

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
CERRAHİ ANABİLİM DALI

**FARELERDE DENEYSEL KURU GÖZ
MODELİ ÜZERİNE FARKLI
TERAPÖTİK AJANLARIN
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

KADRI KULUALP

2011

ONAY SAYFASI

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

..... Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Çalışmanın başından sonuna kadar yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Servet KILIÇ'a öncelikle teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca desteklerinden dolayı tez izleme komitesi üyelerinden Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR ve Prof. Dr. İbrahim CANPOLAT'a, Cerrahi Anabilim Dalımızın öğretim üyelerinden başta F.Ü. Hayvan Hastanesi Başhekimisi Prof. Dr. Sait BULUT ve F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Emine ÜNSALDI olmak üzere tüm hocalarıma ve mesai arkadaşlarıma, F.Ü. Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalından Doç.Dr. Tamer DEMİR'e, F.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden Doç.Dr. Ökkeş YILMAZ'a, F.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalından Doç.Dr. Berrin TARAKÇI GENCER ve Dr. Ali BAYRAKDAR'a, F.Ü. Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalından Uzm.Dr. M. Kaan KAYA'ya, F.Ü. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalından Arş. Gör. Cemal ORHAN'a, F.Ü. Fen Fakültesi İstatistik Bölümünden Arş. Gör. Esra PAMUKÇU'ya teşekkür ederim. Sağladıkları her türlü kurumsal imkanlardan dolayı Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Nihat DİLSİZ ve asistanlarına, Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Ünal KILINÇ ve meslekdaşlarıma, FÜDAM Koordinatörü Prof. Dr. Ramazan BAL, Yöneticisi Vet. Hek. Nihat ÇİÇEK ve tüm personellerine teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, deneysel modelimin oluşturulmasında sağladıkları her türlü teknik desteklerinden dolayı F.Ü. Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği bölümünden Yrd. Doç. Dr. Orhan ÇAKAR ve F.Ü. Tıp Merkezi Teknik Koordinatörü Fikret GEDİK'e şükranlarımı arz ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xv
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	4
3. GİRİŞ	7
3.1. Gözün Anatomisi	8
3.2. Lakrimal Sistem (Apparatus Lacrimalis)	9
3.2.1. Lakrimal Bezler	9
3.2.1.1. Ana Lakrimal Bezler	9
3.2.1.2. Eklenti Gözyaşı Bezleri	10
3.2.2. Gözyaşı Üretiminin Fizyolojisi	10
3.2.2.1. Sinirsel Regülasyon	11
3.2.2.2. Hormonal Regülasyon	12
3.2.3. Prekorneal Gözyaşı Filmi (PGF)	13
3.2.3.1. Müsin Tabaka	14
3.2.3.2. Aköz Tabaka	15
3.2.3.3. Lipid Tabaka	16
3.3. Kuru Göz Sendromu (KGS)	17
3.3.1. Tanım ve Tarihçe	17
3.3.2. Prevalans ve İnsidens	18

3.3.3. Sınıflandırma, Etiyoloji ve Risk Faktörleri	20
3.3.3.1. Risk Faktörleri.....	20
3.3.4. Patogenezis	27
3.3.4.1. Yangı (İnflamasyon)	28
3.3.4.1.1. Yangı Öncesi Sitokinler	28
3.3.4.1.2. PGF Hiperosmolaritesi	29
3.3.4.1.3. Metalloproteinazların Artışı	29
3.3.4.1.4. Şemokinler ve Şemokin Reseptörleri	30
3.3.4.1.5. İmmun Aktivasyon ve Adhezyon Molekülleri	30
3.3.4.1.6. T Hücreleri	30
3.3.5. Teşhis	31
3.3.5.1. Oküler Yüzey Boyaları ve İlgili Testler	31
3.3.5.1.1. Fluorescein Sodyum	31
3.3.5.1.2. Rose Bengal.....	32
3.3.5.1.3. Lissamine Green.....	32
3.3.5.1.4. Sülforamidin-B	33
3.3.5.2. PGF Stabilitesinin Değerlendirilmesi	33
3.3.5.2.1. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (BUT).....	33
3.3.5.3. Gözyaşı Osmolaritesinin Değerlendirilmesi	34
3.3.5.3.1. Osmometri	34
3.3.5.4. Fluorescein Temizlenme Testleri	35
3.3.5.4.1 Fluorescein Temizlenme Zamanı Testi (FTZT)	35
3.3.5.4.2. Fluorescein Temizlenme Oranı Testi (FTOT).....	35
3.3.5.4.3. Fluorofotometrik Analiz	35

3.3.5.5. Gözyaşı Üretim Miktarının Ölçümü	36
3.3.5.5.1. Schirmer Gözyaşı Testi (STT).....	36
3.3.5.5.2. Fenol Kırmızısı Pamuk İpliği Testi	36
3.3.5.6. Goblet hücre dansitesinin belirlenmesi	37
3.3.5.6.1. İmpresyon Sitolojisi	37
3.3.6. Klinik Belirtiler	38
3.3.7. Tedavi	39
3.3.7.1. Medikal Tedavi	40
3.3.7.1.1. Nonsteroid Antiinflatuarlar (NSAID).....	40
3.3.7.1.2. Yapay Gözyaşı Preparatları	43
3.3.7.1.3. Kortikosteroidler	45
3.3.7.1.4. Retinoik Asit.....	49
3.3.7.1.5.Siklosporin-A (CsA).....	51
3.3.7.1.6. Doksisiklin.....	53
3.3.7.1.7. Olopatadine	54
3.3.7.2. Operatif tedavi.....	55
3.3.8. Hayvan Modelleri	55
3.3.8.1. Lakrimal sekresyonun mekaniksel olarak inhibe edildiği modeller.....	56
3.3.8.2. Lakrimal sekresyonun hormonal olarak inhibe edildiği modeller.....	56
3.3.8.3. Lakrimal sekresyonun sinirsel olarak inhibe edildiği modeller	57
3.3.8.4. Kuruma oluşturularak yapılan modeller	57

3.3.8.5. Lakrimal sekresyonun inhibisyonu ve kurumaya bağlı modeller.....	58
3.3.8.6. Botulinum Toksini kullanılarak oluşturulan modeller	59
4. GEREÇ VE YÖNTEM	61
4.1. Materyal.....	61
4.2. Deneysel Prosedür	61
4.2.1. KGK'nın Özellikleri	61
4.2.2. Göz Kırpma Sayısının Ölçümü.....	68
4.2.3. Fenol Kırmızısı Pamuk İpliği Testi	68
4.2.4. Korneal Fluorescein Boyanma Testi.....	68
4.2.5. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (BUT)	69
4.2.6. Gözyaşı Fluorescein Temizlenme Testi.....	69
4.2.7. İmpresyon Sitolojisi Tekniği	70
4.2.8. Korneal Fluorescein Permabilite Testi	71
4.2.9. İstatistiksel Analiz.....	71
5.BULGULAR	73
5.1. KG modelinin değerlendirilmesi	73
5.2. Kliniksel ve Davranışsal Değerlendirmeler.....	73
5.3. Parametrik Değerlendirmeler	74
5.3.1. Göz Kırpma Sayısının Ölçümü.....	74
5.3.2. Fenol Kırmızısı Pamuk İpliği Testi	75
5.3.3. Korneal Fluorescein Boyanma Testi.....	76
5.3.4. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (BUT)	76
5.3.5. İmpresyon Sitolojisi Testi.....	77

5.3.6. Gözyaşı Fluorescein Temizlenme Testi.....	78
5.3.7. Korneal Fluorescein Permabilite Testi	78
5.4. Tablolar	80
5.5. Şekiller.....	90
6. TARTIŞMA	112
7. KAYNAKLAR	130
8. ÖZGEÇMİŞ.....	150

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kontrol ve deney grubundaki deneklerin sırasıyla DHK bölmeleri/kafeslere dağılımları.....	66
Tablo 2. Kontrol (Kont) ve deney (Den) grubu deneklerde kullanılan ajanlarla ilgili detaylar ile kullanım oran, doz ve uygulanma sıklıkları.....	67
Tablo 3. KGS'nin etiyojisine göre sınıflandırılmasının şematik görünümü	80
Tablo 4. Çalışma boyunca deneklerde saptanan oküler belirtilerin topluca değerlendirilmesi.	81
Tablo 5. Kontrol ve deney gruplarının göz kırpma sayısı test verilerinin (sayı/dak) istatistiksel değerlendirmesi.	82
Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı üretim miktarı test verilerinin (mm/dak) istatistiksel değerlendirmesi.....	83
Tablo 7. Kontrol ve deney gruplarının korneal fluorescein boyanma test verilerinin (skor) istatistiksel değerlendirmesi.	84
Tablo 8. Kontrol ve deney gruplarının BUT verilerinin (saniye) istatistiksel değerlendirmesi.	85
Tablo 9. Kontrol ve deney gruplarının impresyon sitolojisi verilerinin (sayı/alan) istatistiksel değerlendirmesi.	86
Tablo 10. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı fluorescein temizlenme test verilerinin (FU/ μ l) istatistiksel değerlendirmesi.	87
Tablo 11. Kontrol ve deney gruplarının korneal fluorescein permabilite test verilerinin (FU/ μ l) istatistiksel değerlendirmesi.	88

Tablo 12. Ajanların 4 hafta süreyle KG üzerine olan etkilerinin kullanılan	
testler yönünden en iyiden (1) en düşüğe (8) doğru sıralanması.....	89

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Gözün anatomisinin şematik görünümü	9
Şekil 2. Apparatus lakrimalisi oluşturan bazı anatomik yapıların şematik görünümleri	10
Şekil 3. Gözyaşı üretiminin sinirsel regülasyonunun şematik görünümü.....	12
Şekil 4. PGF katmanlarının şematik görünümü	14
Şekil 5. KG modelinin görünümü	65
Şekil 6. Kuyruk işaretlemesi yapılan bir deneğin arkadan görünümü.	90
Şekil 7. Fenol kırmızısı pamuk ipliği.....	90
Şekil 8. Plastik boruya konularak zaptrapt altına alınan bir deneğe absorbent paper pointin uygulanışı.	91
Şekil 9. Bir denekte fenol kırmızısı pamuk ipliği testinin uygulanışı.....	91
Şekil 10. Fenol kırmızısı pamuk ipliği testinde iplik üzerindeki ıslaklık miktarının milimetrik skala kullanılarak okunması	92
Şekil 11. Göze fluorescein boyasının damlatıldığı anın operasyon mikroskobu altındaki görünümü.....	92
Şekil 12. Fluorescein damlatıldıktan sonra oküler yüzeyin operasyon mikroskobu altındaki görünümü.....	93
Şekil 13. 2. haftada Kont-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 0).	93
Şekil 14. 4. haftada Kont-Ret alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 0).	94
Şekil 15. 6. haftada Den-CsA alt grubundan bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görüntüsü (Skor 1).	94

Şekil 16. 2. haftada Den-FML alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi altındaki görüntüsü (Skor 1).	95
Şekil 17. 4. haftada Den-CsA alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 1).	95
Şekil 18. 2. haftada Den-PAT alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görüntüsü (Skor 2).	96
Şekil 19. 4. haftada Den-SH alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtesi altındaki görüntüsü (Skor 2).	96
Şekil 20. 2. haftada Den-DOK alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 2).	97
Şekil 21. 4. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 3).	97
Şekil 22. 6. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 3).	98
Şekil 23. 6. Haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 4).	98
Şekil 24. 6. Haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 4).	99
Şekil 25. PGF’deki noktasal kırılmaların başlangıç aşamasındaki görünümü.	99
Şekil 26. PGF’deki noktasal kırılmaların operasyon mikroskobu altındaki görünümü.	100
Şekil 27. Fluorescence Multiple Reader ve 384 odacıklı mikropate’in görünümü.	100

Şekil 28. İmpresyon sitolojisinde filtre kağıtlarının boyanmadan önceki görünümü.....	101
Şekil 29. İmpresyon sitolojisinde kullanılan boyama şalesinin görünümü.....	101
Şekil 30. İmpresyon sitolojisinde boyama sonrası filtre kağıtlarının preparat halindeki görüntüsü.	102
Şekil 31. 4. haftada Kont-DİK alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücre görüntüsü (x100).....	102
Şekil 32. 6. haftada Kont-SH alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).	103
Şekil 33. 6. haftada Den-DİK alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).	103
Şekil 34. 4. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).	103
Şekil 35. 6. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).	104
Şekil 36. 4. haftada Kont-RET alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).	104
Şekil 37. 6. haftada Den-CsA alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).	105
Şekil 38. 2. haftada Den-DOK alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisinde goblet hücrelerinin görünümü (x100).	105
Şekil 39. 6. haftada Den-FML alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisinde goblet hücrelerinin görünümü (x100).	106
Şekil 40. KGK’da günlere göre RN oranlarının değişimi.....	106

Şekil 41. KGK’da günlere göre sıcaklık değerlerinin değişimi.	107
Şekil 42. Kontrol ve deney gruplarının göz kırpma sayılarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.	107
Şekil 43. Kontrol ve deney gruplarının korneal fluorescein boyanma skorlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.	108
Şekil 44. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı üretim miktarlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.	108
Şekil 45. Kontrol ve deney gruplarının goblet hücre sayılarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.	109
Şekil 46. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı fluorescein miktarlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.	109
Şekil 47. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı kırılma zamanlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.	110
Şekil 48. Kont-PAT alt grubundaki ölen deneğin göz kapaklarında ödem, konjunktivitis, kornea üzerinde katılaşmış muköz pelte ve burun altında tümöral bir kitlenin görünümü.	110
Şekil 49. Den-PAT alt grubundan bir deneğin baş bölgesinde ödematöz bir şişkinlik ve sol göz kapağında ekskoriyasyon.	111

KISALTMALAR LİSTESİ

BUT	: Gözyaşı kırılma zamanı testi (Break-up time)
DHK	: Deney hayvan kabini
FTOT	: Fluorescein temizlenme oranı testi
FTZT	: Fluorescein temizlenme zamanı testi
KG	: Kuru göz
KGK	: Kuru göz kabini
KGS	: Kuru göz sendromu
KKS	: Keratokonjunktivitis sikka
LASIK	: Laser Cerrahisi (Laser-Assisted in Situ Keratomileusis)
NSAID	: Nonsteroid antiinflamatuvar ajan
PGF	: Prekorneal gözyaşı filmi
RN	: Relatif nem
SS	: Sjögren sendromu
STT	: Schirmer gözyaşı testi (Schirmer Tear Test)
STT-I	: Anestezi uygulanmaksızın total gözyaşı üretim miktarı testi
STT-II	: Anestezi eşliğinde yapılan gözyaşı üretim miktarı testi
SÜ	: Sensör ünitesi

1. ÖZET

Farelerde Deneysel Kuru Göz Modeli Üzerine Farklı Terapötik Ajanların

Etkilerinin Karşılaştırılması

Kuru göz sendromu (KGS); oküler yüzeye hasar verme potansiyeline sahip olan yangı, gözyaşı film osmolaritesinin artışı, instabilitesi ve görme bozukluğu ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Gelişiminde; yaş, cinsiyet, çevre, hormon, beslenme, sistemik ve lokal etkili ilaçlar ve refraktif cerrahi gibi bazı risk faktörlerinin etkili olduğu bildirilmiştir. İnsanlarda kadın ve yaşlılar, hayvanlarda ise köpeklerde daha fazla görüldüğü rapor edilmiştir.

KGS'nin teşhisinde, klinik belirtilere ilaveten gözyaşı üretim miktarı, prekorneal gözyaşı film (PGF) stabilitesi, oküler yüzey hasarı ve bu yüzeyde meydana gelen bazı sitolojik ve morfolojik değişiklikler gibi kriterlerden yararlanılmaktadır. Tedavisinde; klinik belirtilerin önlenmesi, başta yangı olmak üzere hastalık sürecinde etkili rol oynayan faktörlerin ortadan kaldırılması veya her ikisine yönelik medikal yöntemler kullanılmaktadır. Bu prensipten hareketle mevcut çalışmada, hastalığın tedavisinde sıkça kullanılan bazı ajanların terapötik etkileri karşılaştırılarak en etkili olanının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 112 adet BALB-C ırkı dişi fare rastgele ve eşit olarak kontrol ve deney olmak üzere iki gruba; her grup da kendi içinde 7'şer hayvanlık 8 alt gruba ayrıldı. Alt gruplar uygulandıkları ajana göre SF (Serum fizyolojik; % 0.009), SH (Sodyum hyaluronat; % 0.3), DİK (Diklofenak sodyum; % 0.1), PAT (Olopatadine; % 0.1), RET (Retinoik asit; % 0.01), FML (Fluorometanol; % 1), CsA (Siklosporin-A; % 0.05) ve DOK (Doksisiklin; % 0.025) olarak isimlendirildi. Altı haftalık çalışma süresince deney grubu olgular kuru göz

kabinine (KGK) (sıcaklık; 21-25°C, relatif nem; < % 30, hava debisi; 15 L/dk, akım hızı; 2.3 ± 0.5 m/s); kontrol grubu olgular ise kafeslere (relatif nemi; % 50-80, sıcaklığı; 21-23°C) yerleştirildi. Çalışmanın 0-2. haftaları arasında her iki grup deneklere herhangi bir ajan uygulaması yapılmazken; 2-6. haftalar arasında tümünün sağ gözlerine günde 2'şer kez ve her defasında 5µl olmak üzere yukarıda belirtilen ajanlar lokal olarak uygulanmıştır.

Tüm denekler; çalışmanın 0, 2, 4 ve 6. haftalarında göz kırpma sayısı, gözyaşı üretim miktarı, korneal fluorescein boyanma, gözyaşı kırılma zamanı (BUT), gözyaşı fluorescein temizlenme, impresyon sitolojisi ve korneal fluorescein permabilite testi yönünden değerlendirilmiştir.

Çalışmanın 0. haftasında kontrol ve deney grupları ile bu gruplara ait alt gruplar tüm parametreler açısından değerlendirildiğinde aralarındaki farkın BUT ($P<0.05$) hariç önemsiz ($P>0.05$); 2, 4 ve 6. haftalarda ise tüm parametrelere göre önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Çalışmanın 0. haftası ile karşılaştırıldığında 2. haftada tüm deney alt gruplarının; göz kırpma sayıları ve korneal boyanma skorlarının arttığı; gözyaşı üretim miktarları, goblet hücre sayıları, gözyaşı fluorescein temizlenmesi ve BUT'un azaldığı kaydedilmiştir. Terapötik ajanların etkileri 2 ve 6. haftalar arasında ve alt grup gibi değişkenler yönünden değerlendirildiğinde göz kırpma sayısına göre FML, gözyaşı üretim miktarına göre PAT, korneal fluorescein boyanma, BUT ve korneal fluorescein permabilite testlerine göre CsA, gözyaşı fluorescein temizlenme ve impresyon sitolojisine göre ise DİK'in en etkili ajan olduğu belirlenmiştir. Bu parametrelerin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde ajanların 4 haftalık terapötik etkileri en iyiden en düşüğe doğru CsA, DİK, FML,

PAT, RET, SH, DOK, SF şeklinde sıralanmaktadır. Bu ajanlardan ilk 3'ünün ortak ve yaygın etkilerinden yangının, hastalığın patogenezisinde önemli rol oynadığı anlaşılmaktadır. Buradan, KGS'nin tedavi sürecinde antiinflamatuvar ajanların daima göz önünde bulundurulması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: KGS, Fare, Evaporatif Stres Faktörleri, Tedavi, Ajan

2. ABSTRACT

Comparison of the Effects of Different Therapeutic Agents on an Experimental Dry Eye Model in Mice

Dry eye syndrome is a disease characterized with inflammation, tear film hyperosmolarity and instability, visual impairment, having the potential to damage ocular surface. It has been suggested that some risk factors including age, sex, environment, hormones, nutrition, some of the systemic and local effective drugs and refractive surgery may be responsible for its development. The disease has been reported to be more common in women, and the elderly in human and in dogs among animals.

For the diagnosis of DES, in addition to clinical signs, some criteria, such as tear production, tear film stability, ocular surface impairment and some gross and cytological alterations on ocular surface are used. For treatment purpose, medical approaches, based on the criteria, i.e. relieve the clinical signs of the disease, remove factors effective on developing process of the disease, especially inflammation, or their combinations are administered. Base on this principle, this study purposed to be identified the most effective one comparing the therapeutic effects of some drugs commonly used for the treatment of this disorder.

In the study, 112 BALB-C breed female mice were allocated equally and at random to two groups, control and experimental, which were divided in itself into 8 subgroups of 7 animal each. These subgroups were called as SF (Saline; 0.009%), SH (Sodium hyaluronate; 0.3%), DIK (Diclofenac sodium; 0.1%), PAT (Olopatadine; 0.1%), RET (Retinoic acid; 0.01%), FML (Fluoromethanole; 1%), CsA (Cyclosporine-A; 0.05%), DOK (Doxycycline 0.025%), and according to the

agents administered. During 6 weeks of the study period, the experimental group animals were kept in a dry eye cabinet (DEC) (temperature; 21-25°C, relative humidity; < 30 %, flow rate; 15 L/min, flow speed; 2.3 ± 0.5 m/s) and control group animals in cages (relative humidity; 50-80%, temperature; 21-23 °C). While the animals of both groups received no agents between 0-2 weeks, it has been administrated to their right eyes the agents mentioned above twice a day and 5 μ l each time between 2-6 weeks.

All experimental animals were evaluated considering the tests, blink rate, corneal fluorescein staining, break-up time (BUT), tear fluorescein clearance, impression cytology and corneal fluorescein permeability on the 0th, 2nd, 4th and 6th weeks of the study.

When the control and experimental groups along with the subgroups were evaluated in terms of all parameters, it was determined that the difference between them was non-significant ($P>0.05$) except for BUT ($P<0.05$), whereas, this was significant ($P<0.05$) as to all parameters at the 2nd, 4th and 6th weeks.

It was detected that in all experiment subgroup animals, blink rate and corneal staining scores were increased, but tear production and goblet cell counts, tear fluorescein clearance and BUT were decreased at the 2nd week as compared with the 0th week of the study.

When the therapeutic actions of the agents were evaluated between the 2nd and 6th weeks or considering the subgroups variables, FML with regard to blink rate, PAT regarding to tear production rate, CsA according to corneal fluorescein staining, BUT and corneal fluorescein permeability tests and DIK in term of tear fluorescein clearance and impression cytology were determined as the most

effective agents. When the result of all these parameters were assessed all together, the four week therapeutic actions of the agents from maximum to minimum could be arranged as CsA, DIK, FML, PAT, RET, SH, DOK and SF. The common and broad therapeutic actions of the first three agents indicate that the inflammation may play an important role on the pathogenesis of the disease. Thus, it suggests that anti-inflammatory drugs should always be taken into account during the treatment course of the DES.

Key words: DES, Mouse, Evaporative Stress Factors, Treatment, Agent

3. GİRİŞ

Kuru göz sendromunun (KGS) tedavisinde; klinik belirtilerin önlenmesi, başta yangı olmak üzere hastalık sürecinde etkili rol oynayan faktörlerin ortadan kaldırılması veya her ikisine yönelik medikal yöntemler kullanılmaktadır. Klinik belirtilerin kontrol altına alınması için yapılan semptomatik sağaltımların ömür boyu ve sık aralıklarla uygulanması hasta ve hasta sahibi için yorucu olmakta ve ülke ekonomisine yüksek maliyetler getirmektedir. Bu nedenle son yıllarda yapılan klinik ve model çalışmaların hastalık sürecinde rol oynayan faktörler (yangı, hiperosmolarite ve evaporasyon) üzerine yoğunlaştığı anlaşılmaktadır. Bu amaçla kortikosteroidler, nonsteroid antiinflamatuvarlar (NSAID), immunosupresif veya immunomodülatörler, tetrasiklinler, vitaminler, esansiyel yağ asitleri, seksüel hormonlar, otolog serum, mast hücre stabilizatörleri ve botulinum toksini gibi ajanların kullanıldığı görülmektedir. Mevcut çalışmada, kuru göz (KG) modeli üzerine, son dönemlerde hastalığın tedavisinde kullanılan ve başarılı sonuçlar elde edildiği görülen sodyum hyaluronat, diklofenak sodyum, olopatadine, retinoik asit, fluorometanol (FML), siklosporin-A (CsA) ve doksisisiklinin terapötik etkileri karşılaştırılarak en etkili olanının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

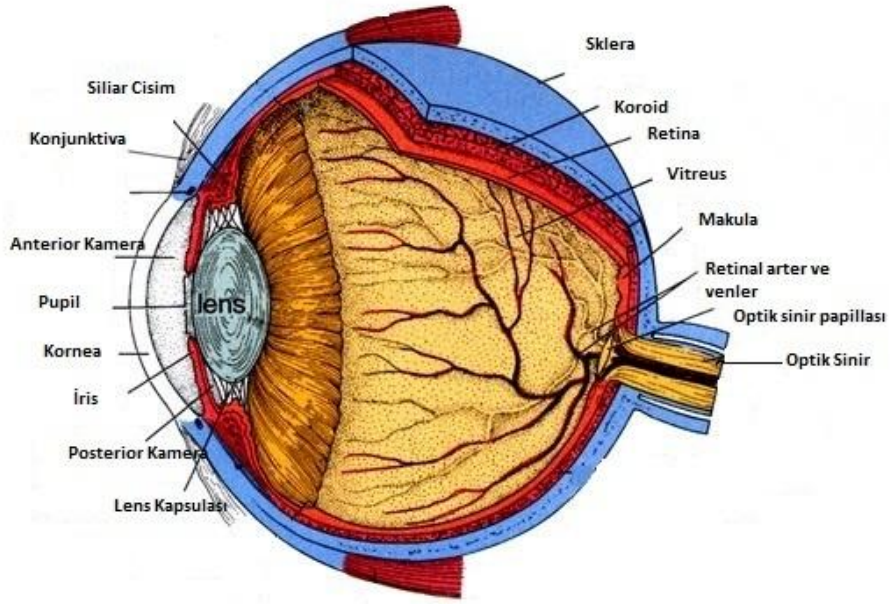
Hayvanlarda KGS'nin oluşum sürecinde rol oynayan faktörlere yönelik tedavi seçeneklerinin esas alındığı deneysel çalışmaların yeterli olmadığı görülmektedir. Mevcut çalışmanın bu yöndeki eksikliğin giderilmesine pozitif katkı sağlayacağı ve ülkemizdeki veteriner göz hastalıkları alanındaki çalışmalarını teşvik edeceği düşünülmektedir.

3.1. Gözün Anatomisi

Bulbus okuli; gözün kas, fasia, adipöz doku, konjunktiva, nazolakrimal sistem, sinir, damar gibi ekstraoküler unsurları (adnexa) ile birlikte orbita denilen kemiksel çukurluk (fossa) içinde yer almaktadır. Gözü dış etkilere koruyan orbitanın (3,101) kaidesinde bulunan delikler, gözün beslenmesi ve innervasyonundan sorumlu olan sinir ve damarların giriş ve çıkışını sağlamaktadır (101, 202). Göz, nervus optikus aracılığıyla beyindeki görme merkezi ile direkt ilişki halindedir (101).

Bulbus okuli dıştan içe doğru; tunica fibrosa bulbi (koruyucu ve destek kat, gözün dışa açılan penceresi), tunica vasculosa bulbi (uvea; gözün beslenmesi ve atık maddelerin uzaklaştırılmasından görevli vasküler ve pigmentli kat) ve tunica interna bulbi (gözün innervasyonundan sorumlu kat) olmak üzere üç tabakadan oluşmuştur (101).

Göz, ön ve arka segment diye iki bölümde incelenir. Ön segmenti; konjunktiva, kornea, ön kamera, iris, pupilla, siliyer cisim ve lens; arka segmenti ise vitreus, koroidea, retina ve nervus optikusun başı oluşturur (3, 100, 101) (Şekil 1).



Şekil 1. Gözün anatomisinin şematik görünümü (14).

3.2. Lakrimal Sistem (Apparatus Lacrimalis)

Bu sistem; ana lakrimal (Gl. lakrimalis), 3. göz kapağı (Gl. palpebra tertianictitans) ve eklenti gözyaşı (Gl.tarsalis) bezleri ile prekorneal gözyaşı filmi (PGF), lakrimal punkta (Puncta lacrimalis), lakrimal kanalikuli (Canaliculis lacrimalis), lakrimal kese (Saccus lacrimalis), nazo lakrimal kanal (Canalis nasolacrimalis) ve nazal punkta (Puncta lacrimalis nasalis)’dan oluşmaktadır (3, 101) (Şekil 2).

3.2.1. Lakrimal Bezler

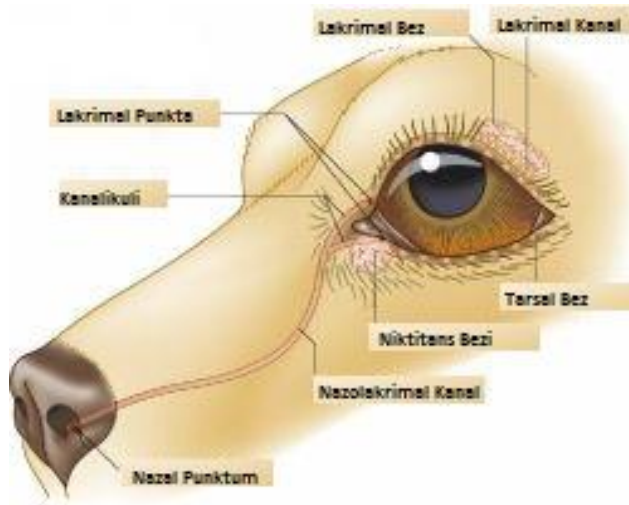
3.2.1.1. Ana Lakrimal Bezler

İnsan ve hayvanlarda tubuloasiner karakterdeki ana lakrimal bez (infraorbital), bulbus oculi’nin superior temporal bölgesinde yer alır ve birçok mikroskobik kanalcıkla üst konjunktival fornikse açılır. İnsanlarda bu bezin gözkapaklarının içine yerleşen palpebral (ekstraorbital) lobu da bulunmaktadır.

Ekstraorbital lob, rodentlerde parotis bezinin dorsalinde bulunur ve bir kanal aracılığıyla lateral kantusa açılır (3, 100, 101).

3.2.1.2. Eklenti Gözyaşı Bezleri

Bunlar, palpebra tertia, tarsal bez (Meibomian), Krause, Wolfring, Manz, Zeis, Moll ve harder bezleridir (3). Palpebra tertia bezi, birçok hayvan türünde 3. gözkapağının kaidesinde ve medial (korneal) yüzünde bulunmaktadır. İnsan ve hayvanlarda göz kapağının tarsal plaklarında lokalize olan meibomian bezi, gözkapağının serbest kısmına; Zeis ve Moll bezleri ise kirpik foliküllerin içine açılmaktadır (73,207). Krause ve Wolfring ise konjunktival fornikte yer alırlar (207). Kuş, sığır, domuz ve rodentlerde bulunan harder bezi ise üçüncü gözkapağıyla ilişkili olarak gözün iç açısı içerisinde yer alır ve bir kanal ile membrana niktitansa açılır (73, 139).



Şekil 2. Apparatus lakrimalisi oluşturan bazı anatomik yapıların şematik görünümleri (15).

3.2.2. Gözyaşı Üretiminin Fizyolojisi

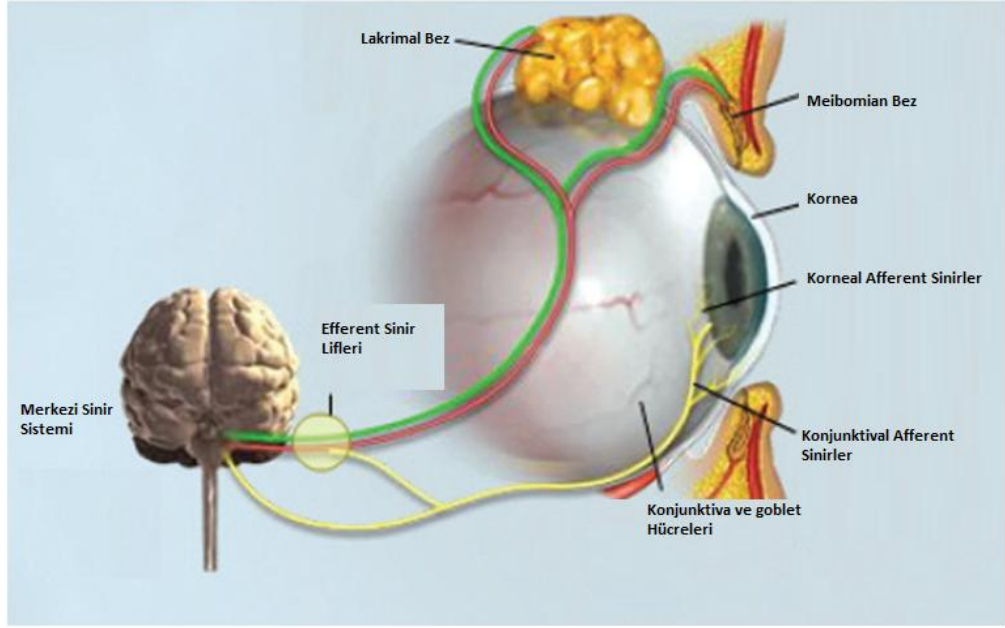
Oküler yüzeyin hemostazisinde ve korunmasında en temel faktör olan gözyaşının üretimi, bir refleks döngü tarafından regüle edilmektedir. Bu döngü;

PGF, korneal, limbal ve konjunktival epitelyal hücreleri, konjunktival goblet hücreleri, gözkapaklarının muko-epidermal kavşağı, meibomian ve ana lakrimal bezi içeren oküler yüzey fonksiyonel üniteden ve bu yapılar arasındaki iletişimi sağlayan gözyaşı sıvısı, hormonlar, kan, sinirler, sitokinler, ışık ve gözkapaklarının hareketinden oluşmaktadır (225, 253). Oküler yüzeyin fonksiyonel ünitesinin en dinamik yapısı olan PGF; yüzeyin temizlenmesini, beslemesini ve yağlanmasını sağlar, dış etkenlere karşı fiziksel ve immunolojik bir bariyer oluşturur (225) ve korneal yüzeyin refraktif kalitesini korur (172). Oküler yüzey, dış faktörlerin etkisiyle gözyaşı üretimi için refleks döngüyü başlatır. Kornea ve konjunktivadaki afferent stimülasyon, sinyali trigeminal sinirin oftalmik kolu aracılığıyla önce beynin medullasındaki spinal trigeminal nükleusuna, oradan da ponsun lakrimal nükleusuna ulaştırır. Sinyaller burada değerlendirilip lakrimal bezdeki asiner hücrelere gönderilir (172). Lakrimal bezlerdeki gözyaşı sekresyonu; sinirsel ve hormonal mekanizmalarla regüle edilmektedir (39, 299).

3.2.2.1. Sinirsel Regülasyon

Lakrimal bez; çoğunlukla asetilkolin ve vazomotor intestinal peptid (VIP) içeren parasempatik sinirler tarafından; az miktarda ise norepinefrin içeren sempatik ve kalsitonin gen ilişkili peptid ile P maddesi içeren duyu sinirleri tarafından innerve edilmektedir (39). Bu sinirler, lakrimal bez fonksiyonunu kontrol etmek üzere duktal ve mioepitel hücrelerin çevresine yerleşmişlerdir. Kornea ve konjunktivadaki afferent duyu sinirlerinin uyarımı, lakrimal bezdeki parasempatik ve sempatik efferent sinirlerin aktivasyonuna yol açarak lakrimal bezden asetilkolin, VIP, norepinefrin, nöropeptid Y, P maddesi ve kalsitonin gen

ilişkili peptid gibi nörotransmitter ve nöropeptidlerin salgılanmasını sağlamaktadır (Şekil 3). Bu nöromediatörlerin her biri spesifik bir cevap ortaya çıkarmak için lakrimal bez hücrelerinin yüzeyinde mevcut olan özel reseptörlerle bağlantı halindedir (299). Bu maddelerden asetilkolin, lakrimal bezden primer olarak su ve elektrolitlerin, norepinefrin ise proteinlerin salınımını stimüle etmektedir (172).



Şekil 3. Gözyaşı üretiminin sinirsel regülasyonunun şematik görünümü (16).

3.2.2.2. Hormonal Regülasyon

Lakrimal bezin fonksiyonu üzerine hormonal regülasyonun mekanizması tam olarak ortaya konulamasa da (39) hipotalamus, hipofiz, gonadal hormonlar ve adrenokortikotropik hormonun (ACTH) etkili rol oynadıkları bildirilmiştir (39, 299). Ayrıca bu fonksiyon üzerine glukokortikoidler, retinoik asit, insülin ve glukagonun da etkileri olduğu öne sürülmektedir (299).

Gonadal hormonlardan androjenler, lakrimal bezlerin protein sekresyonu, patofizyolojisi, moleküler biyolojisi, immunolojisi, fizyolojisi, biyokimyası ve

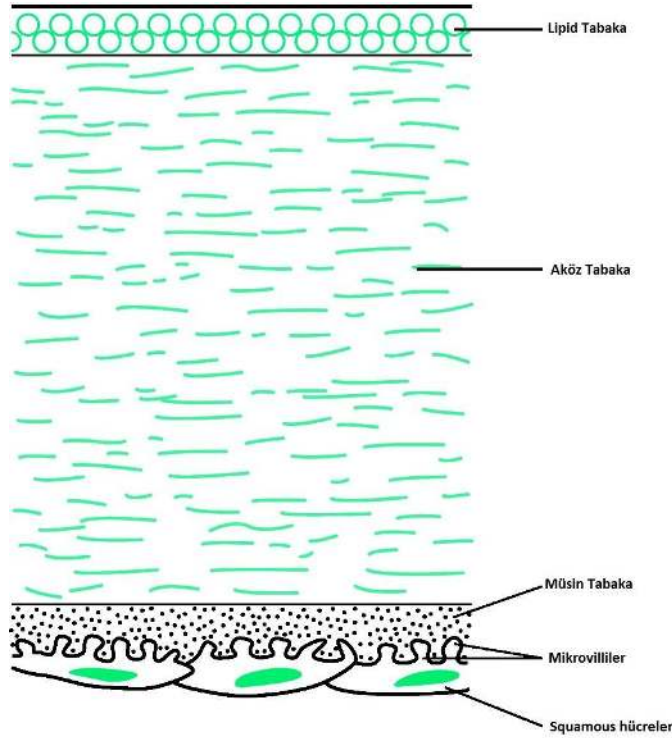
morfolojisini modüle etmektedir (261). Bu hormonun özellikle meibomian bezinden lipidlerin üretilmesinde ve lakrimal bezde inflamasyonun baskılanmasında etkin bir rol aldığı belirtilmektedir (218, 261). Androjenin lakrimal bezde tümör nekroz faktör- β (TNF- α) ve interlekin-1 β (IL-1 β) seviyelerinde azalmalara neden olarak immunomodülatör ve anti-inflamatuvar; transforming üretici faktörün (TGF- β) sentezini stimüle ederek de immunosupresif etki gösterdiği öne sürülmektedir (39). Son dönemlerde yapılan birçok çalışmada (140, 224, 257, 259, 260, 261) androjen eksikliği ile meibomian bezi disfonksiyonu ve KGS'nin gelişimi arasında yakın bir ilişkinin olduğu ortaya konulmuştur.

Hormonların gözyaşı fonksiyonu üzerine olan etkileri yapılan deneysel KGS çalışmalarında da doğrulanmaktadır. Overektomi uygulanan tavşanlarda ana lakrimal bezde dejenerasyon meydana geldiği; bunun bez hücrelerinin apoptozisinden kaynaklandığı ve deneklere ancak androjen verilmesiyle önlenemediği rapor edilmiştir (29). Bir çalışmada (28); östrojen seviyesindeki azalmanın lakrimal bez hücrelerinde ölümlere, nekrozlaşmalara ve lenfositik infiltrasyona yol açtığı ortaya konulmuştur. Hiposektomi oluşturulan dişi ratlarda dihidrotestesteron ve prolaktinin lakrimal bezin sekresyonunu arttırdığı, inflamasyonunu ve dejenerasyonunu ise önlediği bildirilmiştir (27).

3.2.3. Prekorneal Gözyaşı Filmi (PGF)

PGF; su, enzimler, proteinler, immunoglobülinler, lipidler, metabolitler ile epitelyal ve polimorfnükleer hücreleri içeren kompleks ve dinamik bir yapıdır. Bu yapının herhangi bir komponentinde meydana gelebilecek değişikliğin gözyaşı fonksiyonunu ve fizyolojisini önemli derecede etkileyeceği bilinmektedir (225).

Görevi; gözkapağı ve oküler yüzeyi yağlamak, gözün optik yüzeyinin bütünlüğünü korumak, oküler yüzeyin beslenmesini sağlamak, yabancı cisimleri temizlemek, antibakteriyel maddelerle birlikte patojenlere karşı oküler yüzeyi korumak ve bu yüzeyde yara iyileşmesini teşvik ederek doku bütünlüğünü sağlamaktır (207). PGF; müsin, aköz ve lipid olmak üzere 3 tabakadan oluşmaktadır (207,225) (Şekil 4).



Şekil 4. PGF katmanlarının şematik görünümü (17).

3.2.3.1. Müsin Tabaka

Bu tabakanın önemli bir kısmı konjunktival goblet hücreler ile konjunktival ve korneal epitelyal hücreler tarafından üretilmektedir (73, 207, 225). Kornea ve konjunktivanın epitelyal hücreleri glikokaliks yapıda müsin benzeri bir glikoprotein sentezlemektedir. Bu transmembran müsin, oküler yüzeyin ıslanmasında ve PGF'nin yayılmasında önemli bir rol oynar (99, 225). Bu

madde ayrıca patojenlerin, artık ürünlerin ve yabancı cisimlerin oküler yüzeye yapışmasını önleyerek onların kırpma fonksiyonu ile medial kantusa doğru hareket edip atılımını sağlamaktadır (207, 225). Goblet hücrelerinin müsin sekresyonu; nöral, immun ve mekaniksel etkiler ile stimüle olmaktadır. Müsin sekresyonu, muskarinik ve α -adrenerjik reseptörler ile direkt; sempatik, parasempatik ve duyu sinirleri ile de indirekt olarak etkilenmektedir (73).

Müsin tabaka, hidrofobik korneal epitelium ile aköz tabaka arasında hidrofilik bir bariyer görevi üstlenerek, aköz tabakanın oküler yüzeye düzgün bir şekilde yayılmasını sağlamaktadır. PGF'nin bütünlüğünün korunmasında oldukça önemli bir yere sahip olan bu tabakanın, korneal yüzeyin kurummasını önlemesi, epitelial hücrelerin yağlanmasını ve sulanmasını sağlaması, yüzey gerilimini azaltması ve PGF'nin stabilitesini artırması gibi fonksiyonları vardır. Müsin tabakadaki eksikliğin; aköz gözyaşı üretiminin normal olduğu durumlarda bile PGF'nin oküler yüzeye düzgün bir şekilde yayılmasını önleyerek epitelial hasara neden olduğu belirtilmiştir (73, 207).

3.2.3.2. Aköz Tabaka

Bu tabaka, müsin tabakanın hemen üzerinde olup gözyaşı filminin ana kısmını oluşturmaktadır (73, 207) (Şekil 4). Aköz gözyaşı üretimi, bazal ve reflektörük olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Gözyaşı üretiminin büyük bir kısmı, oküler yüzey ve nasal mukozanın stimülasyonu sonucu reflektörük tarzda olmaktadır. Bu sekresyon, ana lakrimal bez ve onun palpebral lobundan kaynaklanmaktadır. Bazal sekresyon ise nöral stimülasyon olmaksızın yardımcı lakrimal bezler tarafından üretildiği belirtilmektedir (207).

