



Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Medikal Ozonun Farklı Uygulama Teknikleri: Deneysel Tavşan Modeli

Yağmur KUŞCU^{1,*} İsmail ALKAN¹

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, 65040, Van, Türkiye

Gönderim Tarihi: 28.11.2022

Kabul Tarihi: 05.01.2023

ÖZ

Çalışmada tavşanlarda sodyum hidroksitle (NaOH) deneysel olarak oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında medikal ozonun farklı uygulama şekillerinin korneal iyileşme üzerine olan etkinliğinin klinik ve histopatolojik olarak incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla 32 adet Yeni Zelanda ırkı tavşanların sadece sağ gözlerinin sentral korneasına 1 normal (N) NaOH emdirilmiş 6 mm çaplı filtre kâğıdı 1 dk süre ile uygulandı. Tavşanlar rastgele dört gruba ayrıldı. Sağaltım üçer (3) gün aralıklarla 21 gün boyunca devam etti. Birinci grup (K) kontrol grubu olarak bırakıldı. Yanık sonrası bu gruba herhangi tedavi uygulanmadı. İkinci gruba (M) subkonjunktival ozonlanmış kan uygulandı. Üçüncü gruba (S) subkonjunktival medikal ozon uygulaması yapıldı. Dördüncü gruba (O) major otohemoterapi uygulandı. Klinik ve histopatolojik değerlendirmeler neticesinde, kornea dokularında en yüksek derecede rejenerasyon ve iyileşme bulgularının M grubunda olduğunu bunu sırasıyla O grubu ve S grubu takip etti. En yüksek korneal doku hasarı K grubuna ait olgularda gözlemlendi. Normal stromal kalınlığa en yakın olgular M grubunda olup, K grubunun en yüksek stromal kalınlığa ve normalden en uzak değere sahip olduğu dikkati çekti. Elde edilen klinik, istatistiksel ve histopatolojik bulgular ışığında; korneal alkali yanığında medikal ozon sağaltımının farklı uygulama tekniklerinin, kontrol grubuna kıyasla oluşan komplikasyonları büyük oranda giderdiği ve korneal reepitelizasyonu hızlandırdığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Kornea, Ozon, Tavşan, Yanık.

ABSTRACT

Different Application Techniques of Medical Ozone in the Treatment of Corneal Alkali Burns: Experimental Rabbit Model

The aim of this study is to clinically and histopathologically evaluate the efficiency of different applications of medical ozone on corneal healing in the treatment of experimentally induced corneal alkali burns with sodium hydroxide (NaOH) in rabbits. For this purpose, 6 mm diameter filter paper impregnated with 1 N NaOH was applied to the central cornea of only the right eyes of 32 New Zealand rabbits for 1 min. The rabbits were randomly divided into four groups. The treatment continued for 21 days at three-day intervals. The first group was left as the control group (K) and was not applied medical ozone. The control group received no treatment. Subconjunctival ozonated blood was applied to the second group (M). Subconjunctival medical ozone was applied to the third group (S). Major autohemotherapy was applied to the fourth group (O). As a result of clinical and histopathological evaluations, highest degree of regeneration and healing findings in corneal tissues were in the M group. This was followed by O and S groups, respectively. The highest corneal tissue damage was observed in the cases belonging to group K. The cases closest to normal stromal thickness belonged to group M. It was noted that the K group had the highest stromal thickness and the farthest value from normal. In the light of the clinical, statistical and histopathological findings, different application techniques of medical ozone treatment in corneal alkali burn were found to significantly reduce complications compared to the control group and accelerate corneal reepithelization.

Keywords: Burn, Cornea, Ozone, Rabbit.



GİRİŞ

Sağlıklı bir oküler yüzey iyi ve tam bir görüşün sağlanması için gereklidir (Şaroğlu ve Arıkan 2002). Kornea, bulbus oculi'nin en özellikli dokusu olup saydamlığı devam ettiği sürece ışığı geçirerek görüntünün retina üzerinde oluşumunu sağlar (Wilkie ve Whittaker 1997; Akın ve Samsar 2001). Kimyasal bir hasarı takiben korneanın bütünlüğünü tehdit eden epifora, blefarospazm, fotofobi, vaskularizasyon ve opasite artışı gibi klinik belirtileri önlemeye yönelik birçok sağıltım tekniği kullanılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sağıltımda ilk amaç, etkilenen bölgeden alkali maddeyi hızlıca uzaklaştırmak ve yüzey pH'sını dengelemektir. İlk müdahalenin ardından inflamasyonu baskılayıcı ve re-epitelizasyonu destekleyici sağıltıma başlanmalıdır (Christmas 1991; Meller ve ark. 2000).

