

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



**FARELERDE DENEYSEL KURU GÖZ
MODELİNİN TEDAVİSİNDE FARKLI
BİTKİSEL (GOJİ BERRY,YEŞİL
ÇAY,CENNET HURMASI)
YAPRAKLARDAN ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN TERAPÖTİK
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Alper BAŞA

ELAĞIĞ- 2021

ONAY SAYFASI

Prof.Dr.Mesut AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof.Dr.Ali Said DURMUŞ

Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof.Dr. İbrahim CANPOLAT

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof.Dr.Emine ÜNSALDI

Prof.Dr.Servet KILIÇ

Prof.Dr.İbrahim CANPOLAT

Prof.Dr.Yesari ERÖKSÜZ

Doç.Dr.Cafer TAYER İŞLER



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Alper BAŞA
29.06.2021

İmza

Danışman
Prof.Dr. İbrahim CANPOLAT
Cerrahi Anabilim Dalı
ELAĞI

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bana her türlü desteği sağlayan danışman hocam Sayın Prof.Dr. İbrahim CANPOLAT'a, anabilim dalımızın kıymetli hocalarına ve asistan arkadaşlarıma sonsuz minnet ve şükranlarımı sunuyorum. Tez çalışmasının deney aşamasında değerli yardımlarını esirgemeyen danışman hocam İbrahim CANPOLAT'a, Dokuz Eylül Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr Öğretim Üyesi Kadri KULUALP'e ve Dr.Öğretim Üyesi Sema ÇAKIR'a, histopatolojik incelemelerde yer alan Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, çalışmanın western-blot analizi aşamasında her konuda desteğini esirgemeyen Biyoloji bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Abdullah ASLAN'a, tezin istatistik çalışmalarında yardımcı olan İstatistik bölümü öğretim üyesi Doç.Dr. Gökhan GÖKDERE'ye, FÜDAM çalışmalarında desteklerinden dolayı Dr.Öğretim Üyesi Özgür BULMUŞ'a, Lütfi DEMİREL'e, deneklerin zapt-ı raptındaki kıymetli katkılarından dolayı Veysel ÇAK'a teşekkürü bir borç bilmekteyim.

Tanıştığım günden beri hayatımdaki bütün zorlukları, mutlulukları ve hüznüleri beraber göğüslediğimiz kıymetli eşim Bahar Bektaş BAŞA'ya, hayatımıza giren canım oğullarım; Emir Kerem ve Burak Kağan'a, beni bugünlere getiren annem ve babam'a saygı, hürmet ve şükranlarımı arz ediyorum.

Bu tez çalışması Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından (Proje No. V.F.19.15) desteklenmiştir. Bu hususta Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurumu ve Fırat Üniversitesi Rektörlüğüne katkılarından dolayı müteşekkir olduğumu ifade ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Göz ve Gözyaşı Bezi Anatomisi	6
3.1.1. Lakrimal Fonksiyon Ünitesi	10
3.2. Prekorneal Tear Film	12
3.3. Kuru Göz Sendromu	14
3.3.1. Korneadaki Değişiklikler	17
3.3.2. Konjunktivadaki Değişiklikler	18
3.3.3. Meibomian Bezindeki Değişiklikler	18
3.4. Kuru Göz Sendromunda Teşhis Metodları	19
3.4.1. Schirmer Gözyaşı Testi	20
3.4.2. Endodontic Absorbent Paper Point Testi (EAPPT)	21
3.4.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi	21
3.4.4. Kornea ve Konjunktiva Boyanma Testi	22
3.4.5. Gözyaşı Osmolaritesi Ölçümü	25
3.4.6. İmpresyon Sitolojisi	25
3.4.7. Fluroscein Temizlenme Testi	26
3.4.8. Diğer Tanı Metodları	27
3.5. Tedavi	27
3.5.1. Medikal Tedavi	28
3.5.1.1. Suni Gözyaşı Uygulamaları	28
3.5.1.2. Kortikosteroidler	29
3.5.1.3. Non-steroid Antiinflamatuvar İlaçlar	30
3.5.1.4. Siklosporin-A	30
3.5.1.5. Tetrasiklin	31
3.5.1.6. Besin Takviyeleri	31
3.5.2. Operatif Tedavi	32
3.5.2.1. Punktal Tıkama Yöntemi	32
3.5.2.2. Tükürük Bezinin Transpozisyonu	33
3.5.2.3. Tarsorafi	33
3.5.3. Bitkisel Tedavi	33
3.5.3.1. Cennet Hurması (Diospyros Kaki)	36
3.5.3.2. Yeşil Çay (Camellia Sinensis)	38
3.5.3.3. Goji Berry (Kurt Üzümlü)	40
3.6. Deneysel Modeller	42
3.6.1. Lakrimal Bez Yangısı	42

3.6.2. Lakrimal Bezin Çıkarılması	43
3.6.3. Benzalkonyum Klorür (BAK) Uygulaması	44
3.6.4. Hormon Eksikliği Modeli	46
3.6.5. Nörojenik Model	46
3.6.6. Mekanik Kurutma Modeli	47
4. GEREÇ VE YÖNTEM	48
4.1. Çalışma İzni	48
4.2. Çalışma Materyali	48
4.3. Grupların Oluşturulması	49
4.4. Deneklerin Tutulması	49
4.5. Kuru Göz Modelinin Oluşturulması Aşaması (0-14 gün)	50
4.6. Ekstraktların Hazırlanması	52
4.7. Terapotik Ajanların Uygulanması Aşaması (15-30 gün)	53
4.8. Parametrik Değerlendirme Testleri	53
4.8.1. Endodontic Absorbent Paper Point Testi (EAPPT)	53
4.8.2. Korneal Boyanma Testi	55
4.8.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi	57
4.9. Western-Blot, Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Analizler	58
4.9.1. Western-Blot Analizi	58
4.9.2. Histopatolojik Analizler	59
4.9.3. İmmunohistokimyasal Analizler	59
4.10. İstatistik Analizler	61
5. BULGULAR	62
5.1. KG Modelinin Değerlendirilmesi	62
5.1.1. Parametrik Test Bulguları	62
5.1.1.1. Aköz Gözyaşı Üretim Miktarı	62
5.1.1.2. Korneal Fluorescein Boyanma Testi	62
5.1.1.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi	63
5.2. Ekstraktların Terapotik ve Yan Etkilerinin Değerlendirilmesi	64
5.2.1. Parametrik Test Bulguları	64
5.2.1.1. Aköz Gözyaşı Üretim Miktarı	64
5.2.1.2. Korneal Fluorescein Boyanma Testi	65
5.2.1.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi	65
5.3. Western-Blot Analiz Bulguları	70
5.4. Histopatolojik Bulgular	72
5.4.1. Korneal Neovaskülarizasyon	73
5.4.2. Korneada Yangısal Hücre Sayısı	76
5.5. İmmunohistokimyasal Bulgular	77
5.5.1. TNF- α Bulguları	77
5.5.2. IL- α Bulguları	79
5.5.3. Nrf-2 Bulguları	82
5.5.4. NF-Kb Bulguları	84
6. TARTIŞMA	85
7. KAYNAKLAR	100
8. EKLER	120
9. ÖZGEÇMİŞ	121

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gruplara Uygulanan Ajanlar ve Kullanım Sıklıkları	52
Tablo 2. Ekstrakt Uygulama Sıklığı	53
Tablo 3. Aköz Gözyaşı Üretim Miktarı	66
Tablo 4. Korneal Boyanma Testi Skor Verileri	67
Tablo 5. Gözyaşı Kırılma Zamanı Test Verileri	68



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Göz ve Gözyaşı Bezi Anatomisi	6
Şekil 2. Korneanın Katmanları	8
Şekil 3. Gözyaşı Bezleri	10
Şekil 4. Gözyaşı Kanalları	10
Şekil 5. Sinirsel Mekanizma	12
Şekil 6. Prekorneal Gözyaşı Filmi	13
Şekil 7. KGS Patogenezi	16
Şekil 8. Schirmer Testi	22
Şekil 9. Oxford Skalası	24
Şekil 10. NEI Skalası	25
Şekil 11. Vanbijsterveld Skalası	25
Şekil 12. Diospyros Kaki	38
Şekil 13. D. Kaki Yaprağı	38
Şekil 14. Yeşil Çay	39
Şekil 15. Yeşil Çay Yaprak İçeriği	39
Şekil 16. Epigallo Kateşin Gallatin (EGCG) Yapısı	40
Şekil 17. Goji Berry ve Yaprağı	41
Şekil 18. Deneklerin Barınması	48
Şekil 19. Deneklerin Gruplandırılması	49
Şekil 20. Kauçuk Düzenek	50
Şekil 21. Deneğin Zapt-ı Raptı	50
Şekil 22. Saf Benzalkonyum Klorür	51
Şekil 23. Mikroenjektör	51
Şekil 24. Enjektör ile Uygulama Yapılması	52
Şekil 25. Endodontik Absorbent	54
Şekil 26. EAPPT Testi	54
Şekil 27. EAPPT Ölçüm Kağıdı	55
Şekil 28. Fluorescein Sodyum	56
Şekil 29. Slit-Lamp Biyomikroskop	56
Şekil 30. Fluorescein Uygulaması	57
Şekil 31. Kobalt Mavisi Işık Altında Görüntü	57
Şekil 32. Orbital Dokuların Çıkarılması	61
Şekil 33. 0.gün KGG korneal boyanma	69
Şekil 34. 15.gün GBG korneal boyanma	69
Şekil 35. 20.gün GBG korneal boyanma	69
Şekil 36. 20.gün YÇG korneal boyanma	70
Şekil 37. 30.gün YÇG korneal boyanma	70
Şekil 38. Western-Blot analiz sonuçları	71
Şekil 39. Pozitif kontrol grubunda keratinizasyon	73
Şekil-40. Korneadaki damar sayısı ortalamaları	74
Şekil 41. Kontrol ve tedavi gruplarında neovaskülarizasyon şiddeti	75
Şekil 42. Kontrol ve tedavi gruplarında neovaskülarizasyon	76
Şekil 43. Kontrol ve tedavi gruplarında yangısal hücrelerin sayısı	77
Şekil 44. TNF- α pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru	78
Şekil 45. Kontrol ve tedavi gruplarında TNF- α Aktivitesi	79
Şekil 46. IL-1- α pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru	80
Şekil 47. IL-1- α Aktivitesi	81

Şekil 48. NrF-2 pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru	82
Şekil 49. NrF-2 aktivitesi	83
Şekil 50. NF-κB pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru	84



KISALTMALAR LİSTESİ

APC : Antijen sunan hücreler
BAK : Benzalkonyum klorür
CD4 + T: Yardımcı T hücresi
CH: Cennet hurması
CsA: Siklosporin-A
DK: Diospyros kaki
EALT: Göz ile ilişkili lenfoid doku
EAPPT : Endodontic absorbent paper point testi
EGCG: Epigallocateşin gallat
GB: Goji berry
IFN: İnterferon-gama
Ig : İmmunglobulin
IL:İnterlökkin
KG: Kuru göz
KGG: Kuru göz grubu
KGS: Kuru göz sendromu
KKS: Kerato-konjunktivitis sikka
MMPs: Matriks metalloproteinaz
mm: Milimetre
MUC :Müsin
NEI: Ulusal göz hastalıkları enstitüsü görme ölçeği
NFK: Nükleer faktör kappa
NRF: Nükleid eritroid ile ilişkili faktör
NSAID: Non-steroid antiinflamatuvar ilaç
PGF : Prekorneal gözyaşı filmi
µl: Mikrolitre
Sn :Saniye
SF: Serum fizyolojik
TBUT : Gözyaşı kırılma zamanı testi
TGF: Dönüştürücü büyüme faktörü
TNF: Tümör nekrozis faktör
YÇ: Yeşil çay

1. ÖZET

Kuru göz sendromu, oküler yüzeyin hasarı ile birlikte gözyaşı film instabilitesi, görme bozuklukları ve semptomları ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Bu çalışmanın amacı, cennet hurması, yeşil çay ve goji berry yapraklarından elde edilen ekstraktların kuru göz modelindeki terapötik etkilerini karşılaştırmaktır. 28 adet BALB/c dişi fareler rastgele ve her grupta 7 denek olacak şekilde olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Gruplar; kuru göz (KG), goji berry (GB), yeşil çay (YÇ) ve cennet hurması (CH) olarak isimlendirildi. Deneklerin sağ gözlerine 14 gün boyunca günde 2 kez % 0,2'lik Benzalkonyum Klorür (BAK), 15 ile 30. günlerde KG grubundaki deneklerin sağ ve sol gözlerine % 0,9'luk SF ve ekstrakt gruplarındaki deneklerin sağ ve sol gözlerine ise ekstraktlar günde 3 kez 5 µl dozunda uygulandı. 0.gün tüm parametrik test (Endodontik absorbent paper point testi, korneal boyanma testi ve gözyaşı kırılma zamanı testi) sonuçları arasındaki farkın önemsiz ($P>0,05$), 15.günde ise farkın önemli ($P<0,05$), 20,25 ve 30.günde uygulanan testlerin verilerine göre en iyi sonuçların diğer gruplara göre anlamlı bir fark göstermese de YÇ grubunda olduğu saptanmıştır ($P> 0.05$). Western-blot analizde, interlökin-1 alfa (IL-1 α) , tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve nükleer faktör kappa B (NF-Kb) ekspresyon seviyeleri en yüksek KG, en düşük ise YÇ, nükleid eritroid ilişkili faktör-2 (Nrf-2) seviyesi en yüksek YÇ grubunda ölçülürken, gruplar arası fark önemlidir. Histopatolojik analizde, damar ve yangı hücre sayısı KG (+) grubunda yüksek, YÇ grubunda ise düşük olup bu farklar anlamlıdır ($P<0.05$). İmmunohistokimyasal analizde TNF- α ,IL-1 α , NF-kB ve Nrf-2 için, KG (+)'in KG (-) 'den yüksek ancak ekstrakt gruplarından düşük olduğu belirlenmiş olup bu farklar anlamlıdır ($P<0.05$). Sonuç olarak; yeşil çay

yaprağından elde edilen ekstraktın KG'li olgularda goji berry ve cennet hurması ekstraktlarına göre daha faydalı etkiler oluşturduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ekstrakt, fare, kuru göz, goji berry, cennet hurması, yeşil çay



2. ABSTRACT

Comparison of Therapeutic Effects of Extracts Obtained from Different Herbal (Goji Berry, Green Tea, Diospyros Kaki) Leaves in the Treatment of Experimentally Dry Eye Model in Mice

Dry eye syndrome is a multifactorial disease characterized by tear film instability, visual disturbances and symptoms, together with damage to the ocular surface. The aim of this study is to compare the therapeutic effects of extracts from persimmon, green tea, and goji berry leaves in a dry eye model. 28 BALB / c female mice constituting the study material were randomly divided into 4 different of groups 7 subjects in each group. Groups; named dry eye (DE), goji berry (GB), green tea (GT) and persimmon (P). 0.2% Benzalkonium Chloride (BAC) twice a day during 14 days right eyes of the subjects, on 15th and 30th days 0.9% saline solution to the right and left eyes of the subjects in the CG group, and the extracts to the right and left eyes of the subjects in the extract groups were applied topically at dose of 5 µl 3 times a day. On day the 0th the difference between all parametric test (endodontic absorbent paper point test, corneal staining test and tear break-up test) results was insignificant ($P > 0.05$), and on the 15th day the difference was significant ($P < 0.05$), according to the data of parametric tests applied on days 20, 25 and 30th the best results were obtained from GT group compared to other groups, although the differences ($P > 0.05$) GT group between other groups were not ignificant. In the results of Western-blot, interleukin-1 alpha (IL-1 α), tumor necrosis factor- alpha (TNF- α) and nucleid factor kappa B (NF-Kb) inflammatory cytokine expression levels were measured with the highest in DE, the lowest in the GT group, and the highest nukleid factor erythroid-2 Nrf-2 levels in the GT group. The immunohistochemical analysis

showed that DE (+) was higher than DE (-) for TNF- α , IL-1 α , NF-kB and NrF-2, and lower than the extract groups even though these differences were significant (P <0.05). In the histopathological analysis, the number of vessels and inflammatory cells was high in the KG (+) group and low in the CG group, and these differences were significant (P<0.05). As a result; it is observed that the extract obtained from green tea leaf has more beneficial effects in DE cases compared to goji berry and persimmon leaf extracts.

Key Words: Extract, dry eye, mice, goji berry, persimmon, green tea.

3. GİRİŞ

Kuru göz sendromu (KGS), oküler yüzeyin hasarı ile birlikte gözyaşı film instabilitesi, görme bozuklukları ve semptomları ile karakterize oküler yüzeyin ve gözyaşının multifaktöriyel bir hastalığıdır (1). Oküler yüzeyin yangısı hastalığın patogenezisinde önemli rol oynamaktadır (2-4).

Gözyaşı osmolaritesindeki artışın yangısal sitokinleri, şemokinleri, matriks metalloproteinazları (MMPs), adhezyon moleküllerini ve apoptozis belirteçlerini uyararak yangısal reaksiyonu başlattığı bilinmektedir. Bu sürece lakrimal bezlerin disfonksiyonu eşlik eder ve hastalığın en belirgin klinik tablosu olan gözyaşı üretim miktarında azalmalar meydana gelir (4).

KGS'nin geleneksel tedavisinde yapay gözyaşı preparatları, antiinflamatuvar ajanlar, punktal plaklar, biyolojik sıvılar, kontakt lensler ve şiddetli vakalarda cerrahi müdahale yöntemleri tercih edilmektedir. Ilımlı ve orta şiddetteki kuru göz (KG) olgularının tedavisinde klinik belirtilerin hafifletilmesi ve hastada rahatlatıcı etki oluşturmak amacıyla yapay gözyaşı preparatları rutin olarak kullanılmaktadır (1,4). Bu ajanların etki mekanizması hastalığın altında yatan sebebe yönelik olmadığı için kullanım amacı semptomatik tedaviyle sınırlı kalmaktadır. Son dönemlerdeki tedavi stratejileri hastalığın patogenezisinde anahtar rol oynayan lakrimal ünitedeki yangının inhibisyonu üzerine yoğunlaşmıştır (2, 3).

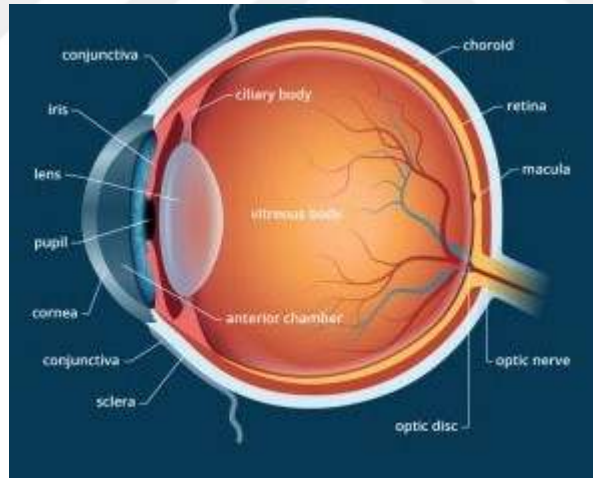
Bu amaçla kortikosteroid ve siklosporin-A (CsA) gibi çok çeşitli antiinflamatuvar ajan grupları rutin olarak kullanılmaktadır (4).

Bitkisel ekstraktlar, geniş etki spektrumları nedeniyle birçok yangısal hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (3).

Bu çalışmanın amacı cennet hurması, yeşil çay ve goji berry yapraklarından elde edilen ekstraktların deneysel olarak oluşturulan kuru göz modelindeki terapötik etkilerini karşılaştırmaktır.

3.1 . Göz ve Gözyaşı Bezi Anatomisi

Göz dış ortamla bağlantımızı sağlayan önemli bir duyu organıdır ve kendine gelen bilgileri optik sinir (nervus opticus) aracılığıyla beyne aktarmakla yükümlüdür. Kafatasında orbita içerisinde bulunur. Orbitanın etrafında ve dip kısımlarında, gözü hareket esnasında koruyan yağ dokusu mevcuttur. Bulbus oculi ve organa oculi accessoria (Gözün Yardımcı Organları) olmak üzere iki kısımda incelenir. Bulbus oculi dıştan içe doğru; tunica fibrosa bulbi (sklera, kornea), tunica vasculosa bulbi (koroidea, korpus siliare, iris) ve tunica nervosa bulbi (retina) olarak 3 katmana ayrılır (Şekil 1) (5-8) .



Şekil 1. Göz Anatomisi (5).

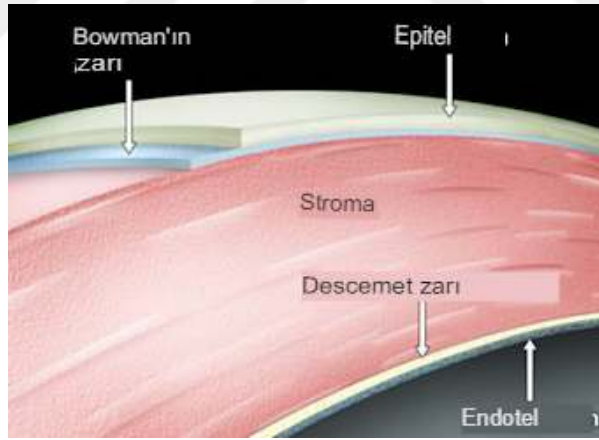
Gözün yardımcı organları ise; kaşlar, palpebra (göz kapağı) ve gözyaşı bezleridir. Göz kapakları periyodik olarak açılıp kapanarak gözyaşının korneal yüzey ve konjunktivada dağılmasını ve böylece bu bölgelerin sürekli ıslak kalmasını sağlar. Ayrıca toz, kir ve yabancı cisimler gibi dış etkilere de göz

küresini korur. Kornea avasküler yapıdadır ve oküler yüzey mikroçevresinin korunmasında önemli bir rol oynar. Bu yapı merkez kornea ve limbus (kenar kısım) olarak iki kısımda incelenir (5, 6). Merkez korneadaki kalınlık yaklaşık 520 μm (0,52 mm) kadar iken limbusta bu kalınlık 650 μm civarındadır. Limbusta tek katlı yassı endotelle çevrili trabeküller humor aközün ön kamaraya geçişini sağlayan schlemm kanalını oluşturmuştur. Humor aköz korpus siliaredeki processus siliarisler tarafından üretilir (9, 10).

Kornea katmanları dıştan içe doğru; kornea epitel (30-50 mikron (μm) kalınlığında), bowman tabakası (10-14 μm), stroma (400-700 μm), desement zarı (3-12 μm) ve endotel katı (4-6 μm) şeklinde sıralanır. Epitel ince çok katlı yassı özelliktedir. Rejenerasyon yeteneği fazladır. Beslenmesi limbustaki kan damarları yoluyla olmaktadır. Dış çevre ile direkt temas halinde olduğu için olası zararlı etkilere epitel hücreler gap-junction desmosom tipi bağlantılarını kuvvetlendirir. Epitel hücreleri korneal yara iyileşmesinde inflamatorik yanıtın gelişmesini sağlayan ve bölgeye sitokinleri çağıran sinyaller gönderir. Epitel tabakası hidrofobik oluşu sebebiyle hidrofilik maddeler için bariyer görevi görmektedir. Epitel katın yıkımlanması halinde fluorescein gibi hidrofilik maddeler stromaya penetre olur ve kornea dejenerasyonu ortaya çıkar (9-14). Bowman katmanı hücre ihtiva etmeyen korneayı geren ve enfeksiyonların yayılmasında bariyer görevi gören bir tabakadır. Stroma katı ise korneanın büyük bir kısmını kaplar. Yaklaşık 60 adet ince lamelden oluşur ve yangı (inflamasyon) durumunda yangı hücreleri bu lamellerin arasına penetre olmaktadır. Keratinositler olarak adlandırılan fibroblast hücreleri ihtiva eder (10, 11, 12). Keratinositlerden, ekstrasellüler matriksin korunmasını sağlayan glikozaminoglikan ve kollagen üretilir. Stromada

3 tip glikozaminoglikan bulunmaktadır. Bunlar; keratan sülfat (%50), kondroitin sülfat (% 25) ve kondroitin sülfat A'dır (%25). Kornea stroması glikozaminoglikan yapısı nedeniyle hidrofilik özelliktedir. Bu yüzden stromaya doğru su akımı vardır. Endotel hücreleri tarafından stromada tutulan su ve elektrolitler aköz humora pompalanmaktadır. Gözyaşı ve aköz hümörün osmotik yükü kornea dehidratasyonuna doğrudan etki eder (10,11).

Bazal membran görevi gören desmesent membran kornea endoteli sayesinde travma sonrası kendini yenileyebilme yeteneğine sahiptir (12, 13). Endotel kat korneadan geçen tüm maddeler için kapı görevi görmektedir. Ayrıca korneanın su dengesini korur. Endotel hücreler doğumda yaklaşık 1 milyona ulaşır ancak rejenerasyon kabiliyeti olmadığı için yaşlanma ile sayıları giderek azalır (Şekil 2) (12, 13, 14).



Şekil 2. Korneanın Katmanları (5).

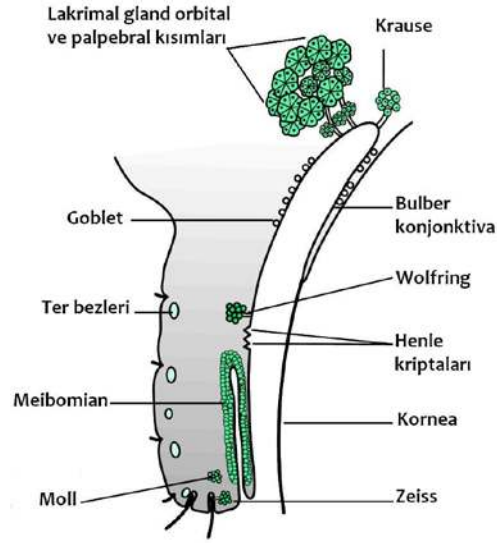
Konjunktiva oküler yüzeyin 2/3' ünü kapsar. Konjunktiva epiteli de tıpkı kornea epiteli gibi bariyer görevini üstlenmiştir. Palpebral, bulbar ve tarsal olmak üzere 3 kısımda incelenir. Konjunktiva epitelindeki goblet hücreleri, henle kriptleri, manz bezleri ve dendritik langerhans hücrelerinden gözün savunmasında önemli bir yer tutan müsin (MUC) salgılanmaktadır (14, 15, 16).

Bunlar; MUC1, MUC4, MUC5AC ve MU16 şeklinde sınıflara ayrılır. Ayrıca konjunktiva içerisinde lenfoid savunma sistemine ait doğal öldürücü hücreler (NK), B ve T lenfositleri bulunmaktadır (15, 16).

Göz kapakları dıştan içe doğru; deri, kas tabakası, tarsal tabaka ve konjunktiva şeklinde oluşmaktadır (5 ,6).

Gözyaşı bezleri; temel gözyaşı bezleri ve eklenti gözyaşı bezleri olarak ikiye ayrılır. İnfraorbital yerleşim gösteren temel gözyaşı bezleri bulbus okulinin superior temporal bölgesinde fossa glandula lakrimaliste yer alır ve sayıları 12 ye kadar ulaşabilen duktuli excretoriiler aracılığıyla forniks konjunktiva superiore, oradan da sakkus konjunktivalise yayılarak göz küresini ıslatır. Salgının drenajı punktum lakrimale ve onun bağlantılı olduğu ductus nasolakrimalisin açıldığı meatus nasi dorsalis yoluyla olur (5, 7, 9, 10, 17, 18).

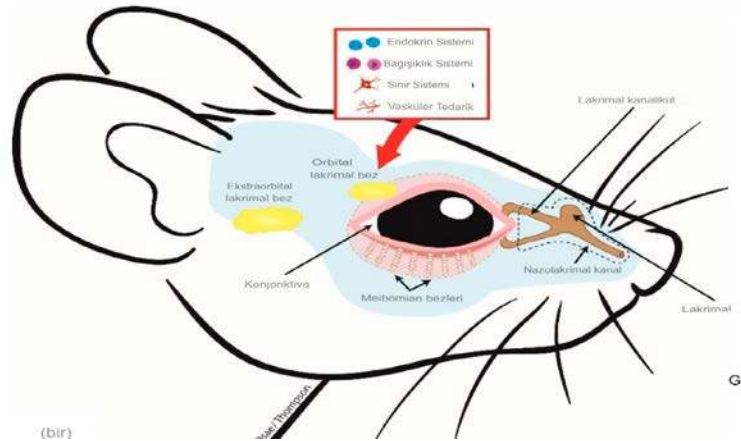
Eklenti gözyaşı bezleri ise; palpebra tertia, Meibomian, Krause, Wolfring, Manz, Zeis, Moll ve Harder bezleridir. Bunlardan palpebra tertia birçok hayvan türünde bulunur ve gözün medial kısmında yer almaktadır (3). Tarsal bez olarak da bilinen Meibomian bezi göz kapağının tarsal kısmında içe doğru dikey olarak gömülü halde bulunur ve göz kapağının serbest kısmına, kirpik follikülleri ile bağlantılı olan zeis (Yağ bezleri) ve moll bezleri (Gl. Ciliaris- ter bezleri) ise kirpik bölgesine açılır. Krause ve Wolfring bezleri konjunktival fornikte yerleşim gösterir (19, 20). Kuş, sığır, domuz ve rodentlerde karşımıza çıkan harder bezi ise üçüncü gözkapağıyla ilişkili olarak gözün iç açısı içerisinde lokalize olur ve membrana niktitansa açılır (Şekil 3) (3,7).



Şekil 3. Gözyaşı Bezleri (5).

3.1.1. Lakrimal Fonksiyon Ünitesi

Lakrimal fonksiyon ünitesi; gözyaşı bezleri, 3.göz kapağı bezi (Gl. Palpebra tertia yada niktitans), eklenti gözyaşı bezleri, punkta lakrimalis superior ve inferior, lakrimal kanal, lakrimal kese, punkta nasalis, naso-lakrimal kanal, prekorneal gözyaşı filmi, oküler yüzey, kornea, konjunktiva ve bu birimler arasında birlikteliği sağlayan gözyaşı sıvısı, hormonlar, kan, sinirler, sitokinler, ışık ve gözkapaklarının hareketinden oluşmaktadır (Şekil 4)(5, 6, 19, 21).

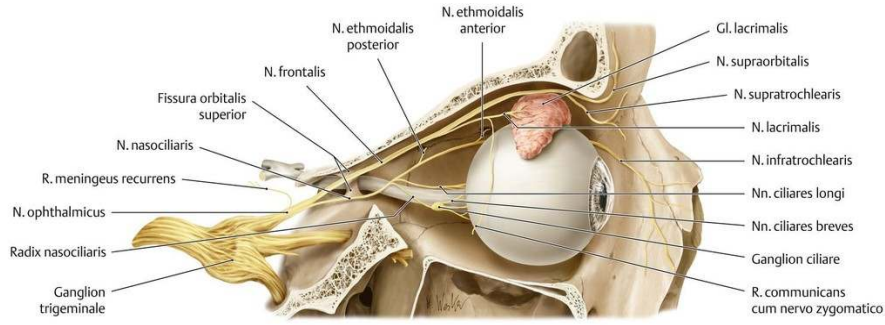


Şekil 4. Gözyaşı Kanalları (5).

Parasempatik sistemin kontrolünde olan gözyaşı bezinin sinirsel kontrolü N. Trigeminus tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu hususta kornea ve konjunktivadaki afferent uyarılar trigeminal sinirin oftalmik kolu aracılığıyla beynin medullasındaki spinal trigeminal nükleusuna ardından ponsun lakrimal nükleusuna ulaşır. Sinyaller burada analize edilerek lakrimal bezdeki asiner hücrelere gönderilir (Şekil 5) (21).

Gözyaşı sekresyonunu kontrol eden diğer bir mekanizma ise hormonlardır. Gl. lakrimalis ve meiboman bezleri üzerinde androjen (dişilerde östrojen) hormon reseptörleri mevcuttur. Androjen hormonu özellikle interlökin-1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör (TNF) üretimini baskılayarak antiinflamatuvar bir görev üstlenir. Bunun haricinde büyüme hormonu, insülin, tiroid ve melatonin hormonları da gözyaşı sekresyonunun kontrolünde etkilidir (22).

Gözyaşı salgısı temel ve reflektörük olarak iki şekilde salgılanır. Temel salgılamada; Krause ve Wolfring bezleri tarafından üretilen gözyaşı kornea ve konjunktivanın gereksinimlerini karşılar. Reflektörük salgılama ise; konjunktiva, kornea, iris ve burun mukozasının uyarılmaları sonucu trigeminal sinir ve fasiyal sinir aracılığıyla gelişir ve üretilen gözyaşı miktarı uyarının şiddetine göre artabilir (5, 6, 19).



Şekil 5. Sinirsel Mekanizma (21).

Sağlıklı bir gözyaşının içeriğinde lizozim, laktoferrin, lipokallin ve albümin proteinleri, Na, K, Cl ve Ca iyonları, immunglobulin A (IgA), IgM ve IgG antikorları, TNF, Dönüştürücü Büyüme Faktörü (TGF) , Müsin 1-4-5 AC ve latent proteazlar mevcuttur. Kompozisyondaki bu zenginlik gözyaşının çeşitli görevler yüklenmesini sağlamıştır (19) .

