

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KORNEA YANIĞINDA TOPIKAL İNFLİKSİMAB
VE TRİAMSİNOLON ASETONİDİN KORNEADAKİ MİF
DÜZEYLERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat KAYA

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER

ELAZIĞ

2010

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi Standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER

Doç. Dr. Tamer DEMİR

Doç. Dr. Orhan AYDEMİR

TEŞEKKÜR

İhtisasım boyunca iyi bir eğitim almamı sağlayan değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER, Sn. Doç. Dr. Tamer DEMİR, Sn. Doç. Dr. Orhan AYDEMİR, Sn. Yard. Doç. Dr. Burak TURGUT başta olmak üzere eğitimimde emeği geçen tüm öğretim üyelerine en içten teşekkürlerimi sunarım.

Özellikle tez çalışmama katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER'e, Sn. Doç. Dr. Nusret AKPOLAT, Sn. Doç. Dr. Süleyman S. KOCA'ya ve FÜBAP'a ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlık sürem boyunca birlikte çalıştığım asistan doktor arkadaşlarıma ve kliniğimiz personeline teşekkür ederim.

Ayrıca sıkıntılı zamanlarımda desteklerini esirgemeyen eşim, çocuğum ve aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Neovaskularizasyon saydam korneada görmeyi tehdit eden bir durumdur. Çalışmamızın amacı deneysel kornea yanığında farklı dozlardaki topikal infliksimabın etkisini topikal triamsinolon ile karşılaştırmaktır.

Her biri yedi Wistar albino rat içeren yedi grup oluşturuldu. Ratların sağ kornea santraline gümüş nitrat kalemi ile koterizasyon yapıldı. Grup I'deki kornealara koterizasyon ve tedavi uygulanmadı. Grup II'dekilere topikal salin, grup III'tekilere 4mg/ml triamsinolon damla verildi. Grup IV, grup V ve grup VI'daki ratlara sırasıyla 5, 10, 20 mg/kg infliksimab topikal olarak uygulandı. Tüm ratların sekizinci günde korneal fotoğraflar çekilip, yeni damarlar ile örtülü kornea yüzeyinin tüm kornea alanına yüzdesi ölçüldü ve dekapite edilerek korneaları alındı. Makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF) immün boyanması korneada semikantitatif olarak değerlendirildi.

Neovaskularizasyon alanlarının tüm korneaya yüzdesi, tedavi edilen tüm gruplarda sham grubundan ($p<0.05$) anlamlı olarak daha düşük saptanırken tedavi grupları arasında benzer idi. Grup III'teki epitel ve stromal MIF boyanma düzeyi, sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük bulunurken ($p<0.01$), bu grupta stromal MIF boyanması kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek tesbit edildi ($p<0.01$). Grup IV'te stromal MIF boyanması, sham grubuna göre anlamlı daha düşük ($p<0.05$) tesbit edilmişken epitel katında sham grubundan daha düşük boyanma tesbit edilmesine rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Topikal infliksimab ile tedavi edilen diğer gruplarda ise sham grubuna göre anlamlı olarak daha düşük epitel ve stromal MIF boyanması olduğu görüldü. Grup VI'da hem epitel hem de stromada grup IV ve V'ten anlamlı olarak daha düşük MIF boyanması görülürken, grup III ve kontrol gruplarına benzer boyanma olduğu tesbit edildi. Stromal MIF boyanması göz önüne alınınca tüm gruplar içerisinde sadece grup VI kontrol grubu ile benzer idi.

Sonuç olarak deneysel kimyasal yanık oluşturulan rat kornealarında neovaskularizasyonun önlenmesinde topikal triamsinolonun etkin olduğu görülmüş ve 10 mg dozunda topikal infliksimab etkisi buna benzer iken 20 mg dozundaki etkisinin triamsinolondan bile daha üstün olduğu tesbit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Deneysel kornea neovaskularizasyonu, infliksimab, MIF

ABSTRACT

**THE EFFECT OF TOPICAL INFlixIMAB AND TRIAMCINOLONE
ACETONIDE ON CORNEAL MIF LEVELS IN EXPERIMENTAL
CORNEAL CHEMICAL BURN**

Neovascularization in the transparent cornea is sight-threatening condition. The aim of this study is to compare the effects of different doses of infliximab with triamcinolone in experimental corneal chemical burn.

Seven groups which were contained seven Wistar albino rats were formed. The right corneas of rats were cauterized by a silver nitrat pencil. Corneas in group I were not cauterized and not given any treatment. Rats in group II were installed saline topically and group III were installed 4 mg/ml triamcinolone drops. In group IV, V and VI were administered topically infliximab 5, 10, 20 mg/ml respectively. Corneal photographs were taken at 8th day and the corneal surface covered with neovascular vessels was measured on the photographs as the percentage of the total area of the cornea and the animals were sacrificed on the 8th day and corneas were excised. Macrophage migration inhibitor factor (MIF) immunostaining was evaluated semicantitatively at the cornea.

The percentage of neovascularization area in all treated groups were smaller than sham group ($p < 0.05$) but were similar in each other. In group III, the epithelial and stromal MIF immunostaining intensity was smaller than sham group ($p < 0.01$) but the stromal staining was higher than control group ($p < 0.01$). In group IV, stromal staining was significant smaller than sham group ($p < 0.05$) but was not significant in the epithelial layer. In the other infliximab treated groups MIF immunostaining intensity were smaller at the epithelial and stromal layers than sham group. In group VI, epithelial and stromal MIF immunostaining were significant smaller than group IV and group V but were similar to group III and control group. The stromal staining was similar to control group only at the group VI in all treated groups.

In conclusion, in experimental corneal burn topically triamcinolone is effective to prevent corneal neovascularization and MIF immunostaining. The effect of topically 10 mg/ml infliximab is similar to triamcinolone whereas 20 mg/ml is most effective.

Key words: Corneal neovascularization, infliximab, MIF

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR	xiii
1.GİRİŞ	1
1. 1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1. 2. GENEL BİLGİLER	4
1. 2. 1. KORNEA ANATOMİSİ	4
1. 2. 1. 1. Makroskobik Anatomi	4
1. 2. 1. 2. Prekorneal Gözyaşı Film Tabakası	4
1. 2. 1. 3. Mikroskopik Anatomi	5
1. 2. 1. 3. 1. Epitel ve Bazal Membran	5
1. 2. 1. 3. 2. Bowman Zarı	7
1. 2. 1. 3. 3. Stroma	7
1. 2. 1. 3. 4. Descement Membranı	8
1. 2. 1. 3. 5. Endotel Tabakası	8
1. 2. 1. 4. Limbus	8
1. 2. 2. KORNEA EMBRİYOLOJİSİ	9
1. 2. 3. KORNEA FİZYOLOJİSİ	10
1. 2. 3. 1. Gözyaşı Fizyolojisi	10
1. 2. 2. 2. Epitel Fizyolojisi	10
1. 2. 2. 3. Endotel Fizyolojisi	11
1. 2. 4. KORNEA YARA İYİLEŞMESİ	12
1. 2. 4. 1. Epitel Yara İyileşmesi	12
1. 2. 4. 1. 1. Lag Fazı	12
1. 2. 4. 1. 2. Hücre Göçü	12

1. 2. 4. 1. 3. Hücre Çoğalması ve Farklılaşması	13
1. 2. 4. 2. Bazal Membran Yara İyileşmesi	13
1. 2. 2. 3. Epitel ve Yüzeyel Stromal Defekt	14
1. 2. 2. 4. Stroma Yara İyileşmesi	14
1. 2. 2. 5. Endotel Yara İyileşmesi	15
1. 2. 5. KORNEA YARA İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER	16
1. 2. 5. 1. Yaş	16
1. 2. 5. 2. Beslenme	16
1. 2. 5. 3. Travma	16
1. 2. 5. 4. Yara Apozisyonu	16
1. 2. 5. 5. İnfeksiyon	16
1. 2. 5. 6. Enflamasyon	16
1. 2. 5. 7. Duyusal İnnervasyon	17
1. 2. 5. 8. İntraoküler Basınç	17
1. 2. 5. 9. Gözyaşının Etkisi	17
1. 2. 5. 10. Vaskülarizasyon	17
1. 2. 5. 11. İlaçlar	18
1. 2. 5. 11. 1. Antibiyotikler	18
1. 2. 5. 11. 2. Kortikosteroidler	18
1. 2. 5. 11. 3. Lokal Anestezikler	18
1. 2. 5. 11. 4. Benzalkonyum Cl	18
1. 2. 5. 11. 5. Asetilkolin	18
1. 2. 5. 11. 6. Epinefrin	18
1. 2. 5. 11. 7. Antiviral İlaçlar	18
1. 2. 5. 12. Fibronektin	19
1. 2. 5. 13. İnterlökin-6	19
1. 2. 5. 14. Retinoik Asit	19
1. 2. 6. KORNEA YARA İYİLEŞMESİNDE ETKİLİ MEDYATÖRLER	20
1. 2. 6. 1. Büyüme Faktörleri	20
1. 2. 6. 1. 1. Epidermal Growth Faktör	20
1. 2. 6. 1. 2. Fibroblast Growth Faktör	20

1. 2. 6. 1. 3. Transforming Growth Faktör Alfa ve Beta	21
1. 2. 6. 1. 4. Keratinosit Growth Faktör	21
1. 2. 6. 1. 5. Hepatosit Growth Faktör	22
1. 2. 6. 1. 6. Platelet Derived Growth Faktör	22
1. 2. 6. 1. 7. Diğer Büyüme Faktörleri	23
1. 2. 7. KORNEA YARA İYİLEŞMESİNDE ENFLAMATUVAR SİTOKİNLERİN ROLÜ	23
1. 3. KORNEA NEOVASKÜLARİZASYONU	23
1. 3. 1. Epidemioloji	24
1. 3. 2. Kornea Neovaskülarizasyon Fazları	26
1. 3. 2. 1. Erken Prevasküler Faz	26
1. 3. 2. 2. Vasküler Tomurcuklanma Fazı	26
1. 3. 2. 3. Vasküler Matürasyon Fazı	28
1. 3. 3. Kornea Neovaskülarizasyonunu Uyaran Faktörler	28
1. 3. 3. 1. Tümör Nekrozis Faktör- α	28
1. 3. 3. 2. Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör	29
1. 3. 3. 3. Vasküler Endotelyal Growth Faktör	30
1. 3. 3. 4. Fibroblast Growth Faktör	30
1. 3. 3. 5. İnsülin Like Growth Faktör	31
1. 3. 3. 6. Anjiopoetin	31
1. 3. 3. 7. Matriks Metalloproteinazlar	31
1. 3. 4. Kornea Neovaskülarizasyonunu Engelleyen Faktörler	31
1. 3. 4. 1. Anjiostatin	31
1. 3. 4. 2. Endostatin	31
1. 3. 4. 3. Pigment Epiteli Derived Faktör	31
1. 3. 4. 4. Trombospondin-1	32
1. 4. TRİAMSİNOLON ASETONİD	32
1. 5. İNFLİKSİMAB	34
2. GEREÇ VE YÖNTEM	35
2. 1. Anestezi Tekniği	35
2. 2. Cerrahi Teknik	35
2. 3. Korneal Neovaskülarizasyonu Alanlarının Değerlendirilmesi	36

2. 4. Makrofaj Migrasyon İnhibitor Faktör İmmünohistokimyasal Boyanması	36
2. 5. Semikantitatif Değerlendirme (Skorlama)	37
2. 6. İstatistiksel Analiz	38
3. BULGULAR	39
4. TARTIŞMA	50
5. KAYNAKLAR	56
6. ÖZGEÇMİŞ	68

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Kornea Neovaskularizasyonuna Neden Olan Hastalıklar	25
Tablo 2. Anjiogenik ve Antianjiogenik Faktörler	27
Tablo 3. Triamsinolon Asetonidin Oftalmik Kullanımı	33
Tablo 4. Gruplardaki neovaskularizasyon alanlarının tüm kornea alanına yüzdelerinin ortalama ve standart sapma değerleri	39
Tablo 5. Gruplardaki epitel MIF immünohistokimyasal boyanmalarının ortalama ve standart sapma değerleri	40
Tablo 6. Gruplardaki stromal MIF immünohistokimyasal boyanma skorlarının ortalama ve standart sapma değerleri	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Korneanın mikroskopik anatomisi	5
Şekil 2. Kornea epitel kesiti	6
Şekil 3. Korneanın embriyolojik gelişimi	9
Şekil 4. Triamsinolonun kimyasal formülü	33
Şekil 5. Epitel ve stromada 1. derece boyanmanın şematize edilmesi	37
Şekil 6. Epitel ve stromada 2. derece boyanmanın şematize edilmesi	37
Şekil 7. Epitel ve stromada 3. derece boyanmanın şematize edilmesi	38
Şekil 8. Gruplardaki neovaskülarizasyon alanlarının tüm kornea alanına olan yüzdeleri.	39
Şekil 9. Gruplardaki epitel MIF immünohistokimyasal boyanma skorları	41
Şekil 10. Gruplardaki stromal MIF immünohistokimyasal boyanma skorları	42
Şekil 11. Kontrol grubundaki bir denekteki rat korneası	43
Şekil 12. Gümüş nitrat ile kimyasal yanık yapılan rat korneasının görünümü	43
Şekil 13. Sham grubunda olan bir denekteki totale yakın kornea neovaskülarizasyonu	44
Şekil 14. Triamsinolon (TA) grubunda olan bir denekteki santral korneal ödem ve yoğun kornea neovaskülarizasyonu	44
Şekil 15. İnfliksımab 5 mg (İnf 5) grubunda olan bir denekteki kısmi kornea neovaskülarizasyonu	45
Şekil 16. İnfliksımab 10 mg (İnf 10) grubunda olan bir denekteki kısmi kornea neovaskülarizasyonu	45
Şekil 17. İnfliksımab 20 mg (İnf 20) grubunda olan bir denekteki kısmi kornea neovaskülarizasyonu	46
Şekil 18. Kontrol grubundaki rat korneasının MIF immünohistokimyasal boyanması	46
Şekil 19. Sham grubunda yanık yapılan rat korneasının MIF immünohistokimyasal boyanması	47
Şekil 20. Triamsinolon (TA) grubundaki bir rat korneasının MIF immünohistokimyasal boyanması	47

Şekil 21. Topikal infliksimab 5 mg (İnf 5) tedavisi verilen bir rat korneasındaki MIF immünohistokimyasal boyanmasının görünümü	48
Şekil 22. Topikal infliksimab 10 mg (İnf 10) tedavisi verilen bir rat korneasındaki MIF immünohistokimyasal boyanmasının görünümü	48
Şekil 23. Topikal infliksimab 20 mg (İnf 20) tedavisi verilen bir rat korneasındaki MIF immünohistokimyasal boyanmasının görünümü	49

KISALTMALAR LİSTESİ

Ang	: Anjiopietin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
D	: Diyoptri
ECM	: Ekstraselüler matriks
EGF	: Epidermal growth faktör
FGF	: Fibroblast growth faktör beta
GMCSF	: Granülosit makrofaj koloni stimülan faktör
HGF	: Hepatosit growth faktör
IGF	: İnsulin-like growth faktör
KGF	: Keratonosit growth faktör
IL	: İnterlökin
MIF	: Makrofaj migration inhibitor faktor
MMP	: Matriks metalloproteinaz
Na/K ATPaz	: Sodyum potasyum ATPaz
Nd: YAG	: Neodymium: Yttrium Aliminium Garnet
NO	: Nitrik oksit
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
PDGF	: Platelet derived growth faktör
PG	: Prostaglandin
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
TGF-α	: Transforming growth faktör alfa
TGF-β	: Transforming growth faktör beta
TNF-α	: Tümör nekrotizan faktör alfa
Tsp	: Trombospondin
VEGF	: Vasküler endotelyal growth faktör
VEGF-R	: Vasküler endotelyal growth faktör reseptörü
μM	: Mikrometre

1. GİRİŞ

1. 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kornea; göz küresinin santral ön kısmında yer alan şeffaf, elastik ve kubbe şeklindeki dokudur. Primer optik eleman olmasının yanısıra sert yapısı nedeniyle göziçi dokuları hasara karşı koruyan bir bariyerdir. Gözün en önemli refraktif kısmını oluşturan korneanın, göze gelen ışığın toplanıp iletimi için saydam olması önemlidir. Saydamlığı stromadaki kollajen lamellerinin düzenli dizilimine, kısmi dehidratasyonuna ve limbusta zengin perikorneal kapiller pleksusa rağmen korneanın damarsız olmasına bağlıdır (1).

Kornea, lens, vitreus ve retina dış katlarının anatomik karakteristiği olan damarsız yapısı normal görme fonksiyonu için gereklidir. Kornea çeşitli minör enflamatuvar ve anjiogenik uyarana sürekli maruz kalmasına rağmen saydamlığını korur. Refraktif cerrahi gibi ciddi travmalara karşı bile vücuttaki diğer dokulardan farklı olarak damarsız kalmaya devam eder ve bu ‘korneal anjiogenik ayrıcalık’ olarak adlandırılır (2).

Gözün kimyasal yaralanmaları sonrası oküler yüzey epiteli, kornea ve ön segment dokularında hasar gelişerek kalıcı görme azalması meydana gelebilir. Kapsamlı laboratuvar ve klinik çalışmalar sonucu, temel onarım ve kimyasal hasarlı gözde ülser gelişmesi süreçleri daha iyi bilindiğinden bu travmaların olası sonuçlarını tahmin etmek, daha iyi medikal ve cerrahi tedavi stratejileri geliştirerek hasarın etkilerinin azaltılmasında önemlidir (3).

Kimyasal yanık, enfeksiyon, travma, kontakt lens kullanımı, immünolojik ve dejeneratif hastalıklar nedeniyle korneada yeni damarlanma olabilmektedir. Neovaskülarizasyon (NV), limbal kök hücre kaybı miktarı ile ilişkilidir ve tamamen kayıp durumunda ciddi yüzeysel pannus gelişerek oküler yüzeylerde konjunktivalizasyon ile sonuçlanır (3).

Kornea neovaskülarizasyonunda rol oynayan birçok faktör tespit edilmiştir. Korneada anjiogenik büyüme faktörlerinin salınması; inflamatuvar sitokinlerin ortaya çıkması ve hipoksi ile indüklenir. Bu faktörlerin bir kısmı kornea epitel, stroma ve endoteli tarafından üretilir (4). Gözyaşı ve aköz hümör de anjiogenik faktörler için

kaynak olabilmektedir (5). Bazı faktörler ise lokal ve sistemik dolaşımdan korneaya gelerek neovaskülarizasyona neden olmaktadır.

Kimyasal yanık oluşturulan korneada açığa çıkan faktörlerden biri proinflamatuvar sitokin olan TNF- α 'dır. İnflamatuvar uyarı ile kornea epiteli ve inflamatuvar hücrelerden bol miktarda TNF- α sentezlenir (6). TNF- α , NO sentezinde rol alarak anjiogenezin erken dönemlerinde vazodilatasyona yol açar (7). TNF- α ayrıca MIF salınımını regüle ederken VEGF, FGF ve TGF üretimini artırarak neovaskülarizasyonu artırır (8).

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF), T lenfosit ve makrofajlardan salınan ve inflamasyonda anahtar rolü olan potent pro-inflamatuvar sitokindir (9). MIF, enflamasyonun erken dönemlerinde TNF- α uyarısı ile bol miktarda eksprese edilirken aynı zamanda TNF- α salgılanmasını up-regüle eder. İnflamatuvar korneal neovaskülarizasyonda anjiogenik rolü vardır. Korneal neovaskülarizasyonun supresyonu için terapötik hedef olabilir (10).

Kornea neovaskülarizasyonunun tedavisi için birçok tedavi şekli denenmiştir. Argon ve Nd:YAG lazer kullanılarak yeni oluşan damarlarda oklüzyon ile vaskülarizasyonu geriletme hedeflenmiştir (11,12). Diğer bir lazer uygulaması da verteporfin ile fotodinamik tedavidir. Uygulanan diod lazer enerjisi ile sitotoksik serbest oksijen radikalleri üretilir. Bu radikaller endotel hücrelerinde hasara ve trombus oluşumu ile damar oklüzyonuna neden olur (13). Bu yöntem pahalı ekipmanlar gerektirdiği için her klinikte uygulanamamaktadır.

Araşidonik asit (AA) metabolitlerinin korneal NV patojenezinde önemli rolleri vardır (14). Prostaglandinler, özellikle E serisi neovasküler cevabın potent uyarıcısıdır (15). Lökotrienler, lökosit göçünü stimüle ederek korneal NV'a neden olurlar (16). Steroidler; araşidonik asit metabolitlerinin oluşumunu ve TNF- α , IL-1, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinleri inhibe ederek ve ayrıca IL-10 düzeyini artırarak antiinflamatuvar etki gösterirler (14). Bu nedenle neovaskülarizasyonun medikal tedavi yöntemlerinin başında kortikosteroidler gelmektedir.

Triamsinolon asetonid (TA), oftalmolojide daha çok perioküler ve intravitreal olarak kullanılan orta etkili kortikosteroiddir. TA, IL-6 ve VEGF aracılı korneal neovaskülarizasyonu bloke eder (17). Ayrıca endostatin seviyelerini artırarak neovaskülarizasyonda antianjiogenik etki gösterir (18). TA, topikal olarak ratlarda

gümüş nitrat ile koterizasyon sonrası oluşan neovaskülarizasyonu anlamlı derecede azaltır (19).

Topikal steroidin uzamış kullanımı; mikrobiyal keratitlere, duyarlı bireylerde açık açılı glokoma ve katarakt oluşumuna neden olabilmektedir (20). Bu yüzden neovaskülarizasyonun geriletilmesi için siklosporin-A, somatostatin analogu oktreotid, plazminojen fragmanı, propolis, suleparoid (heparan sulfat), talidomid, suramin, genistein, rapamisin, anjiostatin, metotreksat, bevacizumab, tacrolimus ve trastuzumab gibi birçok madde denenmiştir (21-35). Bütün bu çabalara rağmen kornea neovaskülarizasyonunun önlenmesi halen önemli bir problemdir.

İnfliksimab; TNF- α 'ya yüksek affinite ile bağlanan insan murin monoklonal antikorudur. Tedaviye refrakter üveit, Behçet hastalığı ile ilgili panüveitlerde, RA, psöriazis, sistemik vaskülitler, sarkoidoz ve Chron Hastalığında intravenöz infüzyon şeklinde kullanılır. TNF- α blokajına bağlı olarak enflamatuvar mediatörlerin serum düzeylerini azaltır, lenfosit göçünü engeller ve VEGF düzeylerini düşürür (36). TNF- α inhibisyonu farelerde iskemik retinopatide patolojik neovaskülarizasyonu azaltır (37). Dirençli korneal inflamatuvar hastalıklarda intravenöz infliksimab ile başarılı sonuçlar alındığını bildiren sınırlı sayıda olgu sunumları olmakla birlikte literatürde korneal yanık ve neovaskülarizasyonda topikal infliksimab tedavisini değerlendiren herhangi bir çalışma mevcut değildir.

Çalışmamızın amacı; deneysel kornea yanığında farklı dozlarda topikal infliksimab ile etkinliği gösterilmiş topikal triamsinolon asetonid tedavisini karşılaştırmak. İnfliksimabın hangi dozda ne kadar etkin olduğunu daha ayrıntılı değerlendirebilmek için denek kornealarını, inflamasyon ve neovaskülarizasyon açısından biomikroskopik ve MIF düzeylerini ise immünohistokimyasal olarak kontrol ve triamsinolon grubuyla karşılaştırmayı planladık. Deney sonuçlarımız olumlu olduğu takdirde çalışmamız, önemli görme kaybı sebeplerinden olan korneal yanık ve neovaskülarizasyonunun tedavisinde etkinliği kanıtlanmış kortikosteroidlere alternatif ve daha az yan etkiye sahip olabilecek yeni seçenekler sunacaktır.

