

TC.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KORNEA YARASI OLUŞTURULAN RATLARDA RESVERATROL'ÜN
ERKEN DÖNEM İYİLEŞMEDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

HATİCE ÇİLEM PERÇİN

**VETERİNER CERRAHİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
PROF.DR. ZÜLFÜKAR KADİR SARITAŞ**

**Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
16.SAĞ.BİL.21 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2018-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Cerrahi Programı
Çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

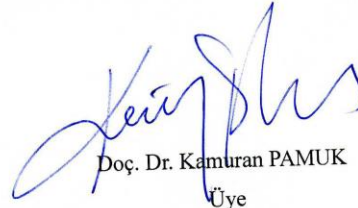
Tez Savunma Tarihi 25/06/2018



Prof. Dr. M. Doğa TEMİZSOYLU
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Başkan



Prof. Dr. Zülfükar Kadir SARITAŞ
Üye



Doç. Dr. Kamuran PAMUK
Üye

Veteriner Cerrahi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Hatice Çilem Perçin'nin "Kornea Yarısı Oluşturulan Ratlarda Resveratrol'ün Erken Dönem İyileşmedeki Etkisinin Araştırılması" başlıklı tezigünü saat.....'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zülfükar Kadir SARITAŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Korneal yara sağaltımı insan ve hayvan için çok önemli yollar katederek günümüze kadar gelmiştir. Klinik pratikte özellikle kedilerde ve köpeklerde korneal yaralar sıkça karşılaşılan travmatik, şimik, termal, glakom sonrası şekillenen üveit olgularında, tırmalama, teratojenik, ateşli silah yaralanmaları ve bazen de elektrik akımının yol açtığı yanıklar sonrasında şekillenmektedir. Ancak kornea yaralanmaları açısından yaptığımız bu araştırma bir ıltır. Kornea yara iyileşmesi yönünden birçok ilaç denenmiş ve hali hazırda sıkça kullanılan sentetiklerin yanı sıra günümüzde bitkilerin de çeşitli iyileşmeye yardımcı özelliklerinden yararlanılarak bir tedavi protokolü oluşturulabilir mi sorusundan yola çıkarak bu çalışma planlanmıştır. Bu araştırmaya konu olan Resveratrol bir fitoaleksindir ki; bu maddenin kanıtlanmış antioksidan, antikanserojen, antienflamatuar, antiöstrojen ve antiangiogenik özellikleri mevcuttur. Bu noktadan yola çıkılarak çalışmada, kornea yaralarının iyileştirilmesinde Resveratrolün etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Bu projenin ve tezin planlanması, projelendirilmesi ve bilimsel bir çalışma haline getirilmesinde beni doğru yönlendiren Sayın Danışmanım Veteriner Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zülfükar Kadir SARITAŞ'a ve aynı zamanda tezime katkılarından dolayı Prof.Dr. İbrahim DEMİRKAN'a, Doç.Dr. Kamuran PAMUK'a ve Doç.Dr. Musa KORKMAZ ve Dr.Öğr.Üyesi M. Volkan YAPRAKCI hocalarıma, Veteriner Patolog Dr.Öğr.Üyesi Mehmet Fatih Bozkurt'a, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Aziz Bülbül'e ve en çok canım annem ve kardeşlerime ve de ışıklar içinde uyusun canım babama teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Çizelgeler Dizini...	vii
Şekiller Dizini	ix
Resimler Dizini	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Sağlıklı Göz ve Anatomisi	1
1.2 Görme Fizyolojisi	2
1.2.1. Hayvanlarda Gözün Embriyolojisi	4
1.3 Kornea ve Anatomisi	5
1.3.1 Kornea Embriyolojisi	6
1.3.2 Kornea Patolojisi	7
1.3.3 Korneanın Oksijen ve Besin Desteği	8
1.3.4 Kornea Neovaskülerizasyonu	8
1.3.5 Kornea Reaksiyonları	11
1.3.6 Kornea ve Kornea Yaraları	12
1.3.6.1 Epitel	15
1.3.6.2 Stroma	15
1.3.6.3 Desement Zarı	16
1.3.6.4 Endotelyum	16
1.4 RAT (Sıçan)	17
1.4.1 Rat Göz Embriyolojisi	18
1.4.2 İnsan ve Rat Göz Yapısı	18
1.5 Kornea Yara İyileşmesi	20
1.5.1 Epitel Katmanının İyileşmesi	20
1.5.2 Stromal Katmanının İyileşmesi	21
1.5.3 Avasküler İyileşmesi	21
1.5.4 Vasküler İyileşme	22
1.5.5 Endotelyumun İyileşmesi	23

1.6 Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	24
1.7 Kornea Yaralarında Günümüze Kadar İyileşmede Kullanılan Maddeler ve Cerrahi Teknikler	27
1.8 Polifenoller	29
1.8.1 Resveratrol	30
2. GEREÇ VE YÖNTEM	37
2.1. GEREÇ	37
2.2. YÖNTEM	39
2.2.1. Kornea Yarası Oluşturma Modeli	39
2.2.2. Anestezi ve Operasyon Protokolü	42
2.2.3. Biyokimyasal Değerlendirme	43
2.2.3.1. Serumda MMP-9 Düzeyinin Belirlenmesi	43
2.2.3.2. NO ölçülmesi	43
2.2.3.3 Serumda MDA düzeyinin belirlenmesi	44
2.4. Histopatolojik Muayene	45
2.5. İstatistiksel Değerlendirme	46
3. BULGULAR	47
3.1. Biyokimyasal Analiz Bulguları	47
3.2.Histopatolojik Muayene Bulguları	52
3.3. Postoperatif Muayene Bulguları	58
4. TARTIŞMA	64
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
ÖZET	74
SUMMARY	76
KAYNAKLAR	78
	76

SİMGELER ve KISALTMALAR

PTF	Prekorneal Gözyaşı Katmanı
KNV	Kornea Neovaskülarizasyonu
VEGF	Vasküler Endotelyal Growth Faktör
ENF	Epitelyal Neurotrofik Faktör
alfa- Anti-TNF	Antitümör Nekrozis Faktör-alfa
EDNR	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
PMNL	Polimorf Nükleer Lökositler
PLATG	Işığa Duyarlı Doku Yapıştırıcıları ve Yapıştırma Teknolojileri
MMC	Mitomycin C
EGF	Epidermal Büyüme Faktör
S1SCB	Site 1 Sodyum Kanal Blokörü
TTX	Tetradoksin
KKT	Kornea Konjunktival Transpozisyon
LKHT	Limbal Kök Hücre Transplantasyonu
LKH	Limbal Kök Hücre
COX 1	Siklooksijenaz 1
KVH	Kardio Vasküler Hastalıklar
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
LTB4 ve LTC4	Lökotrien B4 ve C4
MAPK	Mitojen Aktive Edilmiş Protein Kinaz
RES	Resveratrol
T47D	İnsan Meme Kanseri Hücresi
DU-145, PC-3 ve JCA-1	Prostat kanser hücresi
NO	Nitrik oksit
MMP-9	Matrix Metalloproteinaz
AOS	Antioksidan Kapasitesi-Statü
MDA	Malondialdehit
KT	Kornea transplantasyonu
AA	Araşidonik asit platelet agregasyonu
TCA	Trikloroasetik asit
BDP	Bağ Doku Proliferasyonu
YHİ	Yangısel Hücre İnfiltrasyonu

EHR	Epitel Hücre Rejenerasyonu
HE	Hematoksilen-Eosin
SD	Standart Sapma
VaCl3	Vanadyum Klorür
NEED	Etil Enidyamin
TBA	Tiobarbitürik Asit
SOD-1	Süperoksit Dismutaz-1
HO-1	Hem-oksijenaz-1
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
IL-1 β	İnterlöykin 1 Beta
TNF-	Alfa Tümör Nekrozis faktör
N	1 Naftil
İNOS	İndükleyici Nitrik Oksit Sentetaz Enzimi -1
rpm	Dakikada Yarım Tur Dönme
mm	Milimetre
μ m	Mikrometre
mm ²	Milimetrekare
mg/kg	Miligram/kilogram
mV / mm	Milivolt/milimetre
u/ml	Ünite/mililitre
mg/l	Miligram/ litre
μ M	Mikromolar
nm	Nanometre
cm	Santimetre

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. İnsan ve hayvanların oküler yapılarının boyutlarının karşılaştırılması.	19
Çizelge 3.1. Gruplarda NO, MDA, AOS ve MMP-9 düzeyleri.	47
Çizelge 3.2. BDP (Bağ doku proliferasyonu)	54
Çizelge 3.3. YHİ (Yangısel hücre infiltrasyonu)	54
Çizelge 3.4. EHR (Epitel hücre rejenerasyonu)	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Göz Anatomisi	2
Şekil 1.2 Gözün Görme İşlevi	3
Şekil 1.3 Akomodasyon Mekanizması	7
Şekil 3.1. Serum NO düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı gruplar arasındaki dağılımı.	48
Şekil 3.2. Serum MDA düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı gruplar arasındaki dağılımı.	49
Şekil 3.3. Serum AOS düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı gruplar arasındaki dağılımı.	50
Şekil 3.4. Serum MMP-9 düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı gruplar arasındaki dağılımı.	51
Şekil 3.5 BDP (Bağ doku proliferasyonu)'nun Grup K ve Grup R arasındaki oranın grafik olarak ifadesi.	55
Şekil 3.6 YHİ (Yangısel hücre infiltrasyonu)'nun Grup K ve Grup R arasındaki yüzdelerin grafik olarak gösterilmesi.	56
Şekil 3.7 EHR (Epitel hücre rejenerasyonu)'nun Grup K ve Grup R arasındaki oranın yüzdelerinin grafik olarak ifadesi.	57

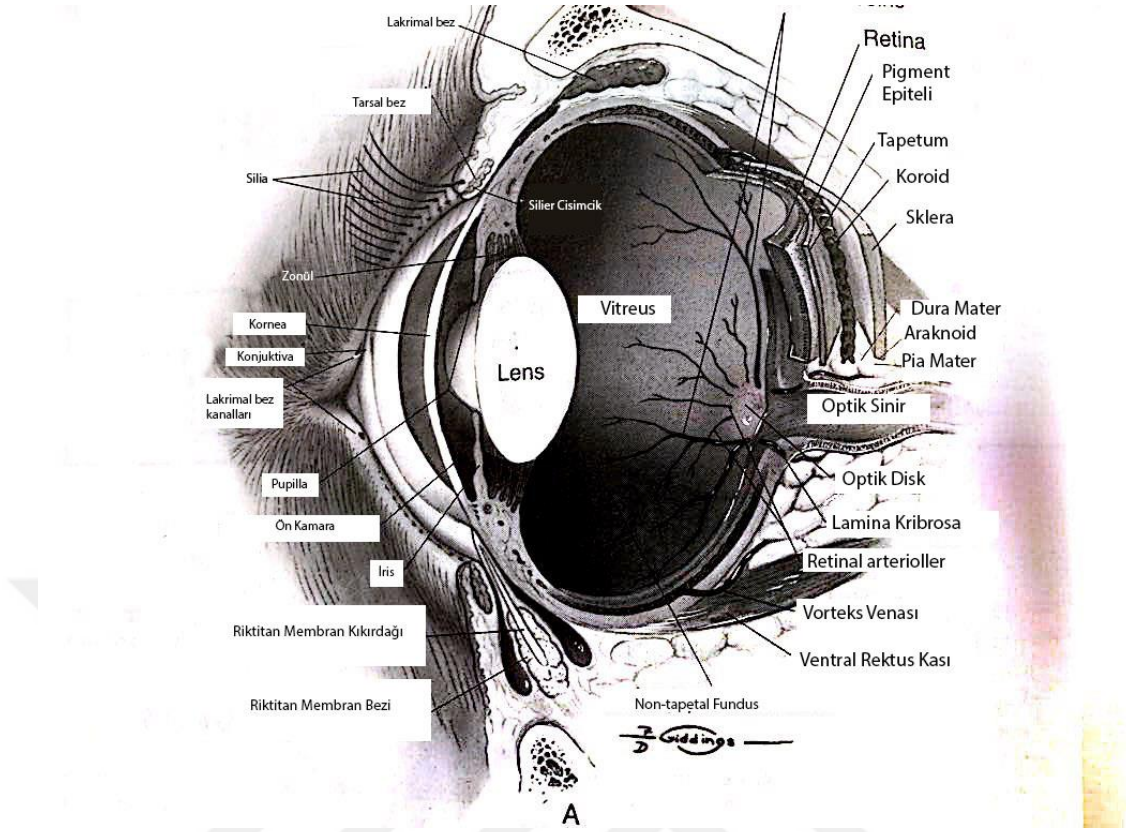
RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1 Mikrocerrahi göz seti	37
Resim 2.2 Resveratrol (Solgar) poligonum cuspidatum içeren 60 kapsül.	38
Resim 2.3 Zeis KF titan marka lup.	38
Resim 2.4.a Kornea yara hattına dikiş uygulaması.	40
Resim 2.4.b Oluşturduğumuz kornea kesi yarasına 10/0 naylon iplikle dikiş konulması.	40
Resim 2.4.c Kornea yarasına dikiş uygulaması.	41
Resim 2.4.d Kornea yarasına konulan dikişin görüntüsü.	41
Resim 2.5 Tarsorafi uygulanmış denek.	42
Resim 3.1 Kontrol grubunda dokunun histopatolojik görünümü.	52
Resim 3.2 Resveratrol grubunda dokunun histopatolojik görünümü.	53
Resim 3.3 Kontrol grubunda yara hattının 11. gün görünümü (Tam iyileşme sağlanmış)	58
Resim 3.4 Resveratrol grubu denekte kornea yarası üzerinde iyileşmenin gözlemlendiği görünüm.	59
Resim 3.5 Sakrifikasyon günü (11. Gün) korneanın ve dikişlerin görünümü	59
Resim 3.6 Kontrol Grubu 2 nolu olguda dikiş hattının 11. gündeki görüntüsü (Neovaskülerizasyon oluşumu).	60
Resim 3.7 Resveratrol grubu 5 nolu olguda neovaskülerizasyon oluşumunun görünümü.	60
Resim 3.8 Resveratrol grubu denekte kornea yara hattına konulan dikişlerin alınması.	61
Resim 3.9 Resvetartrol grubunda dikişler alındıktan sonra korneanın görünümü.	61
Resim 3.10 Res Grubu 1. nolu olgunun dikişler alındıktan sonraki 11. gün görünümü.	62
Resim 3.11 Kontrol Grubu 5 nolu olgu (11. gün opasite görünümü).	62
Resim 3.12 Kontrol Grubu 1 nolu olgu (11.gün opasite görünümü).	63

1.GİRİŞ

1.1 Sağlıklı Göz ve Anatomisi

Göz, görme işlemini yüklenmiş önemli bir organdır. Hayvanlarda beş duyu organı arasında dış etkilere ve hastalıklara karşı en duyarlı olanıdır. Bulbis oculi (göz yuvarlağı) eklenti organları ile birlikte orbita (göz çukurluğu) içine oturmuştur. Orbita içten corpus adiposum, dıştan da palpebra inferior ve palpebra superior (göz kapakları) tarafından oldukça iyi şekilde korunmuştur. Göz hareketlerini sağlayan kas sistemiyle apparatus lacrimalis bulbis oculi ile birlikte bir bütün oluşturur. Göz, sadece görme işlemini yüklenmemiş olup aynı zamanda retina, nervus opticus ve chiasma opticusun görme merkeziyle olan bağlantıları dışında da önemli beyin merkezleriyle dolaylı ilişkisi olan bir yapıdır. Bu dolaylı ilişki su ve şeker metabolizmasıyla bağlantılı olduğu kadar seksüel dürtülerle de ilgilidir. Bulbis oculi birbirini üzerine yaslanmış üç katmandan oluşur. Bunlar; dış katman, orta katman ve iç katman olarak üç katmandır. Dış katman, Tunica fibrosa bulbi'dir. Kornea ve Sklera olarak ikiye ayrılır. Kornea ise epitelyum anterioris cornea, lamina limitans anterior (Bowman zarı), substansia propria cornea (Stroma), lamina limitans posterior (descement), endothelium camerae anterioris (Endotel) olarak beş katmandır. Orta katman, Tunica Vasculosa bulbi gözün beslenmesinde görevli vasküler ve pigmentli bir katmandır. Tractus uvealis'i içerir. İris, corpus ciliare ve choroidea olarak ayrılır. İç katman ise, Tunica interna bulbi innervasyonda görevlidir. Retina bu katmandadır. Papilla nervi optici 'yi içerir. Bulbis oculinin saydam ortamları; cornea, humor aqueous, lens cristallina ve corpus vitreum'dur. Lens cristallina capsula lentis ve corpus lentis'ten oluşur (Akın ve Samsar, 1999).

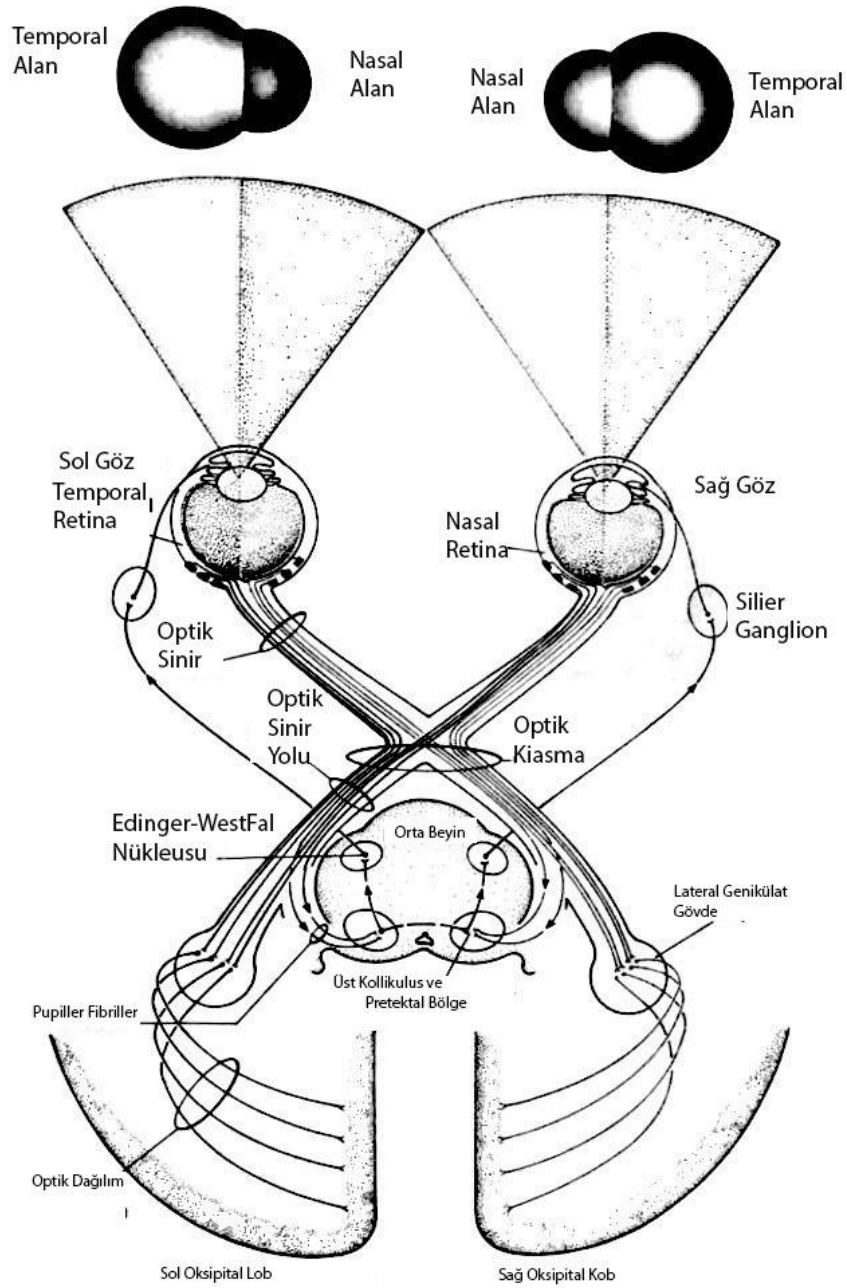


Şekil 1.1 Göz Anatomisi

1.2 Görme Fizyolojisi

Görme organı olan göz, bir fotoğraf makinasının yapısındaki gibi bir işleve sahiptir. Göz üzerine yansıyan ışınlar başta kornea olmak üzere humor aqueous, lens (lens cristallina), corpus vitreum gibi birbirinden az çok farklı yoğunluktaki ortamları geçerek kırılır. Görülen cisim küçük ve ters bir görüntü halinde retinaya veya ona yakın bir yer üzerine düşer. Refraksiyon (kırılma), kornea ile lensin arka yüzeyleri üzerinde oluşur. Refraksiyon işleminde asıl görev korneanın üzerine yüklenir. Kornea dışında humor aqueous, substansia lentis'in de refraksiyon ortamı oluşumunda etkinlikleri gözlenir. Göze gelen ışınların miktarlarının ayarlanmasında başta göz kapaklarıyla pupillalar görev alır. Özellikle pupillanın reflektörük olarak myosis ve mydriasis durumuna girmesi, ışığın ayarlanması yönünden önemlidir. Retinaya kadar ulaşan ışınların bir bölümü, retinanın derin katmanları tarafından

absorbe edilirken oluşan fotokimyasal reaksiyonlarla ışık, sinirsel impulslara dönüşür. Oluşan bu sinirsel impulslar retinanın en iç katında yer alan sinir liflere, oradan da nervus opticus'a iletilir. Süregelen bu impulslar, sinir uzamınca ilerleyerek cerebrum'un occipital lobuna ulaşırlar ve böylece görme işlevi tamamlanır (Akın ve Samsar, 1999).



Şekil 1.2 Gözün Görme İşlemi

1.2.1 Hayvanlarda Gözün Embriyolojisi

Gözün gelişmesinde çeşitli embriyo yapraklarının katılması ile özellikle de ektoderm ve bundan differensiyasyon olan merkezi sinir sistemi önemli rol oynar. İlk önce, diencephalon'un yan duvarında bilateral evaginasyon oluşur. Recessus opticus adını alan bu evaginasyonlar, daha fazla uzayarak taslak halindeki foramen orbitalis'ten geçer ve fossa orbitalis'e yerleşirler. Recessus'ların fossa'daki uç kısımları sonradan balon şeklinde genişleyerek vesicula optica'yı (göz keselerini) meydana getirir. Zamanla genişleyen vesicula optica, fossa orbitalis'i dıştan saran deriye ulaşır. Kısa zaman sonra da bu deriye bakan yüzü, invagine olmaya başlar ve göz kadehi (calices opticus) oluşur. Bu gelişme devam ederken calices opticus'un karşısındaki ektoderimde başlayan bir hücre üremesi ile üreyen bu hücreler calices opticus'a doğru bir kümelenme ile çökmeye başlar. Daha sonra bu kümenin ektoderimle olan bağlantısı da kaybolarak calices opticus karşısında içi epitel hücreleri ile dolu yuvarlak, düğmeye benzeyen bir cisim ortaya çıkar. Bu oluşum lens cristallina adını alır. Aynı anda mezoderm'de calices opticus'u da dıştan sarak ilerler ve kadehin ön yüzünde iki bölüme ayrılır. İçteki bölüm, lens cristallina'yı sabitlemek için ona yapışır; bu kısım corpus ciliare'yi meydana getirir. Dıştaki bölüm ise serbest kenarla lensin ön yüzünde sonlanır ve iris'i meydana getirir. İris'in sonlandığı noktada bir boşluk olarak pupilla yer alır. Mezodermin calices opticus çevresindeki esas kısmı damar bakımından zengin olduğundan tunica vasculosa (chorioidea) adını alır. Gözün iç tabakası olan calices opticus da tunica nervosa (retina) adını alır. Tunica vasculosanın dış tarafındaki mezoderm fazla ipliksel karakter kazanarak kalınlaşır ve tunica fibrosa'yı (sclera) meydana getirir. Tunica fibrosanın ipliksel bağ dokusu önde ektoderme doğru ilerleyerek ona iç kısımdan yapışır ve iki tabakadan ibaret (içte mezoderm ve dışta ektoderm) şeffaf bir zar olan kornea'yı yapar. Kornea'nın arka yüzündeki epitel, mezodermden oluşan bağ dokusu menşeli endoteldir, tek katlıdır, camera oculi anterior'u sınırlandırılır. Ön yüzdeki epitel ise ektodermal olup çok katlı yassı karakterdedir. Korneanın oluşumunu takiben ön yüzdeki ektodermal epitel, bulbus oculinin üst ve alt yarımalarında geriye doğru kıvrımlar yaparak palpebraları oluşturarak tamamlar (Hassa, 1978).

1.3 Kornea ve Anatomisi

Sağlıklı korneanın avasküler yapıda olmasının nedeni net görmeyi sağlamak içindir (Yuvarlak ve Özdek, 2014).

Kornea, sklera ile gözküresinin dış fibröz katını oluşturur. Kornea anterior'da, sklera ise posterior'da konumlandırılmıştır (Şaroğlu, 1999).

Kornea son derece duyarlı ve zengin bir sinir ağına sahiptir ve hastalıklarında şiddetli ağrı ve fotofobi oluşur. Kornea kalınlığı ortalama 1 mm kadardır ve türlere göre değişir. Korneada iyileşme, stromada avasküler iyileşme ve vasküler iyileşme şeklindedir (Akın ve Samsar, 2005).

