

T.C.

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ANATOMİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL KATARAKT MODELİ OLUŞTURULAN CİVCİV
EMBRİYOLARINDA KETEN TOHUMU YAĞININ
ANTİOKSİDAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Orhan ŞENKAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Doç. Dr. Emre ATAY

**Bu çalışma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimi tarafından 20.LİS.002 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

2022-AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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

Yüksek Lisans Öğrencisinin

Adı Soyadı: Orhan ŞENKAL

İmza:

Danışmanın

Adı Soyadı: Doç. Dr. Emre ATAY

İmza:

KABUL VE ONAY

Doç. Dr. Emre ATAY danışmanlığında Orhan ŞENKAL tarafından hazırlanan “**Deneysel Katarakt Modeli Oluşturulan Cıvciv Embriyolarında Keten Tohumu Yağının Antioksidan Etkisinin Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalında **yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

23 / 06 / 2022

JÜRİ:

Başkan: Doç. Dr. Murat Sırrı AKOSMAN

(Afyon Kocatepe Üniversitesi)

Üye : Doç. Dr. Esra KOYUNCU

(Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi)

Üye : Doç. Dr. Emre ATAY

(Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi)

ONAY:

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

..... /...../

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım boyunca ve tez hazırlama sürecimde destekleriyle hep yanımda olan; bilgisinden ve tecrübelerinden faydalandığım, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, saygıdeğer tez danışmanım Doç. Dr. Emre ATAY'a;

Yüksek lisans eğitimimde bilgi birikimlerinden faydalandığım Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Tolga ERTEKİN'e, öğretim üyeleri hocalarım Doç. Dr. Esra KOYUNCU ve Dr. Öğr. Üyesi Abdülkadir BİLİR'e,

Yüksek lisans eğitimi sürecinde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum anabilim dalı asistanları Arş. Gör. Gülan ALBAŞ KURT ve Arş. Gör. Alperen SARITAŞ'a;

Tezin deney aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Halit Buğra KOCA ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanı Öğr. Gör. Dr. Esra ASLAN'a,

Hayatım boyunca beni karşılık beklemeden destekleyen, benim gibi zorlu bir evlada karşı bile sabır timsali olan canım annem Zeynep ŞENKAL'a, başta zekâsı olmak üzere birçok konuda hayranı olduğum sevgili babam Seydi ŞENKAL'a, bana bile matematik öğretebilen ağabeyim Osman Nuri ŞENKAL'a ve fedakarlığı ve yüksek enerjisi ile ailemizi hep bir arada tutan biricik ablam Vildan KORKUT'a;

Dualarını benden hiç esirgemeyen canım annanem Asiye AYDIN'a ve yakınlarda aramızdan ayrılan rahmetli dedem Ahmet AYDIN'a;

Hayatıma baharın habercisi gibi gelişiyse gözbebeklerimde çiçekler açtıran ve midemde kelebeklerin uçtuğunu hissettiren müstakbel eşim Fatma Ceyda ŞENKAL'a;

Tezimin hazırlanmasındaki desteğinden dolayı AFSÜ BAP Birimi'ne;

Teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Orhan ŞENKAL

Afyonkarahisar, Haziran 2022

**DENEYSEL KATARAKT MODELİ OLUŞTURULAN CİVCİV
EMBRİYOLARINDA KETEN TOHUMU YAĞININ ANTİOKSİDAN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Orhan ŞENKAL

**Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi
Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi**

Haziran 2022

Danışman: Doç. Dr. Emre ATAY

ÖZET

Dünya'daki en yaygın görme bozukluğu ve körlük nedenlerinden biri olan katarakt, lensin opaklığının artmasıyla karakterize bir görme problemidir. Uzun süreli kortikosteroid kullanımının kataraktın meydana gelmesindeki faktörlerden biri olduğunu bildiren literatür bilgisi mevcuttur. Tedavisinde cerrahi tercih edilse de alternatif tedavi yöntemleri arasında antioksidanların kullanımına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. İyi bir alfa linolenik asit (ALA) ve linoleik asit (LA) kaynağı olan keten tohumu yağı (KTY) yapısındaki lignanlar sayesinde antioksidan özellik göstermektedir. Antioksidanlar vücutta oksidatif stresin aracılık ettiği patolojik süreçlere karşı koruyucu rolleri olan önemli ajanlardır. Literatürdeki bu veriler dikkate alındığında, çalışmamızda kortikosteroidle indüklenen civciv embriyo katarakt modelinde KTY'nin antioksidan etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışma kapsamında 125 adet spesifik patojen free (SPF) döllenmiş yumurta kullanıldı. Yumurtalar; kontrol grubu, Hidrokortizon Hemisüksinat Sodyum (HC) grubu, düşük (0.1 ml HC ve 50 µL/yumurta KTY), orta (0.1 ml HC ve 100 µL/yumurta KTY) ve yüksek doz (0.1 ml HC ve 150 µL/yumurta KTY) KTY verilen gruplar olmak üzere 5 gruba ayrıldı. İfade edilen KTY ve HC dozları çalışmanın 15. gününde insülin enjektörleri vasıtasıyla hava kesesine enjekte edildi. 17. günde, tüm civciv embriyoları yumurtalardan çıkarıldı ve embriyoların bulbus oculi'leri diseksiyon mikroskobu kullanılarak diseke edildi. Her grupta yer alan embriyoların 9 tanesine ait lenslerdeki katarakt oluşumu değerlendirildi ve 8 embriyoya ait lenslerde biyokimyasal analizlerle glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS), kaspaz 3 ve kaspaz 9 düzeyleri ölçüldü. 7 embriyoya ait bulbus oculi'lerde ise histolojik olarak TUNEL boyama yöntemi ile pozitif boyanan apoptotik hücrelerin oranı belirlendi.

Kontrol grubunda yer alan lenslerin tamamı şeffaftı ve hiç katarakt gözlemlenmedi. HC grubundaki lenslerin 6 tanesi 4. derece katarakt sergilemekteydi ve ortalama katarakt derecesi 3.3 olarak hesaplandı. Katarakt dereceleri KTY uygulanan gruplarda HC grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). HC+KTY gruplarında ortalama katarakt dereceleri düşük dozdan yüksek doza doğru sırasıyla

2.9, 2.4 ve 1.7 olarak hesaplandı. Lenslerde HC uygulamasına baēlı azalan GSH ve TAS düzeyleri KTY ile tedavi edilen gruplarda artış sergiledi. Diēer biyokimyasal parametrelerden MDA, TOS, kaspaz 3 ve kaspaz 9 düzeyleri ise KTY dozuna baēlı olarak azaldı. Ayrıca TUNEL yöntemi ile apoptotik hücre sayımı yapıldı ve HC grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). Uygulanan KTY doz oranı ile ters orantılı olarak apoptotik hücre oranı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldı ($p<0.05$). Sonuç olarak; HC kaynaklı katarakta ve oksidatif hasara yönelik biyokimyasal ve histolojik bulgularla desteklenen sonuçlarımıza göre KTY'nin doza baēlı olarak belirgin bir antioksidan etki g sterdiēini belirledik.

Anahtar kelimeler: Keten tohumu yaēı, Steroid, Katarakt, G z, Lens



INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT EFFECT OF FLAXSEED OIL IN CHICK EMBRYOS WITH EXPERIMENTAL CATARACT MODEL

Orhan ŞENKAL

Afyonkarahisar University of Health Sciences Institute of Graduate Education

Department of Anatomi Master Thesis

June 2022

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emre ATAY

ABSTRACT

Cataract, one of the most common causes of visual impairment and blindness in the world, is a vision problem characterized by increased opacity of the lens. There are studies reporting that the use of corticosteroids is one of the factors in the formation of cataracts. Although surgery is preferred in its treatment, there are studies on the use of antioxidants among alternative treatment methods. Flaxseed oil (FO), which is a good source of alpha linolenic acid (ALA) and linoleic acid (LA), shows antioxidant properties thanks to the lignans in its structure. Antioxidants are important agents that have protective roles against pathological processes mediated by oxidative stress in the body. Considering these data in the literature, we aimed to investigate the antioxidant effect of FO in the corticosteroid-induced chick embryo cataract model in our study.

Within the scope of the study, 125 specific pathogen free (SPF) fertilized eggs were used. Eggs; The control group, HC group, low (0.1 ml HC and 50 µL/egg FO), medium (0.1 ml HC and 100 µL/egg FO) and high dose (0.1 ml HC and 150 µL/egg FO) FO groups were given. It was divided into 5 groups. Expressed FO and HC doses were injected into the air sac with insulin injectors on the 15th day of the study. On day 17, all chick embryos were removed from the eggs and bulbus oculi of the embryos were dissected using a dissecting microscope. Cataract formation in the lenses of 9 embryos in each group was evaluated, and biochemical analyzes of glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), total antioxidant level (TAS), total oxidant level (TOS), caspase 3 and caspase 9 levels were measured in the lenses of 8 embryos. In the bulbus oculi of 7 embryos, the rate of apoptotic cells that were histologically stained positively by TUNNEL staining method was determined.

All of the lenses in the control group were transparent and no cataracts were observed. Six of the lenses in the HC group exhibited grade 4 cataracts and the mean cataract grade was calculated as 3.3. Cataract grades were significantly lower in the FO applied groups compared to the HC group ($p<0.05$). The mean cataract grades in the HC+FO groups were calculated as 2.9, 2.4, and 1.7 from low to high dose, respectively. Decreased GSH and TAS levels in lenses due to HC application increased in groups treated with FO. MDA, TOS, caspase 3 and caspase 9 levels of other biochemical parameters decreased depending on the dose of FO. In addition,

apoptotic cell count was performed with the TUNEL method and a statistically significant difference was found between the groups when the HC group was compared with the control group ($p<0.05$). The rate of apoptotic cells decreased statistically significantly ($p<0.05$), inversely proportional to the applied FO dose rate. As a result; according to our results supported by biochemical and histological findings for HC-induced cataract and oxidative damage, we determined that FO exerts a significant antioxidant effect depending on the dose.

Keywords: Flaxseed Oil, Linseed Oil, Steroid, Cataract, Eye, Lens



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
GRAFİKLER DİZİNİ	xv
RESİMLER DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Keten Tohumu	3
2.1.1. Keten Tarihçesi	3
2.1.2. Keten Tohumunun Özellikleri.....	3
2.1.3. Keten Tohumunun Endüstriyel Kullanım Alanı	6
2.1.4. Keten Tohumu Yağı Özellikleri.....	7
2.1.5. Alfa Linolenik Asit (ALA) Özellikleri	8
2.1.6. Keten Tohumu Yağının Hastalıklara Karşı Etkileri.....	9
2.1.7. Keten Tohumu Yağının Antioksidan Etkisi.....	10
2.2. Göz Embriyolojisi	12
2.2.1. Retina Embriyolojisi	13
2.2.2. Nervus Opticus Embriyolojisi.....	13
2.2.3. Lens Embriyolojisi.....	14

2.3.	Gözün Histolojisi.....	15
2.3.1.	Lens Histolojisi	16
2.3.2.	Retina ve Nervus Opticus Histolojisi.....	17
2.4.	Göz Anatomisi.....	19
2.4.1.	Bulbus Oculi	20
2.5.	Gözün Işığ ı Kıran Vasatları.....	28
2.5.1.	Lens	28
2.5.2.	Humor Aquosus	29
2.5.3.	Corpus Vitreum.....	29
2.6.	Gözle İlgili Hastalıklar	30
2.6.1.	Katarakt.....	31
2.7.	Civciv Embriyolojisi	36
2.7.1.	Civciv Embriyo Geliş im Aş amaları	40
2.7.2.	Civciv Embriyosu Göz Geliş imi	42
2.8.	Hamburger ve Hamilton Evrelerinde Göz Geliş imi.....	43
2.9.	Tıp Alanında Deneysel Hayvan Modellerinin Kullanımı ve Avantajları....	47
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1.	Gereç	49
3.1.1.	Çalışmanın Yeri ve İzni	49
3.1.2.	Deney Hayvanları.....	49
3.1.3.	Laboratuvar Koş ulları	50
3.2.	Yöntem	51
3.2.1.	Deney Gruplarının Oluşturulması	51
3.2.2.	Civciv Embriolarına HC ve Antioksidan Madde Enjeksiyonu.....	53
3.2.3.	Civciv Embriolarının Yumurtalardan Ç ıkarılması ve İncelenmesi....	54
3.2.4.	Katarakt Derecelendirmesinin Yapılması	55

3.2.5.	Biyokimyasal Analiz Yöntemleri ve Lens Homojenatının Hazırlanması	56
3.2.6.	Histolojik Analiz	57
3.3.	İstatistiksel Analiz	59
4.	BULGULAR	61
4.1.	Katarakt Derecelerine Ait Bulgular	61
4.2.	Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular	64
4.2.1.	Glutasyon (GSH) Düzeyine Ait Bulgular.....	64
4.2.2.	Malondialdehit (MDA) Düzeyine Ait Bulgular	66
4.2.3.	Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Düzeyine Ait Bulgular.....	67
4.2.4.	Total Oksidan Seviyesi (TOS) Ait Bulgular	69
4.2.5.	Kaspaz 3 Düzeyine Ait Bulgular.....	70
4.2.6.	Kaspaz 9 Düzeyine Ait Bulgular.....	72
4.3.	TUNEL Boyama Yöntemine Ait Bulgular.....	73
5.	TARTIŞMA	76
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	93
7.	KAYNAKLAR	94

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

SDG	: Sekoizolarisinol Diglukozit
SFE	: Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu
CO₂	: Karbondioksit
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
ALA	: Alfa Linolenik Asit
END	: Enterodiol
ENL	: Enterolakton
MS	: Multipl Skleroz
CP	: Soğuk Sıkım
SE	: Solvent Ekstraksiyonu
UAE	: Ultrason Destekli Ekstraksiyon
SBD	: Püskürtmeli Yatak Kurutma
ω-3	: Omega-3
HDL-C	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PPAR	: Peroksizom Proliferatör ile Aktive Edilen Reseptörler
EPA	: Eikosa Pentaenoik Asit
CVD	: Kardiyovasküler Hastalık
HD	: Huntington Hastalığı
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
MDA	: Malondialdehit
SOD	: Süperoksitdismutaz
CAT	: Katalaz
GSH-Px	: Glutatyonperoksidaz
NO	: Nitrik Oksit
DHA	: Dokosa Heksaenoik Asit
ONH	: Optik Sinir Başı
RGC	: Retina Ganglion Hücreleri
RNFL	: Retina Sinir Lifi Katmanına
OD	: Optik Disk
RPE	: Retina Pigment Epitelyumu
μm	: Mikrometre
IPE	: İris Pigmentli Epitel
RPE	: Retina Pigment Epiteli
EFTF	: Göz Alanı Transkripsiyon Faktörleri
Shh	: Sonic Hedgehog
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
Wnt	: Wingless ile İlişkili Entegrasyon Bölgesi
bHLH	: Temel Sarmal-Döngü-Sarmal
ONL	: Dış Nükleer Tabaka
INBL	: İç Nöroblastik Katman
ONBL	: Dış Nöroblastik Katman
GCL	: Ganglion Hücre Katmanı
INL	: İç Nükleer Katman
IPL	: İç Pleksiform Katman
NFL	: Sinir Lifi Tabakası

PHPV	: Kalıcı Hiperplastik Birincil Vitröz
DHA	: Dokosa Heksaenoik Asit
OPL	: Dış Pleksiform Katman
KTY	: Keten Tohumu Yağı
HC	: Hidrokortizon Hemisüksinat Sodyum



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Deney gruplarının dağılımı	52
Tablo 4.1. Tüm gruplardaki lenslerin katarakt dereceleri	62
Tablo 4.2. Tüm gruplara ait ortalama glutatyon (nmol/lens) düzeyleri	65
Tablo 4.3. Tüm gruplara ait ortalama malondialdehit (μ mol/lens) düzeyleri	66
Tablo 4.4. Tüm gruplara ait total antioksidan seviyeleri (U/lens).....	68
Tablo 4.5. Tüm gruplara ait total oksidan seviyeleri (pg/lens).....	69
Tablo 4.6. Tüm gruplara ait kaspaz 3 (ng/lens) düzeyleri	71
Tablo 4.7. Tüm gruplara ait kaspaz 9 (ng/lens) düzeyleri.....	72
Tablo 4.8. Tunel (Tunel pozitif hücre sayısı/Toplam hücre) yöntemine ait bulgular	74

GRAFİKLER DİZİNİ

- Grafik 4.1.** Tüm gruplara ortalama katarakt dereceleri. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum 63
- Grafik 4.2.** Tüm gruplara ait lenslerdeki glutatyon (nmol/lens) düzeyleri grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum 65
- Grafik 4.3.** Tüm gruplara ait lenslerdeki malondialdehit (μ mol/lens) düzeyleri grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum..... 67
- Grafik 4.4.** Tüm gruplara ait total antioksidan seviyeleri (U/lens) grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum. 68
- Grafik 4.5.** Tüm gruplara ait total oksidan seviyeleri (pg/lens) grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum 70
- Grafik 4.6.** Tüm gruplara ait kaspaz 3 (ng/lens) düzeyleri. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum 71
- Grafik 4.7.** Tüm gruplara ait kaspaz 9 (ng/lens) düzeyleri. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum 73
- Grafik 4.8.** TUNEL Boyama ile belirlenen ortalama apoptotik oran grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum 74

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. İşlenmemiş keten tohumuna ait görsel	4
Resim 2.2. Keten tohumunun işlenmesinden sonra elde edilen yağ.....	8
Resim 2.3. 15 haftalık bir fetüsün göz kesiti	12
Resim 2.4. Optik sapın nervus opticus'a dönüşmesi. a) Altıncı hafta (9 mm), b) Yedinci hafta (15 mm), c) Dokuzuncu hafta.....	14
Resim 2.5. Retina nöronlarının oluşturduğu epitel tabakalar	15
Resim 2.6. Sağ gözün üstten görüntüsü (gözün histolojik yapısı, retina, fovea ve siliyer cisim görülmektedir)	18
Resim 2.7. Retina bileşenleri gösteren kesit.....	19
Resim 2.8. Kafatası iskeleti ve orbitanın genel görünümü.....	20
Resim 2.9. Bulbus oculi ve tabakaları	21
Resim 2.10. Göz küresinin forantal düzlemde kesiti	22
Resim 2.11. İris ve iris'e ait anatomik yapılar.....	26
Resim 2.12. Lens ve lens'e ait anatomik yapılar	28
Resim 2.13. Kataraktlı bir hastanın gözüne ait resim.....	31
Resim 2.14. Cıvciv mebriyosunun yumurta içerisindeki günlük gelişimi ve yumurtadan çıkımı	36
Resim 2.15. Hamburger Hamilton cıvciv embriyo gelişim sınıflandırmasına göre Evre 4-10 arası embriyoların gelişim aşamaları.....	44
Resim 2.16. Hamburger Hamilton cıvciv embriyo gelişim sınıflandırmasına göre Evre 29-35 arası embriyoların gelişim aşamaları.....	45
Resim 2.17. Hamburger Hamilton cıvciv embriyo gelişim sınıflandırmasına göre Evre 40-43 arası embriyoların gelişim aşamaları.....	46
Resim 3.1. a) Çalışmada kullanılan inkübatör, b) 0 günlük fertil SPF (specific patogen free) yumurtalar	50
Resim 3.2. a) Çalışmada kullanılan inkübatör, b) Çalışmada kullanılan diseksiyon materyalleri	50
Resim 3.3. İnkübasyonun 15. gününde cıvciv embriyolarına HC ve KTY enjeksiyonunun yapılması. a) Işık altında yumurtanın hava kesesinin bulunması, b) Hava kesesine denk gelen üst noktanın işaretlenmesi, c) İşaretlenen noktadan pencere açılması, d) HC enjeksiyonu sonrası yumurtaya KTY enjeksiyonu.	53

Resim 3.4. Embriyoların yumurtalardan çıkarılması ve bulbus oculi disseksiyonu. a) Yumurta kabuğunun kırılması, b) Embriyoya zarar vermeden zarın açılması, c) 17 günlük embriyonun kafatasının diseke edilmesi, d) Bulbus oculi'nin orbitadan ayrılma işlemi, e) Bir gözün tamamen diseke edilmesi, f) Bulbus oculi'leri çıkarılmış embriyo, g) Lensin ayrılma işlemi h) Bulbus oculi'den ayrılmış lens.	55
Resim 3.5. Biyokimyasal analiz için örneklerin hazırlanmasında kullanılan homojenizatör (a) ve sonikatör (b).....	56
Resim 4.1. Gruplara ait katarakt derecelerine ait görseller. a) Kontrol grubu, b) HC grubu, c) Düşük doz KTY grubu, d) Orta doz KTY grubu, e) Yüksek doz KTY grubu	63
Resim 4.2. Tüm gruplara ait lens TUNEL boyamaları. Okla gösterilen yerler lenslerde apoptotik-pozitif boyanan hücreleri göstermektedir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum.	75

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Lens gözde iris ile corpus vitreum arasında bulunan şeffaf, avasküler ve bikonveks bir organdır. Katarakt, lensin şeffaflığının azalması ve bunun sonucunda opaklığın artmasıyla karakterize bir görme problemidir (Song ve ark. 2014). Dünyadaki en yaygın görme bozukluğu ve körlük nedenlerinden biridir. Tedavisi noktasında cerrahi tercih edilse de alternatif tedavi yöntemleri açısından çalışmalar devam etmektedir (Gözüm, 2012).

Kortikosteroidler pek çok sistemik hastalığın tedavisinde kullanılan bir ilaç grubudur. Ancak yan etkileri sık görülmektedir. Kortikosteroidlere bağlı oküler yan etkiler arasında glokom, katarakt, herpetik keratit, alevlenme, oküler yara iyileşmesinde gecikme, santral seröz koryo retinopati gibi klinik tablolar ortaya çıkabilmektedir (François, 1984; Garbe, 1997)

Antioksidanlar oksidatif bozulmaya sebep olmalarına rağmen, vücutta oksidatif stresin aracılık ettiği patolojik süreçlere karşı koruyucu rolleri olan önemli ajanlardır (Gulcin, 2020). Antioksidanların katarakt gelişimi üzerindeki olumlu etkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Duman ve ark. 2019; Vurmaz ve ark. 2019, 2020).

Steroide bağlı katarakt oluşumu, civciv embriyolarında oluşturulması kolay olan yararlı bir deneysel modeldir. Bununla birlikte antioksidan aktiviteye sahip ilaçların araştırılması için faydalıdır (Lee, Iwatsuru ve Nishigori, 1995; Ishikawa ve ark. 2015; Duman ve ark. 2018; Vurmaz ve ark. 2019)

Antioksidan etkileri ile bilinen keten tohumu önemli bir yağlı tohum ve lif bitkisidir. Keten tohumu yağı yenilebilirdir ve bitki kaynaklı gıdalarda yaygın olarak dağılan ve antioksidatif özelliklere sahip olduğuna inanılan fitoöstrojenik lignanların önemli bir kaynağıdır. Keten tohumu ayrıca iyi bir alfa-linolenik asit (ALA) ve linoleik asit kaynağıdır (Bhatia ve ark. 2007).

Bu literatür bilgileri noktasında çalışmamızda civciv embriyolarında deneysel katarakt modeli oluşturularak keten tohumu yağının farklı doz uygulanan gruplarda antioksidan aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİ

2.1. Keten Tohumu

2.1.1. Keten Tarihçesi

Keten tohumu, uygarlığın başlangıcından beri yetiştirilen en eski mahsullerden birisidir. Keten ilk olarak milattan önce altı binli yıllarda yetiştirilmiştir. Keten tohumunun Latince adı “çok kullanışlı” anlamına gelen Linum usitatissimum'dur. Keten ağırlıklı olarak Kanada, Arjantin, Amerika, Çin ve Hindistan'da yetiştirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk zamanlarda giyim sektöründe elyaf üretmek amacıyla kullanılmıştır (Wang ve ark. 2007). Yenilebilir, yağlı bir tohum ve tahıl olup en eski ekilebilir ürünlerden biri olan keten tohumu, yakın zamanda fonksiyonel bir gıda maddesi olarak kabul edilmiştir (Pan ve ark. 2009). Keten tohumu bitkisinin her bir parçası, doğrudan veya işlendikten sonra ticari olarak kullanılmaktadır. Sap kısmı yüksek mukavemet ve dayanıklılığa sahip kaliteli lifler verir. Keten 1990'lı yıllara kadar esas olarak keten bezi ve kâğıt üretiminde kullanılırken, keten tohumu yağı ve alt ürünleri hayvan yemi formülasyonunda kullanılmaktadır. Son yirmi yılda keten tohumu, biyolojik olarak aktif bileşenlerinden bazılarıyla ilişkili potansiyel sağlık yararları nedeniyle diyet ve hastalık araştırmaları alanında artan ilginin odağı olmuştur (Singh ve ark. 2011).

2.1.2. Keten Tohumunun Özellikleri

Linaceae familyasına ait olan keten tohumu yaklaşık %52 oranında omega-3 (ω -3) yağ asidi içeren zengin bir ALA kaynağıdır (Sharav ve ark. 2014). Kütlesinin %51-55'i ALA, %32-45'i yağ ve %15-18'i linoleik asittir (Prasad, 2009). Keten tohumu, kuzey iklimlerindeki soğuğa adapte olmuş yağlı bir tohumdur. Uygun olmayan işleme ve saklama sonucunda keten tohumu yağının oksidasyonu, besin değerini düşürür ve istenmeyen tatların gelişmesine neden olur. Belirgin kararsız yağ içeriğine rağmen, keten tohumu depolamadaki yemeği koruyan antioksidanlar üretir. Keten tohumu; lignanlar, fenolik asitler, antosiyanin pigmentleri, flavonoller, flavonlar ve fitik gibi bilinen birkaç biyoaktif bileşik içermekte olup bunların tümü tohumun

antioksidan kapasitesine katkıda bulunmaktadır. Keten tohumu yağındaki bu antioksidanların konsantrasyonu, ekstraksiyon prosedürüne ve yağın işlenmesine bağlıdır. Ayrıca rafine etme, yağın raf ömrü üzerinde etkisi olan küçük bileşikler de azaltabilir. Rafine edilmemiş yağ, rafine keten tohumu yağına göre daha yüksek besin değerine ve daha uzun raf ömrüne sahiptir (Sharav ve ark. 2014).

Keten tohumu, sekoizolarisinol diglukozit (SDG) adı verilen lignanın en zengin kaynağıdır (Resim 2.1). Yağ içermeyen keten küspesi, keten tohumu kütlesinin yaklaşık %55-68'idir ve yaklaşık 16.4 mg/g SDG içerir. Keten tohumundaki SDG seviyesi 0.6-1.8 g/100 g arasında değişmektedir (Prasad, 2009).



Resim 2.1. İşlenmemiş keten tohumuna ait görsel (Mantri ve ark., 2012)

Keten tohumu, organizmada yararlı bir rol oynayan diyet lifleri, bitki proteinleri, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve lignanlar gibi biyolojik olarak aktif bileşenler içerdiğinden araştırmacıların artan ilgisini çeken fonksiyonel bir besindir ve hastalıkların önlenmesini sağlar. ALA metabolizmasından oluşan eikosapentaenoik asit ve dokosaheksaenoik asit (DHA); ateroskleroz, kardiyovasküler hastalık (CVD), kanser ve hiperlipidemi gibi kronik hastalık riskini azaltmaktadır. Ek olarak, keten tohumu lignanlar ve insan beslenmesinde yaygın

olarak tüketilen fitoöstrojenler açısından zengin olup yapısında SDG bulundurur. Bağırsak ve kolondaki metabolizmasından sonra SDG, sağlığa yararlı etkileri olan sekoizolarisinol, enterodiol (END) ve enterolakton (ENL) moleküllerine ayrılır. Ayrıca keten tohumu özellikle Multipl Skleroz (MS) hastalığı başta olmak üzere bir çok hastalıkta oksidatif hasarı azaltmaktadır (Pilar ve ark., 2017).

Keten tohumu içeriğinde yer alan proteinler, diyet lifleri ve fitoöstrojenler tüketiciler için besleyicidir ve farmasötik etkiler sağlar. Keten tohumundan yağ elde etmenin farklı yöntemleri vardır. Ekstraksiyon türü, yağlı tohumlardan çıkarılan yağın miktarı ve kalitesinin önemli bir göstergesidir. Soğuk sıkım (CP) ekstraksiyonundan elde edilen keten tohumu yağı, vücudun biyolojik süreçlerinde etkili bir şekilde işlev görebilen bir bileşendir. CP ekstraksiyonu ile elde edilen yağın rafine edilmesi gerekmez ve bu nedenle arıtma işleminin keten tohumu yağı kalitesi üzerindeki olumsuz etkileri göz ardı edilir. Bununla birlikte, bu ekstraksiyon tekniğinin yağ ekstraksiyon verimi düşüktür ve çalışması için daha fazla enerjiye ihtiyaç duyar. Bunun yerine, solvent ekstraksiyonu (SE) tercih edilmektedir. SE ekonomik bir yöntem olup daha yüksek ekstraksiyon verimi sağlar. Ancak ekstraksiyona ihtiyaç duyan yağın rafine edilmesi gerekir. Ultrason destekli ekstraksiyon (UAE), ω -3 yağ asitleri ile karakterize edilen yağlar gibi ısıya duyarlı maddelerin ekstraksiyonu için çok etkili bir tekniktir. UAE'nin geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla ekstraksiyon verimini artırdığı bilinmektedir. Bu süreçte, bir akustik kavitasyon, bitki hücre duvarlarında ve depolama boşluklarının zarlarında yırtılmalara neden olur. Bu yırtılma, çözücülerin tohumlara nüfuz etmesini kolaylaştırır ve böylece yağ salım oranını artırır. Bu tür mekanizmalar, daha düşük sıcaklıklarda ekstraksiyon verimliliğini optimize eder. Nem içeriği, yağlı tohumlardan farklı yöntemlerle yağ çıkarılmasında önemli bir role sahiptir. Keten tohumunun hasat edildikten sonra bozulmaması için ihtiyaç duyduğu nem oranı %12-13'tür. Kurutulması için gerekli olan nem oranı ise %8'in altındaki değerlerdir. Geleneksel kurutma, örneğin havada kurutma, keten tohumu bileşiklerinin genellikle oksidasyona ve bozulmaya duyarlı olan fonksiyonel maddelerinin bir kısmını azaltarak kalitesini düşürebilen zaman alıcı bir süreçtir. Emzikli yataklı kurutucu, işlenmiş ürünün önemli bileşenlerinin daha az değiştiği etkili bir kurutma koşulu sağlar (Dehghan-Manshadi ve ark. 2020).

Keten sapı, keten lifini üretmek için kullanılabildiği gibi keten tohumu da yağ ve yem hazırlığı için kullanılmaktadır. Bu nedenle keten, lif bakımından zengin, yağlı ve sadece yağ bakımından zengin olarak 3 grupta sınıflandırılabilir. Keten tohumu yaklaşık %40 yağ, %30 diyet lifi, %20 protein, %4 kül ve %6 nem içerir. Bununla birlikte yapısında aktif bileşenlerin lignanları, mineralleri ve vitaminlerini de barındırmaktadır. Bu nedenle, keten tohumu insan tüketimi için en popüler yağlı tohumlardan biridir (Ren ve ark. 2015).

Keten tohumu ve bileşenleri lipid profilini iyileştirebilmekte, kan basıncını düşürebilmekte, vasküler kasılma fonksiyonunu onarabilmekte ve aterosklerozu önleyerek kardiyovasküler sağlığı geliştirmektedir (Lucas ve ark. 2011). Keten tohumu, bitkisel kaynaklar arasında ω -3 yağ asitlerinin en zengin diyet kaynağı olması sebebiyle yemeklik yağ için yaygın olarak kullanılmaktadır ve sağlığa faydaları nedeniyle ilgi gören bir seçim haline gelmiştir. Emzirme döneminde annenin keten tohumu yağı takviyesi alması, yavruların yetişkinlikteki lipid profiline olumlu katkı sağlamaktadır (Vicente ve ark. 2015).

Keten tohumu yağı, %50 PUFA'dan oluşur ve ALA'nın en zengin vejetaryen kaynaklarından biridir. Giderek artan sayıda kanıt, keten tohumunun sağlıklı kolesterol seviyelerini korumak için yararlı bir besin takviyesi olduğunu desteklemektedir. Diyete dahil edildiğinde sağlıklı gönüllülerde yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL-C)'de değişiklik olmaksızın hem toplam kolesterol hem de düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir (Kaul ve ark. 2008).

2.1.3. Keten Tohumunun Endüstriyel Kullanım Alanı

Öğütülmüş keten tohumu Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kümes hayvanı üreticileri tarafından ticari sofralık yumurta ve et ürünlerini zenginleştirmek için kullanılır. Keten tohumu, üç kat daha az omega-6 linolenik asit içeriği ile soya fasulyesi ve mısır yağına kıyasla yedi kat daha fazla ALA içerir. Bu özellikleri sayesinde kanatlı formülasyonunda ALA takviyesi olarak kullanılmasına katkıda bulunur. Keten tohumu ürünleri, yüksek konsantrasyon ve biyoyararlanım nedeniyle ALA'yı kanatlı etine ve yumurtalarına etkili bir şekilde iletir (Ehr ve ark., 2017).

Birçok gıda ürünü, ω -3 olan ALA ve lignan olan SDG açısından zengin keten tohumunu içermektedir (Weiler ve ark. 2007). Keten tohumu yüksek doymamış yağ asidi içeriği sayesinde kurutucu yağ olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca oksidasyona karşı yüksek duyarlılık göstermesi nedeniyle yağ uygulaması gıda endüstrisinde sınırlıdır (Mohseni ve Goli, 2019). Keten tohumu yağı ise boyalar, kaplamalar, cilalar, mürekkepler, kozmetikler ve linolyum gibi endüstriyel amaçlar için kullanılmaktadır (Ren ve ark. 2015). Son olarak, tıp alanında artan keten tohumu kullanımı keten endüstrisini ve tarım ekonomisini canlandırabilir. Yeni gıda işleme seçeneklerine ihtiyaç duyulacak, keten için daha fazla alan ayrılacak ve emtia için artması beklenen fiyatın tümü, keten endüstrisini canlandıracak ve çiftçinin ekonomik durumunu ürünün pazara ulaşma süreci için iyileştirecektir (Parikh ve Pierce, 2019).

2.1.4. Keten Tohumu Yağı Özellikleri

Keten tohumu yağı (KTY), çoklu doymamış yağ asitleri içerir ve vücut tarafından eikoza pentaenoik asit (EPA) ve DHA'ya dönüştürülen uzun zincirli bir ω -3 yağ asidi olan zengin bir ALA içeren bir bitkisel kaynaktır (Nasrabadi ve ark. 2019), (Resim 2.2). Bu yağ asitleri, peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptörler (PPAR'ler), özellikle hücre metabolizmasının düzenleyicileri olan peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör alfa (PPAR-a) için iyi bilinen bir ligandlardır (Bashir ve ark., 2019). Son zamanlarda, bazı veganlar arasında keten tohumu yağı ve keten tohumu, ALA'nın ana kaynaklarından biri olarak seçilmektedir (Guarda ve ark. 2016). Keten tohumu yağı, insanlarda ve hayvanlarda ALA'nın EPA'ya dönüştürülebilmesi nedeniyle potansiyel bir antienflamatuar ajan olarak ilgi uyandırmıştır (Cohen ve ark., 2005).

Keten tohumu yağı, sekiz veya dokuz amino asit kalıntısından oluşan ve siklinopeptitler olarak bilinen siklik hidrofobik peptitler içerir. Keten tohumu yağından türetilen siklinopeptidlerin, immünosupresif ve anti kanserojen etkileri vardır. Keten tohumu yağı bileşiklerinin hidrofobik olması ve tohum işleme sürecinden sonra yağda çözünmesi nedeniyle mükemmel bir siklinopeptid kaynağıdır. Keten tohumu yağı, gıda ürünü olarak kullanımını sınırlayan acı bir tada sahiptir. Keten tohumu yağının gıda maddesi olarak kullanılması üzerinde peptidlerin

olumsuz etkisinin bulunmaktadır. Ayrıca peptidler keten tohumu yağının kurutma yağı olarak kullanılmasında da olumsuz bir etkiye sahiptir (Gui ve ark., 2012). Keten tohumu yağı; insan, boğa, tavşan, Japon bıldırcını, kaz ve keçide üreme performansının iyileştirilmesi için diyetlerdeki etkinliği değerlendirilen önemli bir besin kaynağıdır (Zanussi ve ark. 2019).



Resim 2.2. Keten tohumunun işlenmesinden sonra elde edilen yağ (Mantri ve ark., 2012)

2.1.5. Alfa Linolenik Asit (ALA) Özellikleri

Keten tohumu gibi bitkisel yağlarda bulunan ALA ve ω -3 çoklu doymamış yağ asidi insanlar için temel bir yağ asididir (Yang ve ark. 2012). Keten tohumu yağı, iltihaplanma, kalp ve beyin sağlığı dahil olmak üzere her türlü bedensel işlevde hayati role sahip olan ALA formundaki ω -3 PUFA bakımından zengindir. Bununla birlikte, ω -3 çoklu doymamış yağ asidi olan ALA'nın oksidatif duyarlılığı, yeterli tokoferollerin yokluğuyla birlikte, keten tohumu yağını oksidasyona daha da duyarlı hale getirmektedir (Abbasi ve ark. 2019). ALA takviyesi, kardiyovasküler riskin

azaldığını göstermiştir (Harper ve ark., 2006). Keten tohumu yağı, büyüme ve vücut gelişimi aşamasında önemli olan bir ALA kaynağıdır; ayrıca bu asit yağ dokusu ve kemik sağlığına da etki eder (Pereira ve ark. 2016).

2.1.6. Keten Tohumu Yağının Hastalıklara Karşı Etkileri

Keten tohumu yağı tüketimi; CVD, obezite insidansı ve kanser gibi çeşitli hastalıkların önlenmesi ile ilişkilidir (Nasrabadi ve ark. 2019). İnsan bağırsağında ALA, yaşam tarzı hastalıkları riskini azaltabilen eikosa-pentaenoik asit ve DHA oluşturmak için metabolize edilir. Ayrıca keten tohumu yağının hiperlipidemi, meme kanseri, ateroskleroz ve CVD gibi birçok hastalığın riskini azaltıcı olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir (Ren ve ark. 2015).

Diyetteki ω -3 PUFA, CVD'ye karşı koruyucu etkilere sahiptir. Grönland Eskimoları ve Japonlar, deniz ürünlerinden yüksek bir diyetle uzun zincirli ω -3 PUFA alımına ve buna bağlı düşük bir CVD insidansına sahiptir. ω -3 PUFA diyetleri ile yapılan deney hayvanları çalışmalarında serebral ve miyokard enfarktüsünün sekellerinin azaltıcı etkisi gösterilmiştir. Ek olarak, ω -3 PUFA takviyesi kırmızı kan hücresi membranlarının α -tokoferol, γ -tokoferol içeriğini ve membran akışkanlığını artırdığı bildirilmiştir (Yang ve ark. 2012).

Keten tohumu tüketimi serum trigliserit, total kolesterol ve LDL-C'yi azaltmaktadır. Hemodiyaliz hastalarında HDL-C'yi artırıcı özellik göstermektedir (Mirfatahi ve ark. 2018). Yapılan bir çalışmaya göre keten tohumu yağının hipotansif etkisi, serum HDL-C ve HDL3-C'de bir artışla ilişkilendirilmiştir. Aynı çalışmada keten tohumu yağı desteğinin klinik etkilerinin, orta derecede artmış kardiyovasküler riski olan hastalara oldukça fayda sağladığı bildirilmiştir (Skoczyńska ve ark. 2018).