1. 2. GENEL BİLGİLER

1. 2. 1. KORNEA ANATOMİSİ

1. 2. 1. 1. Makroskopik Anatomi

Kornea, üzerini örten gözyaşı film tabakasıyla birlikte düzgün kırıcı ortam oluşturur, gözü enfeksiyon ve yapısal hasara karşı korur. Saydam ve damarsız yapıda olup periferde kalınlaşarak sklera ile devamlılık gösterir. Sferik yapıda olmakla birlikte, periferi skleraya gömülmüş olduğu için öne doğru hafif eliptik özellik gösterir. Kornea gözün en önemli refraktif kısmını oluşturur. Refraktif güç önde +48.8 Dioptri (D), arka yüzde ise -5.8 D olup net kırma gücü +43 D'dir. Bu da gözün toplam refraktif gücünün % 70'ini oluşturmaktadır (38). Kornea, vertikal 10.5 milimetre, horizontal 11.5 milimetre çapında olup, santral 4 milimetrelik alanda hemen hemen sferiktir, ön-arka yüzler birbirine paraleldir ve kalınlığı 0.52 milimetre kadardır. Periferde ise arka yüzeyin eğrilik artışına paralel olarak 1.0 milimetre kalınlığa ulaşır. Kornea kurvatürü yeni doğanlarda ve çocuklarda erişkine oranla daha büyük olup, doğum sonrası ilk aylarda düzleşme gerçekleşmektedir. Düzleşme ilk birkaç ayda çok belirgindir ancak daha sonra yavaşça azalır. Yaklaşık 6 yaş civarında korneal gelişim tamamlanır. Korneanın ön eğrilik çapı (konveks) 7.8 milimetre, arka eğrilik çapı (konkav) ise 6.2-6.8 milimetre kadardır. (39).

1. 2. 1. 2. Prekorneal Gözyaşı Film Tabakası

Kornea yüzeyi, üç tabakadan oluşan 7 µm kalınlığında, optik olarak önemli ön yüzeydeki mikro düzensizlikleri ortadan kaldıran gözyaşı film tabakası ile kaplıdır. Bu tabakalar;

a. Meibomian, Zeis (sebase yapıda) ve Moll (ter bezi yapısında) bezlerince salgılanan hidrofobik ön lipid tabaka.

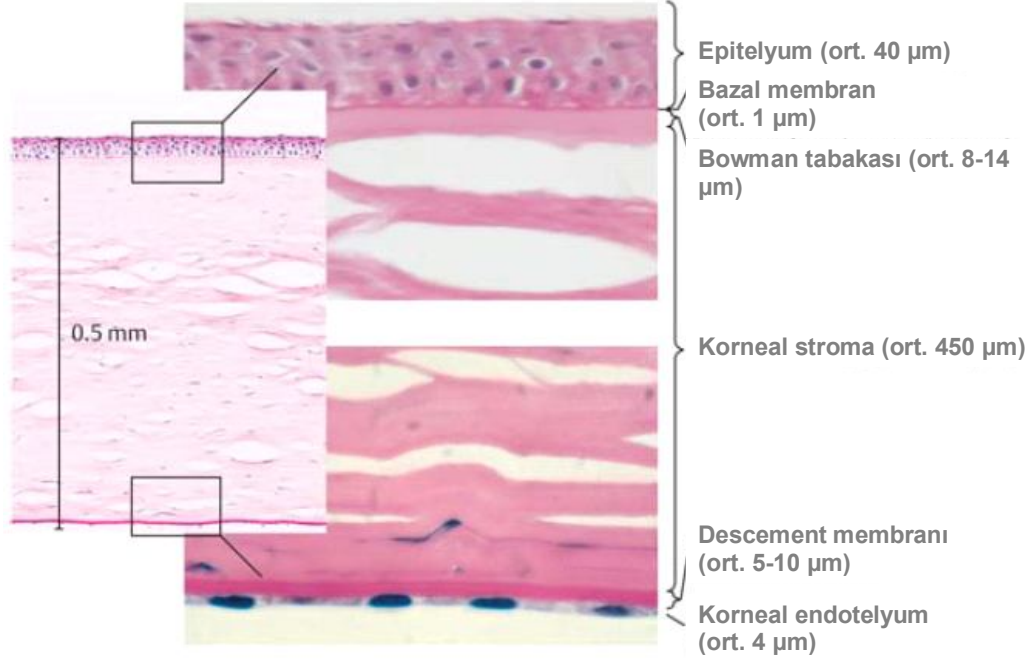
b. Aksesuar lakrimal bezler (Krause, Wolfring ve Manz bezleri) ve ana lakrimal bez tarafından salgılanan hidrofilik aköz tabaka.

c. Başlıca Goblet hücrelerince ve Manz bezlerince salgılanan müsin tabaka.

Gözyaşı-hava ara yüzeyi alttaki kornea ile birlikte gözün toplam kırıcılığının üçte ikisine sahiptir.

1. 2. 1. 3. Mikroskopik Anatomi

Kornea epitel, Bowman zarı, stroma, Descemet membranı ve endotelden oluşan 5 katlı bir yapıya sahiptir, normal şartlarda kan ve lenf damarları içermez (39) (Şekil 1).

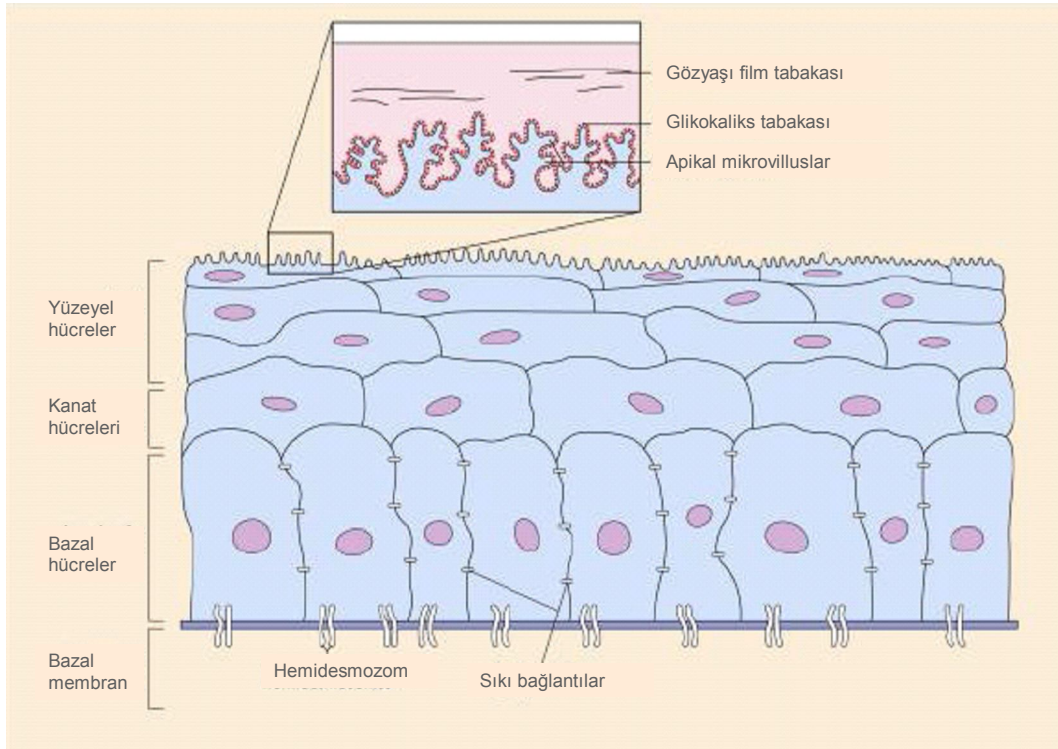


Şekil 1. Korneanın mikroskopik anatomisi
(Lang. Ophthalmology. Stuttgart - New York: Thieme, 2000: 118)

1. 2. 1. 3. 1. Epitel ve Bazal Membran

Kornea epiteli, çok katlı non-keratinize yapıda olup, 123 mm^2 genişliğiyle tartışmasız en özelleşmiş vücut yüzeyidir, kalınlığı ortalama 50-80 mikrometre olup üç tabakadan meydana gelmektedir. Bunlar tek katlı bazal epitelyal, iki-üç katlı kanat ve iki katlı yüzeyel yassı hücre şeklinde sıralanmışlardır (39). Santralde 5-6 kat hücre varken hücre sayısı periferde doğru 8-10 kata kadar artar. Bazalde tek katlı silindirik hücre tabakası altındaki bazal membrana hemidesmozomlarla tutunmuştur. Bazal membran gerçek bir membran yapısındadır ve PAS (+) boyanır. Yapısında tip IV kollajen, laminin, fibronektin ve fibrin bulunur. Lamina lucida denen gevşek ön ve Lamina densa olarak adlandırılan daha sıkı arka iki zondan oluşmuştur. Rejenerasyon yeteneği olmayan bazal membran epitel için yapısal destek görevi görür ve epitel hücrelerini stromadan ayırır. Yokluğunda epitel hücreleri stromaya invaze olur. Normalde korneanın yüzeyel epitel hücreleri devamlı dökülmekte ve dökülen bu hücrelerin yerine bazal epitel hücrelerinden mitozisle çoğalan hücrelerin gelmektedir.

Göç aynı zamanda periferden kornea merkezine doğru olmaktadır. Bazal hücreler basit dizilimli olup oval nükleusludurlar ve mitotik aktiviteleri vardır. Mitoz gösteren bazal hücreler yüzeye doğru ilerlerken yavaş yavaş farklılaşır, çekirdekleri küçülür, organellerini yitirir ve nihayet dejenere olup kornea yüzeyinden dökülürler. Bu süreç her 7 günde tüm epitelin yenilenmesiyle sonuçlanır (40). Bazal kolumnar epitelden sonra 2-3 kat poligonal hücelere rastlanır. Yanlara doğru kanatsız uzantıları olan bu hücreler kanat hücreleri olarak da anılır. Yüzeye yaklaştıkça hücreler inceliyor ve yassılaşıyor uzantılarını kaybeder ve yüzeysel yassı hücelere dönüşür. Gözyaşıyla temasta olan bu hücrelerin apikal yüzleri, mikrovilli ve mikropiklikalar ile girintili çıkıntılı bir yüzey oluşturur. Bu çıkıntılara gözyaşı müsin tabakasının glikokaliksleri tutunur. Bunun sonucunda düzgün dengeli bir optik yüzey ve bakteriyel olaylara karşı bir bariyer oluşur. Yüzey epitel hücreleri arasında zonula okludens, yüzey epitel hücreleri ile kanat hücreleri arasında makula okludens, bazal epitel hücreleri ile bazal membran arasında ise hemidesmozom bağlantıları bulunmaktadır (40) (şekil 2).



Şekil 2. Kornea epitel kesiti
(Yanoff & Duker. Ophthalmology. 3. baskı, Elsevier, 2008.)

Zonula okludenslerin yüzey hücrelerinin etrafını tamamen çevrelemesi sayesinde kornea yüzeyi suya ve elektrolitlere geçirgenliği çok az olan yarı geçirgen bir membran gibi davranır (40). Epitel tabakasının periferik kısımlarında histiyositler, makrofajlar, lenfositler, melanositler ve immünolojik özelliği olan Langerhans hücreleri bulunabilmektedir. Epitelde bulunan miyelinsiz sinir lifi ağı genelde bazal hücreler arasında yer alır ve kanat hücreleri arasında seyrek olarak bulunur (39).

1. 2. 1. 3. 2. Bowman Zarı

Hücre içermeyen, elastik ve kollajen fibrillerin yoğunlaşmasıyla oluşan bu tabaka 8-14 mikrometre kalınlığındadır. Tip I ve V kollajen ile bunların arasını dolduran Tip VI kollajen filamanları ve proteoglikanlardan oluşmuştur. Epitele uzanan miyelinsiz sinir lifleri için kanallar içerir. Descement membranının aksine travmatize olduğunda rejenera olmaz ve skar dokusu ile iyileşir. Epitel ile stroma arasında önemli bir bariyer oluşturmaktadır. Bowman tabakasının yapısı ve kalınlığı yaşam boyu değişmez. (39).

1. 2. 1. 3. 3. Stroma Tabakası

Kornea kalınlığının %90'ını oluşturur ve yaklaşık 500µm kalınlığa sahiptir. Büyük oranda kollajen fibriller, stromal hücreler ve matriks yapısından oluşur. Stroma yaklaşık %76 oranında su içermektedir. Kuru ağırlığının %80'i kollajen fibrillerden, %15'i matriksten, %5'i hücresel elementlerden oluşmaktadır (41).

Kollajen lifler büyük oranda Tip I ve az miktarda Tip III, IV, V kollajenden oluşur. Kollajen lifler uniform yapıda olup 300 angström çapındadır ve lameller oluşturmuş halde stromanın her tarafında bulunur. Glikozaminoglikan ve proteoglikan yapıda olan ara madde %60 oranda keratan-sülfat ve %40 oranda kondroitin-sülfattan oluşmuştur. Kollajen lameller arasında bulunan matriks, fibriller arası mesafeyi koruyarak düzenli bir yapının devamını ve korneanın saydamlığını sağlar. Korneanın fonksiyonel bütünlüğü, kalınlığı, şeffaflığı stromal elemanların yapımı ve yıkımı arasındaki dengenin korunmasına bağlıdır. Ekstrasellüler matriks (ECM) yıkımı temel olarak matriks metalloproteinazlar (MMP) ile olur. Endotelin disfonksiyonu nedeniyle stromaya su geçmesi durumunda glikozaminoglikanların su çekip şişmesi ile kornea kalınlığı artar ve kollajen fibrillerinin dizilimi düzensiz hal olarak stromal opaklaşma ortaya çıkar. (41). Embriyonik olarak nöral krestten köken

alan stroma hücreleri keratositlerdir. Keratositler kollajen lameller arasında yerleşmişlerdir. Sitoplazmalarında mikroorganeller, mikrotübüller, lizozomlar, lipit partikülleri ve değişik inklüzyon cisimcikleri bulunur. Normal koşullarda yavaş ama sürekli bir sentetik aktivite ile ECM'nin idamesini sağlayan bu hücreler, akut ödem veya yaralanma sonrasında fibroblast haline gelebilirler. Stromada ayrıca az sayıda polimorfonükleer lökositler (PMNL), plazma hücreleri ve makrofajlarda bulunmaktadır.

1. 2. 1. 3. 4. Descement Membranı

Endotel bazal membranı gerçek membran yapısındadır. Doğumda 3-4 mikrometre kalınlıktadır ve erişkinde 10-12 mikrometre kalınlığa ulaşır. İntrauterin gelişen anterior çizgili zon ve yaşam boyu endotel tarafından desteklenen posterior çizgisiz zon olmak üzere iki kısımdır. Çizgisiz zon başlıca bazal membran bileşenleri olan tip IV kollajen, laminin, fibronektinden oluşmuştur ve periferde Schwalbe çizgisi ile sonlanır. Descement membranı proteolitik enzimlere karşı oldukça dirençlidir ve ağır keratitlerde bile sağlam kalabilir. Ancak stromaya gevşek olarak tutunduğu ve göz içi basıncının yardımıyla stromaya yapışık kaldığı gösterilmiştir. Travma nedeniyle bu membran stromadan kolaylıkla sıyrılabilir ve zedelenme durumunda endotel tarafından salgılanarak onarılmaktadır (41).

1. 2. 1. 3. 5. Endotel Tabakası

Nöroektodermal kökenli, mikrovili içeren heksagonal hücrelerden kurulu tek katlı tabaka halindedir, tipik olarak daha genç hücrelerde büyük bir nükleusa ve çok sayıda mitokondriye rastlanır. Bu organeller aktif transportta ve stromanın su kapsamında önemli rol oynarlar. Endotel hücre sayısı yaşla birlikte azalır, mitoza nadiren rastlanır. Fonksiyonlarını yitirmeleri durumunda, stromal hidrasyon artarak, ödem, kalınlık artışı ve opasifikasyon gelişmektedir (42). Doğumda 5000 hücre/mm² iken erişkinde bu sayı 2500 hücre/mm² civarında olup, 800 hücre/mm² altına indiğinde korneal fonksiyonlar bozulmaya başlar. Stres altında veya stabil olmayan kornea endotel hücrelerinde büyüme ve şekil değişikliği olan polimegatizm gözlenmektedir.

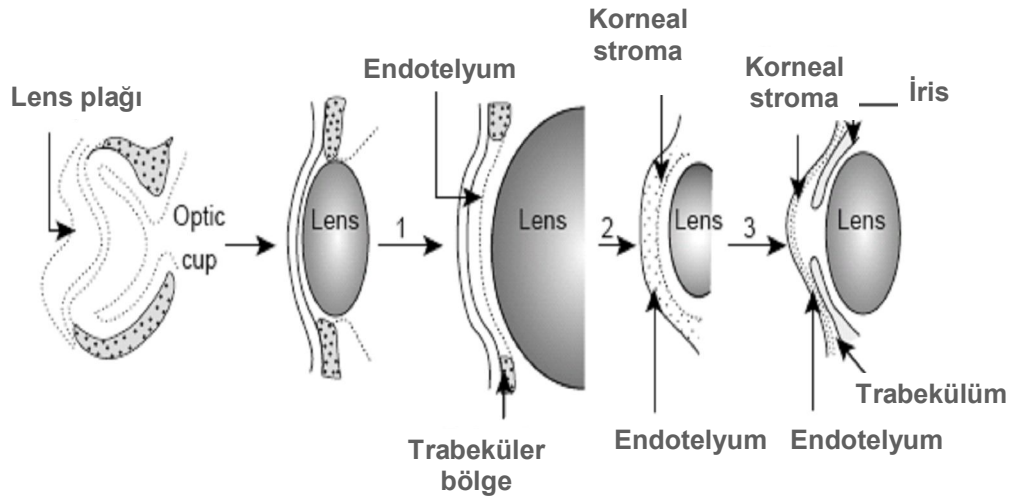
1. 2. 1. 4. Limbus

Limbus, kornea ile sklera arasındaki geçiş zonudur. Limbustaki yapılar konjonktiva, tenon kapsülü, episklera, korneoskleral stroma ve aköz dışı akım

aparatu olarak sayılabilir. Anatomik olarak Bowman ve Descement tabakalarının sonlandığı yerlerden geçen düzlem ile arkada Schlemm kanalı ile sınırlanan 1-1.5 milimetrelilik alanı kapsar ve korneoskleral bileşke olarak adlandırılır. Limbusta epitel 10-12 katlıdır ve burada melanosit, Langerhans hücreleri, kan damarları bulunur. Bazal epitel hücreleri kök hücrelerinin çok yavaş bölünmesiyle oluşur. Kornea epiteli kök hücrelerinin, limbal epitel hücrelerin bazal tabakasında bulunduğu bildirilmektedir. Kök hücrelerinin aktif metabolizmalarının olduğunu düşünülmektedir. Konjunktivanın aksine goblet hücrelerine rastlanmaz. Limbal kök hücreler önemli miktarda hasarlanırsa kornea epitelinin yerini hızla konjunktiva ve kan damarları alır (konjunktivalizasyon) (43).

1. 2. 2. KORNEA EMBRİYOLOJİSİ

Intrauterin dönemin beşinci haftasında; epitel ve endotel hücreleri nöral krest orijinli olup yüzey ektoderminden gelişirken, 13. haftasında; Descement membranı yassılaştırmış endotel hücrelerinden gelişir. Mezodermden gelişen stroma, intrauterin altıncı haftanın sonunda oluşmaya başlar ve dördüncü ayda epitel altında yoğunlaşarak Bowman tabakasını oluşturur (44).



Şekil 3. Korneanın embriyolojik gelişimi
(Easty DL, Sparrow JM. Oxford Textbook of Ophthalmology.
Oxford: Oxford University Press, 1999.)

Kornea ve ön kamara 6. hafta sonunda (embriyo yaklaşık 17-18 mm iken) gelişmeye başlar. 6. haftaya kadar yüzey epiteli ile lens ön yüzü arasındaki boşluk iyi organize olmamış mezenkimal doku ile doludur. 6. hafta sonunda mezoderm içinde

dar bir şerit halinde beliren boşluk genişlemeye başlar ve mezodermi, korneal stromayı oluşturacak olan ön tabaka ve iris stromasını oluşturacak olan arka tabaka olmak üzere ikiye ayırır. Aradaki boşluk ise ön kamarayı oluşturur. Descement endoteli, ön kamara belirdikten hemen sonra şekillenmeye başlar. Korneoskleral açıdan itibaren iç yüzey boyunca gelişen nöroektodermal kökenli hücreler, arka yüzeyi örten yassı endotel hücrelerine dönüşürler ve endotel ön yüzüne hyalen membran salgırlar (44).

1. 2. 3. KORNEA FİZYOLOJİSİ

1. 2. 3. 1. Gözyaşı Fizyolojisi

Normal korneal fonksiyonlar için gözyaşı yaşamsal önem taşır. Normal salınım 0.9-2.2 µl /dak kadardır. Lipid tabaka; hidrofobik yapısıyla buharlaşmayı önler, lubrikan özellik taşır, gözyaşı menisküsünün kapak dışına taşımını önler. Aköz orta tabakanın %98 'ini su oluşturur, %2'si ise solid kısımdır. İçerdiği Na⁺ ve HCO₃ miktarı serum ile aynı, K⁺ ve Cl⁻ ise daha yüksektir. Glukoz içeriği çok düşüktür buna karşılık yüksek miktarda protein içerir (7 mg/ml). Salgısal Ig A, Ig G ve Ig E gibi immünglobülinler ile beraber içeriğindeki muramidaz etkisi gösteren lizozimler ile lizis etkisi yaratan laktoferrin (Fe⁺⁺ bağlar) sayesinde Fe⁺⁺ bağımlı B.subtilis, S.aureus ve epidermidis, P.aeuroginosa gibi mikroorganizmalar için bakteriostatik etki gösterir. Aköz tabaka avasküler korneanın oksijen ve besin gereksiniminden sorumludur. Müsinöz tabaka ise yüzey gerilimini düşürerek aköz tabakanın kornea ve konjonktiva üzerinde üniform yayılımını sağlar (45).

1. 2. 3. 2. Epitel Fizyolojisi

Kornea aköz hümör ile birlikte yaklaşık +43 D lik bir kırma gücüne sahiptir ve gözün ana refraktif elemanıdır. Kornea epitel hücreleri lipid geçirgen özelliktedir. Epitel ve endotel hücreleri gerek mekanik bariyer, gerekse sıvı ve iyon dengesinin sağlanmasıyla, korneanın korunmasında önemli görevlere sahiptirler. Korneada keratosit, endotel ve epitel hücreleri metabolik olarak aktif olup, canlılıklarını devam ettirmek için enerjiye ve oksijene ihtiyaç duyarlar. Kornea epitel hücreleri metabolik olarak en aktif hücrelerdir. Epitel tabakasına oksijen, gözyaşı yoluyla diffüzyonla sağlanırken, göz kapalı durumda iken limbal ve tarsal konjonktiva damarları aracılığı ile sağlanır (46). Aminoasit ve vitamin desteği, aköz hümörden sağlanır. Epitel

hücrelerinde, glikoz ve glikojen başlıca enerji kaynağını oluştururlar. Glikoz çoğunlukla aköz hümörden elde edilmekle beraber, % 10 veya daha azı limbal damarlar veya gözyaşından da sağlanabilir. Glikojen depolama özelliğine sahip olan epitel hücreleri, hipoksi ve travma gibi durumlarda bu kaynağı kullanabilmektedirler. Epitel tabakası yağda çözünür, stroma ve endotel ise suda çözünür. Aköz hümörde pO_2 artışı, stroma ve bazal epitel hücrelerinde pO_2 artışı ile sonuçlanır ancak yüzey epitelde değişiklik görülmez. Bu da aköz hümörün kornea epitelinin oksijen gereksinimini karşılayamadığını gösterir. İn vivo olarak endotel, normal pompa fonksiyonu için yeterli O_2 desteğini aköz hümörden alır (47). Epitel hücreleri, aralarında bulunan sıkı bağlantılar nedeniyle, iyon geçirgenliğine en fazla direnç gösteren hücrelerdir. Bu özellikleriyle, stromanın su dengesine katkıda bulunurlar (48).

1. 2. 3. 3. Endotel Fizyolojisi

Endotel hücrelerinin ana enerji kaynağı aköz den sağlanan glikozdur. Aktiviteleri için anerobik, daha az olarak da aerobik yolları kullanırlar. Endotel hücrelerinin en önemli görevi, korneanın şeffaf ve saydam kalmasını sağlamaktır. Bunu yaparken hem aktif bir pompa gibi çalışır, hem de mekanik bir bariyer teşkil ederler. Endotel hücreleri normal pompa fonksiyonu için gerekli oksijeni aköz hümörden sağlarlar. Kornea endoteli dehidratasyon görevini yaptığı sürece, stromanın su içeriği % 78 ve kalınlığı 550 μm civarında kalarak normal fonksiyonlarını sürdürür. Endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar bariyer görevi görürler. Endotel tabakası metabolik aktivitesini stromadan aköz hümöre su pompalamak üzere gerçekleştirir. Aköz hümör (-) yüklüdür. Korneal pompanın dört ana komponenti vardır:

1. Aköz yüzeyde Na^+ / K^+ iyon pompası
2. Lateral yüzlerde Na^+ / H^+ iyon pompası,
3. K^+, Cl^- ve HCO_3^- in aköz hümöre pasif difüzyonu,
4. Karbonik anhidraz sisteminin ürettiği H^+ ve HCO_3^- .

