



**TC.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KORNEA NEOVASKÜLARİZASYONUNDA
BEVACİZUMAB VE DEKSAMETAZONUN ETKİNLİĞİ**

**Dr. SEDAT AVCIOĞLU
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DÜZCE- 2011



TC.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL KORNEA NEOVASKÜLARİZASYONUNDA
BEVACİZUMAB VE DEKSAMETAZONUN ETKİNLİĞİ**

Dr. SEDAT AVCIOĞLU
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. MURAT KAYA

Yardımcı Araştırmacılar

Yrd. Doç. Dr. HAVVA ERDEM

Patoloji Anabilim Dalı

DÜZCE-2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve göz cerrahisini öğrenmemde büyük katkıları olan, göz cerrahisini en ince ayrıntılarına kadar öğreten ve tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Murat KAYA' ya teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim sırasında yetişmemde bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, eğitimimde büyük katkıları olan, eğitimim süresince iyi bir göz hekimi olarak yetişmem için gayret gösteren değerli hocam Prof. Dr. Murat TUNÇ' a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim sırasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım hocam Yard. Doç. Dr. Halil İbrahim ÖNDER' e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamızda histopatolojik incelemeleri yapan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Havva ERDEM' e, istatistik analizlerinde yardımcı olan Doç. Dr. Handan ANKARALI' ya teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca beraber pek çok şey paylaştığımız, beraberce uzmanlık eğitimi yapmaktan mutluluk duyduğum sevgili arkadaşlarım Dr. Harun YÜKSEL' e, Dr. Hafize BOZKURT' a, Dr. Ayşe ACER' e, Dr. Ali Çağrı KILIÇ' a, Dr. Nurdan ARICAN' a, Dr. Sibel ALIŞAN' a ve kliniğimizde çalışan personelimize teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince sıkıntılı günlerimde gösterdiği fedakârlıktan dolayı ve tez çalışmamda bana yardımlarını esirgemediği için sevgili eşim Dr. Fatma AVCIOĞLU' na teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim ve öğrenim hayatımda desteklerini yanımda hissettiğim aileme sonsuz minnet ve sevgilerimi sunarım.

ÖZET

Kornea neovaskülarizasyonu; sızıntı, enflamasyon ve skarlaşmaya yol açarak korneanın şeffaflığının ve görmenin kaybına neden olan yeni damarların oluşumudur. Etiyolojisinde kronik hipoksiye ya da enflamasyona yol açan pek çok hastalık vardır. Tedavide başlıca kortikosteroidler, nonsteroid antiinflamatuvarlar, VEGF inhibitörleri ve çeşitli cerrahi yöntemler uygulanmaktadır. Çalışmamızda, deneysel olarak oluşturulan kornea neovaskülarizasyonuna subkonjonktival ve topikal yolla bevacizumabın ve topikal deksametazonun etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya ratların sol gözleri alındı. Gümüş nitrat-potasyum nitrat ile kimyasal koterizasyon uygulandı. Kontrol grubu tedavisiz bırakıldı. İkinci grupta topikal deksametazon günde iki kez damlatıldı. Üçüncü grupta 0,1 ml 2,5 mg bevacizumab subkonjonktival yolla bir kez yapıldı. Dördüncü grupta bevacizumab topikal 25mg/ml günde iki kez damlatıldı. Beşinci grup 0,1 ml 2,5 mg bevacizumab subkonjonktival bir kez yapıldı ve topikal 25mg/ml bevacizumab günde iki kez damlatıldı.

10 günlük tedaviden sonra deneklerin korneaları mikroskop altında muayene edildikten sonra enükleasyon yapıldı. Hematoksilen-eosin, Masson trikrom ve immünohistokimyasal boyamalar yapıldıktan sonra, histopatolojik olarak değerlendirildi.

Deneklerin incelenmesinde, bevacizumab uygulanan gruplarda topikal deksametazon ve kontrol gruplarına göre korneal neovaskülarizasyonda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu saptandı. Ancak bevacizumab uygulanan üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark görülmedi. Ayrıca topikal deksametazon uygulanan grupta kontrol grubuna göre korneal neovaskülarizasyonda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu saptandı. Masson trikrom boyama ile kontrol grubunda epitel altındaki bölgede, şiddetli ödem, kollajen liflerde belirgin düzensizlik ve ayrılma gözlemlendi. Topikal deksametazon ile tedavi edilen grupta bulguların şiddeti kontrol grubuna göre daha hafif olarak saptandı. Bevacizumabın kullanıldığı gruplarda ise kollajen lifler düzenli olup, bu alanlarda belirgin bir ödem gözlemlenmedi.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Kornea, Neovaskülarizasyon, Bevacizumab, Deksametazon, Masson Trikrom.

ABSTRACT

Corneal neovascularization; causing leak, inflammation and scarring of the cornea, causes loss of transparency of the cornea and vision loss of the formation of new vascular structure. Chronic hypoxia or inflammation in the etiology of many diseases has led to. Mainly, corticosteroids, nonsteroid antiinflammatory drugs, VEGF inhibitors and various surgical methods are being used for treatment. In our study, our goal is to evaluate the effects of subconjunctival bevacizumab, topical bevacizumab and topical dexamethasone in experimentally created corneal neovascularization.

The left eyes of 30 rats were included in the study. Chemical cauterization with silver nitrate and potassium nitrate was applied. The control group was left untreated. The second group, topical dexamethasone was administered twice a day. The third group was 0,1 ml, 2,5 mg of bevacizumab subconjunctival route once. The fourth group of topical 25mg/ml bevacizumab administered twice a day. The fifth group was 0,1 ml, 2,5 mg of bevacizumab once a subconjunctival and topical 25mg/ml bevacizumab was administered twice a day.

The subjects corneas were examined under a microscope after treatment 10 days. Enucleation was performed. Hematoxylin-eosin, Masson's trichrome and immunohistochemical staining has been made, for histopathological evaluation. Examination of the subjects, statistically significant decrease was observed in corneal neovascularization in the groups treated with bevacizumab than the topical dexamethasone and control groups, but no statistically significant difference was observed between the three groups treated with bevacizumab. In addition, statistically significantly decrease was observed in corneal neovascularization in the group treated with topical dexamethasone group than the control group. Masson's trichrome staining in the control group in the region below the epithelium, severe edema, collagen fibers were observed in apparent disorder and separation. Topical dexamethasone-treated group than in the control group, the severity of symptoms were less severe. Collagen fibers are organized groups that used bevacizumab, a marked edema was observed in these areas

KEYWORDS: Cornea, Neovasculation, Bevacizumab, Dexamethasone, Masson

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Teşekkür.....	i
Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iii
İçindekiler.....	iv-v
Simgeler ve Kısaltmalar.....	vi
1. Giriş Ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	2
2.1. Kornea.....	2
2.1.1. Korneanın makroskopik anatomisi.....	2
2.1.2. Korneanın mikroskopik anatomisi.....	2
2.1.3. Korneanın optik özellikleri.....	3
2.1.4. Korneanın innervasyonu.....	3
2.1.5. Gözyaşı film Tabakası.....	3
2.1.6. Epitel.....	4
2.1.7. Bazal membran.....	5
2.1.8. Bowman tabakası.....	5
2.1.9. Stroma tabakası.....	5
2.1.10. Descement membranı.....	6
2.1.11. Endotel tabakası.....	6
2.2. Kornea Embriyolojisi.....	7
2.3. Kornea Fizyolojisi.....	7
2.4. Kornea Yara İyileşmesi.....	8
2.4.1. Epitelyal defekt.....	8
2.4.2. Epitelyal ve yüzeyel stromal defekt.....	11
2.4.3. Derin stromal defekt.....	11
2.4.4. Endotelyal defekt.....	13
2.5. Kornea Avasküleritesi ve Vaskülarizasyonu.....	13
2.5.1. Epidemiyoloji.....	15
2.5.2. Kornea Neovaskülarizasyon Fazları.....	15
2.5.3. Risk faktörleri.....	16
2.5.4. Korneal Avaskülerite: Anjiogenez ve Antianjiogenez dengesi.....	17
2.5.5. Kornea Neovaskülarizasyonda Suçlanan Anjiogenik Moleküller.....	17
2.5.6. Antijiogenik Moleküller.....	20
2.5.7. Tedavi.....	22
2.5.8. Bevacizumab.....	23
2.5.9. Deksametazon.....	25
3. Gereç ve Yöntem.....	26
3.1. Deney Hayvanları.....	26
3.1.1. Anestezi.....	26
3.1.2. Gruplar.....	26
3.1.3. Korneaya kimyasal koterizasyon yapılması.....	26
3.1.4. İlaçlar.....	27
3.1.5. Muayene ve Enükleasyon.....	27
3.1.6. Histopatolojik İnceleme.....	27
3.1.7. İstatistiksel Analiz.....	28
4. Bulgular.....	29

4.1. Makroskopik Bulgular.....	29
4.2. Işık Mikroskopik Bulgular.....	34
4.2.1. Hematoksilen eozin boyama.....	34
4.2.2. Mason trikrom boyama.....	39
4.3. İstatiksel Analiz.....	41
5. Tartışma.....	43
6. Sonuçlar ve Öneriler.....	49
7. Kaynaklar.....	51
8. Resimlemeler Listesi.....	65
9. Özgeçmiş.....	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ang:	Anjiopoetin
BPA:	Büllöz Penfigoid Antijen
cAMP:	Siklik AMP
COX:	Sikloksijenaz
ECM:	Ekstraselüler Matriks
EGF:	Endotel Büyüme Faktörü
FGF:	Fibroblast Büyüme Faktörü
Fn:	Fibronektin
HGF:	Hepatosit büyüme faktörü
IGF:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL:	İnterlökin
KGF:	Keratosit Büyüme Faktörü
MMP:	Matriks Metallo Proteinaz
PMNL:	Polimorfonukleer Lökosit
PDGF:	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PEDF:	Pigment Epiteli Derived Faktör
TGF β :	Transforme edici büyüme faktörü β
Tsp:	Trombospondin
VEGF:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEGFR:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kornea, göz küresinin ön kısmında yer alan şeffaf, avasküler, kendi kendini koruyabilme ve tamir edebilme özelliklerine sahip bir dokudur. Kornea neovaskülarizasyonu sızıntı, enflamasyon ve skarlaşmaya yol açarak korneanın şeffaflığının azalmasına ve görme kaybına neden olan yeni damarların oluşumudur.

Kornea neovaskülarizasyonlarının etiolojisinde kronik hipoksiye ya da inflamasyona yol açan pek çok hastalık vardır. Kornea neovaskülarizasyonlarının en sık nedeni uzun süreli kontak lens kullanımı iken, diğer nedenler arasında enfeksiyon, travma, immünolojik hastalıklar, üveit, glokom ve fitizis bulbi yer almaktadır. Yeni oluşan bu damarlar korneal iyileşme ve enfeksiyonlara karşı savaşta faydalı olmakla birlikte, korneanın iyileşme süreci tamamlandıktan sonra ise istenmeyen bir durumdur.

Kornea neovaskülarizasyonu genellikle oküler enfeksiyon ve enflamasyon ile ilişkili ve görmeyi tehdit eden bir durumdur. Yapılan çalışmalarda korneada anjiogenik faktörler (vasküler endotelial büyüme faktörü vb) ve anti anjiogenik faktörler (angiostatin, endostatin, pigment epitel kaynaklı faktör vb) arasında bir denge olduğu gözlenmiştir. Bu dengeyi anjiogenezise doğru değiştiren birçok enflamatuvar, enfeksiyöz, dejeneratif ve travmatik bozukluklar korneal neovaskülarizasyondan sorumludur. Neovaskülarizasyonun vaskülogenezis ve anjiogenezis olmak üzere iki ana mekanizması vardır. Vaskülogenezis, kemik iliği kaynaklı anjioblastlardan gelişen yeni kan damarı (embriyogenezis) oluşumudur, anjiogenezis ise, orijinal vasküler yapılardan gelişen yeni damar oluşumudur. Kornea neovaskülarizasyonundan sorumlu mekanizma anjiogenezidir.

Çalışmamızda kimyasal koterizasyon ile deneysel kornea neovaskülarizasyonu oluşturulmuş; topikal ve subkonjonktival yolla bevacizumab, topikal yolla deksametazon verilerek kornea neovaskülarizasyonuna etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma ile kornea neovaskülarizasyonlarında bevacizumab ve deksametazon tedavilerinin etkinliklerini araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kornea

Dış dünyadan aldığımız bilgilerin % 80'inden fazlası gözümüz yoluyla edinilir ve görsel bilgilerin göze giriş yeri korneamızdır (1). Kornea göz küresinin ön kısmında yer alan ve 1/6'sını oluşturan saydam avasküler tabakadır.

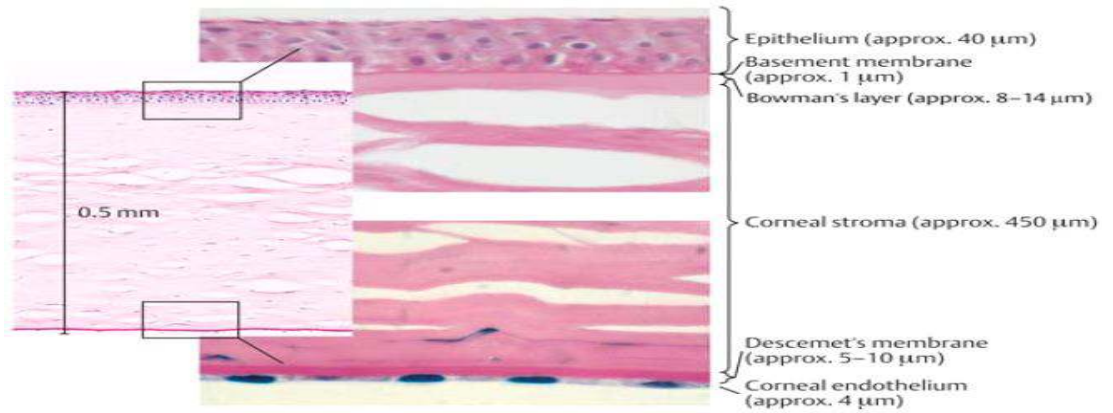
2.1.1. Korneanın makroskopik anatomisi

Dış ortamla temas halinde bulunan kornea, avasküler ve saydam yapıdadır (2). Ön yüzü gözyaşı filmiyle arka yüzü humör aköz ile ıslanmaktadır. Bitişğinde opak sklera ve onu örten yarı saydam konjonktiva yer alır. Oldukça damarlı bir yer olan limbus, kornea epitel hücrelerinin bazal hücrelerine kök hücre olarak rezerv sağlayan pluripotent hücrelerin yerleşim bölgesidir.

Kornea ön yüzeyi konveks ve asferik yapıdadır. Korneanın dikey çapı erişkin insanda yaklaşık 10,5 mm, yatay çapı 11,5 mm'dir. Kornea ön yüzeyinin ortalama eğrilik yarıçapı 7,8 mm, arka eğrilik yarıçapı 6,8 mm kadardır. Kornea kurvatürü yeni doğanlarda ve çocuklarda erişkine oranla daha büyük olup, doğum sonrası ilk aylarda düzleşme gerçekleşir. Düzleşme her alanda simetrik değildir; nazalde ve üstte, temporale ve alta oranla daha fazladır. Santral kornea kalınlığı 530 mikron, perifer 650 mikrondur. 6 yaş civarında kornea gelişimi tamamlanır.

2.1.2. Korneanın mikroskopik anatomisi

Kornea önden arkaya sırayla epitel, Bowman tabakası, stroma, Descemet membranı ve endotel olmak üzere 5 tabakadan oluşmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Korneanın mikroskopik anatomisi (Lang. Ophthalmology. Stuttgart - New York: Thieme, 2000: 118).

2.1.3 Korneanın optik özellikleri

Kornea santral üçte biri neredeyse sferiktir ve normal bir gözde yaklaşık 4 mm çapındadır. Keratometri cihazlarının referans kabul ettiği bu santral bölgeden uzaklaşıldıkça kornea eğimi azalır, kırıcılığı düşer. Gözün toplam kırıcılığının 2/3'ü korneadan kaynaklanmakta olup, ortalama kırıcılığı 40–44 diyoptri arasındadır.

Korneanın optik özelliklerini saydamlığı, yüzey düzgünlüğü, eğimi ve refraktif indeksi belirler. Kollajenin saydamlığı en çok stromadaki kollajen liflerin düzenli dizilişine atfedilmiştir. Kollajen lifler arasındaki mesafenin azaldığı "fibrozis" veya arttığı "ödem" durumunda saydamlık bu nedenle kaybolmaktadır (1,3,4). Korneanın düzgün eğimi ve anatomisinin bozulduğu keratokonus, skar gelişimi, refraktif cerrahi girişimleri ve yaralanmalarda da optik kalite ve saydamlık kaybı ortaya çıkar (1,3,4).

2.1.4. Korneanın innervasyonu

Vücudun duyuşal innervasyonu en yoğun dokulardan biri olan kornea, ciltten 300–400 kat yoğun sinir yoğunluğuna sahiptir (1). Kornea duyuşal innervasyonu trigeminal sinirin oftalmik dalından, silyer sinirden alır. Limbus çevresinde sinir halkası oluşturan uzun silyer sinir periferik stromaya derinden ve radyal olarak girer, girdikten kısa bir mesafe sonra miyeliniz hale gelir, incelerek devam ettirdiği radyal uzanımı bir süre sonra öne doğru yön değiştirir, bowman tabakasını deldikten sonra pleksus oluşturur ve kornea epitelinin kanat hücreleri seviyesinde sonlanır (1). Descement membranı ve endotel tabakasının innervasyonu yoktur (5).

2.1.5. Gözyaşı film tabakası

Kornea yüzeyini kaplayan gözyaşı filmi, korneayı kurumaktan korurken, aslında birçok mikrovillus ve girinti-çıkıntıdan oluşan epitel hücrelerinin düzgün bir yüzey oluşturmasını da sağlar. Yaklaşık 7 mikron kalınlığındaki gözyaşı filminin hacmi de 6,5 mikrolitredir (1). Kornea yüzeyini kaplayan gözyaşı filmi üç tabakadan oluşur. Önden arkaya doğru bu tabakalar şunlardır;

1. Hidrofobik ön lipid tabaka: 0,5 µm kalınlığındadır, kolesterol esterleri ve yağ içerir. Meibomian, Zeis (sebase yapıda) ve Moll (ter bezi yapısında) bezlerince salgılanır. Lipid tabaka; kolesterol esterleri, fosfolipidler, trigliseritler, serbest yağ

asitleri ve serbest sterollerden oluşur. Hidrofobik lipid tabaka buharlaşmayı azaltır, kayganlaştırıcı özellik taşır, gözyaşı menisküsünün kapak dışına taşımını önler.

2. Hidrofilik aköz tabaka: 6,5 µm kalınlıktadır. Ana lakrimal bez ve aksesuar lakrimal bezler (Krause, Wolfring ve Manz bezleri) tarafından salgılanır. Aköz tabakanın %98'ini su oluşturur, %2'si ise solid kısımdır. İçerdiği Na ve HCO₃ miktarı serum ile aynı, K⁺ ve Cl⁻ ise daha yüksektir. Glikoz içeriği çok düşüktür buna karşılık yüksek miktarda protein içerir. Yaşla birlikte protein konsantrasyonu azalır. Salgısal IgA, IgG ve IgE gibi immunglobulinler ile beraber içeriğindeki lizozimler ile lizis etkisi yaratan laktoferrin sayesinde B.subtilis, S.aureus ve S.epidermidis gibi mikroorganizmalar için bakteriyostatik etki gösterir. Aköz tabaka avasküler korneanın özellikle epitel tabakasının oksijen ve besin gereksiniminden sorumludur.

3. Musin tabaka: 0,2–0,5 µm kalınlıktadır. Goblet hücrelerince ve Manz bezlerince salgılanır. Epitel ile gözyaşı film tabakası arasında yüzey gerilimini ayarlar (6).

2.1.6. Epitel tabakası

Kornea epiteli, keratinize olmayan çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Epitel tabakasının kalınlığı yaklaşık 50 mikron olup, korneanın toplam kalınlığının %10'unu oluşturur. Bazal hücre tabakası tek katlı silindirik hücrelerden oluşur, bu hücreler altındaki bazal membrana hemidesmozomlarla tutunmuştur.

Limbustaki pluripotent kök hücrelerden mitozla çoğalan hücreler kornea merkezine doğru ilerleyerek epitelin bazal hücrelerini oluştururlar. Bu bazal hücrelerden differansiye olan hücrelerin oluşturduğu kornea epiteli 3 farklı hücre türünün oluşturduğu 5–6 kattan oluşur. En altta tek katlı kolumnar bazal hücreler, ortada 2–3 katlı kanat hücreleri ve en üstte 2–3 katlı yüzeyel yassı hücrelerinden meydana gelmektedir. Bazal hücrelerden, yüzeyel hücelere dönüşüm sürecinin döngü süresi 7–14 gündür (1,3,7). Ultraviyole radyasyonu, hipoksi, mekanik stres apoptozisi tetikleyerek, programlı epitel hücre ölümüne neden olur.

Yüzeyel hücreler yassı poligonal şekilli olup, 40–60 mikron çapta, 2–6 mikron kalınlıktadır (1,3,7). Yüzeylerinde mikrovillus ve mikroplikalar, gözyaşı ve hava ile temas alanını artırarak besin ve oksijen teminini kolaylaştırır. Göz yüzeyini hidrofilik hale getirir ve müsün ile yüzey gerilimini azaltır (1,3,7).

Çoğalma yeteneği sadece bazal hücrelerde vardır. Bazal hücreler bazal membrana hemidesmozom ve tip VII kollajen fibrillerle bağlıdır. Bu kollajen fibriller

stromaya da penetre olur, stromanın tip I kollajeni ile birlikte tutunmayı sağlayan plaklar oluşturarak, epitelin stromayla olan bağlantısını güçlendirir.