Keten tohumu yağı, yanık kaynaklı inflamasyon üzerinde antienflamatuvar etkileri de sahiptir. Genel olarak, ω -3 yağ asitlerinin yara iyileşmesinde ve bağışıklık fonksiyonunun iyileştirilmesinde faydalı olduğu bulunmuştur (Babajafari ve ark. 2018). ω -3 çoklu doymamış yağ asitleri açısından zenginleştirilmiş keten tohumu yağı, bağırsak gelişimi ve sağlığı için önemli bir yağ kaynağıdır. Keten tohumu yağı destekli diyetle beslenme, bağırsak mikrobiyomu ve mukozal yağ asidi profili ile

ilişkili olarak bağırsak fonksiyonunu ve bağışıklığını iyileştirebilmektedir (Che ve ark. 2019). Keten tohumu yağı tüketiminin alkolik olmayan bireylerde yağlı karaciğer hastalığını, insülin direncini, tip-2 diyabeti ve nörodejeneratif hastalıkları önlediği bildirilmiştir (Cheng ve ark. 2019). Keten tohumu yağının diyabetik hastalarda ve diyabeti olmayanlarda metabolik profillerde, inflamasyonun biyobelirteçleri ve oksidatif stres üzerinde yararlı etkileri vardır (Hashemzadeh ve ark. 2017). Keten tohumu yağından elde edilen ω -3 yağ asitlerinin insülin direnci, iltihaplanma ve oksidatif stres üzerinde yararlı etkileri bulunmaktadır (Mirmasoumi ve ark. 2018). Diyabetik annelerin hamilelik ve emzirme döneminde keten tohumu yağı alması yavruların yetişkinlikte aort intima-media tabakası kalınlığını artırması ve erkek yavrularda aort elastik lif birikimini koruması açısından önem arz etmektedir (Vicente ve ark. 2015).

Gebelik ve emzirme döneminde anneleri diyet keten tohumu tüketen yavrular, doğumda daha düşük vücut ağırlığı sergilemiştir (Tou ve ark., 1998). Emzirme döneminde daha fazla keten tohumu yağı alımı annelerin vücut ağırlığını azaltabilmekte ve süt bileşimini değiştirmektedir (Guarda ve ark. 2014). Hamilelik, emzirme veya ergenlik gibi kritik gelişim dönemlerinde fazla miktarda keten tohumu tüketildiğinde, keten tohumunun lignan SDG içeriği nedeniyle hormonal ve metabolik bozukluklar ortaya çıkmaktadır (Guarda ve ark., 2016).

Hiper kolesterolemi ile ilişkili böbrek yaralanmalarını iyileştirmede keten tohumu yağının koruyucu etkileri bulunmaktadır (Akpolat ve ark. 2011). Keten tohumu yağı, genetik bir nörolojik hastalık olan Huntington hastalığı (HD) hastalarında renal aneminin tedavisinde eritropoietin etkinliğini iyileştirmek için bir adjuvan tedavi olarak kullanılmaktadır (Tabibi ve ark., 2017).

2.1.7. Keten Tohumu Yağının Antioksidan Etkisi

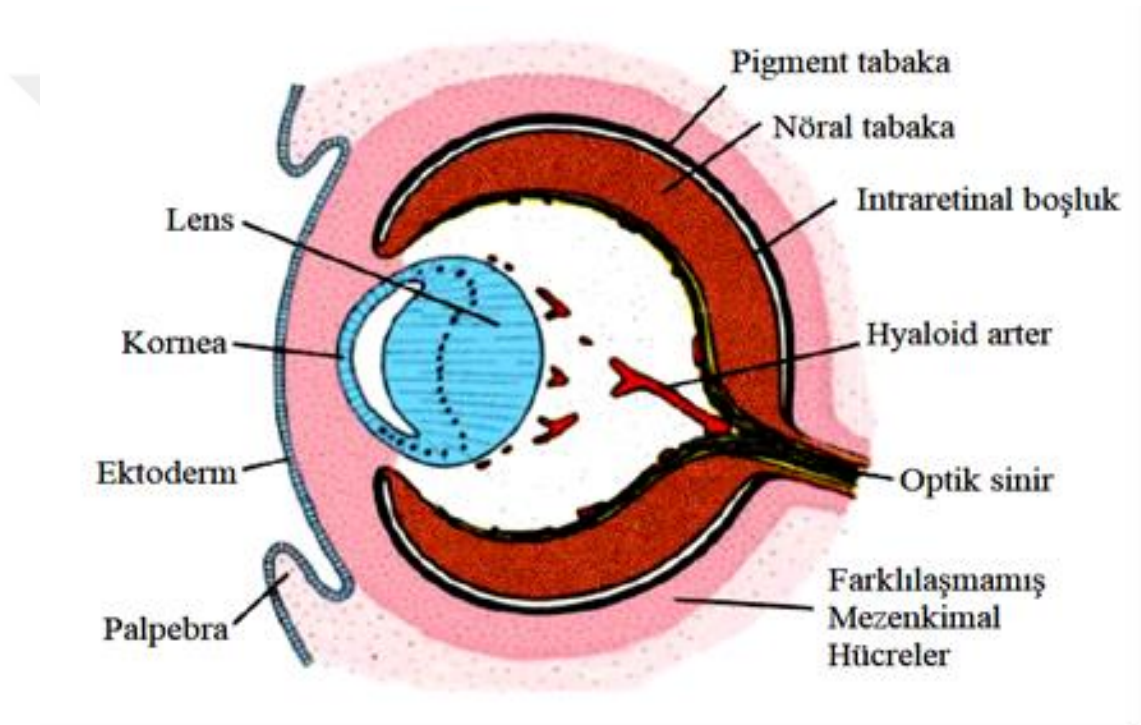
Keten tohumu yağının antioksidan aktivitesi, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün oksidasyonunu azaltır (Akrami ve ark. 2018). Bir antioksidan olarak keten tohumu yağı, reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyerek diyabetik sıçanlara kıyasla diyabet olup tedavi edilen sıçanlarda kan glikoz seviyesinde önemli bir düşüşe ve insülin seviyesinde bir artışa neden olmaktadır. Keten tohumu çok amaçlı

bir üründür ve tüketimi insan sağlığına faydalıdır. Keten tohumunun besleyici bileşenleri yağ, proteinler, lignanlar, lifler ve vitaminlerdir. Ek olarak, keten tohumu içeren diyet takviyesi, diyabetik sıçanlarda gözlenen antioksidan enzim aktivitelerini iyileştirmekte ve malondialdehit (MDA) düzeylerini önemli ölçüde düşürmektedir (Badawy ve ark. 2015).

Keten tohumu önemli bir yağlı tohum ve lif bitkisidir. Keten tohumu yağı yenilebilirdir ve bitki kaynaklı gıdalarda yaygın olarak dağılan ve antioksidatif özelliklere sahip olduğuna inanılan fitoöstrojenik lignanların önemli bir kaynağıdır. Keten tohumundaki lignan SDG seviyeleri 0.6 ile 1.8 g/100 g arasında değişir. Bazı lignanlar, trombosit aktive edici faktör reseptör antagonistleridir ve antioksidan aktiviteye sahiptir (Bhatia ve ark. 2007). Keten tohumu, değerli yağı bulundurmasının yanı sıra, antioksidan potansiyeli yüksek maddeler olan fenolik bileşikler de içerir (Bilska ve ark. 2018). Keten tohumunun antioksidan aktivitesi ve serum HDL-C'yi yükseltmesi ile kan şekerini, serum toplam kolesterolünü, LDL-C'yi ve trigliseriti düşürme yeteneği gibi çeşitli fonksiyonel özellikleri bildirilmiştir (Prasad, 2008). Bitkisel lignan içeren ve keten tohumu yağında yüksek oranda bulunan SDG, kolon bakterileri tarafından enterodiol ve enterolaktona dönüştürülür. Diğer lignanlardan matairesinol, isolariciresinol ve pinoresinol keten tohumunda daha düşük seviyelerde bulunur. Bu bitki lignanları, yüksek seviyelerde serbest radikal temizleyici özellikleri nedeniyle dikkate değer antioksidan etkilere sahiptir. Oksidatif stres, oksidan bileşiklerin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması nedeniyle oluşur. Antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) oksidan/antioksidan dengesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar. Lipid peroksidasyonu sırasında çeşitli ürünler üretilir. Bu ürünlerin biyolojik sistemde tespiti, serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının ciddiyeti hakkında değerli bilgiler sağlamaktadır. Bu amaçla en sık kullanılan belirteçler malondialdehit ve nitrik oksittir (NO). Biyolojik sistemlerdeki antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişiklikler de oksidatif stres seviyesi hakkında fikir vermektedir. Ayrıca keten tohumu yağının analiz edilen parametrelere göre kadmiyum zehirlenmesinde terapötik ve koruyucu kullanımına ilişkin belirli sonuçlara varılmıştır (Karaca ve Eraslan, 2013).

2.2. Göz Embriyolojisi

Gözlerin embriyolojik gelişiminde ön beynin nöroektodermi, başın yüzey ektodermi ve bu kısımlar arasında bulunan mezoderm ile crista nöralis hücreleri rol oynamaktadır (Bryar ve ark. 2019). Retina, nervus opticus ve iris'in arka tabakası ön beyinde bulunan nöroektoderminden meydana gelir. Cornea ve lens, başın yüzey ektoderminden; göz küresinin vasküler ve fibröz tabakaları mezoderminden; choroid, sclera ve corneal endotel ise crista nöralis'ten oluşmaktadır (Moore ve Persaud, 2016), (Resim 2.3).



Resim 2.3. 15 haftalık bir fetüsün göz kesiti (Sadler, 1988)

İnsanda embriyolojik gelişiminin 22. gününde gözün oluşumu başlamaktadır. Göz çukurları, embriyonun kraniyal kısmındaki nöral kıvrımlarda belirgin hale gelir. Nöral kıvrımların birleşmesi, ön beynin meydana gelme sürecinde olmaktadır. Bu birleşimle eşgüdümlü olarak optik çukurlar içe bükülerek optik keseciklerin oluşumu başlar. Ön beyinde bulunan boşlukların devamında optik keseciklere ait boşluklar yerleşim göstermektedir. Ön beynin optik kesecikler ile olan bağlantıları

genişleyerek boş optik saplarını oluşturmaktadır. Takip eden aşamada optik kesecikler ve ektodermin temas etmesi sonucu yan yüzeylerdeki girintiler meydana gelir. Lensin ilk formu olarak bilinen lens plağı, optik keseciklere komşu olan ektodermin kalınlaşmasının sonucunda oluşmaktadır. Lens plaklarının her bir tanesi yüzey ektodermin diplerine doğru hareket ederek lens çukurunu meydana getirir. Yuvarlak lens kesesi lens çukurlarının kenarlarının birleşmesi ile oluşur ve ilerleyen evrede yüzey ektodermden uzaklaşır (Sadler, 1988; Moore ve Persaud, 2016).

Optik çukur olarak adlandırılan çift duvarlı yapılar lens keseciklerinin gelişimi esnasında optik kesecikler tarafından oluşturulur. İlk zamanlarda daha geniş boşluğa sahip olan optik çukurların kenarları ilerleyen süreçte bükülerek birbirlerine doğru yaklaşır. Bu safhada yüzey ektoderminden ayrılan lens kesecikleri optik çukurların boşluklarında konumlanır. Optik fissur ya da choroid olarak da adlandırılan çizgisel yarıklar, optik saplar boyunca ve optik çukurların ventral yüzünde görülmektedir (Bryar ve ark. 2019).

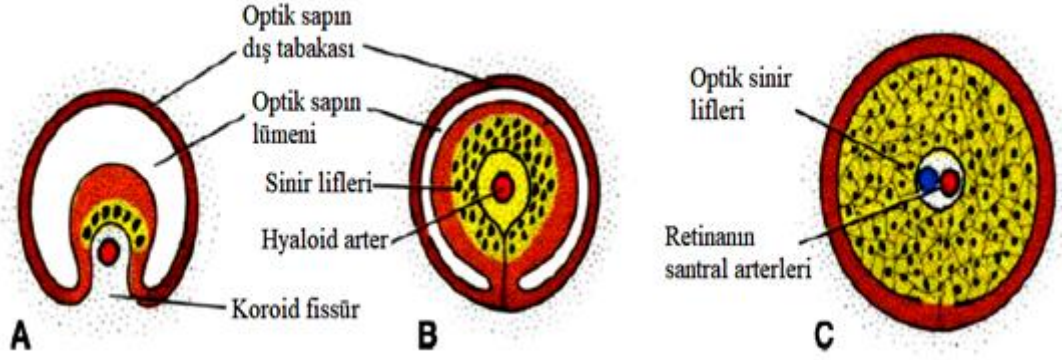
2.2.1. Retina Embriyolojisi

Ön beynin devamı olarak optik çukur duvarlarından gelişen retinanın nöral kısmı optik çukurun kalın katmanının, pigment epiteli ise optik çukurun ince katmanının farklılaşması ile meydana gelir (Bryar ve ark. 2019). Erken fetal dönemde bu iki katman, intraretinal boşluk sayesinde uzaklaşarak gerçek optik çukur boşluğunu oluşturmuş olur. Yine bu iki katmanın bir araya gelmesi optik çukurun kaybolmasını sağlar. Bir araya gelen katmanlar arasındaki bağın esnekliği sayesinde erişkin bir gözün diseke edilmesiyle pigment epiteli ve nöral retina kolaylıkla birbirinden ayrılabilir (Şeftalioğlu, 1998). Embriyonik gelişimin sekizinci ayında, retinadaki bütün katmanlar son formunu almış olarak gözlenir (Larsen, 1998).

2.2.2. Nervus Opticus Embriyolojisi

Embriyonik gelişimin altıncı haftasında, retina ganglion hücrelerinden çıkan sinir lifleri, optik sap boyunca uzayarak beyine ulaşırlar. Sekizinci haftada, içi boş olan optik sapın içi dolarak ikinci kranial sinir olarak da bilinen nervus opticus'a dönüşür (Resim 2.4). Her iki tarafın nervus opticus'u beyine girmeden önce

birleşerek chiasma opticum'u oluşturur. Geriye kalan nervus opticus gelişimi ve myelinizasyonunun tamamlanması doğum sonrasında olur (Larsen, 1998).



Resim 2.4. Optik sapın nervus opticus'a dönüşmesi. a) Altıncı hafta (9 mm), b) Yedinci hafta (15 mm), c) Dokuzuncu hafta (Sadler, 1988)

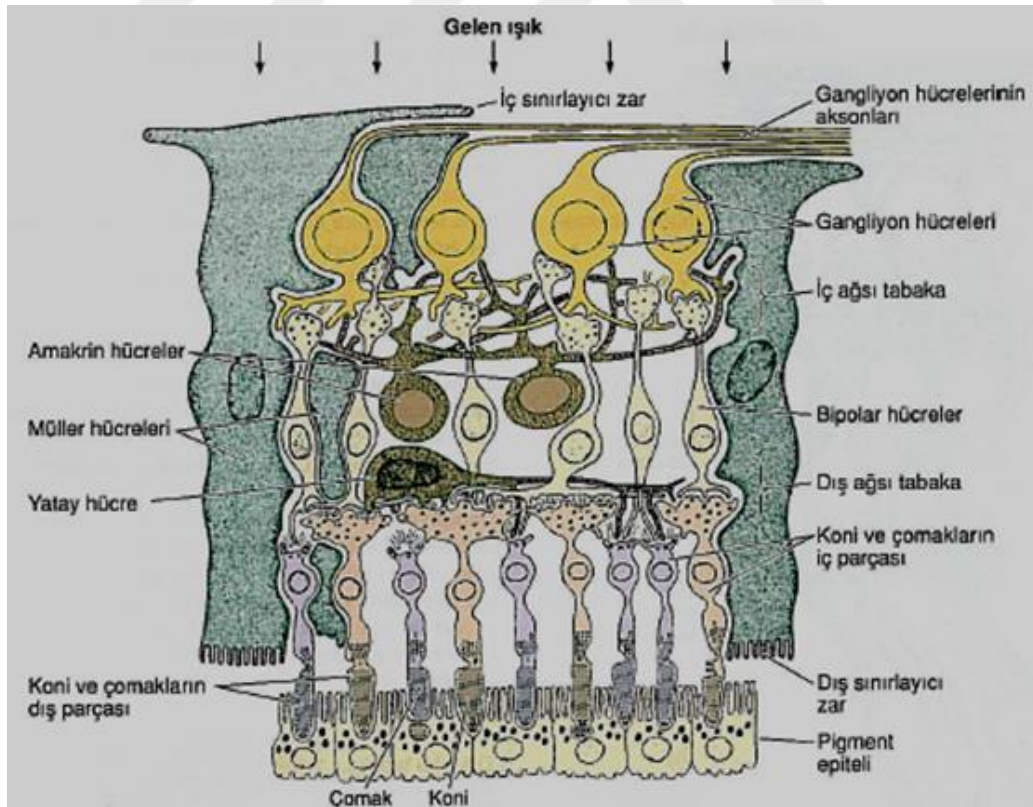
2.2.3. Lens Embriyolojisi

Gözler, gebeliğin üçüncü haftasının başında ön beynin her iki kenarında yüzeysel oluklar halinde belirginleşir. Optik çukurlar nöral tüpün ön kısmında bulunan çıkıntılardan oluşur. Nöral tüpün kapanmasıyla bu oluklar ön beyinden dışarıya taşmış olur. Bu şekilde optik veziküller meydana gelir. İlerleyen süreçte yüzey ektodermi ile optik vezikül arasında moleküler düzeyde bir etkileşim olur (Tasman ve Jaeger, 2001).

Yapısı esnek ve bikonveks olan lens yüzey ektoderminin bir türevi olan optik vezikülden gelişir (Bryar ve ark. 2019). Esnekliğini yaş ilerlemesine bağlı olarak kaybeden lens zamanla daha sert hale gelir. Gelişimin yedinci haftasında primer lens lifleri, sekizinci haftasında ise sekonder lens lifleri oluşur. Gelişimi devam eden lensin beslenmesinden hyaloid arter sorumludur. Optik çukurluk çevresindeki annüler damarlarla bağlantısı da olan a. hyaloidea fetal hayatın beşinci ayı sonrasında atrofiye uğrar (Şeftalioğlu, 1998).

2.3. Gözün Histolojisi

Göz ışığa duyarlı nesnelerden yansıyan renklerin analizini yapan fotosensitif bir organdır. Göz, yaklaşık olarak 25 mm çapındadır. Kemik orbital soket içinde gözün hareketlerini kontrol eden altı dış kas tarafından asılı tutulmaktadır. Göz orbita içinde kendisini kısmen çevreleyen ve bir yastık görevi gören kalın bir adipoz doku tabakası içerisinde hareket eder. Ekstraoküler (göz dışı) kaslar, gözlerin kendi merkezi eksenlerinin çevresinde simetrik olarak hareket etmelerini sağlamak üzere koordine edilirler. Korneoskleral örtü, dış ya da fibröz tabakadır ve beyaz kısım olan skleradan ve şeffaf kısım olan korneadan oluşmaktadır. Vasküler örtü (orta tabaka ya da uvea) koroidi ve siliyer cismin ve iris stromasını içerir. Retina (iç tabaka) dış pigment epitelini, iç nöral retinayı ve siliyer cisim ile iris epitelini içerir (Resim 2.5). Nöral retina optik sinir aracılığıyla merkezi sinir sistemi ile devamlılık göstermektedir (Junqueira ve Carneiro, 2006).



Resim 2.5. Retina nöronlarının oluşturduğu epitel tabakalar (Junqueira ve Carneiro, 2006)

2.3.1. Lens Histolojisi

2.3.1.1. Lens Epiteli

Lens epiteli tek sıra olarak ön kapsül altında ekvatorun bulunduğu yere kadar konumlanır. Ön kapsüle sağlam şekilde yapışmış bazal yüzleri vardır. Ayrıca oluşumunu yeni tamamlamış uzayan lif hücreleri ile ön yüzleri komşudur.

Lens epitel hücresinin iskeleti ara filamanlar (vimentin), mikrotübüller (tubulin) ve mikroflamanlar (aktin) olmak üzere 3 ana öğeden oluşur. Vimentin daha çok mezenkimal kökenli hücrelerde bulunur. Ancak lens lifi hücrelerinde ara filaman görevi yapmaktadır. α -tubulin ve β -tubulin içeren mikrotübüller epitel hücrelerinde az miktarda bulunur. Kortikal liflerde ise miktarları artar. Ancak nükleusta bulunan lif hücrelerine geçişte miktarı azalır. Mikrotübüller diğer hücre iskeleti proteinleri ile birlikte lens lifi hücrelerinin gelişmesi esnasında uzaması ve şeklini almasında görev yapmaktadır. Bu proteinlerden aktin filamanları hücre membranlarına yakın bulunur. Aktin tutunma fonksiyonlarına katkıda bulunur (Junqueira ve Carneiro, 2006).

Lens epitel hücresinin görevleri, genel olarak, hücre bölünmesi esnasında kromozomların hareketini gerçekleştirmek, hücrenin yapısını korumak ve mekanik stresin dağılımını dengede tutmaktır.

Fonksiyonel açıdan ekvatordaki ve merkezdeki epitel hücreleri birbirinden ayıran özellikler mevcuttur. Ekvatordaki epitel hücreleri lens fibrillerine dönüşebilir bölünebilirken merkezdeki epitel hücrelerinde bölünme gözlenmez (Bhat, 2001).

2.3.1.2. Lens Kapsülü

Lens epitelyum hücrelerinin dış yüzeyini örten kalın (10-20 μ m) homojen refraktif (ışığı kıran) karbonhidrattan zengin bir kapsül ile çevrilidir. Bu oldukça kalın bir bazal membrandır ve başlıca tip IV kollajen ile amorf glikoproteinden ibarettir (Krag ve Andreassen, 2003; Junqueira ve Carneiro, 2006)

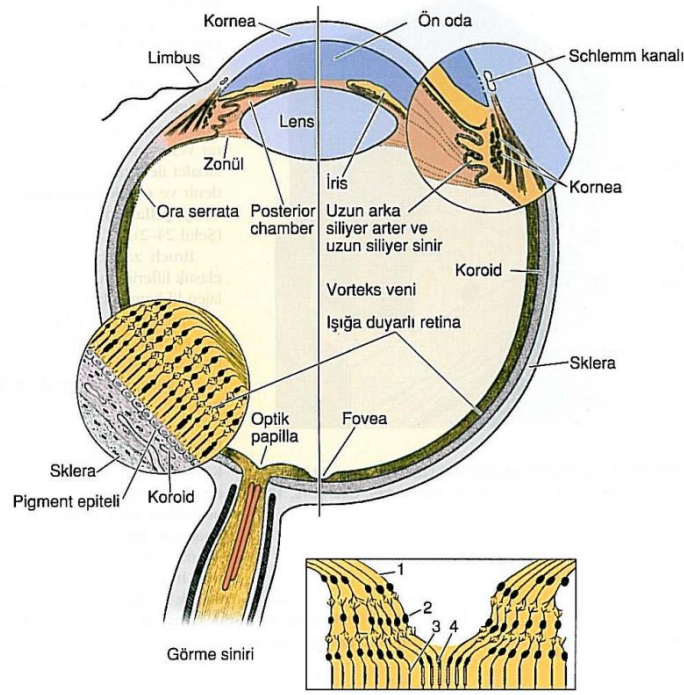
2.3.1.3. Lens Lifleri

Lens lifleri uzun, yassı ve ince yapıya sahip olup subkapsüller epitelyum hücrelerinden köken alan ileri derecede farklılaşmış hücrelerdir. Bu lifler zamanla çekirdeklerini ve organellerini kaybeder. Aşırı derecede uzayarak 7-10 mikrometre uzunluk 8-10 mikrometre genişlik ve 2 mikrometre kalınlığa erişirler. Her ne kadar lens liflerinin üretimi ömür boyu sürse de üretim hızı zaman geçtikçe azalır.

Yaş ilerledikçe lens esnekliğini yitirir ve yakın nesnelere uyum zorlaşır. Bu normal bir yaşlılık sürecidir (presbiyopi) ve dış bükümlü (konveks) mercekli gözlük takılarak düzeltilir. Yaşlılarda lens liflerinde kahverengi bir pigment birikir ve lensin saydamlığı azalır. Lens iyice opaklaşırsa bu olaya katarakt adı verilir. Katarakt ayrıca morötesi (ultraviyole) ışınlarla maruz kalanlarda da görülür. Diabetes mellitusta ise yüksek glukoz seviyelerinin katarakta neden olduğu düşünülmektedir (Özçetin, 2003; Junqueira ve Carneiro, 2006)

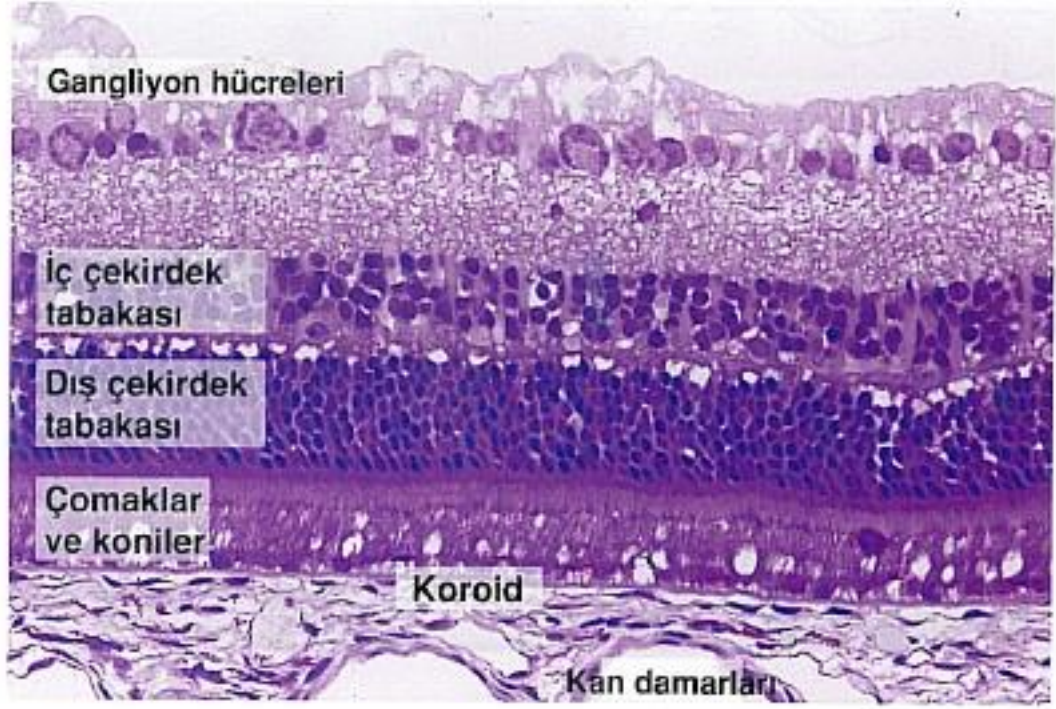
2.3.2. Retina ve Nervus Opticus Histolojisi

Olgun retina, gözün arka segmentinde yer alan ve ışık uyaranlarını ileten merkezi sinir sisteminin çok katmanlı bir duyuşal yapısıdır (Resim 2.6). Vitreusa en yakın olan, altında optik sinirleri oluşturan retina ganglion hücrelerinin (RGC) aksonlarını içeren sinir lifi tabakası (NFL) bulunan iç sınırlayıcı membrandır. Sinir göz küresinden çıktığında miyelinleşir ve histolojik bölümde değerlendirilebilecek meninksler (dura, araknoid ve piamater) ile kaplanır.



Resim 2.6. Sağ gözün üstten görüntüsü (gözün histolojik yapısı, retina, fovea ve siliyer cisim görülmektedir) (Junqueira ve Carneiro, 2006)

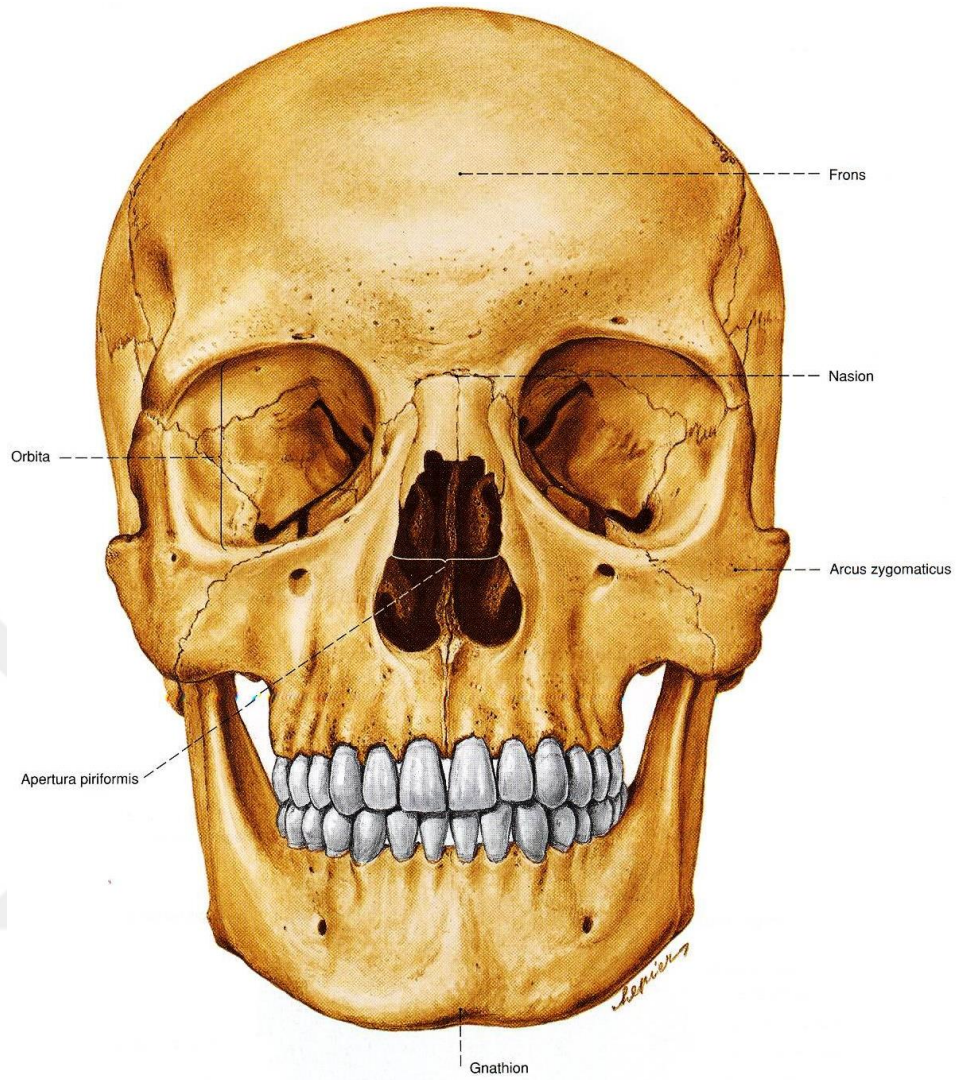
Nervus opticus'un çapı, sklera boyunca ilerledikçe iki katına çıkar ve miyelinleşir. Dıştan dura ve araknoid ile kaplıdır. Optik sinir içinde pialseptalar görülür. RGC aksonları, skleranın ağ benzeri lamina cribrosa'sından geçer. Bir sonraki retina tabakası, RGC'lerin hücre gövdelerini içerir. Bipolar hücrelerin hücre gövdeleri, amacrin ve yatay hücreler ile birlikte iç nükleer katmanda (INL) bulunur. Bipolar hücreler, dış pleksiform katmandaki (OPL) fotoreseptörlerle sinaps yapar. Fotoreseptörlerin (koni ve basil hücrelerinin) hücre gövdeleri dış nükleer tabakada (ONL) bulunur. Basil hücrelerinin koni hücrelerine oranı retinadaki konuma göre değişir, fovea çoğunlukla koni hücrelerini içerir. Retinanın çevresinde basil hücreleri daha fazladır. Koroide en yakın küboidal retina pigment epitelidir. Embriyonik ve fetal gelişim sırasında, retina primordia karmaşık bir farklılaşma sürecinden geçerek bu farklı nöron katmanlarının, glial hücrelerin ve pigment hücrelerinin oluşmasına neden olur (Bryar ve ark. 2019), (Resim 2.7).



Resim 2.7. Retina bileşenleri gösteren kesit (Junqueira ve Carneiro, 2006)

2.4. Göz Anatomisi

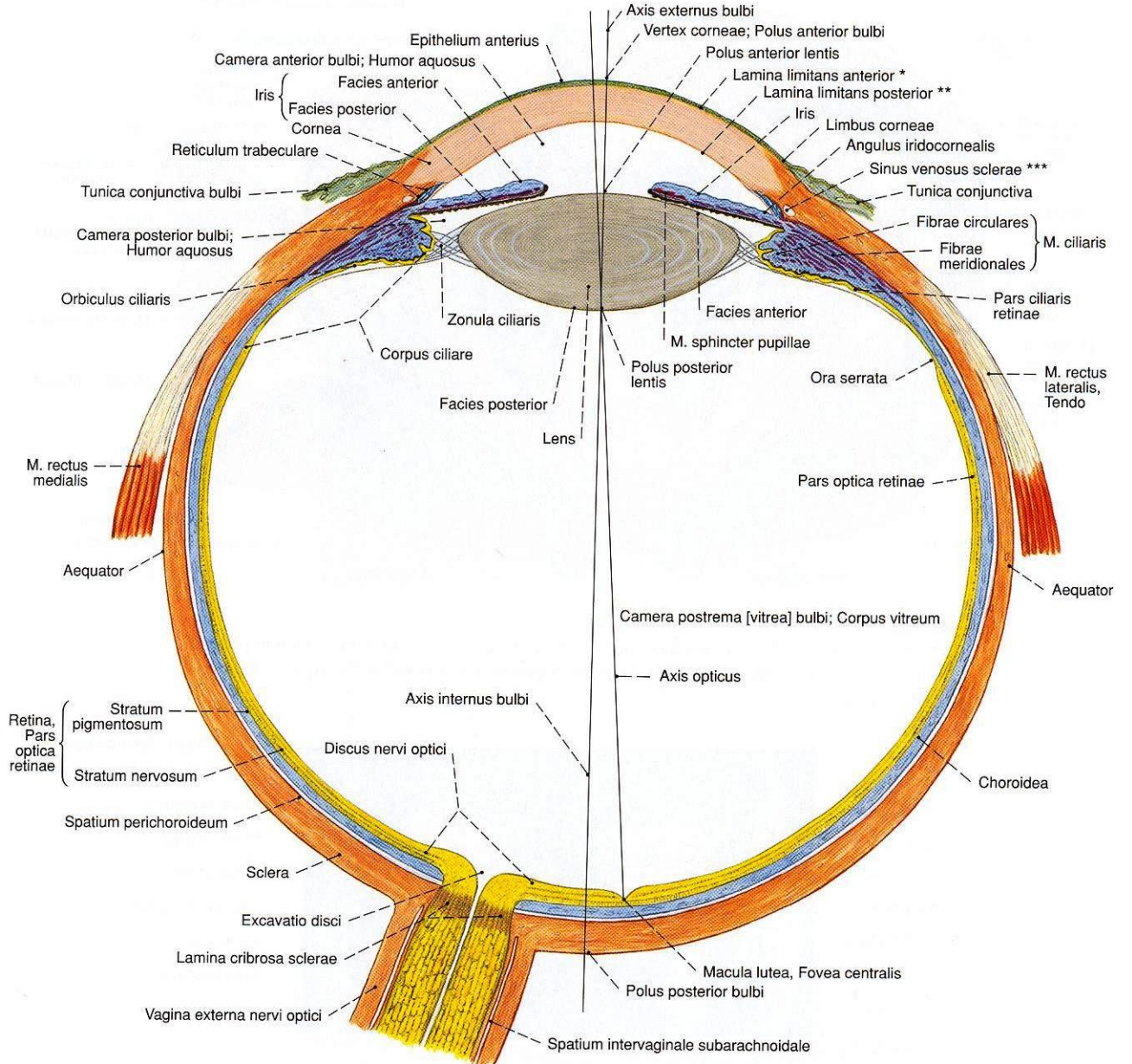
Göz, karmaşık ve oldukça gelişmiş ışığa duyarlı (fotosensitif) bir organ olup şeklin, ışık şiddetinin ve nesnelerden yansıyan renklerin analizini yapan bir organdır. Kafatası içinde koruyucu kemik yapıların oluşturduğu orbita içinde yer alır (Pevsner, 2002), (Resim 2.8). Her göz ona şeklini veren dayanıklı fibröz bir küreden; görüntüyü odaklayan bir lens sisteminden, bir fotosensitif hücre tabakası ile görüntü bilgisini toplayarak işleyip merkezi sinir sistemine ileten bir hücre ve sinir sisteminden oluşur (Lukowski ve ark. 2019). Görme işlevini yapan en önemli kısım bulbus oculi'dir.



Resim 2.8. Kafatası iskeleti ve orbitanın genel görünümü (Waschke ve ark., 2016)

2.4.1. Bulbus Oculi

Bulbus oculi'nin çapı 2.5 cm ve ağırlığı 7-10 gr kadardır (Resim 2.9). Göz küresi olarak adlandırılan bulbus oculi iç içe geçmiş iki küreden oluşur. Küçük olan öndeki küre, büyük kürenin yaklaşık $\frac{3}{4}$ 'lük kısmının içine yerleşmiş vaziyettedir. Bulbus oculi dıştan iç üç katmandan meydana gelmektedir (Snell ve Lemp, 2012; Arifoğlu, 2019).



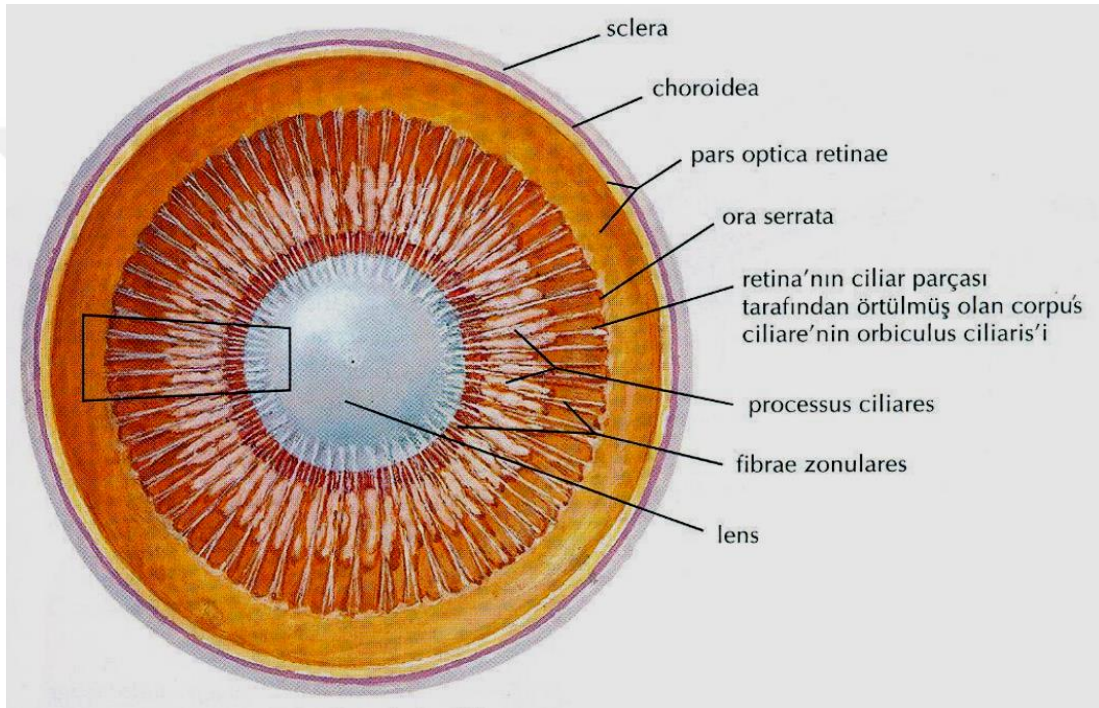
Resim 2.9. Bulbus oculi ve tabakaları (Waschke ve ark., 2016)

2.4.1.1. Tunica Fibrosa Bulbi

Göz küresinin dış tabakası olan tunica fibrosa bulbi, sclera ve cornea olmak üzere iki bölümden oluşur.

Sclera

Sclera sert ve sağlam olması nedeniyle bu adı alır ve göz küresinin arka 5/6'sını oluşturur. Bu nedenle göz küresi şeklinin ve hacminin korunmasını sağlar (Resim 2.10). Sclera'nın kalınlığı arkada 1 mm olup, ön tarafa doğru gittikçe incelir ve ekvatordaki kalınlığı 0.4 mm'ye düşer. Ekvatorun ön tarafında, gözü hareket ettiren kasların kirişlerinin yapışmasından dolayı tekrar kalınlığı artarak 0.6 mm'yi bulur (Arıncı ve Elhan, 2006; Waschke ve ark., 2016; Arifoğlu, 2019).