PGF'nin aköz kısmının % 98.2'sini su, % 1.8'ini ise protein ve diğer katı maddeler oluşturmaktadır (73). Aköz tabakanın; oküler yüzeyi korumak, rejenerasyonuna yardımcı olmak, yağlanmasını sağlamak, korneanın metabolik ürünlerini uzaklaştırmak ve göze gelen yabancı maddeleri temizlemek gibi görevleri vardır. Bu tabaka, müsün tabaka ile birlikte oküler yüzey gerilimini azaltmakta, PGF'nin viskozitesine katkıda bulunmakta ve aköz tabakanın oküler yüzeye yayılmasını sağlamaktadır (73). Aköz tabaka içerdiği elektrolitler, laktoferrin, lizozim, salgısal immunoglobülin-A (sIg-A), immunoglobülin-G (Ig-G), immunoglobülin-M (Ig-M), albümin, transferrin, seruplazmin, gözyaşına spesifik prealbümin, glikoprotein ve retinol ile epidermal üretici faktör (EGF), hepatosit üretici faktör (HGF) ve TGF sayesinde oküler yüzeyin savunma hattını oluşturmaktadır (73, 207, 225). Bir deneysel çalışmada belirtilen üretici faktörlerin gözyaşı konsantrasyonlarındaki düşüşün aköz gözyaşı üretiminde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (225). Aköz tabaka, ihtiva ettiği inorganik tuzlar, glukoz, oksijen ve proteinler ile avasküler korneanın beslenmesini sağlar. Gözyaşında ayrıca aminoasitler, bikarbonatlar, kalsiyum, üre ve magnezyumun da bulunduğu rapor edilmiştir (73).

3.2.3.3. Lipid Tabaka

PGF'nin en dış katmanı olan bu tabaka; büyük çoğunluğu meibomian, az miktarda ise Moll ve Zeis bezlerinden üretilmektedir (73, 207). Lipid tabakanın; PGF'nin buharlaşmasını ve yüzey gerilimini azaltma, yabancı cisimler ve döküntü ürünlerine karşı oküler yüzeyin kontamine olmasını ve PGF'nin taşmasını önleme, optik yüzeye düz ve kompakt bir yapı kazandırma, PGF'nin stabilitesini ve uyku

esnasında göz kapaklarının uygun bir şekilde kapanmasını sağlama gibi görevleri vardır (73, 99, 207, 225).

Lipidler, oküler yüzeye yayılarak PGF'nin yüzey gerilimini azaltır. Yüzey gerilimdeki bu azalma, PGF'nin su emilimini kolaylaştırarak kalınlığını artırır. Bu döngü lipid tabakanın oküler yüzeye yayılım zamanını uzatmaktadır. Bu tabakanın herhangi bir nedenle hasara uğraması PGF'nin buharlaşmasını arttırıp hiperosmolaritesine neden olarak kırılma zamanının kısalmasına yol açar. PGF hiperosmolaritesinin KGS'nin patogenezisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (73). Lipid tabakanın salgılanmasında kırpma refleksinin etkisinin olduğu belirtilmektedir. Yabancı cisimlere karşı reflektör, güçlü ve hızlı kırpma refleksinin lipid tabakanın kalınlığını arttırdığı saptanmıştır. Ofis ortamlarında çalışan bireylerde sıklıkla karşılaşılan KGS'nin, bireylerde azalan kırpma refleksine bağlı lipid tabakasının incelmelerinden kaynaklandığı iddia edilmektedir (225).

3.3. Kuru Göz Sendromu (KGS)

3.3.1. Tanım ve Tarihçe

Keratokonjunktivitis sikka (KKS) terimini ilk olarak İsveçli oftalmolojist Henrik Sjögren; eklem ağrısı, ağız ve göz kuruluğu ile karakterize olan ve kendi ismiyle anılan Sjögren sendromunu (SS) tanımlarken kullanmıştır (247). Andrew De Roeth 1950 yılında KKS teriminin yerine KGS kullanmış ve bu durumu "Gözyaşı filminin aköz kısmının azalmasına bağlı olarak gözlerde meydana gelen kuruluk" şeklinde tanımlamıştır (189). Lemp 1995 yılında KGS'yi; gözyaşı buharlaşmasının artması ve/veya gözyaşı üretiminin azalmasına bağlı olarak oluşan oküler bir hastalık olarak tarif etmiştir (151). Hastalığın günümüzde yaygın

olarak kabul edilen tanımı 2007 yılında Uluslararası Kuru Göz Çalışma Grubu tarafından KGS'nin şiddeti, mekanizması ve etiyolojisi esas alınarak yapılmıştır. Buna göre KGS; oküler yüzeye hasar verme potansiyeline sahip yangı, gözyaşı film hiperosmolaritesi, instabilitesi ve görme bozukluğu ile karakterize multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul edilmektedir (12).

Veteriner oftalmolojide bu hastalık halen KKS olarak isimlendirilmektedir. Burada; prekorneal gözyaşı filmini oluşturan aköz, lipid ve müsin tabakalarının kalitatif veya kantitatif yetersizliği sonucu kornea ve konjunktivada meydana gelen kronik seyirli bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (7, 34, 43).

Beşeri hekimlikte KGS genellikle hastaların şikayetleri ve/veya rutin göz muayeneleri sırasında tesadüfen subklinik aşamada teşhis edilmektedir (12). Dolayısıyla gözde makroskobik belirtiler şekillenmeden hastalığın önlemi alınmaktadır. Veteriner hekimlikte ise hastalığın, ileri klinik imkânlara sahip ve hasta sahiplerinin bilinçli olduğu yerlerde beşeri hekimlikteki gibi erken teşhis edildiği görülmektedir (12). Ancak bu durum arzu edilen düzeyde değildir. Hastalık genellikle makroskobik belirtiler ile komplike olduğunda ortaya konulabilmektedir. Bu sebepten dolayı hastalığın hayvanlardaki isimlendirmesinin KGS değil; KKS olarak yapılması daha doğrudur.

3.3.2. Prevalans ve İnsidens

KGS, oküler yüzey rahatsızlıklarının önemli bir kısmını oluşturmakta ve göz kliniklerine gelen hastaların büyük bir bölümünü etkilemektedir. Hastalık, kadın ve yaşlılarda daha yaygın olarak görülür (172, 174, 185, 236). KGS'nin kadınlarda özellikle postmenapozal dönemde daha sık görüldüğü, bunun androjen ve östrojen seviyelerindeki azalmaya bağlı olabileceği bildirilmiştir (95, 235).

A.B.D’de yapılan bir klinik çalışmada, hastalık prevalansı 50 yaş üzerindeki erkek ve kadınlarda sırasıyla % 4 ve % 7 civarında bulunmuştur. Bu değerler, ülkenin genel nüfusuyla orantılandığında 1.05 milyon erkeğe ve 3.2 milyon kadına tekabül etmektedir (235). Aynı çalışmada 50 yaş altı kadınların % 5.7’sinde ve 75 yaş üstündekilerin ise % 9.8’inde şiddetli KGS teşhis edildiği bildirilmiştir. Benzer çalışmalarda 40 yaşın üzerindeki bireylerde hastalık prevalansının % 6’dan; 65 yaşın üzerindikilerde ise % 15’ten fazla olduğu rapor edilmiştir (45, 174, 237). Moss ve ark. (2000) yapmış oldukları bir çalışmada, yaşları 48 ile 91 arasında değişen bireylerde hastalık prevalansının %14 olduğunu; bunların %16.7’sini kadınların, %11.4’ünü ise erkeklerin oluşturduğunu bildirilmişlerdir. KGS prevalansının Avustralya’da % 7.4 (174), İspanya’da % 25 (117), Endonezya’da % 27.5 (145), Tayvan’da % 33.7 (156), Kanada’da % 25 (80), Japonya’da ise % 33 (246) olduğu rapor edilmiştir.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda yaşlanmanın KGS’nin prevalansını yükselttiği bildirilmiştir (186, 227). Bu durumun yaşlı bireylerde sıklıkla gözlenen sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılan antihistaminikler, diüretikler ve antikolinerjikler gibi terapötik ajanların gözyaşı üretimi üzerine olan olumsuz etkisinden kaynaklandığı öne sürülmüştür (95).

KGS, köpeklerde sıkça karşılaşılan bir hastalıktır (113, 128). Bu hayvanlarda, gözyaşı üretiminin; kilo, yaş ve cüseye göre farklılıklar gösterdiği (100), iri cüsseli ırklarda fazla, yaşlılarda ise düşük olduğu rapor edilmiştir (114, 232). Yaşlanmaya bağlı olarak gelişen gözyaşı üretimindeki azalmanın niktitsans ve lakrimal bezlerin fonksiyonel kapasitelerinde meydana gelen azalmaya bağlı olduğu belirtilmiştir (100).

Köpeklerde hastalık insidensinin yaşlanmaya bağlı olarak arttığı, prevalansının ise kısırlaştırılmış olan yaşlı hayvanlarda daha yüksek olduğu görülmüştür (232). Amerikan Cocker Spaniel, Minyatür Schnauzer, Poodle, Shin Tzu, Llasa Apso, Pug, İngiliz Bulldog (6) ve West Highland White (35) gibi bazı köpek ırklarının hastalığa kalıtsal olarak predispoze olduğu bildirilmiştir. West Highland White ırkı 200 köpekte hastalık insidensi üzerine kalıtsal etkinin araştırıldığı çalışmada, olguların % 35'inde KGS'nin görüldüğü, bunların % 70'ini ise 4 ile 7 yaşlı dişi köpeklerin oluşturduğu rapor edilmiştir (35).

KGS'nin kedi ve at gibi hayvan türlerinde ender olarak görüldüğü rapor edilmektedir. Bu durum konuyla ilgili yeterli insidens çalışmasının yapılmamasına bağlanmıştır (101, 226). Hastalık ayrıca kanatlı ve sürüngenlerde de rapor edilmiştir (7, 113, 127).

3.3.3. Sınıflandırma, Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Son dönemlerde KGS'nin patogenezinin ve etiyolojisinin ortaya konulmasında önemli gelişmeler gözlenmektedir (99). Bu gelişmeler, hastalığın iki farklı formu olan gözyaşı buharlaşması ve aköz gözyaşı yetersizliği gibi etiyolojik faktörlerin ayırtedilmesi (205), PGF'nin stabilitesini belirleyen lipid tabakanın kalınlığının tespit edilmesi ve PGF instabilitesinin tanımlanmasıdır (122). KGS'nin sınıflandırılması ve etiyolojik faktörleri Tablo 3'de sunulmuştur.

3.3.3.1. Risk Faktörleri

- a) Yaş:** KGS'nin yaşlı bireylerde daha fazla görüldüğü, bu durumun niktians ve lakrimal bezlerin fonksiyonel kapasitelerinde meydana gelen azalmaya bağlı olduğu belirtilmiştir (100).

- b) Cinsiyet:** KGS prevalansının erkeklere nazaran kadınlarda daha yüksek olduğu ve bu durumun menapozdan sonra kadınların östrojen ve androjen seviyelerinde meydana gelen azalmadan kaynaklandığı belirtilmiştir (95).
- c) Çevre:** KGS'nin prevalansında relatif nem (RN), ortam sıcaklığı, hava akımı ve kalitesi gibi çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır (135, 283, 284, 285). RN oranının düşmesinin KGS'nin prevalansını yükselttiği, yükselmesinin ise hastalıktan şikayetçi olanların sayısında önemli oranda azalma meydana getirdiği gözlenmiştir (135, 283, 284, 285). RN'in düşük olduğu ofis ortamlarının, uçak kabinlerinin, çok soğuk havaların ve klimalı ortamlarda uzun süreli çalışmanın (250) PGF üzerine negatif etki yaparak KGS'yi tetiklediği belirtilmektedir (284, 285). Kjaeregaard ve ark. (2004) yapmış oldukları bir çalışmada, düşük ısı ve yüksek RN'nin PGF stabilitesi üzerine yüksek ısı ve düşük RN'ye göre daha faydalı etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bir çalışmada, RN'si % 40 civarında olan ortamın % 30 olanına göre gözyaşı üzerine daha pozitif etki oluşturduğu rapor edilmiştir (283). Ayrıca tozlu, rüzgarlı ve güneşe maruz kalma süresi uzun olan tropikal iklim bölgelerindeki insanların KGS'ye eğilimli oldukları vurgulanmıştır (131).
- d) Meslek:** Son yıllarda insan hayatına giren ve günlük yaşamın önemli bir parçası haline gelen bilgisayar kullanımı birçok oküler rahatsızlığı beraberinde getirmiştir (46, 240). Gözde yorgunluk, yanma, kızarıklık, yabancı cisim hissi, yaşarma, görmede bulanıklık gibi belirtilerle

seyreden bu oküler rahatsızlığa ‘‘bilgisayara bakma sendromu’’ adı verilmektedir. Uzun süre bilgisayar kullanan bireylerin gözkırpma sayılarındaki azalmaya bağılı olarak gözyaşı buharlaşmasının arttığı, bu durumun ise KGS’yi tetiklediğı veya oluşma riskini yükselttiğı bildirilmiştir (240). Hikichi ve ark. (1995), video görüntülü cihaz kullanan bireylerde hastalık prevalansının kullanmayanlara göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca uzun süreli kitap okuma, televizyon izleme ve gece araç kullanma gibi günlük aktivitelerin KGS’li hastaların görme şikayetlerini arttırdığı belirlenmiştir (12).

- e) **Beslenme:** Gıdalarda bulunan omega-3 ile omega-6 oranları, vücuttaki antiinflamatuvar aktiviteleri primer olarak etkilemektedir (223). Omega-3’ün diyetlerde yüksek miktarlarda bulunmasının kadınlarda KGS’nin insidensini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (180). Normal diyetle omega-3/6 oranının 1:4-1:2,3 arasında olması gerekir (223). Bu oranın 1:15’lere kadar çıkması veya omega-6 lehine artması durumunda kadınlarda KGS prevalansının 2.5 kat yükseldiğı görülmüştür (180). Bu iki esansiyel yağ asidi arasındaki dengenin omega-6 lehine aşırı kaymasının yangı öncesi prostoglandin-E2 (PGE2) seviyesinin arttırıp, prostoglandin-E1 (PGE1) ile prostoglandin-E3 (PGE3) gibi antiinflamatuvar ajan seviyelerini ise düşürerek KGS’ye neden olabileceğı öne sürülmüştür (223). Öte yandan vitamin-A eksikliğinin lakrimal bezde hasar oluşturup goblet hücrelerin gelişimini bozarak KGS’ye neden olabileceğı vurgulanmıştır (207).

f) Hormon: Östrojen ve androjen gibi seks hormonlarının, meibomian bezlerinden lipid, lakrimal bezlerden aköz üretimini arttırarak normal gözyaşı fonksiyonu ve oküler yüzey epitelyumu üzerine faydalı etkiler gösterdikleri belirtilmektedir (95). Androjenler; retina, uvea, lens, kornea, konjunktiva, meibomian ve ana lakrimal bezi içeren birçok dokunun fonksiyonel aktivitesi ve yapısal organizasyonunda önemli bir rol oynar (5, 224). Bu hormonlar ayrıca PGF'nin lipid tabakasının kalitatif ve kantitatif olarak kontrol edilmesinde ve lakrimal bezlerde yangının baskılanmasında da etkilidir (95). SS (özellikle kadınlarda) (257), menapoz, yaşlanma (her iki cinsten) ve anti-androjenik ilaç kullanımı gibi etkilerin de bu hormonların sentezinde azalmaya yol açarak evaporatif KGS ve meibomian bez disfonksiyonuna sebebiyet verebileceği bildirilmiştir (259).

SS; lakrimal bezlerde yıkımlanmaya neden olan çoğunlukla kadınlarda gözlenen kompleks otoimmün bir hastalıktır. Bu hastalık, lakrimal dokularda yoğun bir lenfositik birikime, apoptozik faktörler, adhezyon molekülleri ve sitokin salınımında önemli değişikliklere ve asınar ile duktal epitelyal hücrelerde yıkımlanmaya yol açmaktadır. Dolayısıyla aköz gözyaşı sekresyonunda azalmaya ve buna bağlı olarak şiddetli KGS'ye neden olur (5, 261). SS'nin fare modelinde androjen tedavisinin lakrimal bez üzerinde iyileştirici bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (258).

g) Sistemik ilaçlar: İnsanlarda yaştan ilerlemesiyle ortaya çıkan birçok sistemik hastalığın tedavisinde kullanılan antikolinergikler, diüretikler,

antihistaminikler, antiaritmikler, β -blokörler, postmenapozal hormon takviyeleri ve antiandrojeniklerin gözyaşı üretimini baskılayarak KGS'ye neden olabileceği veya varolan hastalığı kötüleştirebileceği bildirilmiştir (87, 95, 207, 259). Sistemik isotretioninin uzun süreli ve sık aralıklarla kullanımının KGS'nin oküler belirtilerini tetiklediği ve meibomian bez fonksiyonu üzerine negatif etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır (50,71). Amiodaron uzun süreli kullanımında KGS ve optik sinir hasarının geliştiği bildirilmiştir (120). İnterferonların uzun süreli kullanılmasında ise ağız ve göz kuruluğu, başağrısı, oküler yüzeyde squamosus metaplazik değişiklikler ve gözyaşı dinamiklerinde bozulma gibi yan etkiler olduğu tespit edilmiştir (69, 119).

h) Topikal oftalmik ajanlar: Prezervatif içeren yapay gözyaşları preparatları ve glakomun tedavisinde kullanılan bazı ilaçların sık aralıklarla kullanımlarının KGS'nin gelişimine katkıda bulunacağı bildirilmiştir (37, 51, 200, 207, 275). KGS'nin tedavisinde kullanılan prezervatif içeren benzalkonyum kloritin oküler yüzey epiteline toksik etkisi olduğu ve bu etkisinin; doz sıklığı, ilaç konsantrasyonu, gözyaşı miktarı ve hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (12, 38, 200). Benzalkonyum kloritin orta dereceli KGS'nin tedavisinde günde 4-6 defa ve daha az sıklıkta kullanılmasının tavsiye edildiği, ileri derecedeki hastalarda ise glakomun tedavisinde kullanılan diğer topikal ajanlarla birlikte kullanılması salık verilmektedir (207). İnsanlarda benzalkonyum kloritin % 0.05'lik konsantrasyonunun kullanılmaya başlanmasından 2 saat sonra epitelyal hücrelerde dejenerasyona neden olduğu, mitotik

aktiviteyi ve normal sitokenezisi ise bozduğu rapor edilmiştir (270). Oftalmik ilaçlarda yaygın olarak kullanılan benzalkonyum klorit, klorobutanol, sodyum perborat ve stabilize edilmiş oksikloro kompleks (SOC) gibi prezervatiflerin etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, SOC'un tavşanın korneal epitelyal hücrelerine en az; benzalkonyum kloritin ise en fazla sitotoksik etkiye sahip olan ajan oldukları bildirilmiştir (198). Benzalkonyum klorit, metilparaben, sodyum perborat, klorobutanol, stabilize edilmiş timerosal ile EDTA gibi prezervatiflerin toksik etkilerinin karşılaştırıldığı benzer bir çalışmada ise, ajanların hepsinin korneal ve konjunktival epitelyal hücrelerde toksik etki oluşturduğu, en büyük toksitenin ise stabilize edilmiş timerosal ile benzalkonyum kloritte olduğu bildirilmiştir (86). KGS'nin tedavisinde oküler merhemler ve jeller sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlardan lanolin içerenlerinin korneal yara iyileşmesini geciktirdiği ve gözlerde irritasyona neden olduğu belirtilmektedir (12).

- i) **Kontakt lens kullanımı:** Gözyaşı sistemindeki denge; gözün optik kalitesi ve sağlığının korunmasında önemli bir rol oynar. Kontakt lens kullanımı, gözyaşının dinamiklerini bozarak oküler rahatsızlık ve kuruluk gibi durumlara neden olmaktadır. Lens kullanan bireylerin yarısından fazlasının KGS semptomlarından şikayetçi olduğu bildirilmiştir (60, 99, 222). Kontakt lenslerin; müköz üretimini, gözyaşı osmolaritesini, gözyaşı buharlaşmasını ve yangısal sitokinlerin sayısını arttırarak; gözkırpma sayısı ve BUT'u ise azaltarak KGS'yi tetiklediği bildirilmiştir (5, 241, 266). Yangısal sitokinlerden biri olan interlökin-6

(IL-6) seviyesinde kontakt lens kullanımını takiben 24 saat içerisinde önemli bir artış olduğu kaydedilmiştir (241). Thakur ve Willcox (2000), kontakt lens kullanımının korneal enfeksiyon ve inflamasyon ile birlikte gözyaşındaki bazı yangısal mediatörlerin üretiminde önemli değişikliklere neden olduğunu rapor etmişlerdir. Sağlıklı, kontakt lensli normal ve kontakt lensli KGS'li bireylerin human lökosit antijen-DR (HLA-DR) gibi oküler yüzey antijenleri yönünden yapılan değerlendirilmesinde, bu antijenlerin birinciden üçüncü gruba doğru yükseldiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada kontakt lensli gruplarda goblet hücre sayısında önemli azalma olduğu tespit edilmiştir (5).

j) Refraktif cerrahi: Fotorefraktif keratektomi ve LASIK (Laser Cerrahisi)'in korneal duyu sinirlerinde kısmi veya total hasara neden olup lakrimal regülasyonu bozarak KGS'ye yol açtığı belirtilmektedir (10, 216). Refraktif cerrahi müdahalelerin BUT'ta, Schirmer gözyaşı testinde (STT) ve korneal duyarlılıkta azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (10, 187). Refraktif cerrahi uygulanan bireylerin gözyaşı miktarlarında tedavinin ilk üç ayında geçici fakat önemli azalmaların olduğu rapor edilmiştir (187). Bir çalışmada LASIK uygulanan bireylerin fotorefraktif cerrahi uygulananlara göre gözyaşı kırılma zamanı ve gözyaşı üretim miktarlarında önemli azalmalar, gözyaşı osmolaritelerinde ise önemli artışlar kaydedilmiştir (146, 191).

k) Parkinson hastalığı: Parkinson hastalarında; KGS, okuma güçlüğü ve görme halisünasyonları gibi oküler belirtiler yaygındır (22). Bu hastalarda KGS'nin, motor ve otonomik disfonksiyona bağlı gözkırpma

sayısındaki azalmadan (207, 264) ileri gelen aşırı gözyaşı buharlaşmasının neden olduğu PGF instabilitesinden kaynaklandığı sanılmaktadır (44, 207).

l) Diabetes Mellitus (Şeker Hastalığı): Katarakt ve retinopati hastalığının en çok bilinen oküler komplikasyonları (167) olmasına rağmen son dönemlerde hastalığın KGS ile ilişkisi olduğu da belirlenmiştir (9, 126, 274). Tip-2 diyabetli hastalarda KGS'nin prevalansı % 56'nın üzerinde bulunmuştur (167). Diyabetli hastalarda gözyaşı BUT, STT ve goblet hücre dansitesinde önemli azalma ve PGF'de instabilite ile konjunktivada belirgin bir squamos metaplazi rapor edilmiştir (155, 167, 294).

m) Diğer Faktörler: Otoimmün hastalıklar, Hepatit-C, HIV (İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü), radyasyon tedavisi ve kemik iliği transplantasyonu KGS'nin diğer önemli risk faktörleri arasında sayılmaktadır (12).

3.3.4. Patogenezis

KGS'nin patogenezisinde; gözyaşının miktarı, döngüsü, akışı, osmolaritesi ile yangının anahtar rol oynadığı belirtilmektedir. Gözyaşı miktarı, döngüsü ve akışındaki azalmanın osmolariteyi arttırdığı, bu artışın ise oküler yüzeydeki yangısal yolları aktive ettiği öne sürülmektedir. Yangının lakrimal bezler ile oküler yüzey arasındaki sinirsel iletişimi bozarak, korneal duyarlılıkta, gözyaşı temizlenmesinde ve akışında azalmalara yol açtığı bildirilmiştir. Belirtilen siklusta yangının öneminin büyük olduğu ve hastalığın patogenezisinin temelini oluşturduğu vurgulanmıştır (99, 172, 225).

3.3.4.1. Yangı (İnflamasyon)

KGS'nin patogeneziinde inflamasyon önemli bir rol oynar (77, 109, 143). Gözyaşı bezlerinin disfonksiyonu ve gözyaşı yetersizliği gibi durumların; oküler yüzeyde irritasyona neden olup inflamasyonu tetikleyerek gözyaşı üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir (109, 143). Oküler yüzey yangısının oluşumunda; evaporatif stres, hiperosmolarite, lakrimal bez tarafından salgılanan yangı öncesi sitokinlerin konsantrasyonlarındaki artış ve göz kırpma anormallikleri gibi faktörler rol oynamaktadır (109).

3.3.4.1.1. Yangı Öncesi Sitokinler

Yangı öncesi sitokinler (IL-1 β , IL-1 α , IL-6, IL-8, TNF- α), KGS'nin patogenezi ve patofizyolojisinin kolay anlaşılmasında önemli rol oynamaktadır (109). Oküler yüzey ve glandular epitelyal hücrelerin stres altında olmasının, bu sitokinler ile bazı proteolitik enzimlerin belirtilen dokularda infiltre olmasına neden olarak gözyaşındaki seviyelerinde artışa sebebiyet verdiği bildirilmiştir (77, 211). KGS üzerine yapılan bir klinik çalışmada (67) olguların korneal ve konjunktival epitelyumlarında bu sitokinlerin konsantrasyonlarında artış olduğu saptanmıştır.

Yangı öncesi sitokinlerden IL-1 β üretimindeki artışın lakrimal bezlerde hücre ölümüne neden olan uyarılabilen nitrik oksit sentezi (iNOS) adı verilen bir maddenin üretimine aracılık eden nitrik oksit (NO)'in seviyesinde artışa neden olduğu belirtilmektedir. Bundan dolayı KGS'nin lakrimal bez yangısının kontrol altına alınmasında IL-1 reseptör ve iNOS inhibitörlerinin kullanılmasının faydalı olacağı öne sürülmüştür (41). Yapılan bir çalışmada, KGS'li hastaların konjunktiva ve gözyaşlarındaki IL-1 seviyelerinde artış tespit edildiği, bu artışın

özellikle konjunktival epitelyumdan kaynaklandığı rapor edilmiştir. Buradan, IL-1'nin yangı öncesi formlarının KGS'nin patogenezisinde rol oynadığı sonucuna varılmıştır (248).

3.3.4.1.2. PGF Hiperosmolaritesi

Oküler yüzey inflamasyonunda etkili olan faktörlerden biri olarak kabul edilen (109) PGF osmolaritesindeki artış, KGS'nin tüm formlarında ‘‘altın standart’’ olarak kabul edilmektedir (77). PGF hiperosmolaritesi; lakrimal bezlerin sekresyonundaki disfonksiyonlardan, gözyaşı akışındaki düşüklüklerden ve PGF'nin aşırı buharlaşmasından kaynaklanabilir. Bu faktörün gözyaşında yangısal sitokinlerin salınımını stimüle ederek inflamatuvar etkiyi tetikleyip oküler yüzey epitelyumuna hasar verdiği düşünülmektedir (77, 154, 207).

3.3.4.1.3. Metalloproteinazların Artışı

Matriks metalloproteinazlar (MMPs), yangısal stres altında olan glandular epitelyal ve oküler yüzey hücreleri tarafından üretilip bu dokulara infiltre olan proteolitik enzimlerdir. MMP-9 aktivasyonu ve konsantrasyonundaki artışlar, infiltre oldukları dokularda patolojik değişikliğin geliştiğini göstermektedir (64). Bu enzimlerin, korneal epitelyal hücreler arasındaki bağlantıyı sağlayan proteinleri ve bazal membranın komponentlerini lize ederek, epitelyal bariyeri bozduğu öne sürülmektedir (64, 162, 209). Yapılan birçok çalışmada (64, 75, 209, 248), KGS'li hastaların gözyaşlarında ve korneal epitelyumlarında MMP-9 aktivitesinin yükseldiği bildirilmektedir. Bu yükseliş ile korneal fluorescein boyanma alanlarının ve korneal desquamasyonun artışı, kontrast görme keskinliğinin düşmesi ve korneal yüzey düzensizliklerinin oluşması arasında pozitif bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir (64,209).

3.3.4.1.4. Şemokinler ve Şemokin Reseptörleri

Şemokinler; immun ve yangısal hücreleri indükleyerek inflamasyonun başlaması ve gelişiminde önemli rol oynayan küçük peptidlerdir (208, 292). Her bir şemokin etkisini hücrelerde bulunan farklı reseptörleri uyararak göstermektedir. KGS'nin patogenezisinde hiperosmolaritik ve evaporatif stresin anahtar rol üstlendiği bilinmektedir. Bu stres faktörlerinin, şemokinleri aktive ederek (292) KGS'nin patogenezisinde etkin hale getirdiği anlaşılmaktadır. Yapılan çalışmalarda KGS'li olgularda, şemokin reseptör seviyelerindeki artış bu görüşü desteklemektedir (36, 295).

3.3.4.1.5. İmmun Aktivasyon ve Adhezyon Molekülleri

Gözyaşı, konjunktiva ve lakrimal bezlerdeki yangısal mediatörler; immun aktivasyon ve adhezyon moleküllerinin (HLA-DR, ICAM-1) konsantrasyonlarında artışa neden olarak oküler yüzeydeki yangısal süreci başlatır (53, 172, 254) ve bu süreci yangısal hücreleri koruyarak devam ettirirler (77). SS ile ilişkili olanlar başta olmak üzere tüm KGS'li olguların konjunktival epitelyumlarında HLA-DR seviyelerinde önemli artışların olduğu rapor edilmiştir (53, 215, 273).

3.3.4.1.6. T Hücreleri

SS ile ilişkili KGS formunda lakrimal bezlerde başta lenfositler olmak üzere; monosit ve plazma hücre infiltrasyonları görülmüştür (59, 254). SS üzerine yapılan iki farklı çalışmada olguların, oküler yüzeylerinde yoğun T lenfosit hücre infiltrasyonlarına rastlanılmıştır (79,210). Konjunktival epitelyumlardaki lenfositik infiltrasyonların sadece SS ile ilişkili KGS'lilerde değil; aynı zamanda aköz gözyaşı yetersizliğine bağlı KGS'li olgularda da tespit edilmiştir (254).

3.3.5. Teşhis

A.B.D. Ulusal Göz Enstitüsü; KGS'yi, gözyaşı yetersizliği ve buharlaşması olmak üzere 2 ana kategoride sınıflandırmıştır (55, 172). Her iki kategorinin; klinik semptomlar, oküler yüzey hasarı, PGF instabilitesi ve hiperosmolaritesi açısından ortak özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (5, 55, 172). Bu özelliklerin değerlendirilmesinde aşağıda detaylı olarak anlatılan birçok diagnostik testten yararlanılmaktadır.

3.3.5.1. Oküler Yüzey Boyaları ve İlgili Testler

Epitelyal hasarlar vital ve supra-vital boyalar kullanılarak teşhis edilmektedir (55).

3.3.5.1.1. Fluorescein Sodyum

Fluorescein sodyum, suda çözünebilen turuncu renkli vital bir boyadır. (31, 233). Mavi filtrenin kullanıldığı slit-lamp biyomikroskopun altında fluoresans yeşili bir renkte görülmektedir. Gözde iyi tolere edildiği ve minimal irritasyona neden olduğu belirtilmektedir (55).

Fluorescein boyama, oküler yüzey hasarının belirlenmesinde 19. yüzyıldan beri rutin olarak kullanılan standart bir tekniktir (55). Fluorescein boyası, damla veya strip şeklinde piyasada bulunmaktadır. Damla direkt olarak oküler yüzeye, strip ise inferior konjunktival keseye uygulanmaktadır. Elde edilen boyama alanları kobalt mavisini ile sarı filtreye sahip bir slit-lamp biyomikroskop altında muayene edilmektedir (31). Bu metod, başta KGS olmak üzere korneal epitelyal erozyonlarla seyreden tüm hastalıkların teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (233). Konjunktival epitelyumun fluorescein boyama metodu ile muayenesi skleral kontrast düşüklüğünden dolayı oldukça zordur. Bundan dolayı bu yapının

değerlendirilmesinde kobalt mavisi yerine sarı filtre tercih edilmektedir. Düşük ve orta dereceli KGS'nin başlangıç aşamasında ancak bu şekilde konjunktival hasarın teşhis edilmesi mümkün olmaktadır (137).

3.3.5.1.2. Rose Bengal

Rose bengal, oküler yüzey hasarının belirlenmesi amacıyla kullanılan bir boyadır. Hasarı, ölmüş veya dejenere olmuş hücreleri boyayarak göstermektedir (55, 233).

Rose bengal kullanımının bazı dezavantajları olduğu öne sürülmektedir (54, 55, 233). KGS'li hastalarda bu boyanın uygulanması esnasında ağrı ve yanma hissi oluşabilmektedir (233). Bulbar konjunktivanın bu boyama tekniğiyle kolay bir şekilde muayene edilmesine rağmen korneanın muayenesinin zor olduğu (55), bu durumun korneanın kontrast kalitesinin düşmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (233). Rose bengal kullanımının en büyük dezavantajı, hücrelerde morfolojik değişiklikler, motilite kaybı, ayrılmalar ve ölümlere neden olabilen intrinsik bir toksisiteye sahip olmasıdır (31, 54, 90, 133, 233). Ultraviyole ışınların bu toksik etkiyi daha da arttırabileceği öne sürülmektedir (90). Rose bengal, sadece ölmüş ve dejenere olmuş hücreleri değil aynı zamanda canlılığını koruyan epitelyal hücreleri de boyadığından KGS'nin teşhisinde kullanılmasının yanıltıcı sonuçlar verebileceği iddia edilmiştir (72, 91).

3.3.5.1.3. Lissamine Green

Rose bengal benzeri bir boyama karakteri göstermesine rağmen ona göre daha az toksiteye sahiptir (31, 138, 163). Oküler yüzeyi daha az irrite ettiği (31, 138, 163, 233), fluorescein gibi daha iyi tolere edildiği (31, 54, 168) ve yalnızca hasara uğramış hücreleri boyadığı (63, 133) belirtilmektedir. Bu boyanın

konjunktiva, kornea, iris ile skleranın beyaz bölgesinin kolay bir şekilde muayene edilmesine olanak sağladığı bildirilmiştir (54, 55).

3.3.5.1.4. Sülforamidin-B

Fluorescein türevli bir boya maddesidir (84, 233) ve benzeri bir boyama karakteri göstermektedir (84).

3.3.5.2. PGF Stabilitesinin Değerlendirilmesi

3.3.5.2.1. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (BUT)

BUT, PGF stabilitesinin belirlenmesinde rutin olarak kullanılan bir testtir (31, 55, 233). Bu test, aköz gözyaşı yetersizliği veya gözyaşı kurumasından ileri gelen KGS'li ve meibomian bez disfonksiyonlu bireylerde diagnostik öneme sahiptir (233). BUT, göze fluorescein uygulanmasını takiben iki tam göz kırpma arasında oküler yüzeyde noktasal kurulukların ilk tespit edildiği zaman olarak bilinmektedir (31, 55, 233). Kırılma alanları, kobalt mavisi veya sarı filtreli bir slit-lamp biyomikroskop ile tespit edilir (55). TBUT'un normal bireylerde ortalama 27 saniye, KGS'li hastalarda ise ortalama 5 saniye olduğu bildirilmiştir (233).

Gözyaşı kırılmasının mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Bir görüşe göre PGF'nin bozulmasının, lipidlerin diffuz hale gelmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır (233). Diğer ve en çok kabul gören görüşte; gözyaşı kırılmasının, müsin tabakanın delinmesiyle başlayıp, aköz tabakanın epitel katmanla temas etmesiyle ilerlediği (245); PGF'nin incelmesinin ise bu süreci hızlandırdığı (233) savunulmaktadır. Pflugfelder ve ark. (1998) gözyaşı kırılmasının müsin tabakanın eksikliğinden ileri geldiğini öne sürmüşlerdir.

Antihistaminikler, antidepresanlar, antihipertansifler, benzalkonyum klorit gibi bazı prezervatifler, parkinson ilaçları, LASIK gibi cerrahi girişimler ile gözkapağı anormallikleri PGF stabilitesini etkilemektedir. Ayrıca Mengher ve ark. (1985), göze fluorescein uygulanmasının BUT'u kısalttığını iddia etselerde bu görüş henüz doğrulanmamıştır (62).

KGS'nin teşhisinde BUT'un doğru sonuçlar verdiğini belirten birçok klinik ve deneysel çalışma mevcuttur (85, 190, 230, 244, 298).

3.3.5.3. Gözyaşı Osmolaritesinin Değerlendirilmesi

3.3.5.3.1. Osmometri

Son yıllarda geliştirilen cihazlar sayesinde (OcuSense) gözyaşı osmolaritesi, KGS'nin tüm formlarında oküler yüzey hasarının belirlenmesinde önemli bir parametre haline gelmiştir (5). Liu (2009), normal bireylerde gözyaşı osmolaritesinin 300-310, hayvanlarda ise 400-600 mOsM/kg olduğunu, KGS'li insanlarda ise bu değerlerin 316 ile 360 mOsM/kg arasında değiştiğini rapor etmiştir. Başka bir çalışmada; hafif, orta ve ileri derecedeki klinik KGS'li hastalarda gözyaşı osmolaritesinin sırasıyla 298.1 ± 10.6 , 306.7 ± 9.5 ve 314.4 ± 10.1 olduğu tespit edilmiştir (42, 268, 278). Tavşanlarda lakrimal kanal yolunun kapatılması ve niktians bezlerinin operatif yolla alınması ile yapılan KG modelinde, deneklerin gözyaşı osmolaritelerinin yükseldiği, goblet hücre dansitesi ile korneal epitelyal glikojen seviyelerinde ise azalma olduğu tespit edilmiştir (102). Gilbard ve ark. (1989), bir başka tavşan modelinde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

3.3.5.4. Fluorescein Temizlenme Testleri

3.3.5.4.1 Fluorescein Temizlenme Zamanı Testi (FTZT)

FTZT, oküler yüzeye fluorescein damlatıldıktan sonra gözyaşının bu boyayı temizlemesi için gerekli zaman olarak tanımlanmaktadır (88, 220). Bu test ile bazal ve refleks gözyaşı miktarlarıyla birlikte gözyaşı temizlenme zamanı da belirlenebilmektedir. FTZT'nin, pahalı olmaması, kolay uygulanabilmesi ve materyallerin rahatlıkla temin edilebilmesi gibi avantajlarının; istenilen spesifikiteye ve duyarlılığa sahip olmaması gibi dezavantajlarının olduğu öne sürülmektedir (233). Bir çalışmada FTZT'nin duyarlılığının % 71, spesifitesinin ise % 60 olduğu belirlenmiştir (173).

3.3.5.4.2. Fluorescein Temizlenme Oranı Testi (FTOT)

Bu test, teknik açıdan FTZT'ye benzerlik göstermektedir (233). FTOT, olguların konjunktival forniksine fluorescein damlatıldıktan belli bir süre sonra STT stripleriyle ıslaklık derecesinin ve boya yoğunluğunun ölçülmesi esasına dayanır (287). Islaklık derecesinin düşük, boya yoğunluğunun ise yüksek olması; gözyaşı temizlenmesinin geç olduğunu işaret etmektedir (288). KGS'nin teşhisinde bu testin duyarlılığı % 74, spesifitesi ise % 63 olarak not edilmiştir (279).

3.3.5.4.3. Fluorofotometrik Analiz

Bu test, gözyaşı temizlenmesinin değerlendirilmesi amacıyla olguların gözlerine fluorescein damlatıldıktan sonra belli aralıklarla gözyaşı örneklerinin alınması ve bu örneklerin fluorofotometrik olarak ölçülmesinden oluşmaktadır (1, 2, 164). Bu analiz üzerine detaylı araştırmanın Dursun ve ark (2002) tarafından yapıldığı görülmektedir.

3.3.5.5. Gözyaşı Üretim Miktarının Ölçümü

KGS'nin evaporatif ve aköz yetersizlik olarak sınıflandırılmasında, bu test sonuçlarının temel teşkil ettiği anlaşılmaktadır (31, 233).

3.3.5.5.1. Schirmer Gözyaşı Testi (STT)

STT, insan ve hayvanlarda gözyaşı miktarının ölçümünde rutin olarak kullanılan bir testtir (31, 116, 298). Bu testte 35 mm uzunluğunda ve 5 mm genişliğinde absorbent şeritler kullanılmaktadır (31, 233). Alt göz kapağının içinde bulunan lakrimal göl kurutulduktan sonra lateral kantusa yerleştirilen bu şeritler, 1-5 dakika sonra alınarak üzerindeki milimetrik skaladan ıslaklık miktarı okunmaktadır. Anestezi uygulanmadığında total (STT-I), uygulandığında ise bazal gözyaşı sekresyonu (STT-II) ölçülmektedir (31). Bu testin, klinik ve deneysel KGS olgularının değerlendirilmesinde faydalı olduğu ve ıslaklık derecesinin 6mm/dk'dan az olmasının hastalığı işaret ettiği belirtilmiştir (55, 57, 129, 298).

STT'nin göz küresi büyük olan insan ile tavşan, maymun ve köpek gibi hayvanlarda uygulanmasının kolay, göz küresi küçük olan fare ve rat gibi laboratuvar hayvanlarında ise zor olduğu rapor edilmiştir (31).

3.3.5.5.2. Fenol Kırmızısı Pamuk İpliği Testi

KGS'de ve aköz gözyaşı yetersizliği ile ilişkili hastalıklarda diagnostik amaçla kullanılan testlerden biridir (55). Bu testi ilk olarak Hamano ve ark (1983), küçük laboratuvar hayvanlarında aköz gözyaşı üretimini ölçmek amacıyla kullanmışlardır. STT'de olduğu gibi alt göz kapağına hafif bir şekilde yerleştirilen bu iplikler, yaklaşık 15 saniye sonra olduğu yerden alınmakta ve sarı rengin

kırmızıya dönüştüğü sınır testin uygulandığı gözün aköz gözyaşı miktarını vermektedir (233).

Fenol kırmızısı pamuk ipliği testinin STT'ye göre uygulama süresinin kısa olması, nem ve sıcaklık gibi faktörlerden az etkilenmesi, minimal invaziv ve daha az refleks gözyaşı stimülasyonuna neden olması dolayısıyla daha güvenilir olduğu öne sürülmüştür (23, 31, 291). Bu teknik günümüzde deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (33, 61, 83).

3.3.5.6. Goblet hücre dansitesinin belirlenmesi

Konjunktival goblet hücreleri tarafından üretilen müsinin oluşturduğu müsin tabaka, oküler yüzey sağlığının korunmasında oldukça önemli bir yere sahiptir (121). KGS ve squamosus metaplazi gibi hastalıklarda goblet hücre dansitesindeki azalmanın, PGF'nin müsin tabakasına zarar vererek oküler yüzey bütünlüğünü bozduğu bildirilmiştir (8,161).

Goblet hücrelerinin konjunktivadaki dağılımı genelde düzenli olmasına rağmen fare ve ratlarda fornikslerde kümeleşmeler halinde yoğunlaştıkları (104,118) tespit edilmiştir. Goblet hücre dansitesi KGS çalışmalarında yaygın olarak değerlendirilmektedir (134).