Epitel hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri, biyolojik ve kimyasal etkenlerin derin korneal katlara penetrasyonu ve birçok kimyasal gözyaşı içeriği için önemli bariyerdir. Ayrıca epitelin hızlı devridaim süreci, birçok mikrobik saldırı için önemli bir savunma mekanizmasıdır (1,3,7). Epitel hücreleri birbirlerine çok sayıda desmozomlarla sıkıca tutunmuşlardır. Yüzeyel hücreler zonula okludensler (sıkı bağlantılar) sayesinde yüksek dirençli yarı geçirgen bir membran gibi davranırlar. Yüzey epiteli ile kanat hücreleri arasında makula okludensler gözlenir (8).

Epitel tabakası içinde periferik kısımlarında histiyositler, makrofajlar, lenfositler, melanositler ve langerhans hücreleri bulunabilmektedir.

2.1.7. Bazal membran

Bazal membran tip IV kollajen, laminin, heparin, proteoglikanlar, az miktarda fibronektin (Fn) ve fibrilin içeren rejenere olamayan bir tabakadır.

2.1.8. Bowman Tabakası

Işık mikroskopu ile fark edilebilen bu hüresiz tabaka, epitel bazal membranı ile stroma arasında yer almakta olup, yalnızca insanlar ve bazı memelilerde bulunur. Temel olarak tip I ve III kollajen fibriller oluşan fibrillerin çapları stromadakinden incedir (1,3,4). Kollajen fibriller stromal keratositler tarafından sentezlenir ve salgılanır. Korneal hasar sonrasında rejenere olmayıp, fibrozis ile iyileşirler. Tümör ve enfeksiyonun derin katlara yayılım açısından bariyer görevi yaptığı düşünülmektedir.

2.1.9. Stroma tabakası

Kornea kalınlığının %90'ını oluşturur, 500 µm kalınlığa sahiptir ve %78 oranında su içermektedir. Kuru ağırlığın %80'i kollajen fibrillerden, %15'i matriksten, %5'i hüresel elementlerden oluşmaktadır.

Keratositler, kollajen ve ekstraselüler matriks (ECM) yapımından sorumlu kontraktil özelliği olmayan nöral krest kaynaklı hücrelerdir. Bunlar yassı hücreler olup, uzantıları ile birbirleriyle ilişki içerisindedirler ve kollajen lameller arasında bulunurlar. Stromal hasar sırasında yara bölgesine göç ederek kontraktil özelliği olan miyofibroblastlara dönüşürler. Keratositler büyük oranda Tip I, az miktarda Tip III

ve Tip V kollajen üretirler ve skar gelişimine katkıda bulunurlar. Kollajen lifler lameller yapılar oluşturacak biçimde düzenli bir şekilde uzanırlar. Lameller içindeki kollajen lifler aynı çapta olup, çapları 300 µm'dur. Kollajen lifler stromanın ön 1/3'ünde oblik, arka 2/3'ünde ise paralel lameller oluştururlar, lameller içindeki kollajen lifler birbirlerine paralel olarak tüm kornea boyunca uzanırlar. Komşuluk gösteren lameller ise birbirlerine dik yerleşimlidir. Stromanın yapısında lökositler, plazma hücreleri ve makrofajlar da bulunabilmektedir (9).

Ara madde glikozaminoglikan ve proteoglikan yapıdadır, %60 oranda keratan sülfat ve %40 oranda kondroitin sülfattan oluşmaktadır. Kollajen lameller arasında bulunan matriks, fibriller arası mesafeyi koruyarak düzenli bir yapının devamını ve korneanın saydamlığını sağlar. Yeni doğan ve çocuklarda stroma erişkinden daha fazla keratosit içerir, periferal korneal stromada yaşla birlikte kolesterol ve fosfolipid birikimi gerçekleşebilir (arcus senilis).

2.1.10. Descement membran

Endotel hücrelerinin bazal membranı olarak görev yapan bu tabaka doğumda 3–4 µm kalınlıktadır, erişkinde 8–10 µm kalınlığa ulaşır. İntrauterin gelişen ön çizgili zon ve yaşam boyu endotel tarafından desteklenen arka çizgisiz zon olmak üzere iki kısımdır. Ağırlıklı olarak tip IV kollajen ve lamininden oluşursa da içinde bir miktar Fn'de bulunur. Periferde Schwalbe çizgisi ile sonlanır. Travma sırasında bu membran, stromadan kolaylıkla sıyrılabilir ve endotel tarafından tekrar salgılanarak yenilenebilmektedir.

2.1.11. Endotel tabakası

Descement membranın arka yüzünü döşeyen, yaklaşık 5 mikron kalınlıkta, 20 mikron genişlikte olan hegzagonal hücrelerden oluşan tek katlı bir tabakadır. Descement membrana dayalı yüzü düz, humör aköze bakan yüzü epitel hücreleri gibi mikrovillusludur. Tipik olarak daha genç hücrelerde büyük bir nükleusa ve çok sayıda mitokondriye rastlanır. Bu organeller aktif transportta ve stromanın su oranında önemli rol oynarlar. Endotel hücre sayısı yaşla birlikte azalır, mitoza nadiren rastlanır, ölen hücrelerin yerini komşu hücreler genişleyerek doldurur (10). Fonksiyonlarını yitirmeleri durumunda, stromadan humör aköze doğru sürdürülen aktif su pompalanması işlevini azaltır ve stroma ödemlenerek saydamlığını yitirir. Doğumda 5000 hücre/ mm² iken erişkinde bu sayı 2500 hücre/mm² civarında olup,

500 hücre/mm² altına indiğinde korneal fonksiyonlar bozulmaya başlar. Endotel hücrelerinin arasında desmosom dışındaki üç bağlantı kompleksine (zonula okludens, makula okludens, makula adherens) sahiptir.

2.2. Kornea Embriyolojisi

Kornea epitel ve endoteli yüzey ektoderminden gelişir. Stroma ise mesodermden gelişir. Kornea ve ön kamara 6. hafta sonunda gelişmeye başlar. Altıncı haftaya kadar yüzey epiteli ile lens ön yüzü arasındaki boşluk iyi organize olmamış mezenkimal doku ile doludur. Altıncı hafta sonunda mezoderm içinde dar bir şerit halinde beliren boşluk genişlemeye başlar ve mezodermi, korneal stromayı oluşturacak olan ön tabaka ve iris stromasını oluşturacak olan arka tabaka olmak üzere ikiye ayırır. Aradaki boşluk ise ön kamarayı oluşturacaktır. Stroma 6. haftanın sonunda oluşmaya başlar ve 4. ayda epitel altında yoğunlaşarak Bowman tabakasını oluşturur. Endotel, ön kamara belirdikten hemen sonra şekillenmeye başlar. Korneoskleral açıdan itibaren iç yüzey boyunca gelişen nöroektodermal kökenli hücreler, arka yüzeyi örten yassı endotel hücrelerine dönüşürler. Onüçüncü haftada yassılaştırmış endotel hücrelerinden Descement membranı salgırlar. Descement membranı kalınlığı giderek artar ve embriyo 60–70 mm iken histolojik kesitlerde tanınır hale gelir (11–13).

2.3.Kornea Fizyolojisi

Kornea epitelinin iki önemli görevi vardır. Birincisi normal görme fonksiyonunun devam edebilmesi için gözyaşı ile birlikte düzgün bir yüzey oluşturmak, ikincisi ise sıkı bağlantılar (tight junctions) ile koruyucu bir bariyer oluşturarak stromaya sıvı ve patojen mikroorganizmaların girişini engellemektir (14).

Kornea epitel hücreleri metabolik olarak en aktif hücrelerdir. Epitel tabakasına oksijen, gözyaşı yoluyla difüzyonla sağlanırken, göz kapalı durumda iken limbal ve tarsal konjonktiva damarlarının da katkısı vardır (15). Aminoasit ve vitamin desteği, aköz humörden sağlanır. Epitel hücrelerinde, glikoz ve glikojen başlıca enerji kaynağını oluştururlar. Glikoz çoğunlukla aköz humörden elde edilmekle beraber, %10 veya daha azı limbal damarlar veya gözyaşından da sağlanabilir. Glikojen depolama özelliğine sahip olan epitel hücreleri, hipoksi ve travma gibi durumlarda bu kaynağı kullanabilmektedirler.

Endotel hücreleri hem aktif bir pompa gibi çalışıp, hem de mekanik bir bariyer teşkil ederek, korneanın şeffaf ve saydam kalmasını sağlarlar. Aköz humörden sağlanan glikoz ve oksijen endotel hücrelerinin ana enerji kaynağıdır. Aktiviteleri için anaerobik, daha az olarak da aerobik yolları kullanırlar. Kornea endoteli dehidratasyon görevini yaptığı sürece, stromanın su içeriği %78 ve kalınlığı 550 µm civarında kalarak saydamlığını ve normal fonksiyonlarını sürdürür. Endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar bariyer görevi görürler. Endotel tabakası metabolik aktivitesini stromadan aköz humöre su pompalamak üzere gerçekleştirir.

Net su akımı için Na^+ , K^+ ve H^+ iyon konsantrasyon gradientinin gerçekleşmesi gereklidir. Endotel hücre yüzeyindeki iyon pompaları ile gerekli gradient sağlanır. Endotel hücrelerin dış kenarlarına lokalize olan sodyum-potasyum-adenozintrifosfataz pompa sistemi enerji harcayarak sodyumun hücre dışına çıkmasını sağlar, bunu suyun hücreyi terk etmesi izler. Böylece kornea stromasından ön kamaraya doğru devamlı sıvı geçişi olurken, korneanın şeffaflığı korunur. Korneadan ön kamaraya geçen sıvının geri dönmesi, endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (tight junction ve gap junction) ile önlenmektedir (16).

Hekzagonal yapıda olan endotel hücreleri, sıvı regülasyonu için ideal dizilimi oluşturmaktadır. Bu geometrik düzen maksimum sayıda hücre ve maksimum sayıda pompa yoğunluğunu temin etmektedir. Korneanın şeffaflığının korunması, endotel hücrelerinin etkin fonksiyonlarının yanı sıra, korneada damarsal yapıların bulunmamasına, sinir liflerinin myelinsiz olmasına ve stroma tabakasındaki kollajen lamellerin düzenli dizilimine bağlıdır.

Prekorneal gözyaşı buharlaşınca gözyaşında hipertonsite ortaya çıkar. Bu olay ve direkt buharlaşma yüzeyel kornea stromasından su çekerek korneanın rölatif dehidratasyonunun korunmasını sağlar (17).

2.4 Korneanın Yara İyileşmesi

Mekanizma ve komponentlerin farklılığı nedeniyle korneanın yara iyileşmesi epitel, stroma ve endotel için ayrı ayrı ele almak gerekir.

2.4.1. Epitelyal defekt

Epitel yara iyileşmesi korneal iyileşmedeki ilk basamaktır ve 3 fazda gerçekleşir (18). Bunlar; ilk saatlerde görülen latent faz, epitel migrasyon ve proliferasyon fazı ve kalıcı hücre adhezyon fazıdır.

Latent faz yaralanmanın ardından hücre migrasyonuna kadar olan ilk birkaç saatlik evredir. Bu evrede büyük bir hücresel reorganizasyon ve protein sentezi gerçekleştirilir. Hücresel iskelet proteinleri olan vinkulin, aktin, talin ve integrin, hücre yüzey reseptörleri ve yüzey glikoproteinleri, glikolipitleri sentezlenir (19). Glikoprotein yapıda olan integrin $\alpha6\beta4$ ekstraselüler proteinler ile hücre iskeleti yapılarını birbirine bağlayan bir integral membran proteindir. Normalde hücrelerin basal yüzeyinde bulunur ve basal membrandaki laminine bağlanarak hücreleri basal membrana tutturur. Yaralanma sonrasında lag fazında integrinler hücrenin bütün yüzeyine yayılırlar. Komşu ECM'e adezyon sağlayacak olan adezyon molekülü olarak görev yaparlar. Ayrıca bu yüzey glikoproteinlerinin ECM ile hücre iskeleti arasında sinyal iletiminde rolü olduğu düşünülmektedir (20).

Ayrıca integrinlerin fibriler kollajen ile birleşmesi sonucu hücrelerde matriks metallo proteinaz (MMP) ekspresyonu tetiklenir. MMP-1 fibriler kollajeni $\alpha1$ ve $\alpha2$ zincirlerine ayırarak adezivitesini azaltır ve migrasyon için kolaylık sağlar (21). Bir hücre yüzey reseptörü olan CD44 molekülü de migrasyonun aktif olduğu dönemde en fazla miktarda üretilip proliferatif evre başlayınca üretimi azalır (22). Yara iyileşmesinin erken döneminde üretilen fibrin geçici bir matriks gibi görev yapar, hücre adezyonu ve migrasyonunu kolaylaştırır. Bazı deneysel çalışmalarda bu fibrin ağının gerekliliği gösterilmiştir (23).

Normalde epitel bazal hücre mitoz bölünmesiyle her 7 günde bir yenilenir. Fakat yaralanma durumunda bu süre kısalır. Yaralanmadan yaklaşık 5 saat sonra hücreler 60 ila 80 μm /saat hız ile göçe başlarlar ve defekt kapanana kadar göç devam eder (24). Korneal abrazyonlar epitelin tamamının veya bir kısmının Bowman tabakasını açıkta bırakacak biçimde kayıpla oluşur. Epitelden tamamen yoksun kornea 4-7 gün içinde kendini yenileyebilir. İyileşmede başlangıçta bir mitotik paralizi, ardından defekti kapatmak üzere epitel hücrelerinin yaraya göçü ve mitozla normal kalınlığa ulaşma basamakları gözlenir. Yaralanmanın hemen ardından bazal hücrelerde DNA sentezi ve mitozunda duraklama gözlenir. Yaklaşık 1 saatlik sessiz dönemden sonra zedelenmemiş komşu epitel hücreleri birbirlerinden ayrılıp şişmeye başlarlar ve fibrinle sarılırlar. Küçük yaralarda epitel motilitesi dakikalar içinde başlar. Özellikle bazal tabakada hücreler, filopodia ve lamellopodia gibi uzantılarla motilite kazanarak bazal lamina üzerinden defektif alana göç ederler (15.saatte).

Defekt tamamen kapanıncaya kadar motilite sürer. Migrasyon, intrastoplazmik aktin-myozin kontraksiyonu ile gerçekleşir. Hücre hareketinin aktif fazı süresince mitotik aktivite 96 -120 saat kadar inhibisyona uğrar. Zedelenmeden 3 saat sonra rejenere olan epitel uçlarında ve bazal laminada polimorfonükleer lökosit (PMNL) belirir ve 36 saat kadar kalırlar. Daha sonra giderek azalıp kaybolurlar. Büyük defektlerde onarıma konjonktiva epiteli de katılabilir. Abrazyonu kornea epiteli 1-4 gün içinde örterken konjonktiva epiteliyle iyileşme 1-2 hafta veya daha uzun zaman gerektirir.

Epitel bazal membranında üç değişik komponent ayırt edilebilir:

1. Bazal hücre membranının hemen altında yer alan lamina lucida içinde 220.000 D luk bir glikoprotein olan büllöz penfigoid antijen (BPA)
2. Lamina lucida da yer alan nonkollajenoz bir protein olan laminin
3. Stromaya en yakın yerleşimli Tip IV kollajen yapıda olan lamina densa.

Epitelin minör travmalarda veya nazıkçe soyulmasında hemen daima BPA ile laminin arasından ayrılıyor olması, bazal membranın travmaya en duyarlı yerinin bu kısım olduğunu gösterir. Bazal membranın tamamen kaybında iyileşme yaklaşık 6 hafta sürer. Sağlam bir bazal membran üzerine göç eden epitel hücreleri 6 saat içinde buraya sıkıca yapışırlar. Latent fazda bütün abrazyonlar epitel ile örtülmeden önce bir diğer glikoprotein olan Fn ile kaplanır. Serumda bulunan ve karaciğer hücreleri, damar endoteli, makrofaj ve fibroblastlarca üretilebilen Fn, korneal abrazyonlar da muhtemelen serumdan köken alır. Üretimi epitel defektinin kapandığı travma sonrası 2.-4. günlerde gerçekleşir. Fn abrazyona komşu epitel hücre göçü için gerekli matriks görevini görür. Normal kornea epitelinde intrastoplazmik aktin filamentleri yüzey epitel hücrelerinin mikropikalıkları altında en yoğun iken abrazyonda, abrazyona komşu kenarda yerleşim gösterirler. Defekt iyileşmesinde Fn depolanması ve aktin filamentlerinin reorganizasyonu epitel iyileşmesinde ana faktörlerdir. Bunların ardından yeni BPA ve laminin üretilir (25,26). Abrazyon alanındaki stromada keratositler metabolik olarak aktif duruma gelirler ancak epitel iyileşmesine nasıl katkıda buldukları belli değildir. Enfeksiyon veya ilaçlar Fn hasarına neden veya üretimine engel olarak, aktin filamentlerinin işlevini ve epitel hücre mitozunu inhibe ederek yara iyileşmesini geciktirirler. Yaralanma nedeni ne olursa olsun tüm abrazyonlar reepitelizasyon sürecinde aynı kapanma paterni gösterirler. Üç-altı koldan konveks biçimde migrasyon gösteren öncü epitel hücreleri defekt boyunca

gelişmekte, merkeze doğru ilerlemektedir. Karşılaşan uçlar sonuçta değişik geometrik şekiller yaratmakta ve epitel tamamen kapanmadan önceki dönemde tek veya çift Y biçiminde çizgisel defekt halini almaktadırlar (27).

Korneal epitel iyileşmesinde limbal kök hücreleri de önemli rol oynarlar. Bunlar en yüksek mitoz hızına sahip hücrelerdir. Epitel iyileşmesi sırasında bazal hücrelerle limbal kök hücreler arasında bir denge bulunmaktadır (28). Santral epitel defekti sırasında, periferik limbal hücreler santrale doğru göç ederek, kornea epitelinin devamlılığını sağlarlar. Bu görüş 'X,Y,Z' hipotezi ile ortaya konmuştur. X; bazal epitelium hücre çoğalmasını, Y; limbal hücre çoğalım ve santrale göçünü, Z; yüzeyden epitel hücre kaybını yansıtmak üzere denge konumunda $X+Y=Z$ olmalıdır (29). Epitel defekti limbal Vogt palisadlarını içine aldığı anda persistan epitel defekti ve konjonktivalizasyon insidansı artar. Konjonktiva epitelinin kornea epiteline transformasyonu anatomik ve biyokimyasal değişiklikler gerektirir. Konjonktiva epiteli goblet hücreden zengin, birkaç desmozom içeren 2 -4 katlı yapıdan desmozom ve hemidesmozomlarla birbirine sıkıca tutunmuş, goblet hücresi içermeyen 5 -6 katlı yapıya dönüşmek zorundadır. Aynı zamanda glikolitik, TCA sikluslu solunum zincirinden heksos monofosfat şantına dönüşümü içeren biyokimyasal dönüşüm söz konusudur. Kornea epitel iyileşmesinde sinir lifi rejenerasyonu da gerçekleşir. Tavşan korneasında bu süreci destekleyen epitelialy neuronotrofik faktör adı verilen bir mediatorun varlığı saptanmıştır (30).

2.4.2. Epitelial ve yüzeyel stromal defekt:

Epitelial birlikte Bowman ve ön stroma tabakası kaybı söz konusudur. Epitelial iyileşme ile süre açısından farklılık gösterir ve daha uzundur (en az 6 hafta). Altındaki yüzey yani stroma yara iyileşmesi için ideal bir platform değildir. Bowman tabakası ve normal stroma rejenerasyonu olmayacağından defektin yerini kollajenöz skar dokusu alabilir veya defekt hiperplastik bir epitelialle doldurulabilir (25).

2.4.3. Derin stromal defekt:

Epitel iyileşmesine benzemekle beraber, daha uzun sürer ve kollajen skar dokusu gelişimi ile sonuçlanır. Zedelenmeden 2 saat sonra stromal yara PMNL' ler görülür. 12 saatte pik yaparlar, 72 saat sonra giderek azalır, fagositoza yardımcıdırlar. Hasar gören epitel tabakanın alt tarafındaki keratositlerde apoptozis

gözlenir. Hasarlı epitel ve apoptozise uğrayan keratositlerden sitokinlerin salınmasıyla, iyileşme kaskadı başlamaktadır. Yara gerginliğine olan direnç stromal iyileşmeyle yakından ilişkilidir. Stromal iyileşme sırasında keratositler, aktif fibroblastlar olan miyofibroblastlara dönüşmektedirler (31). Kontraktıl özellikte olan bu hücreler kollajenleri, glikozaminoglikanları ve diğer matriks proteinlerini üretmektedirler. ECM, yara kontraksiyonundan sorumludur ve esas olarak bir skar proteini olan tip III kollajen üretmektedir. Skar remodelizasyonu sonrasında tip III kollajen, stromanın normal yapısında olan tip I kollajen ile yer değişimine uğrar. İlk hafta içerisinde stromada hiyaluronik asit üretimi görülür ve zamanla yerini kondroitin sulfat ve keratin sülfata bırakır. Hasarlanan epitelde salınan interlökin-1 (IL-1) stromal iyileşmede önemli rol oynar. Keratositlerden Fas ligand, Hepatosit büyüme faktörü (HGF), keratosit büyüme faktörü (KGF), Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve diğer sitokin ve kemokinlerin salınımını uyarır (32). Bu sitokinlere verilen cevaplar ile stromal yara iyileşmesinde önemli olan birçok olay tetiklenir. Bunlar keratosit apoptozu ve nekrozu, rezidü keratositlerin aktivasyonu, keratosit proliferasyonu ve miyofibroblast gelişimi ve inflamatuvar hücre göçüdür. Keratosit apoptozu epitel travmasından 4 saat sonra en yüksek düzeydedir ve 1 hafta kadar sürebilir (33,34). Keratositlerle birlikte inflamatuvar hücrelerde de apoptoz görülür. Rezidüel aktive keratositlerin proliferasyonu ve migrasyonu epitel travmasından 12-24 saat sonra başlar. Transform edici büyüme faktörü β (TGF) keratositlerin miyofibroblast dönüşümünü aktive eder (35). Kontraktıl özellikte olan miyofibroblastlar travmadan sonra 1-2 hafta kadar subepitelyal stromada bulunabilirler. Bu hücreler keratositlere göre daha fazla miktarda HCG, KGF, kollajen, glikozaminoglikan kollajenaz, jelatinaz ve metalloproteinaz üretirler bu da stromanın yeniden şekillenmesine katkıda bulunur (36). Stromal iyileşmenin tam olarak gerçekleşmesi haftalar almasına rağmen keratositlerde hipertrofi, çok sayıda nükleolus gelişimi gibi yapısal değişiklikler oldukça erken gözlenir (25). Hasar sonrası ikinci haftada kontraktıl faz başlamaktadır. Kas hücrelerindeki benzer şekilde, miyofibroblastlarda aktin ve miyozin kontraktıl ünitleri oluşur (37). Stromal yara iyileşmesinde yukarıda belirtilenler dışında birçok faktör de görev almaktadır. Forbol esterlerinin stimüle ettiği kollajenaz stromelisin ve jelatinaz A salınmaktadır. PDGF, MMP'ların (MMP-1 ve 9) salınımını ve Fn varlığında korneadaki

fibroblastların migrasyonunu arttırmaktadır (38). Endotel büyüme faktörü (EGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve fibroblast büyüme faktörünün (FGF) keratosit hücrelerinin migrasyonunu artırdıkları da çalışmalarla gösterilmiştir.