Epitel tabaka ise kendini yenileyebilme özelliğindedir. Stroma, miyelinsiz sinir uçları, fibroblastlar, düzenli dağılmış kollajen fibriller ve matriksten meydana gelir. Fibriller limbustan limbusa korneanın tüm çapını kat ederler. Oluşturdukları boşluklar matriks tarafından doldurulmuştur. Fibroblastlar, kollajen ve matriksin salgılanmasından sorumludur. Yaşla birlikte aktivasyonlarında azalma olur. Stromada hücre sayısı azdır ve çoğalma yetenekleri olmadığından burada oluşan hasar ve deformasyonlar kalıcıdır. Endotel tabakası, korneanın tek katlı hücrelerinden oluşmuştur. Mikroskop altında bal peteği şeklinde görülmektedir. Desement zarının oluşumunu ve hayat boyu devamlılığını sağlarlar. Endotel hücreler yaşla beraber ölmeye başladığında descement zarında kalınlaşma olurken, endotel tabakasında incelme meydana gelir. Ana görevi stromadaki fazla sıvıyı alıp korneanın şişmesini engelleyerek saydam kalmasını sağlamaktır (Muzoğlu, 2013).

Korneanın, ön yüzü gözyaşı film tabakası ile arka yüzü humor aqueous ile temas ederken yanında ise sklera, opak görünümde ve onu örten yarı saydam konjunktiva vardır. Korneanın şekli, büyüklüğü ve optik özellikleri, yaşla birlikte biraz değişir (Doğan, 2009).

Kornea hayvan türlerine göre farklılık arzeder. Ergin atlarda yatay uzunluğu 32-

38mm, vertikal uzunluğu 26-28 mm kadarken; köpeklerde çapı 12,5 x17 mm ve yuvarlağa yakın şekillidir. Atlarda 17 mm'lik bir eğimle ışığı kıran bir dış bükeyliği vardır. Kalınlığı da 0,56 mm'dir. Köpeklerde merkez kalınlığı 0,73-0,95 mm, periferde ise 0,6-0,8 mm kadardır. Sığır ve köpeklerde korneal merkezde kalınlık fazladır. Atlarda ise bu kalınlık limbusta gözlenir. Köpeklerde epitel katman 0,08mm, stroma ise 0,5-0,6 mm kalınlığındadır. Stroma korneal kalınlığın ortalama %90'nını oluşturur. Atlarda endotel katı (descement kat) fibroelastik bir yapıda olduğundan diğer hayvanlardan farklı bir şekilde son derece dayanıklıdır (Akın ve Samsar, 2005).

Kedi ve köpeklerde korneal incelik oranı farklılık arzeder. Kedi korneal incelik oranı 469µm'den 832 µm ve köpek korneal inceliğı ise 409 µm ile 784 µm arasındadır. Köpek kornea ölçüleri 12 mm'den 16 mm'ye vertikal, 13 mm'den 17 mm'ye horizontal olarak değışir. Kedilerde ise kornea inceliğı vertikal 15 mm ile 16 mm'ye, horizontal inceliğı ise 16 mm'den 17 mm 'ye kadardır (Nasisse, 1997).

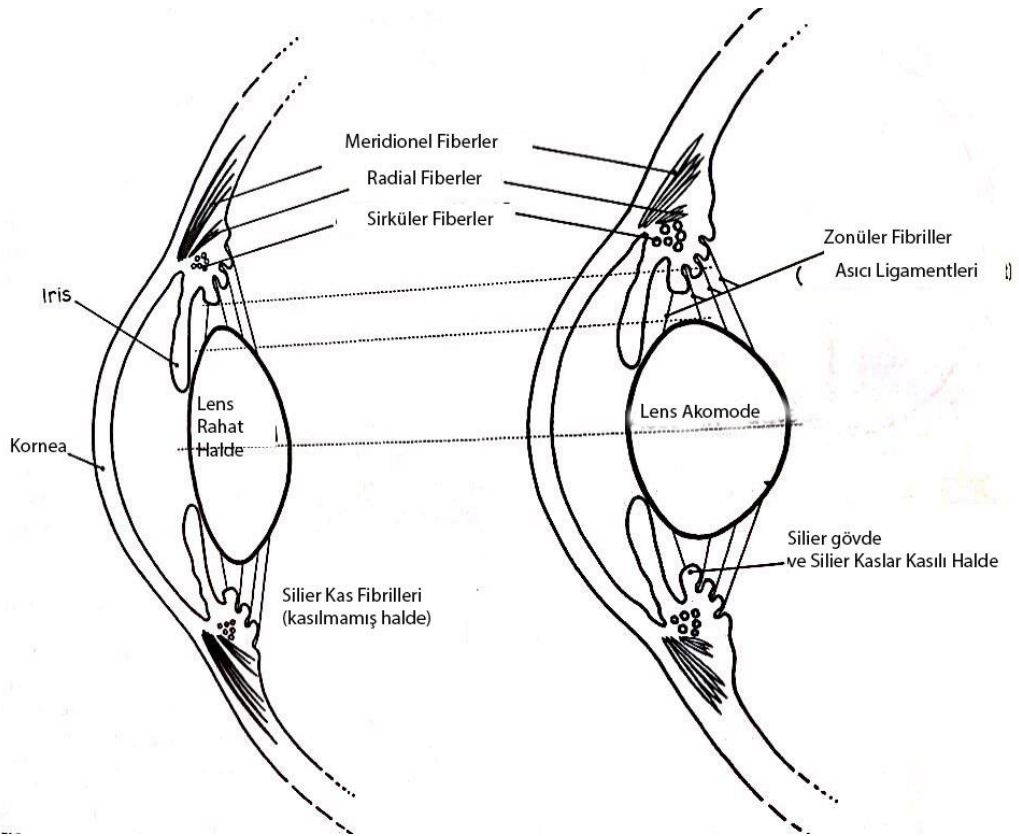
Korneanın saydam yapısı çeşitli faktörlere bağılıdır. Bu faktörler ise kan damarı, lenfatik damarlar ve bu sistemlere ait hücrelerin bulunmaması; pigment olmaması; mineral ya da lipid depolarının olmaması; su girişinin kontrolü ile relatif dehidrasyonun devam ettirilmesi; kollajen fibrillerin düzenli bir şekilde çok iyi organize olmasıyla, ışığın kırılarak bulanık bir görüntü oluşumunun önlenmesi; prekorneal göz yaşı tabakası ile sağlanan düzgün bir optik yüzey bulunması gibi faktörlere bağılıdır (Collins, 1993; Murphy ve ark, 1996; Slatter, 1990).

1.3.1 Kornea Embriyolojisi

Kornea epitelyumu ektoderm'den, stroma, desement membran ve endotelyum (mezotelyum) mezoderm'den köken alır. İlk önce endotelyum hücreleri farklılaşır ve anteriorunda desement membranı oluşturur. Anterior lens kapsülü ile kornea arasında mezodermden iki boşluk şekillenir. Bunlar, iris ve kornea arasında camera oculi anterior'dur. Pupillar membranın ortadan kalkmasından sonra adı geçen bu iki boşluk

pupilla aracılığıyla birbirine bağlanır. Epitelyum ile endotelyum arasında gelişen mezoderm, korneal stromayı şekillendirir. Buradan sklera olarak devam eder (Slatter, 1990).

Gözün büyük yapılarının embriyolojik orijini çeşitlidir. Korneanın merkezinde bulunan endotelyum nöral tepe hücrelerinden üretilmiştir. İrisin ve siliyar cismin retina ve epitelyal yapısı anterior nöral plakadan, lens ise ektoderm yüzeyinden ve korneal epitelyum epidermal ektodermden farklılaşır (Zavala, 2013).



Şekil 1.3 Akomodasyon mekanizması

1.3.2 Kornea Patolojisi

Limbal damarların, humor aquaseus ve PTF'nin (prekorneal gözyaşı katmanı) kalitatif ve kantitatif yıkımlanmaları sık sık korneanın adaptasyonel ve dejeneratif

değişiklikleri oluşur. Korneal epitelyumun yıkımlanması, oluşan yıkımın süresi ve şiddetine bağlı olarak metaplazi veya ülserle sonuçlanır. Genelde, artan şiddette ve uzun süreli yıkımlanmalar (keratokonjunktivitis sikka, trikiasis v.b.), skuamos metaplazi, keratinizasyon ve pigmentasyonla sonuçlanmaktadır. Metaplazi, irritasyon kaldırıldığında biraz gerileyebilir, irritasyon daha süratli ya da daha büyük şiddetle olur ise dekompenzasyon sonucu ülserasyon gelişebilir (Peiffer ve ark., 1991).

1.3.3 Korneanın Oksijen ve Besin Desteği

Epitel ve endotel hücre aktivasyonu yüksektir. Saydamlığın ve dehidratasyonun sürdürülebilmesi için metabolik aktivasyonun sağlanması şarttır ve bu da glukozdan elde edilen enerji ile mümkündür. Oksijenli glikolizde glukozun kaynağı humor aquaseus, oksijenin kaynağı ise ağırlıklı olarak gözyaşıdır. Göz kapakları kapalı olduğunda ise yüzeysel limbal-konjunktival damarlardan gaz geçişi ile korneanın oksijen ihtiyacı karşılanır. Kornea karbonhidrat, vitamin ve aminoasit gibi besin ihtiyaçlarını limbustaki damarlardan ve endotelden aktif transport veya diffüzyon aracılığı ile humor aqueous'dan karşılar. Karbondioksit ve diğer metabolik ürünler de benzer yollarla gözyaşı filmine, limbal damarlara ve humora geçer (Doğan, 2009).

1.3.4 Kornea Neovaskülerizasyonu

Kornea neovaskülerizasyonu (KNV), ilk olarak 1787 yılında tanımlanmıştır (Folkman, 2008).

Korneanın şeffaflığının azalmasına ve görme kaybına neden olan yeni damarların oluşumudur (Yüksel, 2009).

Anjiogenez ya da neovaskülerizasyon, intrauterin ve extrauterin hayatta fizyolojik

ve patolojik olarak yeni kan damarlarının oluşması olayıdır. Erişkin yaşta anjiyogenez, fizyolojik ve patolojik hallerde ki bunlar, yara iyileşmesi, kronik inflamasyon, diyabetik retinopati, sekonder keratit, romatoid artrit ve neoplazi vs.'de oluşabilir (Dağlıoğlu, 2001).

Korneada anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasında denge bulunmaktadır. Anjiyogenez, bu dengenin değişik nedenlerle anjiyogenik faktörler lehine bozulmasıyla oluşur. Fizyolojik anjiyogeneizde normal kan damarları yapısı düzenli ve birbirinden yakın boşluklarla ayrılmış bir biçimde dağılım gösterirken, elastik ve musküler arterler, arterioller, kapillerler, postkapiller venüller ve venler şeklinde hiyerarşik bir düzen içindedirler. Patolojik anjiyogeneizde ise indüklenen yeni kan damarlarının yapısı ve fonksiyonları anormaldir ve bu damarlar, dağınık bir biçimde yayılırlar, düzensiz dallanırlar, arteriovenöz şantlar oluştururlar ve hiyerarşik bir paterne uymazlar. Yapısal ve fonksiyonel açıdan heterojen, değişken ve farklı biçimde penetre olurlar. Plazma proteinlerine karşı geçirgen ve yüzeylerinde pek çok büyüme faktörü reseptörlerini taşırlar (Bucak, 2012)

Kornea neovaskülerizasyon tedavisinde temel yöntem, etiyolojik tedavi ve mevcut damarın oklüzyonudur. En etkili yöntem ise korneal greft reddinin önlenmesinde öncü bir tedavi basamağı olan steroid kullanımıdır. Lökosit göçünü azaltarak, prostaglandin sentezini baskılayarak, kapillar geçirgenliği engelleyerek kornea neovaskülerizasyonunu önleyerek etki eder. Ratlarda intraperitoneal 0.5mg/kg dozda dexametazon uygulamasının vaskülerizasyonu inhibe ettiği bir deneysel çalışmada oksijenin de tedaviye eklenmesi ile birlikte additif etkinlikle vaskülerizasyon ve VEGF'in (vasküler endotelial growth faktör) baskılandığı saptanmıştır. Bevacizumabmurin monoklonal antikorudur. Tavşanlarda yapılan bir deneysel çalışmada VEGF düzeyinin azaldığı Bevacizumab ile yapılan tedavide belirgin şekilde damarlanmanın da azaldığı bildirilmiştir (Abdulgani, 2007).

Neovaskülerizasyon veya anjiogenezis, yeni kan damarlarının oluşumudur ve yara iyileşmesi sürecinde hasarlı dokunun onarılmasına, yenilenmesine ve dokuda büyümenin şekillenmesine eşlik eden bir süreçtir. Fizyolojik anjiogeneiz doku

gelişimi, menstrüel döngü ve yara iyileşmesi gibi olaylarda önemli rol oynar. Ancak göz hastalıklarında, özellikle kornea yaralanmalarında neovaskülerizasyon, istenmeyen ve görmeyi tehdit eden bir durumdur. Özellikle inflamatuvar hastalıklar, enfeksiyonlar, dejeneratif veya travmatik hastalıklar korneal neovaskülerizasyonun indüklenmesinde rol oynayabilirler. Kornea neovaskülerizasyonunda rol alan faktörlerin bir kısmı kornea epiteli, stroma ve kornea endoteli tarafından üretilirken gözyaşı ve aqueous humor da anjiogenezis için kaynak teşkil etmektedir. Diğer bazı faktörler ise lokal ve sistemik dolaşımdan korneaya gelerek özellikle VEGF proteolitik aktivitesi, endotel hücre çoğalması ve kapiller tüp oluşumu gibi anjiogenezisin birçok basamaklarında görev alır. İnsan ve hayvan kornealarında inflamasyonda ve vaskülerizasyonda VEGF'in artmış olduğu bilinmektedir. Neovaskülerizasyonun engellenebilmesi için birçok tedavi şekli denenmiştir. Argon ve Neodymium: Nd:YAG lazer fotokoagülasyonu, fotodinamik tedavi, kortikosteroidler, siklosporin-A, somatostatin analogu oktreotid, TNF- α (antitümör nekrozis faktör-alfa), antiintersellüler adezyon molekülü, suleparoid (heparan sülfat), talidomid, suramin, genistein, rapamisin, anjiostatin, metotreksat gibi doğal ve sentetik maddelerin denenmesine rağmen kornea neovaskülerizasyonu önlenmesi halen önemli bir problemdir. Ancak, Trastuzumab adında bir antikor, meme kanseri tedavisinde insan epidermal growth faktörü, reseptör 2 proteinine karşı koyarak etkili olmuştur. Bu antikor yapılan bir çalışmada korneal neovaskülerizasyonunun önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Ranibizumab, rekombinant monoklonal bir antikordur ve neovasküler makula dejenerasyonu tedavisinde kullanılırken korneal neovaskülerizasyon inhibisyonunda da kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Yine bir oligonükleotid olan Pegaptanid, korneal neovaskülerizasyonda denenmiş ve olumlu sonuç vermiştir (Şener, 2009).

Yapılan bir diğer araştırmada ilk olarak Furchgott ve Zawazki tarafından tanımlanmış olan EDNR (endotel kaynaklı gevşetici faktör) ve vazomotor düzenleyici etkiye sahip bir molekül olan NO'nin (nitrik oksit) kornea damarlanması üzerine etkisi araştırılmıştır. NO'un konjunktiva gibi damarlı yapılarda vazodilatasyon, retinada ise nöron iletimi ve fotoreseptör dış segmentlerinin fagositozu gibi olaylarda rol aldığı bilinmektedir. Üveit olgusunda ise İNOS

(indükleyici nitrik oksit sentetaz enzimi) tarafından fazla miktarda NO üretimi ile inflamasyonunun artmasına yol açtığı bilinmektedir. Araştırma sonucunda ise şiddetli korneal alkali yanık yarısında yanığa bağlı damarlanma cevabını arttırdığı ve NO'nun kornea damarlanmasında olduğu gibi artmış damarlanma halinde endojen bir inhibitör olarak etki ettiği görülmüştür (Dağlıoğlu, 2001).

Korneal neovaskülerizasyonu azaltmak için topikal kortikosteroidler sıkça kullanılmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalarda ayrıca izoflavonoidler, doksisisiklin, spironolakton, topikal IL-1 reseptör antagonistleri de kullanılmaktadır. Anjiogenezis tedavisinde argon lazer fotokoagülasyon, vertoporfin ile fotodinamik tedavi ve damarların direkt koterizasyonu gibi tedavi yöntemleri de kullanılabilir. Ek olarak kornea neovaskülerizasyonunda limbal kök hücre ve amnion zarı transplantasyonu yararlı olmakta iken, yeterli değildir ve araştırmalar hala devam etmektedir (Doğan, 2009).

Yapılan bir diğer çalışmada Dovitinib kornea neovaskülerizasyonunu azaltmak için kullanılmıştır. Dovitinib yeni geliştirilen (faz 4 aşamasında) çok hedefli-tirozin kinaz inhibitörüdür ve VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, VEGFR-4, FGFR-1, FGFR-3, PDGFR tirozin kinazlarını inhibe etmektedir. Çalışmanın sonucunda, dovitinibin etkin bir şekilde kornea neovaskülerizasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Şahan, 2016).

1 3.5 Kornea Reaksiyonları

Ödem, vaskülerizasyon, sikatriks şekillenmesi, pigmentasyon, hücrel infiltrasyon, yangıya bağlı korneal dejenerasyondur (Şaroğlu, 1999).

Korneal ödem, stromaya fazla miktarda su girmesi sonunda şekillenen durumdur. Korneal kollajen lamellerin birbirlerinden ayrılmasına yol açar. Su dengesinin normal sınırlara dönmesiyle ortadan kalkar. Kronik ödem vakaları vaskülerizasyon ya da bullöz keratopati ile sonuçlanır. Hipertonik solüsyonlar (%5'lik NaCl, %49'luk Glikoz) ve gliserin sık kullanılarak ödemin ortadan kalkması sağlanır (Akın ve

Samsar, 1999).

Vaskülerizasyon, patolojik durumlarda korneada kan damarlarının gelişimi organizmanın yanıtıdır. Stromada oluşursa yüzlek ya da derin tip vaskülerizasyon şeklindedir. Yüzlek damarlanmada damarlar parlak kırmızı, derin damarlanma ise koyu renkli, kısa ve düzensizdir. Genelde damarların derinliği kornea lezyonlarının da derinliğini gösterir (Akın ve Samsar, 1999).

Korneal skar oluşumu, kornea stromasının yıkımlanmasından sonra gelişen iyileşme, bölgedeki keratositler ve çevreden gelen fibroblast ve makrofajlar tarafından oluşturulur (Akın ve Samsar, 1999).

Korneal pigmentasyon, şiddetli ya da orta derecedeki kronik korneal inflamasyona nonspesifik bir yanıttır. Korneal pigmentasyon, limbal ve perilimbal dokuda bulunan melanositlerin migrasyonundan meydana gelir (Öztürk, 2006).

Uyaranın ortadan kaldırılmasından sonra pigmentasyon durur. Kronik korneal hastalıklar, keratitis ülseroza ve kornea perfore yaralarından sonra olduğu gözlenir. Hücresel infiltrasyon, yangılaşma sırasında lökositler gözyaşı tabakasıyla limbal ya da neovaskülerizasyon ile humor aqueous yolu ile gelerek infiltrasyonu oluştururlar (Sancak, 2009).

Yangıya bağlı korneal dejenerasyon, lipit ya da kalsiyumun beraber ya da ayrı ayrı birikimi sonrasında oluşan yıkımlanmayı tanımlar. Kornea epitelyumunda ve stromada daha önce şekillenen bir hastalık örneğin kornea ülseri, üveitis ya da phthisis bulbi nedeniyle sekonder olarak ortaya çıkar (Şaroğlu, 1999).

1.3.6 Kornea ve Kornea Yaraları

Kornea göze gelen ışınların görme merkezine kolay iletilmesine yarayacak şekilde saydam ve avasküler yapıdadır. Dyalisis yoluyla beslenir (damar

pleksuslarından ve çevre dokulardan gelen sızıntı şeklinde). Beslenmede dyalisis'in yanı sıra az da olsa humor aquoseus ve göz yaşının da payı vardır. Yapısında çok miktarda protein, az miktarda globulin, albumin ve kollagen bulunur. Yara iyileşmesinde önemli bir faktör olan kollagen, korneada büyük bir konsantrasyonda bulunur. Çabuk presipite olması sebebiyle daha derin katların yıkımlanmasını önler. Kornea epitelyum ve endotelyum katları korneanın su miktarını kontrol altında tutarlar. Stroma suya karşı çok duyarlıdır. Endotelyumda rejenere olmayan yıkımlanmalar korneada ödeme (opasiteye) neden olur (Akın ve Samsar).

Korneal yara sağaltımında başarı, tanıya bağlıdır. Sağaltımda önce mevcut ağrıyı hafifletmek ve perforasyona neden olmamak için enfeksiyonla mücadele etmek sikatrizasyonu hızlandırmak ve bunun bırakacağı sekeli en az düzeye indirmek gerekir. Korneal yaralanmalarda lokal kollajenazlarda bir artış görülür. Kollajenolitik aktivite önemlidir ve iyileşmeyi hızlandırır (Günay ve ark., 2005).

Kornea yarasının onarılması hücre adezyonu, migrasyonu, proliferasyonu, matriks depozisyonu ve dokunun yeniden modellenmesini içerir (Nagai ve ark., 2009).

İnsan korneal epitel hücreleri, oküler yüzeyin bütünlüğünü düzeltmek için yaralanma sonrasında hızla tepki verir. Yara iyileşmesi sırasında (örneğin deri, kornea vb.) hücre bölünmesi ve göçü, yaranın kapanmasını teşvik edecek şekilde yönlendirilmelidir. Kimyasal işaretler ve "yara boşluğu" varlığı, yara iyileşmesinde önemli faktörlerdir. Bununla birlikte, yara iyileşmesinde elektrik alanlarının rolü, aktif yönlü yara iyileşmesinin meydana geldiği çok çeşitli durumlarda ilişkilendirilmiştir. Bunlar arasında cilt yaraları, kornea yaraları, yengeçler ve semenderlerde yenilenen ekstremiteler vardır. Hücresel seviyede, elektrik alanlarının hücre göçünü etkilediği ve hem in vitro hem de in vivo olarak hücre bölünmesinin oryantasyonunu ve frekansını etkilediği gösterilmiştir. İnsan keratinositlerinin (cilt epitel hücreleri) katoda göç ederek fizyolojik bir elektrik alanına tepki gösterdikleri de gösterilmiştir. Korneal epitel, aktif Na^+ transport sistemi ($\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPaz}$) içerir. Tavşan ve kurbağa korneasında içe doğru sodyum iyonu akışı görülür. Na^+ ve K^+ çevresindeki dokudan yaraya doğru yönelir. Bu iyon hareketleri yara kenarı

arasında $\sim 42 \text{ mV / mm}$ ve yara kenarından 0,25 mm (yara merkezi negatif) arasında yanal olarak yönlendirilmiş bir fizyolojik elektrik alanı oluşturur. Titreşen bir prob kullanarak korneal yaralar etrafında sabit elektrik akımları ölçülmüş ve yara iyileşmesi oranı hesaplanmıştır. Elektrik alanlarının elektrotlarla doğrudan uygulanmasının cilt yaralarında yara iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir. Bir elektrik alanının uygulanması veya güçlendirilmesinin korneada ve deride yara iyileşme hızını arttırabileceği gösterilmiştir (Reid, 2006).

Kornea serbest sinir uçlarından zengin olduğu için son derece duyarlı bir yapıdadır. Anterior stroma ve kornea epitelyumunun sinirsel innervasyonu, trigeminal sinirin oftalmik dallarından uzanan, uzun siliyer sinirler ile sağlanır. Kornea sinirleri, kornea kenarında ve limbusta miyelinli, merkezde ise miyelinsizdir (Sancak, 2009).

Kornea yaraları ile ilgili ağrı olgusu köpeklerde ve ratlarda morfinin topikal kullanımı ile azaltılır (Nagai ve ark., 2015).

Son derece duyarlı sinir ağrı nedeniyle, dokunun yaralanmasında şiddetli ağrı ve fotofobi gelişir. Kornea stromasında hasar oluştuğunda 2 türlü iyileşme devreye girer. Avasküler iyileşme komplike olmayan stroma yaralarında, enfekte veya destrüktif yıkımlanmalarında ise vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi vasküler iyileşme ile sonuçlanır. Kornea avasküler ve saydam bir yapıda olduğu için bu iyileşme stromadadır. Kollajen fibriller arasında bozulmuş ayrılmaların etkisi bulbus oculiye baskı uygulanarak görülebilir duruma gelir. Bu durum intraoküler basıncı artırır, fibril yapısını bozar ve korneada bir opasiteye neden olur. Bulbus oculideki baskı kalktığında saydamlık geri döner. Kornea yaraları, kornea dokusunun bütünlüğünün bozulması olgusudur. Evcil hayvanlarda sıkça karşılaşılır. Kedilerde tırmalama, köpeklerde ise trafik kazaları, ısırılmalar sonrasında ortaya çıkar. Kornea yaraları yüzlek, derin ve perfore yaralar olarak ayrılır. Derin kornea yaraları korneanın 4 katmanının da yangılandığı bir yara tipidir. Genellikle desement zarı bütünlüğünü korur. Atlar dışında tüm evcillerde (desement zarının fibroelastik yapıda olması nedeniyle) olguda desematocel (keratocel) bir komplikasyon olarak ortaya çıkar

(Akın ve Samsar, 2005).