3.2 . Prekorneal Gözyaşı Filmi (PGF)

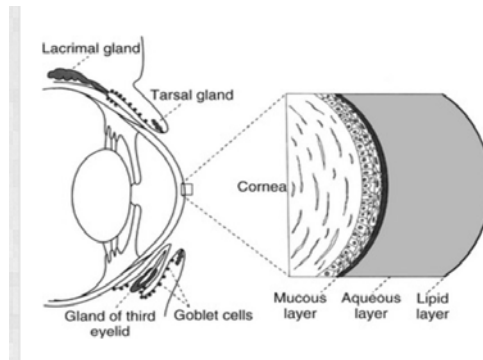
Gözün bütünlüğü ve normal işlevi prekorneal gözyaşı filmi olmadan sürdürülemez. PGF göz yüzeyine ince bir tabaka halinde yayılarak nüfuz ederek oküler yüzeyin, korneanın ve konjunktivanın sürekli olarak ıslak kalmasına bu sayede daha net bir görüşün oluşumuna katkı sağlamasının yanında hücrel artıkların ve yabancı cisimlerin temizlenmesi, antibakteriyel etki ve korneanın beslenmesi gibi önemli vazifeler de üstlenmiştir. Dıştan içe doğru; lipid, aköz ve müsin katman olarak tabakalandırılır (23, 24, 25).

Wolff isimli araştırmacı tarafından ortaya konan 3 tabakalı teoriye göre histolojik ve morfolojik olarak; Meibomian, Zeis ve Moll bezlerinin ürettiği 0,5 µm kalınlığında yüzeysel lipid katman gözyaşının buharlaşmasını yavaşlatır. Bu tabaka; kolesterol, esterler ve fosfolipidlerden oluşmaktadır (Şekil 6) (23).

Krause ve wolfring bezleri ile temel gözyaşı bezlerinin salgıları ile oluşan ortalama 6,5- 7 μm kalınlığında orta aköz katman PGF'nin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. %98 su olan bu tabakanın içerdiği sodyum konsantrasyonu serum konsantrasyonuna yakinken, potasyum konsantrasyonu bunun 5 katı kadardır. Sodyum, potasyum ve klor iyonları gözyaşı ile kornea epiteli arasında osmotik basınç vasıtasıyla sıvı alışverişini regüle ederler. Aköz tabaka, ayrıca bakır, glikoz, laktat, üre, magnezyum, kalsiyum ve fosfat iyonlarının da içermektedir (26, 27, 28).

İmmun sistemde görevli IgA, IgM ve IgG, laktoferrin, lizozim ve beta lizin aköz katmanda bulunur. Gözyaşındaki glikoz seviyesi ortalama 2,5 mg/dl iken, üre seviyesi 0,04 mg/ dl'dir. Gözyaşındaki proteinin yaklaşık % 25 'ini laktoferrin oluşturur. Demir bağlayan laktoferrinin hem bakteriyostatik, hem de bakterisit etkileri vardır (26, 29, 30, 31,32).

Kornea ve konjunktivadaki goblet hücreleri tarafından oluşturulan 0,2 ile 0,5 μm kalınlığındaki derin müsün katman ise aköz tabaka ile kornea epitelyumu arasında hidrofilik bariyer görevi üstlenir. Gözyaşının oküler yüzeye düzgün bir şekilde yayılmasını sağlar ve bu sayede oküler yüzeyin kurumasını önler. Son yapılan çalışmalarda bu teoriyi revize ederek desteklemiştir (23,31-36).



Şekil 6. Prekorneal Gözyaşı Filmi (18).

3.3. Kuru Göz Sendromu (KGS)

KGS dünya genelinde gözlenen en yaygın göz rahatsızlıklarından biridir. Kerato-konjunktivitis sikka (KKS) olarak da isimlendirilir. Uluslararası kuru göz sempozyumunda bu rahatsızlık; göz yüzeyi hasarı, PGF instabilitesi-hiperosmolaritesi ve görme bozukluğu ile sonuçlanan multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmıştır (1, 4, 19, 20, 24, 29, 37). Yapılan bir çalışmada KGS'ye lakrimal fonksiyon ünitesindeki bozukluğun sebep olabileceği ifade edilmiştir (38).

KGS'nin etiolojisinde yaş, cinsiyet, beslenme, stres, hormonlar, göz operasyonları, hava şartları (toz, nem, sıcaklık, güneş ışığı, bilgisayar ekranı), blefaritis, otoimmün hastalıklar, topikal ve sistemik ilaçlar rol oynar. Hastalık insanlarda sıklıkla kadın ve yaşlılarda, hayvanlarda ise köpeklerde yüksek oranda gözlemlenir (39). Kadınlarda post menopozal dönemde artar. Bu durumun östrojen ve androjen seviyelerindeki düşüşten kaynaklanabileceği bildirilmiştir (22).

Yaşlılarda daha fazla gözlenmesinin altında yatan sebep ise lakrimal bez fonksiyonundaki azalmadır. Antihistaminik ve antimuskarinik ilaç kullanımı da gözyaşı kalitesi etkilemektedir. Göz yüzeyinin immun dengesini PGF, lakrimal bezler, eklenti gözyaşı bezleri, konjunktiva, nazo-lakrimal kanallar ve Meiboiman bezinin uyumu sağlar (40-43).

Göz yüzeyindeki muköz membran kendi bünyesinde göz ile ilişkili lenfoid doku (EALT) barındırır. Bu doku; mukozal immun sistemi oluşturan dendritik hücreler, mast hücreleri, makrofajlar, lenfositler ve çözünür immun mediatörleri içerir (42, 44, 45).

Konjunktiva yüzey epitelini ve müsün tabakasının bütünlüğünü koruyan IgA (İmmunglobulin A) ve antimikrobiyal peptidleri salgılayarak sağlam bir savunma sistemi oluşturur. Salgılanan IgA müsün tabakasına yapışır. IgA üreten plazma hücreleri göz yüzeyindeki mukozal membranda ve gözyaşı bezinin subepitelyal stromasında bulunur (46, 47).

Göz yüzeyinin immun sisteminin dengesi bozulduğunda KGS hastalığı meydana gelmektedir. KG hastalığı özünde bir yangıdır. Yangıyı meydana getiren birçok dış ve iç faktör bu hastalık içinde söz konusudur (45-48).

Deneyisel kuru göz (KG) modellerinde yangı kriteri olarak nitelendirebilecek önemli bir T lenfosit infiltrasyonu gözlenmiştir (46, 49). Yangı; erken (akut) ya da geç (kronik) olmak üzere iki ayrı fazda incelenmektedir. Erken safhada gözün uğradığı mikrotravmalar, mikrobik antiijenler, ultraviyole ışınları, hiperosmotik stres gibi faktörler göz yüzeyindeki epitel hücreleri uyarak buradan IL-1 α , IL-1 β , TNF- α IL-6 ve IL-8 gibi yangı öncesi sitokinlerin salınımına neden olur (Şekil 7) (42, 50, 51, 52).

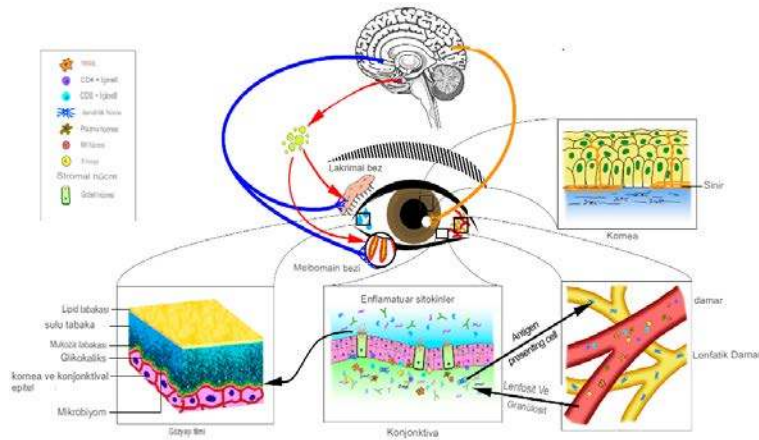
Bu yangı öncesi sitokinler, şemokinlerin üretimini de artırır. KGS; yetersiz gözyaşı üretimi sonucu ya da üretilen gözyaşının evaporasyonu (buharlaşma) sonucu şekillenir. Yetersiz gözyaşı üretimi temelde Sjögren ve non-Sjögren kökenli olabilmektedir. Kronik yangıda göz yüzeyinde antiijen sunan hücrelerin (APC) üretim işlemi ön plandadır. Bu hücreler konjunktival afferent lenf kanalları ve venler aracılığıyla lenf nodüllerine göç eder ve yardımcı T hücresi (CD4 + T) hücre üretimini indükler (42, 52).

Özelleşmiş bu T hücreleri daha sonra konjunktivaya ilerler ve burada aktive vasküler endotele yapışarak doku parankimi içerisine girer. T lenfosit alt grubu CD4 + T hücre varlığı KGS için önemli bir belirteçtir (53, 54).

T hücreleri tarafından üretilen IFN- γ (interferon-gama) ve IL-17 gibi sitokinler konjunktival kan damarları üzerindeki vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM), vasküler endotelyal büyüme faktörü-C (VEGF-C) ve VEGF-D gibi adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırmak suretiyle immün yanıtı artırır ve bu durum oküler yüzey hasarının oluşumuna neden olur (55). IFN- γ ayrıca oküler yüzeydeki müsinleri de değiştirir; bu değişiklikler epitelyal hücre apoptozu, goblet hücre kaybı ve skuamöz displazi ile ilgilidir (46, 50, 54).

MMPs' lar salgı bezleri ve göz epitel dokusu tarafından üretilen ve bu dokulara infiltre olan proteolitik enzimlerdir. KGS hastalarında gözyaşında yüksek oranda tespit edilmektedir (50, 55).

MMPs- 3 ve MMPs -9 korneal epitelyal bariyer disfonksiyonunu artırır. Bu süreç bahsi geçen enzimlerin, korneal epitelyal hücreler arasındaki bağlantıyı sağlayan proteinleri ve bazal membranın komponentlerini eritmek suretiyle gerçekleşir (55).



Şekil 7. KGS Patogenezi (40).

Fare modeli çalışmalarında Sjögren sendromuna genetik yatkınlık saptanmıştır. Bu sendrom; gözyaşı ve tükürük bezleri başta olmak üzere, tüm ekzokrin bezlerin lenfositik infiltrasyonu ile karakterize, kronik, sistemik, otoimmün ve genetik temelli bir hastalıktır (56-59) . Kadınlarda görülme olasılığı östrojen hormonunun lenfositler üzerindeki baskılayıcı etkisinden dolayı yüksektir. Hastalık göz ve ağız kuruluğu oluşturur ve sinsi bir şekilde seyreder (22, 56, 58). Gözyaşı bezinin Non-Sjörgen sendromu ile alakalı hastalığı ise A vitamini eksikliği, trachoma, sarcodiosis ve lenfoma ile ilişkilidir (60, 61, 62).

Otoimmun hastalıklar dışında KGS; normal miktarda üretilen gözyaşının nem, güneş ışığı, bilgisayar ekranı gibi dış faktörlerden kaynaklı evaporasyonu (buharlaşma) sonucu şekillenebilir. Her iki tabloda da gözyaşında hiperosmolarite oluşur. KGS hastalığında gözlenen bu hiperosmolarite aslında osmotik basıncın artmasına bağlı şekillenen dehidratasyonla ilişkilidir (53, 54).

Dehidratasyona ilaveten lipid katmandaki lipid bağlanma proteinlerinin yetersizliği ile birlikte epitel katmandaki negatif yüklü ve hidrofilik özellikteki glikokaliks tabakasının kaybına yol açar. Artan sıcaklık, düşük nem ve yüksek hava akışı buharlaşmayı tetikler (44, 50, 54).

3.3.1. Korneadaki Değişiklikler

Epitelyal deskumasyon, skarlaşma, opaklaşma ve dejenerasyon KG'nin kornea üzerinde oluşturduğu önemli komplikasyonlardır. Yoğun inflamatuvar yanıt, kuruma stresi, MMPs ile bunların inhibitörleri arasındaki uyumsuzluk stromadaki kollagen matrikste önemli derecede yıkımlanmaya yol açarak korneanın merkezindeki ve periferindeki limbal epitelde incelmeye sebep olur.

Sonuç olarak prognozu kötüye çeviren; neovaskularizasyon, pannus oluşumu ve ülserasyon şekillenir (63-66).

3.3.2. Konjunktivadaki Değişiklikler

Konjunktivada meydana gelen majör patolojik değişiklik ise gözyaşı filmindeki düzensizlik ve kronik inflamatorik yanıtla bağlı gelişen skuamöz metaplazidir. Limbal epiteldeki incelmeye kıyasla bulbar konjunktival epitelde kalınlaşma şekillenmektedir. Goblet hücre yoğunluğu KGS'da azalır. Bu tablo pterygium olarak isimlendirir ve dolaylı olarak gözyaşı kırılma zamanını azaltarak KGS oluşumunu tetikler (53, 54, 66).

3.3.3. Meibomian Bezindeki Değişiklikler

Meibomian bezinin disfonksiyonuna bağlı olarak yetersiz ve en önemlisi kalitesiz lipid tabaka üretimi stabil olmayan bir gözyaşı filmi oluşumuna yol açar. Bu durum KG hastalarının gözyaşlarındaki trigliserit miktarı artırır ve özellikle reaktif oksijen türlerinin bağlandığı lipidlerin moleküler düzeyde şekillerinde değişikliğe neden olur. Buna ek olarak üretilen yağlar göz kapağında yer alan komensal bakteriler tarafından üretilen esteraz ve lipazların etkisiyle yıkımlanır (67, 68, 69). Düzensiz lipid üretimi viskoziteyi artırır ve bu durum Meibomian bezinde tıkanıklığa yol açar. Tıkanıklık yetersiz lipid katman üretimini ve bu durumda buharlaşmaya bağlı gözyaşı eksikliğini meydana getirir. Meibomian bezine bağlı KGS olguları; hipersekretorik, hiposekretorik ve obstruktif olarak üç şekilde sınıflandırılır (30, 31, 67).

Aköz gözyaşının kendi bünyesinde bulunan; lizozom, laktoferrin, lipokalin, IgA, fosfolipaz A, defensin ve katelisidin gibi antimikrobiyal peptidler değişikliğe uğrayarak ve genellikle de seviyeleri azalarak KGS'nin ortaya

çıkmasına katkı sağlar. Azalmış müsin oluşumu ya da sekresyonu göz yaşı instabilitesini etkileyerek hastalığın başlangıcına ve kalıcılığına katkıda bulunur. Artmış korneal refleks göz kapakların kendisi ile göz arasında sürtünmeyi artırır. Bu durum Meibomian bezinde nörojenik yangıya yol açar (31, 33, 34, 64, 68).

KGS'nin başlangıç döneminde; gözlerde kuruluk, yabancı cisim batma hissi, kaşıntı, ağrı, yanma, fotofobi, görmede bulanıklık, kızarıklık, mukoz akıntı gözlenirken, ileriki dönemde hastalığın şiddetinin artmasıyla aşırı göz kırpma, fotofobi, ağrı, bleferospazm ve enoftalmus, muköz gözyaşı akıntısı, göz çevresinde kabuklanma, blefaritis, hiperemi ve kaşıntı ile seyreden konjunktivitis, episkleral ödem ve kapillar damarlarında konjesyon, korneal ülserasyon ve bunların neticesinde körlük gözlenir (7, 50, 54).

3.4. Kuru Göz Sendromunda Teşhis Metodları

KGS teşhisinde tek bir metot genellikle yeterli olmamaktadır. Hastalığın klinik belirtilerinin yanında bu semptomların hastanın günlük yaşantısını nasıl etkilediği de araştırılmalıdır. Bu durum KGS'nin şiddetini belirlemeye yardımcı olmaktadır. Öte yandan kantitatif bir değerlendirme yapabilmek için günümüzde birçok test geliştirilmiştir ve bu testler bize tedavide nasıl bir yol izleyeceğimize yardımcı olmaktadır (70-73).

Bu testlerin başlıcaları; schirmer gözyaşı testi (SGT), gözyaşı kırılma zamanı testi (TBUT), kornea ve konjunktival boyanma testidir (74-83).

Bu testlerin tanıya yönelik oranlarına bakıldığında; TBUT' un %93 oranında, boyanma testlerinin %75 oranında ve schirmer testinin ise %54 oranında başarılı olduğu tespit edilmiştir. Bu testler haricinde son yıllarda gözyaşı osmolaritesinin ölçümü, impresyon sitolojisi ve PGF bütünlüğünü ortaya koyan

interferometri, aberrometri, tomografi ve meibografi teknikleri geliştirilmiştir (73, 74, 83).

Semptomlar ve teşhis metodlarına göre hastalık; birinci derece hafif), ikinci derece (orta), üçüncü derece (şiddetli) ve dördüncü derece (en şiddetli) olmak üzere dört şekilde kategorize edilmektedir. Hafif formda gözde kaşıntı, bulanıklık, kızarıklık, nadiren batma hissi ve artmakta olan göz kırpma refleksi gözlenir. Ilımlı ya da orta formda hastalık ilerledikçe inflamasyonunun yaygınlaşmasına bağlı olarak semptomlar daha da belirginleşir. Kızarıklık ve kuruluk artar. Bunu fotofobi takip eder. Teşhis metodlarının kullanılması tanıyı güçlendirir. Üçüncü formda ise hastalık daha da şiddetlenir. Bunun sebebi artmış gözyaşı hiperosmolaritesi ve kronikleşmiş yangıdır. Lakrimal fonksiyon sistemi bozulur. Sinirsel sistem zarar görür. Yeterince tedavi edilemeyen olgularda dördüncü aşama gözlenir. Çoğunlukla gözün kaybı ile sonuçlanır. (37, 38, 74, 75).

3.4.1. Schirmer Gözyaşı Testi (SGT)

Uygulaması kolay ve ucuz bir test olan SGT, KGS'nin yaygın belirtilerinden biri olan aköz gözyaşı miktarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. 1903 yılında keşfedilen bu test iki farklı şekilde uygulanmaktadır (72, 75, 76, 77, 82).

Bunlardan ilki göze herhangi bir anestezi madde uygulanmadan gerçekleştirilen bu sayede reflektörik gözyaşı miktarını ölçebilen SGT-1 testi ve göze anestezi bir damla damlatılmak suretiyle bazal gözyaşı miktarını ölçen SGT-2 testidir. Ölçümler 35 mm (milimetre) uzunluğunda ve 5 mm genişliğindeki absorbent strip şeklinde kağıdın alt konjunktival forniks lateral kantusuna yerleştirilmesi ile yapılmaktadır (Şekil 8) (72, 78, 79, 82).

Ortalama 1 dk süreyle bölgede tutulan kağıt striplerdeki ıslanma derecesinin mm cinsinden okunmasıyla KGS klinik tanısı konulmaktadır. Genellikle ıslaklık düzeyi 6mm/dk dan az olduğu durumlar belirgin bir şekilde KGS' yi işaret etmektedir (72, 74, 75, 78).

3.4.2. Endodontik Absorbent Paper Point Testi (EAPPT)

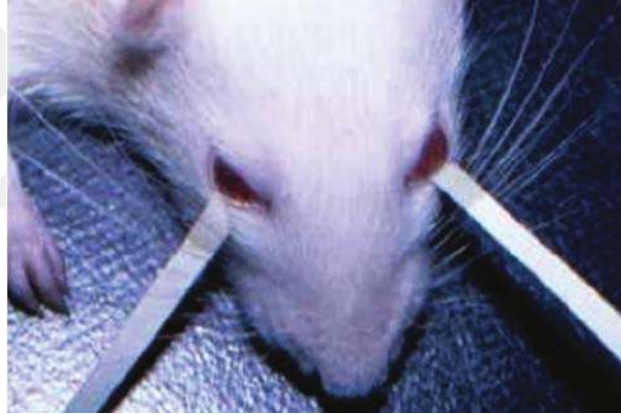
Endodontik tedavide paper point'lerin (kâğıt koni) çok çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır. Steril olan ve yüksek emici özelliğe sahip paper pointler, kanal tedavisinde kök bölgesini kurutmada ve antiseptikler ile dezenfektanların kanallara uygulanmasında kullanılmaktadır (83,84). Farklı çap ve boyutlarda üretilen bu malzeme, minimal invaziv olması sebebi ile özellikle, fare, rat, reptil, marmoset gibi göz küresi küçük hayvanların aköz gözyaşı miktarı üretim miktarlarının ölçümünde uygulanmaktadır (83). Uygulama sırasında deneklerin zapt-ı rapt altına alınması, olası göz küresinde meydana gelecek hasarlarının önüne geçmede önem arz etmektedir (84). Yine de uygulamaya bağlı olarak göz kırpma sayısında artış, kızarıklık ve yabancı cisim batma hissi oluşturabileceği belirtilmiştir. Ölçümler test materyalinin penset yardımı ile gözün lateral yada medial kantusuna 30⁰ lik açı ile yerleştirilmesi ve ortalama 40 ila 50 sn tutulduktan sonra oluşan ıslaklık derecesi mm 'lik skala üzerinde okunmasıyla gerçekleştirilir (85,86).

3.4.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (TBUT)

Gözyaşı kırılma zamanı testi ile PGF bütünlüğünün ölçülmesi amaçlanmaktadır. Bu test %0.1'lik likit sodyum fluoresceinden 1 µl (mikrolitre) damlatıldıktan sonra iki göz kırpma arasında göz yüzeyinde meydana gelen noktasal kurulukların (karanlık nokta) kobalt mavisi yada sarı filtreli slit-lamp

biyomikroskop altında ilk tespit edildiği zamanın belirlenmesiyle gerçekleştirilmektedir (5, 7, 72, 75, 79, 80, 81).

Fluoresceinin konsantrasyonu mutlak suretle iyi ayarlanmalıdır. Aksi takdirde çok koyu boyamalar tanıyı güçleştirmektedir. Mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte, PGF'nin lipid katmanındaki diffuz çözülme ve incelmenin yada lipid katmandaki bir yırtıktan dolayı müsin katmanın epitel kat ile temas etmesinin kırılmayı arttırabileceği öne sürülmektedir. Benzalkonyum klorür gibi koruyucu özellikteki maddelerin TBUT süresini kısaltmaları bu duruma örnek gösterilmektedir. Sağlıklı gözlerde TBUT ortalama 27 sn iken, KGS'de 5 sn'den daha kısa ölçülmektedir. (7, 80, 81, 87,88).



Şekil 8. Schirmer Testi (84).

3.4.4. Korneal ve Konjunktival Boyanma Testi

Kornea ve konjunktivanın boyanması esasına dayanan bir testtir. Bu testte oküler yüzey hasarını ve derecesini belirlemek amacıyla fluorescein sodyum, rose bengal, lissamine green gibi maddeler damlatılıp daha sonra slit-lamp biyomikroskop değerlendirilmektedir. Boya maddeleri arasında minimal yan etkiye sahip olanın fluorescein sodyum olduğu belirtilmektedir (5, 87, 88).

Fluorescein sodyum PGF'yi, korneayı ve konjunktivayı boyamaktadır. Ancak bu maddenin korneanın ölü epitel hücrelerinde birikme oranı konjunktivadakine göre daha fazladır. Bu sebeple şiddetli KGS'lerde konjunktivaların muayenesinde yanıltıcı sonuçlara sebebiyet verebileceği belirtilmektedir (87-89).

% 1 lik Fluorescein sodyum, göz damlası ya da ıslatılmış stripler halinde göz küresine ya da konjunktivaya uygulanmaktadır. Uygulamadan 10 dakika sonra boyanan yüzeyler slit-lamp biyomikroskop altında kobalt mavisi filtresi kullanılarak muayene edilir (89, 90,91, 92).

Rose bengal, fluorescein sodyuma göre kornea ve konjunktivayı daha yoğun bir şekilde boyar. Rose bengal ile lissamine green arasında tercih yapılmak istenildiğinde, rose bengalin göz üzerinde ağrı, rahatsızlık ve toksik etkilerinden dolayı lissamine green tercih edilmektedir (5,7, 82,87-91).

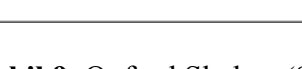
Rose bengal ölü hücreleri boyamasının yanısıra sağlıklı hücreleride boyadığı için teşhiste yanıltıcı neticelere sebebiyet vermektedir. Lissamine green fluorescein sodyum gibi davranarak ölü hücreleri boyadığı ve muayenede kolaylık sağladığı bildirilmiştir (91).

Oxford, Vanbijsterveld, Delphi panel ve NEI sınıflandırması şeklinde çeşitli derecelendirme indeksleri mevcuttur. Oxford yönteminde özellikle gözdeki epitel hasarı hafiften en şiddetliye kadar derecelendirilir (Şekil 9). Ulusal Göz Enstitüsü tarafından belirlenen NEI sınıflandırmasında ise kornea ve konjunktiva; merkez, superior, inferior, nasal ve temporal olmak üzere 5 kısma ayrılır (Şekil 10). Her bir bölgedeki boyanma miktarı 0 ila 3 arası puanlanır. Maksimum puan 15'tir. Vanbijsterveld sınıflandırmasında oküler yüzey, nasal bulbar konjunktiva, temporal bulbar konjunktiva ve kornea olmak üzere üçe ayrılır ve her bir

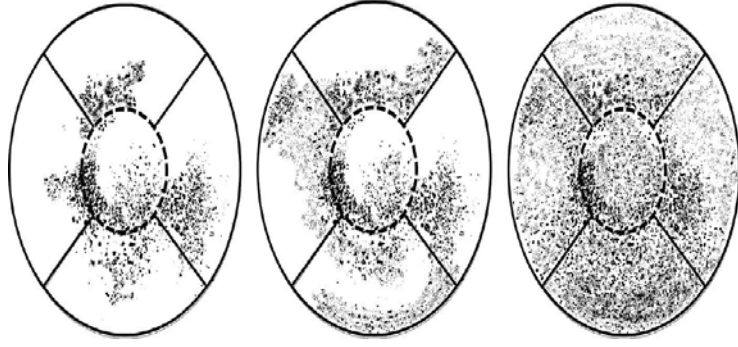
bölgedeki boyanma miktarı 0'dan 3'e doğru puanlanır. En şiddetli tabloda puan 9 (dokuz)'dur (Şekil 11). Delphi yöntemi diğerlerinden farklı olarak boyanma yüzeylerinin oranının yanısıra SGT, Meibomian bezi fonksiyonları ve TBUT gibi diğer tanı metodlarının birarada değerlendirildiği bir sınıflandırmadır (88-92).

Boyanma ya da lekelenme yüzeyinin oranına göre değerlendirme yapılan yöntemde ise puanlama 0 ila 4 arasında verilere hastalığın derecesi belirlenmiş olur. Buna göre;

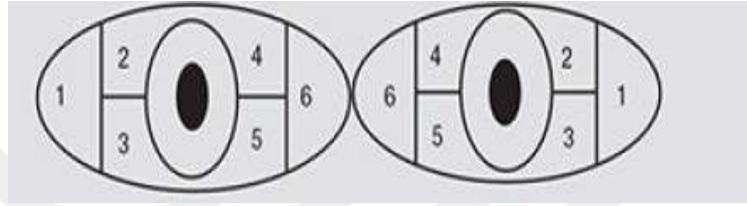
- 1)Tüm korneal yüzeyin; hiç boyanmamış olması “0”,
 - 2)1/8'ine eşit ya da daha az bir boyama alanının olması “1”,
 - 3)1/4'üne eşit ya da daha az bir boyanma alanının olması “2”,
 - 4)1/2'sine eşit ya da daha az bir boyama alanının olması “3”,
 - 5)1/2'sinden daha fazlasının yada tamamının boyanmış olması ise “4”
- şeklinde skorlanarak niteleyici olarak değerlendirilir (90).

PANEL	GRADE	VERBAL DESCRIPTOR
	0	Absent
	I	Minimal
	II	Mild
	III	Moderate
	IV	Marked
	V	Severe

Şekil 9. Oxford Skalası (90).



Şekil 10. NEI Skalası (90).



Şekil 11. Vanbijsterveld Skalası (90).

3.4.5. Gözyaşı Osmolaritesi Ölçümü

Normal gözyaşı osmolaritesi 308-312 mOsm/l'dir. Bu değerler KGS varlığı ile birlikte artış göstermektedir. Bu test gözyaşı hakkında bize kalitatif bilgi verir. Duyarlı bir test olmakla birlikte KGS 'nin direkt olarak tanınmasında spesifik değildir. Duyarlı olmasının sebebi hafif, orta ya da şiddetli KGS olgularında osmolarite değerleri arasındaki küçük farklılıklardır. (77, 78,93)

Osmolarite değerinin 308 mOsm/l'den yüksek olduğu zaman orta şiddette bir KGS tablosundan bahsederken, 312 mOsm/l'den yüksek olduğu durumda şiddetli bir KGS durumundan bahsedilir. Gözyaşı ya da PGF osmolaritesi ölçümünde 3 şekilde yol izlenir. Bunlar; donma noktası depresyonu, buhar basıncı ve elektriksel iletkenlik ya da empedans ölçümüdür (89, 93).

3.4.6. İmpresyon Sitolojisi

İmpresyon sitolojisi konjunktivanın bulbar kısmından epitel, yangı ve goblet hücrelerinin toplanması ve değerlendirilmesi işlemi olup, minimal invaziv,

hızlı ve nispeten ağrısız bir yöntemdir. Sitolojik örnekler 0,22 ila 0,44 µm por çapına sahip olan nitroselüloz filtre kağıtların konjunktival epitele birkaç sn bastırılması ile toplanır. Toplanan örnekler PAS (periyodik asit shiff) ve hemotoksilen ile boyanarak inceleme yapılmaktadır (94, 95, 96, 97).

KGS hastalığında goblet hücre yoğunluğu azalır. Sjörger ile ilişkili KGS’unda sağlıklı gözlere kıyasla yüksek oranda IL infiltrasyonu gözlenmiştir. Bu testteki amaç goblet hücre dansitesini belirlemenin yanında esasen oküler yüzeydeki yangının durumunu yangı belirteçleri ile ortaya koymaktır (93, 94, 96).

3.4.7. Fluorescein Temizlenme Testi

Modifiye SGT olarakta bilinir. Bu test, bazal ve reflektörük gözyaşı miktarı ile temizlenme aşamalarını aynı anda tespit etmek üzere tasarlanmıştır. Göze uygulanan lokal anestetik damla ve konjunktival keseye uygulanan fluorescein sodyum ile (% 0,25) boyanan yüzeylerin gözyaşının doğal ya da müdahale edilmek suretiyle indirekt olarak drene olması ile yüzeyde kalan boya ve ıslaklık miktarının stripler kullanılarak ölçülmesi esasına dayanır (5, 7, 25, 73, 74, 75, 82, 97)

Bazı durumlarda nasal bölge pamuklu çubuklarla uyarılmak suretiyle gözyaşı üretimi indüklenebilir. Ölçüm SGT stripleri kullanılarak 10 dk ara ile 3 set olarak yapılır. Her bir ölçümde ıslaklık değeri 3mm’den fazla ya da buna eşitse gözyaşı miktarı normal kabul edilmektedir. Uygulamadan 20 dk sonra oküler yüzeyde herhangi bir boya kalıntısı gözlenmiyor olgu KGS yönünden negatif değerlendirilir (72, 73, 74, 97).

Islaklık derecesi 3mm den az ve yoğun bir şekilde gözleniyorsa KGS yönünden şüpheli kabul edilebilir. Başka bir yöntemde bu değerler fluorometre kullanılmak suretiyle de belirlenebilmektedir (82, 98, 99, 100).

3.4.8. Diğer Tanı Metodları

Meiboiman bezinin disfonksiyonunu belirlemek amacıyla meibografi, meiboskopi, meibometri gibi tanı yöntemlerinden faydalanılır. Buharlaştırma oranını saptamak için evaporimetri testi uygulanmaktadır. Meniscometri aköz gözyaşı tabakasındaki yırtıkların tespitinde kullanılır. Lakrimal ve salivar bezlerden alınan biyopsilerden yapılan histopatolojik incelemeler ile sjörgen sendromunun tanısı konulabilir (82,89).

3.5. Tedavi

Tedavide ilk adım KGS'na neden olan etkenlerin ortaya çıkarılmasıdır. Bu durum tedaviyi kolaylaştırır. Tedavinin amacı göz kuruması semptomlarını hafifletmek, hastanın konforunu arttırmak, oküler yüzeyi ve gözyaşı filmini korumaktır (42, 45, 83, 97). Tedavi kronik KGS'un ve skuamöz metaplazinin semptomlarını hafifletir ancak tam olarak önlemez (46). Yapay gözyaşı kombinasyonları, omega asit takviyeleri, müsin salgılatıcıları, kısa süreli kortizon tedavisi ve günlük siklosporin uygulamaları hafif ve orta dereceli KGS olgularında tedavide denenebilir (2 ,3, 72, 89, 98, 99, 100,101). Oral tetrasiklin uygulamaları, sistemik immun baskılayıcılar, prostetik lens, otolog serum, amniyotik membran gibi tedavi seçenekleri şiddetli KGS olgularında uygulanmaktadır (87). Netice alınamayan durumlarda operatif tedavi de bir seçenektir (72). Bitkisel tedavi seçenekleri son yıllarda KGS için araştırma aşamasında denenmiştir (3).

