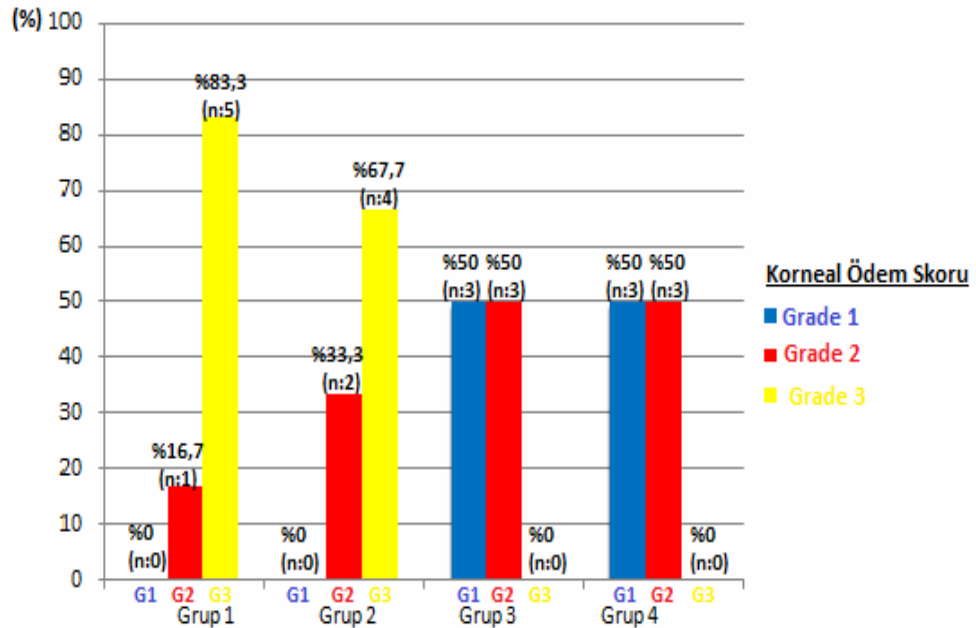


**Tablo 3:** Gruplardaki korneal ödem düzeyleri

	<b>Grade 1 (%)</b>	<b>Grade 2 (%)</b>	<b>Grade 3 (%)</b>
<b>Grup 1</b>	% 0 (n:0)	% 16,7 (n:1)	% 83,3 (n:5)
<b>Grup 2</b>	% 0 (n:0)	%33,3 (n:2)	% 66,7 (n:4)
<b>Grup 3</b>	% 50 (n:3)	% 50 (n:3)	% 0(n:0)
<b>Grup 4</b>	% 50 (n:3)	% 50 (n:3)	% 0 (n:0)

(*Korneal Ödem skoru; Grade 1:Ödem yok, Grade 2: Hafif Ödem, Grade 3: Ciddi Ödem* )

İkinci, 3. ve 4. grupta korneal ödem skoru kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük olarak bulundu ( $p < 0,05$ ). Üçüncü ve 4. grupta korneal ödem skoru 2. gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu. Üçüncü ve dördüncü gruplar arasında korneal ödem skoru açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ).

**Şekil 8:** Gruplardaki Korneal ödem skorları

#### 4.6. KORNEAL OPASİTE

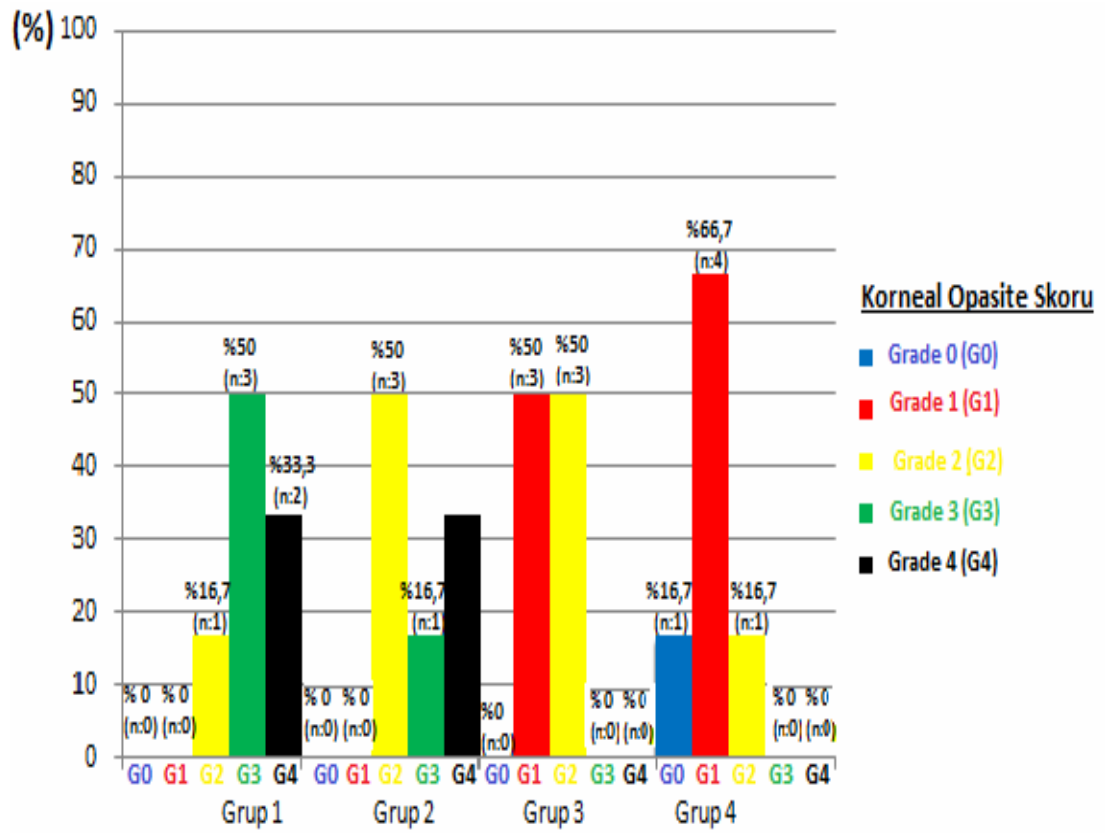
Korneal opasite açısından gruplar değerlendirildiğinde birinci grupta korneaların %16,7' si (n=1) az opak, %50'sinin (n=3) opak, %33,3' nün ise (n=2) tamamen opak olduğu; 2. grupta korneaların %50'si (n=3) az opak, %16,7'si (n=1) opak, %33,3' nün ise (n=2) tamamen opak olduğu; 3. grupta korneaların %50' si (n=3), az puslu, %50'sinin ise (n=3) az opak olduğu görüldü. Dördüncü ve son grupta ise korneaların %16,7' si (n=1) şeffaf, %66,7'sinin (n=4) az puslu, %16,7' sinin ise (n=1) az opak olduğu gözlemlendi. Bütün gruplar göz önüne alındığına tüm korneaların %4,2' si(n=1) şeffaf, %29,2'si (n=7) az puslu, %33,3 'ü (n=8) az opak, %16,7' sinin ise (n=4) tamamen opak olduğu grüldü (Tablo 4-Şekil 8).