Kimyasal maddeler; temizlik malzemeleri, kozmetikler, tarım ilaçları ve inşaat gibi farklı endüstriyel alanlarda mevcut olup günlük hayatta kullanımları artmaktadır. Bu durum insan ve hayvanların kimyasal maddelere ulaşabilirliğini ve temasını da artırmaktadır (Singh ve ark. 2013; Eslani ve ark. 2014). Göz hassas yapısı nedeniyle kimyasal kazalardan en çok etkilenen organlardan biridir. Kimyasal maddeler arasında önemli bir yer tutan alkali maddelerin oluşturduğu yanıklar, gözde hızlı ve ilerleyici tahribata yol açarak keskin görüşün azalması veya kaybı gibi kalıcı oküler hasara neden olabirler (Burns ve ark. 1989; Şaroğlu ve Arıkan 2002). Kimyasal kazalarda alkali maddelerin asit maddelere kıyasla dokuya hızlı penetre olmasından dolayı prognozunun daha kötü olduğu bildirilmektedir (Eslani ve ark. 2014). Oluşan komplikasyonların şiddeti, kimyasal maddenin konsantrasyonuna, temas süresine, miktarına ve özelliklerine göre değişiklik gösterir. Alkali yanığı takiben korneal ülserle sonuçlanabilen çok sayıda yıkımlanma işlemleri olur (Tuft ve Shortt 2009; Fish ve Davidson 2010).

Ozon, birçok hastalığın sağıltımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar ozon sağıltımının antienflamatuar ve yara iyileştirici etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Kaya ve ark. 2016). Dokularda oksijenizasyonu artırarak ve lokal yangıyı azaltarak metabolizmayı stimüle eder (Bocci 1999). Ozonun, keratokonjunktivitis, kornea ülserleri, glokom, retinal dejenerasyonlar, retinitis pigmentosa gibi birçok göz hastalığının sağıltımında kullanıldığına dair çalışmalar mevcuttur (Ogata ve Nagahata 2000; Vigna ve Menendez-Cepero 2007). Ancak farklı uygulama tekniklerinin, korneal alkali yanıklarında tedavi edici etkisi üzerine araştırmalar mevcut değildir.

Çalışmamızda korneal alkali yanık sonrası oluşan epitel defekt ve korneal opasite'de medikal ozonun farklı uygulama tekniklerinin sağıltım sonrası klinik, histopatolojik ve gözyaşı miktarında oluşturduğu değişimlerin gözlenmesi planlandı.

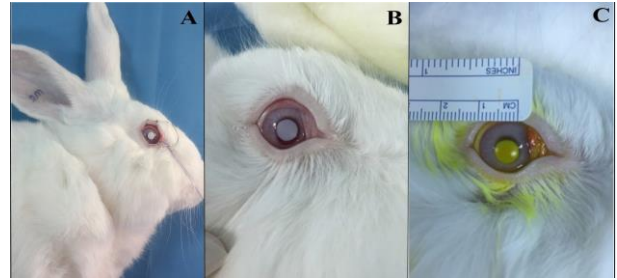
MATERYAL VE METOT

Çalışmanın başlaması ve yürütülebilmesi için; Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından verilen 02.03.2017 tarih ve 2017/02 sayılı karar ile onay alındı. Çalışmada, klinik muayeneler sonucu sağlıklı vücut ve göz yapısına sahip olduğu saptanan, yaşları 5 ay ile 7 ay arasında değişen 32 adet erkek Yeni Zelanda ırkı (2000-2500 gr) tavşanı kullanıldı. Tavşanlar bireysel kafeslerinde sıcaklığı (21±2 °C) ve nem

oranı (%40-60) kontrollü odalarda standart tavşan pelet yemi ve su ile ad libitum beslendi.

Gruptaki tavşanların tamamının çalışma yapılacak olan sağ gözlerine anestezi ve göze alkali ajan uygulamadan önce schirmer gözyaşı testleri uygulandı. Takiben çalışmada tavşanların genel anestezisi; %2'lik xylazine hydrochlorure (5mg/kg, Rompun®, BAYER) ve %10'luk ketamin hydrochloride (50 mg/kg, Ketazol®, İNTERHAS) ile gerçekleştirildi. Şirurjikal anestezi sonrası alkali yanık oluşturulacak gözde korneal analjezi sağlamak amacıyla topikal %0.5'lik proparacaine hydrochloride (Alcaine® oftalmik solüsyon, ALCON) uygulandı.

Sağ gözleri üste gelecek şekilde yan yatırıldıktan sonra kornea yüzeyinde saptanan fazla gözyaşı ince pamuk tampon ile giderildi. Topikal anestezi uygulandıktan 60 saniye sonra standart kornea alkali yanığı oluşturulmasında 25 µl 1 N NaOH solüsyonu emdirilmiş 6 mm çaplı Whatman #3 filtre kağıdı diskleri, pupilla ortalanarak kornea merkezine yerleştirildi ve 1 dakika süreyle tutuldu. Sonrasında filtre kağıdı yerinden uzaklaştırıldı ve kornea yüzeyi 60 saniye süresince 20 ml %0.9'luk NaCl solüsyonu ile yıkandı. Uygulama sonrası korneada ortalama 6.05 mm çapında lezyon oluşturuldu. Tavşanların sağ gözlerinde korneada sınırlı, alkali ajanla lezyon oluşturulan gün 0. gün olarak kabul edildi. Korneal yüzeyi yıkama işleminden hemen sonra sağ gözlerde floresein boyama yapıldı (Şekil 1).



Şekil 1. Kornea'da alkali yanığın oluşturulması. A. Whatman filtre kağıdının yerleştirilmesi B. Filtre kağıdı uzaklaştırıldıktan sonra korneada şekillenen yanığın görünümü. C. Floresein boyama gerçekleştirildikten sonra lezyonun görünümü.