Ratların korneal yara iyileşme mekanizmaları insanlarınkine benzer (Nagai ve ark., 2010).

Bir tavşan modelde yapılan bir çalışmada, kornea stroma onarımı için insan adipoz deriveli kök hücre dokusu kullanılmış ve iyileşmenin hızlı olduğu görülmüştür (Zeppieri ve ark., 2013).

Vitamin B₁₂ ile yapılan bir çalışmada ise kornea hasarını takiben kısmen etkili bir onarma yolu olarak gösterilmiştir. Çünkü korneal bozukluklarda tedavide korneal sinir rejenerasyonu önemli bir rehberdir (Romano ve ark., 2014).

1.3.6.1 Epitel Katman

Korneada en dışta bulunan yassı hücreler ile korneanın %10-12' sini kaplar. Bu yassı hücrelerin zarlarında mikrovilluslar yer alır ve PTF' nin kornea boyunca bağlanmasını sağlarlar. Kornea epitelyumu basit squamöz ve non keratinize yapıdadır. Ayrıca, değişik kalınlıkta bazal epitel hücreleri, wing (kanat) hücreleri 'ni de içerir (Akın ve Samsar, 2005).

1.3.6.2 Stroma

Stroma, kornea'nın kalınlığının yaklaşık %90'ını oluştururken bu tabaka yapısının temelini organize olmuş kollajen fibrillerin oluşturduğu demetler biraraya geldiğinde lamellaları şekillendirir. Stromada ayrıca fibroblast, keratosit ve temel madde bulunur. Her bir lamella kornea yüzeyine paralel seyrederek ve tüm kornea boyunca yer alır. Korneanın saydamlığının devamlılığı için, bu lamellaların düzenli ve yüzeye paralel

konumu önemlidir. Stromadaki bu düzenli yapının bozulması korneada saydamlığın kaybolması ile sonuçlanır. Bu stromal lamellaların arasına lenfosit, makrofaj ve nötrofiller serpilmiştir. İnterstisyel boşluklar kollajen, lamella ve keratositlere ek olarak keratensülfat, kondrotin ve kondrotinsülfat-A olarak adlandırılan GAG (glikozaminoglikanlar) tarafından doldurulur ve GAG'lar kornea'da sıvı dengesinin ve lamellar düzenin korunması ile dolayısıyla kornea saydamlığının devamlılığında önemli bir role sahiptir. Keratositler kollajen, GAG ve temel maddenin mukoproteinlerini sentezleme yeteneğine sahiptir. Lamellar birbirleri arasında oldukça gevşek olarak bağlıdır bu da süperfisiyal keratektomi gibi bazı operatif girişimleri olanaklı kılar (Şaroğlu, 2013).

1.3.6.3 Desement Zarı

Endotelyumun bazal membranıdır. Yaşam boyu kalınlaşır. Stroma'nın posteriorunda yer alır ve çoğunlukla ince kollajen filamentlerden oluşur. Elastik yapıdadır. Koptuğu hallerde uçları anterior kamaraya doğru yönelir. Endotel hücreleri oluşan bu defektleri onarmak için yeni bir membran oluşturur. Bu zar flouresein boya ile boyanmaz siyah bir görüntü verir (Akın ve Samsar, 2005).

1.3.6.4 Endotelyum

Camara oculi anterioru sınırlandıran tek sıra endotel hücrelerinden oluşmuştur. Yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle bu hücrelerde çok sayıda mitokondriyal aktivite izlenir. Yaş ve ırka bağlı olarak hayvanlarda sınırlı onarım mekanizması vardır çünkü, yaş ilerledikçe endotel hücre sayısında azalma gelişir. Genç köpeklerde % 90 oranında endotel yıkımlanması olgusunda iyileşme 6 haftalık bir süreçte tek sıra hücre rejenerasyonu gözlenir (Akın ve Samsar, 2005).

1.4 Rat (Sıçan)

Alem: Hayvanlar, Şube: Omurgalı, Sınıf: Mammalia, Takım: Rodentia, Familya: Murinae, Cins: Rattus, Tür: Rattus rattus & Rattus norvegicus.

Araştırmalarda kullanılan ilk rat soyu 1906'da Amerika Philadelphia'da Wistar Enstitüsü'nde Wistar albino rat adı verilerek geliştirilmiştir. Kullanılan inbred soyların çoğu, bu Wistar albino rat soyundan köken almıştır. Genetik olarak tanımlanmış 400'den fazla inbred ve yaklaşık 50 outbred rat soyu literatüre geçmiştir. Görme işlevi zayıf ve Retina tamamen çubuk reseptörlerden oluşmuştur. Renkli olarak göremezler. Gece aktif (nokturnal) hayvanlardır. Yem tüketimini kontrol edebilirler, bu nedenle yem ve su ad-libitum verilir. Ratlar, solunum sistemi hastalıklarına duyarlı olduklarından hava akımına maruz kalmamasına ve kafeslerindeki amonyak seviyesinin yükselmemesine dikkat edilmelidir. Albino ratlarda 16 saatten fazla parlak ışığa maruz kalma katarakt ve körlüğe neden olabilir (Çay, 2011).

Kıl yapısı süt beyazı renginde, sert yapıda ve uzundur. Siyah leke veya benek yoktur. Vücut uzunluğu kadar kuyruk uzunluğu olan bu hayvan, çekingen bir karakterdedir. Pullu bir kuyruk yapısındadır. Erişkin ağırlığı 150- 200 gr'dır. Beden ısısı, 37,5 °C' dir. Solunum sayısı, 100-150 dk'dır. Kalp ritmi, 200- 300 (240) dk'dır. Ortalama yaşam süresi, 3-4 yıldır. İyi bir üretim için 4 aylık ratlar tercih edilmelir. Gebelik süreleri 20-30 gündür. Ratlar, yılboyu poliöstrik hayvanlardır. Bir doğumda 7-14 yavru doğururlar. Yılda 3-4 kez doğurtulabilirler. Emme süreleri 15-21 gündür. Yavruların doğum ağırlıkları, 7 gr'dır. Kılsız ve gözleri kapalı olarak doğarlar. Gözler 11-12 gün sonra açılır. Günlük su ihtiyaçları 15-25 ml'dir. Suluklar ayda bir kez dezenfekte edilmelidir. Beslenmeleri çok yönlü olarak özellikle hayvansal protein ve vitaminden zengin olmalı, yeşillik eksik olmamalıdır. Ratların bulundukları ortamın ısısı 18,5- 23°C olması uygundur. Nisbi nem oranı ise %45-65 arasında olmalıdır (Yavru, 1996).

1.4.1 Rat Göz Embriyolojisi

Rat lensleri oldukça büyük ve neredeyse küresel yapıdadır. Her ikisi de 21. ve 850. günler arasında normal boyutlara ulaşır. Yaşla beraber kalınlaşan lens kapsülü embriyonik evrede anteriorda, bu dönem 600.güne kadar inceldir. Anterior kapsül, posterior kapsüle göre 7.5 kat daha kalındır. Lens epitelyumu 21. günde kolumnar yapının yakınında, 400. günde koroidal yapı adını alır. Vitreus kavitesi ortalama 100 µm kalınlığında kortikal alanı kaplayan ekstrasellüler matriksden form alan ve sellüler komponentlerden oluşan hyalosit hücreleri adını alır. Rat kornea'sı korneal epitelyum (5 tabakadan), kollajen fibrillerden yapılmış korneal stroma (lamina propria), descemet membran ve endotelyumdan oluşur. Bowman kapsülü yoktur. Siliyar cisimcik çok küçük ve siliyar kaslar yalnızca fiberleri ve küçük fiber dalları içerir. Burada akomodasyon ya yoktur ya da çok azdır. Pupilla daireseldir (Krinke, 2017).

1.4.2 İnsan ve Rat Göz Yapısı

İnsan ve rat gözünde ışık korneadan geçer. Bu geçişte 300 nm'ye kadar olan görünür ışık ve de ultraviyole ışığın geçişine izin verilir ve sonra ışık pupillayı geçer. İnsan pupillası gibi rat pupillası da oldukça değişken boyuttadır. Loş ışıkta rat'ın pupillası, 1.2 mm çapa erişebilir. Parlak ışık altında çapı 0.2 mm'lik küçük bir açıklık olacak şekilde küçülür. Pupilla çap değişiklikleri ratta çok hızlıdır; 2 mm'den 0.5 mm'ye kadar kontraksiyon yalnızca yarım saniye sürer. Sonra ışık lensi geçer. Lensler, belirli dalga boylarındaki ışığı engellemek için bir filtre görevi görür. Tüm renkler içinse eşit derecede saydam değildir. İnsan lensleri sadece görünür ışığa izin verir ve neredeyse hiç geçişe izin vermez. Ratların lensleri ise görünür ışığın tamamına ve Ultraviyole A ışığın yaklaşık %50'sinin geçişine izin verir. Kornea kalınlığı insanda 0,55 mm iken ratlarda 0,25 mm'dir (Hanson, 2006).

Rat'ların korneaları da 5 tabakadan oluşur. Kornea abrazyonu da sadece süperfisyal epitelyum ve stroma ya da bazal membrana involve olmaz. Rat gözü

ekzoftalmik yapıda olduğundan kolaylıkla yaralanma riski vardır. Minor abrazyonlarda iyileşme 24-48 saat içerisinde başlarken, majör ve derin ya da fazla abrazyonlarda kornea stroması önemli komplikasyonların oluşmasına yol açar. Bunlar iris prolapsusu, desement membranın fitiklaşması (descemetocel), perforasyon, derin skarlaşma, glakom, körlük ya da gözün kaybıdır (Krinke, 2017).

Normal rat endotelyumu, desement membrana yapışmış büyük ölçüde birbirine kenetlenmiş polihedral hürelerin hücresel tek tabaka yapısından oluşur. Bu hücreler aktin içeren çevresel mikrofilament demetlerinin varlığıyla karakterizedir (Gordon ve Wood, 2009).

Dubielzig oküler boyutlar için rat ile insan, maymun, kedi, köpek, tavşan arasındaki farkları gösteren çizelge ile kıyaslama yapmıştır. Korneal kalınlık en ince olarak (0,25 mm) ratlarda ölçülmüştür (Dubielzig, 2008).

Oküler boyutlar	Axial uzunluk (mm)	Korneal kalınlık (mm)	Anterior boşluğu (mm)	Lens kalınlığı (mm)	Vitreus boşluğu (mm)
İnsan	23,92	0,55	3,05	4,0	16,32
Maymun	17,92	0,55	3,24	2,98	11,3
Kedi	22,3	0,68	4,52	8,5	8,13
Köpek	20,8	0,64	4,29	7,85	10,02
Tavşan	18,1	0,4	2,9	7,9	6,2
Rat	5,98	0,25	0,87	3,87	1,51

Çizelge:1.1 İnsan ve hayvanların oküler yapılarının boyutlarının karşılaştırılması.

1.5 Kornea Yara İyileşmesi

Kornea yara iyileşmesi epitel dokuda, stroma'da ve endotelde olmak üzere üç bölümdedir.

1.5.1 Epitel Katmanının İyileşmesi

Kornea epiteli, yüksek oranda iyileşebilme kapasitesine sahiptir (Slatter, 1990c).

Sağlıklı yapıda kornea epitel bazal hücresi, mitoz bölünme sonucunda her 7 günde bir yenilenir (Gelatt, 2001).

Travma sonucu oluşan yüzeyel laserasyon ya da abrazyonlarda bu iyileşme süresi kısalmır (Fece, 2004).

Epitel dokuda rejenerasyon yeteneği çok fazladır. Epiteldeki yıkımlanmadan kısa sürede lezyonlu bölgeye hücreler hızlıca göç ederek alanı kapatır ve 4-7 gün içerisinde korneanın tamamını kaplarlar. Hücreler defekti kapattıktan sonra mitozis oluşur ve çok katlı epitel yüzeyi yeniden yapılır. Hızlıca oluşan bu göç esnasında limbustan melanositler daha önce saydam olan alanlara taşınırlar (Slatter, 1990).

Yaranın büyüklüğüne göre ilk olarak wing hücreleri daha sonra da bazal tabakadaki hücreler bazal lamina üzerinden 15. saate kadar hasar gören alana göç ederler (Peiffer, 1991).

Gözyaşı tabakası ile yaralanmadan 3 saat sonra bölgeye ulaşan PMNL (polimorf nükleer lökositler) burada 36 saat kalır ve yaranın proteolitik debridmanı da yapılmış olur ve zamanla bu lökositler kaybolur. Korneal epitelyumun iyileşmesi sırasında sinir lifi rejenerasyonu da gerçekleşir. Tavşan korneasında ENF (epitelyal neurotrofik faktör) adını alan bir mediatörün varlığı ile bu rejenerasyon desteklenmiş olur. Eğer bazal membran hasarı varsa rejenerasyon haftalar ya da aylar sürebilir. Rejenerasyon

tamamlanıncaya kadar epitelyum yerinden kolayca kalkabilir (Slatter, 1990c; Gelatt ve Gelatt, 2001).

1.5.2 Stromal Katmanın İyileşmesi

Epitelyal ve yüzeyel stromal yara iyileşmesi ve derin stromal yara iyileşmesi olarak incelenir. Epitelle beraber ön stromal yüzeyde yıkımlanma varsa genelde defekt epitel hücreleri tarafından doldurulur. Bu iyileşme yaklaşık 6 haftayı alır. Alt katmandaki stroma iyileşme için uygun bir platform değildir. Normal stroma rejenerasyonu olmadığı için defektin yerini kollajenöz skar dokusu alabilir veya yüzey hatalı olarak oluşur bunun için ise hiperplazik bir epitele ihtiyaç vardır. Bu epitel yapıyla yüzey dolar (Öztürk, 2006).

Stroma'da ise, yüzeysel stroma defektleri epitellerin birikimi ile kapatılır. Derin defektlerde epitel yüzeyi kaplarken, infiltrasyon ve rejenerasyon stromanın altında oluşur. Rejenerasyon tamamen oluşmadığı için korneanın tamamında kalınlık azalmaktadır. Komplike olmayan stroma yaraları avasküler iyileşmeye maruz kalırken, enfekte veya destrüktif yıkımlanmalarda ise vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi vasküler iyileşmeyle sonuçlanır. Korneada iyileşme ise avasküler ve vasküler iyileşme şeklindedir (Şaroğlu, 1999).

1.5.2.1 Avasküler İyileşmesi

Kornea stromasının avasküler iyileşmesi sırasında hasarlı bölgede keratositler ölür. Dokunun çevresindeki sağlıklı keratositler, fibroblastlara dönüşerek hasarlı alana göç ederler. Bu hücrelerin görevi olan maddenin kollajen ve mukopolisakkarit sentezini yaparlar. Organizasyona epitelyal yayılma da eklenir aksi halde iyileşme daha yavaş olur. Kemotaktik etki ile nötrofiller, lezyona doğru infiltratör olarak bölgeye sarar ve gözyaşı tabakası ve limbal konjunktival damarlar aracılığı ile bölgeye ulaşarak proteolitik debridman oluşumuna yol açarlar. Hasarlı alana 48 sa. sonra

makrofajlar yerleşir. Hücresel debrisı ortadan kaldırır ve daha geç bir dönemde keratositlere dönüşür. Rejeneratif stromanın altında uzanan kollajen fibriller düzensizleşir ve korneal saydamlığı azalmaya başlar. Korneadaki defektlerin derinliği ve genişliğine bağlı olarak hayvan türlerine göre farklı sürelerde ödemin kalkması ve kollajen fibrillerin düzenlenmesi ile kornea saydamlığına tekrar kavuşur. Ancak bir miktar skatriks kalabilir. Lokal antibiyotik kullanılan olgularda defektin iyileşmesi için geçen süre klinik gözlemlere göre kedi ve köpeklerde daha kısadır (Şaroğlu, 1999).

Sığır ve kedi kornealarında skar rezolüsyonu diğer türlerden daha fazla olmaktadır. Atlarda standardize edilmiş 7 mm'lik stromanın 1/3 derinliğine ulaşan kornea defektleri lokal antibiyotiklerin 11 gün kullanımı ile iyileşmektedir (Akın ve Samsar, 2005).

1.5.2.2 Vasküler İyileşme

Vasküler iyileşmede destrüktif lezyonlarda sellüler infiltrasyon daha şiddetlidir. Bölge, limbal pleksustan gelen kan damarlarıyla kaplanır ve granülasyon dokusu şekillenir. Avasküler iyileşmede oluşan skardan daha yoğun bir skar oluşur. Sonunda kan damarları kollabe olur ancak tam olarak kollaps ortadan kalkmaz. Bu damarlar hayalet damar olarak kalır ve Slit-lamp biyomikroskopla gözlenirler. Yüzeyde bulunan daha önce oluşan epitel reaksiyonu ile doldurulur. Lezyonla birlikte hasara uğrayan kornea sinirleri zamanla rejenere olurken bölgede duyarlılık yavaşça yeniden şekillenir (Slatter, 1990).

Korneanın travmatik hasarları ve cerrahi ensizyonları sırasında hem epitelyal hem de stromal iyileşme kombine olarak etkir. Korneanın bütün katlarının ensizyonu ve bunun mikrosütürlerle apozisyonunu takiben özellikle katarakt cerrahisi sonrasındaki gibi iyileşmenin komplike olmamış şekilde gelişmesi beklenir. Beraberinde fibrovasküler yanıt gelişir. Dikiş materyalinin yabancı cisim etkisi

oluşturması sonucunda şekillenebileceği gibi ensizyon hattının vasküler limbusa yakınlığı sonucunda meydana gelmesi de mümkündür (Matsuda ve Smelser, 1973).

1.5.3 Endotelyumun İyileşmesi

Endotelle birlikte tüm katların defektinde ki, bunlar perfore kornea yaralarıdır ve iyileşmeleri 6 dönemde tamamlanır. Bu dönemler yaralanmadan hemen sonra humor aqueous'daki fibrinojen, stroma ile etkileşerek fibrine dönüştür ve yara fibrin plağı ile dolarak kapatılır. Sonra lökosit fazı başlar. Bu faz yaralanmadan 30dk. ile 5 saat içinde PMNL (polimorf nükleer lökosit) göçü ile gelişir. Yaklaşık 1 sa. sonra epitelyal yara iyileşme fazı gerçekleşir. Fibroblastik faz ise yaralanmadan 12 sa. sonra başlar. Lasere dokuya komşu stromal keratositler aktive olarak fibroblastlara benzer şekilde tip 3 kollajen ve tipik skar glikozaminoglikanlarını üretirler. Endotelyal faz 24. saatte başlar ve endotel hücre göçünü içerir. En son olarak geç faza geçilir ve yaralanmadan 1 hafta sonra başlayıp skar dokusunun kontrakte olmasına kadar devam eder (Öztürk, 2006).

Desement membran elastik bir yapıda olduğu için hasara uğradığında geri çekilerek camera oculi anteriora doğru kıvrılır ve stromanın küçük bir bölümüne doğru yönelir. Komşu endotelyal hücreler kayarak kıvrılmış bölgeye doğru genişler ve yeni desement membranı yani yeni endotelyumu oluştururlar. Yaygın ya da şiddetli lezyonlarda endotelyum alanı kaplayamaz, bölge şişer ve stromada ödem şekillenir (Slatter, 1990, Akın ve Samsar, 1999).

Endotelyum çok nazik ve duyarlı bir dokudur ve eğer geniş bir alanda yıkımlanma olduysa kalıcı bir opasite şekillenir. Endotel hücre kaybına yaştan ilerlemesi, ilaçlar, fakoemülsifikasyon, lensin uzaklaştırılması ve operasyon aletleri ile travma oluşumu neden olur (Şaroğlu, 1999).

1.6 Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Bunlar yaş, beslenme, travma, yara apozisyonu, enfeksiyon, inflamasyon (yangı), vaskülerizasyon, fibronektin, growth faktörler, duysal innervasyon, intraoküler basınç, gözyaşının etkisi, ilaçlar, koruyucu lens, antikollajenazlardır.

Yaş: Genç popülasyonda iyileşme birkaç gün ve haftayı alırken yaşlılarda aynı yapıdaki bir yaranın iyileşmesi aylar sürebilir.

Beslenme: Malnutrisyon iyileşmeyi belirgin şekilde geriletirken, protein, vitamin A ve C iyileşme için gereklidir. Şiddetli vitamin A eksikliğinde korneal ülserasyonun sık oluştuğu bildirilmiştir.

Travma: Sürekli tekrarlayan travmalar iyileşmeyi geciktirir.

Enfeksiyon: İndirekt olarak antiinflamatuvar yanıtı artırarak aşırı kollajen yıkımı ve hücre ölümüyle, direkt olarak da salgıladıkları enzimlerle glikozaminoglikan ve/veya kollajen yıkımını arttırarak yara iyileşmesini geciktirir veya engeller.

İnflamasyon: Değişik travma tipleri değişik inflamatuvar yanıt oluşturur. Örneğin yabancı cisim uzaklaştırılmadığı laserasyonlarda dev hücre reaksiyonu ve aşırı skar dokusu oluşumu söz konusudur. Topikal Na sitrat kullanımının; PMNL birikimini, fagositozunu, degradasyona yol açan enzim salınımını ve serbest oksijen radikal oluşumunu önlediği bilinmektedir. Bu etkilerini, PMNL aktivasyonu için gerekli olan Ca^{++} iyonuna bağlanarak gerçekleştirirler.

Vaskülerizasyon: Korneal vaskülerizasyon gelişiminde çok sayıda faktörün rol aldığı bilinmektedir. Prostaglandinler ve PMNL'lerin akut inflamasyonu ve vaskülerizasyonu deneysel olarak oluştururlar. Limbusa yakın travmalar sıklıkla vaskülerizasyona yol açar. Ayrıca korneal nekroz, zayıf yara apozisyonu, yaraya iris adezyonunda vaskülerizasyona yol açtığı bilinir.

Fibronektin: Plazma glikoproteinidir. Hücre yapısını, hücre göçünü ve protein sentezini uyarır.

Growth faktörler: Epitel rejenerasyonunu ve migrasyonunu artırır.

Duyusal innervasyon: Mekanizması bilinmemekte ve duyu innervasyon yokluğunda hücre göçü ve adezyonu büyük ölçüde azalır.

İntraoküler basınç: Basıncın yükselmesi halinde stromal yara iyileşmesinde skar dokusunun kontraksiyonunu önlediği bilinmektedir.

Gözyaşının etkisi: Göz kapağı hareketiyle aqueous komponent yenilenmezse müsin tabakasının lipidle kontaminasyonu lokalize hidrofobik alanlar yaratır. Aqueous tabakanın eksikliğinde yüzeysel kuruluk, punktat epitelyal floresein boyanma, mukus plak, iyileşmeyen epitel defektler gözlenir. Lipid tabaka eksikliğinde oküler yüzey keratinizasyonu, yüzey mikropili kaybı, epitel defekti, korneal ülserasyon ve keratomalazi gözlenir.

İlaçlar:

Antibiyotikler: Düşük dozda basitrasin (500 u/ml), gentamisin sülfat (3mg/ml), neomisin (3,5 mg/ml) ve kloramfenikol (4 mg/ml)'ün korneal epitelizasyona etkileri yok iken, kloramfenikol dışında basitrasin (10,000 u/ml), gentamisin sülfat (10mg/ml) ve neomisin (8 mg/ml)'in yüksek konsantrasyonlarda epitelizasyonu belirgin biçimde inhibe ettikleri bilinir.

Kortikosteroidler: Korneal epitel, stroma ve endoteldeki yara iyileşmesini inhibe ederler. PMNL'lerin kollajenaz etkisini güçlendirerek ülserasyon riskini arttırır ve enfeksiyon riskini 15 kat arttırarak sonuçta iyileşen yaranın gücünü azaltırlar. Epitel yapı kapandıktan sonra dikkatlice korneal stromal yaralarda opasiteyi önlemek,

pigment üretimi, vaskülerizasyonu azaltmak, fibroblast inhibisyonunu sağlamak ve epitelizasyonu kontrol altında tutmak için kullanılırlar.

Lokal anestezikler: Epitel iyileşmesinde esas olan aktin etkileşimini bozarlar. Topikal olarak kronik olgularda inatçı epitel defektine neden olabilirler.

Benzelkonyum Cl (%10): Topikal ilaçların içerisinde koruyucu olarak ihtiva eden bu madde rejenere epitel üzerinde yapışma işlevinde zayıflık, membran aktivitesinde kayıp, oluşan epitel tabakanın yerinden ayrılması gibi etkiler gözlenmiştir. Koruyucular içerisinde en toksik olanıdır. Petrolatum ve mineral yağının epitelde toksisitesi saptanmamıştır.

Aseti kolin: Endotel hücre yıkımlanmasını artırır.

Epinefrin: 1/1000'lik konsantrasyonlarının irreversible kornea ödemeine yol açabileceği bilinirken, 1/5000'lik konsantrasyonunun kullanılmasının daha uygun olduğu önerilmektedir

Kanüllerde kalan deterjan solüsyonları: Korneal ödem oluştururlar.

Koruyucu lens: Koruyucu etkisi vardır ve iyileşen epitelin daha hızlı farklılaşmasına yol açar. Hidrofilik yapısı nedeniyle stromal ödemde azalma, koruma etkisi ile yara yerinde keratosit birikimine yol açarak iyileşmeye neden olur.