Net su akımı için Na^+ , K^+ veya H^+ konsantrasyon gradientinin gerçekleşmesi gereklidir. Bu pompalarla gerekli gradient sağlanır. Endotel hücrelerin dış kenarlarına lokalize olan sodyum-potasyum-adenozintrifosfataz pompa sistemi ile su ve elektrolitler dengelenerek, aynı seviyede tutulur. Bu pompa, enerji harcayarak

sodyumun hücre dışına çıkmasını sağlar, bunu suyun hücreyi terk etmesi izler. Böylece kornea stromasından ön kamaraya doğru devamlı sıvı geçişi olurken, korneanın şeffaflığı korunur. Korneadan ön kamaraya geçen sıvının geri dönmesi, endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ile önlenmektedir. Hekzagonal yapıda olan endotel hücreleri, sıvı regülasyonu için ideal dizilimi oluşturmaktadır. Bu geometrik düzen maksimum sayıda hücre ve maksimum sayıda pompa yoğunluğunu temin etmektedir. Korneanın şeffaflığının korunması, endotel hücrelerinin etkin fonksiyonlarının yanı sıra, korneada damarsal yapıların bulunmamasına, sinir liflerinin miyelinsiz olmasına ve stroma tabakasındaki kollajen lamellerin düzenli dizilimine de bağlıdır (49).

1. 2. 4. KORNEA YARA İYİLEŞMESİ

Kornea gözün en önemli refraktif kısmı olduğu için mekanik, kimyasal, enflamatuar cevap korneanın optik performansını etkileyecektir. Bu nedenle herhangi bir travma sonrası stabil görmeye ulaşmak amacıyla kornea yara iyileşmesinde bir takım mekanizmalar söz konusudur. Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri, sitokinler ve ECM proteinleri etkileşim içerisindedirler. Korneada farklı tabakalarda farklı mekanizmalarla yara iyileşmesi gerçekleşir.

1. 2. 4. 1. Epitel Yara İyileşmesi

Epitel yara iyileşmesinde birçok hücresel yapının ve sinyal moleküllerinin karşılıklı etkileşimi söz konusudur. Hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimi kornea epitel yapısının devamında önemli rol oynar. Kornea epitel yara iyileşmesi birbirinin üzerine binen üç faza bölünebilir (50). Birinci fazda hemidesmozomlar kaybolur ve “fokal temas” denen geçici yapışkanlık kompleksi gerçekleştirilir. Bu faz süresince epitel hücreleri düzleşir ve yara kenarını koruyan bir kalkan halini alır. Bu faz proliferasyondan bağımsızdır. İkinci fazda proliferasyon ve farklılaşma söz konusudur. Üçüncü fazda hemidesmozomlar oluşturulur ve ECM sentezi ve yeniden yapılanması gerçekleştirilir. Bu basamakları epitel hücrelerinin metabolizmalarını arttırdıkları lag fazını takip eder.

1. 2. 4. 1. 1. Lag Fazı: Yaralanmanın ardından hücre göçünün başlamasına kadar geçen süre lag fazı olarak adlandırılır. Bu faz büyük ölçüde hücre organizasyon ve protein sentezi ile ilişkilidir. Vinkulin, aktin, talin ve integrin gibi sitoskeletal proteinler ile hyaluronan, reseptör CD44 gibi diğer hücre yüzey

proteinleri sentez edilir (51). Bu proteinler yara iyileşmesi tamamlandıktan sonra başlayan hemidesmozomların yeniden sentezine dek, epitelin bazal membrana tutunmasını sağlar. Bunların yanında hücre yüzey glioproteinleri ve glikolipitleri de sentezlenir.

1. 2. 4. 1. 2. Hücre Göçü: Lag fazı tamamlandığında oküler yüzey epitelini yeniden tesis etmek için yaraya komşu hücreler göçe başlar. Normalde limbal kök hücrelerden köken alan bazal hücrelerin santrale doğru göç hızı haftada 120 mikrometre kadardır. Ancak yaralanmadan yaklaşık 5 saat sonra hücreler çeşitli yönlerden yara merkezinde buluşmak üzere saatte 60-80 mikrometre hızla göç eder. Hücrelerin göçü intrastoplazmik aktin-miyozin kontraksiyonu ile oluşan ameboid hareketlerle gerçekleşir. Defekt tek hücre katıyla örtüldükten sonra mitozla normal epitel kalınlığı sağlanır. Zedelenmeden 3 saat sonra rejenere olan epitel uçlarında ve bazal laminada PMNL'ler belirir ve 36 saat kadar kalır, daha sonra giderek azalır kaybolurlar. Büyük defektlerde onarıma konjonktiva epiteli de katılabilir. Kornea epiteli, abrazyonu 1-4 gün içinde örterken, konjonktiva epiteliyle iyileşme 1-2 hafta veya daha uzun zaman gerektirir (52).

1. 2. 4. 1. 3. Hücre Çoğalması ve Farklılaşması: Hücrelerin göçünden sonra hücre çoğalması gerçekleşir. Santral epitel defekti sırasında, periferik limbal hücreler santrale doğru göç ederek, kornea epitelinin devamlılığını sağlar. Bunlar en yüksek mitoz hızına sahip hücrelerdir. Epitel iyileşmesi sırasında bazal hücrelerle limbal kök hücreler arasında bir denge bulunmaktadır. Bu görüş Thoft'un "X,Y,Z" hipotezi ile ortaya konmuştur. X; bazal epitel hücre çoğalmasını, Y; limbal hücre çoğalmasını ve santrale göçünü, Z; yüzeyden epitel hücre kaybını yansıtmak üzere denge konumunda $X+Y=Z$ olmalıdır. Kornea epitel debridmanı hücre çoğalmasını limbal hücrelerde 4.5, korneanın periferik hücrelerinde ise 3.2 kat artırır. (53).

1. 2. 4. 2. Bazal Membran Yara İyileşmesi:

Debridman sonrası açığa çıkan bazal membrana enflamatuar hücreler (PMNL'ler) bağlanır. Bu durum bazal membranı sindirebilen proteazların salınmasına neden olur. Kornea yaralanmasından sonra proteaz içerdiği için gözyaşının da rolü vardır. Ek olarak kornea epitel hücreleri de bazal membranı sindirme yeteneğine sahip metalloproteinazlar salar (54). Bazal membranın proteaz

sindirimi sonrasında yapısı ve fonksiyonu değişir. Bazal membranın parçalanması, yeniden epitelizasyonu birkaç biçimde etkiler:

a- Stromal ECM ile epitel hücrelerinin etkileşime girebilmesi. Bu durum göç eden endotel hücrelerinde yeni integrin ifadesi ve aktivasyonunu indükler.

b-Göç eden epitel hücrelerinin intraselüler sinyallerini düzenler. Yaralanmadan sonra sitokinler bazal membrana bağlanmak suretiyle matrikse tutunurlar. Böylece bazal membranın kısmi bozulması hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve/veya apoptozunu düzenler (55).

Bazal membran epitel morfolojisi, farklılaşması ve devamında dinamik bir role sahiptir. Bu nedenle kornea epitelinin iyileşmesinde önemli yer tutar. Fotoablasyondan 24 saat sonra göç eden epitel hücreleri, etraflarına laminin-1 sentez eder ve depolar (56). Laminin-1 bazal membranın esas bileşenlerindedir ve adezyon, proliferasyon, farklılaşma gibi birçok hücrel olayları ve hücre göçünü düzenler. Laminin ile eş zamanlı olarak konneksin, desmoglein-1 ve -2 üretimi de artar. Bu proteinler yardımıyla bazal hücrelerle bazal membran arasında geçici adezyonlar oluşur. Bunlar, yara iyileşmesinin tamamlanmasından sonra başlayacak olan hemidesmozomların yeniden sentezine kadar, epitelin bazal membrana tutunmasını sağlar. Yeni hemidesmozomlar bazal membranda daha önce var olan çapa fibrillerinin karşısına gelecek şekilde sentezlenir ve adezyon kompleksleri kısa sürede bütünlüklerine kavuşur. Eğer yaralanma bazal membranı da içeriyorsa, epitelin önce bazal membran sentezlemesi gerekir ki bu durumda adezyon komplekslerinin sentezinin tamamlanması yaklaşık bir yıl sürer (52).

1. 2. 4. 3. Epitel ve Yüzeyel Stromal Defekt

Epitelle birlikte Bowman zarı ve ön stroma tabakasının kaybı sözkonusudur. Epitel iyileşmesi ile süre açısından farklılık gösterir ve daha uzundur (en az 6 hafta). Alttaki yüzey, yani stroma, yara iyileşmesi için ideal bir platform değildir. Bowman zarı ve normal stroma rejenere olmayacağından defektin yerini kollajenöz skar dokusu alabilir veya defekt hiperplastik bir epitelle doldurulabilir (57).

1. 2. 4. 4. Stroma Yara İyileşmesi

Stromal iyileşme yeni kollajen sentezi, bunların birbirine bağlanması, proteoglikan sentezi ve stromanın gerilme gücünün yeniden oluşmasını sağlayan yara yeri şekillenmesi aşamalarından oluşur. Zedelenmeden 1.5 saat sonra stromal yarada

PMNL'ler görülür. Polimorfonükleer lökositler 12 saatte pik yapar, 72 saat sonra giderek azalır ve fagositoza yardımcıdır. Hasar gören epitel tabakasının altındaki keratositlerde apoptozis gözlenir. Hasarlı epitel ve apoptozise uğrayan keratositlerden sitokinlerin salınmasıyla iyileşme kaskadı başlamaktadır. Keratositlerde kollajen sentezi zedelenmeden 1.5 saat sonra başlar ve 8. günde sonlanır. Yara direnci stroma iyileşmesi ile yakından ilişkilidir. Ancak insanlarda 2-3 yılda bile % 50 direnç düzeyine erişilememektedir. Normalde hareketsiz olan keratositler, çevresel değişikliklere son derece duyarlıdır. Epitel yaralanmalarında, yaralanmanın altındaki keratositler dejenere olur ve hücresiz kalan stromaya bir süre sonra çevreden gelen yeni keratositler yerleşir. Stromal yaralanmalarda da keratositlerde bir dizi yapısal değişiklik izlenir. Bunlar birbirleriyle olan bağlantılarını kaybeder, büyür ve çoğalır. Ortaya çıkan bu hücreler fibroblastların yapısal ve fonksiyonel özelliklerini taşır. Stromal iyileşme sırasında keratositler, aktif fibroblastlar olan miyofibroblastlara dönüşmektedir (52). Kontraktıl özellikte olan bu hücreler kollajenleri, glikozaminoglikanları ve diğer matriks proteinlerini üretmektedir. Normal stroma tip I kollajenden oluşurken korneal skar dokusu ise büyük oranda tip III kollajenden kuruludur. Skar dokusunun yeniden düzenlenmesi sonrasında tip III kollajen, stromanın normal yapısında olan tip I kollajen ile yer değiştirir. İlk hafta içerisinde stromada hiyaluronik asit üretimi görülür ve zamanla yerini kondrotin sülfat ve keratan sülfata bırakır. Ayrıca keratositlerden keratinosit growth faktör (KGF), hepatosit growth faktör (HGF) gibi büyüme faktörleri de salgılanmaktadır (54). Stromal iyileşmenin tam olarak gerçekleşmesi haftalar almasına rağmen keratositlerde hipertrofi ve çok sayıda nukleolus gelişimi gibi yapısal değişiklikler oldukça erken gözlenir.

Hasar sonrası ikinci haftada kontraktıl faz başlamaktadır. Miyofibroblastlarda kas hücrelerindeki benzer şekilde aktin ve miyozin kontraktıl ünitleri oluşur. Yara iyileşmesi ve korneanın gerilme gücünün yeniden oluşması erken dönemlerde duraklayabileceği gibi 4 yıl sonra bile hala devam edebilmektedir (57).

1. 2. 4. 5. Endotel Yara İyileşmesi

İnsan endotel hücrelerinde doğumdan sonra neredeyse hiç mitoz görülmez. Yaşlılıkta olduğu gibi endotel hücreleri yavaşça kaybolursa, komşu hücrelerin genişlemesiyle boşluklar kapanır. Daha büyük ve çok sayıdaki hücreyi ilgilendiren

defekt söz konusu olduğunda ise 250 mikrometre uzaktaki hücreler bile yara yerine doğru uzar ve 80-100 mikrometre/gün hızla yara yerini kapatmak üzere ilerler. Yayılma ve göçme sırasında hücreler birbirinden kopmazlar. Tek katlı tabakanın oluşumu tamamlandığında bariyer ve pompa fonksiyonları tekrar devreye girer ve kornea ödemi yavaş yavaş geriler. Defekt bir kez kapatıldıktan sonra, normal heksagonal yapının oluşturulması için hücreler yeniden düzenlenmeye başlar. Birkaç hafta sonra zedelenme alanını kaplayan endotel yeni Descement membranını salgılamaya başlar. Yaklaşık 2-3 ay içinde oldukça homojen, heksagonal bir yapı elde edilir. Kronik enflamasyon veya fiziksel travma durumunda yeniden düzenlenme gecikir ve hücre kaybı devam eder (52).

1. 2. 5. KORNEA YARA İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

1. 2. 5. 1. Yaş

Genç popülasyonda iyileşme daha hızlıdır (birkaç gün-hafta), yaşlılarda aynı tipteki bir yaranın iyileşmesi aylar alabilir (58).

1. 2. 5. 2. Beslenme

Malnutrisyon iyileşmeyi belirgin şekilde geriletir. Protein, vitamin A ve vitamin C gereklidir. Şiddetli vitamin A eksikliğinde korneal ülserasyon sıktır (58).

1. 2. 5. 3. Travma

1. 2. 5. 4. Yara Apozisyonu

Kötü apozisyon yara iyileşmesini geciktirir. Ön ve/veya arka yara dudağında basamaklanmaya yol açabilir. İnfeksiyon, inkarserasyon veya yabancı doku adhezyonu olasılığını artırır, retrokorneal membran ile sonuçlanabilen epitelyal ve stromal ingrowth gelişimine zemin hazırlar (58).

1. 2. 5. 5. İnfeksiyon

İndirekt olarak (inflamatuvar yanıtı artırarak aşırı kollajen yıkımı ve hücre ölümüyle) ve direkt olarak (salgıladıkları enzimlerle glikozaminoglikan ve/veya kollajen yıkımını artırmak yoluyla) mikroorganizmalar yara iyileşmesini geciktirir veya engellerler (58).

1. 2. 5. 6. Enflamasyon

Değişik travma tipleri değişik inflamatuvar yanıt doğurur. Örnek olarak, yabancı cismin yerinde kaldığı laserasyonlar dev hücre reaksiyonu ve aşırı skar dokusu ile sonuçlanır. Topikal steroidle baskılanan erken inflamatuvar yanıt, belirgin biçimde

iyileşmeyi geriletir. Yaralanma sonrası korneaya inflamatuvar hücre akımı dokuyu onarıma hazırlar ancak iyileşmeyi bozabilecek etkiye de sahiptir. Dokudan serbestleşen lokal faktörler (lökotrienler, C5a, C3a..) PMNL aktivitesi için tetikleme görevi görürler. Fazla sayıda PMNL birikimi persistan epitel defekti, hatta ülser oluşumuna yol açar. PMNL'ler epitel migrasyonunu inhibe ederek iyileşmeyi geciktirirler. Steroidler PMNL'ler için çağırıcı rol oynayan mediatör salınımını lizozomal veya diğer membranların stabilizasyonunu sağlayarak önlerler. Bu da inflamatuvar yanıtı azaltır. Fakat steroidler fagositozu, superoksit radikal oluşumunu etkilemez. Uzun süre kullanımında ise epitel migrasyonunu inhibe eder. PMNL'lerin kollajenaz aktivasyonu etkisini potansiyalize ederek ülserasyon riskini artırır. Bu yüzden steroidlerin kullanımı dikkatli monitorize edilmelidir. PMNL inhibisyonu için topikal sitrat kullanımı gündemdedir, Na sitrat PMNL birikimini, fagositozunu, degradasyona yol açan enzim salınımını ve serbest O₂ radikal oluşumunu önler. Bu etkilerini PMNL aktivasyonu için gerekli olan Ca⁺⁺ iyonuna şelasyon yaparak gerçekleştirir (59).

1. 2. 5. 7. Duyusal İnervasyon

Normal epitel iyileşmesinde sinirsel uyarımın da gerekli olduğu ve duyuşal innervasyon yokluğunda hücre göçü ve adhezyonu bilinmeyen bir mekanizmayla büyük ölçüde azaldığı gösterilmiştir (60).

1. 2. 5. 8. İntraoküler Basınç

Yükselmesi durumunda stromal yara iyileşmesinde skar dokusunun kontraksiyonunu önler (60).

1. 2. 5. 9. Gözyaşının Etkisi

Gözyaşının niceliği epitelin sağlıklı oluşu ve bütünlüğü için kritik önem taşır. Orta aköz tabaka göz açıkta kaldığında buharlaşma ve nazolakrimal drenaj nedeniyle incilir ve yüzeyel lipid tabaka müsin tabakaya ulaşır. Gözkapığı hareketiyle aköz komponent yenilenmezse müsin tabakanın lipidle kontaminasyonu lokalize hidrofobik epitelyal alanlar yaratır. Aköz tabaka eksikliğinde yüzeyel kuruluk, punktat epitelyal boyanma, mukus plak, iyileşmeyen epitel defektleri gözlenir. Lipid tabaka eksikliğinde ise oküler yüzey keratinizasyonu, yüzey mikropлика kaybı, epitel defekti, korneal ülserasyon, keratomalazi gözlenir. Gözkapakları gözyaşının devamlı

ve yeterli miktarda dağılımını sağlar. Kapak skatrizasyonu, malpozisyonu veya nörojenik fonksiyon bozukluğunda hidrofobik epitelyal yüzeyler oluşur (45).

1.2.5.10. Vaskülarizasyon

Korneal vaskülarizasyon gelişiminde çok sayıda faktörün rol oynadığı görülür. Bu faktörler;

a. Prostaglandin E1 (PGE1), akut enflamasyonu ve vaskülarizasyonu deneysel olarak oluşturabilme yeteneğindedirler.

b. Limbosa yakın travmalar sıklıkla vaskülarizasyona yol açar.

c. Korneal nekroz, zayıf yara apozisyonu, yaraya iris adezyonu vaskülarizasyona predispozisyon oluşturur (61).

1.2.5.11. İlaçlar

1.2.5.11.1. Antibiyotikler

Düşük dozda basitrasinin (500u/ml), genta sulfatın (3 mg/ml), neomisinin (3.5 mg/ml) ve kloramfenikolün (4 mg/ml) korneal epitelizasyona etkileri yoktur. Ancak artmış doza bağımlı olarak kloramfenikol dışında basitrasin (10.000 u/ml), genta-sulfat (10 mg /ml) ve neomisin (8 mg/ml) epitelizasyonu belirgin biçimde inhibe ederler (62).

1. 2. 5. 11. 2. Kortikosteroidler

Korneal epitel, stroma ve endotel yara iyileşmesini inhibe ederler. Araşidonik asit metabolitlerinin korneal NV patojenezinde önemli rolü vardır (14). Prostaglandinler, özellikle E serisi neovasküler cevabın potent uyarıcısıdır (15). Lökotrienler, lökosit göçünü stimüle ederek korneal NV'a neden olurlar (16).

Deneysel olarak oluşturulan lineer perforan insizyonda gerginliğe karşı yara direncinin medroksiprogesteron ile % 20, prednizolon ile % 11 oranında azaldığı gösterilmiştir. Skar dokusunda kollajen formasyonunu prednizolon % 43 azaltırken, medroksiprogesteron ise % 39 azaltmaktadır. Yine aynı çalışmada termal yanıkta ülserasyon gelişimini azalttıkları gösterilmiştir (63).

1. 2. 5. 11. 3. Lokal Anestezikler

Epitel iyileşmesi için temel olan aktin etkileşimini bozarlar. Kronik topikal tedavi persistan epitel defektine neden olabilir (64).

1. 2. 5. 11. 4. Benzalkonyum Cl (% 0.01)

Koruyucu olarak bu kimyasal maddeyi içeren topikal ilaçların kullanımında rejenere epitel üzerinde adheransta zayıflama, membran aktivite kaybı, oluşan epitel tabakanın yerinden ayrılması gibi etkiler gözlenmiştir. Koruyucular içerisinde en toksik olanıdır (64).

1. 2. 5. 11. 5. Asetilkolin

Endotel hücre hasarını arttırdığı saptanmıştır (64).

1. 2. 5. 11. 6. Epinefrin

1/1000'lik konsantrasyonda irreversible kornea ödemeine yol açabileceği bilinmektedir. 1/5000'lik konsantrasyonunun kullanılması önerilmektedir (64).

1. 2. 5. 11. 7. Antiviral İlaçlar

Epitel iyileşmesini inhibe ederler (64).

1. 2. 5. 12. Fibronektin (Fn)

Fibronektin (Fn), hücre adhezyonu ve migrasyonunda rol oynadığı düşünülen multifonksiyonel bir ekstraselüler matris proteini. Korneal Fn iyileşen epitel yüzeyinde gözlenir, epitelizasyon tamamlanınca ortadan kaybolur (65). Organ kültüründe tavşan korneası üzerinde epitel migrasyonunun araştırıldığı Nishida ve ark.nın bir çalışmasında epitel hücrelerinin gösterdiği migrasyon aktivitesinin ortama eklenen Fn ile belirgin olarak arttığı, etkinin eklenen Fn miktarı ile doğru orantılı olduğu, ortama anti-Ig G tavşan plazma Fn antikoru eklendiğinde ise anlamlı migrasyon inhibisyonu olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada korneanın değişik lezyonlarında (insizyon, deneysel büllöz keratopati, termal yanık...) yapılan immunohistokimyasal analizlerle Fn'in stromal keratositlerce sentezlenebildiği, sadece gözyaşı kaynaklı olmadığı, eksojen Fn'in stromal kollajenlere bağlanarak kemotaktik aktivite yaratabildiği de bildirilmiştir (66). Bilindiği gibi yaralanmadan 8-36 saat sonra yüzeyel epitel defektlerinde Fn gözyaşından veya limbal vasküler yapılardan köken almaktadır. Stromal yaralarda ise Fn, keratositlerce üretilir. Fn'in yüzeyel defektlerde saptanan en olası kaynağının gözyaşı olduğunu doğrular niteliktedir (67). Nishida ve ark. blok halinde kültür ortamına konulan tavşan kornealarında EGF ve Fn'in epitel migrasyonuna etkisini de araştırmışlardır. Sonuçlar Fn'in aksine epitel hücrelerinin bir kez uyarı sinyali aldıktan sonra EGF'nin varlığına gereksinim duymadığını, EGF stimülasyonunun Fn bağımlı bir yanıt ve Fn

in EGF den bağımsız olduğunu, EGF'nin epitel migrasyonuna etkisinin Fn tarafından düzenlendiğini ortaya koymaktadır (68).

1. 2. 5. 13. İnterlökin – 6

Tavşan korneasında integrin reseptörlerini uyararak epitel hücre migrasyonunu stimule ettiği gösterilmiştir. Persistan epitel defektinde (PED) topikal kullanımı deneysel aşamadır (69).

1. 2. 5. 14. Retinoik Asit

Tavşanlarda kornea epitel defektlerinde topikal retinoidlerin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada % 0.1'lik all-trans-retinoik asit 3x1/gün kullanımı ile iyileşme hızında % 21, 5x1/gün dozunda ise % 35 oranında artış olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar all-trans- retinoik asitin cerrahi sonrasında ve PED de iyileşmeyi hızlandırıcı olarak kullanılabileceğini göstermektedir (70).

1. 2. 6. KORNEA YARA İYİLEŞMESİNDE ETKİLİ MEDYATÖRLER

1. 2. 6. 1. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri birçok hücre tarafından salgılanan, hücre çoğalmasını, göçünü ve hayatının devamını uyararak, bazı durumlarda ise bunları engelleyen peptidlerdir. Hareketlerini otokrin, jukstakrin veya en yaygın biçimde parakrin mekanizmalarla gerçekleştirirler. Karşılıklarına gelen hücre yüzey reseptörleri tirozin kinaz veya G proteiniyle eşleşen transmembran glikoproteinleridir. İlgili reseptörlere bağlanan büyüme faktörleri deoksi ribonükleik asit (DNA) sentezinin sentez fazını uyarır ve ardından hücre çoğalması gerçekleşir (71). Göz, birçok büyüme faktörü için hedef doku konumundadır: Epidermal growth faktör (EGF), Platelet-derived growth faktör (PDGF), İnsulin-like growth faktör (IGF), Transforming growth faktör (TGF) - α ve - β , Fibroblast growth faktör (FGF) (72).

