



T.C.

AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNERLİK CERRAHİSİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**KORNEA YARALARINDA KESTANE BALININ İYİLEŞME ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI: DENEYSEL RAT MODELİ**

HAKAN BUĞRA AVCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. BÜŞRA KİBAR KURT

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK CERRAHİSİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

KORNEA YARALARINDA KESTANE BALININ İYİLEŞME ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI: DENEYSEL RAT MODELİ

HAKAN BUĞRA AVCI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. BÜŞRA KİBAR KURT

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-25002 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2025

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahi Anabilim Dalı (Veteriner) Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Hakan Buğra Avcı tarafından hazırlanan “Kornea yaralarında kestane balının iyileşme üzerine etkisinin araştırılması: Deneysel rat modeli” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:21.04.2025

Üye (T.D.):	Doç. Dr. Büşra KİBAR KURT	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Ali BELGE	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Mehmet SAĞLAM	Siirt Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında katkı ve desteklerini esirgemeyen tüm değerli hocalarıma, arkadaşlarıma ve aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecimin her aşamasında bilgi, deneyim ve akademik rehberliğiyle bana yol gösteren; anlayışı ve desteğiyle motivasyonumu her zaman yüksek tutmamı sağlayan kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Büşra KİBAR KURT'a en içten şükranlarımı sunarım.

Ayrıca, danışman hocamın değerli hocası olan ve akademik duruşuyla bizlere örnek teşkil eden Prof. Dr. Ali Belge'ye saygı ve şükranlarımı sunarım.

Histopatolojik değerlendirmelerde kıymetli katkılar sağlayan Prof. Dr. Özlem Özmen'e; tez sürecinde kullandığımız materyallerin hazırlanmasında büyük destek sağlayan Prof. Dr. Şenay Şanlıer'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans yolculuğum boyunca, başından sonuna kadar akademik ve kişisel anlamda desteğini her zaman yanımda hissettiğim dostum sevgili Berfin Petek'e özel olarak teşekkür ederim. Hem insanlığı hem de çalışkanlığı ile bu süreci daha anlamlı kıldığı için kendisine gönülden teşekkür ederim.

Tez sürecindeki desteği ve katkılarıyla yanımda olan Emine Nur Dinçer'e de teşekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda baş asistan olarak birlikte çalışmaktan memnuniyet duyduğum, samimiyeti ve desteğiyle her zaman yanımda olan Dr. Ahmet Gürsel'e teşekkür ederim.

Üniversite hayatımın en başından bu yana sekiz yılı aşkın süredir yanımda olan; dostluğunu her zaman hissettiren kıymetli arkadaşım Ege Karataş'a özel bir teşekkürü borç bilirim.

Akademik hayatın zorluklarında ve gündelik yaşamda verdiği moral ve destek, samimi dostluğu ve bilgisiyle yanımda olan sevgili Aylin Ateş'e teşekkür ederim.

Ayrıca düşünceli yaklaşımı, nezaketi ve zaman zaman gösterdiği yapıcı eleştirileriyle bana katkı sağlayan Yiğitcan Yılmaz'a da teşekkür ederim. Onunla yaptığımız sohbetler, fikir alışverişleri ve dostane paylaşımlar; bu sürecin sadece akademik değil, insani yönünü de zenginleştirmiştir.

Yüksek lisans sürecinde birlikte yol aldığım; farklı fikir alışverişleriyle katkı sağlayan Burak Baydoğan’a ve tez sürecim boyunca desteğini ve samimiyetini esirgemeyen Arş. Gör. Ezgi Sude Aybak’a teşekkür ederim.

Ayrıca mesleki duruşu ve insani değerleriyle her zaman örnek aldığım, bana ilham veren Sayın Abdülkadir Köybaşı’na en derin saygılarımla teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana koşulsuz sevgi, sabır ve destek sunan aileme; sevgili annem Hatice Avcı, babam Mehmet Avcı ve kardeşim Sergen Kadir Avcı’ya gönülden teşekkür ederim. Varlıkları, anlayışları ve verdikleri güç, bu sürecin en değerli destek kaynağı olmuştur.

Tez çalışmama VTF-25002 numaralı proje ile sağladığı maddi kaynaklarından dolayı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Bu çalışmada katkısı bulunan tüm kişi ve kurumlara teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	4
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	6
RESİMLER DİZİNİ.....	7
TABLolar DİZİNİ.....	9
ÖZET.....	10
ABSTRACT.....	11
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kornea Anatomisi.....	2
2.2. Kornea Katmanları	2
2.3. Epitelium Anterioris Kornea (Kornea Epiteli)	2
2.4. Lamina Limitans Anterior (Bowman Tabakası)	3
2.5. Substantia Propria Kornea (Stroma).....	3
2.6. Lamina Limitans Posterior (Dessement Membran).....	4
2.7. Endotelium Kamera Anterioris (Kornea Endoteli).....	4
2.8. Kornea Kalınlığı	4
2.9. Gözyaşı Film Tabakası	5
2.10. Kornea Fizyolojisi.....	6
2.11. Kornea Reaksiyonları.....	6
2.11.1. Kornea Ödemi	6
2.11.2. Kornea Vaskülarizasyonu	7
2.11.3. Korneada Granülasyon Dokusu (Skar)	7
2.11.4. Kornea Pigmentasyonu (Melanosis)	8
2.11.5. Hücrel İnfiltrasyon.....	8
2.12. Korneal Yara İyileşmesi.....	9
2.12.1. Epitel Katmanın İyileşmesi.....	9
2.12.2. Stromal Katmanın İyileşmesi.....	11
2.12.3. Endotelyum İyileşmesi.....	11
2.13. Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	12
2.13.1. Yaş ve Beslenme	12
2.13.2. Travma	12
2.13.3. Enfeksiyon	12

2.13.4. Yangı	13
2.13.5. Vaskülarizasyon	13
2.13.6. Fibronektin	13
2.13.7. Gözyaşının Etkisi	13
2.13.8. İlaç uygulamaları.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Hayvan Materyali.....	14
3.1.2. Kestane Balı	15
3.1.3. Kitosan	15
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Deneysel Çalışma ve Gruplarının Belirlenmesi.....	16
3.2.2. Hayvanların Anestezisi ve Korneal Yara Oluşturma	17
3.2.3. Floresein Boyama.....	18
3.2.4. Yara Boyutunun Ölçülmesi.....	19
3.2.5. Histopatolojik Muayene	20
3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	22
4. BULGULAR	23
4.1. Bal Analizi.....	23
4.2. Klinik Bulgular	24
4.3. Yara İyileşmesinin Değerlendirilmesi	24
4.4. Histopatolojik Bulgular	27
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
7. KAYNAKÇA	43
EKLER.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BİLİMSEL ETİK BEYANI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
8. ÖZGEÇMİŞ.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
μ	: Mikron
dk	: Dakika
ESM	: Ekstrasellüler matriks
GAG	: Glikozaminoglikanlar
GLM	: Genel Lineer Model
HE	: Hematoksileneozin
IL-11	: İnterlökin-11
KCS	: Keratokonjunktivitis sikka
mm	: Milimetre
MMP	: Metalloproteinazları
N.D.	: Tespit edilemedi
°C	: Santigrat
SLRP	: Lösinden zengin proteoglikan
TGF-β1	: Transforme edici büyüme faktörü
vs.	: Vesaire
α	: Alfa
β	: Beta

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kitosan (sol) ve kitosan- kestane balı (sağ) karıştırılarak elde edilen jel.	15
Resim 2. Deney grubunda bal ve kitosan jelinin uygulanışı.	16
Resim 3. Genel anesteziideki ratların sağ lateral pozisyonunda konumlandırılması.....	17
Resim 4. Kornea merkezinde 3 mm çaplı korneal lezyonun punch biyopsi ile oluşturulması.	18
Resim 5. Alger brush kullanılarak korneal lezyon oluşturulması.	18
Resim 6. Kornea yaralarının fotoğraflarının, cetvel, slit lamp ve kamera ile görüntülenmesi.	19
Resim 7. Bilgisayar ortamına aktarılan floresein boya tutulum alanının Image J 1.54j programında ölçülmesi.	20
Resim 8. Bal grubu 4 numaralı deneğin floresein testi negatif, 67. saat ölçümü.....	25
Resim 9. Kontrol grubunda 17 numaralı deneğin floresein testi. 0, 24, 36, 48 ve 67. saatlerdeki iyileşme düzeyini gösteren boya tutulum alanındaki küçülmenin görünümü.	25
Resim 10. Kitosan grubunda 14 numaralı deneğin floresein testi. 0, 24, 36, 48 ve 67. saatlerdeki iyileşme düzeyini gösteren boya tutulum alanındaki küçülmenin görünümü.	25
Resim 11. Bal grubunda 6 numaralı deneğin floresein testi. 0, 24, 36, 48 ve 67. saatlerdeki iyileşme düzeyini gösteren boya tutulum alanındaki küçülmenin görünümü.	26
Resim 12. Tüm gruplarda zamana göre yara alanlarının ortalama değerleri μm^2 cinsinden verilmiştir.	26
Resim 13. Kontrol grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, hiperemik damarlar (ince ok) ve nötrofil lökosit infiltrasyonları (ok başları), HE, Bar= 50 μm	27
Resim 14. Kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, belirgin ödemleşme ve nötrofil lökosit infiltrasyonları (ok başları), HE, Bar= 50 μm	28
Resim 15. Kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinde bakteriyel kolonizasyon ve iyileşmede gecikme (kalın ok) ile nötrofil lökosit infiltrasyonları (ince oklar), HE, Bar= 50 μm	29
Resim 16. Bal+kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, epitelde belirgin iyileşme ve hafif yangısal hücre infiltrasyonları (ince ok), HE, Bar= 50 μm	29

Resim 17. Bal+kitosan grubunda bir başka ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, epitelde tamamen kapanma ve çok hafif yangısal hücre infiltrasyonları (ince oklar), HE, Bar= 50µm.	30
Resim 18. Kontrol grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, hiperemik damarlar (ince ok) ve yangısal infiltrasyonları (ok başları), HE, Bar= 50µm.	30
Resim 19. Kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonra defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, epitelizasyonun tamamlanması ve infiltrasyonlarda (ok başları) belirgin bir azalma (ince ok), HE, Bar= 50µm.	31
Resim 20. Bal+kitosan jeli grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, tamamen şekillenmiş epitelizasyon ve çok hafif yangısal hücre infiltrasyonları (ince ok), HE, Bar= 50µm.	32
Resim 21. Bal+kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonraki tamamen iyileşmiş defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, HE, Bar= 50µm. ..	32

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Güç analizi testi verileri.....	14
Tablo 2. Kestane balı sülfonamide grubu antibiyotik analizi	23
Tablo 3. Kestane balı tetrasiklin grubu antibiyotik analizi	23
Tablo 4. Kestane balı içerik analizi	24
Tablo 5. Gruplarda korneada oluşturulan defekt alanlarının zamana göre değişimi (μm^2)	27

ÖZET

KORNEA YARALARINDA KESTANE BALININ İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI: DENEYSEL RAT MODELİ

Avcı H.B. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2025.

Amaç: Bu tez çalışmasında ülkemizde üretilen kestane balını içeren jel ürünün kornea yaralarında iyileşme üzerine etkilerinin araştırması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Materyali, 10-12 haftalık 200-250 gram ağırlığında Sprague Dawley ırkı 61 dişi rat oluşturmuştur. Kontrol, kitosan ve bal jeli olmak üzere üç grupta toplam 61 gözde korneal hasar meydana getirilmiştir. Deneme modelindeki travmatik lezyonun, tek gözde olması, tüm gözü kaplamaması ve hayvanların fizyolojik ihtiyaçlarını karşılamalarına engel olmayacak büyüklükte olması nedeni ile ratların sol gözünde 3 mm çapında korneal yara oluşturma işlemi gerçekleştirilmiştir. Böylece deneme 61 ratın 61 gözü üzerinde yürütüldü. Kornea yaraları görüntü işleme yazılım programı kullanılarak lezyonun çeperi poligon yöntemi ile işaretlenerek μm^2 cinsinden ölçülüp kaydedilmiştir. Histopatolojik analizlerin yapılması amacıyla 24. ve 67. saatlerde her gruptan rastgele seçilen 4'er ratın ötenazisi yapılmıştır.

Bulgular: Korneal yara iyileşmesinin değerlendirildiği 24, 36, 48 ve 67. saatlerde en düşük yara alanları bal jeli grubunda gözlenmiştir. Çalışmanın 67. saatinde bal jeli grubunda çoğu denek tamamen iyileşmiştir.

Sonuç: Bal jelinin, kornea yaralarında klasik tedaviye alternatif olarak veteriner hekimlikte tercih edilebilir ucuz ve kolay uygulanabilir olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apiterapi, kitosan, korneal iyileşme.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CHESTNUT HONEY ON HEALING OF CORNEAL WOUNDS: AN EXPERIMENTAL RAT MODEL.

Avcı H.B. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Veterinary Surgery, Master Thesis, Aydın, 2025.

Objective: This thesis study aims to investigate the effects of a gel product containing chestnut honey produced in our country on healing of corneal wounds.

Material and Methods: The material consisted of 61 female Sprague Dawley rats weighing 200-250 grams, aged 10-12 weeks. Corneal damage was created in a total of 61 eyes in three groups, namely control, chitosan and honey gel. Since the traumatic lesion in the experimental model was in one eye, did not cover the entire eye and was of a size that would not prevent the animals from meeting their physiological needs, a 3 mm diameter corneal wound was created in the left eye of the rats. Thus, the experiment was conducted on 61 eyes of 61 rats. Corneal wounds were measured and recorded in μm^2 by marking the perimeter of the lesion with the polygon method using the image processing software program. For histopathology purposes, 4 rats randomly selected from each group were euthanized at 24 and 67 hours.

Results: The lowest wound areas were observed in the honey gel group at 24, 36, 48 and 67 hours when corneal wound healing was evaluated. At the 67th hour of the study, most subjects in the honey gel group had completely healed.

Conclusion: Honey gel is considered to be a cheap and easy-to-apply alternative to classical treatment in veterinary medicine for corneal wounds.

Keywords: Apitherapy, chitosan, corneal healing.

1. GİRİŞ

Bal; düşük su, yüksek şeker ve antioksidan içerir. Buna ek olarak mineral ve protein içeriği açısından zengin bir gıda ürünüdür. Besinsel öneminin yanında tedavi edici özelliği de vardır. 1800’lerde bilimsel olarak literatüre giren bu özellik antibiyotiklerin yaygınlaşmasıyla daha az tercih edilmeye başlanmıştır. Ancak günümüzün antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin sayısının gittikçe artması araştırmacıları daha farklı yollar aramaya itmiştir. Balın, yüksek ozmotik dengesi, düşük pH değeri, içeriğinde bulunan hidrojenperoksit, flavonoidler, metilglioxal, lizozim, uçucu bileşenler ve arı defensin-1 gibi özellikleri antimikrobiyel olmasını sağlamaktadır. Dünyanın farklı bölgelerine özgü ballar ile yaralarda gelişen bakteriler üzerine yapılan etkinlik çalışmalarında; bal örneklerinin en yüksek antibakteriyel etkilerinin %100 konsantrasyonda olduğunu ve azalan konsantrasyon ile de bu etkinin azaldığı gösterilmiştir (Efem ve Iwara, 1992; Mercan ve diğerleri, 2007). Bilimsel anlamda önemli olan bir diğer bulgu da balların antibiyotiğe dirençli bakterilerin gelişimini engelleyebilme özelliklerinin olabilmesidir (Mercan ve diğerleri, 2007). Antibakteriyel ve iyileştirici etkileri olması yaraların tedavisinde, daha az ağrılı, daha kısa süreli, daha doğal ve az maliyetli sonuçlar çıkmaktadır. Kitosan’ın yara iyileşmesine etkisi ile ilgili çalışmalar di kkat çekicidir. Çalışmalar doku reaksiyonlarını artırdığını destekler. Deneysel hayvan modellerinde kitosan’ın, yara iyileşmesinin tüm fazlarında etki ettiği gösterilmiştir. İnflamatuar fazda kitosan’ın hemostatik aktivitesi gösterilmiş, ayrıca makrofaj ve nötrofillerin göçünü ve ilişkisini düzenlediği, granülasyon doku oluşumunu ve yeniden şekillenme gibi süreçlerde etki ettiği belirlenmiştir (Okamoto ve diğerleri, 2003; Ishihara ve diğerleri, 2002).

Yapılan literatür taramalarında kitosan ve bal ile oluşturulan jel ürünlerin yaralarda kullanıldığı tespit edilmiştir ancak kornea yaralarında yapılmış bir çalışmaya henüz rastlanılmamıştır. Bu tez çalışması ile bal jelinin kornea iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kornea Anatomisi

Kornea göz küresinin fibröz tabakasının anterior, transparan kısmını oluşturmaktadır ve öne doğru taşar. Ana yapısı, lamellar bir şekil oluşturan kolajenin paralel liflerinden oluşmaktadır. Korneanın en yüksekteki noktasına vertex kornea ismi verilirken çevresine ise limbus kornea denir (König ve Liebich, 2015).

2.2. Kornea Katmanları

Kornea beş tabakadan oluşmaktadır: Kornea epiteli (epithelium anterioris cornea), Anterior sınırlayıcı lamina ya da diğer adıyla Bowman tabakası (lamina limitans anterior), stroma tabakası (substantia propria cornea), Posterior sınırlayıcı lamina ya da diğer adıyla Descement membranı (lamina limitans posterior), endotel tabakası (epithelium camerae anterioris) (König ve Liebich, 2015).

2.3. Epithelium Anterioris Kornea (Kornea Epiteli)

Kornea epiteli, pürüzsüz bir yüzeye sahiptir. Köpek ve kedilerde 5-7, atlarda ise yaklaşık 12-15 hücre katmanından oluşan, keratinize olmayan, skuamöz epitelten oluşur (Balasopoulou ve diğerleri, 2017; Eghrari ve diğerleri, 2015).

Epitel, derinden yüzeye doğru bazal membran ve kolumnar, kanat, skuamöz hücrelerden oluşur. Kolumnar hücreler, hemidesmozomlar aracılığıyla bazal membrana bağlanır. Bu hücreler bölündükçe yüzeye doğru itilir, kanat hücreleri olarak yassılaşır ve organellerinin çoğunu yavaş yavaş kaybeder. Yüzey skuamöz hücreleri, gözyaşı filminin müsin tabakasını tutturan mikrovillöz çıkıntılara sahiptir (Sridhar, 2018).

Kornea epiteli büyük bir rejeneratif kapasiteye sahiptir. Yaralanmadan birkaç dakika sonra, lezyonun kenarını çevreleyen epitel hücreleri etkilenen bölgeyi örtmeye başlar. Epitel hücreleri defekti kapladıktan sonra mitoz bölünme meydana gelir ve kademeli olarak çok katmanlı epitel yüzeyi yeniden oluşturulur. Limbus, bazal tabakanın yenilenmesini sağlayan kornea kök hücrelerinin kaynağıdır. Tüm kornea boyunca bazal hücreler mitoz bölünme geçirir ve daha yüzeysel olarak hareket ederler. Böylece iyileşme, limbusun merkezinden ve bazal epitelin yüzeyinden olmak üzere birbirine yaklaşık olarak dik iki düzlemde eş zamanlı olarak

gerçekleşir. Sentripetal epitel kayması sırasında, limbustaki melanositler eskiden şeffaf olan bölgelere taşınabilir ve korneal melanozis görülebilir. Tüm kornea 4 ila 7 gün içinde reepitelize olabilir ancak epitelin tam kalınlığa kavuşması ve stromaya normal yapışma ile bazal membran geliştirmesi daha uzun sürebilir (Maggs ve diğerleri, 2022).

Epitel katman, kimyasal maddelere, mikroorganizmalara ve suya karşı koruyan ilk bariyerdir. Gözyaşı filmi epitel katman ile temas halinde olması optik yüzeyin kırılma gücüne katkıda bulunan pürüzsüz bir optik yüzey sağlar (Balasopoulou ve diğerleri, 2017).

2.4. Lamina Limitans Anterior (Bowman Tabakası)

Bowman zarı kolajen ve proteoglikanların yoğunlaşmasından oluşur. Tip I, Tip V kolajen ile proteoglikanlardan oluşur. Rejeneratif yeteneği yoktur (Eghrari ve diğerleri, 2015). Bowman membranı stromanın hemen önünde yer alır ve gerçek bir membran değildir. Stromanın en ön kısmının aselüler yoğunlaşmasıdır. Bu pürüzsüz tabaka korneanın şeklini korumasına yardımcı olur. Yaralandığında, bu tabaka yeniden oluşmaz (Balasopoulou ve diğerleri, 2017; Ma ve diğerleri, 2018; Jacobsen ve diğerleri, 1984).