Antikollajenazlar: Sağlıklı bir kornea yapısında kollajen ve kollejenaz sentezi yoktur. Stromal yıkımlanmayı takiben kollajen fibrillerin fagositozuna neden olan fibroblastik aktivite başlar. Kollajenaz, matriks metalloproteinazlar olarak isimlendirilen enzim ailesindendir. Kollajen miktarını parçalayarak miktarını sınırlandırır (Öztürk, 2006).

1.7 Kornea Yaralarında Günümüze Kadar İyileşmede Kullanılan Maddeler ve Cerrahi Teknikler

Doku yapıştırıcıları ensizyonlar, yaralar ve anastomozların kapatılması için alternatif metod olarak çalışılmıştır. Doku yapıştırıcıları normalde diğer hasarlı dokularda 20 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Yeni doku sızdırmazlık maddeleri adezivler ve yapıştırıcıların keşfi çok işe yaramaktadır. Bunlar 4 sınıfa ayrılmıştır 1) Siyanoakrilatlar 2) Fibrin dolgu macunu 3) Jelatin-resorsinol-formol yapıştırıcıları 4) Karışık grup olarak bilinen PLATG (ışığa duyarlı doku yapıştırıcıları ve yapıştırma teknolojileri) sayılmaktadır. İlk üçünün dezavantajları kullanıldıkları dokularda nekroz, sitotoksositeye yol açmaları, vasküler stenoz, inflamasyon oluşturmalarıdır. Ancak son grup PLATG, gözde en ideal yapıştırma yöntemi olabileceği düşünülerek bir araştırmaya konu olmuştur. Rat korneasında çalışılmış ve iyileşme oranı ile mikrocerrahide ortopedik ya da dermatolojik uygulamalar kadar geliştirilmeye değer bulunmuştur. Buradaki tek dezavantaj ısı ile uygulandığı için termal hasar oluşumudur. Ancak yapılan çalışmada bu türden bir hasar oluşmadığı belirtilmiştir. Bu tür doku yapıştırıcılarının kullanılabilirliği geliştirilebilir bulunmuştur (Khadem et al., 2004).

Kornea yara iyileşmesinde bulanıklığın önlenmesi ve tedavisi için MMC (mitomicin C) kullanıldığında çok etkili olduğu ve uzun dönemde güvenilirliği kanıtlanmıştır (Koulikovska, 2015).

Kornea reepitelizasyonunda, korneal epitelyumun DNA sentezi ve proliferasyonunu stimule eden EGF (epidermal büyüme faktörünün) epitelyal iyileşme oranını arttırdığı hayvan çalışmaları vardır (Hardwicke, 2010).

Korneal allogreft endotel hücre yedeklemesi ile hasarlı kornea dokusunda transplantasyonda hata payını düzeltici bir yanıt verir. Korneal doku nakli epitelyal hücre kimerizması ile topikal tedavinin başlatılması yüzünden operasyonu izleyen

süreçte alıcıda kolayca kabul edilebilir olmuştur (Gong, 2009).

Ratlarda yapılan bir araştırmada proparakain ve TTX (Tetrodoksın+ proparakain) 3 saat anestezi sağlanırken tavşanlarda bu süre 8 saate uzamıştır ve korneal reepitelizasyonu önemli oranda değiştirdiği görülmüş ve de topikal kullanıldığından toksisite min. düzeye çekilmiştir; ki sistemik kullanımda potansiyel olarak toksisiteli ajanlardır (Wang, 2013).

Kornea yaralarında ve oftalmik şırurjide oküler ağrıyı azaltmak amacıyla geleneksel aminoester ve aminoamid lokal anestezikleri kullanılır. Bunlar sodyum kanalının intrasellüler ve sodyum influx blokörleri olarak görev yaparlar. Topikal kullanımda 15-20 dak. korneal anestezi sağlarlar. 60 dakika sonra normal duyu haline dönerler. Ancak bu ajanlar sık verildiğinde epitelyal iyileşmeyi erteleyebilir. Oküler anestezikler uzun süreli etkili ve minimal düzeyde toksisiteli olarak kullanılacak formülasyonlar olmalıdır. Ratlarda yapılan bir araştırmada proparakain ve TTX (Tetrodoksın+ proparakain) birlikte kullanıldığı formülasyonlarda korneal yara iyileşmesinin geciktiği rapor edilmiştir. 2 mm çaplık bir alanda yapılan debridman sonrasında ilaç uygulamasından 12 saat sonunda epitelyumda tamamen iyileşme sağlanmıştır. Dexmedetomidin-S1SCB (site 1 sodyum kanal blokörü) kombinasyonunda korneal toksisite gelişmez ve de akut korneal ağrı ve korneal prosedürler için cazip bir analjezik opsiyondur (McAlvin, 2015).

Kornea cerrahisinde temel amaç; hastalıklı (ulkuslu, doku kayıplı, nekrotik veya neoplazmalı vb.) korneada lezyonlu kısmın uzaklaştırılmasından sonra kalan korneada korneal dokuya yakın bir iyileşme amaçlayarak göze giren ışığın miktarını arttırmaktır. Cerrahi girişim sırasında normal korneal doku yıkımlanmamalı ve mümkün olduğu kadar az skar dokusu oluşumu sağlanmalıdır. Bu amaçla: uygun mikrocerrahi tekniği, göz cerrahisi aletleri, dikiş materyali ve büyütme kaynağı kullanılmalıdır. Korneal cerrahi için 6/0-10/0 nonabsorbabl (naylon) veya absorbabl (PDS, poliglaktin 910, poliglikonat) dikiş ipliği kullanılabilir (Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Slatter, 1990b; Wilkie ve Whittaker, 1997).

Anterior kamaraya girileceği zaman ya da enfeksiyöz keratitisin düzeltilmesi

planlandığında, cerrahi girişimden 6-24 saat önce geniş spektrumlu antibiyotik kullanılmalıdır. Her ne kadar küçük cerrahi girişimlerde gerekme de konjunktival ya da korneal greft yapılmadan önce postoperatif yangı, uveitis, ödem ve ağrıyı kontrol altına almak amaçlı flunixin meglumin, 0,5 mg/kg tek dozda enjeksiyon şeklinde uygulanmalıdır (Sancak, 2009).

Gözde uygulanan çeşitli cerrahi uygulamalar ise, Konjunktival greft uygulamaları, Keratoplasti, KKT (Kornea konjunktival transpozisyon), LKHT (Limbal kök hücre transplantasyonu) -Otogreft ve allogreft, -keratolimbal allogreft ve konjunktivallimbal allogreft, Amniotik membran uygulamaları, LKH (limbal kök hücre) ile birlikte KT (kornea transplantasyonu) şeklindedir (Sancak, 2009).

1.8. Polifenoller

Polifenoller, bitkilerin sekonder metabolitleri olup genellikle ultraviyole radyasyona karşı savunma sistemine veya patojenlerin mücadelesine katılırlar. Bunlar fitoaleksin olarak adlandırılan polifenollerdir (Pandey, 2009).

Fitoaleksinler, stres şartlarıyla örneğin enfeksiyon ya da travma, UV ışınları ya da ozona maruz kalma halinde sentezlenirler. Antitümör etkileri hala araştırılmaktadır. Oksidatif stres sonucu oluşan hastalıklarda özellikle kanser, arteriosklerozis ya da iskemik kalpte antioksidan etkisinden faydalanılır (Asensi ve ark., 2002).

Epidemiyolojik çalışmalar ve buna bağlı meta-analizler, bitki polifenollerinden zengin diyetlerin uzun süre tüketilmesinin kanserlerin, kardiyovasküler hastalıkların, şeker hastalığının, osteoporozun ve nörodejeneratif hastalıkların gelişimine karşı koruma sunduğunu kuvvetle ileri sürmektedir. Çeşitli bitki türlerinde 8,000'den fazla polifenolik bileşik tanımlanmıştır. Polifenoller içerdikleri fenol halkalarının sayısının bir fonksiyonu olarak ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal elementlere göre

farklı gruplara ayrılabilirler. Ana sınıflar arasında fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve lignanlar bulunur. Meyvalarda, tahıllarda doğal olarak bulunurlar özellikle de şarapta, çayda ve sebzelerde bulunan flavanoidler güçlü antioksidanlardır. Üzüm, elma, armut, kiraz ve çilek gibi taze meyvalar 200-300 mg/100gr. polifenol içerirken ürünleri de önemli miktarda polifenol içerir. Tipik olarak bir bardak kırmızı şarap veya bir fincan çay veya kahve yaklaşık 100 mg polifenol içerir. Şarap polifenolu olan Resveratrol, platelet agregasyonunun ve vazokonstriktörün bir indükleyicisi olan tromboksan A₂'yi sentezleyen COX 1 (siklooksijenaz 1) aktivitesinin tercih edilen inhibisyonu yoluyla platelet agregasyonunu önler. Buna ek olarak, izole edilmiş arterleri ve fare aort halkalarını rahatlatılabilir. Ca⁺⁺ ile aktive edilmiş K⁺ kanallarını uyarabilme ve endotelde nitrik oksit sinyalini artırma yeteneği, resveratrolün vazorelaksan aktivite uyguladığı diğer yollardır. Kardiyovasküler hastalıklar ile LDL'nin (düşük dansiteli lipoprotein) oksidasyonu arasında doğrudan ilişki kurulmuştur. LDL parçacıklarının oksidasyonu, koroner kalp hastalıkları ve miyokard enfarktüsü riski ile kuvvetli bir şekilde ilişkilidir. Araştırmalar, resveratrolün LDL parçacıklarının şelatlayıcı bakır yoluyla oksidasyonunu veya serbest radikallerin doğrudan atılmasını potansiyel olarak inhibe ettiğini göstermiştir (Pandey, 2009; Cinpolat, 2005).

Polifenoller, orijinal radikalden daha az toksik yapıda antioksidanlardır. Prostat kanseri, meme kanseri, karaciğer kanseri, kolorektal ve intestinal kanserde, akciğer kanserinde, kan kanserinde ve tiroit kanserinde kemopreventif etkili bir ajandır (Aziz ve ark., 2003).

1.8.1 Resveratrol

İlk kez 1940 yılında beyaz çöpleme otunun (white hellebore-Veratrum grandiflorum O Loes) köklerinde bir yapı olarak tanımlanır. Fitoaleksin denilen bir polifenoldür. Üzüm kabuğu, çekirdeği ve saplarında özellikle üzüm suyu ve şarapta

çok fazla ve yerfıstığı, çamda, dut ve asma yaprağında da biraz bulunur. Patojenik etki ve çevresel strese cevaben üretilen fitoaleksın, bitkiler için bir mantar önleyicidir ve bulunduğu bitkilerde, bitkiyi strese karşı korumaktadır. Üzüm zarındaki miktarı 50-100mg res/g'dır. Şaraptaki konsantrasyonu ise 0,2-7,7 mg/l arasındadır (Ötleş ve Özyurt, 2012; Kurt, 2009).

RES, bitkilerin bakteri ve funguslara karşı savunma için ürettiğı bir enzimdir. Kompleks bir yapıdadır ve ayrıca ıstırye, yer fıstığı, böğürtlende de bulunur. Özellikle meyvanın kabuk kısmından sentezlenir (Karadeniz, 2000).

RES (Resveratrol) maddesi ilk kez 1963 yılında Japonlar tarafından adlandırılan *Poligonum cuspidatum* 'Kojoto' olarak bilinen doğal ilacın bitkisinin kurutulmuş köklerinin aktif bileşeni olarak belirlenmiştir. İlk çalışmalar ve keşfi, 1976'da Langcake ve Pryce adlarındaki araştırmacıların asma yaprağında (*Vitis vinifera*) ile başlamıştır. Bu bitki hem Japon hem de Çin geleneksel tıbbında suppuratif 8 dermatit, gonore, favus, tinea pedis ve hiperlipidemide tedavi amaçlı olarak eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Kimyasal yapısı 3,4',5 trihidroksistilben ve 3,4',5 stilbestrol olarak da bilinen molekülün cis ve trans olarak iki izomeri bulunur. Amerika' da 15mg, 50mg ve 200mg'lık tabletler halinde ve 10mg 'lık formlarda satılır. Meyve ve sebze içeren insan diyetlerinin, bazı kronik hastalıkları azalttığına dair birçok epidemiyolojik kanıt ortaya konulmuştur. Kırmızı şaraptaki formu bir trifenolik bileşik yapısındadır. Aktif kısmı intestinal sistemde açığa çıkan konjuge bir bileşiktir. RES içeren kırmızı şarabın bu antioksidan etkisini, bakırla indüklenmiş LDL peroksidasyonunu artırır ki bu görevi, bakırı çöktirme ve antiradikal etkisi ile yaptığı 1993 yılında açıklanmıştır. Demir ve bakır iyonlarının düşük dansiteli lipoproteinlerin peroksidasyonunu arttırdığı bilinmektedir (Kurt, 2009; Cinpolat, 2005).

Resveratrol 1992 yılında kırmızı şarapta biyolojik olarak aktif bulunan bir polimerin viniferin familyasından bir molekül olarak tanımlanmıştır. Trans resveratrol, çeşitli kanser tiplerinde kimyasal koruyucu özellikleri ile lökemide ve insan meme karsinomasında apostozisi indükleyerek kanser kemoprotektif özelliğı

ile etkir (Marier, 2002).

Epidemiyolojik ve deneysel alışmalar kırmızı üzümden elde edilen şarabın tüketilmesinin orta düzeyde bir etki ile koroner kalp hastalıklarında mortalite ve morbiditeyi azaltmada ilişkili olduğunu göstermektedir (Şıracı, 2004).

"Frech Paradox" olarak bilinen fazla yağlı diyetle rağmen koroner kalp hastalığına bağlı ölüm olayının düşük olması durumu olarak bilinen Fransız diyetinde doymuş yağ asitleri, kırmızı et ve kırmızı şarabın ön planda olduğu barizdir. Kırmızı şarap ve üzümde bulunan 3,4,5 trihidroksistilben kimyasal yapısındaki resveratrol ile yapılan alışmalarda vazodilatör etkisi, antioksidan aktivite, platelet agregasyonu inhibisyonu, antienflamatuvar aktivitesi olduğu gösterilmiştir (Cinpolat, 2005).

Resveratrol içeriğinde, kırmızı şaraplar arasında bile, üzüm eşidine, bağbozumuna ve orijin alanına ve ayrıca ölçüm için kullanılan analitik tekniğe bağlı olarak önemli farklılıklar vardır. 10-20 µM konsantrasyonları yaygın olmakla birlikte, daha yüksek veya daha düşük değerler de sıklıkla bulunur. Serbest resveratrole ek olarak, şaraplar, biyolojik açıdan mevcut dozlara katkıda bulunabilecek resveratrol glikositleri içerir. Resveratrolün östrojenikliğinin, kırmızı şarapta bildirilen kardiyovasküler faydalara katkıda bulunup bulunmadığını düşünmek ilginçtir. Estrojenler oral yoldan verilirse benzer etkilere sahiptir; portal dolaşım yoluyla karaciğere verilen yüksek dozlar, serum lipidlerinde faydalı değişiklikler meydana getirir. Benzer şekilde, şarap tüketimi karaciğeri sistemik dolaşımda görülen resveratrol konsantrasyonlarına oranla daha yüksek konsantrasyonlara çıkarabilir (Gehm, 1997).

Özellikle kırmızı üzümden elde edilen kırmızı şarap, içilerek tüketildiğinde resveratrol anjiogenezi suprese eder, kan damarlarının gelişiminin prosesi, gelişme ve birçok hastalığın ilerlemesinin durdurulmasında; kanser metastazisini ve diabetik retinopati gibi hastalıklarda nasıl davrandığını araştırmak üzere incelemeler yapılmıştır. Doğrudan kapillar endotelial hücre gelişimini inhibe eder. Resveratrol olarak bilinen bu polifenol, kırmızı şarapta ortalama 1.5-7.0 mg/l 'de olarak bulunur.

RES, suprese ederek birçok hastalığı durdurur; yani kanser, metastaz ve diabetik retinopatinin gelişimini de bu supresyon özelliğiyle yapar. Hayvanlarda yeni kan damarlarının gelişimini de suprese ederek oluşumunu sağlar (Brakenhielm ve ark., 2001).

Beyaz şarapta ise daha az miktarda resveratrol bulunur. Fungal enfeksiyonuna (*Botrytis cinerea*) duyarlı ve ultraviyole ışıktaki teşhir edilebilen bir fitoaleksindir. (Fremont, 1999).

RES, Poligonacea grubundan Poligonum türlerindeki medisinai bitkilerdir. Karaciğer ve yağ dokuda palmitatdan lipogenezis inhibisyonunu sağlayarak lipooksijenazın üretiminin formasyonunu lökotrien B₄ (LTB₄ ve LTC₄) ve araziidonik asit (AA platelet agregasyonunu) inhibe eder. RES ve deriveleri polimorfnükleer lökositlerin degranülasyonunu kuvvetlice inhibe ederken, tümör gelişiminin önlenmesi ve kanser kemoprotektif etkisi ile apoptozisin nedenidir. Kanseri ve metastazı önlemek için DNA sentezini inhibe ederken, özellikle Lewis'in dalak karsinoma hücrelerinde metastazı, neovaskülerizasyonu ortadan kaldırarak ise insan umbilikal ven endotelial hücrelerinin anjiogenezisini sağlar (Simopoulos, 2003).

Özellikle çağın hastalığı olan kanserden 6 milyon insan etkilenmektedir. Bu yüzden kanser kemopreventif etkili ajanlar, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar siklooksijenazı (siklooksijenaz-1 ve hidroksiperoksidaz aktiviteleri engelleyerek) inhibe ederler. Bu inhibisyonu sağlamak için son yıllarda bitkilerden yararlanılmaya başlanmıştır. *Cassia quinquangulata* Rich. (Leguminosae) bitkisi, Peru'da toplanmış ve Resveratrol (3,4,5 trihidroksi-trans-stilben) içeren kısmı ile kemopreventif etkisi araştırılmaya başlanmıştır (Jang, 1997; Marier, 2002).

Hidroksistilbenin bir örneği olan RES'in araziidonat inhibisyonu salınımı, MAPK aktivasyonu, proteinkinaz-C ve mast hücrelerinin degranülasyonu gibi görevleri de vardır (Cho, 2002).

Resveratrolün, kimyasal yapı olarak bir sentetik östrojen olan dietilstilbestrole benzer ve incelendiğinde fitoöstrojen olarak adlandırılır. İnsanlarda meme kanserinde östrojene duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Yine resveratrol, doğal östrojenin gen regülasyonunda artışını ifade eder ve T47D meme kanser hücrelerinin östrojenin proliferasyonunu stimule eder (Barry, 1997).

Giderek popüler olmasında biyolojik sistemlerde bir polifenol olan resveratrolün, antioksidan ve antienflamatuar etkilerinin yanı sıra iskemi reperfüzyon hasarını azaltarak kardiyoprotektif ve renoprotektif etkileri olduğu, ayrıca beyin iskemisinde oksidatif stresi azaltarak nöroprotektif etkili olduğu da bildirilmektedir (Kızıltepe ve ark., 2003).

Resveratrol bir tür ajandır ve çeşitli kanser tiplerinde bazı biyoassay sistemlerinde koruyucu bir etki gösterdiği bilinmektedir. Kanser kemopreventif etkilerinin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Etkili olduğu kanser türleri ise prostat kanseri, meme kanseri, cilt kanseri, karaciğer kanseri, kolorektal ve intestinal kanserleri, akciğer kanseri, kan kanseri ve tiroid kanseridir. Prostat kanserinde antiproliferatif etkileri ile kanserde büyüme, apoptozis indüksiyonu, prostata özgü genlerin modülasyonunda kullanıldığı ifade edilmektedir (prostat kanser hücresi olan DU-145, PC-3 ve JCA-1). Bugün yapılan çalışmalarda hücre döngüsü progresyonunda, S fazı indüksiyonunda ve DNA sentezi inhibisyonunda prostat kanseri hücrelerinin 2 önemli prosesinde resveratrolün tek başına etkisinin olduğu gösterilmiştir. Meme kanserindeki etkisi ise sentetik östrojen olan 4,4'-dihidroksi-trans-alfa, beta-dietilstilben ile resveratrol arasında kapalı yapısal benzerlik bulunmaktadır. Resveratrolün östrojen resptörlerinde agonist ya da antagonist olup olmadığı hala belirsizdir. Cilt kanserinde ise tüm kanser tiplerinin yarısından fazlası bazal skuamöz hücre karsinomunu içeren melanomasız deri kanseridir. İnsan cilt kanserinde selüler orijinde melanosit ya da epitelial deri kanseri olarak sınıflandırılırlar (Aziz, 2003).

Melanomalar epitelial cilt kanserinden daha az öldürücü etkilidir. Oksidatif stresde glutatyon seviyeleri ve superoksit dismutaz aktivitesi düşmektedir. Bu kanser

tipinde resveratrolle yapılan laboratuvar çalışmalarında, fotokarsinogenezi içeren ultraviyole radyasyonun yan etkilerine karşın resveratrolün şemopreventif etkilerinde kritik rol oynadığı bildirilmiştir. Karaciğer kanserinde ise, düşük dozda bile hepatoma hücrelerinin invazyonunu suprese ettiği özellikle ratlarla yapılan çalışmada oral verilen resveratrolün reaktif oksijen tedavisi ile invazyon kapasitesi resveratrol yüklenmiş rat serumunda suprese edildiği bildirilmiştir. Kolorektal ve intestinal kanserlerinde yapılan çalışmalarda resveratrolün hücre kültürü sisteminde özellikle kolorektal kanserlere karşın antiproliferatif proses ya da kanser şemopreventif etkilerin tutulumunu göstermiştir. Akciğer kanserinde de yapılan bazı çalışmalarda yine resveratrolün antitümör ve antimetastatik aktivitelerinden faydalanılarak DNA sentezinin inhibisyonu ve anjiyenezis ile başarısı bildirilmiştir. Kan kanserinde ise resveratrol insan histolitik lenfoma insan lökemik hücrelerinde S fazında etkili olarak hücre döngüsünü sağladığı bilinmektedir. Resveratrol lipoperoksidasyonu da bloke ederek etkimektedir. Troid kanserinde etkisi ise özellikle papillar ve folliküler troid kanserinde kanser hücrelerinin sınırlandırılmasında apofitozise etkiyerek DNA fragmentasyonunun ve nükleom seviyelerini değiştirerek yaptığı düşünülmektedir (Aziz, 2003).

Resveratrol, hepatomada glomerulonefritisli ratlarda kuvvetli antiglomerulonefritik ve proteinuriyi, hipoalbuminemi ve hiperlipidemi baskılayan bir maddedir (Miura ve ark., 2003).

Resveratrolün çeşitli biyolojik etkilerinden olan antienflamatuar fonksiyonu siklooksijenaz inhibisyonu yeteneğine dayanmaktadır. Son olarak resveratrol, iskemi reperfüzyon hasarından böbrek, beyin ve kalp hücrelerinin korunmasında önemli bulunmuştur. Nitrik oksit yapımındaki yeteneği iskemi reperfüzyon sırasında böbrek hücrelerinin iskemi reperfüzyon hasarından korunmasında çok önemli bir rol oynadığına inanılırken bu korunma L-arjinin ile üretilmesi esnasında iskemi sonrası miyokardiyal fonksiyonda restorasyonla ilgilidir (Imamura ve ark., 2001).

Pleoptik özellikleri de olan bir fitofenoldür. Yaşa bağlı macula dejenerasyonu, gelişmiş ülkelerde yetişkinlerde görmenin bozulmasının ana nedenidir. Resveratrol,

enzimatik ve moleküler yapının korunmasında çeşitli hücre tiplerinde doğal bir antioksidan olarak rol alır (Lançon ve ark., 2016).

Sıçanlarda yapılan çalışmalarda oral olarak verilen resveratrolün barsaklardan hızla absorbe edilip sistemik dolaşıma girdiği, yaklaşık 15-30 dk. sonra plazmada en yüksek konsantrasyona ulaştığı, kalp ve karaciğere yüksek affinite gösterdiği ve yarı ömrü 1,5 saat olan glukronitlere metabolize edildiği gösterilmiştir. Sıçan perfüze ince barsaklarında yapılan bir çalışmada resveratrolün biyoyararlanımı %20,5 olarak bulunmuştur (Kurt, 2000).

RES ile yapılan bir çalışmada dokuları iskemiden koruduğu özellikle trombosit agregasyonunu engelleyerek bu işlemi yaptığı bildirilmiştir (İkizler ve ark, 2003).