3.5.1. Medikal Tedavi

3.5.1.1. Suni Gözyaşı Uygulamaları

Suni gözyaşı preparatları KGS'nin her aşamasında kullanılmaktadır. Esas amaç KGS hastalığını meydana getiren gözyaşı yetersizliğinin önüne geçmek, gözyaşı film stabilitesini korumak, oküler yüzeyin nemlenmesi ve yağlanmasını sağlamak, osmolariteyi azaltarak osmotik stresi engellemektir (72, 90, 102, 103). Yaygın kullanılan suni gözyaşı preparatları Ph, osmotik basınç, viskozite, buharlaşma ve koruyucu madde içeriğine göre sınıflandırılır. Tuz çözeltisi içeren preparatlar hiperosmolar KGS hastalığında izoosmolar ya da hiposmolar olmalıdır. KGS'nin Ph'sı yüksektir (104,105). Preparatlar bu sebepten dolayı bikarbonat içeriklidir ve havadaki karbondioksit ile reaksiyona girerek alkali ortamı tamponlarlar (98, 99, 103, 104,105).

Meibomian bezi disfonksiyonunda lipid ya da trigliserit içeren gözyaşı preparatları tercih edilmektedir. Şiddetli vakalarda hastanın kendi serumundan hazırlanan otolog göz damlaları %20 den %100'e varan konsantrasyonlarda uygulanmaktadır (105).

Preparatlar şiddetli vakalarda günde 4 kez uygulanmaları tavsiye edilirken, hafif vakarlarda kullanım sıklığının düşürülebileceği ifade edilmektedir. Preparatlar, koruyucu maddelerin yanısıra selüloz türevleri, sodyum türevleri, polivinil türevleri, kondroitin sülfat ve sodyum hyaluronat içeriğine sahiptir (106-110).

Aköz gözyaşı üretiminin azaldığı durumlarda yüksek sodyum klorür ve polivinil alkol içeren ilaçlar kullanılmaktadır. Hastalığın şiddetine göre düşük

viskoziteden yüksek viskoziteye doğru artan preparatlar tercih edilir (24, 42, 82, 89, 107, 108, 109).

Karboksimetil selüloz türevi ilaçlar oküler yüzey üzerinde uzun süre kalır ve müsin tabakası gibi hareket ederek yüzey gerilimini azaltır (110).

Sodyum hyaluronat gerek beşeri gerekse de veteriner hekimliğinde yangı giderici olarak kullanılan viskoelastik bir maddedir ve PGF'nin de doğal parçasıdır (107). KGS ilişkili superfisial keratitiste sodyum hyaluronatın etkili olduğu belirtilmiştir (109) .

Dekspantenol ve hemoderivatıum içeren preparatlar epitelizasyonu hızlandırmak amacıyla kullanılmaktadır. Koruyucu madde olarak benzalkonyum, klorobutanol ve setrimid içeren preparatların korneanın epitel katmanının hasar gördüğü olgularda epitelotoksik özelliğinden dolayı kullanılması uygun değildir. En uygunu koruyucu içermeyen preparatların KGS hastalığında kullanılmasıdır (110-114).

3.5.1.2. Kortikosteroidler

Oküler yüzeydeki yangıyı tedavi edecek önemli bir materyaldir. İleri derecede olan KGS olgularında kullanılmaktadır (7, 42, 45, 50, 72, 87, 111, 112, 115). Steroid kullanımı üzerine yapılan çalışmada günde 4 kez, 2 ila 4 haftalık kullanımda 2. haftanın sonunda KGS ile alakalı semptomların hafiflediği gözlenmiş, korneal lekelenme önemli derecede azalmıştır (115).

Uzun süreli kullanımlarda göz içi basıncında artış ve katarakt gibi yan etki gözleendiği için kısa süreli kullanımlar önerilmektedir. Eğer tedavi devam edecekse fluorometalon, loteprednol etobonate gibi göz içi basıncı arttırma kabiliyeti düşük ilaçlar tercih edilmelidir (7, 155, 116, 117).

3.5.1.3. Non-steroid Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAID)

NSAID'lar sistemik yada lokal olarak antipiretik, analjezik ve antiinflamatuvar etkiye sahiptir. Bu etkilerini yangı mediatörü prostoglandinlerin üretimini sağlayan siklooksijenaz enzimini bloke ederek gösterirler (118-122).

Göz cerrahisinde intraokuler operasyonlarda myozisi engellemek, post operatif ağrıyı dindirmek, makuler ödemi azaltmak ve alerjik konjunktivitisin hafifletilmesi gibi durumlarda sıklıkla kullanılmaktadır (121, 122, 123, 124).

Steroidlerin olası yan etkilerinden dolayı tedavisi uzun sürebilecek olan KGS olgularında flurbiprofen, diklofenak, nepafenak, pranoprofen, bromfenak ve indometazin gibi NSAID türevleri kullanılmaktadır (72, 74, 121, 122).

3.5.1.4. Siklosporin-A

Antiinflamatuvar ve immunmodulator olarak etki gösteren Siklosporin-A'nın oftalmolojide ilk kez 1981 yılının başında bir kornea transplantasyonu sonrasında immunsupresyon oluşturmak amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca korneal yaralanma, üveitis, vernal keratokonjunktivitis ve gözün diğer yangısal olaylarında etkin bir şekilde baskılayıcı ve iyileştirici rol oynamaktadır (1, 2, 4, 87, 89, 125-129). Uzun süreli KGS tedavilerinde yan etkiler gösteren kortikosteroidlere alternatif olarak kullanılabilir (126). Oral yolla uygulanabildiği gibi topikal damla formunda gözde tatbik edilmektedir (125,127,130-132). Oral uygulama sonrasında; nefrotoksikozis, anemi, hiperestezi ve hipertansiyon gibi yan etkiler olduğundan dolayı lokal kullanım tercih edilmektedir (128).

Siklosporin A, T lenfosit aktivasyonu ve göçünü baskılar, konjunktivadaki goblet hücre ve epitel hücrelerdeki apoptozisi engeller ve aköz gözyaşı üretimini artırır. Meibomian bezindeki lipid yıkımlayıcı lipaz üreten bakteri

kolonizasyonunun oluşumunu baskılar. Topikal siklosporin % 0,05 lik olarak kullanılır. Göz enfeksiyonu bulunan KGS hastalarında kullanımı kontrendikedir (42, 72, 87, 129-132).

3.5.1.5. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler antiinflamatuvar etkiye sahip bakteriyostatik antibiyotiklerdir. MMPs üretimini ve aktivitesini, IL-1 ve TNF üretimini, B hücresi aktivasyonunu ve kollajenaz aktivitesini baskılar (53, 54, 72, 133-137). Meibomian bezindeki lipid üretim bozukluğundan kaynaklanan ve KGS ile alakalı rosacea hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (133).

Yüksek dozlarda kullanıldıklarında gastrointestinal sistemde ve ciltte yan etkilere neden olabilecekleri bildirilmiştir. 6- 12 hafta boyunca düşük dozlarda tetrasiklin uygulanan KGS hastalarında semptomların hafiflediği, gözyaşı üretimini arttığı ve PGF bütünlüğünü yeniden sağladığı saptanmıştır (72 ,87, 89, 134- 136).

3.5.1.6. Besin Takviyeleri

Omega 3 (linolenik asit) ve omega 6 (gamma linoleik asit) oküler yüzeyin beslenmesi, korunması ve dengesi için gerekli olan esansiyel yağ asitleridir. Omega 3 özellikle yangı öncesi eikosanoidlerin bloke edilmesinde ve sitokinlerin azaltılmasında antiinflamatuvar bir rol üstlenir (137- 139).

Besinlerine omega3 ve omega 6 takviyesi yapılan KGS'li hastaların klinik belirtilerinde hafifleme, oküler yüzey inflamasyonunda ve korneal boyanma derecesinde azalma kaydedilmiştir. (137).

A vitamini, korneal epitel hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını ayrıca konjunktivadaki goblet hücre varlığının korunmasını sağlamaktadır (89, 140, 141).

A vitamini; retinol, retinal ve retinoik asit olmak üzere 3 farklı formda bulunur. Lakrimal bezin bütünlüğü ve görevlerini sürdürebilmesi için gerekli bir vitamindir. Retinoik asit taşıyıcı protein yardımıyla kandan lakrimal bezlere oradan da gözyaşı içeriğine geçer (142-145).

Olası eksikliğinde oküler yüzeyde, kornea ve konjunktiva epitelinde keratinizasyona kadar varan şiddetli olgular şekillenir (141, 144-147).

Bir A vitamini türevi olan isotretioninin maddesinin kullanımında dikkatli olunmalıdır. Diğer türevlere nazaran bu maddenin fazla kullanımı göz kuruluşuna, fotofobi, karanlığa uyumda probleme ve kısmi görüş kaybına yol açmaktadır (145, 148, 149).

Vitamin ile ilgili gözyaşı eksikliğinde retinoik asit içeren yapay gözyaşı preparatları kullanılmaktadır(144, 146).

3.5.2. Operatif (İnvaziv) Tedavi

3.5.2.1. Punktal Tıkama Yöntemi

Oküler boyama testi puanlaması 4 ve SGT-2 testi 5 dk'da 5 mm'den az olan hastalarda endikedir. Bu yöntem gözyaşının drenajını azaltmak suretiyle gözyaşı miktarının özellikle bu hastalarda hayati düzeyde stabil kalmasını sağlar. Punkta lakrimalisi 1-2 hafta gibi geçici süre ile tıkayan kollagen tıkaçlar olduğu gibi bunların 2 ila 6 ay süre ile bölgede kalan tipleri de mevcuttur (50, 89, 116, 121, 150, 151). Daha uzun süreli tıkama işlemi için geri dönüşümlü silikon tıkaçlardan yararlanılır (150-154). Çözünemeyen tıkaçlar ile karşılaştırıldığında

atelokollajen kullanımının daha az komplikasyona sebebiyet verdiği belirtilmektedir (155, 156, 157). Kalıcı tıkanıklık ise koterizasyon ile sağlanmaktadır (151).

3.5.2.2. Tükürük Bezinin Transpozisyonu

Medikal tedavilerden yanıt alınamayan ileri derecedeki olgularda başvuru bir yöntemdir. Transpozisyon; parotis, sublingual veya submandibuler bezler kullanılmaktadır. En uygun olanı submandibuler bezlerdir. Fossa temporalise yerleştirilen bezin kanalı üst lateral konjunktival forniksine transpoze edilir (158- 160) .

3.5.2.3. Tarsorafi

Göz kapaklarının kapatılması işlemidir. Özellikle şiddetli KGS olgularında korneal harabiyeti en aza indirmek amacıyla uygulanır. Kalıcı ya da geçici olabilir. Siyanoakrilat kullanılarak uygulanan kapatma işlemi invaziv değildir ancak işlem sonrası muayeneyi zorlaştırır (121, 161, 162).

Botulinum toksini enjekte etmek suretiyle oluşturulan ptozis ya da kapatma işleminde ise diğer işleme göre nispeten invaziv olmakla birlikte gözü muayenesi daha kolaydır (163). Göz kapağı ateli kullanılan diğer bir teknikte mevcuttur (116, 161).

3.5.3. Bitkisel Tedavi

Oftalmik patolojilerde bitkisel ilaç kullanımı tarihin eski zamanlarına dayanmaktadır. İlk bilinen oftalmik solüsyon Mısırlılar tarafından Atropa Bellodona (Atropin) bitkisinden elde edilmiştir (3). Göz içi basıncını azaltmada kullanılan ilaçların ilki bitkilerden elde edilmiş ve buradan hareketle göz anestezikleri üretilmiştir (3, 164, 165).

Pilokarpus jaborandi bitkisinden elde edilen pilokarpin miyotik etkili bir ilaç olarak intraoküler basıncı azaltmak suretiyle glokomun tedavisinde kullanılmıştır. Pilokarpin etkisini siliar kaslar ve pupilla sfinkteri üzerindeki muskarinik reseptörlere bağlanarak göstermektedir (3,166,167). Sjögren sendromunda oral yolla preparatlar olarak kullanılmış ve gözyaşı üretimini arttırıcı etkiye sahip olduğu saptanmıştır (168).

KGS'da da kullanım yeri bulan pilokarpin, parasempatik sinir sistem üzerine etki ederek gözyaşı üretimini arttırır. Diğer parasemptomimetik ilaçlar ile karşılaştırıldığında yan etkileri tolere edilebilir nitelikte olduğu için tercih edilmektedir (3, 168).

Erythroxyton coca bitkisinden elde edilen bir alkaloid olan kokain, akson uçlarındaki sodyum kanallarını bloke ederek gözde lokal olarak anestezi bir etki gösterir. Ayrıca sinapslardan norepinefrinin geri alınımını inhibe eder. Mydriasis ve konjunktival vazokonstriksiyonu sağlar (165).

Aloe vera aynı zamanda A. barbadensis miller ismi ile de anılmaktadır. Yara iyileşmesi, bakterisidal, immunnodulator, antiviral, antiinflamatuvar, antioksidan ve antifungal etkileri vardır (3, 164, 169, 170).

Flavonoidler, antrakınonlar, fenolik asitler, enzimler ve vitaminler gibi bir dizi bileşik içerir. İçerdiği etanolik asit ve etil asetatın kornea hücreleri üzerinde iyileştirici yönde etkisi vardır. Bu etki bilhassa KGS ile ilişkili superficial kornea lezyonlarında epitelizasyonu hızlandırma ve fibrozisi azaltma yönüdür (170).

Buddleja officinalis bitkisinin özünün ana bileşeni flavanoidlerdir. Flavanoidler androjen benzeri etki gösterir. Özellikle androjen eksikliği sonucu

şekillenen KGS olgularında lakrimal bezdeki TNF ve IL seviyelerini azaltır. Hücre apoptozisini önler (3, 164, 171, 172).

Maqui olarak bilinen *Aristotelia chilensis* bitkisinin antioksidan, antiinflamatuvar ve antidiyabetik etkileri mevcuttur. Gözyaşı salgısını arttırıcı özelliği vardır (3, 164, 173).

Prunus armaniaca kayısı olarak bilinen meyvedir. Astım, konstipasyon, ateş, öksürük ve bronşit gibi birçok hastalık ve bunların belirtilerini hafiflettiği belirtilmiştir. Bu meyvenin göz damlası formu topikal olarak uygulandığında gözyaşı ve PGF' de müsin salgısını arttırmaktadır (3, 174).

Rhynchosia volubilis siyah fasülye olarak bilinir. Kronik KGS olgularında konjunktivada meydana gelen skuamöz metaplaziyi ve kornea epitel hücrelerindeki ve konjunktivadaki goblet hücrelerinde apoptozisi önler (3, 175).

Gözün mukozal yüzeyi müsin tabakasındaki sialik asitten dolayı negatif elektrik yükü ile kaplıdır. Bu sebeple göz yüzeyine pozitif yüklü katyonik polimer içeren ilaçlar rahat bir şekilde penetre olmaktadır (176, 177).

Chitosan, pozitif yüklü, uyumlu, mukozaya kolay yapışan, antimikrobiyal ve yara iyileştirici özelliği olan toksik olmayan bir maddedir. Jel, nanopartikül ya da implant formları mevcuttur. Oküler yüzeye rahat biçimde yapıştığı için oftalmik ilaçlarda kullanılmaktadır (160, 177, 178).

Curcumin, *curcuma longa* bitkisinden elde edilmektedir. Özellikle hint tıbbında zerdeçal olarak da isimlendirilen bu bitki antiinflamatuvar ve anti-tümör bir etki gösterir (179). Hiperosmolariteyi azaltarak KGS oluşumunu önler (3, 164, 180).

Vaccinium myrtillus (bilberry) bitkisi yaban mersini olarak bilinir. İçerdiği antosiyanin maddesi antioksidan, antiapoptik, antiinflamatuvar, kollagen üretimini uyarıcı ve antikoagulan özelliğe sahiptir (164,181). Bu maddenin % 25 lik konsantrasyonda günde iki kez oral yolla kullanılmasının yaşlılığa bağlı gelişen kataraktın ilerlemesini yavaşlattığı ve gözyaşı salgısını arttırmak suretiyle de KGS'nin klinik belirtilerini hafiflettiği bildirilmiştir (182).

Mevcut çalışmada KGS'nin tedavisinde cennet hurması (*Diospyros Kaki*), yeşil çay ve goji berry bitkilerinden elde edilen ekstraktların etkisi araştırılacağı için bu bitkilerin özelliklerine ayrıntılı biçimde değinilmiştir.

3.5.3.1. Cennet Hurması (*Diospyros Kaki*)

Diospyros Kaki (DK) uzun yıllardan beri Asya' da yetiştirilen, anavatanı Çin Halk Cumhuriyeti olan bir meyvedir. Zeus meyvesi ya da persimmon olarak da adlandırılır (Şekil 12) (183).

Ilıman iklim seven bu meyve, Kore, Japonya, Brezilya, İtalya, Hindistan, Pakistan ve Türkiyede de yetiştirilmektedir. Türkiyede Trabzon hurması ya da cennet hurması olarak da bilinir (184). Yaprakları ortalama 10 cm uzunluğunda ve 8 cm genişliğindedir. Kışın dökülen bu yaprakların rengi yeşilden sarıya ya da kırmızıya dönmektedir (185-189).

Yaprakları flavanoidler, terpenoidler, reçineler, kateşin, tanin, klorofil ve karoten içermektedir (Şekil 13). Özellikle terpenoidlerin ve flavonoidlerin antiinflamatuvar, antioksidan, anti-ateroskleroz, antialerjik, antihipertansif, antidiyabetik ve anti nörodejeneratif etkileri olduğu için birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (185, 189-192). Bu bitki, lipooksijenaz, ksantin oksidaz, tyrosinaz ve üreaz enzimleri üzerinde inhibe edici

etkiye sahiptir (193, 194). Yaklaşık 4000 adet bilinen flavonoid çeşidi vardır. En sık bilinenleri; kuersetin, kaempferol, galaktozid, glikozid, isokuersitrin ve astragalindir (185). Bu maddeler özünde angiotensin mekanizmasını regüle ederek hipertansiyon oluşumunu engeller (195, 196).

KGS'nin tedavisinde hastalığın özellikle altında yatan inflamatuvar mekanizmanın önlenmesi büyük önem arz eder. Bu açıdan bakıldığında antiinflamatuvar etkili flavanoidler ön plana çıkmaktadır. Farelerde benzalkonyum klorür ile oluşturulan KG modelinde ve DK'nin tedavi edici etkileri araştırılmıştır (197).

Bahsi geçen çalışmada Farelere DK yaprağından etanol yardımıyla hazırlanan ekstrakt 14 gün boyunca sonda ile içirilmiştir. Çalışma sonunda ekstraktın epitel hücre ölümleri ve inflamatorik cevabı baskıladığı gözlenmiştir. Tedavinin 14.gününde gözyaşı üretim miktarında önemli ölçüde artış, yangıda gerileme, korneal boyanma yüzeylerinde azalma, kornea epitelindeki apoptoziste yavaşlama ve epitelizasyonda hızlanma gözlenmiştir (197).

Alkali göz yanığı oluşturulan başka bir çalışmada DK'nin etanol ekstraktının korneal neovaskülarizasyonu inhibe ederek iyileşmeye katkı sağladığı bildirilmiştir (198).

Bazı araştırmalar DK'nin antiinflamatuvar etkisini IL-1 α , IL-1 β , TNF- α ve monosit kemotaksis protein seviyesini azaltarak gösterdiğini ortaya koymuştur (197-200).

Antialerjik etkisinin çalışıldığı bir araştırmada mast hücrelerinden histamin salgısını hücre içi kalsiyum seviyesini arttırmak suretiyle azalttığı rapor edilmiştir (201).

DK'nin KGS tedavisinde antiinflamatuvar, reepitelizasyonu uyarıcı, antioksidan ve antiapoptik etkiye sahip olduğu çalışmalarda ortaya konmuştur (197,201,202).



Şekil 12. Diosypros Kaki Meyvesi (Cennet Hurması) (180).



Şekil 13. D.Kaki Yaprığı (180).

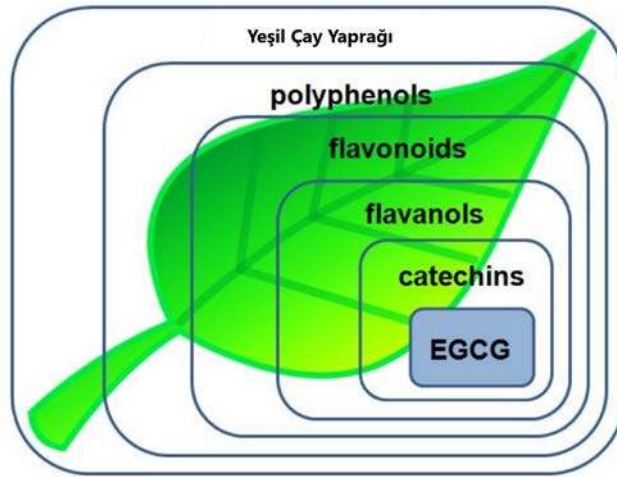
3.5.3.2. Yeşil Çay (Camellia Sinensis)

Geçmişten günümüze birçok medeniyet tarafından sıkça tüketilen çay bitkisi; yeşil çay, oolong çayı ve siyah çay olarak üç grupta incelenmektedir (203, 204, 205). Camellia Sinensis bitkisinin yaprakları toplanır toplanmaz hızlı bir şekilde kavrulur ve oksijen ile temas etmesine izin verilmeden kurutulurak yeşil çay elde edilir (Şekil 14) (206). Çayda bulunan polifenoller; fenolik asit ve

flavonoidler olarak iki grupta incelenir. Flavonoidler; epigallokateşin, epigallokateşin gallat, epikateşin ve epikateşin gallattır (205 ,207, 208).



Şekil 14. Yeşil Çay (215).

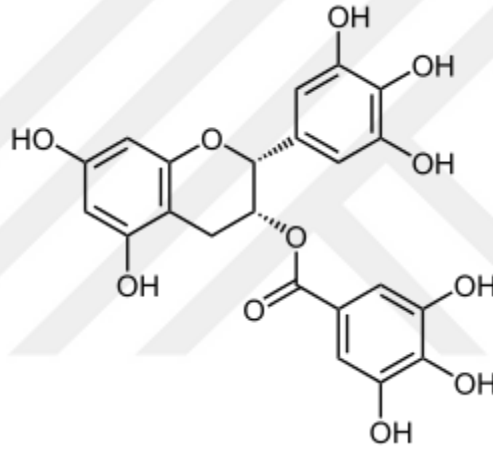


Şekil 15. Yeşil Çay Yaprak İçeriği (215).

Epigallokateşin gallat (EGCG), toplam kateşin miktarının %60'nı oluşturur ve anti-karsinojen, kötü kolesterol (LDL) seviyesini düşürücü ve kalp koruyucu etkiye sahiptir (Şekil 15- Şekil 16) (206, 207, 208). Bunun dışında antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, karaciğer ve sinir hücrelerini koruyucu etkileri de mevcuttur (209-214). Polifenoller, kornea ve skleradaki hücrelerde ultraviyole kökenli DNA hasarını azaltır (215- 218).

KGS ile ilgili yapılan çalışmalarda EGCG'nin antiinflamatuvar ve antioksidan özelliği araştırılmıştır (219,220). Bu ajanın yangı öncesi sitokinleri baskılayarak, kornea yüzeyine monosit ve lenfosit infiltrasyonunu azaltarak yangıyı hafiflettiği, IL-1, IL-6 ve TNF- α üretimini inhibe ettiği ve osmolarite artışını engellediği rapor edilmiştir (216-220).

Ayrıca topikal uygulamalarda EGCG'nin konjunktiva yüzeyi ve nazolakrimal kanala penetre olma miktarının korneal yüzeyden fazla olduğu da ortaya konulmuştur (220) .



Şekil 16. Epigallo Kateşin Gallatın (EGCG) Yapısı (216).

3.5.3.3. Goji Berry (Kurt Üzüümü)

Lycium barbarum (Solanaceae-Goji Berry-Kurt Üzüümü) iyi bilinen geleneksel bir tıbbi bitkidir. Goji berry meyveleri özellikle asya bölgesinde yemekleri tatlandırmak amacıyla kullanılmaktadır (Şekil 17) (221).

Goji berry bitkisi her toprak tipinde yetişebilen, soğuğa ve sıcaklığa dayanıklı, 6-20 mm uzunluğunda ve 3-8 mm çapında, renkleri turuncudan koyu kırmızıya kadar değişebilen çok yıllık bir bitkidir. Yaz sonundan sonbahar ortalarına kadar hasat edilen meyveler taze veya kurutularak, meyve suyu, çay ve baharat olarak tüketilmektedir (221, 222).

Goji berry ve yaprakları her biri farklı etkileri sahip çok sayıda polisakkarit kompleksi, polifenolik bileşikler, flavonoidler, karotenoidler ve fenilpropanoidler içermektedir (222,223). Arabinoz, ramnoz, ksiloz, mannoz ve galaktoz polisakkaritleri, kaffeik asit, ferulik asit ve kumarik asit fenolik asitleri, izoquersitrin, kuersetin, kuersitrin, epikateşin, kateşin goji berryde bulunan flavanoidleri kapsar ki bu toplam içeriğin %60' nı oluşturur (224, 225). Zeaksantin, lutein, beta-karoten, likopen ve kriptoksantin ise karotenoidleri kapsar. Goji berry %1-3 oranında aminoasit içermektedir. Taurin ve betain antiinflamatorik etkilerinden dolayı önemli aminoasitlerdir. Ayrıca tiamin, riboflavin ve C vitaminini bünyesinde barındırmaktadır. Esansiyel yağ asitleri olarak miristik, hekzadekanoik ve linoleik asit içerir (Şekil 18) (226).

Antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, karaciğer ve böbrekler üzerinde koruyucu etkilerinin yanı sıra yaşlanmayı geciktirici, immun sistemi güçlendirici, hiperglisemi, hiperlipidemi ve metabolik sendrom riskini azaltıcı etkileri vardır (224-226). Ayrıca kanser tedavilerinde uygulanan kemoterapi ve radyoterapinin yan etkilerini azaltıcı yönü de mevcuttur (227-229).



Şekil 17. Goji Berry ve Yaprığı (217).

Oksidatif stres sonucu şekillenen serbest radikaller gözyaşı bezine hasar vererek gözyaşı üretim miktarını azaltır ve oküler yüzeyde epitel hücre dejenerasyonuna neden olur (230-232).

Superoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidaz aktivite gösteren enzim seviyesi goji berry uygulaması sonrası artış göstermektedir. Stresin azalması sayesinde gözyaşı miktarı artmaktadır (232).

Goji berry'nin göz sağlığı üzerindeki etkileri incelendiğinde; retina ve makula bütünlüğünü koruduğu gözlenmektedir. Bu etkisini, retinanın görevini sürdürmesini sağlayan ganglion hücrelerinin apoptozisine engel olmak suretiyle gösterirken, retinal işemiye bağlı hasarı da minimize etmektedir. Bu özelliği içerdiği zeaksantin ve luteinlerden kaynaklanmaktadır (233). Bunun yanı sıra yaşlılarda katarakt, retinopati ve körlük riskini de azalmaktadır (234).

Farelerde atropin enjeksiyonu neticesinde nörojenik olarak oluşturulan kuru göz modelinde goji berry meyve ekstraktı oral olarak verilmiş ve 21 günlük tedavinin sonunda KGS'nin semptomlarının hafiflediği, kornea boyanma oranlarının azaldığı ve gözyaşı salgısının arttığı gözlenmiştir. Ayrıca olası toksik etkiler yönünden deneklerin böbrek ve karaciğer dokularından örnekler alınmış ve bu organlarda herhangi bir patolojiye rastlanılmamıştır (232).

3.6. Deneysel Modeller

3.6.1. Lakrimal Bez Yangısı

Bu model türü sjögren benzeri otoimmün bir yangı oluşturma ve dakriyoadenitis şekillendirme olmak üzere iki kısımda incelenir. Her iki türde de bilhassa lenfositlerin erken aktivasyon ve infiltrasyon şekillenmesine dikkat edilmelidir (20, 235).

Dakriyoadenit oluşturulan modellerde obez olmayan diyabetik farelerde lenfosit infiltrasyonu gözyaşı bezi dışında tiroid, pankreas ve submandibular tükürük bezlerinde de gözlenmiştir. Erkek farelerde 8.haftadan sonra şekillenen bu tablo, dişi farelerde 30. haftaya kadar gözlenmemiştir (236). Sjögren hastalığına ilişkin bulgular dişi hayvanlarda erkeklere kıyasla daha net biçimde gözlenmektedir. Bu durumun androjen eksikliğine bağlı KGS olgularının dişilerde daha sık gözlenmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (236-239).

Takashi ve ark.(1997) yaptıkları bir çalışmada dakriyoadenitisin her yaştaki erkekte gözlemlendiği rapor edilmiştir. Otoimmün hastalıklar testosteron seviyesindeki artışla paralel olarak artış göstermektedir (240).

Spontan lenfoproliferasyona yol açan mutant geni taşıyan (MRL/Ipr) fare modellerinde Fas antijen olarak isimlendirilen ve mutant genin kontrolünde olan bu antijenin oluşması T lenfosit apoptozisine yol açar. Ayrıca muskarinik asetilkolin reseptörü antikoru (anti-M1 ve M3) otoantikor olarak bu fare modelinde sjögren hastalığında gözlenmiştir (241,242).

3.6.2. Lakrimal Bezin Çıkarılması

Farelerde gözyaşı bezleri intraorbital ve ekstraorbital olarak iki farklı şekilde yerleşim gösterir. Ekstraorbital bez erişkin farelerde subkutan olarak gözün temporal kısmının 3 mm yanında konumlanmıştır. Ana lakrimal bez olarak da isimlendirilir. İntraorbital bez ise ekstraorbital beze göre daha küçük yapıda ve dış kantusta bulbar konjunktivanın altında yer almaktadır (11, 20, 243).

Kemirgenlerde bu bezlerin yanısıra büyük bez olarakta isimlendirilen ve orbitanın dip kısmında yer alan lipid ve porfirin üreten harder bezi mevcuttur (244).

Gözyaşı bezlerinin alındığı fare modellerinde gözyaşı üretim miktarlarında azalmalar, oküler yüzeyde değişik derecede hasarlar ve korneanın boyanma skorlarında artışlar kaydedilmiştir (243-245).

Kedi, köpek ve farelerde lakrimal bezin çıkarılması sonucu bazal gözyaşı miktarında azalmalar gözlenmesine rağmen oküler yüzeyde belirgin bir değişiklik saptanmamıştır. Bu durumun yardımcı gözyaşı bezlerinin salgılarının devam etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (245).

Tavşanlarda membrana nictitans ve harder bezinin çıkarılıp, gözyaşı bezinin kanalının bağlandığı benzer iki araştırmada, postoperatif 1. günde gözyaşı osmolaritesinde artış, 8. haftanın sonunda goblet hücre dansitesinde azalma saptanmıştır (7, 20, 32, 246).

3.6.3. Benzalkonyum Klorür (BAK) Uygulaması

Farklı patofizyolojik mekanizmalar taklit etmek amacıyla çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir (20). BAK uygulaması da bu yöntemlerden biridir (1,2, 171, 193, 247-250). Deney hayvanlarında KGS oluşturmak için geliştirilen bu model; fluorescein boyama, gözyaşı ölçüm testi ve diğer test yöntemlerinin daha kolay uygulanabilmesinden ötürü oküler yüzeyi geniş olan sebebiyle tavşanlarda daha çok tercih edilmektedir (20, 251, 252). Kuartern bir amonyum olan BAK, çeşitli göz damlalarında koruyucu olarak kullanılmaktadır ve yarılanma ömrü 12-20 saattir (248). Ancak BAK'ın uzun süreli kullanımında KGS'nin klinik belirtilerine benzer semptomlar oluşturduğu hatta KGS tedavisinde uygulanan BAK koruyuculu damlaların hastalığın prognozunu daha da kötüleştirdiği bildirilmiştir (253, 254).

Fare, tavşan, kedi ve köpeklerde BAK ile oluşturulmuş model çalışma mevcuttur (1, 2, 20, 181, 197, 247, 248,249, 255, 256). Bu ajan ile oluşturulan fare modellerinde genellikle BALB/ C soyuna ait fareler kullanılmaktadır. Buna neden olarak BAK' ın uzun süreli ve yüksek konsantrasyonlarda uygulanmasının gözlerde meydana getirdiği hasara karşı bu fare cinsinin diğer cinslere göre daha dayanıklı olması ve tedaviye erken yanıt vermesi gösterilmektedir (249).