**Tablo 4:** Gruplardaki korneal opasite skoru dağılımı

	<b>Grade 0 (%)</b>	<b>Grade 1 (%)</b>	<b>Grade 2 (%)</b>	<b>Grade 3 (%)</b>	<b>Grade 4 (%)</b>
<b>Grup 1</b>	% 0 (n:0)	% 0 (n:0)	% 16,7 (n:1)	% 50 (n:3)	% 33,3 (n:2)
<b>Grup 2</b>	% 0 (n:0)	% 0 (n:0)	% 50 (n:3)	% 16,7 (n:1)	% 33,3 (n:2)
<b>Grup 3</b>	% 0 (n:0)	% 50 (n:3)	% 50 (n:3)	% 0 (n:0)	% 0 (n:0)
<b>Grup 4</b>	% 16,7 (n:1)	% 66,7 (n:4)	% 16,7 (n:1)	% 0 (n:0)	% 0 (n:0)

(**Korneal opasite skoru;** Grade 0:tamamıyla şeffaf, Grade 1: az puslu,iris ve pupil kolayca görülebiliyor, Grade 2: az opak, iris ve pupil hala değerlendirilebiliyor, Grade 3: opak pupil zorla seçilebiliyor, Grade 4: tamamıyla opak, pupil seçilemiyor)

İkinci, 3. ve 4. grupta korneal opasite skoru kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük olarak bulundu ( $p<0,05$ ). Üçüncü ve 4. grupta korneal opasite skoru 2. gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu. Dördüncü grupta korneal opasite skoru 3. gruba göre daha düşük olmakla birlikte bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).



Şekil 9: Gruplardaki korneal opasite skorları

## 5. TARTIŞMA

Korneada yeni ve kontrolsüz damar gelişimi, birçok korneal hastalığın patogeneğinde çok önemlidir. Ayrıca bu hastalıkların tedavi yönetimleri problemlidir ve sonuçta körlüğe kadar gidebilen sonuçlara neden olabilmektedirler. Travma, kimyasal yanık, kontakt lens kullanımı ile oluşan hipoksi, enfeksiyon ve dejeneratif hastalıklar gibi nedenler avasküler yapıdaki korneada vaskülarizasyona yol açabilirler. Korneadaki yeni damar oluşumunu önleyecek, durduracak veya geciktirecek tedavi modalitelerine ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda, korneal neovaskülarizasyonun tedavisinde kortikosteroidler, nonsteroid antienflamatuarlar, siklosporin A, somatostatin analogları, askorbik asit, talidomid, rapamisin ve metotreksatın kullanıldığı bildirilmektedir (102, 103-110). Ayrıca laser fotokoagülasyon, diatermi ve fotodinamik tedavi gibi yöntemler de korneal neovaskülarizasyonun tedavisinde kullanılmaktadır (111-113).

Günümüzde korneal neovaskülarizasyonun tedavisinde oftalmoloji pratiğinde en yaygın kullanılan ilaçlar kortikosteroidlerdir. Kortikosteroidlerin korneal neovaskülarizasyondaki etki mekanizmaları açık olmamakla birlikte membran fosfolipidlerinden araşidonik asit salınımını baskılayarak, prostaglandin ve lökotrien gibi enflamatuar mediatörlerin oluşumunu azaltmak suretiyle kapiller geçirgenliği ve lökosit göçünü engelleyerek anjiogenezi inhibe ettikleri düşünülmektedir (107).

Büyüme faktörleri korneal yeni damar oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Bunlardan VEGF, doğrudan damar endoteli üzerinde etkili olduğu için büyük öneme sahiptir. Yapılan çalışmalarda neovaskülarizasyon süresince, anjiogenik faktörlerin arttığı, anti anjiogenik faktörlerin ise azaldığı gösterilmiştir (114). VEGF, makrofajlar, T hücreleri, retina pigment epitel hücreleri, düz kas hücreleri ve tümör hücrelerinden başta hipoksi olmak üzere, çeşitli çevresel faktörlerin uyarısı ile salgılanır (115). Korneanın enflamatuar hastalıkları, kontakt lens kullanımı, hipoksi, kimyasal travmalar ve keratitler gibi gözle ilgili birçok klinik durumda VEGF salınımının arttığı gösterilmiştir

(116). İnsan kornealarında neovaskularizasyon gelişimi durumunda, hem VEGF, hem de VEGF reseptör düzeylerinin normalden daha fazla olduğu bulunmuştur (117). VEGF<sub>165</sub>, gözdeki neovaskularizasyonla en çok ilişkili olan VEGF-A'nın bilinen altı izoformundan birisidir (118).

Bevacizumab, insan VEGF-A'sına spesifik olarak bağlanan ve biyolojik aktivitesini nötralize eden bir rekombinant insan monoklonal IgG1 antikorudur. Bevacizumab, VEGF-A'nın bütün izoformlarına bağlanarak neovaskularizasyonu inhibe etmektedir (119). Bevacizumab, korneal neovaskularizasyonda topikal, subkonjonktival ve sistemik olarak değişik konsantrasyon ve sürelerde kullanılmıştır. Buna rağmen bevacizumabın subkonjonktival ve topikal formunun florometolon asetat ile karşılaştırıldığı bir çalışma olmadığı için bu çalışma alkali yanığa bağlı meydana gelen korneal neovaskularizasyonda bevacizumabın topikal ve subkonjonktival uygulanmasının etkinliğini değerlendirmek ve birbiriyle karşılaştırmak için yapıldı. Ayrıca diğer çalışmalardan farklı olarak; neovaskularizasyon alanı, neovaskularizasyon alanının toplam korneal alana oranı, meydana gelen en uzun damarın boyu, korneal ödem ve opasitenin değerlendirilmesi gibi birçok parametreler birlikte değerlendirildi.