Resim 2.10. Göz küresinin forantal düzlemde kesiti (Netter, 2015)

Sclera'nın dış yüzü beyaz renkli ve düzdür, sadece çizgili göz kaslarının kirişlerinin tutunduğu ön kısmı engebelidir. Göz kapaklarının örttüğü ön bölümü konjunktiva ile kaplıdır. Arka kısmı ise vagina bulbi (Tenon kapsülü) içine oturmuştur. Vagina bulbi ile sclera arasında spatium episclerale denilen dar bir aralık, bu aralık içinde de lamina episcleralis denilen gevşek bağ dokusu bulunur (Koplin ve ark. 2013). Bu bağ dokusu sclera'yı vagina bulbi'ye gevşek olarak bağlar. Sclera'nın iç yüzü, choroidea'nın dış yüzüne (lamina suprachoroidea) gevşek olarak tutunmuştur, arada oluşan aralığa spatium perichoroidale denir (Brar, 2004).

Sclera'nın arka tarafında n. opticus'un liflerinin geçtiği ve lamina cribrosa sclerae denilen delikli bir saha bulunur. Burası sclera'nın en zayıf yeridir. İç basınç arttığı zaman burada iç yüzde bir çöküntü görülür. N. opticus'un sclera'dan çıktığı yerde sclera, sinir üzerinde fibröz bir kılıf oluşturarak uzanır ve daha sonra da dura mater olarak devam eder (Drake ve ark., 2018).

Lamina cribrosa sclera'daki deliklerden birisi diğerlerinden daha büyüktür, buradan a. ve v. centralis retina geçer. N. opticus'un liflerinin geçtiği delikli sahanın çevresinde ayrıca siliar damar ve sinirlerin geçtiği küçük delikler bulunur. Bunlardan başka ekvator yakınlarında v. vorticiosa'ların geçtiği 4-5 adet büyükçe geçitler bulunur. Sclera ön tarafta cornea ile devam eder. İkisi arasında ve dış yüzde, sulcus sclerae denilen bir oluk oluşur. Sclera'nın cornea ile birleşen ön kenarı, kesitte çatal şeklinde görülen iki yaprak şeklindedir. Bu iki yaprak arasında oluşan oluğa, cornea'nın ince kenarı girer. Bu çatalın iç bölümünde m. ciliaris'in tutunduğu bağ dokusundan yapılmış reticulum trabeculare (lig. pectinatum) denilen ağ şeklinde trabeküler bir yapı bulunur. Bu yapı, camera anterior'u sinus venosus sclerae'den (Shlemm kanalı) ayırır. Reticulum trabeculare'nin cornea ile sclera'ya uzanan bölümüne pars corneoscleralis, iris'e uzanan bölümüne ise pars uvealis denilir (Brar, 2004; Arıncı ve Elhan, 2006).

Lig. pectinatum'un lifleri arasında kalan aralıklara spatia anguli iridocornealis (Fontana aralıkları) denilir. Bu aralıklar camera anterior'u Schlemm kanalı'na bağlar. Sclera dıştan içe doğru üç tabakadan meydana gelir. Bunlar; lamina episcleralis, substantia propria sclera ve lamina fusca sclera. Sclera, kollagen ve bir kısmını da elastik liflerin oluşturduğu bant ve tabakalardan oluşur. Bunların yanı sıra, fibroblast ve diğer bağ dokusu hücreleri de bulunur. Bu lifler hafif kıvrıntılı seyredir. Bu nedenle göz içi basıncı arttığında bu kıvrımlar düzelinceye kadar sclera, dolayısıyla göz küresi genişler. Fakat daha fazla genişleyemeyeceğinden göz içi basıncı artar ve glokom denilen göz hastalığına neden olur (Drake ve ark., 2018).

Cornea

Cornea gözün dış tabakasının saydam bölümü olup, göz küresinin ön 1/6'sını oluşturur. Konveks ön yüzü (facies anterior) göz kapakları açıkken hava ile temastadır ve en çıkıntılı ön kısmına vertex corneae denilir. Konkav arka yüzü (facies posterior) camera anterior'u önden sınırlar. Sclera yukarıdan ve aşağıdan cornea üzerine daha fazla uzanmış olması nedeniyle, cornea önden bakıldığında tam bir daire şeklinde olmayıp biraz ovalcedir. Halbuki arka konkav tarafından bakıldığında tam bir daire şeklinde olduğu görülür. Cornea'nın ince periferik kenarına limbus corneae denilir. Burası sclera'nın ön kenarının oluşturduğu oluk içine oturur. Cornea'nın orta kısmı 0.5-0.6 mm, periferik kısmı ise 1.2 mm kalınlığındadır. Bu nedenle cornea'nın dış yüzünün konveksliği arka yüzünün konkavlığından daha azdır. Cornea'nın konveksliği şahıslar arasında değişebildiği gibi, aynı şahsın değişik yaş dönemlerinde de farklılık gösterir. Cornea yeni doğanlarda diğer organlarla kıyaslandığında göreceli olarak daha büyük olup 2 yaşında erişkindeki boyutlarına ulaşır. Ölümden sonra camera anterior bulbi'deki sıvının kolajen lifleri şişirmesiyle saydamlığı kaybolur. Cornea'da kan ve lenf damarları bulunmaz. Bu nedenle beslenmesi lameller arasındaki aralıklarda dolaşan doku sıvısı ile olur (Brar, 2004; Snell ve Lemp, 2012; Drake, Vogl ve Mitchell, 2018)

2.4.1.2. Tunica Vasculosa Bulbi

Bulbus oculi'nin orta katını yapan tunica vasculosa bulbi, damardan çok zengin ve aynı zamanda fazla pigment ihtiva ettiğinden siyahımsı renktedir. Tunica vasculosa bulbi, arkadan öne doğru üç bölümden meydana gelir. Bunlar choroidea, corpus ciliare ve iris'tir (Brar, 2004; Snell ve Lemp, 2012; Arifoğlu, 2019).

Choroidea

Tunica vasculosa bulbi'nin en büyük kısmını teşkil eder ve sclera'nın iç yüzünde bulunur. Koyu kahverenginde olan choroidea'nın kalınlığı arkada 0.5 mm, önde 0.25 mm kadardır. Az elastik ve çok ince olduğundan kolaylıkla yırtılabilir. Choroidea'nın ön sınırının corpus ciliare ile birleştiği yere ora serrata adı verilir.

Choroidea sclera'ya n. opticus'un girdiği yerde sıkıca, geri kalan bölümde ise gevşek olarak tutunmuştur. İç yüzü ise retina'nın pigment tabakasına sıkıca yapışıktır. Choroidea, başlıca sık bir kapiller ağ ve bu ağa kan getiren (a. ciliaris brevis'lerin dalları) ve götüren longitudinal ince damarlardan oluşur. Bu damar tabakasının en önemli fonksiyonu retina'nın dış yarısının beslenmesini sağlamaktır (Warwick, R., Williams, 1973; Snell ve Lemp, 2012).

Corpus Ciliare

Tunica vasculosa bulbi'nin en kalın bölümü olup, ora serrata'dan iris'in dış kenarına (angulus iridocornealis'e) kadar uzanır (Arıncı ve Elhan, 2006; Arifoğlu, 2019). Esas yapısını m. ciliaris ve bağ dokusu oluşturur. Kesitlerde üçgen şeklinde görülür. Üçgenin tepesi choroidea ile tabanı iris ve cornea ile temas eder. Corpus ciliare'nin dış yüzü sclera'ya, iç yüzü corpus vitreum'a yaslanmıştır. Ora serrata'ya yakın kısmında corpus ciliare'nin dış yüzü ile sclera'nın iç yüzü arasında spatium perichoroideale bulunduğu halde öne doğru gittikçe bu aralık bulunmaz ve corpus ciliare'nin dış yüzü ile sclera'nın iç yüzü birbirine iyice yapışır (Drake ve ark., 2018).

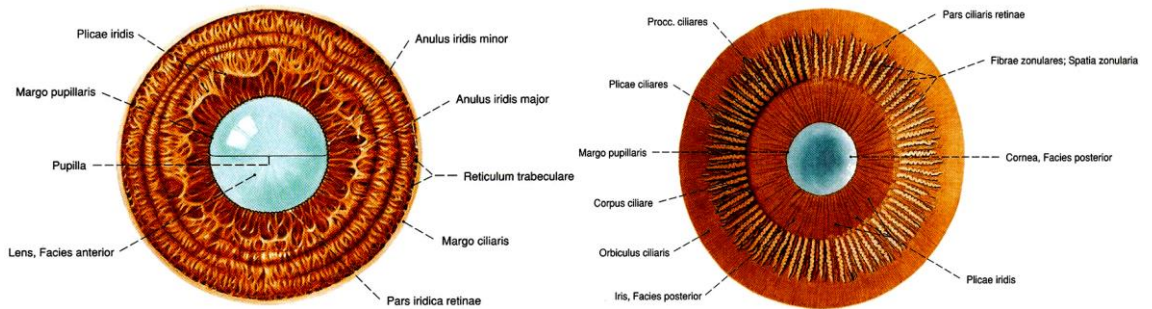
Corpus ciliare'nin iç yüzünde içe doğru uzanmış olan ince girinti ve çıkıntılara plicae ciliares adı verilir. İris'e yakın bölümde bu plikaların birkaçı birleşerek processus ciliaris denilen daha kalın çıkıntıları oluşturur. Yan yana meridional bir durumda dizilmiş olan bu plicae ciliares'lerin meydana getirmiş oldukları halkaya da orbiculus ciliaris, processus ciliares'lerin yan yana dizilmesi ile oluşan halkaya ise corona ciliaris adı verilir (Snell ve Lemp, 2012).

Processus ciliares'ler içeriye doğru uzanarak lens'in kenarının takriben 0.4-0.6 mm yakınına kadar ilerlerler. Sayıları 70-90 arasında değişen processus ciliares'lerin uzunlukları ortalama 1.5-3 mm, yüksekliği 1 mm ve genişliği 0.1-0.2 mm'dir. Processus ciliares'ler humor aqueus'u salgılar ve bunlara lense asan fibrae zonulares (lig. suspensorium lentis) tutunur (Drake ve ark., 2018). M. ciliaris, dışta fibrae meridionales (longitudinal), içte fibrae circulares olmak üzere düz kas liflerinden yapılmıştır. İki kas tabakası arasında fibrae radialis adı verilen oblik lifler bulunur. M. ciliaris'in kasılması veya gevşemesi halinde fibrae zonulares'ler gerilip,

gevşemek sureti ile lens'in ön-arka çapı artar veya azalır. Bunun sonucunda da uzak ve yakın görme işinde akomodasyon (uyum) temin edilmiş olur (Arıncı ve Elhan, 2006; Snell ve Lemp, 2012; Drake ve ark., 2018)

İris

Tunica vasculosa bulbi'nin ön parçasını oluşturan bu bölüme, şahıslar arasında farklı renklerde olması nedeni ile gökkuşağı anlamına gelen iris adı verilir (Resim 2.11). İris, 12 mm çapında ortası delik bir bölme şeklinde olup cornea ile lens arasında bulunur. Cornea'nın arka yüzü ile iris'in ön yüzü arasında kalan boşluğa camera anterior bulbi adı verilir. İris'in arka yüzü ile lens ve zonula ciliaris'in ön yüzü arasında kalan boşluğa camera posterior bulbi adı verilir (Drake ve ark., 2018). İris'in iki kenarı vardır. İçte olan kenarı pupilla'yı (göz bebeği) sınırlar ve margo pupillaris adını alır. Dışta olan kenarı margo ciliaris adını alır ve corpus ciliare'ye bitişiktir. İris'in facies anterior adı verilen bir ön yüzü ile facies posterior adı verilen bir arka yüzü vardır (Arıncı ve Elhan, 2006; Snell ve Lemp, 2012; Arifoğlu, 2019).



Resim 2.11. İris ve iris'e ait anatomik yapılar (Waschke ve ark., 2016)

Margo ciliaris, corpus ciliare ve cornea'nın arka yüzünün periferik kısmına reticulum trabeculare aracılığı ile tutunur. Margo pupillaris ise, iris'in tam ortasında bulunan ve normalde çapı 1-8 mm arasında değişen pupilla'yı sınırlar. Pupilla çapını, göz içine giren ışığın az veya çok oluşuna, yakın veya uzağa ve bakışa göre ayarlar. Az ışıktaki veya uzağa bakarken pupilla'nın çapı artarken çok ışıktaki veya yakına bakarken pupilla'nın çapı azalır. Pupilla'nın bu genişleme ve daralma görevini üzerine alan düz kaslara m. dilatator pupillae ve m. sphincter pupillae adı verilir. Bu kasların her

ikisi de iris'in facies posterior'una yakın olarak ve stroma katı ile pigment katı arasında bulunurlar (Drake ve ark., 2018).

İrisin ön yüzü (facies anterior), camera anterior bulbi'nin arka duvarını yapar. Bu yüzde, pupilla'ya yakın koyu renkteki küçük halka anulus iridis minor, bunun dışındaki daha açık renkte büyük halka ise anulus iridis major adını alır. Arka yüzü (facies posterior), camera posterior bulbi'nin ön duvarını yapar ve orta bölümü ile lens'e yaslanmış durumdadır (Brar, 2004; Arıncı ve Elhan, 2006; Snell ve Lemp, 2012; Waschke ve ark., 2016).

2.4.1.3. Tunica Nervosa (Interna) Bulbi

Bulbus oculi'nin kısaca retina da denilen ışığa hassas iç tabakasıdır. Arka bölümde kalın (0.56 mm) olup öne doğru inceler ve ora serrata'da 0.1 mm kadardır. Retina'nın rengi aydınlıkta açık kırmızı, karanlıkta koyu kırmızı görünüştedir (Drake ve ark., 2018).

Retina iki tabakadan oluşur. Tunica vasculosa'nın iç yüzünü örten kısmına stratum pigmentosum denir. Bunun iç yüzünde bulunan ve discus nervi optici'den ora serrata'ya kadar uzanan bölümüne stratum nervosum denir. Bu nedenle ora serrata'ya kadar olan retina bölümüne pars optica retinae (gören parça), ora serrata'nın önünde kalan bölüme ise pars caeca retinae (kör parça) adı verilir. Pars caeca retinae'nin iris'in arka yüzünü örten bölümüne ise pars iridica retinae denilir (Drake ve ark., 2018).

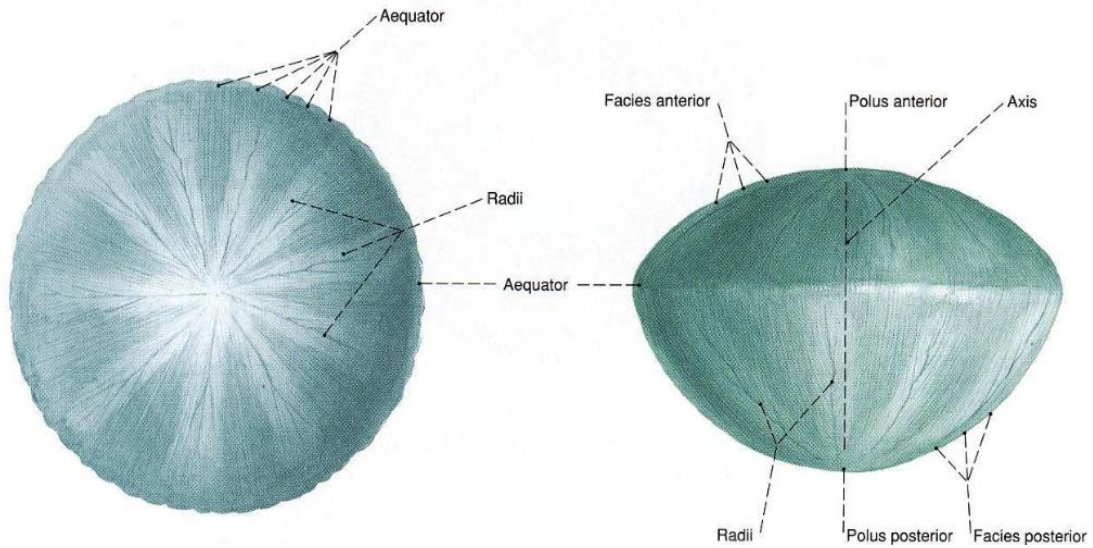
Retina'nın arka bölümünde axis opticus'un geçtiği 2-4 mm çapında, sarı pigmentli oval sahaya macula lutea, buradaki çukurluğa fovea centralis, bunun da ortasında sadece koni hücrelerinin bulunduğu bölgeye foveola adı verilir. Burası ışığı en iyi alan bölümdür. Retina, fovea centralis'te çok incedir. Pars optica retina'da dıştan içe doğru koni ve basil hücreleri, bipolar ve multipolar ganglion hücreleri bulunur. Multipolar ganglion hücrelerinin aksonları da papilla nervi optici'ye doğru uzanarak n. opticus'u oluşturur (Arıncı ve Elhan, 2006; Snell ve Lemp, 2012; Arifoğlu, 2019).

2.5. Gözün Işığı Kıran Vasatları

Bulbus oculi'nin içinde bulunan boşluğu, gözün ışığı kıran vasatları adı verilen oluşumlar doldurur. Saydam olan bu oluşumlar önden arkaya doğru sıra ile; cornea, lens, humor aquosus ve corpus vitreum'dan oluşur (Snell ve Lemp, 2012; Arifoğlu, 2019).

2.5.1. Lens

İris ile corpus vitreum arasında bulunan lens, iki yüzü konveks bir mercek gibidir. Önden arkaya en geniş yeri 4-5 mm, çapı 9-10 mm kadardır. Arka yüzün konveksliği, ön yüzden daha fazladır. Lens'in facies anterior adı verilen ön, facies posterior adı verilen arka yüzü ile ön ve arka yüzlerin birleştiği ve equator lentis adı verilen küt bir kenarı vardır. Ön ve arka yüzündeki en çıkıntılı noktalarına polus anterior ve polus posterior, iki polusu birleştiren çizgiye ise axis lentis adı verilir (Drake ve ark., 2018). (Resim 2.12).



Resim 2.12. Lens ve lens'e ait anatomik yapılar (Waschke ve ark., 2016)

Capsula lentis ile sarılı olan lens, fibrae zonulares aracılığı ile processus ciliaris'lere asılı durumdadır ve lens'i yerinde tutan en önemli yapı da bunlardır (Bryar ve ark., 2019; Recep, 2016; Snell ve Lemp, 2012). Lens'in arka yüzü corpus vitreum'un ön yüzündeki fossa hyaloidea'ya oturur, ön yüzü ise orta kısmında pupilla'nın kenarlarına temas eder, fakat periferde temas etmez ve iris ile aralarında camera

posterior bulunur (Arıncı ve Elhan, 2006; Kuszak JR, Clark JI, 2008; Snell ve Lemp, 2012; Arifoğlu, 2019).

2.5.2. Humor Aquosus

Camera anterior bulbi ile camera posterior bulbi'yi dolduran sıvıdır. Processus ciliaris'ler tarafından üretilen bu sıvı bazik karakterli olup berraktır (Snell ve Lemp, 2012; Koplin ve ark. 2013). Processus ciliaris'ler tarafından salgılanan sıvı önce camera posterior'u doldurur, sonra pupilla'dan geçerek camera anterior'a gelir. Buradan angulus iridocornealis'deki Fontana aralıklarına geçer ve villi pektinati'ler tarafından emilerek sinus venosus sclerae'ye (Schlemm kanalı) boşalır. Daha sonra göz kaslarının ven'lerine geçer ve böylece humor aquosus'un dolaşımı sağlanmış olur (Arıncı ve Elhan, 2006).

2.5.3. Corpus Vitreum

Lens, corpus ciliare ve retina'nın çevrelediği boşluğun içini corpus vitreum doldurur. Bu boşluk bulbus oculi boşluğunun 2/3 arka kısmını teşkil eder. Saydam olan corpus vitreum, membrana vitrea adı verilen ince, saydam bir zar ile sarılmıştır. Corpus vitreum'un ön tarafında lens'in bulunduğu ve fossa hyaloidea adı verilen bir çukurluk vardır (Drake ve ark., 2018).

Membrana vitrea ile sarılmış olan corpus vitreum, homojen ve yumurta akına benzeyen saydam jelatinöz bir maddeden yapılmıştır (Snell ve Lemp, 2012; Drake ve ark., 2018; Arifoğlu, 2019). Membrana vitrea'nın iç yüzünden çıkan bazı uzantılar corpus vitreum'un içinde ilerler ve bazı bölmeler yaparlar. Retina'ya ait glia hücreleri tarafından meydana getirildiği sanılan corpus vitreum'un terkibi %98 su, pek az da protein ve tuzdan meydana gelmiştir. Corpus vitreum'da kan damarı bulunmaz, beslenmesi retina ve processus ciliaris'in damarları aracılığı ile olur. Embriyonal hayatta papilla nervi optici hizasından çıkıp corpus vitreum'un tam ortasından geçerek lens'in arka yüzüne kadar gelen ve a. hyaloidea adı verilen (bu arter, a. centralis retinae'dan doğar) arter bulunur. Bu arter fetüsün lens'ini besler. Daha sonraları adı geçen arter tamamen kaybolur ve yerinde bazı kişilerde canalis

hyaloideus adı verilen bir kanal kalır (Arıncı ve Elhan, 2006; Drake ve ark., 2018; Arifoğlu, 2019)

2.6. Gözle İlgili Hastalıklar

Bireylerin bağımsızlığı ve yaşam kalitesi, ulusal sağlık politikalarının dayanağını oluşturan önemli faktörlerdir. Görme işlevinin iyi olması da toplumların iyilik hallerinin ayrılmaz bir parçasıdır. Görme işlevi, Uluslararası Hastalık Sınıflandırması Versiyon-10'da (ICD-10) dört kategoride sınıflandırılmaktadır:

1. Normal görme
2. Orta derecede görme bozukluğu
3. Ağır derecede görme bozukluğu
4. Körlük (Çağl ve ark. 2008)

Orta ve ağır derecede görme bozukluğu, “zayıf görme” olarak gruplanmakta ve körlük ile birlikte tüm görme bozukluklarını oluşturmaktadırlar. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre, orta ve ağır görme bozukluklarının küresel çaptaki temel nedenleri şunlardır:

- Düzeltilmemiş kırma kusurları, %53
- Ameliyat edilmemiş katarakt, %25
- Yaşa bağlı maküler dejenerasyon, %4
- Glokom, %2
- Diyabetik retinopati, %1 (Mirza ve ark. 2021)

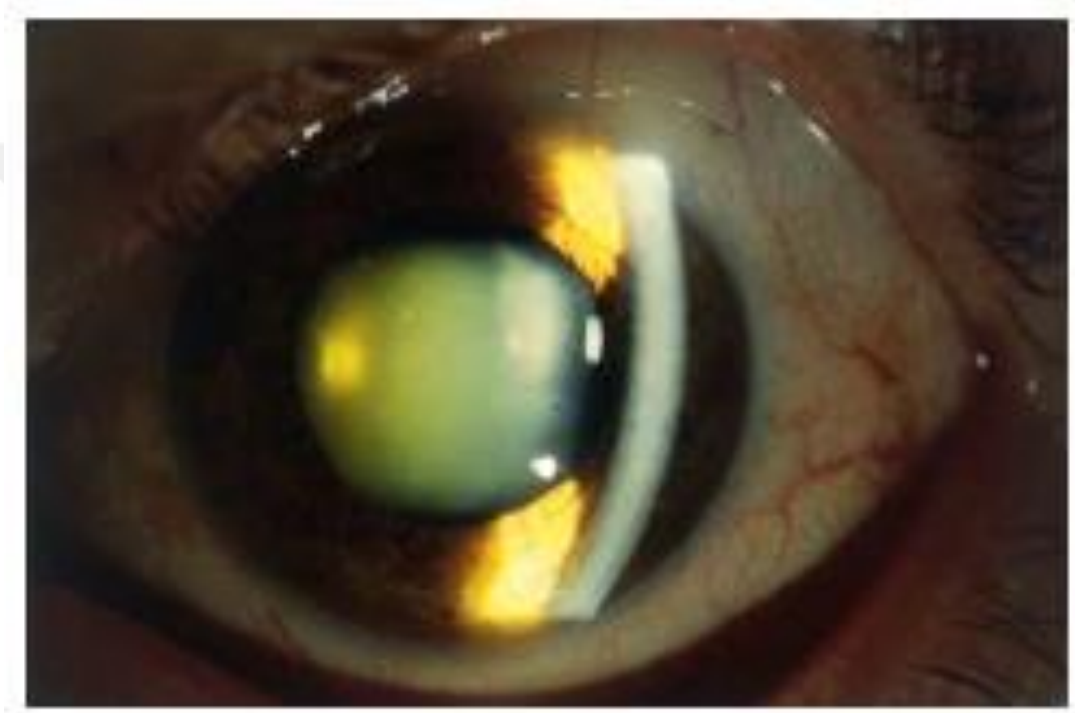
Körlüğün temel nedenleri ise şöyle sıralanmaktadır:

- Ameliyat edilmemiş katarakt, %35
- Düzeltilmemiş kırma kusuru, %21

- Glokom, %8 (Eren ve ark., 2018)

2.6.1. Katarakt

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, yaklaşık 314 milyon kişi görme engelli ve 45 milyon kişi kördür. Katarakt, bulanık veya opak bir mercektir. Dünya Sağlık Örgütü, körlük vakalarının %47.8'inin kataraktlardan kaynaklandığını bildirmektedir (Vurmaz ve ark. 2020), (Resim 2.12).



Resim 2.13. Kataraktlı bir hastanın gözüne ait resim (Waschke ve ark., 2016)

Katarakt, genel olarak doğuştan veya çocuklukta olarak ikiye ayrılabilir. Çocukluk çağı kataraktı hem fenotipik hem de genotipik olarak heterojendir. Doğuştan katarakt, doğumdan itibaren ortaya çıkan ve dünya çapında çocukluk çağı körlüğünün yaklaşık onda birinden sorumlu olan katarakt olarak tanımlanır (Şahin ve Özkurt, 2017).

Doğuştan kataraktın görsel sonucu, kataraktın doğumda total olup olmadığına, kataraktın ilerleyici mi yoksa sabit mi olduğuna ve şiddetli katarakt durumunda ameliyat yaşına bağlıdır. Total doğuştan katarakt erken katarakt ameliyatı ve görsel

rehabilitasyon gerektirir. Bu ameliyatın genellikle iyi Q görsel sonucu ile daha sonraki çocukluğa kadar geciktirilebildiği kısmi ilerleyen katarakt ile çelişir. Kısmi sabit katarakt ameliyat gerektirmeyebilir ve en iyi prognoza sahiptir. Çocukluk çağı kataraktları kalıtsal olabilir veya olmayabilir. Rahim içi enfeksiyonlar (kızamıkçık, suçiçeği, toksoplazmoz), travma ve juvenil oküler enflamatuar hastalık kalıtsal olmayan kataraktın en yaygın nedenleridir. Kalıtsal katarakt, izole bir anormallik olarak, daha karmaşık bir oküler gelişimsel anormalliğin parçası olarak veya sistemik bir sendromun parçası olarak ortaya çıkabilir. İzole konjenital kataraktların yaklaşık üçte biri kalıtsaldır, en yaygın kalıtım şekli otozomal dominanttır. Otozomal resesif (AR) ve X'e bağlı resesif kalıtım modları da görülmekle birlikte nadirdir (Francis, 2016).

Bir kataraktın yaklaşan ışığı sıçrattığı veya saçtığı doğruysa, retinaya odaklanan zayıf bir görüntüyle sonuçlanırsa, teorik olarak saçılan tüm ışığı özel bir optik elemanla toplamak ve keskin bir görüntü oluşturmak mümkün olmalıdır. Kataraktın saçılan ışığını alıp onu yeniden dağıtacak ve böylece uygun bir görüntü oluşabilecek böyle bir optik elemanın özü, kataraktın özel bir ters hologramı olacaktır (Miller, 2011).

Katarakt, gözün kristal lensinin opaklaşmasını tanımlamak için kullanılan terimdir. Opasiteler morfolojiye göre değişir, genellikle lensin bir kısmı ile sınırlıdır ve statik veya progresif olabilir. Katarakt, en yaygın olarak azalan görme keskinliği, parlama ve azalan kontrast duyarlılığı ile kendini gösteren optik performansı düşürür. Durum yalnızca şu anda cerrahi olarak çıkarıldığında tedavi edilebilir. Yetişkinlerde katarakt, dünya çapında görme bozukluğunun en yaygın nedenidir (Francis, 2016).

Doğuştan kataraktın morfolojisi, nedeninin zamanlaması ve doğası, merceğin anatomisi, doğum öncesi ve sonrası gelişimi ve zamanla meydana gelen değişikliklerin bir kombinasyonunu yansıtır. Doğuştan kataraktın morfolojisi büyük ölçüde aşağıdakiler tarafından belirlenir: merceğin anatomisi ve embriyogenezdeki hakaretin zamanlaması. Morfoloji prognozu değişken bir şekilde etkileyebilir, başlangıç yaşına dair bir ipucu verebilir ve izole bir durumda bazen kalıtsallığı önerebilir. Bazı fenotipler (lamellar, pulverulent, polimorfik, koralliform ve kortikal) iyi görsel prognoza sahip gibi görünmektedir.

2.6.1.1. Konjenital Katarakt

Konjenital katarakt, 10.000 canlı doğumda 1-6 vaka prevalansı ile Avrupa ve ABD'de çocukluk çağı körlüğünün en yaygın tedavi edilebilir nedenidir. Konjenital katarakt, en sık bilateral ve simetrik olan statik veya yavaş ilerleyen lens opasiteleri ile erken enfeksiyonda en yaygındır. Uygun tedavi olmaksızın ortaya çıkan yoksunluk ambliyopisinin derecesi, mercek içindeki opaklığın konumuna ve opaklaşma yoğunluğuna bağlıdır. Genel olarak, ne kadar posterior yerleşimli olursa ve opaklık yoğunsa, görsel işlev üzerindeki etkisi o kadar büyük olur. Cerrahi olarak çıkarılmasına ve ardından optik düzeltmeye rağmen, doğuştan kataraktı olan hastaların üçte birinin görme yetisini kaybedeceğini tahmin edilmektedir. (İncebiyık, 2016).

Kalıtsal katarakt, tüm konjenital kataraktların yaklaşık yarısını oluşturur ve galaktozemi, Nance-Horan ve Down sendromları dahil olmak üzere neredeyse iki yüz genetik hastalığın tanınmış bir özelliğidir. Ancak çoğu durumda katarakt, sendromik olmayan şekilde izole bir anormalliktir. Akraba olmayan popülasyonlarda, kalıtsal kataraktın çoğunluğu otozomal dominant kalıtım gösterir. (Francis, 2016).

Nettleship ve Ogilvie, kataraktı olan bir ailenin ilk tanımını 1906'daki çalışmasında bildirmişlerdir (Nettleship ve Ogilvie, 1906). Daha sonra Nettleship, benzer bir fenotipe sahip, soybilimsel olarak farklı bir kadını tanımladı. Bu aile 1963'te yeniden araştırıldı ve hastalığın Duffy kan grubu lokusuyla birlikte ayrıldığı gösterildi. 1968'de bu klinik tablo Duffy kan grubu lokusunun kromozom 1'e atandığında genetik olarak bağlanan ilk insan otozomal hastalığı oldu (Marsh ve Ehrich, 1975).

Doğuştan katarakt vakalarında lens, intrauterin yaşam sırasında opak hale gelir. Başlıca nedenler genetik, enfeksiyon ve yetersiz beslenme olarak bildirilmiştir. Anne kızamıkçık virüsüne hamileliğin yedinci haftasından (lensin aktif olarak geliştiği bir dönem) ve lens kapsülünün geliştirilmesinden önce maruz kalırsa, çocukta doğuştan katarakt olabilir. Anne yedinci haftadan sonra kızamıkçık geçirirse lens nadiren etkilenir. Kromozomal anormalliklere bağlı olarak da katarakt gelişebilir. Down sendromu, doğumsal katarakt insidansında artışa neden olur (Snell ve Lemp, 2012).

2.6.1.2. Nükleer Katarakt

Yaşa bağılı olarak gelişen ve lensin merkezinde yer alan nükleustaki saydamlık kaybına denir. Erken başlangıçlı nükleer katarakt, merceğin embriyonik ve fetal çekirdeğinde bulunur. Görünüşleri büyük farklılıklar gösterir ve ameliyat ihtiyacı nükleer katarakt tipine bağlıdır. Konfluent nükleer opasifikasyon genellikle erken cerrahi gerektirir. Bununla birlikte, mavi nokta nükleer katarakt ameliyat gerektirmeyebilir (Addison, 2006).

Nükleer katarakt lensteki fizyolojik sklerotik değişikliklerin sonucudur. Yaşla birlikte lens nukleusu (çekirdeği) sertleşir ve rengi koyulaşır. Normal yaşlılarda lensteki fizyolojik değişikliklere rağmen görme düzeyi korunur. Nükleer katarakta lensin yoğunluğu ve kırıcılığı artar. Yalancı miyopi gelişir. Bu hastaların uzak görmeleri bozulurken, yakın görmeleri düzelir veya yakın gözlük camlarının dioptrisinde azalma olur. Bu nedenle bazı hastalar bu durumdan memnun olur. Başlangıçta konkav camlarla düzeltilebilen görme keskinliği, sklerotik değişikliklerin artmasıyla giderek azalır. Bu değişim bazen çok yavaş olup 5-10 seneyi bulabilir. Başlangıçta ve merkezdeki küçük kesifliklerde, monokülerdiplopi (tek gözle çift görme) yakınması olur ve ileri dönemlerde renk tonlarının ayırt edilmesinde güçlük yaşanır (Gözüm, 2012).

2.6.1.3. Kortikal Katarakt

Nükleus etrafındaki korteksin saydamlığını kaybetmesi sonucu ortaya çıkar. Kortikal katarakt, lens korteksindeki lifleri etkiler ve radyal şekilde kendini gösterir. Katarakt hem tek tek lifler boyunca hem de bitişik lifler boyunca büyüyen ve yayılan az sayıda opak lif demeti olarak lensin inferonazal çeyreğinde başlar. Zamanla nükleusun etrafındaki korteks saydamlığını yitirmeye başlar. Kortikal katarakt periferik görüşü etkiler, özellikle gözbebeği büyük olduğunda loş ışıktaki parlamaya ve göz kamaşmasına neden olur. Ancak daha sonraki aşamalarda merkezi görüşü de etkileyebilir. Işığa bakarken zorlanma gibi belirtiler hastada derinlik algısına zarar verir. Bu sebeple denge kaybı yaşanmasına sebep olur (Kağnıcı, 2013; Ekaterina, 2018).

2.6.1.4. Posterior Subkapsüler Katarakt

Lens arka kapsülü önünde meydana gelen opasite artışı olup görmeyi özellikle gündüzleri çok azaltan bir katarakt türüdür. Posterior Subkapsüler katarakt, daha çok merkezde lokalizedir. Diğerlerinden daha az sıklıkta görülür ancak daha erken yakınmalara neden olur ve hızlı ilerler. Uyum sırasındaki miyozis nedeniyle santraldeki bu kesiflik üzerinden geçen ışığın saçılmasına ve görüntünün fovea üzerinde odaklanmasının engellenmesine neden olur. Bu nedenle yakın görme daha çok bozulur. Hastalar ışıktan (güneş, kar, araba farları vb.) çok etkilenir ve gözlerde hemen kamaşma ortaya çıkar. Tipik olarak koyu gözlükleri ve geniş siperli şapkaları tercih ederler. Alaca karanlıkta ve geceleri görme belirgin şekilde artar veya hasta daha rahat bir görme yetisine sahip olur (Gözüm, 2012).

Arka subkapsüler kataraktın arka kapsül ve korteks arasındaki potansiyel boşlukta hücresel debrisin birikmesi veya kapsül epitel hücrelerinin göçünden dolayı oluştuğu düşünülür. Arka subkapsüler katarakt, radyasyon ve steroid alımından kaynaklanacağı gibi diabetes mellitus, yüksek miyopi ve pigmenter retinopati sonucunda da gelişebilir (Gözüm, 2012; Çelik ve ark. 2015).

2.6.1.5. Posterior Polar Katarakt

Posterior polar katarakt, lensin arka kutbunda gelişen bir katarakt türüdür. Bu katarakt türünde kataraktlı kısım arka kapsüle yapışıktır ve genellikle ameliyat esnasında arka kapsül rüptürü görülür. Genellikle simetrik olarak gelişir. Posterior polar kataraktta opasifikasyon, gözün optik olarak önemli olan düğüm noktasına yakındır. Bu nedenle hastalarda görme genellikle azalır (Addison, 2006).

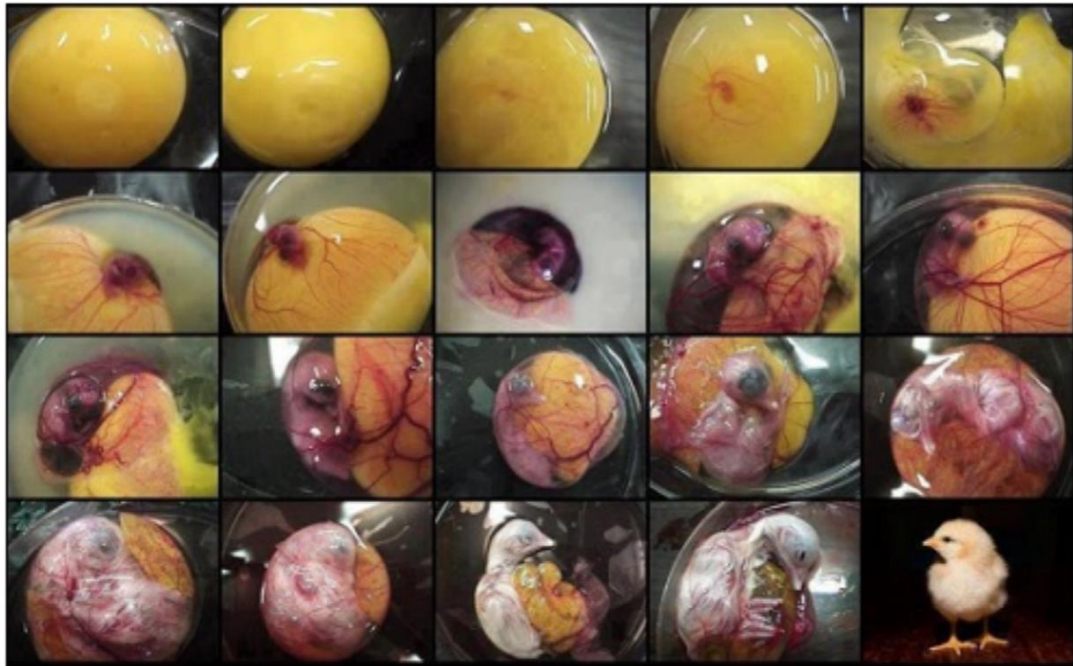
2.6.1.6. Diğer Katarakt Türleri

Kataraktın çok sertleşerek kahverengi-siyah görünüm alması durumuna katarakta nigra, katarakt tedavisinin gecikmesine bağlı olarak korteksin sıvılaşması ve nükleusun aşağı doğru yer değiştirmesi haline morganyen katarakt, lensin tamamen kesifleşmesinin gözlemlenmesine hiperdür katarakt, hem lens nucleus'unun hem de cortex'in kesifleşmesine ise kortikonükleer katarakt denilmektedir (Addison, 2006).

2.7. Cıvciv Embriyolojisi

Uzun zamandan beri cıvciv embriyolarına dayalı deney modelleri ile gerçekleştirilen çalışmalar bugün insan gelişimini ve hastalıklarını anlamada kullanılan bir bilgi temeli oluşturmuştur. Aristoteles, M.Ö. 330 yıllarında tavuk yumurtaları üzerinde gerçekleştirilen ilk çalışmayı yapmıştır (Mason, 2008).

Kanatlı embriyoları, memeli embriyolarından farklı olarak yumurta içerisinde depolanmış besinlerden yararlanarak gelişimini tamamlar. Memeli embriyolarında bu durum plasenta vasıtası ile anaya ait kan damarlarından beslenme şeklindedir. Bunun dışında meme embriyosu ana karnında gelişmekte iken kanatlı embriyosu gelişmesinin büyük kısmını ana bedeninin dışında tamamlamaktadır. Kanatlıların embriyoları memelilerinkinden çok daha hızlı bir şekilde büyür ve gelişir (Aksoy, 1999), (Resim 2.14).