1. 2. 6. 1. 1. Epidermal Growth Faktör

Epidermal growth faktör epitel hücreleri için potent bir mitojen olan, 6 kiloDalton ağırlığında kompakt bir polipeptittir. EGF normal kornea epitel kalınlığının devam ettirilmesinde de önemlidir. EGF fibroblastlarda mitoz ve migrasyonu aktive eder. Topikal EGF epitel iyileşmesini uyarmakta, özellikle limbal ve periferik kornea epitel rejenerasyonunda maksimum etki göstermektedir (73).

1. 2. 6. 1. 2. Fibroblast Growth Faktör

Fibroblast growth faktör ailesi ortalama 18 kiloDalton (kD) ağırlığında olan, 20 kadar heparin bağlayan, birçok dokuda çoğalma, farklılaşma, göç, ECM depolanması ve anjiogenez gibi olayları düzenleyen protein grubudur. Parçalanmadan korunmak için düşük afiniteli heparan sülfat proteoglikanlarına tutunurlar ve hücre yüzeyindeki yüksek afiniteli tirozin kinaz reseptörlerine bağlanırlar. Asidik FGF, Bowman zarı ve Descement membranlarında, endotel hücrelerinde, daha az oranda ise epitelde tespit edilmiştir. Lakrimal bez tarafından da salınan bu faktörün, epitel hücrelerinde hem parakrin hem de otokrin etkileri vardır. Asidik ve bazik FGF epitel, endotel ve stroma hücrelerinde mitojeniktir (74). Bazik FGF, kornea fibroblastlarında DNA sentezini, yara gerginliğine direncini ve endotel hücrelerinde mitotik hızı artırır (72).

1. 2. 6. 1. 3. Transforming Growth Faktör Alfa ve Beta

Fare embriyosunda TGF- α sentezi engellenerek yapılan deneylerde gözkapağı gelişim bozukluğu, mikroftalmi, yüzeysel opasiteler, göz kapağı ve ön segment disgenezisi, korneal enflamasyon ve skar oluşumu, lense ve retinaya ait defektler gözlenmiştir. Transforming growth faktör- α , EGF gibi gözyaşında bulunur ve olası kaynak yine lakrimal bezlerdir. Ek olarak kornea epitel hücreleri TGF- α , TGF α mRNA'sı ve proteinini içerirler. Bu durum EGF ve TGF- α üreten epitel hücrelerinin otokrin mekanizmayla normal epitel sikluslarını devam ettirdiklerini düşündürmektedir. Endotel hasarında aköz hümörde TGF- α konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir (72).

Transforming growth faktör- β ailesi TGF- β 1, TGF β 2 ve TGF- β 3'den oluşan yaklaşık 25 kiloDalton ağırlığında ve birçok doku tarafından üretilen polipeptidlerdir. TGF- β dimerik, inaktif biçimde salgılanır ve latent growth faktör havuzu oluşturmak üzere ECM'ye bağlanır, ekstraselüler veya membrana bağlı enzimlerle aktif hale getirilir (74). Transforming growth faktör- β aktivasyonu ECM üretimi, hücre büyüme ve farklılaşması gibi cevaplara neden olur (75). Transforming growth faktör- β 'nin genel olarak epitel, endotel hücreleri, lökositlerin büyümesini engellediği ve fibroblast üretimini uyardığı kabul edilmektedir (76). Transforming growth faktörün epitelden stromaya salgılanması ve gözyaşında üretimi stromal hücrelerde çoğalma ve göçe neden olur. TGF- β 'nin enflamasyon odağına fibroblast,

monosit ve makrofajları çekme özelliği de vardır (77). Bunların dışında İnterlökin (İL)-1, İL-6, TNF- α epitel göçünde indirekt olarak etkili olabilmektedirler (74). Tavşanlarda korneal insizyonlarda gerilmeye karşı yara direncini arttırıcı etki gösterir. Bu etkisini insizyon yerinde kemotaksis ile fibroblast sayısını arttırarak gerçekleştirir. Ayrıca MMP sentezini azaltması ve metalloproteinaz doku inhibitörü sentezini arttırması da olasıdır (72).

1. 2. 6. 1. 4. Keratinosit Growth Faktör

Keratinosit growth faktör, FGF ailesinin üyelerinden biri olup, yaklaşık 28 kiloDalton ağırlığında tek zincirli bir polipeptiddir ve keratinositler ile epitel hücreleri için mitojeniktir. Keratinosit growth faktörün EGF, TGF- α , FGF ile aynı sinyal yolağını paylaştığı düşünülmektedir. Keratinosit growth faktörün hedef hücrelere salınma ve depolanmanın yapıldığı stromada biriktirmek için heparine bağlanabileceği düşünülmektedir (78).

Keratinosit growth faktör reseptörü mRNA'sının in vitro olarak kornea epitel hücrelerinde anlamlı miktarda bulunduğu ama stroma keratositlerinde çok düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir (74). Aksine KGF'nin kültüre keratositlerde üretildiği, ancak epitel hücrelerinde üretilmediği tespit edilmiştir. Bu durum KGF'nin stromada üretilip, epitel hücrelerinde parakrin bir mekanizma ile etkili olduğunu göstermektedir (79). Keratinosit growth faktör reseptörünün limbal fibroblastlarda ve epitel hücrelerinde, santral korneaya göre daha fazla bulunduğu görülmüştür. Bu durum KGF'nin tercihen kök hücrelerin fonksiyonunu düzenlediğini düşündürmektedir (80). Keratinosit growth faktörün sürekli olarak düşük miktarda salınmasının sağlıklı korneal epitel bütünlüğünün sağlanmasında rolünün olduğu düşünülmektedir (81). Son yapılan çalışmalarda İL- α ve İL- β gibi sitokinlerin keratositlerden KGF salgılanmasında rol aldığı kabul edilmektedir (82).

1. 2. 6. 1. 5. Hepatosit Growth Faktör

Hepatosit growth faktör yaklaşık 90 kiloDalton ağırlığında bir glikoproteindir. Mezenşimal orjinli hücrelerden salgılanır, travma, enflamatuar uyarılar ve koagülasyon kaskadındaki proteazlarla aktif hale gelir. Keratinosit growth faktör gibi HGF de çeşitli ECM bileşenlerine bağlanabilir. Hepatosit growth faktör reseptörü tirozin kinaz özelliği taşır. Korneada HGF reseptörü en yoğun olarak epitel hücrelerinde bulunur; ancak HGF klasik parakrin etki ile fibroblastlardan üretilerek

epitel hücrelerine etki eder (83). Keratinosit growth faktörün tersine, HGF üretimi ve reseptörü kornea santralinde daha yoğundur. Hepatosit growth faktör hücre göçünü uyarır, stroma fibroblastlarına etkisi minimaldir (80). Hepatosit growth faktör gözyaşında da bulunur ve kornea epitel katımın bütünlüğünün sürdürülmesinde katkısının olduğu düşünülmektedir. Aköz hümörde bulunan HGF'nin endotel hücrelerine bağlanarak, bu hücrelerin bütünlüklerinin devamında otokrin mekanizma ile rol oynadığı sanılmaktadır (84).

1. 2. 6. 1. 6. Platelet Derived Growth Faktör

Platelet derived growth faktör sistein bağlı, 35 kiloDalton ağırlığında, A ve B zincirlerinden oluşmuş dimer yapısındadır (64). Bu faktör'ün -AA, -AB, -BB izomerleri vardır ve reseptörü heterodimerik ve monomerik formlarda bulunur (74). Platelet derived growth faktör'ün reseptörüne bağlanması mitojenik etkileri indükler (64). Platelet derived growth faktör reseptörleri kornea fibroblastlarında ve endotel hücrelerinde bulunur. Platelet derived growth faktör-BB proteini epitel hücrelerinde üretilir ve en yüksek miktarda bazal membrana bağlanır (77). Endotel hücrelerinin ve fibroblastların göçü PDGF-BB ile uyarılır. Fibronektin varlığında PDGF-AA ve -BB epitel hücrelerinin kemotaksisini uyarmaktadır (74). Platelet derived growth faktör aköz hümörde eser miktarda bulunur ve fibroblastların TGF- β 'ya olan çoğalma cevabını artırır (85).

1. 2. 6. 1. 7. Diğer Büyüme Faktörleri

Kanıtlar sinir büyüme faktörü (SBF), nörotropin-3 ve 4, glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör gibi nörotrofik faktörler ile reseptörlerinin korneada bulunduğunu ve bunların epitel hücre çoğalmasını uyardığını göstermektedir (86). Kornea epitel bütünlüğünün devamında kornea sinirlerinin önemli rolünün olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle kornea sinirlerinden salınan nörotrofik faktörler de doku homeostazında rol oynayabilir (87). Kültürde stroma fibroblastlarının büyümeleri SBF ile artırılmaktadır (86).

İnsülin like growth faktörü ile reseptörleri kornea epiteli, stroma, trabeküler ağda bulunmaktadır ve hücre farklılaşması ve çoğalmasında rol oynar (88).

1. 2. 7. KORNEA YARA İYİLEŞMESİNDE ENFLAMATUVAR SİTOKİNLERİN ROLÜ

Sitokinler kornea yara iyileşmesinde önemli rol oynarlar. Kornea epiteline olan travma sonrasında epiteldeki çeşitli sitokinlerin seviyesi artar. Bunların en önemlileri İL-1, İL-6 ve TNF- α 'dır (77). İnterlökin-6 integrinleri düzenleyerek kornea epitelinde göçü uyarır (90). İnterlökin-1, EGF ile sinerjik biçimde in vitro epitel yara kapanmasını arttırır (91). İnterlökin-1 ve TNF- α kollajenin yeniden şekillendirilmesinde önemli rol oynar. Bunlar kornea fibroblastlarında İL-8, monosit kemotaktik protein gibi bir takım kemokinlerin üretimini arttırır ve ilginç bir biçimde sadece epitel yaranmasında üretilir (92). Ancak bu sitokinlerin etkileri her zaman yararlı değildir. İL-1, İL-6 ve İL-8 kornea stromasında erimeyi uyurabilir (93).

1. 3. KORNEA NEOVASKÜLARİZASYONU

Embriyogenez ve erken çocukluk döneminde damarlar iki mekanizma ile gelişir: vaskülogenez ve anjiogenez. Vaskülogenezde kan damarları diferansiye endotel hücrelerinden *de novo* olarak gelişirken anjiogenezde kapillerler önceden varolan damarlardan gelişirler (94).

Vaskülogenez gelişimin sonunda durur ve endotel hücre proliferasyonu hemen daima yetişkinlerde sonlanmıştır (94). Yetişkinlerde sadece anjiogenez görülür ve yara iyileşmesi, ovulasyon ve plasental maturasyon gibi fizyolojik fonksiyonlardan sorumludur. Regülasyon bozulduğunda endotel hücreleri anormal bölünerek tümör gelişmesi ve anjiogenez yoluyla bazı oküler hastalıklar gibi patolojik durumlara ortaya çıkar (95).

Korneanın besleyici damarı siliyer arterlerden gelir. Oftalmik arterden çıkan siliyer arterler limbus bölgesinde perikorneal pleksuste sonlanır. Kornea neovaskülarizasyonu da perikorneal pleksuste var olan kapiller ve venüllerden çıkmaktadır (95). Kornea neovaskülarizasyonunun iki klinik varyantı vardır: stromal neovaskülarizasyon (genellikle stromal keratitlerden kaynaklanmaktadır) ve vasküler pannus (oküler yüzey hastalıklardan kaynaklanan periferik yüzeysel korneada bağ dokusu proliferasyonudur) (96).

1. 3. 1. Epidemioloji

Kornea ve gözün diğer bölümlerinin neovasküler ve enfeksiyöz hastalıkları toplumda görülen genel problemlerdendir. Amerika Birleşik Devleti'nde bir sene

içinde 1.4 milyon hasta kornea neovaskularizasyonu geliştirmektedir. Toplumun % 4'ünde kornea neovaskularizasyonu bulunmakta ve kornea nakli sırasında elde edilen kornea örneklerin %20'si histopatolojik olarak neovaskularizasyon göstermektedir (97) (Tablo-1). Türkiye'de henüz bu konuda yapılmış bir çalışma yoktur.

Tablo1. Kornea Neovaskularizasyonuna Neden Olan Hastalıklar

Enflamatuvar hastalıklar

- Oküler pemfigoid
- Rozasea
- Greft rejeksiyonu
- Lyell's sendromu
- Stevens-Johnson sendromu

Enfeksiyöz keratitler

Viral

- Herpes simpleks
- Herpes zoster

Bakteriyel

- Psödomonas
- Klamidya trakomatis
- Sifiliz

Fungal

- Kandida
- Fusarium
- Asperjillus

Parazitik

- Onkoserkiazis

Dejeneratif-konjenital bozukluklar

- Pterijyum
- Terrien'in marjinal dejenerasyonu
- Travmatik-iatrojenik bozukluklar ve diğerleri

Kontakt lens

Alkali yanığı

Korneal ülser

Kök hücre yetmezliği

Neovaskularizasyon (veya anjiogenez) ortamda var olan damarlardan bir takım faktörlerin aktivasyonu ile yeni damar oluşumudur. Organizmada bu durum anjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin dengesi sağlanarak sıkı bir şekilde kontrol edilir (Tablo 2). Anjiogenik ve anti anjiogenik faktörler dengesinde anjiogenik faktörler ağırlık gösterdiği zaman anjiogenez oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda neovaskularizasyon için sadece anjiogenik faktörlerin yükselmesi değil aynı zamanda anti-anjiogenik faktörlerin azalması da gerekmektedir (19).

1. 3. 2. Kornea Neovaskularizasyon Fazları

1. 3. 2. 1. Erken Prevasküler Faz

Enflamasyona bağlı hasar ile damarlarda dilatasyon, geçirgenlik artışı ve ödem olur. 2-3 saat sonra PMNL'ler damar dışına çıkarak, kornea stromasına göç ederler. 24-48 saat sonra da PMNL infiltrasyonu pik yapar. Polimorfonükleer lökositler kemotaksisi başlatarak bazı sitokinlerin salınımına neden olur. Lökositlerden salınan proteolitik enzimler ile damarların bazal membranı parçalanır. Damar geçirgenliğinde artış ve ödem normalde sıkı bir dizilim gösteren kollajen fibrillerin birbirinden ayrılmasına neden olur. Ödemle beraber ekstravasküler dokuya geçen fibrinojen pıhtılaşarak vaskularizasyonda önemli rol oynar (98,99).

1. 3. 2. 2. Vasküler Tomurcuklanma Fazı

Bazal membran devamlılığının bozulmasından sonra endotel hücreleri psödopodları ile hasarlı bölgeden göç eder. Daha sonra endotel hücrelerinde mitoz ve yeni damar tomurcuğu oluşumu gözlenir. Matriks metalloproteinazlar ECM bileşenlerini bozarak, göç eden endotel hücreleri için gerekli olan yolu açar. Anjiyogenik faktörler endotel hücrelerinde MMP'lerin salınmasını ve fonksiyonlarını arttırabilir (100). Göç olayı tek başına neovaskularizasyon için yeterli olmakta, hücresel proliferasyon olmasa bile endotel hücrelerinin yayılımı, göçü ve yeniden dağılımı ile yeni damar oluşumu gerçekleşebilmektedir. Bu nedenle endotel hücre göçünün vaskularizasyondaki en önemli basamak olduğu söylenebilir. Bu fazda henüz vasküler lümen oluşmamıştır (101).

Tablo 2. Anjiogenik ve Antianjiogenik Faktörler

Anjiogenik Faktörler

Tümör nekrozis faktör- α
Makrofaj migrasyon inhibitör faktör
Vasküler endotelyal growth faktör
Asidik and basik fibroblast growth faktör
Plasenta growth faktör
Platelet-derived epidermal growth faktör
Transforming growth faktör
Epidermal growth faktör
Hepatosit growth faktör
Platelet-activating faktör
İnsulin-like growth faktör
Anjiogenin
Anjiopoetin-1
Granulosit-makrofaj koloni-stimulan faktör
Granulosit koloni-stimulan faktör
İnterlökin-1,2,6,8
Prostaglandin E1, E2
Vascular integrin $\alpha v\beta 3$
Matriks metalloproteinazlar
Histamin

Antianjiogenik Faktörler

Thrombospondin
Fibronektin
Anjiostatin
Endostatin
İnterferon- α, β, γ
İnterlökin-12
Matriks metalloproteinaz inhibitörleri
Platelet faktör 4
Retinoik asit

1. 3. 2. 3. Vasküler Matürasyon Fazı

Ortamda çoğalan endotel hücreleri zamanla lümen oluşturacak şekilde yan yana gelir ve primitif damar şeklini alır. Bu sırada endotel hücrelerinden anjiogenik uyarı ile ECM proteinleri ortaya çıkar. Ekstrasellüler matriks proteinleri perivasküler boşluğa ulaşarak, hücre proliferasyonunu gerçekleştirdiği gibi, damar çeperinin düzenli olmasını da sağlar. Zamanla yeni oluşan damarların bazal membranları devamlı hal alır ve perisitlerin endotel hücrelerini çevrelemesi ile ana damar oluşumu izlenir (99). Postkapiller venüllerden oluşan primitif damarlar zamanla birbirleriyle ilişkiye geçer ve kan akımı başlar. Anjiogenik uyarının yetersiz kaldığı durumlarda ise vasküler yapılarda daha fazla uzama gerçekleşmez ve regresyon gözlenir (99).

1. 3. 3. Kornea Neovaskülarizasyonunu Uyaran Faktörler

1. 3. 3. 1. Tümör Nekrozis Faktör- α

TNF- α mononükleer fagositlerden kaynağını alır. T hücreleri, aktive Natürel Killer (NK) hücreleri ve aktive mast hücreleri bu proteini salgırlar. İki çeşit TNF vardır. Bunlar genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (lenfotoksin)'dir. TNF, düşük yoğunluklarda lokosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir. Sağlıklı bireylerde plazma TNF düzeyleri 0-35 pg/ml arasında değişmektedir. TNF- α ; IL-1, IL-6, kemokinleri ve TNF'nin kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir (97).

TNF- α ; adezyon molekülleri ekspresyonunun up-regülasyonu, nötrofil aktivasyonu, kemokin sekresyonunun indüksiyonu ve NF- κ B sinyal iletim yolunun aktivasyonu gibi birçok proinflamatuvar ve immün modulator fonksiyonların medyatörüdür (97).

TNF'nin başlıca biyolojik etkileri; anjiogenez, ateş yapıcı etkinlik, hepatositleri etkileyerek akut faz reaktanlarının sentezini uyarmak, nötrofil adezyonunun artması, fibroblast ve mezenşimal hücre proliferasyonu, nöronların çoğalması ve fonksiyonlarının regülasyonu, T hücre aktivasyonu ve B hücre proliferasyonunun indüksiyonudur. Deney hayvanlarına uzun süre verildiğinde kaşektik metabolik değişikliklere neden olur. Kaşeksi, TNF ile uyarılan iştah azalması sonucu oluşur. Damar düz kasını gevşeterek kan basıncını ve doku perfüzyonunu azaltır. Bu etkiyi prostasiklin ve nitrik oksit (NO) gibi damar

genişleticileri uyararak indirekt yoldan yapar. İntravasküler koagülasyona neden olarak doku perfüzyonunu azaltır (102). TNF- α , NO sentezinde rol alarak anjiogenezin erken dönemlerinde vazodilatasyona yol açar (7).

Alkali kimyasal yanık, korneal stromada ciddi hasar sonucu persistan ülserasyon, opasifikasyon ve neovaskülarizasyon oluşturarak kalıcı görme kaybı nedeni olabilir. Alkali yanık oluşturulan korneada açığa çıkan faktörlerden biri proinflamatuvar pleotropik sitokin olan TNF- α 'dır (6).

İnflamasyon ve fibroziste hücrel cevabın düzenlenmesinde TNF- α 'nın rolü tam olarak açıklanamamıştır. TNF- α iyileşmekte olan kornea epiteli ve inflamatuvar hücrelerde tesbit edilmiştir (6). TNF- α ayrıca MIF salınımını regüle ederken VEGF, FGF ve TGF üretimini arttırarak neovaskülarizasyonu arttırır (8).

Korneada inflamatuvar uyarın ile çok miktarda TNF- α sentezlenir. TNF- α aktivitesi iki reseptör tarafından düzenlenir. Her iki reseptörde ekstraselüler bölgelerde bol miktarda bulunurken intraselüler miktarları farklı hücrel cevaplara yol açacak şekilde değişkendir. TNF- α 'nın çoğu proinflamatuvar etkilerini TNFR-I üzerinden gösterdiğine inanılır (103).

1. 3. 3. 2. Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF), Guinea piglerde makrofajların kapillerlerin dışına migrasyonunu önlediği keşfedilen ilk lenfokindir. MIF cDNA'sı ilk defa insan T lenfositlerinden klonlanmış ve MIF proteininin 114 aa'den oluştuğu anlaşılmıştır. Rekombinan MIF (rMIF) kullanılarak yapılan sonraki çalışmalarda MIF'in gecikmiş hipersensitivite ve letal endotoksemide önemli rolü olduğu gösterilmiştir (104).

MIF, T lenfosit ve makrofajlardan salınan ve inflamasyonda anahtar rolü olan potent pro-inflamatuvar sitokindir (9). MIF, sistemik inflamatuvar stimulusa cevap olarak ön hipofizden hormon olarak salgılanır. Böylece MIF'in hem proinflamatuvar sitokin hem de nöroendokrin hormon gibi biyolojik davranışları olduğu görülmüştür. İnsanlarda MIF protein ve mRNA'sının korneal bazal epitelyal ve endotelyal hücrelerde, iris ve silyer cisim epitelinde, retinal astrosit, Müller ve RPE hücrelerinde varlığı gösterilmiştir (105).

MIF'in α ve β yapıları vardır. Her MIF monomerinin iki antiparalel α -heliks ($\alpha 1$ ve $\alpha 2$) ve altı β ($\beta 1$ - $\beta 6$) kolu vardır. Bu yapısı major histokompatibilite kompleks

(MHC) molekülünün protein bağlanma bölgesine benzer. Henüz MIF membran reseptörü tanımlanmamış olmasına rağmen bazı çalışmalarda reseptör aracılı yolak olduğu iddia edilmiştir. MIF fonksiyonları için muhtemel bir diğer mekanizma ise katalitik aktivitesidir. MIF tatomeraz, izomeraz ve tiol protein oksidoredüktaz aktiviteleri gösterir. Enzimatik aktivite için protein substratının olduğu gösterilmiştir. MIF ilişkili uyarıda mitojen aktive protein (MAP) kinaz ve aktivatör protein-1 (AP-1)'in ekstraselüler uyarı düzenlenmesinde (ERK 1/2) önemli rolü olduğuna dair yayınlarda mevcuttur (106).

Yeni bir çalışmada MIF'in direkt olarak hücre surveyini PI3K/Akt yolağı ile arttırarak tümör hücresi surveyi için kritik öneme haiz olduğu gösterilmiştir. Ayrıca MIF için ko-aktivatör c-jun aktivasyon bölgesi bağlanma protein-1 (JAB-1) denen intraselüler reseptör proteini tanımlanmıştır (106).

Üveitli hastaların intraoküler sıvılarında anlamlı derecede yüksek MIF olduğu tesbit edilmiştir. Vitreustaki MIF seviyeleri vitreus inflamasyon aktivitesi ile ilişkilidir. MIF oküler inflamasyonun patofizyolojisinde önemli role sahiptir (107). Fare korneasında MIF mRNA'sının hasar veya enfeksiyon sonrası erken dönemde artmış olduğu bulunmuştur (108). Ratlarda korneal yara iyileşmesi esnasında MIF, korneal epitelyal hücrelerden ilk 3 saatte salgılanmaya başlayarak 48 saat boyunca artmaya devam eder (105). MIF, neovaskülarize korneadan bol miktarda eksprese edilir. İnflamatuvar korneal neovaskülarizasyonda anjiojenik rolü vardır (10).

MIF; fagositoz, intraselüler sindirim ve H₂O₂ yapımı gibi makrofaj fonksiyonlarını arttırır (109). Makrofajlarda TNF sentezini uyararak ve IFN- γ ile sinerjik etki gösterek NO yapımını arttırır (110). MIF, proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, COX-2, PLA2 ve MMP seviyelerini indükler (111).

1. 3. 3. 3.Vasküler Endotelyal Growth Faktör

Vasküler endotelyal growth faktör (VEGF) spesifik bir gen tarafından kodlanır ve yapılarındaki aminoasit sayısına göre belirlenmiş altı farklı izoformu vardır: VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆. İnsanlarda en fazla VEGF₁₆₅ izoformu bulunur ve büyük oranda heparine bağlanarak salınmaktadır (3).