Yapılan bir çalışmada, fitokimyasal trans-resveratrol'ün günlük oral alımı hipotalamik-pituiter gonadal eksen uyarımı üzerine yetişkin erkek sıçanlarda bileşik spermatogenezi arttırdığı ve olumsuz etkilerinin olmadığı ve bu bulgular ışığında trans-resveratrol'ün erkek infertilitesi için bir tedavi sağlayabileceği rapor edilmiştir (Juan, 2005).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. GEREÇ

Çalışmada kullanılan hayvanların herbiri bireysel kafeslerinde bakılan, her türlü sağlık kontrolü yapılmış, 1 hafta süreyle Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde barındırılmış, AKÜHADYЕК 49533702/118 sayı no ve 07.09.2016 tarih ve 110-16 Ref. no. ile kayıtlı izinle temin edilmiş ve bu proje onay almıştır. Ratlar Ad libitum olarak Rat yemi ve su ile beslendi. Hiçbir özel koşul uygulanmadı. Klinik olarak sağlıklı oldukları belirlenen genç erkek, ağırlıkları ortalama 250-300 g olan 20 rat denek rastgele 2 gruba (Grup K, Grup R) ayrıldı (n=10). Çalışmada; göz spekulumu, kolibri, Wannas makası, portequi, tying forseps, Beaver blade, spatula uçlu kornea bistürisi (BD Edge Ahead Crescent Knife; BD ophthalmic Systems), eğri uçlu hemostatik pensler ve dikiş materyali olarak 10/0 naylon iplik içeren oftalmik mikro cerrahi seti, göz sünger (bvi Visitec eye sponge 7 cm- 2 ¾ in) kullanıldı (Resim 2.1). Operasyon aşamasında ve postoperatif görüntülenmenin sağlanmasında dijital fotoğraf makinesi ve yardımcı ekipmanları kullanıldı.



Resim 2.1 Mikrocerrahi göz seti.

Çalışma yöntemi; genel anestezi, deneklerin kornealarında kornea yarası oluşturma ve operasyon protokolü, tarsorafi uygulanması, tüm deneklerin postoperatif dönemde ve 0. günden 11. güne kadar klinik muayenelerinin yapılması, 11. günün sonunda korneaların genel anestezi altında sakrifikasyon sonrası histopatolojik incelemeye tabi tutulması, kornea yarası oluşturulmadan önce ve sakrifikasyon sonrasında örneklerden kan alınması ve hazırlanan kan serumundan NO (nitrik oksit), MMP-9 (matrix metalloproteinaz-9), AOS (Antioksidan kapasitesi-statü) ve MDA (malondialdehit) ölçülmesi ile istatistiksel hesaplamalar yapılarak hazırlanmıştır.



Resim 2.2 Resveratrol (Poligonum cuspidatum içeren 60 kapsül, Solgar®.)



Resim 2.3 Zeiss KF titan marka Lup.

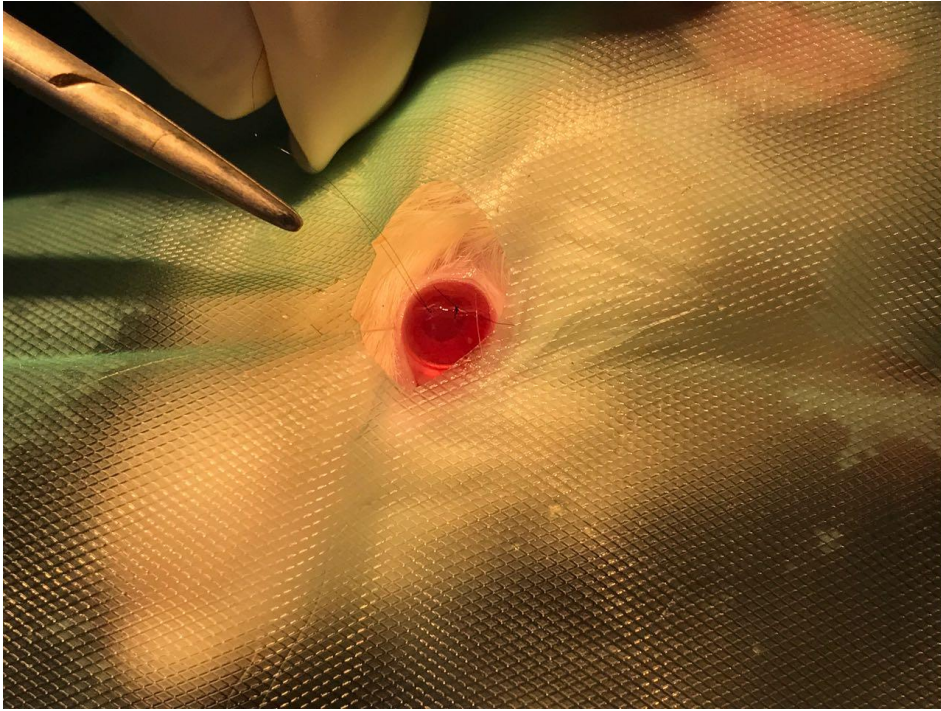
2.2 YÖNTEM

2.2.1 Kornea Yarası Oluşturma Modeli

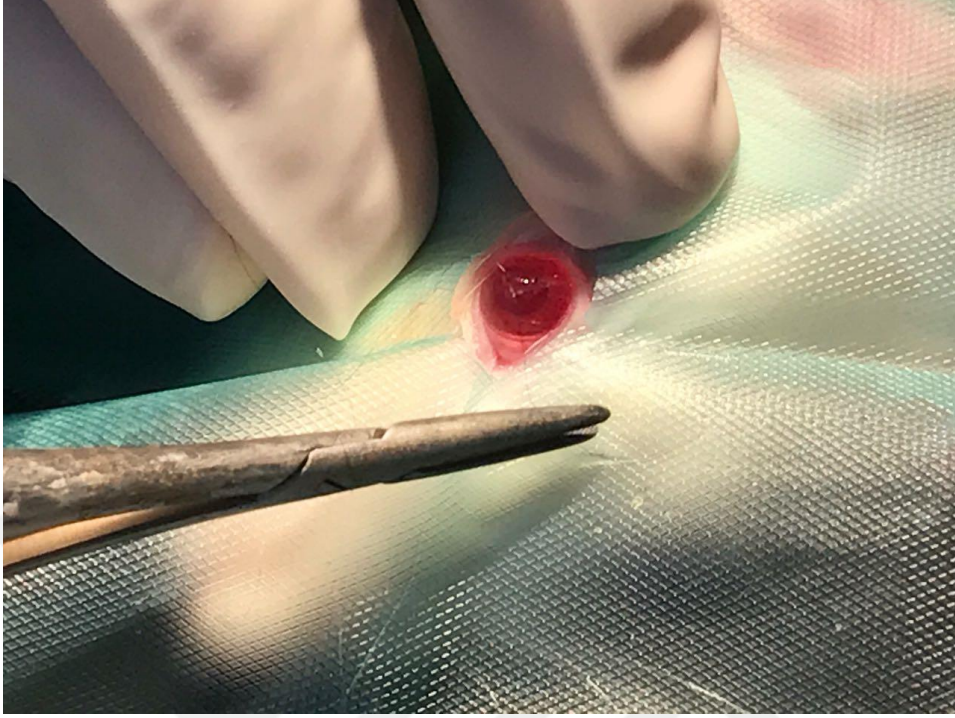
Genel anestezisi sağlanmış 20 ratın kornea yarası oluşturulacak sağ gözü üstte kalacak pozisyonda sol yan (lateral) pozisyonda operasyon masasına yatırıldı. Her iki gruptaki hayvanların sağ göz korneasına sentralde vertikal olarak bisturi ucu ile 2-3 mm uzunluğunda desement membrana kadar Lup kullanılarak (Resim 2.3) korneaların net ve yakın görüntüsü sağlanarak kornea yarası oluşturuldu (Resim 2.4a). Kornea yarası oluşturulduktan sonra her iki grup hayvana sağ göze aminoglikozid grubu antibiyotik olan tobramisin (Tobresed % 0.3 göz damlası) 2 damla ve 10/0 naylon (Alcon®) iplik ile bisturi ucu ile kornealara yapılan yara karşılıklı olarak basit ayrı dikiş yöntemi ile suturlandı (Resim 2.4b,4c,4d) ve Tobramisin 1 damla tekrar uygulandı. Daha sonra her iki gruptaki ratların sağ göz kapaklarına 6/0 poliglactin 910 (Vicryl®) iplik ile tarsorafi uygulandı (Resim 2.5). Sağ gözlere 5 gün boyunca sadece Tobramisin damlatıldı. Hematoksilen-Eosin (HE) tekniği ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Korneadaki lezyonların derinliğinin değerlendirilmesi ve gruplar arası karşılaştırmanın yapılabilmesi için derecelendirme sistemi uygulandı. Bağdoku proliferasyonu, yangısal reaksiyon, epitel hücre rejenerasyonu parametreleri incelendi.



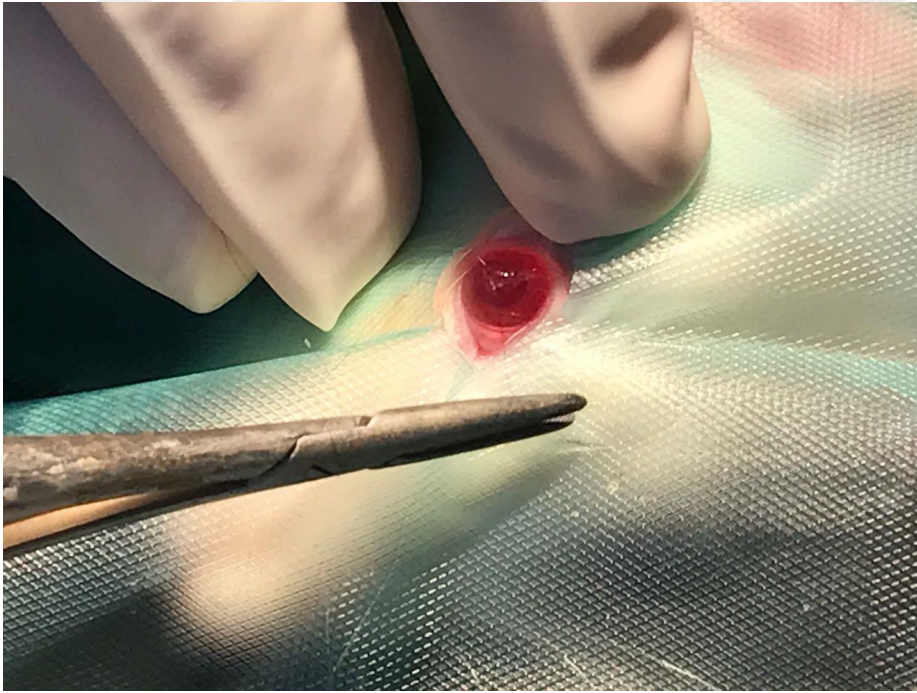
Resim 2.4.a Kornea yara hattına dikiş uygulaması.



Resim 2.4.b Oluşturduğumuz kornea kesi yarasına 10/0 naylon iplikle dikiş konulması.



Resim 2.4.c Kornea yarasına dikiş uygulaması.



Resim 2. 4.d Kornea yarasına konulan dikişin görüntüsü.



Resim 2.5 Tarsorafi uygulanmış denek.

2.2.2 Anestezi ve Operasyon Protokolü

Klinik olarak sağlıklı oldukları belirlenen genç erkek ağırlıkları ortalama 250-300 g olan 20 Wistar Albino Rat denek rastgele 2 gruba (Grup K, Grup R) ayrıldı (n=10). Her iki gruptaki rat deneklere Xylazine HCl (5- 10 mg/kg) (Rompun, Bayer) ve Ketamin HCl (Ketasol® %10; Richter Pharma ag) 25-30 mg/kg IM yolla uygulandı, genel anestezi sağlandı. 5 gün süreyle sabah akşam olmak üzere günde 2 kez topikal olarak tobramisin (Tobresed %0,3 göz damlası) ile antibiyotik uygulandı. Kontrol grubu ve Resveratrol grubu olarak ayrılan ratların (n=10); sadece Resveratrol grubuna (Grup R) içerisinde 30 mg/kg dozda resveratrol bulunan (100mg/Kapsül, Resveratrol, Solgar®) (Resim 2.2), gastrik gavajla 11 gün boyunca uygulandı. Her iki gruptaki ratlar ad-libitum standart rat yemi ve su ile beslendi. Daha sonra 11. günde her iki gruptaki deney hayvanları yine genel anestezi (Ksilazin ve Ketamin kombinasyonu) altında kurban edilmek üzere histopatolojik inceleme için sağ göz küreleri alındı.

2.2.3 Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal değerlendirme için MM-9(matriks metalloproteinaz-9), NO(nitrik oksit), MDA(malondialdehit), AOS(antioksidan statüsü) düzeylerinin değerlendirilmesi yapılmıştır.

2.2.3.1 Serumda MMP-9 Düzeyinin Belirlenmesi

MMP-9 düzeylerinin belirlenmesinde Çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ticari rat kiti kullanıldı (Shanghai YL Biotech Co., Ltd Company, Rat matrix metalloproteinase 9/ Gelatinase B. MMP-9 ELISA Kit, Shanghai, Cat. No. YLA0585RA). Deney sonunda absorbanslar 450 nm dalga boyunda okundu ve sonuçlar ng/ml olarak verildi.

Ölçüm prosedürü

- 1.Numune ve ölçümde kullanılacak olan tüm reaktifler oda ısısında 1 saat bekletildi.
- 2.Mikroplate kuyucuklarına blank hariç standart ve numuneler eklenerek 37 °C de 60 dk. inkube edildi.
- 3.ELISA yıkayıcısında mikroplate Wash Buffer ile 5 kez yıkandı.
- 4.Blank dahil tüm kuyucuklara Kromojen A ve B ilave edilerek tekrar 37°C’de 10 dk. inkube edildi.
- 5.Takibinde stop solusyon ilave edilerek 450 nm dalga boyunda blanka karşı standart ve numunelerin absorbansları ELISA okuyucusunda ölçüldü.
- 6.Standartların verdiği absorbansa göre hazırlanan kalibrasyon eğrisine bağlı olarak numunedeki MMP-9 düzeyi ng/ml olarak belirlendi.

2.2.3.2 NO ölçülmesi

Serum örneklerinde nitrik oksit ölçümü için Miranda ve ark., bildirdiği NO'un

göstergesi olarakta NO_x (nitrit+nitrat) düzeylerinin belirlediği modifiye yöntem kullanıldı.

Testin yapılışı:

Ölçüm öncesi örneklerin deproteinize edilmesi için numuneler 3 katı %10 TCA ile karıştırılması içi vortekslendi. Karışım +4°C 12000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. ELISA pleytine 100 µl supernatant alınarak üzerine 100 µl VaCl₃ (400 mg VaCl₃, 1 M HCl çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanarak karıştırılır), 50 µl sülfanilamid (200 mgr sülfanilamid 10 ml olacak şekilde % 5 lik HCl çözeltisinde çözülür) ve 50 µl %0.1'lik N-1 (1-Naphthyl), NEED (Ethyl-enediamine) ilave edildi. ELISA pleyti 37 °C'da 30 dk inkübe edildi. Hazırlanan karışım Elisa okuyucu da 540 nm dalga boyunda okundu. Nitrik oksit miktarı daha önce çeşitli yoğunluklarda hazırlanan NaNO₃ standart eğrisine göre hesaplandı.

2.2.3.3 Serumda MDA düzeyinin belirlenmesi:

Örneklerde MDA düzeyi Drapper ve Hadley (1990) yönteminin bir modifikasyonu olan ve çift kaynatma esasına dayanan metotla belirlendi. Birinci kaynatmada örneklerde bağlı olan MDA proteinlerden serbestleştirilerek proteinler çöktürülürken, ikinci kaynatmada ise toplam MDA, TBA (Tiobarbitürikasit) ile reaksiyona girerek oluşan renkli kompleksin absorbansı 532 nm'de ölçülür. MDA'nın molar absorpsiyon katsayısından yararlanılarak konsantrasyonu hesap edilir.

Testin yapılışı

Kontrol ve numune olmak üzere iki deney tüpü hazırlandı. Her iki tüpe 2.5 ml %10'luk TCA (Trikloroasetik asit) çözeltisi kondu. Numune tüpüne 0.5 ml örnek, kontrol tüpüne ise 0.5 ml distile su eklendi. Tüpün ağzı kapatılıp kaynamakta olan su banyosunda 15 dk bekletildi. Sonra çıkartılarak her iki tüp soğuk su altında soğutuldu ve 3000 devir/dk' da 10 dk santrifüj edildi. Üstteki süpernatandan 2'şer ml başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine %0.675 lik tiobarbitürik asit çözeltisinden 1 ml eklenerek

ağızları sıkıca kapatıldıktan sonra tekrar kaynar su banyosuna konuldu ve 15 dk bekletildikten sonra soğuk su altında soğutuldu. Spektrofotometrede 532 nm'de köre karşı numunenin absorbansı ölçüldü. MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinksiyon katsayısından yararlanılarak Serum için nmol/ml cinsinden MDA değeri bulundu.

Antioksidan statü (AOS) ise (Cayman chemical company, ELISA Kit Cat. No. 709001) düzeyleri ticari ELISA kiti kullanılarak belirlendi.

2.4 Histopatolojik Muayene

Nekropsileri yapılan hayvanların gözleri tamponlu nötral %10'luk formaldehit solüsyonu içinde tespit edildi. 48 saat sonra trimlenerek doku takibi için kasetlere alındı. Alkol ve Ksilen serilerinden geçerek doku takibi yapıldı ve parafinde bloklandı. Mikrotom ile 4-5 mikron kalınlığında kesilen bloklar lamlara alındı. HE (Hematoxilen-Eosin) tekniği ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Korneada yara hattında şekillenen histopatolojik değişiklikler Sancak ve Bozkurt'un (Sancak ve Bozkurt, 2010) kullandığı yöntem modifiye edilerek skorlandı. Bağdoku proliferasyonu, yangısal reaksiyon, epitel hücre rejenerasyonu parametreleri incelendi. Görülen bağdoku değişiklikleri şiddetine göre 0-3 arasında (0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=fazla) derecelendirildi. Bölgedeki yangısal reaksiyonda benzer şekilde 0-3 arasında derecelendirildi. Yangısal reaksiyonun olmaması 0; fokal ve az yoğunlukta olması 1; yaygın ve az yoğunlukta olması ile fokal ama çok yoğun olması 2; yaygın ve çok yoğun olması ise 3 olarak belirlendi. Bir diğer önemli parametre olan epitel hücre rejenerasyonuna da 0-3 arası değerler verildi. Buna göre normale yakın çok iyi epitelizasyon 0; epitelizasyon tamamlanmış fakat ensizyon bölgesi hiperplazik 1; ensizyon bölgeleri birleşmemiş fakat belirgin epitel hiperplazisi ise 2; ensizyon bölgeleri birleşmemiş ve epitel hiperplazisi mevcut değil ise 3, değerleri ile ifade edildi.

2.5 İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçlar, ortalama (mean) $\pm$ standart sapma (SD) şeklinde ifade edildi. Histopatolojik muayene sonuçlarına göre Grup K ve Grup R den elde edilen korneaların, korneal iyileşme kriteri olan bulguların BDP (Bağ Doku Proliferasyonu), YHR (Yangısal Hücre Reaksiyonu), EHR (Epitel Hücre Rejenerasyonu) parametreleri Grup K ve Grup R arasında patolojiden gelen istatistiksel döküm için yapılan değerlendirmede Ki-Kare testi kullanıldı. Aynı zamanda istatistiksel değerlendirme olarak KRUSKAL-WALLIS testi kullanıldı ve istatistiksel fark irdelendi. Kandan elde edilen serumlarda yapılan ölçümlerde sadece MMP-9 için istatistiksel hesaplama olarak DUNCAN ALFA testlerine göre de değerlendirme yapıldı. İstatistiksel analiz değerlerinde $p < 0,05$, anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda elde edilen bulgular; derin kat kornea yarası uyguladığımız kontrol grubu (Grup K) tobramisin uygulanan grup, Resveratrol grubu (Grup R) resveratrol + tobramisin uygulanan grup, postoperatif 11. güne kadar ki muayene bulguları, 11. gün sonunda sakrifikasyon sonrasındaki histopatolojik muayene bulguları, kan biyokimyasından (kontrol ve resveratrol grubu) NO, MDA, AOS ve MMP-9 ölçülmesi ve istatistiksel analiz sonuçları olarak değerlendirildi (Tablo 3.1).

3.1. Biyokimyasal Analiz Bulguları :

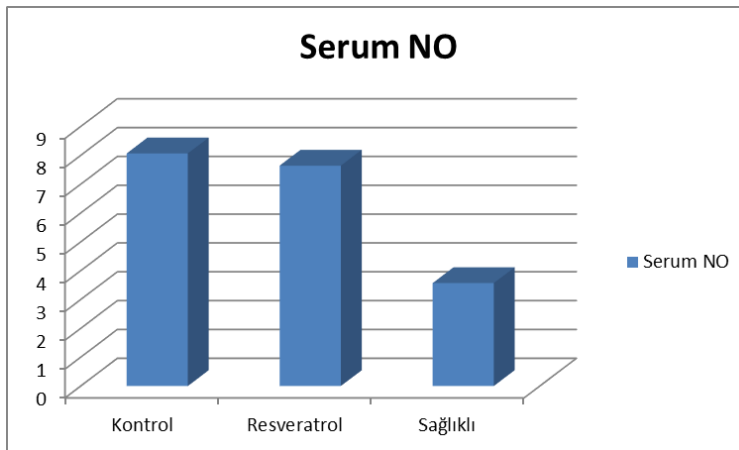
Bu çalışmada kontrol ve deneme grubundan alınan kan örneklerinde yapılan biyokimyasal analizlerde NO, MDA, AOS ve MMP-9 ölçülmüş ve Tablo 3.1' de toplu olarak ifade edilmiştir.

Gruplar	NO (nmol/ml)	MDA (nmol/ml)	AOS (mmol/L)	MMP-9 (ng/ml)
Kontrol	8,067±1,446 ^{ab}	2,854±0,571 ^{ab}	0,254±0,052 ^a	2,842± 0,368 ^{ab}
Resveratrol	7,643± 1,787 ^b	2,362±0,513 ^b	0,284±0,063 ^b	2,437±0,323 ^b
Sağlıklı	3,570± 0,377 ^a	1,611± 0,316 ^a	0,284±0,033 ^{ab}	1,150±0,197 ^a

Tablo 3.1: Gruplarda NO, MDA, AOS ve MMP-9 düzeyleri.

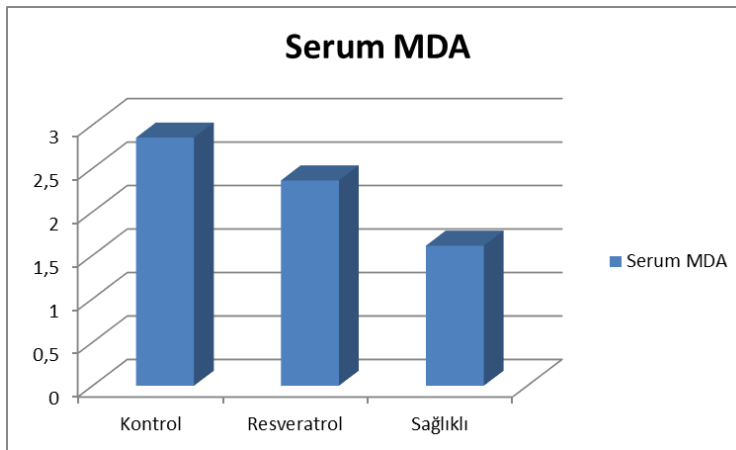
Aynı sütunda farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılık ifade etmektedir (p<0.05)

Kan serum örneklerindeki NO düzeyi kontrol, resveratrol grubu ratlarda ölçüldü. 0. gün değerleriyle karşılaştırıldı. Sırasıyla sonuçlar; $8,067 \pm 1,446$, $7,643 \pm 1,787$ ve 0. gün (sağlıklı ratlarda) $3,570 \pm 0,377$ olarak kaydedildi. 0. güne göre Resveratrol Grubundaki değişim kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 3.1, Şekil 3.1).



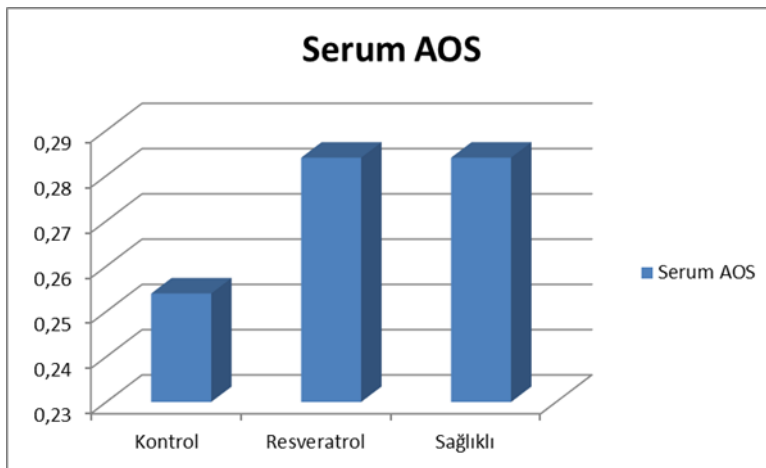
Şekil 3.1. Serum NO düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı (0.gün) grupları arasındaki dağılımı.

Serum MDA düzeyi Kontrol, Resveratrol grubu Referans sağlıklı ratların sonuçları sırasıyla $2,854 \pm 0,571$, $2,362 \pm 0,513$ ve $1,611 \pm 0,316$ olarak kaydedildi. Resveratrol grubundaki düzeyi Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 3.1, Şekil 3.2).