Resim 2.14. Cıvciv mebriyosunun yumurta içerisindeki günlük gelişimi ve yumurtadan çıkımı ('T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlığı Cıvciv Üretimi, Ankara', 2017)

Conrad Gesner, Historia Animalium isimli beş ciltlik eserinde cıvciv embriyo gelişimine ve morfolojik değişikliklere yer vermiştir. Temel teorileri, doku

gelişimine yeni bir ışık tuttu ve civcivin insanlarla birçok temel özelliği embriyo haline getirdiğini ortaya koydu. Korunan özellikler, civcivin kardiyovasküler sistemin oluşumu da dahil olmak üzere insan gelişimini anlamadaki kullanımında belirgindir (Matthews-Grieco, 2021). İlk civciv çalışmaları, hematojen dolaşım sisteminin bileşenlerini tanımladı ve kalbi, damar ağları boyunca yönsel olarak kanı iten merkezi bir pompa olarak tanıdı (Harvey, 1847). Bu çalışmalarda William Harvey, kalbin kan gelişiminden önce bile pompalamaya başladığını ortaya koydu. Ayrıca arterler ve damarlar arasındaki işlevsel farklılığı da fark etti (Harvey, 1628). Harvey'in çalışmasından ilham alan Marcello Malpighi, civcivleri kılcal damarları tanımlamak ve tanımlamak için kullandı (Malpighi, 1672).

Bakımın kolaylaşması ve gelişmekte olan civciv embriyosunun nispeten büyük boyutu, 17. yüzyılın basit araçlarını kullanarak bu önemli gözlemlere izin verdi. 1750 civarında, Alman bilim adamı Beguelin, bilim adamlarının gelişimi boyunca tek bir civciv embriyosunu takip etmelerine olanak tanıyan açık bir yumurtada civciv embriyoları yetiştirme tekniğini tanıttı. Dehidrasyonu önlemek için yumurta kabuğunda bir delik açarak ve onu başka bir yumurtadan bir kabuk parçasıyla kaplayarak, germinal diskteki müteakip gelişimsel değişiklikleri takip edebildi (Romanoff, 1943). Rus bilim adamları, Karl Ernst von Baer ve Heinz Christian Pander, Beguelin'in tekniğini kullandı. Gelişim sırasında embriyoyu oluşturan germ katmanlarını tanımlayın: tektoderm, mezoderm ve endoderm (Romanoff, 1943). Embriyoloji ilerledikçe, civciv yumurtası kullanılarak daha karmaşık histolojik çalışmalar yürütüldü, buna öncülük eden (1844-1907) yılları arasında yaşayan Mathias Marie Duval, 1889'da civciv morfolojisi ile ilgili Atlas d'embryologie kitabını yazdı (Duval, 1889). Bu erken gelişim çalışmaları nihayetinde, hala yaygın olarak kullanılan Hamburger-Hamilton gelişim aşamalarının temelini oluşturdu. Viktor Hamburger ve Howard Hamilton taze yumurta ile başlayan ve tamamen gelişme ile biten civciv gelişimi oped ve yumurtadan çıkmış civcivi morfolojik olarak farklı 46 aşama tanımladı (Hamburger ve Hamilton, 1951). Bu aşamalar, civciv embriyo modelini kullanan çeşitli alanlar arasında tutarlılık ve koordinasyon sağlanmasına yardımcı olur.

Civciv ve tavuğun bağışıklık sistemi de bir kanser modeli olarak soyutlanabilirliğe katkıda bulunmuştur. 1900'lerin başında tavukların Rous Sarcoma virüsü ile enfeksiyonu, virüslerin kansere neden olabileceğini gösterdi (Rous, 1911). Bu, konak hücre popülasyonlarını genişletmek için virüs bulaştırarak kontrol edilen viralonkogenlerin, genlerin keşfedilmesine yol açtı. Erken tanınan birçok viralonkojen, kuş modeli sistemleri kullanılarak tanımlanmıştır (Javier ve Butel, 2008). 1976'da Michael Bishop, Harold Varmus ve meslektaşları onkojenlerin protoonkogenlere mutasyonlarla indüklendiğini gösterdiler. Çalışmaları, insanlarda ve potansiyel model organizmalarda paralel hastalık süreçleri olduğunu düşündüren, çoğu organizmada proto-onkojenlerin var olduğunu gösterdi (Ringold ve ark. 1976; Stehelin ve ark. 1976). Bu, kanserin oluşumu ve büyümesi hakkındaki anlayışımızı temelden değiştirdi ve tavuk araştırmalarının insan sağlığına uygulanabilirliğini pekiştirdi. Rous tarafından yapılan ilk çalışmalardan bu yana civcivler, tümör başlangıcı ve kanser büyümesinin nedenlerinin yanı sıra tümör hücresi istilas, metastaz ve anjiyogenez mekanizmalarını değerlendirmek için geniş bir onkoloji araştırmaları yelpazesinde kullanılmıştır (Stern, 2005; Zijlstra ve ark. 2006; Liu ve ark. 2013; Mu ve ark. 2014). Yetişkin tavuk, kanserin temel genetik temelini ayırt etmeye yardımcı olurken, mevcut onkoloji araştırması civciv embriyosuna odaklanır. James Murphy, çeşitli dokuları yetişkin ve embriyonik tavuklara naklederek immünolojik soruları ele aldı. Murphy, gelişimsel güne kadar civcivlerin vasküler koryoallantoik zarında (CAM) sıçan dokusu transplantlarının erişkin tavuklarda büyüyemediğini gösterdi (Murphy, 1914a, 1914b). Bu, gelişmekte olan civcivin doğal bağışıklık yetersizliğini gösterdi. Aslında, bağışıklık sistemi gelişiminin yaklaşık 2 haftasına kadar çalışmaya başlamaz (Janković ve ark. 1975). Bu özellik, piliçleri tümör ksenograftına uygun hale getirir (Stevenson ve Wood, 1918) ve CAM, tümör anjiyogenezi ve kanser metastazı için değerli bir modeldir. Murphy'nin gelişen bir embriyonun CAM'sinde yetişkin bir tavuğun yetkin immün hücrelerini kültürlenme yöntemi, kısa süre sonra transplantimmün yanıtlarının analizi için deneysel bir sisteme genişletildi (Coppleson ve Michie, 1965). Önemli olarak, gelişmiş bir bağışıklık sisteminin bu eksikliği, civciv CAM'ı, nakledilen insan tümörlerinin kültürü için bir kültür platformu olarak etkinleştirir. Civcivin biyolojik bir model olarak kullanışlılığı, fiziksel özellikleriyle hızlandırılmıştır. Gelişmekte

olan hayvan, doğal olarak sabit ve kendi kendine yeten bir yapıya sahip olduğundan, sürekli gözlemle kapsamlı manipülasyon gerektiren karmaşık araştırma çalışmalarına kolayca uyarlanabilir. Yumurta kendi kendine yetmektedir ve 37.5°C de ve %65 nemdeki normal gelişimi, yapay destek ortamı veya karmaşık kültür gereksinimleri olmaksızın hayvanların tutarlı bir şekilde yaşayabilmesini sağlar. Yumurtanın içinde yumurta içi civciv, normal fizyolojinin, hastalık patolojisinin ve deneysel manipülasyonun sonuçlarının görselleştirilebildiği, oldukça kontrollü, ancak erişilebilir ve nispeten şeffaf bir modeldir. Nispeten büyük boyutu, kalp hücrelerinin farklılaşmasını ve davranışını analiz etmek için özellikle avantajlıdır (Hamburger ve Hamilton, 1951). Embriyoyu yumurta kabuğundan ve kültüründen boşaltma yeteneği, exovo, biyolojiyi ve deneysel manipülasyonun sonuçlarını görüntülemek için eşsiz bir şeffaflık penceresi sağlar (Kain ve ark. 2014).

Biyomedikal araştırmada uzun ve verimli bir geçmiş, civcivleri insan biyolojisi için bir model olarak tanımlar. Kalbin harekete geçirdiği yönlü dolaşımın tanımı ve onkojenler ile kanser oluşumu arasındaki bağlantı da dahil olmak üzere temel keşifler, kalp biyolojisi ve kanserdeki faydasını göstermektedir. Geçen yüzyılda birkaç omurgalı ve omurgasız hayvan modelinin daha yakın zamanda gelişine rağmen, civciv, omurgalı biyolojisi için yaygın olarak kullanılan bir model olmaya devam ediyor ve izlenebilir bir biyolojik şablon sağlıyor. Kuş genomuna uygulanan yeni moleküler ve genetik araçlarla, civciv embriyosunda normal gelişimin ve zor hastalık süreçlerinin keşfi hızlanıyor. Dahası, görüntüleme ve civciv kültür teknolojilerindeki ilerleme, doku emorfojenez, anjiyogenez ve kanser metastazı gibi dinamik biyolojik olayların gerçek zamanlı görselleştirilmesini ilerletmektedir. Yeni teknolojiler ve göreceli bakım kolaylığı ile birleşen zengin bilgi birikimi, kardiyakbiyoloji ve kanser araştırmalarında civciv embriyosu için genişleyen bir fayda önermektedir (Kain ve ark. 2014).

Tavuk blastodermi, opaca alanı ile çevrili iç alan pellucidadan oluşan yassı dairesel bir disk olarak gelişir. Embriyonun tüm dokuları, pellucida bölgesinin çoğunluğundan oluşur, kalan alan pellucida ve sadece ekstraembriyonik yapılar oluşturur. Gastrulasyon başlamadan önce, civciv blastoderminin iki katı vardır; epiblast ve altındaki hipoblast. Hipoblast daha sonra perifere süpürülür ve embriyoya

uygun şekilde katkıda bulunmaz, ancak önemli bir modelleme rolü olabilir (Withington, 2000).

Dairesel pellusida bölgesindeki asimetrinin ilk belirtisi, Hamburger ve Hamilton çalışmasında evre 2'de Roller orak olarak bilinen gelecekteki arka uçta epiblastın kalınlaşmasıdır (Hamburger ve Hamilton, 1951).

Bu, epiblast hücrelerinin lateral ve anterolateral pozisyonlardan blastodermin arka yarısında orta hatta doğru süpürmesini başlatır. Hücreler orta hatta birleşip yoğunlaştıkça, embriyonun ön tarafına doğru uzamaya başlayan ilkel çizgiyi oluştururlar. Çizgi uzadıkça, kalınlaşmış duvarlarındaki hücreler şekil değiştirir. Şişenin boynu hücreleri yüzeyle temas halinde tutarak, çizgi boyunca dar bir oluk oluşumuna neden olan bir şişe şekli elde ederler. Çizgi tam uzunluğa yaklaşırken, ön ucunda Hensen'in düğümü olarak bilinen özel bir bölge oluşur.

Gastrulasyon, tek tek hücrelerin eşgüdümlü, kitlesel bir göçü, çizginin oluşundan aşağıya doğru, sonra yanal ve anterior olarak yayılmasını oluşturur. Giriş yapan ilk hücreler embriyonik endoderm hücreleridir. Bunlar, hipoblastı yavaş yavaş pellucida alanının kenarına doğru iterek, çizginin ön kısmının altındaki hipoblasta kendilerini sokarlar. Mezodermal hücreler daha sonra geldikleri epiblast ile yeni oluşan endoderm arasında göç ederler. Hücreler tabakalaşırken, bunların yerini orta hatta doğru hareket eden ve sırayla çizgi boyunca giren epiblastın bitişik alanları alır. Bu nedenle, ilkel çizgi devam etse de, onu oluşturan hücreler aynı yerde kalmaz ve sürekli olarak değiştirilir.

Tam uzunluktaki çizgi aşamasından sonra, düğüm, embriyonun arka tarafına doğru geriler (HH evre 4-k sonrası). Bunu yaparken, önce prekordal doku ve sonra notokord hücreler eksenel mezodermi oluşturmak için düğümün önünden ayrılırlar (Withington, 2000).

2.7.1. Cıvciv Embriyo Gelişim Aşamaları

Cıvciv yumurtasında gelişimi kontrol eden merkezi bölgeye çekirdek veya bir diğer ismiyle blastodisk denir. Bir tavuk yumurtasının temel yapısını en az 10 bölge oluşturmaktadır (Singh, 2019). Bu bölgelerden ikisi embriyonun oksijen aldığı bölge

olan yumurta sarısı ile embriyonun besinlerini aldığı bölgedir. Diğer sekiz bölge, iç ve dış kabuk zarları, chalaza ve ince albümin, germinal disk, yumurta sarısı zarı ve hava hücresidir. Germinal disk civciv gelişimi sırasında çok önemli yere sahiptir. Çünkü bu bölge yağısındaki blastodisk aracılığıyla endoderm, ektoderm ve mezoderm oluşumunu sağlar (Watt ve ark., 1993).

Tavuk yumurtasında döllenme infundibulum veya yumurta kanalında meydana gelir ve tavuk embriyosu blastodiskte tam olarak parçalanır. Bu nedenle, bölünme modeli diskoidmeroblastik olarak adlandırılır. Böyelikle Hensen'in düğümü aracılığıyla üç germ katmanının oluşumu düzenlenir (Sellier ve ark. 2006). 18., 24., 33., 40. ve 48. saatlerdeki civciv embriolarının enine kesitleri birbirlerine benzer yapılar göstermektedir. 18 saatlik embriyoda ilkel çizgi görülür ve bu da gastrulasyon sırasında gerekli yapıların oluşmasına olanak sağlar. Ayrıca opaca ve pellicida bölgesi de belirgindir. Gelişimin bu aşamasında, göç eden hücreler mezoderm ve endodermilerin oluşumuna yol açar. Orta bağırsak, ektoderm tarafından kapsanan ilkel çizgi aracılığıyla oluşur (Singh, 2019).

24 saatlik embriyoda embriyonun nöral tüp gelişimini sağlayacak olan notokord belirgin bir yapıdır. Ayrıca somitler ve nöral oluk da belirgindir. Ek olarak, vücut mezoderminin yanı sıra splanknopleurik mezenkim de belirgindir. Bu, sinir sisteminin gelişimini gösteren en önemli belirteçtir (Watt ve ark., 1993; Singh, 2019).

33-40 saatlik embriyo kesitlerinde baş, kalp ve gövde ile birlikte diğer yapılar da ortaya çıkmaya başlar. Embriyonun baş kısmında mezoderm, endoderm ve epidermis açıkça görülmektedir. Ayrıca yumurta yapılarının ve beyin bölgesinin gelişmekte olduğu da görülmektedir. Beyin özelliklerini ortaya çıkaran iki bölge, optik vezikül ve proensefalon belirgin bir şekilde fark edilmektedir. Kalp ve gövde bölgesi için notokord, endokardiyum ve orta bağırsak iyi gelişmiştir. Ek olarak, ventral aort kökü ve dorsal aort görülebilmektedir. Ayrıca vitellin damarlar ve yanıl vücut kıvrımları belirginleşmiştir. Notokordun üzerindeki sinir tepesi de görünmektedir (Watt ve ark., 1993; Singh, 2019).

48 saatlik embriyoda; kalp, omurilik ve kalbin yanı sıra tüm beyin yapıları belirgin bir şekildedir. Net bir şekilde görülebilen 3 beyin bölgesi mezensefalon, diensefalon ve telensefalon'dur. Yapı gelişmekte olan embriyoya benzediği için civciv embriyosunun sagittal bölümü daha iyi anlaşılmaktadır (Watt ve ark., 1993; Singh, 2019).

2.7.2. Civciv Embriyosu Göz Gelişimi

Civciv embriyo gelişimi sırasında göz nöroektoderm, yüzey ektoderm ve crista neuralis kökenli mezoderm'den köken alır. Göz gelişimini başlatan taslak, prosencephalon kıvrımının her iki tarafında bir çift sıg oluk halinde ortaya çıkar. Anterior nöropor'un kapanması sonrasında bu oluklar vesicula optica'ları şekillendirir. Vesicula optica'lar laterale doğru genişler ve duvarları yüzey ektodermi ile temas eder. Böylece vesicula optica'ların nöroepiteli, yüzey ektodermini, lens taslağını oluşturmak üzere indükler. Bu süreçten sonra vesicula optica'lar konkav bir şekil almaya başlar ve calices opticus'lara dönüşür. Vesicula optica'ların kök kısmının daralması sonucu ise optic sap oluşur. Calices opticus'un ventral sınırında optic sapın ventral yüzü boyunca devam eden fissura choroidea adı verilen bir oluk oluşur. Fissura choroidea gelişmekte olan retina ve lens'in beslenmesini sağlayan hyaloid kan damarları için bir geçiş yolu sağlar. Embriyonik dönemin sonuna doğru fissura choroidea'nın kapanır ve hyaloid damarlar optic sap tarafından çevrelenir. Calices opticus'un gelişmesiyle, lens taslağı vesicula optica'nın kenarına invagine olur ve lens vezikülünü şekillendirir (Bronner-Fraser, 2008).

Lens vezikülünün şekillenmesinden kısa süre sonra, vezikülün arka duvarındaki epitel hücreleri uzamaya ve vezikülün ön duvarına doğru çoğalmaya başlar. Gelişim esnasında bu epitel hücreleri köklü bir değişikliğe uğrar ve kristalinler olarak adlandırılan çok miktarda proteini içeren şeffaf uzun hücrelere dönüşür. Başlangıçta normal hücre organellerine sahip olan bu hücreler, daha sonra bu organellerin apoptozise uğramasıyla şeffaf kristalinlerden oluşan yapıya dönüşür.

Retina, calices opticus'un karşı karşıya gelen duvarlarından gelişir. Başlangıçta, calices opticus'un dış duvarı incedir ve pigmentasyona uğrayarak retina'nın pigmentli tabakasını oluşturur. Dış duvar aynı zamanda corpus ciliaris ve iris'in

şekillenmesine de katılır. Calices opticus'un iç duvarının nöroepitel hücreleri farklılaşarak, retina'nın ışığa duyarlı basil ve koni hücreleriyle, bipolar ganglion hücreleri ve destek görevi yapan glia hücrelerini içeren özel katmanlarını oluşturur. İris ve retina arasındaki ışığa duyarlı olmayan (non-visual) bölge, processus ciliaris'leri oluşturmak üzere kıvrım oluşturur. Processus ciliaris'ler ve lens arasındaki mezenşim hücreleri, ışınal (radyer) iplikler halindeki lensin asıcı ligamentlerini yapar. Genç fetal dönemde irido-pupillar membran dağılır ve lens, ligamentum suspensorium ve iris'in yerleştiği boşluk, camera posterior'u şekillendirir. M. ciliaris'ler, lig. suspensorium'un gerilmesini kontrol eder. Bu ligament, lensin şeklini düzenler ve böylece görsel akomodasyonu sağlar. Retina'nın ışığa duyarlı olmayan kör kısmının dış yüzündeki mezenşim dokusu, iris'in bağ dokusu elementleriyle pupillanın dilatatör ve sphincter kaslarının oluşumuna katkıda bulunur. Ayrıca ışığa duyarlı olmayan bölge, processus ciliaris'i oluşturmak üzere kıvrım oluşturur.

Erken gelişim döneminde, calices opticus'u saran bir miktar gevşek mezenşim dokusu retina ve lens arasındaki bölgeye göç eder. Bu mezenşim hücreleri corpus vitreum'u oluşturur. Corpus vitreum'un beslenmesini a. hyaloidea sağlar ve zamanla atrofiye uğrayarak hiyaloid kanal olarak adlandırılan kanalı oluşturur. Lens ve yüzey endodermi arasındaki bölgede bulunan mezenşim hücreleri iki tabakaya ayrılır ve bunların arasında camera oculi anterior oluşur (Bronner-Fraser, 2008)

2.8. Hamburger ve Hamilton Evrelerinde Göz Gelişimi

Hamburger-Hamilton civciv gelişimini 45 seri kronolojik evreye ayırmıştır. Bu evrelemeye göre göz gelişimi evre 9'da 29. ve 33. saatler arasında primer optik veziküllerin oluşmasıyla başlar. Çalışmamızın deney aşamasının sonlandırıldığı 17. güne kadar Hamburger-Hamilton evrelerinde göz gelişimi ile ilgili süreçler aşağıda özetlenmiştir;

Evre 9 (29–33 saat): Primer vesicula optica'lar oluşmaya başlar.

Evre 10 (33–38 saat): Vesicula optica'lar net değildir (Resim 2.15).

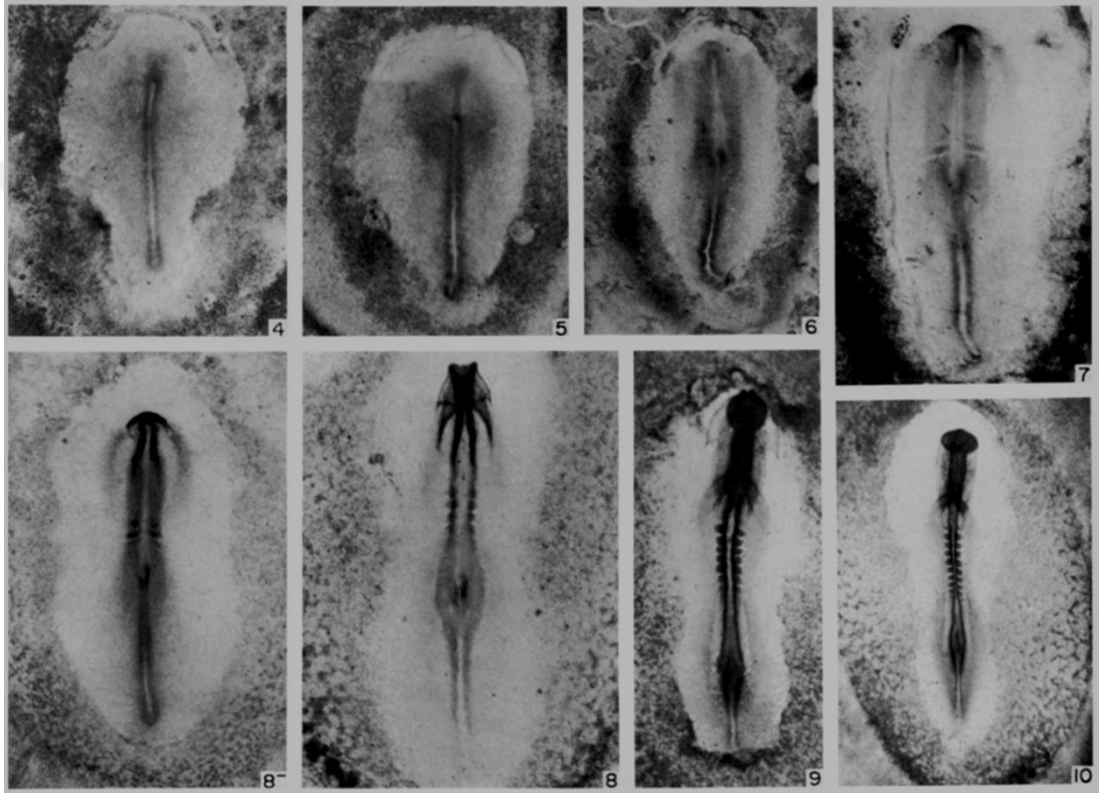
Evre 11 (40–45 saat): Vesicula optica'lar belirginleşmiştir.

Evre 12 (45–49 saat): Primer vesicula optica'lar ve optik sak net bir şekilde görülür.

Evre 14 (50-53 saat): Lens taslağı oluşur.

Evre 15 (50-55 saat): Optik çukur tamamen oluşur. İris bölgesinde farklı iki çift kontur bulunur.

Evre 19 (68-72 saat): Gözlerde pigmentasyon henüz belirgin değildir.



Resim 2.15. Hamburger Hamilton civciv embriyo gelişim sınıflandırmasına göre Evre 4-10 arası embriyoların gelişim aşamaları (Hamburger ve Hamilton, 1951)

Evre 20 (70-72 saat): Göz pigmenti soluk gri bir renk almıştır.

Evre 21 (3. gün): Göz pigmenti rengi soluk gri olarak görülmeye devam eder.

Evre 22 (3.5. gün): Göz pigmentasyonu belirgin hale gelmiştir.

Evre 30 (6.5. gün): Fissura choroidea'nın her iki tarafında birer tane skleral papilla görülür hale gelmiştir. Bazen net olmayıp belirsiz olabilir.

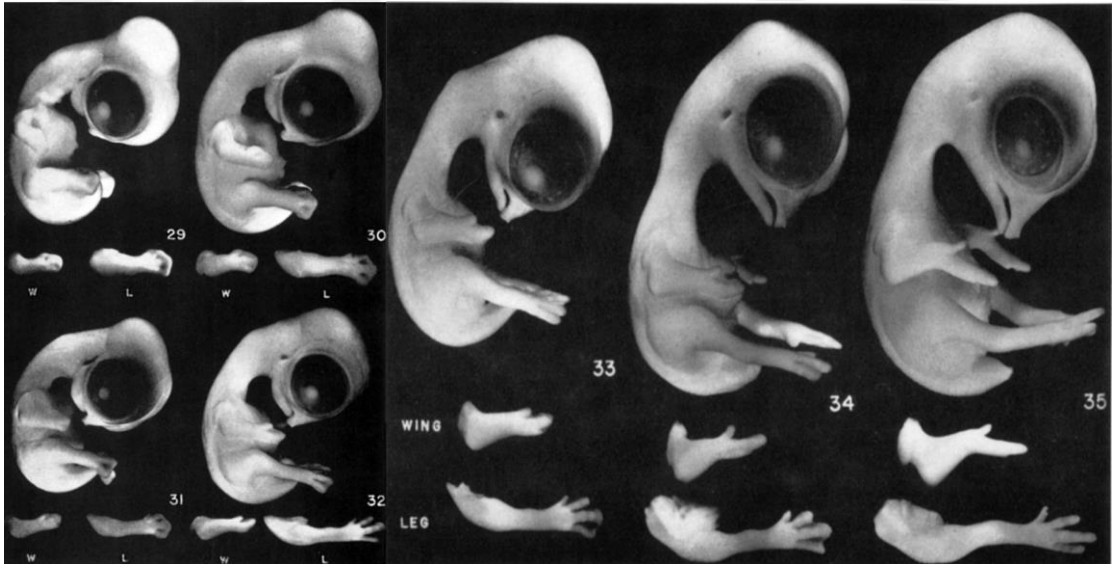
Evre 31 (7. gün): 4 tanesi fissura choroidea'nın yanında dorsal tarafta, 2 tanesi bunların karşı tarafında olmak üzere 6 adet skleral papilla belirgin hale gelmiştir.

Evre 32 (7.5. gün): Sırtta ve ventral tarafta birer grup olmak üzere 6 ila 8 adet skleral papilla görülmektedir. Çember henüz kapanmamıştır.

Evre 33 (7.5-8. gün): Çenenin ortasına yakın bir ventral noktada eksik bir papilla için boşluk ile neredeyse tam bir daire oluşturan on üç adet skleral papilla görülür hale gelmiştir.

Evre 34 (8. gün): Skleral papilla sayısı 13-14'a ulaşmıştır. Niktitatif membran (üçüncü göz kapağı), gözün dış kenarı (göz kapağı) ile skleral papilla arasında yarıya kadar uzanır.

Evre 35: Niktitatif membran dikkat çekici bir şekilde büyümüş ve skleral papilla'ya yaklaşmıştır. Göz kapakları (Niktitatif membran dışında) gagaya doğru uzamış ve göz küresini aşırı büyötmeye başlamıştır. Göz kapaklarının çevresi elipsoidal hale gelmiştir (Resim 2.16).



Resim 2.16. Hamburger Hamilton civciv embriyo gelişim sınıflandırmasına göre Evre 29-35 arası embriyoların gelişim aşamaları (Hamburger ve Hamilton, 1951)

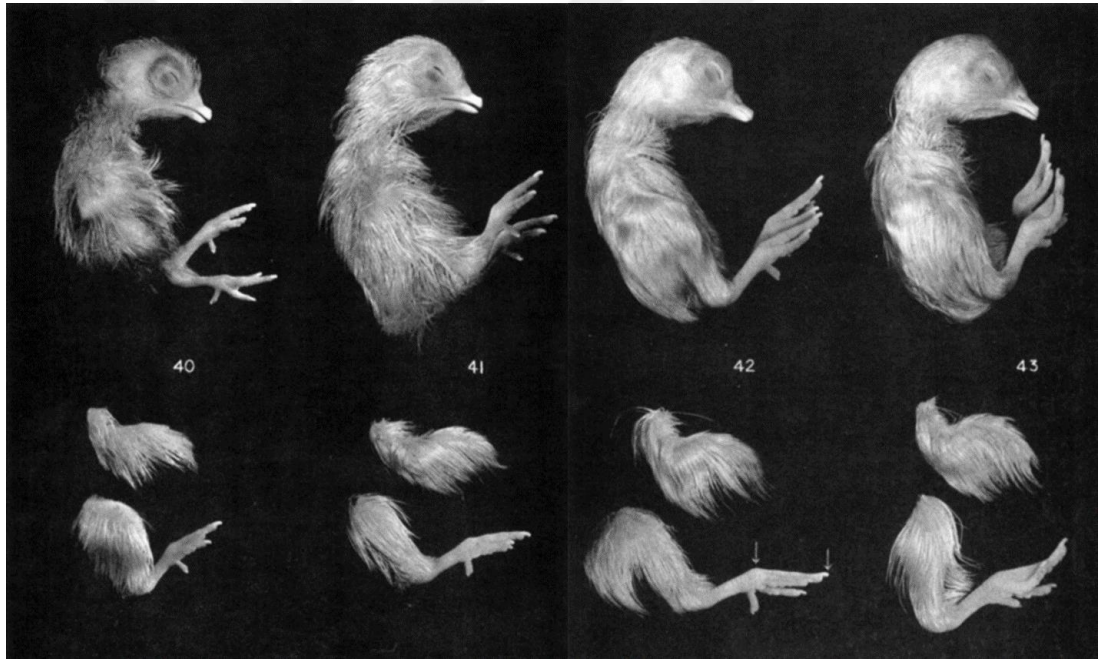
Evre 36: Niktitatif membran sclera'yı kaplar papilla ve cornea'ya yaklaşır. Alt göz kapağı cornea seviyesine kadar büyümüştür. Kapakların çevresi elips şeklini almıştır.

Evre 37: Niktitatif membran cornea'nın ön kenarına kadar büyümüştür. Üst kapak cornea'nın dorsal kenarına ulaşmıştır. Alt göz kapağı cornea'nın üçte birini kaplamıştır. Göz kapaklarının çevresi daralmış ve ventral olarak düzleştirilmiş, bikonveks olarak görülür.

Evre 38: Alt göz kapağı cornea'nın üçte iki ila dörtte üçünü kaplar. Göz kapakları arasındaki açıklık azalmıştır.

Evre 39: Göz kapakları arasındaki açıklık ince bir çizgi şekline gelmiştir.

Evre 43 (17. gün): Bu evre çalışmamızdaki embriyoların yumurtalardan çıkarılıp lens örneklerinin diseke edildiği evredir. Bu evrede embriyo gelişimi tamamlamaya çok yakındır (Hamburger ve Hamilton, 1951), (Resim 2.17).



Resim 2.17. Hamburger Hamilton civciv embriyo gelişim sınıflandırmasına göre Evre 40-43 arası embriyoların gelişim aşamaları (Hamburger ve Hamilton, 1951)

2.9. Tıp Alanında Deneysel Hayvan Modellerinin Kullanımı ve Avantajları

Deneysel araştırmalar, bir konuyu aydınlatmaya yönelik çözüm önerileri sunmak, bir hipotezin varlığını veya yokluğunu ortaya koymak için yapılan planlı ve bilimsel çalışmalar olarak tanımlanabilmektedir (Cook ve ark., 1997; Özgür, 1999).

Tıp alanında yapılan araştırmalarda deney hayvanlarının kullanımı yaygın olmakla birlikte, özellikle farmasötik gelişmeler, kanser, ilaç maruziyeti, toksisite ve moleküler yolak çalışmaları gibi birçok alanda tercih edilmektedir (Baumans ve ark., 1993; Festing ve ark. 2002; Roberts ve ark. 2002; Wolfensohn ve Lloyd, 2008).

Deneysel bir hayvan modeli oluştururken birçok faktörün göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu açıdan bakıldığında deney hayvanının seçiminde soy, spontan hastalıklı, transgenik hayvan ve saf döl gibi özelliklere dikkat edilmeli ve planlanan deneye ait özellikteki hayvanlar seçilmelidir. Deneysel araştırmada kullanılması planlanan türe ait anatomik, fizyolojik ve davranış karakterlerinin bilinmesi de mutlak gerekli noktalar olarak ifade edilmektedir. Unutulmaması gereken önemli noktalardan birisi de deneysel hayvan modelleri her zaman orijinal durumu birebir temsil etmemekle birlikte, olası-muhtemel sonuçların ortaya koyulmasını sağlamaktadır (Utkan ve Cantürk, 2005).

Günümüzde yapılan bilimsel araştırmalarda en çok kullanılan deney hayvanları sıçan, fare ve tavşandır. Bununla birlikte kobay, hamster, köpek, kedi, domuz ve maymun gibi hayvanlarda deneysel çalışmalarda karşımıza çıkmaktadır (Maxwell ve Delaney, 1989; Festing ve Altman, 2002; Festing ve ark. 2002; Utkan ve Cantürk, 2005).

Bahsedilen deney hayvanlarının yanı sıra son yıllarda yapılan araştırmalarda deney hayvanı olarak civciv embriyoları da tercih edilmektedir (Duman ve ark. 2019; Ertekin ve ark. 2019, 2021, Vurmaz ve ark. 2019, 2021; Atay ve ark. 2020; Bozkurt ve ark. 2021)

Civciv embriyo modeline dayalı hücre biyolojisi, deneysel kanser ve ilaç maruziyeti çalışmaları avantajları ve günümüz bilimsel gelişmeleri doğrultusunda artmaktadır

(Rashidi ve Sottile, 2009). Bununla birlikte civciv embriyo modeline dayalı çalışmaların avantajları aşağıdaki başlıklardaki gibi sıralanabilir.

- Dölllenmiş yumurtalar, yılın her ayında kolayca temin edilebilir ve maliyet açısından ucuzdur (Timmer ve ark. 2001).
- Civciv embriyosu gelişim aşamalarına yönelik Hamburger ve Hamilton tarafından yapılan bilimsel çalışmaların varlığı neticesinde planlanacak çalışmalar için çok sayıda yumurta ile tek seferde istenen aşamada embriyoların elde edilmesi kolaydır (Belecky-Adams ve ark., 2008).
- Bir civciv embriyosu üzerinde birçok dokuda çalışma yapılabilir ve organların diseksiyonu kolay bir gerçekleştirilebilir (Belecky-Adams ve ark., 2008).
- Civciv embriyoları kimyasal bileşiklere karşı oldukça duyarlıdır ve erken dönem insan embriyolarına benzerlikleri nedeniyle, fetal programlama ve gelişimsel biyoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılabilir (Chen ve ark. 2014).
- Gözün embriyonik gelişim dönemi süresi kısadır ve kuluçka dönemi sonunda göz gelişimi tamamlanır. Civciv embriyosu gözleri oldukça büyüktür. Fazla miktarda doku varlığı göz ile ilgili çeşitli çalışmalarda avantaj sağlayabilir (Belecky-Adams ve ark., 2008). Civciv lensinin yapısı ve gelişimi, insan lensiyle yüksek derecede benzerlikler gösterir (Li ve ark. 2021).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışmanın Yeri ve İzni

Bu çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi (AFSÜ) Temel Tıp Bilimleri Bölümü Anatomi Anabilim Dalı'nda planlandı ve gerçekleştirildi. Çalışmanın TAS, TOS, GSH, MDA, kaspaz 3 ve kaspaz 9 değerlerinin analizi Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, TUNNEL boyama yöntemi ile apoptoz değerlendirilmesi ise Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışma için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na başvuruldu ve 26.08.2020 tarihli 49533702 sayılı Etik Kurul izni alındı. Ayrıca bu çalışma AFSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 20.LİS.002 numaralı proje ile desteklendi. Çalışmanın her aşamasında yapılan tüm işlemler etik kurul yönergesinde belirtilen kurallara uygun olarak gerçekleştirildi.

3.1.2. Deney Hayvanları

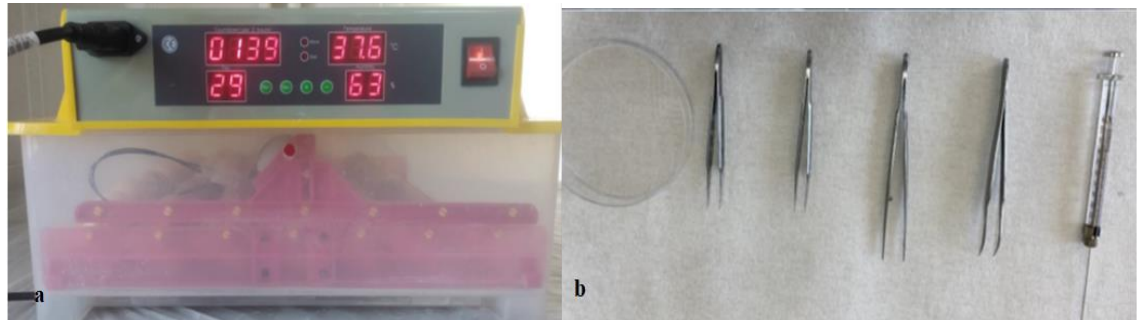
Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 60 ± 5 gr olan 125 adet özel patojen içermeyen (SPF-specific patogen free) döllenmiş yumurta kullanıldı. SPF yumurtalar İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü'nden temin edildi. SPF yumurtalar sivri uçları makinedeki yerleşim yerlerine oturacak şekilde inkübatöre yerleştirildi (Resim 3.1). SPF yumurtaların kuluçkaya koyuldukları gün 0. gün olarak kabul edildi.



Resim 3.1. a) Çalışmada kullanılan inkübatör, b) 0 günlük fertil SPF (specific patogen free) yumurtalar

3.1.3. Laboratuvar Koşulları

Çalışmanın deney aşamasında SPF yumurtalardaki embriyoların gelişim süreci için AFSÜ Anatomi Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan inkübatör kullanıldı. İnkübatör dışında kullanılan malzemeler; 125 adet 0 günlük, White Leghorn cinsi, fertil, 60 ± 5 gr ağırlığında SPF yumurta, büyük cam kap, petri kutusu, penset, forceps, Hamilton mikroyenjektörü, flaster ve eppendorf tüpleri şeklindedir. (Resim 3.2)



Resim 3.2. a) Çalışmada kullanılan inkübatör, b) Çalışmada kullanılan diseksiyon materyalleri

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada 125 tane döllenmiş SPF yumurta, her grupta 25 adet olmak üzere 5 grup oluşturuldu. SPF yumurtalar kuluçkaya koyuldukları 0. günden itibaren 15 gün boyunca inkübe edildikten sonra inkübasyonun 15. gününde HC enjeksiyonu yapıldı. HC uygulaması sonrası 3. saatte HC uygulanan yumurtalar arasından rastgele seçim yapılarak 3 adet deney grubu oluşturuldu ve yumurtaların tamamı tekrar kuluçka makinesine yerleştirildi. Deney gruplarına verilen dozlar için literatür taraması gerçekleştirilerek doz belirlendi (Renu ve ark., 2012).

HC Grubu: Bu gruptaki yumurtalar (n:25) 15 gün süre ile uygun koşullarda nemi ve sıcaklığı kontrol edilerek inkübe edildi. 15. günde yumurtalar inkübatörden çıkarıldı ve 0.1 ml hacminde HC (100 μ L içinde 0.5 milimol) Hamilton mikroenjektörü ile enjekte edildi. Daha sonra tekrar kuluçka makinesine yerleştirildi. İnkübasyonun 17. günü yumurtalar açılarak, embriyolar disseke edildi.

HC ve 50 μ L/yumurta KTY Verilen Grup (Düşük Doz): Bu gruptaki yumurtalar (n:25) 15 gün süre ile uygun koşullarda nemi ve sıcaklığı kontrol edilerek inkübe edildi. 15. günde yumurtalar inkübatörden çıkarıldı ve 0.1 ml hacminde HC (100 μ L içinde 0.5 milimol) Hamilton mikroenjektörü ile enjekte edildi. HC enjeksiyonundan üç saat sonra keten tohumu yağı, 100 μ L içinde 50 μ L/yumurta olacak şekilde uygulandı. Yumurtalar tekrar inkübatöre konulduktan sonra 17. gün yumurtalar açılarak, embriyolar disseke edilip dış ortama alındı.