VEGF biyolojik aktivitesini temel olarak endotel hücreleri üzerindeki tirozin kinaz yapılı, VEGF reseptör (VEGF-R)-1 ve VEGF-R2 ile lenf damarları üzerindeki

VEGF-R3 adlı üç reseptörü ile gerçekleştirir. Vasküler endotelial growth faktör -R1 ve -R2 büyük ölçüde damar endotel hücrelerinden salınır ve anjiogenez ile damar geçirgenliğinde görev alır (3).

VEGF düzeyi başta Ras ve human epidermal growth faktör reseptör-2 onkogenleri olmak üzere, p53 gen mutasyonu, TNF- α ve nitrik oksit (NO), İL-1, İL-6, İL-10, İL-13, FGF, PDGF, TGF- β VE İGF-1 gibi birçok endojen ajan ile düzenlenmektedir (112). Vasküler endotelial growth faktörün salınımında en önemli iki faktör hipoksi ve enflamasyondur (113).

Vasküler endotelial growth faktörün neden olduğu vasküler permeabilite artışı kemotaksisin ve enflamasyonun devamında da önemlidir (113). Vasküler endotelial growth faktör endotel hücreleri için migratuar özelliğinin yanında hücre dışı matriks yıkımından sorumlu olan MMP'ler, ürokinaz, doku tipi plazminojen aktivatörlerinin salınımını uyararak invazyon ve metastazı kolaylaştırır (114).

1. 3. 3. 4. Fibroblast Growth Faktör

Fibroblast growth faktör neovaskülarizasyonun olduğu kornealarda vasküler bazal membrana bağlanmaktadır. Yeni damarların maturasyon derecelerine göre değişik yoğunlukta bağlanma söz konusudur (115).

1. 3. 3. 5. İnsülin Like Growth Faktör

İnsülin like growth faktör-1'in hayvan modellerinde korneada anjiogenez etkilerde bulunduğu bildirilmiştir (116).

1. 3. 3. 6. Anjiopoetin

Bir çalışmada anjiopoetin (Ang)-1 ve -2'nin sistemik Tie-2 ile inhibisyonu kornea neovaskülarizasyonunda gerilemeye neden olmuştur. Bu gerilemenin VEGF' den bağımsız olduğu düşünülmektedir (117). Ayrıca ratlarda Ang-2'nin inhibisyonunun kornea neovaskülarizasyonunu engellediği bildirilmiştir (118).

1. 3. 3. 7. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)

MMP-2'nin kornea neovaskülarizasyonunda üretiminin arttığı tespit edilmiştir (119).

1. 3. 4. Kornea Neovaskülarizasyonunu Engelleyen Faktörler

1. 3. 4. 1. Anjiostatin

Anjiostatin 38 kiloDalton ağırlığında, plazminojenin proteolitik parçalanma ürünlerinden olup güçlü bir antianjiogenez faktördür (120). Anjiostatin ve benzeri

fragmanların implantasyonu korneada FGF ve anjiogeninin uyardığı neovaskularizasyonu engellemektedir (121).

1. 3. 4. 2. Endostatin

Endostatin 20 kiloDalton ağırlığında, kollajen XVIII'ün proteolitik parçalanma ürünüdür ve esas olarak damar epitel bazal membranında bulunur. Kollajen XVIII gözde esas olarak retina, lens kapsülü ve korneada bulunur (122). Endostatin, implante edildiği kornealarda bFGF'nin uyardığı neovaskularizasyonu engellemektedir (123).

1. 3. 4. 3. Pigment Epiteli Derived Faktör

Pigment epiteli derive faktör (PEDF) güçlü bir antianjiogenik ve nörotrofik faktördür. Gözde retina, iris ve korneada bulunmuştur (124). Pigment epiteli derived faktörü bloke eden antikorlar kornea stromasına yerleştirildiğinde vaskularizasyonun uyarıldığı tespit edilmiştir (125).

1. 3. 4. 4. Trombospondin-1

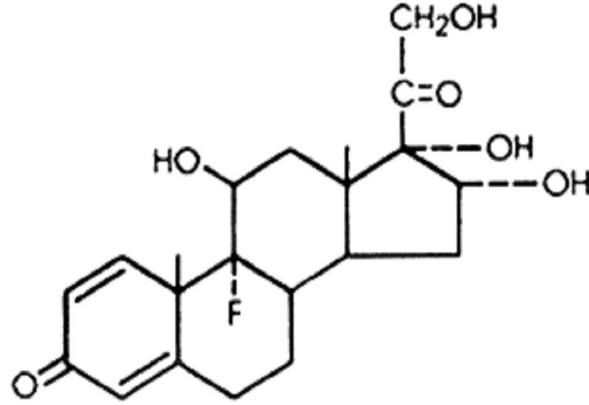
Trombospondin (Tsp)-1 gözde kornea, iris, sklera ve retinada üretilir (126). Korneada Tsp-1 esas olarak kornea epitelinin bazal tabakasında üretilmektedir (127). Trombospondin-1 geninin deneysel olarak hasara uğratıldığı farelerde, korneada enflamasyonun indüklediği anjiogenezin oluştuğu gözlenmiştir (128).

1. 4. TRIAMİNOLON ASETONİD

Kortikosteroidler, ilk defa 1950'li yıllarda gözdeki enflamatuvar hastalıklarda kullanılmaya başlanmıştır. Kortikosteroidlerin antienflamatuvar özellikleri tam olarak açığa kavuşmuş değildir. Etki mekanizmalarından biri, lipokortin sentezini arttırmalarıdır. Araşidonik asit (AA), membran fosfolipidlerinden fosfolipaz A2 enzimi ile sentezlenir. AA metaboliti olan prostoglandin ve lökotrienler inflamasyon medyatörleridir. Fosfolipaz A2, lipokortinler tarafından inhibe edilir (129).

Triamsinolon asetonid (9 α -fluoro-16 α -hydroxyprednisolone; TA), molekül ağırlığı 434.5 D olan ve oftalmolojide 4-20 mg dozlarında daha çok perioküler ve intravitreal olarak kullanılan orta etkili kortikosteroiddir. Triamsinolonun IL-6 ve VEGF aracılı korneal neovaskularizasyonu bloke ettiği (17) ayrıca endostatin seviyelerini arttırarak neovaskularizasyonda antianjiogenik etki gösterdiği (18) ve anti-inflamatuvar etkilerine ek olarak vazokonstrüksif etki göstererek oküler neovaskularizasyonun önlenmesinde etkili olabildiği tesbit edilmiştir (130). TA,

ratlarda korneanın gümüş nitrat ile koterizasyonu sonrası yedi gün boyunca topikal olarak günde 4 kez kullanıldığında neovaskülarizasyonu anlamlı derecede azaltır (19). Topikal olarak 4 mg/ml dozunda yedi gün boyunca günde iki kez uygulandığında ratlarda korneal neovaskülarizasyonu anlamlı derecede azaltır (131).



Şekil 4: Triamsinolonun kimyasal formülü

Triamsinolon asetonid gözde birçok hastalıkta kullanılmaktadır (Tablo 3) (129)

Tablo 3. Triamsinolon Asetonidin Oftalmik Kullanımı

Ekstraoküler/perioküler

Şalazyon

Sklerit

Üveit

Vernal keratokonjunktivit

İntraoküler

Refrakter kistoid maküler ödem

Diabetik ve ven tıkanıklıklarına bağlı maküler ödem

Eksudatif maküler dejenerasyon

Vogt-Koyanagi-Harada Sendromuna bağlı seröz dekolman

Cerrahi Kullanım

Pars plana ve ön vitrektomi

1. 5. İNFLİKSİMAB

İnfliksımab (Remicade®), ortalama moleköl ağırlığı 149.100 Dalton olan şimerik IgG1κ monoklonal antikorudur. TNF-α'nın hem solubl hemde transmembranöz formlarına yüksek affinite ile bağlanır böylece reseptörlerinin TNF-α'ya bağlanmasını inhibe ederek etkisini nötralize eder. TNF-β (lenfotoksin- α)'ya bağlanmaz. TNF-α blokajı nedeniyle IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeyini azaltır, endotelyal hücre geçirgenliğinin inhibe ederek lökosit göçünün önler, lökosit ve endotelyal hücrelerden adezyon moleküllerinin sentezini inhibe eder ve nötrofil ile eozinofil aktivasyonunu engeller. İnfliksımab; fibroblast, endotel hücreleri, nötrofiller, T ve B lenfositler ve epitelyal hücrelerin bioaktivitesini inhibe eder (36).

Tedaviye refrakter üveit, Behçet hastalığı ile ilgili panüveitlerde, RA, psöriazis, sistemik vaskülitler, sarkoidoz ve Chron Hastalığında intravenöz infüzyon şeklinde kullanılır. 1-20 mg/kg dozunda, doz bağımlı olarak etki gösterir. Yarı ömrü 8-10 gündür. İntravenöz olarak 3-20 mg/kg dozları arasında uygulanan doz ile serum konsantrasyonu arasında lineer bir ilişki vardır. İlk dozu takiben ikinci ve altıncı haftalarda tekrarlayan infüzyonlar, tahmin edilebilir konsantrasyon zaman profili ile sonuçlanır. Dört ya da sekiz haftalık tedavi aralıklarında 3 mg/kg veya 10 mg/kg dozlarında sistemik birikim görülmemiştir (36).

Kronik venöz yetmezliğe bağılı cilt ülserlerinin 10 mg/ml dozunda topikal infliksımab tedavisine iyi cevap verdiği bildirilmiştir (132).

TNF-α inhibisyonu farelerde iskemik retinopatide neovaskülarizasyonu azaltır (37). Anti VEGF ilaçlara cevapsız neovasküler yaşa bağılı makula dejenerasyonunda tekrarlayan intravitreal infliksımab enjeksiyonu ile hastalarda düzelme görülmüştür (133).

Yüksek doz sistemik steroid tedavisine cevapsız periferik ülseratif keratitli yaşlı bir hastada tekrarlayan intravenöz infliksımab tedavisi ile ülserin iyileştiği bildirilmiştir (131). Yine Mooren ülserli tekrarlayan korneal perforasyonlar gelişen, konvansiyel immünsupresyon tedavisine cevapsız bir hastada intravenöz infliksımab tedavisi ile başarı sağlandığı görülmüştür (135). Bunun gibi dirençli korneal inflamatuvar hastalıklarda intravenöz infliksımab ile başarılı sonuçlar alındığını bildiren sınırlı sayıda olgu sunumları bulunmaktadır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun izni ile Göz Hastalıkları ve Patoloji Anabilim Dalı'nın katkıları ile gerçekleştirildi. Ağırlıkları ortalama 250-300 gram olan 42 adet Wistar-Albino cinsi erkek rat çalışmaya alındı. Çalışma süresince denekler Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nde uygun beslenme şartlarında ve özel kafeslerde tutuldu.

Ratlar her bir grupta 7 denek olacak şekilde randomize altı gruba ayrıldı. Ratların beslenmelerini sürdürebilmeleri için sadece sağ kornealarında kimyasal yanık oluşturuldu. Topikal tedaviye yanık işleminden 60 dakika sonra başlandı ve 7 gün devam edildi.

Gruplar:

1. grup (Kontrol): Yanık yapılmayan ve herhangi bir tedavi verilmeyen grup

2. grup (Sham): Yanık yapılan deneklere serum fizyolojikten hergün 4x1 damla damlatıldı ve 8. günde dekapite edilerek korneaları alındı.

3. grup (TA): Yanık yapılan deneklere 4 mg/ml triamsinolon asetonid (Kenacort-A 40mg/ml ampul, Bristol Myers Squibb Co, Princeton, NJ, ABD) solüsyonundan her gün 4x1 damla damlatıldı ve 8. günde dekapite edilerek korneaları alındı (19).

4. grup (İnf 5): Yanık yapılan deneklere 5 mg/ml infliksimab (Remicade 100 mg flakon; Schering Plough Co, County Cork, Ireland) solüsyonundan her gün 4x1 damla damlatıldı ve 8. günde dekapite edilerek korneaları alındı.

5. grup (İnf 10): Yanık yapılan deneklere 10mg/ml infliksimab solüsyonundan her gün 4x1 damla damlatıldı ve 8. günde dekapite edilerek korneaları alındı.

6. grup (İnf 20): Yanık yapılan deneklere 20 mg/ml infliksimab solüsyonundan her gün 4x1 damla damlatıldı ve 8. günde dekapite edilerek korneaları alındı.

2. 1. Anestezi Tekniği

Anestezi ve analjezi uygulamasında intramusküler 50 miligram/kilogram ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile 5 miligram/kilogram ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) kombinasyonu kullanıldı. İşlem öncesi

deneklerin kornealarına % 0.5'lik proparakain hidroklorid (Alcaine, Alcon, Fort Worth, Texas, ABD) damlatıldı.

2. 2. Cerrahi Teknik

Korneal yanık ve neovaskularizasyon oluşturmak için Mahoney ve Waterbury (136) tarafından tarif edilen gümüş nitrat ile koterizasyon tekniği uygulandı. Anestezi ve analjezi uygulanan kontrol grubunun dışındaki deneklerin sağ kornea santraline % 75 gümüş nitrat ve % 25 potasyum nitrat içeren (Nitrate D'argent; Botafarma, Ankara, Türkiye) kalemlle 10 saniye süresince koter yapılarak 2 milimetre genişlikte kimyasal yanık oluşturuldu. Yanık sonrası denek kornea ve forniksleri 5 cc SF ile yıkanarak artık kimyasallar uzaklaştırıldı.

Yanık skorları; oluşan yanığın kabarıklığına göre 0 (kornea yüzeyinde kabarma yok), +1 (kornea yüzeyinden hafif kabaran küçük yanık), +2 (kornea yüzeyinden orta derecede kabarmış yanık), +3 (kornea yüzeyinde büyük kabarıklık) şeklinde derecelendirildi. +2 ve üstü yanık skoru oluşan ratlar deneye dahil edildi. Deney süresi tamamlanan ratlara anestezi altında dekapitasyon ve enükleasyon uygulandı.

2. 3. Korneal Neovaskularizasyon Alanlarının Değerlendirilmesi

Rat korneaları X40 büyütmede yarıklı lamba mikroskopuna monte edilmiş Sony dijital kamera (CCD- IRIS model DXC 107 AP) kullanılarak fotoğraflandı. Neovaskularizasyon alanının tüm kornea alanına yüzdesi (neovaskularizasyon alanı X 100 / toplam kornea alanı) dijital bilgisayar imaj analizi kullanılarak hesaplandı (Topcon Image Net 2000, Itabashiku, Tokyo, Japonya) ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı (137).

2. 4. Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör İmmünohistokimyasal Boyanması

İmmünohistokimyasal boyama için kornea santralinden geçen, limbustan limbusa uzanan, yanık alanını içeren, beş mikron kalınlığında kesitler hazırlandı. Kesitler MIF kiti (Rabbit anti-MIF, Invitrogen Corporation, USA) kullanılarak otomatik immunohistokimyasal boyama cihazı (Ventana, Benchmark XT) yardımıyla boyandı.

Preparatlar Olympus marka ışık mikroskopu ile randomize olarak incelendi. Aynı mikroskobun fotoğraf ataçmanı ile dokuların ve x40 büyütmede dijital fotoğrafları çekildi. İmmünohistokimyasal boyamada MIF antikoru ile boyanan

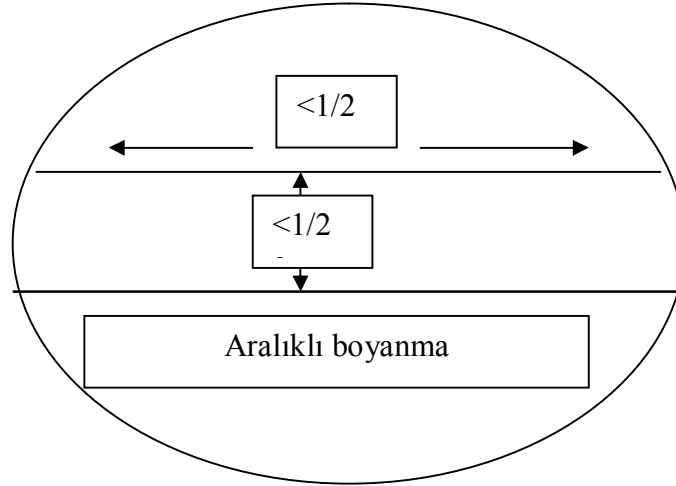
kornea epitel, stroma ve endotel hücrelerinin boyanma yaygınlık ve şiddetleri semikantitatif olarak değerlendirildi (138).

2. 5. Semikantitatif Değerlendirme (Skorlama)

Her değerlendirme x40 büyütmede ve üç ayrı kesit alanında yapıldı.

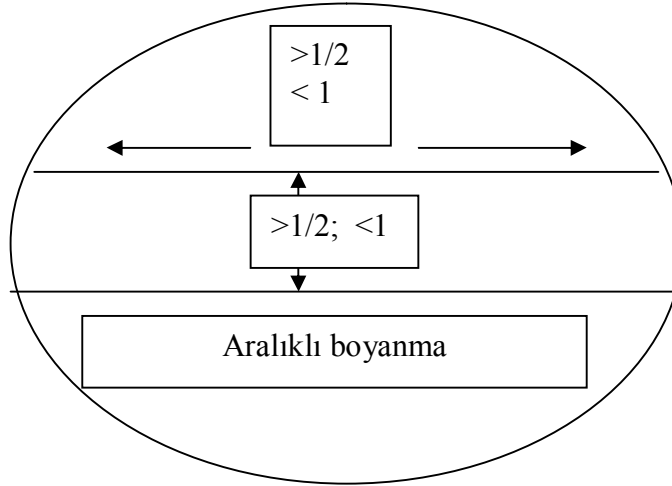
0. derece: Epitel ve stroma tabakalarında hiç boyanma olmaması

1. derece: Epitel ve stromanın hem kalınlığının hem de genişliğinin yarısından azında olan aralıklı boyanma.



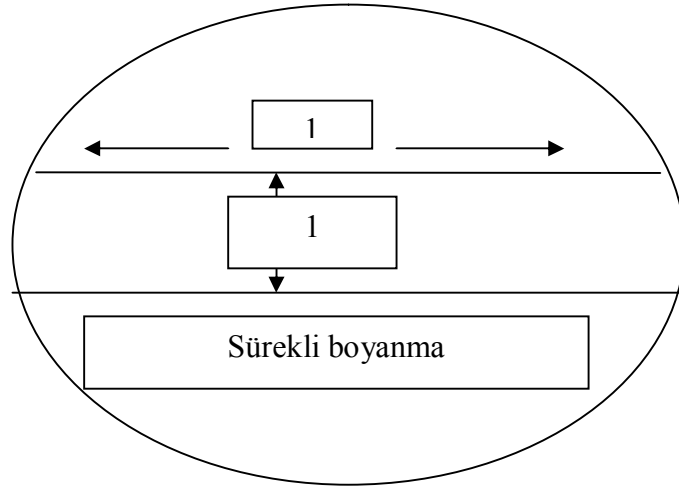
Şekil 5. Epitel ve stromada 1. derece boyanmanın şematize edilmesi

2. derece: Epitel ve stromanın hem kalınlığının hem de genişliğinin yarısından fazlasını tutan ancak, tam kat olmayan aralıklı boyanma.



Şekil 6. Epitel ve stromada 2. derece boyanmanın şematize edilmesi

3. derece: Epitel ve stromanın tüm kalınlığını ve tüm genişliğini kapsayan sürekli boyanma.



Şekil 7. Epitel ve stromada 3. derece boyanmanın şematize edilmesi

Tek sıra hücre tabakasından oluşması nedeniyle semikantitatif değerlendirme yapmanın zorluğu ve sağlıklı kornea endotelinde de MIF boyanmasının olması nedeniyle endotel tabakası değerlendirmeye alınmamıştır.

2. 6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin ortalamaları ve standart sapmaları alındı. Çalışmanın istatistiksel azalizi, Sosyal Bilimlerde İstatistik Paketi Sürüm 13 (SPSS for Windows versiyon 13) paket programı ile yapıldı. Çoklu karşılaştırma için Kruskal-Wallis varyans analizi ve gruplararası ikili karşılaştırma için Mann-Whitney U testi kullanıldı. P değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

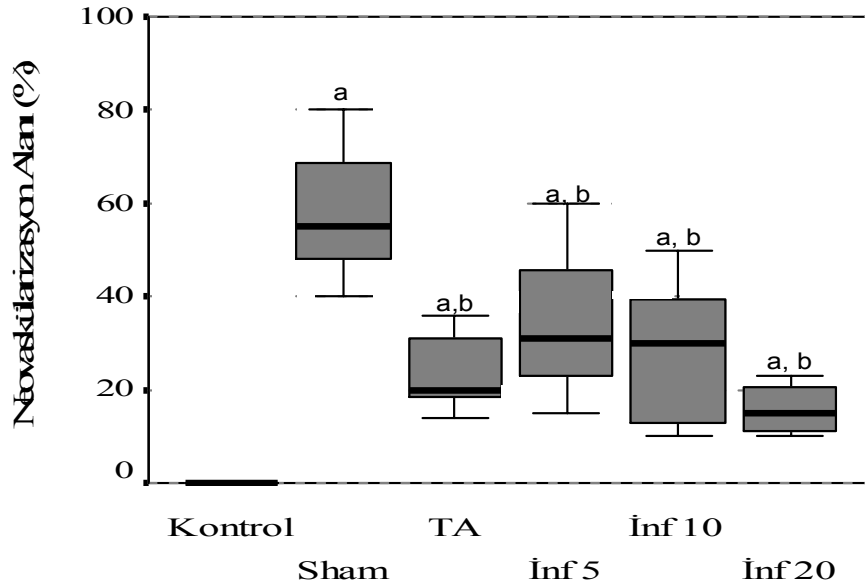
3. 1. Neovaskularizasyon Alanlarının Karşılaştırılması

Neovaskularizasyon yerleşiminin kontrol hariç tüm gruplarda ön stromanın üst ve orta kısmında olduğu tesbit edildi. Kornealardaki neovaskularizasyon alanlarının tüm kornea alanına yüzdeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olduğu görüldü ($p<0.01$).

Tablo 4. Gruplardaki neovaskularizasyon alanlarının tüm kornea alanına yüzdelерinin ortalama ve standart sapma değeri.

	Grup I Kontrol	Grup II Sham	Grup III TA 4 mg	Grup IV İnf 5mg	Grup V İnf 10mg	Grup VI İnf 20mg
Neovask. Alanı (%) (Ort.± SD)	0.00 ± 0.00	58.28 ± 15.21	26.14 ± 12.73	34.71 ± 16.87	27.85 ± 15.96	18.85 ± 12.02

Neovaskularizasyon alanının, sham ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu görülürken ($p<0.01$), tüm tedavi gruplarında sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük olduğu tesbit edildi. ($p<0.05$). Tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$).



Şekil 8. Gruplardaki neovaskularizasyon alanlarının tüm kornea alanına olan yüzdeleri.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^a $p<0.01$.

Sham grubu ile karşılaştırıldığında; ^b $p<0.05$.

3. 2. Epitel MIF İmmünohistokimyasal Boyanması

MIF immünohistokimyasal boyanması epitel katında özellikle bazal hücrelerin sitoplazmalarında yoğun idi. Tüm gruplar karşılaştırıldığında epiteldeki MIF immünohistokimyasal boyanmaları birbirlerinden farklılık gösterdi ($p<0.01$).