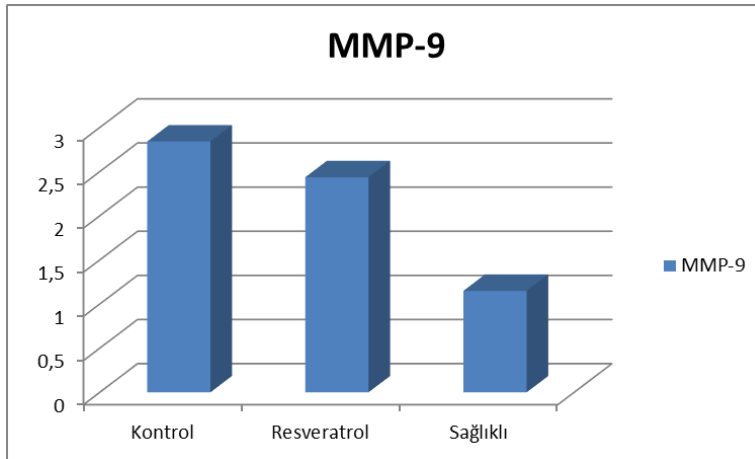
Şekil 3.2. Serum MDA düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı (0. gün) gruplar arasındaki dağılımı.

Kan serum örneklerinde AOS düzeyi kontrol, resveratrol ve sağlıklı (0. gün) ratlarda ölçüldü ve sırasıyla sonuçlar; $0,254 \pm 0,052$, $0,284 \pm 0,063$ ve $0,284 \pm 0,033$ olarak kaydedildi. 0. güne göre kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Resveratrol grubundaki değer istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 3.1, Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Serum AOS düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı (0. gün) gruplar arasındaki dağılımı.

Kan serum örneklerinde MMP-9 düzeyi kontrol, resveratrol ve sağlıklı (0. gün) ratlarda ölçüldü ve sırasıyla sonuçlar $2,842 \pm 0,368$, $2,437 \pm 0,323$ ve $1,150 \pm 0,197$ olarak kaydedildi. Resveratrol grubu ölçüm sonuçları Kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 3.1, Şekil 3.4).

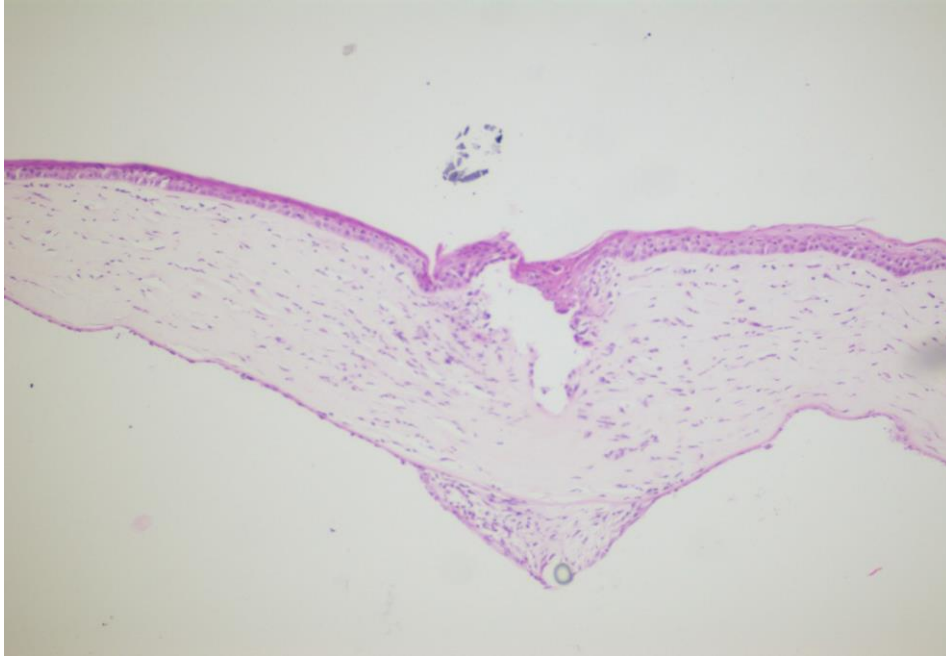


Şekil 3.4. Serum MMP-9 düzeylerinin Kontrol, Resveratrol ve Sağlıklı (0. gün) gruplar arasındaki dağılımı.

3.2.Histopatolojik Muayene Bulguları

Kontrol Grubu histopatolojik muayene bulguları; uygun kesit alınamadığı için 1 adet ratın korneası değerlendirilemedi. Bu nedenle her iki grupta (n=9) histopatolojik olarak sağ göz korneası çalışılmıştır.

Yaptığımız çalışmada 11. günün sonunda sakrifiye edilen kontrol grubuna ait 9 adet ratın sağ gözlerinde BDP, YHİ ve EHR skorlandığında; BDP açısından alınan örneklerin 1 örnekte fazla (3), 4 örnekte orta (2), 3 örnekte hafif (1), 1 örnekte yok (0) olarak kaydedilmiştir. YHİ yönünden ise; 1 örnekte yaygın ve çok yoğun (3), 5 örnekte fokal ama çok yoğun (2), 2 örnekte yaygın az yoğun (1), yok (0) olarak skorlanmıştır. EHR açısından ise; 4 örnekte ensizyon bölgeleri birleşmemiş (2), epitelizasyon tamamlanmamış, fakat ensizyon bölgesi hiperplazik (1), normale yakın çok iyi epitelizasyon (0) olarak skorlanmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1 Kontrol grubunda dokunun histopatolojik görünümü

(Işık mikroskobu altında yapılan incelemede; kontrol grubunda ensizyon bölgesi etrafında fibröz doku proliferasyonu, etrafında damarlaşma ve yangısel hücre

infiltrasyonu ve tamamlanmış epitelizasyon alanları görülmektedir) (Resim 3.1).

Resveratrol Grubu histopatolojik bulguları ise; 10 adet ratın sağ gözünde oluşturduğumuz derin kat kornea yarası için uyguladığımız tobramisine ek olarak resveratrol tedavisi sonrası yine 11. günün sonunda sakrifiye edilen ratların sağ gözlerinin patolojik incelemesinde bağ doku proliferasyonu, yángısel hücre infiltrasyonu ve epitel hücre rejenerasyonu skorlandığında bağ doku proliferasyonu açısından 5 örnekte orta (2), 3 örnekte hafif (1), 1 örnekte de yok (0) olarak bulunmuştur. Yangısel hücre infiltrasyonu açısından 4 örnekte fokal ama çok yoğun (2), yaygın az yoğun (1) olarak ise 4 örnek, 1 örnekte de (0) olarak kaydedilmiştir. Epitel hücre rejenerasyonu açısından ise 4 örnekte ensizyon bölgeleri birleşmemiş (2), 3 örnekte epitelizasyon tamamlanmış fakat ensizyon bölgesi hiperplazik (1), 2 örnekte ise normale yakın çok iyi epitelizasyon olduğu gözlenmiştir (Resim 3.2).



Resim 3.2 Resveratrol grubunda dokunun histopatolojik görünümü
(Işık mikroskobu altında yapılan incelemede; Resveratrol grubunda ensizyon bölgesinde epitelizasyon tamamlanmış fakat hafif epitel hiperplazisi halen mevcut, yángısal değışiklik ve fibrozis önemsenmeyecek kadar azalmış görünümde alanlar görülmektedir) (Resim 3.2).

Patolojik incelemede her iki grupta BDP (Bağ doku proliferasyonu), YHİ (Yangısel hücre infiltrasyonu), EHR (Epitel hücre rejenerasyonu) açısından patolojik skorlama değerleri üzerinden yüzde oranları hesaplanmıştır.

Skor	0	1	2	3
Grup K	%11,1	%33,3	%44,4	%11,1
Grup R	%11,1	%33,3	%55,6	%0,0

Tablo 3.2 : BDP (Bağ doku proliferasyonu) (n=9)
(Ki kare Testi $p>0.05$)

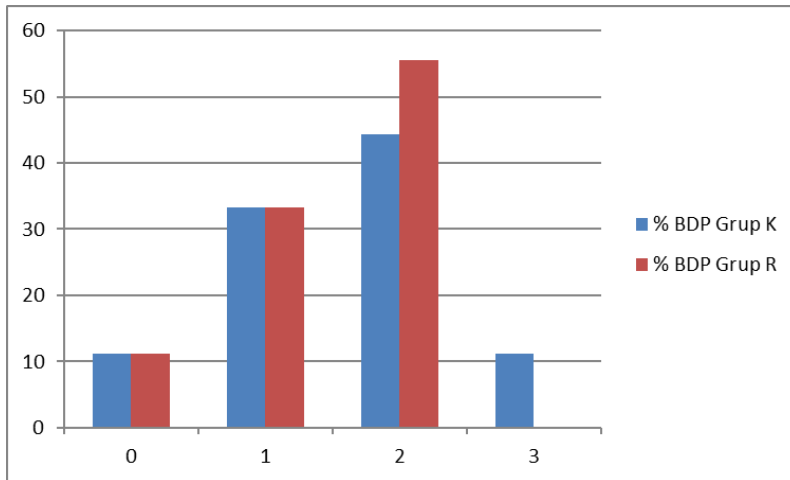
Skor	0	1	2	3
Grup K	%11,1	%22,2	%55,6	%11,1
Grup R	%11,1	%44,4	%44,4	%0,0

Tablo 3.3 :YHİ (Yangısel hücre infiltrasyonu) (n=9)
(Ki kare testi $p>0.05$)

Skor	0	1	2	3
Grup K	%22,2	%22,2	%55,6	%0,0
Grup R	%22,2	%33,3	%44,4	%0,0

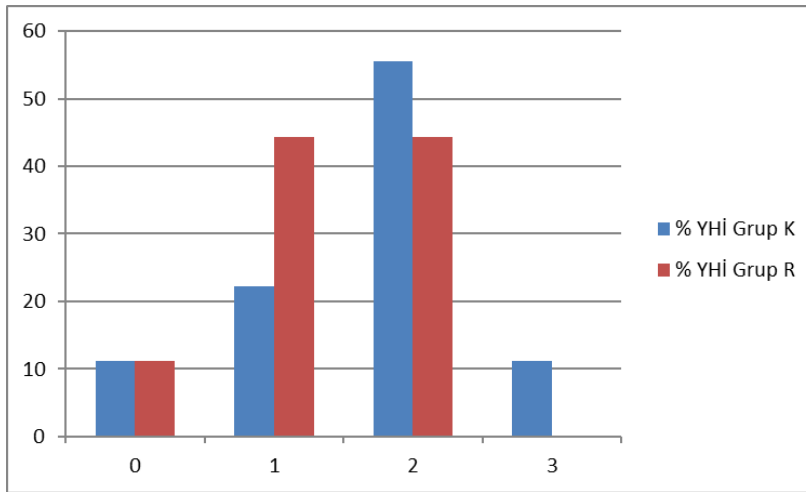
Tablo 3.4:EHR (Epitel hücre rejenerasyonu) (n=9)
(Ki kare Testi $p>0.05$)

BDP ‘nin Grup K ve Grup R arasındaki patolojik skorlama değeri olan 0’a göre yüzde oranı sırasıyla, % 11,1 ile %11,1 ; skorlama değeri olan 1 için %33,3 ve %33,3 ; skorlama değeri olan 2 için %44,4 ve %55,6 ve son skorlama değeri olan 3 için %11,1 ve %0,0 olarak ölçülmüştür. Skor 3 de Grup R’de istatistiksel olarak önemi olmayacak şekilde düşük bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 3.2, Şekil 3.5).



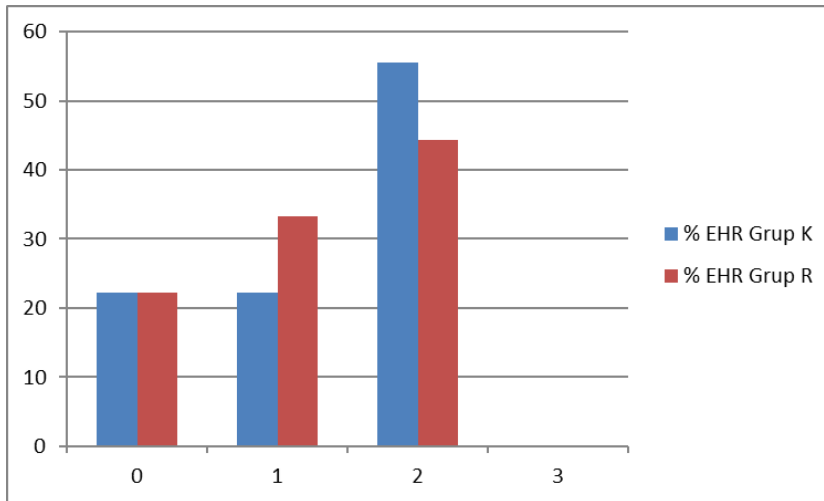
Şekil 3.5 BDP (Bağ doku proliferasyonu)’nun Grup K ve Grup R arasındaki oranının grafik olarak ifadesi.

YHİ 'nin Grup K ve Grup R arasındaki patolojik skorlama değeri olan 0'a göre yüzde oranı sırasıyla, %11,1 ve %11,1; skorlama değeri olan 1 için %22,2 ve %44,4 ; skorlama değeri olan 2 için %55,6 ve %44,4 ve son skorlama değeri olan 3 için %11,1 ve %0,0 olarak ölçüldü. Skor 3'de, Grup R'de istatistiksel olarak önemi olmayacak şekilde düşük bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 3.3, Şekil 3.6).



Şekil 3.6 YHİ(Yangısel hücre infiltrasyonu)'nun Grup K ve Grup R arasındaki yüzdelerin grafik olarak gösterilmesi.

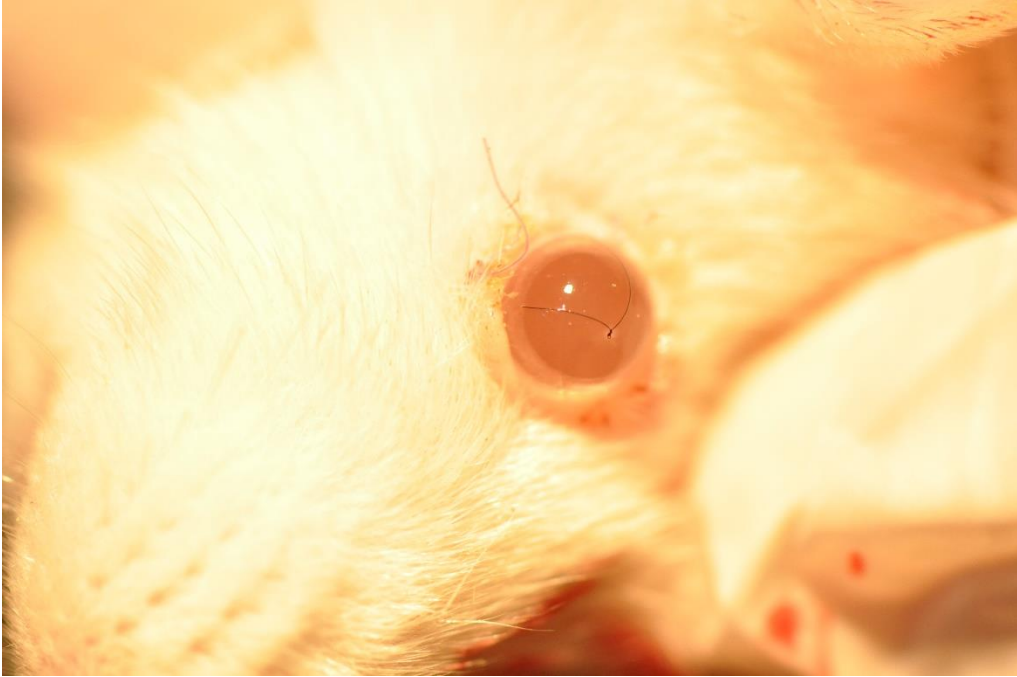
EHR 'nin Grup K ve Grup R arasındaki patolojik skorlama değeri olan 0'a göre yüzde oranı sırasıyla, % 22,2 ile %22,2 ; skorlama değeri olan 1 için %22,2 ve %33,3 ; skorlama değeri olan 2 için %55,6 ve %44,4 ve son skorlama değeri olan 3 için %0,0 ve %0,0 olarak ölçülmüştür. Hiçbir ölçüm skorunda gruplar arasında istatistiksel fark gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 3.4., Şekil 3.7).



Şekil 3.7 EHR (Epitel hücre rejenerasyonu)'nun Grup K ve Grup R arasındaki oranın yüzdelerinin grafik olarak ifadesi.

3.3 Postoperatif Muayene Bulguları

Bu araştırmada postoperatif olarak saptanan bulgular; ratların sağ gözlerine uyguladığımız tarsorafiler her iki grupta da hemen hemen tüm deneklerde açılmıştır ve açılan tarsorafiler yenilenmiştir. Sakrifikasyon günü olan 11. günde önce palpebralar üzerinde kalan dikiş artıkları ve sonrasında kornealara konulan dikişlerin alınmıştır (Resim 3.8). Tarsorafî hattında her iki grupta birer olgu hariç enfeksiyon sakrifikasyon gününe kadar gelişmemiştir. (Resim 3.3; Resim 3.4) Sakrifikasyon sonrasında ratların kornealarında oluşturduğumuz yara hattı sadece Kontrol grubu 2 nolu denekte (Resim 3.6) ve Resveratrol grubu 5 nolu denekte (Resim 3.7) neovaskülerizasyon gelişmiştir. Korneal ödem her iki grupta dikiş uyguladıktan sonra gelişmiş ancak res grubunda, kontrol grubuna göre opaklaşmanın daha az olduğu ve 11. günde daha belirgin olarak korneal ödemin ortadan kalktığı görülmüştür (Resim 3.10; Resim 3.11; Resim 3.12). Patolojik incelemeler ışığında RES grubunda korneal epitelizeasyonun yeterli oranda sağlandığı belirlenmiştir. Resveratrol grubundaki deneklerde korneal saydamlığın 11. Günde 5 nolu denek hariç kontrol grubundaki (2 nolu denek hariç) (Resim 3.9) deneklere göre daha fazla sağlandığı gözlenmiştir.



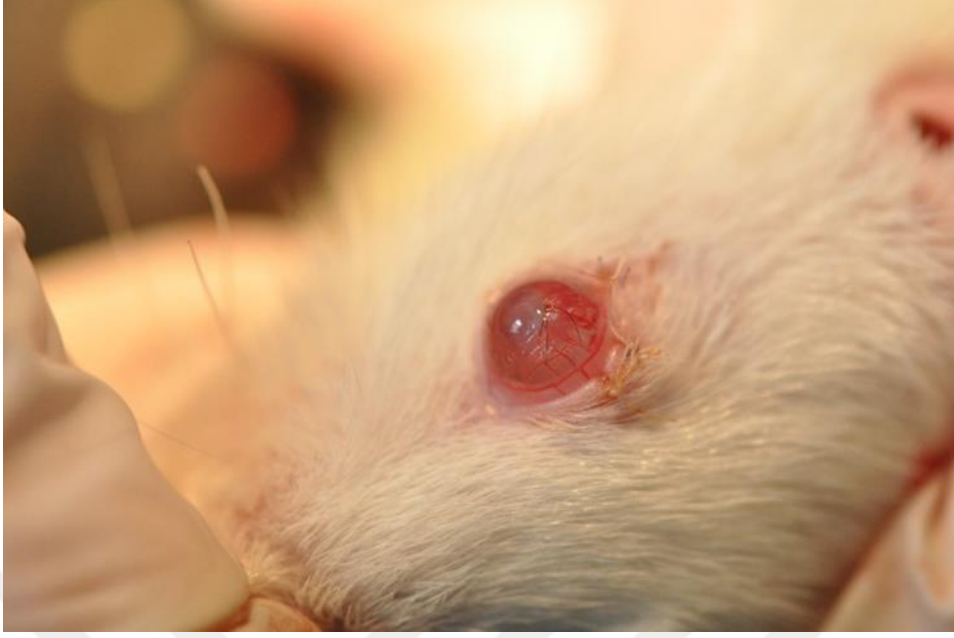
Resim 3.3 Kontrol grubunda yara hattının 11. gün görünümü (Tam iyileşme sağlanmış)



Resim 3.4 Resveratrol grubu denekte kornea yarası üzerinde iyileşmenin gözlemlendiği görünüm.



Resim 3.5 Sakrifikasyon günü (11. Gün) korneanın ve dikişlerin görünümü.



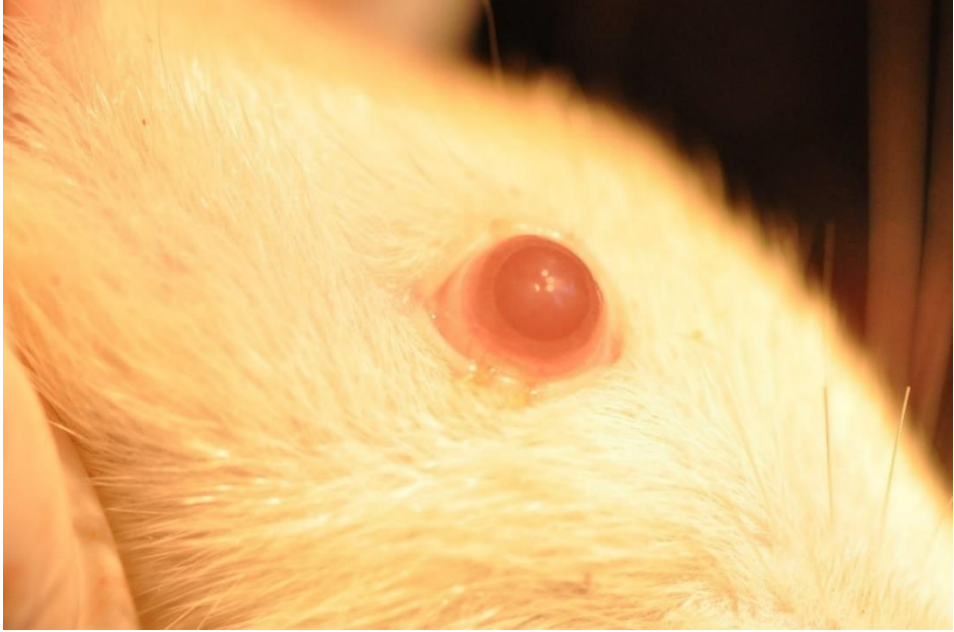
Resim 3.6 Kontrol Grubu 2 nolu olguda dikiş hattının 11. gündeki görüntüsü (Neovaskülerizasyon oluşumu).



Resim 3.7 Resveratrol grubu 5 nolu olguda neovaskülerizasyon oluşumunun görünümü.



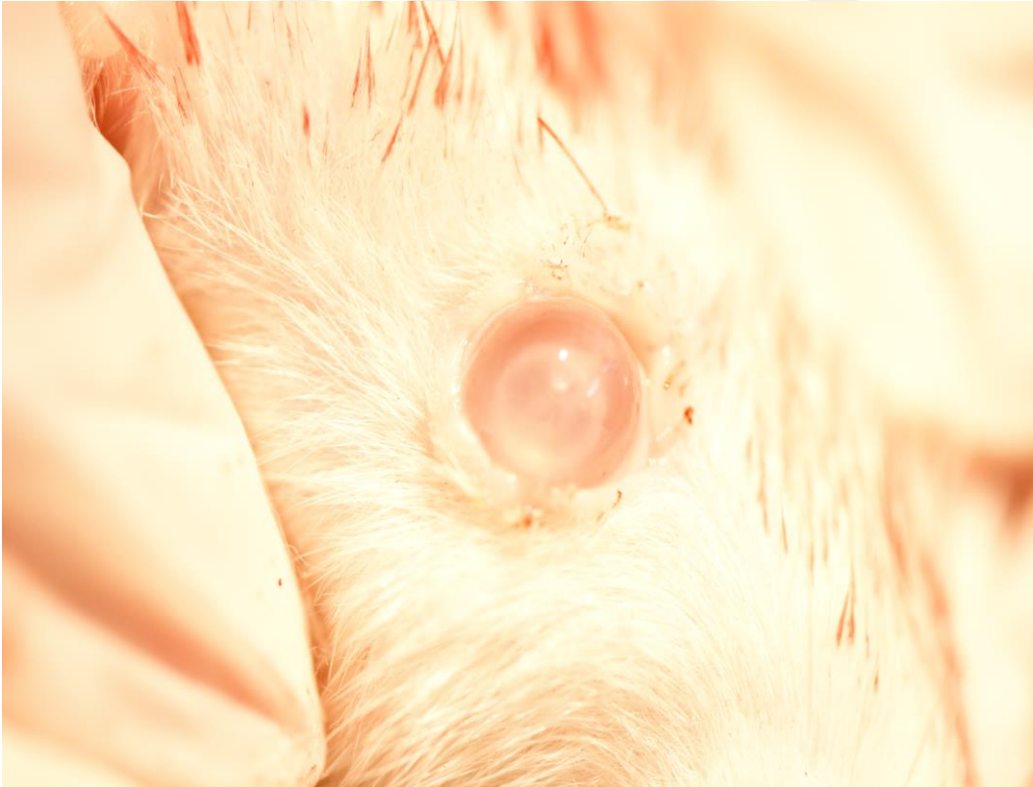
Resim 3.8 Resveratrol grubu denekte kornea yara hattına konulan dikişlerin alınması.



Resim 3.9 Resvetartrol grubunda dikişler alındıktan sonra korneanın görünümü.



Resim 3.10 Res Grubu 1. nolu olgunun dikişler alındıktan sonraki 11. gün görünümü.



Resim 3.11 Kontrol Grubu 5 nolu olgu (11. gün opasite görünümü).