3.3.5.6.1. İmpresyon Sitolojisi

İmpresyon sitolojisi; goblet hücre dansitesini, nükleus sitoplazma oranını ve epitel hücre morfolojisini belirlemek amacıyla oküler yüzey biyopsilerine alternatif olarak geliştirilen basit, ucuz, noninvazif bir tekniktir (193, 201, 207, 228). Bu teknikte, göz anesteziikleri uygulandıktan sonra bulbar, inferior ve temporal konjunktiva gibi oküler yüzey epitelyumunun yüzlek tabakalarından, 0,25 veya 0,45 µm por çapına sahip nitroselüloz veya polietersülfon gibi filtre

kağıtları kullanılarak doku örnekleri alınmaktadır (8, 194, 201). Yüzey epitelyumuna filtre kağıtlarının yaklaşık 2-3 saniye kadar hafif bir şekilde bastırılmasıyla alınan bu örnekler, Nelson ve ark (1983)'nın tanımladıkları prosedürler takip edilerek periyodik asid+ shiff (PAS) ve hematoksilin ile boyanarak değerlendirilir.

İmpresyon sitolojisi tekniği ile konjunktival epitelyumdan alınan örneklerin, goblet hücreleri gibi subapikal ve apikal hücreleri içerdiği belirtilmektedir. Böylece hem goblet hücrelerinin dansitesi belirlenmekte hemde goblet ve konjunktivanın suprabazal hücrelerinde mevcut olan jel formundaki münlerin analizi yapılmaktadır (201). İmpresyon sitolojisi tekniğinin kullanıldığı bir KGS tavşan modelinde, goblet hücre dansitesinin önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (8). Benzer sonuçlar, Yüksel ve ark. (2010)'larının klinik çalışmasında da alınmıştır. Bolzan ve ark. (2005), köpekler üzerinde yaptıkları konjunktival impresyon sitolojisi çalışmalarında bu tekniğin veteriner oftalmoloji alanında da kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

3.3.6. Klinik Belirtiler

KGS'nin başlangıç döneminde; gözlerde kuruluk (94, 196), yabancı cisim (94), batma (11) ve kumlanma hissi (196), kaşıntı (11, 94), ağrı (94, 196), yanma (94), fotofobi (94), görmede bulanıklık (94), kızarıklık (106, 107, 196), muköz akıntı, kontakt lens intolerans ile bazı hastaların gözlerinde aşırı yaşarma (94) gibi semptomlar rapor edilmiştir.

Hastalığın ilerlemesiyle; aşırı göz kırpma, fotofobi, ağrı (13, 73), ağrıya bağlı bleferospazm (43) ve enoftalmus (177), uzun süreli muköz gözyaşı akıntısı (43, 70, 73, 192), göz çevresinde kabuklanma, blefaritis (13, 101), hiperemi (43)

ve kaşıntı ile karakterize konjunktivitis (73), episkleral ödem ve kapillar damarlarında konjesyon, korneal ülserasyon (30, 43, 70, 73, 101, 192), hücrel infiltrasyon (13), pigmentasyon (30,43) ve neovaskülarizasyona (43) bağlı olarak korneal yüzeyde kalınlaşma veya fibrozis (43, 101), skar doku oluşumu (13), opasite (30, 192) ve körlüğe (13, 73) kadar varan değişiklikler görülmektedir.

3.3.7. Tedavi

Göz kliniklerine KGS'nin semptomlarını içeren şikayetlerle gelen insanlara, öncelikle hastalığın oluşumuna katkıda bulunan risk faktörleri varsa bunların önlenmesi yönünde bilgi verilmektedir. Gözyaşı buharlaşmasını arttıran, gözyaşı üretimi ile PGF stabilitesini azaltan kılmalı, rüzgarlı, düşük nemli ve sigara dumanlı ortamlar bu faktörlere örnek olarak verilebilmektedir (95,143). Ayrıca hastalara, omega-3 gibi esansiyel yağ asitlerini ihtiva eden gıdaların tüketilmesi ve sistemik yan etkilere sahip ilaçların mümkünse kullanılmaması yönünde tavsiyelerde bulunmaktadır (95). Risk faktörlerinin elemine edilmesi amacıyla alınan tüm önlemlere rağmen oküler şikayetleri devam eden hastalara medikal tedavi yöntemlerinin; bunlardan da sonuç alınamazsa operatif müdahalelerin yapılması gerektiği bildirilmiştir (99, 143). Hayvanlarda KGS'nin tedavisi insanlardaki gibi hastalığın şiddetine göre medikal veya operatif olarak yapılmaktadır (35, 43, 48, 100).

Medikal tedavi, geçmişte etiyolojik ve etiyopatolojik faktörlerden çok klinik belirtilere yönelik olarak yapılmaktaydı (58, 95, 143). Yeni sağaltım konseptinde ise hastalığın altında yatan nedenlerin elemine edilmesi ile hastalığın patogenezisinde rol oynayan faktörlerin ortadan kaldırılması hedeflenmektedir (95, 99). Bu amaçla kortikosteroidler (169), nonsteroid antiinflamatuvar ajanlar

(NSAID) (20), immunosupresif veya immunomodulatorler (171), sistemik tetrasiklinler (221), seksüel hormonlar (170), vitamin A (243), otolog serum (217), mast hücre stabilizatörleri (165,149), botulinum toksini (130, 252), akupunktur (47) ve anti-viral ajanların (92) kullanıldığı görülmektedir.

3.3.7.1. Medikal Tedavi

3.3.7.1.1. Nonsteroid Antiinflatuarlar (NSAID)

NSAID'ler, oküler yangının kontrol altına alınmasında sıklıkla kullanılmaktadır (105, 234). Bu ajanların, alerjik konjunktivitis semptomlarının hafifletilmesi, intra-operatif miozisin önlenmesi, pre-post operatif oküler yangının ve katarakt cerrahisi ile ilişkili olan cystoid macular ödemanın tedavisi ve refraktif cerrahi sonrasında şekillenebilecek ağrı gibi rahatsızlıkların azaltılması gibi birçok kullanım alanı vardır (56, 105).

Endojen prostoglandinler, oküler yangının başlamasında ve devamında önemli rol oynamaktadır. Prostoglandinlerin, intraoküler basıncı etkilediği, konjunktival hiperemi ve miosisi oluşturduğu, kan-oküler bariyer permabilitesini arttırdığı, ağrı ve alerjik reaksiyonları içeren hücrel ve humoral yangı sürecine aracılık ettiği ve şemokinetik aktiviteye sahip olduğu öne sürülmüştür (234). NSAID'lerin, siklooksijenaz enzimlerini bloke ederek, bu sayede endojen prostoglandin ve diğer maddelerin sentezini inhibe ettiği bildirilmiştir (150).

NSAID'lerin steroid tedavisinden kaynaklanan potansiyel komplikasyonlardan sakınmak için özellikle KGS gibi kronik yangısal göz hastalıklarının tedavisinde kortikosteroidlere alternatif olarak kullanılması önerilmiştir (150). Bu amaçla diklofenak, flurbiprofen, indomethacin, ketorolak ve suprofen gibi ajanlar sıklıkla kullanılmaktadır (234).

Diklofenak, suda çözünen fenilasetik asit türevidir. Bu ajanın % 0.1'lik solüsyonu, katarakt cerrahisi sonucu oluşan yangının önlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Flurbiprofen, suprofen ve ketorolak trometamin suda çözünen fenilalkonik asit türevleridir. Flurbiprofen ve suprofen sadece operatif miozisin profilaksisinde kullanılırken; ketorolak alerjik konjunktivitis, refraktif cerrahi ve katarakt cerrahisi sonrası şekillenebilecek post-operatif yangının tedavisinde kullanılmaktadır. İndol türevi olan indometazin ise cystoid macular ödema ve post-operatif yangının tedavisinde uygulanmaktadır (234).

KGS ile ilişkili filamentar keratitisin tedavisinde 28 gün boyunca günde 4 kez birer damla % 0.1'lik diklofenak sodyum ve % 5'lik sodyum kloritin etki ve güvenilirliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, her iki ajanın filamentlerin kaybolmasını sağladığı, diklofenak sodyum ile tedavi edilen hastalarda klinik belirtilerin sodyum klorit ile tedavi edilenlere göre daha hızlı iyileştiği ve her iki grupta da tedavi sonrası herhangi bir yan etkiye rastlanılmadığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak KGS ile ilişkili filamentar keratitis olgularında % 0.1'lik lokal diklofenak sodyum uygulamasının etkili ve güvenilir bir tedavi olduğu öne sürülmüştür (25). Benzer sonuçlar, 120 olguda katarakt cerrahisi sonrası oluşan postoperatif yangının kontrol edilmesi üzerine 30 gün boyunca günde 4 defa % 0.1'lik diklofenak sodyum ve % 0.5'lik ketorolak trometaminin etkilerinin karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada da elde edilmiştir (93).

Aragona ve ark. (2005), SS'li hastalarda günde 3 kez birer damla uygulanan indometazin ve diklofenak sodyumun etkilerini; korneal duyarlılık, fluorescein boyanma testi, BUT ile oküler rahatsızlık gibi parametreler kullanarak; tedaviden önce, tedavinin 15 ve 30. günleri ile tedavi tamamlandıktan

sonraki 7. günde değerlendirmişlerdir. Tedavinin 30. gününde her iki grubun korneal duyarlılıklarında önemli azalmalar olmasına rağmen bu azalmanın diklofenak sodyum ile tedavi edilen olgularda daha belirgin olduğu görülmüştür. Ayrıca tedavinin 15. gününde her iki grubun oküler rahatsızlıklarında önemli azalmalar ve tedavi tamamlandıktan 7 gün sonra ise diklofenak sodyum uygulanan grubun fluorescein boyama test skorlanmasında kötüleşme olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda bu ajanların dikkatli kullanılması, olguların sürekli gözlem altında tutulması ve sağaltım sırasında korneal epitelyal defektin şekillenmesi durumunda ilacın derhal kesilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Sağlıklı olgularda korneal duyarlılık ve korneal epitelyum üzerine diklofenak, indometazin, flurbiprofen ve ketorolakın etkilerinin karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada da diklofenak ile tedavi edilen grubun korneal duyarlılıklarında önemli azalmalar kaydedilmiştir (21).

Bir çalışmada KGS üzerine nepafenak, ketorolak, bromfenak ve diklofenak gibi lokal NSAID'lerin etkileri; gözyaşı üretim miktarı, korneal fluorescein boyanma ve göz kırpma sayısı testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Tedavinin 2. haftasında nepafenak uygulanan olgularda korneal fluorescein boyanma alanlarında belirgin azalmalar gözlenirken; ketorolak, diklofenak ve bromfenak uygulananlarda ise tedavinin üzerinden 4 hafta geçmesine rağmen boyama alanlarında kısmi bir azalmanın olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kullanılan tüm ajanların gözyaşı üretim miktarı üzerine önemli bir etkilerinin olmadığı bildirilmiştir (150). Lane ve ark. (2007), katarakt cerrahisi sonucu oluşan oküler yangının tedavisi ve önlenmesi üzerine % 0.1'lik nepafenak oftalmik solüsyonun etkisini inceledikleri çalışmalarında benzer şekilde lokal nepafenak kullanımının

yangısal sürecin kontrol altına alınmasında etkili ve güvenilir bir tedavi şekli olduğu sonucuna varmışlardır.

3.3.7.1.2. Yapay Gözyaşı Preparatları

KGS’de tedavi stratejisi hastalığın şiddetine göre belirlenir. Kornea ve konjunktivanın ciddi hasar görmediği hafif ve orta dereceli vakalarda prezervatif ve non-prezervatif yapay gözyaşı ile yağlayıcı preparatların kullanılmasının hastalığın kontrol altına alınmasında faydalı olduğu belirtilmektedir. KGS vakalarında yapay gözyaşı preparatlarının uygulanmasındaki amaç, oküler yüzeyin nemlenmesini ve yağlanmasını sağlamak (58, 197), gözyaşı komponentlerinin eksikliği gidermek, yangı öncesi maddelerin dilüsyonunu sağlamak, gözyaşı osmolaritesini azaltmak ve gözü osmotik strese karşı koruyarak hastalığın semptomlarını hafifletmektir (12, 24, 58, 152, 197). Son yıllarda yapılan çalışmalar, bu ajanların KGS vakalarında, parlak ışığa bakamama, dalga cephesi sapması, korneal topografik yüzey düzensizlikleri ile kontrast duyarlılığının geçici olarak düzeltilmesinde de önemli rol oynadığını göstermektedir (158, 182, 199, 204, 238).

İleri derecedeki 56 KGS’li olguda karboksimetilsellüloz ve hidroksipropilmetilsellüloz içeren yapay gözyaşı preparatının etkileri impresyon sitolojisi, fluorescein boyanma ve hastalığın semptomları gibi parametreler yönünden değerlendirilmiş ve tedavinin sonucunda karboksimetilsellülozde belirgin, hidroksipropilmetilsellülozde ise minimal düzeyde bir iyileşme sağlandığı rapor edilmiştir (108).

Otuz KGS’li olguda sodyum hyaluronat (SH) ve polivinil alkolün etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada SH ile tedavi edilen olgularda hastalığın

klirik belirtileri, fluorescein ve rose bengal boyanma alanları yönünden önemli iyileşmeler gözlenirken polivinil alkol ile tedavi edilen olgularda herhangi bir iyileşme sağlanamadığı görülmüştür (280). Bu bulgular Mc Donald ve ark. (2002)'nın, KGS hastalarında kullandıkları % 1.4'lük polivinil alkol ile % 0.1'lik SH ile elde ettikleri sonuçlarla örtüşmektedir.

SH, yangı önleyici aktivitesi olan doğal olarak meydana gelen viskoelastik bir maddedir (152). Aragona ve ark. (2002), SH içeren yapay gözyaşı preparatlarının KGS olgularında oküler yüzey hasarı üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla, olgulara 3 ay boyunca günde 4-8 damla SH uygulamışlar ve çalışmanın sonucunu bulbar impresyon sitolojisi, slit lamp muayenesi ve hastalığın klinik semptomları gibi parametreler yönünden değerlendirmişlerdir. Tedavi süresince ajanın iyi tolere edildiği, herhangi bir yan etkiye neden olmadığı ve tedavinin 3. ayında olgularda impresyon sitolojisi yönünden önemli iyileşmeler sağlandığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak SH içeren yapay gözyaşı preparatlarının oküler yüzey hasarını önlemede faydalı etkileri olduğu vurgulanmıştır (19).

Superficial keratitisli orta dereceli KGS olgularında SH ve karboksimetilsellülozun etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, SH'nın hastalığın klinik belirtileri üzerine iyileştirici etkilerinin daha hızlı başladığı ve iyi tolere edildiği bildirilmiştir. SH'nın karboksimetilsellüloze göre flow sitometrik analizlerde yangısal sitokin değerlerinde önemli azalmalara neden olduğu, keratitis ve buna bağlı oküler rahatsızlıkları daha hızlı bir şekilde iyileştirdiği rapor edilmiştir. Ayrıca karboksimetilsellüloz ile tedavi edilen olgularda görmede bulanıklık belirlenmiştir (52).

PGF'nin lipid eksikliğine bağılı olarak gelişen KGS'li 10 olgunun bir gözüne % 0.8'lik hipotonik SH, diğerk gözüne ise % 1'lik dekstran/ % 0.3'lük hidroksipropilmetilsellülozdan birer damla uygulanmasını takiben 15, 30, 45, 60 ve 90. dakikalarda ajanların hastalığın klinik belirtileri ve non-invazif gözyaşı kırılma zamanı testi üzerine etkileri değerkendirilmiştir. Her iki tedavi grubunda belirtilen parametreler yönünden iyileşmelerin olduğu, ancak SH ile tedavi edilen olgularda non-invaziv gözyaşı kırılma zamanının arttığı gözlemlenmiştir (219). Benzer çalışmalarda (18, 65, 123, 124, 175, 183, 280) SH içeren yapay gözyaşı preparatlarının KGS olguları üzerine faydalı etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

3.3.7.1.3. Kortikosteroidler

KGS'nin özellikle de ileri derecede olanlarının patogenezisinde yangısal süreç anahtar rol oynamaktadır. Bu sürecin durdurulması veya önlenmesi hastalığın iyileştirilmesi açısından önemlidir (148). Bu amaçla kortikosteroidler gibi güçlü anti-inflamatuar ajanlar sıklıkla kullanılmaktadır (214, 289). Kortikosteroidlerin yangıyı preinflamatuar şemokin ve sitokinlerin üretimini, MMP-9 ve prostoglandin gibi yangının lipid mediatörlerinin sentezini ve ICAM-1 salınımını azaltarak, lenfosit apoptozisini stimüle ederek (214) ve nüklear faktör gibi bazı preinflamatuar genlerin transkripsiyonel regülasyonunu engelleyerek (150) önlediğı bildirilmiştir.

Son dönemlerde insan ve hayvanlar üzerinde yapılan birçok çalışmada; metilprednisolon (169), deksametazon (190), FML (148, 150, 289) ve loteprednol etabonat (212) gibi kortikosteroid grubu anti-inflamatuar ajanların KGS vakalarında etkin sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (150, 289).

Orta ve ileri derecedeki 30 KGS'li klinik olguda % 0.1'lik FML uygulamasından 1 hafta sonra tüm hastalarda gözde yabancı cisim hissi, kuruluk, yanma duyusu, ağrı ve fotofobi gibi belirtilerde azalma, hastaların görme yeteneğinde ilerleme, tedaviden 1 ay sonra ise STT, BUT, fluorescein boyanma testi ve intraoküler basınçta düzelmeler olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, FML'nin yangıyı baskılaması sonucu oküler yüzeyin normal fonksiyonuna dönmesine bağlı olabileceği öne sürülmüştür (289).

FML tedavisi sonrası konjunktival ve korneal sinirlerin göz kırpma refleksiyle daha iyi uyarılabildiği (289), reflektörük gözyaşı miktarının normale döndüğü, gözyaşının kalitatif ve kantitatif olarak düzeldiği görülmüştür. Bu durum, gözdeki yangının azalması, oküler yüzeydeki lezyonların düzelmesi ve konjunktival goblet hücre sayısındaki artışa bağlanmıştır (26). Yang ve ark. (2006), FML uygulaması sonrası KGS'li hastaların görme yeteneğindeki belirgin düzelmenin korneal fluorescein boyanma alanlarının azalması, korneal parlaklığın ve PGF stabilitesinin ise artmasından ileri geldiğini iddia etmişlerdir.

Botulinum-B Toksini (BTX-B) kullanılarak oluşturulan KGS'nin fare modelinde farklı ajanların terapötik etkileri; gözyaşı üretimi, oküler yüzey değişiklikleri, göz kırpma sayısı gibi parametreler yönünden değerlendirilmiştir. Sağaltım sonucunda FML ile tedavi edilen olgularda 2 hafta içerisinde korneal fluorescein boyanma alanlarında azalma ve aköz gözyaşı üretiminde normal seviyelere dönüş saptanmıştır. Bu durum, ajanın geniş spektrumlu immunosupresif etkisine bağlanmıştır (148).

KGS vakalarının % 1'lik metilprednisolonla yapılan tedavisinde 2 hafta sonra hastalığın şiddetine göre hastalarda % 43-57 arasında değişen bir iyileşme

sağlandığı ve olgularda fluorescein boyanma alanlarının azaldığı rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda metilprednisolon tedavisinin, yapay gözyaşı preparatlarının yoğun bir şekilde kullanılmasına rağmen sonuç alınamayan ileri derecelerdeki KGS vakalarında etkili bir tedavi seçeneği olduğu vurgulanmıştır. Ancak uzun süreli sağaltımlarda intraoküler basınç artışı ve katarakt oluşumu gibi komplikasyonlar şekillenebileceğinden tedavi süresince olguların dikkatli bir şekilde izlenmesi gerektiği belirtilmiştir (169).

Bir retrospektif çalışmada ileri derecede KGS'li olguların bir kısmına punktal oklüzyon uygulamasından önce 2 hafta boyunca nonprezervatif metilprednisolon, diğerlerine ise sadece punktal oklüzyon uygulaması yapılarak sonuçları karşılaştırılmıştır. Birinci ve ikinci uygulamalardaki olguların sırasıyla % 80 ve 33'ünde oküler irritasyon semptomlarında iyileşme, % 80 ve 60'ında ise korneal fluorescein boyanma alanlarında azalmalar gözlenmiştir. Sonuç olarak steroid uygulamasının hastalarda korneal fluorescein boyanma ve klinik semptomların kontrol altına alınmasında etkili olduğu ve sağaltım süresince herhangi bir komplikasyona neden olmadığı kanısına varılmıştır (229).

Konkanavalin-A ve lokal deksametazon ile sağaltımı denenen KGS olgularında lenfositik infiltrasyon, multifokal nekrozis ve fibrozis ile karakterize olan yangısal süreçte belirgin bir artış; lakrimal bez ve korneada ise MMP-9 ile IL-1, IL-8 ve TGF gibi yangı öncesi sitokinlerde artış tespit edilmiştir. Ayrıca olguların gözyaşı fluorescein temizlenme ile gözyaşı miktarı ve BUT'larında azalma ve kornealarının kurumaya olan hassasiyetinde ise artış bulunmuştur. KGS olgularında lokal deksametazon uygulamasının, korneal hasarı önlediği, gözyaşı

fonksiyonunu restore ettiği; böylece deksametazon uygulamalarının profilaktik ve terapötik açıdan etkili bir tedavi yöntemi olduğu kanısına varılmıştır (190).

Farelerin lakrimal bezlerine BTX-B enjekte edilerek oluşturulan KGS'nin, 8 hafta boyunca günde 2'şer defa FML, CsA, %50-%50 CsA-FML ve yapay gözyaşı preparatları kullanılarak tedavi edildiği bir çalışmada, süreç fenol kırmızısı pamuk ipliği, korneal fluorescein boyanma ve göz kırpma sayısı testleri ile değerlendirilmiştir. CsA, FML ve bu ajanların kombine olarak uygulandığı deneklerde aköz gözyaşı üretiminin tedaviden sonra 2 hafta içerisinde, buna karşın yapay gözyaşı preparatları kullanılan deneklerde ise 4 hafta içinde normal seviyelere döndüğü görülmüştür. Korneal boyanma alanlarının FML ile tedavi edilen deneklerde 1 hafta, kombine ve CsA ile tedavi edilen deneklerde 2 hafta içinde kaybolduğu; yapay gözyaşı preparatları uygulananlarda ise tedaviden sonra 8 hafta geçmesine rağmen belirgin bir düzelmenin olmadığı belirtilmiştir. FML, CsA ve kombine tedavi uygulanan gruplarda korneal boyanma alanlarındaki düzelmenin gözyaşı üretim miktarındakinden daha belirgin olmasına rağmen her iki parametre arasında tedavinin 4. haftasına kadar pozitif bir korelasyon olduğu iddia edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada göz kırpma sayısı ve bütünlüğü açısından gruplar arasında önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir (148).

Avunduk ve ark. (2003), 32 KGS'li hastadan 1. gruba yapay gözyaşı, 2. gruba NSAID, 3. gruba ise kortikosteroid uygulamışlardır. Çalışma sonunda diğer gruplarla karşılaştırıldığında 3. gruptaki hastaların tedaviden sonraki 15 ve 30. günlerde klinik belirti şiddeti skorlaması, fluorescein ve rose bengal boyanma alanlarında ve yangısal sitokin seviyelerinde azalma, buna karşın goblet hücre sayısında ise belirgin bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu parametreler açısından

sadece 3. grup olgularda, tedavinin 30. günündeki değerler başlangıçtakilerle karşılaştırıldığında önemli bir fark kaydedilmiştir. Ayrıca Apo 2.7 hücre sayısı ile STT değerlerinde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır. Sonuç olarak, lokal kortikosteroid uygulamasının, ortadan şiddetliye kadar değişen KGS vakalarında faydalı etkileri olduğu ve bu etkilerinin konjunktival epitelyum hücrelerinin yangısal markırlarındaki azalmalardan kaynaklandığı vurgulanmıştır.

3.3.7.1.4. Retinoik Asit

Vitamin-A, normal epitelyal gelişim için esansiyel bir öneme sahiptir. Oküler rahatsızlıklar üzerine olan etkisi hakkında farklı görüşler bulunmaktadır (58). Retinoik asit türevi olan retinolün gözyaşında mevcut olması, oküler yüzey epitelyumuna başlıca lakrimal bez tarafından sağlandığını göstermektedir (147). KGS’de lakrimal bezlerdeki disfonksiyonun oküler yüzeyde retinol eksikliğine, ileri derecedeki eksikliğin ise olgularda keratinizasyona neden olabileceği öne sürülmüştür (58). KGS olgularında retinoik asit üzerine yapılmış birçok klinik ve deneysel çalışma bulunmaktadır (81, 132, 136, 188, 239, 243, 271, 272, 286).

Koruyucu özellikteki ajanlara ve yapay gözyaşı preparatlarına cevap vermeyen KGS olgularının tedavisinde retinol palmitat oftalmik solüsyonunun etkisi; keratinize, non-keratinize, goblet ve yangısal hücrelerin ölçümü gibi sitolojik parametreler yönünden değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda non-keratinize ve goblet hücre sayısında artış gözlenirken, keratinize hücre sayısında ise azalma saptanmıştır. Yangısal hücre sayısında tedavi öncesi yapılan ölçümler ile karşılaştırıldığında önemli bir değişikliğin olmadığı da rapor edilmiştir (136).

Tseng ve ark. (1985), lokal retinoik asitin KGS üzerine olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında, bu ajanın olguların tümünde rose bengal boyanma,

STT ve hastalığın klinik belirtileri üzerine faydalı etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Ancak başka bir çalışmada % 0.01'lik tretinoin tedavisinin impresyon sitolojisi ve hastalığın klinik belirtileri yönünden placebo uygulanan kontrol grubuna göre önemli farklılıklar göstermediği rapor edilmiştir (251).

KGS'li olgularda CsA+non-prezervatif yapay gözyaşı, retinyl palmitat+ non-prezervatif yapay gözyaşı ve sadece non-prezervatif yapay gözyaşı preparatları; fluorescein boyanma, STT, impresyon sitolojisi, BUT ve klinik semptom skorlamaları gibi parametreler kullanılarak değerlendirilmiştir. Belirtilen parametreler yönünden 1. ve 2. grup olgularda önemli iyileşmeler olmasına rağmen 3. gruptakilerde herhangi bir değişikliğin olmadığı tespit edilmiştir. Buradan vitamin-A ve CsA uygulamalarının KGS'nin tedavisinde faydalı etkiler gösterdiği vurgulanmıştır (132).

Tretinoinin % 0.01'lik oftalmik emülsiyonun KGS'li olguların yabancı cisme duyarlılık, fotofobi ve kuruluk gibi klinik belirtilerinde iyileşme meydana getirmediği görülmüştür. Buna karşın STT, BUT, fluorescein ve rose bengal boyanma test sonuçlarına göre, bu ajanın korneal ve konjunktival epitelyumu koruduğu gözlenmiştir (243).

Deneysel KG modeli oluşturulan tavşanlarda % 0.1'lik bromheksin, % 50'lik Chinise medicinal herb ve % 0.01'lik retinoik asidin etkileri karşılaştırıldığında bromheksin ve Chinise medicinal herb kullanılan olguların korneal epitelyumunda yapısal herhangi bir değişiklik gözlenmezken, retinoik asid ile tedavi edilenlerde mikrovilik ve mikropilik düzelmelerin olduğu, kelleşmiş olan korneal epitelyumun yeni epitelyal hücrelerle kaplandığı, dejenere olmuş mitokondrinin ve bazal membranın iyileştiği ve korneal epitelyal hücre

sayısında önemli artışlar olduğu tespit edilmiştir (286). Retinoik asit analogu olan CBS-211A'nın etkisinin araştırıldığı bir diğer KG modelinde, bu ajanın konjunktival goblet hücre dansitesini önemli ölçüde arttırdığı, korneo-konjunktival yüzeydeki değişimi pozitif yönde ilerlettiği ve mukosekratorik üretim kalitesini normal seviyelere getirdiği görülmüştür (81).

Tretioninin, müsin yetersizliğine bağlı KGS olgularında faydalı sonuçlar vermesine rağmen, aköz yetersizliği olanlarda iyileştirici etkiler göstermediği bildirilmiştir (103, 239).

3.3.7.1.5.Siklosporin-A (CsA)

Daha öncede belirtildiği gibi KGS'nin gelişimde oküler yüzeyde yangı ve apoptozis önemli rol oynamaktadır (183). Son yıllarda, yangısal mediatörleri spesifik olarak hedefleyen tedavi şekillerinde artan bir trend görülmektedir (148, 183). KGS'nin patogenezisinde yangısal sürecin varlığı, hastalığın tedavisinde CsA gibi immunomodülatör ve antiinflamatuvar etkili ajanların kullanımını doğurmaktadır (26). CsA, yangısal sitokin üretimi ve T hücre aktivasyonu ile mast hücre, eozonofil ve antijen ihtiva eden hücrelerin infiltrasyonunu önleyen (97, 267), apoptozisi inhibe eden immun-apoptotik markırları azaltan (97, 214), aköz gözyaşı üretimi ve konjunktival goblet hücre dansitesini ise arttıran (231, 265) bir ajandır.

KGS vakalarında % 0.05'lik CsA'nın etkisinin araştırıldığı bir klinik çalışmada; hafif dereceli olguların % 74.1'inde, orta dereceli olguların % 72.4'ünde, ileri derecedeki olguların % 66.4'ünde ve toplam olguların ise % 72.1'inde iyileşme gözlenmiştir (206).

Orta dereceden şiddetliye kadar değişen 32 KGS'li olguda lokal CsA'nın etkilerinin araştırılmasında, tedavi sonunda konjunktival lenfositik ile lenfosit aktivasyon markırlarının sayısında önemli azalmaların olduğu bildirilmiştir (142). KGS'li vakalardan alınan konjunktival biyopsi örneklerinin periyodik asit-Schiff ile boyanarak değerlendirmesinde lokal CsA'nın konjunktival goblet hücre sayısını arttırdığı, epitelyal hasarı azalttığı ve epitelyumun proliferatif aktivitesi üzerine olumlu etkisinin olduğu vurgulanmıştır (141). Benzer bir sonuç, orta dereceden şiddetliye kadar değişen KGS hastalarının konjunktival epitelyumlarında IL-6 seviyeleri üzerine CsA göz damlasının etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada da saptanmıştır (276).

Altı köpekte oluşturulan deneysel KG modelinde, CsA'nın etkisi oküler akıntı, gelişen konjunktivitisin dereceleri gibi klinik; konjunktival epitellerde intrasellüler müsin depolarının ölçümü gibi morfolojik parametreler yönünden değerlendirilmiştir. CsA ile tedavi edilen olguların konjunktival müsin değerlerinin taşıt madde uygulanan bireylere ve cerrahi müdahale öncesi yapılanlara göre daha yüksek, oküler akıntı ve konjunktivitis derecelerinde ise önemli azalmalar olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda müsin glikoproteinlerinin sekrasyonu ve sentezi arasındaki denge ile müsin seviyelerindeki düzelmelerin CsA'nın KGS vakalarındaki faydalı etkisinde önemli rol oynadığı ifade edilmiştir (184).

BTX-B ile deneysel olarak oluşturulan KGS'nin fare modelinde CsA ile tedavi edilen olguların gözyaşı üretiminin 2 hafta içerisinde normal seviyelere döndüğü ve korneal boyanma alanlarında önemli azalmalar gözleendiği rapor

edilmiştir (148). CsA'nın korneal boyanma alanlarında azalmalara neden olduğu Park ve ark. (2007) tarafından da kaydedilmiştir.

Bir çalışmada, CsA ve kondrotin sülfat + SH'nın KGS üzerine olan etkilerinin karşılaştırılmasında CsA ile tedavi edilen olguların BUT'larında önemli artışlar tespit edilmesine rağmen, gözyaşı miktarlarında önemli bir değişiklik olmadığı kaydedilmiştir. Her iki grubun konjunktival impresyon sitolojisinde düzelmeler gözlenirken, özellikle CsA ile tedavi edilen grupta goblet hücre dansitesi yönünden önemli artışlar kaydedilmiştir. Çalışma sonunda CsA'nın goblet hücre dansitesi ve PGF stabilitesini arttırmada daha etkili olduğu ifade edilmiştir (183). CsA'nın goblet hücre dansitesi üzerine olan pozitif etkisi daha sonra yapılan bir başka çalışmada da vurgulanmıştır (208).

Stevenson ve ark (2000), CsA'nın farklı dozları arasında KGS'li olgularda hastalığın klinik belirtileri üzerine iyileştirici etkileri, tolere edilebilirlikleri ve güvenilirlikleri açısından farkın olmadığını, dolayısıyla düşük dozların kullanılmasının daha uygun olabileceğini belirtmişlerdir. CsA'nın düşük dozlarının KGS üzerine olan olumlu etkisi yapılan bir diğer klinik çalışmada da doğrulanmıştır (231).

3.3.7.1.6. Doksisisiklin

Doksisisiklin; prostat kanser hücrelerinde (159, 160), epidermal keratinositlerde (277), endotelyal hücrelerde (112) ve korneal epitelyal hücrelerde (153) MMP-9 aktivitesini inhibe eden uzun etkili semisentetik yapıda olan tetrasiklin grubu bir antibiyotiktir (112, 153, 159, 160, 277). KGS'de korneal yüzey düzensizliklerinin gelişimini önler ve apikal korneal bariyer fonksiyonunu korur (74). Yangısal sitokinlerden olan IL-1 β 'nın üretimini inhibe eder (249).

Steril korneal ülserasyon, nüksedici epitelyal erozyon ve rosacea gibi MMP kökenli oküler yüzey hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (4, 82, 242).

Farelerde deneysel olarak oluşturulan bir KG modelinde; yüksek (% 0.025) ve düşük (% 0.0025) konsantrasyonlardaki lokal doksisiklinin etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda olgularda ortalama korneal epitelyal hücre kaybı ve her mm² ye düşen apikal hücre dansitesinin arttığı, apikal korneal hücre sahasının ise azaldığı tespit edilmiştir. Apikal korneal epitelyal kaybına MMP'nin aracılık ettiği vurgulanmıştır. Yüksek dozla tedavi edilen olgularda düşüğüne göre apikal hücre dansitesinde ve apikal korneal epitelyal hücre sahasında önemli iyileşmelerin olduğu bulunmuştur. Ayrıca, ortalama epitelyal hücre kaybının her iki tedavi grubunda azaldığı ancak bu azalmanın yüksek dozdakininde daha fazla olduğu rapor edilmiştir (40).

KGS üzerine yapılan bir çalışmada, karboksimetilsellüloz sodyum, FML, nepafenak, ketorolak, bromfenak, diklofenak ve doksisiklinin farklı göz parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda, doksisiklin ile tedavi edilen gruplarda aköz gözyaşı üretimi yönünden önemli bir düzelmenin olmadığı ancak gerek dakikadaki gözkırpma sayısı gerekse korneal fluorescein boyanma alanları gibi parametreler yönünden önemli iyileşmelerin olduğu tespit edilmiştir. Doksisiklinin faydalı etkisinin korneal epitelyumda hiperosmolariteden kaynaklanan MMP üretimini baskılamasına bağlı olabileceği öne sürülmüştür (150).

3.3.7.1.7. Olopatadine

Olopatadine, antihistaminik ve mast hücre stabilizatörüdür (68, 149, 165, 281). Bu ajan; yanma, batma, kızarıklık ve kaşıntı gibi oküler belirtilerin

önlenmesi amacıyla başta alerjik konjunktivitis olmak üzere yangı ile seyreden göz hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (68). Bazı araştırmacılar, bu ajanın alerjik konjunktivitis ile ortak klinik belirtilere sahip olan KGS'nin tedavisinde kullanılmasında faydalı sonuçlar alınabileceğini belirtirken (68, 165); bazıları ise olumlu bir etkisinin olmadığını öne sürmüşlerdir (149, 281). Villareal ve ark. (2006), olopatadinenin farelerde gözyaşı üretim miktarını azalttığını rapor etmişlerdir. Lekhanont ve ark (2007) ise deneysel olarak oluşturdukları bir KG modeli üzerine bu ajanın faydalı etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Bu ajanın hafif ve orta dereceli olgularda batma, kaşıntı ve yanma gibi klinik belirtiler üzerine faydalı etkiler gösterdiği bildirilen çalışmalar da mevcuttur (68, 165).

3.3.7.2. Operatif tedavi

Hayvanlarda KGS'nin operatif tedavisinde; parotis kanal transpozisyonu, kalıcı kısmi tarsorafı ve nazolakrimal punkta oklüzyonu gibi tekniklerden yararlanılmaktadır (48,58). Parotis bezi transpozisyonunun, salivasyonu sağlayıcı; kalıcı kısmi tarsorafinin, gözkırpmayı azaltıcı; nazolakrimal punkta oklüzyonunun ise gözyaşının muhafazasını sağlayıcı etkileri vardır. En fazla tercih edilen tekniğin ise son çare olarak uygulanan parotis kanal transpozisyonu olduğu belirtilmektedir (101). Bu tekniklerle ilgili detaylı bilgiler klasik kitaplarda anlatılmıştır (48, 100, 101).

3.3.8. Hayvan Modelleri

KGS'nin hayvan modelleri, hastalığın patogenezisinde rol oynayan birçok faktörün ve farklı sağaltım seçeneklerinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (8, 57, 83, 166, 184, 209, 256, 262). Bu amaçla geliştirilmiş birçok model bulunmaktadır.

3.3.8.1. Lakrimal sekresyonun mekaniksel olarak inhibe edildiği modeller

Bu model, lakrimal bezlerin operatif yolla alınması prensibine dayanmaktadır (32). Köpek, kedi, tavşan, fare ve maymunlarda ana lakrimal bezin operatif yolla alınmasının bazal gözyaşı sekresyonunu azalttığı fakat oküler belirtilerde önemli değişikliklere yol açmadığı bildirilmiştir (32). Bu durum, yardımcı lakrimal bezlerin gözyaşı üretimi üzerine olan kompenzasyon etkisine bağlanmıştır (166). Buradan ana lakrimal bezin alınmasının KG modeli oluşturmak için yeterli olmadığı, diğer lakrimal bezlerin sekresyonunun da inhibe edilmesi gerektiği anlaşılmaktadır (166). Tavşanlarda lakrimal bezin akıtıcı kanalının kapatılmasına ilaveten niktisans ve harder bezlerinin alınmasıyla oluşturulan bir KG modelinde; 1. gün gözyaşı osmolaritesinde artış, 8. hafta sonunda ise konjunktival goblet hücre sayısında önemli azalmaların olduğu rapor edilmiştir (32). Köpeklerde niktisans ve ana lakrimal bezlerin birlikte alındığı bir model çalışmada STT değerlerinin 2. haftada 5 mm/dak'ya kadar düştüğü tespit edilmiştir (184). Benzer sonuçlar kedilerin üçüncü göz kapağı ve lakrimal bezinin birlikte alındığı çalışmada da saptanmıştır (176).

3.3.8.2. Lakrimal sekresyonun hormonal olarak inhibe edildiği modeller

Hormonların, ekzokrin dokular üzerinde direkt veya indirekt bir etkisinin olduğu bilinmektedir (32). Androjenlerin, meibomian bezler tarafından üretilen lipid tabakanın metabolizmasını ve lakrimal bezlerin fonksiyonunu düzenlediği öne sürülmektedir (140). Hormonal faktörlerin meibomian ve lakrimal bezlerin fonksiyonları ve yapıları üzerine olan etkileri; rat, tavşan, fare ve hamsterlerde

orşiektomi, ovariektomi ve hipofizektomi operasyonları yapılarak araştırılmıştır (32, 256). Ratlarda orşiektomi operasyonu sonunda oluşan androjen eksikliğinin, gözyaşı üretimini arttırdığı; bu deneklerde yapılan testosteron tedavisinin ise artan gözyaşı miktarını düşürdüğü rapor edilmiştir (256). Dişi ratlarda hipofizektomi operasyonu ile oluşturulan KG modelinin ise lakrimal bezde atrofi oluşturarak gözyaşı üretimini azalttığı kaydedilmiştir (32).

3.3.8.3. Lakrimal sekresyonun sinirsel olarak inhibe edildiği modeller

Gözyaşı üretiminin fizyolojisinde fonksiyonel üniteyi oluşturan yapılar (kornea, konjunktiva, yardımcı ve ana lakrimal ile meibomian bezleri) arasındaki iletişimi nöral refleks loplar sağlamaktadır (225). Bu loplar bloke edilerek oluşturulan birçok KG modeli mevcuttur (8, 57, 269). Atropin gibi antikolinerjik ilaç uygulamalarının lakrimal bezlerdeki kolinerjik reseptörleri bloke ederek gözyaşı üretimini azalttığı belirtilmektedir (8, 57). Son yapılan çalışmalarda, kolinerjik reseptörlerin farmakolojik olarak bloke edilmesinde skopolamin tercih edilmektedir. Bu ajanın KG modellerinde kuruluk faktörleriyle birlikte kombine olarak da kullanıldığı görülmektedir (66, 74, 78).

3.3.8.4. Kuruma oluşturularak yapılan modeller

PGF devamlı olarak; nem, sıcaklık ve hava akımı gibi kurumaya yol açabilen çevresel faktörlere maruz kalmaktadır. Meibomian bezlerinden salgılanan lipid tabakanın, göz kırpma esnasında aköz tabaka üzerine yayılarak aşırı kurummasını engellediği bildirilmiştir (32). Tavşanlarda kısa süreli hiperevaporasyon modelinde, göz kapaklarına dikiş uygulanarak deneklerin gözkırpması engellenmiş, bu uygulamadan 2 saat sonra metilen mavisi ile boyamada korneal yüzeyde noktasal kurulukların gözlemlendiği tespit edilmiştir (96).

Tavşanlarda meibomian bez ağzının koterizasyonla kapatıldığı modelde ise konjunktival goblet hücre dansitesinde ve korneal epitelyal glikojen seviyelerinde önemli azalmaların olduğu, gözyaşı osmolaritesinin ise arttığı rapor edilmiştir (103). Ayrıca bu çalışmada; koterizasyondan 20 hafta sonra bulbar konjunktivada yangısal hücrelerin olduğu belirlenmiştir. Bu gibi çalışmaların, göz kuruluğunu esasen lipid tabakayı önleyerek oluşturdıkları anlaşılmaktadır. Ancak bu sonuca daha kolay ve noninvaziv şekilde ulaştırabilecek düşük nem, sıcaklık ve hava akımı gibi evaporatif faktörler göz ardı edilmiştir. Son yıllarda geliştirilen hayvan modellerinde bu gibi evaporatif stres faktörlerinin ön plana çıktığı görülmektedir (32). Barabino ve ark (2005), sıcaklığının 21-23 °C, içerisindeki hava akımının 15 L/dak, RN'sinin ise $\% 18,5 \pm 5,1$ olduğu bir kuru göz kabinini (KGK) model olarak kullanmışlardır. Deneklerin kabin içine bırakılmalarını takiben 3, 7, 14 ve 28. günlerde gözyaşı miktarlarının önemli ölçüde azaldığı ve korneal fluorescein boyanma alanlarının arttığı bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar, goblet hücre dansitesinin ise 3. günde süperior konjunktivada; 3, 7 ve 14. günlerde ise inferior konjunktivada önemli oranda düştüğünü rapor etmişlerdir. RN'si $\% 15,3 \pm 3$, hava akımı $2,1 \pm 0,2$ m/s, sıcaklığı 21-23 °C olan KGK'nın kullanıldığı başka bir model çalışmasında ise bu koşullara maruz kalan deneklerin gözyaşı miktarlarının azaldığı, korneal fluorescein boyanma alanlarının ve apikal korneal epitelyumdaki desquamasyonun ise arttığı tespit edilmiştir (61).