2.5. Substantia Propria Kornea (Stroma)

Korneal stroma, korneanın yapısal iskeletinin büyük kısmını ve kalınlığının yaklaşık %80-85'ini oluşturur. Stromal liflerin ve ekstraselüler matriksin (ESM) hassas organizasyonunun bir sonucu olarak stroma şeffaf bir yapıdadır. Kornea fibrilleri içinde bulunan kolajen ağırlıklı olarak Tip I' dir. Stromada Tip VI kolajen ve Tip XII kolajen de bulunur (Balasopoulou ve diğerleri, 2017; Meek ve Boote, 2004).

Kornea stroması keratositler, ekstraselüler matriks ve glikozaminoglikanlardan, keratan sülfat, kondroitin sülfat ve dermatan sülfattan oluşur. Glikozaminoglikanlar ağırlıklı olarak keratan sülfattan oluşur. Keratositler stromanın ana hücre tipidir. Ekstraselüler matriks ortamın korunmasında görev alırken kolajen moleküllerini ve glikozaminoglikanları sentezleyebilir aynı zamanda da stromal homeostazın korunmasında önemli olan matriks metalloproteinazları (MMP) oluşturabilirler (Lassance ve diğerleri, 2018; Meek ve Boote, 2004; Maggs ve diğerleri, 2022, Chiou ve diğerleri, 2006; Bron, 2001).

2.6. Lamina Limitans Posterior (Dessement Membran)

Dessement membran posterior stroma ile endotelyum arasında uzanan homojen aselüler elastik bir zardır (Crispin, 2002). Dessement membranın kalınlığı 10 mikrondur. Yaşam boyu üretilmeye devam ettiği için yaş ilerledikçe kalınlaşır (Gilger, 2007). Dessement membrandaki ince yapılı lamina; ön bantsız bölge, ön bantlı bölge ve arka bantsız bölgeden oluşur. Ön bantsız bölge, tip V ve VI kolajenden, ön bantlı bölge, tip IV ve VIII kolajenden arka bantsız bölge ise tip III ve IV kolajenden oluşur (Eurell ve Frappier, 2006).

Kolajen yapıdaki fibrillerden oluşmaktadır. Dessement membran elastik bir yapıda olduğu için esneme özelliğine sahiptir, yırtıldığında uçları anterior kamaraya doğru kıvrılabilir. Perforasyon varsa eğer endotel hücreleri yeni bir membran oluşturur, floresein boya uygulandığında tutulum gözlenmez, siyah bir görüntü gözlenir (Samuelson, 2007).

2.7. Endotelium Kamera Anterioris (Kornea Endoteli)

Kornea endoteli, iç korneayı kaplayan yassılaştırmış hücrelerden oluşan tek bir tabakadır. Dessement membranın posteriorunda yar almaktadır. Endotelin rejeneratif yeteneği türe ve yaşa göre değişir. Çoğu türde endotelin aktif mitozu öncelikle olgunlaşmamış hayvanda meydana gelir. Mikroskopla incelendiğinde altıgen şekilli oldukları görülmesine rağmen Genç köpeklerde (yani 1-4 haftalıkken), hücrelerin çoğu tipik altıgen şekle sahip değildir (Chi ve diğerleri, 1960; Laing ve diğerleri, 1976).

Endotel yüzeyinin küçük mikroviluslar ve gözenekli yapıda bir hücrenin yan kenarlarının diğeriyle iç içe geçtiği görülür. Genç hücreleri büyük bir nükleusa ve çok sayıda mitokondriye sahiptir. Aktif taşıma ve ozmotik aktivitelerin gerçekleşmesi için hücre organelleri önemlidir (Gelatt, 2021).

2.8. Kornea Kalınlığı

Kornea kalınlığı her hayvanda ve her ırkta farklılık gösterebilir genellikle 1 mm'den az değerler ölçülür. Korneanın merkezi periferiye göre daha incedir. Kedi korneasının ortalama yatay çapı $16,5 \pm 0,6$ mm, dikey çapı ise $16,2 \pm 0,61$ mm'dir (Carrington ve Woodward, 1986).

Kornea kalınlığı ilk 4 ay boyunca artar ve 9 haftalıkken $379\mu\text{m}$ olarak ölçülür (Moodie ve diğerleri, 2001). Yetişkin kedilerin merkezi kornea kalınlığı ultrasonik pakimetre

kullanılarak 546µm ile histolojik olarak ölçülen 767µm (Gilger ve diğerleri, 1993; Samuelson, 2013) arasında değişmektedir.

Normal köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada, kornea kalınlığı 497,54±29,76µm olarak ölçülmüştür. Fourier-alan optik koherens tomografi ile ölçüldüğünde santral, superior paraksiyel ve superior perilimbal kalınlıklar 52,38±7,27µm, 56,96±6,47µm ve 69,06±8,84µm idi (Gelatt, 2021). Ratlarda korneanın kalınlığının yaklaşık 160 µm olduğu belirlenmiştir (Zhu ve diğerleri, 2017).

2.9. Gözyaşı Film Tabakası

Kornea yüzey epitelindeki ufak çaplı yüzey düzensizlikleri, üzerini örten pürüzsüz ve düzenli gözyaşı filmi tarafından maskelenir. Gözyaşı filmi, ışığın temas ettiği ilk tabakadır. Oküler yüzeye kayganlık ve hidrasyon sağlar. Aynı zamanda oksijen, immünoglobulin, lizozim, laktoferrin ve α - ve β -defensin kaynağıdır (Balasopoulou ve diğerleri, 2017; Guedes ve diğerleri, 2021).

Gözyaşı filmi üç farklı katmandan oluşur (Guedes ve diğerleri). En dıştaki tabaka lipit tabakasıdır. Zeis, moll ve meibomian bezlerinin yağlı salgılarından oluşur. Yağ sudan daha az yoğun olduğu için, salgılar gözyaşı filminin üst kısmına doğru yüzerek pürüzsüz bir kırılma yüzeyi oluşturur (Rolando ve Zierhut, 2001). Bu yağlı tabaka aynı zamanda gözyaşı filminin buharlaşmasına karşı önemli bir bariyerdir (Gelatt, 2017).

Aköz tabaka sudan oluşur, ortadadır ve en kalın olandır. %60'ı üst lateral orbitada bulunan lakrimal Krause ve Wolfring bezleri tarafından salgılanırken %40'ı üçüncü göz kapağı bezlerinden salgılanır. Ayrıca, konjunktiva stroması içine gömülü olan ve bu aköz tabakasına katkıda bulunan çok sayıda dağınık aksesuar lakrimal bezler de vardır. Aköz tabaka NaCl, glikoz, çeşitli enzimler, proteinler, immünoglobulin, albumin ve birçok farklı komplementten oluşur (Grahm ve Storey, 2004; Balasopoulou ve diğerleri, 2017).

En iç tabakaya müsün tabaka adı verilir aynı zamanda gözyaşı filminin en ince katmanını oluşturur. Kornea epiteli ile direkt temas halinde olan müsün tabaka esas olarak konjunktivadaki goblet hücreleri tarafından üretilir ancak kornea ve konjunktivanın epitel hücreleri de katkıda bulunur. Bu hücreler, bağışıklık sisteminin bir parçası olarak gözü enfeksiyonlara karşı korur ve gözdeki iltihaplanmayı kontrol eder. Müsün tabaka ve kornea epiteli arasında simbiyotik bir ilişki vardır ve yüzey gerilimini düzenler. Kornea epitel hücrelerinin glikokaliksiyle yakın

etkileşime girerek her göz kapağı kırpışında gözyaşı filminin hidrofilik yayılımını sağlar (Grahn ve Storey, 2004; Balasopoulou ve diğerleri, 2017; Gipson, 2007).

2.10. Kornea Fizyolojisi

Kornea avasküler yapıdadır. Korneanın saydamlığı stromadaki kolajen demetlerin düzenli dizilimi, duysal sinirler ve korneal hidrasyondan kaynaklanır. Kornea stroması, korneal katmanın %90'ını oluşturur. Korneanın su içeriği yaklaşık %78'dir. Kolajen demetleri, glikozaminoglilanlar (GAG) ve glikoproteinler tarafından oluşturulur. Korneada en çok tip I kolajen fibrilleri bulunur. GAG'lar keratin sülfattan oluşur aynı zamanda stromada intersitisyel ve interfibriller boşlukların dolmasını sağlarlar. Stromadaki kolajen fibrillerin düzenli bir şekilde dizilmesi bu madde ile sağlanır (William, 2012).

Korneal yüzeydeki fibriller arası boşlukların ve düzenli yapılarını bozan her türlü olay saydamlığını negatif yönde etkileyebilir. Örnek olarak intraoküler basıncı arttırabilecek hastalıklar, endotel hasarları, ödem vs. verilebilir (Maggs, 2008a).

Kornea duyarlılığı, hayvan türü, kafatası tipi ve korneanın hangi kısmı olduğuna göre değişiklik gösterir. Korneada bulunan duysal olarak hassasiyeti bulunan lifler uyarıldığında akson refleksi oluşur ve protein seviyeleri yükselir. Kornaya herhangi bir temasta bulunulduğunda ya da bir tahribat gerçekleştiğinde göz küresi geri çekilir ve hızlı hızlı göz kırılma başlar. (Gum ve Mackay, 2013).

2.11. Kornea Reaksiyonları

2.11.1. Kornea Ödemi

Kornea ödemi, korneanın aşırı derecede hidrasyonu epitel veya stroma tarafından fazla miktarda sıvı emilmesinden kaynaklanabilir. Aşırı hidrasyona bağlı kolajen fibrillerin düzenli yapısı bozulduğu için kornea saydamlığını kaybederek gri-mavi renk alır. Kornea ödemi sadece kalınlığın artması, ışığın saçılmasının artması ve şeffaflığın azalması ile sonuçlanan kornea su içeriğinin artması olarak kabul edilse de aynı zamanda stromal GAG kaybını ve su alımını da içerir (Kangas ve diğerleri, 1990).

Kornea şiştiğinde, sıvı korneal stroma içinde eşit olarak dağılmaz. Anterior ve posterior stroma arasındaki GAG içeriğindeki farklılıklar v anterior stromada bu lamellerin şişme

derecesini sınırlayan lameller arası örgünün varlığı nedeniyle posterior kornea lamelleri daha fazla hidrate olur (Meek ve ark., 2003a, 2003b).

2.11.2. Kornea Vaskülarizasyonu

Sağlıklı kornea avasküler bir dokudur. Korneanın avasküler yapıda kalması, anjiyojenik ve antianjiyojenik faktörlerin dengeli olmasıyla sağlanır. Bu dengenin bozulmasıyla beraber kornea stromasını etkileyen farklı patolojik etkiler sonucunda stromal iyileşme amacıyla vaskülarizasyon oluşur. Böylece korneanın yapısında bozulma, opasite ve pigmentasyon artışı, kornea saydamlığında ve görüş kaybı meydana gelir. Korneadaki epitelizasyon tamamlandıktan sonra yangı gidericiler (kortikosteroidler ya da nonstreoid antienflamatuar ilaçlar) ile vaskülarizasyonun kontrol altına alınması önemlidir (Slatter, 1990, Martin, 2010).

Korneal vaskülarizasyonun uyarılmasında yangı, kimyasal mediatörler, korneanın oksijen kapasitesindeki değişiklikler, tümör faktörleri ve fiziksel bozukluklar gibi faktörler etkilidir. Kornea ödemi doku yoğunluğunu azalttığı için tek başına olmasa da diğer etkenlerle beraber vaskülarizasyona neden olabilir. (Şaroğlu, 2013).

Korneada çeşitli patolojik nedenlerle ortaya çıkan kan damarları, yüzeysel ya da derin yerleşim gösterebilir. Yüzeysel damarlar, komşu konjunktival damarlardan köken alır ve stromal damarlara göre tipik olarak daha uzun, dallanmış ve kırmızı görünümündedir. Korneanın yüzeysel damarları, stromanın 1/3'ünde görülür ve limbustaki konjunktival sirkülasyonun devamı şeklindedir (Severin, 1995, Barnett, 2006).

Korneanın derin damarları ise anteryör siliyer damarlardan köken alır ve genellikle daha kısa, daha az dallanmış ve daha koyu kırmızıdır. Komplike olmuş stroma lezyonlarında, özellikle korneadaki uyarımın devam ettiği olgularda, damarlar kollapsa uğramadan korneada damarlaşma artabilir ve granülasyon dokusu şekillenebilir (Şaroğlu, 2013).

2.11.3. Korneada Granülasyon Dokusu (Skar)

Korneal stromadaki bir lezyonun iyileşmesi sırasında üretilen kolajen fibriller düzenli bir yerleşim oluşturamazlar bu nedenle ışık iletiminin geçişini engellerler. Bu durum sağlıklı epitel katman altındaki kornea stroması içinde gri “salkımsı” veya “tüylü” bir opasite şeklinde kendini gösterir. Fibrozis tek başına ödem veya beyaz kan hücresi infiltrasyonu ile

karıştırılabilir ancak fibrozis daha belirgin sınırlara sahiptir. Zaman geçtikçe skar doku iyileşip tamamen ortadan kalkabilir ya da tamamı kaybolmayabilir (Gelatt, 2021).

Genç hayvanlarda ve özellikle kedi, köpeklerde skar dokunun tamamen yok olduğuna daha sık rastlanır. Köpeklerde skar dokunun yakınında melanosiz ve lipid birikimi meydana gelebilir. İlk yaralanma ne kadar derin ve şiddetliyse skar doku da o kadar yoğun ve kalıcı olur. Boyut ve yoğunluk arttıkça korneal sikatrizasyon dokusuna küçükten büyüğe doğru nebula, makula ve lökoma şeklinde adlandırılır. Kornea yırtılmasını takiben anterior sineşi nedeniyle iris skarın arka yüzeyine yapışmasıyla oluşan lezyona yapışık lökoma denir (Maggs, 2018).

2.11.4. Kornea Pigmentasyonu (Melanosiz)

Korneal melanosiz sıklıkla pigmenter keratit olarak adlandırılır. Korneada melanin pigmentinin birikmesidir. Limbusta sınırlı olan melanositlerin proliferasyonu ve merkeze doğru göçünden kaynaklanarak kornea epitelinde bazen de anterior stromada melanin birikimi gözlenir. Koyu kahverengiden siyaha değişen rengi ve çok belirgin sınırları ile klinik olarak kolayca tanımlanabilir. Limbus ne kadar yoğun melanotikse, korneal melanosiz de o kadar olası ve yoğun olur (Dias ve Mortari, 2017).

Korneal melanozis, distikiyazis, entropion, nazal deri kıvrımlarından kaynaklanan trikiyazis vb. nedenlerden kaynaklanan sürtünme irritasyonu, gözyaşı filmi bozuklukları (Keratoz, keratokonjunktivitis sikka [KCS]) veya pannus gibi kronik immünolojik stimülasyon kronik yüzeysel keratokonjunktivit, kronik korneal irritasyona karşı spesifik olmayan bir yanıttır. Korneal melanosizin gelişmesinde türler arasında farklılıklar vardır; kuşlar ve kediler son derece dirençli, atlar orta derecede dirençli ve köpekler son derece duyarlıdır. Korneal melanosiz, duyarlı ırklarda hızla ilerlemediği veya görmeyi engellemediği sürece tedavi edilmez (Gelatt,2013; Maggs,2018).

2.11.5. Hücresel İnfiltrasyon

Yangı süresi boyunca inflamatuvar hücreler gözyaşı filmi, limbus veya üveal kanaldan köken alan humör aközle güçlü bir kemotaksik uyaran varsa hızlı bir şekilde kornea stroması içerisine infiltre olarak birikebilir. Korneal stromanın inflamatuvar hücre infiltrasyonu, nötrofiller baskın olduğunda irin gibi sarımsı yeşil bir renk değişikliği ya da daha az irin varsa gri-beyaz bir bölge olarak görünür. Lipid veya mineral birikimi ve fibrozisten farklı olarak,

korneal stromal beyaz kan hücresi infiltrasyonu olan bölgeler tipik olarak çok belirsiz sınırlara sahiptir ve genellikle ülserasyon, malazi veya plak oluşumu ile ilişkilidir (Sugioka ve diğerleri, 2021).

İnflamatuvar hücrelerden (özellikle nötrofiller) ve kornea hücrelerinden litik enzimlerin serbest kalması hızlı kolajenoliz (yani malazi veya kornea “erimesi”) ile ilişkili olabileceğinden, korneanın sık sık yeniden incelenmesi gereklidir. Nötrofillerle stromal infiltrasyon at korneasında şiddetlidir, köpeklerde yaygın olarak kedilerde ise biraz daha az oranda görülür (Maggs ve diğerleri, 2017).

2.12. Korneal Yara İyileşmesi

Korneanın doku bütünlüğünün bozulmasıyla kornea yaraları oluşur. Kedi tırnağı, tüy, diken, ısırıklar, büyük hayvanlarda sürtünmeler, bitkisel materyaller veya ateşli silah mühimmatı gibi delici yabancı cisimler penetre olarak künt ya da kesici delici travmalarla oluşabilir. Yüzlek, derin ve perfore yaralar olarak sınıflandırılabilirler. Korneadaki dessement katman hariç etkilenen yaralara derin yaralar denir. Korneanın tüm katmanlarının yaralanarak perfore olmasına ise perfore yaralar denir. Yara etrafında korneal ödem, opasite artışı ve epifora görülür Derin ve perfore yaralara tanı koymak kolay olmasına rağmen yüzeysel yaralarda tanı için floresein, rose bengal testlerinden faydalanılır (Lubeck ve Greene, 1990).

Korneanın her bir katmanı farklı seviyelerde etkilenir ve iyileşme mekanizmaları da birbirinden farklıdır. Bu yüzden doğru tanının koyulması ve klinik olarak da prognozunun iyi belirlenmesi gerekir. Yüzlek yaralarda ılık antiseptik içeren yaş kompres ve topikal antibiyotik uygulaması beraberinde suni gözyaşı gerekliyse eğer antiinflamatuvar damlalar da uygulanabilir. Derin yaraların sağaltımında ise tarsorafı ve konjunktival flap gibi uygulamalar yapılabilir. Kornea hasarlarında epitelial, stromal ve endoteliyal iyileşmeler görülür (Şaroğlu, 2013; Maggs, 2018).

2.12.1. Epitel Katmanının İyileşmesi

Kornea avasküler bir yapıda olduğu için iyileşme mekanizması da farklıdır. Epitel yara iyileşmesi göç, çoğalma ve yapışma olmak üzere 3 hücresel faza ayrılır. Yara çevresinde bulunan epitel hücrelerinin yıkımlanmasından sonra travmayı takip eden ilk saatte hücre göçüyle beraber kalınlaşmaya başlar. Gözyaşı film tabakasından gelen nötrofiller ve kolajen

fibriller 1-3 saat içinde epitel defektinde bulunurlar. 3-6 saatlik bir latent fazdan sonra hücre göçü meydana gelir (Pfister, 1975).

Küçük defektler bu şekilde tek bir tabaka ile kaplanır ve hücresel proliferasyon ile yeniden yapılanmaya başlar. Epitel kalınlığını yeniden oluşturmak için 24 saatten sonra mitoz bölünme gerçekleşir. Kornea epitelinin kök hücreleri limbusta bulunur (Kruse ve diğerleri, 1990). Limbustan merkeze doğru hareket ederek göç eden küçük hücre grupları oluştururlar. Limbusta bulunan kök hücreleri mitoz bölünme yeteneğine sahip uzun ömürlü hücrelerdir ve doku iyileşmesinden sorumludurlar. Kornea epitelinin çoğalan hücresi bazal hücrelerdir hızlı bölünebildikleri ve farklılaşma yeteneğine de sahip oldukları için geçici çoğaltıcı hücreler üretirler. (Dua ve diğerleri, 1994).

Kornea epitelinin iyileşme kapasitesi fazlasıyla yüksektir, 48-72 saat içinde doku bütünlüğü tamamlanır. Bazal lamina sağlamısa, hemidesmozomlar 1 hafta içinde oluşur. Bazal lamina çıkarılırsa, hemidesmozomların yeniden oluşması çok daha yavaş gerçekleşir (6-7 hafta). Sonuç olarak, bazal laminanın epitel bağlantısı stromaya yapışma için önemli olduğu için bazal lamina kaybolduğunda epitel uzun bir süre boyunca yeniden yaralanmaya karşı hassastır (Khodadoust ve diğerleri, 1968).

Kornea iyileşmesinin altında yatan moleküler mekanizmalar bulunmaktadır. Isı şoku proteinleri, özellikle Hsp70, hücresel göç ve proliferasyonun güçlü indükleyicileridir. Hsp70 iyileşmeyen kornea defektlerinin patofizyolojisine katkıda bulunabilir. İmmun ve inflamatuvar süreçleri modüle eden sitokin, interlökin-11 (IL-11), normal köpek gözlerinin kornea epitelinde, keratositlerinde ve endotelinde tespit edilmiştir ve hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının düzenleyicisi olan TGF- β 1 ile kültürlenmiş kornea hücrelerinde güçlü bir şekilde indüklenebilir. IL-11'in normal köpek korneasındaki varlığı, korneal inflamasyon ve bağışıklıkta rol oynadığını göstermektedir (Richards ve diğerleri, 2014).