Resim 3.12 Kontrol Grubu 1 nolu olgu (11.gün opasite görünümü)

4. TARTIŞMA

Kornea yaraları kornea dokusunun bütünlüğünün bozulması olgusudur. Evcil hayvanlarda özellikle kedi, köpek ve atlarda çeşitli nedenlerle oluşagelen ciddi komplikasyonlar ve gözün kaybına kadar varabilir. Sığırlarda çok nadir görülen olgular vardır. Veteriner oftalmolojide tıpkı insan hekimliğindeki gibi tedavide kullanılan seçenekler, modifiye edilerek sağaltıma katılması ile çeşitlilik arz eder. (Akın ve Samsar, 1998).

Travma sonucu korneal epitelyumun sıyrılması ile şekillenen süperfisyal abrazyonlar süperfisyal korneal ülserler gibi, derin abrazyonlar da derin korneal ülserler gibi sağaltılırlar. Korneal laserasyonlarının sağaltımı, laserasyonun derinliğine bağlıdır. Süperfisyal laserasyonlar süperfisyal ülserler gibi hızlı iyilesir. Kalınlığı korneal kalınlığın yarısından daha derin olan laserasyonlarda yarı, 7/0-10/0 absorbabl ya da non-absorbabl iplikle dikilir. Tam kalınlıkta kornea laserasyonları ise cerrahi işlemlerle iyileştirilir. Korneal laserasyonların prognozu yaranın şiddetine ve derinliğine bağlıdır. Küt travma sonrası oluşan rupturun prognozu keskin aletlerle olan laserasyondan daha kötüdür (Gilger, 1991; Magrane, 1971).

Korneal stromal hasarlarda vasküler iyileşmeye önemli katkının, bölgede bulunan keratositler ile çevre dokulardan gelen fibrosit ve makrofajlar aracılığı ile sağlandığı bilinir. Bu hücrelerin oluşturduğu fibrin, kollajen ve hücre düzensizlikleri ile kollajen fibrillerinin ışığı geçirememesi sonucu korneal saydamlığın sağlanamadığı ve opasitenin söz konusu olduğu bilinmektedir (Slatter 1990c; Slatter 1990d). Korneal laserasyonların sağaltımında, cerrahi ekipmanın ve tekniğin prognozu etkilediği bilinmektedir (Gilger, 1991; Magrane, 1971).

Bu araştırmada kontrol grubunda 3 denekte, 2 denekte 6. günden önce korneal opasite belirlenmiş ancak res grubu 11. günde bir olgu hariç korneal ödemin ortadan kalktığı gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise 11. günde korneal ödem res grubuna göre

belirgin olarak saptanmıştır.

Brakenhielm ve ark. (2001), doğal kırmızı şarabın yara iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırmış, araştırmada Oral yolla verilen resveratrolün kırmızı şarabın angiogenezi suprese etmesi neticesinde yara iyileşmesini geciktirdiğini; (5,7µg/ml konsantrasyonda) ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada tümör gelişimi ve yara iyileşmesi anjiogenesiz yoluyla olduğu için, ikisinin de geciktiği ve gerilediği vurgulanmaktadır.

Bu çalışmada ise yüksek doz resveratrolün, oksidatif stresi azalttığı, diğer yandan yara iyileşmesini klinik olarak geciktirmediği ortaya konmuştur.

Şarap polifenolü olan Resveratrol, platelet agregasyonunun ve vazokonstriktörün bir indükleyicisi olan tromboksan A₂'yi sentezleyen siklooksijenaz 1 (COX 1) aktivitesinin tercih edilen inhibisyonu yoluyla platelet agregasyonunu önler. Buna ek olarak, izole edilmiş arterleri ve fare aort halkalarını rahatlatılabilir. Ca⁺⁺ ile aktive edilmiş K⁺ kanallarını uyarabilme ve endotelde nitrik oksit sinyalini artırma yeteneği, resveratrolün vazorelaksan aktivite uyguladığı diğer yollardır. Araştırmalar, resveratrolün LDL parçacıklarının şelatlayıcı bakır yoluyla oksidasyonunu veya serbest radikallerin doğrudan atılmasını potansiyel olarak inhibe ettiğini göstermiştir (Pandey, 2009; Cinpolat, 2005).

Özellikle kırmızı üzümünden elde edilen kırmızı şarap, içilerek tüketildiğinde resveratrol anjiogenezi suprese eder, kan damarlarının gelişiminin prosesi, gelişme ve birçok hastalığın ilerlemesinin durdurulmasında; kanser metastazisini ve diabetik retinopati gibi hastalıklarda nasıl davrandığını araştırmak üzere incelemeler yapılmıştır. Doğrudan kapillar endotel hücre gelişimini inhibe ettiği ortaya konmuştur. Resveratrol olarak bilinen bu polifenol, kırmızı şarapta ortalama 1.5-7.0 mg/l 'de olarak bulunur. RES, suprese ederek birçok hastalığı durdurur. Yani kanser, metastaz ve diabetik retinopatinin gelişimini de bu supresyon özelliğiyle yapar. Hayvanlarda yeni kan damarlarının gelişimini de suprese ederek oluşumunu sağlar (Brakenhielm ve ark., 2001).

Hidroksistilbenin bir örneği olan RES'in araşidonat inhibisyonu salınımı, MAPK aktivasyonu, proteinkinaz-C ve mast hücrelerinin degranülasyonu gibi görevleri de vardır (Cho, 2002).

RES, Lipid peroksidasyonunu inhibe etmekte, bakırla şelat yapmakta, serbest radikal süpürücüsü olarak çalışmakta, eikozanoidlerin sentezini bozmakta, trombosit agregasyonunu inhibe etmekte, anti-inflamatorik aktivite göstermekte, anti- kanser ve östrojenik ativite göstermesiyle üstünleşmektedir (Fremont,1999).

Li ve ark. (2011), lens epitelyal hücre kültüründe RES'in oksidatif hasarı önlediğini ortaya koymuş ve Zheng ve ark. (2010), insan lens epitel hücresinde H₂O₂ ye karşı oluşan oksidatif stresi, katalaz ve SOD-1 düzeylerini ve HO-1 ekspresyonunu arttırarak engellediğini ortaya koymuşlardır.

Bu araştırmada serum 11. gün ölçümlerinde NO düzeyi sırasıyla Kontrol ve RES gruplarında $8,067 \pm 1,446$, $7,643 \pm 1,787$ mmol/ml olarak ölçülmüş olup RES grubundaki değer istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).

MDA düzeyi ise sırasıyla gruplarda; $2,854 \pm 0,571$, $2,362 \pm 0,513$ mmol/ml olarak ölçüldü. NO da olduğu gibi RES Grubunda da istatistiksel önemi olacak şekilde düşük bulundu ($p < 0.05$).

AOS düzeyi 11. gün ölçüm bulguları gruplarda sırasıyla; $0,254 \pm 0,052$, $0,284 \pm 0,063$ mmol/L olarak ölçülmüş olup RES grubunda istatistiksel önemi olacak şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Diğer önemli bir nokta da 0. gün ölçüm sonucunun $0,284 \pm 0,033$ olmasıdır ki, RES grubu 11. gün ölçüm sonucu 0.gün ölçüm sonucuyla aynıdır.

Bu sonuç da litetarür verileri desteklemekte ve RES in yukarıda sayılan serbest radikal süpürücü özelliğinin ve yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkisinin bir kanıtı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bulguda literatür veriden farklılık

göstermektedir (Brakenhielm'in araştırmasına göre).

Bu biyokimyasal bulguları histopatolojik bulgular da desteklemektedir. Diğer yandan, gerek RES grubundaki NO ölçüleri sonuçları, gerekse MDA Düzeyleri AOS ile birlikte değerlendirildiğinde RES'in Lipid peroksidasyonunu önleyici etkisi, bakırla şelat yapıcı özelliği ve serbest radikal süpürücü özelliğinin de bu araştırmada 30 mg/kg dozda yüksek miktarda günlük uygulamasının antioksidan özelliğinin ortaya konması açısından önemli olduğu kanaatindeyiz.

Matriks metaloproteinazlar ise normal koşullarda, embriyonik büyüme, doku morfogenezisi ve büyümenin devamlılığı için bağ dokusunda üretilmektedir. Bu üretim, torfoblast implantasyonu, menstrüel siklus, ovulasyon, doku hasarının tamiri ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçlerde oldukça önem taşımaktadır (Öztürk, 2013; Wong ve ark., 2002). MMP-9 Jelatinaz gruptan olup, temel olarak jelatin sindirimi ve kollagen denatürasyonundan sorumludur. Normal memeli dokusunda MMP'ler ya yoktur ya da düşük seviyededir. Tamir ve remodeling prosesinde ve hastalık durumlarında MMP ekspresyonu genellikle arttığı bildirilmektedir (Pflugfelder ve ark., 2005). Yara iyileşmesi gibi birçok yangı prosesi stimulusu ve stres durumunda inflamatuvar sitokinler ve MMP'lar artar. Fare modelinde proinflamatuvar stres olarak hiperosmolar SF, dengeli SF ile karşılaştırıldığında, oküler yüzeyde kornea ve konjunktival epitel tarafından IL-1 β , TNF- α ve MMP-9 ekspresyonunu ve üretimini arttırdığı bildirilmektedir (Pflugfelder ve ark., 2005).

İnflamasyon, re-epitelizasyon, anjiogenesis, granülasyon doku formasyonu ve matriks depozisyona farklı tip hücreler tarafından (fibroblast, yangısal ve entotelyal hücreler) yanıt oluşur ki bu durum; hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşmesiyle regüle edilir (Wong ve ark., 2002; Clark, 1996; Gailit, 1994).

MMP'lar doku onarımının regülasyonunda multiple seviyesinde önemli rol üstlenmiş ve proteolitik aktivite gösteren mediatörlerdir (Wong ve ark., 2002).

Yangısal faz, nötrofillerin ve monositlerin yara bölgesine geçmesiyle karakterizedir.

Yaralanmış doku tarafından doku faktörleri ve kemoatraksiyon salınımıyla hızla bir reaksiyon oluşur. Yaralanmış doku venöz stasis oluşturur. Plazma komponentlerinin (fibrin ve akut yara sıvısı) birikimi ile yüksek seviyede MMP-9 salınımı gerçekleşir. Bu fazda; makrofaj ve nötrofil granülleri içinde depolanan MMP-9 mikroçevre içine salınır (Kjedsen, 1994). Proliferasyon fazında da MMP-9 iyileşen yara kenarında fazla miktarda eksprese olur (Cornelius, 1995). Remodeling fazında çalışmalar göstermiştir ki; fibroblast aracılı kollagen kontraksiyonu ile aşırı salınan MMP'lar yara kapanmasında önemli rol üstlenmiştir (Occlleston, 1996; Scott, 1998).

Göz yaşında, MMP-1,2,8 ve 9; Kornea epitelinde MMP-1, 9,10,12,13,14; Stromada; MMP-1,2,3,14, Endotelyumda MMP-2 ve 9 rol aldığı bildirilmektedir (Wong ve ark., 2002).

Bu araştırmada ise 11. gün ölçüm sonuçlarında MMP-9 düzeyi gruplarda sırasıyla; $2,842 \pm 0,368$ ve $2,437 \pm 0,323$ ng/ml olarak belirlenmiştir. 0. gün sağlıklı hayvanlarda ise $1,150 \pm 0,197$ ng/ml olarak ölçülmüştür. RES grundaki ölçüm sonucu istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.05$). Bu sonuç da histopatolojik bulgularla desteklendiği gibi iyileşmenin tamamlandığına ve MMP-9 salınımının gerilediğine, dolayısıyla seviyesinin de düştüğüne yorumlanmaktadır.

Postoperatif bulgulara baktığımızda çalışmamızda ratların sağ gözlerine uyguladığımız tarsorafiler her iki grupta da hemen hemen tüm deneklerde açılmıştır. Hayvanlara stres oluşturmamak için yakalılık uygulanmamıştır. Tarsorafilerin açılması sonrasında hayvanların ikincil bir enfeksiyona maruz kalmaması ve ürik asit dolayısı ile solunum yolu hastalıkları oluşmaması için 2 günde 1 kez altlık olarak kullanılan talaşlar yenilenmiştir. Oda ısısı kontrol altında tutuldu ($21\text{ }^{\circ}\text{C}$). Tüm bu önlemler altında 11 gün boyunca ratların gözleri enfeksiyon ve vaskülerizasyon yönünden kontrol edildi. Enfeksiyonu önlemek için topikal Tobramisin kullanıldı. Her iki grupta da birer denekte neovaskülerizasyon geliştiği (Resveratrol grubunda 5 nolu denekte ve kontrol grubunda 2 nolu denekte) gözlemlendi.

Avasküler olan kornea yara iyileşmesi kuralına göre, korneanın vaskülerize

olması istenen bir durum değildir. Daha çok korneanın yaralanması sonrasında gelişen cevaptır. Her ne kadar resveratrol kullanarak neovaskülerizasyon engellense de, skleral vaskülerizasyon engellenememiştir.

Neovaskülerizasyon korneanın şeffaflığının azalmasına ve görme kaybına neden olan yeni damarların oluşumudur (Yüksel, 2009). Ödem, vaskülerizasyon, sikatriks şekillenmesi, pigmentasyon, hücrel infiltrasyon, yangıya bağlı korneal dejenerasyonu korneanın yaralanmasında normal olarak gelişen reaksiyonlardır (Şaroğlu, 1999).

Patolojik durumlarda korneada kan damarlarının gelişimi organizmanın yanıtıdır. Stromada oluşursa yüzlek ya da derin tip vaskülerizasyon şeklindedir. Yüzlek damarlanmada damarlar parlak kırmızı, derin damarlanma ise koyu renkli, kısa ve düzensizdir. Genelde damarların derinliği kornea lezyonlarının da derinliğini gösterir (Akın ve Samsar, 1999).

Bu çalışmada Kontrol grubunda 3 denekte, Resveratrol grubunda 2 denekte neovaskülerizasyon şekillenmiştir. Bu araştırmada neovaskülerizasyon stromada derin tip vaskülerizasyon şeklindeydi.

Korneal yara iyileşmesinin yanıtı, epitel hücreleri, stroma keratositleri, kornea sinirleri, lakrimal bezler, gözyaşı glandı ve bağışıklık sistemi hücreleri arasındaki sitokine bağlı etkileşimleri içeren aşırı karmaşık bir yapıdır. Değişik yaralanma olgularında yara iyileşme yanıtları gözün bütünlüğünü muhafaza etmeli, koruyucu epitel yüzeyini restore etmeli, aynı zamanda görüşü sağlamak için yeterli korneal saydamlığı korumalıdır. Epitel, stroma ve sinirler anterior kornea ve oküler yüzeyin homeostazına katılır. Lakrimal bezler ve gözyaşı ayrıca gözün fonksiyonu için önemli olan yüzey düzgünlüğünün ve bütünlüğünün korunmasına da katkıda bulunur. Yaralanmanın ardından, bu bileşenler çoğu durumda kornea yapısını ve işlevini etkili bir şekilde yeniden başlatan düzenlenmiş bir yanıtı katılır. Birçok sitokin ve reseptör süreci modüle eder. Bu sistemlerin aktivasyonu ayrıca, yaralı yüzeyi bozabilecek ve kornea stroma girişini arttıracak mikropları ve mikropları yok etmek için çalışan

bağışıklık hücrelerini de çeker. Sadece bu bileşenlerin her birinin tek başına katkıları ve etkileşimleri göz önünde bulundurulduğunda bile önemi ortaya çıkmaktadır. Kornea epitelinde korneal hasarın ardından epitelyal hiperplazi görülebilir ve aylar ya da yıllar sonra normal epitelyal kalınlığa dönüş mümkündür (Wilson, 2001).

Epitel yapının yenilenmesi ve aynı zamanda stromadaki epitelyal kılıfın büyük ölçüde ıslanmasına yani gözyaşı filmine bağlıdır. Lakrimal bez yetersiz hale geldiğinde sicca koşulu gelişir. Gözyaşı proteinleri lizozim ve laktoferrin eksikliği, her ikisi de lakrimal bez tarafından salgılanır, savunma mekanizmalarını azaltır ve enfeksiyonların duyarlılığını artırır (Reim, 1997).

Uygun kesit alınamadığı için kontrol grubundan 1 adet ratın korneası değerlendirilemedi ve toplamda histopatolojik olarak 9 adet ratın sağ göz korneası gruplarda çalışılmıştır. Buna göre, Hematoksilen-Eosin (HE) tekniği ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Korneada yara hattında şekillenen histopatolojik değişiklikler Sancak ve Bozkurt'un (Sancak ve Bozkurt, 2010) kullandığı yöntem modifiye edilerek skorlandı. Bağdoku proliferasyonu, yangısal hücre reaksiyonu, epitel hücre rejenerasyonu parametreleri incelendi.

Bu çalışmada 11. günün sonunda sakrifiye edilen kontrol grubuna ait 9 adet ratın sağ gözlerinde bağ doku proliferasyonu, yangısal değişiklikler ve epitel hücre rejenerasyonu skorlandığında bağ doku proliferasyonu açısından alınan örneklerin 1 örnekte fazla (3), 4 örnekte orta (2), 3 örnekte hafif (1), 1 örnekte yok (0) olarak kaydedilmiştir. Yangısal hücre infiltrasyonu yönünden ise; 1 örnekte yaygın ve çok yoğun (3), 5 örnekte fokal ama çok yoğun (2), 2 örnekte yaygın az yoğun (1), yok (0) olarak skorlanmıştır. Epitel hücre rejenerasyonu açısından ise; 4 örnekte ensizyon bölgeleri birleşmemiş (2), epitelizasyon tamamlanmamış, fakat ensizyon bölgesi hiperplazik (1), normale yakın çok iyi epitelizasyon (0) olarak skorlanmıştır.

Resveratrol Grubu histopatolojik bulguları ise; 10 adet ratın sağ gözünde oluşturduğumuz derin kat kornea yarası için uyguladığımız tobramisine ek olarak resveratrol tedavisi sonrası yine 11. günün sonunda sakrifiye edilen ratların sağ

gözlerinin patolojik incelemesinde bağ doku proliferasyonu, yangısel hücre infiltrasyonu ve epitel hücre rejenerasyonu skorlandığında bağ doku proliferasyonu açısından 5 örnekte orta (2), 3 örnekte hafif (1), 1 örnekte de yok (0) olarak bulunmuştur. Yangısel hücre infiltrasyonu açısından 4 örnekte fokal ama çok yoğun (2), yaygın az yoğun (1) olarak ise 4 örnek, 1 örnekte de (0) olarak kaydedilmiştir. Epitel hücre rejenerasyonu açısından ise 4 örnekte ensizyon bölgeleri birleşmemiş (2), 3 örnekte epitelizasyon tamamlanmış fakat ensizyon bölgesi hiperplazik (1), 2 örnekte ise normale yakın çok iyi epitelizasyon olduğu gözlenmiştir.

Patolojik incelemede her iki grupta BDP (Bağ doku proliferasyonu), YHİ (Yangısel hücre infiltrasyonu), EHR (Epitel hücre rejenerasyonu) açısından patolojik skarlama değerleri üzerinden yüzde oranları hesaplanmıştır. BDP ‘nin Grup K ve Grup R arasındaki patolojik skarlama değeri olan 0’a göre yüzde oranı sırasıyla, % 11,1 ile %11,1; skarlama değeri olan 1 için %33,3 ve %33,3; skarlama değeri olan 2 için %44,4 ve %55,6 ve son skarlama değeri olan 3 için %11,1 ve %0,0 olarak ölçülmüştür. Skor 3 de Grup R de istatistiksel olarak önemi olmayacak şekilde düşük bulunmuştur ($p>0.05$) .

YHİ ‘nin Grup K ve Grup R arasındaki patolojik skarlama değeri olan 0’a göre yüzde oranı sırasıyla, %11,1 ve %11,1; skarlama değeri olan 1 için %22,2 ve %44,4; skarlama değeri olan 2 için %55,6 ve %44,4 ve son skarlama değeri olan 3 için %11,1 ve %0,0 olarak ölçüldü. Skor 3 de Grup R de istatistiksel olarak önemi olmayacak şekilde düşük bulunmuştur ($p>0.05$) .

EHR ‘nin Grup K ve Grup R arasındaki patolojik skarlama değeri olan 0’a göre yüzde oranı sırasıyla, % 22,2 ile %22,2; skarlama değeri olan 1 için %22,2 ve %33,3; skarlama değeri olan 2 için %55,6 ve %44,4 ve son skarlama değeri olan 3 için %0,0 ve %0,0 olarak ölçülmüştür. Hiç bir ölçüm skorunda gruplar arasında istatistiksel fark gözlenmemiştir ($p>0.05$.)

Bu histopatolojik sonuçlar dikkate alındığında, Resveratrol grubunda her ne kadar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel fark gözlenmese de; Resveratrol

grubu hayvanların gözlerinde BDP açısından skor 3 yüzdesi %0, YHİ açısından skor 1 % 44,4 ve skor 3 %0 olarak belirlenmiştir. Diğer yandan EHR açısından skor 1 %33,3 olarak belirlenmiştir.

Resveratrol grubu olgularda yukarıdaki sonuçlara göre yara iyileşmesi daha düzgün ve hızlı geliştiği ve bu maddenin bazı literatür verilerden farklı olarak olumlu etki yaptığı kanaatindeyiz.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma biyokimyasal parametrelerin ölçümü ve histopatolojik olarak bağ doku proliferasyonu, yangısel hücre infiltrasyonu ve epitel hücre rejenerasyonu kriter alınarak desteklendi.

Yaptığımız biyokimyasal ölçümlerde MMP-9, MDA, NO, AOS'ye göre değerlendirildi. Sadece MMP-9 enziminin RES grundaki ölçüm sonucu istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.05$). Bu sonuç da histopatolojik bulgularla desteklenmiştir ve MMP-9 salınımının gerilediğine, dolayısıyla seviyesinin de düştüğüne yorumlanmaktadır.

Sonuç olarak; Resveratrol grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında korneal iyileşmenin göstergesi olarak kabul edilen bağ doku proliferasyonu, yangısel hücre infiltrasyonu ve epitel hücre rejenerasyonu açısından bakıldığında erken dönemde RES grubunda ensizyon bölgesinde epitelizasyon tamamlanmış fakat hafif epitel hiperplazisi halen mevcut, yangısal değişiklik ve fibrozis önemsenmeyecek kadar azalmış görünümde alanların olduğu histopatolojik incelemede yer bulmuştur. Resveratrolün kornea yara iyileşmesi üzerinde etkili olduğu ve dolayısı ile resveratrol grubundaki ratların kornealarında oluşturulan yaranın resveratrole cevabı olumlu bir yanıt bulmuştur. Bununla birlikte yapılan araştırma 11 günle sınırlı olduğundan erken dönem yara iyileşmesini gözlemlemeyi hedeflendiğimizden, daha uzun gözlem periyodunda çalışmalar yapılması gerektiği ve böylece Resveratrolün etkisinin daha belirgin olarak ortaya konulabileceği sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Kornea Yarası Oluşturulan Ratlarda Resveratrol'ün Erken Dönem İyileşmedeki Etkisinin Araştırılması

Kornea yaraları klinisyenlerin kedi ve köpeklerde sıkça karşılaştığı olgulardandır. Çoğunlukla sonuçları açısından genellikle olumsuz ve şüpheli kabul edilen olgular olarak değerlendirilmektedir. Veteriner hekimlikte insan hekimliğindeki tedavi yöntemlerinden faydalanarak, çoğunlukla modifiye tekniklerle sağaltım yapılmaya çalışılmaktadır.

Bu çalışmada, Fitoaleksin olarak bilinen bir polifenol olan resveratrol günümüze kadar kullanılan ilaç ve cerrahi yöntemlerin yanıtına ek olarak ve belki de sağaltımda antibiyotik kullanımının yan etkilerini azaltmak ve resveratrol maddesinin antitümör, antioksidan etkinlikten destek alarak iyileşmeyi hızlandırmak ya da sekel oluşumunu azaltarak ya da ortadan kaldırarak her iki hekimlik alanında da önemli bir çıkış açacak yeni bir sağaltım yöntemi ortaya koymak amaçlanmıştır.

Bu amaçla değişik yaş ve cinsiyette 6 haftalık yaşta toplam 20 adet Erkek Wistar Albino Rat kullanıldı. Denekler iki gruba ayrıldı. 1. Grup denek; Kontrol Grubu olarak, 2. Grup Denek; Resveratrol grubu olarak ayrıldı. Her bir ratın sağ gözüne her iki grup hayvanın korneasına Lup (2,5 X) kullanılarak, sentralde vertikal olarak bisturi ucu ile 2-3 mm uzunluğunda desement membrana kadar kornea yarası oluşturuldu ve yara 10/0 Nylon dikiş materyali ile basit ayrı dikiş yöntemi ile dikildi. Tüm gruptaki deneklere tarsorafi uygulaması yapılarak 5 gün boyunca 1. Grup yani kontrol grubu deneklerde sadece tobramisin, 2. Gruptaki yani resveratrol grubu ratlara ise gözlere tobramisin uygulanmasına ek olarak yem ve resveratrol (30 mg/kg) içeren su gastrik gavaj ile; 1. Gruptaki ratlar ise sadece su ve yem ile ad libitum 11 gün boyunca beslendiler. Postoperatif 11 günlük gözlem boyunca oftalmoskopik bulgular not edildi. Tüm olguların yapılan klinik muayenelerinde neovaskülerizasyon gelişmediği ve korneal saydamlığın olduğu gözlemlendi. 11 gün sonunda sakrifiye

edilen hayvanlardan alınan gözler histopatolojik olarak incelendi.