Tablo 5. Gruplardaki epitel MIF immünohistokimyasal boyanma skorlarının ortalama ve standart sapma değerleri

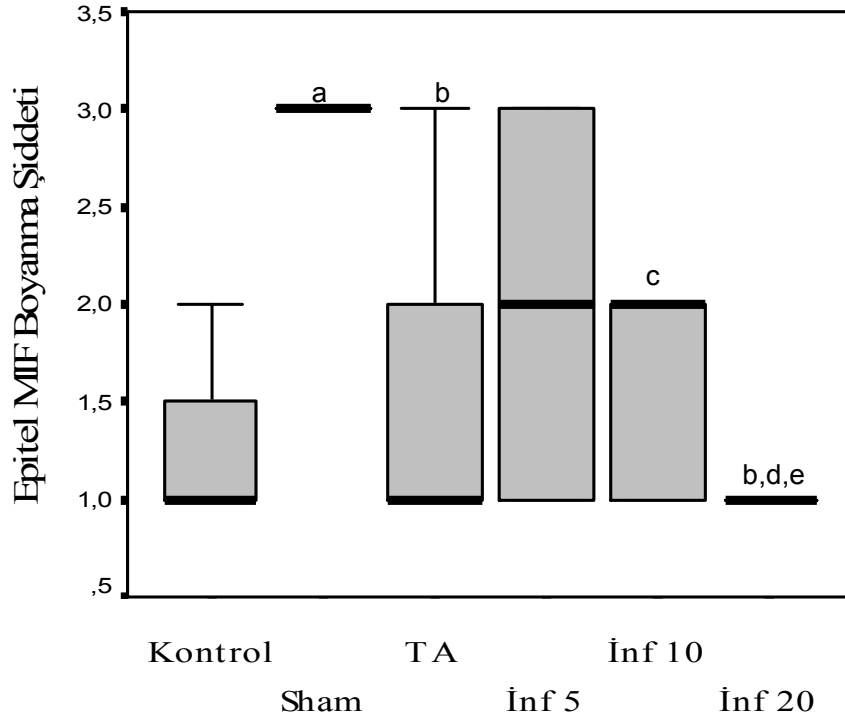
	Grup I Kontrol	Grup II Sham	Grup III TA 4 mg	Grup IV İnf 5 mg	Grup V İnf 10 mg	Grup VI İnf 20 mg
Epitel MIF Boyanma Skoru (Ort.± SD)	1.29 ± 0.48	2.86 ± 0.38	1.57± 0.79	2.00± 1.00	1.57± 0.53	1.00± 0.00

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubundaki korneaların epitel MIF immünohistokimyasal boyanmasının sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük olduğu görüldü ($p=0.01$). Grup III'teki epitel MIF boyanma düzeyi, sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük bulunurken ($p<0.01$), kontrol grubu ile farklılık saptanmadı ($p=0.49$). Grup IV'te sham grubundan daha düşük epitel MIF boyanma düzeyi tespit edilmesine rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.07$). Yine grup IV ile kontrol ve grup III arasında anlamlı fark tesbit edilmedi ($p=0.15$ ve $p=0.40$). Grup V'te sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük epitel MIF boyanma düzeyi olduğu görüldü ($p=0.02$). Grup V ile kontrol, grup III ve grup IV arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0.30$, $p=0.83$ ve $p=0.41$). Grup VI'da ise sham, grup IV ve grup V'ten anlamlı ölçüde daha düşük epitel MIF boyanma düzeyi tespit edilirken ($p<0.01$, $p=0.02$ ve $p=0.02$), kontrol ve grup III arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0.14$, $p=0.06$).

Gruplardaki kornea epitel MIF immünohistokimyasal boyanma şiddetleri aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (şekil 9).

3. 3. Stromal MIF İmmünohistokimyasal Boyanması

MIF immünohistokimyasal boyanması özellikle üst stromayı infiltre etmiş inflamatuvar hücrelerde yoğun olarak saptandı. Tüm gruplardaki stromal MIF immünohistokimyasal boyanma yoğunlukları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü ($p<0.01$).



Şekil 9. Gruplardaki epitel MIF immünohistokimyasal boyanma skorları.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^ap<0.01.

Sham grubu ile karşılaştırıldığında; ^bp<0.01, ^cp<0.05.

İnfliksımab 5 mg (İnf 5) grubu ile karşılaştırıldığında; ^dp<0.05.

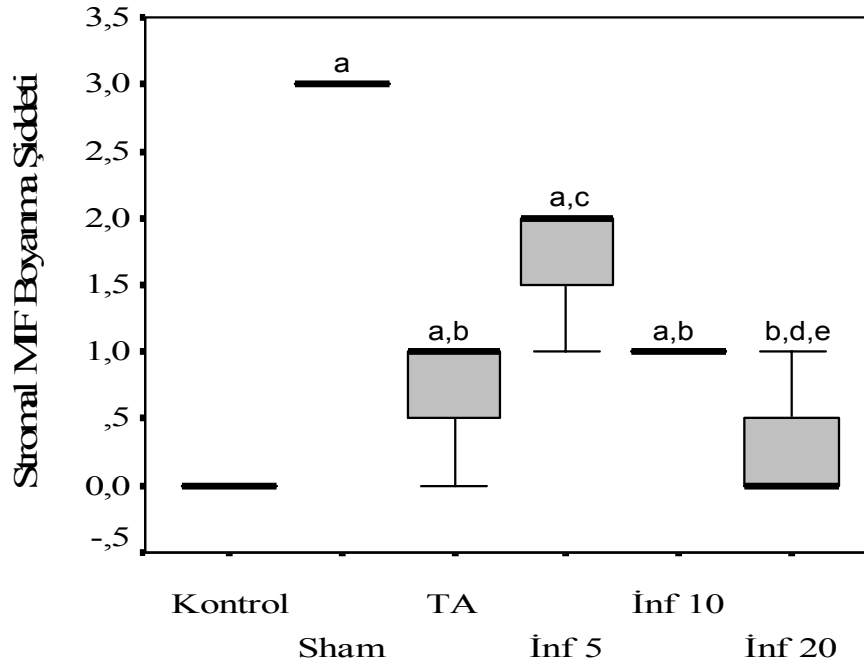
İnfliksımab 10 mg (İnf 10) grubu ile karşılaştırıldığında; ^ep<0.05.

Tablo 6. Gruplardaki stromal MIF immünohistokimyasal boyanma skorlarının ortalama ve standart sapma değerleri

	Grup I Kontrol	Grup II Sham	Grup III TA 4 mg	Grup IV İnf 5mg	Grup V İnf 10mg	Grup VI İnf 20mg
Stromal MIF Boyanma Skoru (Ort.± SD)	0.00 ± 0.00	2.71 ± 0.76	0.86± 0.69	1.71± 0.95	1.00± 0.57	0.29± 0.48

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, kontrol grubu rat kornealarındaki stromal MIF boyanma yoğunluğunun sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük olduğu bulundu ($p<0.01$). Grup III stromal MIF boyanma düzeyi sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük ($p<0.01$) ancak kontrol grubuna göre ise anlamlı olarak

daha yüksek olduğu tesbit edildi ($p<0.01$). Grup IV stromal MIF boyanma düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek ($p<0.01$) iken sham grubuna göre anlamlı düşük ($p=0.03$) ancak grup III ile arasında fark olmadığı görüldü ($p=0.07$). Grup V stromal MIF boyanma düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek ($p<0.01$) ve sham grubuna göre anlamlı düşük ($p<0.01$) tesbit edilmişken grup III ve grup IV'den farklı olmadığı izlendi ($p=0.65$, $p=0.08$). Grup VI stromal MIF boyanma düzeyi sham, grup IV ve grup V ile karşılaştırılınca anlamlı olarak daha düşük olduğu tesbit edilirken ($p<0.01$, $p=0.01$ ve $p=0.03$), grup VI stromal MIF düzeylerinin grup III ile benzer olduğu görüldü ($p=0.10$). Stromal MIF boyanma düzeyi göz önüne alınca tüm tedavi grupları içerisinde sadece grup VI'nın kontrol grubuna benzer olduğu olduğu tesbit edildi ($p=0.14$).



Şekil 10. Gruplardaki stromal MIF immünhistokimyasal boyanma skorları.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^a $p<0.01$.

Sham grubu ile karşılaştırıldığında; ^b $p<0.01$, ^c $p<0.05$.

İnfliksımab 5 mg (İnf 5) grubu ile karşılaştırıldığında; ^d $p=0.01$.

İnfliksımab 10 mg (İnf 10) grubu ile karşılaştırıldığında; ^e $p<0.05$.

Gruplardaki ratların kornea fotoğrafları aşağıda gösterilmiştir.



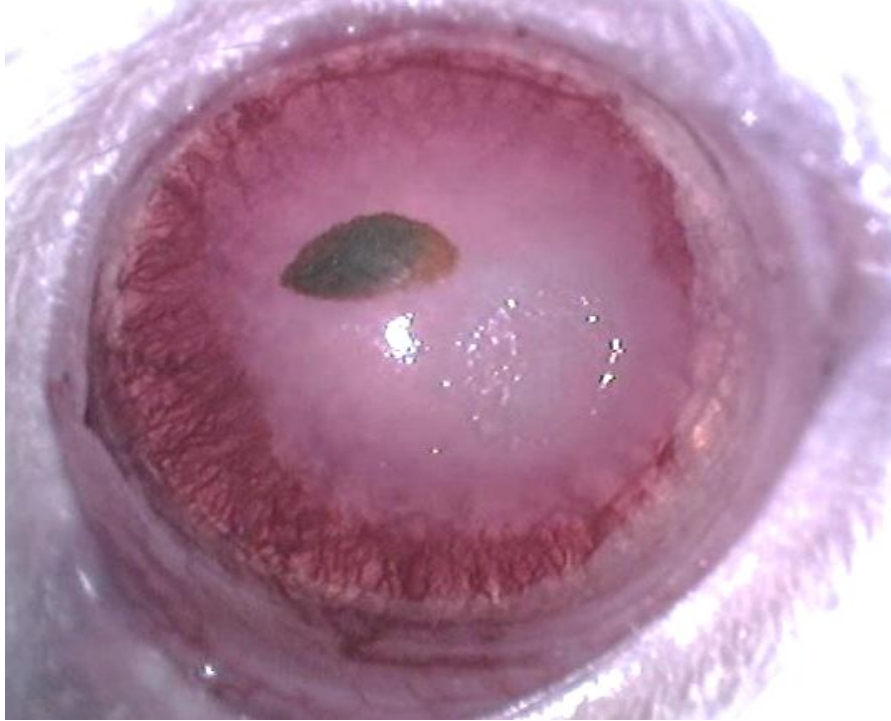
Şekil 11. Kontrol grubundaki bir denek korneası



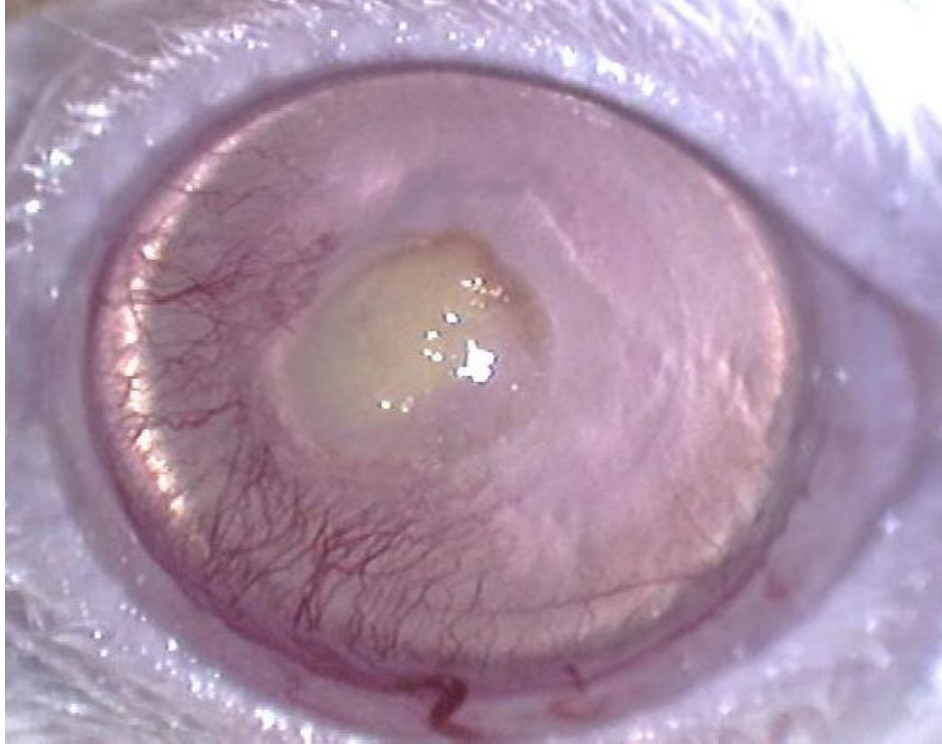
Şekil 12. Gümüş nitrat ile kimyasal yanık yapılan rat korneasının görünümü



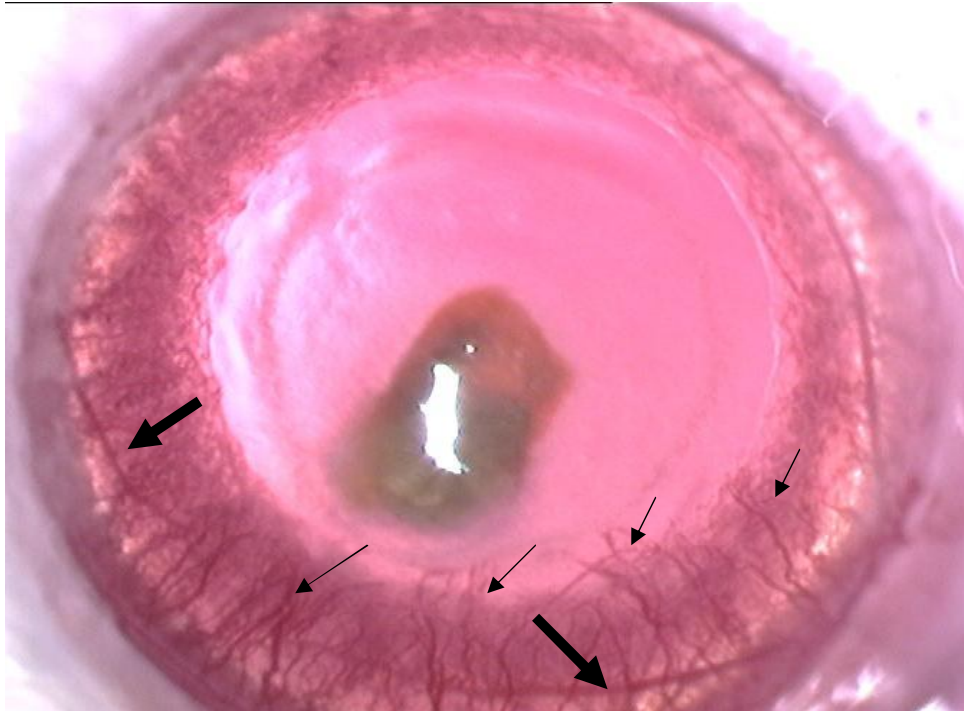
Şekil 13. Sham grubunda olan bir denekteki totale yakın kornea neovaskülarizasyonu



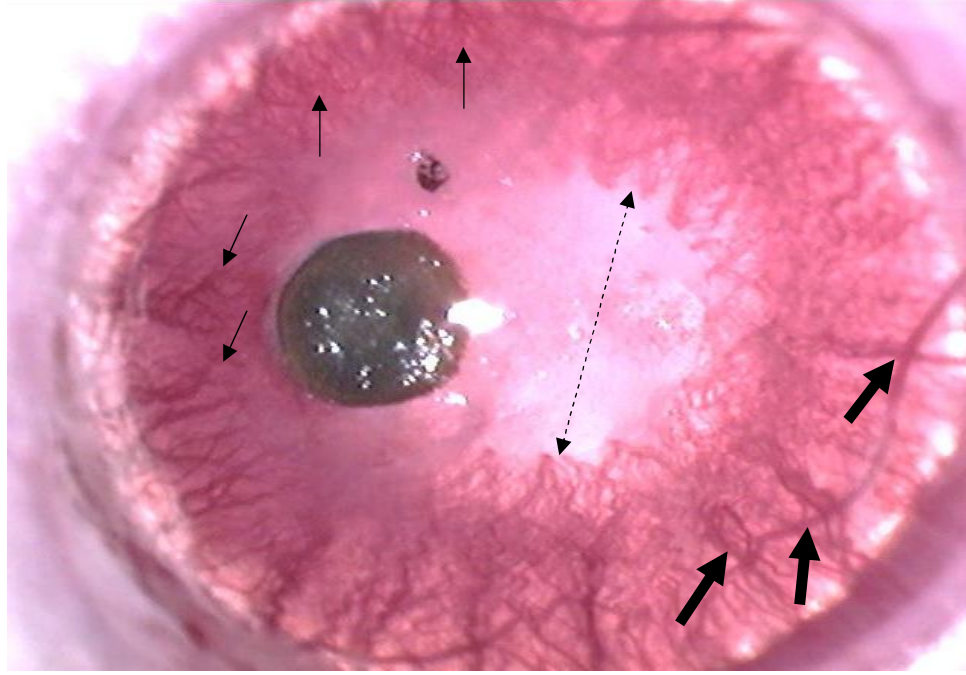
Şekil 14. Triamsinolon (TA) grubunda olan bir denekteki santral korneal ödem ve yoğun kornea neovaskülarizasyonu



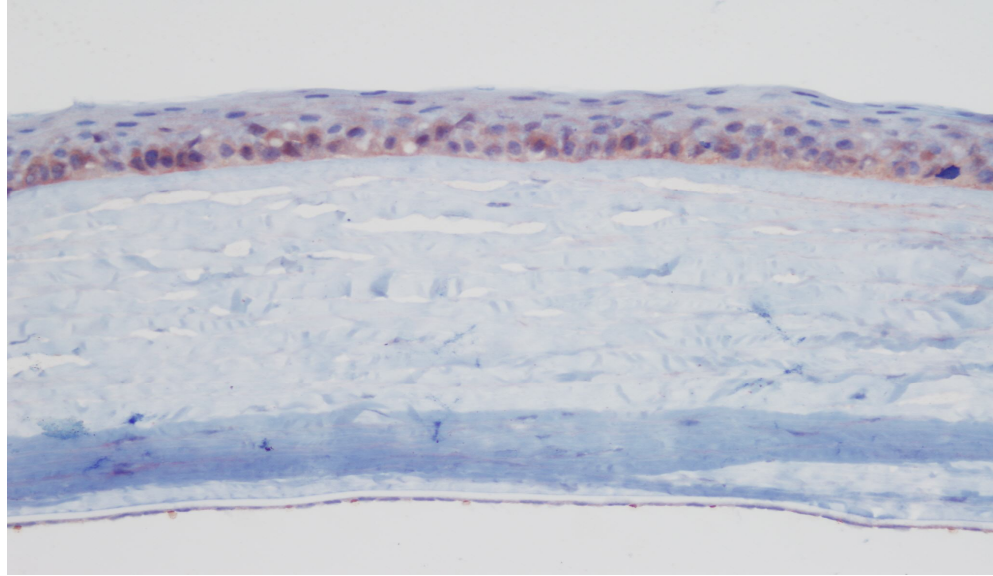
Şekil 15. İnflksimab 5 mg (İnf 5) grubunda olan bir denekteki kısmi kornea neovaskülarizasyonu izlenmektedir.



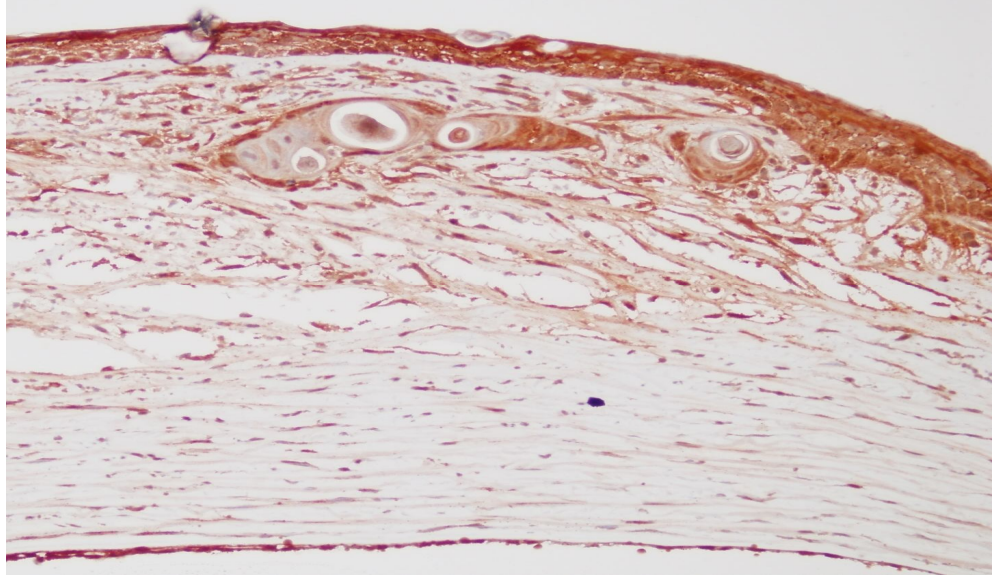
Şekil 16. İnflksimab 10 mg (İnf 10) grubunda olan bir denekteki kısmi kornea neovaskülarizasyonu izlenmektedir. İnce oklar neovaskülarizasyonları, kalın oklar albino ratın iris damarlarını göstermektedir.



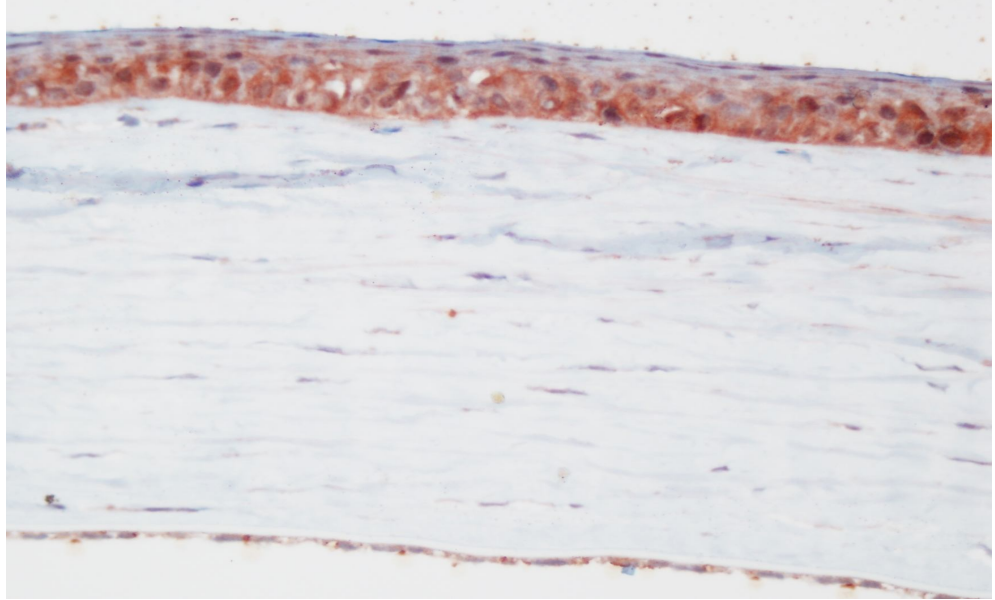
Şekil 17. İnflksimab 20 mg (İnf 20) grubunda olan bir denekteki kısmi kornea neovaskülarizasyonu izlenmektedir. İnce oklar neovaskülarizasyonları, kalın oklar albino ratın iris damarlarını ve çift taraflı çizgili ok iris kenarlarını göstermektedir.



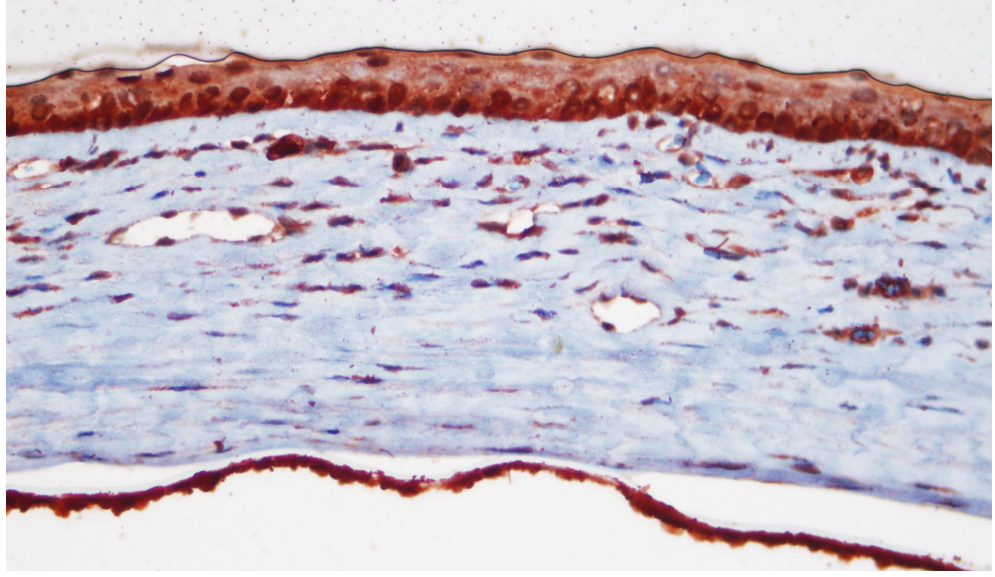
Şekil 18. Kontrol grubundaki rat korneasının MIF immünhistokimyasal boyanması. Boyanma epitelin bazal tabakalarında yoğunlaşmıştır. Skorlar; epitel: 1, stroma: 0.