2.4.4. Endotelyal defekt

Kornea endotel hasarı sonrasında, sıvı transport mekanizmasında bozulma ile ödem oluşmaktadır. Endotel hücreleri mitotik aktiviteye sahip olmadıklarından ölü endotel hücrelerin yerlerini doldurmak için, komşu endotel hücreleri genişlemekte ve hasar yerine göç etmektedirler. İyileşme fazında, yara yerine en yakın olan hücreler, 100 µm/gün hızla hareket ederken, kalınlıkları azalıp genişleyerek hekzaglonaşıl şekil almaktadırlar. Hücreler, göçleri sırasında birbirleriyle temaslarını sürdürmektedirler (39). Son zamanlarda, insan hücre kültürleri ile yapılan çalışmalarda, periferik korneadaki endotel hücrelerde hızı çok düşük olan mitotik aktivitenin ve kısmi olarak kendini yenileyebilme yeteneğinin varlığı in vivo olarak gösterilmiştir (40).

Kornea endotel iyileşmesinde birçok faktör görev almaktadır. Endotel hücrelerinde EGF ve PDGF reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (9,41,42). İnsan hücre kültüründe, EGF'nün otokrin etkilerle, endotel hücrelerin dansite artışında ve migrasyonunda etkili olduğu görülmüştür. Kornea yaralanmasında lakrimal bezden elde edilen EGF'nün topikal uygulanmasının, endotel yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir. PDGF, endotel hücre dansitesini ve DNA sentezini artırırken, endotel yara kapanma süresini kısaltmaktadır.

2.5.Kornea Avaskülaritesi Ve Vaskülarizasyonu

Korneanın besleyici damarı siliyer arterlerden gelir. Oftalmik arterden çıkan siliyer arterler limbus bölgesinde perikorneal pleksuste sonlanır. Kornea neovaskülarizasyonu da perikorneal pleksuste var olan kapiller ve venüllerden çıkmaktadır (43). Kornea neovaskülarizasyonunun üç klinik varyantı vardır: descemet membranı üzerinde derin stromal neovaskülarizasyon (genellikle herpetik interstisyel keratitte görülür), stromal neovaskülarizasyon (genellikle stromal keratitlerden kaynaklanmaktadır) ve Vasküler pannus (oküler yüzey hastalıklardan kaynaklanan periferik yüzeysel korneada bağ dokusu proliferasyonudur) (45).

Yeni damar oluşumunda (neovaskülarizasyon) üç mekanizma söz konusudur.

1. Vaskülogenezis: Embriyogenez döneminde kemik iliğı kaynaklı anjioblastlardan yeni damar oluşumu çoğunlukla embriyogenez aşamasında görülmektedir (46).

2. Progenitör vasküler endotelial hücrelerin toplanması ile yeni damar gelişimi. Progenitör vasküler endotelial hücreler periferik matür endotel hücrelerinin öncülleridirler, endotelin yenilenmesinde görev yaparlar (47).

3. Anjiogenezis: mevcut damarlardan yeni damar gelişimi (48–50)

Vaskülogenez gelişimin sonunda durur ve endotel hücre proliferasyonu hemen daima yetişkinlerde sonlanmıştır (51). Yetişkinlerde sadece anjiogenez görülür ve yara iyileşmesi, ovulasyon ve plasental maturasyon gibi fizyolojik fonksiyonlardan sorumludur. Regülasyon bozulduğunda endotel hücreleri anormal bölünerek tümör gelişmesi ve anjiogenez yoluyla bazı oküler hastalıklar gibi patolojik durumlarda ortaya çıkar (52). Korneada da anjiogenik faktörler ile antianjiogenik faktörler arasında bir denge bulunmaktadır (53). Tablo 1’de anjiogenik faktörler ile antianjiogenik faktörler yer almaktadır.

Her ne kadar kornea neovaskülarizasyonu birçok kornea katmanını tutabilirse de yapılan çalışmalarda vaskülarizasyonun stromanın ön ve orta üçte birini tuttuğu gösterilmiştir (54).

Tablo 1. Korneada bulunan anjiogenik ve anti anjiogenik faktörler

Anjiogenik faktörler	Antianjiogenik faktörler
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	Anjiostatin
FGF	Endostatin
MMP	Pigment epiteli kaynaklı faktör
PDGF	Trombospondin-1 (tsp)
TGF	VEGF inhibitörü
IL-6, IL-8	MMP doku inhibitörü
Anjiopoetin	Tümör nekrozis faktör alfa
IGF	Antitrombin-3 fragmanı
Plasenta büyüme faktörü	Restin
Integrin (alfa ve beta)	Angiopoietin-2
HGF	
Tümör nekrozis faktör alfa	
Bağ dokusu büyüme faktörü	

2.5.1. Epidemioloji

Kornea ve gözün diğer bölümlerinin neovasküler ve enfeksiyöz hastalıkları toplumda görülen genel problemlerdendir. Amerika'da bir sene içinde 1,4 milyon hasta kornea neovaskülarizasyonu geçirmektedir: toplumun %4'ünde kornea neovaskülarizasyonu bulunmakta ve kornea nakli sırasında elde edilen kornea örneklerin %20'si histopatolojik olarak vaskülarizasyon göstermektedir (55).

2.5.2. Kornea Neovaskülarizasyon Fazları

Kornea neovaskülarizasyonunda üç faz vardır:

1. Erken prevasküler fazı: Enflamasyona bağlı hasar ile damarlarda dilatasyon, geçirgenlik artışı ve ödem olur. 2–3 saat sonra PMNL'ler damar dışına çıkarak, kornea stromasına göç ederler. 24–48 saat sonra da PMNL infiltrasyonu pik yapar. PMNL'ler kemotaksisi başlatarak bazı sitokinlerin salınımına neden olur. Lökositlerden salınan proteolitik enzimler ile damarların bazal membranı parçalanır. Damar geçirgenliğinde artış ve ödem normalde sıkı bir dizilim gösteren kollajen fibrillerin birbirinden ayrılmasına neden olur. Ödemle beraber ekstravasküler dokuya geçen fibrinojen pıhtılaşarak vaskülarizasyonda önemli rol oynar (55,56).

2. Vasküler tomurcuklanma fazı: Bazal membran devamlılığının bozulmasından sonra endotel hücreleri psödopodları ile hasarlı bölgeden göç eder. Daha sonra endotel hücrelerinde mitoz ve yeni damar tomurcuğu oluşumu gözlenir. MMP'lar ECM bileşenlerini bozarak, göç eden endotel hücreleri için gerekli olan yolu açar. Anjiyogenik faktörler endotel hücrelerinde MMP'lerin salınmasını ve fonksiyonlarını arttırabilir (57). Göç olayı tek başına neovaskülarizasyon için yeterli olmakta, hücre proliferasyonu olmasa bile endotel hücrelerinin yayılımı, göçü ve yeniden dağılımı ile yeni damar oluşumu gerçekleşebilmektedir. Bu nedenle endotel hücre göçünün vaskülarizasyondaki en önemli basamak olduğu söylenebilir. Bu fazda henüz vasküler lümen oluşmamıştır (58).

3. Vasküler Matürasyon Fazı: Ortamda çoğalan endotel hücreleri zamanla lümen oluşturacak şekilde yan yana gelir ve primitif damar şeklini alır. Bu sırada endotel hücrelerinden anjiyogenik uyarı ile ECM proteinleri ortaya çıkar. ECM proteinleri perivasküler boşluğa ulaşarak, hücre proliferasyonunu gerçekleştirdiği gibi, damar çeperinin düzenli olmasını da sağlar. Zamanla yeni oluşan damarların bazal membranları devamlı hal alır ve perisitlerin endotel hücrelerini çevrelemesi ile ana

damar oluşumu izlenir (56). Postkapiller venüllerden oluşan primitif damarlar zamanla birbirleriyle ilişkiye geçer ve kan akımı başlar. Anjiogenik uyarının yetersiz kaldığı durumlarda ise vasküler yapılarda daha fazla uzama gerçekleşmez ve regresyon gözlenir (56).

2.5.3. Risk faktörleri

Kornea neovaskülarizasyonu yapabilen birçok enflamatuvar, enfeksiyöz, dejeneratif ve travmatik bozukluklar vardır (Tablo-2). Kornea skarı, ödemi, yağ depozitesi ve enflamasyonu bu durumun neden olduğu majör oküler komplikasyonlardır. Bu durum sadece görme düzeyini azaltmakla kalmaz birde penetran keratoplastinin sonuçlarını da etkiler. Kornea nakli sonrasında histopatolojik kesitlerde alıcı kornealarda görülen vaskülarizasyon %30'u greft reddi ile sonuçlanmaktadır (59).

Tablo 2. Kornea neovaskülarizasyonuna neden olan hastalıklar

<p>Enflamatuvar hastalıklar (55,59-62)</p> <ul style="list-style-type: none"> Oküler pemfigoid Atopik keratokonjonktivit Rozasea Greft rejeksiyonu Lyell's sendromu Stevens-johnson sendromu Graft versus host hastalığı 	<p>Dejeneratif-konjenital bozukluklar (61, 65-71)</p> <ul style="list-style-type: none"> Pterjium Terrien marjinal dejenerasyon Aniridi
<p>Enfeksiyöz keratitler (49,63,64)</p> <ul style="list-style-type: none"> Viral <ul style="list-style-type: none"> Herpes simpleks Herpes zoster Bakteryel <ul style="list-style-type: none"> Psödomonas Klamidya trakomatis Sifiliz Fungal <ul style="list-style-type: none"> Kandida Fusarium Asperjillus Parazitik <ul style="list-style-type: none"> Onkoserkiazis 	<p>Travmatik-iatrojenik bozukluklar ve diğerleri</p> <ul style="list-style-type: none"> Kontakt lens Alkali yanığı Ülser İatrojenik Kök hücre yetmezliği

Korneanın ve konjonktivanın immünolojik ve enfeksiyöz hastalıkları nedeniyle kornea neovaskülarizasyonuna neden olan anjiogenik moleküller üretilmektedir. Dolayısıyla Atopik keratokonjonktivit gibi enflamatuar hastalıklar nedeniyle uzun süre takip edilen hastaların %60'ında kornea neovaskülarizasyonu gelişmektedir (62). Enfeksiyöz hastalıklar arasında özellikle Herpes simpleks ve Herpes zoster keratitler primer hastalıkları teşkil eder. Sadece hastanın reaksiyonuna bağlı olmayıp interstisyel, nekrotizan veya tekrarlayan keratit sonrasında da gelişebilen bir komplikasyondur. Oküler hastalığa neden olan Herpes simpleks virüsünün genetik olarak virüs DNA'sı tarafından belirlendiğini gösteren deneysel veriler vardır (63). Her ne kadar korneal neovaskülarizasyon genellikle enflamatuar hastalıklardan kaynaklansa da, dejeneratif hastalıklar (Pterjium ve Terrien marjinal dejenerasyonu) ve konjenital hastalıklar (Aniridi) neovaskülarizasyon oluşturabilmektedir (54,65,68,69). Bu durumlarda kornea neovaskülarizasyon patogenezinde enflamasyon sorumlu olabilir. Bütün enfeksiyöz keratitler kornea neovaskülarizasyonuna neden olabilir ancak acanthamoeba keratiti şiddetli ve uzun süre formunda bile neovaskülarizasyona neden olmamaktadır (64). Buda korneada ki kompleks anjiogenez ve anti anjiogenez dengesini göstermektedir. Anjiogenezin moleküler tabanını anlayabilmek için in vivo ve in vitro bir çok çalışma yürütülmektedir. Normal durumda kornea avasküleritenin sağlanması için düşük düzey anjiogenik faktörler ve yüksek düzey anti anjiogenik faktörler gerekmektedir. Kornea neovaskülarizasyon patogenezinde bu dengenin bozulması söz konusudur.

2.5.4. Korneal Avaskülerite: Anjiogenez ve Antianjiogenez dengesi

Anjiogenik ve anti anjiogenik faktörler dengesinde Anjiogenik faktörler ağırlık gösterdiği zaman anjiogenez oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda neovaskülarizasyon için sadece anjiogenik faktörlerin yükselmesi değil aynı zamanda anti anjiogenik faktörlerin azalması da gerekmektedir (50). Kornea anjiogenik ve anti anjiogenik molekülleri in vivo çalışmalarında model olarak kullanılmıştır.

2.5.5. Kornea Neovaskülarizasyonda suçlanan anjiogenik moleküller

VEGF: Enflame ve vaskülerize olmuş insan kornea ve hayvan modellerinde VEGF'nün yükseldiği gösterilmiştir (61,72–74). VEGF ekspresyonunun embriyonik, fizyolojik ve patolojik kan damarı gelişimi ile korele olduğu gösterilmiştir (75).

VEGF endotel hücelere yüksek spesifite gösteren heparin bağlama büyüme faktörüdür.

VEGF üretim regülasyonu: VEGF, damar endoteli, düz kas hüceleri, arteriollerdeki fibroblastlar, böbrek glomerülleri, bronşlar, overler, adrenal bezler, dalak ve tonsillerde bulunmaktadır (76). Genellikle makrofajlar, T hüceleri, retina pigment epitel hüceleri, astrositler ve düz kas hüceleri tarafından üretilmektedir. VEGF üretimi lokal ve sistemik birçok faktör tarafından düzenlenir bunlar; siklik AMP (cAMP), steroid hormonlar, protein kinaz C agonistleri, polipeptit büyüme faktörleri, sitokinler, oksijen, serbest radikaller, glikoz, kobalt ve demirdir (77,78). VEGF üretimini motive eden faktörler; FGF, PDGF, tümör nekrosis faktör, TGF, KGF, IL-1 ve IL-6 dır. IL-10 ve IL-13 ise VEGF salınımını inhibe eder. Yara yerini işgal eden nötrofiller tarafından salınan KGF ve hidrojen peroksidler VEGF'lerin keratinositler tarafından üretimini stimüle eder. VEGF düzeyi yükselmesine neden olan bir diğer molekül nitrik oksittir. Nitrik oksitler, VEGF'ün vasodilatasyon ve damar sızması fonksiyonunu artırır. Nitrik oksit üretimi ise VEGF'üne bağlı olup aralarında kapalı devre ilişkisi mevcuttur. VEGF ekspresiyonun 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 (79).

VEGF izoformları: Amino asit dizilişine göre 5 human VEGF mRNA izoformu bilinmektedir; VEGF121, 145, 165, 189 ve 206. Heparin ve heparin-sülfat bağlanma kabiliyeti bu izoformların bir birinden ayırt eden önemli biyolojik özellikleridir. VEGF121, 145 ve 165 izoformları endotel hücre proliferasyonu ve in vivo anjiogenezisi tetikler (80). İnsanlarda en fazla VEGF165 izoformu bulunur, büyük oranda heparine bağlanarak salınmaktadır ve anjiogenezde ana rol oynayan formdur (81).

VEGF reseptörleri: Tirosin-kinaz ailesine ait üç çeşit VEGF reseptör bulunmaktadır. VEGFR-1, VEGFR-2 ve VEGFR-3. VEGFR-1 ve -2 majör olarak endotel hücelerinde VEGFR-3 ise lenf damarlarında bulunmaktadır. In vivo VEGFR-1 ve -2 bütün VEGF izoformları tarafından aktive edilebilir. Ancak farklı fonksiyonlarla aktive edilirler (82). Ayrıca bu reseptörlerin ekspresiyonu hipoksiden etkilenip artabilir. Vasküler endotel hücelerinde VEGFR-1 ve -2'den bağımsız

olarak düşük kitleye sahip farklı reseptörlerde vardır. Bu reseptörlere sadece VEGF165 izoformu yüksek afinite gösterir. Neuropilin-1 ve neuropilin-2 olarak adlandırılan bu reseptörlerin özellikle yüksek oranlarda prostat ve meme kanserlerinde bulunduğunu gösteren çalımsalar vardır (83). Bu reseptörler hücre migrasyonundan sorumludur.

VEGFR-1 ve VEGFR-2'in aktivasyonları ve biyolojik etkileri: VEGFR-1 ve -2'nin VEGF ile aktivasyonu hücre migrasyonunu tetikler. Ancak sadece VEGFR-2 hücre proliferasyondan sorumludur (84). Bu iki reseptör arasındaki fark ve mekanizma tam açıklanmış değildir. VEGF reseptörlerin aktivasyonu proteas üretimine neden olup kan damarların bazal membranının parçalanmasından sorumludur, bunun da anjiogenezin ilk adımını oluşturduğu düşünülmektedir. Ek olarak VEGF proteolitik faaliyeti (orijinal damar membranının erimesi), endotelial hücre proliferasyonu, migrasyon ve kapiller tüp formasyonu gibi çok basamaklı anjiogenezi tetiklemektedir. Kornea anjiogenezinde VEGF gereksinimi anti VEGF antikoları ile neovaskülarizasyonun inhibisyonu ile gösterilmiştir (73). Aynı sonuç tavsan kornea modelinde de gösterilmiştir (85).

FGF: Basik fibroblast büyüme faktörü, FGF ailesine aittir. Bu aile 23 ayrı heparin bağlı peptidlerden oluşur. Bunlar hücre diferansiasyonu, anjiogenez, mitojenez ve yara iyileşmesi sırasında vücudun her dokusunda eksprese olur. FGF kendi reseptörü ile bağlanarak fonksiyon göstermektedir (reseptör 1, 2, 3 ve 4). Reseptör 1 normal kornea epitelinde bulunur. Reseptör 2 travma sonrasında artmaktadır (86). Basik FGF normal korneanın Bowman ve Descemet membranına ve neovasküler korneanın vasküler basement membranına bağlanmaktadır. Normal damarların maturasyonuna göre normal limbal ve yeni oluşan kornea damarlarına değişen derecelerde bağlanma izlenmiştir (87).

MMP: MMP'lar çinko bağlayan proteolitik enzim grubudur, ECM yeniden şekillenmesi ve anjiogenezde rol oynamaktadır. 24 değişik MMP tipi bulunmuş, 7 tanesinin korneada varlığı gösterilebilmiştir. Bunlar; kollajenaz I ve III (MMP-1 ve 13), jelatinaz A ve B (MMP-2 ve 9), stromelisin (MMP-3), matrilisin (MMP-7), ve membran tipi MMP (MMP-14) (88-92). Bu faktörlerin kornea anjiogenezinde arttığı gösterilmişse de (44,93) anjiogenez regülasyonunda tam rolü bilinmemektedir çünkü aynı molekül hem anjiogenik hem de antianjiogenik faktör olarak davranmaktadır.

MMP'lerin bu iki yönlü etkisi şöyle açıklanmaya çalışılmaktadır; ECM'i parçalayarak endotel hücre invazyonunu kolaylaştırarak anjiogenik etki gösterirler öte yandan anjiogenik özellikleri bulunmayan prekürsörleri parçalayarak antianjiogenik fragmanlar oluşturup antianjiogenik madde üretirler (94–98).

İL-8: IL-8 anjiogenik ve lökosit kemotaksis aktivasyonuna sahip çok fonksiyonlu bir sitokindir. IL-8 kornea inflamasyonu, anjiogenez ve yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar. IL-8 direkt olarak vasküler endotel hücrelerin kemotaksis ve proliferasyonunu gerçekleştirirerek neovaskülarizasyonu tetikler (99).

TGF α , TGF β : TGF α , makrofajlar tarafından üretilen epidermal büyüme faktör ile yapısal benzerliğe sahip olup anjiogenezisi uyarma potansiyeli olan bir büyüme faktörüdür. TGF β ise anjiogeneziste dolaylı yoldan etkilidir. TGF β makrofajların sayıca artmasını, fibroblast aktivasyonunu, dolayısıyla kollajen sentezini sağlamaktadır. Anjiogenezisin geç döneminde makrofaj aracılıklı olarak endotel hücre göçünde ve tüp formasyonunda etkilidirler (100).

PDGF: Plateletlerden izole edilen bir faktördür. Korneada esas hedef hücresi miyofibroblastlardır (101). PDGF sistein bağlı, A ve B zincirlerinden oluşmuş dimer yapısındadır. PDGF'ün reseptörüne bağlanması mitojenik etkileri indükler (102). PDGF reseptörleri kornea fibroblastlarında ve endotel hücrelerinde bulunur. PDGF-BB proteini epitel hücrelerinde üretilir ve en yüksek miktarda bazal membrana bağlanır (103). Endotel hücrelerinin ve fibroblastların göçü PDGF-BB ile uyarılır. Fn varlığında PDGF-AA ve -BB epitel hücrelerinin kemotaksisini uyarmaktadır (104).

Anjiopoetin: Bir çalışmada anjiopoetin (Ang)-1 ve -2'nin sistemik Tie-2 ile inhibisyonu kornea neovaskülarizasyonunda gerilemeye neden olmuştur. Bu geriletmenin VEGF'den bağımsız olduğu düşünülmektedir (105). Ayrıca ratlarda Ang-2'nin inhibisyonunun kornea neovaskülarizasyonunu engellediği bildirilmiştir (106).

İnsülin Like Growth Faktör: İnsülin like growth faktör-1'in hayvan modellerinde korneada anjiogenik etkilerde bulunduğu bildirilmiştir (107).