Striatin proteini, hemidesmozomları içeren alanda bazal membrana lokalize olduğu için striatin proteininin hücre yapışmasında olası bir rol oynadığını düşündürmektedir (Stern ve diğerleri, 2015). Küçük lösinden zengin proteoglikanlar (SLRP'ler) hücre dışı matrisin (ESM) bileşenleridir ve kolajen ve elastinin üretimi, organizasyonu ve yeniden şekillenmesinde rol oynarlar. Epitel tabaka iyileşmenin ilk aşamalarında normal kornea epitelinden daha ince olmasına rağmen epitelin mitotik aktivitesi sayesinde normal kalınlığını geri kazanır. Kornea epitelinin tamamı çıkarılırsa birçok türde 48-72 saat içerisinde kornea, konjunktival epitel ile kaplanacaktır (Gilger ve diğerleri, 2007).

At gibi büyük korneaların iyileşmesi daha uzun sürebilir bunun sebebi de epitel büyüme hızının atlarda 0,6 mm/gün olarak tahmin edilmesiyle ilgilidir. Kornea epiteli yaklaşık 2 hafta içinde tamamen yenilenir (Gelatt, 2021).

2.12.2. Stromal Katmanın İyileşmesi

Stromal defektin kenarındaki epitel düzleşerek yara yüzeyini örtmeye başlar. Epitel katmanın mitotik aktivasyonundan sonra normalin üzerinde epitel kalınlığı ile sonuçlanır ve sağlıklı kornea eğriliğini tam olarak oluşturamayabilir. Defekte sahip stromada erken aşamada ödem gözlenir ve yaralanmayı takip eden birkaç saat içinde gözyaşı film tabakasından lakrimal bez ve konjunktival kan damarları yoluyla nötrofil lökositlerin infiltrasyonu izlenir (Best ve diğerleri, 2014).

Stromal yaralanmadan iki ya da üç gün sonra yaranın etrafında keratosit ve fibroblast tipi hücreler gözlenir. Bölgesel keratositler, hızla çoğalan ve kolajen sentezleyen ekstrasellüler matrisin diğer bileşenlerini sentezleyen fibroblastlara dönüşür. Stromal fibroblastlar hücre yapışmasını, hücre göçünü ve protein sentezini uyaran bir ESM glikoproteini olan fibronektin üretir (Schultz ve diğerleri, 1992a).

Stromada fibroblastik proliferasyon başlar. Fibroblastlar stromal histiyositlerden de ortaya çıkar ve yeni kolajen lifleri ve lameller üretir ancak düzensiz yapıdaki kolajen lifler korneada opasite veya skarla sonuçlanabilir. Korneal fibrozis ve skar oluşumunda rol oynayan ana hücre tipi miyofibroblasttır (Bosiak ve diğerleri, 2012).

Skar dokunun ilk zemin maddesi dermatan sülfattır ancak travmadan 15-30 gün sonra keratin sülfat tespit edilir bu da fibroblastların keratositlere dönüştüğünü göstermektedir. Normal keratin sülfat seviyelerine ulaşmak 3 ay kadar sürer. Derin olmayan stroma yaraları avasküler iyileşmeyle, enfekte ve derin yaralar ise vasküler iyileşmeyle sonuçlanır (Martin, 2010; Maggs, 2018).

2.12.3. Endotelyum İyileşmesi

Korneanın endotel hücre tabakası iç kısımda sınırlanmış bir katmandır. Endotel hücre katmanı desement membran üzerinde altıgen şekilli, mozaik bir desen oluşturur. Genç hayvanlarda hücrelerin altıgen şekli tam anlamıyla oluşmamıştır. Köpeklerde yaşla beraber endotel hücrelerin sayısı azalır ve altıgen şekil yavaş yavaş kaybolur. Hücrelerdeki sayı olarak

azalma ve boyut olarak artma sonucunda hücre yoğunluğu da azalır bu da mitoz bölünmenin sınırlı olarak gerçekleşmesine sebep olur. Köpeklerde endotel hücre yoğunluğu genç hayvanlarda 3600 hücre/mm² iken yetişkin hayvanlarda 3000 hücre/mm² arasında değişebilir (Gwin ve diğerleri, 1983; Crispin, 2005).

Endotel katmanının yaralanmasından sonra 30 dakika ile 300 dk içerisinde lökositler bölgeye göç eder yaklaşık 1 saat sonra epitel faz başlayarak hücreler mitoz bölünmeyle çoğalır ve kornea yüzeyini kaplarlar. Stroma içindeki keratinositlerden salınan fibroblastlar 12 saat sonra bölgeye gelerek fibroblastik fazı başlatırlar (Samuelson, 2013-2014)

Stroma katmanına gözyaşı ve limbus damarlarından fibroblast kökenli mononükleer hücreler gelir. Fibroblastik fazda fibroblast hücrelerin hacimleri artarak çoğalırlar. Kolajen ve glikozaminoglikanlardan oluşan dokuya dönüşürler. Korneal yaranın oluşmasından 7 gün sonra iyileşmenin son fazı gerçekleşir ve ince bir katman şeklinde skar doku oluşur (Martin ve diğerleri, 2019).

2.13. Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

2.13.1. Yaş ve Beslenme

Genç hayvanlarda iyileşme 1- 2 gün ile 1 hafta sürerken ilerleyen yaşlarda iyileşme aylarca sürebilir. Düzenli ve sağlıklı beslenme yara iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Yetersiz beslenme iyileşmeyi geciktirir. Proteinler, yara iyileşmesi sırasında yangısal olayların gerçekleştiği aşamada rol oynar. İleri seviye A vitamini yetersizliklerinde korneal ülserasyona sık şekilde rastlanır. Magnezyum, sodyum, fosfor, kalsiyum vs. minerallerin eksikliği de kolajen oluşumunu aksatabilir (Brockmann ve diğerleri, 2021; Polcz ve Barbul, 2019).

2.13.2. Travma

Sürekli tekrarlayan travmalar iyileşmeyi geciktirerek yangısal yanıtlar oluşturur (Brockmann ve diğerleri, 2021).

2.13.3. Enfeksiyon

Korneada yara oluşumunu takiben antiinflamatuvar yanıt oluşur. Şiddetli kolajen ve hücre yıkımıyla beraber ya da direkt enzim salgılayarak GAG ve/veya kolajen yıkımını arttırarak yara iyileşmesini geciktirebilir veya engelleyebilirler (Polcz ve Barbul, 2019).

2.13.4. Yangı

Korneal travmanın tipine göre inflamatuvar yanıt değişiklik gösterir. Yabancı cisim uzaklaştırılmadıysa eğer dev hücreleri ve fazla miktarda skar doku oluşumu gözlenir. Yangıyı önlemek için steroid damlalar kullanılması iyileşmenin yavaşlamasına sebep olur. Yangı hücreleri korneal lezyonun olduğu bölgeye lökosit infiltrasyonu gerçekleştirdiği için yara iyileşmesi üzerine negatif etkiye sebep olabilir (Broughton, 2006).

2.13.5. Vaskülarizasyon

Korneal vaskülarizasyonun oluşmasında birçok etkenin rol oynadığı görülmektedir. Limbusun etrafında seyreden travmalar, enfeksiyöz etkenler, korneal nekroz, iris adezyonu gibi sebepler vaskülarizasyon oluşumuna yol açabilir (Brockmann ve diğerleri, 2021).

2.13.6. Fibronektin

Fibronektin bir plazma glikoproteinidir, hücrelerel göçü ve protein sentezini uyarak büyüme faktörlerinin salgılanmasını ve epitel hücre reaksiyonlarının artmasını sağlamıştır (Gilger ve Whitley, 1991).

2.13.7. Gözyaşının Etkisi

Sağlıklı gözyaşı, epitelin bütünlüğü ve normal yapıda olması için önemli bir etkidir. Göz kapağının hareket etmesiyle aköz tabaka incelerek müsin tabakaya ulaşır ve lipid tabakayla lokalize hidrofobik bölgeler oluşturur. Aköz katman yetersizliğinde mukusumsu yapıda plaklar, iyileşemeyen epitel lezyonları, kornea yüzeyinde kuruluk, ülserasyonlar ve keratinizasyon gözlenebilir (Wagoner, 1997).

2.13.8. İlaç uygulamaları

Korneal yaranın tedavisi için kullanılan ilaçların yara iyileşmesine çeşitli etkileri mevcuttur. Antibiyotik olarak basitrasin (500µ/ml), gentamisin sulfat (3mg/ml), neomisin (3,5 mg/ml)'in yüksek dozlarda uygulanması epitel hücre rejenerasyonlarını durdurarak yara iyileşmesini geciktirir. Kortikosteroidler ise korneal katmanlardaki yara iyileşmesini engelleyerek PMNL'lerin kolajenaz etkisini güçlendirerek ülserasyona daha sık rastlanmasına sebep olurlar (Gelatt ve Gelatt, 2001).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

Materyali, 10-12 haftalık 200-250 gram ağırlığında Spraque Dawley ırkı 61 dişi rat oluşturmuştur. Bu çalışmayı gerçekleştirmek için kullanılan ratlar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi tarafından sağlanmıştır. Deney süresinden birkaç hafta önce kendilerine ait bireysel kafeslerde deney süresince ise 3-4'lü gruplar halinde optimal sıcaklık ve nem koşullarında (22 °C, %50-60, 12 saat aydınlık / karanlık döngüsü) barındırılarak ve düzenli olarak kontrolleri sağlanarak yem ve suya ulaşmaları sağlanmıştır. Günlük temizlikleri düzenli olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 18.01.2024 tarih ve 63583101/2024/05.sayılı olurları ile yürütüldü.

Hayvan sayısı güç analizi testi ile belirlenmiştir. Güç analizi testi %95 güven (1- α), %95 test gücü (1- β) ve d=0.40 etki büyüklüğü tekrarlanan ölçümler ANOVA analizine göre her bir grupta alınması gereken örnek sayısı 60 olarak belirlenmiştir, çalışmada ise kontrol ve kitosan grubunda 19' ar bal jeli grubunda ise 23 rat olacak şekilde 61 hayvan çalışmaya alınmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Güç analizi testi verileri.

F tests - ANOVA: Repeated measures, between factors			
Analysis: A priori: Compute required sample size			
Input:	Effect size f	=	0.41
	α err prob	=	0.05
	Power (1- β err prob)	=	0.95
	Number of groups	=	3
	Number of measurements	=	5
	Corr among rep measures	=	0.5
	Noncentrality parameter λ	=	16.8100000
	Critical F	=	3.1588427
	Numerator df	=	2.0000000
	Denominator df	=	60.0000000
	Total sample size	=	60
	Actual power	=	0.9559656

3.1.2. Kestane Balı

Kestane Balı Düzce İli Arı Yetiştiricileri Birliğinden temin edilmiştir. Kestane balının analizi yapılarak saflık derecesi, antibiyotik kalıntısı ve pH değeri belirlenmiştir. Polen analizinde DIN 10760; nem, iletkenlik, prolin, pH, serbest asitlik, diastaz, HMF, şeker profili, naftalin analizi ve antibiyotik tayininde In-House Method; protein ve ham bal analizinde TS 13262 metodları kullanılmıştır. Yapılan içerik ve kalıntı analizleri sonrası balların sterilizasyonu, 5 kGy dalga boyuna sahip gama ışınlaması (Cobalt gamma radiation) ile yapılmıştır.

3.1.3. Kitosan

Deneysel çalışma boyunca kestane balının kitosan ile birleştirilerek elde edilen jel formu kullanılmıştır. Bu amaçla %75 oranında %0,01'lik kitosan ile kestane balı karıştırılarak bal jeli elde edilmiştir (Resim 1). Karışımda bal miktarı %25 olarak kullanılmıştır.



Resim 1. Kitosan (sol) ve kitosan- kestane balı (sağ) karıştırılarak elde edilen jel.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneysel Çalışma ve Gruplarının Belirlenmesi

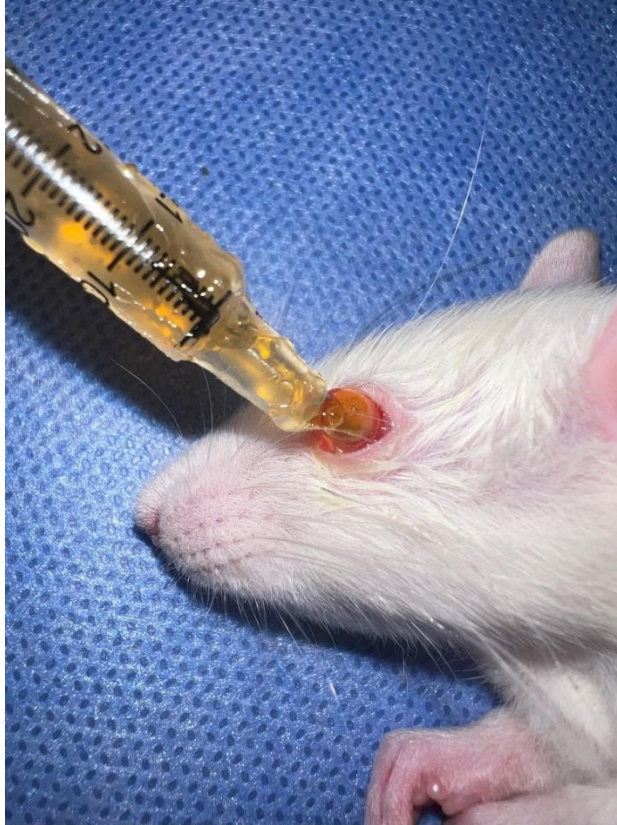
Kontrol, kitosan ile bal ve kitosan jeli olmak üzere üç grupta toplam 61 gözde korneal hasar oluşturulmuştur. Deneme modelindeki travmatik lezyonun, tek gözde olması, tüm gözü kaplamaması ve hayvanların fizyolojik ihtiyaçlarını karşılamalarına engel olmayacak büyüklükte olması nedeni ile ratların sol gözünde 3 mm çapında korneal yara oluşturma işlemi gerçekleştirilmiştir. Böylece deneme 61 ratın 61 gözü üzerinde yürütülmüştür.

Denemede ratlar aşağıdaki şekilde 3 gruba ayrılmıştır;

Birinci grup (Kontrol grubu): Bu gruptaki kornea yarası oluşturulan 19 ratın 19 gözüne hiçbir uygulama yapılmamıştır.

İkinci grup (Kitosan): Bu grupta kornea lezyonu oluşturulan 19 ratın 19 gözüne 3 gün boyunca günde 2 kez kitosan uygulanmıştır.

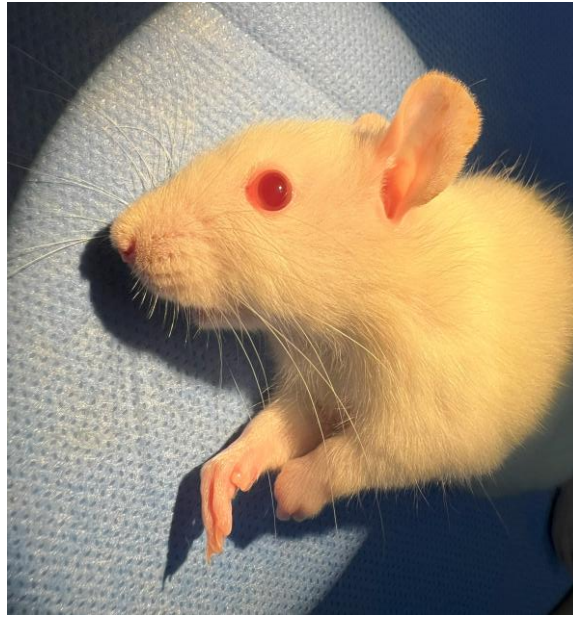
Üçüncü grup (Bal ve kitosan jeli): Bu grupta yer alan 23 ratın 23 gözüne günde iki kez kestane balı ve kitosan ile oluşturulan bal jeli uygulanmıştır (Resim 2).



Resim 2. Deney grubunda bal ve kitosan jelinin uygulanışı.

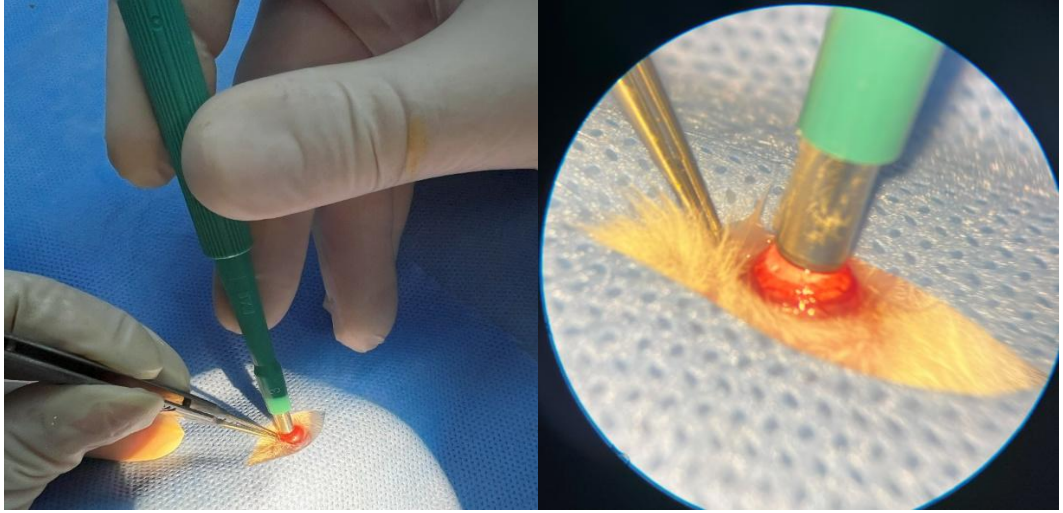
3.2.2. Hayvanların Anestezisi ve Korneal Yara Oluşturma

Ratlara anestezi protokolü olarak intraperitoneal yolla 10 mg/kg Xylazine hydrochloride (Rompun®, 10 mg/kg, %2, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve 70 mg/kg Ketamin hydrochloride (Ketasol®, 30 mg/kg, %10 İnterhas, Ankara, Türkiye) uygulanarak genel anesteziye alınmıştır. Yatar pozisyonundaki ratlar cerrahi prosedüre uygun, asepsi antisepsi kuralları çerçevesinde hazırlanmıştır (Resim 3).

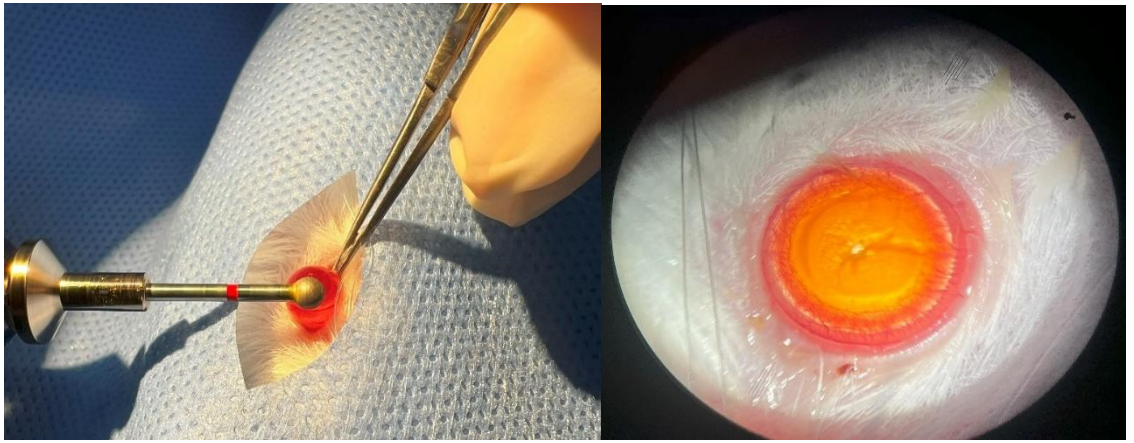


Resim 3. Genel anestezideki ratların sağ lateral pozisyonda konumlandırılması.

Cerrahi prosedürde, genel anestezi altındaki ratlar sağ lateral pozisyona alındıktan sonra sol gözlerinde operasyon mikroskobu ve punch biyopsi aleti kullanılarak kornea lezyonu oluşturulmuştur. 3 mm çapındaki punch biyopsi aleti (KAI, tek kullanımlık) kullanılarak korneal defektin sınırları belirlendi ve Alger brush ile keratektomi işlemi gerçekleştirilmiştir (Resim 4-5). Her hayvan için aynı prosedür uygulanmıştır ve her seferinde yeni bir steril tek kullanımlık punch biyopsi aleti kullanılmıştır.



Resim 4. Kornea merkezinde 3 mm çaplı korneal lezyonun punch biyopsi ile oluşturulması.



Resim 5. Alger brush kullanılarak korneal lezyon oluşturulması.