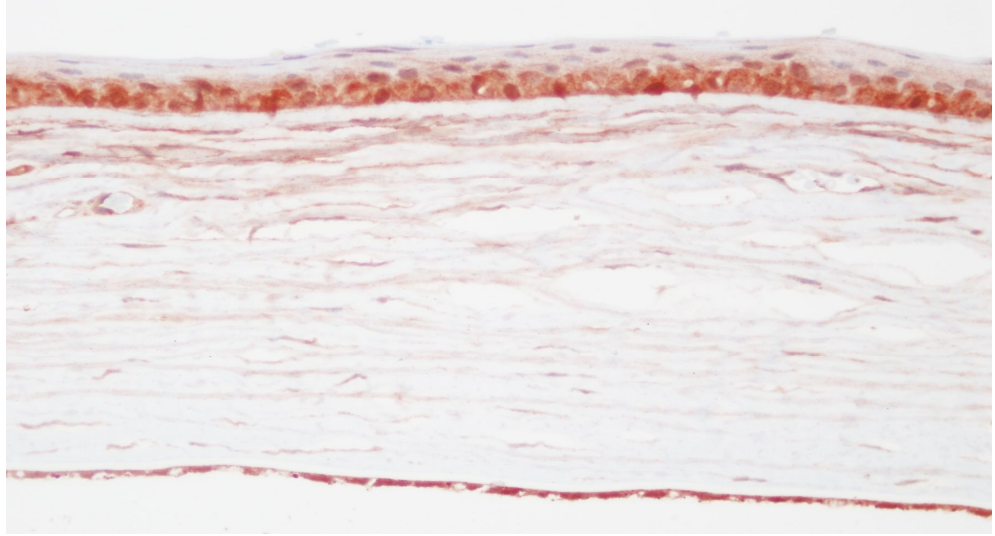
Şekil 19. Sham grubunda yanık yapılan rat korneasının MIF immünohistokimyasal boyanması. Epiteldeki hücrelerin düzenli dizilimlerinin bozulduğu görülmektedir. Stromada kalınlaşma ve düzenli yapıda bozulma mevcuttur. Skorlar; epitel: 3, stroma: 3.



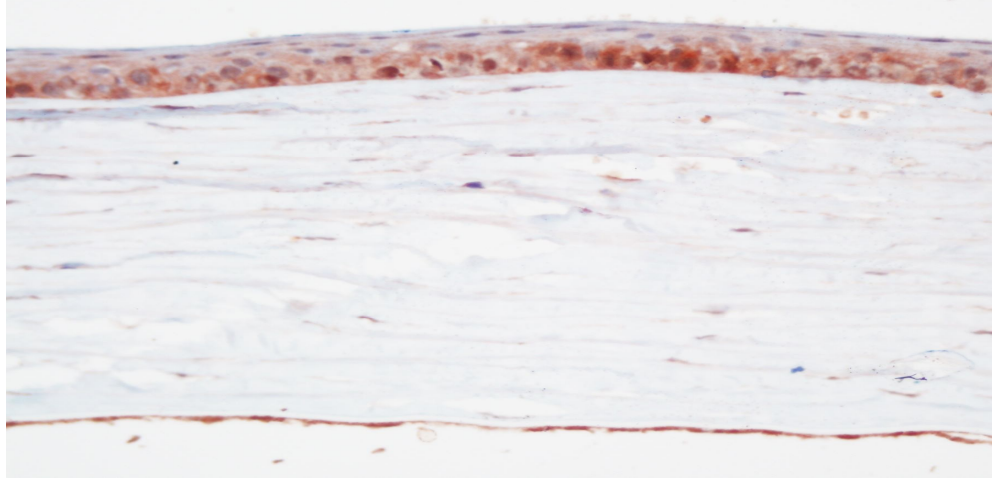
Şekil 20. Triamsinolon (TA) grubundaki bir rat korneasının MIF immünohistokimyasal boyanması. Boyanma epitelin bazal tabakalarında yoğunlaşmıştır. Skorlar; epitel: 2, stroma: 0.



Şekil 21. Topikal infliksimab 5 mg (İnf 5) tedavisi verilen bir rat korneasındaki MIF immünohistokimyasal boyanmasının görünümü. Boyanmanın özellikle epitelin bazal ve stromanın üst tabakalarında yoğunlaştığı görülmektedir. Skorlar; epitel: 2, stroma: 2.



Şekil 22. Topikal infliksimab 10 mg (İnf 10) tedavisi verilen bir rat korneasındaki MIF immünohistokimyasal boyanmasının görünümü. Boyanmanın aynı şekilde özellikle epitelin bazal ve stromanın üst tabakalarında yoğunlaştığı görülmektedir. Skorlar; epitel: 2, stroma: 1.



Şekil 23. Topikal infliksimab 20 mg (İnf 20) tedavisi verilen bir rat korneasındaki MIF immünohistokimyasal boyanmasının görünümü. Epitel ve stroma yapısının korunduğu görülmektedir. Skorlar; epitel: 1, stroma: 0.

4. TARTIŞMA

Saydam ve avasküler yapıda olan kornea, birçok etken karşısında bu özelliğini yitirir ve opak hale dönerek ışık geçişine engel olur. Kimyasal yanık, travma, kontakt lens kullanımı gibi nedenlerle oluşan hipoksi ve enfeksiyon gibi nedenler, korneada yeni damarlanma ile sonuçlanmaktadır. Korneadaki neovaskülarizasyon mevcut görmeyi tehdit etmekte kalmayıp, ileride yapılabilecek keratoplastinin prognozunu da olumsuz olarak etkilemektedir (139, 140). Görme kaybının başlıca nedenlerinden olan neovaskülarizasyonu önleyecek, durduracak veya geciktirecek tedavi yöntemlerine gereksinim vardır.

Topikal kortikosteroidler korneal damar proliferasyonunun aktif supresyonunda medikal tedavi yöntemlerinin başında gelmektedir. Kortikosteroid preparatlarından hidrokortizonun relatif anti-inflamatuvar gücü 1.0 iken, prednizonun 4.0, metilprednizolon ile triamsinolon asetonidin 5.0 ve en güçlü kortikosteroid olan deksametazonun ise 25.0'dir (129). Güçlü steroidlerin yanık sonrası rat korneasında perforasyon oluşturabilme potansiyellerinin daha fazla olması nedeniyle çalışmamızda karşılaştırma için orta etki gücüne sahip triamsinolonu tercih ettik.

Ratlarda gümüş nitrat ile oluşturulan deneysel kimyasal yanıkta, triamsinolonun 4mg/ml dozunda günde dört kez topikal uygulanması sonrası neovasküler cevapta anlamlı düşüş olduğu gösterilmiştir (19). Bizde deneyimizde topikal triamsinolonu aynı doz ve aynı sıklıkta kullandık.

Kortikosteroidler birçok inflamatuvar hastalığın tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmalarına rağmen yan etkilerinin fazla olması nedeniyle bunların kullanımını azaltacak tedavi arayışları vardır. Topikal steroidin uzamış kullanımı; mikrobiyal keratitlere, stromal incelmeğe, duyarlı bireylerde açık açılı glokoma ve katarakt oluşumuna neden olabilmektedir (20).

Çalışmamızda topikal triamsinolon ile tedavi edilen grupta, kornea neovaskülarizasyonunun sham grubundan anlamlı olarak daha düşük olduğu tesbit edildi. Triamsinolonun etki mekanizmalardan biri, kortikosteroidlerin prostaglandin sentezini inhibe etmeleri olabilir. Prostaglandinler, korneal yara iyileşmesi ve anjiogenez esnasında üretilmektedir. Fosfolipaz A2 enziminin steroidler veya siklooksijenaz enziminin steroid veya non steroid antiinflamatuvar ilaçlarla

inhibisyonunun korneada inflamasyon ve angiogenezi anlamlı derecede azalttığı bilinmektedir (141).

Bir diğer mekanizma, inflamasyon sonrası vasküler geçirgenliğin azaltılıp angiogenik faktörlerin salgılanmasına yol açacak inflamatuvar hücrelerin damar dışına çıkışının inhibe edilmesi olabilir. Kimyasal hasar sonrası korneada inflamasyon meydana gelir. İnflamasyonun ilk basamaklarında üretilen NO, damarların geçirgenliğini artırarak immün hücrelerin damar dışına geçişini sağlar. Bu immün hücrelerin ürettikleri mediatörler, angiogenik faktörleri salgılatırlar (142). Kortikosteroidlerin anti-angiogenik etkilerinin, inflamatuvar hücre göçünün engellenmesi ve pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezinin inhibisyonu gibi özelliklerine bağlı olduğu bildirilmektedir (141).

Triamsinolonun angiogenezi inhibe etmesinin bir diğer nedeni, vasküler endotelial growth faktör inhibisyonu olabilir. Deneysel hayvan modellerinde VEGF'in korneal angiogenezi güçlü biçimde uyardığı bildirilmiştir (143, 144). Ayrıca neovaskularizasyonlu kornealarda yüksek miktarda VEGF tespit edilmiş ve bunun inhibisyonunun kornea neovaskularizasyonunu güçlü biçimde azalttığı rapor edilmiştir (138). Triamsinolonun; VEGF aracılı korneal neovaskularizasyonu inhibe ederek, endostatin seviyelerini artırarak ve vazokonstriktif etki göstererek neovaskularizasyonun önlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (17, 18, 130).

Alkali yanık sonrası korneada MIF düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiş ve böylece inflamatuvar korneal neovaskularizasyonda MIF'in kritik rolü olduğu sonucuna varılmıştır (10). MIF; indüklediği lökositlerden sitokin ve medyatörler salgılanmasına yol açarak hem kendi sentezini hem de inflamasyonu artırır. İnflamasyonda rol alan sitokinlerin çoğu glukokortikoidler tarafından inhibe edilirken, MIF ekspresyonunun fizyolojik glukokortikoidler tarafından up-regüle edildiği in vivo olarak gösterilmiştir. Glukokortikoidler tarafından induksiyona uğramasına rağmen MIF direkt olarak glukokortikoidlerin etkilerini antagonize eder ve böylece bağışıklık sistemi stres anında artan glukokortikoid konsantrasyonunu sınırlandırarak varlığını devam ettirir (145).

Deneysel artritlerde endojen glukokortikoidlerin MIF salınımını kontrol ettiği ayrıca ratlarda ekzojen glukokortikoidlerin MIF up-regülasyonuna yol açtığı bildirilmiştir (145). Glukokortikoidlerin MIF salınımını indüklemeleri bifazik ve

konsantrasyon bağımlıdır. Maksimal etkinliğin, düşük fizyolojik konsantrasyonlarda gerçekleştiği bildirilmektedir (146).

Çalışmamızda triamsinolon grubunda MIF boyanma düzeyinin artmış olacağı beklenirken hem epitel hem de stromal boyanma düzeylerinin sham grubuna göre anlamlı ölçüde daha düşük olduğu görüldü. Düşük fizyolojik konsantrasyondaki steroidler tarafından indüklenirken yüksek konsantrasyonlarda inflamasyon ve inflamatuvar sitokinlerin güçlü şekilde inhibe edilmesi nedeniyle MIF indüksiyonunun önlenmiş olması çalışmamızdaki düşük MIF düzeylerinin nedeni olmuş olabilir. Bucala ve Donnelly; yüksek steroid konsantrasyonlarında MIF sekresyonunun inhibe olduğunu bildirmekte ve bu durumu aşırı inflamatuvar reaksiyonun meydana gelmesini engellemek amaçlı bir korunma mekanizması olarak yorumlamaktadırlar (147).

Bu çalışmada karşılaştırma amaçlı farklı konsantrasyonlarda triamsinolon kullanılmamış olmasına rağmen 4mg/ml dozunda ekzojen verilen triamsinolonun fizyolojik dozlardaki endojen glukortikoidlerin aksine MIF düzeylerini azalttığı düşünülmüştür.

Kimyasal yanık gibi inflamatuvar uyarılar ile kornea epiteli ve inflamatuvar hücrelerden bol miktarda TNF- α sentezlenir (6). TNF- α ; adezyon molekülleri ekspresyonunun up-regülasyonu, nötrofil aktivasyonu, kemokin sekresyonunun indüksiyonu ve NF- κ B sinyal iletim yolunun aktivasyonu gibi birçok proinflamatuvar ve immün modulatör fonksiyonların medyatörüdür (97). Normalde limbusta bulunan Langerhans hücreleri (LH), oküler yüzeyin en önemli antijen sunan hücreleridir ve immün modülasyon ile immün sessizlikte önemli rolleri vardır. Farelerde LH'nin korneaya migrasyonunun baskılanmasında topikal TNF- α blokajı etkisinin topikal steroidler kadar etkili olduğu gösterilmiştir (104). TNF- α , *in vitro* olarak anti-anjiogenik olmasına rağmen *in vivo* olarak proanjiogeniktir ve bu etkisinin VEGF indüksiyonu ve hücresel düzeyde proteazların salgılanmasının arttırılması nedeniyle olduğu gösterilmiştir (148). TNF- α , birçok sitokini uyararak neovaskülarizasyonu arttırır (7, 8).

Çalışmamızda neovaskülarizasyon alanlarının tüm tedavi gruplarında sham grubundan anlamlı ölçüde daha düşük olduğu ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü. Bu çalışmada kimyasal korneal yanıkta

neovaskularizasyonun engellenmesi amacıyla TNF- α 'nın blokajı hedeflenmiş olup kullanılan 5, 10 ve 20 mg topikal infliksimab etkinliğinin triamsinolonla benzer olduğu tesbit edildi.

Neovaskularizasyon korneanın birçok tabakasında meydana gelebilse de enflame kornealar incelendiğinde neovaskularizasyonun esas yerleşiminin anterior stromanın üst ve orta kısmı olduğu gösterilmiştir (149). Çalışmamızdaki bulgularda bu bilgilerle uyumludur.

TNF- α 'nın farklı dokularda MIF sekresyonu üzerine direkt uyarıcı etkileri olduğu gösterilmiştir. TNF ile MIF protein sekresyonu ve mRNA sentezinin önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir (150, 151). Bu nedenle anti TNF tedaviler ile MIF sekresyonunun inhibisyonu hedeflenmektedir.

Çalışmamızda 5 mg infliksimab ile sham grubundan daha düşük epitel MIF boyanması olmasına rağmen bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tesbit edildi. Aynı grupta stromal MIF boyanmasının ise sham grubundan anlamlı olarak daha düşük olması; infliksimabın bu dozdaki etkinliğinin epitel katında istenen düzeyde olmadığını düşündürmüştür. Kontrol grubu epitelinde MIF boyanmasının varlığına rağmen stromada boyanma olmaması; epitelde stromaya göre 5 mg infliksimab ile inhibe edilenden daha fazla MIF bulunduğu sonucuna varılmıştır.

İnfliksimab 10 mg dozunda kullanıldığında epitelyal boyanma açısından kontrol ve sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı etkinlik saptanmış olması infliksimabın konsantrasyonunun arttırılması ile etkinliğinin arttığını düşündürmüştür. Stromal boyanmada ise triamsinolon grubuna benzer olsa da kontrol grubu değerlerine ulaşılammış olması, kornea epitelinin bariyer etkisi nedeniyle 10 mg dozunda stromaya yeterli penetrasyon olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak 20 mg infliksimab ile kontrol grubuna benzer epitel ve stromal MIF boyanma düzeylerinin elde edilmesi, bu dozda stromal penetrasyonun daha iyi olduğu ve en etkili topikal konsantrasyonun 20 mg olduğunu göstermiştir. Stromal etkinlik bu dozda triamsinolondan bile daha etkili bulunmuştur.

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör boyanması açısından tedavi grupları arasında farklılık oluşmasına rağmen neovaskularizasyonun tedavi grupları arasında benzer olması, neovaskularizasyonun patolojik tabiatının tedavi ile durdurulurken

korneada MIF'in fizyolojik salınımının tedavi esnasında da devam ediyor olması olabilir.

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, oküler inflamasyon patofizyolojisinde ve korneal anjiogenezde önemli role sahiptir (107). MIF'in proinflamatuvar rolü için çeşitli mekanizmalar öne sürülmektedir. Sitokin salınımı ve nitrik oksit yapımını arttırması gibi makrofaj kaynaklı etkileri olduğu bilinmektedir (10). Gregory ve arkadaşları, MIF'in inflame mikrosirkülasyondaki lokosit ve endotelyal hücreler arasındaki etkileşimi direkt olarak uyardığını göstermişlerdir (152). Monosit ve makrofajlar, VEGF gibi anjiogenik faktörlerin salınımına yola açarak anjiogenezi güçlü şekilde uyarırlar. MIF'in, VEGF ve İL-8 gibi anjiogenik faktörlerin ekspresyonuna yol açtığı bildirilmiştir (153). Anti-MIF tedavi stratejilerinin amacı, inflamasyonun baskılanması ve endojen olarak salınan glukokortikoidlerin immüsupresif ve antiinflamatuvar etkilerinin arttırılması ve böylece çeşitli inflamatuvar hastalıklarda steroid ihtiyacının azaltılmasıdır (154).

Çalışmamızdaki korneal immünohistokimyasal boyanma özellikleri irdelendiğinde kontrol rat kornealarının özellikle epitel tabakasında MIF boyanmasının olduğu görüldü. Daha önce yapılan çalışmalarında sağlıklı insan korneasında bazal epitelyal hücreler, endotelyal hücreler, iris, lens ve silyer cisim epitelyumunda MIF boyanması izlenmiş ve MIF'in hücrel diferansiasyonda rolü olduğu bildirilmiştir (105, 155). Yine başka çalışmalarda MIF'in MAPK/ERK yolağını aktive ederek hücrel proliferasyon ve surveyin düzenlenmesinde rolü olduğu ayrıca COX-2/PGE2 yolağı üzerinden p53 tümör baskılayıcı aktiviteyi inhibe ederek hücrel büyümeyi uyardığı ve apopitozu önlemede rolü olduğu gösterilmiştir (156, 157). MIF varlığına karşın normal kornealarda vaskülarizasyon olmaması potent antianjiogenik faktörlerin, MIF'in anjiogenik aktivitesini baskılamasına bağlı olabilir. Bu antianjiogenik faktörlerin kısmen korneal, daha yoğun bir biçimde limbal epitel hücreleri tarafından üretildiği düşünülmektedir.

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör immünohistokimyasal boyanması özellikle epitel katının bazal hücre sitoplazmalarında ve üst stromayı infiltre etmiş inflamatuvar hücrelerde yoğun idi. Yüzey epitel hücrelerinde MIF sekresyonunun daha az olması, bu hücrelerin yüzeye doğru yaklaştıkça inceliyor yassılaşıyor sitoplazmik organellerini ve/veya aktivitelerini kaybetmelerine bağlı olabilir.

Stromadaki MIF immünohistokimyasal boyanmasının daha çok üst yarıda yoğunlaşmış olduğu saptandı. Çalışmamızda kontrol grubundaki ratların kornea stromalarında ise herhangi bir MIF immünohistokimyasal boyanması izlenmedi.

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör; diferansiyasyon, immünite, inflamasyon ve neovaskülarizasyonda kritik rolü olan ve steroidlerin antiinflamatuvar etkilerini inhibe eden ayrıca birçok inflamatuvar ve immün hastalık patofizyolojisinde rolü olan güçlü proinflamatuvar bir sitokindir. İnflamatuvar hastalıkların efektif tedavisi için MIF inhibitörleri potansiyel tedavi seçenekleri olabilir. Bu ajanlar inflamasyonu baskılamakta steroid kullanımından da tasarruf sağlarlar. Böylece uzun süreli ve yüksek dozda steroid kullanımına sekonder yan etkilerin önüne geçilmiş olur.

Çalışmamızda MIF sentezini uyaran en önemli sitokin olan TNF'yı bloke ederek MIF düzeylerini baskılamayı hedefledik ve bu amaçla uzun etkili anti-TNF ajan olan infliksimabı farklı dozlarda topikal olarak kullandık. İnfliksimab, neovaskülarizasyon ve inflamasyon sürecinde ortak görev alan TNF- α ve MIF üretimini azaltarak doğrudan ve/veya dolaylı olarak korneal inflamasyon ve anjiogenezi engellemiş olabilir.

İnfliksimab, inflamasyon ve neovaskülarizasyonda rolü olan sitokinlerin çoğunu inhibe ederek anjiogenezin önlenmesine katkıda bulunabilir. Önemli proinflamatuvar sitokinlerden olan TNF- α ve MIF'in inhibisyonu, inflamasyon ve neovaskülarizasyonun önlenmesi için temel hedeflerdir. Bu çalışmada kimyasal yanık yapılan rat kornealarında hem MIF immünohistokimyasal boyanmasının hem de neovaskülarizasyonun önlenmesinde topikal triamsinolonun etkin olduğu görülmüş ve 10 mg dozunda topikal infliksimab etkisinin buna benzer iken 20 mg dozundaki etkisinin triamsinolondan bile daha üstün olduğu tesbit edilmiştir. Bu dozlarda infliksimabın yan etkileri oldukça fazla olan kortikosteroidlere önemli bir alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır.

8. KAYNAKLAR

1. Zhang SX, Ma JX. Ocular neovascularization: Implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Prog Retin Eye Res* 2007; 26: 1-37.
2. T. Reinhard, D.F.P. Larkin. *Cornea and External Eye Disease* 2006; 7: 83-84.
3. Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol* 1997; 41: 275-313.
4. Klenkler B, Sheardown H. Growth factors in the anterior segment: role in tissue maintenance, wound healing and ocular pathology. *Exp Eye Res* 2004; 79: 677-688.
5. Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 45: 203-210.
6. Saika S. Yin and yang in cytokine regulation of corneal wound healing: roles of TNF- α . *Cornea*. 2007; 26: 70-74.
7. Griffioen AW, Molema G. Angiogenesis: potentials for pharmacologic intervention in the treatment of cancer, cardiovascular diseases and chronic inflammation. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 237-268.
8. Hayahi T, Matsuoko K, Saitoh M, Takeda S, Kimura M. Influence of α -tumor necrosis factor and β -interleukin-1 on production of angiogenetic factors and thymidine phosphorylase activity in immortalized human decidual fibroblasts in vitro. *J. Obstet. Gynaecol Res* 2006; 32:15-22.
9. Matsumoto K, Maruyama N, Maruyama T, Ohnishi Y, Nonaka S, Inoshita A et al. Elevated macrophage migration inhibitory factor (MIF) levels in the urine of patients with focal glomerular sclerosis. 2004 British Society for Immunology. *Clin Exp Immunol* 2005; 139: 338-347.
10. Usui T, Yamagami S, Kishimoto S, Seiich Y, Nakayama T, Amano S. Role of macrophage migration inhibitory factor in corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 3545-3550.
11. Mendelsohn AD, Lo GG, Stock EL. Laser photocoagulation of feeder vessels in lipid keratopathy. *Ophthalmic Surg* 1986; 17: 502-508.
12. Goto S. Q-switched Nd:YAG laser treatment for corneal neovascularization. *Jpn J Ophthalmol*. 1992; 36: 291-300.
13. Yoon KC, You IC, Kang IS, ImSK, Ahn JK, Park YG, Ahn KY. Photodynamic therapy with verteporfin for corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 2007; 144: 390-395.

14. Haynes WL, Proia AD, Klintworth GK. Effect of inhibitors of arachidonic acid metabolism on corneal neovascularization in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1588–1593.
15. Rochels R. Animal experiment studies on the role of inflammation mediators in corneal neovascularization. *Doc Ophthalmol* 1984; 57: 215–262.
16. Sala A, Zarini S, Bolla M. Leukotrienes: lipid bioeffectors of inflammatory reactions. *Biochemistry (Mosc)* 1998; 63: 84–92.
17. Ebrahim Q, Minamoto A, Hoppe G, Anand-Apte B, Sears JE. Triamcinolone Acetonide Inhibits IL-6– and VEGF-Induced Angiogenesis Downstream of the IL-6 and VEGF Receptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 4935-4941.
18. Tatar O, Shinoda K, Kaiserling E, Pertile G, Eckardt C, Mohr A et al. Early effects of triamcinolone on vascular endothelial growth factor and endostatin in human choroidal neovascularization. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 193-199.
19. Erdurmus M, Yagci R, Yilmaz B, Hepser IF, Turkmen C, Aydin B, Karadag R. Inhibitory effects of topical thymoquinone on corneal neovascularization. *Cornea* 2007; 26: 715-719.
20. Baratz KH, Hattenhauer MG. Indiscriminate use of corticosteroid-containing eyedrops. *Mayo Clin Proc* 1999; 74: 362-366.
21. Benelli U, Ross J, Nardi M, Klintworth GK. Corneal neovascularization induced by xenografts or chemical cautery. Inhibition by cyclosporin A. *Invest Opht Vis Sci* 1997; 38: 274-282.
22. Wu PC, Liu CC, Chen C, Kou HK, Shen SC, Lu CY, et al. Inhibition of experimental angiogenesis of cornea by somatostatin. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003; 241: 63-69.
23. Demir T, Celiker UO, Kukner A, Mogulkoc R, Celebi S, Celiker H. Effect of Octreotide on experimental corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; 77: 386-390.
24. Murata M, Nakagawa M, Takahashi S. Inhibitory effects of plasminogen fragment on experimentally induced neovascularization of rat corneas. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997; 235: 584-586.
25. Oztürk F, Kurt E, Cerçi M, Emiroglu L, Inan U, Türker M, Ilker S. The effect of propolis extract in experimental chemical corneal injury. *Ophthalmic Res* 2000; 32: 13-18.
26. Benelli U, Bocci G, Danesi R, Lepri A, Bernardini N, Bianchi F, et al. The heparan sulfate sulfoparoid inhibits rat corneal angiogenesis and in vitro neovascularization. *Exp Eye Res* 1998; 67: 133-142.
27. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4082-4085.