Figure 1. Creation of alkaline burn in the cornea. A. Insertion of Whatman filter paper. B. The appearance of the burn formed on the cornea after the filter paper was removed. C. The appearance of the lesion after fluorescein staining.

Grupların Oluşturulması ve Sağıltım Protokolü

Deneme grupları, her bir grupta 8 tavşan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı. Bütün gruplarda yapılan işlemler sadece sağ gözde gerçekleştirildi. Sağıltıma alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra başlandı ve 3'er gün aralıklarla toplam 7 uygulamayı içeren 21 günlük bir sağıltım süreci gerçekleştirildi. Tedavide kullanılan medikal ozon ozon jeneratöründen elde edildi. Birinci grup (K): herhangi bir sağıltım girişimi yapılmadı, kontrol grubu olarak bırakıldı (Şaroğlu ve Arıkan 2002). İkinci grup (M): Tavşanların kulak venasından alınan 0,4 ml kan eşit hacimdeki medikal ozon ile karıştırıldı. Karışım ilgili göze subkonjuktival uygulandı. Üçüncü grup (S): 0.4 ml medikal ozon, ilgili göze subkonjuktival uygulandı. Dördüncü grup (O): Major otohemoterapi uygulandı. Tavşanların kulak venasından alınan 5 ml kan, ozona dayanıklı antikoagülanlı steril tüplere (Vacusera®) aktarıldı. Kan eşit hacimde (5 ml) medikal ozon ile karıştırıldı ve aynı hayvanın kulak venasından enjekte edildi.

Klinik Değerlendirme

Schirmer gözyaşı testi (ERC®) (Tip I) tüm gruplarda 0, 3, 7, 14 ve 21. günlerde günün sabah saatlerinde uygulanarak gözyaşı miktarları (mm/dk) ölçüldü. Korneal opasite (bulanıklık) değerlendirmesi ve korneal lezyonun derinliğine ilişkin değişimlerin değerlendirilmesi amacıyla ilgili gözün fotoğrafları çekildi. Sağaltım sırasında saptanan oküler klinik bulgular el tipi slit-lamp biomikroskop ile muayene edilerek sonuçlar değerlendirildi. Fluorescein ile boyanan hasarlı kornea bölgesi, erozyonun şekillendiği alan olarak kabul edildi. Epitelyal iyileşme florescein boyanma sonrası klinik muayene görüntülerinin Imagej programı ile boyalı alanın (mm²) hesaplanmasıyla gerçekleştirildi (Griffith ve ark. 2018). Korneal opasite, opasite alanının direkt inspeksiyondaki görünümünün ölçülerek mm² olarak hesaplanmasıyla gerçekleştirildi.

Histopatolojik Değerlendirme

Tüm gruptaki hayvanlar 21. gün sonunda sakrifiye edilerek ilgili gözün bulbus oculi ekstirpasyonu gerçekleştirildi. Gruplar arasında kornea dokusunda şekillenen değişiklikler epitel hasar, dejenerasyon ve nekroz, yangısal hücre infiltrasyonu, stromal ödem, neovaskülarizasyon ve fibroblastik aktivite yönünden değerlendirildi. Her bir olgunun incelenen kornea dokusuna ait stromal kalınlığı mikroskop altında 20x büyütmede 5 farklı alanda ölçülerek kaydedildi. Bunun için, Leica Qwin histomorfometrik analiz yazılımı kullanıldı.

İstatistik Değerlendirme

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 21.0 (IBM Electronics, ABD) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama±SH olarak ifade edildi. Schirmer gözyaşı test sonuçlarının ve korneal lezyon derinliği derecelerinin grup içi ve gruplar arasında istatistiksel anlam derecelerini belirtmek amacıyla tek yönlü varyans analizi ANOVA testinden faydalanıldı ve çoklu karşılaştırmalarda Duncan Testi kullanıldı. Sonuçlar p<0.05'te istatistiksel olarak anlamlı, p>0.05'te istatistiksel olarak anlamsız kabul edildi.

BULGULAR

Klinik Bulgular

Her bir grupta 0. günde oluşan epitel defektin büyüklüğü benzer olup ortalama çapı 6.05 mm olarak tespit edildi. Bütün gruplara ait olguların santral korneasında oluşturulan defekt sirküler şekilde olup, büyüklüğü ve görünümü uniform bir yapıya sahipti. Deneklerin hepsinde sadece yanığın oluşturulduğu alanda epitelyal kayıp ve bulanıklık gözlemlendi. Diğer oküler yapılar alkali ajandan etkilenmedi. Korneal lezyonun büyüklüğü ve korneal bulanıklık alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra en yüksek seviyede belirlendi. Korneal erozyon fluorescein boyama sonucuna göre 0. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bütün grupların 0. günde ortalama gözyaşı miktarı 6.22±0.40 mm/dk olarak hesaplandı.

Tüm gruptaki deneklerin, 21 gün içerisinde Schirmer gözyaşı testi sonuçları değerlendirildiğinde; grupları oluşturan tüm deneklerde 3. günde istatistiksel olarak anlamlı yükselme tespit edildi (p<0.05). Bu yükselmenin tüm gruptaki deneklerin 7. ve 21. günlerde de devam ettiği görüldü. Ancak deneklerin gözyaşı testi sonuçlarının 14. günde istatistiksel olarak anlamlı taşımayan değerlere çıktığı gözlemlendi (p>0.05).