Edelman ve ark yaptığı deneysel bir çalışmada, intraperitoneal 0.5mg/kg deksametazon uygulamasının, vaskularizasyonu inhibe ettiğini saptamıştır. Aynı çalışmada deksametazon ile beraberinde oksijen uygulanmasının aditif etkili olduğu ve vaskularizasyonla beraber, VEGF'in salınımını da azalttığı belirtilmiştir (120). Başka bir çalışmada Haynes ve ark topikal uygulanan kortikosteroidler (deksametazon sodyum fosfat, prednizolon asetat), siklooksijenaz inhibitörleri (flurbiprofen, indometazin, ketorolak), lipooksijenaz inhibitörleri (REV 5901, esculetin, quercetin), hem siklooksijenaz hem de lipooksijenaz dual inhibitörlerinin (BW 755C, BW A540C) etkinliklerini karşılaştırmışlar, korneal neovaskularizasyonu azaltmada kortikosteroidlerin siklooksijenaz inhibitörlerine göre daha etkin olduğunu bildirmişlerdir (107). Dan ve ark alkali yanığa bağlı oluşturdukları korneal anjiogenez modelinde sistemik doksisisiklin, sistemik deksametazon ve topikal deksametazon

uygulayarak, neovaskularizasyonu azaltmadaki etkinliklerini araştırmışlardır. Deney sonunda korneal neovaskularizasyon oluşumunu azaltma oranı; doksisisiklin grubunda %37.4, sistemik deksametazon grubunda %67.4, topikal deksametazon grubunda ise %70.7 olarak bulunmuştur (121). Sonuç olarak topikal ve sistemik deksametazonun, korneal neovaskularizasyonu geriletmede etkili olduğu ve iki uygulama arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmüştür. Deksametazon, sentetik kortikosteroid analoğu, güçlü bir antienflamatuar ilaçtır. Gözde birçok enflamatuar ve immün hastalıkta kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların uzun süreli kullanımına bağlı glokom, enfeksiyon ve katarakt gibi bir çok komplikasyonun oluşma riski vardır.

Bu çalışmada florometolon asetat, zayıf etkili bir kortikosteroid olması ve aynı zamanda daha önce korneal neovaskularizasyon ile alakalı yapılmış bir çalışması olmaması nedeniyle tercih edildi. Florometolon asetat uygulanan ikinci grupta korneal neovaskularizasyon oranı  $0,45\pm 0,06$  olup; sodyum karboksimetilselüloz damlalatılan kontrol grubundan ( $0,58\pm 0,12$ ) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulundu. Yine aynı şekilde meydana gelen en uzun damar boyu, korneal ödem ve opasite gelişimi florometolon asetat uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük bulundu. Böylece zayıf etkili bir kortikosteroid olan florometolon asetatın korneal neovaskularizasyon tedavisinde tıpkı güçlü kortikosteroidler gibi etkili olduğu bu çalışma sonunda gözlemlendi.

Hosseini ve ark tarafından tavşanlarda NaOH ile oluşturulan korneal neovaskularizasyon modelinde subkonjoktival bevacuzimabın etkinliğini değerlendirmek için iki grup oluşturulmuş; birinci gruba alkali yanığı takiben hemen 2,5 mg tek doz subkonjoktival bevacuzimab, ikinci gruba ise 2,5 mg tek doz subkonjoktival dengeli tuz solusyonu uygulanmıştır. Üç haftalık deney süresinin sonunda tedavi grubunda kontrol grubuna göre korneal neovaskularizasyonun %32 daha az olduğu saptanmıştır. Papathanassiou ve ark tarafından tavşanlarda NaOH ile oluşturulan korneal neovaskularizasyonda, subkonjoktival bevacuzimabın etkinliği araştırılmıştır. Erken ve geç olarak iki tedavi grubu, bir de kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturulmuş, birinci

gruba koterizasyondan hemen sonra (3,75 mg) tek doz subkonjonktival bevacuzimab, ikinci gruba koterizasyondan sonraki ondördüncü gün (3,75mg) tek doz subkonjonktival bevacuzimab, kontrol grubuna ise ondördüncü gün subkonjonktival dengeli tuz solusyonu yapılmıştır. Deney sonunda korneal neovaskülarizasyon, birinci ve ikinci grupta, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az bulunmuştur. Erken tedavi grubunda, geç tedavi grubuna göre daha az korneal neovaskülarizasyon saptanmıştır.

Korneal, hasarlanma ile yeni damar oluşumunun başlangıcı arasındaki latent dönemde VEGF seviyeleri yükselmektedir (122). Korneal hasarı oluşturan nedene bağlı olarak, bu latent dönem oldukça değişkendir. VEGF seviyesinin henüz yeteri kadar yükselmediği bu latent dönemin, anjiogenezis tedavisi için bir fırsat olduğu düşünülmektedir (122). Excimer laser kullanılarak korneada hasar oluşturulan bir çalışmada, uygulamayı takip eden üçüncü günde (epitelin olmadığı dönem), VEGF seviyesinin en fazla olduğu, epitelin tamamen iyileştiği ve stromal iyileşmenin devam ettiği yedinci günde ise VEGF seviyesinin düştüğü bildirilmektedir (123). Korneal hasarlanmayı takiben erken başlangıçlı tedavinin daha başarılı olması bu sebebe bağlı olabilir.

Bu çalışmada alkali yanık oluşturulmasını takiben hemen 2,5 mg bevacizumab subkonjonktival olarak uygulandı (Grup 3). Daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu bir şekilde deney sonunda üçüncü grupta korneal neovaskülarizasyon oranı kontrol grubundan istatistiksel açıdan anlamlı şekilde (%27) daha düşük bulundu. Ayrıca, subkonjonktival bevacizumab grubundaki korneal neovaskülarizasyon oranı, topikal florometolon asetat grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az idi. Hosseini ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadaki düşüş oranıyla bu çalışmadaki düşüş oranının yakın olması; gerek deney süresinin aynı, gerekse de korneal neovaskülarizasyon tekniğinin ve uygulanan bevacizumab dozunun benzer olmasına bağlı olabilir.