3.3.8.5. Lakrimal sekresyonun inhibisyonu ve kurumaya bağlı modeller

Lakrimal bezlerde kolinerjik reseptörleri bloke ederek aköz gözyaşı üretimini azaltan skopolamin hidrobromür gibi antikolinerjik ilaçlar ile oküler

yüzeyde çevresel stres oluşturan faktörlerin kombine olarak kullanıldığı birçok model çalışması mevcuttur (74, 78, 83, 209, 223, 292, 293). Dursun ve ark. (2002) her iki faktörü tek veya kombine olarak kullandıkları fare modelinde, kombine kullanılan grubun gözyaşı miktarı, gözyaşı temizlenmesi, korneal fluorescein permabilitesi ve konjunktival epitelyal morfolojisinin önemli ölçüde azaldığını, konjunktival epitelyal hücre sayısının ise arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonucun insanlardaki KGS’de görülen belirtilerle uyumluluk gösterdiği; ancak bu modelde kullanılan hava akımı faktörünün kuruluk sağlamada tek başına yeterli olmayacağı öne sürülmüştür (32). Yeh ve ark. (2003), benzer bir modelde deneklerin 4. günde aköz gözyaşı üretim miktarları ile gözyaşı temizlenmesinin önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca deneklerin konjunktival goblet hücre sayılarında azalma ve korneal fluorescein permabilitelerinde artış olmuştur.

3.3.8.6. Botulinum Toksini kullanılarak oluşturulan modeller

Botulinum toksinleri (BTXs), Clostridium botulinum tarafından üretilmekte olup; A ve B olmak üzere iki tipi vardır. Etkisini, kolinerjik ve nöromuskuler otonomik sinir kavşaklarında asetilkolin salınımını inhibe ederek gösterir. Toksinin farenin lakrimal bezine enjekte edilmesinin KGS oluşturmada pratik bir hayvan modeli olabileceği belirtilmiştir (148). Bu amaçla kullanılan BTX-B, daha geniş bir alana diffüz etmesi ve etkisinin daha hızlı başlaması nedeniyle A’ya tercih edilmektedir (150). BTX-B kullanılarak oluşturulan KG modelinde; toksin enjeksiyonundan 3 gün sonra farelerin korneal fluorescein boyanma alanlarının arttığı, gözyaşı üretim miktarlarının ise 1 ay boyunca azalmaya devam ettiği tespit edilmiştir (262). Bu toksin ile oluşturulan diğer

hayvan modellerinde de; benzer şekilde herhangi bir oküler ve sistemik yan etki oluşmaksızın deneklerin gözyaşı miktarlarının azaldığı ve korneal fluorescein boyanma alanlarının arttığı kaydedilmiştir (148, 150, 203, 297). Bu çalışmalardan ikisinde (203, 297) ayrıca deneklerin oküler yüzeylerinde birçok yangısal sitokinlerin seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Materyal

Materyal olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden temin edilen 112 adet 8 haftalık BALB-C ırkı dişi fare kullanılmıştır. Çalışmaya, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri ve Etik Kurulunun resmi onayı alındıktan başlanmıştır. Denekler üzerinde yapılan hertürlü uygulamada etik kurallar gözetilmiş, yem ve sular *Ad libitum* olarak verilmiştir.

4.2. Deneysel Prosedür

Olgular rastgele ve eşit olarak kontrol ve deney olmak üzere iki gruba ($56 \times 2 = 112$) ve her grup da kendi içinde 7'şer hayvanlık 8 alt gruba ($8 \times 7 = 56$) ayrıldı. Deney grubu olgular 6 haftalık çalışma süresince, sıcaklığının $21-25^{\circ}\text{C}$, RN'sinin % 30'dan düşük, hava debisinin 15 L/dak ve hava akım hızının 2.3 ± 0.5 m/s olduğu aşağıda özellikleri ve çalışma prensibi detaylı olarak sunulmuş kuru göz kabine (KGK) yerleştirilmiştir. Kontrol grubu olgular ise çalışma boyunca RN'si % 50-80, sıcaklığı $21-23^{\circ}\text{C}$ olan odada normal kafeslere konulmuştur.

4.2.1. KGK'nın Özellikleri

KGK'nın yapımında 6 mm kalınlığında cam malzeme kullanılmıştır. Amaç, denekleri kabin dışından rahat bir şekilde monitörize etmektir (Şekil 5). Kabinin boyutları $93 \times 40 \times 40$ cm olarak belirlenmiştir. Bu kabin; alt kısmı 17, üst kısmı ise 23 cm yüksekliğinde olacak şekilde 2'ye ayrılmıştır. Daha sonra 17 cm yüksekliğindeki alt kısım, 3 eşit bölmeye ayrılmıştır. Üst kısım sensör ünitesi (SÜ), 3 eşit bölmenin oluşturduğu alt kısım ise deney hayvan kabini (DHK) olarak isimlendirilmiştir. DHK'nin her bir bölmesine; tabandan 3.5 ve 4 cm yükseklikte 2'şer olmak üzere toplam 4 adet, 5 mm çapında hava deliği açılmıştır.

Bu delikler sayesinde DHK'lere eşit miktarda ve debide hava akımı verilmiştir. Hava deliklerinin 2 farklı yükseklikte açılmasındaki amaç, farklı cüsselerdeki deneklerin gözlerine olabildiğince eşit oranda hava akımının temas etmesini sağlamaktır.

DHK bölmelerinin her birinin tavanına 10x10 cm boyutlarında pencereler açılmış; buralara paslanmaz kromdan yapılmış yemlik ve suluklar yerleştirilmiştir. DHK bölmelerinden SÜ'ye, SÜ'den de kabin dışına havanın çıkışını sağlamak için hem DHK'lerin tavanına hemde SÜ'nün duvarlarına eşit sayıda 5 mm çapında hava delikleri açılmıştır.

KGK'nın üstüne, kabin içindeki nem ve sıcaklık parametrelerini ölçmek, istenilen sınırlarda tutmak ve bunların sürekli takibini sağlamak amacıyla mini kontrol paneli (SHT-11, DELab İstanbul, Türkiye) yerleştirilmiştir (Şekil 5). Panele bağlanan 2 adet otomatik açma kapama valf sistemi vasıtasıyla KGK'daki RN'nin istenilen sınırlar içinde tutulması amaçlanmaktaydı. Ancak yapılan pilot çalışmada KGK'daki RN oranının istenilen sınırların dışına çıkmadığı görülünce valfin kontrol paneli üzerinde oluşturduğu elektrik yükü de dikkate alınarak sistem devre dışı bırakılmıştır. Böylece kontrol paneli sadece KGK'daki nem ve sıcaklığın monitörizasyonunda kullanılmıştır.

Sistem günde yaklaşık olarak 1 saat süreyle devre dışı bırakılmıştır. Bu süre içinde sistemin dinlenmesi, yem ve suların değiştirilmesi, kabinlerin temizlenmesi, ajan uygulamaları ve deneklerin rutin klinik muayeneleri yapılmıştır.

KGK'nın içindeki nemi istenilen seviyelerde tutmaya yardımcı olmak için her bir DHK'ye 4'er adet paslanmaz kromdan yapılmış desikatör hazineleri

yerleştirilmiştir (Şekil 5). Yan bakıda dik üçgen şeklinde görülen bu hazinelerin tepe kısımlarına desikatör (silika jel) doldurmak amacıyla birer adet 10 mm çapında delikler açılmıştır. Bu hazinelerin ön yüzlerine, tabandan yaklaşık 3 cm yükseklikte ve hazine boyunca 0.5 cm aralıklarla 2.5 mm çapında eşit sayıda delikler açılmıştır. Bunlara paralel olacak şekilde eşit sayıda ve çapta ikinci bir delik serisi ise hazinenin üst kenarına yakın kısmında açılmıştır. Böylece hazine içinde havanın dolaşımı ile nemin desikatörler tarafından maksimum düzeyde emilmesi sağlanmıştır. Hazinelerin alt delik sırasının yaklaşık olarak 1,5 cm altına mobil cam plakalarının (Şekil 5) konulmasına olanak sağlayan iki adet ayak kaynak edilmiştir.

Dışkıdaki rutubeti ve idrarı absorbe ederek kabin içi nem oranını etkilediğinden dolayı DHK’lerde talaş altlık kullanılmamıştır. Yapılan pilot çalışmada kabin içindeki hava türbülansından etkilenen deneklerin bu altlıklar içinde gizlendikleri, bundan dolayı gözlerinin hava akımından yeteri derecede etkilenmediği anlaşılmıştır. Ayrıca, DHK’lere verilen hava akımının altlıklarda bulunan mikropartikülleri havaya kaldırarak deneklerin solunum sistemine ve gözlerine olumsuz etki yapabileceği öngörülmüştür. Bu altlıkların hava akımı verilmemiş kontrol deneklerinin gözlerini dahi etkilediği gözlenmiş, bunu önlemek için altlıkların sık aralıklarla değiştirilmeleri ve azaltılmaları yoluna gidilmiştir. Deneklerdeki altlık sorunu mobil cam plakalar kullanılarak giderilmiştir. Bu plakalar sayesinde deneklerin altları sık aralıklarla ve az zaman kaybıyla değiştirildiği için; kabin kapaklarının açılmasından ileri gelen ani nem değişikliği ve altlıkların değiştirilmesi sırasında sistemin uzun süre devre dışı kalması önlenmiştir.

Desikatör hazinelerine konulan silika jellerin belli periyodlarla değiştirilmesi gerekmektedir. Kabindeki desikatörlerin değişim süreleri nem sensöründeki dalgalanmalar dikkate alınarak yapılmıştır. Böylece kabin içi nemin istenilen düzeyde kalması sağlanmıştır.

Her DHK bölmесinin tavanına birbirine çapraz pozisyonda 2 adet fan (FN121, Silverstone, China) monte edilmiştir. Bu fanlar sayesinde bölmelerde sürekli ve düzenli dağılım gösteren ekstra bir hava türbülansı oluşturulmuştur. Fanların çalışma prosedürleri, KGK'nin üstüne konulan bir otomatik anahtar paneli tarafından kontrol edilmiştir (Şekil 5).

KGK'nın bulunduğu ortamın aydınlatması; 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde otomatik olarak kontrol edilmiştir.

DHK bölmelerine kurutulmuş hava, üzerine monte edilmiş 3 adet su separatörü ve bir adet tüpü olan hava kompresörü (HK) (C100, NMI, A.B.D) ile verilmiştir. Bu kompresör, ortamdan aldığı havayı iki adet su separatöründen geçirip üzerine özel olarak monte edilen tüpte depolamaktaydı. Depolanan hava, tüpün önüne konulan bir bar skalası aracılığıyla istenilen basınçta tahliye edilmekteydi. Tahliye edilen bu hava 3. bir su separatöründen ve debimetreden (Y-LZM-6T, Aktek Endüstriyel Ekipman ve Enstrümantasyon Ltd.Sti. İstanbul, Türkiye) geçtikten sonra 12 çıkışlı dağıtıcıya buradan da DHK bölmelerine eşit debide (15L/dak) gönderilmiştir. Dağıtıcıya kadar tüm bağlantılarda düşük sürtünme ve sızdırmazlık özelliklerine sahip pnömatik, dağıtıcı ile DHK'ler arasındaki havanın taşınmasında ise inhalasyon hortumları kullanılmıştır.



Şekil 5. KG modelinin görünümü

- | | |
|--|----------------------------------|
| 1. KGK (Kuru göz kabini) | 11. Nem-Sıcaklık ölçer |
| 2.a.b.c. DHK (Deney hayvan kabinleri) | 12. Mobil cam plakalar |
| 3. Denekler | 13. Suluk |
| 4. HK (Hava kompresörü) | 14. Yemlik |
| 5. HK tüpü | 15. Hava giriş delikleri |
| 6.a.b.c. Su separatörleri | 16. Pnömatik hortum |
| 7. Debimetre | 17. İnhalasyon hortumları |
| 8. Desikatör hazineleri | 18. Fan anahtar paneli |
| 9. FHT kontrol paneli | 19. HK basınç paneli |
| 10. Fan | 20. HK basınç göstergesi |

DHK bölmelerine (deney) veya kafeslerine (kontrol) konulmadan önce tüm deneklerin kuyruklarına hangi gruba ait olduklarını gösteren işaretlemeler asetatlı kalemler kullanılarak yapılmış ve belli periyodlarla yenilenmiştir (Şekil 6). Aynı bölmeye veya kafese yerleştirilen farklı alt gruplar için bu kalemlerin değişik renkleri kullanılmıştır. Ayrıca, işaretlemeleri yapılan deneklerin konuldukları DHK bölmelerinin veya kafeslerinin üzerine ilgili bölme ya da kafeste hangi alt grupların olduğunu gösteren etiketlemeler de yapılmıştır.

Deney ve kontrol grubundaki deneklerin sırasıyla DHK bölmeleri/kafeslere dağılımları Tablo 1’de, bu gruplara uygulanan ajanlar ile bunların oran, doz ve uygulanma sıklıkları ise Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Kontrol ve deney grubundaki deneklerin sırasıyla DHK bölmeleri/kafeslere dağılımları

No		Gruplar	Grup Sayıları (n)	Denek Sayısı	
Bölme (Deney)	Kafes (Kontrol)			Deney	Kontrol
1	1	Serum Fizyolojik	7	19	19
		Sodyum Hyaluronat	7		
		Diklofenak Sodyum	5		
2	2	Diklofenak Sodyum	2	19	19
		Retinoik Asit	7		
		Olopatadine	7		
		Fluorometanol	3		
3	3	Fluorometanol	4	18	18
		Siklosporin-A	7		
		Doksisiklin Hyclate	7		
Toplam Denek Sayısı			56	56	56

Tablo 2. Kontrol (Kont) ve deney (Den) grubu deneklerde kullanılan ajanlarla ilgili detaylar ile kullanım oran, doz ve uygulanma sıklıkları

Alt gruplar		Etken madde	Kısaltma	Ticari Adı	Firma	%	Doz(μ l) 2/Gün
KONT-SF	DEN-SF	Serum Fizyolojik	SF	Fizyol	Vilsan	0.009	5
KONT-SH	DEN-SH	Sodyum Hyaluronat	SH	Artelac Advanced	Abdi İbrahim	0.3	5
KONT-DİK	DEN-DİK	Diklofenak Sodyum	DİK	İnflased	Bilim	0.1	5
KONT-PAT	DEN-PAT	Olopatadine	PAT	Patanol	Alcon	0.1	5
KONT-RET	DEN-RET	Retinoik asit	RET	-----	Sigma&Aldrich	0.01	5
KONT-FML	DEN-FML	Fluorometanol	FML	FML	Abdi İbrahim	1	5
KONT-CsA	DEN-CsA	Siklosporin-A	CsA	Restasis	Abdi İbrahim	0.05	5
KONT-DOK	DEN-DOK	Doksisiklin Hyclate	DOK	-----	Multigen	0.025	5

Çalışmanın 0-2. haftaları arasında deney alt grupları KGK’da sadece evaporatif strese maruz bırakılırken; kontrol alt grupları ise oda şartlarında kendi kafeslerinde herhangi bir uygulamaya tabi tutulmamıştır. Tüm alt grup (kontrol ve deney) deneklerin sağ gözlerine 2-6. haftalar arasında Tablo 3’de oran, doz ve veriliş sıklığı belirtilen ajanlar lokal olarak uygulanmıştır. Bu süre boyunca KGK’daki denekler evaporatif strese maruz bırakılmaya devam ettirilmiştir.

Kontrol ve deney grupları, çalışmanın 0, 2, 4 ve 6. haftalarında göz kırpma sayısı, gözyaşı üretim miktarı, korneal fluorescein boyanma, gözyaşı fluorescein temizlenme, BUT ile impresyon sitolojisi gibi parametreler; ayrıca 6. hafta sonunda korneal fluorescein permabilite testi yönünden değerlendirilmiştir. Bunun haricinde çalışma boyunca deneklerde görülmesi muhtemel fotofobi, akıntı, kızarıklık, konjunktivitis gibi oküler değişiklikler kaydedilmiştir. Çalışma

sonunda, tüm denekler karbondioksit ile ötenazi edildikten sonra bunların korneal fluorescein permabilite testinde kullanılmak üzere sağ bulbus okulileri alınmıştır.

4.2.2. Göz Kırpma Sayısının Ölçümü

Çalışmanın 0, 2, 4 ve 6. haftalarında, iki araştırmacı tarafından eş zamanlı olarak deneklerin sağ gözündeki kırpma sayıları 1 dakika süreyle not edilmiş, belirlenen sayıların ortalaması kaydedilmiştir. Bu test, tüm deneklerde belirtilen ölçüm zamanlarında birer defa ve aynı zaman diliminde yapılmıştır.

4.2.3. Fenol Kırmızısı Pamuk İpliği Testi

Gözyaşı üretim miktarının ölçümünde fenol kırmızısı pamuk ipliği (Zone Quick; Menicon, Nagoya, Japonya) kullanılmıştır (Şekil 7). Bu teste başlamadan önce deneklerin sağ gözünün konjunktival fornikslerinin lateral kantuslarındaki gözyaşı fazlası, absorbent paper point (Absorbent Paper Points, Sure Dent Corporation, Kore) kullanılarak alınmıştır (Şekil 8). Daha sonra test iplikleri, bir pens yardımıyla deneklerin sağ gözünün konjunktival forniksünün lateral kantusuna yerleştirilmiş ve 1 dakika boyunca burada bekletilmiştir (Şekil 9). Bu süre sonunda iplik üzerindeki ıslaklık miktarı, iplik paketinin üzerindeki milimetrik skala kullanılarak slit-lamp biyomikroskop (XL-1, Shin-Nippon, Japonya) altında okunmuştur (Şekil 10). Bu ölçüm, her iki grup olgularda çalışmanın 0, 2, 4 ve 6. haftalarında birer defa olmak üzere aynı zaman diliminde yapılmıştır.

4.2.4. Korneal Fluorescein Boyanma Testi

Bu testte deneklerin sağ gözlerine bir mikro enjektör (901 N, Hamilton, A.B.D) ile % 1'lik sodyum fluorescein (Bereket Kimya Lab. İstanbul, Türkiye) boyasından 1µl damlatılmıştır (Şekil 11, 12). Uygulamadan 10 dakika sonra

boyanmış olan kornealar slit-lamp biyomikroskop altında kobalt mavisi filtresi kullanılarak muayene edilmiştir. Lezyon saptanan deneklerin korneaları operasyon mikroskobu (OPMI 1-FR, Zeiss, Germany) ile fotoğraflandırılmıştır. Bu parametre yönünden korneada saptanan değişiklikler, tüm korneal yüzeyin; hiç boyanmamış olması '0' (Şekil 13,14), 1/8'ine eşit ya da daha az bir boyama alanının olması '1' (Şekil 15, 16, 17), 1/4'üne eşit ya da daha az bir boyama alanının olması '2' (Şekil 18,19, 20), 1/2'sine eşit ya da daha az bir boyama alanının olması '3' (Şekil 21, 22), 1/2'sinden daha fazlasının ya da tamamının boyanmış olması ise '4' (Şekil 23, 24) şeklinde skorlanarak kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

4.2.5. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (BUT)

Deneklerin sağ gözlerine % 1'lik sodyum fluorescein'den 1µl damlatıldıktan sonra araştırmacı tarafından deneklerde tam bir göz kırpması gerçekleştirilmiştir. Daha sonra slit-lamp biyomikroskop altında kobalt mavisi filtresi kullanılarak deneklerin 2. bir göz kırpmasına müsaade etmeksizin korneadaki noktasal kırılmaların ilk başladığı zaman kaydedilmiştir. Bu kırılma zamanları, operasyon mikroskobu altında da görüntülenmiştir (Şekil 25,26). Bu ölçüm, tüm deneklerde çalışmanın 0, 2, 4 ve 6. haftalarında birer defa olmak üzere aynı zaman diliminde yapılmıştır.

4.2.6. Gözyaşı Fluorescein Temizlenme Testi

Korneal fluorescein boyama testinde deneklerin sağ gözlerine sodyum fluorescein'in %1'lik solüsyonundan 1µl damlatılmasından 15 dakika sonra; operasyon mikroskobu altında lateral kantusa 1 dakika süreyle absorbent paper point yerleştirilmiştir. Alınan bu stripler daha sonra 1,5 ml'lik ependorf tüplerine

yerleştirilip ağızları kapatıldıktan sonra fluorofotometrik analiz yapılana kadar ışıktan korunmuştur. Striplerin içinde bulunduğu ependorf tüplerine fosfatlı buffer solüsyonundan 100 µl eklenerek tüpler 12000 rpm devirde 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra bu sıvılar 384 odacıklı polikarbonatlı mikro platelere (QG Hellma, Germany) konularak 485-530 nm dalga boyunda fluorescence multiple reader (FluOSTAR, BMG Lab. Tech. Germany) ile ölçülmüştür (Şekil 27). Elde edilen değerler, sıvının her mikro litresindeki fluorescein konsantrasyonunu ifade eden FU/µl (Fluorescein units/mililitre) olarak okunmuştur.

4.2.7. İmpresyon Sitolojisi Tekniği

Bu teknikte doku örnekleri, deneklerin sağ gözlerinin inferior konjunktival fornikslerine yerleştirilen 0,45 µm por çapına sahip nitrosellüloz filtre kağıtları (Nitrocellulose/Filter Paper Sandwich, İnvitrogen, USA) ile alınmıştır. Filtre kağıtları uygun boyutlarda kesildikten sonra 2-3 saniye boyunca belirtilen bölgeye hafif bir şekilde bastırılıp yüzey epitelyumuna tamamen yapıştıktan sonra kaldırılmıştır. Alınan örnekler, içinde % 95'lik etanolden 1 ml olan 1,5ml'lik ependorf tüplerine konulmuş ve en az 10 dakika boyunca bu solüsyonda muhafaza edilmiştir. Filtre kağıtları 5 dakika süreyle distile su banyosunda, buradan 3-5 dakika boyunca % 0,5'lik periyodik asit solüsyonunda, sonra 5'er dakika sürelerle sırasıyla distile su, Schiff, musluk suyu banyolarında bekletilmiştir. Hematoksilen solüsyonunda 1 dakika süreyle bekletilen kağıtlar, akar vaziyetteki musluk suyunda durulanmıştır. Asid alkol solüsyonuna 1 kez hızlı bir şekilde daldırılan örnekler birkaç kez musluk suyu banyosundan geçirilip 1 dakika süreyle sırasıyla % 95'lik etanol, absolut etanol ve ksilol solüsyonlarına daldırılmıştır (Şekil 28,

29). Son olarak bu örnekler entallen yapıştırıcısı kullanılarak lam ile lamel arasına tespit edilmiştir. Hazırlanan preparatların (Şekil 30) 100'lük objektif altında rastgele seçilen 4 alandan fotoğrafları alınmıştır. Bu alanlardaki goblet hücreleri sayılarak ortalamaları kaydedilmiştir (Şekil 31-39).

4.2.8. Korneal Fluorescein Permabilite Testi

Altıncı haftanın sonunda denekler, sağ gözlerine % 1'lik fluorescein sodyum solüsyonundan 1µl damlatıldıktan 10 dakika sonra yüksek dozda karbondioksit ile ötenazi edilmişlerdir. Deneklerin korneaları çıkarılıp 2 defa dengeli tuz solüsyonu ile yıkandıktan sonra içinde aynı solüsyondan 200 µl bulunan 1,5 ml'lik ependorf tüplerine konulmuş ve ağızları kapatılmış, değerlendirilene kadar ışıktan korunmuştur. Daha sonra bu örnekler, ultrasonik titreşimli bir karıştırıcıda (Elmasonic S30 H, Elma, Germany) 90 dakika süreyle bekletildikten sonra, 12000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Örnekler gözyaşı fluorescein temizlenme testindeki gibi fluorofotometrik analize tabi tutulmuşlardır.

4.2.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde SPSS 13.0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) versiyonu kullanılmıştır. Her testin istatistiksel analizi ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Ölçüm zamanlarına göre her alt gruptaki farklılık non-parametrik ve tekrarlanan ölçümlerde kullanılan Friedman testi ile yapılmıştır. Önemli fark bulunan alt gruplarda farkın hangi ölçüm zamanlarında olduğunu belirlemek amacıyla Wilcoxon testi kullanılmıştır. Ölçüm zamanlarının her birinde kontrol ve deney gruplarının aynı alt grupları ile bu grupların kendilerine ait farklı alt grupları arasındaki farklar ANOVA'da

Tukey testiyle belirlenmiştir. Fark, $P < 0.05$ veya $P < 0.001$ 'de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

5.BULGULAR

5.1. KG modelinin değerlendirilmesi

Çalışma boyunca KGK'daki RN ve sıcaklık ortalamaları 25.1 ± 0.61 (Şekil 40), $22.5 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ (Şekil 41); her bir DHK'ye verilen hava miktarı 15L/dak, akım hızı 2.3 ± 0.5 m/sn, DHK'lere yerleştirilen her bir fanın dönme hızı 1200 ± 250 RPM, hava akımı ise 50 CFM (Cubic feet per minute) olarak ölçülmüştür.

KGK'da 2 hafta boyunca evaporatif strese maruz bırakılan denekler gözkırpma sayısı, gözyaşı üretim miktarı, korneal fluorescein boyanma skorları, BUT, impresyon sitolojisi ve gözyaşı fluorescein temizlenmesi yönünden değerlendirilmiştir. Buna göre çalışmanın başlangıç ölçümü ile karşılaştırıldığında 2. haftada tüm deney alt gruplarının; gözkırpma sayıları (Şekil 42) ve korneal boyanma skorlarının (Şekil 43) arttığı; gözyaşı üretim miktarları (Şekil 44), goblet hücre sayıları (Şekil 45) gözyaşı fluorescein temizlenmesi (Şekil 46) ve BUT (Şekil 47)'un azaldığı kaydedilmiştir.

5.2. Kliniksel ve Davranışsal Değerlendirmeler

Çalışma süresince Kont-PAT ve Kont-SH alt gruplarından 1'er denek ölmüştür. Kont-PAT alt grubundaki olgunun göz kapaklarında ödem, konjunktivitis, kornea üzerinde katılaşmış müköz pelte ve burun altında tümöral bir kitle görülmüştür (Şekil 48). Kont-SH alt grubundaki denek ise aşırı kaşeksi sonucu ölmüştür. Her iki deneğin post-mortem muayenesinde ölüm sebepleri anlaşılamamıştır.

Rutin klinik muayenelerde, Den-CsA alt grubuna ait bir deneğin sürekli olarak kendi etrafında döndüğü görülmüştür. Çalışmanın sonuna kadar yaşamını sürdüren bu denekte oküler parametreleri olumsuz yönde etkileyecek herhangi bir

bulguya rastlanılmamıştır. Den-FML grubundan bir deneğin sternal bölgesinde çalışmanın 2. haftasından başlayıp gittikçe büyüyen bir kitle saptanmıştır. Den-PAT grubundan bir deneğin ise baş bölgesinde 4. haftadaki ölçümleri takiben ödematöz bir şişkinlik ve sol göz kapağının üzerinde ekskoriyasyon tespit edilmiştir (Şekil 49). Bu bulguların çalışmanın sonuna doğru kaybolduğu gözlenmiştir. Araştırma süresince kontrol ve deney gruplarında saptanan oküler belirtiler Tablo 4’de sunulmuştur.

Çalışma öncesi deney grubu denekler, KGK’ya 2 hafta süreyle belli aralıklarla konularak ortam koşullarına adapte olmaları sağlanmaya çalışılmıştır. Deneklerin, testler sırasında kolay bir şekilde zaptırap altına altına alınmasında özel olarak tasarlanmış koni şeklindeki bir plastik boru (Şekil 8) kullanılmıştır. Belirtilen sürede denekler bu borudan belli periyodlarla geçirilerek alışmaları sağlanmıştır.

Adaptasyon döneminde kısa aralıklarla evaporatif strese maruz bırakılan deneklerin DHK’deki hava türbülansından korunmak için özellikle baş kısımlarını saklayacak şekilde iç içe girerek hava akımından en az etkilendikleri orta kısımlarda kümeleştikleri görülmüştür. Bu durum çalışma öncesi DHK’lere monte edilen fanlar sayesinde önlenmiştir.

Çalışma boyunca denekler genel olarak sakin mizaçlı görülmüşlerdir.

5.3. Parametrik Değerlendirmeler

5.3.1. Göz Kırpma Sayısının Ölçümü

Bu testte elde edilen verilerin, kontrol ve deney grupları ile bu gruplara ait alt gruplar yönünden değişimleri, 0. haftada önemsiz ($P > 0.05$); 2, 4 ve 6. haftalarda ise önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur (Tablo 5). Kontrol ve deney

gruplarının ölçüm zamanlarına göre göz kırpmaya sayılarının kümülatif ortalamaları Şekil 42’de gösterilmiştir. Aynı ajana ait kontrol ve deney alt gruplarının karşılaştırılmasında 2. haftada PAT’lar, 4. ve 6. haftalarda ise SF’ler hariç ($P < 0.05$) diğerlerinin arasındaki farkın istatistiki açıdan önemsiz olduğu ($P > 0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 5). Tabloya göre, PAT ve SF’nin deney alt gruplarının göz kırpmaya sayı ortalamalarının kontrol alt gruplarına göre yüksek olduğu görülmektedir.

Kontrol alt gruplarının göz kırpmaya sayı ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre değişimlerinin SH, RET ve DOK alt gruplarında istatistiki açıdan önemli ($P < 0.05$); SF, DİK, PAT, FML ve CsA’da ise önemsiz olduğu ($P > 0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 5). Aynı parametrenin deney alt gruplarındaki ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre değişimleri SF, FML ve DOK’da istatistiki açıdan önemli ($P < 0.05$); SH, DİK, PAT, RET ve CsA’da ise önemsizdir ($P > 0.05$) (Tablo 5).

5.3.2. Fenol Kırmızısı Pamuk İpliği Testi

Gözyaşı üretim miktarı yönünden kontrol ve deney grupları ile bu grupları oluşturan alt gruplar arasındaki farklılıklar 0. günde önemsiz ($P > 0.05$); diğer tüm haftalarda ise önemlidir ($P < 0.05$) (Tablo 6). Kontrol ve deney gruplarının ölçüm zamanlarına göre gözyaşı üretim miktarlarının kümülatif ortalamaları Şekil 44’de gösterilmiştir. Aynı ajana ait kontrol ve deney alt grupları karşılaştırıldığında aralarındaki farkın 2. haftada SH’larda, DİK’lerde ve CsA’larda, 4. haftada SH’larda, 6. haftada ise SF’ler ve SH’larda önemli olduğu ($P < 0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 6). Buradan SF, SH, DİK ve CsA’nın deney alt gruplarının gözyaşı üretim miktarı ortalamalarının kontrol alt gruplarına göre düşük olduğu görülmektedir.

Kontrol alt gruplarının gözyaşı üretim miktarı ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre değişimlerinin RET ($P<0.05$) hariç diğer alt gruplarda önemsiz olduğu ($P> 0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 6). Aynı parametrenin deney alt gruplarındaki ölçüm zamanlarına göre değişimleri ise SF, SH, DİK, PAT ve FML’de önemli ($P<0.05$) bulunmuştur (Tablo 6).

5.3.3. Korneal Fluorescein Boyanma Testi

Kontrol ve deney grupları ile bu gruplara ait alt gruplar, korneal fluorescein boyanma testine göre değerlendirildiğinde; 0. haftadaki değişimlerin istatistiksel açıdan önemsiz ($P>0.05$), 2, 4 ve 6. haftalardakinin ise önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir (Tablo 7, Şekil 43). Aynı ajana ait kontrol ve deney alt gruplarının karşılaştırılmasında elde edilen farkın 2. haftada DİK’lerin, PAT’ların, RET’lerin, CsA’ların ve DOK’ların; 4. haftada SF’lerin ve SH’ların; 6. haftada ise SF’lerin ve SH’ların arasında önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol alt gruplarının korneal fluorescein boyanma skor ortalamalarının 0, 2, 4 ve 6. haftalardaki değişimleri sadece SH’da ($P<0.05$) önemli bulunmuştur. Aynı parametrenin belirtilen ölçüm zamanlarındaki değişimlerinin tüm deney alt gruplarında önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir (Tablo 7).

5.3.4. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (BUT)

BUT yönünden kontrol ve deney gruplarına ait veriler karşılaştırıldığında tüm ölçüm zamanlarındaki değişimlerin istatistiki açıdan farklı olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır (Tablo 8). Her iki grubun bu parametreye göre 0, 2, 4 ve 6. haftalardaki kümülatif ortalamaları Şekil 47’de görülmektedir. Aynı ajana ait kontrol ve deney alt gruplarının karşılaştırılmasında her iki grubun 2. haftada

SF'leri, FML'leri ve CsA'ları; 4. haftada SF'leri; 6. haftada ise SF'leri ve DOK'ları arasındaki farkın önemli olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır (Tablo 8).

Kontrol alt gruplarının herbirinin BUT ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre değişimleri değerlendirildiğinde; SH, DİK, PAT, FML, CsA ve DOK'un istatistiki açıdan önemli ($P<0.05$) SF ve RET'in ise önemsiz olduğu ($P>0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 8). Aynı parametre, deney alt grupları yönünden değerlendirildiğinde herbirinin ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre değişimlerinin tümünde önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir (Tablo 8).

5.3.5. İmpresyon Sitolojisi Testi

Bu testle ilgili veriler, gruplar ve bu grupları oluşturan alt gruplar açısından değerlendirildiğinde ortaya çıkan farkın 0. haftada önemsiz ($P>0.05$); diğer tüm haftalarda ise önemli olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 9). Kontrol ve deney gruplarının 0, 2, 4 ve 6. haftalardaki impresyon sitolojisi verilerinin kümülatif ortalamaları Şekil 45'de sunulmuştur. Aynı ajana ait kontrol ve deney gruplarının karşılaştırılmasında 0. hafta hariç diğer 3 ölçüm zamanında farkın istatistiki açıdan belirgin olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır (Tablo 9). Verilen Tablo'ya göre tüm ajanların kontrol alt gruplarının goblet hücre sayısı ortalamalarının deney alt gruplarına göre yüksek olduğu görülmektedir.

Kontrol grubunun her bir alt grubunun impresyon sitolojisi verileri ölçüm zamanlarına göre değerlendirildiğinde aralarındaki farkın önemsiz olduğu ($P>0.05$), buna karşın aynı test deney grubuna uygulandığında tüm alt gruplara ait farkın önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir (Tablo 9).

5.3.6. Gözyaşı Fluorescein Temizlenme Testi

Bu teste göre kontrol ve deney gruplarının genel bir değerlendirmesi yapıldığında aralarındaki farkın 0. haftada önemsiz ($P>0.05$); 2, 4 ve 6. haftalarda ise önemli olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 10, Şekil 46). Bu grupların aynı ajana ait alt grupları karşılaştırıldığında, farkın 2. haftada tüm ($P<0.05$), 4. ve 6. haftalarda ise CsA hariç ($P>0.05$) diğer alt gruplarda önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir (Tablo 10). Ayrıca tüm ajanlara ait deney alt gruplarının gözyaşı fluorescein miktarı ortalamalarının kontrol alt gruplarına göre oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Her bir kontrol alt grubunun gözyaşı fluorescein temizlenme test verilerinin ölçüm zamanlarına göre değişimleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın sadece PAT ve FML’de önemli olduğu ($P<0.05$) görülmektedir. Bu farkın PAT için 0-2., 0-4., 2-4., ve 2-6.; FML için ise 0-4. ve 0-6. haftalar arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 10). Aynı değerlendirme deney alt gruplarına uygulandığında farkın tümünde önemli olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır (Tablo 10).

5.3.7. Korneal Fluorescein Permabilite Testi

Korneal fluorescein permabilitesi yönünden kontrol ve deney gruplarında elde edilen veriler total olarak değerlendirildiğinde farkın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 11). Bu gruplara ait alt grupların verileri kendi içlerinde değerlendirildiğinde Den-SF’nin (359.29 ± 108.42) en yüksek, Kont-DİK’in (67.86 ± 15.68) ise en düşük olduğu kaydedilmiştir (Tablo 11). Aynı ajana ait kontrol ve deney alt gruplarının verilerinin karşılaştırılmasında farkın SF’ler ve RET’ler arasında olduğu ($P<0.05$)

tespit edilmiştir (Tablo 11). Buradan her iki ajana da ait olan deney alt gruplarının verilerinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışmada kullanılan terapötik ajanların KG modeli üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması, uygulanan testler ve bu testlerin yapıldığı ölçüm zamanları ile alt grup gibi değişkenler açısından değerlendirildiğinde elde edilen genel sonuç Tablo 12’de sunulmuştur.

5.4. Tablolar

Tablo 3. KGS'nin etiyolojisine göre sınıflandırılmasının şematik görünümü



Tablo 4. Çalışma boyunca deneklerde saptanan oküler belirtilerin topluca değerlendirilmesi.

GRUPLAR		KONTROL GRUBU								DENEY GRUBU							
ALT GRUPLAR		SF	SH	DİK	PAT	RET	FML	CsA	DOK	SF	SH	DİK	PAT	RET	FML	CsA	DOK
OKÜLER BELİRTİLER	FOTOFOBİ	-	4, 4	2	4	4, 4, 6	6	6	-	4, 6	6	-	4	-	6	2	-
	AKINTI	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AĞRI	6	4, 4	-	4	4, 4, 6	6	-	-	2, 2, 4, 6	2, 2	-	4	-	6	2, 2	2, 4
	KIZARIKLIK	6	4, 6	6, 6	4, 4, 6, 6	4, 6	-	4, 6	-	2, 4, 6	-	-	2, 2, 6	-	-	-	2
	KONJUNKTİVİT				6												

* Sayıların herbiri hem ölçüm zamanını (hafta) hemde bir bireyi göstermektedir.

Tablo 5. Kontrol ve deney gruplarının göz kırpmaya sayısı test verilerinin (sayı/dak) istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	Ölçüm Zamanları				P değeri
	0.Hafta	2.Hafta	4. Hafta	6. Hafta	
<i>Kontrol</i>					
S.Fizyolojik	1.43±1.90	8.00±6.88 ^{abcd}	3.86±4.10 ^b	2.43±1.71 ^b	> 0.05
S.Hyaluronate	1.14±1.77 ^C	3.00±1.52 ^{cd B}	7.00±2.08 ^{ab A}	4.57±7.04 ^{b AB}	0.004
Diklofenak Sod.	3.29±3.14	4.71±2.92 ^{bcd}	5.29±3.54 ^b	1.71±1.70 ^b	> 0.05
Olopatadine	1.57±1.81	4.14±3.23 ^{bcd}	6.57±5.28 ^{ab}	3.43±4.54 ^b	> 0.05
Retinoik Asit	1.86±1.07 ^C	9.29±3.35 ^{abcd A}	2.43±1.51 ^{b B}	5.00±3.41 ^{b AB}	0.042
FML	2.29±2.56	4.86±3.28 ^{abcd}	6.29±2.05 ^b	4.29±3.09 ^b	> 0.05
CsA	1.14±1.46	3.14±2.11 ^{cd}	3.43±5.41 ^b	1.14±1.34 ^b	> 0.05
Doksisiklin	1.00±0.57 ^C	4.86±4.14 ^{abcd A}	4.00±3.26 ^{b A}	3.71±1.89 ^{b B}	0.027
<i>Deney</i>					
S.Fizyolojik	1.43±2.14 ^C	1.00±1.15 ^{d C}	12.86±3.57 ^{a A}	13.14±8.45 ^{a A}	0.018
S.Hyaluronate	2.14±1.57	7.29±2.56 ^{abcd}	3.43±3.91 ^b	3.86±4.18 ^b	> 0.05
Diklofenak Sod.	3.29±7.56	7.14±5.08 ^{abcd}	6.71±3.45 ^{ab}	1.43±1.27 ^b	> 0.05
Olopatadine	0.71±1.11	14.14±4.05 ^a	3.00±2.44 ^b	3.14±5.72 ^b	> 0.05
Retinoik Asit	1.29±2.62	10.00±5.26 ^{abcd}	3.29±2.62 ^b	3.29±4.46 ^b	> 0.05
FML	4.86±4.41 ^B	10.14±5.90 ^{abcd A}	3.00±3.00 ^{b B}	1.00±1.15 ^{b C}	0.046
CsA	0.86±0.69	11.43±8.86 ^{abc}	1.86±1.21 ^b	3.43±5.02 ^b	> 0.05
Doksisiklin	0.29±0.48 ^C	12.86±9.37 ^{ab A}	4.57±4.19 ^{b B}	5.14±2.34 ^{b B}	0.018
P değeri	> 0.05	0.001	0.001	0.001	

a-d: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak önemlidir. ($P < 0.05$), ANOVA, *post hoc* Tukey

A-C: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir. ($P < 0.05$), Friedman, *ikili karşılaştırma* Wilcoxon.

Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı üretim miktarı test verilerinin (mm/dak) istatistiksel değerlendirilmesi.

Gruplar	Ölçüm Zamanları				P değeri
	0.Hafta	2.Hafta	4. Hafta	6. Hafta	
<u>Kontrol</u>					
S.Fizyolojik	1.70±0.40	1.82±0.29 ^{abcd}	2.12±0.31 ^a	2.03±0.28 ^{abc}	> 0.05
S.Hyaluronate	1.95±0.40	1.95±0.29 ^{abc}	2.09±0.19 ^a	2.35±0.32 ^a	> 0.05
Diklofenak Sod.	2.20±0.31	2.05±0.42 ^{ab}	1.99±0.21 ^{abc}	2.20±0.26 ^{ab}	> 0.05
Olopatadine	1.71±0.38	1.71±0.27 ^{bcde}	1.70±0.51 ^{abcd}	2.02±0.49 ^{abc}	> 0.05
Retinoik Asit	1.61±0.25 ^B	1.73±0.36 ^{abcde AB}	2.05±0.19 ^{ab A}	2.07±0.34 ^{abc A}	0.014
FML	1.79±0.26	1.84±0.19 ^{abcd}	2.05±0.17 ^{ab}	2.07±0.22 ^{abc}	> 0.05
CsA	1.76±0.35	2.31±0.37 ^a	1.83±0.24 ^{abcd}	2.14±0.50 ^{ab}	> 0.05
Doksisiklin	1.62±0.37	1.72±0.35 ^{abcde}	1.84±0.39 ^{abcd}	2.05±0.24 ^{abc}	> 0.05
<u>Deney</u>					
S.Fizyolojik	1.96±0.57 ^A	1.56±0.25 ^{bcdef AB}	1.44±0.23 ^{abcd B}	1.32±0.24 ^{e B}	0.045
S.Hyaluronate	1.83±0.45 ^{ABC}	1.20±0.30 ^{ef C}	1.84±0.44 ^{cd A}	1.45±0.18 ^{de B}	0.012
Diklofenak Sod.	1.64±0.38 ^A	1.11±0.25 ^{f B}	1.52±0.21 ^{bcd A}	1.71±0.24 ^{bcde A}	0.010
Olopatadine	1.54±0.17 ^B	1.35±0.29 ^{def B}	1.42±0.32 ^{d B}	2.05±0.90 ^{abc A}	0.002
Retinoik Asit	1.86±0.30	1.42±0.38 ^{cdef}	1.72±0.16 ^{abcd}	1.86±0.26 ^{abcde}	> 0.05
FML	2.03±0.52 ^A	1.35±0.28 ^{def C}	1.84±0.30 ^{abcd AB}	1.57±0.31 ^{cde BC}	0.013
CsA	1.62±0.32	1.42±0.30 ^{cdef}	1.76±0.33 ^{abcd}	1.87±0.19 ^{abcd}	> 0.05
Doksisiklin	1.86±0.36	1.48±0.34 ^{bcdef}	1.89±0.31 ^{abcd}	1.56±0.20 ^{cde}	> 0.05
P değeri	> 0.05	0.001	0.001	0.001	

a-f: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak önemlidir. ($P < 0.05$), ANOVA, *post hoc* TukeyA-C: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir. ($P < 0.05$), Friedman, *ikili karşılaştırma* Wilcoxon.