Tedavinin üçüncü ve yedinci gününde M grubunda diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az korneal erozyon alanına sahip olduğu belirlenirken diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Yanık sonrası 1. haftada en hızlı epitelyal iyileşme M grubunda gözlemlendi. Tedavinin 14. ve 21. günlerinde yapılan ölçümlerde M grubuna ait olguların diğer gruplardaki olgulara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az korneal erozyon alanına sahip olduğu belirlenirken, bu azalmayı sırasıyla O grubu, S grubu ve K grubunun takip ettiği belirlendi. Gruplar arasında 21. gün değerlendirildiğinde en iyi epitelyal iyileşmeyi gösteren grup M grubu olarak kaydedildi. Gruplara ait tedavinin 3, 7, 14 ve 21. gün makroskobik görüntüleri şekil 2, 3, 4 ve 5'de gösterilmiştir.

Opasite değerlendirilmesinde, 0. gün ve diğer günlerde gruplar arasında yapılan bütün klinik kontrollerde ve ölçümlerde istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlemlenmedi. Korneal opasite, bütün gruplarda en son yapılan klinik muayenede başlangıca göre azaldı, ancak M grubunda bu azalma daha çok belirgindi. Deney gruplarına ait 0, 3, 7, 14 ve 21. günlerdeki Schirmer gözyaşı miktarları, korneal erozyon alanı ve korneal opasite ölçümüne ait istatistik verileri Tablo 1'de gösterilmiştir.



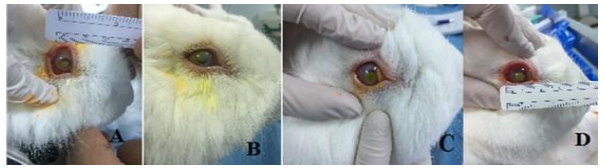
Şekil 2. Tedavinin 3. gün makroskobik görüntüleri. A. K grubu B. M grubu C. S grubu D. O grubu.

Figure 2. Macroscopic images of the 3rd day of treatment. A. Group K B. Group M C. Group S D. Group O.



Şekil 3. Tedavinin 7. gün makroskobik görüntüleri. A. K grubu B. M grubu C. S grubu D. O grubu.

Figure 3. Macroscopic images of the 7th day of treatment. A. Group K B. Group M C. Group S D. Group O.



Şekil 4. Tedavinin 14. gün makroskobik görüntüleri. A. K grubu B. M grubu C. S grubu D. O grubu.

Figure 4. Macroscopic images of the 14th day of treatment. A. Group K B. Group M C. Group S D. Group O.



Şekil 5. Tedavinin 21. gün makroskobik görüntüleri. A. K grubu B. M grubu C. S grubu D. O grubu.

Figure 5. Macroscopic images of the 21st day of treatment. A. Group K B. Group M C. Group S D. Group O.

Tablo 1. Deney gruplarındaki klinik sonuçlar (ortalama ± SH).**Table 1.** Clinical results of the experimental groups (mean ± SEM).

Klinik bulgular	Günler	Gruplar			
		K	M	S	O
Schirmer göz yaşı miktarları (mm/dk)	0	5.5±0.42 ^c	5.88±0.79*	6.63±1.22*	6.88±0.64 ^b
	3	8±0.93 ^{ab}	8.13±0.64*	6.25±0.80*	11.25±0.90 ^a
	7	8.63±0.91 ^a	6.88±0.83*	5.13±0.44*	10±1.06 ^a
	14	7.38±0.93 ^{ab}	6.88±0.55*	5.88±0.48*	8.75±1.16 ^{ab}
	21	5.63±0.84 ^c	6.88±1.16*	5.88±0.48*	9.5±0.94 ^{ab}
Korneal erozyon (mm ²)	0	28±0.0*	28±0.0*	28±0.0*	28±0.0*
	3	26.25±0.25 ^a	24.25±0.25 ^b	26.25±0.25 ^a	25.75±0.16 ^a
	7	25.13±0.35 ^a	19.88±0.64 ^b	24.25±0.41 ^a	23.88±0.48 ^a
	14	23.75±0.49 ^a	16.88±0.79 ^d	22±0.46 ^b	20.38±0.42 ^c
	21	22±0.57 ^a	10.75±0.96 ^d	19.63±0.68 ^b	16.88±0.85 ^c
Korneal opasite (mm ²)	0	28±0.0*	28±0.0*	28±0.0*	28±0.0*
	3	28±0.0*	26±0.0*	27±0.0*	26±0.0*
	7	27±0.19*	23±0.0*	26±0.0*	25±0.0*
	14	25±0.0*	19±0.0*	24±0.0*	22±0.0*
	21	23±0.0*	16±0.0*	21±0.0*	20±0.0*

Farklı üst simgelerle (a,b,c,d) belirtilen değerler gruplar arası istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

(*) Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0.05). K: Kontrol, M: Ozon+kan, S: Ozon, O: Otohemoterapi.