Korneanın epitelindeki yüzeysel hücrelerin bağlantılarını hasara uğratan BAK, epitelyal deskuamasyon, apoptozis ve skuamöz metaplaziye neden olur ve bu durum korneanın normal fonksiyonunu sürdürmesine engel olarak epitelyal bariyeri ortadan kaldırmaktadır. Goblet ve epitel hücrelerin apoptozisi müsin katmanının bütünlüğünü bozmaktadır. Küçük bir molekül olan BAK korneanın derin kısımlarına bilhassa stromaya kolay bir şekilde penetre olarak bu tabakada bulunan keratinositlerde yıkımlanmaya yol açar (1, 2, 197, 247).

BAK ile oluşturulan KG evaporasyon belirtilerine uygunluk göstermektedir. Uzun süreli BAK uygulaması sonucu epitel hücrelerde inflamatorik sitokinlerin aşırı üretimi, korneal ödem, opasite ve stromal neovaskularizasyon meydana gelmektedir. (249, 255, 256).

BAK konsantrasyonları düşükten (% 0,01) yükseğe (% 0,3) doğru değişmektedir. Tavşanlarda oluşturulan KG modelleri % 0,1 lik BAK'ın 14 gün, % 0,2 lik BAK'ın 7 gün boyunca günde 2 kere, fare modellerinde ise 0.2 % oranında 7 ile 14 gün, günde iki kez ya da dört kez uygulanmasıyla oluşturulmuştur. (197, 249-251, 257, 258) .

3.6.4. Hormon Eksikliği Modeli

Meibomian bezi vücuttaki büyük yağ bezlerinden biridir ve androjen hormonlar tarafından regüle edilir. Androjenler bezdeki asiner epitel hücrelere etki ederek protein üretimini uyarır ve bunlar lipidlerin sentez ve salgılanmasını arttırır. Yaşla birlikte asiner hücre sayısında azalma meydana gelir (32,33, 34, 48, 69, 259) .

Ovariektomi ve orşidektomi uygulanan sıçan, fare, hamster ile hipofizektomi uygulanan ratlarda hormonların lakrimal ve meiboiman bezlerinin fonksiyonları üzerine model oluşturulmuştur. Burada androjen eksikliğinin Meibomian bezinin lipid üretiminde azalmaya yol açarak PGF'nin lipid katmanının bütünlüğünü bozduğu ve gözyaşı bezinin görevini düzgün yapamaması neticesinde gözyaşı salgısının azaldığı ortaya konmuştur (20, 259).

Ayrıca dişi ratlarda hipofizektomi prolaktin salgısını ortadan kaldırarak gözyaşı bezinde atrofiye yol açmaktadır (20).

3.6.5. Nörojenik Model

Gözyaşı üretiminin fizyo-anatomisinde fonksiyonel üniteyi oluşturan yapılar (kornea, konjunktiva, yardımcı ve ana lakrimal ile Meibomian bezleri) arasındaki iletişimi nöral refleks arkı sağlamaktadır (13,19,21). Atropin sülfat (%1) uygulanan tavşan ve fare modellerinde gözyaşı salgısının azaldığı gözlenmiştir. Bu durum atropinin antikolinerjik ve antimuskarinik etkisinden kaynaklanmaktadır. Atropin, korneal epitel hücrelerde progresif bir şekilde defektlere yol açmaktadır (20, 232, 260).

Skopolamin de başka bir antikolinerjik ilaçtır (164). Farelerde skopolaminin transdermal olarak uygulandığı bir çalışmada ayrıca gözlere kuru hava üfleme

suretiyle deneysel bir KG modeli oluşturulmuş ve aköz gözyaşı miktarlarında kontrol grubuna göre önemli derecede azalma kaydedilmiştir (51).

İntramuskuler yolla kullanılan ajanlar ile oluşturulan nörojenik modeller, çeşitli toksik etkilere ve irrevesibl korneal hasara yol açtığı için tercih edilmemektedir (20).

3.6.6. Mekanik Kurutma Modeli

Rüzgar, nem ve sıcaklık artışı gibi çevresel faktörlerin etkisi ile gözyaşında buharlaşma meydana gelmektedir. Meibomian bezinin ürettiği lipid, göz kırpma hareketi ile oküler yüzeye dağılarak gözyaşının buharlaşmasını önlemektedir. Bu model gözyaşının çevresel faktörleri taklit eden yöntemlerle buharlaştırılması (evaporasyon) esasına dayanır. Öte yandan Meibomian bezinin hastalıkları, kronik blefaritis ve göz kapaklarının anormal hareketide evaporatif KGS ile sonuçlanır (7, 31, 32, 33, 37, 47, 53,54, 261).

Fujihara ve ark.(1997) tarafından yapılan bir çalışmada lokal anestezi madde kullanılarak ve göz kapakları dikilmesi suretiyle göz kırpma engellenerek kısa süreli evaporatif bir KGS modeli oluşturulmuştur. Uygulamadan 2 saat sonra oküler yüzeye metilen mavisi uygulanmış ve anlık olarak noktasal göz kurulukları tespit edilmiştir (262). Bu modelde kullanılan topikal anestezi maddeler akut olarak aköz gözyaşı üretiminde azalmaya ve evaporasyona neden olacağından dolayı kronik tabiatlı bir KGS modeli oluşturmak için bu modelin tercih edilmemesi gerektiği bildirilmiştir (20). Rüzgar, nem ve sıcaklık gibi evaporatif faktörlerin kombine olarak kullanıldığı KG modelinde ise 3,7,14 ve 28. günlerde yapılan ölçümlerde goblet hücre densitesinde ve gözyaşı üretim miktarında azalma, korneal boyanma oranlarında ise artış gözlenmiştir (7, 263,264).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1 . Çalışma İzni

Çalışma için Fırat Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 01.08.2018 tarih ve 138 nolu kararla izin alındı.

4.2 . Çalışma Materyali

Çalışmanın materyalini Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Biriminde üretilen sağlıklı 8 haftalık BALB/C soyuna ait 28 adet (n=28) dişi fare oluşturdu. Denekler; 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü olan, iyi havalandırılmış, %40-60 rölatif nem oranına ve 20-24 °C ortam sıcaklığına sahip odalarda kafes içerisinde barındırıldı. Kafeslerde altlık olarak talaş kullanıldı. Yemler ve su *Ad libitum* olarak verildi (Şekil 18).



Şekil 18. Deneklerin Barınması.

4.3. Grupların Oluşturulması

Denekler rastgele ve her grupta 7 denek olacak şekilde olmak üzere 4 farklı gruba ($7 \times 4 = 28$) ayrıldı. Gruplar, kuru göz (KG), goji berry (GB), yeşil çay (YÇ) ve cennet hurması (CH) olarak isimlendirildi. (şekil 19) .



şekil 19. Deneklerin Gruplandırılması ve İsimlendirilmesi.

4.4. Deneklerin Tutulması

Denekleri, kendilerine ve araştırıcılara zarar vermemeleri için özel olarak tasarlanmış boru şeklindeki kauçuk bir düzeneğın (şekil 20) içine alındı. Bu sayede göze topikal ajan uygulaması ve parametrik testlerin gerçekteştirilmesi daha kolay ve sorunsuz oldu (şekil 21). Çalışmadan önce denekler, ortama uyum sağlamaları için belli bir süre düzeneğın içinden geçirildi. Bu işlemler sırasında deneklerde herhangi bir olumsuz davranışa rastlanılmadı.



Şekil 20. Kauçuk Düzenek.



Şekil 21. Deneğin Zapt-ı Raptı.

4.5. Kuru Göz Modelinin Oluşturulması Aşaması (0-14.gün)

Bu amaçla saf haldeki benzalkonyum klorid (BAK) (Sigma –Aldrich) (Şekil 22) steril bir PBS içerisinde (8 g NaCl, 0.2 g/l KCl, 1.44 g/l Na₂HPO₄, pH 7.4) konsantrasyonu % 0.2 (w/v) olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra bu solüsyon tüm gruplara ait deneklerin sağ gözlerine 14 gün süreyle ve günde 2 kez olmak üzere (sabah 08:00, akşam 20:00) bir mikroenjektör (Şekil 23) (901 N, Hamilton, A.B.D) ile 5 µl (mikrolitre) dozunda damlatıldı. Sol gözlerle ise BAK'ın ve

terapötik ajanların negatif kontrolü olması amacıyla yine 14 gün süreyle ve günde 2 kez olmak üzere %0,9' luk serum fizyolojik (Biofleks/Osel-İstanbul) (SF)'den 5 µl dozunda damlatıldı (Şekil 24) (Tablo 1).



Şekil 22. Saf Benzalkonyum Klorür.



Şekil 23. Mikroenjektör.



Şekil 24. Enjektör ile Uygulama Yapılması.

Tablo 1. Model Oluşturma Aşamasında Gruplara Uygulanan Ajanlar ve Kullanım Sıklıkları

Gruplar	Gözlere Uygulanan Ajanlar	Uygulama Sıklığı
Kuru göz (KG) grubu	Sağ (BAK) Sol (SF)	14 gün süre ile günde 2 kere 5µl
Goji berry (GB) grubu	Sağ (BAK) Sol (SF)	14 gün süre ile günde 2 kere 5µl
Yeşil çay (YÇ) grubu	Sağ (BAK) Sol (SF)	14 gün süre ile günde 2 kere 5µl
Cennet hurması (CH) grubu	Sağ (BAK) Sol (SF)	14 gün süre ile günde 2 kere 5µl

4.6. Ekstraktların Hazırlanması

Goji berry (GB), cennet hurması (CH) ve yeşil çay (YÇ) yaprakları, laboratuvar ortamında kuru havada kurutulduktan sonra bitki öğütme makinesi ile toz haline getirildi. Toz halindeki yapraklardan 25 gr alındı ve oda sıcaklığında 12 saat boyunca steril koşullarda 250 ml (mililitre) hacmindeki %95' lik etanol ile ekstrakte edildi. Sonrasında Whatman 4 filtre kâğıdı (GE Healthcare/ABD) ile filtrasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu aşama 3 defa tekrar edildi ve elde edilen ekstraktlar, 40°C'de döner bir buharlaştırıcıda indirgenmiş basınç altında buharlaştırılarak % 10'luk (w/v) konsantre bir hale getirildi. Her bir yaprak için

ayrı olarak hazırlanan ekstraktlar daha sonra % 0.9'luk SF ile %0,1'lik (v/v) konsantrasyona dilue edilerek uygulamaların yapılacağı zamana kadar steril şişelerde ve soğuk zincirde muhafaza edildi.

4.7. Terapotik Ajanların Uygulanma Aşaması (15-30.gün)

Çalışmanın 15 ile 30. günleri arasında KG grubundaki deneklerin her iki gözüne günde 3 kez (sabah 09:00, öğlen 14:00, akşam 21:00) 5 µl dozunda %0.9'luk SF uygulanırken, diğer 3 gruptaki deneklerin sağ gözlerine gruplara ismini veren ekstraktlar, sol gözlerine ise bu ekstraktların olası yan etkilerini belirlemek amacıyla bahsi geçen ekstraktlar yine günde 3 kez (sabah 09:00, öğlen 14:00, akşam 21:00) 5 µl dozunda damlatıldı. Bu sayede gruplardaki deneklerin sol gözleri o grubun kontrol grubunu oluşturdu (Tablo 2).

Tablo 2. Terapötik Ajanların Uygulanma Aşamasında; Gruplar, Ajanlar ve Bunların Kullanım Sıklıkları

Gruplar	Göze Uygulanan Ajanlar	Uygulama Sıklığı
Kuru göz (KG) grubu	Sağ (SF) Sol (SF)	14 gün süre ile günde 3 kere 5µl
Goji berry (GB) grubu	Sağ (GB) Sol (GB)	14 gün süre ile günde 3 kere 5µl
Yeşil çay (YÇ) grubu	Sağ (YÇ) Sol (YÇ)	14 gün süre ile günde 3 kere 5µl
Cennet hurması (CH) grubu	Sağ (CH) Sol (CH)	14 gün süre ile günde 3 kere 5µl

4.8. Parametrik Değerlendirme Testleri

Değerlendirme testleri tüm gruplara 0. (BAK uygulamasından önce), 15. (Tedavi başlangıcı), 20., 25 ve 30. (çalışma sonu) günlerde birer defa olmak üzere aynı zaman dilimlerinde ve aynı araştırmacı tarafından uygulandı.

4.8.1. Endodontik Absorbent Paper Point Testi (EAPPT)

Gözyaşı üretim miktarını belirlemek amacıyla, kauçuk düzeneğin içinde zapt-ı rapt altına alınan deneklerin sağ ve sol gözlerinin alt konjunktival fornikslerine bir penset yardımı ile ölçüm kâğıtları (Roeko, Almanya)

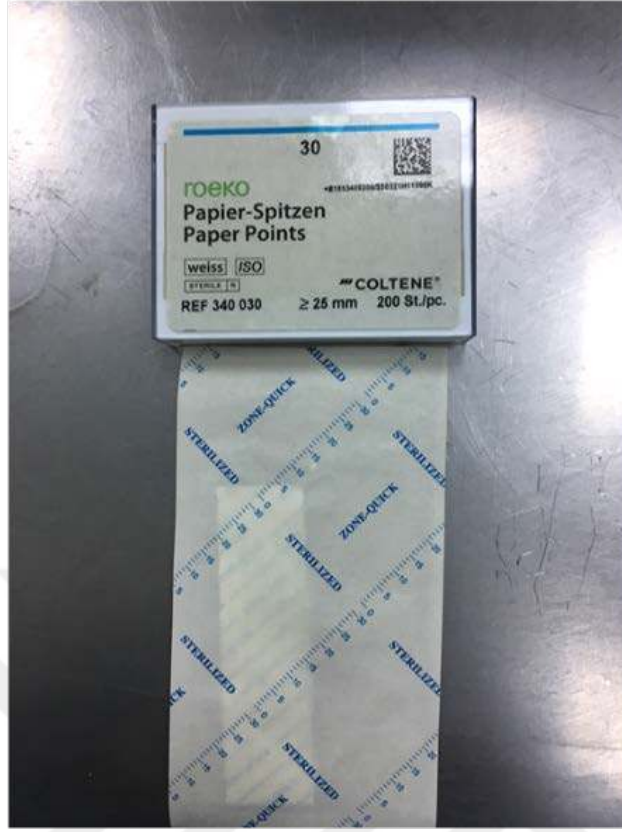
yerleştirilerek (Şekil 25) 1 dk süreyle beklendi (Şekil 26). Islaklık derecesi, milimetrik bir gösterge çizelgesi (Zone Quick-Menicon, Nagoya, Japonya) kullanılarak normal ışık altında okundu (Şekil 27).



Şekil 25. Endodontik Absorbent .



Şekil 26. EAPPT Testi.



Şekil 27. EAPPT Ölçüm Kağıdı.

4.8.2. Korneal Boyanma Testi

Bu testte %1'lik fluorescein sodyum (Alcon, Almanya), tüm gruplara ait deneklerin sağ ve sol gözlerine bir mikro enjektör (901 N, Hamilton, A.B.D.) ile (Şekil 28) 1µl dozunda damlatıldı. Uygulamadan 10 dk sonra boyanmış olan kornealar, slit-lamp biyomikroskop (Shin-Nippon, Japonya) (Şekil 29) altında kobalt mavisi filtresi kullanılarak muayene edildi. Turuncu renkteki fluorescein boyası (Şekil 30), mavi ışık altında oküler yüzeyde dönüştüğü yeşil rengin boyanma derecesine göre; hiç boyanmamışsa '0', korneanın 1/8'ine eşit ya da daha az bir boyanma alanı varsa '1', 1/4'üne eşit ya da daha az bir boyanma alanı varsa '2', 1/2'sine eşit ya da daha az bir boyanma alanı varsa '3', 1/2'sinden daha fazlası ya da tamamı boyanmışsa '4' şeklinde skorlandı. Korneadaki epitel hasar, bu derecelendirmeye göre kalitatif olarak değerlendirildi (Şekil 31).



Şekil 28. Fluorescein Sodyum.



Şekil 29. Slit-Lamp Biyomikroskop.



Şekil 30. Fluorescein Sodyum Uygulanmış Kornea



Şekil 31. Kobalt Mavisi Işık Altında Görüntü.

4.8.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi

Tüm gruplara ait deneklerin sağ ve sol gözlerine %1'lik fluorescein sodyum'dan 1 μ l damlatıldıktan sonra tam bir göz kırpmaları için imkan sağlanmıştır. Daha sonra slit-lamp biyomikroskop altında kobalt mavisi filtresi kullanılarak deneklerin 2. bir göz kırpmasına müsaade etmeksizin kornealarındaki noktasal kırılmaların ilk başladığı an saniye (sn) olarak kaydedilmiştir.

4.9. Western-Blot, Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Analizler

4.9.1. Western-Blot Analizleri

Çalışma sonunda tüm denekler dekapite edilerek sağ ve sol orbital dokular penset yardımı ile çıkarıldı (Şekil 32). Göz doku örnekleri (n=3x4 grup) soğukta PBS ile yıkandı, sonra küçük parçalara bölünerek mekanik ve cam homojenizatörde lizis tamponunda parçalandı (0,5 M Tris; pH:8, EDTA, β -mercaptoethanol, phenylmethysulfonyl fluoride, NP-40, Proteinaz K, Ditiyotritol). Parçalanmış doku örnekleri 14000 rpm'de 5 dk. santrifüjlendi, süpernatant alınarak kullanıncaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

Western Blot aşamasında kullanılan primer ve sekonder antikorlar (TNF- α Antibody (52B83) ab8348, IL-1 α Antibody (ALF-161) sc12741, beta actin E-AB-20094, Nrf-2 antibody ab137550, NF- κ B antibody sc-8008 primer antikorları; m-IgG κ BP-HRP sc-516102 ve ab97023 sekonder antikorları) Santa Cruz Biotechnology (Germany), Abcam ve Elabscience (U.S.A)'dan temin edilmiştir. SDS PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi)'de kuyulara protein yüklemesi yapılmadan önce lowry kiti ile protein konsantrasyonları ölçülmüş ve her kuyuya 30 μ g protein örnekleri yüklenmiştir.

SDS-PAGE tekniği ile dokulara ait protein örnekleri %12'lik jelde yürütülmüştür. Daha sonra bu proteinler Western blotlama tekniği ile nitroselüloz membrana aktararak sentez oranlarına bakılmış ve sonrasında nitroselüloz membranda gözlenen protein düzeyleri yoğunluk belirleyici analiz sistemi ile ölçülmüştür.

4.9.2. Histopatolojik Analizler

Histopatolojik analiz için ayrılan orbital dokular (n=4x4 grup), %10'luk tamponlu formaldehit ile tespit edildi. Gözler dorso-ventral pozisyonda optik sinire yakın olarak trimlenerek, otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1020, Wetzlar, Almanya) alkol, ksilol ve parafin serilerinden geçirildi. Doku bloklama cihazında (Leica EG 1150 H, Wetzlar, Almanya) parafin bloklama yapıldı. Elde edilen parafin bloklardan rotary mikrotom (Leica RM2125, Wetzlar, Almanya) ile 3-5 mikron kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Hazırlanan kesitler otomatik doku boyama makinasında (Leica Autostainer XL, Wetzlar, Almanya) Hematoksilen-Eosin ve Periyodik Asit Shift (PAS) yöntemiyle boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Korneadaki damar ve yangısal hücre sayısı ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

4.9.3. İmmunohistokimyasal Analizler

Bu metotta Avidin-Biotin Kompleks (ABC) İmmunohistokimya yöntemi kullanıldı. İmmunohistokimyasal olarak TNF- α , IL-1 α , Nrf-2 , NF-Kb ve VEGF yönünden inceleme yapıldı. Bu incelemeler için 5 mikron kalınlıkta kesilen doku örnekleri pozitif şarjlı lamlara alınarak kurutuldu. ABC tekniği kullanılarak ticari kitlerin protokolü uygulandı. Kesitlerin ksilol ile deparafinizasyonları ve seri alkollerle hidrasyonları yapıldı. Sitratlü tampon solüsyonda 600 watt gücündeki mikrodalga fırında 20 dakika kaynatıldı. Oda sıcaklığında 15 dakika soğumaya bırakıldıktan sonra 15 dakika PBS te bekletildi. Bu aşamadan sonra kullanıma hazır immunohistokimya kitinde (Ultra Vision Detection System, Anti-Polyvalent, HRP, 40 Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, A.B.D.) hazır bulunan kimyasallar kullanıldı ve üretici firmanın önerdiği standart prosedür

uygulandı. Hidrojen peroksit blok solüsyonda 10 dakika bekletilerek endojen peroksidaz aktivitesi engellendi ve 15 dakika PBS te bekletildi. Spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için protein blok solüsyonunda da 5 dakika bekletildikten sonra yıkama yapılmaksızın sadece kesitlerin üzerindeki fazla sıvı giderildi ve primer antikor (TNF α , Elabsciences, IL-1 α , Santa Cruze, Nrf-2, Santa Cruze, ve NF-Kb, Santa cruze) ile 1 saat, oda sıcaklığında, nemli ortamda inkubasyona bırakıldı. Primer antikorlar için sulandırma oranları; TNF α , IL-1 α , VEGF ve NF-Kb için 1/100 oranında uygulandı. İnkubasyon sonunda 15 dakika PBS te bekletilen kesitler sekonder antikor ile 30 dakika inkübe edildi ve 15 dakika PBS te bekletildi. Sonrasında HRP (Horse Radish Peroksidase) enzimi ile işaretli streptavidin ile inkübe edildi. 15 dakika PBS te yıkama işlemi uygulandıktan sonra kromojen ile işaretlenen bölgelerin belirlenmesi için diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) ile kontrollü bir şekilde inkübe edilip distile su ile yıkandı. Karşıt boyamada kesitler yaklaşık 2 dakika Mayer hematoksilen solüsyonunda tutuldu. Su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı.



Şekil 32. Orbital dokuların çıkarılması.

4.10. İstatistik Analizler

Bütün veriler SPSS 21 (SPSS Inc, Chicago, Ill., USA) paket programında varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Aköz gözyaşı üretim miktarı, korneal boyanma testi ve TBUT analiz sonuçlarının grup içi değerlendirilmesinde ANOVA post-hoc testi, zaman aralıklarına göre gruplar arası tekrarlayan non-parametrik testlerin değerlendirmeleri için ise Friedman testi uygulanmıştır. Arasında önemli fark bulunan gruplarda farkın hangi zaman aralığında olduğunu saptamak amacıyla Wilcoxon testi kullanılmıştır. Western-blot analiz sonuçlarının istatistiki değerlendirilmesinde ise gruplar arası farklılıkları belirlemek için One-way ANOVA, Post Hoc Duncan testi uygulanmıştır. Yapılan istatistiklerin güvenilirliği açısından, ölçümler en az 3 tekrar olacak şekilde yapılmıştır. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analizlerde gruplar arası farklılıklar One-way ANOVA programıyla varyans analizi yapılarak değerlendirildi. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar ise Tukey post hoc testiyle gerçekleştirildi. *P* değeri, <0.05 ise istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

5. BULGULAR

Deneklerin çalışma boyunca günlük vital takipleri gerçekleştirilmiş olup, KG grubundan 2 adet denek çalışmanın 30. gününde parametrik değerlendirme testlerinden sonra ölmüştür. Diğer deneklerde ise çalışma boyunca herhangi bir olumsuzluğa rastlanılmamıştır.

5.1. KG Modelinin Değerlendirilmesi

5.1.1. Parametrik Test Bulguları

5.1.1.1. Aköz Gözyaşı Üretim Miktarı Ölçümü (EAPPT)

Çalışmanın 0. gününde (baseline) aköz gözyaşı üretim miktarı yönünden tüm gruplardaki deneklerin her iki gözüne ait veriler arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($P > 0.05$, Tablo 3). Tüm gruplara ait deneklerin sağ gözlerine 14 gün süreyle BAK uygulanmasından sonraki ilk ölçüm zamanı olan 15. gün ortalamalarının başlangıç ölçümü ortalamalarına göre önemli oranda azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlendi ($P < 0.05$, Tablo 3). KG grubu deneklerin BAK uygulanan sağ gözlerinin aköz gözyaşı üretim miktarı ortalamalarının 15. günden sonra çalışmanın sonuna kadar anlamlı bir değişiklik göstermediği kaydedilmiştir ($P > 0.05$, Tablo 3). Öte yandan 14 gün süreyle SF uygulanan sol gözlere ait ortalamaların ilk ölçüm zamanından çalışmanın sonuna kadar istatistiki açıdan anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir ($P > 0.05$, Tablo 3).

5.1.1.2. Korneal Fluorescein Boyanma Testi

Başlangıç ölçümlerinde, tüm gruplardaki deneklerin her iki gözüne ait korneal fluorescein boyanma skorları “0” olarak kaydedilmiştir. Dolayısıyla 0. günde gruplar ve denekler arasında belirtilen parametre yönünden anlamlı bir fark bulunamamıştır ($P > 0.05$, Tablo 4). Her bir grubun 2 hafta süreyle BAK uygulanan sağ gözlerine ait 15. gün boyanma skor ortalamalarının başlangıç ölçümlerine

kıyasla belirgin bir şekilde arttığı ve bu artışın istatistiki açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$, Tablo 4). 14 gün BAK uygulandıktan sonra 15 ile 30. günler arasında herhangi bir terapötik ajan uygulanmayıp sadece hastalık modelinin izlendiği KG grubu deneklerin sağ gözlerine ait boyanma skor ortalamaları çalışmanın tüm ölçüm zamanlarında BAK uygulanmayan sol gözlerin ortalamalarına göre anlamlı oranda yüksekti ($P < 0.05$, Tablo 4). BAK uygulanan sağ gözlerin negatif kontrolü olması amacıyla çalışmanın başından sonuna kadar SF uygulanan KG grubunun sol gözlerine ait skor ortalamaları, çalışmanın hiçbir ölçüm zamanında anlamlı bir fark göstermemiştir ($P > 0.05$, Tablo 4).

5.1.1.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (TBUT)

Başlangıç ölçümünde tüm deneklerin her iki gözüne ait TBUT ortalamaları arasındaki fark istatistiki açıdan anlamsız bulunmuştur ($P > 0.05$, Tablo 5). KG modeli oluşturmak amacıyla sağ gözlerine 14 gün süreyle BAK damlatılan deneklere ait TBUT sürelerinin SF uygulanan sol gözlerine ait ortalamalardan belirgin şekilde kısa olduğu ve bu kısalığın istatistiki açıdan anlamlı olduğu kaydedilmiştir ($P < 0.05$, Tablo 5). Hastalık modelinin takip edildiği KG grubunun sağ gözlerinden 15. günde alınan TBUT ortalamalarının 25. gün ölçümüne kadar önemli bir değişiklik göstermediği ($P > 0.05$, Tablo 5); bundan sonraki 2 ölçümün (25. ve 30. gün) ise 15. gün ortalamalarına göre anlamlı bir şekilde uzadığı saptanmıştır ($P < 0.05$, Tablo 5). KG grubunda hastalık modelinin takip edildiği sağ gözlerin negatif kontrolü olması amacıyla sadece bu deneklerin SF uygulanan sol gözlerine ait TBUT ortalamaları arasında çalışmanın başından sonuna kadar istatistiki bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$, Tablo 5).

5.2. Ekstraktların Terapötik ve Yan Etkilerinin Değerlendirilmesi

5.2.1. Parametrik Test Bulguları

5.2.1.1. Aköz Gözyaşı Üretim Miktarı (EAPPT)

Çalışmanın 20. gününde yapılan ölçümlerde elde edilen ortalamalar ile 15. gün ortalamaları karşılaştırıldığında; BAK'tan sonra ekstrakt uygulanan gruplar içinde en yüksek EAPPT değerinin $3,71 \pm 0,56$ mm/sn ile YÇ grubuna ait olduğu belirlenmiş ve bu artışın anlamlı olduğu kaydedilmiştir ($P < 0.05$, Tablo 3). Bu ölçüm zamanında GB grubu ortalamaları 15. güne göre istatistiki açıdan anlamlı olmasa da yükselirken ($P > 0.05$, Tablo 3), CH grubunda anlamlı olmayan bir azalma saptanmıştır ($P > 0.05$, Tablo 3). 25. günde ekstrakt uygulanan bu üç grubun (GB, YÇ, CH) ortalamaları bir önceki ölçüm zamanına göre artmış olmasına rağmen bu artışın istatistiki açıdan anlamlı olmadığı bulunmuştur ($P > 0.05$, Tablo 3). 25. gün ölçümlerinde en yüksek EAPPT miktarı $4,00 \pm 0,50$ mm/sn ile GB grubundan alınmıştır. Çalışmanın son ölçüm zamanı olan 30. günde ekstrakt uygulanan tüm grupların ölçüm ortalamaları bir önceki ölçüm zamanı olan 25. güne göre düşüş gösterirken, bu düşüşlerin istatistiki açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$, Tablo 3). Ekstrakt uygulanan gruplara ait ortalamalar, 15-30. günler arasındaki değişimlerine yani terapötik etkilerine göre değerlendirildiğinde; en yüksek artışın YÇ grubunda olduğu fakat bu artışın diğer grupların değişimleriyle karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır ($P > 0.05$, Tablo 3). Ekstraktların olası yan etkilerinin takip edildiği sol gözlere ait EAPTT ortalamalarının çalışmanın başından sonuna kadar istatistiki açıdan anlamlı bir fark göstermediği belirlendi ($P > 0.05$, Tablo 3).

5.2.1.2. Korneal Fluorescein Boyanma Testi

Ekstrakt uygulanan gruplar korneal fluorescein boyanma testine göre değerlendirildiğinde, 20. günde sadece CH grubunun boyanma skorunda azalma gözlenmiş, fakat bu azalmanın diğer gruplardaki değişimlerle birlikte istatistiki açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır ($P > 0.05$, Tablo 4). 25. gün ortalamaları bir önceki ölçüm zamanıyla karşılaştırıldığında boyanmanın en çok azaldığı grubun $1,42 \pm 0,53$ ile YÇ grubu olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$, Tablo 4). Diğer iki grubun (CH ve GB) skor ortalamalarında da düşüş gözlenmiş fakat bu düşüşler de istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$, Tablo 4). Çalışmanın son ölçüm zamanı olan 30. günde, daha önce düşüş eğilimi gösteren YÇ grubunun boyanma skor ortalamasında önemli bir değişiklik gözlenmedi ($P > 0.05$, Tablo 4). Diğer iki grubun ortalamalarında düşüş belirlense de bu değişimlerin de yine istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı belirlendi ($P > 0.05$, Tablo 4). Ekstrakt uygulanan gruplara ait boyanma skor ortalamalarının 15. ile 30. günler arasındaki değişimlerine bakıldığında; KG oluşumundan sonra korneal boyanması en fazla düşen grubun diğer gruplara göre anlamlı bir fark göstermese de YÇ grubu olduğu saptanmıştır ($P > 0.05$, Tablo 4). Ekstraktların olası yan etkilerinin takip edildiği bu 3 grubun korneal fluorescein skor ortalamalarının, çalışmanın başından sonuna kadar istatistiki açıdan anlamlı bir değişiklik göstermediği belirlenmiştir ($P > 0.05$, Tablo 4).

5.2.1.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı Testi (TBUT)

Başlangıç ölçümlerinde yaklaşık olarak 6,95 sn ölçülen tüm grupların TBUT ortalamalarının, 15. gün analizlerinde 3.01 seviyesine kadar düştüğü saptanmıştır. Çalışmanın 20. gününde ekstrakt uygulanan grupların test

ortalamları arasındaki fark anlamlı olmamakla ($P > 0.05$, Tablo 5) birlikte en yüksek TBUT ortalamasının $5,02 \pm 0,13$ sn ile YÇ grubuna ait olduğu belirlenmiş ve bu durum çalışmanın sonuna kadar değişmemiştir. 3 gruba ait ortalamaların 15-30. günler arasındaki değişimleri incelediğinde; diğer 2 gruba göre istatistiki açıdan anlamlı farklılıklar göstermese de ($P > 0.05$, Tablo 5) KG oluşuktan sonra TBUT'un en çok uzadığı grubun YÇ olduğu saptanmıştır.

Ekstraktların yan etkilerinin takip edildiği sol gözlere ait TBUT ortalamaları, çalışmanın başından sonuna kadar önemli bir değişiklik göstermemiştir ($P > 0.05$, Tablo 5).