2.5.6. Antianjiogenik Moleküller

Kornea neovaskülarizasyonu sırasında, anjiogenik faktörlerin yükselmesi ile birlikte anti anjiogenik faktörlerin de azalması gerekmektedir Birçok anti anjiogenik

molekülün korneada varlığı gösterilmiştir. Bu faktörler ya büyük moleküllerin proteolitik yıkımından ortaya çıkar ya da direkt olarak aktif formunda bulunur.

Anjiostatin: Anjiostatin, plazminojenin proteolitik parçalanma ürünlerinden olup güçlü bir antianjiogenik faktördür (108). Anjiostatin ve benzeri fragmanların implantasyonu korneada FGF ve anjiogeninin uyardığı neovaskularizasyonu engellemektedir (109). Anjiostatin ATP sentetaza bağlanarak vasküler endotelial hücre çoğalmasını ve migrasyonunu inhibe eder ayrıca bu hücrelerde apoptozu indükler (101). Plazminojenin karaciğer dışında üretimi ve korneada anjiostatin oluşumuna ait kanıtlar mevcuttur (110). Kontakt lens kullanan hastaların göz yaşlarında anjiostatin varlığı tespit edilmiştir (111,112). Anjiostatin üretiminde sonuçlanan bütün MMP'ler korneada da izlenmiştir (88-90).

Endostatin: Endostatin Kollajen tip XVIII in (heparan sülfat proteoglikan) proteazlar tarafından (MMP, katepsin L ve elastaz) proteolitik yıkımı sonucu oluşan bir diğer anti anjiogenik faktördür (113). Kollajen tip XVIII, nonfibriler kollajen olup vasküler ve epitelyal bazal membranlarda bulunur, gözde ise kollajen tip XVIII retinada (iç limitan membran ve pigment epiteli), lens kapsülü ve korneada bulunur (114,115).

Farelerde yapılan in vivo çalışmalarda endostatinin, FGF-2 ve VEGF'nün neden olduğu vasküler endotelial hücre göçünü ve proliferasyonunu inhibe edip, tümör progresyonunu azalttığı gösterilmiştir (116). Korneada endostatin implantasyonunun, temel FGF'nün neden olduğu neovaskularizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (117). Endostatin VEGF'nün damar endotelindeki reseptörlerine bağlanmasını inhibe eder (59).

Basal membranda bulunan kollajenden üretilen başka antianjiogenik moleküller de vardır. Kollajen tip IV ten üretilen, kanstatin ve tumstatin molekülleri de antianjiogenik etki gösterirler. Restin Kollajen tip XV (kondroitin sülfat) oluşan diğer bir antianjiogenik moleküldür (94-98,118).

Pigment Epiteli Kaynaklı Faktör: PEDF, güçlü anti anjiogenik ve nörotrofik bir faktördür. İlk defa retinoblastom hücrelerinde ve daha sonra retina pigment epitelinde, iris ve korneada bulunmuştur (119). PEDF'e karşı geliştirilen antikolar farelerde kornea stromasına implante edildiği zaman, kornea

neovaskularizasyonun oluştuğu izlenmiştir. Rekombinant PEDF, temel FGF'ne bağlı kornea neovaskularizasyonu inhibe etmektedir (120).

Tsp-1: Tsp-1 gözde kornea, iris, sklera ve retinada üretilir (121). Korneada Tsp-1 esas olarak kornea epitelinin bazal tabakasında üretilmektedir (122). Tsp-1 geninin deneysel olarak hasara uğratıldığı farelerde, korneada enflamasyonun indüklediği anjiogenezin oluştuğu gözlenmiştir (123).

2.5.7. Tedavi

Kornea neovaskularizasyonu stromal ödem, yağ depolanması veya nedbe dokusunun gelişmesine bağlı görme azalmasına neden olmaktadır ve bu durum hekimi ciddi bir medikal veya cerrahi tedaviye başlamayı yönlendirmektedir. Korneal neovaskularizasyona neden olan hastalığın patogenezinine göre tedavi stratejisi değişir. Korneal neovaskularizasyon için değişik tedavi yöntemleri kullanılmaktadır.

Steroidler, korneal damarların aktif süpresyonunda hala ilk tedaviyi teşkil etmektedir (124,125). Steroidlerin anti anjiogenik özellikleri, anti enflamatuar özellikleri ile ilişkilidir. Steroidler inflamatuvar hücre kemotaksisini inhibe ederler ve pro-inflamatuar sitokinlerin sentezini inhibe ederler. Steroidler direkt olarak vasküler hücre proliferasyonu ve göçünü inhibe etmektedirler (126).

Prostaglandinler, kornea yara iyileşmesi ve anjiogenez sırasında üretilmektedir. Deneysel olarak geliştirilen kornea neovaskularizasyonlarında, fosfolipaz A2 inhibitörü olan steroidler ve sikloksijenaz (COX) inhibitörü olan nonsteroidal anti inflamatuvar ajanlar ile prostaglandin sentezi inhibisyonu sağlanarak kornea neovaskularizasyonunda belirgin ölçüde azalma sağlanmıştır (127,128).

Yapılan araştırmalarda kornea neovaskularizasyonunda anti anjiogenik özelliği olan başka ajanlarda gösterilmiştir. Bunlardan bazıları; topikal IL-1 reseptör antagonisti (129), oktreetid (uzun etkili somatostatin analogu) (130), siklosporin-A (131), FK 506 (132), plazminojen fragmanı (133), spiranolakton (134), talidomid (83), amilorid (135), curcumin (136) ve platelet aktive edici faktör antagonisti (137), bevacizumabtır.

Cerrahi tedavi ile ilgili ilk çalışmalar, damarın argon lazer, elektrokoagülasyon ve fotodinamik tedavi gibi değişik yöntemlerle kapatılması yönündeydi. Oluşmuş kornea neovaskularizasyonun tedavisinde 577 nm sarı lazer

fotokoagülasyon kullanılmıştır. Bu tekniğin hayvan modelinde güvenli olduğu gösterilmiştir (138). İnsanlarda medikal tedaviye dirençli ciddi kornea neovaskülarizasyonu olan olgularda keratoplasti öncesi ve sonrası denenmiştir. Fakat damarlanmalarda bir miktar gerileme sağlasa da, bu tekniğin yaygın kornea neovaskülarizasyonlarında faydalı olmadığı gösterilmiştir (139,140).

Fotodinamik tedavi korneal vaskülarizasyonların tedavisinde kullanımı denenen başka bir metottur. Fotosensitizer ilaç, intravenöz yolla verilir ve yeni damarlarda birikir, ilacın selektif lazer ile uyarılmasıyla yeni oluşan damarların tıkanması sağlanır. Bu teknik koroidal neovaskülarizasyonların tedavisinde sık kullanılmakta ancak kornea neovaskülarizasyonların tedavisinde henüz hayvan deneyi aşamasındadır. Histolojik çalışmalarda, tedavi edilen kornealarda neovasküler tromboz ve vasküler endotel hücre zedelenmesi izlenmiştir (141,142).

İnce iğne diatermi tekniği (10–0 monofilaman sütür iğnesi kullanarak) unipolar diatermi ünitesidir (143). Bir çalışmada bu teknik 14 hastaya uygulanmış ve kornea neovaskülarizasyonlarının %50–100 kapanmasını ve orta düzeyde görme düzelmesini sağladığı gösterilmiştir. 24 aylık takip süresi sonunda hiçbir olguda yan etki izlenmemiştir.

Araştırma aşamasında olan başka yöntemler arasında anjiogenik uyarıyı azaltan konjonktival, limbal ve amnion zarı transplantasyonu ile oküler yüzeyin restorasyonu yer almaktadır. Kornea ülseri, neovaskülarizasyonu ve konjonktival metaplasisine neden olan ciddi oküler yüzey hasarlarının tedavisinde otogreft limbal transplantasyonu ile başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir (144). Bu teknik başarılı bir şekilde kornea neovaskülarizasyonlarında kullanılmıştır. Çift mekanizma ile çalıştığı düşünülmektedir: Kök hücre kaybını azaltmayı takiben anjiogenik stimulusu ortadan kaldırmak ve vasküler endotel hücreleri direkt inhibe etmek (145)

Amnion zarı transplantasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda amnion zarı transplantasyonun antianjiogenik özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Amnion zarında tsp I ve kollajen XVIII gibi anti anjiogenik moleküller bulunmaktadır ve bu moleküller neovaskülarizasyonun gerilemesinde rol oynamaktadır (146).

2.5.8. Bevacizumab

Bevacizumab humanize edilmiş total uzunlukta murin monoklonal antikordur, 214 aminoasitten oluşur, molekül ağırlığı 149 Kda'dur. VEGF için iki

bağlanma bölgesi içerir. VEGF'ün endotel hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanmalarını önleyerek tüm VEGF-A izoformlarını ve onların aktif degradasyon ürünlerini inhibe eder (147).

Kanser tedavisinde kullanılmak üzere FDA onayı almış ilk antianjiogenik ilaçtır. Metastatik kolorektal kanserlerde terminal döneme kadar kullanılmaktadır. Meme, akciğer, böbrek kanserleri için bevacizumab faz III klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir (148). Uygulamalar sırasında en sık bildirilen yan etki hipertansiyondur. Tümör dokusunda oksijenizasyon ve besin yoksunluğuna yol açarak ve anormal damarlanma üzerinde geçici bir düzelme sağlayarak etki gösterdiği düşünülmektedir. Bu nedenle neovaskülarizasyon ve ödeme giden oküler hastalıklarda da etkili olabileceği düşünülmüştür.

Bevacizumabın henüz oküler hastalıkların tedavisinde kullanım ruhsatı olmamasına rağmen VEGF'ün anjiogenezdeki merkezi rolü, onu çeşitli oküler neovasküler hastalıklarda; yaşa bağlı maküla dejenerasyonu , anjioid streak, yüksek miyopiye sekonder gelişen koroidal neovasküler membran, retinal ven oklüzyonu, diabetik retinopati, korneal neovaskülarizasyon, neovasküler glokom ve prematur retinopatide olası bir tedavi seçeneği olarak hedef ajan haline getirmiştir (149). Proliferatif diabetik retinopati (PDR) hastalarda bevacizumabın vitrektomi öncesi intraoküler enjeksiyonu fibrovasküler proliferasyonu azaltır ayrıca intraoperatif hemoraji riskini azaltarak cerrahi kolaylaştırır (150). PDR'li hastalarda intravitreal bevacizumab enjeksiyonu diabetik vitreus hemorajisinin rezorpsiyonunu artırabilir (151). Santral retinal ven oklüzyonu veya retinal ven dal oklüzyonuna sekonder maküler ödemli hastalarda intravitreal bevacizumab enjeksiyonunun görme keskinliğini iyileştirdiği, maküler ödemi azalttığı ve toksisite işareti görülmediği rapor edilmiştir (152). Bevacizumabın neovasküler YBMD hastalarında ilk olarak intravenöz kullanımı gündeme gelmiştir. 2004 yılında başlatılan SANA (Systemic Avastin for Neovascular AMD) çalışmasının sonuçlarına göre 24 hafta sonunda bevacizumabın sistemik kullanımı hem görme keskinliği, hem de anjiografi ve OCT bulgularına göre etkili gibi gözükmektedir (153). Çoğunluğu retrospektif olan klinik çalışmalarda intravitreal bevacizumab enjeksiyon tedavisinin hem önceki tedavilere rağmen progresyon gösteren, hem de yeni tanı almış KNV'lerde etkili olduğunu

göstermektedir. Aynı zamanda ucuz ve diğer anti-VEGF ajanlara göre daha uzun yarı ömürlü olması en büyük avantajıdır.

Küçük vaka serilerinde patolojik miyopi, anjioid streak veya korioretinal enflamasyona sekonder gelişen subfoveal koroidal neovasküler membranlı gözlerde intravitreal bevacizumab enjeksiyonunun etkili ve güvenli olduğu rapor edilmiştir (154-156). Premature retinopatisi ve neovasküler glokomda yeni damar oluşumunda VEGF'in etkisi nedeniyle bevacizumab bu hastalıkların tedavisinde bir seçenek olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada prematüre retinopatisinde intravitreal bevacizumab enjeksiyonunun neovaskülerizasyonu geriletği saptanmıştır (157). Ehlers ve ark. neovasküler glokomda panretinal fotokoagulasyonla intravitreal bevacizumab enjeksiyon kombinasyonunun, tek başına panretinal fotokoagulasyon yapılan gruba göre göz içi basıncını daha etkin ve daha hızlı düşürdüğünü göstermiştir (158). Yazdani ve ark. neovasküler glokomu olan 2 hastada intravitreal bevacizumab enjeksiyonunun kısa sürede göz içi basıncını önemli derecede düşürdüğünü ve neovaskülerizasyonu geriletğini belirtmiştir (159). Iliev ve ark. intravitreal bevacizumabın neovasküler glokomda iris ve açıda neovaskülerizasyonu hızla geriletğini açıklamışlardır (160).

Korneal neovaskülerizasyonda VEGF'in merkezi bir rol oynadığı bilinmektedir. Korneal neovaskülerizasyonun inhibisyonunda bevacizumab kullanımı ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Hayvan deneylerinde ve klinik çalışmalarda subkonjonktival veya topikal bevacizumab uygulamalarının korneal neovaskülerizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (161-167).

2.5.9. Deksametazon

Deksametazon, sentetik kortikosteroid analogu, güçlü bir antiinflamatuvar ilaçtır. Gözde birçok inflamatuvar ve immün hastalıkta kullanılmaktadır. Steroidler, korneal damarların aktif süpresyonunda hala ilk tedaviyi teşkil etmektedir (124,125). Steroidlerin anti anjiogenik özellikleri, anti inflamatuvar özellikleri ile ilişkilidir. Steroidler inflamatuvar hücre kemotaksisini inhibe ederler ve pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezinin inhibe ederler. Steroidler direkt olarak vasküler hücre proliferasyonu ve göçünü inhibe etmektedirler (126). Çeşitli hayvan modellerinde deksametazonun antianjiogenik etkisi gösterilmiştir. Ayrıca deksametazonun korneal neovaskülerizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan etik kurul onayı alındı. Çalışmaya 200–250 gram arasında ağırlığı bulunan 6 aylık 30 adet albino wistar rat alındı. Çalışma süresinde hayvanlar uygun beslenme şartlarında ve özel kafeslerde aynı laboratuvarında tutuldu. Her hayvanın yalnızca sol gözü kullanıldı.

3.1.1. Anestezi

Deneklere genel anestezi, Ketamin Hidroklorid (Ketalar flakon) 25 mg/kg dozda intraperitonyal enjeksiyonu ile yapıldı. Topikal anestezi için %0,5'lik Proparokain Hidroklorid (HCl) (Alcaine) uygulandı.

3.1.2. Gruplar

6 aylık 30 adet wistar rat randomize olarak aldıkları tedaviye göre 5 gruba ayrıldı. 6 rattan oluşan her grup ayrı ayrı kafeslerde tutuldu. Çalışmanın birinci gününde deneysel kornea neovaskülarizasyonu oluşturmak için her hayvana aynı işlem uygulandı. Her hayvanın yalnızca sol gözü kullanılarak genel anestezi altında %75 gümüş nitrat ve %25 potasyum nitrat ile kaplanmış çubukla (Şekil 2.) kimyasal koterizasyon uygulandı.

Grup 1: (kontrol grubu): Tedavisiz bırakıldı. (n=6)

Grup 2: topikal %0,1 deksametazon günde iki kez (n=6)

Grup 3: 0,1 ml 2,5 mg bevacizumab subkonjonktival bir kez (n=6)

Grup 4: topikal 25mg/ml bevacizumab günde iki kez (n=6)

Grup 5: 0,1 ml 2,5 mg bevacizumab subkonjonktival bir kez ve topikal 25mg/ml bevacuzimab günde iki kez (n=6)

3.1.3. Korneaya kimyasal koterizasyon yapılması

Korneal yanık ve neovaskülarizasyon oluşturmak için Mahoney ve Waterbury tarafından tarif edilen gümüş nitrat ile koterizasyon tekniği uygulandı. Tüm deneklerin sol gözlerinin korneasına ameliyat mikroskobu altında %75 gümüş nitrat ve %25 potasyum nitrat ile kaplanmış çubuk 10 saniye süresince saat 12 hizasında, limbustan 3mm uzaktaki parasantral korneaya temas ettirilerek kimyasal

koterizasyon uygulandı. Korneada 2–2,5 mm çapında alkali yanık oluşturuldu. Hemen ardından küçük bir spanç ile geride kalan gümüş nitrat, potasyum nitrat partikülleri uzaklaştırıldı ve 10 ml serum fizyolojikle kornea ve forniks yıkanarak temizlendi.



Şekil 2. Gümüş nitrat çubuğu

3.1.4. İlaçlar

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan kornea neovaskülarizasyon tedavisinde Bevacizumab ve Deksametazon sulandırılmadan kullanıldı. Kontrol grubu (Grup 1) tedavisiz bırakıldı. İkinci grup korneada deneysel yanık oluşturduktan hemen sonra başlanarak topikal %0,1 deksametazon on gün boyunca günde iki kez damlatıldı. Üçüncü grup korneada deneysel yanık oluşturduktan hemen sonra 0,1 ml, 2,5 mg bevcuzimab subkonjonktival bir kez yapıldı. Dördüncü grup korneada deneysel yanık oluşturduktan hemen sonra başlanarak topikal 25mg/ml bevacuzimab on gün boyunca günde iki kez damlatıldı. Beşinci grup korneada deneysel yanık oluşturduktan hemen sonra 0,1 ml 2,5 mg bevcuzimab subkonjonktival bir kez yapıldı ve on gün boyunca topikal 25mg/ml bevacuzimab günde iki kez damlatıldı.

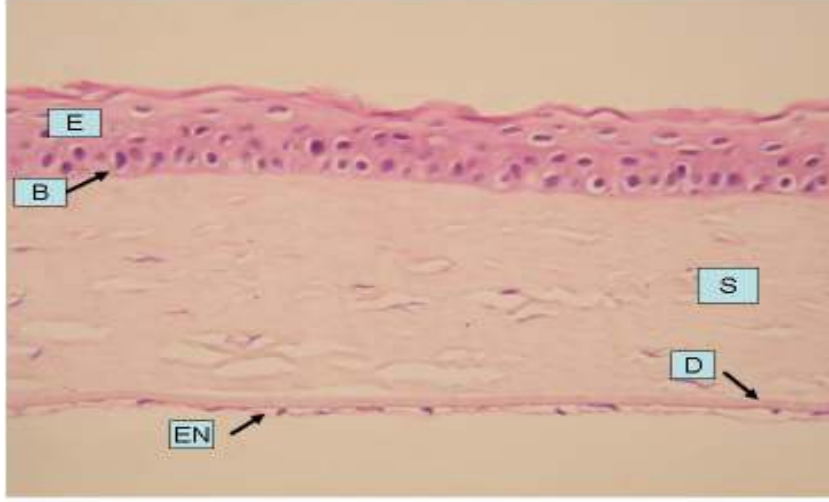
3.1.5. Muayene ve Enükleasyon

10 günlük tedavi süresinden sonra deneklere aynı şekilde anestezi yapıldı ve ameliyat mikroskobu altında kornealar muayene edildi. Korneadaki ana kan damarı sayısı tespit edildi. Muayene ardından deneklere enükleasyon yapıldı göz küreleri %10'luk formaldehit solüsyonuna koyuldu. Denekler enükleasyonun ardından intraperitoneyal 1cc Xylazine (Rompun) verilerek solunum arresti ile öldürüldü.

3.1.6. Histopatolojik İnceleme

Göz küreleri fiksasyon için 1 gün %10'luk formaldehit içinde bekletildi. Daha sonra artan alkol derecelerinden geçirilerek dehidrate edildi. Kornealar limbustan 1 mm uzakta sklera dâhil edilecek şekilde eksize edildi. Her kornea, merkezinden geçen ve limbustan limbusa uzanan bir kesi ile ikiye bölünerek bu kesit yüzeyleri altta kalacak şekilde yan dik olarak parafin bloklar haline getirildi. Her kornea

yarımından birbirine eşit uzaklıklarla kesitler alındı. Farklı bölgelerden alınan kesitlerin bir kısmı hematoksil-eozin (HE) ile boyandı. Bu alanlarda anjiyogenezis, ödem ve enflamasyon değerlendirildi. Anjiyogenezis, limbusa yakın alanlarda 40x objektif büyütmesi ile her deneğe ait kesitte altı farklı alanda damar sayımı yapılarak değerlendirildi. Korneal stromadaki kollajen liflerin düzeninin incelenmesi için, masson trikrom boyaması yapıldı.



Şekil 3. Histopatolojik İncelemede Normal Kornea Kesiti. Bu kesit Grup 1'e ait bir ratın korneasından skar ve vaskülarizasyonun olmadığı bir bölgeden geçen, normal kornea tabakalarını göstermek için alınan bir kesittir. Epitel (E), Bowman membranı (B), Stroma (S), Descemet Membran (D), Endotel (EN) ile gösterilmiştir.

3.1.7. İstatistiksel Analiz:

Grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmış ve farklı gruplar parametrik olmayan Dunn's testi ile belirlenmiştir.