Kontrol Grubu histopatolojik muayene bulguları; uygun kesit alınamadığı için 1 adet ratın korneası değerlendirilemedi. Her grupta toplamda histopatolojik olarak 9 adet ratın sağ göz korneası çalışılmıştır.

Hayvanlardan sakrifikasyon öncesinde kan örnekleri toplandı ve kontrol ve deneme grubundan alınan kan örneklerinde yapılan biyokimyasal analizlerde MMP-9, NO, MDA ve AOS ölçüldü. BDP açısından skor 3: gruplarda sırayla %11.1 ve %0.0 idi ($p<0.05$). YHİ; skor 3 sırayla %11.1 ve %0.0 ($p<0.05$) idi. MDA sonuçları sırasıyla 0. gün ve 11. gün Grup K ve Grup R için $1,61\pm0,316$, $2,854\pm0,57$ ve $2,362\pm0,513$ olarak ölçüldü. Grup K'daki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$). MMP-9 ise sırasıyla; $1,115\pm0,197$, $2,842\pm0,368$ ve $2,437\pm0,323$ olarak ölçüldü Grup K'daki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.01$). AOS açısından gruplar arasında fark belirlendi ($p<0.05$). RES grubunda 11. gün ölçüm sonuçları 0. gün ölçüm sonuçlarına çok yakın bulundu.

Çalışma sonucunda biyokimyasal ve histopatolojik bulgular yönünden yapılan değerlendirmelere göre resveratrolün kornea yara sağaltımında vaskülerizasyonun engellenerek korneanın saydam görünümünün tekrar kazandırılması ve dolayısı ile iyileşmenin sağlanmasında önemli oranda etkili olduğu ancak daha kapsamlı ve uzun takip gerektiren çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Rat, Resveratrol, Kornea Yarası, MMP-9.

SUMMARY

The evaluation of the early term healing effects of resveratrol on corneal wounds in Rats

Corneal wounds are frequently seen in clinical surveys of cats and dogs. Mainly their prognoses are worse or susceptible because of the outcome of the therapies. Oftenly, veterinary medicine benefits from the human medicine for the treatment of this disease with modified methods.

In this study, a polyphenol substance phytoalexin known as resveratrol was used to adjunct medical and surgical treatments, presumably reducing the side effects of antimicrobials and benefiting from the antitumour, antioxidant effects of resveratrol substance to improve the recovery and reduce or eliminate the cicatrization which marks an era in both medical grounds within this new treatment method.

For this purpose, 6 weeks old 20 male Wistar Albino Rat were used in this study. Rats were divided randomly to two groups which Group 1 was control group, and Group 2 was resveratrol group. On each rat for both groups, right eyes' cornea were ensized centrally for 2-3 mm long using lup magnification (2,5X) and wounds were sutured using 10/0 nylon material in simple fashion. Tarsoraphy were made and tobramycin was used for treatment. In experiment group, (group 2) rats were fed additionally with resveratrol (30mg/kg) through gavage feeding and in group 1 rats were fed with food and water ad-libidum only for 11 days. Cases were examined for ophthalmoscopic findings. Following the sacrifice of cases at the 11th day specimens examined histologically.

The histopathological examination results showed that 1 cases corneal specimen was unavailable because of inconvenient slicing during specimen preparation. In each group, 9 right eye of rats' corneal specimen was studied.

Blood samples were collected prior to sacrifice of animals and biochemical tests were applied. MMP-9 (Matrix metalloproteinase-9), NO (Nitric oxide), MDA (Malondialdehyde), AOS (Antioxidant Status) were measured. According to CTP (Connective tissue proliferation) scoring 3: respectively group values were: %11.1 and %0.0 ($p<0.05$). According to Infiltration of Inflammatory Cell (IC) scoring 3: respectively %11.1 and %0.0 ($p<0.05$). MDA results were respectively: Day 0th and day 11th K and RES groups were measured as $1,61\pm0,316$, $2,854\pm0,57$ $2,362\pm0,513$. The increase in Group K was statistically significant ($p<0.001$). MMP-9 was measured respectively; $1,115\pm0,197$, $2,842\pm0,368$ and $2,437\pm0,323$. Group K increase was also found statistically significant ($p<0.01$). According to AOS the inter-group difference was statistically significant ($p<0.05$). RES group's 11th day measurements were so similar to day 0 measurements.

As a result, according to biochemical and histopathological findings, resveratrol inhibited the vascularisation in corneal wound healing and retained the transparency of corneal tissue. Resveratrol showed considerable role by maintaining the healing therefore effected the outcome of the treatment. However, it is seen that extended studies and longer follow-ups are needed better evaluation of the outcomes of resveratrol on the healing of corneal wounds.

Keywords: Rat, Resveratrol, Corneal Wound, MMP-9.

KAYNAKLAR

ABDULGANİ, A. (2007) Deneysel olarak Oluşturulan Kornea Neovaskülerizasyonunda Bevacizumab Etkinliğinin Araştırılması. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları A.D. Uzmanlık Tezi.s: -26-46

AKIN, F., SAMSAR, E. (1999) Göz Hastalıkları. Ders kitabı. Medipress. Malatya

ASANSI, M. ve ark. (2002) Inhibition of Cancer Growth by Resveratrol is Related to It's Low Bioavailability. Free Radical Biology and Medicine.vol: 33 No: 3 p: 387-398.

AZIZ, M.H., KUMAR, R., AHMAD, N. (2003) Cancer Chemopreventive by Resveratrol: In vitro and in vivo Studies and the Underlying Mechanisms. International Journal of Oncology. 23: 17-28

BARRY, D.G., McANDREWS, J.M., CHIEN, P.Y., JAMESON, J.L. (1997) Resveratrol, a Polyphenolic compound Found in Grapes and Wine, is an Agonist for the Estrogen Resceptor. Proc. Natl. Academy Science. v: 94 no: p:14138-14143.

BRAKENHIELM, E., CAO, R., CAO, Y. (2001) Suppression of angiogenesis tumor Growth, and Wound Healing by Resveratrol, a Natural Compound in Wine and Grapes. The Faseb Journal Express Article. Aug;15(10):1798-800

BUCAK, Y. Y. (2012) Deneysel Kornea Damarlanması Modelinde Siklosporin A'nın Etkinliğinin İncelenmesi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi. Tıp Fakültesi. Göz Hastalıkları A.D. Uzmanlık Tezi. Bolu.

CHO, D.I. ve ark. (2002) Effects of Resveratrol-Related Hydroxystilbenes on the Nitric Oxide Production in Macrophage Cells: Structural Requirements and Mechanism of Action. Life Sciences. 71: 2071-2082.

CİNPOLAT, Ö. (2005) Resveratrolün İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi. Genel Cerrahi A.D. Uzmanlık Tezi. Malatya.

CLARK, R.A., ASHCROFT, G.S., SPENCER, M.J., et al: Re-epithelialization of normal human excisional wounds is associated with a switch from alpha v beta 5 to alpha v beta 6 integrins. Br J Dermatol 135:46–51, 1996

COLLINS, B.K. (1993) Diseases of the Globe: Cornea and Sclera. In: Bojrab MJ. Disease Mechanism in Small Animal Surgery. 2. ed. Lea and Febier, Philadelphia.

130-138.

CORNELIUS, L.A., NEHRING, L.C., ROBY, J.D., et al: Human dermal microvascular endothelial cells produce matrix metalloproteinases in response to angiogenic factors and migration. J Invest Dermatol 105:170–6, 1995

ÇAY, M. Deney Hayvanları Fizyolojisi, Refah ve Davranış Özellikleri. Fırat Üniversitesi.Veteriner Fakültesi Fizyoloji AD http://web.firat.edu.tr/futdam/Deney_Hayv_Fizy.pdf erişim tarihi: 15.11.2017 saat: 00:15

DAĞLIOĞLU, M.C. (2001) Tavşanlarda Alkali Yanığa Bağlı Kornea Damarlanmasına Nitrik Oksit Sentetaz İnhibitörlerinin Etkisi. S:11-12-40.

DOĞAN, Ü. (2009) Deneysel Kornea Neovaskülarizasyonunda Bevasizumab ve Dekametazonun Etkinliği. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları A.D. Uzmanlık Tezi. Bolu.s: 2-4-13.

DRAPER, H.H., HADLEY, M. (1990)Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol; 186: 421-31

DUBIELZIEG, D. (2008) Ocular Anatomy and Variations in Laboratory Animals. Comparative Ocular Anatomy Rodent, Rabbit, Primate, Dog <https://www.vetmed.wisc.edu/pbs/dubielzig/pages/coplw/PowerPoints/AmColToxRed2008Anat.pdf> erişim tarihi:15.11.2017 saat:0040

FECE, M. (2004) Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler, ([http://med.ege.edu.tr/ophtal/todne /korneayara.htm](http://med.ege.edu.tr/ophtal/todne/korneayara.htm)) erişim tarihi: 14.08.2017 saat: 00:39

FOLKMAN, J. (2008) History of angiogenesis. In: Figg W, Folkman J, eds. Angiogenesis: An Integrative Approach from Science to Medicine. Springer; 2008:1-14.

FREMONT, L. (2000) Biological Effects of Resveratrol. Laboratoire de nutrition et Securite Alimentaire. Life Sciences. France.vol. 66, No. 8. p: 663-673.

GAILIT, J., CLARK, R.A. (1994) Wound repair in the context of extracellular matrix. Curr Opin Cell Biol 6:717–25, 1994 64.

GEHM, B.D., McANDREWS, J.M., CHIEN, P.Y., JAMESON, J.L. (1997) Resveratrol, a Polyphenolic Compound Found in Grapes and Wine, is an Agonist for the Estrogen Receptor. Proc. Natl. Acad. Science. USA. Vol:94 pp.14138-14143

GELATT, K.N., GELATT, J.P. (2001) Surgery of the Cornea and Sclera. In: Small Animal Ophthalmic surgery: Practical Techniques for the Veterinarian, Ed: KN. Gelatt, Butterworth-Heinemann, p.: 180-196.

GILGER, B. C., WHITLEY, R. D. (1991) Surgery of the Cornea and Sclera. Veterinary Ophthalmology. Ed.: K. N. Gelatt; Chapter: 20. p: 675-700.

GONG, N., PLEYER, U., RITTER, T., KNOP, E., CHEN, X. (2009) Corneal Allograft Endothelial Cell Replacement Represents a Reparative Response to Transplant Injury. Molecular Vision. v:15 no:67. p:654-661.

GORDON, S.R., WOOD, M. (2009) Soybean Agglutinin Binding to Corneal Endothelial Cell Surfaces Disrupts in Situ Monolayer Integrity and Actin Organization and Interferes with Wound Repair. Cell Tissue Res. 335:551-563

GÜNAY, Y., SAĞLIYAN, A., YAMAN, M. (2005) Köpeklerde Deneysel Olarak Oluşturulan Korneal Defektlerin Sağıaltımında Asetilsisteinin Etkisi. F.Ü. Sağılık Bilimleri Dergisi. 2005, 19(2), 151-156

HANSON, A. (2006) Rat Biology. The Rat's Eyes. <http://www.ratbehavior.org/Eyes.htm> erişim tarihi 07.08.2017 saat:16:30

HASSA, O (1978) Embriyoloji. 2. Baskı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü. Ank. Üniv. Vet. Fak. Yayınları :349. Ders Kitabı:248.. Ankara Üniv. Basımevi. Sayfa: 80-81.

HARDWICKE, J., SONG, B., MOSELEY, R., THOMAS, D.W. (2010) Investigation of the Potential of Polymer Therapeutics in Corneal Re-epithelialisation. Br J Ophthalmol. 94: 1566-1570

İKİZLER, M., DERNEK, S., ERKASAP, N., KAYGISIZ, Z., SEVİN, B., KURAL, T. (2003) İzole Rat Kalplerine Uygulanan Reperfüzyon Hasarında Resveratrolün Hemodinamik Etkileri. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 2003:11: 91-95

IMAMURA, G., BERTELLI, A.A., BERTELLI, A., OTANI, H., MAULIK, N., DAS, D.K. (2002) Pharmacological Preconditioning with Resveratrol: An Insight with iNOS knockout Mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 282: H1996-H2003,2002

JANG, M ve ark. (1997) Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from Grapes. Science. V:275 218

JUAN, M.E. ve ark. (2005) Trans-resveratrol, a Natural Antioxidant from Grapes, Increases Sperm Output in Healthy Rats. In the Journal of Nutrition. 135: 757-760.

KARADENİZ, F. (2000) Üzümlerde ve Şaraplarda Resveratrol. Gıda. 25(2): syf. 113

KHADEM, J., MARTINO, M., ANATELLI, F., DANA, R., HAMLIN, M. (2004) Healing of Perforating Rat Corneal with Photodynamic Laser-activated Tissue Glue.

National Institute of Health. Lasers Surgery of Medicine. 35.(4) :304- 311

KIZILTEPE, U., TURAN, N.N., HAN, Ü., ULUS, T., AKAR, F. (2003) Bir Kırmızı Şarap Polifenolü olan Resveratrolün Spinal Kord Koruyucu Etkisi: Nörolojik ve Histopatolojik Bulgular. 12 (2): 17-23

KJELDSSEN, L., SENGELOV, H., LOLLIKE, K., et al. (1994) Isolation and characterization of gelatinase granules from human neutrophils. Blood 83:1640–9, 1994 105.

KRINKE, J.P. www.s://booksgoogle.com.tr The laboratory rat. sf.457-458 internet erişim tarihi: 07.08.2017

KOULIKOVSKA, M., SZYMANOWSKI, O., LAGALI, N., FAGERHOLM, P. (2015) Platelet- Rich Plasma Prolongs Myofibroblast Accumulation in Corneal Stroma with Incisional Wound. Current Eye Research 40(11):1102-1110

KURT, N. (2008) Yaşa Bağlı Olarak Antioksidan Enzimlerinin Superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) Aktivitelerinin ve Malondialdehit (MDA) Seviyesinin İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya AD. Yüksek Lisans Tezi. Adana.

LANÇON, A., FRAZZI, R., LATRUFFE, N. (2016) Anti-oxidant, Anti-inflammatory and Anti-angiogenic Properties of Resveratrol in Ocular Diseases. Molecules. 21(3),304

LI. G., LUNA, C., NAVARRO, ID, et al. Resveratrol prevention of oxidative stress damage to lens epithelial cell cultures is mediated by forkhead box O activity. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52:4395-4401

McALVIN., J.B, ve ark. (2015) Corneal Anesthesia with Site 1 Sodium Channel Blockers and Dexmedetomidine. Investigative Ophthalmology and Visual Science. v: 56.no: p: 3820-3826.

MARIER, J. F., VACHON, P., GRITSAS, A., ZANG, J., MOREU, J.P., DUCHERME, M.P. (2002) Metabolism and Disposition of Resveratrol in Rats: Extent of Absorption, Glucuronidation, and Enterohepatic Recirculation Evidenced by a Linked-Rat Model. Aspet. Pharmacology and Experimental Therapeutics. Vol:302 no:1. 369-373

MATSUDA, H., SMELSER, GK. (2017) Endothelial cells in alkali-burned corneas. Arch.Ophthalmol. 1973; 89:402-409.

MIRANDA, K.M., ESPEY, M.G., WINK, D.A. (2001) A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitric Oxide, 5, pp. 62-71

MIURA, D., MIURA, Y., YAGASAKI, K. (2003) Hypolipidemic Action of Dietary Resveratrol, a Phytoalexin in Grapes and Red Wine, in Hepatoma-Bearing Rats. Life Sciences. 73.1393-1400

MURPHY, C.J. POLLOCK RVS. (1996) The Eye.In.: Evans HE. Miller's Anatomy of the Dog. In: Saunders Company, Philadelphia. 1009-1038.

MUZOĞLU, O. (2013) Tavşanlarda Deneyisel Olarak Oluşturulan Glakom Filtrasyon Cerrahisi Üzerine Mitomisin-C ve Siklosporin A'nın Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniv. Elazığ.

NAGAI, N., MURAO, T., OKAMOTO, N., ITO, Y. (2010) Comparison of Corneal Wound Healing Rates after Instillation of Commercially Available Latanoprost and Travoprost in Rat Debrided Corneal Epithelium. Journal of Oleo Science. v: 59 no: 3. p:135-141.

NAGAI, N., MURAO, T., OKAMOTO, N., SASAKI, M. (2009) Enhancing Effects of Sericin on Corneal Wound Healing in Rat Debrided Corneal Epithelium. Biological Pharm. Bull.32(5) 933-936

NASISSE, M.P. (1997) The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. Surgical Management of Ocular Disease. V.27, N.5. Saunders Company. Philadelphia.

OCCLESTON, N.L., TARNUZZER, R.W., WATERS, L. (1996) Inhibition of matrix metalloproteinases inhibits anterior segment fibroblast mediated collagen contraction [abstract]. Invest Ophthalmol Vis Sci 37(Suppl):S1015, 1996

ÖTLEŞ, S., ÖZYURT, H.V. (2012) Çevre ve İşleme Özelliklerinin Üzüm ve Ürünlerinde Resveratrol Değişimine Etkileri. Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü.

ÖZTÜRK, S.E.B. (2006) Tavşanlarda Deneyisel Ulkus Korneanın Sağaltımında Kornea-Konjunktival Pedikül Graft Tekniklerinin Karşılaştırılması. T.C. Ankara Üniv. Cerrahi A.D. Doktora Tezi. Ankara.s: 6-19-20.

ÖZTÜRK, Ö.G. (2013) Matriks Metalloproteinaz Enzim Ailesi. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 2013; 22(2):209-220

PANDEY, K.B., RIZVI, I.S. (2009) Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid Med Cell Longev. 2 (5): 270–278.

PEIFFER ve ark. (1991) Fundamentals of Veterinary Ophthalmic Pathology. In: Veterinary Ophthalmology; Ed.; K.N. Gelatt; Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., p.:355-425.

PFLUGFELDER, S.C. ve ark. (2005) Matrix Metalloproteinase-9 Knockout Confers Resistance to Corneal Epithelial Barrier Disruption in Experimental Dry Eye. *V*: 166 no:1 p: 61-71

REID, B., SONG, B., McCAIG, C.D., ZAO, M. (2005) Wound Healing in Rat Cornea.: The Role of Electric Currents. *Faseb Journal*. v:19 no:3 p: 397-386.

REIM, M., KOTTEK, A., SCHRAGE, N.(1997) The Cornea Surface and Wound Healing Eye Clinic, Faculty of Medicine, Technical University, Aachen, Germany *Progress in Retinal and Eye Research* Vol. 16, No. 2, pp. 183-225.

ROMANO, M.R. ve ark. (2014) Effects of Vitamin B12 on the Corneal Nerve Regeneration in Rats. *Experimental Eye Research*. v: 120. no: . 109-117.

SANCAK, İ.G. (2009) Tavşanlarda Deneysel Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Kornea-Konjunktival Transpozisyon ile Limbal Kök Hücre Transplantasyon Tekniklerinin Karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi. Veteriner Cerrahi A.D. Doktora Tezi. S:6

SANCAK, İ.G., BOZKURT, M.F. (2010) Healing effect of cornea conjunctival transposition (CCT) technique on corneal healing in New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 57 (4), pp. 235-240.

SCOTT, K.A., WOOD, E.J., KARRAN, E.H. (1998) A matrix metalloproteinase inhibitor which prevents fibroblast-mediated collagen lattice contraction. *FEBS Lett* 441:137–40, 1998

SIMOPOULOS, A.P. (2003) The Traditional Diet of Greece and Cancer. *European Journal of Cancer Prevention*. 13: 219-230.

SLATTER, D. (1990) *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 2.ed. WB Saunders, Philadelphia, 1990: p:204-303

SLATTER, D. (1990b) Basic Diagnostic Techniques. In: *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, Ed: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p:84-146.

SLATTER, D.(1990c) Cornea and Sclera. In: *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, Ed.: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p:257-303.

SLATTER, D. (1990d) Conjunctiva, *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Ed: Linda Mills. 2nd Ed. W.B. Saunders Company. Chapter 8. p:205-225. v: 166 no:1 p: 61-71

ŞAHAN, B. (2016) Deneysel Sıçan Kornea Neovaskülerizasyonu Modelinde Dovitinib ve Bevacizumabın Neovaskülerizasyon Azaltıcı Etkilerinin

Karşılaştırılması. Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları A.D. Uzmanlık Tezi. İstanbul.

ŞAROĞLU, M. (1999) Deneysel oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Bazı Antikollajenazik İlaçların Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağ.Bil.Enst. Cerrahi Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İstanbul.

ŞENER, E. (2009) Deneysel Kornea Neovaskülerizasyonu Oluşturulan Sıçan Modelinde Subkonjunktival Uygulanan EGF ve VEGF İnhibitörlerinin Neovaskülerizasyona Etkisi. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Kocaeli. s: 1-2.

ŞIRACI, G. (2004) Deneysel Oluşturulan Miyokard İskemi-Reperfüzyon Hasarında Resveratrolün Etkinliği. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi. Kalp Damar Cerrahisi AD. Uzmanlık Tezi. Elazığ.

WANG, L. ve ark. (2013) Topical Drug Formulations for Prolonged Corneal Anesthesia. National Institute of Health.Cornea. v: 32 no: 7. p:1040-1045.

WITTAKER, C., WILKIE, D.A. (1997) Surgery of the Cornea. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice: Surgical Management of Ocular Disease. Ed.: MP. Nassisse; 27(5): p.:1067-1107.

WILSON, S.E.et all (2001) The Corneal Wound Healing Response: Cytokine-mediated Interaction of the Epithelium, Stroma, and Inflammatory Cells. Progress in Retinal and Eye Research. v:20 no:5. p:625-637

WONG, T. T. L. et all. (2002) Matrix Metalloproteinases in Disease and Repair Processes in the Anterior Segment. Survey Ophthalmology v:47 no:3 p:239-256

YAVRU, N., YAVRU, S. (1996) Deney Hayvanları. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya.

YUVARLAK A., ÖZDEK, Ş. (2014) Standart Anti-VEGF Tedavinin Yetersiz Kaldığı Olgularda Aflibercept. TOD 48. Ulusal Kongre.

YÜKSEL, H. (2009) Deneysel Kornea Neovaskülerizasyonunda Siklosporin- A'nın Tedavideki Rolü. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları A.D. Göz Hastalıkları Uzmanlık Tezi. S: 6-

ZAVALA, J., JAIME, G.R.L., BARRIENTOS, C.A.R., VALDEZ-GARCIA, J. (2013) Corneal Endotelyum: Developmental Strategies for Regeneration. Eye. NPG. v: 27. no: 15. p: 579-588.

ZEPPIERI, M. ve ark. (2013) Human Adipose- Derived Stem Cells for the Treatment of Chemically Burned Rat Cornea: Preliminary Results. Current Eye Research v:38 n:4, 451-463.

ZHENG, Y., LIU, Y., GE, J., et al. Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. Mol Vis. 2010;16:1467–1474.



ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı: Hatice Çilem

Soyadı: Perçin

Doğum Yeri ve Tarihi: 01.02.1975 ADANA

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi: Liman Mh. 23. Sk. Demet Apt. 4/C Konyaaltı/Antalya
/Türkiye 05069721173

Bildiği Diller: İngilizce , Almanca

II. Eğitimi

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi (1995-2003)

Antalya Anadolu Lisesi (1986-1993)

Yahya Galip Kargı İlkokulu ve 23 Nisan İlkokulu (1981-1986)

III. Ünvanları

Veteriner Hekim (2003)

IV. Mesleki Deneyimi

Domestik Veteriner Kliniği'nde Veteriner Hekim olarak çalıştı. (2004)

Ankara Büyükşehir Belediyesi Sokak Hayvanlarını Kısırlaştırma ve Rehabilitasyonu Projesinde çalıştı. (2005)

Keçiören Belediyesi Sokak Hayvanları Rehabilitasyon Ünitesinde özel bir şirkette görev yaptı.(2006)

Perçin-Vet Veteriner Kliniğini kurdu. (2008- Ankara)

Per-Vet Veteriner Kliniği adıyla 2. Kliniğini Antalya Liman Mh. de kurdu. Klinisyen Veteriner Hekim olarak çalışmaktadır.

V. Üyesi Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI. Üyesi Olduğu Mesleki Kuruluşlar

Türk Veteriner Hekimleri Birliği- Türk Veteriner Hekimleri Derneği- AVHO- ANTVHO

Mesleki Sertifikaları: - Kedi ve Köpeklerde Uygulamalı Veteriner Stomatoloji Sertifikası(2014) Kedi ve Köpeklerde Kırık Fikzasyon Teknikleri Uygulamalı Kursu (2013)- Veteriner Hekimlikte Temel Endoskopi - Köpek ve Kedilerde Özafagogastroduodenoskopi (2013)- Akredite Veteriner Hekimliği Sertifikası-ISO 22000 kursu (2007)- Finnish/Turkish Businessman Association ve Ankara Veteriner Hekimleri Odası işbirliğiyle LLP Leonardo Da Vinci Mesleki Eğitim Programı Hijyenik Gıda Üretimi Projesi Finlandiya (2013)

Bizim çalışmamızda ise yüksek doz Resveratrolün, oksidatif stresi azalttığı, diğer yandan yara iyileşmesini klinik olarak geciktirmediği ortaya konmuştur.