Tablo 7. Kontrol ve deney gruplarının korneal fluorescein boyanma test verilerinin (skor) istatistiksel değeri.

Gruplar	Ölçüm Zamanları				P değeri
	0.Hafta	2.Hafta	4. Hafta	6. Hafta	
<u>Kontrol</u>					
S.Fizyolojik	0	0.43±0.53 ^{de}	0.14±0.37 ^{de}	0.29±0.48 ^c	> 0.05
S.Hyaluronate	0 ^B	0.71±0.48 ^{bcde A}	0 ^{c B}	0 ^{c B}	0.002
Diklofenak Sod.	0	0.29±0.48 ^e	0.57±0.53 ^{bcde}	0.29±0.48 ^c	> 0.05
Olopatadine	0	0.14±0.37 ^e	0.29±0.48 ^{cde}	0.14±0.37 ^c	> 0.05
Retinoik Asit	0	0.29±0.48 ^e	0.43±0.53 ^{cde}	0 ^c	> 0.05
FML	0	0.57±0.53 ^{cde}	0.29±0.48 ^{cde}	0.57±0.53 ^c	> 0.05
CsA	0	0.14±0.37 ^e	0.29±0.48 ^{cde}	0.29±0.48 ^c	> 0.05
Doksisiklin	0	0.29±0.48 ^e	0.57±0.53 ^{bcde}	0.57±0.53 ^c	> 0.05
<u>Deney</u>					
S.Fizyolojik	0 ^C	1.43±1.13 ^{abcde AB}	1.86±0.69 ^{ab AB}	2.29±0.75 ^{a A}	0.001
S.Hyaluronate	0 ^B	1.43±0.53 ^{abcde A}	2.14±1.21 ^{a A}	1.71±0.75 ^{ab A}	0.001
Diklofenak Sod.	0 ^C	2.00±1.27 ^{a A}	1.43±0.97 ^{abcd AB}	0.71±0.75 ^{bc BC}	0.001
Olopatadine	0 ^C	2.00±1.00 ^{abcd A}	1.29±1.38 ^{abcde AB}	0.29±0.48 ^{c BC}	0.001
Retinoik Asit	0 ^C	3.00±1.81 ^{a A}	1.14±0.69 ^{abcde B}	0.86±0.69 ^{bc B}	0.001
FML	0 ^C	2.14±1.46 ^{abc A}	0.57±0.53 ^{bcde B}	0.43±0.53 ^{c B}	0.001
CsA	0 ^B	2.14±1.06 ^{abc A}	0.43±0.53 ^{cde B}	0.29±0.48 ^{c B}	0.001
Doksisiklin	0 ^C	2.29±1.11 ^{ab A}	1.57±0.78 ^{abc AB}	1.00±1.00 ^{bc BC}	0.002
P değeri	> 0.05	0.001	0.001	0.001	

a-e: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak önemlidir. ($P < 0.05$), ANOVA, *post hoc* TukeyA-C: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir. ($P < 0.05$), Friedman, *ikili karşılaştırma* Wilcoxon.

Tablo 8. Kontrol ve deney gruplarının BUT verilerinin (saniye) istatistiksel değeri.

Gruplar	Ölçüm Zamanları				P değeri
	0.Hafta	2.Hafta	4. Hafta	6. Hafta	
<u>Kontrol</u>					
S.Fizyolojik	24.71±4.07 ^{ab}	25.14±2.9 ^a	18.00±3.46 ^{abc}	21.14±4.30 ^b	> 0.05
S.Hyaluronate	25.57±3.60 ^{ab A}	21.57±3.41 ^{ab B}	13.14±2.19 ^{cdef C}	16.57±4.35 ^{bcd CB}	0.001
Diklofenak Sod.	22.14±3.76 ^{ab AB}	18.00±2.94 ^{bcde AC}	21.00±2.77 ^{a B}	16.14±2.80 ^{bcd C}	0.044
Olopatadine	28.57±1.72 ^{a A}	16.57±1.81 ^{bcdefg B}	16.14±2.73 ^{abcdef B}	19.29±2.63 ^{b B}	0.003
Retinoik Asit	18.86±6.67 ^b	16.71±3.04 ^{bcdef}	16.86±2.34 ^{abcde}	20.57±2.76 ^b	> 0.05
FML	19.71±6.92 ^{ab AB}	21.86±4.38 ^{ab A}	14.29±2.69 ^{bcdef B}	18.71±2.43 ^{b A}	0.040
CsA	22.57±5.53 ^{ab A}	19.29±3.04 ^{abcd A}	14.71±1.70 ^{bcdef B}	22.71±4.46 ^{ab A}	0.010
Doksisiklin	24.00±5.32 ^{ab AB}	20.57±2.94 ^{abc B}	16.86±3.13 ^{abcde C}	26.29±5.85 ^{a A}	0.003
<u>Deney</u>					
S.Fizyolojik	20.57±2.30 ^{ab A}	12.29±2.93 ^{efg BC}	12.43±3.05 ^{def B}	10.86±2.61 ^{d C}	0.001
S.Hyaluronate	21.86±3.24 ^{ab A}	16.00±4.12 ^{bcdefg B}	12.86±4.26 ^{cdef BC}	11.57±1.27 ^{cd C}	0.004
Diklofenak Sod.	25.86±2.55 ^{ab A}	13.29±3.35 ^{defg C}	16.43±2.76 ^{abcde B}	22.00±5.89 ^{b A}	0.001
Olopatadine	23.14±3.98 ^{ab A}	11.57±3.21 ^{fg BC}	11.57±1.40 ^{ef C}	16.00±3.37 ^{bcd B}	0.002
Retinoik Asit	20.71±3.30 ^{ab A}	14.86±3.24 ^{cdefg B}	12.71±3.90 ^{cdef B}	18.29±3.40 ^{bc AB}	0.012
FML	22.86±4.45 ^{ab A}	14.29±4.23 ^{defg BC}	10.71±2.81 ^{f C}	18.00±2.38 ^{bc AB}	0.002
CsA	23.43±5.13 ^{ab A}	10.43±3.60 ^{g B}	19.43±2.88 ^{ab A}	19.71±4.92 ^{b A}	0.003
Doksisiklin	24.71±8.42 ^{ab A}	14.57±3.31 ^{cdefg B}	17.57±2.99 ^{abcd AB}	15.86±2.27 ^{bcd B}	0.010
P değeri	0.029	0.001	0.001	0.001	

a-g: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak önemlidir. ($P < 0.05$), ANOVA, *post hoc* Tukey

A-C: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir. . ($P < 0.05$), Friedman, *ikili karşılaştırma* Wilcoxon.

Tablo 9. Kontrol ve deney gruplarının impresyon sitolojisi verilerinin (sayı/alan) istatistiksel değeri.

Gruplar	Ölçüm Zamanları				P değeri
	0.Hafta	2.Hafta	4. Hafta	6. Hafta	
<u>Kontrol</u>					
S.Fizyolojik	15.57±2.82	15.86±4.33 ^a	16.86±3.33 ^a	16.29±2.81 ^a	> 0.05
S.Hyaluronate	16.43±2.57	15.71±3.54 ^a	16.43±1.71 ^a	17.29±3.54 ^a	> 0.05
Diklofenak Sod.	17.43±4.07	18.29±2.28 ^a	16.71±3.25 ^a	16.43±1.51 ^a	> 0.05
Olopatadine	18.29±2.98	17.43±2.82 ^a	16.00±1.63 ^a	16.29±3.45 ^a	> 0.05
Retinoik Asit	17.43±1.98	16.71±3.03 ^a	17.71±2.56 ^a	16.86±2.67 ^a	> 0.05
FML	17.14±2.41	14.86±3.02 ^a	15.86±3.02 ^a	16.29±1.79 ^a	> 0.05
CsA	17.14±2.67	15.14±2.61 ^a	17.71±3.30 ^a	14.86±3.23 ^a	> 0.05
Doksisiklin	16.00±1.63	15.57±3.40 ^a	16.71±2.36 ^a	16.71±3.25 ^a	> 0.05
<u>Deney</u>					
S.Fizyolojik	17.86±3.02 ^A	5.57±2.14 ^{b B}	5.29±1.38 ^{c B}	5.14±1.46 ^{c B}	0.005
S.Hyaluronate	17.57±1.98 ^A	6.43±1.98 ^{b C}	6.86±1.57 ^{bc C}	9.29±2.36 ^{bc B}	0.001
Diklofenak Sod.	17.29±2.56 ^A	6.43±1.98 ^{b C}	9.71±1.79 ^{b B}	10.43±1.71 ^{b B}	0.001
Olopatadine	16.14±1.34 ^A	6.86±1.46 ^{b B}	6.57±1.27 ^{bc B}	7.86±1.06 ^{bc B}	0.002
Retinoik Asit	17.29±3.14 ^A	6.43±1.90 ^{b C}	8.43±1.27 ^{bc B}	8.71±1.49 ^{bc BC}	0.001
FML	17.43±3.40 ^A	5.43±1.81 ^{b C}	8.14±1.34 ^{bc B}	8.86±1.21 ^{bc B}	0.001
CsA	18.00±3.51 ^A	6.86±2.41 ^{b C}	8.86±1.46 ^{bc B}	9.86±0.90 ^{b B}	0.001
Doksisiklin	16.71±2.69 ^A	6.86±2.11 ^{b C}	8.43±1.51 ^{bc BC}	9.29±1.11 ^{bc B}	0.001
P değeri	> 0.05	0.001	0.001	0.001	

a-d: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak önemlidir. ($P < 0.05$), ANOVA, *post hoc* Tukey

A-C: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir. ($P < 0.05$), Friedman, *ikili karşılaştırma* Wilcoxon.

Tablo 10. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı fluorescein temizlenme test verilerinin (FU/ μ l) istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	Ölçüm Zamanları				P değeri
	0.Hafta	2.Hafta	4. Hafta	6. Hafta	
<i>Kontrol</i>					
S.Fizyolojik	300.57±41.84	258.14±78.64 ^c	323.00±114.15 ^{ef}	376.43±119.13 ^g	> 0.05
S.Hyaluronate	300.00±63.20	360.14±100.85 ^c	284.57±57.32 ^f	326.29±141.64 ^g	> 0.05
Diklofenak Sod.	286.00±85.90	322.43±86.45 ^c	403.14±119.85 ^{ef}	374.00±148.98 ^g	> 0.05
Olopatadine	261.14±44.46 ^B	326.43±83.49 ^{c B}	513.14±154.96 ^{ef A}	520.57±226.79 ^{efg A}	0.003
Retinoik Asit	316.43±59.97	293.00±52.04 ^c	385.86±112.40 ^{ef}	376.43±109.79 ^g	> 0.05
FML	295.29±50.13 ^B	352.00±86.31 ^{c AB}	395.43±66.98 ^{ef A}	426.71±98.94 ^{fg A}	0.040
CsA	354.00±56.55	360.86±87.07 ^c	333.57±155.14 ^{ef}	463.57±154.66 ^{fg}	> 0.05
Doksisiklin	308.43±68.62	313.71±109.03 ^c	387.71±127.28 ^{ef}	291.14±47.26 ^g	> 0.05
<i>Deney</i>					
S.Fizyolojik	296.29±90.02 ^C	2934.43±559.16 ^{a B}	4083.00±1105.32 ^{a A}	4415.00±799.21 ^{a A}	0.001
S.Hyaluronate	291.43±78.96 ^D	2787.57±729.59 ^{ab A}	2286.86±568.97 ^{b B}	1494.43±432.81 ^{b C}	0.001
Diklofenak Sod.	256.71±57.44 ^D	2575.43±684.17 ^{ab A}	1510.43±464.99 ^{c B}	884.71±216.43 ^{def C}	0.001
Olopatadine	294.43±68.14 ^D	2502.00±406.28 ^{ab A}	2045.00±235.68 ^{bc B}	1467.86±233.81 ^{bc C}	0.001
Retinoik Asit	234.86±83.99 ^D	2548.43±417.80 ^{ab A}	1891.14±279.83 ^{bc B}	1230.57±133.33 ^{bcd C}	0.001
FML	277.86±54.07 ^D	2444.00±325.19 ^{ab A}	1561.57±368.23 ^{cd B}	984.86±113.54 ^{cde C}	0.001
CsA	247.43±80.10 ^D	2209.86±324.65 ^{b A}	1012.29±115.49 ^{de B}	630.43±82.28 ^{efg C}	0.001
Doksisiklin	293.14±59.54 ^D	2444.71±329.18 ^{ab A}	1640.29±320.55 ^{bcd B}	1144.00±176.48 ^{bcd C}	0.001
P değeri	> 0.05	0.001	0.001	0.001	

a-g: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak önemlidir. ($P < 0.05$), ANOVA, *post hoc* Tukey

A-D: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir. . ($P < 0.05$), Friedman, *ikili karşılaştırma* Wilcoxon.

Tablo 11. Kontrol ve deney gruplarının korneal fluorescein permabilite test verilerinin (FU/ μ l) istatistiksel değerlendirmesi.

CF Permabilite Testi	Grup Ort $\pm$ S.D
<u>Kontrol</u>	
S.Fizyolojik	74.14 $\pm$ 14.31 ^{de}
S.Hyaluronate	104.86 $\pm$ 18.50 ^{bcde}
Diklofenak Sod.	67.86 $\pm$ 15.68 ^e
Olopatadine	100.00 $\pm$ 23.38 ^{bcde}
Retinoik Asit	72.00 $\pm$ 18.62 ^e
FML	81.86 $\pm$ 17.39 ^{de}
CsA	72.57 $\pm$ 9.46 ^e
Doksisiklin	77.71 $\pm$ 16.84 ^{de}
<u>Deney</u>	
S.Fizyolojik	359.29 $\pm$ 108.42 ^a
S.Hyaluronate	217.29 $\pm$ 85.29 ^b
Diklofenak Sod.	142.43 $\pm$ 40.79 ^{bcde}
Olopatadine	171.29 $\pm$ 39.36 ^{bc}
Retinoik Asit	194.86 $\pm$ 49.45 ^b
FML	150.00 $\pm$ 41.52 ^{bcde}
CsA	105.29 $\pm$ 21.22 ^{bcde}
Doksisiklin	158.29 $\pm$ 52.93 ^{bcd}
P değeri	0.001

a-e: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak önemlidir. ($P < 0.05$), ANOVA, *post hoc* Tukey Testi.

Tablo 12. Ajanların 4 hafta süreyle KG üzerine olan etkilerinin kullanılan testler yönünden en iyiden (1) en düşüğe (8) doğru sıralanması.

TESTLER	TERAPÖTİK AJANLAR							
	SF	SH	DİK	PAT	RET	FML	CsA	DOK
GÖZ KIRPMA SAYISI	8	6	4	2	7	1	3	5
FENOL KIRMIZISI PAMUK İPLİĞİ	8	4	2	1	5	6	3	7
BUT	8	3	2	4	6	5	1	7
KORNEAL FLUORESCEİN BOYANMA	7	8	4	2	3	5	1	6
GÖZYAŞI FLUORESCEİN TEMİZLENME	8	6	1	7	4	3	2	5
İMPRESYON SİTOLOJİSİ	8	3	1	7	5	4	2	6
KORNEAL FLUORESCEİN PERMABİLİTE	8	7	2	5	6	3	1	4
TOPLAM	55	37	16	28	32	27	13	40

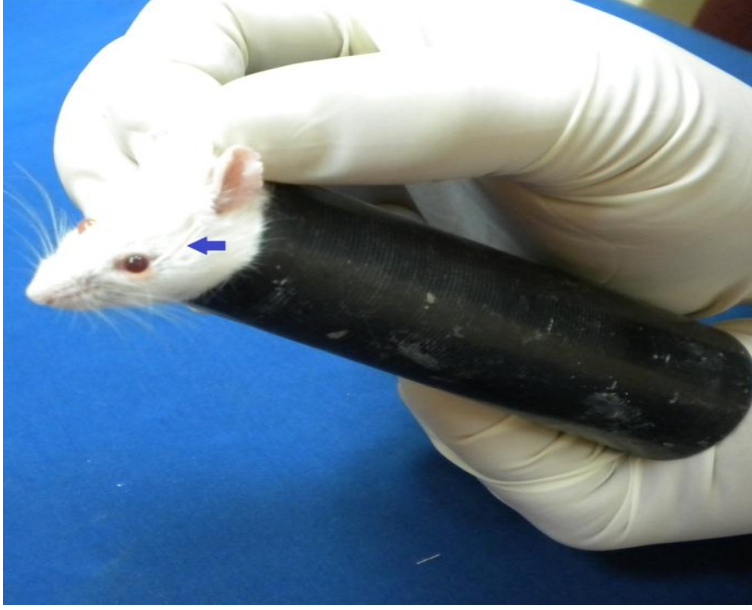
5.5. Şekiller



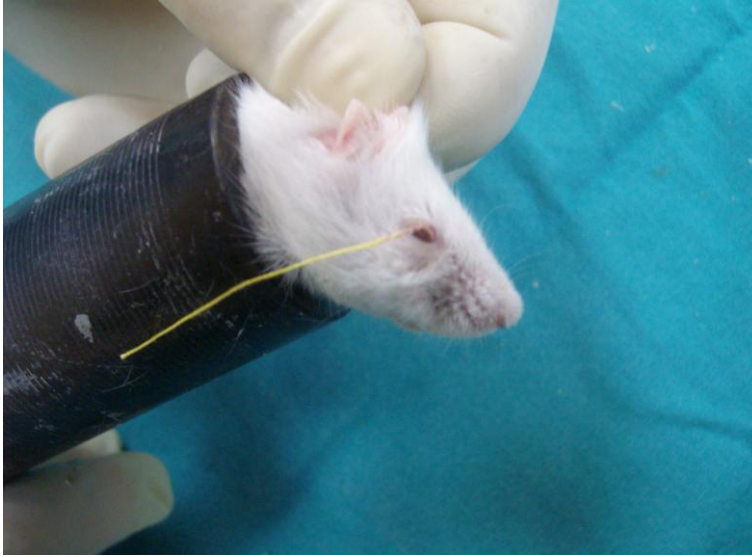
Şekil 6. Kuyruk işaretlemesi yapılan bir deneğin arkadan görünümü.



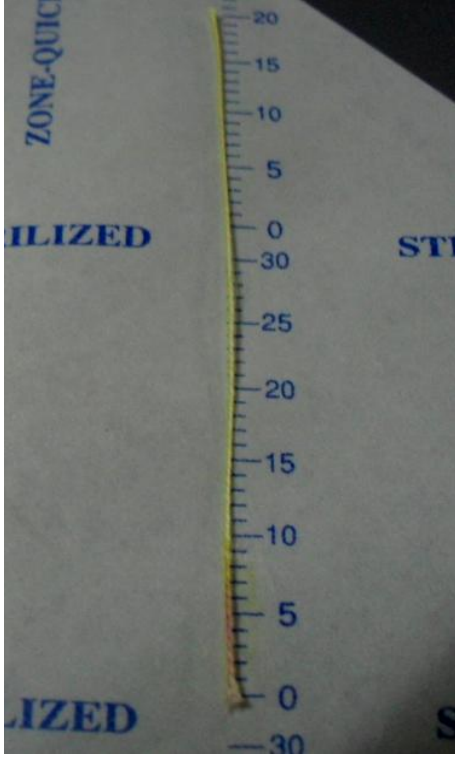
Şekil 7. Fenol kırmızısı pamuk ipliği.



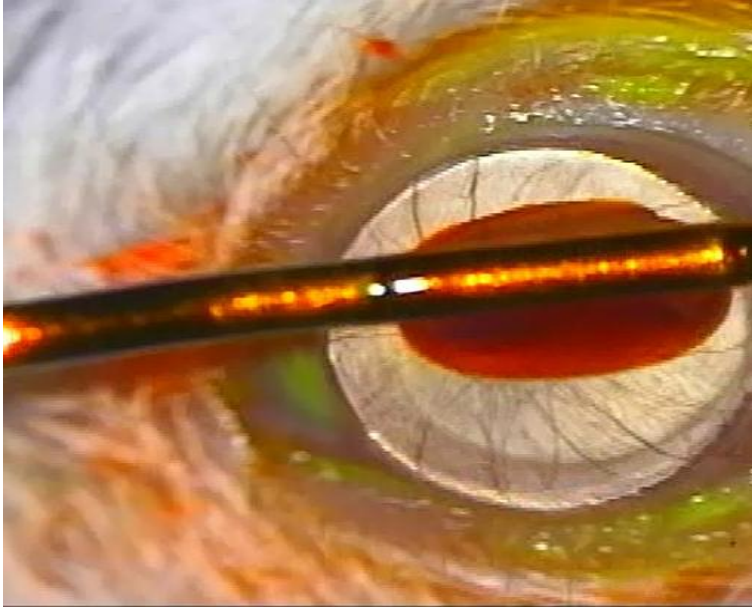
Şekil 8. Plastik boruya konularak zaptrapt altına alınan bir deneğe absorbent paper pointin uygulandığı.



Şekil 9. Bir denekte fenol kırmızısı pamuk ipliği testinin uygulandığı.



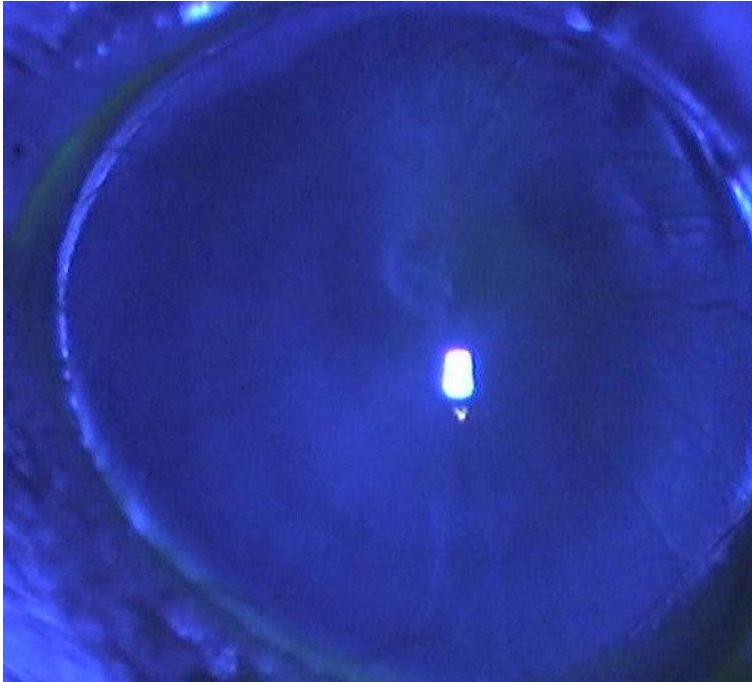
Şekil 10. Fenol kırmızısı pamuk ipliği testinde iplik üzerindeki ıslaklık miktarının milimetrik skala kullanılarak okunması.



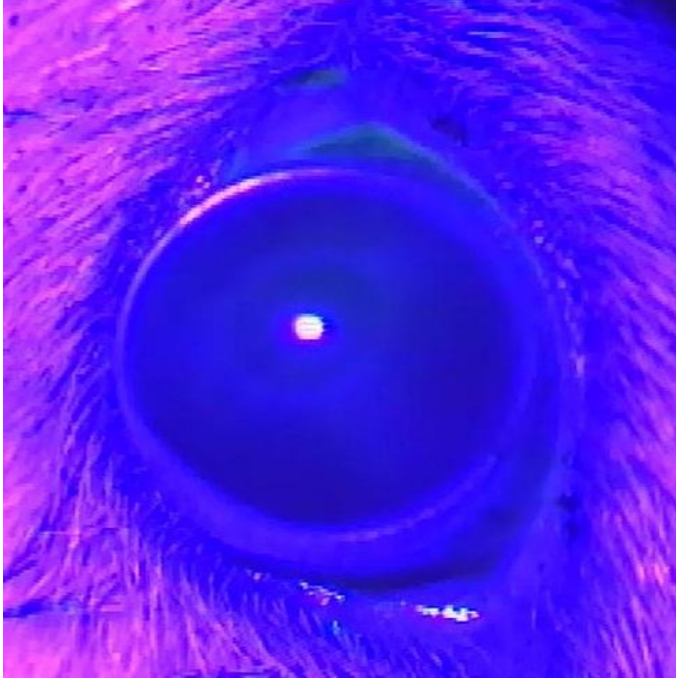
Şekil 11. Göze fluorescein boyasının damlatıldığı anın operasyon mikroskobu altındaki görünümü



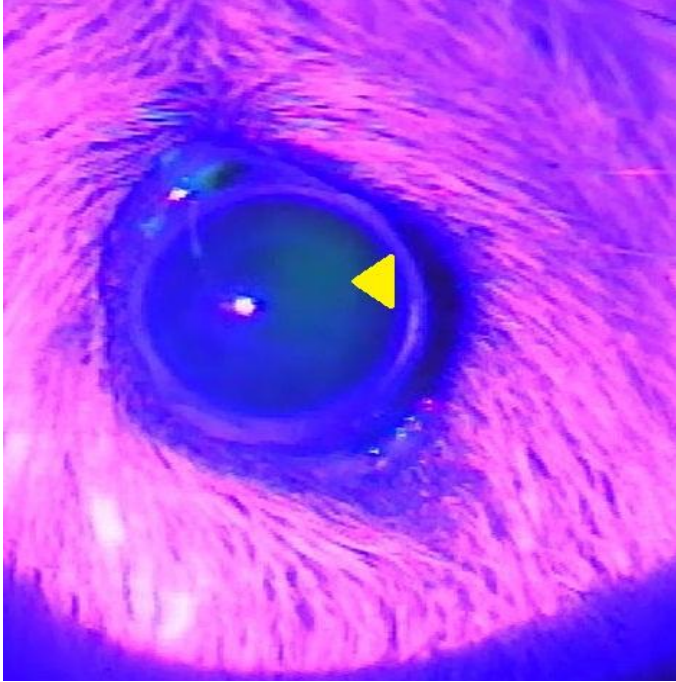
Şekil 12. Fluorescein damlatıldıktan sonra oküler yüzeyin operasyon mikroskobu altındaki görünümü



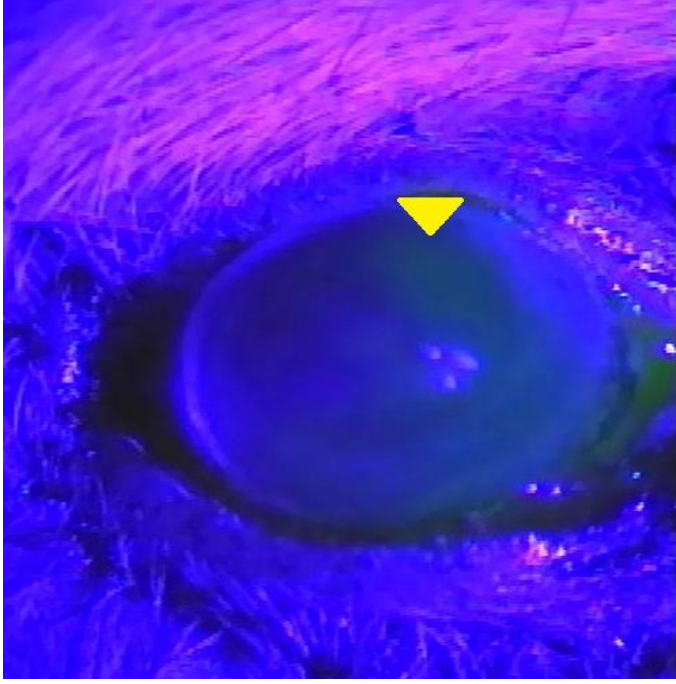
Şekil 13. 2. haftada Kont-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 0).



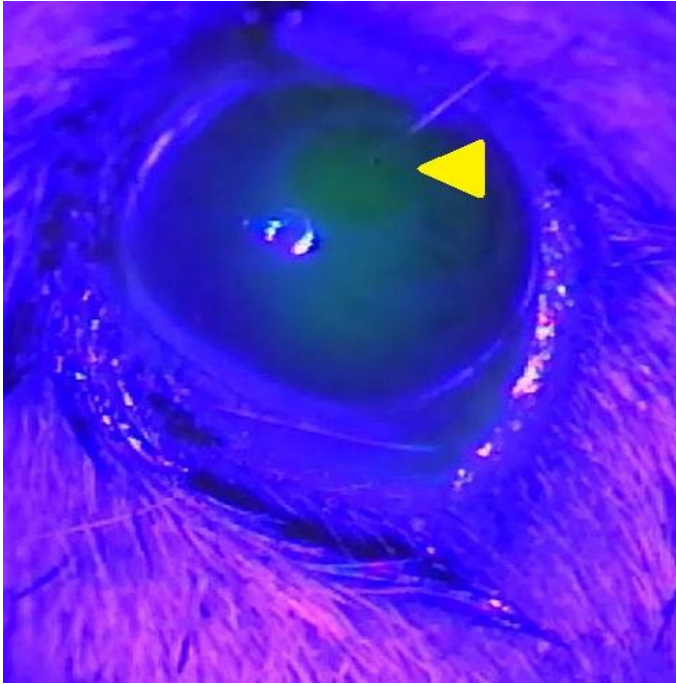
Şekil 14. 4. haftada Kont-Ret alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 0).



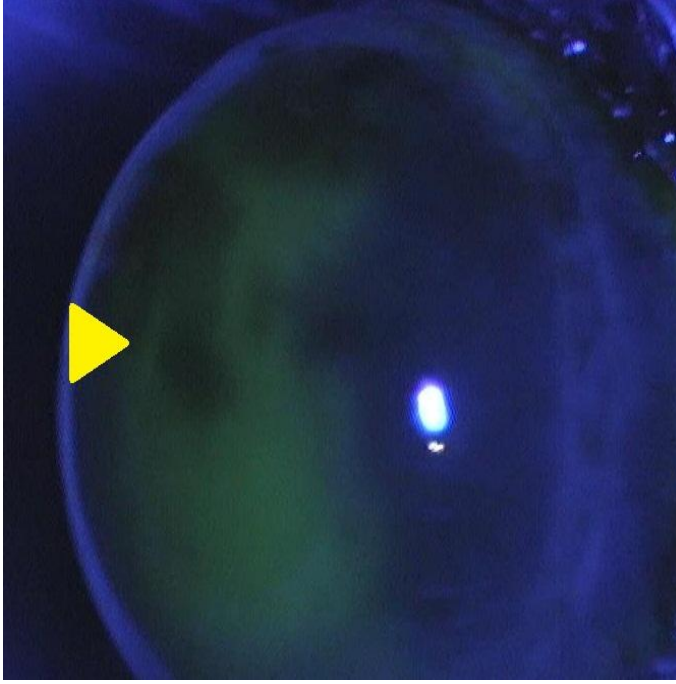
Şekil 15. 6. haftada Den-CsA alt grubundan bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görüntüsü (Skor 1).



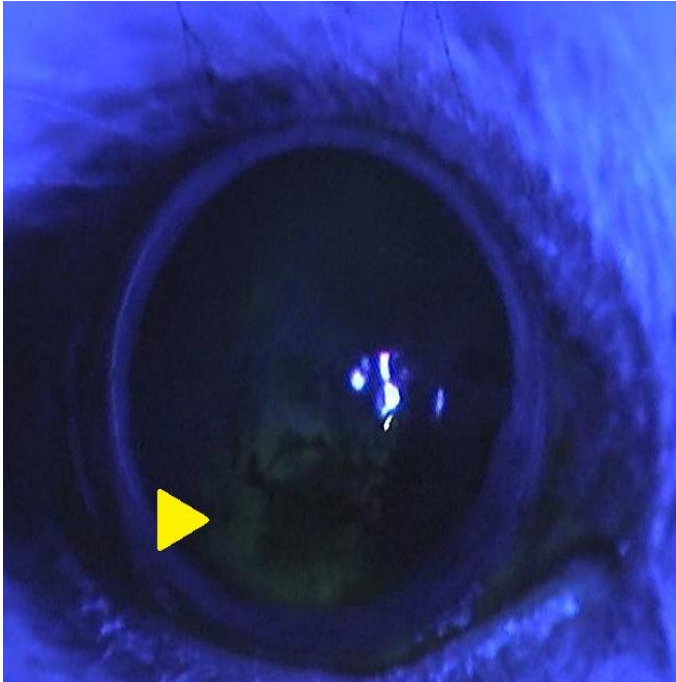
Şekil 16. 2. haftada Den-FML alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi altındaki görüntüsü (Skor 1).



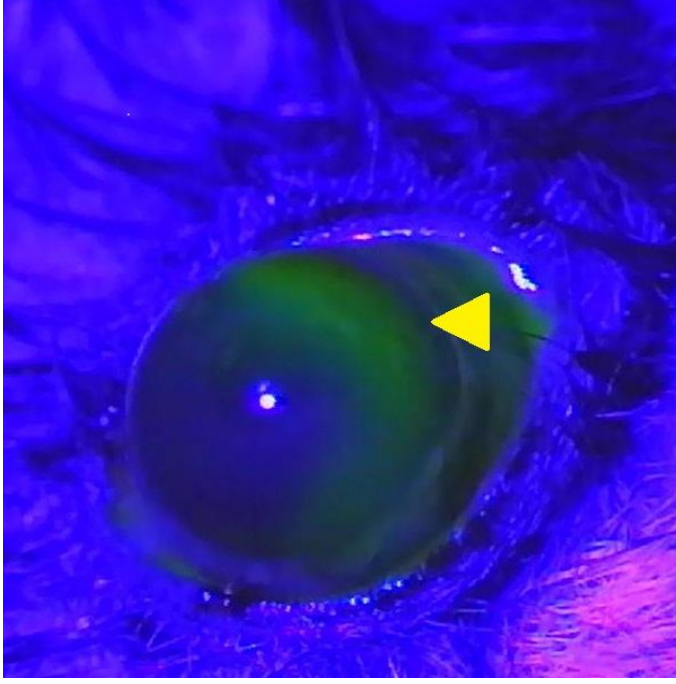
Şekil 17. 4. haftada Den-CsA alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 1).



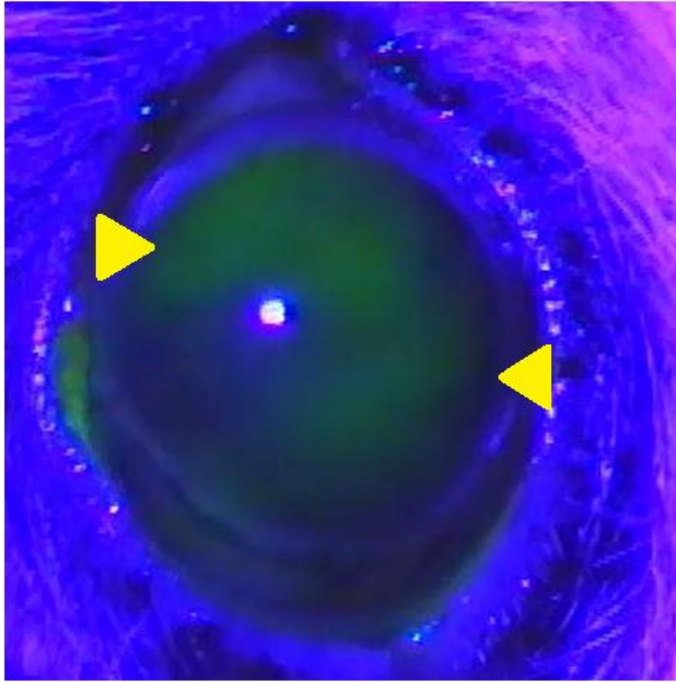
Şekil 18. 2. haftada Den-PAT alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görüntüsü (Skor 2).



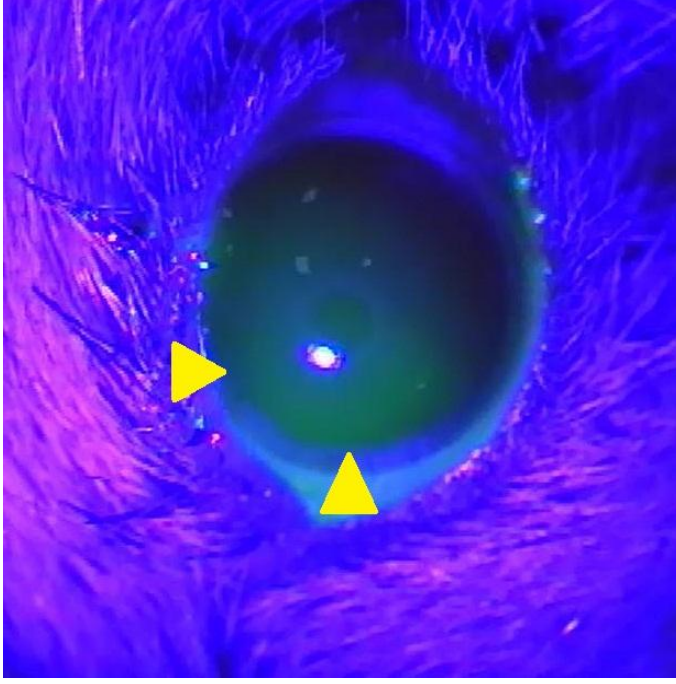
Şekil 19. 4. haftada Den-SH alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtesi altındaki görüntüsü (Skor 2).



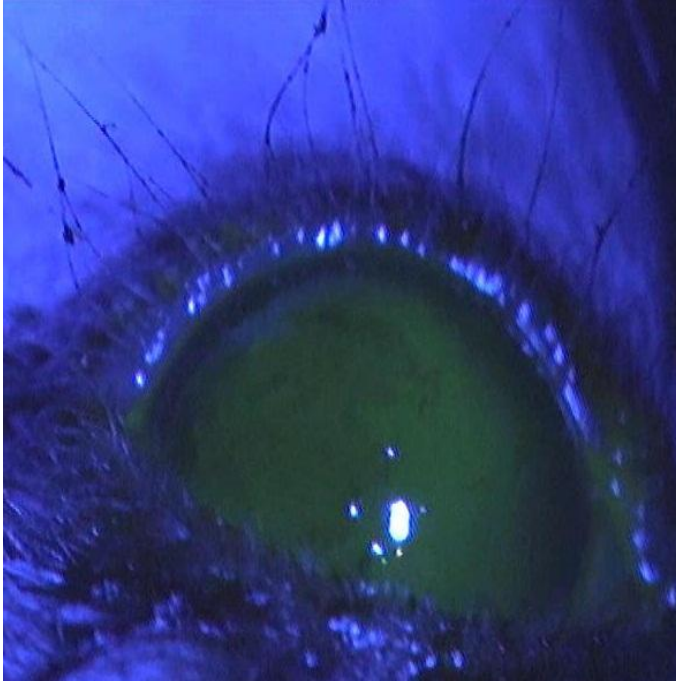
Şekil 20. 2. haftada Den-DOK alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 2).



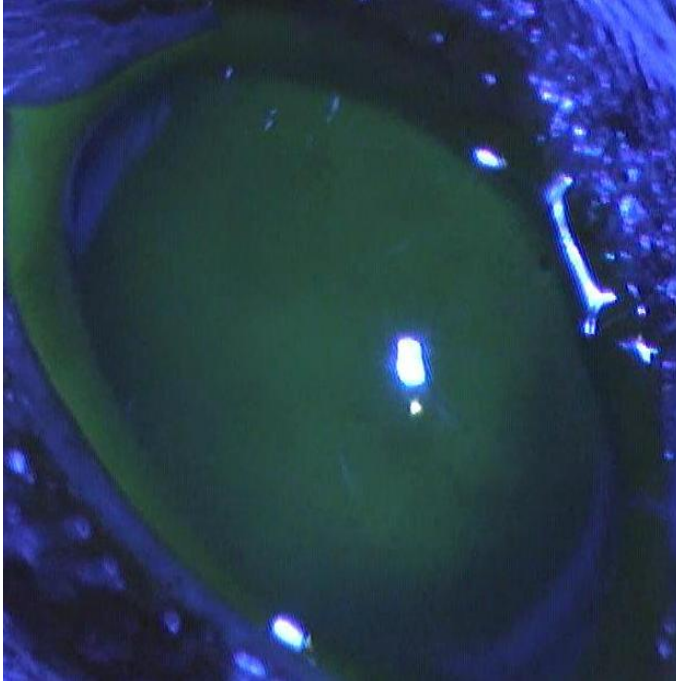
Şekil 21. 4. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 3).



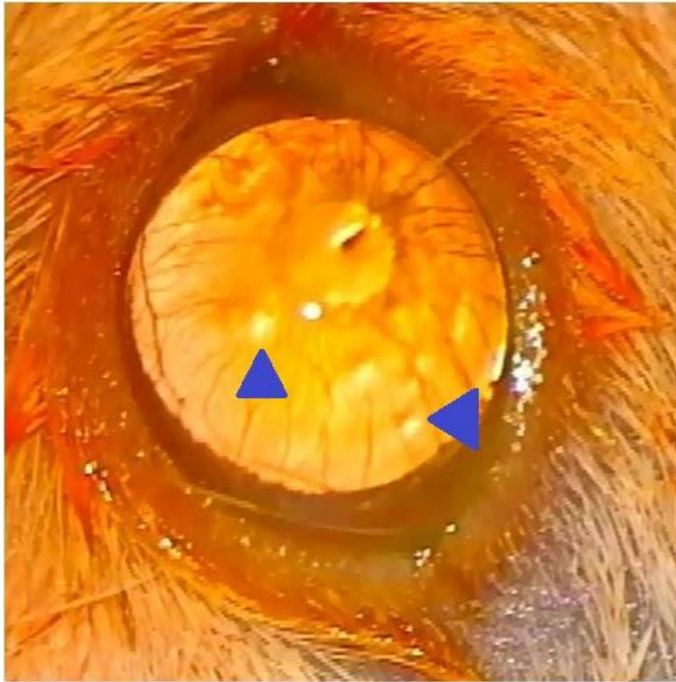
Şekil 22. 6. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 3).