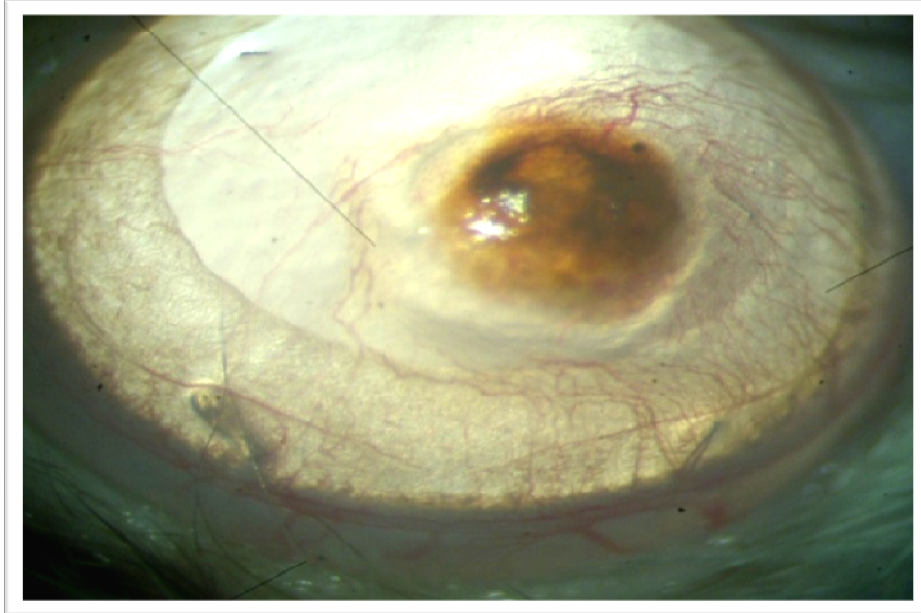
4.BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Denekler on günlük tedaviden sonra muayene edilerek korneada bulunan ana dal sayıları (Tablo 3–7) kaydedildi ve kornea fotoğrafları (Şekil 4–8) çekildi. Deneklerin makroskopik incelenmesinde topikal %0,9 NaCl verilen kontrol grubunda (Grup 1), belirgin korneal neovaskülarizasyon görülmekte iken, topikal deksametazon verilen grupta (Grup 2) ise korneal neovaskülarizasyon kontrol grubuna göre daha az görülmektedir.

Tablo 3. Grup 1 Korneal Muayene Bulguları.

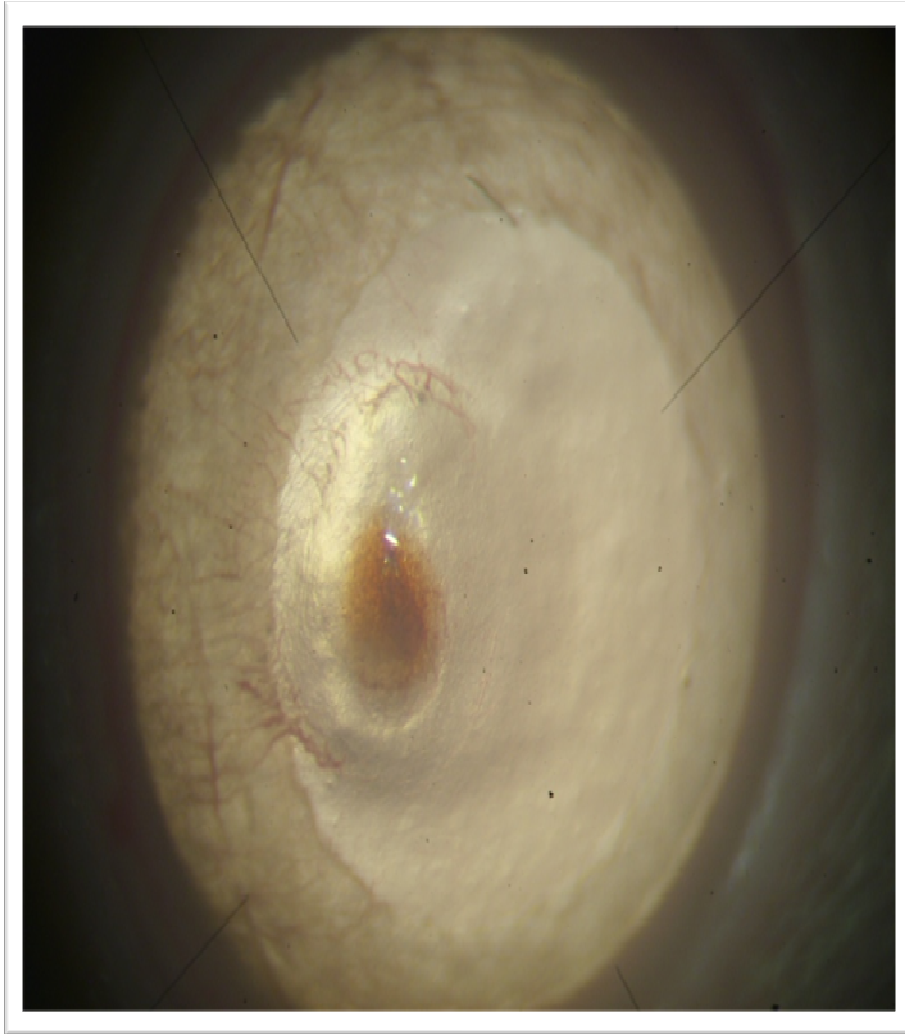
Denek adı	Ana dal sayısı
Grup 1-1	40
Grup 1-2	36
Grup 1-3	64
Grup 1-4	56
Grup 1-5	35
Grup 1-6	49



Şekil 4. Grup 1' e ait bir deneğin makroskopik fotoğrafı.

Tablo 4. Grup 2 Korneal Muayene Bulguları.

Denek adı	Ana dal sayısı
Grup 2-1	22
Grup 2-2	24
Grup 2-3	13
Grup 2-4	17
Grup 2-5	18
Grup 2-6	22

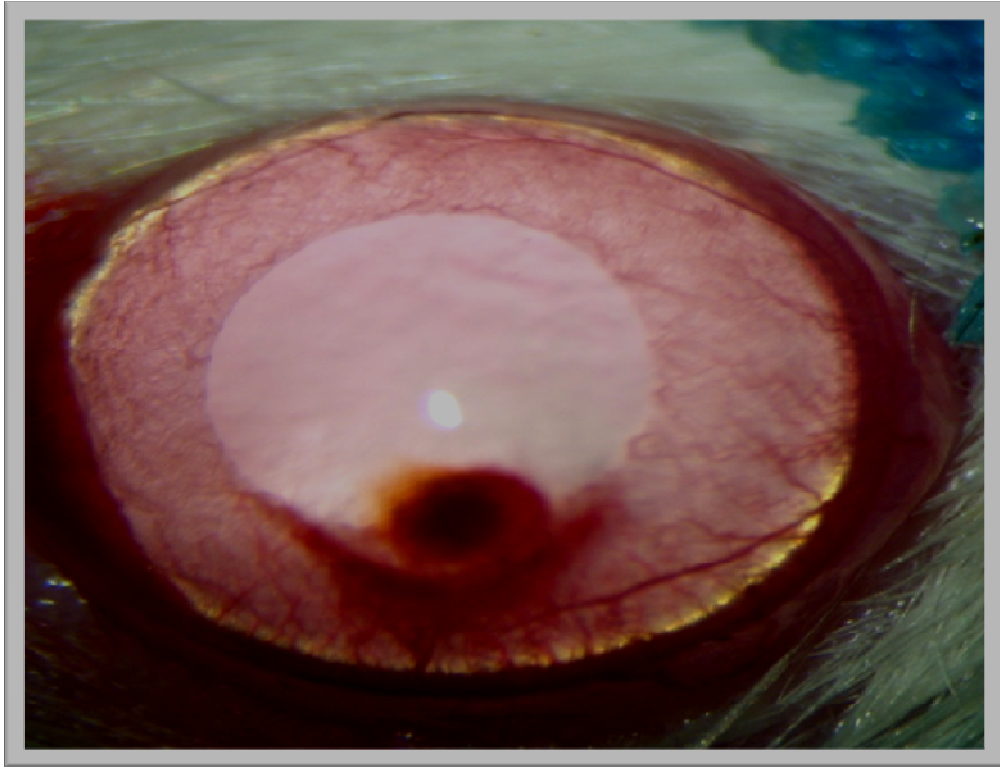


Şekil 5. Grup 2' e ait bir deneğin makroskobik fotoğrafı.

Subkonjonktival bevacizumab (Grup 3), topikal bevacizumab (Grup 4) ve subkonjonktival bevacizumab + topikal bevacizumab (Grup 5) gruplarında deneklerin makroskopik incelenmesinde ise neovaskularizasyon kontrol grubuna göre belirgin olarak daha az olduğu gör÷lmektedir.

Tablo 5. Grup 3 Korneal Muayene Bulguları.

Denek adı	Ana dal sayısı
Grup 3-1	12
Grup 3-2	10
Grup 3-3	10
Grup 3-4	11
Grup 3-5	14
Grup 3-6	9



Şekil 6. Grup 3' e ait bir deneğin makroskopik fotoğrafı.

Tablo 6. Grup 4 Korneal Muayene Bulguları.

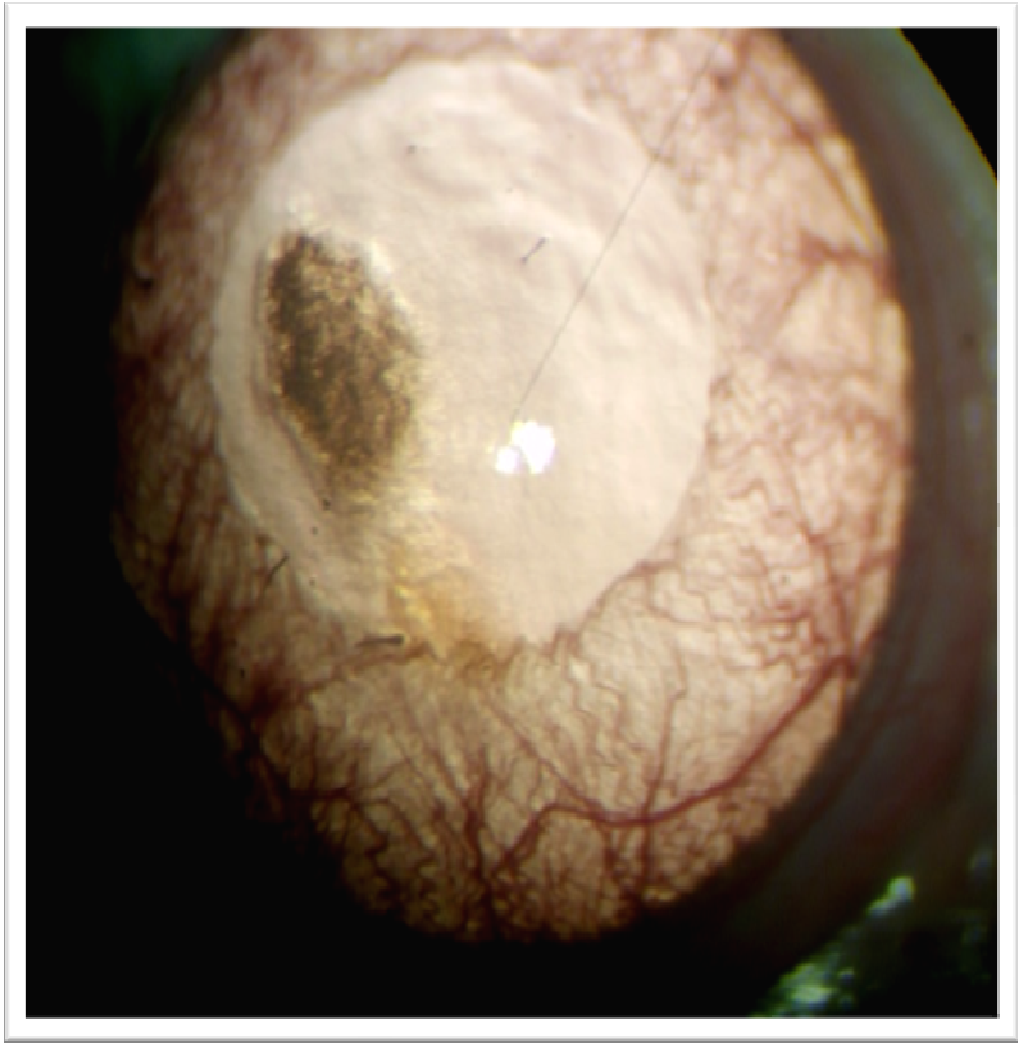
Denek adı	Ana dal sayısı
Grup 4-1	12
Grup 4-2	6
Grup 4-3	6
Grup 4-4	16
Grup 4-5	7
Grup 4-6	14



Şekil 7. Grup 4' e ait bir deneğin makroskobik fotoğrafı

Tablo 7. Grup 5 Korneal Muayene Bulguları.

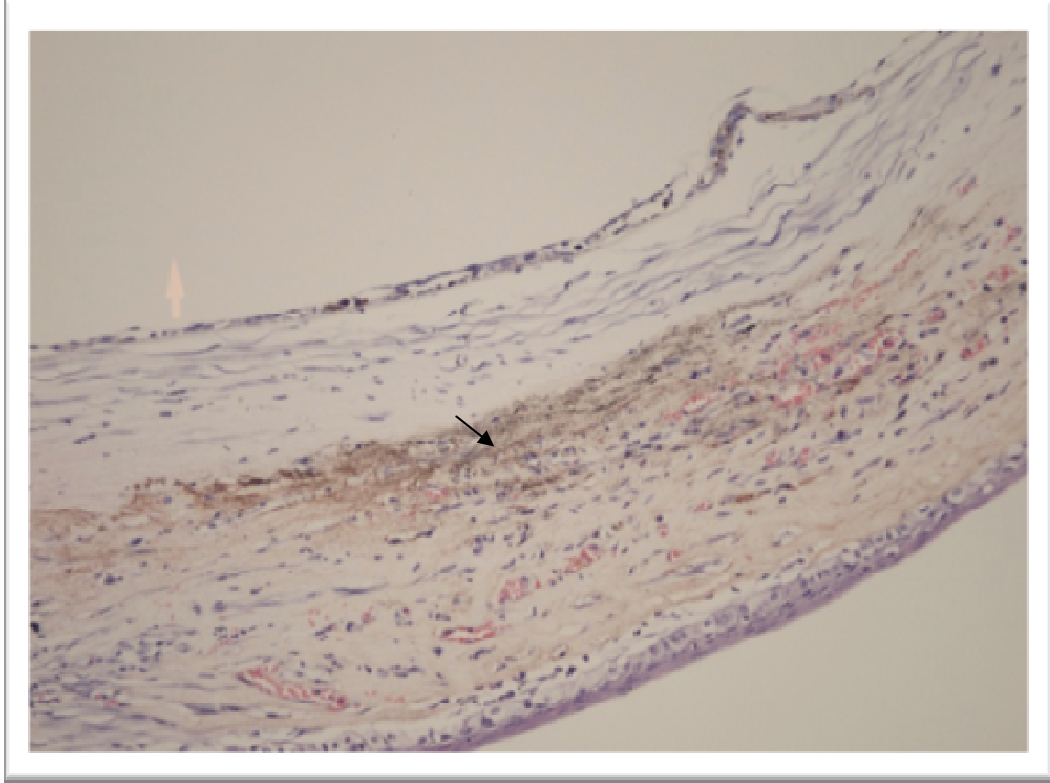
Denek adı	Ana dal sayısı
Grup 5-1	7
Grup 5-2	3
Grup 5-3	2
Grup 5-4	7
Grup 5-5	3
Grup 5-6	8



Şekil 8. Grup 5' e ait bir deneğin makroskobik fotoğrafı.

4.2. Işık Mikroskopik Bulgular

Deneklerin mikroskopik incelenmesinde tüm gruplarda yanık alanlarındaki epitelin kendini yenilediği ve yara iyileşmesinin gerçekleşmiş olduğu gözlemlendi. Yanık bölgesinde, epitel tabakasının altında ve stromada gümüş nitrat-potasyum nitrat kalıntıları dikkati çekmiştir (Şekil 9).



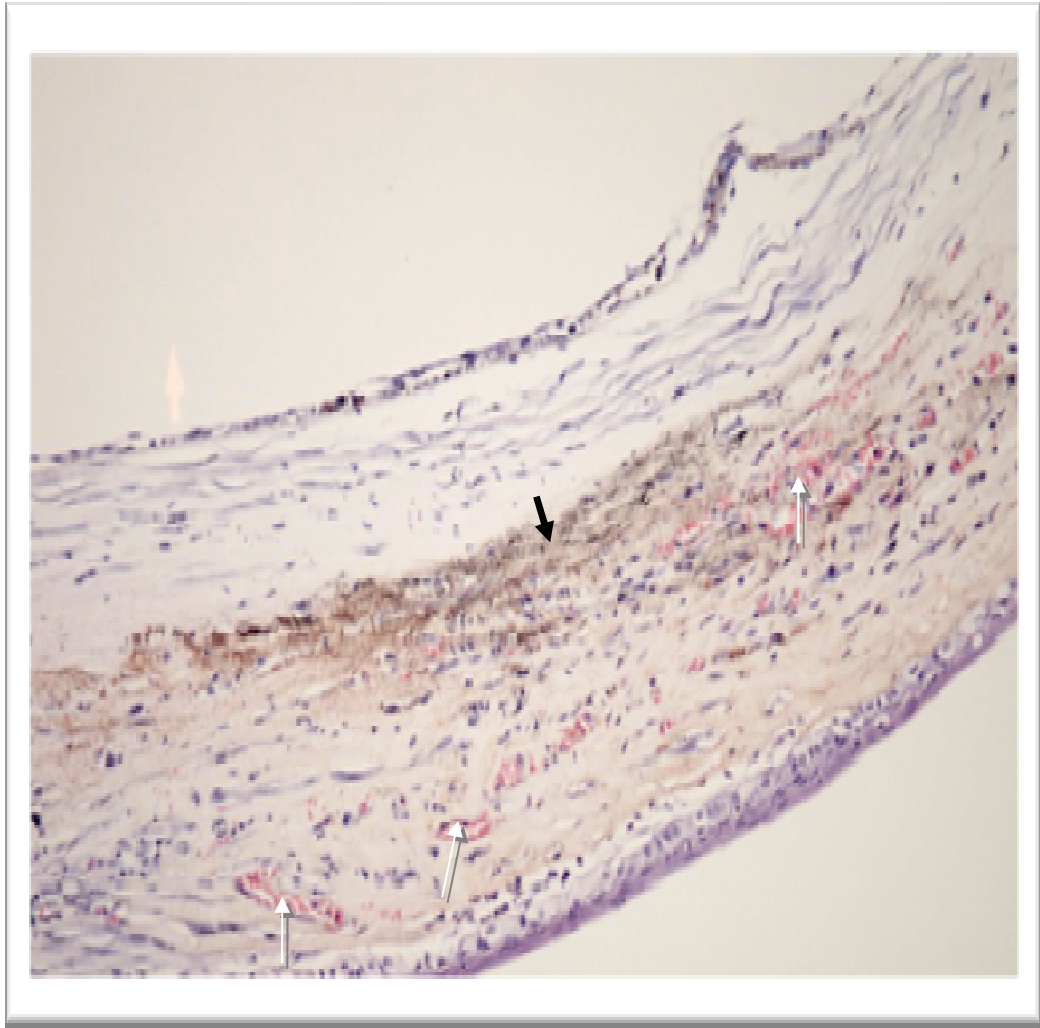
Şekil 9. Mikroskopik incelemede gümüş nitrat kalıntıları (↘) epitel tabakasının altında ve stromada görülmektedir.

4.2.1. Hematoksilen eozin boyama

Korneada kimyasal yanık oluşturduktan sonra %0,9'luk NaCl damlatılan kontrol grubunda (Grup 1) yanık alanında epitelin kendini yenilediği ve 0-2 kat arasında olduğu görüldü. Stroma tabakasında yoğun ödem, fibroblast ve enflamatuar hücre artışı ve anjiogenezis mevcuttu (Şekil 10). Ayrıca kollajen liflerin düzeni oldukça bozulmuş olup kollajen liflerde ayrılmalar sıklıkla görüldü. Histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları tüm gruplarda kaydedildi. Kontrol grubunda histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları diğer gruplara göre belirgin düzeyde fazla görülmektedir (Tablo 8).

Tablo 8. Kontrol grubunda histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları.

Denek adı	Damar sayıları
Grup 1-1	14
Grup 1-2	18
Grup 1-3	40
Grup 1-4	25
Grup 1-5	23
Grup 1-6	40

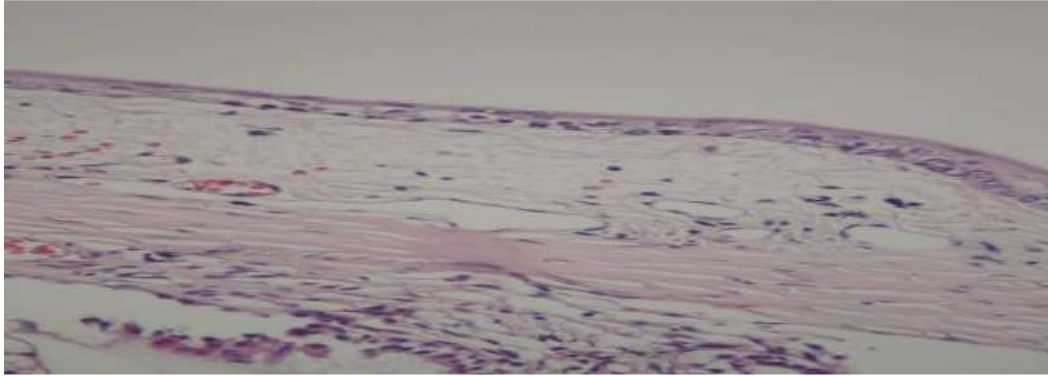


Şekil 10. Grup 1 'de kornea epiteli incelmış. Stromada yoğun ödem, anjiogenezis (↑) ve gümüş nitrat kalıntıları(↓) mevcuttur.

Topikal deksametazon ile tedavi edilen grupta (Grup 2) yanık alanında epitelin kendini yenilediği ve 1-3 kat arasında olduğu görüldü. Stroma tabakasında kontrol grubuna benzer şekilde ödem, anjiogenezis, kollajen liflerde ayrılma ve düzensizleşme mevcuttu ancak bulguların şiddeti kontrol grubuna göre daha hafif olarak saptandı (Şekil 11).

Tablo 9. Topikal deksametazon grubunda histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları.