HC ve 100 μ L/yumurta KTY Verilen Grup (Orta Doz): Bu gruptaki yumurtalar (n:25) 15 gün süre ile uygun koşullarda nemi ve sıcaklığı kontrol edilerek inkübe edildi. 15. günde yumurtalar inkübatörden çıkarıldı ve 0.1 ml hacminde HC (100 μ L içinde 0.5 milimol) Hamilton mikroenjektörü ile enjekte edildi. HC enjeksiyonundan üç saat sonra keten tohumu yağı, 100 μ L içinde 100 μ L/yumurta olacak şekilde uygulandı. Yumurtalar tekrar inkübatöre konulduktan sonra 17. gün yumurtalar açılarak, embriyolar disseke edilip dış ortama alındı.

HC ve 150 µL/yumurta KTY Verilen Grup (Yüksek Doz): Bu gruptaki yumurtalar (n:25) 15 gün süre ile uygun koşullarda nemi ve sıcaklığı kontrol edilerek inkübe edildi. 15. günde yumurtalar inkübatörden çıkarıldı ve 0.1 ml hacminde HC (100 µL içinde 0.5 milimol) Hamilton mikroenjektörü ile enjekte edildi. HC enjeksiyonundan üç saat sonra keten tohumu yağı, 100 µL içinde 150 µL/yumurta olacak şekilde uygulandı. Yumurtalar tekrar inkübatöre konulduktan sonra 17. gün yumurtalar açılarak, embriyolar disseke edilip dış ortama alındı.

Kontrol Grubu: Bu gruptaki yumurtalar 15 gün süre ile uygun koşullarda inkübe edildi. 15. günde yumurtalar inkübatörden çıkarıldı ve her bir yumurtaya 0.1 ml hacminde serum fizyolojik (SF) Hamilton mikroenjektörü ile enjekte edildi. Yumurtalar daha sonra tekrar kuluçka makinesine yerleştirildi. 48 saat sonra (inkübasyonun 17. günü) inkübasyon sonlandırıldı ve yumurtalar açılarak, embriyolar diseke edilip dış ortama alındı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney gruplarının dağılımı

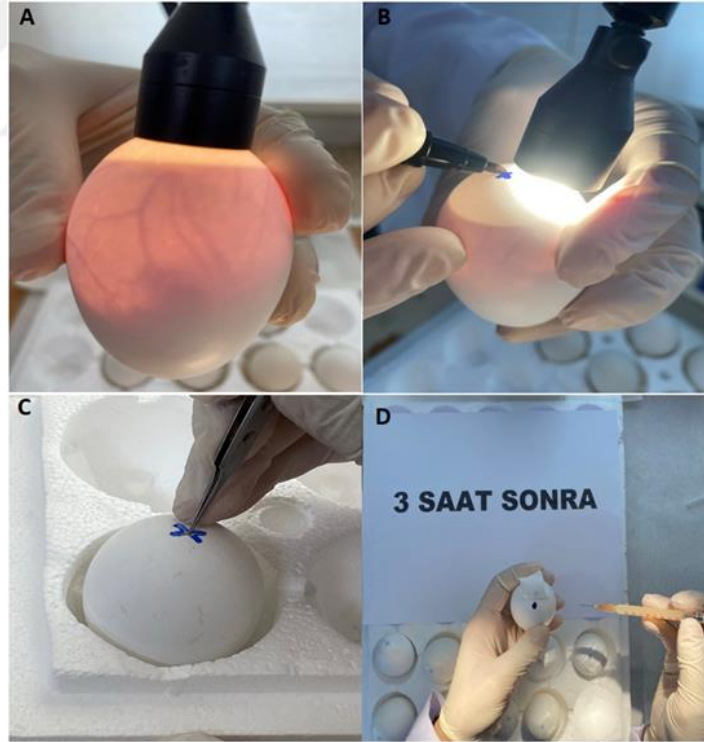
Gruplar	Verilen madde miktarı	Verilme şekli	Verilme miktarı	Verilme sıklığı	Verilme günü
Kontrol grubu	SF (100 µL)	Air Sac	0.1 ml	1 kez	15. gün
HC	HC (100 µL içinde 0.50 mikromol)	Air Sac	0.1 ml	1 kez	15. gün
HC + 50 µL/yumurta KTY (Düşük Doz)	HC (100 µL içinde 0.50 mikromol) + KTY (100 µL içinde 50 µL/yumurta)	Air Sac	0.2 ml	1 kez	15. gün
HC + 100 µL/yumurta KTY (Orta Doz)	HC (100 µL içinde 0.50 mikromol) + KTY (100 µL içinde 100 µL/yumurta)	Air Sac	0.2 ml	1 kez	15. gün
HC + 150 µL/yumurta KTY (Yüksek Doz)	HC (100 µL içinde 0.50 mikromol) + KTY (100 µL içinde 150 µL/yumurta)	Air Sac	0.2 ml	1 kez	15. gün

HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum, KTY: Keten tohumu yağı

3.2.2. Cıvciv Embriyolarına HC ve Antioksidan Madde Enjeksiyonu

Kuluçka makinesine konulduktan sonraki 15. günde yumurtalar kuluçka makinesinden çıkarıldı, yumurta kabuğu üzerine batikon ve ardından %70 etanol ile sterilize edildi. Işıık kaynağı altında yumurtanın hava kesesi bulundu. Hava kesesine denk gelen nokta kalem ile işaretlendi. Bu işaretin hafif yan yüzeyinden yumurta kabuğu delinerek yaklaşık 3 mm yarıçaplı pencereler açıldı. Buradan Hamilton mikroenjektörü ile daha önce hazırlanmış olan HC ilgili deney gruplarına enjekte edildi. Kontrol grubuna HC enjeksiyonu yapılmadı. Yumurtalarda açılan delikler steril drape ile kapatılarak tekrar kuluçka makinesine yerleştirildi.

HC enjeksiyonundan üç saat sonra yumurtalar tekrar çıkarıldı. KTY Tablo 3.1’de gösterilen ilgili dozlarda deney gruplarına enjekte edildi (Resim 3.3). KTY enjeksiyonu sonrasında yumurtalardaki delikler steril drape ile kapatılarak tüm gruplar kuluçka makinesinden 17. günde çıkarılmak üzere yerleştirildi.



Resim 3.3. İnkübasyonun 15. gününde cıvciv embriyolarına HC ve KTY enjeksiyonunun yapılması.

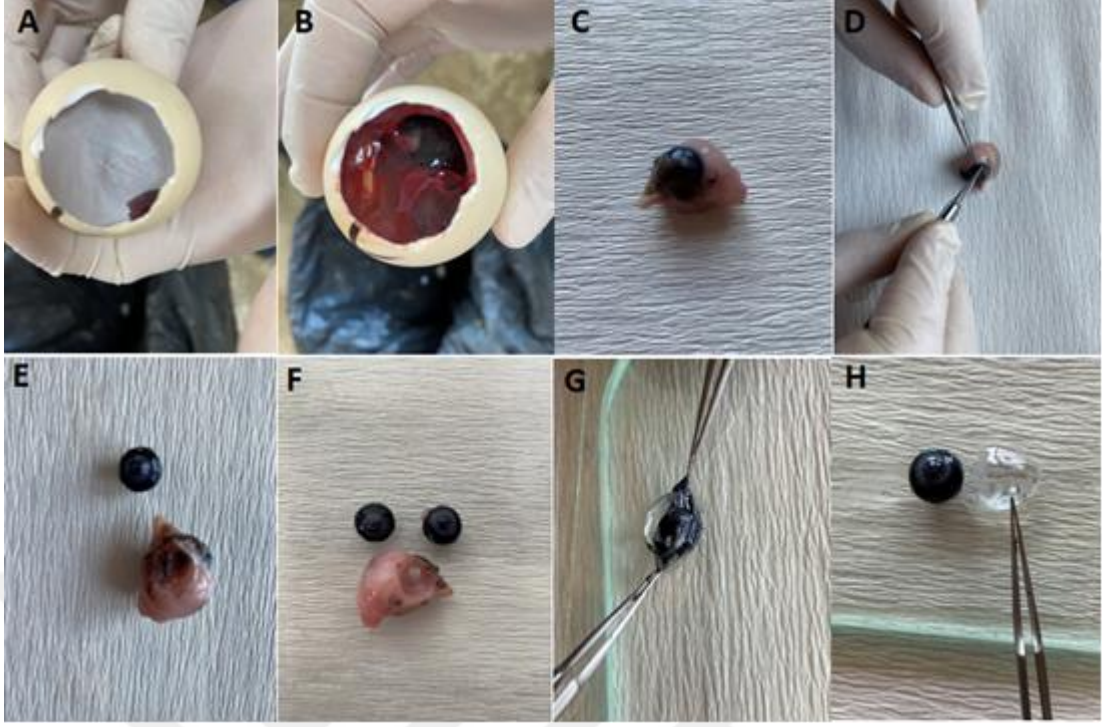
a) Işıık altında yumurtanın hava kesesinin bulunması, b) Hava kesesine denk gelen üst noktanın işaretleme, c) İşaretleme noktasından pencere açılması, d) HC enjeksiyonu sonrası yumurtaya KTY enjeksiyonu.

3.2.3. Cıvıv Embriyolarının Yumurtalardan çıkarılması ve İncelenmesi

Çalışmanın 17. gününde tüm yumurtalar gruplar şeklinde cihazdan alınıp kabukları kırıldı ve embriyolar yumurtadan çıkarıldı. Disseksiyon mikroskopunun altında embriyoların bulbus oculi'leri çıkartılıp her bir embriyoya ait lensler, morfolojik analiz için steromikroskop altında incelendi. Embriyoların elde edilme aşamasında yumurtaların bir kısmının döllenmemiş olması, enjeksiyon anında oluşabilen maniplasyonlar, disseksiyon aşamasında embriyolara zarar verilmesi ve bireysel hataların yapılması ile toplam 120 embriyo elde edildi.

Her embriyoya ve gruba göre ayrı ayrı katarakt dereceleri belirlendi ve lenslerin fotoğrafları çekildi (Her grupta 9 embriyonun lensi diseke edildi).

Fotoğraflar çekildikten sonra her gruba ait 25 embriyonun 7 tanesinin gözleri AFSÜ Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarında apoptotik sürecin belirlenmesi amacıyla histolojik parametreler çalışılmak üzere fiksatif solüsyonuna alındı. Geriye kalan 8 embriyonun lens örnekleri ise AFSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında uygun parametrelerinin analizi çalışılmak üzere eppendorf tüplerine konularak -20 C saklandı (Resim 3.4).



Resim 3.4. Embriyoların yumurtalardan çıkarılması ve bulbus oculi diseksiyonu. a) Yumurta kabuğunun kırılması, b) Embriyoya zarar vermeden zarın açılması, c) 17 günlük embriyonun kafatasının diseke edilmesi, d) Bulbus oculi'nin orbitadan ayrılma işlemi, e) Bir gözün tamamen diseke edilmesi, f) Bulbus oculi'leri çıkarılmış embriyo, g) Lensin ayrılma işlemi h) Bulbus oculi'den ayrılmış lens.

3.2.4. Katarakt Derecelendirmesinin Yapılması

Çalışmanın 17. gününde tüm civciv embriyoları gruplarına göre yumurtadan çıkarıldı. Daha sonra her grupta rastgele seçilen 8 embriyoya ait lensler, diseksiyon mikroskobu altında bulbus oculi'den ayrıldı. Her bir embriyoya ait lenslerin ışık mikroskobu altında katarakt derecelendirilmesi yapıldı. Derecelendirme 5 dereceli bir puanlama sistemi kullanılarak gerçekleştirildi.

Katarakt derecelendirmesi Lee ve ark.'nın çalışması referans alınarak yapıldı. Buna göre;

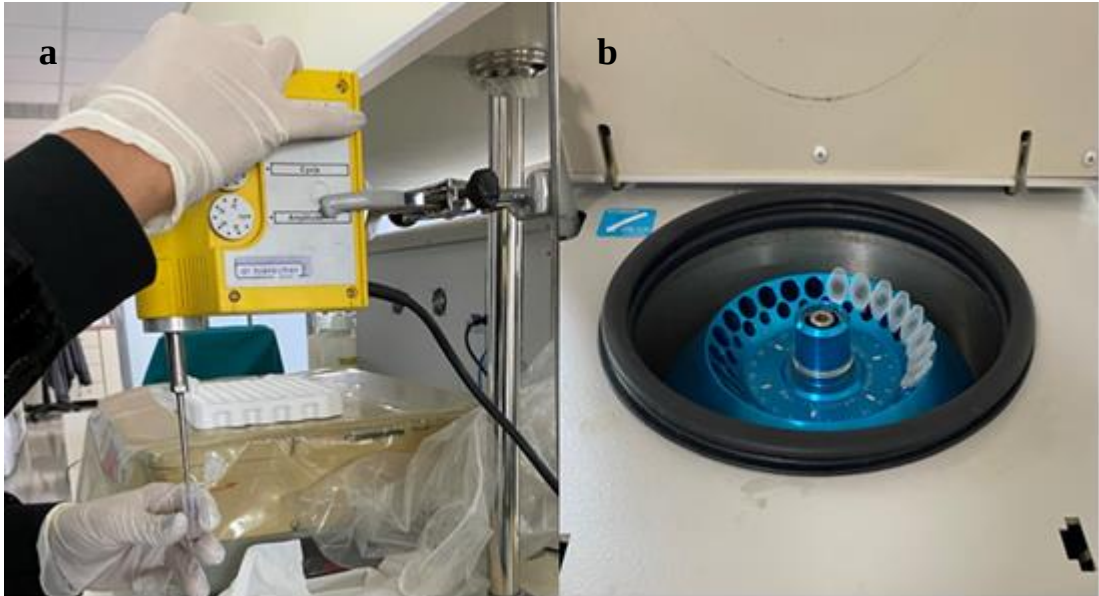
- 1: lens opaklığı yok,
- 2: lens çekirdeğinin çevresinde soluk beyaz halka,
- 3: lens çekirdeğinin çevresinde berrak beyaz halka,

4: lens çekirdeğinin opaklığı, çekirdeğin merkezine yayılmıyor,

5: çekirdeğin merkezine yayılan lens çekirdeğinin opaklığı (Lee ve ark., 1995)

3.2.5. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri ve Lens Homojenatının Hazırlanması

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında çalışılmak üzere lensler ayrıldı. Lens örnekleri çalışılmak üzere işlemler yapılmadan önce tartıldı. Her embriyodan alınan iki lens tek bir numune olarak kabul edildi. Tartım işlemi sonrası 0.1 M pH: 7.4 fosfat tamponundan ilave edilerek Ultra Turrax (IKA Works, USA) marka homojenizatörle buz içerisinde 24.000 devir/dk'da 1 dakika boyunca örnekler homojenize edildi. Homojenatlara daha sonra Dr. Hielscher (Germany) marka sonikatörle 20.000 cycle/sec olacak şekilde 1 dakika ultrasonikasyon gerçekleştirildi. Ardından homojenatlar 10.000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek supernatant ayrılmasına (Resim 3.5) müteakip, çalışılıncaya kadar -20 °C'de saklandı. Lens örneklerinden glutatyon (GSH), malondialdehid (MDA), total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS) seviyeleri ile oksidan ve antioksidan düzeyleri belirlendi. Aynı zamanda apoptotik marker olan kaspaz 3 ve kaspaz 9 seviyelerinin analizi için de uygun elisa kitleri kullanılarak biyokimyasal analizler gerçekleştirildi.



Resim 3.5. Biyokimyasal analiz için örneklerin hazırlanmasında kullanılan homojenizatör (a) ve sonikatör (b)

3.2.5.1. Biyokimyasal Ölçümlerin Yapılması

Doku homojenatından GSH düzeyleri BT-Lab marka (BT-Lab, Zhejiang, China) Chicken Glutathione Elisa Kiti kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar nmol/lens olarak verildi. Doku homojenatından TAS, TOS, MDA, kaspaz-3 ve kaspaz-9 düzeyleri AFG Bioscience (1818 Skokie Boulevard, Northbrook, IL 60062, USA) marka elisa kitleri kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar MDA için $\mu\text{mol/Lens}$, TAS için U/Lens, TOS için pg/Lens, kaspaz-3 ve kaspaz-9 için ng/Lens olarak verildi. Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA).

3.2.6. Histolojik Analiz

Çalışma kapsamında her gruptaki 25 embriyonun 7 tanesinin bulbus oculi'si AFSÜ Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarında histolojik ve apoptotik sürecin belirlenmesi amacıyla analiz edildi. Bu kapsamda örnekler histolojik doku takibi ve akabinde Tunel Boyama işlemlerine tabi tutuldu.

3.2.6.1. Histolojik Doku Takibi

Her gruptan 7 embriyoya ait bulbus oculi örnekleri histolojik doku takibi için önceden hazırlanmış fiksatif içine oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmek üzere atıldı. Bu fiksatif glasiyal asetik asit, formaldehit, serum fizyolojik ve %75 etanol solüsyonlarının sırasıyla 1:2:7:10 oranlarında karıştırılmasıyla elde edildi. Göz küresi yüzeyi sertleştiğinde, göz kürelerine arka kameradan fiksatif enjekte edildi ve 2 saat fiksatif içinde bekletildi. Göz örnekleri iğne ucu kullanılarak üst ve alt bölümlerden delindi. Bu sürecin sonunda örnekler 2 saat daha oda sıcaklığında fikse edildi. Daha sonra göz örnekleri %10 nötral formalin içinde fiksasyona tabi tutuldu. Fikse edilen dokular otomatik doku takip cihazında (Leica TP1050) rutin histolojik takibe alındı ve parafin içerisine sagittal olarak gömülerek parafin bloklar elde edildi. Bu bloklardan 4-5 μm kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamalar üstüne alındı. Tüm bu işlem basamakları sonrasında apoptotik hücreleri gözlemek amacıyla örnekler TUNEL boyamasına tabi tutuldu.

3.2.6.2. TUNEL Boyama Yöntemi

Apoptozisin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biri olan TUNEL boyama için aşağıdaki işlem basamakları gerçekleştirildi;

1. Örnekler deparafinize edildi ve 5 dakika PBS (phosphate buffered salin)'te yıkandı.
2. Örneklerle taze hazırlanmış Proteinaz K (20 µg/mL) ile 15 dakika muamele edildi.
3. Örnekler 2x2 dakika deiyonize su (dH₂O)'da yıkandı.
4. PBS içinde hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile oda sıcaklığında 5 dakika süreyle endojen preoksidaz blokajı yapıldı.
5. Örnekler 2x5 dakika PBS ile yıkandı.
6. Ardından dengeleme tamponu uygulandı.
 - Kesitin etrafındaki fazla sıvı hafifçe çekildi.
 - Örneğin üzerine 75 µL Equilibration Buffer uygulandı.
 - Oda sıcaklığında en az 10 saniye inkübe edildi.
7. Kesitlerin üzerine 55 µL TdT Enzyme damlatıldı.
8. 37 °C'de nemli bir etüv içerisinde 1 saat inkübe edildi.
9. Durdurma/ Yıkama Tamponu uygulandı. 15 saniye çalkalandı ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
10. İstenen sayıda örneği işlemek için yeterli miktarda Anti-Digoksinin Konjugatı çıkarılıp, oda sıcaklığında ısıtıldı.
 - Anti-Digoksinin Konjugatı uygulandı. Kesitler 3x1 dakika PBS ile yıkandı.
 - Fazla sıvı hafifçe çekildi ve etrafı dikkatlice kurutuldu.

- Herbir kesite 65 µL Anti-Digoksinin Konjugatı uygulandı.

- Oda sıcaklığında 30 dakika nemli bir odada inkübe edildi.

11. 4x2 dakika PBS ile yıkandı.

12. Kesitler yıkanırken Peroxidase Substrate hazırlandı.

13. Örnekleri tamamen kaplayacak kadar Peroxidase Substrate uygulandı (75 µL/5 cm²).

- Oda sıcaklığında 3 ila 6 dakika boyunca beklendi.

- Optimum boyama süresini belirlemek için mikroskop altındaki slayta bakarak renk gelişimi izlendi.

14. 3x1 dakika deiyonize su (dH₂O) su ile yıkandı.

15. Oda sıcaklığında 10 dakika boyunca metil yeşili ile zıt boyama yapıldı.

16. Saf alkolde 10 dip yapıldı ardından ksilenden geçirilerek kapatma solüsyonuyla kapatıldı.

3.2.6.3. Histolojik Görüntü Analizi

Her bir embriyodan elde edilen kesitlerde, lensin bulunduğu alan ışık mikroskobu (Nikon Eclipse E600) altında değerlendirildi. Değerlendirmeler yapılırken Nikon NIS Elements 4.2 Görüntü Analiz programı kullanıldı ve koyu kahverengi boyanan hücreler pozitif olarak kabul edildi. Her bir embriyoya ait lenslerde en az 300 hücre sayılarak apoptotik oran (TUNEL pozitif hücre sayısı/Toplam hücre) elde edildi ve istatistiksel olarak analiz edildi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Tüm verilerin istatistiksel analizi Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) programı kullanılarak yapıldı. Katarakt dereceleri, biyokimyasal parametreler (TAS, TOS, MDA, GSH, kaspaz 3 ve 9) ve apoptotik oran parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi kullanılarak analiz edildi. Post-hoc test

olarak Dunn testi kullanıldı. $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma ($M\pm SD$) şeklinde gösterildi.



4. BULGULAR

Çalışmamızda 125 adet döllenmiş SPF yumurta kullanıldı. Her grupta 25 tane olmak üzere 5 deney grubu oluşturuldu. Her gruptan katarakt dereceleri belirlenmesi (n:9), biyokimyasal analizlerin yapılması (n:8) ve histolojik parametrelerin değerlendirilmesi için (n:7) embriyolara ait bulbus oculi ve lens örnekleri ayrıldı.

4.1. Katarakt Derecelerine Ait Bulgular

Çalışmamızda her grupta 9 embriyoya ait lens örnekleri bulbus oculi'lerden diseke edilerek çıkarıldı ve her bir lens çifti katarakt derecelendirmesi için ayrıldı. Derecelendirme daha önce yapılan çalışmalar referans alınarak gerçekleştirildi. Beş dereceli katarakt derecelendirme ölçeği kullanıldı. Bu ölçeğe göre 1. dereceden 5. dereceye doğru lens opaklığı artmaktadır. 1. derecede lens opaklığı görülmezken, 5. derecede lens çekirdeğinin merkezine yayılan opaklık ile karakterize bir lens yapısı mevcuttur (Lee ve ark., 1995). Belirtilen literatür bilgisine göre lenslerin katarakt dereceleri belirlendi.

Kontrol grubunda gerçekleştirilen analiz neticesinde tüm embriyoların lensleri için ortalama katarakt derecesi 1 olarak tespit edildi. Lenslerde herhangi bir opaklığa rastlanmadı.

HC uygulaması yapılan grupta yer alan lenslerin 3 tanesinde 2., 6 tanesinde 4. derece katarakt gözlemlendi. HC grubunda ortalama katarakt derecesi 3.3 olarak belirlendi ve kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$).

Düşük doz KTY (50 µL/yumurta) ile tedavi edilen grupta yer alan lenslerin 2 tanesinde 2., 6 tanesinde 3. ve 1 tanesinde 4. derece katarakt gözlemlendi. Ortalama katarakt derecesi 2.9 olarak hesaplandı. Bu gruptaki ortalama katarakt derecesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık belirlenirken ($p<0.05$) düşük doz grubu ile HC verilen grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$).

Orta doz KTY (100 µL/yumurta) verilen gruptaki lenslerin katarakt dereceleri HC grubuna kıyasla azaldı. Grupta yer alan lenslerin 5 tanesinde 2., 4 tanesinde 3. derece katarakt gözlemlendi ve ortalama katarakt derecesi 2.4 olarak tespit edildi. Bu gruptaki ortalama katarakt derecesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p<0.05$).

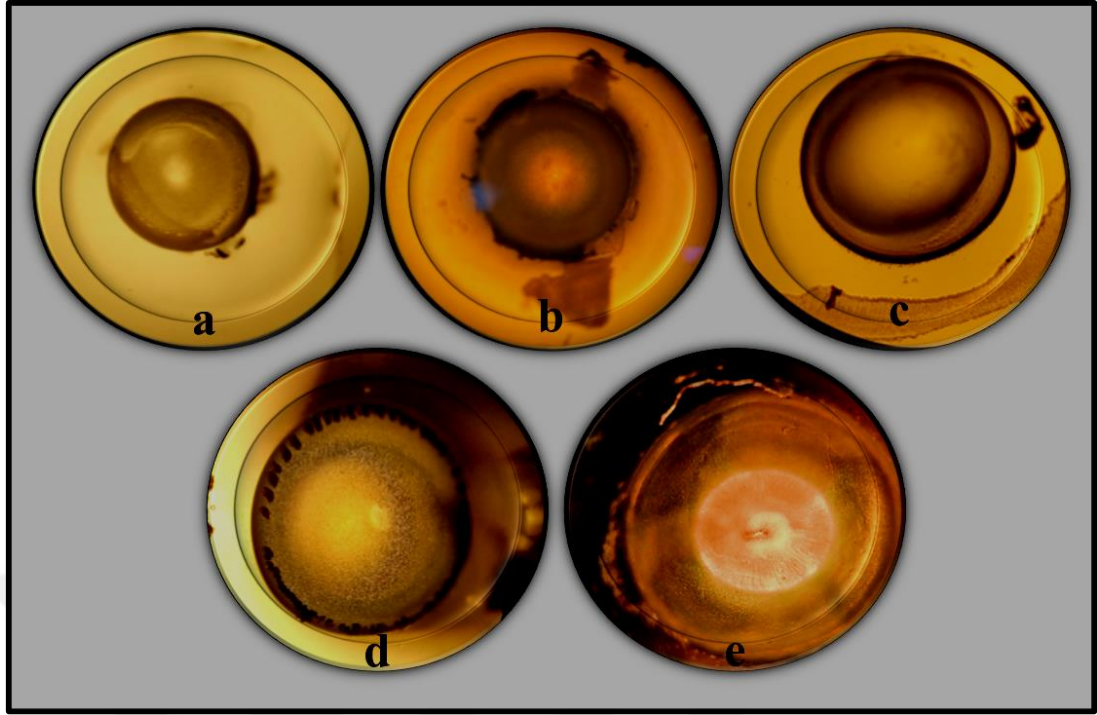
Yüksek doz KTY (150 µL/yumurta) ile tedavi edilen grupta ortalama katarakt derecesi 1.7 olarak hesaplandı. Gruptaki lenslerin 3 tanesinde 1., 6 tanesinde 2. derece katarakt tespit edildi. Yüksek doz KTY grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi. HC ve düşük doz grupları ile yüksek doz grubu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$).

Tüm gruplardaki lenslerin katarakt derecelerine ait veriler Tablo 4.1’de, katarakt derecelerine ait görseller Resim 4.1’de ve ortalama katarakt dereceleri ise Grafik 4.1’de gösterildi.

Tablo 4.1. Tüm gruplardaki lenslerin katarakt dereceleri

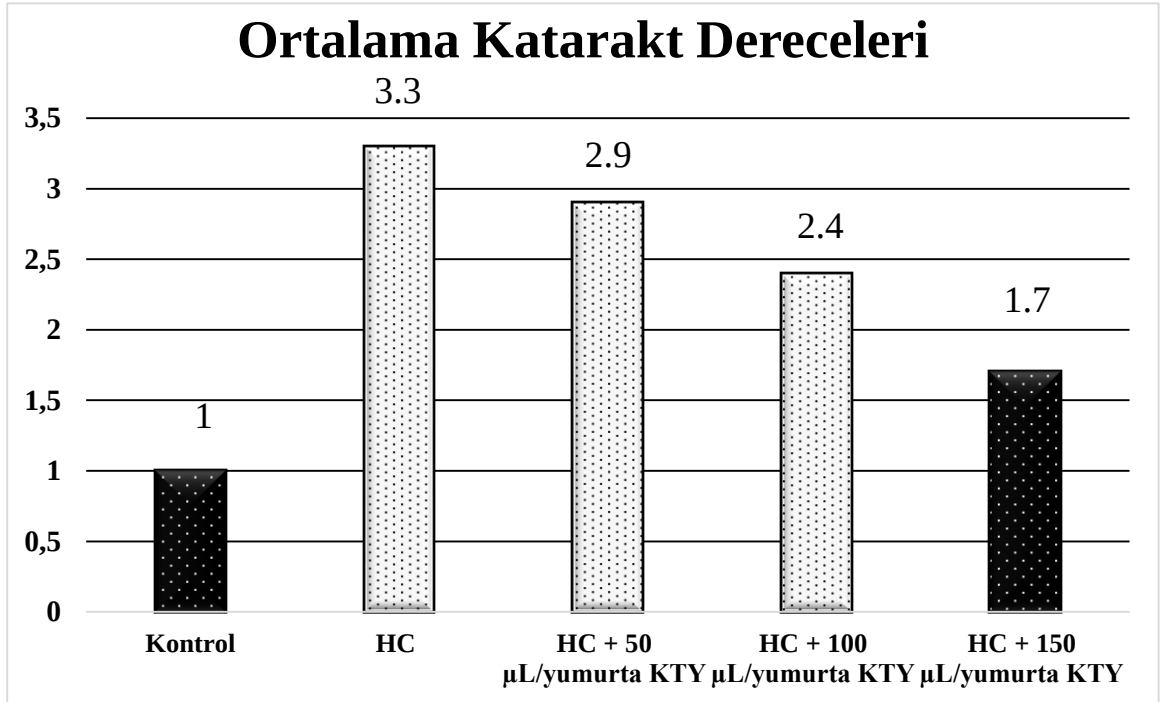
Grup	n	KATARAKT DERECELERİ							
		1	2	3	4	5	Ortalama	Min.	Max.
Kontrol	9	9	0	0	0	0	1	1	1
HC	9	0	3	0	6	0	3.3	2	4
50 µL/yumurta KTY (Düşük Doz)	9	0	2	6	1	0	2.9	2	4
100 µL/yumurta KTY (Orta Doz)	9	0	5	4	0	0	2.4	2	3
150 µL/yumurta KTY (Yüksek Doz)	9	3	6	0	0	0	1.7	1	2

HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum KTY: Keten tohumu yağı



Resim 4.1. Gruplara ait katarakt derecelerine ait görseller. a) Kontrol grubu, b) HC grubu, c) Düşük doz KTY grubu, d) Orta doz KTY grubu, e) Yüksek doz KTY grubu

Grafik 4.1. Tüm gruplara ortalama katarakt dereceleri. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum



4.2. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular

4.2.1. Glutasyon (GSH) Düzeyine Ait Bulgular

Çalışmamızda 8 embriyoya ait lens örnekleri biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi için ayrıldı. Her bir embriyoya ait iki lens tek numune olarak kabul edildi. Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda kontrol grubunda ortalama GSH düzeyi 6.97 ± 1.29 nmol/lens olarak belirlendi. Sadece HC uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla GSH değeri azaldı ve ortalama GSH değeri 4.30 ± 0.20 nmol/lens olarak bulundu. Kontrol grubu ile HC verilen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). KTY verilen tedavi gruplarında ise düşük doz grubundan yüksek doz grubuna doğru ortalama GSH düzeyleri sırası ile 4.60 ± 0.25 , 5.43 ± 0.34 , ve 6.06 ± 0.82 nmol/lens olarak belirlendi. Tedavi gruplarında uygulanan KTY doz oranına bağlı olarak HC enjeksiyonu ile azalan GSH seviyesinin arttığı gözlemlendi. Elde edilen veriler HC grubu ile karşılaştırıldığında orta ve yüksek doz KTY grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenirken, düşük doz KTY ile HC grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$). Ayrıca KTY verilen grupların kendi arasında karşılaştırma yapıldığında düşük doz ile yüksek doz KTY grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0.05$), orta ve yüksek doz KTY grupları arasında anlamlı fark tespit edilmedi (Tablo 4.2, Grafik 4.2).

Tablo 4.2. Tüm gruplara ait ortalama glutatyon (nmol/lens) düzeyleri

Grup	n	GSH			
		Ortalama±SS	Min	Max	p
Kontrol	8	6.97±1.29 ^{b,c}	5.30	8.93	p<0.05
HC	8	4.30±0.20 ^{a,d,e}	4.02	4.58	
50 µL/yumurta KTY (Düşük Doz)	8	4.60±0.25 ^{a,d,e}	4.22	4.87	
100 µL/yumurta KTY (Orta Doz)	8	5.43±0.34 ^{b,c}	4.86	5.97	
150 µL/yumurta KTY (Yüksek Doz)	8	6.06±0.82 ^{b,c}	5.12	7.51	

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: HC grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

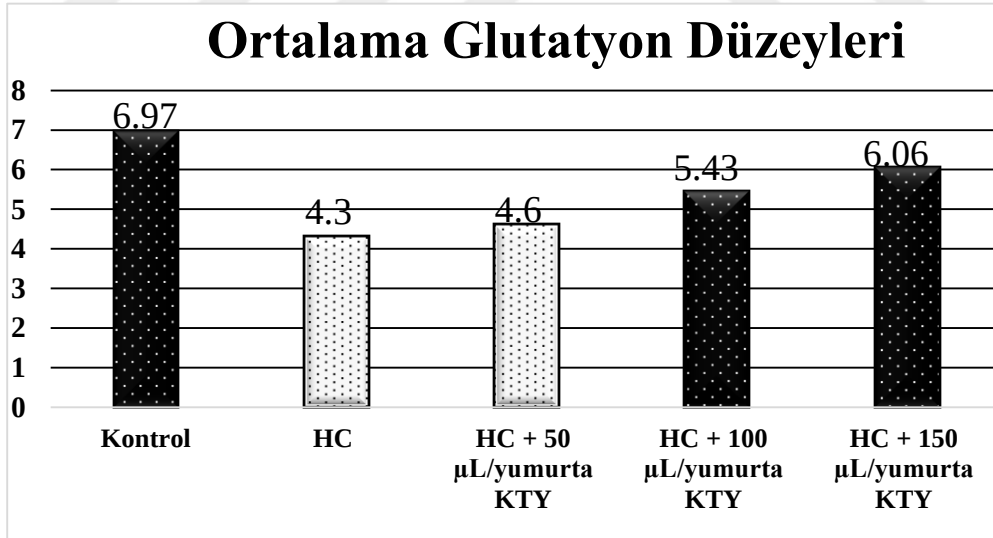
c: Düşük doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Orta doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

e: Yüksek doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum KTY: Keten tohumu yağı

Grafik 4.2. Tüm gruplara ait lenslerdeki glutatyon (nmol/lens) düzeyleri grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum



4.2.2. Malondialdehit (MDA) Düzeyine Ait Bulgular

Çalışmamızda yapılan biyokimyasal analizler sonucunda kontrol grubunda ortalama MDA düzeyi 3.72 $\mu\text{mol/lens}$ olarak belirlendi. Sadece HC verilen grupta kontrol grubuna kıyasla ortalama MDA düzeyi yükseldi ve $6.09 \pm 1.87 \mu\text{mol/lens}$ olarak hesaplandı. Kontrol ile HC verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$). KTY verilen gruplarda verilen doz oranına bağlı olarak HC enjeksiyonu ile artan MDA seviyesi kademeli olarak azaldı ve değerler sırasıyla 4.94 ± 0.73 , 4.27 ± 0.15 ve $3.93 \pm 0.47 \mu\text{mol/lens}$ olarak hesaplandı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HC ve düşük doz KTY gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenirken, orta ve yüksek doz KTY gruplarında anlamlı fark tespit edilmedi. KTY verilen gruplardan düşük doz ile yüksek doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken, orta ve yüksek doz KTY grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$), (Tablo 4.3, Grafik 4.3).

Tablo 4.3. Tüm gruplara ait ortalama malondialdehit ($\mu\text{mol/lens}$) düzeyleri

Grup	n	MDA			
		Ortalama $\pm$ SS	Min	Max	p
Kontrol	8	$3.72 \pm 0.70^{b,c}$	2.41	4.60	$p < 0.05$
HC	8	$6.09 \pm 1.87^{a,d,e}$	4.08	9.77	
50 μL /yumurta KTY (Düşük Doz)	8	$4.94 \pm 0.73^{a,e}$	3.97	6.04	
100 μL /yumurta KTY (Orta Doz)	8	4.27 ± 0.15^b	4.07	4.50	
150 μL /yumurta KTY (Yüksek Doz)	8	$3.93 \pm 0.47^{b,c}$	3.36	4.91	

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: HC grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

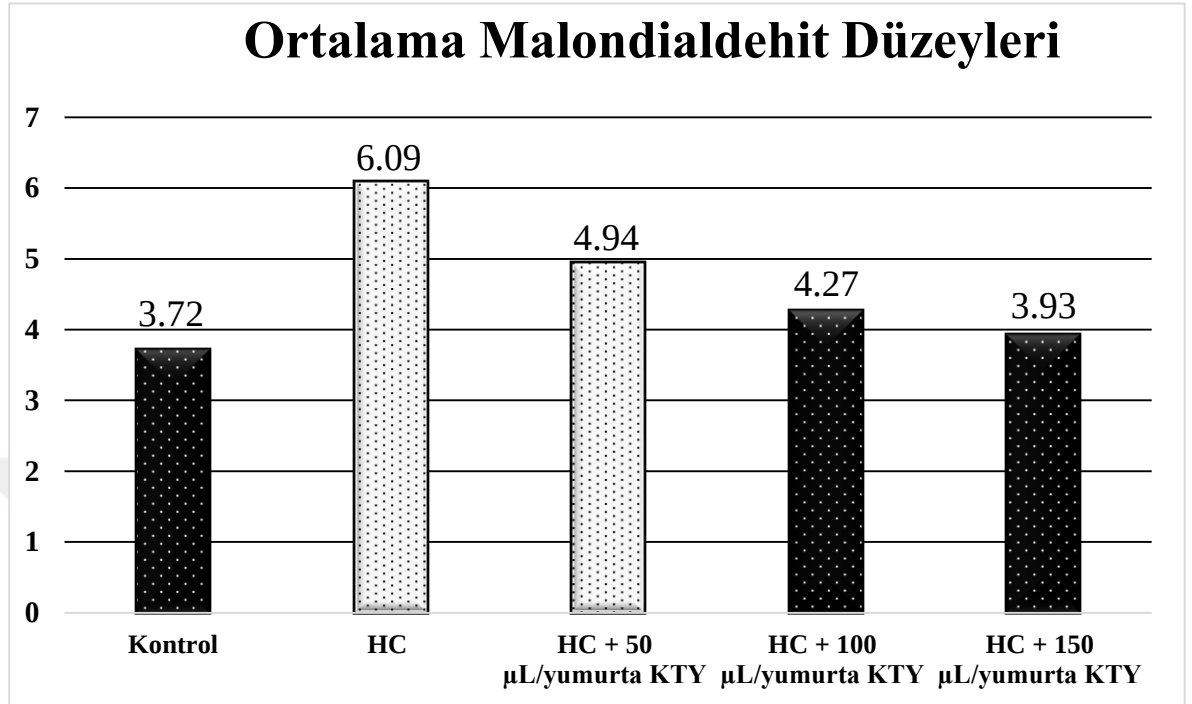
c: Düşük doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Orta doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

e: Yüksek doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

HC: Hidrokortizon hemisüsinat sodyum KTY: Keten tohumu yağı

Grafik 4.3. Tüm gruplara ait lenslerdeki malondialdehit ($\mu\text{mol}/\text{lens}$) düzeyleri grafiğı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum



4.2.3. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Düzeyine Ait Bulgular

Kontrol grubunda 8 embriyoya ait lens örneklerine ait biyokimyasal analizler sonucunda ortalama TAS değeri 13.03 ± 1.77 U/lens olarak tespit edildi. HC uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla TAS düzeyi azaldı ve ortalama TAS düzeyi 9.00 ± 0.84 U/lens olarak bulundu. Kontrol grubu ile HC enjekte edilen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). KTY verilen tedavi gruplarında ise düşük doz grubundan yüksek doz grubuna doğru ortalama TAS düzeyleri artarak sırası ile 10.53 ± 0.65 , 11.12 ± 0.38 ve 11.98 ± 1.28 U/lens olarak tespit edildi. Uygulanan KTY doz oranına bağlı olarak HC enjektörü ile azalan TAS seviyesinin arttığı ve elde edilen veriler HC grubu ile karşılaştırıldığında düşük grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmezken; orta ve yüksek doz KTY gruplarıyla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi. Ayrıca KTY verilen gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında sadece düşük ve yüksek gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 4.4, Grafik 4.4).