Tablo 3. Gözyaşı Üretim Miktarları (mm/sn)

Gruplar	Ölçüm Zamanları (Sağ Göz)					P değeri
	0.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30. gün	
KG	$3,85 \pm 0,24^A$	$2,35 \pm 0,85^B$	$2,14 \pm 0,37^{Ba}$	$2,64 \pm 0,74^{Ba}$	$2,85 \pm 0,69^{AB}$	0,020
GB	$3,71 \pm 0,39^A$	$2,50 \pm 0,86^B$	$3,28 \pm 0,69^{ABb}$	$4,00 \pm 0,50^{ACb}$	$3,28 \pm 0,75^{ABC}$	0,018
YÇ	$4,28 \pm 0,39^A$	$2,35 \pm 0,98^B$	$3,71 \pm 0,56^{ACb}$	$3,92 \pm 0,53^{ACb}$	$3,50 \pm 0,40^{BC}$	0,006
CH	$4,07 \pm 0,44^A$	$2,71 \pm 0,90^B$	$2,42 \pm 0,83^{Bac}$	$3,50 \pm 1,08^{ABab}$	$3,35 \pm 0,74^{AB}$	0,022
P değeri	> 0.05	> 0.05	0,000	0,000	> 0.05	

Gruplar	Ölçüm Zamanları (Sol Göz)					P değeri
	0.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30. gün	
KG	$4,00 \pm 0,00$	$3,85 \pm 0,24$	$3,85 \pm 0,24$	$3,92 \pm 0,18$	$3,64 \pm 0,24$	0,053
GB	$3,92 \pm 0,34$	$3,92 \pm 0,18$	$4,00 \pm 0,00$	$4,00 \pm 0,00$	$3,64 \pm 0,37$	0,075
YÇ	$3,92 \pm 0,53$	$4,07 \pm 0,18$	$4,00 \pm 0,28$	$4,07 \pm 0,34$	$3,85 \pm 0,24$	0,357
CH	$3,92 \pm 0,34$	$4,00 \pm 0,28$	$3,78 \pm 0,39$	$4,14 \pm 0,24$	$3,71 \pm 0,39$	0,178
P değeri	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	

a-c: 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 4. Korneal Boyanma Testi (Skor) Verileri

Gruplar	Ölçüm Zamanları (Sağ Göz)					P değeri
	0.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30. gün	
KG	0 ^A	3,00 ± 0,57 ^B	2,42 ± 0,78 ^{BC}	2,42 ± 0,78 ^{BC}	2,00 ± 0,57 ^C	0,035
GB	0 ^A	3,28 ± 0,75 ^B	3,28 ± 0,69 ^B	2,28 ± 0,75 ^{BC}	2,00 ± 0,57 ^C	0,059
YÇ	0 ^A	3,14 ± 0,37 ^B	3,71 ± 0,56 ^{BC}	1,42 ± 0,53 ^C	1,42 ± 0,78 ^C	0,003
CH	0 ^A	3,28 ± 0,48 ^B	2,42 ± 0,83 ^{BC}	2,00 ± 0,57 ^C	1,71 ± 0,75 ^C	0,013
P değeri	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	

Gruplar	Ölçüm Zamanları (Sol Göz)					P değeri
	0.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30. gün	
KG	0	0,57± 0,53	0,57± 0,53	0,42 ± 0,53	0,42 ± 0,53	0,896
GB	0	0,57± 0,53	0,57± 0,53	0,42 ± 0,53	0,28 ± 0,48	0,724
YÇ	0	0,57± 0,53	0,57± 0,53	0,42 ± 0,53	0,14 ± 0,37	0,392
CH	0	0,57± 0,53	0,57± 0,53	0,42 ± 0,53	0,42 ± 0,53	0,919
P değeri	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	

A-C: 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.

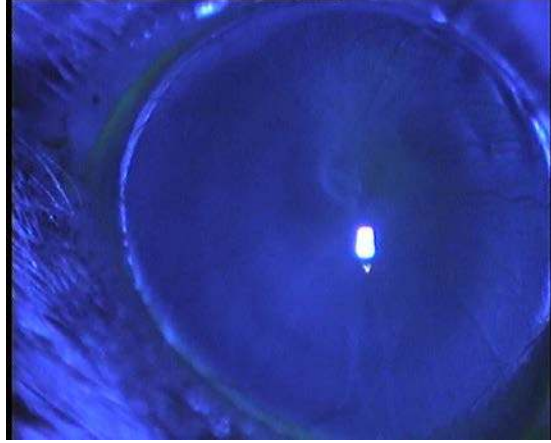
Tablo 5. TBUT (sn) Test Verileri

Gruplar	Ölçüm Zamanları (Sağ Göz)					P değeri
	0.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30. gün	
KG	6,95 ± 0,18 ^A	3,07 ± 0,11 ^B	3,25 ± 0,09 ^{BCa}	3,74 ± 0,20 ^{CDa}	4,54 ± 0,17 ^{ADa}	0,000
GB	6,92 ± 0,18 ^A	2,95 ± 0,12 ^B	4,57 ± 0,17 ^{BD^b}	5,40 ± 0,10 ^{CD^b}	5,99 ± 0,11 ^{AC^{bcd}}	0,000
YÇ	6,98 ± 0,12 ^A	3,04 ± 0,11 ^B	5,02 ± 0,13 ^{BC^c}	5,96 ± 0,12 ^{CD^d}	6,14 ± 0,08 ^{AD^d}	0,000
CH	6,98 ± 0,10 ^A	2,99 ± 0,11 ^B	4,80 ± 0,18 ^{BC^{bc}}	5,75 ± 0,19 ^{CD^{cd}}	5,96 ± 0,12 ^{AD^{cd}}	0,000
P değeri	> 0,05	> 0,05	0,000	0,000	0,000	

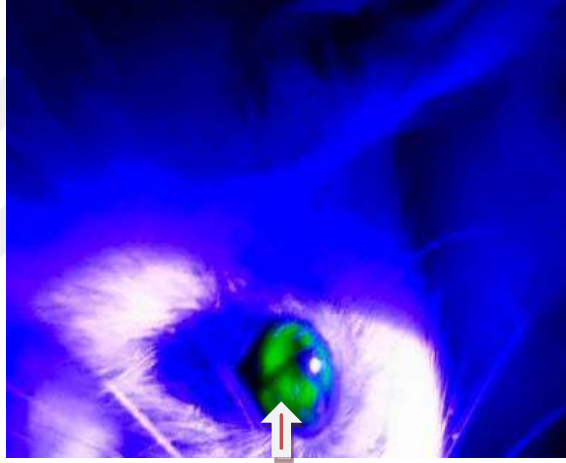
Gruplar	Ölçüm Zamanları (Sol Göz)					P değeri
	0.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30. gün	
KG	7,01 ± 0,09	6,94 ± 0,11	6,96 ± 0,14	6,94 ± 0,14	6,96 ± 0,12	0,613
GB	6,98 ± 0,11	7,04 ± 0,08	6,86 ± 0,11	7,05 ± 0,11	6,98 ± 0,12	0,069
YÇ	7,00 ± 0,12	6,95 ± 0,11	6,99 ± 0,13	7,00 ± 0,10	7,04 ± 0,09	0,434
CH	7,03 ± 0,05	7,01 ± 0,09	7,01 ± 0,10	7,04 ± 0,10	7,04 ± 0,11	0,741
P değeri	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

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

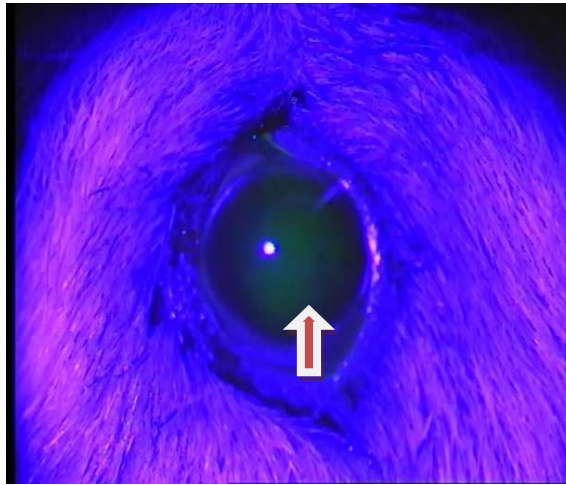
A-D: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir. (P < 0.05), Friedman, ikili karşılaştırma Wilcoxon.



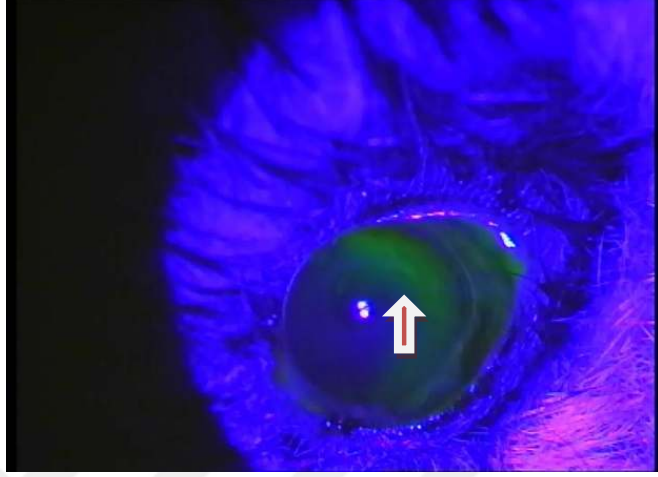
Şekil 33. 0.gün KGG korneal boyanma (Skor 0).



Şekil 34. 15.gün GBG korneal boyanma (Skor 4).



Şekil 35. 20.gün GBG korneal boyanma (Skor 2).



Şekil 36. 20.gün YÇG korneal boyanma (Skor 2).

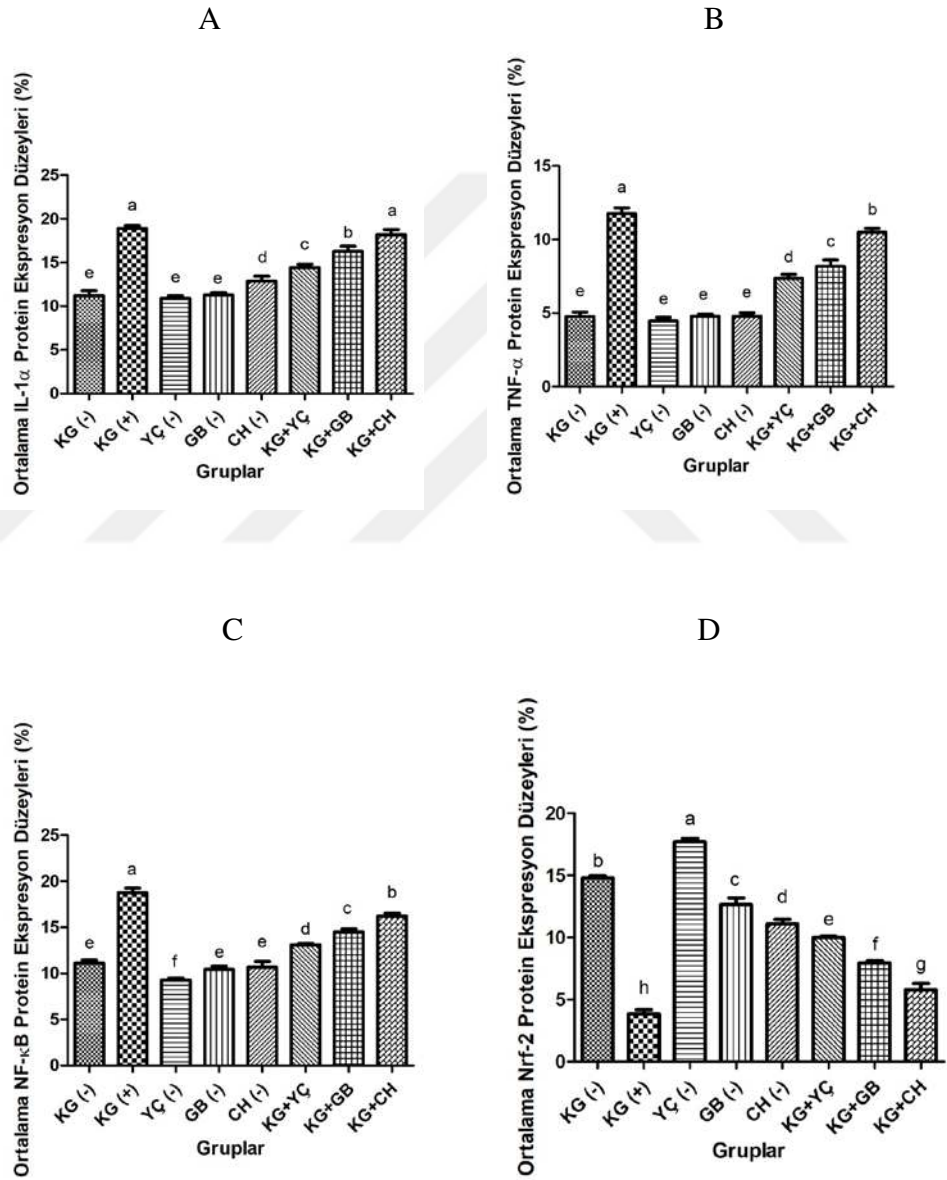


Şekil 37. 30.gün YÇG korneal boyanma (Skor 1).

5.3. Western-Blot Analiz Bulguları

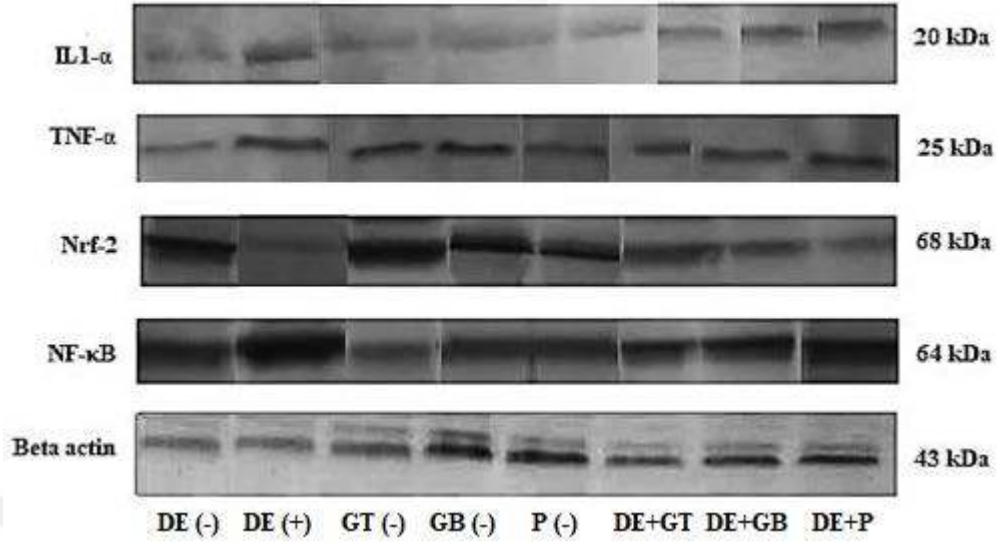
Deneklerin oküler doku örneklerinde Western-Blot tekniği ile IL-1 α , TNF- α , Nrf-2 ve NF-Kb seviyeleri değerlendirildi. IL-1 α , TNF- α ve NF-Kb'ya göre inflamatorik ekspresyon seviyeleri en düşük YÇ'de, en yüksek KG (hastalık modeli-sağ göz) ve CH gruplarında ölçüldü ($P<0.05$, Şekil 38). Nrf-2 için en

düşük ekspresyon seviyeleri KG (hastalık modeli-sağ göz), ekstrakt uygulanan gruplar içinde ise en yüksek YÇ, en düşük CH gruplarında ölçüldü. Bu parametreye göre tüm grupların inflamatorik ekspresyon seviyeleri arasındaki farkların istatistiki açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$, Şekil 38).



-Grafiklerde yalnızca ekstrakt uygulanan sol gözler ekstrakt ismi ile, KG oluşturulduktan sonra ekstrakt uygulanan sağ gözler ise KG+YÇ+GB+CH olarak belirtilmiştir.

E

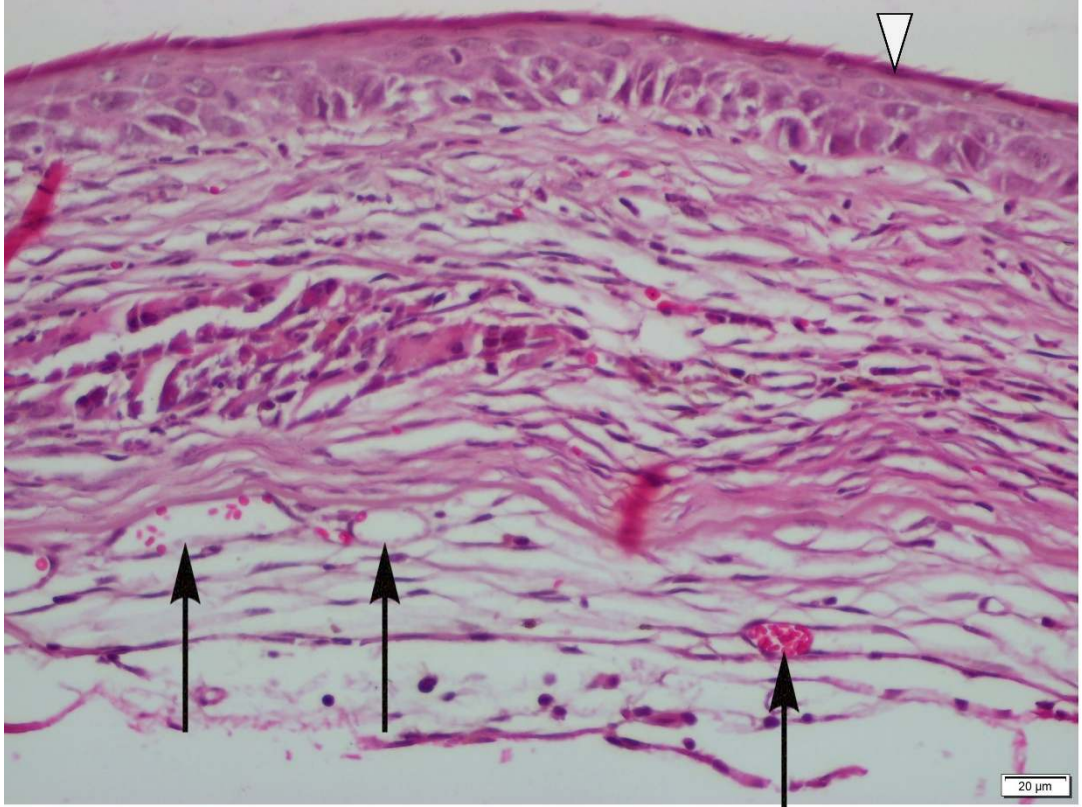


Şekil 38. Western-Blot analiz sonuçları.

A. IL-1 α , B. TNF- α , C. NF-Kb, D. Nrf-2 E.Western-blot protein bantları. *a-h: gruplar arası farklılıklar farklı harfler ile gösterilmiştir ve bu fark istatistiki açıdan önemlidir ($P < 0.05$). One-Way ANOVA Post Hoc Duncan Testi. (n=3x4 grup)

5.4. Histopatolojik Bulgular

Kuru göz grubunun sol gözleri (negatif kontrol) histopatolojik olarak incelendiğinde bu yapıların 3-4 katlı epitel tabakasından, bazal tabakanın ise kuboidal hücrelerden oluştuğu tespit edildi. Bazal hücrelerinin farklılaşarak yassılaşması sonucu korneanın yüzey hücrelerine dönüştükleri dikkati çekti. KG grubunun sol gözlerinin (hastalık modeli) kornea epitel hücrelerinin homojen bir görünümde olduğu, epitel katmanının iki katlı hücrelerden oluştuğu ve yüzey epitelinin belirgin olarak keratinize olduğu dikkati çekti (Şekil 39).

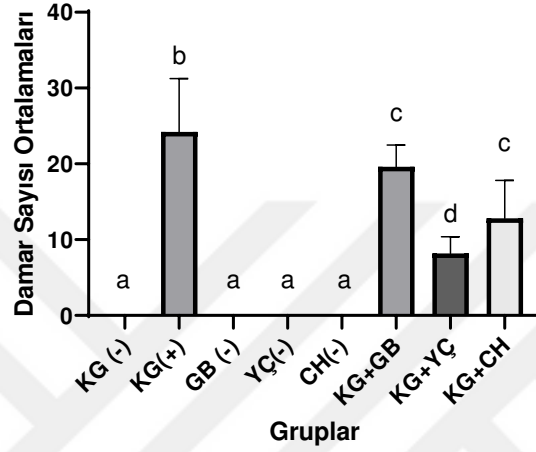


Şekil 39. Pozitif kontrol grubunda keratinizasyon (okbaşı), ödem ve neovaskülarizasyon (oklar).

5.4.1. Korneal Neovaskülarizasyon

Korneal neovaskülarizasyonun özellikle KG grubunun hastalık modeli oluşturulan sağ gözlerinde diğer tüm grup olgularınkine kıyasla daha belirgin olduğu ve farkların istatistiki açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır ($P<0.05$, Şekil 40). KG grubunun negatif kontrolü olan sol gözleri ile ekstraktların olası yan etkilerinin izlendiği sol gözler arasında korneal neovaskülarizasyon açısından önemli farklar bulunmadığı kaydedilmiştir ($P>0.05$, Şekil 40). Bu gruplarda damarlaşma yok denecek kadar azdır. KG oluşturulduktan sonra ekstraktların terapötik etkilerinin araştırıldığı 3 grubun sağ gözlerinde damarlaşmaların bulunduğu tespit edilmiş ve gruplar arasında belirtilen parametre yönünden

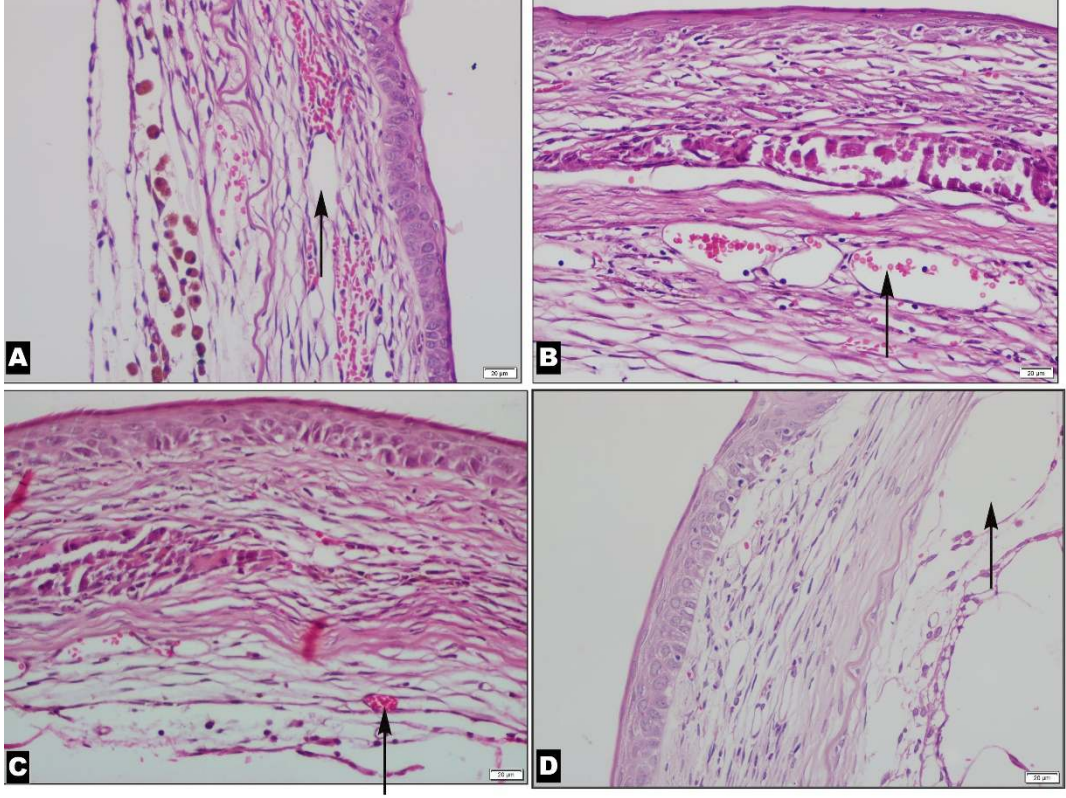
istatistiksel açıdan önemli farkların olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$, Şekil 40). Buna göre damarlaşmanın en düşük olduğu grup YÇ grubudur. Şiddetli neovaskularizasyon saptanan olgularda kronik hemoraji belirtisi olarak hemosiderin yüklü makrofajlara da rastlanmıştır (Şekil 41,42).



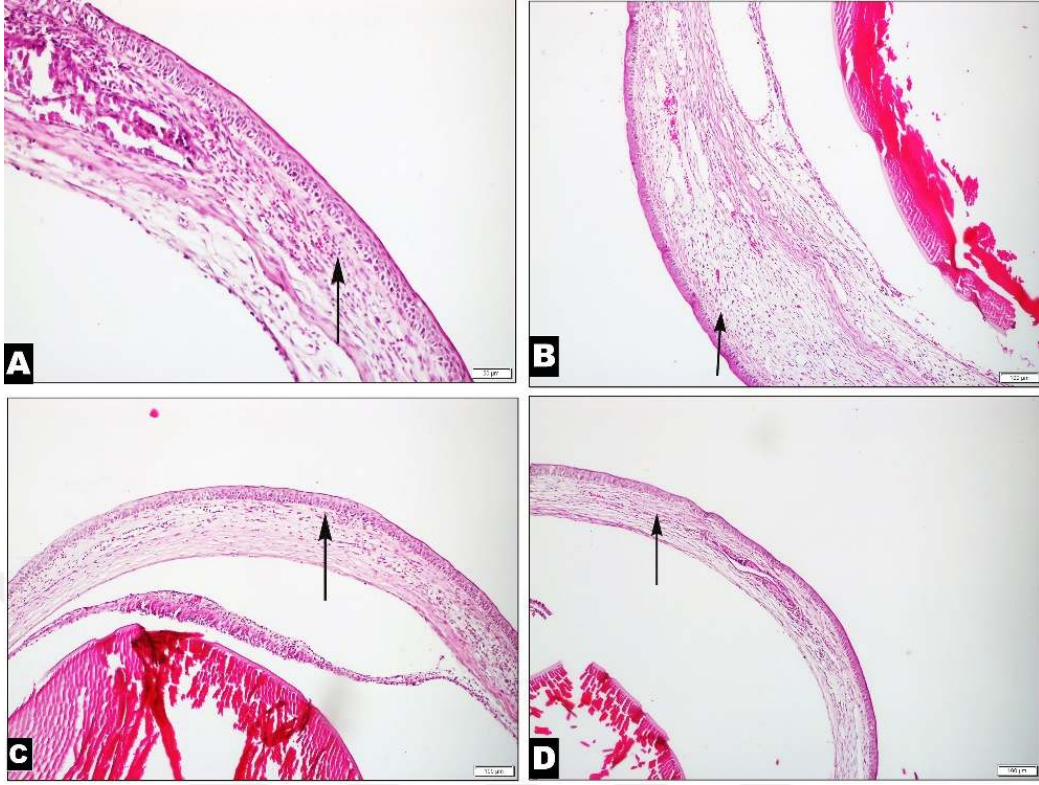
Şekil-40. Korneadaki damar sayısı ortalamaları.

*a-d: Gruplar arası farklılıklar farklı harfler ile gösterilmiştir ve bu fark istatistiki açıdan önemlidir ($P < 0.05$). One-Way ANOVA Post Hoc Duncan Testi.

-Grafiklerde yalnızca ekstrakt uygulanan sol gözler ekstrakt ismi ile, KG oluşturulduktan sonra ekstrakt uygulanan sağ gözler ise KG+YÇ+GB+CH olarak belirtilmiştir. (n=4x4 grup)



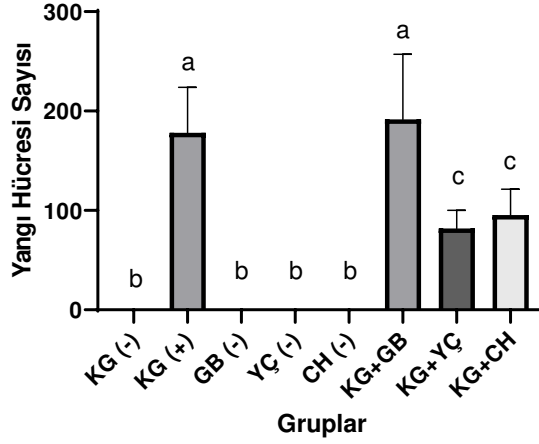
Şekil 41. Kontrol ve tedavi gruplarında korneadaki neovaskülarizasyon şiddeti (oklar), H-E, Bar: 20 µm. **A.** KG grubu sağ göz (pozitif kontrol) **B.** GB grubu sağ göz **C.** YÇ grubu sağ göz **D.** CH grubu sağ göz.



Şekil 42. Kontrol ve tedavi gruplarında korneadaki neovaskülarizasyon (oklar), H-E, Bar: 100 µm. **A.** KG grubu sağ göz (pozitif kontrol) **B.** GB grubu sağ göz **C.** YÇ grubu sağ göz **D.** CH grubu sağ göz.

5.4.2. Korneada Yangısal Hücre Sayısı

Korneada yangısal hücrelerin sayısı bakımından en yüksek oranlar KG grubunun model oluşturulan sağ gözleri ile GB grubu olgularında tespit edilmiş olup, bu iki grup arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$, Şekil 43). Yangısal hücrelerin en düşük olduğu gruplar, aralarında fark olmaksızın ($P>0.05$, Şekil 43), KG grubunun negatif kontrolü olan sol gözleri ile ekstraktların olası yan etkilerinin takip edildiği 3 grubun sol gözleridir. Ekstraktların terapötik etkilerinin izlendiği 3 grup arasında yangısal hücre sayısının en düşük olduğu gruplar YÇ ve CH'dır. Belirtilen parametre açısından bu iki grup arasında anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$, Şekil 43).



Şekil 43. Kontrol ve tedavi gruplarında korneadaki yangısal hücrelerin sayısı.

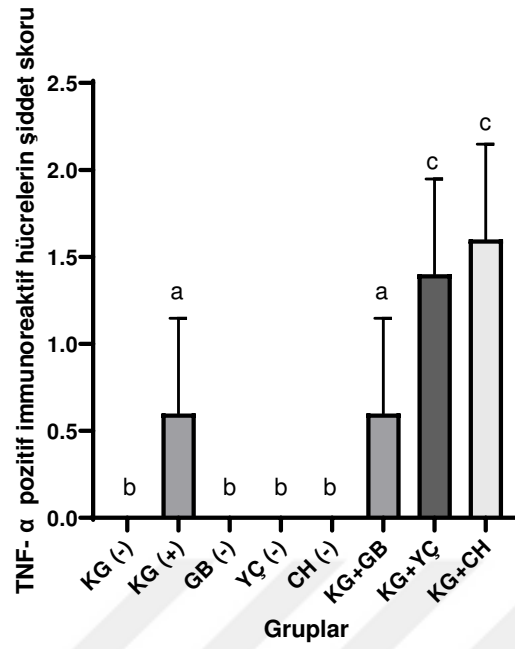
*a-c: Gruplar arası farklılıklar farklı harfler ile gösterilmiştir ve bu fark istatistiki açıdan önemlidir ($P < 0.05$). One-Way ANOVA Post Hoc Duncan Testi.

-Grafiklerde yalnızca ekstrakt uygulanan sol gözler ekstrakt ismi ile, KG oluşturulduktan sonra ekstrakt uygulanan sağ gözler ise KG+YÇ+GB+CH olarak belirtilmiştir. (n=4x4 grup)

5.5. İmmunohistokimyasal Bulgular

5.5.1. TNF- α Bulguları

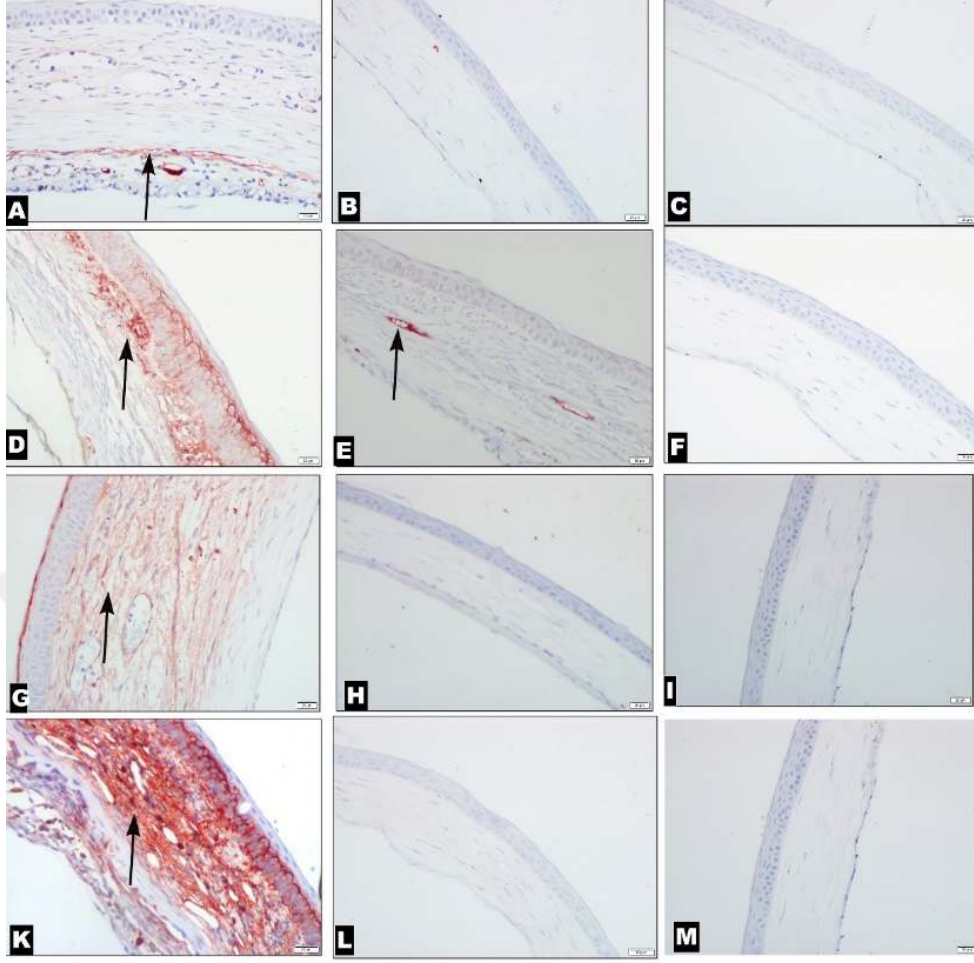
TNF- α reaktivitesine göre en düşük seviyeler, KG grubunun negatif kontrolü ve ekstrakt kullanılan grupların sol gözlerinde saptanmış ve bu gruplar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$, Şekil 44, 45)). En yüksek seviyeler aralarında istatistiki açıdan fark olmaksızın YÇ ve CH gruplarında saptanmıştır ($P > 0.05$, Şekil 44, 45). Bu iki grubun verileri belirtilen parametre açısından diğer tüm gruplardan farklıdır ($P < 0.05$, Şekil 44, 45). KG'nin pozitif kontrolü ve GB grupları arasında da anlamlı bir fark yoktur ($P > 0.05$, Şekil 44, 45) ve YÇ ile CH'dan sonra TNF- α reaktivitesinin en yüksek gruplar bunlardır. Pozitif boyanan hücreler, subepitelial keratinositlerden ve kornea epitelinden oluşmaktaydı (Şekil 45).