Histopatolojik Bulgular

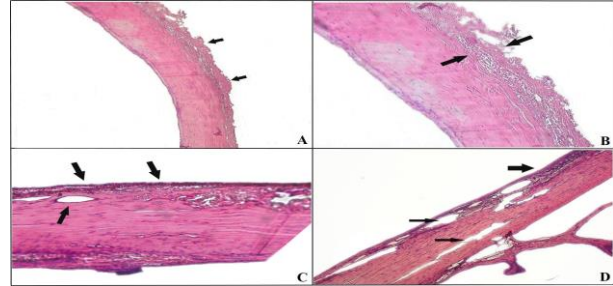
Sağlıklı hayvanlara ait kornea dokusunun histopatolojik incelemesinde, 3-4 sıralı epitel yapı altında longitudinal dizilim gösteren kollagen demetlerinden oluşan normal kornea histolojisi izlendi. Değerlendirilen 4 grup arasında kornea dokularındaki en şiddetli bulgular, K grubuna ait olgularda gözlemlendi. Şiddetli lezyon tespit edilen K grubunda, kornea dış yüzeyinde yer alan epitel katının tamamen yok olduğu ve üzerinde fibrin, yangı hücreleri ve nekrotik hücre kalıntılarından oluşan bir katmanın yer aldığı gözlemlendi. Bunun yanı sıra tam olmayan yüzey epitel rejenerasyonu ile sınırlı da olsa iyileşme faaliyetlerinin devam ettiğini gösteren neovaskülarizasyon, stromal ödem ve kanama yaygın olarak gözlenen bulgular arasındaydı (Şekil 7).

S grubu kornea dokularının histopatolojik değerlendirilmesinde; 2 olguda kornea epitel yüzeyinin nekrozu ve stromaya kadar ilerleyen nekrotik doku, hiperemik yeni şekillenmiş kapillalar ve içi boş neovaskülarizasyon alanları bulunmaktaydı. Genel olarak bu gruba ait olguların kornea dokularının epitel yüzeyinde tam rejenerasyon sağlanmadığı ve yüzeyi kapamak üzere proliferen epitel hücrelerinin yüzeyinde nekrotik hücrelere ait kalıntılara rastlandı. Kornea stroması, yaygın olarak içi boş ve regrese oldukları yönünde değerlendirilen kapillalar içermekteydi. Benzer şekilde stromada hipersellülarite ve kollagen ödemi dikkati çekti (Şekil 8). O grubu kornea dokularının histopatolojik değerlendirilmesinde; bir olguda kornea epitelinin nekrotik olduğu ve stromanın epitel katmana yakın bölgelerinde çoğunluğu makrofaj hücrelerinden oluşan yangısal hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Kornea neovaskülarizasyonunun ortadan kalkmak üzere olduğu ve kollagen doku içerisinde ince yarıklanmalar oluşturacak şekilde dizilim gösterdikleri, fibroblastik hücre nükleuslarının kollagen doku boyunca uyum sağlayacak şekilde iğ şeklinde öndüle görünümü kazandıkları tespit edildi. Kornealarda orta derecede sellülarite ve stromal ödem gözlemlendi (Şekil 9).

M grubunun epitel katında rejeneren alanların çoğunlukta olduğu, yer yer hiperplastik epitel proliferasyonlarının bulunduğu tespit edildi. Bununla birlikte, yalnız bir olguda içi boş ince yarıklanmalar şeklinde kapillar benzeri alanlar

dikkati çekti. Genel olarak kornea stromasının birbirine paralel dizilimli kollagen demetlerinden oluştuğu, stromal ödem ve fibroblastik hücrelere ait yapıların oldukça hafif seviyede olduğu gözlemlendi (Şekil 9).

Her bir grubun stromal kalınlık verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, grupların ortalama değerleri arasındaki fark anlamlı bulundu. Çalışmada normal stromal kalınlık 285.74 µm olarak ölçüldü. Stromal kornea kalınlığı yönünden gerçekleştirilen ortalama ölçümlere bakıldığında, K grubunun 550.68 ± 18.24 µm, M grubunun 259.47 ± 19.43 µm, S grubunun 438.06 ± 33.74 µm ve O grubunun 331.50 ± 21.41 µm olduğu gözlemlendi. Çalışmada gruplar arasında stromal kornea kalınlığı yönünden gerçekleştirilen analiz sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir.



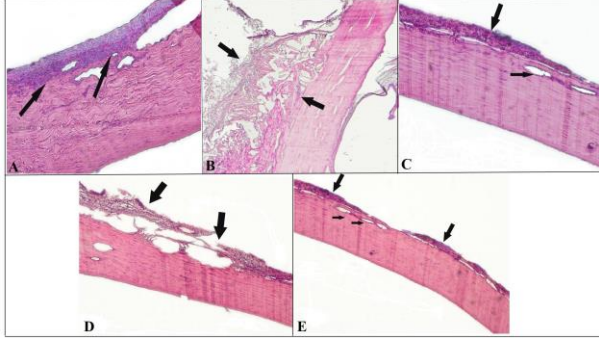
Şekil 6. K grubuna ait kornea dokusunun mikrografları. H&E. A. Kornea yüzeyinde yaygın ve şiddetli koagülasyon nekrozu (oklar). 240x. B. Kornea dış yüzeyinde, iç detay göstermeyen nekrotik doku sınırı (oklar arası). 120x. C. Nekroz ve yangısal hücre infiltrasyonu yanı sıra, yeni şekillenmiş kapillar damarlar (ok). 120x. D. İridokorneal açı hizasında, epitel yüzde nekroz ve geniş kapillar damarlar ile etraflarında yangı hücreleri izlenmektedir. 120x.