Tablo 4.4. Tüm gruplara ait total antioksidan seviyeleri (U/lens)

Grup	n	TAS			
		Ortalama±SS	Min	Max	p
Kontrol	8	13.03±1.77 ^{b,c}	11.05	16.24	p<0.05
HC	8	9.00±0.84 ^{a,d,e}	8.05	10.47	
50 µL/yumurta KTY (Düşük Doz)	8	10.53±0.65 ^{a,e}	9.14	11.09	
100 µL/yumurta KTY (Orta Doz)	8	11.12±0.38 ^b	10.60	11.66	
150 µL/yumurta KTY (Yüksek Doz)	8	11.98±1.28 ^{b,c}	10.63	13.95	

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: HC grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

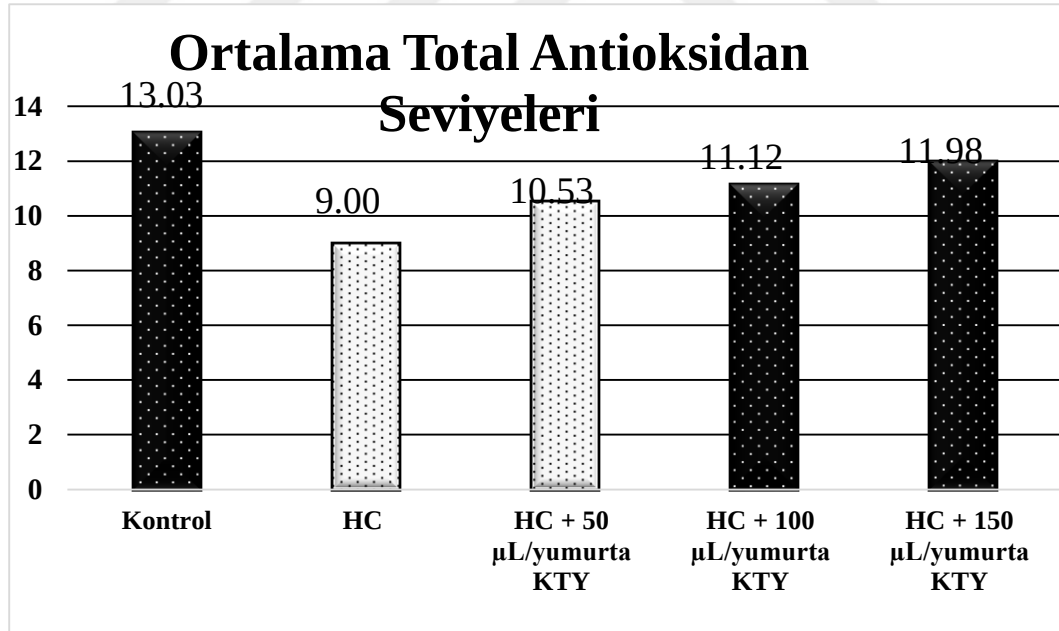
c: Düşük doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Orta doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

e: Yüksek doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum KTY: Keten tohumu yağı

Grafik 4.4. Tüm gruplara ait total antioksidan seviyeleri (U/lens) grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum.



4.2.4. Total Oksidan Seviyesi (TOS) Ait Bulgular

Kontrol grubundaki 8 embriyonun ortalama TOS düzeyi 144.19 ± 31.01 pg/lens olarak belirlendi. HC enjeksiyonu yapılan grupta, kontrol grubuna kıyasla TOS düzeyinde bir artış görüldü ve TOS değeri 266.30 ± 43.82 pg/lens olarak bulundu. Kontrol ile HC uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$). KTY uygulanan tedavi gruplarında ise düşük doz grubundan yüksek doz grubuna doğru ortalama TOS düzeyleri azaldı. Elde edilen veriler gruplar arasında karşılaştırıldı. Buna göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HC ve düşük doz KTY grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenirken ($p < 0.05$), kontrol grubu ile orta ve yüksek doz KTY grupları arasında anlamlı fark gözlemlenmedi. Ayrıca KTY verilen gruplardan düşük ile yüksek doz KTY gruplarının TOS düzeyleri arasında anlamlı fark tespit edilirken; orta ve yüksek doz KTY grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.5, Grafik 4.5).

Tablo 4.5. Tüm gruplara ait total oksidan seviyeleri (pg/lens)

Grup	n	TOS			
		Ortalama $\pm$ SS	Min	Max	p
Kontrol	8	$144.19 \pm 31.01^{b,c}$	100.57	198	$p < 0.05$
HC	8	$266.30 \pm 43.82^{a,d,e}$	206.5	332	
50 μ L/yumurta KTY (Düşük Doz)	8	219.73 ± 9.55^e	206	230.3	
100 μ L/yumurta KTY (Orta Doz)	8	198.36 ± 5.15^b	189.01	206.5	
150 μ L/yumurta KTY (Yüksek Doz)	8	$179.65 \pm 9.86^{b,c}$	163.22	197.67	

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: HC grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

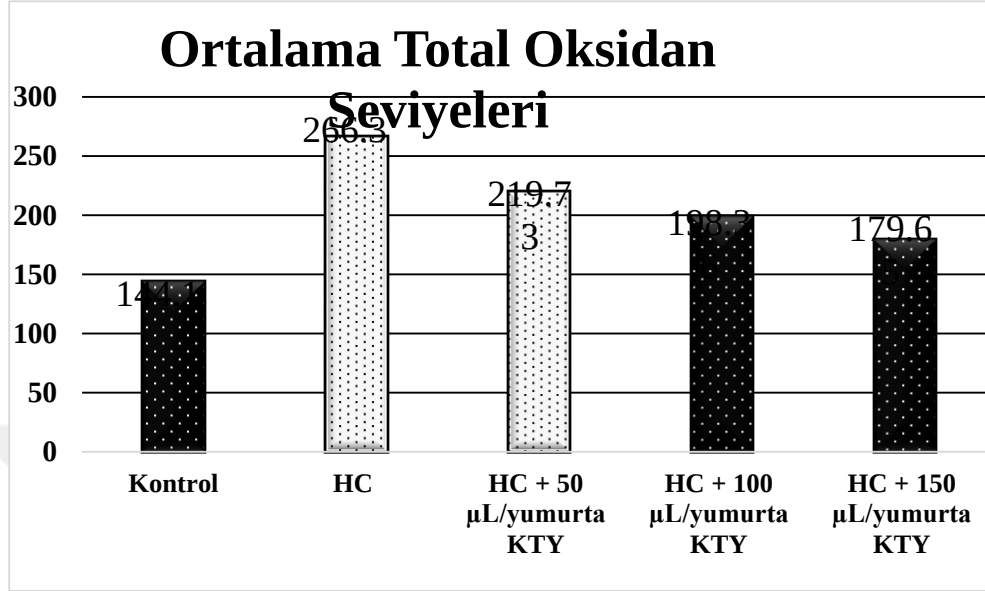
c: Düşük doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Orta doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

e: Yüksek doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

HC: Hidrokortizon hemisüsinat sodyum KTY: Keten tohumu yağı

Grafik 4.5. Tüm gruplara ait total oksidan seviyeleri (pg/lens) grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum



4.2.5. Kaspaz 3 Düzeyine Ait Bulgular

Gruplardaki 8 embriyoya ait lens materyallerinin biyokimyasal analizleri sonucunda; kontrol grubunda ortalama kaspaz 3 düzeyi 7.15 ± 0.75 ng/lens olarak belirlendi. Sadece HC uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla kaspaz 3 düzeyi arttı ve ortalama kaspaz 3 düzeyi 11.60 ± 1.34 ng/lens olarak bulundu. Kontrol grubu ile sadece HC, düşük ve orta doz KTY verilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). HC uygulaması ile artan ortalama kaspaz 3 düzeyleri KTY verilen tedavi gruplarında düşük doz grubundan yüksek doz grubuna doğru verilen dozlarla orantılı olarak azaldı (Sırasıyla 10.42 ± 0.84 , 9.12 ± 0.53 , 8.31 ± 0.79). Ayrıca KTY ile tedavi edilen gruplar arasında düşük doz KTY grubu ile yüksek doz KTY grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0.05$). Orta doz KTY grubu ile yüksek doz KTY grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.6, Grafik 4.6).

Tablo 4.6. Tüm gruplara ait kaspaz 3 (ng/lens) düzeyleri

Grup	n	Kaspaz 3			
		Ortalama±SS	Min	Max	p
Kontrol	8	7.15±0.75 ^{b,c,d}	6.07	8.32	p<0.05
HC	8	11.60±1.34 ^{a,d,e}	9.9	13.27	
50 µL/yumurta KTY (Düşük Doz)	8	10.42±0.84 ^{a,e}	9.41	11.65	
100 µL/yumurta KTY (Orta Doz)	8	9.12±0.53 ^{a,b}	8.69	10.31	
150 µL/yumurta KTY (Yüksek Doz)	8	8.31±0.79 ^{b,c}	7.51	9.89	

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: HC grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

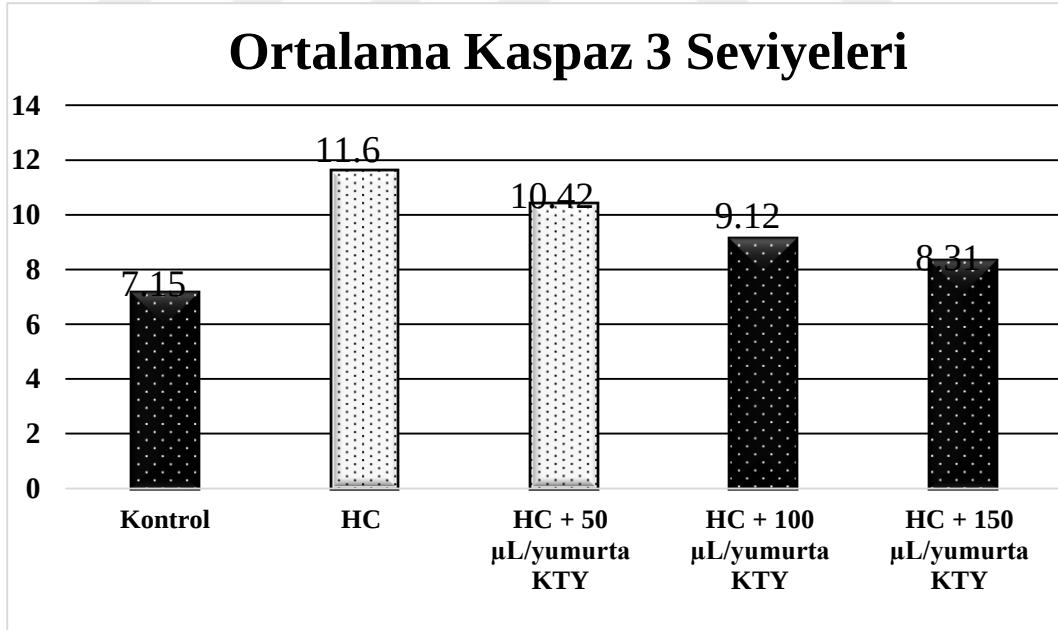
c: Düşük doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Orta doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

e: Yüksek doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum KTY: Keten tohumu yağı

Grafik 4.6. Tüm gruplara ait kaspaz 3 (ng/lens) düzeyleri. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum



4.2.6. Kaspaz 9 Düzeyine Ait Bulgular

Gruplardaki 8 embriyoya ait lens materyallerinin biyokimyasal analizleri sonucunda kontrol grubunda ortalama kaspaz 9 düzeyi 23.80 ± 2.41 ng/lens olarak belirlendi. Sadece HC uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla kaspaz 9 düzeyi arttı ve ortalama kaspaz 9 düzeyi 38.82 ± 2.82 ng/lens olarak bulundu. Kontrol grubu ile sadece HC, düşük ve orta doz KTY verilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). HC uygulaması ile artan ortalama kaspaz 9 düzeyleri KTY verilen tedavi gruplarında düşük doz grubundan yüksek doz grubuna doğru verilen dozlarla orantılı olarak azaldı (Sırasıyla 35.07 ± 3.50 , 29.65 ± 0.89 , 27.11 ± 3.31). Ayrıca KTY ile tedavi edilen gruplar arasında düşük doz KTY grubu ile yüksek doz KTY grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0.05$). Orta doz KTY grubu ile yüksek doz KTY grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.7, Grafik 4.7).

Tablo 4.7. Tüm gruplara ait kaspaz 9 (ng/lens) düzeyleri

Grup	N	Kaspaz 9			
		Ortalama $\pm$ SS	Min	Max	p
Kontrol	8	$23.80 \pm 2.41^{b,c,d}$	19.63	26.4	$p < 0.05$
HC	8	$38.82 \pm 2.82^{a,d,e}$	34.82	43.93	
50 μ L/yumurta KTY (Düşük Doz)	8	$35.07 \pm 3.50^{a,e}$	32.4	41.08	
100 μ L/yumurta KTY (Orta Doz)	8	$29.65 \pm 0.89^{a,b}$	28.53	31.08	
150 μ L/yumurta KTY (Yüksek Doz)	8	$27.11 \pm 3.31^{b,c}$	23.07	33.35	

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: HC grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

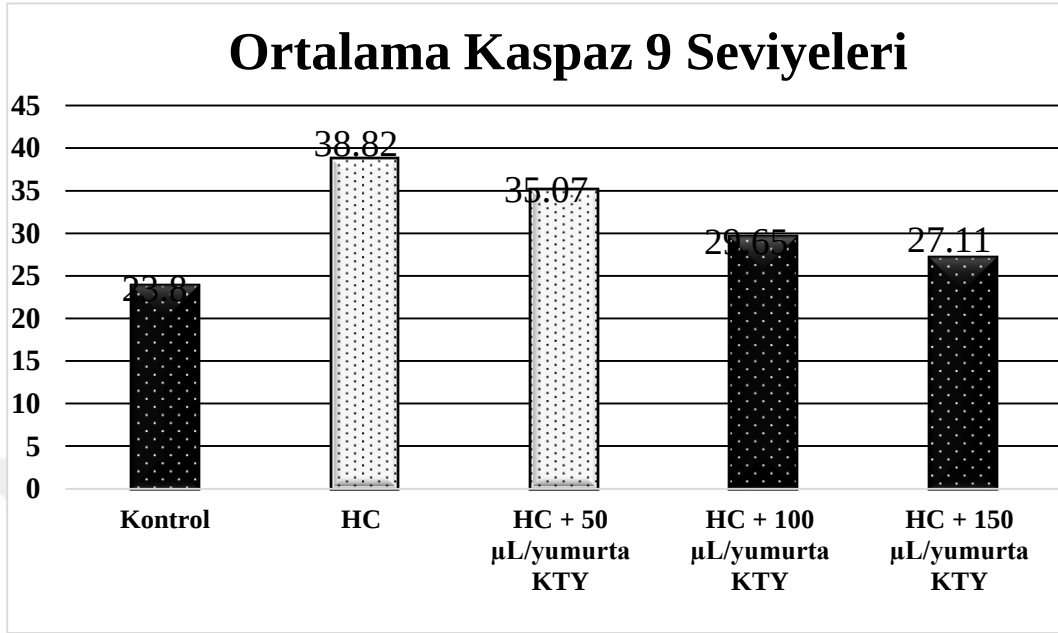
c: Düşük doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Orta doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

e: Yüksek doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum KTY: Keten tohumu yağı

Grafik 4.7. Tüm gruplara ait kaspaz 9 (ng/lens) düzeyleri. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum



4.3. TUNEL Boyama Yöntemine Ait Bulgular

Çalışmamızda toplam 7 embriyoya ait bulbus oculi'ler bütünlüğü bozulmadan histolojik parametrelerin değerlendirilmesi için ayrıldı. Ayrılan bulbus oculi'lerde histolojik doku takibi uygun prosedürde yapıldı, embriyolardan alınan göz dokularından elde edilen kesitlerde lensin bulunduğu alan ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Koyu kahverengi boyanan hücreler apoptotik-pozitif olarak kabul edildi. Her bir embriyoya ait lenslerde en az 300 hücre sayılarak apoptotik oran (TUNEL pozitif hücre sayısı/Toplam hücre) elde edildi. Bu verilere göre apoptotik oran kontrol grubunda 26.14 olarak tespit edildi. HC grubunda ise apoptotik oran kontrol grubuna kıyasla arttı ve bu oran 54.71 olarak hesaplandı. HC grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$). KTY verilen tedavi gruplarında doz oranıyla ters orantılı olarak apoptotik oranda azalma meydana geldi ve oranlar düşük dozdan yüksek doza doğru sırasıyla 49.43, 42.86 ve 33.00 olarak hesaplandı. Tedavi grupları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düşük ve orta doz KTY grupları arasında istatistiksel olarak

anlamli fark gözlemlenirken ($p < 0.05$), yüksek doz KTY grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$), (Tablo 4.8, Grafik 4.8, Resim 4.2).

Tablo 4.8. Tunel (Tunel pozitif hücre sayısı/Toplam hücre) yöntemine ait bulgular

Grup	n	TUNNEL			
		Ortalama $\pm$ SS	Min	Max	p
Kontrol	7	26.14 ^{b,c,d}	17	36	p<0.05
HC	7	54.71 ^{a,d,e}	49	59	
50 μ L/yumurta KTY (Düşük Doz)	7	49.43 ^{a,e}	32	58	
100 μ L/yumurta KTY (Orta Doz)	7	42.86 ^{a,b}	33	52	
150 μ L/yumurta KTY (Yüksek Doz)	7	33.00 ^{b,c}	19	44	

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: HC grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

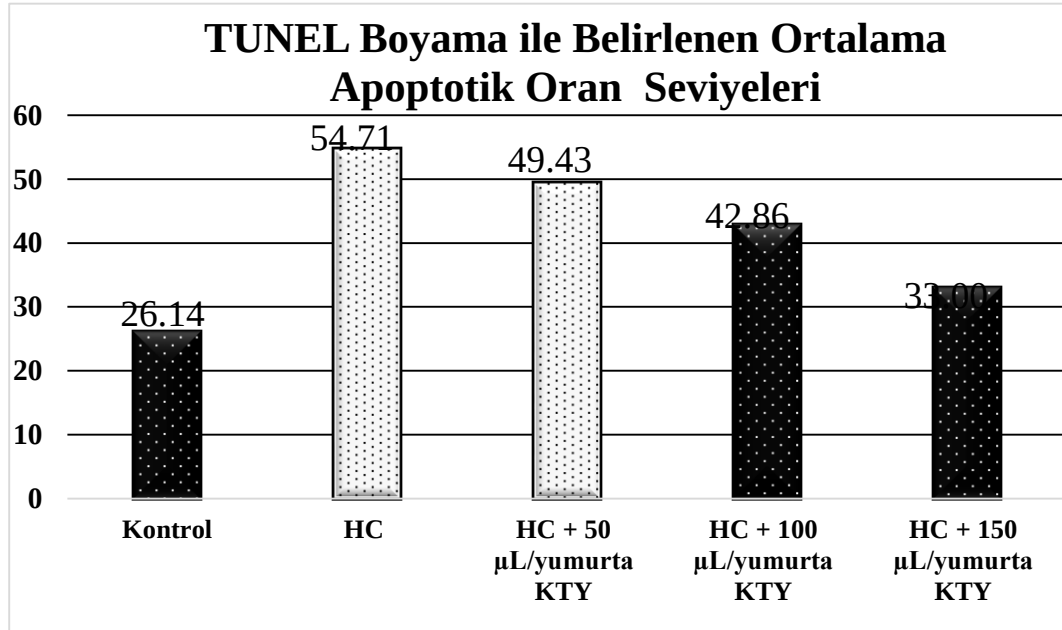
c: Düşük doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

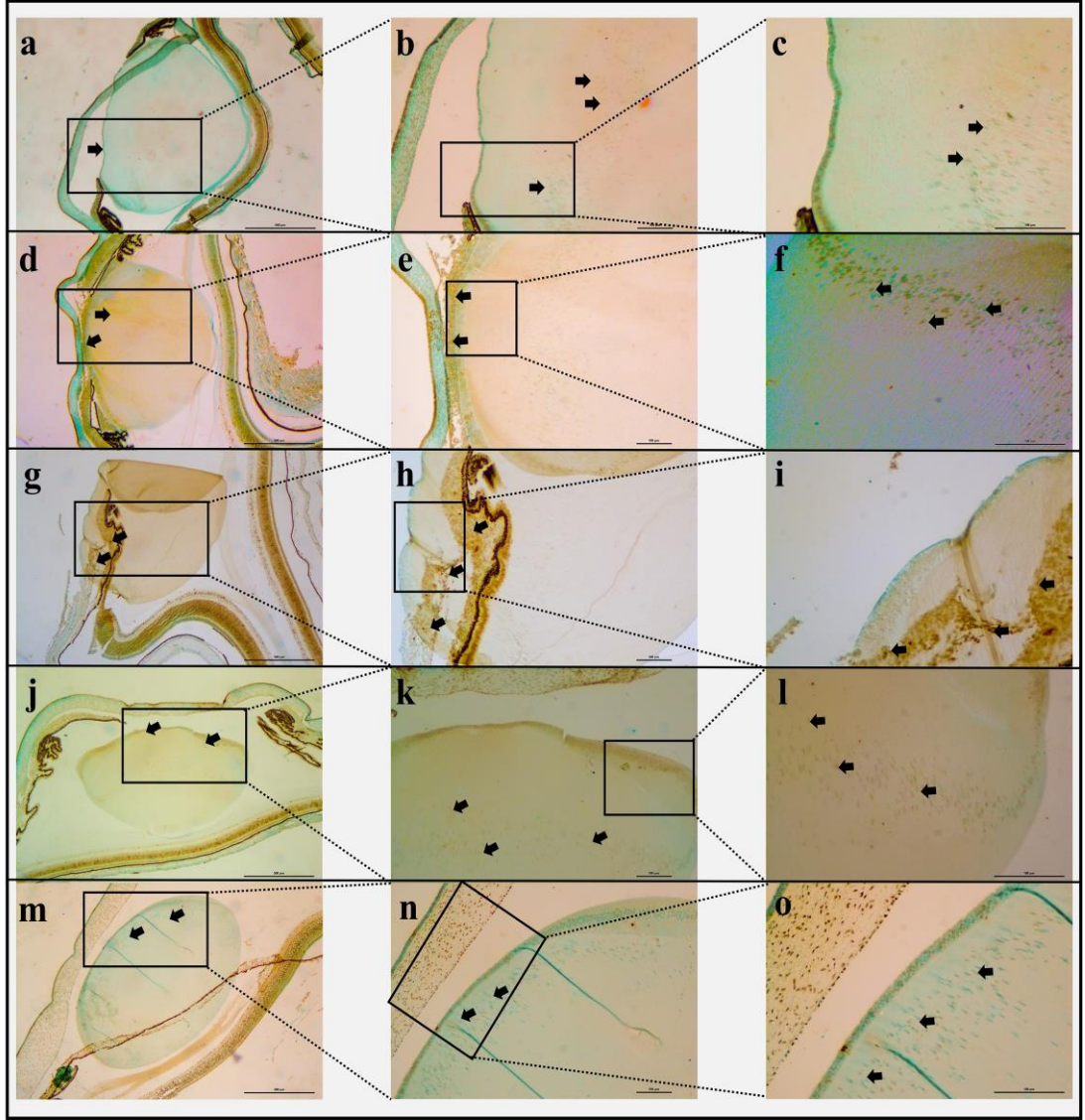
d: Orta doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

e: Yüksek doz KTY grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum KTY: Ketan tohumu yağı

Grafik 4.8. TUNEL Boyama ile belirlenen ortalama apoptotik oran grafiği. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan gruplar koyu renkle gösterilmiştir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum





Resim 4.2. Tüm gruplara ait lens TUNEL boyamaları. Okla gösterilen yerler lenslerde apoptotik-pozitif boyanan hücreleri göstermektedir. HC: Hidrokortizon hemisüksinat sodyum.
a, b, c) Kontrol grubu (sırasıyla X4, X10, X20 büyütme oranları)
d, e, f) HC grubu (sırasıyla X4, X10, X20 büyütme oranları)
g, h, i) Düşük doz KTY grubu (sırasıyla X4, X10, X20 büyütme oranları)
j, k, l) Orta doz KTY grubu (sırasıyla X4, X10, X20 büyütme oranları)
m, n, o) Yüksek doz KTY grubu (sırasıyla X4, X10, X20 büyütme oranları)

5. TARTIŞMA

Kortikosteroidlere ait literatürdeki ilk bilgiler 1929 yılına kadar uzanmaktadır. Romatoloji Uzmanı Philip Hench'in sarılık geçiren romatoid artrit hastasında, sarılığa yönelik hastalık aktivitesinin bulunmamasıyla (remisyon) birlikte vücuttaki bir maddenin hastalığın belirtilerini baskıladığını düşünmüştür. Sonraki yıllarda çeşitli enfeksiyon ve hamilelik tabloları da dahil 33 olguda da benzer klinik iyileşmeler gözlenmiştir. Doktor Philip Hench bunun üzerine "Vücut tarafından salgılanan bir madde muhtemelen inflamasyonu baskılıyor" şeklinde bir hipotez kurmuştur (Glyn, 1998). Aslında bu hipotez steroidlerin tanımlandığı gösteren ilk veriler olarak karşımıza çıkmaktadır.

1930'lardaki bu veriler ve sonraki yıllarda yapılan çalışmalar neticesinde kortikosteroidler çeşitli enfeksiyon hastalıklarında, birçok inflamatuvar ve otoimmün bozuklukta tedavide ilk seçeneklerden biri olarak tercih edilmiştir (Bayazit ve ark., 2020). Birçok hastalığın tedavisinde elde edilen etkili klinik sonuçlara rağmen uzun süreli kullanıma bağlı olarak ortaya çıkan yan etkiler bu olumlu tabloyu gölgelemiştir. Uzun süreli kortikosteroid kullanımına bağlı olarak kardiyovasküler hastalıklar, hiperglisemi ve diyabet, immünosüpresyon ve enfeksiyonlar, osteoporoz, katarakt ve glokom gibi çeşitli yan etkiler ortaya çıkmaktadır (D. Liu ve ark., 2013; Kapugi ve Cunningham, 2019; Bayazit ve ark., 2020).

Uzun süreli kortikosteroid kullanımına bağlı olarak görülen komplikasyonlardan biri olan katarakt, göz merceğinin opaklaşması ve görme keskinliğinin azalmasıyla karakterize klinik bir tablodur. Dünya çapında tahmini 16 milyon insanın etkilendiği, görme kaybının en yaygın nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Asbell ve ark., 2005). İnsanlarda yapılan epidemiyolojik ve postoperatif klinik çalışmalarla kataraktın mekanizması ve nedeni hakkında çok önemli bilgiler elde edilebilmesine rağmen, hayvan modellerine dayalı çalışmalarla kataraktogenez mekanizmaları hakkında daha kapsamlı fikirler elde edilmektedir (West-Mays ve Bowman, 2016). Bu bağlamda literatürde rat, fare, tavşan, civciv gibi farklı hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalar mevcuttur (Shui ve ark., 1996; Bayley ve Read, 2018; Dave ve ark., 2021; Li ve ark., 2021; Okuno ve ark., 2021; Vurmaz ve ark., 2021).

Son yıllarda literatürde civciv embriyo katarakt modeli ile yapılan antioksidan törapatiklerin katarakt önleyici mekanizmalarını araştıran çalışmalara sıklıkla karşılaşılmaktadır (Duman ve Vurmaz, 2018; Duman ve ark., 2019; Vurmaz ve ark., 2019; Li ve ark., 2021). Daha yüksek omurgalıların gelişimini inceleme ve sonuçları kısa sürede sunma noktasında tercih edilen civciv embriyo modeli; döllenmiş yumurtaların kolay erişilebilir olması, kanatlıların göz yapısının anatomik olarak çeneli omurgalılara çok benzer olması ve gözün embriyolojik gelişim süresinin kısa olması gibi avantajlarından dolayı katarakt gelişimi üzerine araştırma yapmak için elverişli bir model olarak karşımıza çıkmaktadır (Timmer ve ark., 2001; Lamb ve ark., 2007; Belecky-Adams ve ark., 2008; Warrant, 2009). Bu literatür bilgilerine dayanarak çalışmamızda KTY'nin katarakt üzerindeki antioksidan etkisini araştırmak üzere civciv embriyo katarakt modelini kullandık.

İlgili literatür araştırmamızda glukokortikoidlerin civciv embriyo katarakt modeli oluşturmak için kullanıldığını belirledik. Bununla birlikte HC ile indüklenen katarakt modelinde civciv embriyolarında inkübasyonun 15. gününde indüksiyonun gerçekleştiği, inkübasyonun 17. gününde ise lens opaklığının artmasıyla birlikte en yüksek katarakt insidansının görüldüğü bildirilmiştir (Lee ve ark., 1995). Vurmaz ve ark., (2021)'nin çalışmasında döllenmiş yumurtaların hava kesesine 0.5 μ mol HC uygulanmak suretiyle civciv embriyolarında katarakt oluşturmuşlardır. Çalışmada HC enjeksiyonu civciv embriyolarının gelişiminin 15. gününde gerçekleştirilmiş ve enjeksiyondan 48 saat sonra embriyoların gözleri disseke edilerek katarakt derecelendirmesi yapılmıştır. Katarakt derecelendirme sonuçlarına göre; kontrol ve sadece zeytinyağı (%3'lük 0.2 ml) enjekte edilen gruplarda yer alan tüm lenslerin katarakt derecesi 1 olarak değerlendirilmiş ve lenslerde opaklık gelişmediği rapor edilmiştir. HC uygulanan grupta ise lenslerin tamamı katarakt derecesi 5 olarak gözlemlenmiş ve koroid artefaktlarının (doğal olmayan bölgeler veya normal olmayan yapılar) olduğu bildirilmiştir (Vurmaz ve ark., 2021). Ishikawa ve ark., (2015)'da civciv embriyolarının hava kesesine 0.5 μ mol HC uygulayarak katarakt modeli oluşturmuşlardır. Çalışma kapsamında astaksantin (AST) civciv embriyosunda katarakt oluşumu üzerine etkisini araştırmışlardır. Yumurtaları inkübasyona yerleştirdikten 15 gün sonra HC (0.5 μ mol/yumurta başı) enjeksiyonu yapmışlar ve inkübasyonun 17. gününde embriyoların lenslerinde katarakt

derecelendirmesi gerçekleştirmişlerdir. Katarakt derecelendirmesinde HC enjekte edilmeyen grupta ve AST100 grubunda (HC içermeyen 100 ml içinde serum fizyolojik içinde 100 mg/ml AST) lens opaklığı kaydedilmezken, HC tedavisine bağlı lens opaklığının arttığı bildirilmiştir. Bu bağlamda HC grubunda katarakt derecesi 3 olan 44, katarakt derecesi 4 ve 5 olan 19 lensin olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak; civciv embriyolarında HC ile kataraktın indüklendiği ve lens opaklığının çeşitli derecelerde arttığı rapor edilmiştir (Ishikawa ve ark., 2015). Duman ve ark., (2018)'nin yaptığı bir diğer çalışmada ise iki farklı bölgeye HC enjeksiyon uygulama yöntemi ile katarakt oluşumu karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada civciv embriyolarında katarakt oluşumunu indüklemek için 0.25 ve 0.50 μ mol olmak üzere iki farklı dozda HC uygulaması yapılmıştır. HC'yi korioallantoik zar ve hava kesesi olmak üzere iki farklı bölgeye uygulamışlardır. Çalışma neticesinde katarakt derecelerinin ve lens opaklığının, kontrol gruplarına kıyasla HC gruplarında (0.25 ve 0.50 μ mol) anlamlı derecede arttığı ve uygulanan her iki HC dozunun da katarakt oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte hava kesesine yapılan enjeksiyonun daha kolay uygulanabilir olması ve embriyoya daha az zarar veren bir manipülasyon işlemi olması nedenleriyle civciv embriyolarında katarakt modeli oluşturmak için daha uygun olacağını belirtmişlerdir (Duman ve ark., 2018). Duman ve ark., (2018)'nin çalışmasına benzer şekilde Nishigori ve ark. (1987)'da 0.25 μ mol HC dozu ile civciv embriyolarında katarakt oluştuğunu bildirmişlerdir. İnkübasyonun 15. gününde, 0.25 μ mol HC uygulamasından 24 saat sonra lensin kortikal ve nükleer bölgeleri arasında opak bir halka görüldüğünü, 48 saat sonra ise nükleer bölgenin tamamen opak bir görünüme sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Enjeksiyondan 96 saat sonra yapılan değerlendirmede, 48 saat sonra görülen opaklığın azaldığını bildirmişlerdir (Nishigori ve ark., 1987). Duman ve ark., (2019)'nin yaptığı bir diğer çalışmada ise hidrokortizonla indüklenen civciv embriyo katarakt modelinde betainin antikataraktojenik etkisi araştırılmıştır. Civciv embriyolarında katarakt oluşumunu incelemek için 0.5 μ mol dozunda HC enjeksiyonu yumurtaların hava kesesine yapılmıştır. Bu çalışmada hava kesesine HC enjeksiyon uygulamasını tercih etmelerinde ise bir önceki referans çalışması etkili olmuştur (Duman ve ark., 2018). Çalışma kapsamında inkübasyonun 17. gününde (HC enjeksiyonundan 48 saat sonra), kornea limbus insizyonu ile diseksiyon mikroskobu altında her bir

embriyonun lensleri çıkarılmış, katarakt dereceleri stereoskopik mikroskop altında belirlenmiştir. Kontrol grubunda yer alan embriyoların tamamında lens opaklığının olmadığı belirlenirken, HC grubunda yer alan lenslerde opaklığın arttığı tespit edilmiştir. HC grubundaki 10 lens örneğinin 5'inin katarakt derecesinin 5 olduğu bildirilmiştir (Duman ve ark., 2019). Çalışmamızın deney modeli planlanmasında literatür bilgileri göz önüne alınarak civciv embriyo katarakt modeli tercih edildi. Bu bağlamda glukokortikoid olarak HC kullanıldı ve HC ile indüklenen civciv embriyo katarakt modelinde HC dozu 0.50 µmol olarak literatür ile uyumlu şekilde belirlendi. 0.50 µmol HC, inkübasyonun 15. gününde yumurtaların hava kesesine enjekte edildi. Enjeksiyondan 48 saat sonra (inkübasyonun 17. günü) lenslerin opaklığına göre katarakt derecelendirmesi gerçekleştirildi. Katarakt derecelendirme sonuçlarına göre sadece HC uygulanan gruptaki embriyoların tüm lenslerinde opaklık olduğu ve katarakt geliştiği tespit edildi. Bu gruptaki lenslerin ortalama katarakt derecesi 3.3 olarak belirlendi. Sonuçlarımızın daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görüldü (Ishikawa ve ark., 2015; Duman ve ark., 2018, 2019, Vurmaz ve ark., 2019, 2021).