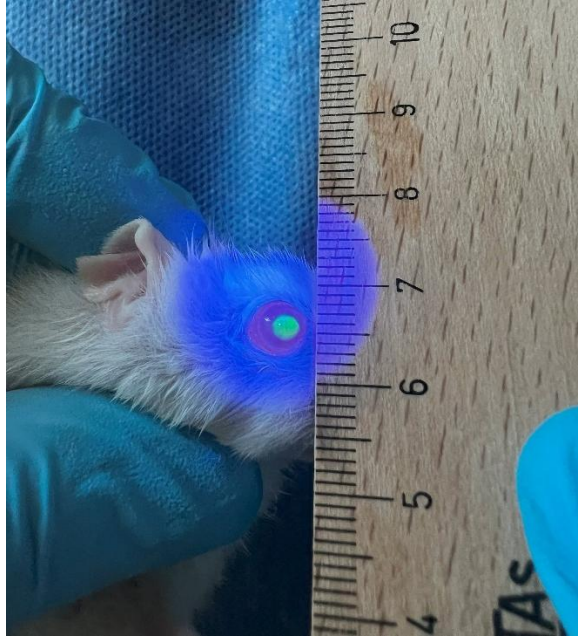
3.2.3. Floresein Boyama

Korneadaki lezyonlarının tespit edilmesi amacıyla, 1 damla floresein boya (Floresein, HSA Grup Veteriner Malzemeleri San. ve Tic. A.Ş., İzmir, Türkiye) uygulanmıştır. Uygulamanın ardından göz, floresenin temizlenmesi için %0,9 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su (500 ml solüsyon, Turkfleks) ile yıkanmıştır. Lezyonların değerlendirilmesi, slit lamp cihazı kullanılarak kobalt mavisi ışık kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya herhangi bir lezyon içermeyen ratlar dahil edilmiştir. Ratlarda korneal hasar oluşturulduktan sonra 0, 24,36,48 ve 67. saatlerde floresein boyama yapılarak kobalt mavisi ışık altında fotoğraf çekilmiştir.

Ölçümlerin yapılabilmesi için her bir çekimde cetvel kullanılmıştır. Elde edilen görseller, değerlendirilmek üzere dijital ortama aktarılmıştır.

3.2.4. Yara Boyutunun Ölçülmesi

Kornea yaralarının fotoğrafları cetvel, slit lamp ve kamera yardımıyla görüntülenmiştir ve bilgisayar ortamına aktarılmıştır (Resim 6). Image J 1.54j (National Institutes of Health and the Laboratory for Optical and Computational Instrumentation, University of Wisconsin) görüntü işleme yazılım programı kullanılarak lezyonun çeperi poligon yöntemi ile işaretlenerek μm^2 cinsinden ölçülüp kaydedilmiştir (Resim 7).



Resim 6. Kornea yaralarının fotoğraflarının, cetvel, slit lamp ve kamera ile görüntülenmesi.



Resim 7. Bilgisayar ortamına aktarılan floresein boya tutulum alanının Image J 1.54j programında ölçülmesi.

3.2.5. Histopatolojik Muayene

Kornea lezyonu oluşturulduktan sonra 24. ve 67. saatlerde her gruptan rastgele seçilen 4'er ratın intraperitoneal yolla 10 mg/kg Xylazine hydrochloride (Rompun®, 10 mg/kg, %2, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve 70 mg/kg Ketamin hydrochloride (Ketasol®, 30 mg/kg, %10 İnterhas, Ankara, Türkiye) kullanılarak ötenazisi yapılmıştır ve örnekler alınmıştır. Örnekler fikse edilip doku takibi yapıldıktan sonra histopatolojik inceleme yapılmıştır.

Deney sonunda tüm ratların ötenazisi gerçekleştirildi ve bütünlüğünü koruyacak şekilde alınan gözler %10'luk tamponlu formaldehit solüsyon içeren kaplara alınmıştır. İki gün süre ile solüsyonda bekletilen gözlerin defekt oluşturulan korneaları tam orta kısımdan törpüleyerek ait oldukları grup ve hayvan numaraları not alınarak doku takip kasetleri içine dikkatlice yerleştirilmiştir. Defekt bölgesine zarar vermemeye azami şekilde dikkat edilmiştir. Doku takip kasetleri akşama kadar tekrar formaldehit solüsyonuna konulmuştur. Aynı gün akşam üzeri tüm kasetler tam otomatik doku takip cihazına (Leica ASP300S; LeicaMicrosystem, Nussloch, Almanya) alınarak gece boyunca doku rutin takibinden geçmeleri sağlanmıştır.

Doku takibi aşaması için kaset içinde bulunan göz dokuları %70'lik alkolden başlanarak %100'lük alkole kadar düşük dereceliden yüksek dereceliye doğru dereceleri artan alkol serilerinden geçirilerek dokuların içindeki suların çekilmesi sağlanmıştır. Böylelikle

dehidrasyon aşaması tamamlanmıştır ve ardından tüm örnekler ksilol serisinden geçirilerek dokularda bulunan yağlar eritilerek alınmıştır. Bu aşamalardan sonra sıcak parafin içine alınan göz örneklerinin su ve yağın alınmasıyla şekillenen boşluklarına sıcak parafinin dolması gerçekleştirilmiştir. Gece boyunca tam otomatik kapalı sistem doku takip cihazında rutin takip işlemlerine tabi tutulan göz dokusu örnekleri ertesi sabah sıcak parafine alınarak blokaj işlemleri gerçekleştirilmiştir ve parafin bloklar oluşturulmuştur.

Histopatolojik doku örneği hazırlama işlemi için doku takip aşaması tamamlanmış olan göz örnekleri doku takip cihazının haznesinden alınarak doku gömme ünitesine (LeicaHistocoreArcadia H) (LeicaMicrosystem, Nussloch, Almanya) transfer edildi. Sıcak bölme içinde özel metal kalıplar içine alınan örneklerin üzeri sıcak parafin ile dolduruldu ve parafin bloklar oluşturulmuştur. Bu aşamayı takiben parafin bloklar doku gömme ünitesinin soğuk tablalı bölümüne alınmıştır ve bu tablada yaklaşık olarak bir saat kadar bekletilerek parafinin tamamen donması sağlanmıştır. Bu süre sonunda donan parafin bloklar metal kalıplardan ayrılarak bir süre daha soğuk tabla üzerinde bekletilmiştir ve ardından her bir bloktan histopatolojik incelemeler için Leica 2155 tam otomatik mikrotom (LeicaMicrosystem, Nussloch, Almanya) ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alınmıştır. Alınan göz kesitleri rutin boyama prosedürü olan hematoksileneozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenmiştir.

Boyama işlemi için benmaride sıcak su ile açılan kesitler lamalar üzerine alınarak 1 saat kadar oda ısısında ardından 2 saat kadar 60°C'ye kadar ısıtılmış etüvde kurutulmuştur. Böylelikle göz kesitlerinin lamaların üzerine tamamen yapışarak boyama işlemi sırasında dökülmemeleri sağlanmıştır. Bu işlem sırasında ayrıca kesitler üzerindeki parafinin yumuşayarak erimesi ve uzaklaştırılması da gerçekleştirilmiştir. Bu aşamadan sonra etüvden alınan kesitler boyama ünitesine aktarılmıştır. Kesitler üzerinde kalan parafin artıklarının tamamen uzaklaştırılması amacıyla tüm lamalar 30'ar dakika süreyle 3 ayrı ksilol serisinden geçirilmiştir. Bu aşamayı takiben rehidrasyon aşamasına geçilmiştir. Bu aşama için kesitler %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkol serilerinden geçirilmiştir.

Rehidre olan doku örnekleri Harris hematoksilende 15 dakika ve ardından eozinde 3 dakika süreler ile boyanarak rutin hematoksilene-eozin (HE) boyaması gerçekleştirilmiştir. Boyamanın ardından göz kesitleri tekrar dehidre edilmiştir. Bunun için boyanması tamamlanan göz kesitleri sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkol serilerinden (düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere doğru) geçirilmiştir. Ardından ksilol ile parlatılan dokular üzerine özel yapıştırıcı (entellan) damlatıldı, kesitlerin üstü lamel ile kaplanmıştır. Bir gün süre ile oda

ışısında bekletilerek kuruması sağlanan preparatlararaştırma mikroskobu altında değerlendirilmiştir. Sonuçların fotoğraflanması için Olympus CX41 model mikroskop ile morfometrik inceleme ve mikrofotografi için Database Manual Cell Sens Life ScienceImaging Software System (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) kullanılmıştır.

3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizlerde, parametrelerin analizi için Genel Lineer Model (GLM) prosedürü kullanılmıştır. Değişkenlerin normal dağılma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilerek varyansların homojenliği Levene testi ile kontrol edilmiştir. Gruplar arası farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Ayrıca, skarlama yoluyla belirlenen parametrelerin analizi için uygun parametrik olmayan testler kullanılmıştır ve son olarak, çalışmanın istatistiksel gücü hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Bal Analizi

Bal analizi sonuçları Tablo 2-4'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 2. Kestane balı sülfonamid grubu antibiyotik analizi

Yapılan Analiz	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti (LOQ)	Analiz metodu
Sülfasetamid	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfadiazin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfatoksazol	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfamerazin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfizoksazol	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfametizol	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfabenzamid	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfametazin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfakloropiridazin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfadimetoksin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfathiazol	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfametre	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfametoksipiridazin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Sülfadoksin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method

Tablo 3. Kestane balı tetrasiklin grubu antibiyotik analizi

Yapılan Analiz	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti (LOQ)	Analiz metodu
Metasiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Epitetrasiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Doksisiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Tetrasiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Oksitetrasiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Epioksitetrasiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Epiklortetrasiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method
Kolortetrasiklin	N.D.	µm/kg	<5,00 µm/kg	In-House Method

Tablo 4. Kestane balı içerik analizi

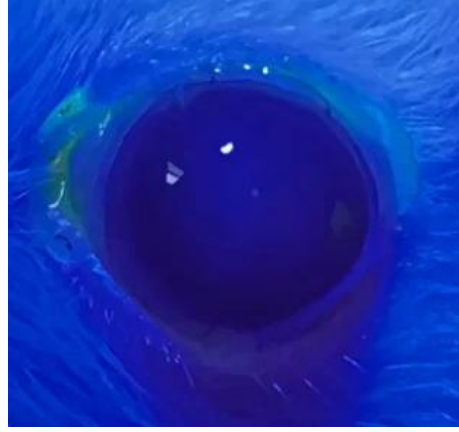
Yapılan Analiz	Sonuç	Ölçüm Birimi	Ölçüm Limiti (LOQ)	Analiz Metodu
Prolin	966,49	mg/kg		IHC
Diastaz	11,98			IHC
Nem	19,28	%		IHC
İletkenlik	1,36	mS/cm		IHC
pH	4,65	pH		IHC
Serbest Asitlik	20,39	mmol/kg	1.00 mg/kg	IHC
HMF	2,01			IHC
Protein ($\Delta 13C$)	-26,71			TS 13262
Ham Bal ($\Delta 13C$)	-27,54			TS 13262
Balda protein ve ham bal delta C13 değeri farkı	0,83			TS 13262
Delta C13 değerinden hesaplanan C4 şeker oranı	0	%		TS 13262
Şeker Profili				
Fruktoz+Glukoz	63,29	g/100g		IHC
Fruktoz+Glukoz	1,62			IHC
Sakkaroz	N.D.	g/100g		IHC
Maltoz	N.D.	g/100g		IHC

4.2. Klinik Bulgular

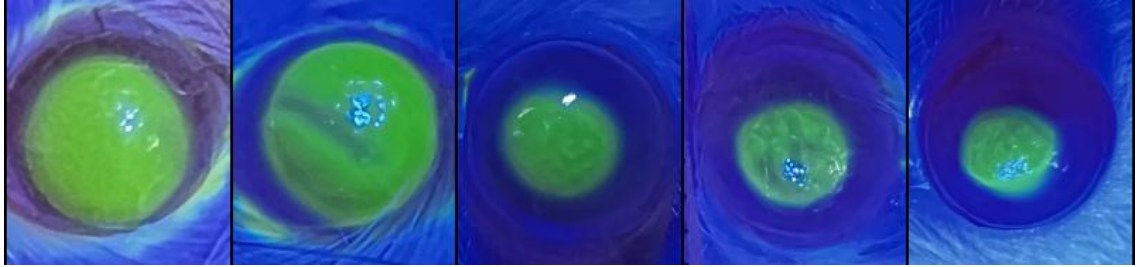
Çalışmaya dahil edilen ratlarda günlük uygulamalar sırasında klinik değerlendirmeleri yapılmıştır. Yem ve su tüketimlerinde herhangi bir aksaklık, genel durum bozukluğu veya enfeksiyon varlığı gözlenmemiştir.

4.3. Yara İyileşmesinin Değerlendirilmesi

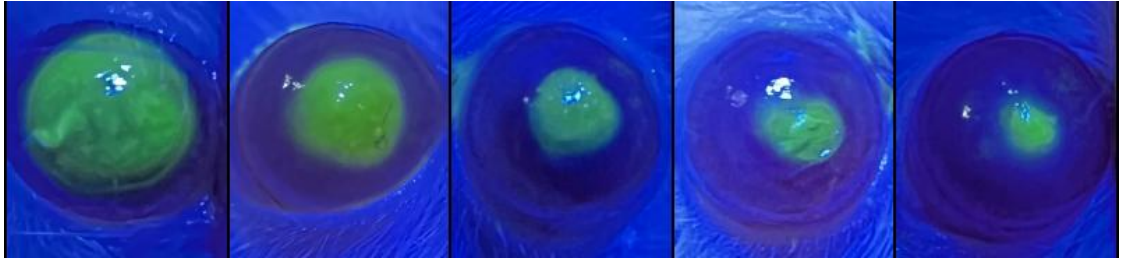
Kitosan veya bal jeli uygulaması sırasında ratlarda herhangi bir ağrı ya da acı bulgusu gözlenmemiştir. Tüm ratların yaraları, her gün aynı saatte yara iyileşmesinin değerlendirilmesi amacıyla fotoğraflanmıştır (Resim 8-11).



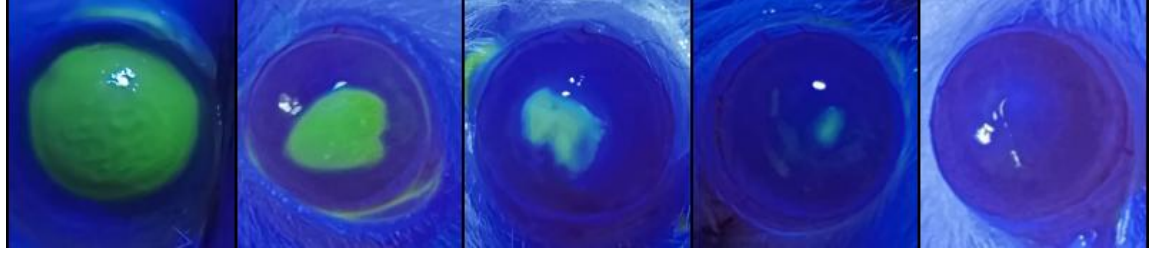
Resim 8. Bal grubu 4 numaralı deneğin floresein testi negatif, 67. saat ölçümü.



Resim 9. Kontrol grubunda 17 numaralı deneğin floresein testi. 0, 24, 36, 48 ve 67. saatlerdeki iyileşme düzeyini gösteren boya tutulum alanındaki küçülmenin görünümü.

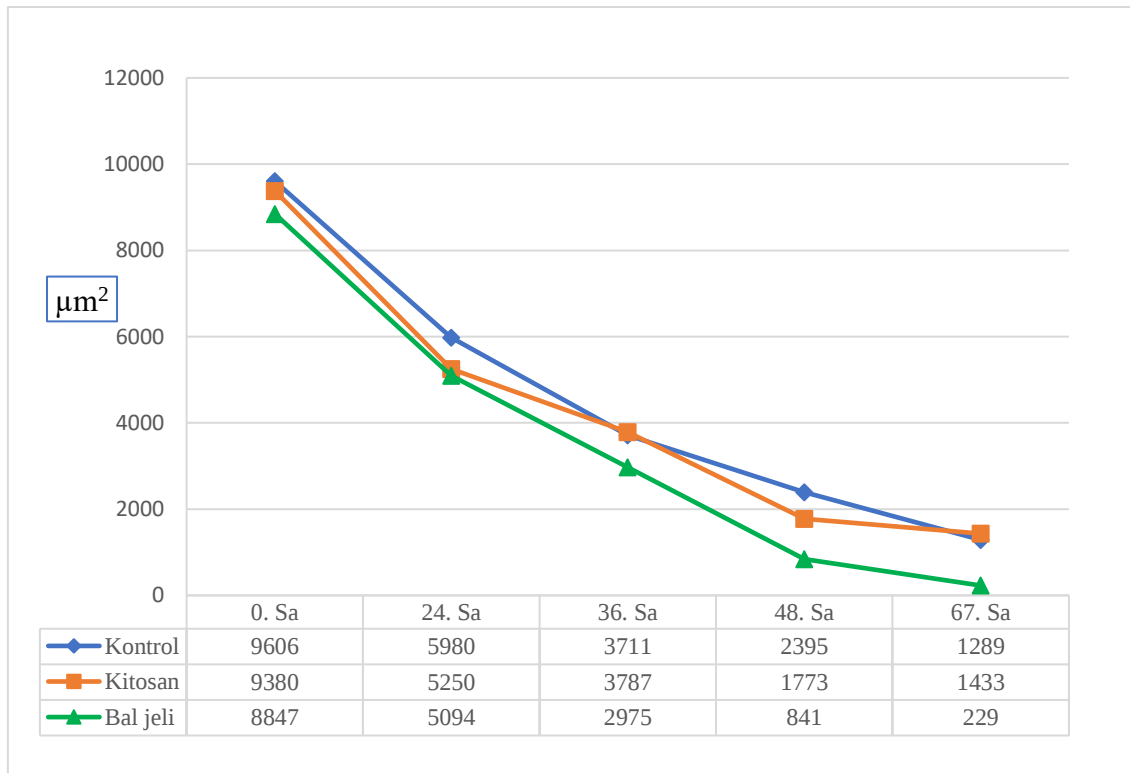


Resim 10. Kitosan grubunda 14 numaralı deneğin floresein testi. 0, 24, 36, 48 ve 67. saatlerdeki iyileşme düzeyini gösteren boya tutulum alanındaki küçülmenin görünümü.



Resim 11. Bal+kitosan grubunda 6 numaralı deneğin floresein testi. 0, 24, 36, 48 ve 67. saatlerdeki iyileşme düzeyini gösteren boya tutulum alanındaki küçülmenin görünümü.

Farklı gruplarda uygulanan tedavilere göre yara iyileşme süreçleri karşılaştırılmıştır. Başlangıçta 0. saatte, oluşturulan yaraların boyutları birbirine eşit olup mikrometre kare cinsinden ölçülmüştür ve zaman ilerledikçe yara boyutlarında azalma eğilimi gözlenmiştir. 36. saatte gruplar arasında fark oluşmaya başlamış olsa da bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Ancak 48. ve 67. saatlerde, bal jeli uygulanan grupta yara iyileşmesinin belirgin şekilde daha fazla olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı hale geldiği görülmüştür (Resim 12).



Resim 12. Tüm gruplarda zamana göre yara alanlarının μm^2 cinsinden ortalama değerleri.