Manzano ve ark tarafından ratlarda yapılan ve yedi gün süren bir çalışmada, gümüş nitrat-potasyum nitrat kullanılarak oluşturulan korneal neovaskülarizasyonda, günde iki kez topikal uygulanan 4mg/ml'lik bevacizumabın etkinliği, günde iki kez topikal uygulanan %0.9'luk NaCl

çözeltisi ile karşılaştırılmış, yedinci gün fotoğrafik olarak yapılan değerlendirme sonucunda topikal bevacizumab grubunda vaskülarize alan ortalama  $38.2 \pm 15.5$ , kontrol grubunda ise  $63.5 \pm 5.0$  olarak daha düşük bulunmuştur. Wilner ve ark yaptıkları korneal neovaskülarizasyon modelinde, kimyasal hasarı takiben gruplara sırasıyla 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml bevacizumab ve kontrol grubuna ise %0.9'luk NaCl çözeltisi damlatmışlardır (günde iki kez). Sekiz günlük deney sonunda grup bir ve ikide kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda korneal neovaskülarizasyonda azalma saptanmışken histopatolojik değerlendirmede ise sadece birinci grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmıştır. Bu çalışmada ise topikal bevacizumab 5mg/ml konsantrasyonda ve günde iki kez uygulandı. Deney sonunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı şekilde korneal neovaskülarizasyon alanı, neovaskülarizasyon oranı, en uzun damar boyu, korneal ödem ve opasitede bir azalma saptandı. Ayrıca, topikal bevacizumab grubundaki korneal neovaskülarizasyon oranı ve diğer parametreler topikal florometolon asetat grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük idi.

Topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkinliğini araştırmak için Abdulgani ve ark yaptığı bir çalışmada birinci gruba bevacizumab 12.5mg/ml damla (günde üç kez), ikinci gruba bevacizumab 5mg subkonjonktival iki gün arayla üç kez, üçüncü gruba bevacizumab 10mg subkonjonktival iki gün arayla üç kez uygulamışlardır. Dördüncü grup ise kontrol grubu olarak tedavisiz bırakılmıştır. İki hafta sonra deney sonlandırıldığında bevacizumab tedavi gruplarında korneal neovaskülarizasyonun kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu bulunmuşken topikal ve subkonjonktival tedavi grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışmada ise bevacizumab tedavi gruplarında, korneal neovaskülarizasyonun kontrol grubu ve topikal florometolon asetat grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu bulunmuşken topikal ve subkonjonktival bevacizumab tedavi grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı. Topikal bevacizumab grubunda istatistiksel açıdan anlamlı olmasada neovaskülarizasyon alanı,



neovaskülarizasyon oranı, korneal ödem ve opasite skoru subkonjonktival bevacizumab grubuna göre daha düşüktü.

Bu çalışmada gruplar arasında değerlendirdiğimiz bir parametre de meydana gelen en uzun damarın boyu idi. Bevacizumab tedavi gruplarında kontrol ve topikal florometolon asetat grubuna göre meydana gelen en uzun damar boyu anlamlı derecede daha kısa bulundu. Diğer parametrelerden farklı olarak topikal bevacizumab grubunda subkonjonktival bevacizumab grubundan istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde en uzun damar boyu daha düşük bulundu. Hosseini ve ark korneal neovaskülarizasyona bağlı gelişen en uzun damar boyunu; 2,5 mg tek doz subkonjonktival bevacuzimab uyguladıkları grupta bizim çalışmamızla paralel olacak şekilde kontrol grubundan daha düşük bulmuşlardır.

Yoeruek ve ark alkali hasara bağlı geliştirdikleri korneal anjiogenez modelinde tavşanlarda korneal neovaskülarizasyon, ödem ve opasite değerlendirilmesi için üç grup oluşturmuş birinci gruba erken tedavi 25mg/ml konsantrasyonda topikal bevacizumab, ikinci gruba geç başlangıçlı tedavi olarak yine 25mg/ml konsantrasyonda topikal bevacizumab, üçüncü grub ise kontrol grubu olarak tedavisiz bırakılmıştır. Bevacizumab tedavi gruplarında korneal neovaskülarizasyonun kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu bulunmuş, korneal opasite açısından gruplar değerlendirildiğinde erken tedavi grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Korneal ödem açısından gruplar arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Bu çalışmada ise topikal ve subkonjonktival bevacizumab tedavi gruplarında kontrol ve topikal florometolon asetat grubuna göre korneal ödem ve opasite skoru istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu. Bununla birlikte topikal bevacizumab grubunda korneal ödem ve opasite skoru; subkonjonktival bevacizumab grubundan daha düşük olmakla beraber aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Bevacizumab sadece kan damar gelişimini baskılamayıp aynı zamanda lenfatik damar gelişimini de azaltmaktadır. Bununla birlikte korneal ödem ve opasite gelişimi üzerindeki

etkilerini sadece anti anjiogenetik etkilere bağlamak mümkün değildir. Muhtemelen bu etki antifibrotik özelliğinden kaynaklanmaktadır.

Bevacizumabın korneal neovaskülarizasyon üzerine etkisi sadece topikal ve subkonjonktival kullanım ile sınırlı kalmayıp Bock ve ark kornea neovaskülarizasyonlu fare modelinde intraperitoneal bevacizumab (5mg/kg salin solüsyonunda) tedavisinden bir hafta sonra belirgin ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede korneal neovaskülarizasyonda gerileme tespit etmiştir (124). Buradan da anlaşıldığı üzere Bevacizumab vasküler duvardan sistemik dolaşıma geçip oküler yüzeydeki yeni damarları etkileyebilmektedir.

Son zamanlarda bevacizumabın korneal neovaskülarizasyonda kullanımı ile ilgili klinik çalışmalar da yayınlanmaya başlamıştır. Erdurmuş ve Totan, filamenter keratit ve keratopasti sonrası neovaskülarizasyonu olan iki olguda, tek doz subkonjonktival bevacizumab uyguladıktan bir hafta sonra ilk olguda damarların tamamının, ikinci olguda ise küçük damarların kaybolduğunu, ancak ana damarların değişmediğini göstermiş, üç aylık takip sonucunda ise her iki olguda da neovaskülarizasyonun tekrarlamadığını bildirmişlerdir (125).

Bock ve ark konvansiyonel tedaviye rağmen devam eden progresif korneal neovaskülarizasyona sahip beş hastaya 5mg/ml konsantrasyonunda topikal bevacizumab ortalama 3,6 ay süreyle kullanmışlardır. Sonuçta bu hastalarda bevacizumab herhangi bir korneal yan etkiye yol açmadan neovaskülarizasyonda azalmaya sebep olmuştur (126). Bununla birlikte yine Bock ve ark yapmış olduğu başka bir klinik çalışmada korneal neovaskülarizasyona sahip 27 hastaya 5mg/ml konsantrasyonunda topikal bevacizumab 0,5-12 ay süreyle kullanmışlardır. Çalışma boyunca hastaların beş tanesinde tekrarlayan epitel defekti görülürken ilaçla ilgili başka sistemik yada oküler yan etki veya alerjik reaksiyon gözlenmemiştir. Bu hastalarda görülen epitel defektinin bevacizumabın uzun süreli kulanıma bağlı bir yan etkisi olduğu düşünülebilir. Bu çalışmada bevacizumabla üç haftalık tedavi süresi sonunda hiçbir rat korneasında herhangi bir epitel defekti veya yan etki gözlenmedi.