Kortikosteroid kaynaklı kataraktın mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen sistemik kortikosteroidlerle birlikte topikal ve inhale steroidler de katarakt oluşumu ile ilişkilendirilmektedir. Bununla birlikte uzun süre kortikosteroid kullanımı ile karakterize oksidatif hasar, lens büyüme faktörlerindeki azalma ve ozmotik dengesizlik durumlarına bağlı olarak kataraktın geliştiği düşünülmektedir (Gupta ve ark., 2014). Oksidanların yaşam için gerekli olan fonksiyonlardan sinyal iletimi, gen ekspresyonu ve proliferasyonun gerçekleşmesinde önemli rol oynayan moleküller olduğu bilinmektedir. Yetersizliğinde veya aşırı üretiminde oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres artışına bağlı olarak vücut mekanizması olumsuz etkilenmekte, buna bağlı olarak doku ve hücrelerde tahribatlar ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda oksidatif stres nedeniyle katarakt, glokom, üveit ve diyabetik retinopati gibi çeşitli göz hastalıkları oluşmaktadır (Oduntan ve Masige, 2011). Antioksidan etkileri ile bilinen KTY, iyi bir ALA ve linoleik asit kaynağıdır (Bhatia ve ark., 2007). Bununla birlikte literatürde KTY'nin antikanserojenik (Thompson ve ark., 2005; Moghaddasi, 2011), antienflamatuar (Hallund ve ark., 2008; Kaithwas ve ark., 2011), antiülser (Kaithwas ve Majumdar, 2010), antibakteriyel, antifungal ve

antimitotik (Dugani ve ark., 2008; Xu, Hall ve Wolf-Hall, 2008; Barbary ve ark., 2010) etkilerini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Yapısında omega 3 yağ asidi bulunduran KTY (Gogus ve Smith, 2010), bu özelliğinden dolayı vücutta biyokimyasal ve fizyolojik aktivitelerde önemli görevler üstlenmektedir. İnsan vücudunda göz ve beyin gibi organlarda biriken omega 3 yağ asidi, göz ve beyin fonksiyonlarının gerçekleştirilmesine önemli ölçüde yardımcı olmaktadır (Narayan ve ark., 2006). KTY'nin klinikte kullanımı ile ilgili literatür bilgilerine bakıldığında kuru göz sendromunun nutrisyonel tedavisinde yer aldığı görülmektedir. KTY'nin ve yapısında bulunan omega 3 yağ asitlerinin kuru göz bulgularını azalttığı, kuru göz testlerinde düzelmeye birlikte inflamasyonu da baskıladığı bildirilmektedir (Barabino ve ark., 2003; Pinheiro ve ark., 2007; Viau ve ark., 2009). KTY'nin iyi bir ALA ve linoleik asit kaynağı olmasının yanı sıra yapısındaki lignan, fenolik asit ve flavonoid gibi fitokimyasallar vücutta birçok fizyolojik sürecin devam etmesinde önemli rol oynamaktadır (Berner ve O'Donnell, 1998; Oomah ve Mazza, 1998; Korthals, 2002). KTY'nin 100 g'ında yaklaşık 70 mg kadar flavan C- ve O-glikosid yer almaktadır (Cook ve Samman, 1996; Oomah ve Mazza, 1998). KTY yapısındaki bu denli flavonoidler aracılığıyla insanlarda katarakt oluşumunu geciktirmektedir. Flavonoidlerin kataraktı geciktirmedeki fonksiyonunun aldoz redüktaz enzimini bloke etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Böylelikle, galaktoz zararlı formu olan galaktikole dönüşemeyerek vücuttaki düzeyi normal seviyelerde tutulmaktadır (Özcan ve ark., 2003; Murray ve ark., 2018). Literatürde kataraktın önlenmesinde KTY dışında diğer bazı antioksidanların da potansiyel rolünün olduğunu bildiren deneysel çalışmalar mevcuttur (Isai ve ark., 2009; Manikandan ve ark., 2009; Abdelkader ve ark., 2016; Cao ve ark., 2018; Duman ve ark., 2019; Vurmaz ve ark., 2021). Vurmaz ve ark. (2021), civciv embriyolarında glukokortikoid ile indüklenen katarakt modelinde E vitamininin antioksidan etkisini incelemişlerdir. Glukokortikoidin lens dokularında TAS düzeyinde azalmaya, TOS düzeyinde artışa neden olarak oksidatif stresi arttırdığını, E vitamininin ise antioksidan sistemi düzenleyerek kataraktı tedavi ettiğini bildirmişlerdir (Vurmaz ve ark., 2021). Manikandan ve ark. (2009) Wistar cinsi rat yavrularının lensinde selenyum kaynaklı oksidatif strese karşı kurkumin ve aminoguanidinin antikataraktojenik etkisini in vitro olarak çalışmışlardır. Çalışmada, kurkumin ve aminoguanidinin lenslerde lipid

peroksidasyonunun yoğunluğunu azaltarak, antioksidan enzim aktivitelerini artırmak ve serbest radikal oluşumunu engellemek suretiyle kataraktogenezi engellediği sonucuna varmışlardır (Manikandan ve ark., 2009). Isai ve ark. (2009)'nın deneysel rat model çalışmasında istiridye mantarının antikataraktojenik etkisini araştırmışlardır. Wistar cinsi ratların anestezi altında lensleri diseke edilmiş ve Eagle's minimal essential medium (EMEM) kültür ortamına alınmıştır. Katarakt oluşumunu indüklemek için 100 µM sodyum selenit içeren EMEM içinde lensler 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Çalışma kapsamında lens opaklığına göre 4 farklı kategoride katarakt derecelendirmesi yapılmıştır. Kontrol grubunda (grup I) yer alan lenslerin tamamında opaklaşma olmadığı (grade 0) bildirilirken, 100 µM sodyum selenit ile katarakt oluşturulan grupta (grup II) neredeyse tüm lensi kapsayan geniş kalın bir opaklaşmanın olduğu (grade 3) belirlenmiştir. Biyokimyasal analizde ise GSH ve MDA düzeyleri değerlendirilmiştir. Grup II lenslerde, Grup I lenslere göre ortalama GSH seviyesinin önemli ölçüde daha düşük ($p<0.001$) olduğu gözlenmiştir. Grup II lenslerdeki ortalama MDA konsantrasyonunun, Grup I'dekinden önemli ölçüde daha yüksek ($p<0.001$) olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, istiridye mantarının lipid peroksidasyonunun derecesini azaltarak, antioksidan enzimlerin aktivitelerini ve redoks sisteminin fonksiyonlarını ise artırarak selenit kaynaklı kataraktogenezi önlediği bildirilmiştir (Isai ve ark., 2009). Literatürdeki antioksidanların kataraktogenezi mekanizması üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar, KTY'nin yapısındaki antioksidan özelliğe sahip fitokimyasallar nedeniyle göz hastalıklarının nutrisyonel tedavisinde yer alması bilgileri göz önüne alınarak; çalışmamızda KTY'nin civciv embriyo lenslerinde antioksidan etkisini araştırmaya yönelik biyokimyasal (GSH, MDA, TAS, TOS, kaspaz 3 ve kaspaz 9 analizleri) ve histolojik (TUNEL boyama yöntemi) analizler gerçekleştirildi. Glutasyon, düşük molekül ağırlıklı bir antioksidan olup hücreleri serbest radikaller, peroksitler ve ağır metaller gibi ROS türlerinin toksik etkilerinden yapısında bulunan GSH grupları sayesinde korumaktadır (Meister ve Anderson, 1983; Knapen ve ark., 1999; Wu ve ark., 2004). TAS genel antioksidan düzeyi ile ilgili bilgi verirken, TOS oksidasyon durumunu ifade etmede önemli bir biyobelirteçtir (Jin ve ark., 2013). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, oksidatif stresin bir ölçüsü olarak tanımlanmaktadır (Sinclair ve ark., 1990; Kiliç ve ark., 1998). Tüm bu oksidatif stres

belirteçlerinin civciv embriyo lenslerindeki düzeylerini incelemek antioksidan sistem mekanizması hakkında detaylı bilgi edinilmesine açısından önemlidir. Literatürde KTY'nin kuru göz sendromunun nutrisyonel tedavisinde (Pinheiro ve ark., 2007) kullanıldığına yönelik bilgiler yer alırken katarakt üzerindeki etkisini gösteren deneysel civciv embriyo model çalışmalarına ulaşılammıştır. Bu bağlamda çalışmamız bir ilk özelliği taşımakla birlikte sonuçları açısından literatüre önemli katkı sağlayacak niteliktedir. Bununla birlikte KTY'nin tedavi edici, koruyucu ve antioksidan etkilerini gösteren ve yukarıda bahsedilen biyokimyasal belirteçleri değerlendiren deneysel çalışmalar mevcuttur (Kaithwas ve Majumdar, 2010; Al-Okbi ve ark., 2014; Khan ve ark., 2016; Kang ve ark., 2020; Zhu ve ark., 2020). Zhu ve ark. (2020)'ı çalışmalarında tip 2 diyabetli Sprague-Dawley cinsi yetişkin erkek sıçanlarda KTY'nin antienflamatuar ve modüle edici bağırsak mikrobiyotası (immünolojik, hormonal ve metabolik homeostazın mikrobiyomlar ile düzenlenmesi) etkilerini araştırmışlardır. Streptozotosin enjeksiyonu ile diyabet yapılan ratların standart kemirgen yemi peletlerine %10'luk KTY karıştırılarak tedavi uygulanmıştır. Diyabetik sıçanlarda KTY'nin oksidatif stres üzerindeki etkilerini araştırmak için biyokimyasal belirteçlerden serum süperoksit dismutaz (SOD) ve MDA seviyeleri incelenmiştir. Diyabetik sıçanların KTY ile beslenmesinin, diyabetik kontrol grubuna kıyasla SOD düzeylerini önemli ölçüde artırdığını; bununla birlikte KTY'nin diyetle eklenmesinin serum MDA düzeyini önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir. Antienflamatuar etkiyi göstermek için plazma inflamatuvar sitokin seviyelerine (interlökin-1 Beta, tümör nekroz faktör, interlökin-6 ve 17A) bakılmıştır. Sonuçlar, KTY tedavisinin diyabetli sıçanlarda iltihaplanma seviyesini iyileştirdiğini göstermektedir. Çalışmanın geneli değerlendirildiğinde, KTY'nin diyetle alınmasının antienflamatuar etkiyle diyabeti iyileştirdiği ve KTY'nin potansiyel olarak pahalı olmayan müdahaleler şeklinde hizmet edebileceğini öne sürmüşlerdir (Zhu ve ark., 2020). Khan ve ark. (2015), KTY'nin sıçanlarda hepatotoksisite ve hücre ölümüne karşı koruyuculuğunu araştırmışlardır. 15 gün süreyle %15'lik KTY içeren kemirgen yemi ile beslenen Wistar cinsi yetişkin erkek ratlara, 15. günden sonra 7 gün boyunca intraperitoneal olarak nitrik oksit (1.5 mg/kg) enjeksiyonu yapılarak karaciğer hasarı oluşturulmuştur. Kontrol grubundaki ratlara ise 15 gün boyunca normal yem verilmiş ve 15. günden sonra 7 gün boyunca intraperitoneal olarak serum fizyolojik (1.5

mg/kg) enjeksiyonu yapılmıştır. Çalışma kapsamında antioksidan (katalaz (CAT), SOD ve GSH) ve karbonhidrat metabolizma enzim (MDH) düzeyleri belirlenmiştir. Nitrik oksit kaynaklı hasarın doku nitrit düzeylerini ve lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde arttırdığı, bununla birlikte antioksidan savunma sistemlerinin bozulduğu ve belirgin hücre ölüm ile karakterize metabolik bozulmaların (pertürbasyon) olduğu bildirilmiştir. KTY'nin diyetle dahil edilmesiyle doku hasarı/hücre ölümünün tersine döndüğü, lipid peroksidasyonunun belirgin şekilde azaldığı ve antioksidan savunma sistemlerinde iyileşmelerin görüldüğü tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda KTY'nin enerji metabolizmasını ve antioksidan savunma mekanizmasını geliştirerek/iyileştirerek nitrik oksit kaynaklı hepatotoksisiteye karşı koruma sağladığı tespit edilmiştir (Khan ve ark., 2016). Bir başka çalışmada ise KTY'nin sisplatin kaynaklı hepatotoksisite üzerindeki koruyucu etkisi Wistar cinsi yetişkin erkek ratlarda araştırılmıştır. Hepatotoksisite oluşturmak için %0.9 serum fizyolojik içinde tek doz 6 mg/kg sisplatin intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Kontrol grubunda yer alan ratlar normal pelet yem verilirken, deney grubundaki ratlara %15'lik KTY içeren pelet yem verilmiştir. Sisplatin enjeksiyonundan 4 gün sonra ratların kan ve idrar numuneleri toplanmış karaciğeri çıkarılmıştır. Karbonhidrat metabolizması enzimlerinin analizi için MDH düzeyine, serbest radikal enzimlerin analizi için ise SOD, CAT ve GSH düzeylerine bakılmıştır. Sisplatin kaynaklı hepatotoksisitede MDH aktivitesi dramatik bir şekilde artmışken, KTY'nin diyetle eklenmesiyle sisplatin kaynaklı MDH aktivitesinde önemli derecede düşme olduğu belirlenmiştir. Sisplatin kaynaklı lipid peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan enzimleri önemli ölçüde değiştirdiği tespit edilmiştir. KTY katkılı yem ile beslenen ratların SOD, GSH ve CAT aktivitelerinde ise artışın olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak dokularda sisplatin kaynaklı oksidatif hasara karşı KTY diyetinin belirgin bir koruma gösterdiği ifade edilmiştir (Naqshbandi ve ark., 2012). Naqshbani ve ark. (2012) bir diğer çalışmalarında ise yine sisplatin ile doku hasarı oluşturmuşlardır. Bu çalışmada ratlarda sisplatinin bağırsak epitel hücreleri (brush border) üzerindeki olumsuz etkilerine yönelik KTY'nin antioksidan etkisini araştırmışlardır. Bir önceki çalışmalarında Naqshbandi ve ark., (2012) bildirdikleri deney düzenine göre gruplar oluşturulmuştur. Kontrol grubu ile birlikte sisplatin, sisplatin + %15 KTY katkılı diyet ve sadece %15 KTY

katkılı diyet şeklide dört grupta bağırsak mukozasına ait homojenatlarda KTY'nin antioksidan etkisini göstermek için SOD, CAT ve GSH düzeylerine bakılmıştır. Antioksidan parametrelerdeki değişiklere bakıldığında; lipid peroksidasyonunun kontrol grubuna göre (7.84 ± 1.08 nmols/g) sisplatin kaynaklı olarak arttığı (19.23 ± 0.77 nmols/g) ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Sisplatin + %15 KTY katkıli diyet grubunda (13.38 ± 0.46 nmols/g) ise lipid peroksidasyonunun sisplatin grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ifade edilmiştir ($p < 0.05$). SOD, CAT ve GSH parametrelerinin ise kontrol grubu (SOD, 162.8 ± 2.33 mmols/mg protein; CAT, 5.51 ± 0.22 mmols/mg protein; GSH, 0.213 ± 0.01 mmols/mg protein) ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda (SOD, 76.88 ± 0.26 mmols/mg protein; CAT, 4.04 ± 0.11 mmols/mg protein; GSH, 0.059 ± 0.003 mmols/mg protein) önemli derecede azaldığı fakat diyete KTY'nin eklenmesiyle bu durumun tersine döndüğü (SOD, 155.19 ± 0.53 mmols/mg protein; CAT, 4.70 ± 0.28 mmols/mg protein; GSH, 0.14 ± 0.006 mmols/mg protein) gösterilmiştir. Çalışma sonuçları, KTY'nin oksidatif stresi azaltarak ve ana antioksidan enzimlerin (SOD, CAT ve GSH) aktivitelerini artırarak antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğini göstermektedir (Naqshbandi ve ark., 2013). Tülüce ve ark. (2012) ratlarda ultraviyole C (UVC) kaynaklı apoptoza ve oksidatif strese karşı KTY'nin fotokoruyucu etkisini araştırmışlardır. UVC grubundaki Sprague-Dawley cinsi yetişkin erkek ratlar 4 hafta boyunca günde 2 kez 1 saat UVC'ye maruz bırakılmıştır. Tedavi grubu (UVC + KTY) ise UVC maruziyeti ile diyetlerine 4 ml/kg KTY eklenerek oluşturulmuştur. Ratların lens, retina, deri ve serum örneklerinde SOD, MDA ve GSH analizleri yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre; UVC kaynaklı olarak GSH ve SOD düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Ratların diyetine KTY'nin eklenmesiyle bu parametrelerde iyileşme görülmüştür. Çalışma sonucunda, UVC maruziyetinin ratlarda MDA düzeyini artırdığını, antioksidan mekanizmayı bozduğunu ve oksidatif strese yol açtığını gösterilmiştir. Bununla birlikte KTY'nin fotoreaktif hasarı önleme noktasında faydalı olduğu ve oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (Tülüce ve ark., 2012).

Yukarıda ifade edilen çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde, çalışmamızda HC grubundaki civciv embriyolarının lenslerine yönelik biyokimyasal parametreler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH ve TAS düzeylerinde istatistiksel olarak

anlamli bir azalma ($p<0.05$, Tablo 4.2, Tablo 4.4), MDA ve TOS düzeylerinde ise anlamli bir artış tespit edildi ($p<0.05$, Tablo 4.3, Tablo 4.5). Çalışmamızda HC enjeksiyonundan kaynaklı civciv embriyo lenslerindeki antioksidan sistem mekanizmasının bozulduğu ve oksidatif stresin arttığı kanaatindeyiz. Sonuç olarak HC'nin katarakt oluşumunu tetiklediği düşünmekteyiz. KTY ile tedavi edilen gruplarda ise; HC uygulaması ile azalan GSH ve TAS düzeylerinin arttığı ($p<0.05$, Tablo 4.2, Tablo 4.4), artmış olan MDA ve TOS düzeylerinin ise azaldığı ($p<0.05$, Tablo 4.3, Tablo 4.5) ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamli olduğu tespit edilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda KTY'nin etkisinin doza bağlı olarak arttığı görülmektedir. Biyokimyasal parametreler göz önüne alındığında göre sonuçlarımız KTY'nin antioksidan etki sergilediğini ve buna bağlı kataraktın baskıladığını göstermektedir. Özellikle yüksek doz (150  l/yumurta) KTY uygulaması biyokimyasal parametreler üzerinde antioksidan sistem mekanizmasını düzenleyici özellik sergileyerek, HC kaynaklı civciv embriyo katarakt modelinde anlamli bir antikataraktojenik etki göstermiştir. Katarakt ve antioksidan uygulaması içeren literatürdeki araştırmalar ve çalışmamız biyokimyasal parametrelerdeki sonuçlar yönünden birbirine benzerlik göstermesine rağmen; sayısal verilerdeki farklılıkların kullanılan deney modeli, ölçüm metotları, uygulanan antioksidan  eşitleri ve dozlarından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamız kapsamında değerlendirme yapılan biyokimyasal parametreler arasında apoptozis sürecinde görev alan kaspaz 3 ve kaspaz 9 analizleri de yer almaktadır. Günümüze dek 14 izoformu keşfedilen kaspazlar, ölüm reseptörleri yolu ve mitokondriyal apoptozda önemli role sahiptir. Kaspazlar fonksiyonel özelliklerine göre üç kategoride incelenmektedir; kaspaz 8 ve 9 başlatıcı, kaspaz 3 ve 7 etkileyici, diğer kaspazlar da inflamatuvar kaspazlardır. Kaspazlar, hücrelerde aktif olmayan proenzimler olarak bulunan sistein proteazı grubunu temsil etmektedir. Bir hücre/hücre grubu apoptotik olarak  l me gittiğinde proteolitik kaskad yoluyla kaspazlar aktif hale gelmektedir. İnaktif durumdaki iki prokaspaz hidrolizi yan yana gelerek aktive olmaktadır. Böylelikle başlatıcı kaspazlar otoaktivasyonla, etkileyici kaspazlar ise otokatalitik olarak etkilerini göstermektedir (Kaufmann ve Hengartner, 2001;  ktem ve ark., 2001; Roy ve Cardone, 2002; Eckle ve ark., 2004; Coşkun ve  zg r, 2011). Apoptozis, embriyonik gelişim ile doku homeostazının korunması ve

sürdürülmesinde önemli rol oynayan fizyolojik hücre ölüm süreci olarak tanımlanmaktadır. Apoptoz süreci esasında kaspazların ardışık aktivasyonu ile tetiklenmektedir. Bu süreçte kaspazlar; DNA onarımı, hücre döngüsü kontrolü, hücre sinyali ve yapısal bütünlük gibi işlemler için nonapoptotik hücrelerde aktive olarak fonksiyonlarını gerçekleştirmektedir. Bir hücrenin apoptoza götürülme sürecinin içsel yolunda kaspaz 9, dışsal yolunda ise kaspaz 8 ve kaspaz 3 aktive hale gelmektedir (Öktem ve ark., 2001; Eckle ve ark., 2004; Coşkun ve Özgür, 2011).

Programlanmış hücre ölümü ve nispeten kontrollü bir süreç apoptozis; hücrelerin, dokuların ve organların patofizyolojisinde kritik öneme sahip olmakla birlikte gözdeki lezyonlardan katarakt, retina dejenerasyonu, glaukom ve bazı kornea distrofilerinin patogenezinde de yer almaktadır (Kinloch ve ark., 1999; Quigley, 1999; Wilson, 1999). Literatürde çeşitli doku hasarlarında ve katarakta apoptozda rol oynayan kaspazların düzeylerini araştıran birçok çalışma mevcuttur (Atasever ve ark., 2007; Kim ve Choung, 2017; Li ve ark., 2017; Ekebaş ve ark., 2020; Huang ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022). Huang ve ark. (2022) yaşa bağlı katarakta biliverdin/bilirubin redoks çiftinin lens epitel hücrelerini oksidatif strese karşı koruyup korumadığına yönelik çalışma yapmışlardır. Çalışma kapsamına yaşa bağlı katarakt hastalarından cerrahi sonrasında temin edilen ön lens kapsül dokuları (n=45) ve C57BL/6 farelerinin lens kapsülünden elde edilen lens epitel hücreleri dahil edilmiştir. Farelere ait lens epitel hücreleri Dulbecco's kültür ortamında H_2O_2 (50 μM , 100 μM , 200 μM , 400 μM , 800 μM ve 1000 μM dozlarında) ile oksidatif strese maruz bırakılmıştır. Kontrol grubunda yer alan hücelere herhangi bir madde/ajan verilmezken, biliverdin/bilirubin terapötik etkisini göstermek için iki ayrı grup (biliverdin ve bilirubin grupları) daha oluşturulmuştur. Apoptotik proteinlerden kaspaz 3 aktivitesine ait sonuçlara bakıldığında; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 24 saat boyunca 200 μM 'de H_2O_2 maruziyeti kaspaz 3 düzeyini 6 kat arttırmıştır. 2 saat boyunca 20 μM 'de H_2O_2 maruziyeti ile biliverdin ve bilirubin ile tedavi edilen gruplar karşılaştırıldığında kaspaz-3 seviyeleri 4 kat azalmıştır. Kontrol grubu ve biliverdin ve bilirubin tedavi grupları arasında ise kaspaz 3 seviyeleri açısından belirgin bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak; H_2O_2 maruziyetinin kontrol grubuna kıyasla apoptotik oranı/hızı bariz bir şekilde yükselttiği, bununla birlikte ortama biliverdin ve bilirubin tedavisinin eklenmesiyle apoptotik oranın/hızın

düştüğü bildirilmiştir. Ayrıca, lens epitel hücre apoptozunun oksidatif stres tarafından tetiklenebileceğini, biliverdin ve bilirubin tedavisinin apoptotik moleküllerin (Bax, Bcl-2 ve kaspaz 3) ekspresyonunu düzenleyerek lens epitel hücrelerinde apoptozu azaltabildiğini bildirmişlerdir (Huang ve ark., 2022).

Sprague Dawley rat yavrularında selenit kaynaklı kataraktın etkilerine üzerine yapılan çalışmada lenslerdeki oksidatif hasar ve apoptoz indekslerini analiz edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 40 adet rat yavrusu, sodyum selenit (20 µmol/kg) maruziyeti ile katarakt yapılmıştır. Katarakt üzerindeki etkilerini araştırmak üzere bazı kan kanserlerini tedavi etmek için kullanılan idelalisib (60 mg/kg) tedavi edici ajan olarak uygulanmıştır. Kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm gruplardaki rat yavrularının lens örneklerinde western blot analizi ile kaspaz 3 seviyeleri belirlenmiştir. Kaspaz-3 ekspresyon seviyelerinin sodyum selenit ile indüklenen kataraktlı grupta arttığı, idelalisib ile tedavi edilen grupta ise azaldığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada idelalisib'in lens oksidatif stresini ve apoptozu etkili bir şekilde inhibe edebileceği sonucuna varılmıştır (Zhang ve ark., 2022).

Bir diğer çalışmada Ekebas ve ark. (2020), karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda KTY'nin apoptoz ve kaspaz aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma kapsamında hücresel apoptozda kaspaz 3, 8 ve 9 aktivasyonları ile MDA ve TAS seviyeleri analiz edilmiştir. Karaciğer hasarı oluşturulan ratların kaspaz 3, 8 ve 9 boyamalarında pozitiflik tespit edildiği belirtilmiştir. Karaciğer hasarının tedavi edilmesine yönelik diyetlerine KTY (4 ml/kg) eklenen ratların karaciğer dokularında da kaspaz 3, 8 ve 9 boyamalarında pozitiflik tespit edildiği fakat boyanan hücre oranının karaciğer hasarı oluşturulan gruba göre daha düşük seviyede olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte karaciğer hasarı sonucu karaciğer MDA düzeylerinde önemli bir artış olduğu gösterilmiştir. Karbon tetraklorür'lü gruplara KTY uygulanması, artmış olan MDA düzeylerini sayısal olarak azaltmıştır. KTY'nin tek başına karaciğer hasarında tedavi edici nitelikte TAS düzeyinde önemli artışlara neden olmuştur (Ekebaş ve ark., 2020).

Choi ve ark. (2019), selenit ile indüklenen kataraktın tedavisinde bir yaban mersini türü olan vaccinium uliginosum L.'nin etkisini araştırmışlardır. Sprague-Dawley rat yavrularının lensinde selenit kaynaklı katarakt oluşturulmuş ve tedavi gruplarına üç

farklı dozda (40 mg/kg, 80 mg/kg ve 120 mg/kg) *vaccinium uliginosum* L. diyeteye eklenmiştir. Çalışma sonucunda; DNA hasarına cevap olarak aktiveleşen olan ve kaspaz 3'ün aktivasyonu ile bölünen poli (ADP-riboz) polimeraz enziminin aktivitesi *vaccinium uliginosum* L. tedavisi ile inhibe edildiği bildirilmiştir. Bu sonuç, *vaccinium uliginosum* L.'nin poli (ADP-riboz) polimeraz bölünmesi ile belirlendiği üzere, lenste selenit kaynaklı apoptozu inhibe ettiğini göstermiştir (Choi ve ark., 2019).

Bir diğer selenit maruziyeti kaynaklı deneysel katarakt çalışmasında katarakt oluşumu ve altta yatan mekanizma araştırılmıştır. Sprague-Dawley rat yavrularının lens örneklerinde western blot analizi ile apoptotik faktörlerden kaspaz 3 düzeyine bakılmıştır. Tedavi edici/koruyucu ajan olarak *Pinus densiflora* bitki ekstraktı (40, 80 ve 120 mg kuru ekstrakt/kg) kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre, selenit kaynaklı katarakt grubu normal kontrol ile karşılaştırıldığında artmış kaspaz-3 aktivasyonu belirlenmiştir. Bununla birlikte, *Pinus densiflora* bitki ekstraktı ile tedavi edilen gruplarda, selenit kaynaklı katarakt grubu göre önemli derecede kaspaz-3 aktivasyonu baskılanmıştır. Sonuç olarak, *Pinus densiflora* bitki ekstraktının, selenit kaynaklı kataraktlı lenslerde apoptozu inhibe ettiğini gösterilmiştir (Kim ve Choung, 2017).

Yukarıda tartıştığımız literatür bilgileri ile çalışma sonuçlarımızın benzerlik gösterdiği belirlendi. Çalışmamızda apoptotik parametrelerden kaspaz 3 ve 9 analizi ELISA yöntemi ile gerçekleştirildi. Çalışmamızda HC grubuna ait kaspaz 3 ve 9 düzeyleri sırasıyla 11.60 ± 1.34 , 38.82 ± 2.82 ng/lens olarak hesaplandı. Kontrol grubu ortalama değerleri ise kaspaz 3 için 7.15 ± 0.75 ng/lens, kaspaz 9 için 23.80 ± 2.41 ng/lens olduğu belirlendi. HC grubu ortalama değerleri her iki parametre için kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ($p < 0.05$, Tablo 4.6, Tablo 4.7). KTY'nin tedaviye eklenmesiyle kaspaz 3 ve 9 seviyelerinde HC grubuna kıyasla anlamlı bir azalma olduğu görüldü. KTY tedavisinde doz artışı ile apoptotik belirteçler (kaspaz 3 ve 9) arasında ters orantılı bir ilişki saptandı. Özellikle 150 µl/yumurta KTY grubunun katarakt oluşan embriyolarda kaspaz 3 ve 9 aktivasyonunu inhibe ederek apoptotik süreci tersine çevirdiği söylenebilir.

Serbest radikallerin zararlı etkileri ve buna bağılı gerçekleşen apoptotik süreçler fonksiyonel gıdalar gibi bazı maddeler/ajanlar tarafından baskılanabilir. Bu bakımdan yapısında ω -3 yağ asidi ve ALA gibi birçok fitokimyasal madde içeren KTY fonksiyonel bir gıda olarak kabul görmektedir (Katare ve ark., 2012). KTY'nin içeriğindeki moleküller sayesinde antioksidan kapasitesi yüksek bir gıda olması nedeniyle oksidatif stres kaynaklı hastalıklara karşı koruyucu bir özelliğe sahiptir (Bhatia ve ark., 2007; Udenigwe ve Aluko, 2012). Bu bilgiler ile birlikte yukarıda tartışılan literatür göz önüne alındığında, çalışmamızda da HC maruziyetine bağılı lens epitel hücrelerinde kaspaz yollarının aktivasyonu gerçekleşti ve olumsuz yönde apoptotik bir süreç ortaya çıktı. KTY'nin antioksidan olarak tedaviye eklenmesiyle kaspaz 3 ve 9 kaynaklı apoptotik süreç inhibe edildi. Çalışma sonuçlarımızın literatür ile uyumlu olduğu (Ekebaş ve ark., 2020; Huang ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022), kaspaz 3 ve 9 aktivasyonunun HC maruziyetiyle arttığı, KTY'nin tedaviye eklenmesiyle bu durumun baskılandığı görüldü. Bununla birlikte, çalışmamıza ait ortalama değerlerin (kaspaz 3 ve 9'a ait) literatür ile değişkenlik göstermesinde analiz yöntemlerinin (Real-Time PCR, ELISA, Western Blot gibi farklı analizler), tedavide kullanılan ajan/maddelerin ve deney hayvanı ile modelinin farklılığından kaynaklandığı kanaatindeyiz.

Esasen apoptotik hücreler organizmada sürekli olarak oluşmaktadır. Bu süreç dokularda ömür boyu devam etmekte ve apoptoz (ölüm) - mitoz (yeniden yapım) döngüsü homeostazisin sürekliliğini sağlamaktadır. Bir insanda mitozla günlük 10 milyar hücre oluşmaktadır. Homeostazisin korunmasında da günlük 10 milyar hücrenin apoptoz ile ölmesi gerekmektedir. Apoptozun gerçekleşmesinde komşu hücrelere zarar verilmeden ve iz bırakmadan hedeflenen hücreler yok edilmektedir. Bu bağlamda apoptoz ile ilgili sayısal oranın hesaplanmasında apoptotik indeksten faydalanılmaktadır. Apoptotik indeks, apoptotik hücre sayısının yaşayabilir hücrelere oranı ile belirlenmektedir. Bunun için öncelikle apoptozun hücrelerde görünür hale getirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla çeşitli histolojik, morfolojik ve biyokimyasal yöntemler geliştirilmiştir (Kerr ve ark., 1972; Elmore, 2007; Güleş ve Ülker, 2008). TUNEL boyama yöntemi bunlardan biri olup DNA kırıklarının in-situ olarak tanınmasını sağlar. Apoptotik parçalanma sonucu DNA uçları, DNA polimeraz veya Klenow fragmenti kullanılarak işaretlenebilmektedir. Ancak terminal

deoksinükleotidil transferaz (TdT) kullanılarak yapılan işaretleme daha duyarlı bir yöntem olarak ifade edilmektedir. Parafin kesitlerine, TdT ve nonizotopik işaretli nükleotidler (sıklıkla biyotinli dUTP) kullanılarak yapılan in-situ işaretleme apoptotik hücreleri diğerlerinden ayırmada yeterli olmaktadır. Bu yöntem yaygın olarak “TdT-dUTP nick-end-labelling” sözcüklerinin kısaltılması olan TUNEL boyama yöntemi adıyla anılmaktadır (Gavrieli ve ark., 1992; Kressel ve Groscurth, 1994; Aral, 1996).

Literatürde TUNEL boyama yöntemi kullanılarak lens epitel hücrelerinde apoptotik aktivitenin belirlendiği çalışmalar mevcuttur (Mohamed ve Amemiya, 2003; Chen ve ark., 2014; Zhu ve ark., 2017; Qu ve ark., 2020; Kronschlager ve ark., 2021). Kronschlager ve ark. (2021) in vitro yaptıkları çalışmalarında insan lens epitel hücrelerinde ultraviyole radyasyona (UVR) bağlı apoptotik aktiviteyi araştırmışlardır. Çalışmaya bilateral kataraktlı hastaların cerrahi sonrası alınan lens kapsülüne ait lens epitel hücreleri dahil edilmiştir. Birinci ve ikinci göz ameliyatları arasında 1 hafta süre bırakılmış ve ikinci göz ameliyatından kısa bir süre önce hastalardan üç fincan espressoya eşdeğer 180 mg kafein içeren bir fincan kahve içmeleri istenmiştir. Tek yüksek doz peroral kafein alımı ile UVR'ye bağlı apoptotik aktivite arasında analiz gerçekleştirilmiştir. Her iki cerrahi sonrası lens epitel hücreleri kültür ortamına alınmış ve Bio-Link 312 UV ışınlama sistemi kullanılarak 10 kJ/m^2 UVR'ye maruz bırakılmıştır. Çalışmada UVR maruziyeti hem tedavi hem de kontrol gruplarında lens epitel hücrelerinin TUNEL boyamasını tetiklemiştir. Bununla birlikte, kafein alımı olan gruba ait lens epitel hücrelerinin TUNEL boyamasını ait veriler, kafein alımı olmayan grupla karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha az TUNEL boyaması gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, birçok içecek ve çikolata bazlı gıda ürünlerinde yer alan kafeinin tüketiminin yaşa bağlı katarakt üzerinde koruyucu bir etkisi olduğu ve lens epitel hücrelerinde UVR'nin neden olduğu apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir (Kronschlager ve ark., 2021).

Bir diğer çalışmada, N-metil-N-nitrozure ile indüklenen deneysel hayvan modellerinde lens ve kornea hasarında TUNEL boyama ile apoptotik aktiviteye bakılmıştır. Çalışmanın deney protokolünde hem rat hem de tavşan deney hayvanı olarak kullanılmıştır. Her iki deney hayvanında literatüre uygun dozlarda N-metil-N-

nitrozure uygulaması yapılmış ve katarakt oluşturulmuştur. Kontrol grubu ile kataraktlı gruplar arasında apoptotik aktivasyon ile ilgili analizde TUNEL boyama tekniği kullanılmıştır. N-metil-N-nitrozure'nin katarakt oluşumu ve kornea endotel dekompanseasyonu ile sonuçlanan lens epitel hücre apoptozunu indükleyen toksik madde olarak hareket ettiği bildirilmiştir. Tavşan lens epitel hücre örneklerinde TUNEL boyama aktivasyonuna bakıldığında, TUNEL kontrol grubunun kornea bölümlerinde birkaç apoptotik hücre ortaya çıkarmasına rağmen, N-metil-N-nitrozure ile tedavi edilen tavşanlarda tüm kornea katmanları boyunca çok sayıda apoptotik hücre gözlenmiştir. Benzer sonuçlar rat lens epitel hücre örneklerinde de görülmekle birlikte çalışmanın genel sonucu olarak N-metil-N-nitrozure tedavisinin doza bağlı bir şekilde lens epitel hücre apoptozunu indüklediği gösterilmiştir (Qu ve ark., 2020).

Chen ve ark. (2014) 5.5 günlük civciv embriyolarında yüksek tuz maruziyetinin retina ve lens gelişimine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında hücre ölümü üzerindeki etkili apoptotik hücreleri saptamak ve ölçmek için TUNEL boyama yöntemini kullanmışlardır. Yüksek tuzla tedavi edilen embriyoların (%41.75±1.22) retinalarındaki TUNEL pozitif hücre sayısı, kontrollerden (%1.43±0.30) önemli ölçüde daha yüksek bulunmuş ve bu farkı istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir (p<0.01). TUNEL pozitif hücre çekirdeklerinin, nöroepitelyum boyunca lokalize olduğu ve pozitif hücrelerin özellikle retinanın iç yarısında daha bol miktarda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Çalışma sonucunda; kontrol embriyolarına kıyasla 5.5 günlük civciv embriyolarında yüksek tuz tedavisinin gözde malformasyona neden olduğunu ve bu süreçteki apoptotik aktiviteyi TUNEL boyama ile gösterdiklerini bildirmişlerdir (Chen ve ark., 2014).

Bizde çalışmamızda apoptoz ve proliferasyon olan hücrelerin varlığını göstermede TUNEL boyama ile immünohistokimyasal işaretlemeler yaptık. Yukarıda ifade ettiğimiz literatür bilgileri ile uyumlu şekilde çalışmamızda HC ile indüklenen katarakt grubunda apoptotik oran diğer gruplara nazaran yüksek düzeyde artış sergiledi (HC grubu: 54.71; Kontrol: 26.14; 50 µL/yumurta KTY: 49.43; 100 µL/yumurta KTY: 42.86; 150 µL/yumurta KTY: 33.00). HC grubu ile kontrol ve 150 µL/yumurta KTY grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu

görüldü ($p<0.05$, Tablo 4.8). 5.5 günlük civciv embriyolarında yapılan çalışmada Chen ve ark., (2014) olduğu gibi çalışmamızda da toksik ajan/maddenin (HC) apoptotik süreci olumsuz etkilediği buna bağlı olarak katarakt gelişimi ile birlikte apoptotik oranın arttığı belirledik. KTY'nin antioksidan olarak tedavide doza bağlı antiapoptotik etkiye sahip olduğunu gösterdik. Genel değerlendirmede TUNEL boyama sonuçlarımızın literatür ile uyumlu şekilde olduğu, bu verilerin gelecekte yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda HC ile indüklenen civciv embriyo katarakt modelinde KTY'nin antioksidan özelliklerini göstermeye yönelik katarakt derecelendirmesi ile histolojik (TUNEL boyama yöntemi) ve biyokimyasal (MDA, GSH, TAS, TOS, kaspaz 3 ve kaspaz 9) parametrelerin analizi gerçekleştirildi. 0.50 μmol /yumurta HC dozunun katarakt mekanizmasına etki ederek, katarakt oluşumunu tetiklediği ve deneysel olarak katarakt oluşumunda etkin bir doz olarak kullanılabileceği gösterildi.

Tedaviye eklenen farklı dozlardaki KTY uygulaması (50, 100 ve 150 μL /yumurta) doza bağlı olarak civciv embriyolarında HC ile indüklenen katarakt derecelerini azalttı. Bununla birlikte, KTY antioksidan özellikleriyle biyokimyasal parametreleri ve apoptotik oranı kontrol grubunun sonuçları ile uyumlu olarak normal değerlere yaklaştırdı.

Hayvan modellerine dayalı deneysel çalışmaların sonuçları her ne kadar insanlardaki koşulları tam anlamıyla yansıtmasa da bu çalışma civciv embriyolarında HC ile indüklenen katarakt üzerinde KTY'nin antioksidan etkisini göstermek açısından literatüre katkı sağlayacak niteliktedir. Bununla birlikte civciv ve diğer hayvan modellerinde araştırmaların yapılmasının katarakt mekanizmasının daha kapsamlı anlaşılmasına/açıklanmasına katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbasi, F., Samadi, F., Jafari, S.M., Ramezani, S., Shams Shargh, M. (2019) 'Ultrasound-assisted preparation of flaxseed oil nanoemulsions coated with alginate-whey protein for targeted delivery of omega-3 fatty acids into the lower sections of gastrointestinal tract to enrich broiler meat'. *Ultrasonics Sonochemistry*, 50, pp. 208–217.
- Abdelkader, H., Longman, M., Alany, R.G., Pierscionek, B. (2016) 'On the anticataractogenic effects of l-carnosine: is it best described as an antioxidant, metal-chelating agent or glycation inhibitor?'. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2016.
- Addison, P.K.F. (2006) *Clinical, molecular, genetic and functional studies on inherited human cataracts*. University of London, University College London (United Kingdom).
- Akpolat, M., Kanter, M., Topcu-Tarlacalisir, Y., Aydogdu, N. (2011) 'Protective effect of flaxseed oil on renal injury in hyperlipidaemic rats: the effect of flaxseed oil on hyperlipidaemia'. *Phytotherapy Research*, 25(6), pp. 796–802.
- Akrami, A., Nikaein, F., Babajafari, S., Faghih, S., Yarmohammadi, H. (2018) 'Comparison of the effects of flaxseed oil and sunflower seed oil consumption on serum glucose, lipid profile, blood pressure, and lipid peroxidation in patients with metabolic syndrome'. *Journal Of Clinical Lipidology*, 12(1), pp. 70–77.
- Aksoy, T. (1999) *Tavuk Yetiştiriciliği. 3.baskı.*, Ankara, Şahin Matbaa.
- Al-Okbi, S.Y., Mohamed, D.A., Hamed, T.E., Esmail, R.S.H., Donya, S.M. (2014) 'Prevention of renal dysfunction by nutraceuticals prepared from oil rich plant foods'. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 4(8), p. 618.
- Aral, H. (1996) 'Apoptotik hücrelerin tanınma yöntemleri. Sendrom'. 1, 38-42.
- Arıncı, K. ve Elhan, A. (2006) *Anatomi 1. Cilt, Güneş Kitabevi, Ankara*.
- Arifoğlu, Y. (2019) *Her Yönüyle Anatomi 2. Baskı*, İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Asbell, P.A., Dualan, I., Mindel, J., Brocks, D., Ahmad, M., Epstein, S. (2005) 'Age-related cataract'. *Lancet (London, England)*, 365(9459), pp. 599–609.
- Atasever, A., Senturk, M., Ekebas, G., Yaman G.D., Eren, M. (2007) 'The effects of pumpkin seed oil on carbon tetrachloride induced chronic hepatic damage in rats and detection of hepatic apoptosis by caspase activity.'. *Indian Journal Of Animal Research*, 1, 7.
- Atay, E., Ertekin, A., Bozkurt, E., Aslan, E. (2020) 'Impact of bisphenol a on neural tube development in 48-hr chicken embryos'. *Birth Defects Research*, 112(17), 1386-1396.
- Babajafari, S., Hojhabrmanesh, A., Sohrabi, Z., Ayaz, M., Noorafshan, A., Akrami, A. (2018) 'Comparing isolated soy protein with flaxseed oil vs isolated soy protein with corn oil and wheat flour with corn oil consumption on muscle catabolism, liver function, blood lipid, and sugar in burn patients: a randomized clinical trial'. *Trials*,

19(1), p. 308.

Badawy, E., Rasheed, W., Elias, T., Hussein, J., Harvi, M., Morsy, S. ve ark., (2015) 'Flaxseed oil reduces oxidative stress and enhances brain monoamines release in streptozotocin-induced diabetic rats'. *Human & Experimental Toxicology*, 34(11), pp. 1133–1138.

Barabino, S., Rolando, M., Camicione, P., Ravera, G., Zanardi, S., Giuffrida, S. ve ark., (2003) 'Systemic linoleic and gamma-linolenic acid therapy in dry eye syndrome with an inflammatory component'. *Cornea*, 22(2), pp. 97–101.

Barbary, O.M., El-Sohaimy, S.A., El-Saadani, M.A., Zeitoun, A.M.A. (2010) 'Antioxidant, antimicrobial and anti-hcv activities of lignan extracted from flaxseed.'. *Research Journal Of Agriculture And Biological Sciences*, 6(3), 247-256.

Baumans, V., Beynen, A., Zutphen, L. (1993) '*Principles of Laboratory Animal Science: A Contribution to the Humane Use and Care of Animals and to the Quality of Experimental Results*'. Amsterdam: Elsevier.

Bayazit, S., Engin, B., Kutlubay, Z., Aşkın, Ö., Serdaroğlu, S. (2020) 'Side effects of systemic steroids and management'. *Dermatoz*, 11(1), pp. 1–6.

Bayley, K.D. and Read, R.A. (2018) 'Sub-tenon's anesthesia for canine cataract surgery'. *Veterinary Ophthalmology*, 21(6), pp. 601–611.

Berner, L.A. and O'Donnell, J.A. (1998) 'Functional foods and health claims legislation: applications to dairy foods'. *International Dairy Journal*, 8(5–6), pp. 355–362.

Bhat, S.P. (2001) 'The ocular lens epithelium'. *bioscience reports*, 21(4), pp. 537–563.

Bhatia, A.L., Sharma, A., Patni, S., Sharma, A.L. (2007) 'Prophylactic effect of flaxseed oil against radiation-induced hepatotoxicity in mice'. *Phytotherapy Research*, 21(9), pp. 852–859.

Bilska, A., Waszkowiak, K., Błaszyk, M., Rudzińska, M., Kowalski, R. (2018) 'Effect of liver pâté enrichment with flaxseed oil and flaxseed extract on lipid composition and stability'. *journal of the science of food and agriculture*, 98(11), pp. 4112–4120.