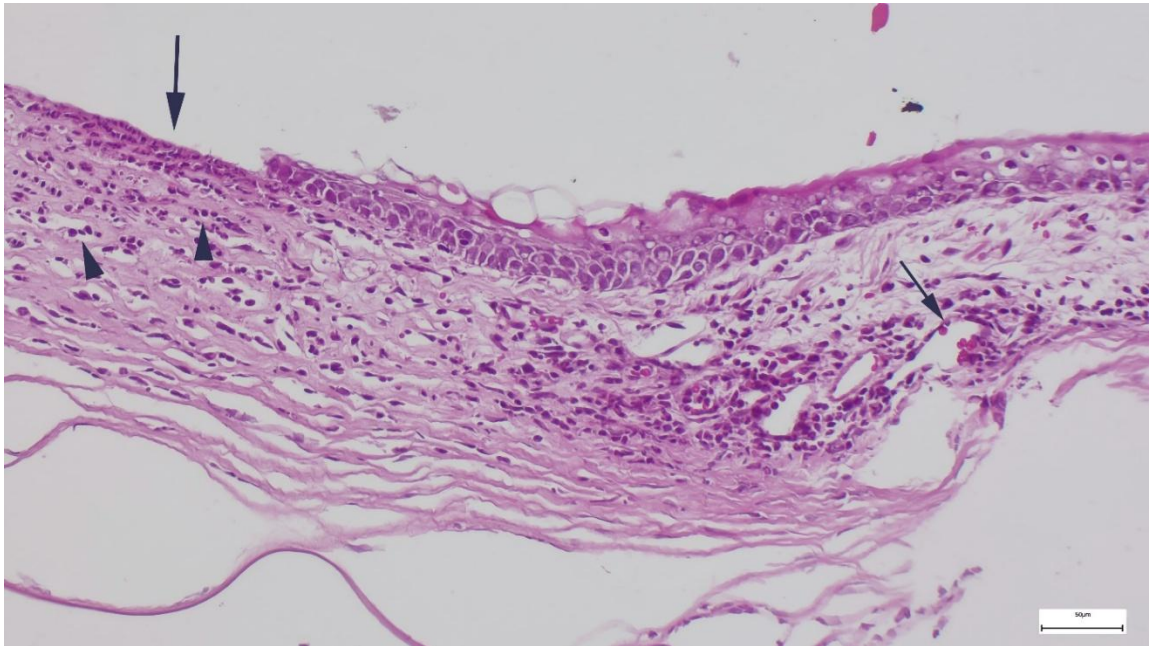
Ratların farklı günlerde yara alanlarının değişimleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Gruplarda korneada oluşturulan defekt alanlarının zamana göre değişimi (μm^2)

Gruplar	Saatler				
	0	24	36	48	67
Kontrol	9606 $\pm$ 302	5980 $\pm$ 386	3711 $\pm$ 290	2395 $\pm$ 292 ^a	1289 $\pm$ 255 ^a
Kitosan	9380 $\pm$ 301	5250 $\pm$ 382	3787 $\pm$ 555	1773 $\pm$ 456 ^{ab}	1433 $\pm$ 415 ^a
Bal + Kitosan Jel	8847 $\pm$ 294	5094 $\pm$ 507	2975 $\pm$ 391	841 $\pm$ 233 ^b	229 $\pm$ 75 ^b
P	0.179	0.331	0.291	0.004	<.001

4.4. Histopatolojik Bulgular

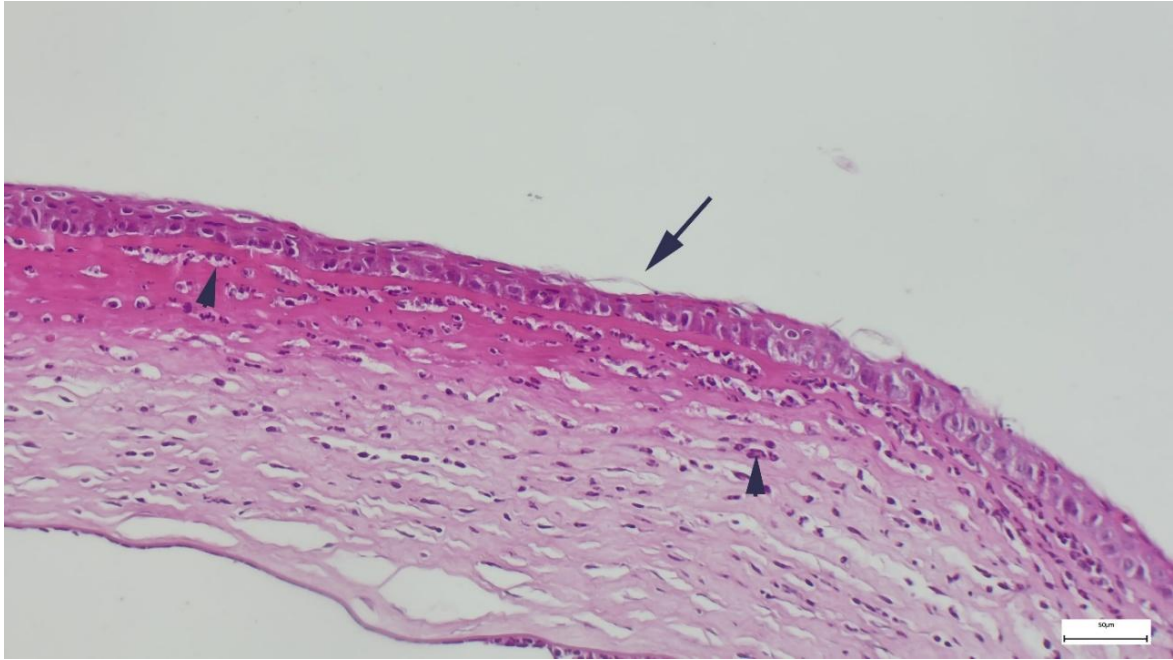
Kontrol grubundaki ratların defekt bölgeleri 1. günde incelendiğinde epitel tabakasındaki kaybın tam olarak kapanmadığı gözlenmiştir. Bölgede damarlaşmanın arttığı ve damarların hiperemik oldukları dikkati çekmiştir. Defekt alanında ve çevresinde ödemleşme ile çoğunluğunu nötrofil lökositlerin oluşturduğu yangısal hücre infiltrasyonuna rastlanmıştır (Resim 13).



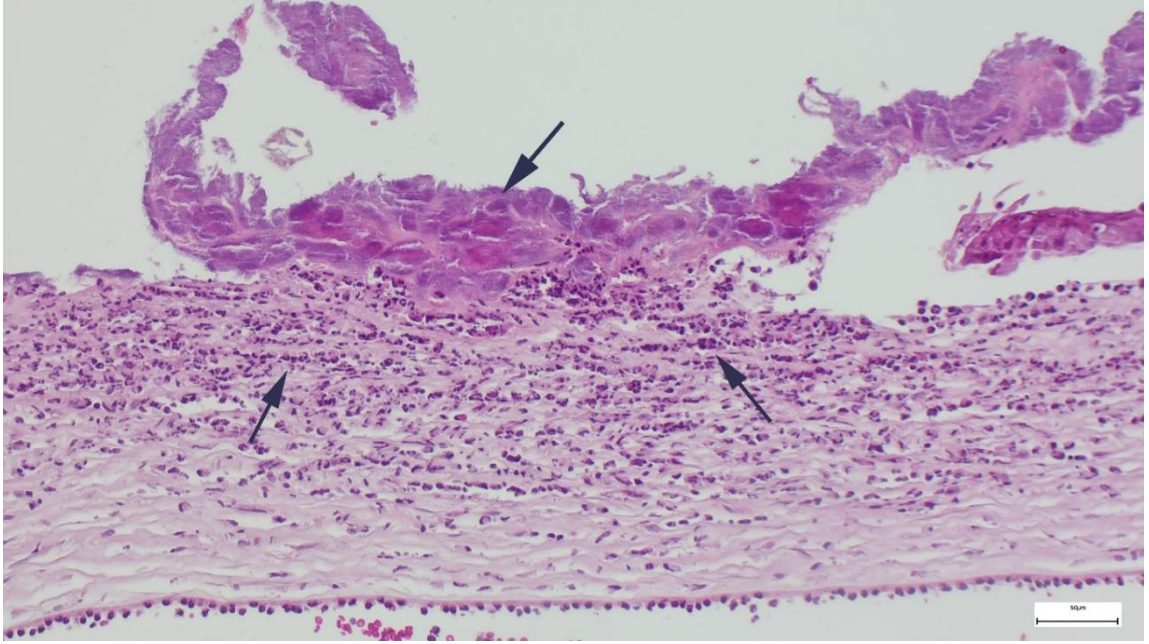
Resim 13. Kontrol grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, hiperemik damarlar (ince ok) ve nötrofil lökosit infiltrasyonları (ok başları), HE, Bar= 50 μm .

Kitosan grubundaki ratların korneal defekt bölgeleri incelendiğinde genelde birinci günden itibaren epitelizasyonun şekillenmeye başladığı gözlenmiştir. Ancak bazı ratlarda bu grupta defekt bölgesinde bakteriyel kolonizasyonlar ve enfeksiyona bağlı iyileşmede gecikmelere rastlanmıştır (Resim 14).

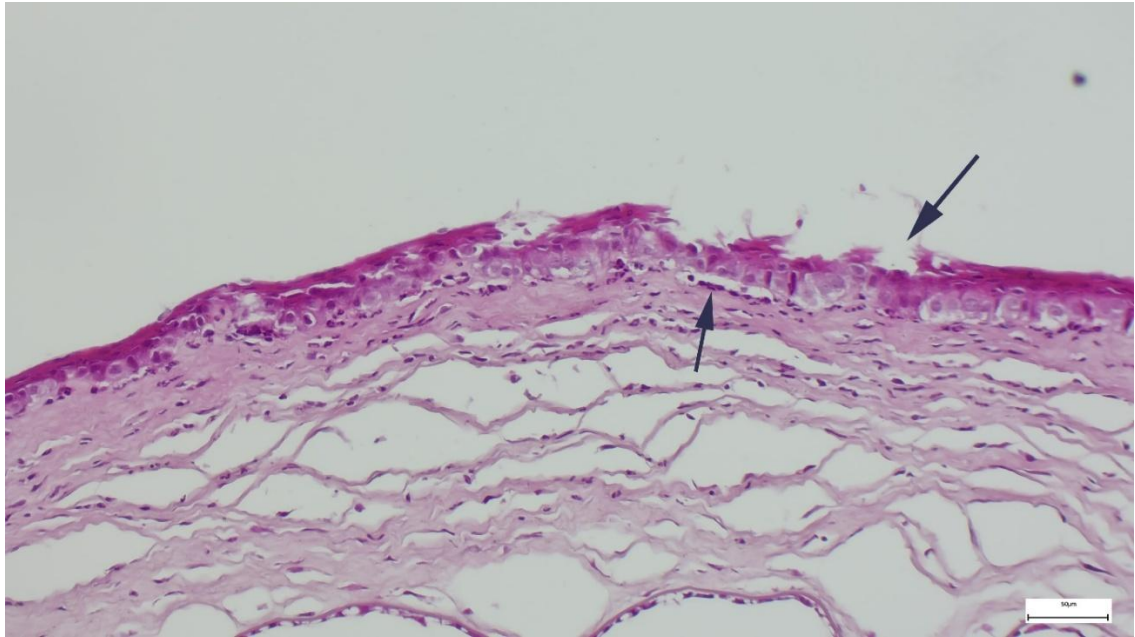
Bal+kitosan jel grubundaki ratlarda birinci günde bile defekt bölgesinde epitel tabakasının önemli ölçüde iyileştiği gözlenmiştir. İnfiltrasyon ve yangısal reaksiyon diğer gruplarla karşılaştırıldığında belirgin şekilde azalmıştır. Ayrıca bu gruptaki ratların hiçbirinde bakteriyel kolonizasyona rastlanmamıştır. Balın defekt bölgesinde kornea üzerinde koruyucu bir tabaka oluşturarak iyileşmeye belirgin şekilde yardımcı olduğu saptanmıştır (Resim 15-16).



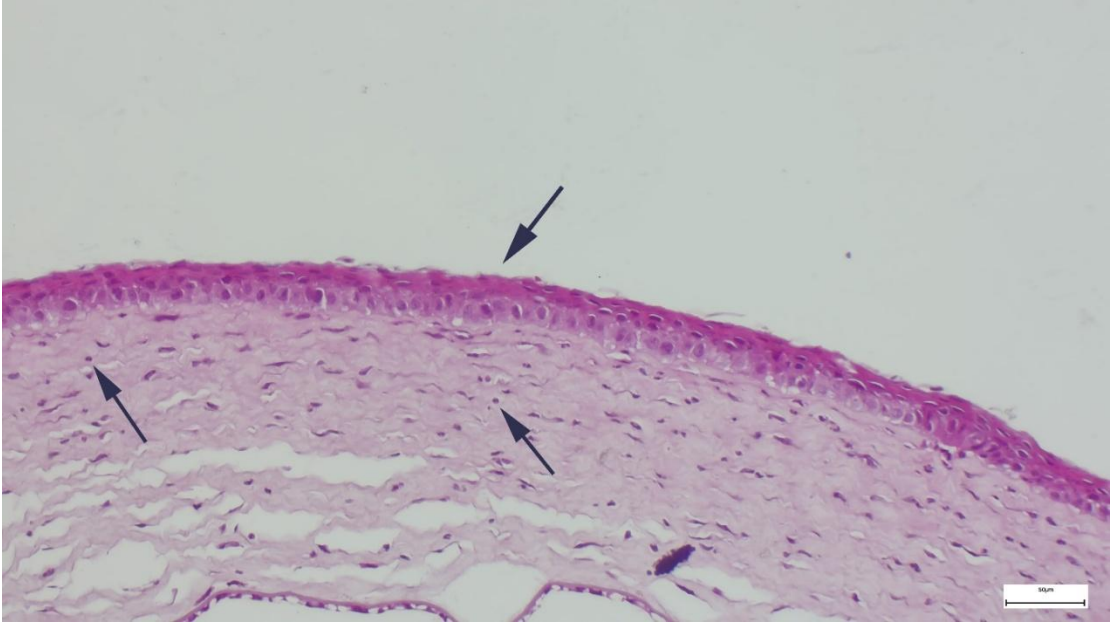
Resim 14. Kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, belirgin ödemleşme ve nötrofil lökosit infiltrasyonları (ok başları), HE, Bar= 50μm.



Resim 15. Kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinde bakteriyel kolonizasyon ve iyileşmede gecikme (kalın ok) ile nötrofil lökosit infiltrasyonları (ince oklar), HE, Bar= 50µm.

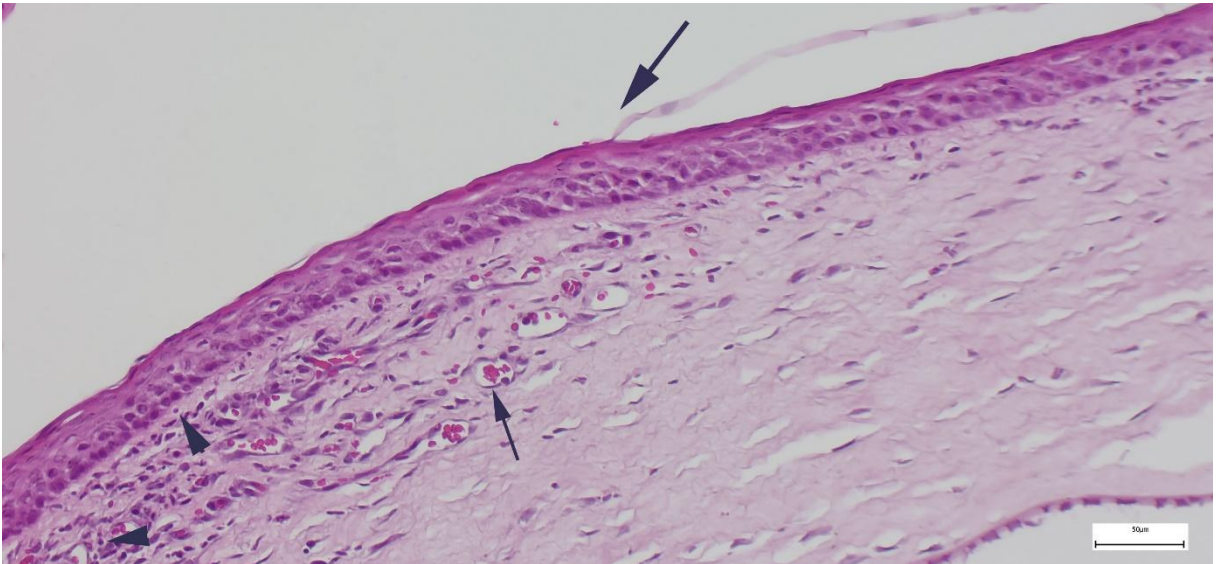


Resim 16. Bal+kitosan jel grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, epitelde belirgin iyileşme ve hafif yangısal hücre infiltrasyonları (ince ok), HE, Bar= 50µm.



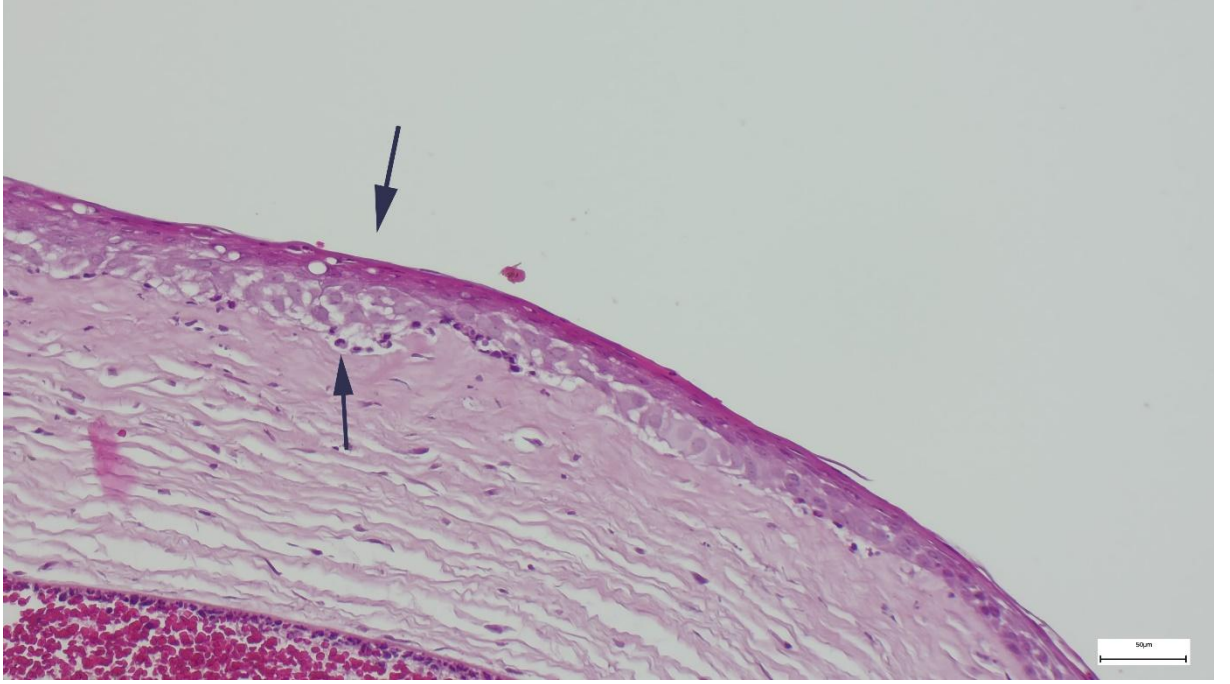
Resim 17. Bal+kitosan jel grubunda bir başka ratın korneal defekt oluşturulduktan 24 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, epitelde tamamen kapanma ve çok hafif yangısal hücre infiltrasyonları (ince oklar), HE, Bar= 50μm.

Kontrol grubundaki ratların defekt bölgelerinin 67. saatteki görünüşleri incelendiğinde, ratların çoğunluğunda kornea defektinin epitelizeasyonunun büyük ölçüde tamamlandığı dikkati çekmiştir. Ancak defekt bölgesinde damarlaşma ve yangısal hücre infiltrasyonları görülmüştür. İnfiltrasyonlar daha çok lenfositlerden oluşmuştur (Resim 18).



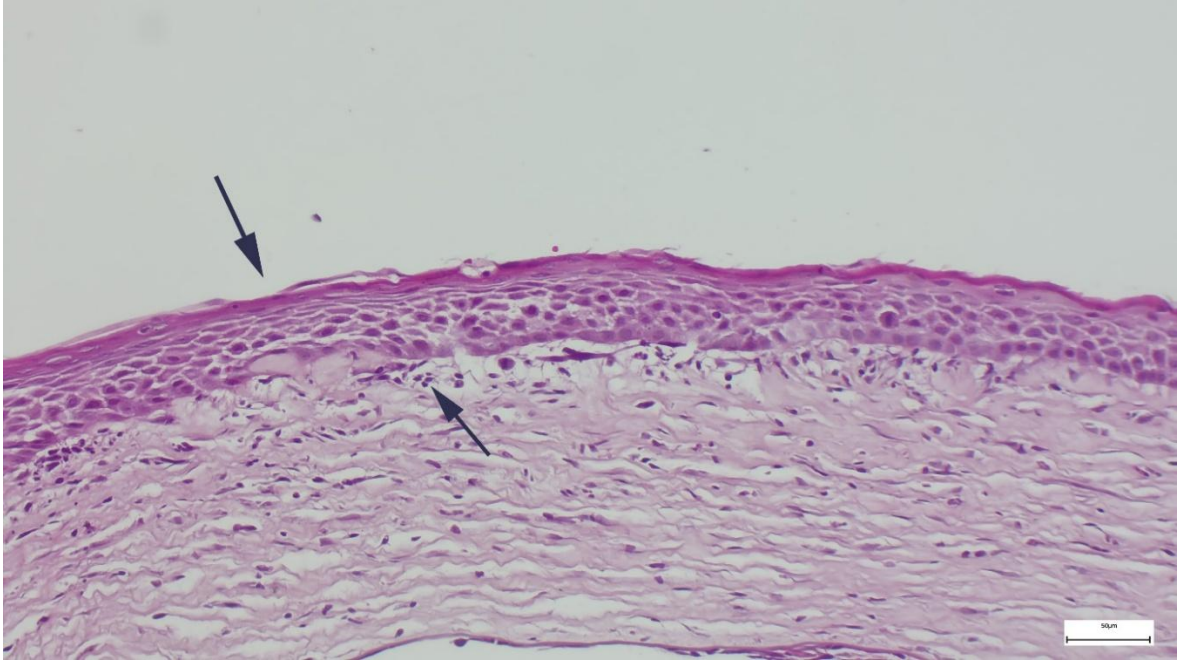
Resim 18. Kontrol grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, hiperemik damarlar (ince ok) ve yangısal infiltrasyonları (ok başları), HE, Bar= 50 μm.