Daha önce yapılan deneysel ve klinik çalışmalarla, bizim çalışmamızda bevacizumab korneal neovaskülarizasyonda istatistiksel olarak anlamlı olsada kısmi bir azalmaya yol açmakla birlikte tam bir iyileşmeyi sağlayamamıştır. Bunu açıklayabilecek birkaç sebep sayılabilir. İlki anjiogenezden sadece VEGF sorumlu olmayıp fibroblast büyüme faktörü gibi diğer sitokinler de anjiogenezde rol oynamaktadır ve bevacizumab ile inhibe edilememektedirler (127). VEGF inhibitörleri tek başına korneal neovaskülarizasyonun önlenmesinde yeterli olmayıp kombine tedavilerle daha iyi sonuçlar alınabilir. İkinci olarak bevacizumabın subkonjonktival yayılım ve emiliminin tam olmaması ve topikal bevacizumabın gözyaşı akımı nedeniyle yeterince oküler yüzeye temas edememesi söylenebilir.

Bevacizumab sistemik olarak ilk kolorektal karsinomlu hastalarda kullanılmış ve düşük oranda yan etki görülmüştür (128). Bunlar arasında orta derecede bir hipertansiyon ve tromboz insidansında artış sayılabilir. Bu nedenle düşük doz topikal veya subkonjonktival bevacizumab kullanımının önemli yan etki yapması beklenmemektedir. Bevacizumab; vasküler permeabiliteyi azaltarak diyabetik retinopati, santral retinal ven tıkanıklığı, psödo fakik kistoid maküler ödem, koroid ve iris neovaskülarizasyonları, yaşa bağlı maküla dejenerasyonu ve üveite bağlı maküla ödemi tedavisinde kullanılmaktadır (129-133).

Sonuç olarak, topikal ve subkonjonktival bevacizumabın, alkali hasara bağlı gelişen kornea neovaskülarizasyonunun tedavisinde etkili olduğu, topikal ve subkonjonktival bevacizumabın, topikal florometolon asetattan daha etkili olduğu gözlemlendi. Bunun yanı sıra topikal ve subkonjonktival bevacizumabın korneal neovaskülarizasyonun önlenmesinde benzer etkinliğe sahip olduğu, sadece meydana gelen en uzun damar boyunun topikal bevacizumab grubunda daha kısa olduğu görüldü.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Ratlarda, NaOH ile oluşturulan alkali hasara bağlı deneysel kornea neovaskülarizasyonunda, topikal florometolon asetat, subkonjonktival bevacizumab ve topikal bevacizumab; korneal neovaskülarizasyonun azaltılmasında, ödem ve opasitenin önlenmesinde etkili olarak bulundu.

2- Korneal neovaskülarizasyonun önlenmesinde, topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkili olduğu ve iki uygulama şekli arasında belirgin bir farkın olmadığı saptandı.

3- İki uygulama şekli arasında sadece meydana gelen en uzun damar boyunun topikal bevacizumab grubunda daha kısa olduğu saptandı.

4- Topikal florometolon asetatın korneal neovaskülarizasyonu azaltmada, topikal ve subkonjonktival bevacizumabtan daha az etkili olduğu gözlemlendi.

5- Korneal neovaskülarizasyon tedavisinde, topikal ve subkonjonktival olarak uygulanan bevacizumabın, klinik pratikte yaygın olarak kullanılan steroidlerden daha etkili ve iyi bir seçenek olduğu sonucuna varıldı.

6- Çalışma sonucunda topikal bevacizumabın korneal neovaskülarizasyon tedavisinde deneysel olarak etkili olduğu görülmektedir. Bu nedenle uzun süreli prospektif insan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001; 12: 242–9.
2. Epstein RJ, Stulting RD, Hendricks RL, Harris DM. Corneal neovascularization. Pathogenesis and inhibition. *Cornea* 1987; 6:250–7.
3. Murata M, Shimizu S, Horiuchi S, Taira M. Inhibitory effect of triamcinolone acetonide on corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006; 244: 205–9.
4. Haynes WL, Proia AD, Klintworth GK. Effect of inhibitors of arachidonic acid metabolism on corneal neovascularization in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1588–93.
5. Deutsch TA, Hughes WF. Suppressive effects of indomethacin on thermally induced neovascularization of rabbit corneas. *Am J Ophthalmol* 1979; 87: 536–40.
6. Lipman RM, Epstein RJ, Hendricks RL. Suppression of corneal neovascularization with cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 1992; 110: 405–7.
7. Jousseaume AM, Kruse FE, Volcker HE, Kirchhof B. Topical application of methotrexate for inhibition of corneal angiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237: 920–7.
8. Lepri A, Benelli U, Bernardini N et al. Effect of low molecular weight heparan sulphate on angiogenesis in the rat cornea after chemical cauterization. *J Ocul Pharmacol* 1994; 10: 273–80.
9. Shi W, Gao H, Xie L, Wang S. Sustained intraocular rapamycin delivery effectively prevents high-risk corneal allograft rejection and neovascularization in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 3339–44.
10. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4082–5.