28. Bocci G, Danesi R, Benelli U, Innocenti F, Di Paolo A, Fogli S, Del Tacca M. Inhibitory effect of suramin in rat models of angiogenesis in vitro and in vivo. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999; 43: 205-212.
29. Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleischmann G, Hase T, Montesano R, Schweigerer L. Genistein, a dietary-derived inhibitor of in vitro angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2690–2694.
30. Kwon YS, Hong HS, Kim JC, Shin JS, Son Y. Inhibitory effect of rapamycin on corneal neovascularization in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46: 454-460.
31. Ambati BK, Jousseaume AM, Ambati J, Moromizato Y, Guha C, Javaherian K, et al. Angiostatin inhibits and regresses corneal neovascularization. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 1063-1068.
32. Jousseaume AM, Kruse FE. Topical application of methotrexate for inhibition of corneal angiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237: 920-927.
33. Bahar Irit, Kaiserman I. Subconjunctival Bevacizumab Injection for Corneal Neovascularization. *Cornea* 2008; 27: 142-147.
34. Reis A, Reinhard T, Sundmacher R, Braunstein S, Godehardt E. A comparative investigation of FK506 and cyclosporin A in murine corneal transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1998; 236: 785-789.
35. Güler M, Yilmaz T, Ozercan I, Elkiran T. The inhibitory effects of trastuzumab on corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol.* 2009;147: 703-708.
36. Centacor Inc. Prescribing information for Remicade for IV injection. Malvern (PA), USA; Nov 1999.
37. Gardiner TA, Gibson DS, de Gooyer TE, de la Cruz VF, McDonald DM, Stitt AW. Inhibition of Tumor Necrosis Factor- Improves Physiological Angiogenesis and Reduces Pathological Neovascularization in Ischemic Retinopathy. *Am J Pathol* 2005; 166: 637-644.
38. Gordon RA, Donzis PB. Refractive development of the human eye. *Arch Ophthalmol* 1985; 103: 785-789.
39. Arfa RC. Grayson's Disease of the Cornea. St. Louise: Mosby Year Book 1991; 2: 25-32.
40. Özçetin H. Klinik Göz Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri 2003; 4: 62-63.
41. Robert L, Legeais JM, Robert AM, Regard G. Corneal collogens. *Pathol Biol* 2001; 49: 353-363.

42. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 1985; 4: 671-677.
43. Agarwal S. *Textbook of Ophthalmology*. 1. Baskı. New Delhi: Jaypee Company 2002; 3: 942-943.
44. Sevel D, Isaacs R. A re-evaluation of corneal development. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1998; 86: 178-207.
45. İrkeç MK. Gözyaşı tabakasının yapısı, biyokimyası, immünolojisi ve kontakt lensler. *Oftalmoloji* 1994;1:18-20.
46. Efron N, Carney LG Oxygen levels beneath the closed eyelid. *Invesy Ophthalmol Vis Sci* 1979; 18: 93-100.
47. Newell FW. Anatomy of the cornea. *Ophthalmology, Principles and Concepts* 1992; 13: 8-13.
48. Bazan HE, King WD, Rossowska M. Metabolism of phosphoinositides and inositol polyphosphates in rabbit corneal epithelium. *Curr Eye Res* 1985; 4: 793-801.
49. Bonanno JA. Identity and regulation of ion transport mechanisms in the corneal endotehelium. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22: 69-94.
50. Agrawal VB, Tsai RJ. Corneal epithelial wound healing. *Indian J Ophthalmol* 2003; 51: 5-15.
51. Zeiske JD, Gipson IK. Protein synthesis during corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 1-7.
52. Akyol N. Kontakt Lensler ve Uygulanması. *Türk Oftalmoloji Derneği Eğitim Yayınları* 2005; 2: 7-25.
53. Dua HS, Gomes JA, Singh A. Corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol* 1994; 78: 401-408.
54. Lu PC, Ye H, Maede M, Azar DT. Immunolocalization and gene expression of matrilysin during corneal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 20-27.
55. Dowd CJ, Cooney CL, Nugent MA. Heparan sulfate mediates bFGF transport through basement membrane by diffusion with rapid reversible binding. *J Biol Chem* 1999; 74: 5236-5244.
56. Suzuki K, Tanaka T, Enoki M, Nishida T. Coordinated reassembly of the basement membrane and junctional proteins during corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2495-2500.

57. Jester JV, Petrol WM, Cavanagh HD. Corneal stromal wound healing in refractive surgery: the role of myofibroblasts. *Prog Retina Eye Res* 1999; 18: 311-356.
58. Dua HS, Forrester JV. Clinical patterns of corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol* 1987; 104: 481-489.
59. Philipp W, Göttinger W. Leukocyte adhesion molecules in diseased corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34: 2449-2459.
60. Kaufman HE, Barron AB, McDonald MB, Waltman SR. Corneal trauma. *The Cornea* 1991; 22: 599-642.
61. Auerbach W, Auerbach R. Angiogenesis inhibition: A review. *Pharmacol Ther* 1994; 63: 265-280.
62. Petroustos G, Guimaraes R, Giraud J, Poliques Y. Antibiotics and corneal epithelial wound healing. *Arch Ophthalmol* 1983; 101: 1775-1778.
63. Phillips K, Arffa R, Cintron C, Rose, Miller D, Kublin C, Kenyon KR. Effects of prednisolone and medroxyprogesterone on corneal wound healing, ulceration and neovascularization. *Arch Ophthalmol* 1983; 101: 640-643.
64. Peyman GA, Sanders DR, Goldberg MF. Wound healing. *Principles and practice of ophthalmology* 1980; 381-386.
65. Watanabe K, Frangieh G, Reddy CV, Kenyon KR. Effect of fibronectin on corneal epithelial wound healing in the vitamin A-deficient rat. *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 2159-2162.
66. Nishida T, Nakagawa S, Awata T, Ohashi Y, Watanabe K, Manabe R. Fibronectin promotes epithelial migration of cultured rabbit cornea in situ. *J Cell Biol* 1983; 97: 1653-1657.
67. Frangieh G, Hayashi K, Teekhasaene C, Wolf G, Colvin RB, Gibson HK, Kenyon KR. Fibronectin and corneal epithelial wound healing in the vitamin-A deficient rat. *Arch Ophthalmol* 1989; 107: 567-571.
68. Nishida T, Nakamura M, Mishima H, Otori T. Differential modes of action of fibronectin and EGF on rabbit corneal epithelial migration. *J Cell Physiol* 1990; 145: 549-554.
69. Nishida T, Nakamura M, Mishima M, Otori T, Hikida M. Interleukin-6 facilitates corneal epithelial wound closure in vivo. *Arch. Ophthalmol* 1992; 110: 1292-1294.
70. Ubels JL, Edelhauser HF, Austin KH. Healing of experimental corneal wounds treated with topically applied retinoids. *Am J Ophthalmol* 1983; 95: 353-358.

71. Jones, SM, Kazlauskas A. Connecting signaling and cell cycle progression in growth factor-stimulated cells. *Oncogene* 2000; 19: 5558-5567.
72. Schultz G, Khaw PT, Oxford K, MaCauley S, Van Setten G, Chegini N. Growth factors and ocular wound healing. *Eye* 1994; 8: 184-187.
73. Chung JH, Fagerholm P. Treatment of rabbit corneal alkali wounds with human epidermal growth factor. *Cornea* 1989; 8: 122-128.
74. Wilson SE, Schultz GS, Chegini N, Weng J, He YG. Epidermal growth factor, transforming growth factor alpha, transforming growth factor beta, acidic fibroblast growth factor, basic fibroblast growth factor, and interleukin-1 proteins in the cornea. *Exp Eye Res* 1994; 59: 63-72.
75. Honma Y, Nishida K, Sotozono C, Kinoshita S. Effect of transforming growth factor-beta1 and -beta2 on in vitro rabbit corneal epithelial cell proliferation promoted by epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, or hepatocyte growth factor. *Exp Eye Res* 1997; 65: 391-396.
76. Song QH, Klepeis VE, Nugent MA, Trinkaus-Randall. TGF-beta1 regulates TGF-beta1 and FGF-2 mRNA expression during fibroblast wound healing. *Mol Pathol* 2002; 55: 164-176.
77. Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, Ambrósio RJr, Hong JW, Lee J. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res* 2001; 20: 625-637.
78. Rubin JS, Osada H, Finch PW, Taylor WG, Rudikoff S, Aaronson SA. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1989; 86: 802-806.
79. Sotozono C, Kinoshita S, Kita M, Imanishi J. Paracrine role of keratinocyte growth factor in rabbit corneal epithelial cell growth. *Exp Eye Res* 1994; 59: 385-392.
80. Li D, Tseng SC. Differential regulation of keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor/scatter factor by different cytokines in human corneal and limbal fibroblasts. *J Cell Physiol* 1997; 172: 361-372.
81. Wilson SE, Chen L, Mohan RR, Liang Q, Liu J. Expression of HGF, KGF, EGF and receptor Messenger RNAs following corneal epithelial wounding. *Exp Eye Res* 1999; 68: 377-397.
82. Wilson SE, Liu JJ, Mohan RR. Stromal-epithelial interactions in the cornea. *Prog Retina Eye Res* 1999; 18: 293-309.
83. Grierson I, Heathcote L, Hiscott P, Hogg P, Briggs M, Hagan S. Hepatocyte growth factor/scatter factor in the eye. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19: 779-802.

84. Tervo T, Vesaluoma M, Bennett GL, Schwall R, Helena M, Liang Q, Wilson SE. Tear hepatocyte growth factor (HGF) availability increases markedly after excimer laser surface ablation. *Exp Eye Res* 1997; 64: 501-504.
85. Jester JV, Huang J, Petroll WM, Cavanagh HD. TGF beta induced myofibroblast differentiation of rabbit keratocytes requires synergistic TGF beta, PDGF and integrin signaling. *Exp Eye Res* 2002; 75: 645-657.
86. You L, Kruse FE, Vilcker HE. Neurotrophic factors in the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 692-702.
87. Lambiase A, Rama P, Bonini S, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *N Engl J Med* 1988; 338: 1174-1180.
88. Saghizadeh M, Chwa M, Aoki A, Lin B, Pirouzmanesh A, Brown DJ, Ljubimov AV, Kenney MC. Altered expression of growth factors and cytokines in keratoconus, bullous keratopathy and diabetic human corneas. *Exp Eye Res* 2001; 73: 179-189.
89. Sotozono C, He J, Matsimoto Y, Kita M, Imanishi J, Kinoshita S. Cytokine expression in the alkali-burned cornea. *Curr Eye Res* 1997; 16: 670-76.
90. Nishida T, Nakamura M, Mishima H, Otori T. Interleukin 6 promotes epithelial migration by fibronectin-dependent mechanism. *J Cell Physiol* 1992; 153: 1-5.
91. Boisjoly HM, Laplante C, Bernatchez SF, Salesse C, Giasson M, Joly MC. Effects of EGF, IL-1 and their combination on in vitro corneal epithelial wound closure and cell chemotaxis. *Exp Eye Res* 1993; 57: 293-300.
92. Tran MT, Tellaetxe-Isusi M, Elnor V, Strieter RM, Lausch RN, Oakes JE. Proinflammatory cytokines induce RANTES and MCP-1 synthesis in human corneal keratocytes but not corneal epithelial cells. Beta-chemokine synthesis in corneal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 987-96.
93. Sotozono C. Second injury in the corneal. The role of inflammatory cytokines in corneal damage and repair. *Cornea* 2000; 19: 155-159.
94. Denekamp J. Vasculature as a target for tumor therapy. In: Hammerson F, Hudlicka O, eds. *Progress in Applied Microcirculation*. Basel: Karger, 1984; 28.
95. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671-674.
96. Burger PC, Chandler DB. Experimental corneal neovascularization; biomicroscopic, angiographic and morphologic correlation. *Cornea* 1985; 4: 35-41.
97. Cogan DG. Corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1962; 1: 253-261.

98. Lee P, Wang CC. Ocular neovascularization; an epidemiologic review. *Surv Ophthalmol* 1998; 48: 245-269.
99. Vailhe B, Vittet D, Feige JJ. In vitro models of vasculogenesis and angiogenesis. *Lab Invest* 2001; 81: 439-452.
100. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest* 1987; 57: 673-686.
101. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 267-285.
102. Zengin N, Okudan S, Gündüz K. Oküler neovaskularizasyonunda büyüme faktörlerinin rolü. *Oftalmoloji* 1993; 3: 385-389.
103. Gündüz A, Er H. Sitokinler ve oftalmolojideki yerleri. *Turkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2000, 9: 53-58.
104. Dana R. Comparison of topical interleukin-1 vs tumor necrosis factor-alpha blockade with corticosteroid therapy on murine corneal inflammation, neovascularization, and transplant survival. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2007; 105: 330-343.
105. Matsuda A, Tagawa Y, Matsuda H, Nishihira J. Expression of macrophage migration inhibitory factor in corneal wound healing in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 1555-62.
106. Javeed A, Zhao Y, Zhao Y. Macrophage-migration inhibitory factor: role in inflammatory diseases and graft rejection. *Inflamm Res.* 2008; 57: 45-50.
107. Taguchi C, Sugita S, Tagawa Y, Nishihira J, Mochizuki M. Macrophage migration inhibitory factor in ocular fluids of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1367-1371.
108. Thakur A, Xue ML, Wang W, Lloyd A, Wakefield D, Willcox MD. Expression of macrophage migration inhibitory factor during *Pseudomonas* keratitis. *Clin Experiment Ophthalmol* 2001; 29: 179-182.
109. Onodera S, Suzuki K, Matsuno T, Kaneda K, Takagi M, Nishihira J (1997) Macrophage migration inhibitory factor induces phagocytosis of foreign particles by macrophages in autocrine and paracrine fashion. *Immunology* 92: 131-137.
110. Cunha FQ, Weiser WY, David JR, Moss DW, Moncada S, Liew FY. Recombinant migration inhibitory factor induces nitric oxide synthase in murine macrophages. *J Immunol* 1993; 50: 1908-12.

111. Leilani L. Santos and Eric F. Morand. The role of macrophage migration inhibitory factor in the inflammatory immune response and rheumatoid arthritis. *Wien Med Wochenschr* 2006; 156: 11–18.
112. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235: 442-444.
113. Dorey CK, Aouididi S, Reynaud X, Dvorak H, Brown LF. Correlation of vascular permeability factor with extraretinal neovascularization in the rat. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 1210-1217.
114. Korpelainen EI, Alitalo K. Signaling angiogenesis and lymphangiogenesis. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10: 159-164.
115. Soubrane G, Jerdan J, Karpouzas I, Fayein NA, Glaser B, Coscas G, et al. Binding of basic fibroblast growth factor to normal and neovascularized rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990, 31: 323-333.
116. Grant MB, Mames RN, Fitzgerald C, Ellis EA, Aboufrikha M, Guy J. Insulin-like growth factor I acts as an angiogenic agent in rabbit cornea and retina: comparative studies with basic fibroblast growth factor. *Diabetologia* 1993; 36: 282-291.
117. Singh N, Macnamara E, Rashid S, Ambati J, Kontos CD, Higgins E, Ambati BK. Systemic soluble Tie-2 expression inhibits and regresses corneal neovascularization. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 332: 194-199.
118. White RR, Shan S, Rusconi CP, Shetty G, Dewhirst MW, Kontos CD, Sullenger A. Inhibition of rat corneal angiogenesis by a nuclease-resistant RNA aptamer specific for angiopoietin-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 5028-5033.
119. Kvanta A, Sarman S, Fagerholm P, Seregard S, Steen B. Expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammation-associated corneal neovascularization. *Exp Eye Res* 2000; 70: 419-428.
120. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, et al. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994, 79: 315-328.
121. Shin SH, Kim JC, Chang SI, Lee H, Chung SI. Recombinant kringle 1-3 of plasminogen inhibits rabbit corneal angiogenesis induced by angiogenin. *Cornea* 2000; 19: 212-217.
122. Ohlmann AV, Ohlmann A, Welge-Lussen U, May CA. Localization of collagen XVIII and endostatin in the human eye. *Curr Eye Res* 2005; 30: 27-34.

123. Lin HC, Chang JH, Jain S, Gabison EE, Kure T, Kato T, et al. Matrilysin cleavage of corneal collagen type XVIII NC1 domain and generation of a 28-kDa fragment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2517-2524.
124. Ortego J, Escribano J, Becerra SP, Coca-Prados M. Gene expression of the neurotrophic pigment epithelium-derived factor in the human ciliary epithelium. Synthesis and secretion into the aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 2759-2767.
125. Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, Crawford SE, Xu H, Benedict W, Bouck NP. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science* 1999; 285: 245-248.
126. Hiscott P, Paraoan L, Choudhary A, Ordonez JL, Al-Khaier A, Armstrong DJ. Thrombospondin 1, thrombospondin 2 and the eye. *Prog Retin Eye Res* 2006; 25: 1-18.
127. Sekiyama E, Nakamura T, Cooper LJ, Kawasaki S, Hamuro J, Fullwood NJ, Kinoshita S. Unique distribution of thrombospondin-1 in human ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 1352-1358.
128. Cursiefen C, Masli S, Dana MR, Bornstein P, Lawler J, Streilein JW. Roles of thrombospondin-1 and -2 in regulating corneal and iris angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 1117-1124.
129. Jermak CM, Dellacrose JT, Heffez J, Peyman GA. Triamcinolone acetonide in ocular therapeutics. *Surv Ophthalmol.* 2007; 52: 503-22.
130. Sommer A, Veraart J, Neumann M, et al: Evaluation of the vasoconstrictive effects of topical steroids by laser-Doppler perfusion- imaging. *Acta Derm Venereol* 1998; 78: 15-18.
131. Riazi-Esfahani M, Peyman GA, Aydin E, Kazi AA, Kivilcim M, Sanders DR. Prevention of Corneal Neovascularization Evaluation of Various Commercially Available Compounds in an Experimental Rat Model. *Cornea* 2006; 25: 801–805.
132. Streit M, Belezny Z, Braathen LR. Topical application of the tumour necrosis factor-alpha antibody infliximab improves healing of chronic wounds. *Int Wound J.* 2006; 3: 171-179.
133. Theodossiadis PG, Liarakos VS, Sfikakis PP, Vergados IA, Theodossiadis GP. Intravitreal administration of the anti-tumor necrosis factor agent infliximab for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2009; 147: 825-830.
134. Odorcic S, Keystone EC, Ma JJ. Infliximab for the treatment of refractory progressive sterile peripheral ulcerative keratitis associated with late corneal perforation: 3-year follow-up. *Cornea.* 2009; 28: 89-92.
135. Saw VP, Cornelius N, Salama AD, Pusey C, Lightman SL. Infliximab therapy for aggressive mooren ulceration. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 734.

136. Mahoney JM, Waterbury LD. Drug effects on the neovascularization response to silver nitrate cauterization of the rat cornea. *Curr Eye Res* 1985; 4: 531–535.
137. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Carvounis PE, Kivilcim M, Ren M, et al. Inhibition of experimental corneal neovascularisation by bevacizumab (Avastin). *Br J Ophthalmol.* 2007; 91: 804-807.
138. Philipp W, Speicher L, Humpel C. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in inflamed and vascularized human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2514-2522.
139. Rehany U. Waisman M. Suppression of corneal allograft rejection by systemic cyclosporine-A in heavily vascularized rabbit corneas following alkali burns. *Cornea* 1994; 13: 447-453.
140. Olsen T. Benegas N. Rapamycin inhibits corneal allograft rejection and neovascularization. *Arch Ophthalmol* 1994; 112: 1471-1475.
141. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001; 12: 242-249.
142. Philip M, Rowley DA, Schreiber H. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. *Semin Cancer Biol* 2004; 14: 433-439.
143. Cursiefen C, Rummelt C, Kuchle M. Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor, transforming growth factor alpha, and transforming growth factor beta1 in human corneas with neovascularization. *Cornea* 2000; 19: 526-533.
144. Cursiefen C, Chen L, Borges LP, Jackson D, Cao J, Radziejewski C, et al. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest* 2004; 113: 1040-1050.
145. Morand EF. New therapeutic target in inflammatory disease: macrophage migration inhibitory factor. *Intern Med J.* 2005; 35: 419-426.
146. Aeberli D, Leech M, Morand EF. Macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoid sensitivity. *Rheumatology (Oxford).* 2006; 45: 937-943.
147. Bucala R, Donnelly SC: Macrophage migration inhibitory factor: a probable link between inflammation and cancer. *Immunity* 2007; 26: 281–285.
148. Gardiner TA, Gibson DS, de Gooyer TE, de la Cruz VF, McDonald DM, Stitt AW. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha improves physiological angiogenesis and reduces pathological neovascularization in ischemic retinopathy. *Am J Pathol.* 2005; 166: 637-644.

149. Cursiefen C, Kuchle M, Naumann GO. Angiogenesis in corneal diseases: histopathologic evaluation of 254 human corneal buttons with neovascularization. *Cornea* 1998; 17: 611-613.
150. Hirokawa J, Sakaue S, Tagami S, Kawakami Y, Sakai M, Nishi S, Nishihira J. Identification of macrophage migration inhibitory factor in adipose tissue and its induction by tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 235: 94-98.
151. Cao WG, Morin M, Sengers V, Metz C, Roger T, Maheux R, Akoum A. Tumour necrosis factor-alpha up-regulates macrophage migration inhibitory factor expression in endometrial stromal cells via the nuclear transcription factor NF-kappaB. *Hum Reprod.* 2006; 21: 421-428.
152. Gregory JL, Leech MT, David JR, Yang YH, Dacumos A, Hickey MJ. Reduced leukocyte-endothelial cell interactions in the inflamed microcirculation of macrophage migration inhibitory factor-deficient mice. *Arthritis Rheum.* 2004; 50: 3023–3034.
153. Ren Y, Chan HM, Li Z, et al. Upregulation of macrophage migration inhibitory factor contributes to induced N-Myc expression by the activation of ERK signaling pathway and increased expression of interleukin-8 and VEGF in neuroblastoma. *Oncogene.* 2004; 23: 4146–4154.
154. Donnelly SC, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of glucocorticoid activity with a critical role in inflammatory disease. *Mol Med Today* 1997; 3: 502–507.
155. Matsuda A, Tagawa Y, Matsuda H, Nishihira J. Identification and immunohistochemical localization of macrophage migration inhibitory factor in human cornea. *FEBS Lett* 1996; 385: 225-228.
156. Fingerle-Rowson G, Petrenko O, Metz CN, Forsthuber TG, Mitchell R, Huss R, Moll U, Muller W, Bucala R. The p53-dependent effects of macrophage migration inhibitory factor revealed by gene targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 9354-9359.
157. Hudson JD, Shoaibi MA, Maestro R, Carnero A, Hannon GJ, Beach DH. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. *J Exp Med* 1999; 190: 1375-1382.

9. ÖZGEÇMİŞ

11.02.1977 yılında Elazığ Palu'da doğdum. İlk ve orta öğrenimini Elazığ ve Gaziantep'te, lise öğrenimini ise Elazığ Anadolu Lisesinde tamamladım. 1996 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde eğitime başlayıp 2002 yılında bu fakülteden mezun oldum. Mecburi hizmet görevini Elazığ'ın Palu ve Kovancılar ilçelerinde ve askerlik hizmetini Ankarada tamamlayıp 2004 yılında evlendim. Bir yıl sonra Fırat Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım ve halen bu görevime devam etmekteyim. Evli ve Emir isimli bir erkek çocuk babasıyım.