Figure 6. Micrographs of corneal tissue belonging to group K. H&E. A. Common and severe coagulation necrosis (arrows) on the corneal surface. 240x. B. Necrotic tissue border (between the arrows) on the outer surface of the cornea. 120x. C. Newly formed capillaries (arrow) as well as necrosis and inflammatory cell infiltration. 120x. D. At the iridocorneal angle line, necrosis and large capillaries and surrounding inflammatory cells are observed in the epithelial face. 120x.

Tablo 2. Deneysel gruplarındaki histopatolojik bulgular (ortalama \pm SH).**Table 2.** Histopathological findings of the experimental groups (mean \pm SEM).

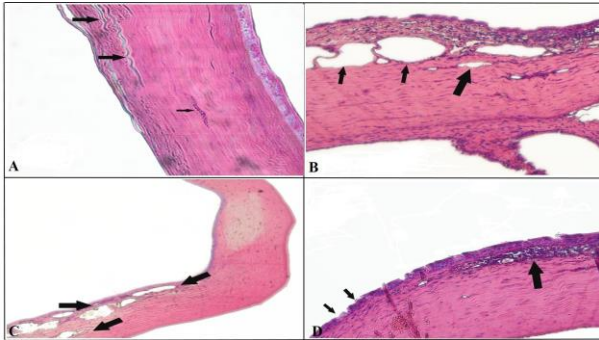
Histopatolojik bulgular	Gruplar			
	K	M	S	O
Stromal kalınlık (μ m)	550.68 \pm 18.24 ^a	259.47 \pm 19.43 ^d	438.06 \pm 33.74 ^b	331.50 \pm 21.41 ^c

Farklı üst simgelerle (a,b,c,d) belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05). K: Kontrol, M: Ozon+kan, S: Ozon, O: Otohemoterapi.



Şekil 7. S grubuna ait kornea dokusunun mikrografları. H&E. A. Neovaskülarizasyon ve yangı hücreleri ile kalınlaşmış kornea dokusu. 120x. B. Korneanın derin katlarına kadar ilerleyen şiddetli nekroz. 120x. C. Kornea yüzeyinden ayrılmış halde nekrotik doku. 240x. D. Epitel kat üzerinde şekillenen nekroz ile epitel katın sağlam dokudan demarkasyonu dikkati çekmekte. 120x. E. Kornea dış yüzeyinde dejeneratif ve nekrotik hücre kalıntıları ile neovaskülarizasyon. 240x.

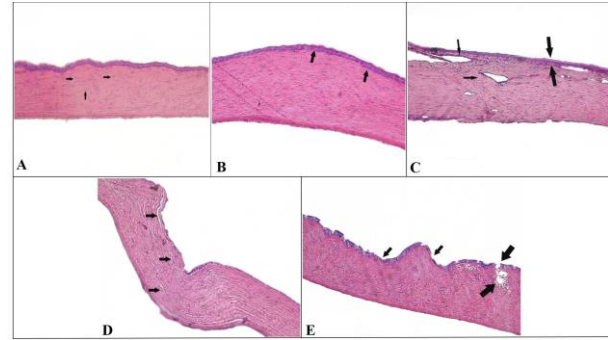
Figure 7. Micrographs of corneal tissue belonging to group S. H&E. A. Thickened corneal tissue with neovascularization and inflammatory cells 120x. B. Severe necrosis extending into the deep layers of the cornea. 120x. C. Necrotic tissue detached from the corneal surface. 240x. D. Necrosis formed on the epithelial layer and demarcation of the epithelial layer from the intact tissue draws attention. 120x. E. Neovascularization with degenerative and necrotic cell remnants on the outer surface of the cornea. 240x.



Şekil 8. O grubuna ait kornea dokusunun mikrografları. H&E. A. Epitel ve endotel katlarının sağlam olarak yer aldığı kornea dokusunda, bağ doku fibrillerinde ondula tarsi dizilim (büyük oklar) ve bir adet kapillar (küçük ok). 120x. B. Doku hasarı sonrası şekillenen tamir faaliyetlerini gösteren geniş neovaskülarizasyon odakları. 240x. C. Epitel katmanında orta derecede dejeneratif değişikliklerin yanı sıra yaygın yangısal hücre infiltrasyonu ve hiperemik kapillalar. 120x. D. Kornea epitel yüzeyinde multifokal nekrotik değişiklikler ile bir alanda şiddetli yangısal reaksiyon. 120x.

Figure 8. Micrographs of corneal tissue belonging to group O. H&E. A. In the cornea tissue where the epithelial and endothelial layers are intact, ondula tarsi arrangement (big

arrows) and one capillary (small arrow) in connective tissue fibrils. 120x. B. Large neovascularization foci showing repair activities after tissue damage. 240x. C. Moderate degenerative changes in the epithelial layer as well as diffuse inflammatory cell infiltration and hyperemic capillaries. 120x. D. Severe inflammatory reaction in one area with multifocal necrotic changes on the corneal epithelial surface. 120x.