11. Gan L, Fagerholm P, Palmblad J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 in the regulation of corneal neovascularization and wound healing. *Acta Ophthalmol Scand* 2004; 82: 557–63.
12. Philipp W, Speicher L, Humpel C. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in inflamed and vascularized human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:2514–22.
13. Adamis AP, Shima DT. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. *Retina* 2005; 25: 111–18.
14. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333: 328–35.
15. Azar DT. Corneal angiogenic privilege: angiogenic and antiangiogenic factors in corneal avascularity, vasculogenesis, and wound healing (an American Ophthalmological Society thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc* 2006; 104:264–302.
16. Zheng M, Deshpande S, Lee S, et al. Contribution of vascular endothelial growth factor in the neovascularization process during the pathogenesis of herpetic stromal keratitis. *J Virol* 2001; 75:9828–9835.
17. Mastuygin V, Mosaed S, Bonazzi A, et al. Corneal epithelial VEGF and cytochrome P450 4B1 expression in a rabbit model of closed eye contact lens wear. *Curr Eye Res* 2001; 23:1–10.
18. Zheng M, Schwarz MA, Lee S, et al. Control of stromal keratitis by inhibition of neovascularization. *Am J Pathol* 2001; 159:1021–1029.
19. Bakri SJ, Cameron JD, McCannel CA, Pulido JS, Marler RJ (2006) Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal bevacizumab in a rabbit model. *Am J Ophthalmol* 142:162-164

20. Watsky MA, Olsen TW, Edelhauser HF. Cornea and sclera. Philadelphia. Duane's Clinical Ophthalmology on CD-ROM. Lippincot Williams & Wilkins, 2005.
21. Eğrilmez S. Korneanın Anatomi, Fizyoloji ve Doku İyileşmesi. Akademik Eğitim Programı 27. Ulusal Oftalmoloji Kurs Kitabı. Ankara, 2007: 201-213.
22. Hayashi K, Sueishi K, Tanaka K, Inomata H. Immunohistochemical evidence of the origin of human corneal endothelial cells and keratocytes. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1986; 224(5): 452-6.
23. Ozanics V, Rayborn M, Sagun D. Observations on the morphology of the developing primate cornea: epithelium, its innervation and anterior stroma. J Morphol 1977; 153(2): 263-97.
24. Murphy C, Alvarado J, Juster R. Prenatal and postnatal growth of the human Descemet's membrane. Invest Ophthalmol Vis Sci 1984; 25(12): 1402-15.
25. Wulle K. Electron microscopy of the fetal development of the corneal endothelium and Descemet's membrane of the human eye. Invest Ophthalmol 1972; 11(11): 897-904.
26. Azar NF. Gözün embriyolojisi. In: Yanoff M DJ, ed. Ophthalmology, 2. Basım ed: Mosby, 2004; 22-27.
27. Nishida T. Cornea. Krachmer JH, Mannis MJ, Holand EJ (Eds.). Volume 1, 2nd ed. Philadelphia. Elsevier Inc. 2005,3-22.
28. Apaydın C. Anatomi. Aydın P, Akova YA (Editörler). Temel göz hastalıkları. Ankara. Günes Kitabevi. 2001,2-25.
29. Mishima S. Corneal Thickness, Surv Ophthalmol. 1968,13,57-96.
30. Myron Yanoff, Jay S Duker. Ophthalmology. In: Ming XW, Carol LKarp, Robert P Selkin, Dimitri TA. Mosby edition. Chapter 5: 12.1-12.18.

31. Katryn AH. Fundamentals and principles of Ophthalmology, Src 2; American Academy Of Ophthalmology, s.46
32. Nishida T: Cornea. In Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management. China: Elsevier Mosby, :3-26. 2005.
33. Waltman RS, Hart WM. The Cornea In : Moses R.A, editor, Physiology of the eye. St. Louis, CV Mosby, 1987; 36-59.
34. Pillai CT, Dua HS, Hossain P: Fine needle diathermy occlusion of corneal vessels. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000; 41(8): 2148-53.
35. Gohto Y, Obana A, Kaneda K, Miki T. Photodynamic effect of a new photosensitizer ATX-S10 on corneal neovascularization. Exp Eye Res 1998; 67(3): 313-22.
36. Watsky MA, Olsen TW, Edelhauser HF. Cornea and sclera. Philadelphia. Duane's Clinical Ophthalmology on CD-ROM. Lippincot Williams & Wilkins, 2005.
37. Arffa RC. Disease of the cornea ,fourth edition. Mosby Co. 1997, 6-7
38. Waring GO, Laibson PR, Rodrigues M. Clinical and pathologic alterations of Desme's membrane. Surv Ophthalmol 1974; 18: 325.
39. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. Cornea 1997; 1:3-27.
40. Scherz W, Doane MG, Dohlman CH. Tear volume in normal eyes and keratoconjunctivitis sicca, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1974,192,141-150.
41. Kanski J (Çeviri: Orağlı K.). Konjonktiva hastalıkları. Kanski J (Ed.) Klinik oftalmoloji. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi. 2001,55-90.
42. Freddo TF Waring GO. Pathologic responses in the cornea. Leibowitz HM. Corneal Disorders Clinical Diagnosis and Management, 2 ed. WB Saunders, 1998; 154-200.



43. Waring GO, 3rd, Rodrigues MM: Patterns of pathologic response in the cornea. *Surv Ophthalmol* 1987; 31(4): 262-6.
44. Tseng SC, Hirst LW, Farazdaghi M, Green WR. Goblet cell density and vascularization during conjunctival transdifferentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984; 25(10): 1168-76.
45. Burger PC, Chandler DB, Klintworth GK. Corneal neovascularization as studied by scanning electron microscopy of vascular casts. *Lab Invest* 1983; 48(2): 169-80.
46. Fromer CH, Klintworth GK. An evaluation of the role of leukocytes in the pathogenesis of experimentally induced corneal vascularization. II. Studies on the effect of leukocytic elimination on corneal vascularization. *Am J Pathol* 1975; 81(3): 531-44.
47. Fromer CH, Klintworth GK. An evaluation of the role of leukocytes in the pathogenesis of experimentally induced corneal vascularization. *Am J Pathol* 1975; 79(3): 537-54.
48. Fromer CH, Klintworth GK. An evaluation of the role of leukocytes in the pathogenesis of experimentally induced corneal vascularization. III. Studies related to the vasoproliferative capability of polymorphonuclear leukocytes and lymphocytes. *Am J Pathol* 1976; 82(1): 157-70.
49. Mangi MH, Newland AC. Angiogenesis and angiogenic mediators in haematological malignancies. *Br J Haematol* 2000; 111(1): 43-51.
50. Ishihara K, Hayash I, Yamashina S, Majima M. A potential role of bradykinin in angiogenesis and growth of S-180 mouse tumors. *Jpn J Pharmacol* 2001; 87(4): 318-26.
51. Reimer CL, Agata N, Tammam JG, ve ark. Antineoplastic effects of chemotherapeutic agents are potentiated by NM-3, an inhibitor of angiogenesis. *Cancer Res* 2002; 62(3): 789-95.
52. Barouch FC, Miller JW.: Potensial future targets for teating ocular neovascularization. *Opthtalmol Clin N Am.* 2006; 19: 401-409.