Bozkurt, E., Atay, E., Bilir, A., Ertekin, A., Koca B., H., Sabaner C., (2021) 'A novel model of early type 1 diabetes mellitus: the chick embryo air sack model'. *Saudi Journal Of Biological Sciences*. 28(10), 5538-5546.

Brar, V.S. (2004) Section 2: *Fundamentals and Principles of Ophthalmology*.

Bronner-Fraser, M. (2008) *Avian Embryology*, Methods in Cell Biology.

Bryar, P.J., Gu, D., Agron, S., Eichinger, S.E. (2019) 'Eye', in color atlas of human fetal and neonatal histology. *Cham: Springer International Publishing*, pp. 311–323.

Cao, J., Wang, T., Wang, M. (2018) 'Investigation of the anti-cataractogenic mechanisms of curcumin through in vivo and in vitro studies'. *Bmc Ophthalmology*, 18(1), pp. 1–8.

Che, L., Zhou, Q., Liu, Y., Hu, L., Peng, X., Wu, C. ve ark., (2019) 'Flaxseed oil

supplementation improves intestinal function and immunity, associated with altered intestinal microbiome and fatty acid profile in pigs with intrauterine growth retardation'. *Food & Function*, 10(12), pp. 8149–8160.

Chen, Y., Wang, G., Wang, X.Y., Ma, Z.L., Chen, Y.P., Chuai, M. ve ark., (2014) 'Effects of high salt-exposure on the development of retina and lens in 5.5-day chick embryo'. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 34(3), 804-817.

Cheng, C., Yu, X., McClements, D.J., Huang, Q., Tang, H., Yu, K. ve ark., (2019) 'Effect of flaxseed polyphenols on physical stability and oxidative stability of flaxseed oil-in-water nanoemulsions'. *Food Chemistry*, 301, p. 125207.

Choi, J.I., Kim, J., Choung, S.Y. (2019) 'Polyphenol-enriched fraction of vaccinium uliginosum l. protects selenite-induced cataract formation in the lens of sprague-dawley rat pups'. *Molecular Vision*, 25, pp. 118–128.

Cohen, S., Moore, A., Ward, W. (2005) 'Flaxseed oil and inflammation-associated bone abnormalities in interleukin-10 knockout mice'. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(6), pp. 368–374.

Cook, D.J., Mulrow, C.D., Haynes, R.B. (1997) 'Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions'. *Annals of internal medicine*, 126(5), pp. 376–80.

Cook, N.C. and Samman, S. (1996) 'Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources'. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2(7), pp. 66–76.

Coppleson, L.W. and Michie, D. (1965) 'Comparison of the chorioallantoic membrane and splenomegaly systems of graft-versus-host assay in the chick embryo'. *Nature*, 208(5005), pp. 53–54.

Coşkun, G. ve Özgür, H. (2011) 'Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması'. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(3), pp. 145–158.

Çağıl, N., Çakmak, H.B., Özalp, P.K., Şimşek, Ş. (2008) 'Lasek sonrası steroide bağlı göz içi basıncı artışı'. *Glokom-Katarakt/Journal of Glaucoma-Cataract*, 3(2).

Çelik, E., Doğan, E., Çakır, B., Alagöz, G. (2015) 'Arka polar katarakt olgularında cerrahi sonuçlar'. *Glokom-Katarakt/Journal of Glaucoma-Cataract*, 10(3).

Dave, A., Craig, J.E., Alamein, M., Skrzypiec, K., Beltz, J., Pfaff, A. ve ark., (2021) 'Genotype, age, genetic background, and sex influence epha2-related cataract development in mice'. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 62(12), pp. 3–3.

Dehghan-Manshadi, A., Peighambaroust, S.H., Azadmard-Damirchi, S., Niakousari, M. (2020) 'Effect of infrared-assisted spouted bed drying of flaxseed on the quality characteristics of its oil extracted by different methods'. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), pp. 74–80.

Drake, R., Vogl, W., Mitchell, A.W., (2018) *Tıp Fakültesi Öğrencileri için Gray's Anatomi: 3. Baskı*. (Cumhur, M., Taşcıoğlu, B., Tunalı S. Çev.) Baş ve Boyun. Ankara Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.

Dugani, A., Auzzi, A., Naas, F., Megwez, S. (2008) 'Effects of the oil and mucilage

from flaxseed (*linum usitatissimum*) on gastric lesions induced by ethanol in rats'. *Libyan Journal of Medicine*, 3(4), pp. 166–169.

Duman, R., Ertekin, T., Duman, R., Vurmaz, A., Çetinkaya, E., Güzel, H. (2019a) 'Anticataractogenic effect of betaine in chick embryo hydrocortisone-induced cataract model'. *Indian Journal of Medical Research*, 150(4), pp. 407–411.

Duman, R., Ertekin, T., Duman, R., Vurmaz, A., Köken, T., Bilir, A. (2018) 'Comparison of the efficacy of different hydrocortisone-induced cataract models in developing chick embryos'. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 21(3), pp. 1–7.

Duman, R. and Vurmaz, A. (2018) 'Role of innate immunity and oxidative stress in steroid-induced cataracts in developing chick embryos'. *Cutaneous and ocular toxicology*, 37(3), pp. 281–285.

Duval, M. (1889) *Atlas d'embryologie*. Paris : G. Masson.

Eckle, V.S., Buchmann, A., Bursch, W., Schulte-Hermann, R., Schwarz, M. (2004) 'Immunohistochemical detection of activated caspases in apoptotic hepatocytes in rat liver'. *Toxicologic pathology*, 32(1), pp. 9–15.

Ehr, I.J., Persia, M.E., Bobeck, E.A. (2017) 'Comparative omega-3 fatty acid enrichment of egg yolks from first-cycle laying hens fed flaxseed oil or ground flaxseed'. *Poultry Science*, 96(6), pp. 1791–1799.

Yonova-Doing, E. (2018). *The genetic epidemiology and omics of age-related cataract* (Doctoral dissertation, King's College London).

Ekebaş, G., Atasever, A., Şentürk, M., Gram, D.Y. ve Meryem, E. (2020) 'Ratlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan kronik karaciğer hasarı üzerine nar çekirdeği yağının etkisi ve kaspaz aktivitesi ile hepatik apoptozisin belirlenmesi'. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 29(2), 91-98.

Elmore, S. (2007) 'Apoptosis: A review of programmed cell death'. *Toxicologic Pathology*, pp. 495–516.

Eren, B., Özşarı, H.S., Aktulay, G. (2018) 'As an example of a national health program: national eye health program.'. *Acibadem Health Policies Application and Research Center. Publication No 2. 1*. Printing, Istanbul; 19.

Ertekin, A., Atay, E., Bozkurt, E., Aslan, E. (2021) 'Effect of buscopan, a compound that alleviates cramps, on the developing nervous system of the chick embryo'. *Birth Defects Research*, 113(15), 1140-1151.

Ertekin, T., Bilir, A., Aslan, E., Koca, B., Turamanlar, O., Ertekin, A. ve ark., (2019) 'The effect of diclofenac sodium on neural tube development in the early stage of chick embryos'. *Folia Morphologica*, 78(2), pp. 307–313.

Festing, M. and Altman, D. (2002) 'Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals.' *ILAR Journal* 43:244-58.

Festing, M., Gaines, P., Cortina, B., Manuel, B. (2002) *The design of animal experiments*. London: The Royal Society of Medicine Press Limited.

Francis, P.J. (2016) *Clinical and Genetic Heterogeneity of Human Cataract*. University of London, University College London (United Kingdom).

- François, J. (1984) 'Corticosteroid glaucoma'. *Ophthalmologica*, 188(2), pp. 76–81.
- Garbe, E. (1997) 'Inhaled and nasal glucocorticoids and the risks of ocular hypertension or open-angle glaucoma'. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 277(9), p. 722.
- Gavrieli, Y., Sherman, Y., Ben-Sasson, S.A. (1992) 'Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation'. *Journal of Cell Biology*, 119(3), pp. 493–501.
- Glyn, J. (1998) 'The discovery and early use of cortisone'. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 91(10), pp. 513–517.
- Gogus, U. and Smith, C. (2010) 'n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge'. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(3), pp. 417–436.
- Gözüm, N. (2012) *Lensin Metabolizması ve Yaşlanması*.
- Guarda, D.S., Lisboa, P.C., de Oliveira, E., Nogueira-Neto, J.F., de Moura, E.G., Figueiredo, M.S. (2014) 'Flaxseed oil during lactation changes milk and body composition in male and female suckling pups rats'. *Food and Chemical Toxicology*, 69, pp. 69–75.
- Guarda, D.S., de Moura, E.G., Carvalho, J.C., Reis, A.M. dos, Soares, P.N., Lisboa, P.C. ve ark., (2016) 'Maternal flaxseed oil intake during lactation changes body fat, inflammatory markers and glucose homeostasis in the adult progeny: role of gender dimorphism'. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 35, pp. 74–80.
- Gui, B., Shim, Y.Y., Reaney, M.J.T. (2012) 'Distribution of cyclolinopeptides in flaxseed fractions and products'. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(35), pp. 8580–8589.
- Gulcin, İ. (2020) 'Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview'. *Archives of Toxicology*, 94(3), pp. 651–715.
- Gupta, V., Rajagopala, M., Ravishankar, B. (2014) 'Etiopathogenesis of cataract: An appraisal'. *Indian Journal of Ophthalmology*, 62(2), pp. 103–110.
- Güleş, Ö. ve Ülker, E. (2008) 'Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. Yüzüncü'. *Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2), pp. 73–78.
- Hallund, J., Tetens, I., Bügel, S., Tholstrup, T., Bruun, J.M. (2008) 'The effect of a lignan complex isolated from flaxseed on inflammation markers in healthy postmenopausal women'. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 18(7), pp. 497–502.
- Hamburger, V. and Hamilton, H.L. (1951) 'A series of normal stages in the development of the chick embryo'. *Journal of Morphology*, 88(1), pp. 49–92.
- Harper, C.R., Edwards, M.C., Jacobson, T.A. (2006) 'Flaxseed oil supplementation does not affect plasma lipoprotein concentration or particle size in human subjects'. *The Journal of Nutrition*, 136(11), pp. 2844–2848.
- Harvey, W. (1628) *Exercise anatomy of the motion of the heart and blood in animals*. Frankfurt: Guiliemi Firzeri.

Harvey, W., & Willis, R. (1847). *The Works of William Harvey*. (Vol. 11). London Printed for the Sydenham society 1847.

Hashemzadeh, A.A., Nasoohi, N., Raygan, F., Aghadavod, E., Akbari, E., Taghizadeh, M. ve ark., (2017) 'Flaxseed oil supplementation improve gene expression levels of ppar- γ , lp(a), il-1 and tnf- α in type 2 diabetic patients with coronary heart disease'. *Lipids*, 52(11), pp. 907–915.

Huang, Y., Li, J., Li, W., Ai, N., Jin, H. (2022) 'Biliverdin/bilirubin redox pair protects lens epithelial cells against oxidative stress in age-related cataract by regulating nf-kb/inos and nrf2/ho-1 pathways'. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Edited by R. Liman, 2022, pp. 1–15.

Isai, M., Elanchezhian, R., Sakthivel, M., Chinnakkaruppan, A., Rajamohan, M., Jesudasan, C.N. ve ark., (2009) 'Anticataractogenic effect of an extract of the oyster mushroom, pleurotus ostreatus, in an experimental animal model'. *Current eye research*, 34(4), pp. 264–273.

Ishikawa, S., Hashizume, K., Nishigori, H., Tezuka, Y., Sanbe, A., Kurosaka, D. (2015) 'Effect of astaxanthin on cataract formation induced by glucocorticoids in the chick embryo'. *Current Eye Research*, 40(5), pp. 535–540.

İncebiyık, İ. (2016) '*Çocukluk kataraktında ikincil göz içi lens yerleştirilmesi ve sonuçları*'. Doctoral dissertation, Bursa Uludag University Turkey.

Janković, B. D., Isaković, K., Lukić, M. L., Vujanović, N. L., Petrović, S., Marković, B. M. (1975). 'Immunological capacity of the chicken embryo. i. relationship between the maturation of lymphoid tissues and the occurrence of cell-mediated immunity in the developing chicken embryo.' *Immunology*, 29(3), 497.

Javier, R.T. and Butel, J.S. (2008) 'The history of tumor virology'. *Cancer Research*, 68(19), pp. 7693–7706.

Jin, C.Q., Dong, H.X., Cheng, P.P., Zhou, J.W., Zheng, B.Y., Liu, F. (2013) 'Antioxidant status and oxidative stress in patients with chronic ITP'. *Scandinavian journal of immunology*, 77(6), pp. 482–487.

Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2006) *Temel Histoloji*. Aytekin Y, Solakoğlu S. (Edt), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Kağnıcı, D.B. (2013) '*Fakoemülsifikasyon cerrahisi sonrası cerrahiye bağlı astigmatizma*'.

Kain, K.H., Miller, J.W.I., Jones-Paris, C.R., Thomason, R.T., Lewis, J.D., Bader, ve ark., (2014) 'The chick embryo as an expanding experimental model for cancer and cardiovascular research'. *Developmental Dynamics*, 243(2), pp. 216–228.

Kaithwas, G. and Majumdar, D.K. (2010a) 'Evaluation of antiulcer and antisecretory potential of Linum usitatissimum fixed oil and possible mechanism of action'. *Inflammopharmacology*, 18(3), pp. 137–145.

Kaithwas, G. and Majumdar, D.K. (2010b) 'Therapeutic effect of Linum usitatissimum (flaxseed/linseed) fixed oil on acute and chronic arthritic models in albino rats'. *Inflammopharmacology*, 18(3), pp. 127–136.

Kaithwas, G., Mukherjee, A., Chaurasia, A.K., Majumdar, D.K. (2011)

‘Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Linum usitatissimum* L. (flaxseed/linseed) fixed oil’. *Indian Journal of Experimental Biology*, 49(12), pp. 932–938.

Kang, P., Wang, Y., Li, X., Wan, Z., Wang, X., Zhu, H. ve ark., (2020) ‘Effect of flaxseed oil on muscle protein loss and carbohydrate oxidation impairment in a pig model after lipopolysaccharide challenge’. *The British journal of nutrition*, 123(8), pp. 859–869.

Kapugi, M. and Cunningham, K. (2019) ‘Corticosteroids’. *Orthopedic nursing*, 38(5), pp. 336–339.

Karaca, S. and Eraslan, G. (2013) ‘The effects of flaxseed oil on cadmium-induced oxidative stress in rats’. *Biological Trace Element Research*, 155(3), pp. 423–430.

Katare, C., Saxena, S., Agrawal, S., Prasad, G. (2012) ‘Flaxseed: a potential medicinal food’. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 2(1), 120-7.

Kaufmann, S.H. and Hengartner, M.O. (2001) ‘Programmed cell death: alive and well in the new millennium’. *Trends in Cell Biology*, 11(12), pp. 526–534.

Kaul, N., Kreml, R., Austria, J.A., Richard, M.N., Edel, A.L., Dibrov, E. ve ark., (2008) ‘A comparison of fish oil, flaxseed oil and hempseed oil supplementation on selected parameters of cardiovascular health in healthy volunteers’. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(1), pp. 51–58.

Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H., Currie, A.R. (1972) ‘Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics’. *British Journal of Cancer*, 26(4), pp. 239–257.

Khan, M.W., Priyamvada, S., Khan, S.A., Khan, S., Gangopadhyay, A., Yusufi, A.N.K. (2016) ‘Fish/flaxseed oil protect against nitric oxide-induced hepatotoxicity and cell death in the rat liver’. *Human & experimental toxicology*, 35(3), pp. 302–311.

Kiliç, N., Malhatun, E., Elmali, E., Altan, N. (1998) ‘An investigation into the effect of sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase activity in streptozotocin-induced diabetic rat muscle tissue’. *General pharmacology*, 30(3), pp. 399–401.

Kim, J. and Choung, S.Y. (2017) ‘Pinus densiflora bark extract prevents selenite-induced cataract formation in the lens of Sprague Dawley rat pups’. *Molecular Vision*, 23, pp. 638–648.

Kinloch, R.A., Treherne, J.M., Furness, L.M., Hajimohamadreza, I. (1999) ‘The pharmacology of apoptosis’. *Trends in Pharmacological Sciences*, 20(1), pp. 35–42.

Knapen, M.F.C.M., Zusterzeel, P.L.M., Peters, W.H.M., Steegers, E.A.P. (1999) ‘Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction. A review’. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 82(2), pp. 171–184.

Koplin, R.S., Wu, E.I., Ritterband, D.C., Seedor, J.A. (2013) *The Scrub’s Bible*, The Scrub’s Bible. New York, NY: Springer New York.

Korthals, M. (2002) ‘The struggle over functional foods: justice and the social meaning of functional foods’. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 15(3), pp. 315–324.

- Krag, S. and Andreassen, T.T. (2003) 'Mechanical properties of the human lens capsule'. *Progress in Retinal and Eye Research*, 22(6), pp. 749–767.
- Kressel, M. and Groscurth, P. (1994) 'Distinction of apoptotic and necrotic cell death by in situ labelling of fragmented DNA'. *Cell & Tissue Research*, 278(3), pp. 549–556.
- Kronschläger, M., Rieß, M., Dechat, T., Findl, O. (2021) 'Single high-dose peroral caffeine intake inhibits ultraviolet radiation-induced apoptosis in human lens epithelial cells in vitro'. *Acta ophthalmologica*, 99(4), pp. e587–e593.
- Kuszak JR, Clark JI, C.K. (2008) 'Biology of the lens: lens transparency as a function of embryology, anatomy, and physiology'. Azar DT, Rosen ES, editors. *Albert Jacobson's principle and practice of ophthalmology*. 3rd ed. USA: Saunders Elsevier.
- L. Belecky-Adams, T., Haynes, T., M. Wilson, J., Del Rio-Tsonis, K. (2008) 'The chick as a model for retina development and regeneration'. *Animal Models in Eye Research*, pp. 102–119.
- Lamb, T.D., Collin, S.P., Pugh, E.N. (2007) 'Evolution of the vertebrate eye: Opsins, photoreceptors, retina and eye cup'. *Nature Reviews Neuroscience*, pp. 960–976.
- Larsen, W. J. (1998). *Essentials of human embryology*. Churchill livingstone.
- Lee, J.W., Iwatsuru, M., Nishigori, H. (1995) 'Glucocorticoid-induced cataract of developing chick embryo as a screening model for anticataract agents'. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics: the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 11(4), pp. 533–41.
- Li, G., Song, H., Chen, L., Yang, W., Nan, K., Lu, P. (2017) 'TUG1 promotes lens epithelial cell apoptosis by regulating miR-421/caspase-3 axis in age-related cataract'. *Experimental Cell Research*, 356(1), pp. 20–27.
- Li, Z., Gu, S., Quan, Y., Varadaraj, K., Jiang, J.X. (2021) 'Development of a potent embryonic chick lens model for studying congenital cataracts in vivo'. *Communications Biology*.
- Liu, D., Ahmet, A., Ward, L., Krishnamoorthy, P., Mandelcorn, E.D., Leigh, R. ve ark., (2013) 'A practical guide to the monitoring and management of the complications of systemic corticosteroid therapy'. *Allergy, asthma, and clinical immunology: official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*, 9(1).
- Liu, M., Scanlon, C.S., Banerjee, R., Russo, N., Inglehart, R.C., Willis, A.L. ve ark., (2013) 'The histone methyltransferase EZH2 mediates tumor progression on the chick chorioallantoic membrane assay, a novel model of head and neck squamous cell carcinoma'. *Translational Oncology*, 6(3), pp. 273–281.
- Lucas, E.A., Mahajan, S.S., Soung, D.Y., Lightfoot, S.A., Smith, B.J., Arjmandi, B.H. (2011) 'Flaxseed but not flaxseed oil prevented the rise in serum cholesterol due to ovariectomy in the golden Syrian hamsters'. *Journal of Medicinal Food*, 14(3), pp. 261–267.
- Lukowski, S.W., Lo, C.Y., Sharov, A.A., Nguyen, Q., Fang, L., Hung, S.S. ve ark., (2019) 'A single-cell transcriptome atlas of the adult human retina'. *The EMBO Journal*, 38(18), p. e100811.

Malpighi, M. (1672) *The Formation of chicken eggs*.

Manikandan, R., Thiagarajan, R., Beulaja, S., Chindhu, S., Mariammal, K., Sudhandiran, G. ve ark., (2009) 'Anti-cataractogenic effect of curcumin and aminoguanidine against selenium-induced oxidative stress in the eye lens of Wistar rat pups: An in vitro study using isolated lens'. *Chemico-biological interactions*, 181(2), pp. 202–209.

Mantri, R., Sanavana, S. and Arya, S. (2012) 'Flaxseed: health benefits and applications'. *Food Market. Technol*, 24-28.

Marsh, W.L. and Ehrich, C.C. (1975) 'The duffy blood group system: A review of recent developments', *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2(4), 280-289.

Mason, I. (2008) 'The avian embryo'. in methods in molecular biology. *Methods Mol Biol*, pp. 223–230.

Matthews-Grieco, S.F. (2021) 'A transalpine motif in counter-reformation italy: animal analogies with the ages of man and cristofano bertelli's steps of life'. *Journal of the Warburg and Courtauld Institutes* Volume 84, Number 1.

Maxwell, S.E. and Delaney, H.D. (1989) *Designing experiments and analyzing data*. Belmont, California:Wadsworth Publishing Company.

Meister, A. and Anderson, M.E. (1983) 'Glutathione', *Annual review of biochemistry*, 52, pp. 711–760.

Miller, P.S.& D. (2011) *Adler's Physiology Of The Eye*.

Mirfatahi, M., Imani, H., Tabibi, H., Nasrollahi, A., & Hedayati, M. (2018). 'Effects of flaxseed oil on serum bone turnover markers in hemodialysis patients: a randomized controlled trial'. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 12(4), 215.

Mirmasoumi, G., Fazilati, M., Foroozanfard, F., Vahedpoor, Z., Mahmoodi, S., Taghizadeh, M., Esfeh, N.K., Mohseni, M., Karbassizadeh, H. and Asemi, Z. (2018) 'The effects of flaxseed oil omega-3 fatty acids supplementation on metabolic status of patients with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial'. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 126(4), pp. 222–228.

Mirza, G.D., Okka, M., Mirza, E. ve Belviranlı, S. (2021) 'İç Anadolu'da Yer Alan Bir Üniversite Hastanesinin Sağlık Kuruluna Başvuran Yetişkinlerde Monoküler ve Binoküler Körlüğün Nedenleri ve Sıklığı'. *Turk J Ophthalmol*, 51, 282-287.

Moghaddasi, M.S. (2011) 'Linseed and usages in humanlife'. *Advances in Environmental Biology*, 5(6), pp. 1380–1392.

Mohamed, Y.H. and Amemiya, T. (2003) 'Apoptosis and lens vesicle development', *European journal of ophthalmology*, 13(1), pp. 1–10.

Mohseni, F. and Goli, S.A.H. (2019) 'Encapsulation of flaxseed oil in the tertiary conjugate of oxidized tannic acid-gelatin and flaxseed (*Linum usitatissimum*) mucilage'. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, pp. 959–964.

Moore, K.M. and Persaud, T.V.N. (2016) *İnsan Embriyolojisi. 6rd edn*. Edited by H.D. Çeviri editörleri: Mehmet Yıldırım, İmer Okar. Nobel Tıp Kitabevleri.

- Mu, X., Sultankulov, B., Agarwal, R., Mahjoub, A., Schott, T., Greco, N.ve ark., (2014) 'Chick embryo extract demethylates tumor suppressor genes in osteosarcoma cells', in *Clinical Orthopaedics and Related Research*.
- Murphy, J.B. (1914a) 'Factors of resistance to heteroplastic tissue-grafting: Studies in tissue specificity. III'. *Journal of Experimental Medicine*, 19(5), pp. 513–522.
- Murphy, J.B. (1914b) 'Studies in tissue specificity: II. The ultimate fate of mammalian tissue implanted in the chick embryo'. *Journal of Experimental Medicine*, 19(2), pp. 181–186.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. (2018) *Harper's Illustrated Biochemistry (31st Edition)*, Biochemical Education.
- Naqshbandi, A., Khan, W., Rizwan, S. and Khan, F. (2012) 'Studies on the protective effect of flaxseed oil on cisplatin-induced hepatotoxicity'. *Human & experimental toxicology*, 31(4), pp. 364–375.
- Naqshbandi, A., Rizwan, S., Khan, M.W., Khan, F. (2013) 'Dietary flaxseed oil supplementation ameliorates the effect of cisplatin on brush border membrane enzymes and antioxidant system in rat intestine'. *Human & experimental toxicology*, 32(4), pp. 385–394.
- Narayan, B., Miyashita, K., Hosakawa, M. (2006). 'Physiological effects of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA)—A review'. *Food Reviews International*, 22(3), 291-307.
- Nasrabadi, N., MaryamGoli, S.A.H., Sedaghat Doost, A., Dewettinck, K., Paul, V. der M. (2019) 'Bioparticles of flaxseed protein and mucilage enhance the physical and oxidative stability of flaxseed oil emulsions as a potential natural alternative for synthetic surfactants'. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 184, p. 110489.
- Netter, F.H. (2015) *Netter İnsan Anatomisi Atlası 5. Baskı*. Nobel Tıp Kitabevi; Çevirmen: Prof. Dr. Meserret Cumhur.
- Ogilvie, F. M. (1906). *A peculiar form of hereditary congenital cataract*. Trans. of the Ophth. Soc.
- Nishigori, H., Lee, J.W., Yamauchi, Y., Maruyama, K. and Iwatsuru, M. (1987) 'Analysis of glucose levels during glucocorticoid-induced cataract formation in chick embryos'. *Investigative ophthalmology & visual science*, 28(1), 168-174.
- Oduntan, O.A. and Masige, K.P. (2011) 'A review of the role of oxidative stress in the pathogenesis of eye diseases'. *African Vision and Eye Health*, 70(4), pp. 191–199.
- Okuno, T., Kojima, M., Yamaguchi-Sekino, S., Ishiba, Y., Suzuki, Y. and Sliney, D.H. (2021) 'Cataract formation by near-infrared radiation in rabbits'. *Photochemistry and Photobiology*, 97(2), pp. 372–376.
- Oomah, B.D. and Mazza, G. (1998) 'Flaxseed products for disease prevention'. In: *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*, Mazza, G., Ed., Technomic Publishing Co, Inc., Lancaster, PA. Oomah pp. 91–138.
- Öktem, S., Özhan, M.H., Özol, D. (2001) 'Apoptozisin önemi'. *Toraks Dergisi*, 2(1), pp. 91–95.

Özcan, M., Arslan, D., Ünver, A. (2003) 'Fonksiyonel Gıdalar Ve Fitokimyasallar'. *Akademik Gıda*, 1(5), 40-45.

Özçetin, H. (2003) *Klinik göz hastalıkları*, Nobel kitapevleri , 154-5.

Özgür, S. (1999) *Sağlık Alanında Araştırma Yöntemleri*. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi Matbaası.

Pan, A., Yu, D., Demark-Wahnefried, W., Franco, O.H., Lin, X. (2009) 'Meta-analysis of the effects of flaxseed interventions on blood lipids'. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(2), pp. 288–297.

Parikh, M. and Pierce, G.N. (2019) 'Dietary flaxseed: what we know and don't know about its effects on cardiovascular disease'. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 97(2), pp. 75–81.

Pereira, A.D., Ribeiro, D.C., de Santana, F.C., de Sousa dos Santos, A., Mancini-Filho, J., do Nascimento-Saba, C.C.A. ve ark., (2016) 'Maternal flaxseed oil during lactation enhances bone development in male rat pups'. *Lipids*, 51(8), pp. 923–929.

Pevsner, J. (2002) Leonardo da Vinci's contributions to neuroscience. *Trends Neurosci*, 25(4), 217-220.

Pilar, B., Güllich, A., Oliveira, P., Ströher, D., Piccoli, J., Manfredini, V. (2017) 'Protective role of flaxseed oil and flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside against oxidative stress in rats with metabolic syndrome'. *Journal of Food Science*, 82(12), pp. 3029–3036.

Pinheiro, M.N., dos Santos, P.M., dos Santos, R.C.R., Barros, J. de N., Passos, L.F., Cardoso Neto, J. (2007) 'Oral flaxseed oil (linum usitatissimum) in the treatment for dry-eye sjögren's syndrome patients'. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*, 70(4), pp. 649–655.

Prasad, K. (2008) 'Regression of hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside isolated from flaxseed'. *Atherosclerosis*, 197(1), pp. 34–42.

Prasad, K. (2009) 'Flaxseed and cardiovascular health'. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 54(5), pp. 369–377.

Qu, Y., Li, R., Li, X., Yang, Q., Chen, J., Dong, Y. ve ark., (2020) 'Development of animal models for lens and corneal diseases using n-methyl-n-nitrosourea'. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 61(8), pp. 38–38.

Quigley, H.A. (1999) 'Neuronal death in glaucoma'. *Progress in Retinal and Eye Research*, 18(1), pp. 39–57.

Rashidi, H. and Sottile, V. (2009) 'The chick embryo: Hatching a model for contemporary biomedical research'. *BioEssays*, 31(4), 459-465.

Ren, G., Zhang, W., Sun, S., Duan, X., Zhang, Z. (2015) 'Enhanced extraction of oil from flaxseed (linum usitatissimum l.) using microwave pre-treatment'. *Journal of Oleo Science*, 64(10), pp. 1043–1047.

Renu, N., Kaithwas, G., Ramteke, P.W., Saraf, S.A. (2012) 'Effect of linum usitatissimum (linseed/flaxseed) fixed oil on experimental esophagitis in albino rats'. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*, 75(3), pp. 331–335.

- Ringold, G.M., Blair, P.B., Bishop, J.M., Varmus, H.E. (1976) 'Nucleotide sequence homologies among mouse mammary tumor viruses', *Virology*, 70(2), pp. 550–553.
- Roberts, I., Kwan, I., Evans, P., Haig, S. (2002) 'Does animal experimentation inform human healthcare? Observations from a systematic review of international animal experiments on fluid resuscitation'. *British Medical Journal*, 324(7335), 474–476.
- Romanoff, A.L. (1943) 'Cultivation of the early chick embryo in vitro'. *The Anatomical Record*, 87(4), pp. 365–369.
- Rous, P. (1911) 'A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cells', *Journal Of Experimental Medicine*, 13(4), Pp. 397–411.
- Roy, N. and Cardone, M.H. (2002) 'The caspases: consequential.' *Apoptosis*, (40), 93.
- Sadler, T.W. (1988) 'Langman's medical embryology'. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 81(1), p. 131.
- Sellier, N., Brillard, J.-P., Dupuy, V., Bakst, M.R. (2006) 'Comparative staging of embryo development in chicken, turkey, duck, goose, guinea fowl, and japanese quail assessed from five hours after fertilization through seventy-two hours of incubation'. *Journal of Applied Poultry Research*, 15(2), pp. 219–228.
- Sharav, O., Shim, Y.Y., Okinyo-Owiti, D.P., Sammynaiken, R., Reaney, M.J.T. (2014) 'Effect of cyclolinopeptides on the oxidative stability of flaxseed oil'. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), pp. 88–96.
- Shui, Y.B., Kojima, M., Sasaki, K. (1996) 'A new steroid-induced cataract model in the rat: long-term prednisolone applications with a minimum of X-irradiation'. *Ophthalmic research*, 28 Suppl 2(2), pp. 92–101.
- Sinclair, A.J., Barnett, A.H., Lunec, J. (1990) 'Free radicals and antioxidant systems in health an disease'. *British Journal of Hospital Medicine*, pp. 334–344.
- Singh, K.K., Mridula, D., Rehal, J., Barnwal, P. (2011) 'Flaxseed: A potential source of food, feed and fiber'. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), pp. 210–222.
- Singh, R. (2019) 'The chick egg and visualisations of microscopy slides of cross-sections of chick embryo during 4 stages of development'. *Bio Science Research Bulletin*, 35(2), p. 72.
- Skoczyńska, A.H., Gluza, E., Wojakowska, A., Turczyn, B., Skoczyńska, M. (2018) 'Linseed oil increases HDL3 cholesterol and decreases blood pressure in patients diagnosed with mild hypercholesterolaemia'. *Kardiologia Polska*, 76(8), pp. 1242–1250.
- Snell, R.S. and Lemp, M.A. (2012) *Clinical Anatomy of the Eye Second Edition*.
- Song, E., Sun, H., Xu, Y., Ma, Y., Zhu, H., Pan, C.-W. (2014) 'Age-related cataract, cataract surgery and subsequent mortality: a systematic review and meta-analysis'. *PLoS ONE*. Edited by Y. Zheng, 9(11), p. e112054.
- Stehelin, D., Guntaka, R. V., Varmus, H.E., Bishop, J.M. (1976) 'Purification of DNA complementary to nucleotide sequences required for neoplastic transformation of fibroblasts by avian sarcoma viruses'. *Journal of Molecular Biology*, 101(3), pp.

349–365.

Stern, C.D. (2005) ‘The chick’. *Developmental Cell*, 8(1), pp. 9–17.

Stevenson, H.N. and Wood, F.C. (1918) ‘Growth of tumors in the chick embryo’. *Journal of Cancer Research*.

Şahin, T. and Özkurt, Y.B. (2017) ‘Amblyopia in children and vision screening program in our country’. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 9(2), pp. 79–87.

Şeftalioglu, A. (1998) *Genel & Özel İnsan Embriyolojisi*. Tıp Teknik Yayıncılık.

T.C. Millî Eğitim Bakanlığı (2017) ‘Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlığı Cıvıv Üretimi, Ankara’.

Tabibi, H., Mirfatahi, M., Hedayati, M., Nasrollahi, A. (2017) ‘Effects of flaxseed oil on blood hepcidin and hematologic factors in hemodialysis patients’. *Hemodialysis International*, 21(4), pp. 549–556.

Tasman, W. and Jaeger, E.A. (2001) *The Wills Eye Hospital atlas of clinical ophthalmology*. Lippincott Williams & Wilkins.

Thompson, L.U., Chen, J.M., Li, T., Strasser-Weippl, K., Goss, P.E. (2005) ‘Dietary flaxseed alters tumor biological markers in postmenopausal breast cancer’. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 11(10), pp. 3828–3835.

Timmer, J., Johnson, J., Niswander, L. (2001) ‘The use of in ovo electroporation for the rapid analysis of neural-specific murine enhancers.’. *Genesis* (New York, N.Y. : 2000), 29(3), pp. 123–32.

Tou, J.C.L., Chen, J., Thompson, L.U. (1998) ‘Flaxseed and its lignan precursor, secoisolariciresinol diglycoside, affect pregnancy outcome and reproductive development in rats’, *The Journal of Nutrition*, 128(11), pp. 1861–1868.

Tülüce, Y., Özkol, H., Koyuncu, I. (2012) ‘Photoprotective effect of flax seed oil (*Linum usitatissimum* L.) against ultraviolet C-induced apoptosis and oxidative stress in rats’. *Toxicology and Industrial Health*, 28(2), pp. 99–107.

Udenigwe, C.C. and Aluko, R.E. (2012) ‘Multifunctional cationic peptide fractions from flaxseed protein hydrolysates’. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(1), pp. 1–9.

Utkan, Z. ve Cantürk, N. (2005) *Deney Hayvanlarının ve Deney Modellerinin Seçimi*. İç: Cantürk NZ ve Sayek İ, ed. Cerrahi Araştırma. İstanbul: Nobel Matbaacılık 125-9.

Viau, S., Maire, M.A., Pasquis, B., Grégoire, S., Acar, N., Bron, A.M. ve ark., (2009) ‘Efficacy of a 2-month dietary supplementation with polyunsaturated fatty acids in dry eye induced by scopolamine in a rat model’. *Graefe’s archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 247(8), pp. 1039–1050.

Vicente, G.C., Correia-Santos, A.M., Suzuki, A., Coca Velarde, L.G., Chagas, M.A., Boaventura, G.T. (2015) ‘Maternal exposure to diets containing flaxseed flour or flaxseed oil during pregnancy and lactation protects the aortic remodeling in adult male offspring of diabetic rat dams’. *Journal of the Science of Food and Agriculture*,

95(14), pp. 2973–2980.

Vurmaz, A., Duman, R., Sabaner, M.C., Ertekin, T., Bilir, A. (2019) ‘Antioxidant effects of piperine in in-vivo chick embryo cataract model induced by steroids’. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 38(2), pp. 182–189.

Vurmaz, A., Ertekin, A., Sabaner, M.C., Atay, E., Bozkurt, E., Bilir, A. (2020) ‘Effects of vitamin E in a glucocorticoid induced cataract model in chicken embryos’. *Biotechnic and Histochemistry*.

Wang, B., Li, D., Wang, L., Huang, Z., Zhang, L., Chen, X.D ve ark., (2007) ‘Effect of moisture content on the physical properties of fibered flaxseed’. *International Journal of Food Engineering*, 3(5).

Warrant, E.J. (2009) ‘Mammalian vision: rods are a bargain’. *Current Biology. Cell Press*, pp. R69–R71.

Warwick, R. and Williams, P.L. (1973) *Gray’s Anatomy*, 35th British edn. W.B Saunders, Philadelphia.

Waschke, J., Böckers, T.M., Paulsen, F. (2016) *Sobotta Anatomi Konu Kitabı*. (Sargon, M. F. Çev.) Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.

Watt, J.M., Petite, J.N., Etches, R.J. (1993) ‘Early development of the chick embryo’. *Journal of Morphology*, 215(2), pp. 165–182.

Weiler, H.A., Kovacs, H., Nitschmann, E., Bankovic-Calic, N., Aukema, H., Ogborn, M. (2007) ‘Feeding flaxseed oil but not secoisolariciresinol diglucoside results in higher bone mass in healthy rats and rats with kidney disease’. *Prostaglandins, Leukotrienes And Essential Fatty Acids*, 76(5), pp. 269–275.

West-Mays, J. and Bowman, S. (2016) ‘Animal Models of Cataracts’, pp. 11–29.

Wilson, S.E. (1999) ‘Stimulus-specific and cell type-specific cascades: emerging principles relating to control of apoptosis in the eye’. *Experimental Eye Research*, 69(3), pp. 255–266.

Withington, S. (2000). *Analysis of Neural Induction And Patterning in Amniote Embryos*. University of London, University College London (United Kingdom).

Wolfensohn, S. and Lloyd, M. (2008) *Handbook of Laboratory Animal Management And Welfare*. John Wiley & Sons.

Wu, G., Fang, Y.Z., Yang, S., Lupton, J.R., Turner, N.D. (2004) ‘Glutathione metabolism and its implications for health’. *The Journal Of Nutrition*, 134(3), pp. 489–492.

Xu, Y., Hall, C., Wolf-Hall, C. (2008) ‘Fungistatic activity of heat-treated flaxseed determined by response surface methodology’, *Journal of Food Science*, 73(6).

Yang, W., Fu, J., Yu, M., Huang, Q., Wang, D., Xu, J. Ve Ark., (2012) ‘Effects of flaxseed oil on anti-oxidative system and membrane deformation of human peripheral blood erythrocytes in high glucose level’. *Lipids in Health and Disease*, 11.

Zanussi, H.P., Shariatmadari, F., Sharafi, M., Ahmadi, H. (2019) ‘Dietary supplementation with flaxseed oil as source of omega-3 fatty acids improves seminal

quality and reproductive performance in aged broiler breeder roosters'. *Theriogenology*, 130, pp. 41–48.

Zhang, R., Wei, Y., Zhang, S., Li, H., Li, J., Ma, B. ve ark., (2022) 'Inhibitory effect of idelalisib on selenite-induced cataract in sprague dawley rat pups'. *Current Eye Research*, 47(3), pp. 365–371.

Zhu, L., Sha, L., Li, K., Wang, Z., Wang, T. ve ark., (2020) 'Dietary flaxseed oil rich in omega-3 suppresses severity of type 2 diabetes mellitus via anti-inflammation and modulating gut microbiota in rats'. *Lipids In Health And Disease*, 19(1), pp. 1–16.

Zhu, P., Li, W., Ni, M., Zhang, C., Liu, S., Wu, Q. ve Ark., (2017) 'The P20R mutation of α b-crystallin diminishes its anti-apoptotic activity in human lens epithelial cells', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 483(1), pp. 463–467.

Zijlstra, A., Seandel, M., Kupriyanova, T.A., Partridge, J.J., Madsen, M.A., Hahn-Dantona, E.A. ve Ark., (2006) 'Proangiogenic role of neutrophil-like inflammatory heterophils during neovascularization induced by growth factors and human tumor cells'. *Blood*.