Şekil 44. TNF- α pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru

*a-c: Gruplar arası farklılıklar farklı harfler ile gösterilmiştir ve bu fark istatistiki açıdan önemlidir ($P < 0.05$). One-Way ANOVA Post Hoc Duncan Testi.

-Grafiklerde yalnızca ekstrakt uygulanan sol gözler ekstrakt ismi ile, KG oluşturulduktan sonra ekstrakt uygulanan sağ gözler ise KG+YÇ+GB+CH olarak belirtilmiştir. (n=4x4 grup)



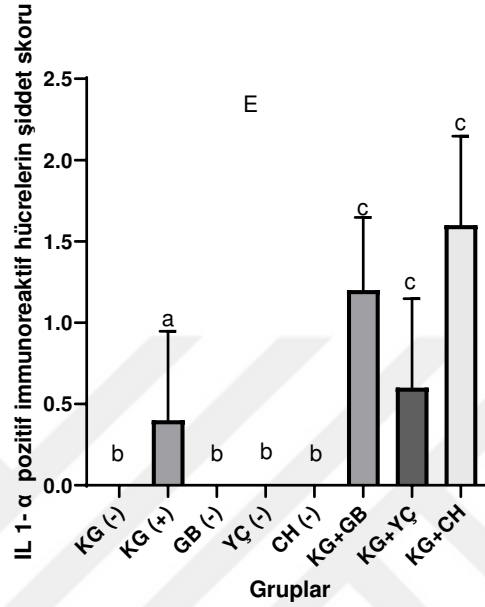
Şekil 45. Kontrol ve tedavi gruplarında TNF- α Aktivitesi (oklar), Bar:20 μ m.

A.KG grubu pozitif kontrol (+), B. KG grubu negatif kontrol, C. KG grubu negatif kontrol D. GB grubu sağ göz (++), E. GB grubu sol göz. F. GB grubu sol göz G.YÇ grubu sağ göz (++), H.YÇ grubu sol göz, I. YÇ grubu sol göz K.CH grubu sağ göz (+++). L.CH grubu sol göz. M. CH grubu sol göz
=: Boyanma yok, +: Hafif boyanma , ++:Orta şiddette, +++:Şiddetli boyanma.

5.5.2. IL-1- α Bulguları

IL-1 α immunoreaktivitesine göre en düşük seviyeler, KG grubunun negatif kontrolü ve ekstrakt kullanılan grupların sol gözlerinde saptanmış ve bu gruplar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0.05$, Şekil 46,47). En yüksek seviyeler ise aralarında önemli farklar olmaksızın tüm ekstrakt gruplarından alınmıştır ($P>0.05$, Şekil 46,47). KG grubunun pozitif kontrolündeki

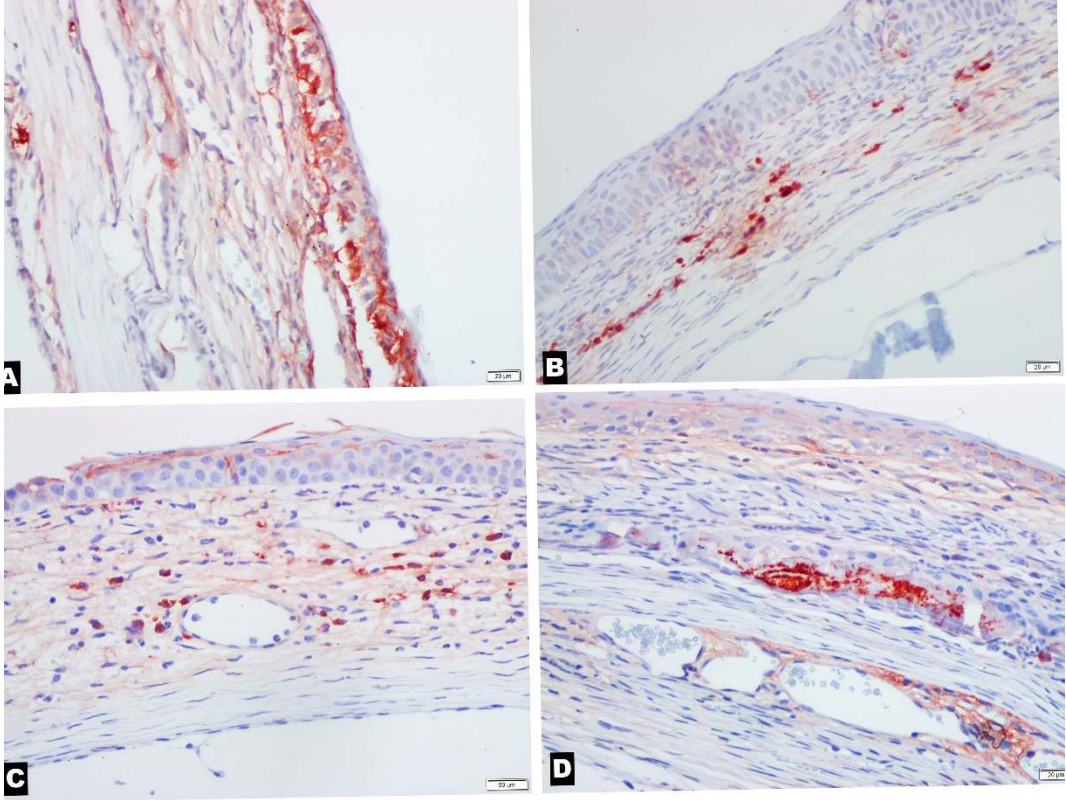
IL-1 α immunoreaktivitesinin kontrol gruplarından yüksek, ekstrakt gruplarından düşük olduğu bulunmuş olup bu farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$, Şekil 46, 47).



Şekil 46. IL-1- α pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru

*a-c: Gruplar arası farklılıklar farklı harfler ile gösterilmiştir ve bu fark istatistiki açıdan önemlidir ($P < 0.05$). One-Way ANOVA Post Hoc Duncan Testi.

-Grafiklerde yalnızca ekstrakt uygulanan sol gözler ekstrakt ismi ile, KG oluşturulduktan sonra ekstrakt uygulanan sağ gözler ise KG+YÇ+GB+CH olarak belirtilmiştir. (n=4x4 grup)



Şekil 47. IL-1 α Aktivitesi, Bar: Bar:20 μ m.:

A.KG grubu pozitif kontrol olgularından birinde epitelyal immunoreaktivite (++)

B.GB grubu olgulardan birinde epitelyal immunoreaktivite (++)

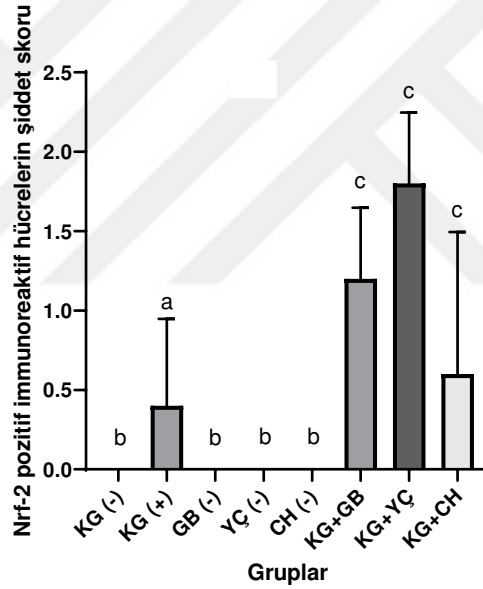
C.YÇ grubu olgulardan birinde epitelyal immunoreaktivite(+)

D.CH grubu olgulardan birinde epitelyal immunoreaktivite(++)

=: Boyanma yok, +: Hafif boyanma , ++:Orta şiddette, +++:Şiddetli boyanma.

5.5.3. NrF-2 Bulguları:

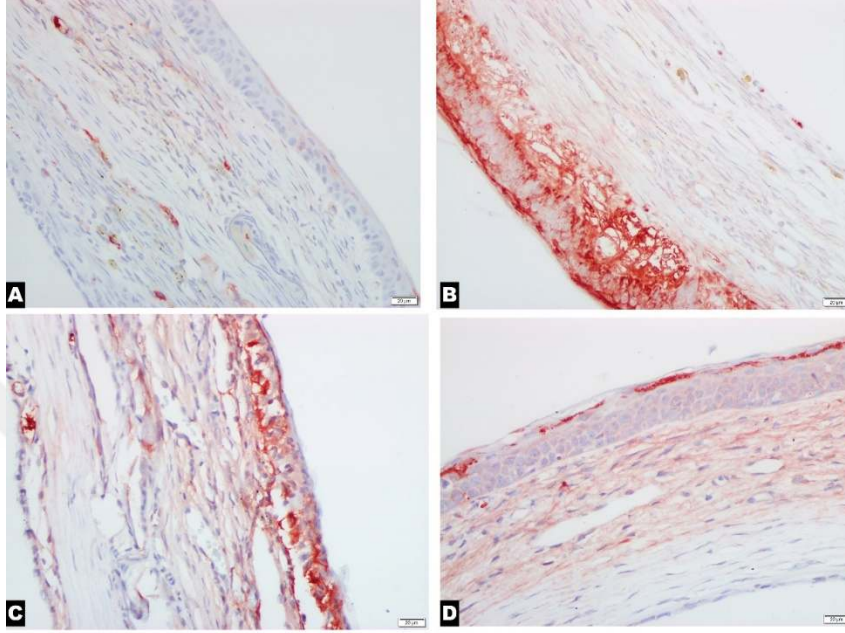
NrF-2 immunoreaktivitesine göre en düşük seviyeler, KG grubunun negatif kontrolü ve ekstrakt kullanılan grupların sol gözlerinde saptanmış ve bu gruplar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0.05$, Şekil 52,53). En yüksek seviyeler ise aralarında önemli farklar olmaksızın tüm ekstrakt gruplarından alınmıştır ($P>0.05$, Şekil 52,53). KG grubunun pozitif kontrolündeki NrF-2 immunoreaktivitesinin kontrol gruplarından yüksek, ekstrakt gruplarından düşük olduğu bulunmuş olup bu farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$, Şekil 48,49).



Şekil 48. NrF-2 pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru

*a-c: gruplar arası farklılıklar farklı harfler ile gösterilmiştir ve bu fark istatistiki açıdan önemlidir ($P < 0.05$). One-Way ANOVA Post Hoc Duncan Testi.

-Grafiklerde yalnızca ekstrakt uygulanan sol gözler ekstrakt ismi ile, KG oluşturulduktan sonra ekstrakt uygulanan sağ gözler ise KG+YÇ+GB+CH olarak belirtilmiştir. (n=4x4 grup)



Şekil 49. NrF-2 aktivitesi, Bar: Bar:20 µm.:

A.KG grubu pozitif kontrol olgulardan birinde epitelyal immunoreaktivite (+)

B.GB grubu olgulardan birinde epitelyal immunoreaktivite (+++)

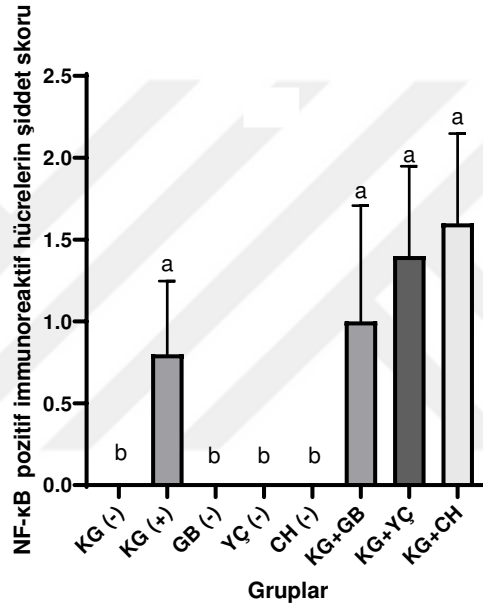
C.YÇ grubu olgulardan birinde epitelyal immunoreaktivite (++)

D.CH grubu olgulardan birinde epitelyal immunoreaktivite (+)

= Boyanma yok, +: Hafif boyanma , ++:Orta şiddette, +++:Şiddetli boyanma.

5.5.4. NF-κB Bulguları:

NF-κB immunoreaktivitesine göre, en düşük seviyeler KG grubunun negatif kontrolü ve ekstrakt kullanılan grupların sol gözlerinde saptanmış ve bu gruplar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0.05$, Şekil 50). En yüksek seviyeler ise aralarında önemli farklar olmaksızın KG grubunun pozitif kontrolü ile tüm ekstrakt gruplarından alınmıştır ($P>0.05$, Şekil 50).



Şekil 50. NF-κB pozitif immunoreaktif hücrelerin şiddet skoru

*a-b: Gruplar arası farklılıklar farklı harfler ile gösterilmiştir ve bu fark istatistiki açıdan önemlidir ($P < 0.05$). One-Way ANOVA Post Hoc Duncan Testi.

-Grafiklerde yalnızca ekstrakt uygulanan sol gözler ekstrakt ismi ile, KG oluşturulduktan sonra ekstrakt uygulanan sağ gözler ise KG+YÇ+GB+CH olarak belirtilmiştir. (n=4x4 grup)

6.TARTIŞMA

Multifaktöriyel olarak ortaya çıkan ve dünya genelinde görülen göz hastalıkları arasında önemli bir yer tutan KGS, temel anlamda oküler yüzeyin hafif fakat sürekli olarak maruz kaldığı olumsuz etkiler neticesinde oluşan yangı ile karakterize bir durumdur. Hastalık hayvanlarda genel olarak Keratokonjunktivitis Sikka (KKS) ismi ile anılmaktadır. (1, 2, 14, 17, 19, 20, 245, 250, 264-271). Oküler yüzeyin nemli kalmasının yanı sıra korunmasında da rol alan gözyaşının yeterli üretilmesine rağmen evaporatif etkenlere maruz kalması ya da lakrimal bez disfonksiyonuna bağlı olarak yetersiz üretilmesi bu hastalığın kökenini oluşturmaktadır (175, 258).

Oküler yüzey (kornea, konjunktiva, aksesuar lakrimal bezler), Meibomian bezleri, ana lakrimal bez ve bu yapıların aralarındaki innervasyon fonksiyonel bir birim oluşturur (121,266). Kuru göz hastalığında bu yapılardan herhangi biri veya tamamı etkilenebilir (56, 266).

Yapılan araştırmalar, KGS'nin çok sayıda otoimmün hastalık ile ilişkili inflamatuvar bir hastalık olduğunu göstermiştir (22, 56, 58). Gözyaşı film hiperosmolaritesi, KGS'yi oluşturan faktörlerden biri olarak bilinir. Mevcut ve önceki çalışmalar, gözyaşı hiperosmolaritesinin oküler dokularda ve korneal epitel hücrelerinde yangı öncesi sitokinleri ve MMP seviyelerini yükselttiğini göstermiştir (38,47,54,56,121).

Yangı, oküler yüzeydeki hasarın ve kuruluğun hem nedeni hem de sonucu olarak görülmektedir (57, 58, 63, 64, 121, 271). Geçmiş yıllardan beri KGS'nin nedenlerini, etiyopatogenezisini ve tedavi seçeneklerini araştırmak amacıyla çok sayıda hayvan modeli çalışması yapılmaktadır

(1,2,4,7,20,51,85,103,250,251,268). Ancak her modelin oluşum mekanizması deney odaklı olduğundan ayrıca sınırlı ve subjektif değerlendirmeye alındığından dolayı özellikle kronik KGS oluşumunu tam olarak yansıtması beklenmemektedir (251,265,268).

Evaporatif KGS oluşturmayı amaçlayan bazı modellerde, oftalmik solüsyonların içerisinde koruyucu madde olarak kullanılan BAK'ın farklı konsantrasyonlarda, dozlarda ve zaman aralıklarında uygulandığı görülmektedir (1,2,175,197,248,251, 250, 255,256,267,268,269,271). Bu maddenin müsin ve lipid tabakada hızlı bir şekilde değişikliğe yol açmak suretiyle PGF'de instabiliteye ve buna bağlı olarak gözyaşının aşırı buharlaşmasına neden olabileceği belirtilmiştir (2,175,248,250,255,267,268). Bu etkilerinin yanı sıra yangı öncesi sitokin seviyeleri ile kornea ve konjunktivadaki inflamatuar hücrelerin infiltrasyonunu indüklediği, ayrıca konjunktival goblet hücre kaybına, korneada epitelyal yıkımlanmaya, erozyona, ülserasyona ve neovaskularizasyona yol açabileceği de rapor edilmiştir (1,2,197,248,250,255,267,268). Bu sitotoksik etkilerinden hareketle birçok araştırmacı, farklı hayvan türlerinde KGS modeli oluşturmak amacıyla BAK'ı kullanmıştır (175,265,268).

BALB/c ırkı farelerde gerçekleştirilen KGS modeli çalışmalarında, BAK'ın oküler yüzeyde farklı derecelerde sitotoksik etkiye yol açtığı bildirilmiştir (197,249,250,269,270,271). Belirtilen çalışmalarda olduğu gibi mevcut çalışmada da materyal olarak BALB/c ırkı fareler kullanıldı ve deneklerde KG modeli oluşturmak amacıyla sağ gözlere 14 gün süreyle topikal olarak BAK uygulandı. 15. günde gerçekleştirilen klinik parametrik testlerde, BAK uygulanan olguların aköz gözyaşı üretim miktarlarının azaldığı, korneal fluorescein boyanma

skorlarının (epitelyal yıkımlanma derecesi) ise arttığı tespit edildi. Kuru göz oluşturmak maksadıyla çeşitli fare modelleri geliştirilmiştir (1,2,175,197,249,250,267-271).

Kuru göz modellerinde hastalık süreci; aköz gözyaşı üretim miktarı (1,7,75,77,79), (1,2,7,39,62,71,72,75), impresyon sitolojisi (95-97,99,100), korneal fluorescein boyanma (2,7,62,71,197,219), korneal fluorescein temizlenme (71,72,75,197,219) ve gözyaşı kırılma zamanı (1,7,) testleri gibi birçok kriter yönünden değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda bu parametrelerden aköz gözyaşı üretim miktarı, korneal fluorescein boyanma ve gözyaşı kırılma zamanı testlerinden yararlanılmıştır. Bu testlerin sonuçlarına (Tablo 3,4,5) bakıldığında BAK'ın KG'nin klinik belirtilerine benzer etkiler oluşturduğu gözlenmektedir ve bu veriler diğer KG modeli çalışmalarında elde edilen sonuçları (1,2,197,249) destekler niteliktedir.

Kim ve ark. tarafından yapılan çalışmada, farelerin gözlerine 14 gün süreyle günde iki kez (sabah-akşam) %0,2'lik BAK'dan 5 µl uygulanmak suretiyle bir KG modeli oluşturulmuştur. Uygulama öncesi tüm deneklerin gözyaşı üretim miktarı ortalamaları arasındaki fark önemsiz ($P > 0.05$), 7. günde KG grubunun ortalaması tedavi gruplarına göre düşük, 14. günde ise kontrol ve tedavi grubunun ortalamaları KG grubundan düşük olarak tespit edilmiştir (197).

Kim ve ark. ile Kulualp ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda, 14 gün süreyle uygulanan BAK'ın gözyaşı üretim miktarında önemli bir azalmaya yol açtığı gözlenmiştir (268,272). Çalışmamızda deneklerin sağ gözlerinde KG modeli oluşturmak için 14 gün süreyle günde iki kez (sabah 08:00-akşam 20:00) topikal olarak 5 µl dozunda BAK uygulaması yapıldı. Sol gözlere ise KG

grubunun kontrolü olması amacıyla aynı zaman diliminde ve dozunda sadece %0,9'luk SF damlatıldı. Çalışmanın başlangıç ölçümünde EAPPT yönünden tüm gruplar arasında önemli bir fark ($P > 0.05$) bulunmamıştır. 14 gün süreyle BAK uygulanmasından sonraki ilk ölçüm zamanı olan 15. günde deneklerin sağ gözlerine ait ortalamalarının başlangıç ölçümüne göre önemli oranda azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlendi ($P < 0.05$, Tablo 3). BAK uygulanan sağ gözlerdeki bu azalma tablosu tüm gruplarda istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$, Tablo 3).

Öte yandan KG grubu deneklerin BAK uygulanan sağ gözlerinin aköz gözyaşı üretim miktarı ortalamalarının 15. günden sonra çalışmanın sonuna kadar anlamlı bir değişiklik göstermediği kaydedilmiştir ($P > 0.05$, Tablo 3). 14 gün süreyle SF uygulanan sol gözlere ait ortalamaların ise ilk ölçüm zamanından çalışmanın sonuna kadar istatistiki açıdan anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir ($P > 0.05$, Tablo 3). Tüm bu veriler, birçok araştırmacının (192, 194, 198, 199, 201, 268,272) da belirttiği gibi BAK uygulamasının deneklerde gözyaşı üretim miktarını önemli oranda azalttığını göstermektedir.

Korneal fluorescein boyanma testi, fluorescein sodyumun göze damlatılmasını takiben slit-lamp biyomikroskopta kobalt mavisi filtresi altında, bu maddenin yeşil renk vermesi esasına dayanır (89, 90, 92). Normal koşullarda sağlam bir kornea epitelinde fluorescein maddesi gözyaşı aracılığı ile lakrimal kanaldan atılır. Ancak epitel katmanının yıkımlandığı olgularda bir alt katman olan stroma tabakasında tutulan hidrofilik özellikteki bu madde, korneanın hasarlı olduğunu göstermektedir (9-14). Bu testin kullanıldığı KG modeli çalışmalarına bakıldığında, BAK uygulamasının korneal boyanma skorlarında önemli bir artışa

yol açtığı kaydedilmiştir (1, 2,175,197,250,251,268,271,272). Mevcut çalışmada, BAK uygulanmasını takiben ilk ölçüm zamanı olan 15. günde KG grubu deneklerin sağ gözlerindeki korneal fluorescein boyanma skor ortalamaları, negatif kontrol amacıyla oluşturulan ve BAK uygulanmayan sol gözlere göre önemli oranda artış göstermiştir. Bu durum, KG modelinin takip edildiği sağ gözlerde çalışma sonuna kadar devam etmiştir. Eldeki mevcut veriler, yukarıda belirtilen ve bu alanda yapılan çok sayıdaki çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde BAK'ın korneada hasar oluşturduğuna işaret etmektedir.

TBUT değerlendirmesi PGF bütünlüğünü belirlemede önemli bir testtir (1, 5, 7, 72, 75, 79). Meibomian bezi salgıları gözyaşı filmine nüfuz ederek buharlaşmayı yavaşlatır ve böylelikle yarı saydam optik bir yüzey alanı sağlayarak, toz, polen vb. gibi birçok dış etkenin göz yüzeyine yapışmasını engeller. Lipid ve müsin tabakalardaki yetersizliklerin belirlenmesi ve Meibomian bezindeki fonksiyonel durumun saptanması açısından PGF bütünlüğünün değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Disfonksiyonların hatırı sayılır nedenlerinden biri de aköz gözyaşının evaporasyonudur (32, 34, 47, 48, 73, 219, 262, 268,273). BAK'ın içeriğinde bulunan poliquaterner bileşikleri vasıtasıyla Meibomian bezinin epitel bütünlüğü üzerine toksik etki oluşturabileceği ve bezin normal çalışmasını etkileyebileceği Rath ve ark. tarafından yapılan çalışmada ortaya konmuştur (274). Birçok KG modeli çalışmasında, BAK uygulanan deneklerde PGF stabilitesinin bozulduğu ve buna bağlı olarak TBUT'un kısaldığı rapor edilmiştir (1, 7, 80, 81, 87, 88). Lin ve ark. 7 gün süreyle %0,2 oranında BAK uyguladıkları deneklerin TBUT ortalamalarının azaldığını belirlemişlerdir (250). Başka bir çalışmada (197), BAK 14 gün süre ile %0,2 oranında topikal

olarak gözlere uygulanmış ve TBUT'u önemli oranda azaltmıştır. Çalışmamızın başlangıç ölçümlerinde tüm grupların TBUT ortalamalarının 6,92-7,03 sn arasında değiştiği ve aralarında bu açıdan önemli farklılıklar olmadığı ($P > 0.05$) saptanmıştır. 14 gün süreyle BAK damlatılan gözlere ait TBUT ortalamalarının ise belirgin şekilde kısaldığı, bu kısalığın negatif kontrollerle kıyaslandığında istatistiki açıdan anlamlı olduğu kaydedilmiştir ($P < 0.05$, Tablo 5). Mevcut veriler, BAK'ın TBUT'u kısalttığı görüşlerini (197, 250) destekler niteliktedir.

DK, yüzyıllardır Doğu Asya'da yetiştirilmektedir ve anti-ateroskleroz, anti-diyabet, anti-enflamatuvar ve anti-nörodejeneratif gibi yararlı etkileri nedeniyle geleneksel olarak bitkisel tıpta geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (271, 272).

DK yaprakları uzun yıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmış ve bu uygulamalar ile ilgili herhangi bir toksisiteye ilişkin bilgi olmamasına rağmen doz aşımında retinotoksisiteye yol açabildiği yapılan bir çalışmada ortaya konmuştur (200). Buradan hareketle yapraklardan elde edilen ekstratların farmokokinetiği, farmakodinamiği ve ilaç etkileşimleri hakkında yeterli bilgiye sahip olmak için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (192, 201, 233). DK yaprakları flavonoidler, terpenoidler, reçineler, polisakkaritler, klorofil, karoten ve benzerleri gibi en yaygın polifenolik bileşik grupları dahil olmak üzere bol miktarda aktif bileşen içerir (189-194).

Kim ve ark.tarafından yapılan deneysel modellemelerde BAK uygulanmak suretiyle bir KG modeli oluşturulmuş ve terapötik amaçlı olarak etanol ile ekstrakte edilmiş DK yaprakları oral olarak uygulanmıştır. Çalışmalar sonunda KG grubuna kıyasla tedavi grubu deneklerin aköz gözyaşı üretim miktarı

ortalamalarının arttığı, korneal fluorescein boyanma skorlarının azaldığı ve TBUT zamanının uzadığı gözlenmiştir (197, 272).

Farelerde extraorbital lakrimal bezin ekstirpe edilmesiyle oluşturulan KG modelinde tedavi amacıyla DK oral olarak uygulanmıştır. Çalışma sonunda bu ajanın TBUT'u uzattığı, aköz gözyaşı üretim miktarını arttırdığı ve korneal boyanma derecesini azalttığı rapor edilmiştir (275). Mevcut çalışmanın sonunda, DK yapraklarından elde edilen ekstraktın KG modeli oluşturulan deneklerde aköz gözyaşı üretim miktarını arttırdığı tespit edilse de, terapötik etkisinin çalışma süresince dalgalı bir seyir gösterdiği belirlenmiştir. Diğer iki parametrik test olan korneal fluorescein boyanma ve TBUT'ta ise DK'nin çalışmanın başından sonuna kadar sürekli olarak faydalı etkiler gösterdiği saptanmıştır.

DK yapraklarının içeriğinde bulunan kuarsetin, antioksidatif, antikanserojen, antiagregan ve anti-inflamatuvar etkileri olan önemli bir flavanoiddir (183-186, 189-191, 195, 276, 277). Bazı çalışmalar (276, 277), kuarsetinin damla formunun sadece korneal yüzeydeki düzensizliğe değil, aynı zamanda aköz gözyaşı üretim miktarına da faydalı olduğunu belirtmişlerdir. Kuarsetinin ayrıca, lakrimal fonksiyonel ünite de antiinflamatuvar etkiler gösterdiği, bu nedenle KG'nin tedavisinde yararlı olabileceği de kaydedilmiştir (276,277). Mevcut çalışmada kullanılan üç parametrik testin sonuçları birlikte ele alındığında, DK ekstraktının en etkili ajanlardan biri olduğu söylenebilir. DK'nin bu faydalı etkisi, parametrik testlerde olumlu neticeler alındığını rapor eden araştırmacıların verilerine paralellik göstermekle birlikte içeriğinde bulunan polifenollerden, kuarsetin ve kaempferol flavanoidlerden kaynaklanabileceğini de düşündürmektedir.

YÇ, EGCG gibi önemli kateşinleri içinde bulunduran düşük moleküllü çok sayıda polifenol içeren bir bitkidir (278, 279). Kateşinlerin, anti-inflamatuvar, antikanserojen, antioksidan, hipotansif, hipoglisemik ve antiviral etkileri vardır (212, 215, 280, 281). Bazı çalışmalar. EGCG'nin otoimmün bozukluklar ile ilişkilendirilen iltihaplanmalarda inhibe edici etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (220, 279, 280). Cavet ve ark. yaptıkları bir çalışmada, EGCG'nin KG gibi yangısal kökenli hastalıklarda korneal epitel hücrelerde anti-inflamatuvar bir etki gösterdiğini saptamışlardır (215). Öte yandan yüksek orandaki yeşil çay tüketiminin yararından ziyade zararının da olabileceği bildirilmiştir (278).

Özellikle karaciğer ve pankreasta toksik etki oluşturabileceği, kan lipid seviyesinde düşmeye yol açacağı ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (211, 214, 282, 283). Lipid metabolizmasında oluşturduğu bu olumsuz etkiler, PGF'nin lipid katmanı için de risk oluşturmakta; ayrıca gözyaşının demiri bağlayıp alüminyum seviyesini azaltmak suretiyle elektrolit dengesini de bozmaktadır (206, 278).

Masmali ve ark. KG olgularında yeşil çay tüketimi sonrası gözyaşı kompozisyonunda ve PGF kalitesinde azalma olabileceğini ortaya koymuşlardır (278). Mevcut çalışmada, KG modeli oluşturulan olguların bir grubuna (YÇ grubu) %0,1 oranında dilue edilmiş YÇ yaprağı ekstraktı topikal olarak uygulandı. Aköz gözyaşı üretim miktarı parametresine göre, ekstraktın YG grubu olgularda en yüksek etkisini 25. gün ölçümlerinde gösterdiği saptanmıştır. Çalışma sonunda küçük bir düşüş gösteren gözyaşı üretim miktarı ortalaması yine de tüm gruplardan yüksek ölçülmüştür. Benzer sonuçlar korneal fluorescein boyanma testinden de alınmıştır. BUT'ta da çalışmanın son ölçüm zamanında kırılmanın en

geç gerçekleştiği grup yine Y olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, ECGG'nin KG'li olgularda klinik parametrik testler yönünden faydalı etkiler gösterdiğinin rapor edildiği birçok çalışma ile paralellik arz etmektedir (219, 220, 278, 284). Çalışmada negatif kontrol grubu olarak takip ettiğimiz sol gözlerde Y yaprağı ekstraktının herhangi bir yan etkiye neden olmadığı da belirlenmiştir. Benzer şekilde geçmişte yapılan bir çok çalışmada da Y'nin gözlerde komplikasyon oluşturmaksızın faydalı etkiler gösterdiği bildirilmiştir (215,216,219).

Kuru göz hastalığı, gözyaşı tabakasının instabilitesi, gözyaşı hiperosmolaritesi, oksidatif stres ve oküler yüzey iltihabı dahil olmak üzere çeşitli patolojik mekanizmaları içinde barındıran çok faktörlü bir hastalıktır (52, 121, 232, 234). Goji berry, yaşlanmayı geciktirici ve antioksidatif etkilerine ek olarak bağışıklık arttırıcı, hipoglisemik, hipolipidemik ve metabolik sendrom risklerini azaltıcı etkilere sahiptir. Ayrıca antioksidatif, antitümöral, antiinflamatuvar, hepatoprotektif ve renal koruyucu özellikleri de mevcuttur (225, 232, 285).