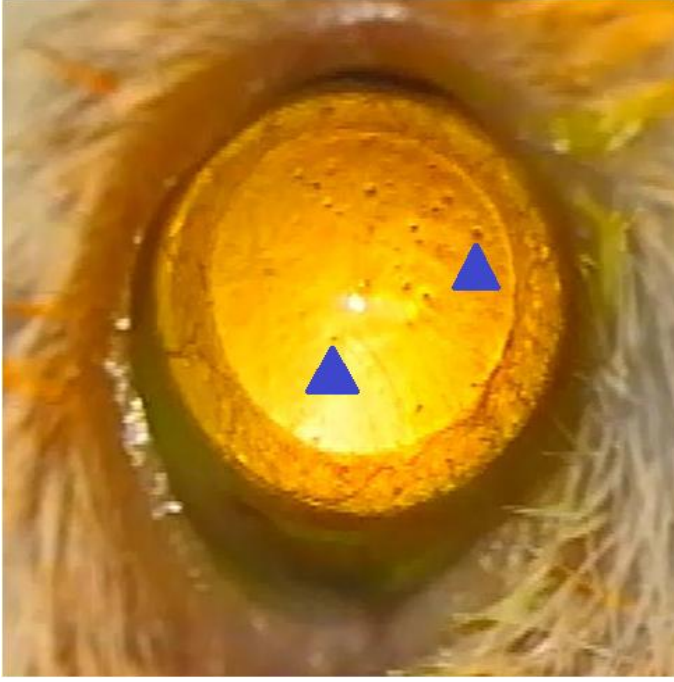
Şekil 23. 6. Haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 4).



Şekil 24. 6. Haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin korneal fluorescein boyanmasının kobalt mavisi filtresi altındaki görünümü (Skor 4).



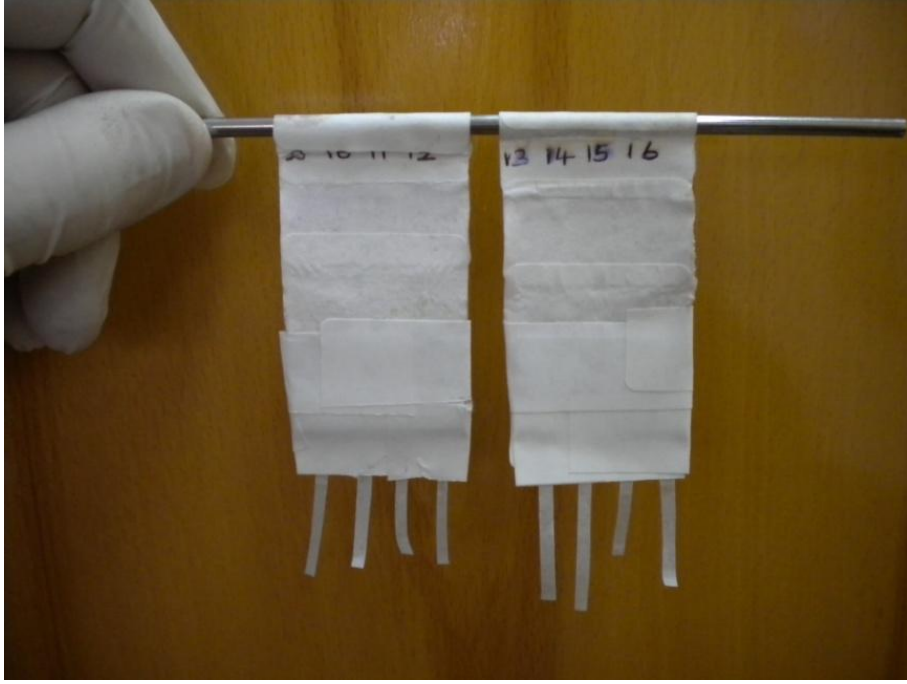
Şekil 25. PGF'deki noktasal kırılmaların başlangıç aşamasındaki görünümü.



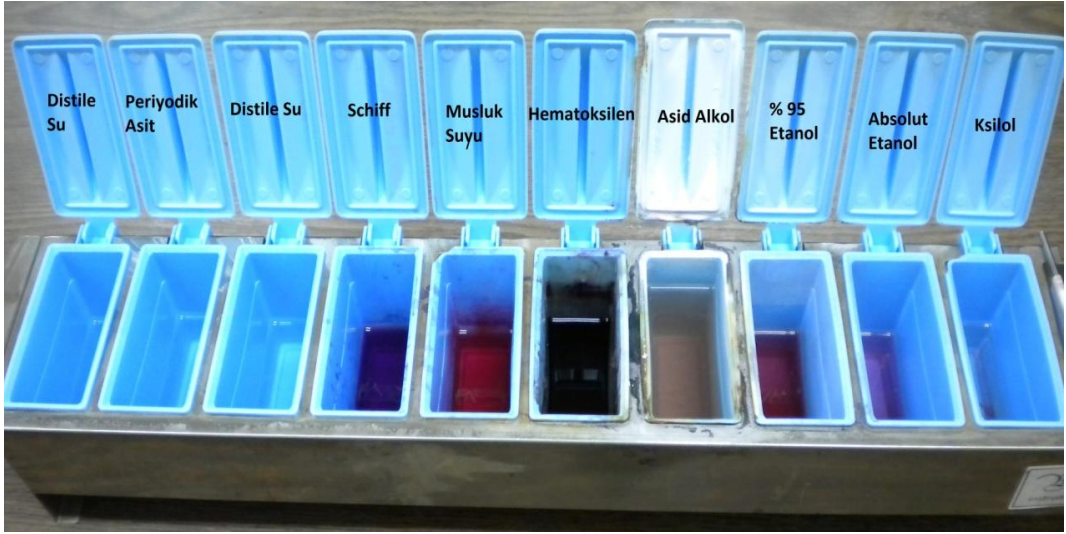
Şekil 26. PGF'deki noktasal kırılmaların operasyon mikroskobu altındaki görünümü.



Şekil 27. Fluorescence Multiple Reader ve 384 odacıklı mikroplate'in görünümü.



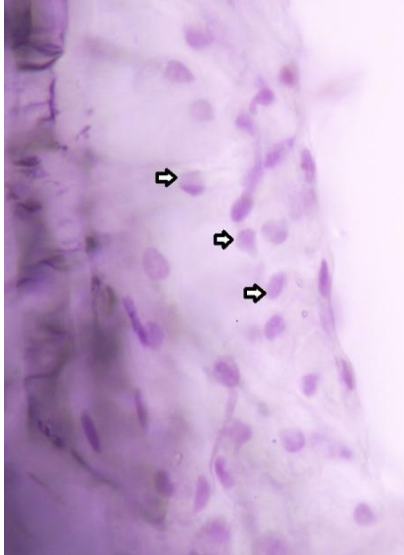
Şekil 28. İmpresyon sitolojisinde filtre kağıtlarının boyanmadan önceki görünümü.



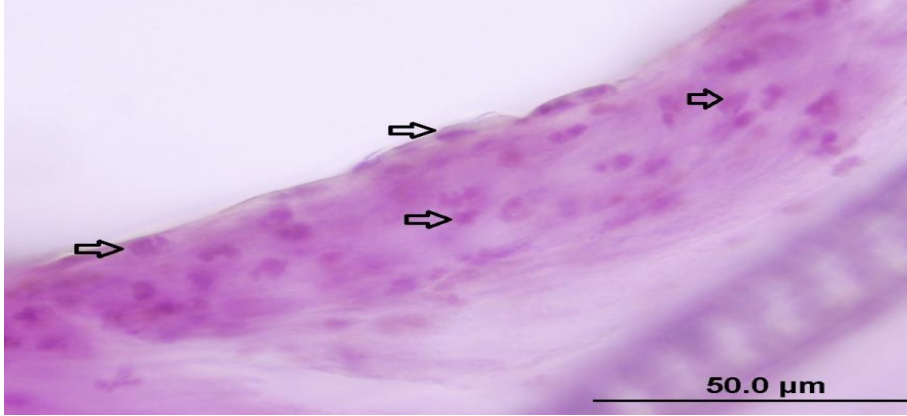
Şekil 29. İmpresyon sitolojisinde kullanılan boyama şalesinin görünümü.



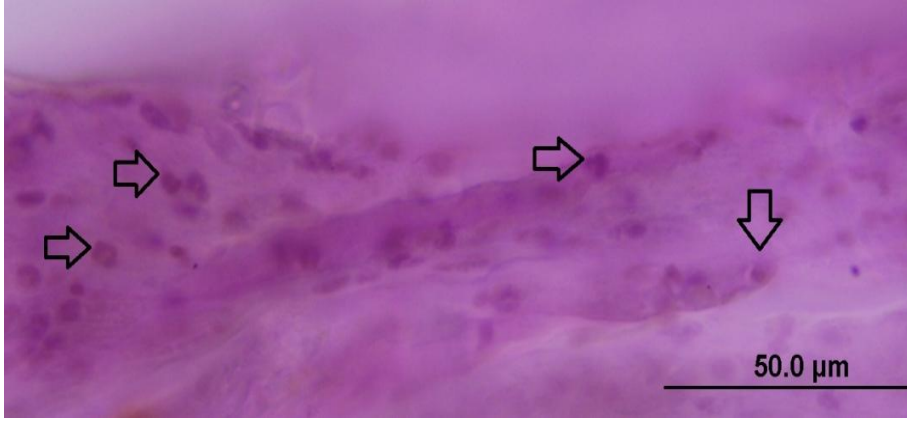
Şekil 30. İmpresyon sitolojisinde boyama sonrası filtre kağıtlarının preparat halindeki görüntüsü.



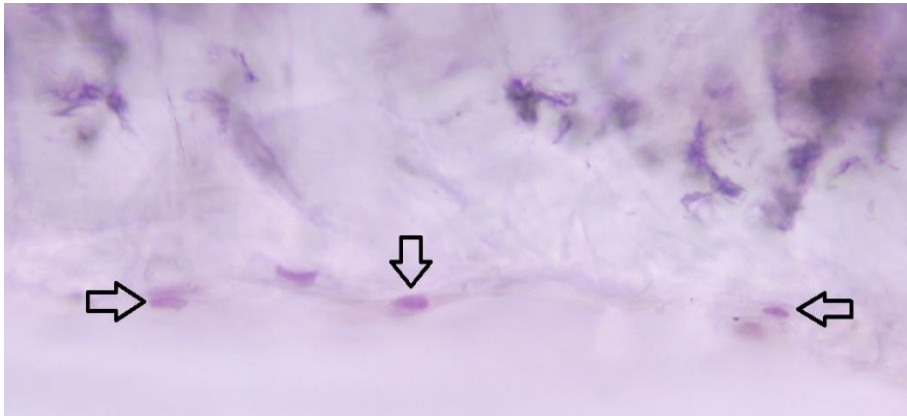
Şekil 31. 4. haftada Kont-DİK alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücre görüntüsü (x100)



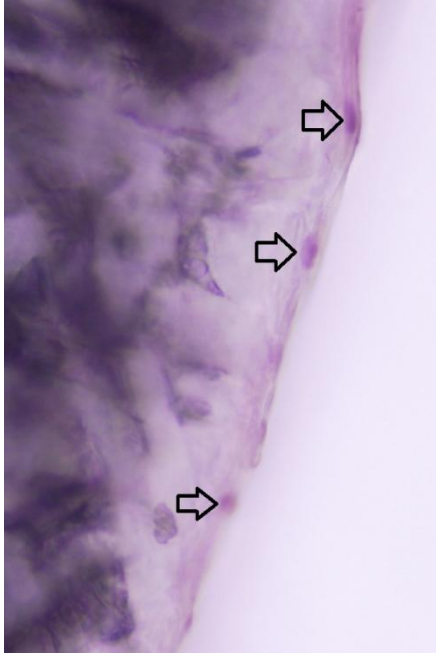
Şekil 32. 6. haftada Kont-SH alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).



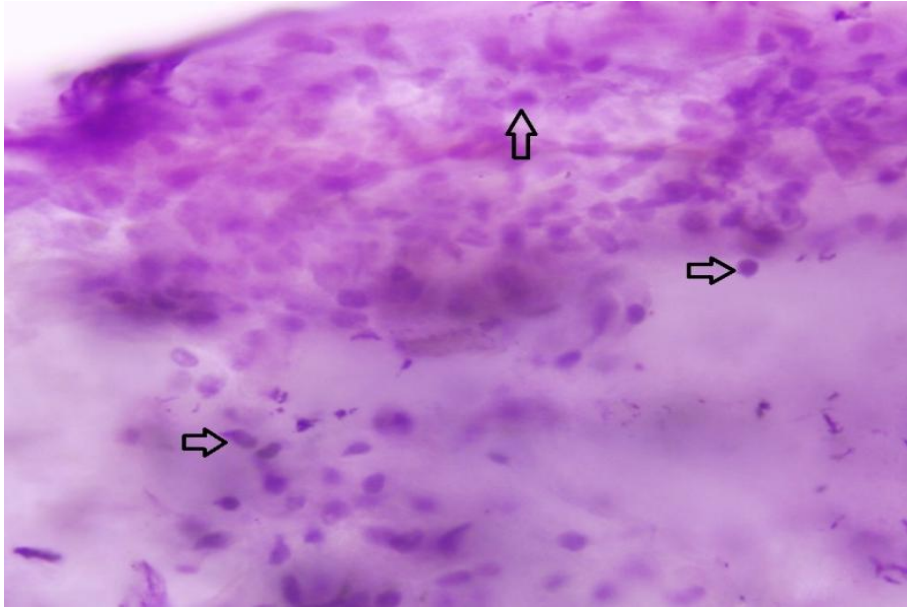
Şekil 33. 6. haftada Den-DİK alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).



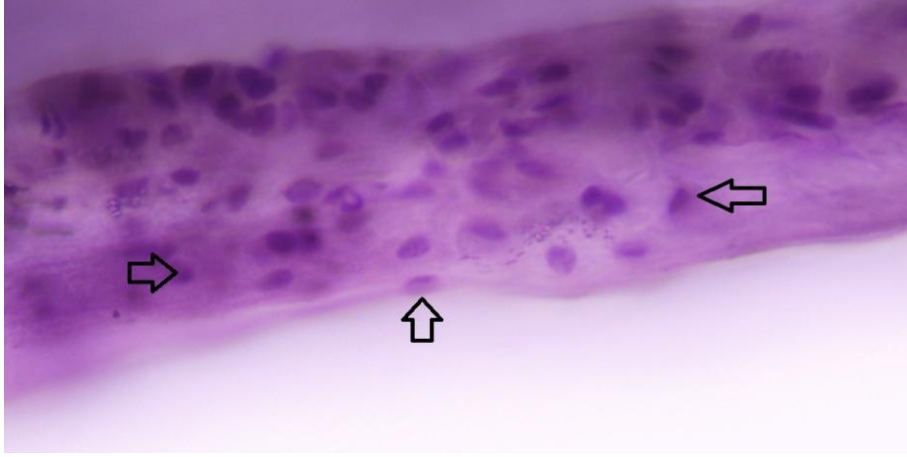
Şekil 34. 4. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).



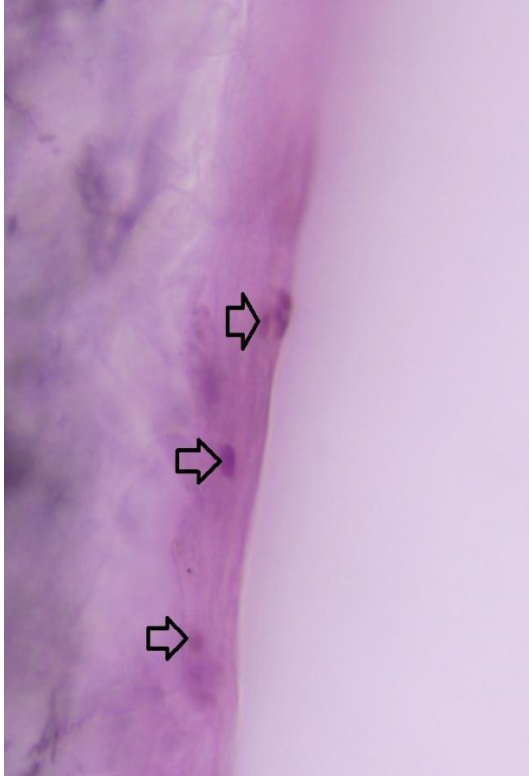
Şekil 35. 6. haftada Den-SF alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).



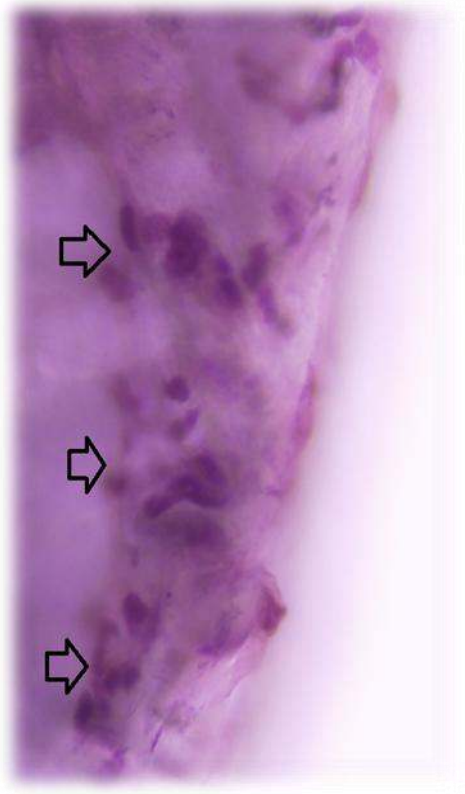
Şekil 36. 4. haftada Kont-RET alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).



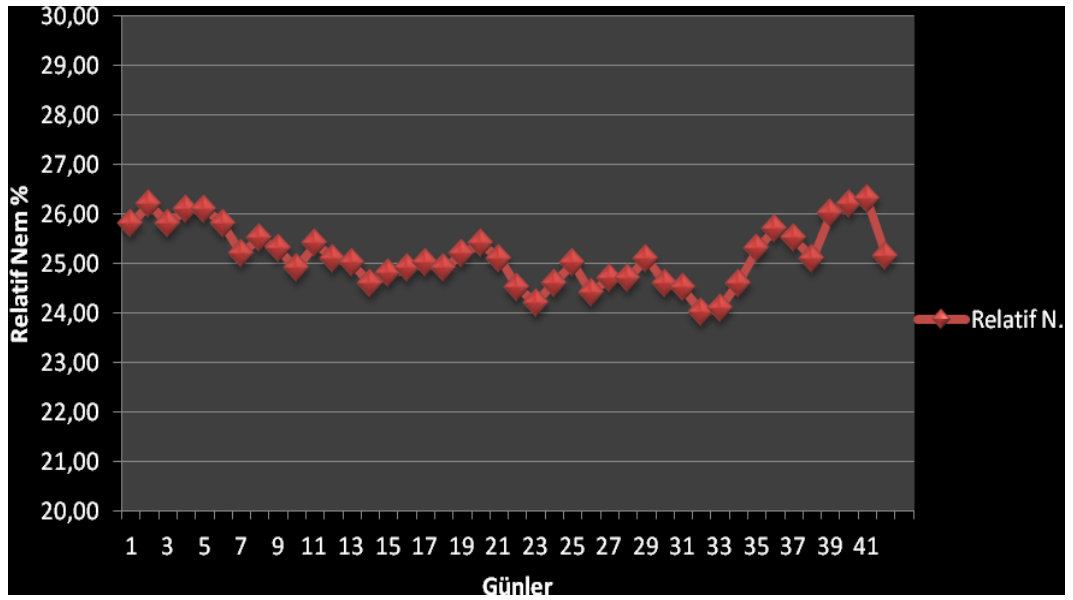
Şekil 37. 6. haftada Den-CsA alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisindeki goblet hücrelerinin görünümü (x100).



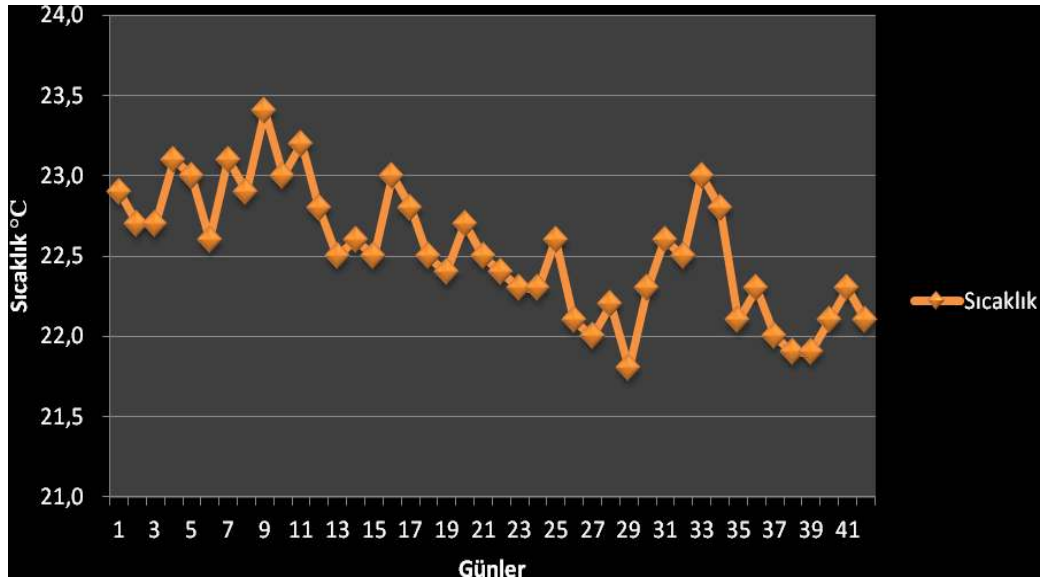
Şekil 38. 2. haftada Den-DOK alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisinde goblet hücrelerinin görünümü (x100).



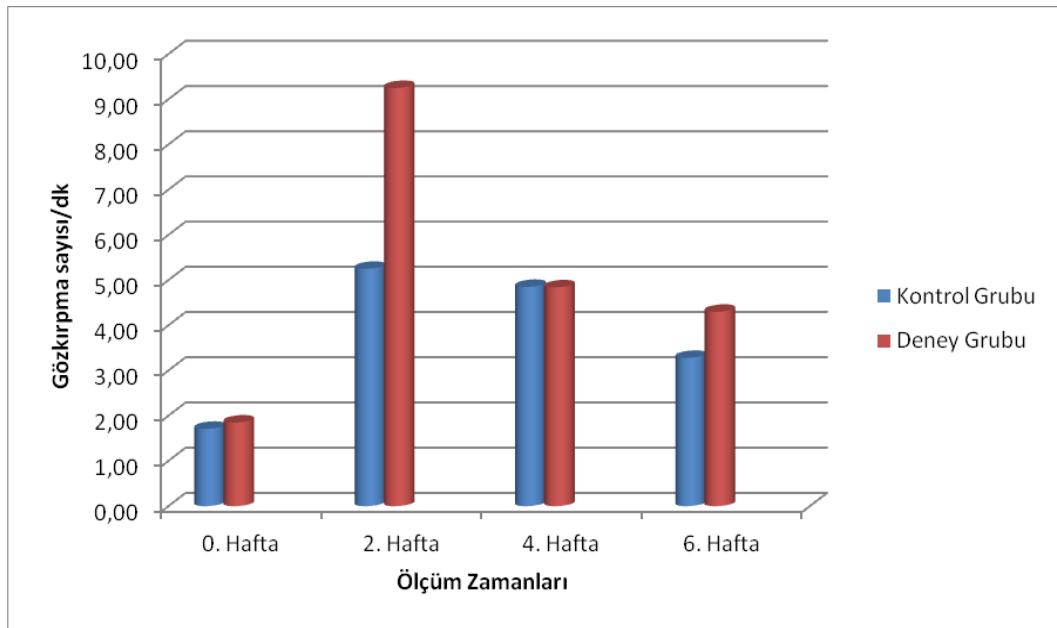
Şekil 39. 6. haftada Den-FML alt grubundaki bir deneğin impresyon sitolojisinde goblet hücrelerinin görünümü (x100).



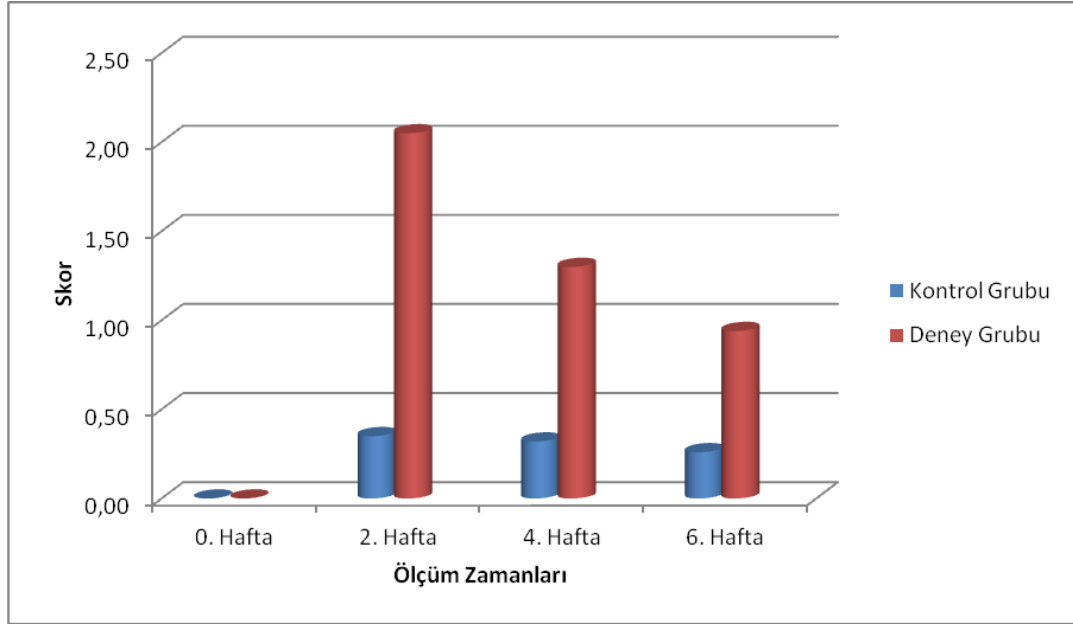
Şekil 40. KGK'da günlere göre RN oranlarının değişimi.



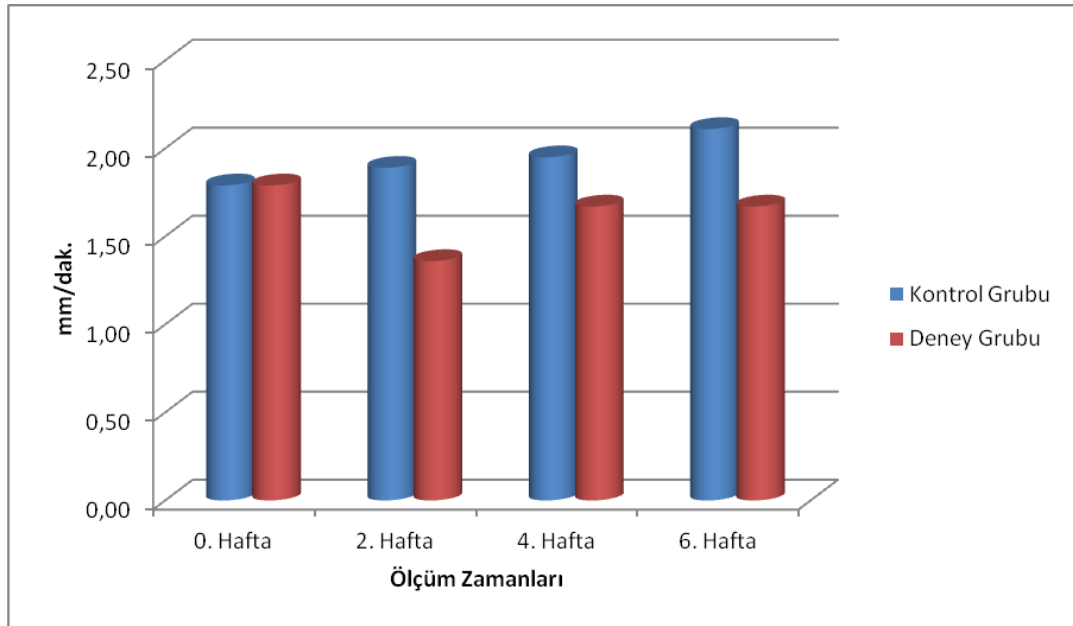
Şekil 41. KGK’da günlere göre sıcaklık değerlerinin değişimi.



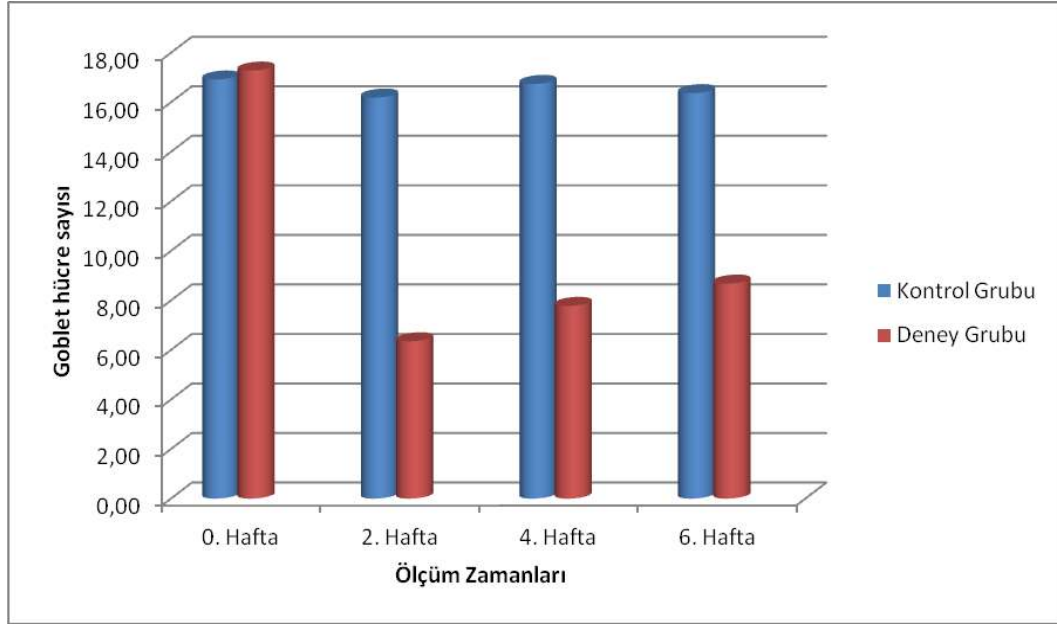
Şekil 42. Kontrol ve deney gruplarının göz kırpmaları sayılarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.



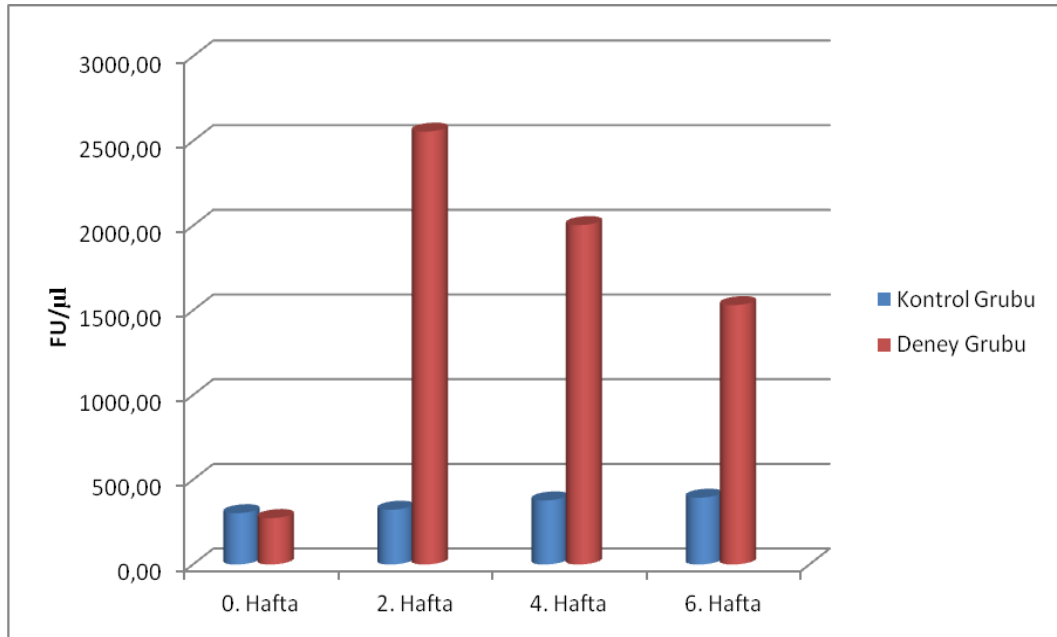
Şekil 43. Kontrol ve deney gruplarının korneal fluorescein boyanma skorlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.



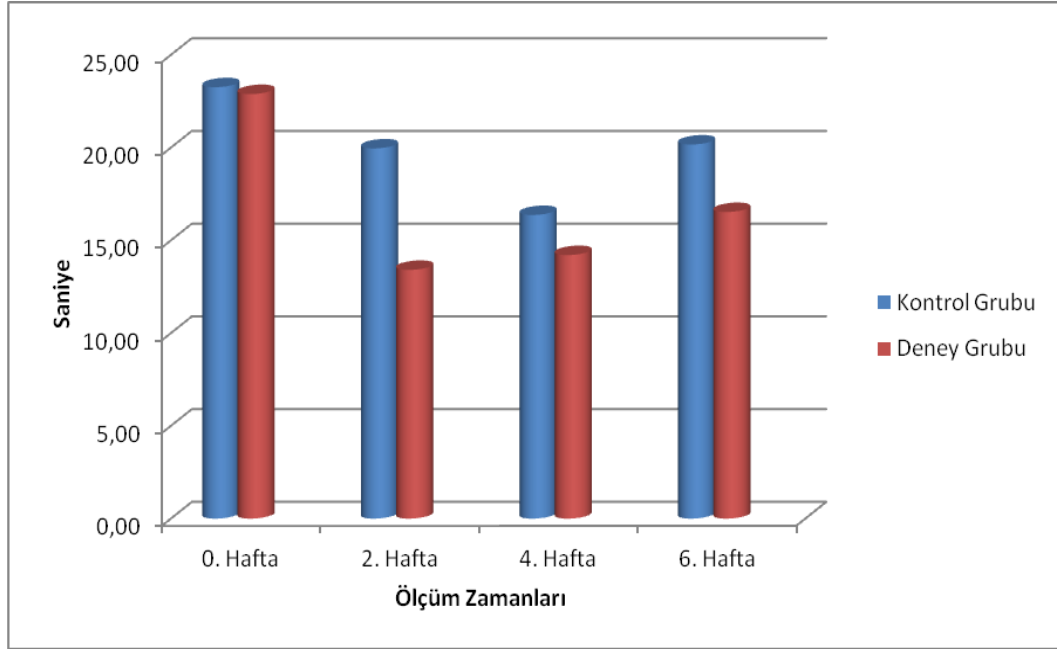
Şekil 44. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı üretim miktarlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.



Şekil 45. Kontrol ve deney gruplarının goblet hücre sayılarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.



Şekil 46. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı fluorescein miktarlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.



Şekil 47. Kontrol ve deney gruplarının gözyaşı kırılma zamanlarının kümülatif ortalamalarının ölçüm zamanlarına göre dağılımı.



Şekil 48. Kont-PAT alt grubundaki ölen deneğin göz kapaklarında ödem, konjunktivitis, kornea üzerinde katılaşmış muköz pelte ve burun altında tümöral bir kitlenin görünümü.



Şekil 49. Den-PAT alt grubundan bir deneğin baş bölgesinde ödematöz bir şişkinlik ve sol göz kapağında ekskoriyasyon.

6. TARTIŞMA

İnsanlardaki KGS'ye benzer şekilde geliştirilen hayvan modelleri, hastalığın patogenezisinde rol oynayan birçok faktörün araştırılmasında faydalı sonuçlar vermektedir (83). Bu modellerde, KGS oluşturmak amacıyla lakrimal sekresyonun mekaniksel (166, 184), hormonal (256) ve sinirsel yolla (8, 57) inhibisyonu ile oküler yüzeyde evaporasyona neden olan stres faktörlerinin (61, 83, 96, 290) kullanıldığı görülmektedir.

Gözyaşı filmi devamlı olarak; nem, sıcaklık ve hava akımı gibi oküler yüzeyde kurumaya neden olan stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Son yıllarda yapılan KG modellerinde bu faktörlerin yalnız başlarına (83) veya kombine olarak kullanıldığı görülmektedir (33, 61). Barabino ve ark (2005), yapmış oldukları KG modelinde, evaporatif stres oluşturmak amacıyla düşük RN (18.5 ± 5.1), yüksek hava akımı (15L/dak) ve sıcaklık ($21-23^{\circ}\text{C}$) gibi faktörlerin kombine etkisinden faydalanmışlardır. Bu araştırmacılar, Dursun ve ark (2002)'nin KG modellerinde kullandıkları sadece hava akımı faktörünün hastalık modeli için yeterli olmadığından skopolamin hidrobromür gibi antikolinergik ajanlarla süreci desteklemek zorunda kaldıklarını öne sürmüşlerdir. Barabino ve ark (2005), kullandıkları evaporatif stres faktörleri ile KG modelini oluşturduklarını, dolayısıyla antikolinergik bir ajan kullanmaya gerek duymadıklarını belirtmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da Barabino ve ark (2005) gibi bu 3 faktörün (düşük RN, yüksek hava akımı ve sıcaklık) evaporatif etkisinden kombine olarak faydalanmak için bir KGK tasarlanmıştır. KGK'da istenilen şartları oluşturmak için bir pilot çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada, kabin içine istenilen basınç ve hacimde kurutulmuş hava vermek amacıyla, literatürlerde

denenmiş (33) olan hava pompası kullanılmıştır. Ancak bildirilenin aksine bu pompanın istenilen hacimde ve basınçta hava akımı sağlayamadığı görülmüştür. Sonunda gereç ve yöntem kısmında detaylı olarak tanımlanmış HK kullanılmıştır. Bu kompresörün avantajı, daha önce kullanılan hava pompalarının (33) aksine verilen hava basıncının istenilen düzeye ayarlanabilir olmasıdır. Bu basınç, kompresör üzerine özel olarak monte edilen tüp sayesinde gerçekleştirilmiştir. Bu tüpün bir diğer avantajı ise kompresörün tüp içindeki basıncı yeterli düzeye getirdikten sonra sistemi otomatik olarak devre dışı bırakmasıdır. Bu da kompresörün uzun süre kullanılmasına dolayısıyla ömrünün uzamasına olanak sağlamıştır. Bu sistem sayesinde, daha önceki modellerde (33, 61, 83) uygulanması zor olan; bir çalışma kapsamında birden fazla kabinin ve daha fazla sayıda hayvan materyalinin aynı anda kullanılması mümkün olmuştur. Bu da hem maliyet hemde zaman tasarrufu sağlamıştır.

Kabinlere, literatürlerin (33, 61, 78, 83, 292, 293) önerdiği şekilde basınç, hız ve debide hava akımı verilmiştir. Ancak bu literatürlerde bahsedilmeyen fakat çalışmada tespit edilen kabin içi denek kümeleşmelerinin olduğu tespit edilmiştir. Bu kümeleşmelerin DHK'lerde hava akımının azaldığı orta kısımlarda yoğunlaştığı gözlenmiştir. Kümeleşmelerin deneklerin baş kısımlarını birbirilerinin içerisine gömmeleri şeklinde olduğu belirlenmiştir. Bu durum, deneklerin hava akımından özellikle gözlerini koruma refleksi olarak değerlendirilmiş; yapılan ön değerlendirmede başarılı oldukları da görülmüştür. Bunun da göz kuruluşunu etkileyeceği kanısına varılmıştır. Kümeleşme olayı kabine yerleştirilen fanlar sayesinde önlenmiştir. Fanların bu etkisini, DHK'lerde oluşturdıkları sürekli ve stabil bir hava türbülansıya gösterdikleri sanılmaktadır.

Bazı araştırmacılar (33, 61), kabin içerisine verilen kuru havanın içerdiği nem oranını minimal seviyelere düşürmek, kabin içi nemin uzun süre stabil kalmasını sağlamak, hayvan aktivitelerinden (idrar, dışkı v.b) ileri gelen kabin içi nem dalgalanmalarını önlemek ve hayvanların konforunu korumak için sistemi destekleyici olarak farklı tip desikatörler kullanmışlardır. Bu çalışmada desikatör olarak bazı model çalışmalardaki (33) gibi silika jel kullanılmıştır. Mevcut bulgularda (Tablo 40) nem oranının belirtilen limitler içinde olmasında bu desikatörün oldukça etkili olduğu sanılmaktadır. Silika jeller, özel olarak dizayn edilmiş desikatör hazinelerine yerleştirilmiştir. Böylece non-toksik olan bu maddelerle (33) direkt temasta oluşabilecek yan etkiler önlenmiştir. Hazinelere açılan delikler sayesinde hava akımının hazine içerisine rahatlıkla giriş-çıkışı sağlanarak silika jellerin desikatör özelliğinden maksimum olarak faydalanılmıştır.

Mevcut çalışmada KGK'da RN oranı % $25,1 \pm 0.61$ (Şekil 40), sıcaklık $22.5 \pm 0.4^\circ\text{C}$ (Şekil 41), her bir DHK'ye verilen hava debisi 15L/dak, akım hızı 2.3 ± 0.5 m/s, DHK'lere yerleştirilen her bir fanın dönme hızı 1200 ± 250 RPM, hava akımı ise 50 CFM (Cubic feet per minute) olarak ölçülmüştür. Bu ortalama değerler, son yıllarda yapılan KG modellerinde (33, 61, 78, 83, 292, 293) kullanılan KGK'lardaki RN, sıcaklık ve hava akımı ortalamalarıyla karşılaştırıldığında farkın sadece RN oranları ($\%18.5 \pm 5.1$) arasında olduğu görülmektedir. Bu çalışmada KGK'daki RN oranı belirtildiği gibi % $25,1 \pm 0.61$ idi. Yukarıdaki çalışmalarda kabin içi relatif nem oranının düşük olması KG'nin oluşma süresini kısaltmıştır (1-10 gün). Mevcut çalışmada bu fark sürenin uzatılmasıyla (14 gün) giderilmiştir.

KGS üzerine yapılan klinik ve model çalışmalarda hastalık süreci; aköz gözyaşı üretim miktarı (57, 129, 148, 150, 262, 297, 298) korneal fluorescein boyanma (20, 33, 61, 83, 148, 150, 262) korneal ve konjunktival epitelyum morfolojisi (33, 61), impresyon sitolojisi (26, 33, 136, 183) göz kırpma sayısı (148, 150), gözyaşı fluorescein temizlenme (83), gözyaşı kırılma zamanı (85, 190, 230, 244, 298) ve korneal fluorescein permabilite (83) testleri gibi birçok parametre yönünden değerlendirilmiştir. Çalışmamızda ise bu parametrelerden gözkırpma sayısı, aköz gözyaşı üretim miktarı, korneal fluorescein boyanma, gözyaşı kırılma zamanı, impresyon sitolojisi, gözyaşı fluorescein temizlenme ve korneal fluorescein permabilite testlerinden yararlanılmıştır. Bu testlerin sonuçları (Şekil 42-47) çalışmamızda kullanılan KG modelinin amacına ulaştığı ve bu amaçla geliştirilmiş alternatif KG model çalışmalarının (33, 61, 83) sonuçlarını desteklediği görülmektedir.