Şekil 9. M grubuna ait kornea dokusunun mikrografları. H&E. A. Histolojik olarak normal görünümde kornea yapısına rağmen, belirgin fibroblastik aktivite (oklar). 240x. B. Normal kornea histolojisi yanı sıra, çok katlı rejeneratif epitel görülmekte (ok). 120x. C. Epitel katmanında yer yer nekroz ve bağdoku fibrillerini birbirinden ayıran ödem. 120x. D. Hiperplastik ve rejeneratif epitel dokusu (oklar), kornea dokusunda tamir faaliyetleri dikkati çekmekte. 120x. E. Kornea epitel yüzeyinde multifokal ve hafif şiddette dejeneratif değişiklikler. 120x.

Figure 9. Micrographs of corneal tissue belonging to group M. H&E. A. Significant fibroblastic activity (arrows) despite the histologically normal appearance of the cornea. 240x. B. In addition to normal corneal histology, stratified regenerative epithelium is seen (arrow). 120x. C. Partly necrosis in the epithelial layer and edema separating connective tissue fibers from each other. 120x. D. Hyperplastic and regenerative epithelial tissue (arrows), repair activities in corneal tissue draw attention. 120x. E. Multifocal and mild degenerative changes on the corneal epithelial surface. 120x.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Korneal alkali yanıklar oküler travmaların önemli bir bölümünü oluşturur. Alkali ajanlar lipofilik özellikte olup asidik maddelere kıyasla intraoküler yapılara daha hızlı bir şekilde penetre olurlar (Singh ve ark. 2013; Eslani ve ark. 2014). Kimyasal orijinli maddeler, sadizm/kaza sonucu görme kaybı ya da görüş keskinliğinde azalmaya neden olan yıkıcı ve kalıcı oküler hasara sebep olabilirler (Burns ve ark. 1989). Kimyasal maddenin konsantrasyonu, miktarı ve temas süresi korneada meydana gelen hasarın büyüklüğünü ve şiddetini etkilemektedir (Burns ve ark. 1990; Schrage ve ark. 2000; Gerard ve ark. 2002).

Medikal ozonun uygulama yöntemlerinin oldukça basit olması, düşük maliyeti, hastalarca iyi tolere edilmesi, yan etkisinin olmaması ve canlı organizmasında kalıntı bırakmaması ozon sağaltımını uygun, pratik, güvenli ve etkili kılmaktadır (Vigna ve Menendez-Cepero 2007). Biyolojik sıvılarda hızlıca reaksiyona giren medikal ozonun vücutta meydana getirdiği etkiler birden çok mekanizmayla gerçekleşir. İlk etkilerinden birisi eritrositlerdeki 2,3 difosfagliserat düzeyini artırarak hemoglobin-oksijen ayrışma eğrisini sağa kaydırmak ve oksijenin hemoglobinden ayrılmasını sağlamaktır. Bu sayede dokuların oksijenizasyonu artmaktadır (Valacchi ve Bocchi 1999; Özler ve ark. 2009).

Konjunktivitis, keratokonjunktivitis sikka ve korneal ülserler gibi antienflamatuvar sağaltım gerektiren yangısal ön segment hastalıkları hayvanlarda en sık görülen göz rahatsızlıklarıdır (Hendrix 2007). Biyolojik dokularca çok iyi tolere edilen medikal ozon sahip olduğu özelliklerinden dolayı yangısal ön segment göz hastalıklarının sağaltımında kullanılmaktadır. Medikal ozon, hidrojen peroksit ve lipoperoksit tarafından aracılık edilen doğrudan oksidasyon ile patojenleri yok eder (Sechi ve ark. 2001). Oksijeni, platelet kaynaklı büyüme faktörünü (PDGF) ve transforming growth faktör β (TGF- β)'yı serbest bırakır. Böylece fibroblastların proliferasyonunu aktive ederek yara iyileşmesini hızlandırır (Marchegiani ve Spaterna 2017). Marchegiani ve Spaterna (2017), yapmış olduğu bir çalışmada, korneal erozyon/ülserasyon, keratit, korneal pigmentasyon ve korneal neovaskülerizasyon durumlarında ozonlu göz damlaları kullanmış ve korneal iyileşmeyi hızlandırdığını bildirmiştir. Çalışmamızda sağaltım gruplarına ait olguların kornealarındaki defektli alanın, kontrol grubuna kıyasla daha küçük olması, medikal ozonun reepitelizasyonu hızlandırdığını göstermiş olup, literatür bilgilerle uyum sağlamıştır. Bazı oftalmoglar ozonun üveitis sağaltımında etkili olabileceğini ifade etmişlerdir. Onischenko ve arkadaşları, ozonlanmış kan ve plazmaferez uyguladıkları 179 adet üveitisli hastalarla yaptıkları çalışmada olumlu sonuçlara ulaşmışlardır. Kaya ve ark. (2016), deneysel oluşturdukları üveitis modelinde ozonun antienflamatuvar etkisini değerlendirmişler, ozon sağaltımının klinik ve histopatolojik olarak yangıyı önemli ölçüde azalttığını söylemişlerdir. Ozon sağaltımının endoftalmitiste etkili olduğunu gösteren çalışmalar da vardır. Iuzhakov ve ark. (2000), endoftalmitisli hastalarda vitreusu ozonla işlenmiş saline solüsyonu ile yıkamış, takiben vitrektomi yaparak başarılı sonuçlar almıştır. Gundarov ve ark.'nın (1996), deneysel olarak oluşturdukları endoftalmitiste, ozonlu saline solüsyonunun intravitral enjeksiyonunda total veya kısmi bir iyileşme gözlemlemişlerdir. Vigna ve Menendez (2007), yaptıkları bir çalışmada, keratokonjunktivitis ve kornea ülseri bulunan toplam 59 kediye sağaltım amacıyla lokal olarak ozon ve susam yağı karışımını uygulamışlar ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Ancak literatürlerde korneal alkali yanıkların sağaltımında ozonun farklı uygulama tekniklerini içeren bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmalar kimyasal ajanın gözde oluşturacağı hasarın ilerlemesini önlemek amacıyla yapılan yıkama işleminin önemli bir girişim olduğunu göstermektedir (Altan ve Oğurtan 2017). Hatipoğlu ve ark.'nın (2008) yapmış olduğu bir çalışmada, göz yanıklarını takiben 14 gün boyunca günde iki kez 500 ml izotonik salin solüsyonu ile yıkamanın 14. günün sonunda kornea da progresif bir iyileşmenin olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada etik kurallar çerçevesinde 25 μ l 1 N sodyum hidroksit (NaOH) solüsyonu emdirilmiş 6 mm çaplı Whatman filtre kâğıdı