Yapılan alışmalarda GB'nin katarakt riskini azalttığı, özellikle yaşlılığa bağlı kalıcı görüş kaybını ve diabetik retinopatiyi önlediği kaydedilmiştir (225, 226, 232, 233, 286). Chien ve ark. ratların lakrimal bezine atropin enjekte ederek oluşturdukları KG modelinde, oral yolla verilen GB ekstraktının inişli çıkışlı bir etki göstersede çalışma sonunda SGT, korneal fluorescein boyanma ve BUT parametreleri yönünden faydalı etkiler oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar aynı çalışmada, GB'de bulunan betain aminoasitinin antioksidatif ve anti-inflamatuvar etki gösterdiğini de saptamışlardır (232). Bilindiği üzere gözyaşı hiperosmolaritesi, KG'nin gelişiminde anahtar rol oynayan patolojik bir faktördür ve oküler yüzeydeki hasar ile iltihaplanmayla ilişkilidir (104, 180, 232).

Oküler yüzeye topikal olarak uygulanan betainin, prekorneal yüzeyi nemlendirerek yapay gözyaşı preparatlarına benzer bir etki gösterdiği belirlenmiştir (232). Hua ve ark. betainin, gözyaşındaki proinflamatuvar sitokin ve kemokin seviyeleri ile konjunktival epitelyumdaki immün aktivasyon ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu baskılaması sebebiyle KG'de etkin bir tedavi seçeneği olabileceğini öne sürmüşlerdir (287).

Suni gözyaşı, göz damlaları ve anti-inflamatuvar ilaçlar, oküler yüzeydeki yangıyı azaltmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadırlar. Son zamanlarda özellikle şiddetli KG olgularında, epitelyal keratopati ile kombine edilen topikal siklosporin-A kullanımının önemli etkiler oluşturduğu kaydedilmiştir (115, 122, 124, 232). Yapılan bir başka çalışmada topikal siklosporin-A kullanımının, gözyaşı kırılma zamanında artışa, korneal fluorescein boyanma skorunda azalmaya yol açtığı fakat uzun süreli kullanımında nefrotoksisite ve hipertansiyon gibi yan etkilere sebep olabileceği belirtilmiştir (288). Siklosporin-A'nın bu kontendikasyonlarından ötürü KG'li hastalarda benzer terapötik etkilere sahip olan goji berry'nin kullanılması gündeme gelmiştir (289). Goji berry'nin antioksidatif etkisinin yanısıra, oküler yüzeyi, konjunktivayı ve PGF'yi koruduğu, ayrıca aköz gözyaşı miktarını arttırdığı bildirilmiştir (290,291).

Chien ve ark. GB meyvesini fenol-sülfürik asit metodu ile ekstrakte etmişler ve ratlara 250 ila 500 mg/kg dozlarında oral olarak uygulamışlardır (232). Choi ve ark. çeşitli bitkilerden oluşan karışımı etanol ile ekstrakte edip elde edilen özütü %0,01 ile %0,1 arasında değişen konsantrasyonlarda oküler yüzeye uygulamışlardır. Tedavinin 10. gününde olguların klinik belirtilerinde (gözyaşı üretimi, korneal boyanma skoru ve BUT) iyileşme, yangıda azalma ve oksidatif

stresin gözde oluşturduğu olumsuz tabloda hafifleme gözlemiştir (292). Mevcut çalışmada, bitki yapraklarından elde ettiğimiz ekstraktlar, terapötik etkilerini belirlemek için KG modeli oluşturulan olgulara; toksik veya yan etkilerini takip etmek için ise negatif kontrol grubu amacıyla sol gözlere topikal olarak 15 gün boyunca uygulandı. Aköz gözyaşı üretim miktarı parametresine göre; ortalamaların inişli çıkışlı bir grafik çizmesine rağmen KG modeli oluşturulan olgulara göre yine de yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca GB ekstraktının uygulanmaya başlanmasından çalışmanın sonuna kadar olan dilimde korneal fluorescein boyanma skorunun sürekli düşüş; kırılma zamanının ise sürekli uzama eğiliminde olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, GB ekstraktının belirtilen parametreler yönünden faydalı etkiler oluşturduğunu göstermektedir (Tablo 3,4,5).

Kuru göz sendromundaki yangısal süreç, akut ya da kronik fazda değerlendirilmektedir. Akut dönemde oküler yüzeydeki mikrotravmalar, etkiyen antijenler, ultraviyole ışınları ve hiperosmotik stres gibi faktörler epitel hücreleri uyarak IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-8 gibi yangı öncesi sitokinlerin salınımına neden olmaktadır. Ayrıca MMP, adhezyon molekülleri ve apoptozis belirteçlerini uyarmak suretiyle yangısal reaksiyonu başlattığı da bilinmektedir. (1,2,3,42,50-52,250). Son dönemlerde KG'nin oküler dokularda meydana getirdiği yangısal değişikliklerin tespiti amacıyla çeşitli tanı tekniklerinden faydalanılmaktadır (175, 197, 232, 250). Farelerde deneysel olarak oluşturulan KG modelinde DK yaprağı ekstraktının terapötik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, korneal ve konjunktival dokulardaki yangısal sitokinlerin yoğunluğunu belirlemek için Western-blot tekniği kullanılmış ve sonuç olarak KG'li olgularda

IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , MCP-1 ve IL-6 yoğunluklarının arttığı kaydedilmiştir. KG modeli oluşturulduktan sonra oral yolla 50 mg/kg dozda DK yaprağı ekstraktı uygulanan olgularda sitokin yoğunluklarının önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (197).

Mevcut çalışmada da, yangısal süreç, Western-blot tekniği ile değerlendirilmiştir. Buna göre KG modeli oluşturulan olgularda IL-1 α ve TNF- α yoğunlukları diğer gruplara nazaran belirgin şekilde yüksek bulunmuştur. Ekstrakt uygulanan gruplar içinde ise diğer iki gruba oranla CH grubunda istatistiki açıdan anlamlı olmasa da IL-1 α ve TNF- α seviyeleri yüksek ölçülmüştür.

YÇ, anti-oksidatif, anti-bakteriyel, anti-androjenik ve immünomodülatör etkileri olan bir bitkidir. Yeşil çaydan elde edilen ana bileşenlerden biri EGCG'dır. Bilindiği üzere IL-1 β , IL-6, IL-17, IFN - γ , TNF- α , KG ile ilişkili oküler yüzey yangısında rol oynamaktadırlar. EGCG'nin yangısal süreci IL-1 α , IL-6, MCP-1 ve TNF- α 'yı baskılamak ve NF-kB'nin aktivasyonunu engellemek suretiyle önlediği bildirilmiştir (218-220). EGCG'nin %0,1'lik dozda ve topikal uygulanmasının KG'de gözlenen sitokin ekspresyonunu baskıladığını kaydeden başka çalışmalar da mevcuttur (215-219). Bu sonuçlara benzer şekilde çalışmamızda da YÇ grubu olgularda IL-1 α ve TNF- α seviyelerinde azalmalar olduğu saptanmıştır. Goji berry'nin çeşitli stres koşulları altında hücresel işleyişi düzenlediği ve yangı öncesi sitokinlerin (IL-1 α ve TNF- α) ekspresyonunu inhibe ettiği kaydedilmiştir (232,287). Çalışmamızın sonunda yapılan Western-Blot analizlerinde goji berry yaprağı ekstraktı ile tedavi edilen KG'li olgulara ait oküler dokularda yangı öncesi sitokin seviyelerinin diğer ekstraktların uygulandığı gruplarda olduğu gibi düşük olduğu saptanmıştır.

Oküler yüzey epitelinde osmotik stres ile ilişkili olarak, (NF)- κ B artışı gerçekleşmektedir. Bu artış inflamatorik olayları başlatmaktadır. NF- κ B esasında tüm hücre tiplerinde bulunan bir transkripsiyon faktörüdür. Sitoplazma içinde inaktif halde bulunur. Aktive olduğunda çekirdeğe taşınır. NF- κ B iltihaplanma, apoptoz, korneal yara iyileşmesi, anjiyogenez ve lenfanjiyogenez gibi birçok önemli biyolojik süreçte anahtar rol oynamaktadır. Bazı otoimmün hastalıklarda (örn. ülseratif kolitis, Crohn, sjögren sendromu) da etkisinin olduğu düşünülmektedir (293).

Korneal epitelde yaygın toksik etkiler oluşturan BAK'ın hücre içi NF- κ B yoğunluğunu arttırdığı rapor edilmiştir (294). Çalışmamızda KG grubu olgularda NF- κ B ekspresyonu negatif kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Ekstrakt uygulanan gruplar içinde NF- κ B ekspresyonunun en düşük ölçüldüğü grup ise YÇ'dir. Elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde Cavet ve ark. YÇ'ın NF- κ B seviyesini azalttığını saptamışlardır (215).

Normal olarak, sistemik oksidan oluşumu ile biyolojik antioksidanların oksidanları uzaklaştırma veya oksidatif stres kaynaklı hasarı onarma kapasitesi arasında bir denge vardır. Aşırı ROS (reaktif oksijen türleri) üretimi veya antioksidatif enzimlerin disfonksiyonu, oksidatif strese neden olabilir veya hücrel hasarlara (örneğin, hücre zarlarının lipid peroksidasyonu ve DNA ve proteinlerde oksidatif hasar) yol açabilir. Oksidatif stresin gözyaşı bezlerinin fonksiyonel kapasitelerinde düşüşler meydana getirdiği ortaya konmuştur. Serbest radikallerin; oküler yüzeydeki epitelyal hasar ile gözyaşı bezlerindeki salgı fonksiyonunun azalmasında rolü olduğu belirtilmiştir. Oksidatif stres; yaşlanma, kornea hastalıkları, KG, katarakt, glakom ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon gibi

birçok göz hastalığının patogenezisinde altta yatan sebepler arasında gösterilmektedir (213, 215, 286).

Bu faktör, özellikle KG döngüsü içinde anahtar bir role sahiptir. Öncelikle kornea epitelyumunda hasara yol açarak yangı sürecinin başlamasına ve en nihayetinde ise sitokin yoğunluğuna bağlı olarak yangısal mekanizmanın gerçekleşmesine neden olmaktadır (295, 296,297).

Oküler yüzey mukozası (esas olarak kornea), gözün çevresel strese maruz kalan ilk bölümüdür. Kornea; fiziksel veya kimyasal yaralanmalar, UV radyasyonu ve hava kirleticileri (gazlar, buharlar veya sigara dumanı) gibi zararlı faktörlere sürekli olarak ve doğrudan maruz kalması nedeniyle zarar görmeye yatkındır. Nrf-2, tüm bu etkenlere karşı sistemik antioksidan savunma sisteminin bir parçası olarak görev yapan hayati bir nükleer transkripsiyon faktörüdür (295).

Diyabetik korneal hasarın tedavisinde topikal olarak uygulanan Nrf-2'nin yara iyileşmesini hızlandırdığı tespit edilmiştir (293). Mevcut çalışmada Nrf-2 seviyesi, en düşük BAK uygulanarak KG modeli oluşturulan olgularda, en yüksek ise YÇ yaprağı ekstraktı ile tedavi edilen olgularda ölçülmüştür. Bu veriler, yeşil çay yaprağı ekstraktının Nrf-2'nin antioksidan etkisini diğer bitki ekstraktlarına nazaran daha fazla arttırdığını göstermektedir.

VEGF, kan-retina bariyerinde bozulmaya dolayısıyla damar permeabilitesini artırarak retinal ödeme, endotel hücre artışına ve neovaskülarizasyona yol açmaktadır. Kornea avasküler bir yapıya sahip olsa da çeşitli enfeksiyonların, kimyasal, fiziksel ve biyolojik faktörler ile yangısal hastalıkların neovaskülarizasyonu arttırdığı bildirilmiştir (299). Yapılan bir çalışmada, VEGF'nin korneal neovaskularizasyona yol açabileceğinden KG'de

gelişen yangısal süreç için önemli bir belirteç olduğu belirtilmiştir (298). Korneada VEGF seviyesinin ve buna bağlı olarak gelişen neovaskularizasyon oranının KG'li olgularda yüksek olduğu sonucu başka bir çalışmada da rapor edilmiştir (300). Öte yandan subkonjunktival olarak enjekte edilen VEGF baskılayıcı bir ilacın KG'li hastaların bazı klinik belirtilerinde önemli iyileşmeler gösterdiği kaydedilmiştir (301). Jang ve ark. DK yapraklarından elde edilen etanol ekstraktının oral olarak uygulandığında korneal neovaskularizasyonu önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir (198). Mevcut çalışmada korneal neovaskularizasyon, KG'li olgularda diğer gruplara göre daha yüksek ölçülmüştür. Ekstrakt uygulananlar içinde ise YÇ grubu olguların diğer iki grup olgulara göre daha az damarlaşmaya sahip olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; terapötik etkileri araştırılan ajanlar, gerek klinik parametrik testler gerekse de hem moleküler hem de histopatolojik analizler ışığında değerlendirildiğinde yeşil çay yaprağından elde edilen ekstraktın KG'li olgularda goji berry ve cennet hurması ekstraktlarına göre daha faydalı etkiler oluşturduğu görülmektedir. Ayrıca bu 3 ekstraktın deneklerde herhangi bir yan etki oluşturmadığı da belirlenmiştir. Goji berry ve cennet hurması yaprağı ekstraktlarının terapötik etkileri ilk defa bu çalışma ile bir KG modelinde araştırılmıştır. Bu açıdan bakıldığında, elde edilen sonuçların yapılması planlanan diğer çalışmalara ışık tutacağı, bu alanda çalışan akademisyenlere, literatüre ve klinik pratiğe ise katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

7.KAYNAKLAR

1. Xiao X, He H, Lin Z. Therapeutic effects of epidermal growth factor on benzalkonium chloride-induced dry eye in a mouse model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 191-197.
2. Zhang Z, Yang WZ, Zhu ZZ, et al. Therapeutic effects of topical doxycycline in a benzalkonium chloride-induced mouse dry eye model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 2963-2974.
3. Memarzadeh E, Luther T, Heidari-Soureshjani S. Effect and Mechanisms of Medicinal Plants on Dry Eye Disease: A Systematic Review. *J Clin Diagn Res* 2018; 12(9): 1-4
4. Li Z, Woo JM, Chung SW, et al. Therapeutic effect of topical adiponectin in a mouse model of desiccating stress-induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 155-162.
5. Gelatt KN. *Veterinary Ophthalmology*. 2nd Edition, London, 1991.
6. Akın F, Samsar E. 2001. Göz Hastalıkları, Medipres matbaacılık, Ankara, 2001
7. Kulualp K, Farelerde Deneysel Kuru Göz Modeli Üzerine Farklı Terapotik Ajanların Etkilerinin Karşılaştırılması. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011.
8. Malkoç İ. Göz Küresinin Tabakaları: Anatomik ve Histolojik Bir Derleme. *Eurasian J Med* 2006; 38: 124-129.
9. DelMonte DW, Terry K. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg* 2011; 37 (3):588-598.
10. Marfurt CF, Cox, J, Deek, S, Dvorscak, L. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res* 2010; 90(4): 478-492.
11. Reichard M, Hovakimyan M, Wree A, et al. Comparative in vivo confocal microscopical study of the cornea anatomy of different laboratory animals. *Curr eye res* 2010; 35(12): 1072-1080.
12. Torricelli AA, Singh V, Santhiago MR, Wilson SE. The corneal epithelial basement membrane: structure, function, and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(9): 6390-6400.
13. Müller L J, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003; 76(5): 521-542.
14. Gipson IK, Argueso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *Int Rev Cytol* 2003; 231(1): 1-49.
15. Jumblatt JE, Marcia M J. Regulation of ocular mucin secretion by P2Y2 nucleotide receptors in rabbit and human conjunctiva. *Exp Eye Res* 1998; 67(3): 341-346.
16. Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia express MUC1 mucin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36(9): 1818-1827.

17. Danjo Y, Watanabe H, Tisdale AS, et al. Alteration of mucin in human conjunctival epithelia in dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39(13): 2602-2609.
18. Mantelli F, Argüeso P. Functions of ocular surface mucins in health and disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8.(5): 477.
19. Stern ME, Gao J, Siemasko K F, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004. 78(3), 409-416.
20. Barabino S, Dana MR. Animal models of dry eye: a critical assessment of opportunities and limitations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(6): 1641-1646.
21. Dartt DA. Neural regulation of lacrimal gland secretory processes: relevance in dry eye diseases. *Prog Retin Eye Res* 2009; 28(3) : 155-177.
22. Jansson L, Holmdahl R. Estrogen-mediated immunosuppression in autoimmune diseases. *Inflamm Res* 1998; 47: 290–301.
23. Chen, HB, Yamabayashi S, Ou B, Tanaka Y, Ohno S, Tsukahara S. Structure and composition of rat precorneal tear film. A study by an in vivo cryofixation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38(2): 381-387.
24. Gayton JL. Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease. *Clin Ophthalmol* 2009; 3: 405-412.
25. Nebbioso M, Del Regno P, Gharbiya, M, et al. Analysis of the pathogenic factors and management of dry eye in ocular surface disorders. *Int J Mol Sci* 2017; 18(8): 1764-1784.
26. Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 45: 203-210.
27. Ang RT, Dartt DA, Tsubota K. Dry eye after refractive surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12: 318–322.
28. Schlote T, Kadner G, Frudenthaler N. Marked reduction and distinct pattern of eye blinking in patients with moderately dry eyes during video display terminal use. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:306–312.
29. Perry HD, Donnenfeld ED. Dry eye diagnosis and management in 2004. *Curr Opin Ophthalmol* 2004; 15: 229–304.
30. Davidson HJ, Kuonen VJ. The tear film and ocular mucins. *Vet Ophthalmol* 2004; 7(2): 71-77.
31. Mishima S, Maurice DM. The oily layer of the tear film and evaporation from the corneal surface. *Exp Eye Res* 1961; 1(1): 39-45.
32. Gilbard JP, Scott RR, Kathleen GH. Tear film and ocular surface changes after closure of the meibomian gland orifices in the rabbit. *Ophth* 1989; 96(8): 1180-1186.
33. Pucker, AD, Kristina MH. The presence and significance of polar meibum and tear lipids. *Ocul Surf* 2015; 13(1): 26-42.

34. Butovich, IA., Lu H, McMahon A, Eule JC. Toward an animal model of the human tear film: biochemical comparison of the mouse, canine, rabbit, and human meibomian lipidomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(11): 6881-6896.
35. Broekhuysse RM. Tear lactoferrin: a bacteriostatic and complexing protein. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.1974; 13(7): 550-554.
36. Prydal JI, Campbell FW. Study of precorneal tear film thickness and structure by interferometry and confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33: 1996-2005.
37. Lemp MA, Baudouin C, Baum J, et al. The definition and classification of dry eye disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. *Ocul. Surf* 2007; 5: 75–92.
38. Stern ME, Pflugfelder SC. Inflammation in dry eye. *The Ocul. Surf* 2004; 2(2): 124-130.
39. Oriá AP, Rebouças MF, Martins Filho E, et al . Photography-based method for assessing fluorescein clearance test in dogs. *BMC Vet Res* 2018; 14(1): 269-275.
40. Zhang X, Qu Y, He X, et al. Dry eye management: targeting the ocular surface microenvironment. *Int J Mol Sci* 2017;18(7): 1-28.
41. Foxman EF, Zhang M, Hurst SD, et al. Inflammatory mediators in uveitis: differential induction of cytokines and chemokines in Th1-versus Th2-mediated ocular inflammation. *J Immunol* 2002; 168(5): 2483-2492.
42. Mantelli F, Massaro-Giordano M, Macchi I., Lambiase A., Bonini S. The cellular mechanisms of dry eye: From pathogenesis to treatment. *J. Cell. Physiol* 2013; 228: 2253–2256.
43. Knop E, Knop N. Anatomy and Immunology of the Ocular Surface. *Chem Immunol Allergy* 2007; 92: 36–49.
44. Vantrappen L, Geboes K, Missotten L, Maudgal PC, Desmet V. Lymphocytes and Langerhans cells in the normal human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 220–225.
45. Yagci A, Gurdal C. The role and treatment of inflammation in dry eye disease. *Int Ophthalmol*. 2014; 34(6) : 1291-1301.
46. De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, et al. Dry eye–induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon- γ . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(6): 2553-2560.
47. Driver PJ, Lemp MA. Meibomian gland dysfunction. *Surv Ophthalmol* 1996; 40: 343–367.
48. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Milliner SE. Differences in human meibum lipid composition with meibomian gland dysfunction using NMR and principal component analysis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2012; 53: 337–347.

49. Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2283–2292.
50. Baudouin C. The pathology of dry eye. *Surv ophthalmol* 2001; 45: 211-S220.
51. Dursun D, Wang M, Monroy D, et al. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 632–638.
52. Baudouin C, Irkeç M, Messmer EM, et al. 2018. Clinical impact of inflammation in dry eye disease: proceedings of the ODISSEY group meeting. *Acta Ophthalmol* 2018; 96(2): 111-119.
53. Wei Y, Asbell PA. The core mechanism of dry eye disease (DED) is inflammation. *Eye Contact Lens* 2014; 40(4): 248.
54. Hessen M, Esen KA. Dry eye: an inflammatory ocular disease. *J Ophthalmic Vis Res* 2014; 9(2); 240.
55. Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45: 4293–4301.
56. Stern ME, Schaumburg CS, Pflugfelder SC. Dry eye as a mucosal autoimmune disease. *Int Rev Immunol* 2013; 32(1): 19-41.
57. Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immunemediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol* 2012; 130: 90-100.
58. Jiang G, Ke Y, Sun D, et al. A new model of experimental autoimmune keratoconjunctivitis sicca (KCS) induced in Lewis rat by the autoantigen Klk1b22. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50(5): 2245-2254.
59. Gonzales, JA, Lietman, TM. Ocular involvement in Sjögren's syndrome: advances in therapy. *Curr Treatm Opt Rheumatol* 2018; 4(1): 99-109.
60. Bjerrum KB. Keratoconjunctivitis sicca and primary Sjögren's syndrome in a Danish population aged 30-60 years. *Acta Ophthalmol Scand* 1997; 75(3):281-6.
61. Aragona P, Di Stefano G, Ferreri F, Spinella R, Stilo A. Sodium hyaluronate eye drops of different osmolarity for the treatment of dry eye in Sjögren's syndrome patients. *Br J Ophthalmol* 2002; 86(8): 879-884.
62. Carsons S. A review and update of Sjögren's syndrome: manifestations, diagnosis, and treatment. *Am J Manag Care* 2001; 7(14):433-443.
63. Johnson ME, Murphy PJ. Changes in the tear film and ocular surface from dry eye syndrome. *Prog Retina Eye Res* 2004; 23: 449–474.
64. McCulley JP, Shine WE. The lipid layer of tears: dependent on meibomian gland function. *Experiment Eye Res* 2004; 78 (3): 361–365.
65. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation, *Optom Vision Sci* 1997; 74 (1): 8–13.

66. Snyder C, Fullard RJ. Clinical profiles of non dry eye patients and correlations with tear protein levels. *Int Ophthalmol* 1991; 15(6): 383–389.
67. Prabha JL. Tear secretion -a short review. *J Pharm Sci* 2014; 6(3): 155–157.
68. Shine WE, McCulley JP. Keratoconjunctivitis sicca associated with meibomian secretion polar lipid abnormality. *Arch Ophthalmol* 1998; 116 (7): 849–852.
69. Foulks GN, Nichols KK, Bron AJ, et al. Improving awareness, identification, and management of meibomian gland dysfunction. *Ophthalmol* 2012; 119 (10): 1–12.
70. Ohashi Y, Ishida R, Kojima T, et al. Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2003. 136 (2): 291–299.
71. Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47(10):4309–4315.
72. Phadatare SP, Momin M, Nighojkar, P, et al. A comprehensive review on dry eye disease: diagnosis, medical management, recent developments, and future challenges. *Adv Pharma* 2015; 1(2): 1-12.
73. Savini G, Prabhawasat P, Kojima T, et al. The challenge of dry eye diagnosis. *Clin Ophthalmol* 2008; 2 (1): 31–55.
74. Bhavsar AS, Bhavsar SG, Jain SM. A review on recent advances in dry eye: Pathogenesis and management. *Oman J Ophthalmol* 2011; 4(2): 51-56.
75. Afonso AA, Monroy D, Stern ME, et al. Correlation of tear fluorescein clearance and Schirmer test scores with ocular irritation symptoms. *Ophthalmol* 1999;106:803-810.
76. Yokoi N, Komuro A. Non-invasive methods of assessing the tear film. *Exp Eye Res.* 2004;78 (3): 399–407.
77. Wang J, Palakuru JR, Aquavella JV. Correlations among upper and lower tear menisci, noninvasive tear break-up time, and the Schirmer test. *Am J Ophthalmol* 2008; 145(5): 795-800.
78. Lucca JA, Nunez JN, Farris RL. A comparison of diagnostic tests for keratoconjunctivitis sicca: lactoplate, Schirmer, and tear osmolarity. *Eye Contact Lens* 1990; 16(2):109-112.
79. Li N,Deng XG, He MF. Comparison of the Schirmer I test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye. *Int J Ophthalmol* 2012; 5(4): 478-481.
80. Abelson MB, Ousler GW, Nally LA, Welch D, Krenzer K. Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol* 2002; 506: 1121–1125.
81. Cho P, Douthwaite W. The relation between invasive and noninvasive tear break-up time. *Optom Vis Sci* 1995; 72: 17–22.
82. Lin YY, Carrel H, Wang IJ, et al.. Effect of tear film break-up on higher order aberrations of the anterior cornea in normal, dry, and post-LASIK eyes. *J Refract Surg* 2005; 21: 525–529.

83. Lange RR, Lima L, Przydzimirski AC, Montiani-Ferreira F. Reference values for the production of the aqueous fraction of the tear film measured by the standardized endodontic absorbent paper point test in different exotic and laboratory animal species. *Vet Ophthalmol* 2013; 17:41–45.
84. Barabino S, Chen W, Dana MR. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. *Exp Eye Res* 2004;79 (5):613-621.
85. Kilic S, Kulualp K.. Tear production rate in a mouse model of dry eye according to the phenol red thread and endodontic absorbent paper point tear tests. *Comp med* 2016; 66(5): 367-372.
86. Leonardo MR, da Silva LA, Filho MT, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics . *J Endod* 2000 ; 26:391–394.
87. Lin H, Yiu SC. Dry eye disease: a review of diagnostic approaches and treatments. *Saudi J Ophthalmol* 2014; 28(3): 173-181.
88. Nemet A, Belkin M, Rosner M. Transplantation of newborn lacrimal gland cells in a rat model of reduced tear secretion. *Isr Med Assoc J* 2007; 9(2): 94-100.
89. Bron AJ. 2001. Diagnosis of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001; 45 (2): 221–226.
90. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Surv Ophthalmol* 2003; 22: 640–650.
91. Gallego-Munoz P, Ibares-Frías L, Lorenzo E, et al . Corneal Wound Repair After Rose Bengal and Green Light Crosslinking: Clinical and Histologic Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(9): 3471-3480.
92. Chodosh J, Dix RD, Howell RC, Stroop WG, Tseng SC. Staining characteristics and antiviral activity of sulforhodamine B and lissamine green B. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35(3):1046-1058.
93. Lemp MA, Bron, AJ, Baudouin C, et al. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2011; 151 (5): 792-798.
94. Rolando M, Terragna F, Giordano G, Calabria G. Conjunctival surface damage distribution in keratoconjunctivitis sicca. An impression cytology study, *Ophthalmol.* 1990;200 (4): 170–176.
95. Calonge M, Diebold Y, Saez V, et al. Impression cytology of the ocular surface: A review. *Exp Eye Res* 2004;78:457-472.
96. Singh R, Joseph A, Umapathy T, et al. Impression cytology of the ocular surface. *Br J Ophthalmol* 2005; 89(12): 1655-1659.
97. Hagan S. Biomarkers of ocular surface disease using impression cytology. *Biomark Med* 2017; 11(12): 1135-1147.
98. Barbosa FL, Xiao Y, Bian F, et al. Goblet cells contribute to ocular surface immune tolerance implications for dry eye disease. *Int J Mol Sci* 2017; 18(5): 978-986.

99. Thatte S, Garg P. Study of Goblet Cell Morphology by Impression Cytology in Various Types of Pterygium. *Ann Clin Cytol Pathol* 2017; 3(8): 1089.
100. Tsubota K, Kajiwarra K, Ugajin S, Hasegawa T. Conjunctival brush cytology. *Acta Cytol* 1990;34(2):233–235.
101. Foulks GN. Challenges and pitfalls in clinical trials of treatments for dry eye. *Ocul Surf* 2003; 1: 20–30.
102. Huang FC, Tseng SH, Shih MH, Chen FK. Effect of artificial tears on corneal surface regularity, contrast sensitivity, and glare disability in dry eyes. *Ophthalmol* 2002; 109: 1934-1940.
103. She Y, Li J, Xiao B, et al. Evaluation of a novel artificial tear in the prevention and treatment of dry eye in an animal model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2015; 31(9): 525–530.
104. Corrales RM, Luo L, Chang EY, Pflugfelder SC. Effects of osmoprotectants on hyperosmolar stress in cultured human corneal epithelial cells. *Ophthalmol* 2008; 27(5): 574–579.
105. Chen W, Zhang X, Li J, et al . Efficacy of osmoprotectants on prevention and treatment of murine dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(9): 6287–6297.
106. Göbbels M, Spitznas M. Corneal epithelial permeability of dry eyes before and after treatment with artificial tears. *Ophthalmol* 1992; 99(6): 873-878.
107. Asbell PA. Increasing importance of dry eye syndrome and the ideal artificial tear: consensus views from a roundtable discussion. *Curr Med Res Opin* 2006; 22(11): 2149-2157.
108. Murube J, Paterson A, Murube E. Classification of artificial tears. II: Additives and commercial formulas. *Adv. Exp. Med. Biol* 1998; 438: 705-715.
109. Celebi AR, Ulusoy C, Mirza GE. The efficacy of autologous serum eye drops for severe dry eye syndrome: a randomized double-blind crossover study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014; 252(4): 619–26.
110. Nilforoushan MR, Latkany RA, Speaker MG. Effect of artificial tears on visual acuity. *Am J Ophthalmol* 2005; 40(5): 830-835.
111. Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Vet Med* 2008; 53(8): 397-411.
112. Orobia AJM, Saa J, Lorenzo AO, Herreras JM. Combination of hyaluronic acid, carmellose, and osmoprotectants for the treatment of dry eye disease. *Clin Ophthalmol* 2018; 12: 453-461.
113. Brignole F, Pisella PJ, Dupas B, Baeyens V, Baudouin C. Efficacy and safety of 0.18% sodium hyaluronate in patients with moderate dry eye syndrome and superficial keratitis . *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005; 243(6):531-538.

114. Garrett Q, Simmons PA, Xu S, et al. Carboxymethyl cellulose binds to human corneal epithelial cells and is a modulator of corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(4): 1559–1567.
115. Pflugfelder SC, De Paiva CS, Villarreal AL, Stern ME. Effects of sequential artificial tear and cyclosporine emulsion therapy on conjunctival goblet cell density and transforming growth factor- β 2 production. *Ophthalmol* 2008; 27: 64-69.
116. Módis L, Szalai E, McCarty S, et al. Dry eye diagnosis and management. *Exp Rev Ophthalmol* 2011; 6(1): 67-79.
117. Albietz JM, Bruce AS. The conjunctival epithelium in dry eye subtypes: effect of preserved and non-preserved topical treatments. *Curr Eye Res* 2001; 22(1): 8–18.
118. Javadi MA, Feizi S. Dry eye syndrome. *J Ophthal Vis Res* 2011;6 (3): 192–198.
119. Cutolo CA, Barabino S, Bonzano C, Traverso CE. The use of topical corticoste-roids for treatment of dry eye syndrome. *Ocul Immunol Inflamm* 2017; 3(1): 1–10.
120. De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res* 2006;83(3):526–535.
121. Messmer EM. The pathophysiology, diagnosis, and treatment of dry eye disease. *Dtsch Ärztebl Int* 2015; 112(5): 71-76.
122. Flach AJ. Cyclo-oxygenase inhibitors in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 1992; 36 (4): 259–284.
123. Yamada M, Kawai M, Kawai Y, Mashima Y. The effect of selective cyclooxygenase-2 inhibitor on corneal angiogenesis in the rat. *Curr Eye Res* 1999; 19 (4): 300–304.
124. Filho JPS, Martins MC, Correa ZMS, et al. The expression of cyclooxygenase 2 in retinoblastoma: primary enucleated eyes and enucleation after conservative treatment. *Am J Ophthalmol* 2006; 142 (4): 625–631.
125. Flach AJ. Topical nonsteroidal antiinflammatory drugs in ophthalmology. *Int Ophthalmol Clin* 2002;42 (1): 1–11.
126. Schalnus R. Topical Nonsteroidal Anti-Inflammatory Therapy in Ophthalmology. *Ophthalmol* 2003; 217 (2): 89-98.
127. Avunduk AM, Avunduk MC, Varnell ED, Kaufman HE. The comparison of efficacies of topical corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory drops on dry eye patients: a clinical and immunocytochemical study. *Am J Ophthalmol* 2003; 136(4): 593-602.
128. Russo A, Costagliola, C, Delcassi L, et al. Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for macular edema. *Mediators Inflamm* 2013; 1 (2): 1-12.
129. Kunert,KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 2000;118 (11): 1489–1496.