53. Kvanta A, Algvere PV, Berglin L, et al.: Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37:1929-34.
54. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, et al.: Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.13. *Circulation.* 1996;93:1493-1495.
55. Zhang SX, Ma JX.: Ocular neovascularization : Implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Prog Retin Eye Res.* 2007;26:1-37
56. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, ve ark. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407(6801): 242-8.
57. Yazır Y GS, Filiz S, Dalcık H. Endotel Hücreleri İçin Önemli Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), Ailenin Üyeleri, Yapısı ve Sentezi. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2004; 26(4): 181-184.
58. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol* 2004; 87(2): 95-104.
59. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9(6): 669-76.
60. Ortega N, L'Faqihi FE, Plouet J. Control of vascular endothelial growth factor angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol Cell* 1998; 90(5): 381-90.
61. Takahashi H, Hattori S, Iwamatsu A, Takizawa H, Shibuya M. A novel snake venom vascular endothelial growth factor (VEGF) predominantly induces vascular permeability through preferential signaling via VEGF receptor-1. *J Biol Chem* 2004; 279(44): 46304-14.
62. Zachary I. Vascular endothelial growth factor. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30(11): 1169-74.
63. Rosenstein JM, Krum JM. New roles for VEGF in nervous tissue--beyond blood vessels. *Exp Neurol* 2004; 187(2): 246-53.

64. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18(1): 4-25.
65. Usui T, Ishida S, Yamashiro K, ve ark. VEGF164(165) as the pathological isoform: differential leukocyte and endothelial responses through VEGFR1 and VEGFR2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(2): 368-74.
66. Yazır Y. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF):Reseptörleri ve Fonksiyonları. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 29(3): 128-136.
67. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26(5): 561-9.
68. Levy A. P., Levy N. S. Transcriptional regulation of rat endothelial growth factor gene by hypoxia. *J. Biol. Chem.* 270;13333-13340,199
69. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386(6626): 671-4.
70. Thomas KA. Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. *J Biol Chem* 1996; 271(2): 603-6.
71. Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane A, ve ark. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family. *Oncogene* 1990; 5(4): 519-24.
72. Kendall RL, Wang G, Thomas KA. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226(2): 324-8.
73. Ebos JM, Bocci G, Man S, ve ark. A naturally occurring soluble form of vascular endothelial growth factor receptor 2 detected in mouse and human plasma. *Mol Cancer Res* 2004; 2(6): 315-26.
74. Jousseaume AM, Germann T, Kirchhof B. Effect of thalidomide and structurally related compounds on corneal angiogenesis is comparable to their teratological potency. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237(12): 952-61.

75. Reinhard T, Reis A, Bohringer D, ve ark. Systemic mycophenolate mofetil in comparison with systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasty patients: 3 years' results of a randomized prospective clinical trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239(5): 367-72.
76. Birnbaum F, Reis A, Reinhard T. Topical immunosuppressives after penetrating keratoplasty. *Ophthalmologe* 2007; 104(5): 381-7.
77. Birnbaum F, Bohringer D, Sokolovska Y, Sundmacher R, Reinhard T. Immunosuppression with cyclosporine A and mycophenolate mofetil after penetrating high-risk keratoplasty: a retrospective study. *Transplantation* 2005; 79(8): 964-8.
78. Gerten G. Bevacizumab (avastin) and argon laser to treat neovascularization in corneal transplant surgery. *Cornea* 2008; 27(10): 1195-9.
79. Yoon KC, You IC, Kang IS, ve ark. Photodynamic therapy with verteporfin for corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 2007; 144(3): 390-395.
80. Dan L, Shi-long Y, Miao-li L, ve ark. Inhibitory effect of oral doxycycline on neovascularization in a rat corneal alkali burn model of angiogenesis. *Curr Eye Res* 2008; 33(8): 653-60.
81. Aydin E, Kivilcim M, Peyman GA, Esfahani MR, Kazi AA, Sanders DR. Inhibition of experimental angiogenesis of cornea by various doses of doxycycline and combination of triamcinolone acetone with low-molecular-weight heparin and doxycycline. *Cornea* 2008; 27(4): 446-53.
82. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001; 12(4): 242-9.
83. Benelli U, Lepri A, Del Tacca M, Nardi M. FK-506 delays corneal graft rejection in a model of corneal xenotransplantation. *J Ocul Pharmacol Ther* 1996; 12(4): 425-31.

84. Klauber N, Browne F, Anand-Apte B, D'Amato RJ. New activity of spironolactone. Inhibition of angiogenesis in vitro and in vivo. *Circulation* 1996; 94(10): 2566-71.
85. Sood AK, Gupta B, Chugh P. Topical amiloride accelerates healing and delays neovascularization in mechanically produced corneal ulcers in rabbits. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21(7): 491-7.
86. Arbiser JL, Klauber N, Rohan R, et al. Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Mol Med* 1998; 4(6): 376-83.
87. Kwon YS, Hong HS, Kim JC, Shin JS, Son Y. Inhibitory effect of rapamycin on corneal neovascularization in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(2): 454-60.
88. Nirankari VS, Dandona L. Laser photocoagulation of experimental corneal stromal vascularization efficacy and histopathology. *Ophthalmology* 100;111-118,1993
89. Nirankari VS. Laser photocoagulation for corneal stromal vascularization. *Trans Am Ophthalmol Soc* 90;595-669,1992
90. Baer JC, Foster CS. Corneal argon laser photocoagulation for neovascularization in penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 93;1304-1309,1986
91. Baer JC, Foster CS. Corneal laser photocoagulation for treatment of neovascularization. Efficacy of 577 nm yellow dye laser. *Ophthalmology* 99;173-179,1992
92. Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Kim WS, Zhang F. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000; 19(3): 348-52.
93. Ma DH, Tsai RJ, Chu WK, Kao CH, Chen JK. Inhibition of vascular endothelial cell morphogenesis in cultures by limbal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(8): 1822-8.

94. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333: 328–35.
95. Papathanassiou M, Theodosiadis PG, Liarakos VS, Rouvas A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Vergados IA. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival bevacizumab in an animal model. *Am J Ophthalmol* 2008; 145(3): 424-431.
96. Chiang CC, Chen WL, Lin JM, Tsai YY. Effect of bevacizumab on human corneal endothelial cells: a six-month follow-up study. *Am J Ophthalmol* 2008; 146(5): 688-91.
97. Park HY, Kim SJ, Lee HB, Kim ES, Tchah H. Effect of intracameral bevacizumab injection on corneal endothelium in rabbits. *Cornea* 2008; 27(10): 1151-5.
98. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350(23): 2335-42.
99. Bock F, Onderka J, Dietrich T, et al. Bevacizumab as a potent inhibitor of inflammatory corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(6): 2545-52.
100. Haynes WL, Proia AD, Klintworth GK. Effect of inhibitors of arachidonic acid metabolism on corneal neovascularization in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30(7): 1588-93.
101. Kwon YS, Hong HS, Kim JC et al. Inhibitory effect of rapamycin on corneal neovascularization in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 454–60.
102. MM2Yoeruek E, Ziemssen F, Henke-Fahle S, Tatar O, Tura A, Grisanti S, Bartz-Schmidt KU & Szurman P; Tübingen bevacizumab study group (2008): Safety, penetration and efficacy of topically applied bevacizumab:

- evaluation of eyedrops in corneal neovascularization after chemical burn. *Acta Ophthalmol* 86: 322–328.
103. Hurmeric V, Mumcuoglu T, Erdurman C, ve ark. Effect of subconjunctival bevacizumab (Avastin) on experimental corneal neovascularization in guinea pigs. *Cornea* 2008; 27(3): 357-62.
104. Jousseaume AM, Germann T, Kirchhof B. Effect of thalidomide and structurally related compounds on corneal angiogenesis is comparable to their teratological potency. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237(12): 952-61.
105. Reinhard T, Reis A, Bohringer D, ve ark. Systemic mycophenolate mofetil in comparison with systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasty patients: 3 years' results of a randomized prospective clinical trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239(5): 367-72.
106. Peyman GA, Kivilcim M, Morales AM, DellaCroce JT, Conway MD. Inhibition of corneal angiogenesis by ascorbic acid in the rat model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007; 245(10): 1461-7.
107. Wu PC, Liu CC, Chen CH, ve ark. Inhibition of experimental angiogenesis of cornea by somatostatin. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003; 241(1): 63-9.
108. Haynes WL, Proia AD, Klintworth GK. Effect of inhibitors of arachidonic acid metabolism on corneal neovascularization in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30(7): 1588-93.
109. Nakao S, Hata Y, Miura M, ve ark. Dexamethasone inhibits interleukin-1beta-induced corneal neovascularization: role of nuclear factor-kappaB-activated stromal cells in inflammatory angiogenesis. *Am J Pathol* 2007; 171(3): 1058-65.
110. Jousseaume AM, Kruse FE, Volcker HE, Kirchhof B. Topical application of methotrexate for inhibition of corneal angiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237(11): 920-7.

111. Kwon YS, Kim JC. Inhibition of corneal neovascularization by rapamycin. *Exp Mol Med* 2006; 38(2): 173-9.
112. Nirankari VS, Baer JC. Corneal argon laser photocoagulation for neovascularization in penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1986; 93(10): 1304-9.
113. Pillai CT, Dua HS, Hossain P: Fine needle diathermy occlusion of corneal vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(8): 2148-53.
114. Gohto Y, Obana A, Kaneda K, Miki T. Photodynamic effect of a new photosensitizer ATX-S10 on corneal neovascularization. *Exp Eye Res* 1998; 67(3): 313-22.
115. Epstein RJ, Stulting RD, Hendricks RL, Harris DM. Corneal neovascularization. Pathogenesis and inhibition. *Cornea* 1987; 6(4): 250-7.
116. Gerber HP, Ferrara N. Pharmacology and pharmacodynamics of bevacizumab as monotherapy or in combination with cytotoxic therapy in preclinical studies. *Cancer Res* 2005; 65(3): 671-80.
117. Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process. *Curr Mol Med* 2003; 3(7): 643-51.
118. Lee P, Wang CC, Adamis AP. Ocular neovascularization: an epidemiologic review. *Surv Ophthalmol* 1998; 43(3): 245-69.
119. Usui T, Ishida S, Yamashiro K, et al. VEGF164(165) as the pathological isoform: differential leukocyte and endothelial responses through VEGFR1 and VEGFR2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(2): 368-74.
120. Papathanassiou M, Theodossiadis PG, Liarakos VS, Rouvas A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Vergados IA. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival bevacizumab in an animal model. *Am J Ophthalmol* 2008; 145(3): 424-431.
121. Edelman J, Castro M, Wen Y. Correlation of VEGF expression by leukocytes with the growth and regression of blood vessels in the rat cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40;1112-1123,1999



122. Dan L, Shi-long Y, Miao-li L, ve ark. Inhibitory effect of oral doxycycline on neovascularization in a rat corneal alkali burn model of angiogenesis. *Curr Eye Res* 2008; 33(8): 653-60.
123. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science* 1997; 277(5322): 48-50.
124. Amano S, Rohan R, Kuroki M, Tolentino M, Adamis AP. Requirement for vascular endothelial growth factor in wound- and inflammation-related corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39(1): 18-22.
125. Bock F, Onderka J. Bevacizumab as a potent inhibitor of inflammatory corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48;2545-52,2007
126. Erdurmus M, Totan Y. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007; 245(10): 1577-9.
127. Bock F, König Y, Kruse F, Baier M, Cursiefen C. Bevacizumab eye drops inhibit corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007 oct 13
128. Gaudric A, Moenner M. Quantification of angiogenesis due to basic fibroblast growth factor in a modified rabbit corneal model. *Ophthalmic Res.* 24;181-188,1992
129. Fernando NH, Hurwits HI. Targeted therapy of colorectal cancer, clinical experience with Bevacizumab. *Oncologist* 9;11-18,2004
130. Beutel J, Ziemssen F, Luke M, ve ark. Intravitreal bevacizumab treatment of macular edema in central retinal vein occlusion: one-year results. *Int Ophthalmol* 2008.
131. Prager F, Michels S, Kriechbaum K, ve ark. Intravitreal bevacizumab (Avastin(R)) for macular edema secondary to retinal vein occlusion - twelve-month results of a prospective clinical trial. *Br J Ophthalmol* 2008.

132. Weiss K, Steinbrugger I, Weger M, ve ark. Intravitreal VEGF levels in uveitis patients and treatment of uveitic macular oedema with intravitreal bevacizumab. *Eye* 2009.
133. Barone A, Russo V, Prascina F, Delle Noci N. Short-term safety and efficacy of intravitreal bevacizumab for pseudophakic cystoid macular edema. *Retina* 2009; 29(1): 33-7.
134. Arias L, Caminal JM, Casas L, ve ark. A study comparing two protocols of treatment with intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2008; 92(12): 1636-41.