KGS'nin klinik belirtilerinden biri gözkırpma sayısındaki artıştır (101). Hastalık sürecinde gelişen batma (11), yanma (94), yabancı cisim hissi (94), ağrı ve ağrıya bağlı olarak gelişen blefarospazmın (43, 94) hastalarda göz kırpma refleksini arttırdığı öne sürülmektedir. Ağrı dışındaki diğer belirtilerin daha çok insanlar üzerinde değerlendirilecek subjektif veriler olduğu görülmektedir. Ancak çalışma sırasında korneal hasar belirtisi gösterenlerde göz kırpma sayısının arttığı bu da kurumanın ağrıyı; ağrısında göz kırpmayı tetiklediği görüşüne (94) paralellik göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada, deney alt gruplarının evaporatif strese maruz kaldıktan sonra yapılan ilk ölçümleri olan 2. hafta analizinde göz kırpma sayısının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak da önemli bir artış

göstermesi; KGS sürecinde gelişen evaporatif stresin gözkırpma sayısını arttırdığı görüşlerini (11) desteklemektedir.

Den-SF alt grubunun gözkırpma sayısının özellikle 3. ölçümden itibaren ciddi şekilde arttığı; diğer alt grupların ise azaldığı görülmüştür (Tablo 5). Den-SF'deki bu artışın devam eden evaporatif strese, diğer alt gruplardaki azalmanın ise kullanılan ajanların bu stres üzerine olan faydalı etkisine bağlanmıştır. Terapötik ajanların bu faydalı etkisini, hastalığın klinik belirtilerinden biri olan (94) ve birçok oküler rahatsızlıkla ilişkili olan (43, 101) göz kırpma sayısını azaltarak gösterdiği anlaşılmaktadır.

Ajanlar göz kırpma sayılarına göre, alt grup ve ölçüm zamanları gibi değişkenler yönünden genel olarak değerlendirildiğinde en olumlu etki gösterenin FML olduğu belirlenmiştir (Tablo 12). FML, kortikosteroid grubuna bağlı antiinflamatuvar bir ajandır (148, 150, 289). Etkisini, yangı öncesi sitokinlerin ve şemokinlerin üretimini, MMP-9 ve prostoglandin gibi yangının lipid mediatörlerinin sentezini (150), ICAM-1 salınımını (214) ve nüklear faktör gibi bazı yangı öncesi genlerin transkripsiyonel regülasyonunu azaltarak (150) ve lenfosit apoptozisini stimüle ederek (214) gösterdiği bildirilmiştir. KGS'nin patogenezisinde yangının önemli bir rolü olduğu, dolayısıyla hastalığın ancak bu sürecin durdurulması veya önlenmesiyle iyileştirilebileceği öne sürülmektedir (148). Bu amaçla KGS'nin tedavisinde birçok antiinflamatuvar ajan kullanılmaktadır (169, 190, 212, 289). Bunlardan biri olan FML'nin, KGS'li olgularda yabancı cisim hissi, kuruluk, yanma, ağrı ve fotofobi gibi oküler belirtileri hafiflettiği (289); gözyaşı üretim miktarı, korneal fluorescein boyanma (148), gözyaşı kırılma zamanı (289) ve impresyon sitolojisi (26) gibi testler

üzerine ise faydalı etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Daha öncede belirtildiği gibi yanma (94), yabancı cisim hissi ve ağrı (94) gibi oküler belirtiler gözkırpma sayısını arttırmaktadır. Mevcut çalışmada FML'nin gözkırpma sayısı üzerine olan azaltıcı etkisini, Yang ve ark (2006)'nın tespit ettiği şekilde yangıya bağlı oküler belirtileri hafifleterek gösterdiği sanılmaktadır. Ayrıca ajanın antiinflamatuvar etkili olması, evaporatif stres faktörleriyle deneysel olarak oluşturduğumuz KGS'nin patogenezisinde yangının da rolü olabileceği (148) görüşünü desteklemektedir.

Korneal fluorescein boyanma testi, KGS sürecinde oküler yüzey hasarının belirlenmesi amacıyla birçok klinik (20, 26, 108, 280, 289) ve model çalışmada (83, 148, 150) kullanılan bir testtir. Bu test sonucuna göre tüm deney alt gruplarının korneal boyanma skor ortalamalarının başlangıç ölçümüne göre 2. haftada artmış olduğu görülmektedir. Belirtilen ölçüm zamanındaki deney alt gruplarının verileri (2.05 ± 1.17) aynı dönemdeki kontrol grubununkiyle (0.35 ± 0.46) karşılaştırıldığında ise evaporatif strese tabi tutulan deney alt gruplarında oküler yüzey hasarının olduğu görülmektedir. Benzer sonuçlar, bazı model çalışmalarında da rapor edilmiştir (33, 61).

Terapötik ajanların 2 hafta süreyle kullanılmasından sonraki ilk ölçüm zamanı olan 4. haftada, Den-SF alt grubunun korneal fluorescein boyanma skor ortalamalarının artışını sürdürmesi evaporatif stres koşullarının giderek daha da belirginleştiğini göstermektedir. Den-SF dışında boyanma alanlarının artış gösterdiği bir diğer alt grubun ise Den-SH olduğu belirlenmiştir. Buradan 2 hafta süreyle bu ajanla tedavi edilen deneklerde belirtilen parametre yönünden iyileşme olmadığı sonucu çıkarılmıştır. SH'nin KGS'li olgularda korneal fluorescein

boyanma testi üzerine kısa sürede olumlu etki göstermediği başka bir çalışmada da bildirilmiştir (19). SF ve SH dışında kalan tüm deney alt gruplarda ise skor ortalamalarının azaldığı kaydedilmiştir. Yapılan çalışmalarda bu ajanlardan FML (148, 289), RET (132), CsA (141) ve DOK (150)'un belirtilen parametre üzerine kısa sürede faydalı etki gösterdikleri bildirilirken; DİK'in ise bu süre içinde herhangi bir iyileştirici etkisinin görülmediği (150) rapor edilmiştir. PAT'ın bu parametre yönünden kısa veya uzun sürede faydalı etki gösterdiğine dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Kontrol alt grubu denekler arasında tüm ölçüm zamanlarında korneal fluorescein boyanma testi yönünden önemli bir değişiklik bulunmamıştır (Tablo 7). Bu grubun kümülatif ortalamalarının deney grubuyla karşılaştırıldığında ortalama skorunun düşük olması terapötik ajanların önemli bir yan etkiye sahip olmadığını göstermektedir. Bu görüşü çalışmanın diğer parametreleri de genel olarak desteklemektedir (Tablo 6, 8, 9, 10, 11). Bu ajanların kısa süreli kullanımlarına bağlı yan etkilerin olduğunu gösteren bilgi mevcut değildir. Ancak DİK'in uzun süreli kullanımının korneal fluorescein boyanma test skorlamasında artışa ve korneal duyarlılıkta azalmaya neden olduğu, bundan dolayı bu ajan ile yapılan tedavilerde hastaların sürekli olarak gözlem altında tutulması gerektiği rapor edilmiştir (20).

Çalışma boyunca Den-SF alt grubundaki korneal fluorescein skor ortalamalarının yükselmeye devam ettiği, ancak son ölçüm zamanı olan 6. haftada bu yükselişin pik yaptığı görülmektedir (Tablo 7). Den-SF dışındaki tüm alt grupların skor ortalamalarının ise bu son ölçüm zamanında azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan KGK'daki evaporatif stresin haftalar geçtikçe

etkisini daha da arttırdığı anlaşılmaktadır. Bazı KGS modellerinde de benzer sonuçların alındığı görülmektedir (33, 61).

Terapötik ajanların 4 haftalık tedavi süresince korneal fluorescein boyanma skorlarına göre alt grup ve ölçüm zamanları gibi değişkenler yönünden genel bir değerlendirilmesi yapıldığında, en olumlu etkiyi gösterenin CsA olduğu saptanmıştır. İmmunomodülatör, immunosupresif ve antiinflamatuvar bir ajan (26) olan CsA etkisini; yangısal sitokin üretimi ve T hücre aktivasyonu için gerekli olan sitoplazmik transkripsiyon faktörleri (97, 214) ile apoptozisi önleyerek (231, 265) göstermektedir. Bu ajanın KGS üzerine olan terapötik etkisi araştırılmaya devam etmektedir (Ör, 141, 183, 184, 208, 231, 255). Lekhanont, Leyngold ve ark (2007), yapmış oldukları KG modelinde CsA ile tedavi edilen deneklerin korneal fluorescein boyanma alanlarında önemli iyileşmeler olduğunu rapor etmişlerdir. Kim ve ark (2009) bir klinik çalışmada Lekhanont ve Leyngold ve ark (2007)'ın bulgularına ilaveten, bu iyileştirici etkinin hızlı bir şekilde ortaya çıktığını tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar bu ajanın terapötik etkisini oküler yüzey inflamasyonunu önleyerek gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Benzer sonuçlar Park ve ark (2007) ile Kunert ve ark (2002) tarafından da bildirilmiştir. Belirtildiği gibi CsA, korneal epitelyal hasar üzerine diğer ajanlara göre daha faydalı etki göstermektedir. Bu ajanın korneal fluorescein boyanma alanları üzerine olan pozitif etkisini oküler yüzey inflamasyonunu önleyerek gerçekleştirdiği (132, 148) sanılmaktadır.

PGF, oküler sağlığın korunmasında oldukça önemli bir yere sahiptir (181, 207, 225, 263). Bu yapıyı oluşturan müsin, aköz ve lipid tabakalarında meydana gelen en küçük değişikliklerin gözyaşı fonksiyonunu ve fizyolojisini önemli

ölçüde etkileyeceği belirtilmektedir (225). Aköz gözyaşı yetersizliği, KGS'nin en önemli klinik belirtilerinden biridir (55). Bu yetersizliğin belirlenmesinde insan ile kedi, köpek, tavşan ve maymun gibi gözküresi büyük olanlarda STT, gözküresi küçük olan deney hayvanlarında ise fenol kırmızısı pamuk ipliği testi kullanılmaktadır (31, 233). Mevcut çalışmada da fenol kırmızısı pamuk ipliği testi kullanılmıştır. Önceki çalışmalarda değinilmemesine rağmen, bu ipliğin farelerde göze uygulanması esnasında kolay deforme olduğu görülmüştür. Bunu önlemek için alt göz kapağının bir pens yardımıyla açılıp yerleştirilmesi gerektiği, bu durumda tekrar eden uygulamalarda göz kapağında irritasyona yol açtığı saptanmıştır. Belirtilen olumsuzluktan, ipliğin kullanımının pratik olmadığı ve denekleri strese soktuğu anlaşılmıştır. Halbuki şuanda sürmekte olan bir çalışmamızda, fenol kırmızısı pamuk ipliğine alternatif olarak denenen absorbent paper pointin, ipliğin kullanımından kaynaklanan dezavantajları giderebileceği görülmüştür.

KG modellerinde evaporatif strese maruz bırakılan deneklerin gözyaşı üretim miktarlarında önemli azalmaların olduğu bildirilmiştir (33, 61, 83). Bu çalışmada da 2 haftalık dönemden sonra kontrol grubuyla karşılaştırıldığında deney grubunun tüm alt gruplarında gözyaşı üretim miktarında benzer azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın 4. haftasında yapılan analizlerde Den-SF'deki azalmanın devam ettiği, diğer alt gruplarda ise gözyaşı üretim miktarlarında artış olduğu gözlenmiştir. Den-SF'de belirtilen parametre yönünden sürekli olan bu azalma, stres faktörlerinin etkisinin devam ettiğini, diğer alt gruplardaki artış ise terapötik ajanların 2 hafta süreyle kullanımının gözyaşı üretim miktarı yönünden olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Bu parametre yönünden FML (26, 148,

150, 289), CsA (148) ve RET'in (132, 243, 251) kısa süreli faydalı etkisi birçok çalışmada da rapor edilirken; SH, DİK, PAT ve DOK'un bu sürede olumlu etki gösterdiğine dair bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmanın 6. haftasında Den-SF'nin gözyaşı üretim miktarı ortalamasının tüm ölçüm zamanları ile kıyaslandığında en az olması, evaporatif stresin zaman geçtikçe daha etkili hale geldiğini göstermektedir. Nitekim Chen ve ark (2008) da, evaporatif faktörlere maruz bırakılan deneklerin gözyaşı üretim miktarlarının haftalar ilerledikçe daha da azaldığını rapor etmişlerdir. Den-SF'ye ilaveten belirtilen ölçüm zamanında gözyaşı üretim miktarlarında düşme görülen diğer alt gruplar SH, FML ve DOK'tur. Yapılan çalışmalarda, bu ajanlardan DOK'un uzun süreli kullanımının gözyaşı üretim miktarında artış meydana getirmediği (150), FML'nin ise KGS tedavisinin her döneminde faydalı olduğu (26, 148, 150, 289) bildirilmiştir. Bunların dışında kalan diğer 4 alt grubun ise gözyaşı üretim miktarı ortalamalarındaki yükselmenin devam ettiği; ancak belirtilen ölçüm zamanında bu gruplar arasındaki farklılığın istatistiki açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$; Tablo 6). 4 haftalık tedavi süresince gözyaşı üretim miktarı yönünden olumlu etki gösterdikleri belirlenen RET (132, 243, 251) ve CsA'nın (148) bu etkileri yapılan bazı çalışmalarda da rapor edilmiştir. DİK'in belirtilen parametre yönünden istenilen etkiyi oluşturmadığı (150), PAT'ın ise gözyaşı üretim miktarını azalttığı bildirilmiştir (149, 281). Ancak bazı araştırmacılar (68,165) PAT'ın KGS'nin birçok klinik belirtisini hafifleterek tedavide faydalı etkiler gösterdiğini belirtmişlerdir.

Mevcut ajanlardan gözyaşı üretim miktarının artışı üzerine en olumlu etkiyi PAT'ın gösterdiği saptanmıştır (Tablo 12). Ancak, yapılan model

çalışmalarda, bu bulguların aksinde görüşlerin olduğu görülmektedir (149, 281). Mah ve ark (2008)  nceki araştırıcıların görüşlerini paylaşmalarına rağmen; bu ajanın orta ve hafif dereceli KGS olgularında batma, kaşıntı ve yanma gibi klinik belirtileri önlediğini rapor etmişlerdir. KGS’de bu belirtilerin sıklıkla g r ld ğu ve oluşumlarında aköz gözyaşı üretim miktarı azalmasının önemli rol oynadığı (101) bilinmektedir. Klinik belirtilerin giderilmesinde gözyaşı yerine geçen veya üretimini arttıran ajanlar kullanılmaktadır (24, 58, 152, 184, 197). Mevcut  alışmada, PAT’ın bildirilen klinik belirtiler (165, 68)  zerine olumlu etkisinin gözyaşı  remini üzerine olan pozitif etkisinden kaynaklandığı sanılmaktadır.

BUT, KGS’li olgularda PGF stabilitesinin belirlenmesinde rutin olarak kullanılan, diagnostik öneme sahip bir testtir (31, 55, 125, 233). PGF instabilitesi bulunan olgularda BUT’un sağlıklı olanlara göre kısa olduğu bilinmektedir (125). Evaporatif stresin bu parametre üzerine negatif etkisinin bulunduğu da rapor edilmiştir (135). Çalışmanın 0 ile 2. haftaları arasında deney grubunun, 2. haftada ise kontrol ve deney gruplarının kümülatif ortalamaları karşılaştırıldığında BUT’un deney grubunda 2. haftada belirgin bir şekilde kısaldığı tespit edilmiştir (şekil 47). Bu sonuçlar, yukarıdaki araştırıcıların görüşlerini desteklemektedir.

Dördüncü haftada D K, CsA ve DOK’un; 6. haftada ise SF ve SH dışındaki deney gruplarına ait ajanların BUT’u uzattığı belirlenmiştir. Bu sonuçlardan, D K, CsA ve DOK’un BUT  zerine olumlu etkiler gösterdiği anlaşılmaktadır. Yapılan  alışmalarda CsA (183, 208) ve D K (20)’in belirtilen parametre yönünden olumlu etki gösterdikleri rapor edilmiştir. Çalışmanın son ölçüm zamanı olan 6. haftada, Den-SF grubunun BUT ortalamasının diğer ölçüm zamanlarıyla kıyaslandığında en az olmasının nedeni, belirtildiği gibi (135)

deneklerin evaporatif stres faktörlerine uzun süre maruz kalarak PGF stabilitesinin bozulmasına bağlanabilir.

Çalışmanın bulguları ve yukarıdaki değerlendirmeden anlaşıldığı üzere BUT yönünden en etkili ajanın CsA olduğu görülmektedir. CsA, yangısal sitokin üretimini, T hücre aktivasyonunu (97, 214) ve apoptozisi önleyen (231, 265), gözyaşı üretimini (148) ve goblet hücre dansitesini ise arttıran (132, 141, 183, 184, 208) immunomodülatör ve yangı önleyici bir ajandır.

Bazı araştırmacılar PGF instabilitesinin müsin eksikliğinden ileri geldiğini, bu eksikliğin ise müsin üreten goblet hücrelerinin yetersizliğinden kaynaklandığını belirtmişlerdir (184, 208). Yapılan birçok çalışmada, CsA'nın KGS'li olgularda goblet hücre dansitesini arttığı (132, 141, 183, 184, 208) ve BUT'u uzattığı (110, 132, 183, 206) rapor edilmiştir. Mevcut çalışmada bu ajanın BUT üzerine olan olumlu etkisini, belirtildiği üzere (132, 141, 183, 184, 208) müsin üreten goblet hücre sayısını arttırıp PGF stabilitesini etkileyerek gösterdiği sanılmaktadır. Nitekim yapılan sitolojik bulgularda elde edilen sonuçlar (Tablo 12), CsA'nın goblet hücre sayısı açısından diğer ajanlarla karşılaştırıldığında 3. sırada olması, bu ajanın goblet hücre sayısını arttırdığı dolayısıyla belirtilen görüşleri desteklediği görülmektedir.

Gözyaşı filminin en iç katmanı olan müsin tabakanın, korneal yüzeyin kurumasını önlediği ve gözyaşı filminin bütünlüğünü koruduğu belirtilmektedir (73, 121, 207). Bu tabakanın büyük bir bölümü konjunktival goblet hücrelerinden salgılanmaktadır (73, 207, 225). Goblet hücre sayısındaki azalmanın müsin tabakayı bozarak PGF'yi instabil hale getirip korneal epitelyal hasara neden olduğu bildirilmiştir (8, 73, 207). İnsan ve hayvanlarda birçok klinik ve deneysel

çalışmada (8, 49, 134, 161, 228) goblet hücre dansitesinin belirlenmesi amacıyla impresyon sitolojisi tekniği kullanılmış, mevcut çalışmada da bu teknikten yararlanılmıştır. Fare ve ratlarda konjunktivadaki goblet hücrelerinin fornikslerde yoğunlaştığı ve bu yoğunlaşmaların kümeleşmeler halinde olduğu (118); insan, hamster ve tavşanlarda ise konjunktivaların tamamında bağımsız bir dağılım gösterdikleri (104, 118) bildirilmiştir. Çalışmamızda konjunktival doku örnekleri, Huang ve ark (1988)'nın bildirdiği üzere forniks bölgesinden alınmış, test sonuçlarında ise dikkati çektikleri goblet hücre kümeleşmelerine ek olarak tek tek dağılım gösteren hücrelerde görülmüştür.

Düşük RN, yüksek hava akımı ve sıcaklık gibi evaporatif stres faktörleriyle oluşturulan bir KG modelinde, konjunktival goblet hücre dansitesinin azaldığı tespit edilmiştir (33). Aynı faktörlerin kullanıldığı çalışmamızda, 2. haftada yapılan sitolojik analizlerde deneyin tüm alt gruplarında, 4 ve 6. haftalarda ise sadece Den-SF'de benzer sonuçlar alınmıştır. Bu bulgular, yüksek hava akımı ve antikolinergik ajan kullanılarak oluşturulan bir diğer model çalışmada (83) da gözlemlenmiştir. Evaporatif strese bağlı goblet hücre sayısı üzerindeki azalmanın, 6. hafta analiz sonuçlarına göre kullanılan ajanların tümü tarafından önlendiği görülmüştür. Sadece 4. haftada PAT'ın, goblet hücre sayısında azalmalara yol açtığı tespit edilmiştir. Buradan bu ajanın uzun vadede, diğerlerinin ise kısa sürede etki gösterdikleri anlaşılmaktadır. Yapılan çalışmalarda SH (18,19), FML (26, 289), RET (136) ve CsA'nın (141, 183, 208) goblet hücre sayılarını kısa sürede arttırdıkları, PAT'ın ise azalttığı (68) rapor edilmiştir.

Bir önceki paragrafta tüm terapötik ajanların goblet hücre sayısını arttırdığı belirtilmiştir. Bunlardan en etkilisinin DİK olduğu görülmektedir (Tablo

12). DİK, oküler yangı ile seyreden hastalıkların tedavisinde kullanılan non-steroid yapıda antiinflamatuvar etkili bir ajandır (20, 21, 25, 93, 150, 234). NSAID'ler, etkilerini siklooksijenaz enzimini inhibe edip, yangısal sürecin başlamasında ve devamında önemli rol oynayan endojen prostoglandinlerin sentezini azaltarak gösterirler (98, 195, 234). Bunların, gözde benzer etki ve amaçla kullanılan ancak uzun sürede yan etki oluşturan kortikosteroidlere (169) alternatif olduğu (150) belirtilmektedir. Bir çalışmada, KGS'li olgularda NSAID'lerin konjunktival goblet hücre dansitesinde önemli bir artışa neden olmadığı rapor edilmiştir (26). Mevcut çalışmada, DİK'in goblet hücre sayısı üzerine olan olumlu etkisi, evaporatif stres faktörlerinden kaynaklanan oküler yangıyı (20, 21, 25, 83, 93, 150) önlemesine bağlanabilir. Bu varsayım, KGS'nin patogeneziinde yangının önemli rol oynadığına dair görüşleri (77, 109, 143) de destekler niteliktedir.

Oküler yüzeyin fonksiyonel ünitesinin en dinamik yapısı olan gözyaşı filmi (172, 225); yüzeyin temizlenmesi, beslenmesi ve yağlanması sağlamakta, dış etkenlere karşı ise fiziksel ve immunolojik bir bariyer görevi yapmaktadır (225). Bu yapının en önemli fonksiyonlarından biri olan gözyaşı temizlenmesi, oküler yüzey sağlığının korunmasında etkili bir rol oynar (76). Sağlıklı bir gözde, stabil olan PGF'nin, oküler yüzeyi yabancı cisimlerden, toksik maddelerden ve yangısal sitokinlerden temizlediği bildirilmiştir (1). Gözyaşı temizlenmesindeki yetersizlik; oküler yüzeydeki yangı, irritasyon, epitelyal hasar ve aköz gözyaşı üretim miktarının azalmasıyla ilişkilidir (1, 76, 83). Bu yetersizliğin, gözyaşında sitotoksik faktörlerin, proteolitik enzimlerin ve yangı öncesi sitokinlerin birikimine neden olarak yangıyı tetiklediği bildirilmiştir (76).

Lakrimal fonksiyonel ünitenin ve PGF kalitesinin değerlendirilmesinde gözyaşı fluorescein temizlenme testinden yararlanılmaktadır (31). Bu testin ayrıca oküler yüzeyde yangısal sürecin belirlenmesine de katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (1, 76). Gözyaşı temizlenme testinin; gözyaşı döngüsü, fluorofotometrik ve standardize edilmiş optik skala metodları vardır (31). Mevcut çalışmada, bu metodlardan en güvenilir ve objektif sonuçların alındığı öne sürülen (1, 31) fluorofotometrik analiz kullanılmıştır.

Yukarıda belirtildiği gibi gözyaşı temizlenmesindeki yetersizlik, aköz gözyaşı üretim miktarının azalmasıyla ilişkilidir (1, 76, 83). Evaporatif stres faktörleri gözyaşını buharlaştırarak miktarını azaltmakta, bunun sonucu olarak PGF instabilitesi gelişmekte ve gözyaşı temizlenmesi azalmaktadır (76). Mevcut çalışmada 2. haftada tüm deney alt gruplarının, 4 ve 6. haftada ise Den-SF'nin kontrol grubuna göre gözyaşı fluorescein miktarlarının oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 46). Buradan gözyaşı miktarının düştüğü dolayısıyla bu durumun araştırmacıların (1, 76, 83) belirttiği gibi gözyaşı temizlenmesini azaltacağı görüşlerini desteklemektedir. Çalışmanın 4 ve 6. haftalarında Den-SF dışındaki diğer alt gruplara ait ajanların, gözyaşı fluorescein miktarlarını azalttığı, bu durumu ajanların gözyaşı üretim miktarını arttırarak sağladığı düşünülmektedir. Çalışmanın gözyaşı üretim miktarının ölçümünde kullanılan fenol kırmızı pamuk ipliği test sonuçları (Tablo 12) da bu görüşümüzü kısmen desteklemektedir.

Bu çalışmada, gözyaşı fluorescein temizlenme testi yönünden en olumlu etkiyi bir NSAID olan (234) DİK'in gösterdiği belirlenmiştir. Gözyaşı temizlenmesi ile aköz gözyaşı üretim miktarı arasındaki pozitif korelasyondan (1, 76, 83) yola çıkarak bu ajanın gözyaşı miktarını arttırdığı sonucu çıkarılabilir. Bu

görüşü fenol kırmızısı pamuk ipliği test sonuçları da desteklemektedir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, DİK'in gözyaşı temizlenmesi üzerine olan olumlu etkisinin, antiinflamatuvar özelliğinden (234) kaynaklandığı sanılmaktadır. Ajan, antiinflamatuvar etkisini daha öncede belirtildiği gibi (98, 195, 234) prostoglandinlerin sentezini önleyerek göstermektedir. KGS'de gözyaşı miktarının azalması sonucu yangısal sitokinler ve diğer mediatörler gözyaşında birikerek yangısal sürecin başlamasına veya devamına yol açmaktadır (2, 77, 248). Bu bilgiler ile mevcut çalışmanın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde KGS'nin patogenezisinde yangının rolü olduğu (82, 109, 143) ve gözyaşı temizlenmesindeki azalmaların yangıyı tetikleyeceği (76) sonucuna varılmıştır.

Korneal epitelyal hücreler; makromoleküller, patojenler ve hidrofilik maddelerin geçişini kısıtlayan bir bariyer görevi yaparak oküler sağlığın korunmasında önemli bir rol üstlenmektedir (89). Bu hücrelerin hasar görmesi durumunda, korneal epitelyal bütünlük bozulmakta, böylece korneal geçirgenlik artarak oküler yüzeye yabancı maddelerin geçişi kolaylaşmaktadır (178). Korneal epitelyumdaki klinik ve subklinik değişikliklerin derecelerini belirlemek amacıyla korneal bariyer fonksiyonunu test eden fluorofotometrik analizden yararlanılmaktadır (282). Korneal permabilite, hasara uğramış olan korneal epitelyuma penetre olan fluoresceinin miktarı belirlenerek ölçülmektedir (83). Bu parametrenin KGS'nin teşhisinde önemli olduğu bildirilmiştir (178). Mevcut çalışmada Dursun ve ark (2002)'nin metodu kullanılmıştır.

Yapılan klinik ve model çalışmalarda, KGS'li olgularda korneal permabilitenin arttığı rapor edilmiştir (89, 178). Bu durum evaporatif stres faktörlerinden biri olan hava akımına maruz bırakılmış denekler üzerine yapılan

çalışmada da teyit edilmiştir (83). Benzer metodla oluşturulan KGS modelimizde de aynı sonuçlara ulaşılmıştır.

Kontrol alt gruplarının korneal fluorescein permabilite ortalamaları arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olmamasından, terapötik ajanların korneal bütünlük (178) üzerine önemli bir yan etki oluşturmadıkları anlaşılmaktadır. Deney grubunda korneal permabilite açısından en etkili ajanın CsA olduğu belirlenmiştir (Tablo 12). Korneal permabilite ile korneal epitelyal hasar arasında pozitif bir ilişki olduğu öne sürülmektedir (89, 178). Buradan CsA'nın belirtildiği gibi (141, 148, 203) oküler yüzey hasarını önlediği anlaşılmaktadır. CsA'nın bu etkisi, korneal fluorescein boyanma testi sonuçlarımız ile de desteklenmektedir. CsA'nın korneal hasarı, gözyaşı miktarını arttırarak (148) veya epitel hücre apoptozisini önleyerek (97, 214) engellediği sanılmaktadır. Bu ajanın gözyaşı üretimi üzerine olan olumlu etkisi fenol kırmızısı pamuk ipliği test sonuçları tarafından da doğrulanmaktadır.

Çalışmada kullanılan terapötik ajanların KG modeli üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması yapılırken, uygulanan testler ve bu testlerin yapıldığı ölçüm zamanları ile alt grup gibi değişkenler açısından değerlendirilmiştir (Tablo 12). Buna göre CsA'nın 3, DİK'in 2, FML ve PAT'ın ise 1'er parametreye göre en etkili ajan oldukları belirlenmiştir. Tüm bu parametre sonuçları birlikte değerlendirildiğinde KG modelimiz üzerine 4 haftalık terapötik etkileri karşılaştırılan ajanlar en etkiliden en düşüğe doğru CsA, DİK, FML, PAT, RET, SH, DOK, SF şeklinde sıralanmaktadır. Bu sıralamadan en etkili ajanın CsA olduğu görülmektedir. Ayrıca sıralamanın ilk 3'ünde olan ajanların ortak yaygın etkileri göz önüne alındığında hastalığın patogenezisinde yangının önemli rol

oynadığı, KGS'nin tedavisinde antiinflamatuvar ajanların daima göz önünde bulundurulması gerektiği kanısına varılmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda KGS'nin patogenezisine, patogeneziste ise özellikle yangısal sürecin araştırılmasına daha da hız verilmesi yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Afonso AA, Monroy D, Stern ME, Feuer WJ, Tseng SC, Pflugfelder SC. (1999). Correlation of tear fluorescein clearance and Schirmer test scores with ocular irritation symptoms. *Ophthalmology*. 106(4):803-10.
2. Afonso AA, Sobrin L, Monroy DC, Selzer M, Lokeshwar B, Pflugfelder SC. (1999). Tear fluid gelatinase B activity correlates with IL-1alpha concentration and fluorescein clearance in ocular rosacea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 40(11):2506-12.
3. Akın F, Samsar E. (2001). Göz Hastalıkları, Medipres matbaacılık, Ankara
4. Akpek EK, Merchant A, Pinar V, Foster CS. (1997). Ocular rosacea: patient characteristics and follow-up. *Ophthalmology*. 104(11):1863-7.
5. Albietz JM. (2001). Dry eye: an update on clinical diagnosis, management and promising new treatments. *Clinical and experimental Optometry* 84 (1): 4-18.
6. Alkan F, İzci C, Tepeli C, Koç Y. (2004). Evaluation of the schirmer tear test in clinically normal Turkish hunting dogs (Turkish Greyhound). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 73: 269-273.
7. Almeida DED, Mamede FV, Ortiz JP, Laus JL. (2004). Iatrogenic keratoconjunctivitis sicca in a dog. *Ciencia Rural*. 34 (3): 921-924.
8. Altınors DD, Bozbeyoglu S, Karabay G, Akova YA. (2007). Evaluation of ocular surface changes in a rabbit dry eye model using a modified impression cytology technique. *Curr Eye Res*. 32(4):301-7.
9. Alves Mde C, Carvalheira JB, Módulo CM, Rocha EM. (2008). Tear film and ocular surface changes in diabetes mellitus. *Arq Bras Oftalmol*. 71(6 Suppl):96-103.
10. Ang RT, Dartt DA, Tsubota K. (2001). Dry eye after refractive surgery. *Curr Opin Ophthalmol*. 12(4): 318-22.
11. Anon. (2003). Optometric clinical practice guideline: care of the patient with ocular surface disorders. <http://www.aoa.org/documents/CPG-10.pdf>. 2002, updates April and June 2003. Erişim Tarihi: 13 Mart 2008.
12. Anon. (2007). Report of the Definition, Classification, Management and Therapy Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*. 5(2):1-163.
13. Anon. (2009). Keratoconjunctivitis sicca (Dry Eye). Page 1-2, (<http://www.memorial-610hospital.net>). Erişim Tarihi. 10.10.2009.
14. Anon. (2009). Anatomy of the eye. www.brusselsretina.be. Erişim tarihi. 20.12.2009.
15. Anon. (2010). Nasolacrimal apparatus in the dog. By permission from McCurnin. www.medical-dictionary.thefreedictionary.com. Erişim Tarihi. 10.06.2010.
16. Anon. (2010). Lacrimal functional unit. The tear film consists of components or layers. www.ajmc.com. Erişim tarihi. 16.10.2010.
17. Anon. (2010). Lacrimal layer; preocular tear film. www.medical-dictionary.thefreedictionary.com. Erişim Tarihi. 21.05.2010

18. Aragona P, Di Stefano G, Ferreri F, Spinella R, Stilo A. (2002). Sodium hyaluronate eye drops of different osmolarity for the treatment of dry eye in Sjögren's syndrome patients. *Br J Ophthalmol.* 86(8): 879-84.
19. Aragona P, Papa V, Micali A, Santocono M, Milazzo G. (2002). Long term treatment with sodium hyaluronate-containing artificial tears reduces ocular surface damage in patients with dry eye. *Br J Ophthalmol.* 86(2): 181-4. Aragona P, Stilo A, Ferreri F, Mobrici M. (2005).
20. Effects of the topical treatment with NSAIDs on corneal sensitivity and ocular surface of Sjögren's syndrome patients. *Eye (Lond)* 19(5):535-9.
21. Aragona P, Tripodi G, Spinella R, Laganà E, Ferreri G. (2000). The effects of the topical administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs on corneal epithelium and corneal sensitivity in normal subjects. *Eye (Lond)* 2:206-10.
22. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. (2009). The retina in Parkinson's disease. *Brain.* 132(Pt 5):1128-45.
23. Asbell PA, Chiang B. (1987). Phenol-red thread test compared to Schirmer test in normal subjects. *Ophthalmology*, 94(Suppl):128.
24. Asbell PA. (2006). Increasing importance of dry eye syndrome and the ideal artificial tear: consensus views from a roundtable discussion. *Curr Med Res Opin.* 22(11):2149-57.
25. Avisar R, Robinson A, Appel I, Yassur Y, Weinberger D. (2000). Diclofenac sodium, 0.1% (Voltaren Ophtha), versus sodium chloride, 5%, in the treatment of filamentary keratitis. *Cornea* 19(2):145-7.
26. Avunduk AM, Avunduk MC, Varnell ED, Kaufman HE. (2003). The comparison of efficacies of topical corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory drops on dry eye patients: a clinical and immunocytochemical study. *Am J Ophthalmol.* 136(4): 593-602.
27. Azzarolo AM, Bjerrum K, Maves CA, Becker L, Wood RL, Mircheff AK, Warren DW. (1995). Hypophysectomy-induced regression of female rat lacrimal glands: partial restoration and maintenance by dihydrotestosterone and prolactin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 36(1):216-26.
28. Azzarolo AM, Eihausen H, Schechter J. (2003). Estrogen prevention of lacrimal gland cell death and lymphocytic infiltration. *Exp Eye Res.* 77(3):347-54.
29. Azzarolo AM, Mircheff AK, Kaswan RL, Stanczyk FZ, Gentschein E, Becker L, Nassir B, Warren DW. (1997). Androgen support of lacrimal gland function. *Endocrine.* 6(1):39-45.
30. Balicki I, Radziejewski K, Silmanowicz P. (2008). Studies on keratoconjunctivitis sicca incidence in crossbred dogs. *Pol J Vet Sci.* 11(4):353-8.
31. Barabino S, Chen W, Dana MR. (2004). Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. *Exp Eye Res.* 79(5):613-21.
32. Barabino S, Dana MR. (2004). Animal Models of dry eye: A critical Assessment of Opportunities and Limitations. *Investigative Ophthalmology& Visual Science* 45(6): 1641-46.

33. Barabino S, Shen L, Chen L, Rashid S, Rolando M, Dana MR. (2005). The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 46(8):2766-71.
34. Barnett KC, Joseph EC. (1987). Keratoconjunctivitis sicca in the dog following 5-aminosalicylic acid administration. *Hum. Toxicol.* 6(5): 377-83.
35. Barnett KC., Sansom J. (1985). Dry eye in the dog and it's treatment. *Trans Ophthalmology*, 104(4): 462-466.
36. Baudouin C, Liang H, Bremond-Gignac D, Hamard P, Hreiche R, Creuzot-Garcher C, Warnet JM, Brignole-Baudouin F. (2005). CCR 4 and CCR 5 expression in conjunctival specimens as differential markers of T(H)1/ T(H)2 in ocular surface disorders. *J Allergy Clin Immunol.* 116(3):614-9.
37. Baudouin C, Pisella PJ, Fillacier K, Goldschild M, Becquet F, De Saint Jean M, Béchetoille A. (1999). Ocular surface inflammatory changes induced by topical antiglaucoma drugs: human and animal studies. *Ophthalmology.* 106(3):556-63.
38. Baudouin C. (1996). Side effects of antiglaucomatous drugs on the ocular surface. *Curr Opin Ophthalmol.* 7(2):80-6.
39. Baudouin C. (2001). The pathology of dry eye. *Surv Ophthalmol.* 45 Suppl 2:S211-20.
40. Beardsley RM, De Paiva CS, Power DF, Pflugfelder SC. (2008). Desiccating stress decreases apical corneal epithelial cell size--modulation by the metalloproteinase inhibitor doxycycline. *Cornea* 27(8):935-40.
41. Beauregard C, Brandt PC, Chiou GC. (2003). Induction of nitric oxide synthase and over-production of nitric oxide by interleukin-1beta in cultured lacrimal gland acinar cells. *Exp Eye Res.* 77(1):109-14.
42. Benelli U, Nardi M, Posarelli C, Albert TG. (2010). Tear osmolarity measurement using the TearLab Osmolarity System in the assessment of dry eye treatment effectiveness. *Cont Lens Anterior Eye.* 33(2):61-7.
43. Berdoulay A, English RV, Nadelstein B. (2005). Effect of topical % 0.02 tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratokonjunktivitis sicca. *Veterinary Ophthalmology*, 8(4): 225- 226.
44. Biousse V, Skibell BC, Watts RL, Loupe DN, Drews-Botsch C, Newman NJ. (2004). Ophthalmologic features of Parkinson's disease. *Neurology.* 27;62(2):177-80.
45. Bjerrum KB. (1997). Keratoconjunctivitis sicca and primary Sjögren's syndrome in a Danish population aged 30-60 years. *Acta Ophthalmol Scand.* 75(3):281-6.
46. Blehm C, Vishnu S, Khattak A, Mitra S, Yee RW. (2005). Computer vision syndrome: a review. *Surv Ophthalmol.* 50(3):253-62.
47. Blom M, Kopp S, Lundeberg T. (1999). Prognostic value of the pilocarpine test to identify patients who may obtain long-term relief from xerostomia by acupuncture treatment. *Arc Otolaryngol Head Neck Surg.* 125: 561-566.

48. Bojrab MJ. (1990). Current techniques in small animal surgery (3rd edition), Philadelphia-London.
49. Bolzan AA, Brunelli AT, Castro MB, Souza MA, Souza JL, Laus JL. (2005). Conjunctival impression cytology in dogs. *Vet Ophthalmol.* 8(6):401-5.
50. Bozkurt B, Irkeç MT, Atakan N, Orhan M, Geyik PO. (2002). Lacrimal function and ocular complications in patients treated with systemic isotretinoin. *Eur J Ophthalmol.* 12(3):173-6.
51. Brandt JD, Wittpenn JR, Katz LJ, Steinmann WN, Spaeth GL. (1991). Conjunctival impression cytology in patients with glaucoma using long-term topical medication. *Am J Ophthalmol.* 112(3):297-301.
52. Brignole F, Pisella PJ, Dupas B, Baeyens V, Baudouin C. (2005). Efficacy and safety of 0.18% sodium hyaluronate in patients with moderate dry eye syndrome and superficial keratitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 243(6):531-8.
53. Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint Jean M, Goguel A, Baudouin C. (2000). Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 41(6):1356-63.
54. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. (2003). Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea.* 22(7):640-50.
55. Bron AJ. (2001). Diagnosis of dry eye. *Surv Ophthalmol.* 45 Suppl 2:S221-6.
56. Bruce G (2002). Topical Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for Ophthalmic Use: A Safety Review. *Drug Safety* 25 (4): 233-250.
57. Burgalassi S, Panichi L, Chetoni P, Saettone MF, Boldrini E. (1999). Development of a simple dry eye model in the albino rabbit and evaluation of some tear substitutes. *Ophthalmic Res.* 31(3):229-35.
58. Calonge M. (2001). The Treatment of Dry Eye. *Survey ophthalmology* 45(2): 227-39.
59. Carsons S. (2001). A review and update of Sjögren's syndrome: manifestations, diagnosis, and treatment. *Am J Manag Care.* 7(14 Suppl):S433-43.
60. Chen Q, Wang J, Shen M, Cai C, Li J, Cui L, Qu J, Lu F. (2009). Lower volumes of tear menisci in contact lens wearers with dry eye symptoms. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 50(7):3159-63.
61. Chen W, Zhang X, Zhang J, Chen J, Wang S, Wang Q, Qu J. (2008). A murine model of dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 49(4):1386-91.
62. Cho P, Brown B, Lau C. (1996). Effect of fluorescein on the tear stability of Hong Kong-Chinese. *Optom Vis Sci.* 73(1):1-7.
63. Chodosh J, Dix RD, Howell RC, Stroop WG, Tseng SC. (1994). Staining characteristics and antiviral activity of sulforhodamine B and lissamine green B. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 35(3):1046-58.

64. Chotikavanich S, de Paiva CS, Li de Q, Chen JJ, Bian F, Farley WJ, Pflugfelder SC. (2009). Production and activity of matrix metalloproteinase-9 on the ocular surface increase in dysfunctional tear syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 50(7):3203-9.
65. Condon PI, McEwen CG, Wright M, Mackintosh G, Prescott RJ, McDonald C. (1999). Double blind, randomised, placebo controlled, crossover, multicentre study to determine the efficacy of a 0.1% (w/v) sodium hyaluronate solution (Fermavisc) in the treatment of dry eye syndrome. *Br J Ophthalmol.* 83(10): 1121-4.
66. Corrales RM, Stern ME, De Paiva CS, Welch J, Li DQ, Pflugfelder SC. (2006). Desiccating stress stimulates expression of matrix metalloproteinases by the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 47(8):3293-302.
67. Corrales RM, Villarreal A, Farley W, Stern ME, Li DQ, Pflugfelder SC. (2007). Strain-related cytokine profiles on the murine ocular surface in response to desiccating stress. *Cornea.* 26(5):579-84.
68. Corum I, Yeniad B, Bilgin LK, Ilhan R. (2005). Efficacy of olopatadine hydrochloride % 0.1 in the treatment of vernal keratoconjunctivitis and goblet cell density. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 21(5): 400-5.
69. Cotler SJ, Wartelle CF, Larson AM, Gretch DR, Jensen DM, Carithers RL Jr. (2000). Pretreatment symptoms and dosing regimen predict side-effects of interferon therapy for hepatitis C. *J Viral Hepat.* 7(3):211-7.
70. Crispin SM. (2000). Tear-deficient and evaporative dry eye syndromes of the horse. *Vet Ophthalmol.* 3(2-3):87-92.
71. Cumurcu T, Sezer E, Kilic R, Bulut Y. (2009). Comparison of dose-related ocular side effects during systemic isotretinoin administration. *Eur J Ophthalmol.* 19(2):196-200.
72. Danjo Y, Watanabe H, Tisdale AS, George M, Tsumura T, Abelson MB, Gipson IK. (1998). Alteration of mucin in human conjunctival epithelia in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 39(13):2602-9.
73. Davidson HJ, Kuonen VJ. (2004). Tear film and ocular mucins. *Veterinary Ophthalmology* 7,2,71-77.
74. De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. (2006). Apical corneal barrier disruption in experimental murine dry eye is abrogated by methylprednisolone and doxycycline. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 47(7):2847-56.
75. De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley WJ, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. (2006). Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res.* 83(3):526-35.
76. De Paiva CS, Pflugfelder SC. (2004). Tear clearance implications for ocular surface health. *Experimental Eye Research* 78: 395-397.
77. De Paiva CS, Pflugfelder SC. (2008). Rationale for anti-inflammatory therapy in dry eye syndrome. *Arq Bras Oftalmol.* 71(6 Suppl):89-95.