130. Lallemand F, Schmitt M, Bourges JL, et al. Cyclosporine A delivery to the eye: A comprehensive review of academic and industrial efforts. *Eur J Pharma Biopharm* 2017; 117: 14-28.
131. Perry HD, R Solomon, ED Donnenfeld, et al. Evaluation of topical cyclosporine for the treatment of dry eye disease. *Arch Ophthalmol* 2008; 126 (8): 1046–1050.
132. Gokce EH, Sandri G, Bonferoni MC, et al. Cyclosporine A loaded SLNs: evaluation of cellular uptake and corneal cytotoxicity. *Int J Pharm* 2008; 364 (1): 76–86.
133. Baiza-Duran L. Safety and efficacy of topical 0.1% and 0.05% cyclosporine A in an aqueous solution in steroid-dependent vernal keratoconjunctivitis in a population of mexican children, *J. Clin Exp Ophthalmol* 2010; 1(2): 115-120.
134. Moon JW, Lee HJ, Shin KC, et al. Short term effects of topical cyclosporine and viscoelastic on the ocular surfaces in patients with dry eye. *Korean J Ophthalmol* 2007; 21(4): 189-194.
135. Kuwano MH, Ibuki N, Morikawa, AO, Kawashima Y. Cyclosporine A formulation affects its ocular distribution in rabbits. *Pharm. Res* 2002;19: 108–111.
136. Park Y, Song JS, Choi CY, et al. A randomized multicenter Study comparing 0.1%, 0.15%, and 0.3% sodium hyaluronate with 0.05% cyclosporine in the treatment of dry eye. *J Ocul Pharmacol Ther* 2017; 33(2): 66-72.
137. Alikhan A, Kurek L, Feldman SR. The role of tetracyclines in rosacea. *Am J Clin Dermatol* 2010; 11(2): 79-87.
138. Kuzin II, Snyder JE, Ugin GD, et al. Tetracyclines inhibit activated B cell function. *Int Immunol* 2001; 13: 921–931.
139. Solomon A, Rosenblatt M, Li DQ, et al. Doxycycline inhibition of interleukin-1 in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2544–2547.
140. Doughty MJ. Fluorescein-tear breakup time as an assessment of efficacy of tear replacement therapy in dry eye patients: a systematic review and meta-analysis. *Ocul Surf* 2014; 12: 100–111.
141. Rashid S, Jin Y, Ecoiffier T, et al. Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. *Arch Ophthalmol* 2008; 126 (2): 219–225.
142. AlMahmood AM, Al-Swailem SA. Essential fatty acids in the treatment of dry eye syndrome: a myth or reality? *Saudi J Ophthalmol* 2014; 28 (3): 195–197.
143. Rosenberg ES, Asbell PA. Essential fatty acids in the treatment of dry eye. *Ocul Surf* 2010; 8(1): 18–28.
144. Kobayashi TK, Tsubota K, Takamura E, et al. Effect of retinol palmitate as a treatment for dry eye: a cytological evaluation. *Ophthalmol* 1997; 211(6): 358-361.
145. Kim EC, Choi JS, Joo CK. A comparison of vitamin a and cyclosporine a 0.05% eye drops for treatment of dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009; 147(2): 206-213.

146. Quadro L, Blaner WS, Salchow DJ, et al. Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 18(17): 4633-4644.
147. Lee SY, Ubels JL, Soprano DR. The lacrimal gland synthesizes retinol-binding protein. *Exp Eye Res* 1992; 55(1): 163-171.
148. Selek H, Ünlü N, Orhan M, Irkeç M. Evaluation of retinoic acid ophthalmic emulsion in dry eye. *Eur J Ophthalmol* 2000; 10(2): 121-127.
149. Fraunfelder FW. Ocular side effects from herbal medicines and nutritional supplements. *Am J Ophthalmol* 2004;138(4):639-647.
150. Baxter SA, Laibson PR. Punctal plugs in the management of dry eyes. *Ocul Surf* 2004;2(4):255–265.
151. Liu D, Sadhan Y. Surgical punctal occlusion: a prospective study. *Br J Ophthalmol* 2002; 86(9): 1031-1034.
152. Balaram M, Schaumberg DA, Dana MR. Efficacy and tolerability outcomes after punctal occlusion with silicone plugs in dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2001; 131(1): 30–36.
153. Tai MC, Cosar, CB, Cohen EJ, Rapuano CJ, Laibson PR. The clinical efficacy of silicone punctal plug therapy. *Am J Ophthalmol* 2002, 21, 135–139.
154. Shi S, Chen W, Zhang X, Ma HX, Sun L. Effects of silicone punctal plugs for tear deficiency dry eye patients. *Chin J Ophthalmol* 2013; 49: 151–154.
155. Tong L, Beuerman R, Simonyi S, Hollander DA, Stern ME. Effects of Punctal Occlusion on Clinical Signs and Symptoms and on Tear Cytokine Levels in Patients with Dry Eye. *Ocul Surf* 2016; 14: 233–241.
156. Dursun D, Ertan A, Bilezikçi B, Akova YA, Pelit A. Ocular surface changes in keratoconjunctivitis sicca with silicone punctum plug occlusion. *Curr Eye Res* 2003; 26: 263-269.
157. Miyata K, Otani S, Miyai T, et al. Atelocollagen punctal occlusion in dry eye patients. *Curr Eye Res* 2006; 25(1): 47–50.
158. Geerling, G., Honnicke, K., Schröder, et al. Quality of salivary tears following autologous submandibular gland transplantation for severe dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237(7): 546-553.
159. Soares EJ, Franca VP. Transplantation of labial salivary glands for severe dry eye treatment. *Arq Bras Oftalmol* 2005;68(4):481–9.
160. Keegan DJ, Geerling G, Lee JP, et al. Botulinum toxin treatment for hyperlacrimation secondary to aberrant regenerated seventh nerve palsy or salivary gland transplantation. *Br J Ophthalmol* 2002; 86(1): 43-46.
161. Robinson C, Tantri A, Shriver E, Oetting T. Temporary eyelid closure appliqué. *Arch Ophthalmol* 2006; 124(4): 546-549.

162. Kitchens J, Kinder J, Oetting T. The drawstring temporary tarsorrhaphy technique. *Arch Ophthalmol* 2002;120:187-190.
163. Ozgur O, Murariu D, Parsa AA, Parsa FD. Dry eye syndrome due to botulinum toxin type-A injection: guideline for prevention. *Hawaii J Med Public Health* 2012; 71(5):120-123.
164. Pinheiro GKLD, Araújo Filho ID, Araújo Neto ID, et al. Nature as a source of drugs for ophthalmology. *Arq Bras Oftalmol* 2018; 81(5): 443-454.
165. Ruetsch YA, Boni T, Borgeat A. From cocaine to ropivacaine: The history of local anesthetic drugs. *Curr Top Med Chem* 2001;1(3): 175-182.
166. Duncan G, Collison DJ. Role of the non-neuronal cholinergic system in the eye: A review. *Life Sci* 2003;72(18): 9-14.
167. Realini T. A history of glaucoma pharmacology. *Optom Vis Sci.* 2011; 88(1):36-38.
168. Vivino FB, Al-Hashimi I, Khan Z, et al. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjögren syndrome: a randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial. *Arch Intern Med* 1999; 159(2): 174-181.
169. Curto EM, Labelle A, Chandler HL. Aloe vera: An in vitro study of effects on corneal wound closure and collagenase activity. *Vet Ophthalmol* 2014;17(6):403-410.
170. Wozniak A, Paduch R. Aloe vera extract activity on human corneal cells. *Pharm Biol* 2012;50(2):147-54.
171. Peng QH, Yao XL, Peng J, et al. Effects of extract of *Buddleja officinalis* eye drops on lacrimal gland cells apoptosis of castrated rabbits with dry eye. *Int J Ophthalmol* 2010;10(1):40-43.
172. Peng QH, Yao XL, Wu QL, Tan HY, Zhang JR. Effects of extract of *Buddleja officinalis* eye drops on androgen receptors of lacrimal gland cells of castrated rats with dry eye. *Int J Ophthalmol* 2010; 3(1):43-48.
173. Hito S, Tanaka J, Shimoda H. Maqui bright standardized maqui berry extract significantly increases tear fluid production and ameliorates dry eye-related symptoms in a clinical pilot trial. *Panminerva Med.* 2014;56(3):01-06.
174. Kim CS, Jo K, Lee IS, Kim J. Topical application of apricot kernel extract improves dry eye symptoms in a unilateral exorbital lacrimal gland excision mouse. *Int J Ophthalmol* 2016;8(11): 750-754.
175. Kang SW, Kim KA, Lee CH, et al. A standardized extract of *Rhynchosia volubilis* Lour. exerts a protective effect on benzalkonium chloride-induced mouse dry eye model. *J Ethnopharmacol* 2018;215: 91-100.
176. Araujo J, Gonzalez E, Egea MA, Garcia ML, Souto EB. Nanomedicines for ocular NSAIDs: Safety on drug delivery. *Int J Ophthalmol* 2009;5(4):394-401.

177. De Campos AM, Diebold Y, Carvalho EL, Sanchez A, Alonso MJ. Chitosan nanoparticles as new ocular drug delivery systems: Invitro stability, in vivo fate, and cellular toxicity. *Pharm Res* 2004; 21(5):803-810.
178. Gong K, Darr JA, Rehman IU. Supercritical fluid assisted impregnation of indomethacin into chitosan thermosets for controlled release applications. *Int J Pharm* 2006;315(1-2):93-98.
179. Canpolat I, Başa A. Wound healing and current treatment techniques. *Agricul Vet Sci* 2017; 1(3): 180-184.
180. Chen M, Hu DN, Pan Z, et al. Curcumin protects against hyperosmoticity-induced IL-1beta elevation in human corneal epithelial cell via MAPK pathways. *Exp Eye Res* 2010;90(3):437-43.
181. Song J, Li Y, Ge J, et al. Protective effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extracts on cultured human corneal limbal epithelial cells (HCLEC). *Phytother Res* 2010;24(4):520-524.
182. Yao N, Lan F, He RR, Kurihara H. Protective effects of bilberry (*vaccinium myrtillus* L.) extract against endotoxin-induced uveitis in mice. *J Agric Food Chem* 2010;58(8):4731-4736.
183. Xie C, Xie, Z, Xu X, Yang D. Persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves: a review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. *J Ethnopharmacol* 2015;163: 229-240.
184. Akbulut M, Ercisli S, Yildirim N, Orhan E, Agar G. The comparison of persimmon genotypes (*Diospyros kaki* Thunb.) by using RAPD and FAME data. *Rom Biotechnol Lett* 2008; 13(4): 3851-3858.
185. Rauf A, Uddin G, Patel S, et al. *Diospyros*, an under-utilized, multi-purpose plant genus: A review. *Biomed Pharmacother* 2017; 91:714-730.
186. Plaza L, Colina C, Ancos B, Sanchez-Moreno C, Cano MP. Influence of ripening and astringency on carotenoid content of high-pressure treated persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). *Food Chem* 2012; 130: 591-597.
187. Nicoleti JF, Silveira V, Tlis-Romero J, Telis VRN. Influence of drying conditions on ascorbic acid during convective drying of whole persimmons. *Drying Technol* 2007; 25: 891-899.
188. Şeker M, Toplu C. Trabzon Hurması Yetiştiriciliği. *Türktarım* 2003;149: 35-37.
189. Das S, Haldar PK, Pramanik G, Panda SP, Bera S. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of *Diospyros cordifolia* extract. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2011;8:11–14.
190. Lee KY, Jung JY, Lee MY, et al. *Diospyros blancoi* attenuates asthmatic effects in a mouse model of airway inflammation. *Inflamm* 2012; 35: 623–632.

191. Rathore K, Singh VK, Jain P. In-vitro and in-vivo antiadipogenic, hypolipidemic and anti-diabetic activity of diospyros melanoxylon (Roxb). *J Ethnopharmacol* 2014;155: 1171–1176.
192. Bei W, Zang L, Guo J, et al. Neuroprotective effects of a standardized flavonoid extract from diospyros kaki leaves. *J Ethnopharmacol* 2009; 126:134-142.
193. Xue YL, Miyakawa T, Hayashi Y, et al. Isolation and tyrosinase inhibitory effects of polyphenols from the leaves of persimmon, diospyros kaki. *J Agric Food Chem* 2011;59: 6011–6017.
194. An BJ, Kwak JH, Park JM, et al. Inhibition of enzyme activities and the antiwrinkle effect of polyphenol isolated from the persimmon leaf (diospyros kaki folium) on human skin. *Dermatol Surg* 2005; 7: 848–854.
195. Kameda K, Takaku T, Okuda H, Kimura Y. Inhibitory effects of various flavonoids isolated from enzyme activity leaves of persimmon on angiotensin- converting enzyme activity, *J Nat Prod* 1987; 50: 680–683.
196. Crisan D, Carr J. Angiotensin I-converting enzyme: genotype and disease associations, *J Mol Diagn* 2000; 2: 105–115.
197. Kim KA, Hyun LC, Jung SH, Yang SJ. The leaves of Diospyros kaki exert beneficial effects on a benzalkonium chloride-induced murine dry eye model. *Mol Vis* 2016;22:284-293.
198. Yang, SJ, Jo H, Kim K, et al. Diospyros kaki extract inhibits alkali burn-induced corneal neovascularization. *J Med Food*. 2016; 19(1): 106-109.
199. Bei WJ, Xu AL, Li CY, Cabot PJ, Hermanussen S. Flavonoids from diospyros kaki inhibit the adhesion between lymphocyte and dorsal root ganglion. *J Ethnopharmacol* 2009; 32:740-744.
200. Kim KA, Kang SW, Jung HR , et al. Leaves of persimmon (Diospyros kaki thunb.) ameliorate N-methyl-N-nitrosourea (mnu)-induced retinal degeneration in Mice. *J Agric Food Chem* 2015; 63: 7750–7759.
201. Kim HH, Kim DS, SW Kim, et al. Inhibitory effects of diospyros kaki in a model of allergic inflammation: role of cAMP, calcium and nuclear factor-kB. *Int J Mol Med* 2013; 32 (1): 945–951.
202. Sun L, Zhang J, Fang K, et al. Flavonoids from persimmon (Diospyros kaki) leaves (FPL) attenuate H₂O₂-induced apoptosis in MC3T3-E1 cells via the NF-kB Pathway, *Food Funct* 2014;5: 471–479.
203. Çelik F. Çay (Camellia sinensis); içeriği, sağlık üzerindeki koruyucu etkisi ve önerilen tüketimi. *Türkiye Klinikleri J Medi Sci* 2006; 26(6): 642-648.
204. Wang, H., Provan, G. J., & Helliwell, K. (2000). Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends Food Sci Technol* 2000; 11(4-5): 152-160.
205. McKay, Diane L., and Jeffrey B. Blumberg. The role of tea in human health: an update. *J Am Coll Nutr* 2002; 21(1) : 1-13.

206. Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nishigaki I. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chin Med* 2010; 5(1): 13-24.
207. Crespy V, Williamson GA. Review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models. *J Nutr* 2004; 134(12): 3431-3440.
208. Kavanagh KT, Hafer LJ, Kim DW, et al. Green tea extracts decrease carcinogen-induced mammary tumor burden in rats and rate of breast cancer cell proliferation in culture. *J Cell Biochem* 2001; 82: 387-398.
209. Dona M, Dell'Aica I, Calabrese F, et al. Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2003; 170:4335-4341.
210. Sudano Roccaro A, Blanco AR, Giuliano F, Rusciano D, Enea V. Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrob Agents Chemo* 2004; 48: 1968-1973.
211. Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K: Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 3549-3552.
212. Weber JM, Ruzindana-Umunyana A, Imbeault L, Sircar S. Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. *Antiviral Res* 2003; 58:167-173.
213. Abdel-Raheim MAM, Enas AH, Khaled AE. Effect of green tea extract and vitamin c on oxidant or antioxidant. *Indian J Clin Biochem* 2009; 24(3):280-287.
214. Sano M, Takahashi Y, Yoshino K, et al. Effect of tea (*Camellia sinensis* L.) on lipid peroxidation in rat liver and kidney: a comparison of green and black tea feeding. *Biol Pharm Bull* 1995; 18: 1006-1008.
215. Cavet ME, Harrington KL, Vollmer TR, Ward KW, Zhang JZ. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in human corneal epithelial cells. *Mol Vis* 2011; 17: 533- 542.
216. Shoham A, Hadziahmetovic M, Dunaief JL, Mydlarski MB, Schipper HM. Oxidative stress in diseases of the human cornea. *Free Radic Biol Med* 2008; 45:1047-1055.
217. Larrosa M, Lodovici M, Morbidelli L, Dolara P. Hydrocaffeic and p-coumaric acids, natural phenolic compounds, inhibit UV-B damage in WKD human conjunctival cells in vitro and rabbit eye in vivo. *Free Radic Res* 2008; 42: 903-910.
218. Heo J, Byung RL, Koh JW. Protective effect and epigallocatechin gallate after uv irradiation & cultured human lens epithelial cells. *Korean J Ophthalmol* 2008;22:183-189.
219. Nejabat M, Reza SA, Zadmehr M, Yasemi M, Sobhani Z. Efficacy of green tea extract for treatment of dry eye and meibomian gland dysfunction; A double-blind randomized controlled clinical trial study. *J Clinic Diagn Res* 2017; 11(2): 5-8.
220. HS Lee, Chauhan SK, Okanobo A, Nallasamy N, Dana R. Therapeutic efficacy of topical epigallocatechin gallate (EGCG) in murine dry eye. *Cornea*.2011; 30(12):1465-1840.

221. Potterat O. Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. *Planta medica*. 2010; 76(1): 7-19.
222. Wang CC, Chang SC, Inbaraj BS, Chen BH. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food Chem* 2010; 12: 184–192.
223. Inbaraj BS, Lu H, Hung CF, et al. Determination of carotenoids and their esters in fruits of *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-APCI-MS. *J Pharm Biomed* 2008; 47: 812–818.
224. Kulczyński B, Gramza-Michałowska A. Goji berry (*Lycium barbarum*): Composition and health effects—A review. *Polish Journal of Food Sci Nutri* 2016; 66(2): 67-76.
225. Cheng J, Zhou ZW, Sheng HP, et al. An evidence-based update on the pharmacological activities and possible molecular targets of *Lycium barbarum* polysaccharides. *Drug Des Devel Ther* 2014; 9: 33-78.
226. Amagase H, Sun BX, Borek C. *Lycium barbarum* (goji) juice improves in vivo antioxidant biomarkers in serum of healthy adults. *Nutr Res* 2009; 29: 19-25.
227. He N, Yang X, Jiao Y, Tian L, Zhao Y. Characterization of antioxidant and antiproliferative acidic polysaccharides from chinese wolfberry fruits. *Food Chem* 2012; 133(3):978-989.
228. Gan L, Zhang SH, Yang XL, Xu HB. Immunomodulation and antitumor activity by a polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum*. *Int J Immunopharmacol* 2014; 4(1): 563-569.
229. Reeve VE, Allanson M, Arun SJ, Domanski D, Painter N. Mice drinking goji berry juice (*Lycium barbarum*) are protected from UV radiation-induced skin damage via antioxidant pathways. *Photochem Photobiol Sci* 2010; (4):601-607.
230. Donno D, Beccaro GL, Mellano MG, Cerutti, AK, Bounous G. Goji berry fruit (*Lycium* spp.): antioxidant compound fingerprint and bioactivity evaluation. *J Func Foods* 2015; 18: 1070-1085.
231. Li XM, Ma YL, Liu XJ. Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides on age-related oxidative stress in aged mice. *J Ethnopharmacol* 2007;111: 504-511.
232. Chien KJ, Horng CT, Huang YS, et al. Effects of *lycium barbarum* (goji berry) on dry eye disease in rats. *Mol Med Rep* 2018; 1:809-818.
233. Chan HC, Chang RC, Koon-Ching Ip A, et al. Neuroprotective effects of *Lycium barbarum* Lynn on protecting retinal ganglion cells in an ocular hypertension model of glaucoma. *Exp Neurol* 2007; 203: 269-273.
234. Bucheli P, Vidal K, Shen L, et al. Goji berry effects on macular characteristics and plasma antioxidant levels. *Optom Vis Sci* 2011; 88: 257-262.

235. Shah M, Edman MC, Janga SR, et al. Rapamycin eye drops suppress lacrimal gland inflammation in a murine model of Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(1): 372-385.
236. Humphreys-Beher MG, Hu Y, Nakagawa Y, Wang PL, Purushotham KR. Utilization of the non-obese diabetic (NOD) mouse as an animal model for the study of secondary Sjogren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1994;350:631–636
237. Toda I, Sullivan BD, Rocha EM, et al. Impact of gender on exocrine inflammation in mouse models of Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 1999;69:355–366.
238. Chaly Y, Barr J, Sullivan D, et al. Type I Interferon Signaling Is Required for Dacryoadenitis in the Nonobese Diabetic Mouse Model of Sjögren Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(10), 3259-3265.
239. Sullivan DA, Krenzer KL, Sullivan, BD, et al. Does androgen insufficiency cause lacrimal gland inflammation and aqueous tear deficiency?. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(6): 1261-1265.
240. Takahashi M, Ishimaru N, Yanagi K, et al. High incidence of autoimmune dacryoadenitis in male non-obese diabetic (NOD) mice depending on sex steroid. *Clin Exp Immunol* 1997;109:555–561.
241. Jabs DA, Lee B, Whittum-Hudson J, Prendergast RA. The role of Fas-Fas ligand-mediated apoptosis in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/MpJ mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42: 399–401.
242. Tellefsen S, Morthen, MK, Richards SM, et al. Sex effects on gene expression in lacrimal glands of mouse models of sjögren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(13): 5599-5614.
243. Shinomiya K, Ueta M, Kinoshita S. A new dry eye mouse model produced by exorbital and intraorbital lacrimal gland excision. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 8(1): 1483-1984.
244. Payne AP. The harderian gland: a tercentennial review. *J Anat* 1994; 185(1): 1–49 .
245. Maitchouk DY, Beuerman RW, Ohta T, Stern M, Varnell RJ. Tear production after unilateral removal of the main lacrimal gland in squirrel monkeys. *Arch Ophthalmol* 2000; 118(2):246-252.
246. Gilbard JP, Rossi SR, Gray KL, Hanninen LA, Kenyon KR. Tear film osmolarity and ocular surface disease in two rabbit models for keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29(3):374-378.
247. Yoon KC, Ahn KY, Choi W, et al. Tear production and ocular surface changes in experimental dry eye after elimination of desiccating stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(10): 7267-7273.
248. Datta S, Baudouin, C, Brignole-Baudouin F, Denoyer A, Cortopassi GA. The eye drop preservative benzalkonium chloride potently induces mitochondrial dysfunction

- and preferentially affects LHON mutant cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(4): 2406-2412.
249. Yang Q, Zhang Y, Liu X, et al. A Comparison of the effects of benzalkonium chloride on ocular surfaces between C57BL/6 and BALB/c mice. *Int J Mol Sci* 2017; 18(3): 509-521.
 250. Lin Z, Liu X, Zhou T, et al. A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride. *Molecul Vis* 2011; 17:257-264.
 251. Xiong C, Chen D, Liu J, et al. A rabbit dry eye model induced by topical medication of a preservative benzalkonium chloride. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(5): 1850-1856.
 252. Pisella PJ, Fillacier K, Elena PP, Debbasch C, Baudouin C. Comparison of the effects of preserved and unpreserved formulations of timolol on the ocular surface of albino rabbits. *Ophthalmic Res* 2000;32:3– 8.
 253. Baudouin C, Labbe A, Liang H, Pauly A, Brignole-Baudouin F. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:312–334.
 254. Göbbels M, Spitznas M.. Corneal epithelial permeability of dry eyes before and after treatment with artificial tears. *Ophthalmol* 1992; 99(6): 873-878.
 255. Baudouin C, Denoyer A, Desbenoit N, Hamm G, Grise A. In vitro and in vivo experimental studies on trabecular meshwork degeneration induced by benzalkonium chloride *Trans Am Ophthalmol Soc* 2012;110: 40–63.
 256. Kwon YS, Park JS, Yun SH, Ku SK, Jang KH. A dog dry eye model induced by benzalkonium chloride. *Investi OphthalmolVis Sci*. 2011; 52(14):3765-3765.
 257. Yingfang F, Zhuang B, Wang C.Pimecrolimus micelle exhibits excellent therapeutic effect for Keratoconjunctivitis Sicca. *Korean J. Ophthalmol* 2016; 140: 1–10.
 258. Kim JH, Kim EJ, Kim YH. In vivo effects of preservative-free and preserved prostaglandin analogs: mouse ocular surface study. *Korean J. Ophthalmol* 2015; 29:270–279.
 259. Pauly A, Brignole-Baudouin F, Labbé A, et al. New tools for the evaluation of toxic ocular surface changes in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(12): 5473-5483.
 260. Sullivan DA, Sullivan BD, Ullman M,et al. Androgen influence on the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41: 3732–3742
 261. Burgalassi S, Panichi L, Chetoni P, Saettone MF, Boldrini E. Development of a simple dry eye model in the albino rabbit and evaluation of some tear substitutes. *Ophthalmic Res* 1999;31:229–235.
 262. Sullivan DA, Sullivan BD, Evans JE, et al. Androgen deficiency, Meibomian gland dysfunction and evaporative dry eye. *J Ocul Pharmacol Ther* 2002; 966(1): 211-222.
 263. Fujihara T, Nagano T, Nakamura M, Shirasawa E. Establishment of a rabbit short-term dry eye model. *J Ocul Pharmacol Ther* 1995; 11(4):503-508.

264. Barabino S, Shen L, Chen L, et al. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(8):2766-2771.
265. Chen W, Zhang X, Zhang J. A murine model of dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1386–1391.
266. Schrader S, Mircheff AK, Geerling G. Animal models of dry eye. *Dev Ophthalmol* 2008;41:298–312.
267. Xiao X, Luo P, Zhao H, et al. Amniotic membrane extract ameliorates benzalkonium chloride induced dry eye in a murine model. *Exp Eye Res* 2013;115: 31-40.
268. Kulualp K, Kiliç S, Eröksüz Y, Eröksüz H, Aslan A. Therapeutic effect of bovine amniotic fluid in murine dry eye model. *JJ Vet Res* 2020;68(3): 171-186.
269. Zhang R, Park M, Richardson A, et al. Dose-dependent benzalkonium chloride toxicity imparts ocular surface epithelial changes with features of dry eye disease. *Ocul Surf* 2020; 18(1), 158-169.
270. Diego JL, Bidikov L, Pedler MG, et al. Effect of human milk as a treatment for dry eye syndrome in a mouse model. *Mol Vis* 2016;22:1095–102.
271. Kim KA, Lee CH, Kang TK, et al. Effect of persimmon leaves (*Diospyros kaki*) on goblet cell density and inflammation in experimental dry eye model. *Appl Biol Chem* 2020; 63(1): 1-9.
272. Kim KA, Yang SJ, Kim TJ, Kang SW, Jung SH. Anti-inflammatory effects of *Diospyros kaki* in Mouse Dry Eye Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(12): 408-408.
273. Tavares Fde P, Fernandes RS, Bernardes TF, Bonfioli AA, Soares EJ. Dry eye disease. *Semin Ophthalmol* 2010;25: 84-93.
274. Rath A, Eichhorn M, Träger K., Paulsen F., Hampel U. In vitro effects of benzalkonium chloride and prostaglandins on human meibomian gland epithelial cells. *Ann Anat* 2019; 222: 129-138.
275. Lee C, Kim KA, Yang S, Jung S.. Protective effect of persimmon leaves (*Diospyros kaki*) on dry eye in an exorbital lacrimal gland excision model of mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(8): 2252-2252.
276. Oh HN, Kim CE, Lee JH, Yang JW. 2015. Effects of quercetin in a mouse model of experimental dry eye. *Cornea* 2015; 34(9): 1130-1136.
277. Cho, YH, Kim NH, Khan I, et al. Anti-inflammatory Potency of Quercetin from *Diospyros kaki* calyx via Suppression of MAP Signaling Molecules in LPS-Induced RAW 264 (71M) Macrophages. *J Inflamm (2014) 2014:2456*.
-inflammatory Pot
-3- O- β D- ("2"-
278. Masmali AM, Alanazi SA, Alotaibi AG, et al. The acute effect of a single dose of green tea on the quality and quantity of tears in normal eye subjects. *Clin Ophthalmol* 2019 (Auckland, NZ); 13: 605.

279. Yoneyama S, Kawai K, Tsuno NH, et al. Epigallocatechin gallate affects human dendritic cell differentiation and maturation. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121(1):209-214.
280. Gillespie K, Kodani I, Dickinson DP, et al. Effects of oral consumption of the green tea polyphenol EGCG in a murine model for human Sjogren's syndrome, an autoimmune disease. *Life Sci.* 2008; 83(17-18):581-8.
281. Lee H, Dana R. Topical EGCG for treatment of dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(13): 6272.
282. Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1986;32(6):613–622.
283. Mesbahzadeh B, Akbari M, Kor NM, Zadeh JB. The effects of different levels of peppermint alcoholic extract on body-weight gain and blood biochemical parameters of adult male Wistar rats. *Electron Physician* 2015;7(6):1376–1380.
284. Tseng, CL, Hung YJ, Chen ZY, Fang HW, Chen KH. Synergistic effect of artificial tears containing epigallocatechin gallate and hyaluronic acid for the treatment of rabbits with dry eye syndrome. *PLoS One* 2016; 11(6) :e0157982.
285. Bo R, Ma X, Feng Y, et al. Optimization on conditions of *Lycium barbarum* polysaccharides liposome by RSM and its effects on the peritoneal macrophages function. *Carbohydr Polym* 2015; 117: 215-222.
286. Li SY, Yang D, Yeung CM, Yu WY, Chang RC, So KF, Wong D and Lo AC: *Lycium barbarum* polysaccharides reduce neuronal damage, blood-retinal barrier disruption and oxidative stress in retinal ischemia/reperfusion injury. *PLoS One* 6 2011: e16380.
287. Hua X, Su Z, Deng R, et al. Effects of L-carnitine, erythritol and betaine on pro-inflammatory markers in primary human corneal epithelial cells exposed to hyperosmotic stress. *Curr Eye Res* 2015; 40(7):657-667.
288. Donnenfeld E, Pflugfelder SC. Topical ophthalmic cyclosporine: Pharmacology and clinical uses. *Surv Ophthalmol* 2009 ;54: 321-338.
289. Ciarcia R, Damiano S, Florio A, et al. The protective effect of apocynin on cyclosporine a-induced hypertension and nephrotoxicity in rats. *J Cell Biochem* 2015; 116: 1848-1856.
290. Huang JY, Yeh PT, Hou YC. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of oral antioxidant supplement therapy in patients with dry eye syndrome. *Clin Ophthalmol* 2016; 10: 813.
291. Cui B, Liu S, Lin X, et al. Effects of *Lycium barbarum* aqueous and ethanol extracts on high-fat-diet induced oxidative stress in rat liver tissue. *Molecules* 2011; 16(11) :9116-9128.
292. Choi W, Lee JB, Cui L. Therapeutic efficacy of topically applied antioxidant medicinal plant extracts in a mouse model of experimental dry eye. *Oxi Med Cell Longev* 2016; 1(2): 1-10.

293. LanW, Petznick A, Heryati S, Rifada M, Tong L. Nuclear Factor- κ B: central regulator in ocular surface inflammation and diseases. *Ocul surf* 2012; 10(3): 137-148.
294. Galletti JG, Gabelloni ML., Morande PE, et al. Benzalkonium chloride breaks down conjunctival immunological tolerance in a murine model. *Mucosal Immunol* 2013; 6(1): 24-34.
295. Liu XF, Zhou DD, Xie T, et al. Nrf2, a potential therapeutic target against oxidative stress in corneal diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 1(2): 1-10.
296. Motohashi H, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends Mol Med*. 2004; 10: 549– 557.
297. Fujimoto K, Inomata T, Okumura Y, et al. Comparison of corneal thickness in patients with dry eye disease using the Pentacam rotating Scheimpflug camera and anterior segment optical coherence tomography. *Plos one* 2020;15(2) e0228567.
298. Liang Q, Liang H, Liu H, et al. Ocular surface epithelial thickness evaluation in dry eye patients: clinical correlations. *J Ophthalmol* 2016 ; 1(2): 1-9.
299. Roshandel D, Eslani M, Baradaran-Rafii A, et al. Current and emerging therapies for corneal neovascularization. *Ocul Surf* 2018; 16: 398-414.
300. Liu C, Song Y, Wang X, et al. The key role of VEGF in the cross talk between pterygium and dry eye and its clinical significance. *Ophth Res* 2020; 63(3): 320-331.
301. Jiang X, Lv H, Qiu W, et al. Efficiency and safety of subconjunctival injection of anti-VEGF agent–bevacizumab–in treating dry eye. *Drug Des Develop Ther* 2015; 9(1): 3043-3049.

8. EKLER