Kitosan grubundaki ratların birçoğunda 67. saatte epitelizasyonun tam olarak şekillendiği ve defekt bölgesinde yangısal reaksiyonun azaldığı gözlenmiştir (Resim 19).

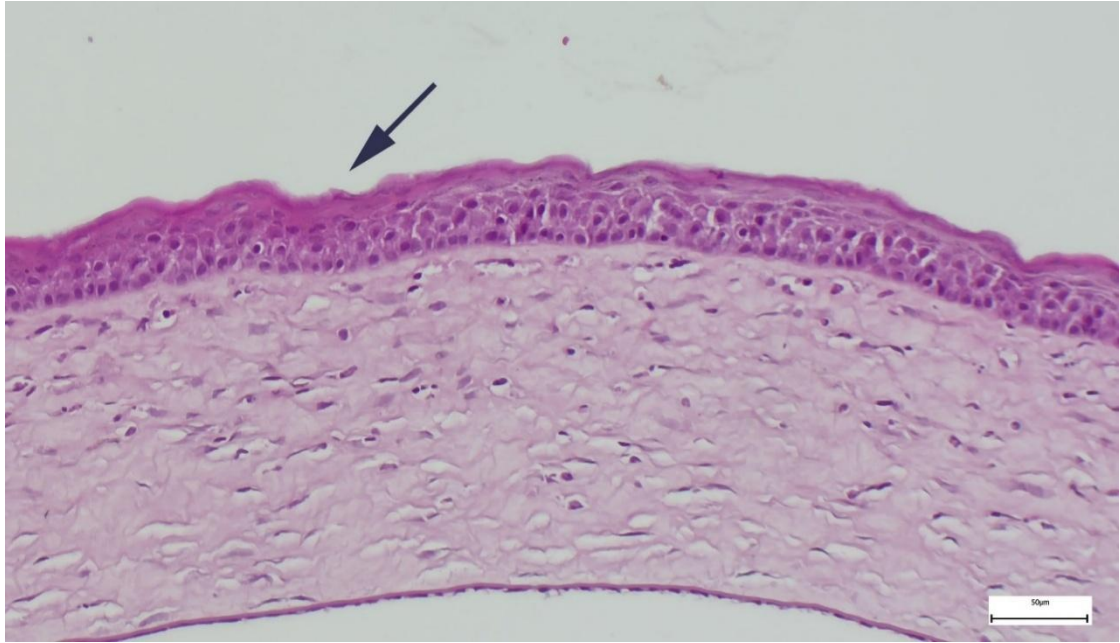


Resim 19. Kitosan grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonra defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, epitelizasyonun tamamlanması ve infiltrasyonlarda (ok başları) belirgin bir azalma (ince ok), HE, Bar= 50 µm.

Bal+kitosan jel grubundaki ratların defekt bölgelerinin 67. saatteki görünüşleri incelendiğinde tüm hayvanların defekt alanlarının tamamen iyileştiği, epitelizasyonun tamamlandığı bazı hayvanlarda çok hafif şiddette inflamatuvar hücrelerin ve hafif ödemin bulunduğu gözlenmiştir (Resim 20-21).



Resim 20. Bal+kitosan jeli grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonraki defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, tamamen şekillenmiş epitelizasyon ve çok hafif yangısal hücre infiltrasyonları (ince ok), HE, Bar= 50µm.



Resim 21. Bal+kitosan jel grubunda bir ratın korneal defekt oluşturulduktan 67 saat sonraki tamamen iyileşmiş defekt bölgesinin (kalın ok) histopatolojik görüntüsü, HE, Bar= 50µm.

5. TARTIŞMA

Kornea epitel hasarı, çeşitli travmalar veya cerrahi müdahaleler sonucu meydana gelmektedir ve iyileşme sürecinde etkili yöntemler uygulanması gerekir. Evcil hayvanlarda; tırmalama, sürtünme, yabancı cisim batması, küt travma ve cerrahi işlemler kaynaklı korneal hasar oluşur. Kornea epitelinin hasarında iyileşme süreci genellikle 1 hafta veya daha uzun bir süreyi kapsar. Ancak bu sürecin uygun şekilde yönetilmemesi durumunda iyileşme gecikebilir. İlerleyen evrelerde korneal ülserasyon, kornea perforasyonu ve panoftalmi gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir (Martin ve diğerleri, 2019).

Korneal iyileşmenin araştırılması amacıyla yapılan deneysel çalışmalarda deney hayvanları ve evcil hayvanlar tercih edilmiştir. Çoğunlukla Yeni Zelanda Beyaz tavşanı (Philips ve diğerleri, 1983; Sarchahi ve diğerleri, 2011; Kibar Kurt ve Belge, 2021; Çelikten, 2019; Can 2023; Tani ve diğerleri, 2002), Sprague Dawley rat (Kim ve diğerleri, 2009; Perçin, 2018; Kim ve diğerleri, 2013), daha nadir olarak da kedi (Shaker ve diğerleri, 1989) ve köpekler (Gronkiewicz ve diğerleri, 2017) tercih edilmiştir. Mevcut tez çalışmasında ise Sprague Dawley rat tercih edilmiştir. Genel anestezi ve kornea yarası oluşturma işleminde ölüm, korneal perforasyon veya benzeri herhangi bir sorun yaşanmamıştır. Çalışma süresince ilaç uygulamaları, analizler ve kafes temizliği gibi müdahaleler sırasında ratlarsakin mizaçları sayesinde herhangi bir güçlükle karşılaşılmamıştır.

Yapılan literatür taramalarında kornea yarası oluşturmak amacıyla çeşitli teknikler kullanılsa da çoğunlukla trefin veya punch biyopsi aleti ve kornea bıçağı ile dairesel kornea yarası ya da vertikal uzanan ensizyonel bir kornea yarasi oluşturulmuştur. Shaker ve diğerleri (1999) trefin ile yara sınırlarını belirledikten sonra kornea bıçağı ile epitel katmanını kaldırarak kornea merkezinde 7 mm çapında yara oluşturmuşlardır. Kim ve diğerleri (2009) kornea yarası oluşturmak amacıyla 4 mm çapında trefin ile yara sınırlarını belirlemiş ve epitel debridman amacıyla kornea bıçağı kullanmışlardır. Sarchahi ve diğerleri (2011) oluşturacakları yaranın sınırlarını 6.5 mm çapında trefin ile belirledikten sonra korneanın anterior 1/3' lük katmanını kornea bıçağı ile kaldırmışlardır. Kim ve diğerleri (2013) 5 mm çapında trefin ve kornea bıçağı ile kornea merkezinde dairesel bir kornea yarası oluşturmuşlardır. Gronkiewicz ve diğerleri (2017) trefin ve kornea bıçağı kullanarak 6 mm çapında dairesel kornea yarası oluşturmuşlardır. Tani ve diğerleri (2002) kornea merkezinde 15 numara bistüri ile 6 mm çapında superficial keratektomi ile ensizyonel bir kornea yarası oluşturmuşlardır. Çelikten (2019) yaptıkları çalışmada 3 mm çapında punch biyopsi aleti kullanarak epitel tabakayı tam katman

uzaklaştırdıkları kornea yarası oluşturmuşlardır. Can (2023) 6 mm çapında biyopsi punch aletiyle stormaya kadar inen sınır belirledikten sonra 19 gauge kornea bıçağı ile korneal defekt oluşturulmuştur. Kibar Kurt ve Belge (2021) yaptıkları çalışmada punch biyopsi aleti ve kornea bıçağı ile 6 mm çapında kornea yarası oluşturduktan sonra Alger brush yardımı ile bir örnek yara oluşturmuşlardır.

Phillips ve diğerleri (1983) 3 mm uzunluğunda perfore kornea ensizyonu oluşturduktan sonra 1 mm aralıkla dikiş (9-0 monofilament iplik) uygulamışlardır. İki farklı çalışmada Yaşar (2018) ve Perçin (2023) bistüri kullanarak kornea merkezine vertikal yönde 2-3 mm uzunluğunda dessement katmana kadar derinleşen kornea yarası oluşturulduktan sonra 10-0 naylon iplik ile 2 basit ayrı dikiş kullanarak korneayı oluşturdukları kornea yarasını kapatmışlardır. Bu işlemi yaptıkları gözlere 6-0 poliglaktin ile tarsorafı uygulamışlardır.

Sunulan tez çalışmasında deneklerin rat olması göz önünde bulundurularak 3 mm çapında korneal yara planlanmıştır. Bu amaçla punch biyopsi aleti ile yara sınırları belirlendikten sonra epitel katmanının debridmanı amacıyla Alger brush kullanılmıştır. Kornea yaraları tüm deneklerde pürüzsüz ve eşit şekilde başarı ile oluşturulmuştur. Sıfırinci saat ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiş olması da yaraların eşit boyutlarda yapıldığını kanıtlamaktadır ($P=0,179$). Kornea yarasının oluşturulması sırasında punch biyopsi ile sınırları belirlemek korneal defektin oluşturulmasında kolaylık sağlamıştır. Alger brush düşük devir hızı sayesinde korneada perforasyona neden olmaksızın defekt oluşturulmasına imkân sağlamıştır.

Kornea epitelinin iyileşme yeteneği oldukça yüksektir. Korneadaki yaralanma sonrasında, hücresel yapılar hızla ortaya çıkarak yaralı bölgede birikmeye başlar. Zarar gören hücreler 1-2 dakika içerisinde kaybolur ve epitel tabakasındaki yara kenarları belirgin sınırlarını kaybeder. İlk saatlerde kollajen lifleri büzülür, bu da yara kenarlarının daha belirgin olmayan bir hale gelmesine neden olur. Stromanın rejenerasyon yeteneği bulunmadığı için, bu bölge kollajenöz skar dokusu veya hiperplastik epitel ile dolarak, stromada orta derecede şişkinlik meydana gelir. Bu süreç, iyileşmenin bir parçası olup, stroma ve epiteldeki normal yapısal düzenin yeniden sağlanması zaman alabilir. Stromal yaralanmalarda avasküler iyileşme sürecinin şekillendiği bilinmektedir. Keratositlerin, fibrositlere dönüşür ve kollajen sentezini başlatırlar. Yaralanmanın ardından yaklaşık 24 saat içinde mitotik aktivite devreye girer (Lubeck ve Greene, 1990; Khodadoust ve diğerleri, 1968; Pfister, 1975; Gelatt, 2013).

Korneal hasarın tedavi sürecinin iyi yönetilebilmesi için sağaltım prosedürlerinin ve mekanizmasının anlaşılması gerekir. Kornea hasarının iyileşme süresi boyunca epitel hücrelerin farklılaşması, çoğalıp göç edebilmesi için elverişli koşulların sağlanması ve korneanın korunması gerekmektedir (Vaidyanathan ve diğerleri, 2019)

Yaralanmalar sonucunda korneal ve konjunktival savunma sistemlerinin hasar görmesi, gözün enfeksiyonlara karşı savunmasız hale gelmesine yol açar ve enfeksiyon riskini artırır. Bakteriyel enfeksiyonların önlenmesi amacıyla antibiyotik kullanımı yaygın bir tedavi seçeneği olarak tercih edilmektedir (Ikeda ve diğerleri, 2006).

Kornea yaralarının sağaltımında antibiyotik, midriyatik, sikloplejik, hyaluronik asit, asetilsistein ve suni göz yaşı damlaları kullanılmaktadır (Gronkiewicz ve diğerleri, 2017; Philips ve diğerleri, 1983; Petroutsos, 1983; Sarchahi ve diğerleri, 2011; Barba, 2000).

Levofloksasin (Kim, 2013), tobramisin (Yaşar, 2023; Perçin, 2018), neomisin sülfat (Philips ve diğerleri, 1983; Petroutsos, 1983), gentamisin (Petroutsos, 1983, Eljarrat-Binstock ve diğerleri, 2004), siprofloksasin (Kibar Kurt ve Belge 2021; Petroutsos, 1983, Okurowska ve diğerleri, 2023), ofloksasin (Barba, 2000; Herbert ve diğerleri, 2022) ve kloramfenikol (Philips ve diğerleri, 1983; Küçük, 2024, Gentili ve diğerleri, 2024), medikal sağaltımda en yaygın tercih edilen antibiyotiklerdir. Antibiyotik göz damlalarının veteriner hekimlikte yaygın kullanım alanı bulmasına rağmen yara iyileşmesinde gecikme, punktat keratit, şimozis ve hiperemi gibi lokal yan etkilere yol açabilmektedir. Bunlara ek olarak antibiyotik kullanımının bakteri direncine yol açtığı da bilinmektedir (Gelender ve Rettich, 1984; Cameron ve diğerleri, 1991; Catalanotti ve diğerleri, 2005; Sharma 2011). Antibiyotik direncindeki artışlar araştırmacıların antibakteriyel alternatifleri araştırmasına neden olmaktadır (Galperin ve diğerleri, 2012). Mevcut tez çalışmasında da kornea yaralarında klasik medikal sağaltıma alternatif olarak antibakteriyel özellikleri ile öne çıkan kitosan ve bal ile oluşturulan bal jelinin etkisi araştırılmıştır. Kitosan ve bal ile oluşturulan bal jelinin günde 2 kez uygulanması zamandan tasarruf sağlamıştır. Sürekli müdahale gerekmediği için hayvanlarda agresyon ve mizaç değişimi gözlenmemiştir. Günlük muayeneler sırasında bal jeli uygulanan grupta blefarospazm, epifora, şimozis, enfeksiyon veya neovaskülarizasyon gibi bulgulara rastlanmamıştır. Yapılan yara ölçümleri, klinik bulgular ve histopatolojik muayene bulguları göz önünde bulundurulduğunda kitosan ve bal ile oluşturulan bal jelinin alternatif tedavi olabileceği kanısına varılmıştır.

Kornea boyaları, korneanın ve oküler yüzeyin hücre katmanlarının bütünlüğünü değerlendiren tanı araçlarıdır. Sağlıklı oküler yüzeydeki gözyaşı filmi tabakası suda çözünabilen boyaları tutmaz. Epitel hücreleri koruyan mukus tabakanın bozulması ve epitel hücre duvarlarında hasar olması durumunda suda çözünen boyalar yüzeydeki hücrelere yayılacaktır. Boyamalar derinlik ve yaygınlıklarına göre belirtilmelidir (Jampol ve Cunha-Vaz, 1984). Floresein, Rose Bengal ve Lissamine green boyamalar oküler yüzeyi değerlendirmek için en yaygın kullanılan boyalardır. Rose Bengal hem canlı hem de canlılığını yitirmiş hücreleri boyar bu sebeple kornea ve konjunktivanın skuamöz neoplazmalarının incelenmesinde kullanılmıştır. Sağlıklı prekorneal gözyaşı filmi hücrelerin Bengal boya tutulumunu engeller fakat toksisite etkisi olduğu söylenmektedir. Lissamine green boyama da Rose Bengal boyamaya benzer biyolojik yapıya sahiptir. Konjunktival hücreleri boyamada daha etkilidir. Floresein boyama herhangi bir yan etki oluşturmadan korneal hasarı tespit edebildiği için oftalmolojide sıklıkla kullanılmaktadır. Florescein boyanın yoğunluğu dejenerasyon ve canlılığını yitirmiş alanlarda artar (Galor, 2021).

Floresein boyanın korneadaki reepitelizasyona engel olmadığı ve yara iyileşmesini geciktirmediğini rapor etmişlerdir (Ubels ve diğerleri, 1982). Yapılan tez çalışmasında da litreatür verilere dayanarak floresein boyama yöntemi ile korneal hasar belirlenerek ölçümler gerçekleştirilmiştir. Floresein boyama sonrasında yara iyileşmesinde gerileme, epifora, konjunktivit veya blefarospazm gibi klinik bulgular tespit edilmemiştir. Günlük muayeneler sonucunda floresein boyanın herhangi bir irritasyona neden olmadığı gözlenmiştir.

Kitosan biyoyumlu, biyobozunur ve taşıt madde olması özelliğiyle doku mühendisliğinde yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Düşük toksisite ve yapışma özellikleri nedeniyle, kitosan hidrojelleri sert ve yumuşak dokuların bağlanmasında etkili bir malzeme olarak kullanılabilir. Yüksek derecede deasetilasyona ve düşük moleküler ağırlığa sahip olan kitosan, yara iyileşmesi için çok uygundur. Dokunun yüzeyine yapışır ve keratinosit sayısını artırarak yeni doku oluşturur (Feng ve diğerleri, 2021).

Kitosan, göze kontrollü ilaç verilmesi için onu elverişli kılan birkaç özelliğe sahiptir. Biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen ve göz tarafından iyi tolere edilebilen hidrofilik bir mukoadesif polimerdir. Antimikrobiyal ve yara iyileştirici özellikler gösterir. Kitosanın pozitif yüklü amino grupları ve müsinin negatif yüklü siyalik asit kalıntılarıyla etkileşime girerek ilacın korneayla temas süresini uzatır (Silva ve diğerleri, 2017).

Günümüzde lokal olarak uygulanan göz ilaçlarının etkinliği, aktif bileşiğin göz yüzeyinde tutulma süreleri nedeniyle sınırlıdır. Göz fizyolojik olarak gözyaşı filmi ile zararlı partiküllerden kendini korumak üzere inşa edildiğinden lokal ilaç iletimi zordur. Üreticiler, mukoadezif bileşenler ekleyerek ve formülasyonun viskozitesini artırarak bu sorunların üstesinden gelmeye çalışırlar (Schuerer ve diğerleri, 2018).

Oküler tedavideki en önemli sorun, etki bölgesinde ilacın yeterli konsantrasyonunu sağlamak ve korumaktır. Geleneksel dozaj formları ile damlatılan ilacın çoğu damlatmadan sonraki ilk 15- 30 saniye içinde kaybolur ve uygulanan ilacın %5'inden azı korneaya nüfuz ederek göz içi dokulara ulaşır (Lehr ve diğerleri, 1992; Ludwig, 2005; Paolicelli, 2009). İdeal oküler ilaç taşıyıcı sistem, ilacı biyolojik ortamdan koruyabilmeli ve aynı zamanda ilacın oküler epitele iletilmesini veya biyolojik bariyerlerden taşınmasını kolaylaştırmalıdır. Dahası, göz damlası şeklinde dağıtılabilmeli, bulanık görme veya iritabiliteye neden olmamalı ve günde bir veya iki uygulamadan fazlasına ihtiyaç duymamalıdır (Paolicelli, 2009; Silva ve diğerleri, 2017; Schuerer ve diğerleri, 2018). Kitosan içeren çözeltilerin *E. coli* büyümesini engellediği ve *S. aureus*'u öldürdüğü gösterilmiştir. Dahası, formülasyonlara %0,5 kitosan eklendiğinde prekorneal yüzeydeki tutulma süresini önemli ölçüde artırır ve bu formülasyonların prekorneal alandan atılmasını önemli ölçüde geciktirir (Schuerer ve diğerleri, 2018). Kitosan düşük toksisiteye sahip, şeffaf yapıda, biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen, göz tarafından iyi tolere edilebilen hidrofilik bir mukoadezif polimer olması nedeniyle mevcut tez çalışmasında kitosan kullanılmıştır. Kitosan uygulaması yapılan ratlarda kitosanın uzun süre göz yüzeyinde kaldığı, görüşe engel olmadığı, irritasyon veya kaşıntıya neden olmadığı gözlemiştir. 48 ve 67. saatlerde kontrol grubuna kıyasla çok sayıda iyileşen göz olduğu belirlenmiştir. Kitosanın tek başına kullanımının da kornea yaralarında iyileşmeyi hızlandırdığı yara ölçümleri ve histopatolojik muayenelerde de belirlenmiştir.

Balın yüksek ozmolarite, düşük su aktivitesi, asidite gibi içsel özellikleri ile hidrojen peroksit, fenolik bileşikler, metilglioksal veya arı defensin-1 peptidi gibi bazı bileşikler, doğrudan bakteri büyümesini ve hayatta kalmasını etkiler. Ek olarak bal; antikor üretimi, sitokinler, immünomodülasyon ve nitrik oksit (NO) teşvikini içeren dolaylı bir antimikrobiyal etki göstermektedir. Balın 3,5 ila 4 arasındaki düşük pH'ı proteaz aktivitesini azaltabilir, hemoglobinden oksijen salınımını teşvik edebilir, fibroblastları ve makrofaj çoğalmasını uyarır. Aynı zamanda, hidrojen peroksit içeriği yarayı sterilize eder ve yara bölgesinde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üretimini artırır (Scepankova, 2021; Prasathkumar ve Sadhasivam, 2021). Balın antioksidan aktivitesi, flavonoidler, fenolik asitler, tokoferoller,

askorbik asit ve katalaz veya süperoksit dismutaz gibi enzimler gibi çok çeşitli bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Scepankova, 2021).