78. De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, Rahman HT, Chang VY, Farley WJ, Stern ME, Nieder Korn JY, Li DQ, Pflugfelder SC. (2007). Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon-gamma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48(6):2553-60.
79. Diebold Y, Chen LL, Tepavcevic V, Ferdman D, Hodges RR, Dartt DA. (2007). Lymphocytic infiltration and goblet cell marker alteration in the conjunctiva of the MRL/MpJ-Fas(lpr) mouse model of Sjögren's syndrome. *Exp Eye Res.* 84(3):500-12.
80. Doughty MJ, Fonn D, Richter D, Simpson T, Caffery B, Gordon K. (1997). A patient questionnaire approach to estimating the prevalence of dry eye symptoms in patients presenting to optometric practices across Canada. *Optom Vis Sci.* 74(8):624-31.
81. Driot JY, Bonne C. (1992). Beneficial effects of a retinoic acid analog, CBS-211 A, on an experimental model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 33(1): 190-5.
82. Dursun D, Kim MC, Solomon A, Pflugfelder SC. (2001). Treatment of recalcitrant recurrent corneal erosions with inhibitors of matrix metalloproteinase-9, doxycycline and corticosteroids. *Am J Ophthalmol.* 132(1):8-13.
83. Dursun D, Wang M, Monroy D, Li DQ, Lokeshwar BL, Stern ME, Pflugfelder SC. (2002). A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 43(3):632-8.
84. Eliason JA, Maurice DM. (1990). Staining of the conjunctiva and conjunctival tear film. *Br J Ophthalmol.* 74(9):519-22.
85. El-Shazly AH, El-Gohary AA, El-Shazly LH, El-Hossary GG. (2008). Comparison between two cyclooxygenase inhibitors in an experimental dry eye model in albino rabbits. *Acta Pharm.* 58(2):163-73.
86. Epstein SP, Ahdoot M, Marcus E, Asbell PA. (2009). Comparative toxicity of preservatives on immortalized corneal and conjunctival epithelial cells. *J Ocul Pharmacol Ther.* 25(2):113-9.
87. Erdem U, Ozdegirmenci O, Sobaci E, Sobaci G, Göktolga U, Dagli S. (2007). Dry eye in post-menopausal women using hormone replacement therapy. *Maturitas.* 56(3):257-62.
88. Erdogan-Poyraz C, Mocan MC, Irkeç M, Orhan M. (2007). Delayed tear clearance in patients with conjunctivochalasis is associated with punctal occlusion. *Cornea.* 26(3):290-3.
89. Fahim MM, Haji S, Koonapareddy CV, Fan VC, Asbell PA. (2006). Fluorophotometry as a diagnostic tool for the evaluation of dry eyedisease. *BMC Ophthalmology* 6(20). 1-7.
90. Feenstra RP, Tseng SC. (1992). Comparison of fluorescein and rose bengal staining. *Ophthalmology.* 99(4):605-17.
91. Feenstra RP, Tseng SC. (1992). What is actually stained by rose bengal? *Arch Ophthalmol.* 110(7):984-93.
92. Ferraccioli GF, Salaffi F, De Vita S, Casatta L, Avellini C, Carotti M, Beltrami CA, Cervini C, Bartoli E. (1996). Interferon alpha-2 (IFN alpha 2) increases lacrimal and salivary function in Sjögren's syndrome patients. Preliminary results of an open pilot trial versus OH-chloroquine. *Clin Exp Rheumatol.*, 14(4): 367-371.

93. Flach AJ, Dolan BJ, Donahue ME, Faktorovich EG, Gonzalez GA. (1998). Comparative effects of ketorolac 0.5% or diclofenac 0.1% ophthalmic solutions on inflammation after cataract surgery. *Ophthalmology* 105(9): 1775-9.
94. Foster CS, Yuksel E, Anzaar F, Ekong AS. (2010). Dry Eye Syndrome. *eMedicine Specialties > Ophthalmology > Lacrimal System*. Updated: Nov 15, 2010.
95. Foulks GN. (2008). Pharmacological management of dry eye in the elderly patient. *Drugs Aging*. 25(2):105-18.
96. Fujihara T, Nagano T, Nakamura M, Shirasawa E. (1995). Establishment of a rabbit short-term dry eye model. *J Ocul Pharmacol Ther*. 11(4):503-8.
97. Fukushima A, Yamaguchi T, Ishida W, Fukata K, Liu FT, Ueno H. (2006). Cyclosporin A inhibits eosinophilic infiltration into the conjunctiva mediated by type IV allergic reactions. *Clin Experiment Ophthalmol*. 34(4): 347-53.
98. Gaynes BL, Fiscella R. (2002). Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for ophthalmic use: a safety review. *Drug.Saf*. 25(4): 233-50.
99. Gayton JL. (2009). Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease. *Clinical Ophthalmology* 3: 405-412.
100. Gelatt KN. (1991). *Veterinary Ophthalmology*. (2nd Edition) Lea Febiger, London.
101. Gelatt KN. (2000). *Essentials of veterinary ophthalmology*. Lippincott Wilkins, London.
102. Gilbard JP, Rossi SR, Gray KL, Hanninen LA, Kenyon KR. (1988). Tear film osmolarity and ocular surface disease in two rabbit models for keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 29(3):374-8.
103. Gilbard JP, Rossi SR, Heyda KG. (1989). Tear film and ocular surface changes after closure of the meibomian gland orifices in the rabbit. *Ophthalmology*. 96(8):1180-6.
104. Gipson IK, Tisdale AS. (1997). Visualization of conjunctival goblet cell actin cytoskeleton and mucin content in tissue whole mounts. *Exp Eye Res*. 65(3):407-15.
105. Giuliano EA. (2004). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in veterinary ophthalmology. *Vet. Clin. Am. Small. Anim. Prac*. 34(3):707-23.
106. Goto E, Yagi Y, Matsumoto Y, Tsubota K. (2002). Impaired functional visual acuity of dry eye patients. *Am J Ophthalmol*. 133(2):181-6.
107. Göbbels M. (1990). The dry eye. Status determination and prospects. *Fortschr Ophthalmol*. 87 Suppl:S190-7.
108. Grene RB, Lankston P, Mordaunt J, Harrold M, Gwon A, Jones R. (1992). Unpreserved carboxymethylcellulose artificial tears evaluated in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Cornea*. 11(4):294-301.
109. Gumus K, Cavanagh DH. (2009). The role of inflammation and antiinflammation therapies in keratoconjunctivitis sicca. *Clin Ophthalmol*. 3: 57-67.
110. Gundüz K, Ozdemir O. (1994). Topical cyclosporin treatment of keratoconjunctivitis sicca in secondary Sjögren's syndrome. *Acta Ophthalmol.(Copenh)*. 72: 438-42.

111. Hamano HM, Hori M, Hamano T ve ark. (1983). A new method for measuring tears. *CLAO J*, 9: 281-9.
112. Hanemaaijer R, Visser H, Koolwijk P, Sorsa T, Salo T, Golub LM, van Hinsbergh VW. (1998). Inhibition of MMP synthesis by doxycycline and chemically modified tetracyclines (CMTs) in human endothelial cells. *Adv Dent Res*. 12(2):114-8.
113. Hartley C, Williams DL, Adams VJ. (2006). Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 9(1): 53-55.
114. Hicks SJ, Corfield AP, Kaswan RL, Hirsh S, Stern M, Bara J, Carrington SD. (1998). Biochemical analysis of ocular surface mucin abnormalities in dry eye: The canine Model. *Exp. Eye Res.*, 67: 709-718.
115. Hikichi T, Yoshida A, Fukui Y, Hamano T, Ri M, Araki K, Horimoto K, Takamura E, Kitagawa K, Oyama M, et al. (1995). Prevalence of dry eye in Japanese eye centers. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 233(9):555-8.
116. Hoffman RW, Alspaugh MA, Waggle KS, Durham JB, Walker SE. (1984). Sjögren's syndrome in MRL/l and MRL/n mice. *Arthritis Rheum*. 27(2):157-65.
117. Hom M, De Land P. (2005). Prevalence and severity of symptomatic dry eyes in Hispanics. *Optom Vis Sci*. 82(3):206-8.
118. Huang AJ, Tseng SC, Kenyon KR. (1988). Morphogenesis of rat conjunctival goblet cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 29(6):969-75.
119. Huang FC, Shih MH, Tseng SH, Lin SC, Chang TT. (2005). Tear function changes during interferon and ribavirin treatment in patients with chronic hepatitis C. *Cornea* 24(5):561-6.
120. Ikäheimo K, Kettunen R, Mäntyjärvi M. (2002). Visual functions and adverse ocular effects in patients with amiodarone medication. *Acta Ophthalmol Scand*. 80(1):59-63.
121. Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Zhan Q, Feldman ST, Gipson IK. (1996). Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 37(8):1684-92.
122. Isreb MA, Greiner JV, Korb DR, Glonek T, Mody SS, Finnemore VM, Reddy CV. (2003). Correlation of lipid layer thickness measurements with fluorescein tear film break-up time and Schirmer's test. *Eye (Lond)*. 17(1):79-83.
123. Johnson ME, Murphy PJ, Boulton M. (2006). Effectiveness of sodium hyaluronate eyedrops in the treatment of dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 244(1):109-12.
124. Johnson ME, Murphy PJ, Boulton M. (2008). Carbomer and sodium hyaluronate eyedrops for moderate dry eye treatment. *Optom Vis Sci*. 85(8): 750-7.
125. Johnson ME, Murphy PJ. (2005). The Effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. *Cornea*. 24(7):811-7.
126. Kaiserman I, Kaiserman N, Nakar S, Vinker S. (2005). Dry eye in diabetic patients. *Am J Ophthalmol*. 139(3):498-503.
127. Kaswan RL, Martin CL, Dawe DL. (1985). Keratoconjunctivitis sicca. Immunological evaluation of 62 canine cases. *American Journal of Veterinary Research*, 46: 376-383.

128. Kaswan RL, Salisbury MA, Lothrop CD. (1991). Interaction of age and gender on occurrence of canine keratoconjunctivitis sicca. *Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology*, 1: 93-97.
129. Kaswan RL, Salisbury MA, Ward DA. (1989). Spontaneous canine keratoconjunctivitis sicca. A useful model for human keratoconjunctivitis sicca: treatment with cyclosporine eye drops. *Arch Ophthalmol*. 107(8):1210-6.
130. Keegan DJ, Geerling G, Lee JP, Blake G, Collin JR, Plant GT. (2002). Botulinum toxin treatment for hyperlacrimation secondary to aberrant regenerated seventh nerve palsy or salivary gland transplantation. *Br J Ophthalmol.*, 86(1): 43-46.
131. Khurana AK, Choudhary R, Ahluwalia BK, Gupta S. (1991). Hospital epidemiology of dry eye. *Indian J Ophthalmol*. 39(2):55-8.
132. Kim EC, Choi JS, Joo CK. (2009). A comparison of vitamin a and cyclosporine a 0.05% eye drops for treatment of dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol*. 147(2):206-213.
133. Kim J, Foulks GN. (1999). Evaluation of the effect of lissamine green and rose bengal on human corneal epithelial cells. *Cornea*. 18(3):328-32.
134. Kinoshita S, Kiorpes TC, Friend J, Thoft RA. (1983). Goblet cell density in ocular surface disease. A better indicator than tear mucin. *Arch Ophthalmol*. 101(8):1284-7.
135. Kjaergaard SK, Hempel-Jørgensen A, Mølhave L, Andersson K, Juto JE, Stridh G. (2004). Eye trigeminal sensitivity, tear film stability and conjunctival epithelium damage in 182 non-allergic, non-smoking Danes. *Indoor Air*. 14(3):200-7.
136. Kobayashi TK, Tsubota K, Takamura E, Sawa M, Ohashi Y, Usui M. (1997). Effect of retinol palmitate as a treatment for dry eye: a cytological evaluation. *Ophthalmologica*. 211(6): 358-61.
137. Koh S, Watanabe H, Hosohata J, Hori Y, Hibino S, Nishida K, Maeda N, Tano Y. (2003). Diagnosing dry eye using a blue-free barrier filter. *Am J Ophthalmol*. 136(3):513-9.
138. Korb DR, Herman JP, Finnemore VM, Exford JM, Blackie CA. (2008). An evaluation of the efficacy of fluorescein, rose bengal, lissamine green, and a new dye mixture for ocular surface staining. *Eye Contact Lens*. 34(1):61-4.
139. Kozlu T, Altunay H. (2010). Harder Bezi'nin Yapı ve Fonksiyonları. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 5 (2): 89-96.
140. Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, Cermak JM, Tolls DB, Evans JE, Sullivan DA. (2000). Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab*. 85(12):4874-82.
141. Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. (2002). Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol*. 120(3): 330-7.
142. Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. (2000). Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol*. 118(11): 1489-96.

143. Kymionis GD, Bouzoukis DI, Diakonis VF, Siganos C. (2008). Treatment of chronic dry eye: focus on cyclosporine. *Clin Ophthalmol.* 2(4):829-36.
144. Lane SS, Modi SS, Lehmann RP, Holland EJ. (2007). Nepafenac ophthalmic suspension 0.1% for the prevention and treatment of ocular inflammation associated with cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 33(1):53-8.
145. Lee AJ, Lee J, Saw SM, Gazzard G, Koh D, Widjaja D, Tan DT. (2002). Prevalence and risk factors associated with dry eye symptoms: a population based study in Indonesia. *Br J Ophthalmol.* 86(12):1347-51.
146. Lee JB, Ryu CH, Kim J, Kim EK, Kim HB. (2000). Comparison of tear secretion and tear film instability after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 26(9):1326-31.
147. Lee SY, Ubels JL, Soprano DR. (1992). The lacrimal gland synthesizes retinol-binding protein. *Exp Eye Res.* 55(1): 163-71.
148. Lekhanont K, Leyngold IM, Suwan-Apichon O, Rangsin R, Chuck RS. (2007). Comparison of topical dry eye medications for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in a botulinum toxin B-induced mouse model. *Cornea.* 26(1):84-9.
149. Lekhanont K, Park CY, Combs JC, Suwan-Apichon O, Rangsin R, Chuck RS. (2007). Effect of topical olopatadine and epinastine in the botulinum toxin B-induced Mouse model of dry eye. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 23(1): 83-8.
150. Lekhanont K, Park CY, Smith JA, Combs JC, Preechawat P, Suwan-Apichon O, Rangsin R, Chuck RS. (2007). Effects of Topical Anti-inflammatory Agents in a Botulinum Toxin B-Induced Mouse Model of Keratoconjunctivitis Sicca. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 23 (1).
151. Lemp MA. (1995). Report of the National Eye Institute/Industry work shop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* Oct;21(4):221-32.
152. Lemp MA. (2008). Management of dry eye disease. *Am J Manag Care.* 14(3 Suppl):S88-101.
153. Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder SC. (2004). Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45(12):4302-11.
154. Li DQ, Luo L, Chen Z, Kim HS, Song XJ, Pflugfelder SC. (2006). JNK and ERK MAP kinases mediate induction of IL-1beta, TNF-alpha and IL-8 following hyperosmolar stress in human limbal epithelial cells. *Exp Eye Res.* 82(4):588-96.
155. Li HY, Pang GX, Xu ZZ. (2004). Tear film function of patients with type 2 diabetes. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 26(6):682-6.
156. Lin PY, Tsai SY, Cheng CY, Liu JH, Chou P, Hsu WM. (2003). Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology.* 110(6):1096-101.

157. Liu H, Begley C, Chen M, Bradley A, Bonanno J, McNamara NA, Nelson JD, Simpson T. (2009). A link between tear instability and hyperosmolarity in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 50(8):3671-9.
158. Liu Z, Pflugfelder SC. (1999). Corneal surface regularity and the effect of artificial tears in aqueous tear deficiency. *Ophthalmology* 106(5): 939-43.
159. Lokeshwar BL, Selzer MG, Block NL, Gunja-Smith Z. (1993). Secretion of matrix metalloproteinases and their inhibitors (tissue inhibitor of metalloproteinases) by human prostate in explant cultures: reduced tissue inhibitor of metalloproteinase secretion by malignant tissues. *Cancer Res.* 53(19):4493-8.
160. Lokeshwar BL. (1999). MMP inhibition in prostate cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 878:271-89.
161. Lopin E, Deveney T, Asbell PA. (2009). Impression cytology: recent advances and applications in dry eye disease. *Ocul Surf.* 7(2):93-110.
162. Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. (2004). Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45(12): 4293-301.
163. Machado LM, Castro RS, Fontes BM. (2009). Staining patterns in dry eye syndrome: rose bengal versus lissamine green. *Cornea.* 28(7):732-4.
164. Macri A, Rolando M, Pflugfelder S. (2000). A Standardized visual scale for evaluation of tear fluorescein clearance. *American Academy of Ophthalmology.* 107: 1338-1343.
165. Mah FS, O'Brien T, Kim T, Torkilsen G. (2008). Evaluation of the effects of olopatadine ophthalmic solution, % 0.2 on the ocular surface of patients with allergic conjunctivitis and dry eye. *Curr. Med. Res. Opin.* 24(2):441-7.
166. Maitchouk DY, Beuerman RW, Ohta T, Stern M, Varnell RJ. (2000). Tear production after unilateral removal of the main lacrimal gland in squirrel monkeys. *Arch Ophthalmol.* 118(2):246-52.
167. Manaviat MR, Rashidi M, Afkhami-Ardekani M, Shoja MR. (2008). Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. *BMC Ophthalmol.* 2;8: 10.
168. Manning FJ, Wehrly SR, Foulks GN. (1995). Patient tolerance and ocular surface staining characteristics of lissamine green versus rose bengal. *Ophthalmology.* 102(12):1953-7.
169. Marsh P, Pflugfelder SC. (1999). Topical nonpreserved methylprednisolone therapy for keratoconjunctivitis sicca in Sjögren syndrome. *Ophthalmology.* 106(4):811-6.
170. Mathers WD, Stovall D, Lane JA, Zimmerman MB, Johnson S. (1998). Menopause and tear function: The influence of prolactin and sex hormones on human tear production. *Cornea,* 17(4): 353-358.
171. Matsuda S, Koyasu S. (2000). Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology,* 47(2-3): 119-125.
172. McCabe E, Narayanan S. (2009). Advancements in anti-inflammatory therapy for dry eye syndrome. *Optometry.* 80(10):555-66.

173. McCann LC, Tomlinson A, Pearce EI, Khanal S, Kaye SB, Fisher AC. (2010). A clinical alternative to fluorophotometry for measuring tear production in the diagnosis of dry eye. *Cornea*. 29(7):745-50.
174. McCarty CA, Bansal AK, Livingston PM, Stanislavsky YL, Taylor HR. (1998). The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. *Ophthalmology*. 105(6):1114-9.
175. McDonald CC, Kaye SB, Figueiredo FC, Macintosh G, Lockett C. (2002). A randomised, crossover, multicentre study to compare the performance of 0.1% (w/v) sodium hyaluronate with 1.4% (w/v) polyvinyl alcohol in the alleviation of symptoms associated with dry eye syndrome. *Eye (Lond)*. 16(5): 601-7.
176. McLaughlin SA, Brightman AH 2nd, Helper LC, Primm ND, Brown MG, Greeley S. (1988). Effect of removal of lacrimal and third eyelid glands on Schirmer tear test results in cats. *J Am Vet Med Assoc*. 1;193(7):820-2.
177. McLellan GL, Archer FJ. (2000). Corneal stromal sequestration and keratoconjunctivitis sicca in a horse. *Vet Ophthalmol*. 3(2-3):207-212.
178. McNamara NA, Fusaro RE, Brand RJ, Poise KA, Srinivas SP. (1997). Measurement of Corneal Epithelial Permeability to Fluorescein. A Repeatability Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 38(9): 1830-39.
179. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. (1985). Effect of fluorescein instillation on the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res*. 4(1):9-12.
180. Miljanović B, Trivedi KA, Dana MR, Gilbard JP, Buring JE, Schaumberg DA. (2005). Relation between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr*. 82(4):887-93.
181. Miller WL, Doughty MJ, Narayanan S, Leach NE, Tran A, Gaume AL, Bergmanson JPG. (2004). A comparison of tear volume (by tear meniscus height and phenol red thread test) and tear fluid osmolality measures in non-lesn wearers and in contact lens wearers. *Eye&Contact Lens* 30(3):132-7.
182. Montés-Micó R, Cáliz A, Alió JL. (2004). Wavefront analysis of higher order aberrations in dry eye patients. *J Refract Surg*. 20(3):243-7.
183. Moon JW, Lee HJ, Shin KC, Wee WR, Lee JH, Kim MK. (2007). Short term effects of topical cyclosporine and viscoelastic on the ocular surfaces in patients with dry eye. *Korean J Ophthalmol*. 21(4):189-94.
184. Moore CP, McHugh JB, Thorne JG, Phillips TE. (2001). Effect of cyclosporine on conjunctival mucin in a canine keratoconjunctivitis sicca model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 42(3): 653-9.
185. Moss SE, Klein R, Klein BE. (2000). Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol*. 118(9):1264-8.
186. Moss SE, Klein R, Klein BE. (2004). Incidence of dry eye in a elderly population. *Arch Ophthalmol*. 122:369-73.

187. Mrukwa-Kominek E, Stala P, Gierrek-Ciaciura S, Lange E. (2006). Assessment of tears secretion after refractive surgery. *Klin Oczna*. 108(1-3):73-7.
188. Murphy PT, Sivakumaran M, Fahy G, Hutchinson RM. (1996). Successful use of topical retinoic acid in severe dry eye due to chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 18(3):641-2.
189. Murube J. (2004). Andrew de Roeth (1893-1981): dacryologist who introduced the term dry eye. *Ocul Surf*. 2(4):225-7.
190. Nagelhout TJ, Gamache DA, Roberts L, Brady MT, Yanni JM. (2005). Preservation of tear film integrity and inhibition of corneal injury by dexamethasone in a rabbit model of lacrimal gland inflammation-induced dry eye. *J Ocul Pharmacol Ther*. 21(2): 139-48.
191. Nejima R, Miyata K, Tanabe T, Okamoto F, Hiraoka T, Kiuchi T, Oshika T. (2005). Corneal barrier function, tear film stability, and corneal sensation after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol*. 139(1):64-71.
192. Nell B, Walde I, Billich A, Vit P, Meingassner JG. (2005). The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study. *Vet Ophthalmol*. 8(1):39-46.
193. Nelson JD, Havener VR, Cameron JD. (1983). Cellulose acetate impressions of the ocular surface. Dry eye states. *Arch Ophthalmol*. 101(12):1869-72.
194. Nelson JD, Wright JC. (1984). Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. *Arch Ophthalmol*. 102(7):1049-51.
195. Nichols J, Snyder RW. (1998). Topical nonsteroidal anti-inflammatory agents in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol*. 9(4): 40-4.
196. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. (2004). The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. *Cornea*. 23(8):762-70.
197. Nilforoushan MR, Latkany RA, Speaker MG. (2005). Effect of artificial tears on visual acuity. *Am J Ophthalmol*. 40(5):830-5.
198. Noecker R. (2001). Effects of common ophthalmic preservatives on ocular health. *Adv Ther*. 18(5):205-15.
199. Novak KD, Kohnen T, Chang-Godinich A, Soper BA, Kennedy P, Wang Q, Padrick T, Koch DD. (1997). Changes in computerized videokeratography induced by artificial tears. *J Cataract Refract Surg*. 23(7):1023-8.
200. Nuzzi R, Finazzo C, Cerruti A. (1998). Adverse effects of topical antiglaucomatous medications on the conjunctiva and the lachrymal (Brit. Engl) response. *Int Ophthalmol*. 22(1):31-5.
201. Ohashi Y, Dogru M, Tsubota K. (2006). Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clinica chimica Acta*. 369: 17-28.
202. Özçetin H. (2000). *Pratik Göz Hastalıkları*, 2. baskı, Bursa.

203. Park CY, Zhuang W, Lekhanont K, Zhang C, Cano M, Lee WS, Gehlbach PL, Chuck RS. (2007). Lacrimal gland inflammatory cytokine gene expression in the botulinum toxin B-induced murine dry eye model. *Mol Vis.* 29;13:2222-32.
204. Pavlopoulos GP, Horn J, Feldman ST. (1995). The effect of artificial tears on computer-assisted corneal topography in normal eyes and after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 1995 Jun;119(6):712-22.
205. Perry HD, Donnenfeld ED. (2004). Dry eye diagnosis and management in 2004. *Curr Opin Ophthalmol.* 15(4):299-304.
206. Perry HD, Solomon R, Donnenfeld ED, Perry AR, Wittpenn JR, Greenman HE, Savage HE. (2008). Evaluation of topical cyclosporine for the treatment of dry eye disease. *Arch Ophthalmol.* 126(8):1046-50.
207. Perry HD. (2008). Dry eye disease: pathophysiology, classification, and diagnosis. *Am J Manag Care.* 14(3 Suppl):S79-87.
208. Pflugfelder SC, De Paiva CS, Villarreal AL, Stern ME. (2008). Effects of sequential artificial tear and cyclosporine emulsion therapy on conjunctival goblet cell density and transforming growth factor-beta2 production. *Cornea* 27(1):64-9.
209. Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, Chen LZ, de Paiva CS, Olmos LC, Li DQ, Fini ME. (2005). Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol.* 166(1):61-71.
210. Pflugfelder SC, Huang AJ, Feuer W, Chuchovski PT, Pereira IC, Tseng SC. (1990). Conjunctival cytologic features of primary Sjögren's syndrome. *Ophthalmology.* 97(8):985-91.
211. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. (1999). Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res.* 19(3):201-11.
212. Pflugfelder SC, Maskin SL, Anderson B, Chodosh J, Holland EJ, De Paiva CS, Bartels SP, Micuda T, Proskin HM, Vogel R. (2004). A randomized, double-masked, placebo-controlled, multicenter comparison of loteprednol etabonate ophthalmic suspension, 0.5%, and placebo for treatment of keratoconjunctivitis sicca in patients with delayed tear clearance. *Am J Ophthalmol.* 138(3): 444-57.
213. Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, Kell H, Garcia CG, Felix C, Feuer W, Reis BL. (1998). Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea.* 17(1):38-56.
214. Pflugfelder SC. (2004). Antiinflammatory therapy for dry eye. *Am J Ophthalmol.* 137(2): 337-42.
215. Pisella PJ, Brignole F, Debbasch C, Lozato PA, Creuzot-Garcher C, Bara J, Saiag P, Warnet JM, Baudouin C. (2000). Flow cytometric analysis of conjunctival epithelium in ocular rosacea and keratoconjunctivitis sicca. *Ophthalmology.* 107(10):1841-9.

216. Pisella PJ, Godon C, Auzerie O, Baudouin C. (2002). Influence of corneal refractive surgery on the lacrymal film. *J Fr Ophtalmol.* 25(4):416-22.
217. Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, Daniels JT. (2001). Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: Clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol.*, 85(10): 1188-1197.
218. Porola P, Laine M, Virkki L, Poduval P, Kontinen YT. (2007). The influence of sex steroids on Sjögren's syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 1108:426-32.
219. Prabhasawat P, Tesavibul N, Kasetsuwan N. (2007). Performance profile of sodium hyaluronate in patients with lipid tear deficiency: randomised, double-blind, controlled, exploratory study. *Br J Ophthalmol.* 91(1):47-50.
220. Prabhasawat P, Tseng SC. (1998). Frequent association of delayed tear clearance in ocular irritation. *Br J Ophthalmol.* 82(6):666-75.
221. Quarterman MJ, Johnson DW, Abele DC, Leshner JL, Hull DS, Davis LS. (1997). Ocular rosacea. Signs, symptoms, and tear studies before and after treatment with doxycycline. *Arch Dermatol.*, 133(1): 49-54.
222. Ramamoorthy P, Sinnott LT, Nichols JJ. (2008). Treatment, material, care, and patient-related factors in contact lens-related dry eye. *Optom Vis Sci.* 85(8):764-72.
223. Rashid S, Jin Y, Ecoiffier T, Barabino S, Schaumberg DA, Dana MR. (2008). Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. *Arch Ophthalmol.* 126(2):219-25.
224. Rocha EM, Wickham LA, da Silveira LA, Krenzer KL, Yu FS, Toda I, Sullivan BD, Sullivan DA. (2000). Identification of androgen receptor protein and 5 α -reductase mRNA in human ocular tissues. *Br J Ophthalmol.* 84(1):76-84.
225. Rolando M, Zierhut M. (2001). The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol.* 45 Suppl 2:S203-10.
226. Rothschild CM, Sellon DC, Bryan GM, Gay JM, Hines MT. (2004). Effects of trimethoprim-sulfadiazine on tear production and the fluctuations of schirmer tear test values in horses. *Veterinary Ophthalmology*, 7(6): 385-390.
227. Sahai A, Malik P. (2005). Dry eye: prevalence and attributable risk factors in a hospital-based population. *Indian J Ophthalmol.* 53(2):87-91.
228. Sahli E, Hoşal BM, Zilelioğlu G, Gülbahçe R, Ustün H. (2010). The effect of topical cyclosporine A on clinical findings and cytological grade of the disease in patients with dry eye. *Cornea.* 29(12):1412-6.
229. Sainz De La Maza Serra M, Simón Castellvi C, Kabbani O. (2000). Nonpreserved topical steroids and lacrimal punctal occlusion for severe keratoconjunctivitis sicca. *Arch Soc Esp Oftalmol.* Nov;75(11):751-756.
230. Saito A, Izumisawa Y, Yamashita K, Kotani T. (2001). The effect of third eyelid gland removal on the ocular surface of dogs. *Vet Ophthalmol.* 4(1):13-8.

231. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. (2000). Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA Phase 3 Study Group. *Ophthalmology* 107(4): 631-9.
232. Sansom J, Barnett KC. (1985). Keratoconjunctivitis sicca in the dog: A review of two hundred cases. *Journal of Small Animal Practice*, 26: 121-131.
233. Savini G, Prabhawasat P, Kojima T, Grueterich M, Espana E, Goto E. (2008). The challenge of dry eye diagnosis. *Clin Ophthalmol.* 2(1):31-55.
234. Schalnus R (2003). Topical Nonsteroidal Anti-Inflammatory Therapy in Ophthalmology. 217: 89-98.
235. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. (2003). Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol.* 136(2):318-26.
236. Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. (1997). Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol.* 124(6):723-8.
237. Schein OD, Tielsch JM, Muñoz B, Bandeen-Roche K, West S. (1997). Relation between signs and symptoms of dry eye in the elderly. A population-based perspective. *Ophthalmology.* 104(9):1395-401.
238. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. (2000). Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol.* 118(5):615-21.
239. Schilling H, Koch JM, Waubke TN, Frank B. (1989). Treatment of the dry eye with vitamin A acid--an impression cytology controlled study. *Fortschr Ophthalmol.* 86(5): 530-4.
240. Schlote T, Kadner G, Freudenthaler N. (2004). Marked reduction and distinct patterns of eye blinking in patients with moderately dry eyes during video display terminal use. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 242(4):306-12.
241. Schultz CL, Kunert KS. (2000). Interleukin-6 levels in tears of contact lens wearers. *J Interferon Cytokine Res.* 20(3):309-10.
242. Seedor JA, Perry HD, McNamara TF, Golub LM, Buxton DF, Guthrie DS. (1987). Systemic tetracycline treatment of alkali-induced corneal ulceration in rabbits. *Arch Ophthalmol.* 105(2):268-71.
243. Selek H, Unlu N, Orhan M, Irkeç M. (2000). Evaluation of retinoic acid ophthalmic emulsion in dry eye. *Eur J Ophthalmol.* 10(2): 121-7.
244. Seo MJ, Kim JM, Lee MJ, Sohn YS, Kang KK, Yoo M. (2010). The therapeutic effect of DA-6034 on ocular inflammation via suppression of MMP-9 and inflammatory cytokines and activation of the MAPK signaling pathway in an experimental dry eye model. *Curr Eye Res.* 35(2):165-75.
245. Sharma A, Ruckenstein E. (1985). Mechanism of tear film rupture and its implications for contact lens tolerance. *Am J Optom Physiol Opt.* 62(4):246-53.
246. Shimmura S, Shimazaki J, Tsubota K. (1999). Results of a population-based questionnaire on the symptoms and lifestyles associated with dry eye. *Cornea* 18(4):408-11.

247. Sjögren HSC. (1933). Zur Kenntnis der Keratoconjunctivitis sicca (Keratitis filiformis bei Hypofunktion der Tranendrüsen). *Acta Ophthalmol. SuppII*:1-151.Copenhagen.
248. Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. (2001). Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 42(10):2283-92.
249. Solomon A, Rosenblatt M, Li DQ, Liu Z, Monroy D, Ji Z, Lokeshwar BL, Pflugfelder SC. (2000). Doxycycline inhibition of interleukin-1 in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 41(9): 2544-57.
250. Sommer HJ, Johnen J, Schöngen P, Stolze HH. (1994). Adaptation of the tear film to work in air-conditioned rooms (office-eye syndrome). *Ger J Ophthalmol.* 3(6):406-8.
251. Soong HK, Martin NF, Wagoner MD, Alfonso E, Mandelbaum SH, Laibson PR, Smith RE, Udell I. (1988). Topical retinoid therapy for squamous metaplasia of various ocular surface disorders. A multicenter, placebo-controlled double-masked study. *Ophthalmology.* 95(10): 1442-6.
252. Spiera H, Asbell PA, Simpson DM. (1997). Botulinum toxin increases tearing in patients with Sjögren's syndrome: A preliminary report. *J Rheumatol.*, 24(9): 1842-1843.
253. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. (1998). The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea.* 17(6):584-9.
254. Stern ME, Gao J, Schwalb TA, Ngo M, Tieu DD, Chan CC, Reis BL, Whitcup SM, Thompson D, Smith JA. (2002). Conjunctival T-cell subpopulations in Sjögren's and non-Sjögren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 43(8):2609-14.
255. Stevenson D, Tauber J, Reis BL. (2000). Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: a dose-ranging, randomized trial. The Cyclosporin A Phase 2 Study Group. *Ophthalmology.* 107(5):967-74.
256. Sullivan DA, Allansmith MR. (1986). Hormonal modulation of tear volume in the rat. *Exp Eye Res.* 42(2):131-9.
257. Sullivan DA, Bélanger A, Cermak JM, Bérubé R, Papas AS, Sullivan RM, Yamagami H, Dana MR, Labrie F. (2003). Are women with Sjögren's syndrome androgen-deficient? *J Rheumatol.* 30(11):2413-9.
258. Sullivan DA, Edwards JA. (1997). Androgen stimulation of lacrimal gland function in mouse models of Sjögren's syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 60(3-4):237-45.
259. Sullivan DA, Sullivan BD, Evans JE, Schirra F, Yamagami H, Liu M, Richards SM, Suzuki T, Schaumberg DA, Sullivan RM, Dana MR. (2002). Androgen deficiency, Meibomian gland dysfunction, and evaporative dry eye. *Ann N Y Acad Sci.* 966:211-22.
260. Sullivan DA, Sullivan BD, Ullman MD, Rocha EM, Krenzer KL, Cermak JM, Toda I, Doane MG, Evans JE, Wickham LA. (2000). Androgen influence on the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 41(12):3732-42.

261. Sullivan DA, Wickham LA, Rocha EM, Krenzer KL, Sullivan BD, Steagall R, Cermak JM, Dana MR, Ullman MD, Sato EH, Gao J, Rocha FJ, Ono M, Silveira LA, Lambert RW, Kelleher RS, Tolls DB, Toda I. (1999). Androgens and dry eye in Sjögren's syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 876:312-24.
262. Suwan-apichon O, Rizen M, Rangsin R, Herretes S, Reyes JM, Lekhanont K, Chuck RS. (2006). Botulinum toxin B-induced mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 47(1):133-9.
263. Şındak N, Kandemir L, Yertürk M, Biricik HS. (2010). Measurement of phenol red thread tear test in arabian and throughbred horses. *Veterinary Ophthalmology* 13(4): 219-221.
264. Tamer C, Melek IM, Duman T, Oksüz H. (2005). Tear film tests in Parkinson's disease patients. *Ophthalmology.* 112(10):1795.
265. Tatlipinar S, Akpek EK. (2005). Topical ciclosporin in the treatment of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol.* 89(10): 1363-7.
266. Thakur A, Willcox MD. (2000). Contact lens wear alters the production of certain inflammatory mediators in tears. *Exp Eye Res.* 70(3):255-9.
267. Thomson AW. (1992). The effects of cyclosporin A on non-T cell components of the immune system. *J Autoimmun.* 5 Suppl A: 167-76.
268. Tomlinson A, McCann LC, Pearce EI. (2010). Comparison of human tear film osmolarity measured by electrical impedance and freezing point depression techniques. *Cornea.* 29(9):1036-41.
269. Toshida H, Nguyen DH, Beuerman RW, Murakami A. (2007). Evaluation of novel dry eye model: preganglionic parasympathetic denervation in rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48(10):4468-75.
270. Tripathi BJ, Tripathi RC. (1989). Cytotoxic effects of benzalkonium chloride and chlorobutanol on human corneal epithelial cells in vitro. *Lens Eye Toxic Res.* 6(3):395-403.
271. Tseng SC, Maumenee AE, Stark WJ, Maumenee IH, Jensen AD, Green WR, Kenyon KR. (1985). Topical retinoid treatment for various dry-eye disorders. *Ophthalmology* 92(6): 717-27.
272. Tseng SC. (1985). Topical retinoid treatment for dry eye disorders. *Trans Ophthalmol Soc U K.* 104 (Pt 4):489-95.
273. Tsubota K, Fukagawa K, Fujihara T, Shimmura S, Saito I, Saito K, Takeuchi T. (1999). Regulation of human leukocyte antigen expression in human conjunctival epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 40(1):28-34.
274. Tumosa N. (2008). Eye disease and the older diabetic. *Clin Geriatr Med.* 24(3):515-27.
275. Turaçlı E, Budak K, Kaur A, Mizrak B, Ekinci C. (1997). The effects of long-term topical glaucoma medication on conjunctival impression cytology. *Int Ophthalmol.* 21(1):27-33.
276. Turner K, Pflugfelder SC, Ji Z, Feuer WJ, Stern M, Reis BL. (2000). Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. *Cornea.* 19(4):492-6.

277. Uitto VJ, Firth JD, Nip L, Golub LM. (1994). Doxycycline and chemically modified tetracyclines inhibit gelatinase A (MMP-2) gene expression in human skin keratinocytes. *Ann N Y Acad Sci.* 732:140-51.
278. Versura P, Profazio V, Campos EC. (2010). Performance of tear osmolarity compared to previous diagnostic tests for dry eye diseases. *Curr Eye Res.* 35(7):553-64.
279. Vico E, Benítez del Castillo JM, Giménez RA, Fernández C, García Sánchez J. (2004). Tear function index validation for dry eye diagnosis. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 79(6):265-71.
280. Vico E, Quereda A, Benítez-Del-Castillo JM, Fernández C, García-Sánchez J. (2005). A comparative study of 0.15% sodium hyaluronate versus polyvinyl alcohol in the treatment of dry eyes. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 80(7): 387-94.
281. Villareal AL, Farley W, Pflugfelder SC. (2006). Effect of topical epinastine and olopatadine on tear volume in mice. *Eye Contact Lens.* 32(6):272-6.
282. Watsky MA, McDermott ML, Edelhauser HF. (1989). In vitro corneal endothelial permeability in rabbit and human: the effects of age, cataract surgery and diabetes. *Exp Eye Res.* 49(5):751-67.
283. Wolkoff P, Kjaergaard SK. (2007). The dichotomy of relative humidity on indoor air quality. *Environ Int.* 33(6):850-7.
284. Wolkoff P, Nøjgaard JK, Franck C, Skov P. (2006). The modern office environment desiccates the eyes? *Indoor Air.* 16(4):258-65.
285. Wolkoff P, Nøjgaard JK, Troiano P, Piccoli B. (2005). Eye complaints in the office environment: precorneal tear film integrity influenced by eye blinking efficiency. *Occup Environ Med.* 62(1):4-12.
286. Xie HP, Zhang HC. (1993). Effects of three kinds of topical eye-drops on the experimental rabbit dry eye. *Chin Med J (Engl).* 106(3): 196-201.
287. Xu KP, Tsubota K. (1995). Correlation of tear clearance rate and fluorophotometric assessment of tear turnover. *Br J Ophthalmol.* 79(11):1042-5.
288. Xu KP, Yagi Y, Toda I, Tsubota K. (1995). Tear function index. A new measure of dry eye. *Arch Ophthalmol.* 113(1):84-8.
289. Yang CQ, Sun W, Gu YS. (2006). A clinical study of the efficacy of topical corticosteroids on dry eye. *J Zhejiang Univ Sci B.* 7(8): 675-8.
290. Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. (2003). Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(1): 124-9.
291. Yokoi N, Kinoshita S, Bron AJ, Tiffany JM, Sugita J, Inatomi T. (2000). Tear meniscus changes during cotton thread and Schirmer testing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 41(12):3748-53.
292. Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, Chen Z, Farley WJ, Li DQ, Pflugfelder SC. (2007). Expression of Th-1 chemokines and chemokine receptors on the ocular surface of C57BL/6 mice: effects of desiccating stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48(6):2561-9.

293. Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, Chen Z, Farley WJ, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. (2008). Desiccating environmental stress exacerbates autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis in non-obese diabetic mice. *J Autoimmun.* 30(4):212-21.
294. Yoon KC, Im SK, Seo MS. (2004). Changes of tear film and ocular surface in diabetes mellitus. *Korean J Ophthalmol.* 18(2):168-74.
295. Yoon KC, Park CS, You IC, Choi HJ, Lee KH, Im SK, Park HY, Pflugfelder SC. (2010). Expression of CXCL9, -10, -11, and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* Feb;51(2):643-50.
296. Yüksel B, Bozdog B, Acar M, Topaloglu E. (2010). Evaluation of the effect of topical cyclosporine A with impression cytology in dry eye patients. *Eur J Ophthalmol.* 1;20(4):675-679.
297. Zhu L, Shen J, Zhang C, Park CY, Kohanim S, Yew M, Parker JS, Chuck RS. (2009). Inflammatory cytokine expression on the ocular surface in the Botulium toxin B induced murine dry eye model. *Mol Vis.* 15: 250-8.
298. Zhu Z, Stevenson D, Schechter JE, Mircheff AK, Atkinson R, Trousdale MD. (2003). Lacrimal histopathology and ocular surface disease in a rabbit model of autoimmune dacryoadenitis. *Cornea.* 22(1):25-32.
299. Zoukhri D. (2006). Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res.* 82(5):885-98.

8. ÖZGEÇMİŞ

19.11.1981 yılında Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1999 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandım. 2004 yılında aynı fakülteden Veteriner Hekim olarak mezun oldum. 2005 Şubat döneminde Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalında doktora eğitimine başladım. 2009 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalına Araştırma görevlisi olarak atandım. Halen bu görevimi devam ettirmekteyim.

Arş. Grv. Kadri KULUALP