Denek adı	Damar sayıları
Grup 2-1	8
Grup 2-2	9
Grup 2-3	15
Grup 2-4	16
Grup 2-5	8
Grup 2-6	15

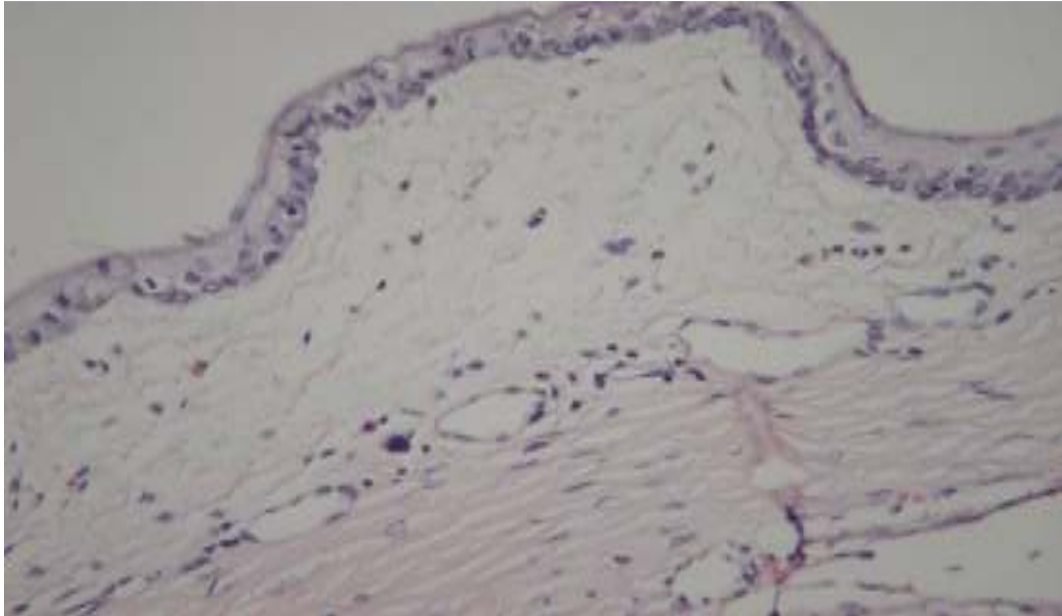


Şekil 11. Grup 2 'de kontrol grubuna benzer şekilde ödem, enflamasyon, anjiogenezis, kollajen liflerde ayrılma ve düzensizleşme mevcuttu ancak bulguların şiddeti kontrol grubuna göre daha hafif olarak izlenmektedir.

Subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta (Grup 3), yanık alanındaki epitelin 1-3 kat olduğu izlendi. Stromal ödem kontrol grubu ve deksametazon damlatılan gruba göre az izlenirken, ödemin az olmasına bağlı olarak kollajen lifler arasındaki açılmanın azaldığı ve kollajen liflerin daha düzenli olduğu görüldü (Şekil 12).

Tablo 10. Subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları.

Denek adı	Damar sayıları
Grup 3-1	6
Grup 3-2	4
Grup 3-3	4
Grup 3-4	4
Grup 3-5	7
Grup 3-6	4

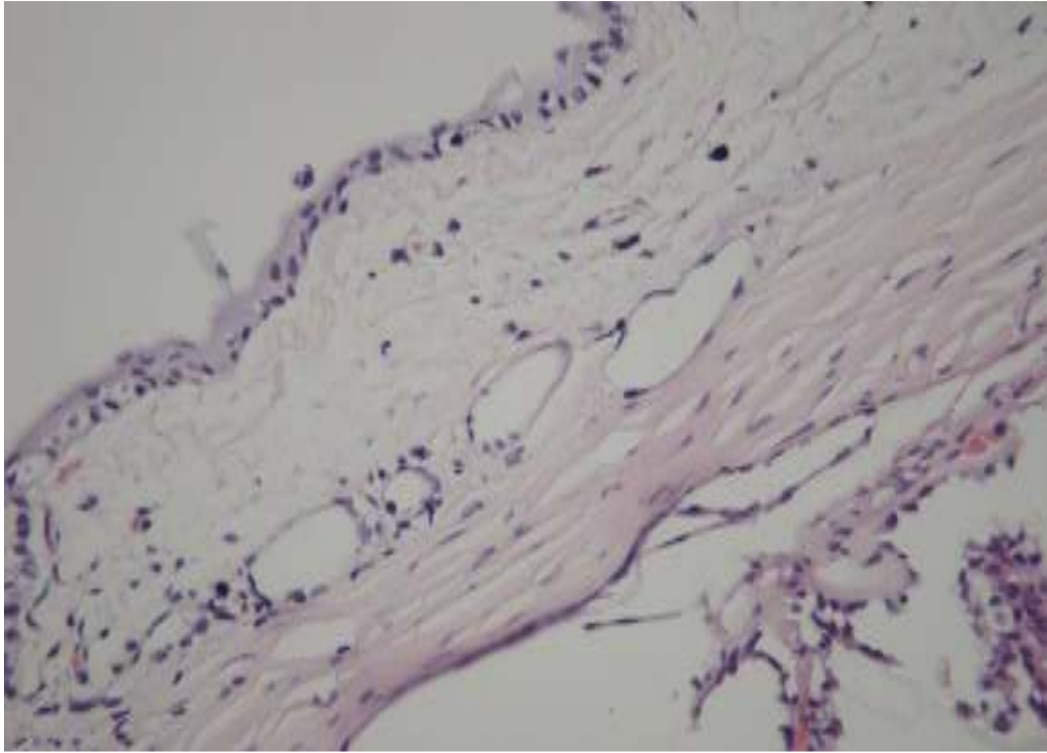


Şekil 12. Grup 3’ de yanık alanındaki epitelin 1–3 kat olduğu izlendi. Stromal ödem kontrol grubu ve deksametazon damlatılan gruba göre az izlenirken, ödemin az olmasına bağlı olarak kollajen lifler arasındaki açılmanın azaldığı ve kollajen liflerin daha düzenli olduğu görüldü.

Topikal bevacizumab damlatılan grupta (Grup 4), yanık alanındaki epitelin 1–3 kat olduğu izlendi. Stromal ödem kontrol grubu ve deksametazon damlatılan gruba göre daha az izlenirken, subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan gruba benzer şekilde ödemin az olmasına bağlı olarak kollajen lifler arasındaki açılmanın azaldığı ve kollajen liflerin daha düzenli olduğu görüldü (Şekil 13).

Tablo 11. Topikal bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları.

Denek adı	Damar sayıları
Grup 4-1	6
Grup 4-2	3
Grup 4-3	3
Grup 4-4	4
Grup 4-5	3
Grup 4-6	4



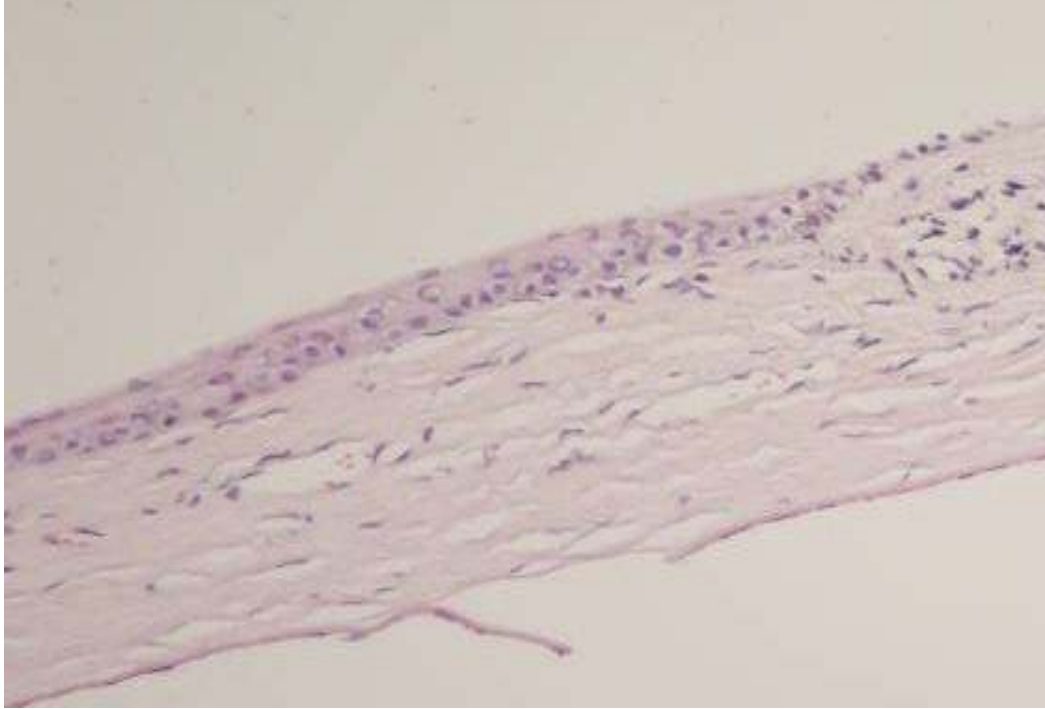
Şekil 13. Topikal bevacizumab damlatılan gruptaki mikroskopik bulgular subkonjonktival uygulama yapılan gruba benzemektedir.

Topikal bevacizumab ile birlikte subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta (Grup 5), yanık alanındaki epitelin 3-4 kat olduğu izlendi. Stromal

ödem ve enflamasyon artışı gözlenmedi. Stromal kollajen lifler düzenli olup, kollajen lifler arasında ayrılma gözlenmedi (Şekil 14).

Tablo 12. Topikal bevacizumab ile birlikte subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları.

Denek adı	Damar sayıları
Grup 5-1	4
Grup 5-2	3
Grup 5-3	3
Grup 5-4	6
Grup 5-5	4
Grup 5-6	3



Şekil 14. Grup 5’ de yanık alanındaki epitelin 3–4 kat olduğu izlendi. Stromal ödem ve enflamasyon artışı gözlenmedi. Stromal kollajen lifler düzenli olup, kollajen lifler arasında ayrılma gözlenmedi.

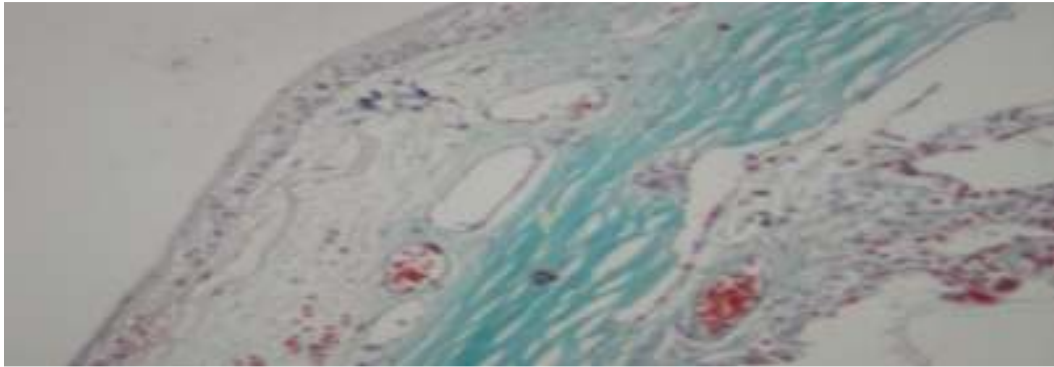
4.2.2. Masson Trikrom Boyama

Masson trikrom boyama ile kontrol grubunda epitel altındaki bölgede, HE boyama ile uyumlu olarak, şiddetli ödem ve kollajen liflerde belirgin düzensizlik ve ayrılma gözlemlendi (Şekil 15).



Şekil 15. Kontrol grubunda stromada ödem,anjiogenezis, kollajen liflerde belirgin düzensizlik ve ayrılma gözlemlendi.

Topikal deksametazon ile tedavi edilen grupta stroma tabakasında kontrol grubuna benzer şekilde ödem, kollajen liflerde ayrılma ve düzensizleşme mevcuttu ancak bulguların şiddeti kontrol grubuna göre daha hafif olarak saptandı(Şekil 16).



Şekil 16. Topikal deksametazon grubunda stromada ödem, anjiogenezis, kollajen liflerde belirgin düzensizlik ve ayrılma gözlemlendi.

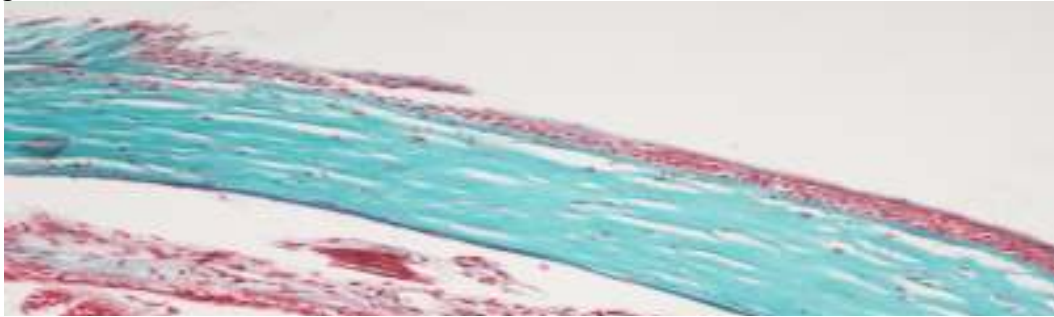
Bevacizumabın subkonjonktival, topikal ve subkonjonktival ile birlikte topikal olarak kullanıldığı gruplarda ise kollajen lifler düzenli olup, bu alanlarda belirgin bir ödem gözlenmedi (Şekil 17,18,19).



Şekil 17. Subkonjonktival bevacizumab grubunda kollajen liflerin düzenli ancak hafif ayrılmalar mevcut olduğu gözlemlendi.



Şekil 18. Topikal bevacizumab grubunda kollajen lifler düzenli ve ödem gözlenmemektedir.



Şekil 19. Topikal ile birlikte subkonjonktival bevacizumab kullanılan grupta kollajen lifler oldukça düzenli görülmektedir.

4.3 İstatiksel analiz

Grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmış ve farklı gruplar parametrik olmayan Dunn's testi ile belirlenmiştir. Makroskopik incelenme sonrası gruplarda korneada bulunan anadal sayısına göre yapılan karşılaştırma sonucunda gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0.00005$). Ayrıntılı incelemede grup 1 ile grup 2 ($p<0.01$), grup 1 ile grup 3 ($p<0.01$), grup 1 ile grup 4 ($p<0.01$), grup 1 ile grup 5 ($p<0.01$), grup 2 ile grup 3

($p<0.01$) grup 2 ile grup 4 ($p<0.01$), grup 2 ile grup 5 ($p<0.01$) anlamlı bulunmuş ve diğer farkların istatistik olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

Mikroskopik incelenme sonrası grupların kornea histopatolojik incelemede toplam damar sayısı göre yapılan karşılaştırma sonucunda gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,00004$). Ayrıntılı incelemede grup 1 ile grup 2 ($p<0,01$), grup 1 ile grup 3 ($p<0,01$), grup 1 ile grup 4 ($p<0,01$), grup 1 ile grup 5 ($p<0,01$), grup 2 ile grup 3 ($p<0,01$) grup 2 ile grup 4 ($p<0,01$), grup 2 ile grup 5 ($p<0,01$) anlamlı bulunmuş ve diğer farkların istatistik olarak anlamlı olmadığı görülmüştür

Subkonjonktival bevacizumab, topikal bevacizumab ve hem subkonjonktival hem topikal bevacizumabın kullanıldığı gruplar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kornea neovaskülarizasyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde gerilediği saptandı ($p=0,00004$). Bevacizumabın kullanıldığı gruplarla topikal deksametazon kullanılan grup karşılaştırıldığında, kornea neovaskülarizasyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha azdı ($p=0,00004$). Bevacizumab uygulanan üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark görülmedi. Topikal deksametazon uygulanan grupta kontrol grubuna göre korneal neovaskülarizasyonda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu saptandı.

5. TARTIŞMA

Kornea neovaskularizasyonu sızıntı, enflamasyon ve skarlaşmaya yol açarak korneanın şeffaflığının azalmasına ve görme kaybına neden olan yeni damarların oluşumudur. Kornea neovaskularizasyonlarının etiolojisinde kronik hipoksiye ya da inflamasyona yol açan pek çok hastalık vardır. Kornea neovaskularizasyonlarının en sık nedeni uzun süreli kontak lens kullanımı iken, diğer nedenler arasında enfeksiyon, travma, immünolojik hastalıklar, üveit, glokom ve fitizis bulbi yer almaktadır.

Yeni oluşan bu damarlar korneal iyileşme ve enfeksiyonlara karşı savaşta faydalı olmakla birlikte, korneanın iyileşme süreci tamamlandıktan sonra ise istenmeyen bir durumdur. Bu durumda, görme kaybına neden olan neovaskularizasyonu önleyecek, durduracak veya geriletecek tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Oluşmuş neovaskularizasyonların tedavisi ile birlikte, enfeksiyöz keratitlerin tedavisi, iatrojenik kornea neovaskularizasyonunda sütür veya kontakt lensin çıkarılması, meibomian bezi disfonksiyonunda lubrikasyon ve göz kapağın hijyeni, atopik dermatitlerde allerjiden uzak durmak ve oküler skatrisyel pemfigoidde sistemik immünoşpresan tedavi gibi altta yatan nedenlere yönelik tedaviler ve kornea neovaskularizasyonuna neden olan spesifik hastalıkların tedavi edilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Korneal neovaskularizasyon için değişik tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Medikal tedavide steroidler, korneal damarların aktif şüpresyonunda hala ilk tedaviyi teşkil etmektedir (124,125).

Nonsteroidal anti inflamatuvar ajanlar ile prostaglandin sentezi inhibisyonu sağlanarak kornea neovaskularizasyonunda belirgin ölçüde azalma sağlanmıştır (127,128).

Yapılan araştırmalarda kornea neovaskularizasyonunda anti anjiogenik özelliği olan başka ajanlarda gösterilmiştir. Bunlardan bazıları; topikal IL-1 reseptör antagonisti (129), oktreotid (uzun etkili somatostatin analogu) (130), siklosporin-A (131), FK 506 (132), plazminojen fragmanı (133), spiranolakton (134), talidomid (83), amilorid (135), curcumin (136) ve platelet aktive edici faktör antagonisti (137), bevacizumabtır.

Cerrahi tedavi ile ilgili ilk çalışmalar, damarın argon lazer, elektrokoagülasyon ve fotodinamik tedavi gibi değişik yöntemlerle kapatılması yönündeydi. Araştırma aşamasında olan başka yöntemler arasında anjiogenik uyarıyı azaltan konjonktival, limbal ve amnion zarı transplantasyonu ile oküler yüzeyin restorasyonu yer almaktadır (143).

Medikal tedavi yöntemleri arasında şimdiye kadar en çok tercih edilen kortikosteroidler, gözde etkinliği ve yan etkileri en iyi bilinen ilaçlardır. Steroidlerin anti anjiogenik özellikleri, anti enflamatuar özellikleri ile ilişkilidir. Steroidler inflamatuvar hücre kemotaksisini inhibe ederler ve pro-inflamatuar sitokinlerin sentezinin inhibe ederler. Steroidler direkt olarak vasküler hücre proliferasyonu ve göçünü inhibe etmektedirler (126). Kortikosteroidler, korneal neovaskularizasyonun önlenmesinde topikal, subkonjonktival ve sistemik olarak kullanılmaktadır. Stereoid tedavisi etkin olmakla birlikte birçok yan etkisi bulunmakta ve uzun süreli kullanımı mümkün olmamaktadır. Topikal steroid tedavisinin en önemli yan etkileri glokom, katarakt gelişimi ve enfeksiyon riskidir. Özellikle steroid duyarlı kişilerde glokom gelişme riski oldukça yüksektir. Kortikosteroid preparatlarından hidrokortizonun relatif anti-inflamatuvar gücü 1,0 iken, prednizonun 4,0, metilprednizolon ile triamsinolon asetonidin 5,0 ve en güçlü kortikosteroid olan deksametazonun ise 25,0'dir (168).

Dan ve ark. alkali yanığına bağlı oluşturdukları korneal anjiogenez modelinde 14 gün boyunca 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. Sonuç olarak topikal ve sistemik deksametazonun, korneal neovaskularizasyonu geriletmede etkili olduğu ve iki uygulama arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmüştür (169).

Haynes ve ark., ratlarda gümüş-nitrat-potasyum nitrat koterizasyonu ile oluşturulan korneal neovaskularizasyonu azaltmada, topikal uygulanan kortikosteroidler (deksametazon sodyum fosfat, prednizolon asetat), siklooksijenaz inhibitörleri (flurbiprofen, indometazin, keterolak), lipooksijenaz inhibitörleri (REV 5901, esculetin, quercetin), hem siklooksijenaz hem lipooksijenaz dual

inhibitörlerinin (BW 755C, BW A540C) etkinliklerini karşılaştırmışlar, korneal neovaskülarizasyonu azaltmada kortikosteroidlerin siklooksijenaz inhibitörlerine göre daha etkin olduğunu bildirmişlerdir (127).

Mahoney ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, ratlarda gümüş nitrat koterizasyonu ile oluşturulan korneal neovaskülarizasyonun azaltılmasında, topikal deksametazon, prednizolon, tikabetazon propiyanat, keterolak ve fenidonun etkinlikleri karşılaştırılmış, deksametazonun, diğer ilaçlardan daha etkili olduğu bildirilmiştir (170).

Çalışmamızda ise deneysel olarak oluşturulan korneal neovaskülarizasyon tedavisinde on gün süreyle, günde iki kez topikal deksametazon uygulanan grupta kontrol grubuna göre korneal neovaskülarizasyonda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu saptanmıştır ($p<0,01$).