Farklı bal konsantrasyonları, serbest radikalleri temizlemede ve epitel hücre çoğalmasını desteklemede farklı etkinliklere sahiptir. Lokal bal hidrojel formülasyonları, pH ve yayılabilirliği sırasıyla 4,3-6,8 ve 5,7-8,6 cm aralığında bulunmuştur. Hidrojel formülleri, yaygın yanık enfeksiyonu bakterileri olan *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia* ve *Streptococcus pyogenes*'e karşı antibiyotik duyarlılık testi kullanılarak in-vitro antimikrobiyal aktivite açısından değerlendirilmiştir (Basualdo ve diğerleri, 2007).

Yapılan bir çalışma %75 bal-kitosan hidrojel en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. Bu çalışma, %75 bal-kitosan hidrojelinin ticari preparata kıyasla daha yüksek yara iyileştirme aktivitesine sahip olduğu ve etkili bir doğal lokal yara iyileştirme tedavisi olarak güvenle kullanılabileceği sonucuna varmıştır. Bal oranı arttıkça asiditenin yükseldiği, %75 oranında bal kullanıldığında balın asidik yapısı kaynaklı kullanılan materyalin asitleştiği bildirilmiştir (El-Kased ve diğerleri, 2017b).

En iyi antibakteriyel aktivite elde etmek için saf kitosan konsantrasyonu %1,0 ağırlıktan ve saf bal için %75 ağırlıktan az olmaması gerektiği vurgulanmıştır (El-scep, 2017; Scepankova, 2021; Zheng ve Zhu, 2003; Basualdo ve diğerleri, 2007; Wang ve diğerleri, 2012). Kitosan ve bal ile oluşturulan bal jelinin antibakteriyel özellikte olduğu, epiderminin korunduğu ve yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (Do ve diğerleri, 2022).

Balın yangı bulgularını azalttığı ve konjunktivanın oküler bakteriyel enfeksiyonları ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Majtanova ve diğerleri, 2016). Başka bir çalışmada, steril %25 (ağırlık/hacim) bal solüsyonu formundaki bal, kontakt lensle ilişkili kornea ülserinin tedavisinde tamamlayıcı olarak kullanılmıştır (Al-Waili, 2004; Majtanova ve diğerleri, 2016).

Manuka balı (Optimel™ göz damlaları) kronik kuru göz ve blefarit tedavisinde oftalmolojide kullanılmaktadır. Marchalina hellenica tarafından üretilen Türk kızılçam balının antioksidan aktivitelerini belirlemek için 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil radikali (DPPH) testi, antioksidanların lipit oksidasyonunu inhibe ederek DPPH radikallerini temizleme ve dolayısıyla serbest radikal temizleme kapasitesini belirlenmesi için kullanılan bir yöntemdir. Çeşitli ülkelerde üretilen ballarla ilgili yapılan çalışmalar antioksidan balın antioksidan özelliğini ortaya koymuştur. Suudi Arabistan'da ve Peru'da üretilen ballarda yapılan çalışmalarda antioksidan özelliklerinin olduğu bildirilmiştir (Akbulut ve diğerleri, 2009; Al-Hindi ve diğerleri, 2011; Kishore ve diğerleri, 2011; Rodríguez-Malaver ve diğerleri, 2009).

İğnesiz arılar *Trigona carbonaria* tarafından üretilen Avustralya balının yüksek antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Dev Asya arıları *Apis dorsata* tarafından üretilen Malezya tualang balının iyi antioksidan ve antiradikal aktiviteler sergilediği gösterilmiştir. Antioksidan aktiviteler ayrıca Amerikan karabuğday balı, Hırvat meşe bal özü balı, İspanyol balı, Portekiz balı, Küba balı, Venezuela balı ve Ekvador balı için de belgelenmiştir (Van den Berg ve diğerleri, 2008; Jerkovic ve diğerleri, 2010; Alvarez-Suarez ve diğerleri, 2010; Vit ve diğerleri, 2009; Guerrinia ve diğerleri, 2009; Erejuwa ve diğerleri, 2012).

Doğal balın, endotoksinle hazırlanmış monosit hücre hattında reaktif oksijen türlerinin üretimini ve inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir (Tonks ve diğerleri, 2001).

In vitro kornea iyileşmesinin deneysel model olarak kullanıldığı bir çalışmada balın kornea epitelinin çoğalmasını teşvik ettiğini, keratinositlerin proliferasyonunu arttırdığını ve yara iyileşmesini hızlandırdığı belirlenmiştir (Ker- Woon ve diğerleri, 2015).

Farklı bal türlerinin ve arı sütünün, kornea yanıkları da dahil olmak üzere çeşitli kornea hasarı olgularında iyileşmeyi teşvik ettiği kanıtlanmıştır. Kestane balı Türkiye'de endemiktir ve çeşitli durumlarda tamamlayıcı tıpta yaygın şekilde kullanılmaktadır. Atalay ve diğerleri (2019) kestane balı, arı sütü ve ikisinin kombinasyonunun korneanın alkalın yanığının tedavisindeki potansiyel rolünü araştırmışlardır. Kestane balı ve arı sütü ile tedavi edilen grupta, kornea iyileşmesi diğer gruplara göre daha hızlı gerçekleşmiştir.

Kestane ormanları, İber Yarımadası'nın dağlık bölgelerinde bal üretiminin ana habitatlardan biridir. Kuzeybatı bölgesi toplam kestane alanının %70'inden fazlasını oluşturmaktadır (Melicharová ve VizosoArribe, 2012). Başta *Castanea sativa* (tatlı kestane) olmak üzere kestane ağaçlarının ve daha az oranda *Quercus* gibi diğer yaprak döken ağaçların varlığıyla karakterize edilen alanlardır. Kestanenin bal üretimi için önemi, bitkinin bol miktarda nektar salgılamasından ve oldukça iyi polen üretebilmesinden kaynaklanmaktadır (Persano-Oddo & Piro, 2004).

Ülkemizde kestanenin yetiştiği bölgeler ağırlıklı olarak Marmara, Ege ve Karadeniz'dir. Nemli koşulları olan orman bölgelerinde *Castanea Sativa* Mill (Avrupa kestanesi) doğal olarak yetişmektedir (Karadeniz, 2013).

Castanea sativa (Tatlı kestane), çiçeklenme döneminde iyi miktarda nektar ve polen üretir. Bu takson, bu ballarda polen spektrumlarının %80'ine yakın değerlerle (%70-90) sıklıkla görülmektedir (Rodríguez-Flores ve diğerleri, 2016).

Kestane balı, antibakteriyel aktivitesi nedeniyle kronik yaraların, yanıkların veya cilt ülserlerinin tedavisinde kullanılır. Son çalışmalar önemli miktarda fenolik, flavonoid ve kinolin alkaloid içerdiğini ortaya koymuştur. Bu farmako-aktif maddelerin kalitatif / kantitatif profiline dayanan bilgiler, kestane balının spesifik dermatolojik lezyonların tedavisindeki etkinliğini açıklamaktadır. Kestane balı hidrojel ile tedavi edilen yaraların bazal epidermal tabakanın proliferasyonunun arttırarak keratinositlerin göçünü kolaylaştırdığı ve oksidatif stres veya hipoksi gibi stresli koşullarda dayanıklılık sağladığı görülmüştür (Choi ve diğerleri, 2012).

Uwaydat ve diğerleri (2011) kornea yarasının tedavisinde soya fasülyesi ve yaban çiçeği kökenli yerel bir arı kovanında üretilen koyu kahverengi renge sahip saf bir bal kullanmışlardır. İki deney grubunda toplam 10 rat kullanılmıştır. Birinci grubun tek gözüne günde 3 kez lokal bal uygulanmış diğer gözüne ise hiçbir şey uygulanmamıştır. İkinci grubun tek gözüne lokal bal diğer gözüne ise lokal eritromisin uygulanmıştır. Balla tedavi edilen korneal abrazyonlar, tedavi edilmeyenlere göre genel olarak daha hızlı iyileşti. Fark, 2. günde istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0,035$). 2. grupta, balla tedavi edilen abrazyonlar, 2., 3. ve 4. günlerde ölçüldüğünde eritromisinle tedavi edilen abrazyonlardan daha hızlı iyileşti. Fark, 3. günde istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0,0036$). Genel olarak, yara boyutundaki ortalama değişiklikler başlangıç değerine göre balla tedavi edilen gözlerde eritromisinle tedavi edilen gözlerle göre önemli ölçüde daha fazlaydı ($P=0,0022$). Balın kısa süreli uygulanmasının kornea tarafından iyi tolere edildiğini göstermiştir. Asidik bir ortam olmasına rağmen herhangi bir inflamatuvar reaksiyona neden olmamış ve histolojik bulguları değiştirmemiştir.

Korneal yaralar floresein kullanılarak görüntülenmiş ve yaralamadan 0, 24, 36, 48 ve 67. saatlerde kobalt mavisi ışık kullanılarak slit lamp altında fotoğraflanmıştır. Her bir epitelyal defektin alanı gibi Image J 1.54j görüntü analiz yazılımı kullanılarak ölçülmüştür. Bu tür programlar, özellikle tıbbi görüntü analizi ve biyolojik ölçümler için sıklıkla kullanılır. Image J 1.54j, açık kaynaklı bir yazılım olup, kullanıcıların çeşitli biyolojik görüntüleri analiz etmelerine olanak tanır (Nagata ve diğerleri, 2015). Mevcut çalışmada da literatür göz önünde bulundurularak Image J 1.54j programı tercih edilmiştir. Image J programı ücretsiz olması, kullanıcı dostu ara yüzü ve kolay kullanımı ile ölçümler sırasında kolaylık sağlamıştır.

Deneyin başlangıcında yapılan ölçümlerde kontrol grubunun kornea yaraları $9606 \pm 302 \mu m^2$ olarak ölçülürken kitosan uygulanan kornea yaralarının ölçümleri $9380 \pm 301 \mu m^2$ olarak ölçülmüştür. Bal jeli uygulanan kornea yaralarında ise $8847 \pm 294 \mu m^2$ olarak ölçülmüştür. Çalışmanın 24. saatinde yapılan ölçümlerde kontrol grubunun yara alanı ölçümleri $5980 \pm 386 \mu m^2$, kitosan uygulanan yaraların ölçümleri $5250 \pm 382 \mu m^2$, bal jeli kullanılan yaraların

ölçümleri $5094 \pm 507 \mu\text{m}^2$ olarak belirlenmiştir. Çalışmanın 36. saatinde yapılan ölçümlerde kontrol grubunun yara alanı ölçümleri $3711 \pm 290 \mu\text{m}^2$, kitosan uygulanan yaraların ölçümleri $3787 \pm 555 \mu\text{m}^2$, bal jeli kullanılan yaraların ölçümleri $2975 \pm 391 \mu\text{m}^2$ olarak belirlenmiştir. Çalışmanın 48. saatinde yapılan ölçümlerde kontrol grubunun yara alanı ölçümleri $2395 \pm 292 \mu\text{m}^2$, kitosan uygulanan yaraların ölçümleri $1773 \pm 456^{ab} \mu\text{m}^2$, bal jeli kullanılan yaraların ölçümleri $841 \pm 233 \mu\text{m}^2$ olarak belirlenmiştir. Çalışmanın 67. saatinde yapılan ölçümlerde kontrol grubunun yara alanı ölçümleri $1289 \pm 255 \mu\text{m}^2$, kitosan uygulanan yaraların ölçümleri $1433 \pm 415 \mu\text{m}^2$, bal jeli kullanılan yaraların ölçümleri $229 \pm 75 \mu\text{m}^2$ olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre bal uygulanan yaraların iyileşme oranlarının istatistiksel olarak daha hızlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Kitosan kullanılan grupta yara iyileşmesi kontrol grubuna oranla daha hızlı olduğu da tespit edilmiştir.

Bal jeli grubunda 48. saatte alınan sonuçlar başlangıçta oluşturulan yaranın yarısından daha fazla küçülürken kitosan grubu çeyreği kadar küçülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilmiştir. 67. saatte alınan sonuçlara göre yara iyileşmesi en yüksek bal jeli grubunda tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($P < 0,001$).

Sunulan çalışmada 67. saatte; kontrol grubundaki 19 ratın 1 tanesinin, kitosan grubundaki 19 ratın 10 tanesinin ve bal+kitosan jel grubundaki 23 ratın 15 tanesinin kornea yarasında tamamen iyileşme gözlenmiştir. Bal+kitosan jeli uygulanan grupta literatüre uyumlu (Uwaydat ve diğerleri, 2011; Majtanova ve diğerleri, 2016; Akbulut ve diğerleri, 2009; Al-Hindi ve diğerleri, 2011; Kishore ve diğerleri, 2011; Rodríguez-Malaver ve diğerleri, 2009) olarak iyileşmenin diğer gruplara oranla oldukça iyi olduğu ortaya konulmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kornea yaralarında klasik medikal sağıaltım yöntemleri gün içinde defalarca göz damlası uygulamasını içermektedir. Bal jeli daha az uygulama ile yara iyileşmesinin mümkün olduğunu kanıtlamıştır. Bu sayede tedavi sürecindeki zaman kaybının ve uygulama zorluğunun önlenmesi mümkün olabilecektir.

Antibiyotik direncine neden olan yaygın antibiyotik kullanımı yerine doğal bir apiterapi ürünü olan balın tercih edilmesi ile klasik tedaviye alternatif oluşturulmuştur.

Çalışma kapsamında Düzce İli Arı Yetiştiriciler Birliği tarafından üretilen kestane balının korneal yaralardaki iyileştirici özelliklerinin deneysel olarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

Kestane balı, kollajen üretimi ve fibroblast olgunlaşmasını arttırdığı için diğer gruplara oranla korneal yara iyileşmesinde daha etkili olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda inflamatuvar etki gösterdiği belirlenmiştir.

7. KAYNAKÇA

- Atalay, K., Cabuk, K. S., Kirgiz, A., & Caglar, A. K. (2019). Treatment of corneal alkali burn with chestnut honey, royal jelly, and chestnut honey-royal jelly mixture. *Beyoglu Eye J*, 4(3), 196. doi:10.14744/bej.2019.29290
- Akbulut, M.; Ozcan, M.M.; Coklar, H. Evaluation of antioxidant activity, phenolic, mineral contents and some physicochemical properties of several pine honeys collected from Western Anatolia. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2009, 60, 577–589. 29. doi:10.3109/09637480801892486
- Al-Hindi, R.R.; Bin-Masalam, M.S.; El-Shahawi, M.S. Antioxidant and antibacterial characteristics of phenolic extracts of locally produced honey in Saudi Arabia. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2011, 62, 513–517. doi:10.3109/09637486.2010.550276
- Alvarez-Suarez, J.M.; Tulipani, S.; Díaz, D.; Estevez, Y.; Romandini, S.; Giampieri, F.; Damiani, E.; Astolfi, P.; Bompadre, S.; Battino, M. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem. Toxicol.* 2010, 48, 2490–2499. doi: 10.1016/j.fct.2010.06.021
- Al-Waili NS: Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. *J Med Food* 2004, 7:210–222. doi:10.1089/1096620041224139
- Balasopoulou, A., Kokkinos, P., Pagoulatos, D., Plotas, P., Makri, O. E., Georgakopoulos, C. D., Vantarakis, A., Li, Y., Liu, J. J., Qi, P., Rapoport, Y., Wayman, L. L., Chomsky, A. S., Joshi, R. S., Press, D., Rung, L., Ademola-popoola, D., Africa, S., Article, O., & Loukovaara, S. (2017). Symposium recent advances and challenges in the management of retinoblastoma Globe ñ saving Treatments. *BMC Ophthalmology*, 17(1).
- Barba, K. R., Samy, A., Lai, C., Perlman, J. I., & Bouchard, C. S. (2000). Effect of topical anti-inflammatory drugs on corneal and limbal wound healing. *Journal of Cataract Refractive Surgery*, 26(6), 893-897. doi: 10.1016/S0886-3350(00)00364-3

- Basualdo, C., Sgroy, V., Finola, M. S., & Marioli, J. M. (2007). Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Veterinary Microbiology*, 124(3–4), 375–381. doi:10.1016/j.vetmic.2007.04.039.
- Best, L. J., Hendrix, D. V., & Ward, D. A. (2014). Diagnosis & treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Today's Vet. Pract*, 4, 16-22.
- Bosiack, A.P., Giuliano, E.G., Gupta, R., et al. (2012) Canine corneal fibroblast and myofibroblast transduction with AAV5. *Veterinary Ophthalmology*, 15, 291–298. doi:10.1111/j.1463-5224.2011.00980.x
- Bron, A. J. (2001). The architecture of the corneal stroma. *British Journal of Ophthalmology*, 85(4), 379-381. doi:10.1136/bjo.85.4.379
- Brockmann T, Walckling M, Brockmann C, Fuchsluger TMA, Pleyer U. [Corneal wound healing-Pathophysiology and principles]. *Ophthalmologe*. 2021;118(11):1167-77. doi:10.1007/s00347-021-01423-3
- Broughton G, 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117(7 Suppl):1e-S-32e-S. doi:10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9
- Cameron JA, Antonios SR, Cotter JB, Habash NR. Endophthalmitis from contaminate donor corneas following penetrating keratoplasty. *Archives Of Ophthalmology* 1991, 105, 54- 59. doi:10.1001/archopht.1991.01080010056032
- Can, Ü. (2023). *Tavşanlarda Deneysel Kornea Defektlerinin Sağaltımı Üzerine Konsantre Büyüme Faktörü ve Trombositten Zengin Fibrinin Etkinliğinin Karşılaştırılması*. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Carrington, S.D. & Woodward, E.G. (1986) Corneal thickness and diameter in the domestic cat. *Ophthalmic and Physiologic Optics*, 6, 385–389. doi:10.1111/j.1475-1313.1986.tb01157.x
- Catalanotti P, Lanza M, Del Prete A, Lucido M, Catania MR, Gallè F, Boggia D, Perfetto

- B, Rossano F. Slime producing *Staphylococcus epidermidis* in acute bacterial conjunctivitis in soft contact-lens wearers. *New Microbiologica* 2005, 28(4), 345-54.
- Chi, H.H., Teng, C.C. & Katzin, H.M. (1960) Healing process in the mechanical denudation of the corneal endothelium. *American Journal of Ophthalmology*, 49, 693-703. doi:10.1016/0002-9394(60)92043-2
- Chiou, A. G. Y., Kaufman, S. C., Kaufman, H. E., & Beuerman, R. W. (2006). Clinical corneal confocal microscopy. *Survey of ophthalmology*, 51(5), 482-500.
- Choi, D. S., Kim, S., Lim, Y. M., Gwon, H. J., Park, J. S., Nho, Y. C., & Kwon, J. (2012). Hydrogel incorporated with chestnut honey accelerates wound healing and promotes early HO-1 protein expression in diabetic (db/db) mice. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 9, 36-42. doi:10.1016/j.survophthal.2006.06.010.
- Crispin, S. (2002). Ocular lipid deposition and hyperlipoproteinaemia. *Progress in retinal and eye research*, 21(2), 169-224. doi:10.1016/S1350-9462(02)00004-6
- Çelikten, M. (2019). *Tavşanlarda Deneyisel Olarak Oluşturulan Kornea Defektlerinin Sağaltımı Üzerine Amniyon Sıvısının Etkinliğinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- DelMonte, D. W., & Kim, T. (2011). Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 37(3), 588-598. doi:10.1016/j.jcrs.2010.12.037
- de Melo Dias, M. L., & Mortari, A. C. (2017). Unilateral Idiopathic Sensory Trigeminal Nerve Paralysis in a Dog. *Acta Scientiae Veterinariae*, 45, 1-4
- Dua H, Gomes J, Singh A (1994) Corneal epithelial wound healing. *British Journal of Ophthalmology* 78:401–408. doi: <https://doi.org/10.1136/bjo.78.5.401>
- Do, N. H., Truong, Q. T., Le, P. K., & Ha, A. C. (2022). Recent developments in chitosan hydrogels carrying natural bioactive compounds. *Carbohydrate Polymers*, 294, 119726. doi:10.1016/j.carbpol.2022.119726
- Efem, S. E. E., & Iwara, C. I. (1992). The antimicrobial spectrum of honey and its clinical

significance. *Infection*, 20(4), 227-229.

Eghrari, A. O., Riazuddin, S. A., & Gottsch, J. D. (2015). Overview of the cornea: structure, function, and development. *Progress in molecular biology and translational science*, 134, 7-23. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.04.001

Eljarrat-Binstock, E., Raiskup, F., Stepensky, D., Domb, A. J., & Frucht-Pery, J. (2004). Delivery of gentamicin to the rabbit eye by drug-loaded hydrogel iontophoresis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 45(8), 2543-2548. doi:10.1167/iovs.03-1294

El-Kased, R. F., Amer, R. I., Attia, D., & Elmazar, M. M. (2017). Honey-based hydrogel: In vitro and comparative In vivo evaluation for burn wound healing. *Scientific reports*, 7(1), 9692.

Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., & Ab Wahab, M. S. (2012). Honey: a novel antioxidant. *Molecules*, 17(4), 4400-4423. doi:10.3390/molecules17044400

Eurell, J., Frappier, B. L., 2006. Dellman's textbook of veterinary histology. Immune and digestive systems. 6th Ed., BlackWell publishing.

Feng, P., Luo, Y., Ke, C., Qiu, H., Wang, W., Zhu, Y., ... & Wu, S. (2021). Chitosan based functional materials for skin wound repair: Mechanisms and applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 650598. doi:10.3389/fbioe.2021.650598

Galor, A. (2021). Tear Film and Corneal Diagnostic Techniques. *Cornea, E-Book*, 81.

Galperin G, Berra M, Tau J, Boscaro G, Zarate J, Berra A. Treatment of fungal keratitis from Fusarium infection by corneal cross-linking. *Cornea* 2012, 31(2), 176-180.
Gelatt, K. N. (2017). Essentials of Veterinary Ophthalmology. K. N. Gelatt (Ed.), (Second.). Blackwell Publishing Ltd. doi: 10.1097/ICO.0b013e318221cec7

- Gelatt, K.N., Gelatt, J.P. (2001). Surgery of the Cornea and Sclera. In: Small Animal Ophthalmic Surgery: Practical Techniques for the Veterinarian, Ed: K.N. Gelatt, Butterworth- Heinemann, p.: 180-196.
- Gelatt, K. N., Gelatt, J. P., & Plummer, C. (2021). *Veterinary Ophthalmic Surgery-E Book: Veterinary Ophthalmic Surgery-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Gelender H, Rettich C. Gentamicin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* corneal ulcers. *Cornea* 1984, 3, 21-26.
- Gentili, V., Strazzabosco, G., Spena, R., Rizzo, S., Beltrami, S., Schiuma, G., ... & Rizzo. R. (2024). Comparison between Moxifloxacin and Chloramphenicol for the Treatment of Bacterial Eye Infections. *Current Therapeutic Research*, 100, 100740.
doi:10.1016/j.curtheres.2024.100740
- Gilger, B.C., Whitley, R.D. (1991). Surgery of the Cornea and Sclera. In: Veterinary Ophthalmology, Ed. K.N. Gelatt, Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., p.: 675-700.
- Gilger, B.C., Wright, J.C., Whitley, R.D., et al. (1993) Corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 54, 228–230.
doi:10.2460/ajvr.1993.54.02.228
- Gipson, I. K. (2007). The ocular surface: the challenge to enable and protect vision: the Friedenwald lecture. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(10), 4391-4398.
doi:10.1167/iovs.07-0770
- Gilger BC. Diseases and Surgery of the Canine Cornea and Sclera. In: Veterinary Ophthalmology, Kirk NG (ed). 4th edn. Blackwell Publishing: Ames Iowa, 2007, pp. 690 752.
- Gilger, B.C., Bentley, E. & Ollivier, F.J. (2007) Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In: Veterinary Ophthalmology (ed. Gelatt, K.N.), 4th ed., pp. 690–752. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Grahn, B. H. ve Storey, E. S. (2004). Lacrimostimulants and lacrimomimetics. *Veterinary*

Clinics of North America- Small Animal Practice, 34(3), 739–753.

doi:10.1016/j.cvsm.2003.12.009

Gronkiewicz, K. M., Giuliano, E. A., Sharma, A., & Mohan, R. R. (2017). Effects of topical hyaluronic acid on corneal wound healing in dogs: a pilot study. *Veterinary ophthalmology*, 20(2), 123-130. doi:10.1111/vop.12379

Guedes, P. E. B., Veloso, J. F., Lacerda, L. C., Santana, J. O., Mora-Ocampo, I. Y., Pirovani, C. P., ... Carlos, R. S. A. (2021). Protein expression of the tear film of domestic cats before and after inoculation with *Toxoplasma gondii*. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 1–16. doi:10.1186/s12917-021-03080-9

Guerrinia, A.; Brunib, R.; Maiettia, S.; Polic, F.; Rossia, D.; Paganetto, G.; Muzzolia, M.; Scalvenzid, L.; Sacchettia, G. Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. *Food Chem.* 2009, 114, 1413–1420. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.023

Gum GG, MacKay EO, 2013. Physiology of the eye. In: *Veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ, 5th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 171 207.

Herbert, R., Caddick, M., Somerville, T., McLean, K., Herwitker, S., Neal, T., ... & Kaye, S. B. (2022). Potential new fluoroquinolone treatments for suspected bacterial keratitis. *BMJ Open Ophthalmology*, 7(1), e001002.)

Ikeda N, Hayasaka S, Hayasaka Y, Watanabe K. Alkali burns of the eye: effect of immediate copious irrigation with tap water on their severity. *Ophthalmologica* 2006, 220(4), 225-228. doi:10.1159/000093075

Ishihara, M., Nakanishi, K., Ono, K., Sato, M., Kikuchi, M., Saito, Y., ... & Kurita, A. (2002). Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process. *Biomaterials*, 23(3), 833-840.

Jankauskiene J, Jarushaitiene D, Cheksteryte V, Rachys J: Using 20% honey solution eye

drops in patients with dry eye syndrome. J Apic Res 2007; 46:232–235.

doi:10.1080/00218839.2007.11101400

Jerkovic, I.; Marijanovic, Z. Oak (Quercus frainetto Ten.) honeydew honey--approach to screening of volatile organic composition and antioxidant capacity (DPPH and FRAP assay). Molecules 2010, 15, 3744–3756.doi:10.3390/molecules15053744

Kangas, T.A., Edelhauser, H.F., Twining, S.S., et al. (1990) Loss of stromal glycosaminoglycans during corneal edema. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 31, 1994–2002.

Karadeniz V (2013). Türkiye’de kestane tarımı ve başlıca sorunları. Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi, 6(27): 279-291.

Ker-Woon C, Abd Ghafar N, Hui CK, Mohd Yusof YA, Wan Ngah WZ: The effects of acacia honey on in vitro corneal abrasion wound healing model. BMC Cell Biol 2015; 16:1–11.

Khodadoust A, Silverstein A, Kenyon K, Dowling J (1968) Adhesion of regenerating corneal epithelium: the role of basement membrane. American Journal of Ophthalmology 65:339–348.

Kishore, R.K.; Halim, A.S.; Syazana, M.S.; Sirajudeen, K.N. Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. Nutr. Res. 2011, 31, 322–325.doi:10.1016/j.nutres.2011.03.001

Kurt, B. K., & Belge, A. (2021). Investigation of the effectiveness of dehydrated corneal collagen barriers on corneal defects: An experimental rabbit model. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.

Kibar Kurt, B. (2019). *Kornea Yaralarında Dehidre Korneal Kollajen Bariyerlerinin (Vet Shield Oasis) Etkinliğinin Araştırılması: Deneysel Tavşan Modeli*, Doktora Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

Kim, E. C., Ryu, H. W., Lee, H. J., & Kim, M. S. (2013). Bevacizumab eye drops delay

- corneal epithelial wound healing and increase the stromal response to epithelial injury in rats. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 41(7), 694-701.
- Kim, S. Y., Choi, J. S., & Joo, C. K. (2009). Effects of nicergoline on corneal epithelial wound healing in rat eyes. *Investigative ophthalmology & visual science*, 50(2), 621-625.
doi:10.1111/ceo.12085
- König, H. E. ve Liebich, H.-G. (2015). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals Textbook and Colour Atlas*. (H. E. König ve H.-G. Liebich, Ed.) *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals Textbook and Colour Atlas* (6th bs.). Stuttgart: Schattauer.
- Laing, R.A., Sanstrom, M.M., Berruspi, A.R., et al. (1976) Changes in the corneal endothelium as a function of age. *Experimental Eye Research*, 22, 587–594.
doi:10.1016/0014-4835(76)90003-8
- Lassance, L., Marino, G. K., Medeiros, C. S., Thangavadivel, S., & Wilson, S. E. (2018). Fibrocyte migration, differentiation and apoptosis during the corneal wound healing response to injury. *Experimental eye research*, 170, 177-187.
doi:10.1016/j.exer.2018.02.018
- Lehr, C.-M.; Bouwstra, J.A.; Schacht, E.H.; Junginger, H.E. In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. *Int. J. Pharm.* 1992, 78, 43–48. [CrossRef] doi:10.1016/0378-5173(92)90353-4
- Lubeck D, Greene JS. Corneal injuries. *Seminars in Ophthalmology* 1990, 5(2), 61-73.
doi: 10.3109/08820539009060156
- Ludwig, A. The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005, 57, 1595–1639. [CrossRef] [PubMed].doi:10.1016/j.addr.2005.07.005
- Maggs DJ, 2008a. Cornea and sclera. In: *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. Eds: Maggs DJ, Miller PE, Ofri R, 4th ed. China, Saunders Elsevier, p. 175-202.
- Maggs, D. J., Miller, P. E., & Ofri, R. (2017). *Slatter's fundamentals of veterinary*

ophthalmology E-book: Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology E-book.

Elsevier Health Sciences.

- Maggs, D. J., Hons, B. ve Miller, P. E. (2022). *Slatter ' s Fundamentals of Veterinary Ophthalmology Ron Ofri , DVM , PhD.* (O. R. Maggs David J. , Miller Paul E., Ed.) (5th bs.). California: elsevier saunders.
- Majtanova N, Vodrazkova E, Kurilova V, Horniackova M, Cernak M, Cernak A, Majtan J: Complementary treatment of contact lens-induced corneal ulcer using honey: a case report. *Contact Lens Anterior Eye* 2014; 38:61–63.
doi:10.1016/j.clae.2014.09.004
- Majtanova, N., Cernak, M., & Majtan, J. (2016). Honey: A natural remedy for eye diseases. *Forschende Komplementärmedizin/Research in Complementary Medicine*, 23(6), 364-369. doi:10.1159/000452116
- Martin, C. L., (2010). Ophthalmic disease in veterinary medicine (pp. 113-140). Softcover edition, with revisions, London: Manson.
- Meek, K.M., Dennis, S. & Khan, S. (2003a) Changes in the refractive index of the stroma and its extrafibrillar matrix when the cornea swells. *Biophysical Journal*, 85, 2205–2212.
- Meek, K.M., Leonard, D.W., Connon, C.J., et al. (2003b) Transparency, swelling and scarring in the corneal stroma. *Eye*, 17, 927–936.
- Meek, K. M., & Boote, C. (2004). The organization of collagen in the corneal stroma. *Experimental eye research*, 78(3), 503-512.
doi:10.1016/j.exer.2003.07.003
- Melicharová, L., & Vizoso-Arriba, O. (2012). Situation of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Spain, Galicia: A review. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 43(2), 78-84.
- Mercan N, Guvensen A, Celik A, et al (2007): Antimicrobial activity and pollen composition of honey samples collected from different provinces in Turkey. *Natural Product Research*, 21(3), 187-195.

- Moodie, K.L., Hashizume, N., Houston, D., et al. (2001) Postnatal development of corneal curvature and thickness in the cat. *Veterinary Ophthalmology*, 4, 267–272. doi:10.1046/j.1463-5216.2001.00198.x.
- Nagata, M., Nakamura, T., Hata, Y., Yamaguchi, S., Kaku, T., & Kinoshita, S. (2015). JBP485 promotes corneal epithelial wound healing. *Scientific Reports*, 5(1), 14776.
- Okamoto Y, Yano R, Miyatake K, Tomohiro I, Shigemasa Y, Minami S. Effects of chitin and chitosan on blood coagulation. *Carbohydr Polym* 2003;53:337–42. [CrossRef]
- Okurowska, K., Suarez, D. M., & Karunakaran, E. (2023). The effect of ciprofloxacin and gentamicin on wound healing in ex vivo sheep cornea model. *bioRxiv*, 2023-11. doi:10.1101/2023.11.20.567943.
- Paolicelli, P., de la Fuente, M., Sanchez, A., Seijo, B., & Alonso, M. J. (2009). Chitosan nanoparticles for drug delivery to the eye. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 6(3), 239–253. doi:10.1517/17425240902762818.
- Perçin, H. (2018). *Kornea Yarası Oluşturulan Ratlarda Resveratrol'ün Erken Dönem İyileşmedeki Etkisinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- Persano-Oddo, L., & Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys: Descriptive sheets. *Apidologie*, 35, 38-81. doi: 10.1051/apido:2004049
- Petroutsos, G., Guimaraes, R., Giraud, J., & Pouliquen, Y. (1983). Antibiotics and corneal epithelial wound healing. *Archives of ophthalmology*, 101(11), 1775-1778. doi:10.1001/archopht.1983.01040020777023.
- Pfister R (1975) The healing of corneal epithelial abrasions in the rabbit: a scanning electron microscope study. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 14:648–661.
- Phillips, K., Arffa, R., Cintron, C., Rose, J., Miller, D., Kublin, C. L., & Kenyon, K. R. (1983). Effects of prednisolone and medroxyprogesterone on corneal wound healing, ulceration, and neovascularization. *Archives of ophthalmology*, 101(4), 640-643.

doi:10.1001/archopht.1983.01040010640024.

Polcz ME, Barbul A. The Role of Vitamin A in Wound Healing. *Nutr Clin Pract*.

2019;34(5):695-700.doi:10.1002/ncp.10376.

Prasathkumar, M., & Sadhasivam, S. (2021). Chitosan/Hyaluronic acid/Alginate and an assorted polymers loaded with honey, plant, and marine compounds for progressive wound healing—Know-how. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186, 656-685.doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.07.067.

Richards, T.R., Mortlock, J.H.H., Pinard, C.L., et al. (2014) Interleukin expression in the normal canine eye. *Veterinary Ophthalmology*, 17, 46–56.

doi:10.1111/vop.12040.

Rodríguez-Malaver, A.J.; Rasmussen, C.; Gutiérrez, M.G.; Gil, F.; Nieves, B.; Vit, P.

Properties of honey from ten species of Peruvian stingless bees. *Nat. Prod. Commun*.

2009, 4, 1221–1226. doi:10.1177/1934578X0900400913.

Rodríguez-Flores, S., Escuredo, O., & Seijo, M. C. (2016). Characterization and antioxidant capacity of sweet chestnut honey produced in North-West Spain. *Journal of Apicultural Science*, 60(1), 19.doi: 10.1515/JAS-2016-0002.

Rolando, M. ve Zierhut, M. (2001). Survey of Ophthalmology Volume 45 • Supplement 2 • March 2001 The Ocular Surface and Tear Film and Their Dysfunction in Dry Eye Disease, 45(March), 203–210.doi:10.1016/S0039-6257(00)00203-4.

Samuelson DA. Ophthalmic Anatomy. In: *Veterinary Ophthalmology*, Kirk NG. (ed). 4th edn. Blackwell Publishing: Ames Iowa, 2007, 49-60.

Samuelson DA, 2013. Ophthalmic anatomy. In: *Veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, Gilger BC, Kern TJ, 5th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 39-170.

Samuelson DA, 2014. Ophthalmic structures. In: *Essentials of veterinary ophthalmology*. Eds: Gelatt KN, 3th ed. New Jersey, USA, John Wiley & Sons, p. 12-39.

Sarchahi, A. A., Parizi, A. M., Eghtedari, M., & Keshavarz, S. (2011). Effect of different

- treatment regimen with dexamethasone and acetylcysteine on corneal wound healing in rabbits. *Iranian journal of medical sciences*, 36(3), 188.
- Severin, G.A. (1995). Cornea. In: Severin's Veterinary Ophthalmology Notes. CSU Press, Fort Collins, 3rd ed. pp 121-152.
- Scepankova, H., Combarros-Fuertes, P., Fresno, J. M., Tornadizo, M. E., Dias, M. S., Pinto, C. A., ... & Estevinho, L. M. (2021). Role of honey in advanced wound care. *Molecules*, 26(16), 4784. doi:10.3390/molecules26164784.
- Schuerer, N., Stein, E., Inic-Kanada, A., Ghasemian, E., Stojanovic, M., Montanaro, J., & Barisani-Asenbauer, T. (2018). Effects of chitosan and chitosan N-acetylcysteine solutions on conjunctival epithelial cells. *Journal of EuCornea*, 1(1), 12-18. doi: 10.1016/j.xjec.2018.04.002.
- Schultz, G., Chegini, N., Grant, M., et al. (1992a) Effects of growth factors on corneal wound healing. *Acta Ophthalmologica. Supplementum*, 202, 60–66. doi:10.1111/j.1755-3768.1992.tb02170.x
- Shaker, G. J., Ueda, S., LoCascio, J. A., & Aquavella, J. V. (1989). Effect of a collagen shield on cat corneal epithelial wound healing. *Investigative ophthalmology & visual science*, 30(7), 1565-1568.
- Sharma S. Antibiotic resistance in ocular bacterial pathogens. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2011, 29(3), 218. doi:10.4103/0255-0857.83903.
- Silva, M. M., Calado, R., Marto, J., Bettencourt, A., Almeida, A. J., & Gonçalves, L. M. (2017). Chitosan nanoparticles as a mucoadhesive drug delivery system for ocular administration. *Marine drugs*, 15(12), 370. doi:10.3390/md15120370
- Slatter, D. (1990). Cornea And Sclera. In: *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. W.B. Saunders, Philadelphia, pp 545-628.
- Sridhar, M. S. (2018). Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian journal of ophthalmology*, 66(2), 190-194. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17.

- Sugioka, K., Fukuda, K., Nishida, T., & Kusaka, S. (2021). The fibrinolytic system in the cornea: A key regulator of corneal wound healing and biological defense. *Experimental Eye Research*, 204, 108459. doi:10.1016/j.exer.2021.108459.
- Şaroğlu M. Kedi ve Köpeklerde Göz Hastalıkları. İstanbul, Nobel kitapevi, 2013, 85-117.
- Tani, E., Katakami, C., & Negi, A. (2002). Effects of various eye drops on corneal wound healing after superficial keratectomy in rabbits. *Japanese journal of ophthalmology*, 46(5), 488-495. doi:10.1016/S0021-5155(02)00541-5.
- Tonks A, Cooper RA, Price AJ, Molan PC, Jones KP: Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey. *Cytokine* 2001; 14:240–242. doi:10.1006/cyto.2001.0868
- Ubels JL, Edelhauser HF, Austin KH. A comparison of healing of corneal epithelial wounds stained with fluorescein or Richardson's stain. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 1982, 23(1), 127-131.
- Uwaydat, S., Jha, P., Tytarenko, R., Brown, H., Wiggins, M., Bora, P. S., & Bora, N. S. (2011). The use of topical honey in the treatment of corneal abrasions and endotoxin induced keratitis in an animal model. *Current eye research*, 36(9), 787-796. doi:10.3109/02713683.2010.544441.
- Vaidyanathan, U., Hopping, GC, Liu, HY, Somani, AN, Ronquillo, YC, Hoopes, PC, & Moshirfar, M. (2019). Kalıcı kornea epitel defektleri: bir derleme makalesi. *Tıbbi Hipotez, Oftalmolojide Keşif ve Yenilik*, 8 (3), 163.
- Van den Berg, A.J.; van den Worm, E.; van Ufford, H.C.; Halkes, S.B.; Hoekstra, M.J.; Beukelman, C.J. An in vitro examination of the antioxidant and anti-inflammatory properties of buckwheat honey. *J. Wound Care* 2008, 17, 172–178. doi:10.12968/jowc.2008.17.4.28839.
- Vit, P.; Rodriguez-Malaver, A.; Roubik, W.D.; Moreno, E.; Souza, B.M.; Sancho, M.T.; Fernández-Muiño, M.; Almeida-Anacleto, D.; Marchini, L.C.; Gil, F.; González, C.; Aguilera, G.; Nieves, B. Expanded parameters to assess the quality of honey from

Venezuelan bees (*Apis mellifera*). J. ApiProd. ApiMed. Sci. 2009, 1, 72–81.doi: 10.3896/IBRA.4.01.3.03.

Yaşar, Z. (2023). *Deneyisel Kornea Yarası Oluşturulan Tavşanlarda Quercetin ve E-Prp Uygulamalarının Yara İyileşmesine Etkisinin Klinik, Biyokimyasal Ve Histopatolojik Olarak Araştırılması*, Doktora Tezi, Afyon Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

Zheng, L. Y., & Zhu, J. F. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weight. *Carbohydrate Polymers*, 54(4), 527–530. doi:10.1016/j.carbpol.2003.07.009.

Wang, T., Zhu, X. K., Xue, X. T., & Wu, D. Y. (2012). Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings. *Carbohydrate polymers*, 88(1), 75-83. doi:10.1016/j.carbpol.2011.11.069.

William OR (2012). Evcil hayvanların fonksiyonel anatomisi ve fizyolojisi, Nobel Akademik Yayıncılık, s:140-155.

Wilson, S. E. (2020). Corneal wound healing. *Experimental eye research*, 197, 108089. doi:10.1016/j.exer.2020.108089.

Zhu, Y., Reinach, P. S., Zhu, H., Tan, Q., Zheng, Q., Qu, J., & Chen, W. (2017). High intensity corneal collagen crosslinking with riboflavin and UVA in rat cornea. *PLoS One*, 12(6), e0179580.doi:10.1371/journal.pone.0179580.