Anjiogenik ve anti anjiogenik faktörler dengesinde anjiogenik faktörler ağırlık gösterdiği zaman anjiogenez oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda neovaskülarizasyon için sadece anjiogenik faktörlerin yükselmesi değil aynı zamanda anti anjiogenik faktörlerin azalması da gerekmektedir (50). Kornea neovaskülarizasyonunda büyüme faktörleri önemli rol oynamaktadır. Kornea neovaskülarizasyonunda insan kornea ve hayvan modellerinde VEGF'nün yükseldiği gösterilmiştir (61,72–74). VEGF ekspresyonunun embriyonik, fizyolojik ve patolojik kan damarı gelişimi ile korelasyon olduğu gösterilmiştir (75). VEGF endotel hücrelere yüksek spesifite gösteren büyüme faktörüdür. VEGF, damar endoteli, düz kas hücreleri, arteriollerdeki fibroblastlar, böbrek glomerülleri, bronslar, overler, adrenal bezler, dalak ve tonsillerde bulunmaktadır (76). Genellikle makrofajlar -T hücreleri, retina pigment epitel hücreleri, astrositler ve düz kas hücreleri- tarafından üretilmektedir. VEGF üretimi lokal ve sistemik birçok faktör tarafından düzenlenir bunlar; cAMP, steroid hormonlar, protein kinaz C agonistleri, polipeptit büyüme faktörleri, sitokinler, oksijen, serbest radikaller, glikoz, kobalt ve demirdir (77,78). VEGF165 izoformu, gözdeki neovaskülarizasyonla en çok ilişkili olan VEGF-A'nın bilinen altı izoformundan birisidir (81). VEGF reseptörlerin aktivasyonu proteas üretimine neden olup kan damarların bazal membranının parçalanmasından sorumludur, bunun da anjiogenezin ilk adımını oluşturduğu düşünülmektedir. Ek olarak VEGF proteolitik faaliyeti (orijinal damar membranının erimesi), endotelial

hücre proliferasyonu, migrasyon ve kapiller tüp formasyonu gibi çok basamaklı anjiogenezi tetiklemektedir. Kornea anjiogenezinde VEGF gereksinimi anti VEGF antikoları ile neovaskülarizasyonun inhibisyonu ile gösterilmiştir (73). Aynı sonuç tavşan kornea modelinde de gösterilmiştir (85).

Bevacizumab humanize edilmiş total uzunlukta murin monoklonal antikordur. VEGF için iki bağlanma bölgesi içerir. VEGF'ün endotel hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanmalarını önleyerek tüm VEGF-A izoformlarını ve onların aktif degradasyon ürünlerini inhibe eder (147). Bevacizumabın henüz oküler hastalıkların tedavisinde kullanım ruhsatı olmamasına rağmen VEGF'ün anjiogenezdeki merkezi rolü, onu çeşitli oküler neovasküler hastalıklarda; yaşa bağlı maküla dejenerasyonu, anjioid streak, yüksek miyopiye sekonder gelişen koroidal neovasküler membran, retinal ven oklüzyonu, diabetik retinopati, korneal neovaskülarizasyon, neovasküler glokom ve prematür retinopatide olası bir tedavi seçeneği olarak hedef ajan haline getirmiştir (149).

Kornea neovaskülarizasyon patofizyolojisinde VEGF'in belirgin rolü deneysel kornea neovaskülarizasyon modellerinde (171), deneysel Herpes simpleks keratit (100) ve insan kornea çalışmalarında gösterilmiştir (72). Ek olarak deneysel hayvan çalışmasında VEGF antagonizmi hem kornea neovaskülarizasyonunda azalma hem de kornea greft ömründe uzama görülmüştür (54,172).

Korneada, anjiogenik uyarı ile damar oluşumunun başlangıcı arasındaki latent dönemde VEGF seviyesi yükselmektedir. Kornea hasarı oluşturan nedene bağlı olarak, bu latent dönem oldukça değişkendir. VEGF seviyesinin henüz yükselmediği bu latent dönemin, anjiogenezis tedavisi için bir fırsat olduğu düşünülmektedir (173). 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 .

Bevacizumab, korneal neovaskülarizasyonda topikal, subkonjonktival ve sistemik olarak değişik konsantrasyon ve sürelerde kullanılmıştır.

Korneal neovaskülarizasyonda bevacizumab kullanımı ile ilgili yapılan ilk çalışmalardan birinde Hosseini ve ark. tavşanlarda NaOH ile oluşturulan korneal neovaskularizasyon modelinde subkonjonktival bevacizumabın etkinliğini

değerlendirmek için iki grup oluşturmuş; birinci gruba alkali yanığı takiben hemen 2,5 mg tek doz subkonjonktival bevacizumab, ikinci gruba ise 2,5 mg tek doz subkonjonktival dengeli tuz solüsyonu uygulamıştır. Üç haftalık deney süresinin sonunda tedavi grubunda kontrol grubuna göre korneal neovaskülarizasyonda %32 azalma saptanmış ve meydana gelen en uzun damar boyu kontrol grubuna göre daha kısa bulunmuştur (174).

Manzano ve ark. tarafından ratlarda yapılan ve yedi gün süren çalışmada, kimyasal koterizasyon ile oluşturulan korneal neovaskülarizasyonda, günde iki kez topikal uygulanan % 4' lük bevacizumabın etkinliği, günde iki kez topikal uygulanan %0,9 NaCl çözeltisi ile karşılaştırılmış, yedinci gün fotoğrafik olarak yapılan değerlendirme sonucunda topikal bevacizumab grubunda vaskülarize alan $38,2 \pm 15,5$, kontrol grubunda ise $63,5 \pm 5,0$ olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, bevacizumabın korneal neovaskülarizasyonu geriletmediği, ancak tamamen baskılayamadığı bildirilmiştir (175).

Hurmeric ve ark. (176) kobaylarda oluşturdukları deneysel kornea neovaskülarizasyonu modelinde subkonjonktival bevacizumab ve pegaptanip sodyumun etkinliğini araştırmış, deney sonunda korneal neovaskülarizasyon alanı kontrol grubunda %73,83, bevacizumab grubunda %59,84, pegaptanip grubunda ise %82,69 olarak bulmuşlardır. Sonuçta kornea neovaskülarizasyonunun azaltılmasında bevacizumab pegaptanip'e göre daha etkili bulunmuştur.

Başka bir çalışmada Hurmeric ve ark. kobaylarda gümüş nitrat-potasyum nitrat ile oluşturulan korneal neovaskülarizasyonda subkonjonktival bevacizumabın etkinliği araştırılmıştır. Erken ve geç olarak iki tedavi grubu, bir de kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturulmuş, birinci gruba koterizasyondan hemen sonra ve üç gün sonra subkonjonktival bevacizumab, ikinci gruba koterizasyondan sonraki üçüncü ve beşinci günlerde subkonjonktival bevacizumab yapılmış, kontrol grubuna ise koterizasyondan sonraki üçüncü ve beşinci günlerde subkonjonktival 0,9 NaCl yapılmış. Yapılan değerlendirmeler sonucunda 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 (166).

Bahar ve ark. tarafından yapılan klinik bir çalışmada, kornea neovaskularizasyonu olup, subkonjonktival bevacizumab uygulanan on hasta geriye dönük taranmış ve sonuçları bildirilmiştir. Yedi hastada korneal neovaskularizasyonda kısmi gerileme gözlenirken, üç hastada ise yanıt alınmadığı bildirilmiştir. Bu çalışma sonucunda bevacizumabın insan korneal neovaskularizasyonunu %29 oranında azalttığı gösterilmiştir (165).

Doğan ve ark. tarafından tavşanlarda gümüş- nitrat ve potasyum nitrat ile oluşturulan deneysel kornea neovaskularizasyonunda, topikal deksametazon, subkonjonktival bevacizumab ve topikal bevacizumabın korneal neovaskularizasyon üzerindeki etkileri histopatolojik olarak değerlendirmiş, topikal ve subkonjonktival bevacizumabın etkili olduğu ve iki uygulama şekli arasında belirgin bir farkın olmadığı saptanmış, topikal deksametazon da korneal deksametazon da korneal neovaskularizasyonu azaltmada etkili olmakla birlikte, etkisinin topikal ve subkonjonktival bevacizumabtan daha az olduğu saptanmış.

Bizim çalışmamızda da daha önceki çalışmalarla benzer olarak, subkonjonktival bevacizumab, topikal bevacizumab ve hem subkonjonktival hem topikal bevacizumabın kullanıldığı gruplar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kornea neovaskularizasyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde gerilediğini gözledik ($p=0,00004$). Ayrıca bevacizumabın kullanıldığı gruplarla topikal deksametazon kullanılan grup karşılaştırıldığında, kornea neovaskularizasyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha azdı. ($p=0,00004$). Ancak bevacizumabın subkonjonktival topikal ve hem subkonjonktival hem topikal kullanıldığı üç grup arasında ise istatistiksel olarak fark görülmedi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, deneklerin sol gözlerine kimyasal koterizasyon uygulanarak oluşturulan kornea neovaskülarizasyonunda, topikal deksametazon, topikal bevacizumab, subkonjonktival bevacizumab ve topikal + subkonjonktival bevacizumabın korneal neovaskülarizasyon üzerindeki etkileri incelendi. Denekler on günlük tedaviden sonra muayene edilerek korneada bulunan ana dal sayıları kaydedildi ve kornea fotoğrafları çekildi. Deneklerin makroskopik incelenmesinde topikal %0,9 NaCl verilen kontrol grubunda (Grup 1), belirgin korneal neovaskülarizasyon görülmekte iken, topikal deksametazon verilen grupta (Grup 2) ise korneal neovaskülarizasyon kontrol grubuna göre daha az görülmektedir. Subkonjonktival bevacizumab (Grup3), topikal bevacizumab (Grup4) ve subkonjonktival bevacizumab + topikal bevacizumab (Grup5) gruplarında deneklerin makroskopik incelenmesinde ise neovaskülarizasyon kontrol grubuna göre belirgin olarak daha az olduğu görülmektedir.

Mikroskopik incelemede %0,9'luk NaCl damlatılan kontrol grubunda (Grup 1) yanık alanında epitelin kendini yenilediği ve 0–2 kat arasında olduğu görüldü. Stroma tabakasında yoğun ödem, fibroblast ve enflamatuar hücre artışı ve anjiogenezis mevcuttu. Ayrıca kollajen liflerin düzeni oldukça bozulmuş olup kollajen liflerde ayrılmalar sıklıkla görüldü. Kontrol grubunda histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları diğer gruplara göre belirgin düzeyde fazla görülmektedir. Topikal deksametazon ile tedavi edilen grupta (Grup 2) yanık alanında epitelin kendini yenilediği ve 1–3 kat arasında olduğu görüldü. Stroma tabakasında kontrol grubuna benzer şekilde ödem, anjiogenezis, kollajen liflerde ayrılma ve düzensizleşme mevcuttu ancak bulguların şiddeti kontrol grubuna göre daha hafif olarak saptandı. Subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta (Grup 3), yanık alanındaki epitelin 1–3 kat olduğu izlendi. Stromal ödem kontrol grubu ve topikal deksametazon grubuna göre az izlenirken, ödemin az olmasına bağlı olarak kollajen lifler arasındaki açılmanın azaldığı ve kollajen liflerin daha düzenli olduğu görüldü. Topikal bevacizumab damlatılan grupta (Grup 4), yanık alanındaki epitelin 1–3 kat olduğu izlendi. Stromal ödem kontrol grubu ve deksametazon damlatılan gruba göre daha az izlenirken, subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan gruba benzer şekilde ödemin az olmasına bağlı olarak kollajen lifler arasındaki

açılmanın azaldığı ve kollajen liflerin daha düzenli olduğu görüldü. Topikal bevacizumab ile birlikte subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta (Grup 5), yanık alanındaki epitelin 3–4 kat olduğu izlendi. Stromal ödem ve enflamasyon artışı gözlenmedi. Stromal kollajen lifler düzenli olup, kollajen lifler arasında ayrılma gözlenmedi.

Ayrıca Masson trikrom boyama ile kontrol grubunda epitel altındaki bölgede, şiddetli ödem, kollajen liflerde belirgin düzensizlik ve ayrılma gözlendi. Topikal deksametazon ile tedavi edilen grupta bulguların şiddeti kontrol grubuna göre daha hafif olarak saptandı. Bevacizumabın kullanıldığı gruplarda ise kollajen lifler düzenli olup, bu alanlarda belirgin bir ödem gözlenmedi.

Korneal neovaskülarizasyon baskılanmasında, topikal bevacizumab, subkonjonktival bevacizumab ve topikal + subkonjonktival bevacizumabın etkili olduğu ve bu üç uygulama şekli arasında belirgin bir farkın olmadığı saptandı. Topikal deksametazon da korneal neovaskülarizasyonu azaltmada etkili olmakla birlikte, etkisi bevacizumab kullanılan gruplara göre daha az olarak gözlendi. Korneal neovaskülarizasyon tedavisinde, bevacizumabın, yaygın olarak kullanılmakta olan kortikosteroidlerden daha etkili ve iyi bir seçenek olduğunu düşünmekteyiz. Korneal neovaskülarizasyon tedavisinde, bu bulgular takip süresi on gün olduğundan kısa dönem için geçerli olup bevacizumabın etkinliği ve dozunu belirlemek, uzun dönemdeki yan etkilerini ortaya çıkarmak için uzun süreli, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Nishida T. Cornea. In Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, editors, Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management. China: Elsevier Mosby, 2005:3-26
2. Duke-Elder S, Perkins ES. The transparency of the cornea. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1960
3. Cameron JG. Corneal reaction to injury. In Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, editors, Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management. China: Elsevier Mosby, 2005:115-131
4. Tuli SS, Goldstein M, Schultz GS, Modulation of corneal wound healing. In Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, editors, Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management. China: Elsevier Mosby, 2005:133-150
5. Muller LJ, Pels L. Ultrastructural organization of human corneal nerves. Invest Ophthalmol Vis Sci 1996;37:476-488,
6. İrkeç MK. Gözyaşı tabakasının yapısı, biyokimyası, immünolojisi ve kontakt lensler. Oftalmoloji 1994;1:18-20
7. Kuo IC. Corneal wound healing. Curr Opin Ophthalmol 2004;15:311-315.
8. Gipson IK, Joyce NC, Zieske JD. The anatomy and cell biology of the human cornea, limbus, conjunctiva, and adnexa. Foster CS, Azar DT, Dohlman CH, eds. The Cornea Scientific Foundations & Clinical Practice. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005;1-35.
9. Newell FW. Anatomy of the cornea. Ophthalmology, Principles and Concepts 1992; 13:8-13.
10. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edlerhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Curr Eye Res 1985;4:671-677.
11. Bengisu Ü. Göz hastalıkları,4.baskı: kornea anatomisi ve Fizyolojisi. Ankara, Palme yayıncılık, 1998; 69-72
12. Tipathi RC, Chalam KV, Cibis GW, Kardon PH, Tipathi BJ, Weleber RG, Wand M. Fundamentals and principles of ophthalmology, Taylor Fran, USA, 1999; 150-4.
13. Sevel D, Isaacs R. A re-evaluation of corneal development. Trans Am Ophthalmol Soc 1998;86:178-207
14. Luo Lu, Peter S. Reinach, Winston W.Y. Kao. Corneal Epithelial Wound Healing Exp Biol Med Vol. 2001;226(7):653-664.

15. Efron N, Carney LG Oxygen levels beneath the closed eye lid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:93-100.
16. Bonanno JA. Identity and regulation of ion transport mechanisms in the corneal endothelium. *Prog Retin Eye Res.* 2003;22:69-94.
17. Pinar
18. Ahmadi AJ, Jakobiec FA. Corneal wound healing, cytokines and extracellular matrix proteins . *International Ophthalmology Clinics* 2002;42:13-22
19. Zeiske JD, Gipson IK. Protein synthesis during corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1986;27:1-7.
20. Clark EA, Brugge JS. Integrins and signal transduction pathways. The road taken. *Science* 1995;268:233-329
21. Messent AJ, Tuckwell DS, Knaupre V, Humphries MJ, Murphy G, Gavrilovic J. Effects of collagenase cleavage of type I collagen on $\alpha 2\beta 1$ integrin-mediated cell adhesion. *J Cell Sci* 1998;111:1127-1135
22. Vinay B Agrawal, MD; Ray J F Tsai, MD. Corneal Epithelial Wound Healing. *Indian J Ophthalmol* 2003;51:5-15
23. Kao WW, Kao CW, Kaufman AH, Kombrinck KW, Converse RL, Good WV, Bugge TH, Degen JL. Healing of corneal epithelial defects in plasminogen and fibrinogen deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:502-8,
24. Matsuda M, Ubels JL, Edelhauser HF. A larger corneal epithelial wound closes at a faster rate. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985;26:897-900
25. Kaufman HE, Barron AB, McDonald MB, Waltman SR. Corneal trauma *The Cornea* 1991;22:599-642
26. Fujikawa LS, Foster S, Gipson IK, Colvin RB; Basement membrane components in healing rabbit corneal epithelial wounds, immunofluorescence and ultrastructural studies. *J Cell Biol* 1984;98:128-138
27. Dua HS, Forrester JV. Clinical patterns of corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol* 1987;104:481-489.
28. Dua HS, Forrester JV. The corneoscleral limbus in human corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol* 1990;110:646-656
29. Dua HS, Gomes JAP, Singh A. Corneal epithelial wound healing. *British Ophthalmol* 1994;78:401-408

30. Chan KY, Jones RR, Bark DH, Swift J, Parkerjr JA, Haschke RH. Release of neuronotrophic factor from rabbit corneal epithelium during wound healing and nevre regeneration. *Exp Eye Res* 1987;45:633-646
31. Robert L. Legeasis JM. Robert AM. Corneal collagens. *Pathol Biol* 2001;49:353-363
32. Kim WJ, Mohan RR, Mohan RR, Wilson SE. Effect of PDGF, IL-1alpha, and BMP2/4 on corneal fibroblast chemotaxis: expression of the platelet derived growth factor system in the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1364-1372.
33. Helena MC, Baerveldt F, Kim WJ Wilson SE. Keratocyte apoptosis after corneal surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:276-283.
34. Wilson SE, He YG, Weng J, Li Q, McDowall AW, Vital M, Chwang EL. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res* 1996;62:325-327.
35. Jester JV, Ho-Chang J. Modulation of cultured corneal keratocyte phenotype by growth factors/cytokines control in vitro contractility and extracellular matrix contraction. *Exp Eye Res* 2003;77:581-592.
36. Funderburgh JL, Mann MM, Funderburgh ML. Keratocyte phenotypemediates proteoglycan structure: a role for fibroblasts in corneal fibrosis. *J Biol Chem* 2003;278:45629-45637
37. Jester JV, Petrol WM, Cavanagh HD. Cor neal stromal wound healing in refractive surgery: the role of myofibroblasts. *Prog Retina Eye Res* 1999;18:311-356
38. Wong TTL. Sethi C. Matrix metalloproteinases in disease and repair processes in the anterior segment. *Survey of Ophthalmolgy* 2002;47:239-256.
39. Matsuda M. Cellular migration and morphology in corneal endothelial wound repair. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985;26:443 -449.
40. Bednara J. Rodokanaki SA. Different characteristics of endothelial cells from central andperipheral human cornea in primary culture and after subculture. *In Vitro Cell Dev BiolAnim* 24;149-153,1998
41. Gordon RA, Donzis PB. Refractive development of human eye. *Arch Ophthalmol* 103;785-801,1985
42. Iguchi I. Kamiyama K. Enhancing effect of platelet-derived growth factor on migration ofcorneal endothelial cells. *Cornea* 14;365-371,1995

43. Burger PC, Chandler DB. Experimental corneal neovascularization; biomicroscopic, angiographic and morphologic correlation. *Cornea* 4;35-41,1985
44. Yaylali V, Ohta T, Kaufman SC, Maitchouk DY, Beuerman RW. In vivo confocal imaging of corneal neovascularization. *Cornea* 17;646-653,1998
45. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12:242-249.
46. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, Kearne M, Magner M, Isner JM. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res* 1999;85:221-228.
47. Asahara T, Isner JM. Endothelial progenitor cells for vascular regeneration. *J Hematother Stem Cell Res* 2002;11:171-178.
48. Cohen MM. Jr. Vasculogenesis, angiogenesis, hemangiomas and vascular malformations. *Am J Med Genet* 2002;108:265-274
49. Dana MR, Schaumberg DA, Kowal VO, Goren MB, Rapuano CJ, Laibson PR, Cohen EJ. Corneal neovascularization after penetrating keratoplasty. *Cornea* 1995;14:604-609.
50. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995;1:27-31.
51. Denekamp J. Vasculature as a target for tumor therapy. In: Hammerson F, Hudlicka O, eds. *Progress in Applied Microcirculation*. Basel: Karger, 1984; 28.
52. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671–674.
53. Chan CK, Pham LN, Zhou J, Spee C, Ryan SJ, Hinton DR. Differential expression of pro and anti angiogenic factors in mouse strain-dependent hypoxia-induced retinal neovascularization. *Lab Invest* 2005;85:721-733.
54. Cursiefen C, Cao J, Chen L et al. Inhibition of lymphangiogenesis and hemangiogenesis after normal risk corneal transplantation by neutralizing VEGF promotes graft survival *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 45;2666-73,2004
55. Lee P, Wang CC. Ocular neovascularization; an epidemiologic review. *Surv Ophthalmol* 48;245-269,1998
56. Vailhe B, Vittet D, Feige JJ. In vitro models of vasculogenesis and angiogenesis. *Lab Invest* 2001; 81: 439-452.

57. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest* 1987; 57: 673-686.
58. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 267-285.
59. Völker HJ. Hierarchy of prognostic factors for corneal allograft survival. *Aus N ZJ Ophthalmol* 15;11-18,1987
60. Cogan DG. Corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1;253-261,1962
61. Cursiefen C, Rummelt C. Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor. Transforming growth factor alpha and transforming growth factor beta 1 in human corneas with neovascularization. *Cornea* 19;526-533,2000
62. Power WJ, Tugal-Tutkun I. Long term follow up of patients with atopic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 105;637-642,1998
63. Centifanto YM, Yamaguchi T. Ocular disease pattern induced by Herpes simplex virus is genetically determined by a specific region of Viral DNA. *J Exp Med* 155;475-489,1982
64. Kremer I, Cohen EJ, Eagle RC Jr, Udell I, Laibson PR. Histopathologic evaluation of stromal inflammation in acanthamoeba keratitis. *CLAO J* 20;45-48,1994
65. Lopez JS, Price FW, Whitcup SM et al. Immunohistochemistry of Terrien's and Mooren's corneal degeneration. *Arch Ophthalmol*. 109;988-992,1991
66. Madigan MC, Penfold PL, Holden BA, Billson FA. Ultrastructural features of contact lens induced deep corneal neovascularization and associated stromal leukocytes. *Cornea* 9;144-151,1990
67. Fromer CH, Klintworth GK. An evaluation of the role of leukocytes in the pathogenesis of experimentally induced corneal vascularization. *Am J Pathol* 79;537-554,1975
68. Fromer CH, Klintworth GK. An evaluation of the role of leukocytes in the pathogenesis of experimentally induced corneal vascularization. II. studies of the effect of leukocytic elimination of corneal vascularization. *Am J Pathol* 81;531-544,1975
69. 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.* 82;157-170,1976
70. Austin P, Brown SI. Inflammatory Terrien's marginal corneal disease. *Am J Ophthalmol* 92;189-192,1981
 71. Gornig H, Kohlmann H. Clinical secretary and immunologic studies in Terrien's disease. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 193;465-470,1988
 72. 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* 41;2514-22,2000
 73. 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;39:18-22.
 74. Kvanta A, Sarman S, Fagerholm P, Seregard S, Steen B. Expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammation-associated corneal neovascularization. *Exp Eye Res* 2000;70:419-428.
 75. Breier G. Angiogenesis in embryonic development—a review. *Placenta* 2000;21 Suppl A:S11-15.
 76. Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung DW. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev* 1999; 13: 18-32.
 77. Shima DT, Kuroki M, Deutsch U, Ng YS, Adamis AP, D'Amore PA. The mouse gene for vascular endothelial growth factor. Genomic structure, definition of the transcriptional unit, and characterization of transcriptional and post-transcriptional regulatory sequences. *J Biol Chem* 1996;271:3877-3883.
 78. Pal S, Datta K, Mukhopadhyay D. Central role of p53 on regulation of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) expression in mammary carcinoma. *Cancer Res* 2001;61:6952-6957.
 79. Levy A. P., Levy N. S. Transcriptional regulation of rat endothelial growth factor gene by hypoxia. *J. Biol. Chem.* 270;13333-13340,1995
 80. Neufeld G. Cohen T. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *FASEB J.* 13;9-22,1999
 81. Ishida S, Usui T, Yamashiro T, Kaji Y, Ahmed E. VEGF164 Is Proinflammatory in the Diabetic Retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44 :2155–2162

82. Hogan MJ, Alvarado JA. Histology of the human eye. Philadelphia. WB Saunders 55-111,1997
83. Kenyon BM, Browne F. Effects of thalidomide and related metabolites in a Mouse corneal model of neovascularization. *Exp Eye Res* 64;971-978,1997
84. Yoshida A, Zetter B.R. Differential endothelial migration and proliferation to basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor. *Growth Factors* 13;57-64,1996
85. Binetruy-Tournaire R, Demangel C, Malavaud B et al. Identification of peptide blocking vascular endothelial growth factor (VEGF) mediated angiogenesis. *EMBO J* 19;1525-1533,2000
86. Hayashi N, Nakayasu K. Immunohistochemical localization of acidic and basic fibroblast growth factor through corneal neovascularization. In vivo and in vitro. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 100;587-591,1996
87. Soubrane G, Jerdan J, Karpouzas I, Fayein NA, Glaser B, Coscas G, Courtois Y, Jeanny JC. Binding of basic fibroblast growth factor to normal and neovascularized rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31;323-333,1990
88. Lu PC, Ye H, Maeda M, Azar DT. Immunolocalization and gene expression of matrilysin during corneal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:20-27.
89. Azar DT, Hahn TW, Jain S, Yeh YC, Stetler-Stevensen WG. Matrix metalloproteinases are expressed during wound healing after excimer laser keratectomy. *Cornea* 1996;15:18-24.
90. Maeda M, Vanlandingham BD, Ye H, Lu PC, Azar DT. Immunofluorescence localization of gelatinase B expressed by migrating intrastromal epithelial cells after deep annular excimer keratectomy. *Curr Eye Res* 1998;17:836-843.
91. Ye HQ, Azar DT. Expression of gelatinases A and B, and TIMPs 1 and 2 during corneal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:913-921.
92. Ye HQ, Maeda M, Yu FS, Azar DT. Differential expression of MT1-MMP (MMP-14) and collagenase III (MMP-13) genes in normal and wounded rat corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:2894-2899.
93. Chang Jh, Azar DT. Characterization of angiostatin in the Mouse cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000, 41 (ARVO) s832

94. Lin HC, Chang JH, Jain S, Gabison EE, Kure T, Kato T, Fukai N, Azar DT. Matrilysin cleavage of corneal collagen type XVIII NC1 domain and generation of a 28-kDa fragment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2517-2524.
95. Maeshima Y, Colorado PC, Kalluri R. Two RGD-independent alpha vbeta 3 integrin binding sites on tumstatin regulate distinct antitumor properties. *J Biol Chem* 2000;275:23745-23750.
96. Maeshima Y, Manfredi M, Reimer C, Holthaus KA, Hopfer H, Chandamuri BR, Kharbanda S, Kalluri R. Identification of the anti-angiogenic site within vascular basement membrane-derived tumstatin. *J Biol Chem* 2001;276:15240-15248.
97. Maeshima Y, Yerramalla UL, Dhanabal M, Holthaus KA, Barbashov S, Kharbanda S, Reimer C, Manfredi M, Dickerson WM, Kalluri R. Extracellular matrix-derived peptide binds to alpha(v)beta(3) integrin and inhibits angiogenesis. *J Biol Chem* 2001;276:31959-31968.
98. Pepper MS. Extracellular proteolysis and angiogenesis. *Thromb Haemost* 2001;86:346-355
99. Rober M, Steven L. Interleukin-8; a corneal factor that induced neovascularization. *Am J Pathology* 1992;141:1279-1284
100. Zheng M, Deshpande S, Lee S, Ferrara N, Rouse BT. Contribution of vascular endothelial growth factor in the neovascularization process during the pathogenesis of herpetic stromal keratitis. *J Virol*. 2001;75:9828-9835
101. Griscelli F, Li H, Bennaceur-Griscelli A, Soria J, Opolon P, Soria C, Perricaudet M, Yeh P, Lu H. Angiostatin gene transfer: inhibition of tumor growth in vivo by blockage of endothelial cell proliferation associated with a mitosis arrest. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:6367-6372
102. Jones, SM, Kazlauskas A. Connecting signaling and cell cycle progression in growth factor-stimulated cells. *Oncogene* 2000; **19**: 5558-5567
103. Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, Ambrósio RJr, Hong JW, Lee J. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res*. 2001; **20**:625-637
104. Imanishi J, Kamiyama K, Iguchi I, Kita M, Sotozono C, Kinoshita S. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res* 2000; **19**: 113-129

105. Singh N, Macnamara E, Rashid S, Ambati J, Kontos CD, Higgins E, Ambati BK. Systemic soluble Tie-2 expression inhibits and regresses corneal neovascularization. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 332: 194-199.
106. White RR, Shan S, Rusconi CP, Shetty G, Dewhirst MW, Kontos CD, Sullenger A. Inhibition of rat corneal angiogenesis by a nuclease-resistant RNA aptamer specific for angiopoietin-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 5028-5033
107. Grant MB, Mames RN, Fitzgerald C, Ellis EA, Aboufrikha M, Guy J. Insulin-like growth factor I acts as an angiogenic agent in rabbit cornea and retina: comparative studies with basic fibroblast growth factor. *Diabetologia* 1993; 36: 282-291.
108. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, et al. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994, 79: 315-328.
109. Shin SH, Kim JC, Chang SI, Lee H, Chung SI. Recombinant kringle 1-3 of plasminogen inhibits rabbit corneal angiogenesis induced by angiogenin. *Cornea* 2000; 19: 212-217.
110. Gabison E, Chang JH, Hernandez-Quintela E, Javier J, Lu PC, Ye H, et al. Antiangiogenic role of angiostatin during corneal wound healing. *Exp Eye Res* 2004; 78: 579-589
111. Ambati M, Jousseaume A, Ambati J et al. Angiostatin inhibits and regresses corneal neovascularization. *Arch Ophthalmol* 120;1063-8,2002
112. Sack RA, Beaton AR. Diurnal variations in angiostatin in human tears fluid a possible role in prevention of corneal neovascularization. *Curr Eye Res.* 18;186-193,1999
113. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem.* 267;10931-10934,1992
114. Ferreras M, Felbor U, Lenhard T, Olsen BR, Delaissé J. Generation and degradation of human endostatin proteins by various proteinases. *FEBS Lett* 486;247-251,2000
115. Fini EM. Keratocyte and fibroblast phenotypes in the repairing cornea. *Progress in retinal and eye research* 18;529-551,1999
116. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y et al. Endostatin an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 88;277-285,1997

117. Kim YM, Hwang S, Kim YM, Pyun BJ, Kim TY, Lee ST, Gho YS, Kwon YG. Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with KDR/Flk-1. *J Biol Chem* 2002;277:27872-27879
118. Kamphaus GD, Colorado PC, Panka DJ, et al. A novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Biol Chem* 2000;275:1209-1215
119. Ortego J, Escribano J, Becerra SP, Coca-Prados M. Gene expression of the neurotrophic pigment epithelium-derived factor in the human ciliary epithelium. Synthesis and secretion into the aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 2759-2767
120. Dawson DW, Volpert OV, Gilis P et al. Pigment epithelium derived factor a potent inhibitor of angiogenesis. *Science* 1999;285:245-248,
121. Hiscott P, Paraoan L, Choudhary A, Ordonez JL, Al-Khaier A, Armstrong DJ. Thrombospondin 1, thrombospondin 2 and the eye. *Prog Retin Eye Res* 2006; 25: 1-18.
122. Sekiyama E, Nakamura T, Cooper LJ, Kawasaki S, Hamuro J, Fullwood NJ, Kinoshita S. Unique distribution of thrombospondin-1 in human ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 1352-1358
123. Cursiefen C, Masli S, Dana MR, Bornstein P, Lawler J, Streilein JW. Roles of thrombospondin-1 and -2 in regulating corneal and iris angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 1117-1124.
124. Phillips K, Arffa R, Cintron C, Rose J, Miller D, Kublin CL, Kenyon KR. Effects of prednisolone and medroxyprogesterone on corneal wound healing, ulceration, and neovascularization. *Arch Ophthalmol* 1983;101:640-643.
125. Boneham GC, Collin HB. Steroid inhibition of limbal blood and lymphatic vascular cell growth. *Curr Eye Res* 1995;14:1-10.
126. Harvey PT, Cherry PM: Indomethacin v. dexamethasone in the suppression of corneal neovascularization. *Can J Ophthalmol* 1983;18:293-295
127. Haynes WL, Hirakata A. Inhibition of corneal neovascularization in the rat by SK&F 86002 a dual inhibitor of arachidonic acid metabolism. *Exp Eye Res* 55;189-191,1992
128. Hayness WL, Proia AD. Effect of inhibitors of arachidonic acid metabolism on corneal neovascularization in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989, 30, 1588-1593

129. Dana MR, Zhu SN, Yamada J: Topical modulation of interleukin-1 activity in corneal neovascularization. *Cornea* 1998;17:403-409.
130. Demir T, Celiker UO, Kükner A, Mogulkoç R, Celebi S, Celiker H.. Effect of octreotide on experimental corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol Scand* 1999;77:386-390.
131. Benelli U, Ross JR, Nardi M, Klintworth GK. Corneal neovascularization induced by xenografts or chemical cautery: inhibition by cyclosporin A. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:274-282.
132. 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;12:425-31.
133. Kim JH, Kim JC, Shin SH, Chang SI, Lee HS, Chung SI. The inhibitory effects of recombinant plasminogen kringle 1–3 on the neovascularization of rabbit cornea induced by angiogenin, bFGF, and VEGF. *Exp Mol Med* 1999;31:203-209.
134. Klauber N, Browne F, Anand-Apte B, D'Amato RJ. New activity of spironolactone: inhibition of angiogenesis in vitro and in vivo. *Circulation* 1996;94:2566-2571.
135. 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;21:491-497.
136. Arbiser JL, Klauber N, Rohan R, et al. Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Mol Med* 1998;4:376-383.
137. Cohen RA, Gebhardt BM, Bazan NG: A platelet-activating factor antagonist reduces corneal allograft inflammation and neovascularization. *Curr Eye Res* 1994;13:139-144
138. Nirankari VS, Dandona L. Laser photocoagulation of experimental corneal stromal vascularization efficacy and histopathology. *Ophthalmology* 1993; 100:111-118.
139. Baer JC, Foster CS. Corneal argon laser photocoagulation for neovascularization in penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1986;93:1304-1309.
140. Baer JC, Foster CS. Corneal laser photocoagulation for treatment of neovascularization. Efficacy of 577 nm yellow dye laser. *Ophthalmology* 1992;99:173-179.

141. Primbs GB, Casey R, Wamser K, Snyder WJ, Crean DH. Photodynamic therapy for corneal neovascularization. *Ophthalmic Surg Lasers* 1998;29:832-838.
142. Gohto Y, Obana A, Kanai M, Nagata S, Nakajima S, Miki T. Treatment parameters for selective occlusion of experimental corneal neovascularization by photodynamic therapy
143. Pillai CT, Dua HS, Hossain P: Fine needle diathermy occlusion of corneal vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:2148–2153
144. Kwitko S, Marinho D. Allograft conjunctival transplantation for bilateral ocular surface disorders. *Ophthalmology* 102;1020-1025,1995
145. 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;40:1822-1828.
146. Kim JC, Tseng SC. The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damaged rabbit corneas. *Korean J Ophthalmol* 1995;9:32-46.
147. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2005; **36**(4);270-1
148. Hampton, T., Monoclonal antibody therapies shine in breast cancer clinical trials. *JAMA* 2005;**293**, 2985–2989.
149. Campochiaro PA.. Ocular versus extraocular neovascularization: mirror images or vague resemblances. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 ;**47**(2):462-74.
150. Friedlander SM,Welch RM. Vanishing disc neovascularization following intravitreal bevacizumab (avastin) injection. *Arch Ophthalmol.* 2006;**124**(9):1365
151. Ruiz-Moreno JM,Montero JA, Lugo F,Amat P,Staicu C. Intravitreal bevacizumab in recurrent diabetic vitreous haemorrhage after vitrectomy. *Acta Ophthalmol.* 2008;**86**(2):231-2
152. Beyon SH, Kwon YA, Oh HS, Kim M, Kwon OW. Short-term results of intravitreal bevacizumab for macular edema with retinal vein obstruction and diabetic macular edema. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2007 ;**23**(4):387-94
153. Moshfeghi AA, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, Michels S, Marcus EN, Venkatraman AS. Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-

- related macular degeneration: twenty-four-week results of an 65 uncontrolled open-label clinical study. *Ophthalmology* . 2006;**113**(11):2002.e1-12.
154. Adan A, Mateo C, Navarro R, Bitrian E, Casaroli-Marano RP. Intravitreal bevacizumab (avastin) injection as primary treatment of inflammatory choroidal neovascularization. *Retina*. 2007;**27**(9):1180-6.
 155. Hernandez-Rojas ML, Quiroz-Mercado H, Dalma-Weiszhausz J, Aiello LP. Short-term effects of intravitreal bevacizumab for subfoveal choroidal neovascularization in pathologic myopia. *Retina* 2007 ;**27**(6):707-12.
 156. Mandal S, Garg S, Venkatesh P, Mithal C, Vohra R, Mehretra A. Intravitreal bevacizumab for subfoveal idiopathic choroidal neovascularization. *Arch Ophthalmol*. 2007;**125**(11):1487-92.
 157. Quiroz-Mercado H, Martinez-Castellanos MA, Hernandez-Rojas ML, Salazar N, Chan RV. Antiangiogenic therapy with intravitreal bevacizumab for retinopathy of prematurity. *Retina* . 2008 ;**28**(3 Suppl):S19-25.
 158. Ehlers JP, Spirn MJ, Lam A, Sivalingam A, Samuel MA, Tasman W. Combination intravitreal bevacizumab/panretinal photocoagulation versus panretinal photocoagulation alone in the treatment of neovascular glaucoma. *Retina* 2008 ;**28**(5):696-702.
 159. Yazdani S, Hendi K, Pakravan M. Intravitreal bevacizumab (Avastin) injection for neovascular glaucoma. *J Glaucoma*. 2007 ;**16**(5):437-9.
 160. Iliev ME, Doming D. Intravitreal Bevacizumab (Avastin) in the Treatment of Neovascular Glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2006;**142**:1054-1056
 161. Luiz F.M. , Rubens Belfort Jr. The effects of the subconjunctival injection of bevacizumab (Avastin) on angiogenesis in the rat cornea. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2007; **79**(3): 389-394
 162. Mesut Erdurmus & Yuksel Totan. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007; **245**:1577–1579
 163. Felix Bock, Yanyan König , Friedrich Kruse, Martin Baier, Claus Cursiefen. Bevacizumab (Avastin) eye drops inhibit corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008; **246**:281–284
 164. Papatheanassiou M, Theodosiadis PG, Vasilios S, Rouvas A, Bourboulis EJ, and Vergados DIA. Inhibition of Corneal Neovascularization by Subconjunctival Bevacizumab in an Animal Model. *Am J Ophthalmol*. 2008;**145**:424 – 431

165. Irit Bahar, Igor Kaiserman, McAllum P, Franzco MB, Rootman D and Slomovic A. Subconjunctival Bevacizumab Injection for Corneal Neovascularization. *Cornea* 2008;**27**:142–147
166. Hurmeric V, Mumcuoglu T, Erdurman C, Kurt B, Dagli O and H. Durukan A. Effect of Subconjunctival Bevacizumab (Avastin) on Experimental Corneal Neovascularization in Guinea Pigs. *Cornea* 2008;**27**:357–362
167. Han YS, Lee JE, Jung JW, Lee JS. Inhibitory effects of bevacizumab on angiogenesis and corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009 ; **247**(4):541-8.
168. Jermak CM, Dellacroce JT, Heffez J, Peyman GA. Triamcinolone acetonide in ocular therapeutics. *Surv Ophthalmol.* 2007; 52: 503-22.
169. Dan L, shi-long Y, Miao-li L, ve ark. İnhibitory effect of oral doxycycline on neovascularization in a art corneal alkali burn model of angiogenesis. *Cur Eye Res* 2008; 33(8): 653-60.
170. Mahoney JM, Waterbury LD. Drug effects on the neovascularization response to silver nitrate cauterization of the rat cornea .*Curr Eye Res* 1985; 4(5): 531-5
171. Philips GD. Stone AM. Vascular endothelial growth factor (VEGF165) stimulates direct angiogenesis in the rabbit cornea. *In Vivo* 8;961-5,1994
172. Kim B. Tang Q, Biswas PS et al. Inhibition of ocular angiogenesis by siRNA targeting vascular endothelial growth factor pathway genes. *Am J Pathol*165;2177-22,2004
173. Hanahan D. Signaling vasculer morphogenesis and maintenance. *Science*1997; 277(5322): 48-50
174. Hosseini H, Nejabat M, Mehryar M, Yazdchi T, Sedaghat A, Noori F. Bevacizumab inhibits corneal neovascularization in an alkali burn induced model of corneal angiogenesis. *Clin Experiment Ophtalmol.* 2007;**35**:745-8
175. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, ve ark. İnhibition of experimental corneal neovascularisation by bevacizumab. *Br J Ophthalmol* 2007; 91(6): 804-7
176. Hurmeric V, Erdurman C F, Mumcuo.lu T, et al. Deneysel kornea neovaskularizasyonu modelinde subkonjonktival bevacizumab ve pegaptanip sodyum enjeksiyonunun etkinliğinin karşılaştırılması. *Turk J Ophthalmol.* 2009;**39**:348-53.

8. RESİMLEMELER LİSTESİ

Resimlemeler	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Korneanın mikroskopik anatomisi	2
Tablo 1. Korneada bulunan anjiogenik ve anti anjiogenik faktörler	14
Tablo 2. Kornea neovaskülarizasyonuna neden olan hastalıklar	17
Şekil 2. Gümüş nitrat çubuğu	27
Şekil 3. Histopatolojik İncelemede Normal Kornea Kesiti	28
Tablo 3. Grup 1 Korneal Muayene Bulguları	29
Şekil 4. Grup 1' e ait bir ratın makroskopik fotoğrafı	29
Tablo 4. Grup 2 Korneal Muayene Bulguları	30
Şekil 5. Grup 2' e ait bir ratın makroskopik fotoğrafı	30
Tablo 5. Grup 3 Korneal Muayene Bulguları	31
Şekil 6. Grup 3' e ait bir ratın makroskopik fotoğrafı	31
Tablo 6. Grup 4 Korneal Muayene Bulguları	32
Şekil 7. Grup 4' e ait bir ratın makroskopik fotoğrafı	32
Tablo 7. Grup 5 Korneal Muayene Bulguları	33
Şekil 8. Grup 5' e ait bir ratın makroskopik fotoğrafı	33
Şekil 9. Mikroskopik incelemede gümüş nitrat kalıntıları	34
Tablo 8. Kontrol grubunda histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları	35
Şekil 10. Grup 1 Hematoksilen eozin boyama	35
Tablo 9. Topikal deksametazon grubunda histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları	36
Şekil 11. Grup 2 Hematoksilen eozin boyama	36
Tablo 10. Subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları	37
Şekil 12. Grup 3 Hematoksilen eozin boyama	37
Tablo 11. Topikal bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları	38
Şekil 13. Grup 4 Hematoksilen eozin boyama	38
Tablo 12. Topikal bevacizumab ile birlikte subkonjonktival bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta histopatolojik kesitlerdeki damar sayıları	39
Şekil 14. Grup 5 Hematoksilen eozin boyama	39
Şekil 15. Grup 1 Masson Trikrom Boyama	40
Şekil 16. Grup 2 Masson Trikrom Boyama	40
Şekil 17. Grup 3 Masson Trikrom Boyama	40

Şekil 18. Grup 4 Masson Trikrom Boyama

41

Şekil 19. Grup 5 Masson Trikrom Boyama

41

9. ÖZGEÇMİŞ

15.04.1980 tarihinde Diyarbakır' da doğdum. Batman 50.yıl İlkokulu ve Ziya Gökalp İlköğretim okulunda ilköğrenimimi tamamladım. Orta öğrenimimi Batman Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi' nde tamamladım. 1999 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi' nde tıp eğitimime başladım ve 2005 yılında mezun oldum. Aynı yıl Batman' ın Beşiri ilçesinde sağlık ocağında tabiplik görevine başladım. 2007 yılında tıpta uzmanlık sınavında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz hastalıkları Ana Bilim dalını kazanarak araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen araştırma görevlisi olarak bu fakültede çalışmaktayım.