diski, deneklerin (n=32) yalnızca sağ kornealarının sentraline yerleştirildi ve 1 dakika süreyle burada tutuldu. Çalışmamızda, alkali yanık oluşan gözün sağaltımında, kimyasal ajanın bölgeden mümkün olduğunca hızlı uzaklaştırılması amacı gereği (Singh ve ark. 2013) yanık oluşturulduktan hemen sonra korneal yüzey 1 dakika süreyle %0.9 NaCl solüsyonu ile yıkandı.

Yıkama işleminden hemen sonra kornea merkezinde inspeksiyonla gözlenebilen ortalama 6.05 mm çapında, floresein boyama (+) olan, sınırlı ve her bir denekte uniform olarak şekillenen korneal bulanıklık elde edildi. Yanık sonrası tüm gruplarda korneal bulanıklık ve epitelyal kaybının hemen gelişmesi araştırmacıların verileriyle benzerlik göstermektedir (Sancak 2009; Subaşı ve ark. 2017). Araştırmacılar korneada şekillenen ani bulanıklığın nedenini, alkali maddelerin hidroksil grubunun, hücre membranlarının yağ asidi bölümünde sabunlaşma yaparak hücre ölümüne yol açması ve katyon grubunun stromal kollajen ve glikozaminoglikanların karboksil molekülleriyle tepkimeye girerek bu yapılarda hidrasyon şekillenmesine bağlamışlardır (Arffa 1997; Wagoner 1997; Kaufman ve ark. 1998).

Kimyasal orjinli maddelerle ortaya çıkan yaralanmalarda; oküler yüzeyde, korneal opasite, epitelyal defekt, şiddetli ağrı, epifora ve blefarospazm gibi klinik bulgular gözlenmektedir (Singh ve ark. 2013; Eslani ve ark. 2014). Çalışmamızda birinci günden sonra klinik muayenede ilk dikkat çeken bulgular; korneal opasite, epitelyal defekt, fotofobi, blefarospazm ve epifora olup literatür bilgilerle uyum sağlamıştır.

Literatür bilgilerde korneal vaskülerizasyonu ve kayıpların belirlenmesi amacıyla floresein boyasının kullanımını önermektedir (Wagoner 1997; Arıcan ve ark. 1998). Çalışmamızda alkali yanık sonrası görme kaybının önemli sebeplerinden biri olan korneal vaskülerizasyon gruplar arasında klinik olarak gözlenmemiştir. Neovaskülerizasyonun klinik olarak gözlenmemesine sebep kimyasal ajanın konsantrasyon ve miktarının düşüklüğü ve korneal yüzeyde tutulan süresinin az olmasından kaynaklı olduğu düşünülmüştür.

Ozon/oksijen karışımının vücuda verilmiş yöntemi çeşitlilik göstermektedir. Medikal ozonun uygulanış yöntemleri sistemik ve topikal olarak iki kısımda incelenebilir. Sistemik uygulama yöntemleri arasında bulunan majör otohemoterapi, medikal ozonun en yaygın kullanılan uygulama tekniğidir (Dıraçoğlu 2016). Ozonun verilmiş süresi haftada 2 kez olacak şekilde 8-12 kez yapılabilir (Bocci 2006; Bocci 2007). Çalışmamızda medikal ozon, sistemik uygulama yöntemleri arasında yer alan majör otohemoterapi ve lokal uygulama yöntemleri arasında değerlendirilebilen subkonjunktival olarak uygulanmıştır. Sağaltım süresi 3'er gün aralıklarla toplamda 7 uygulama şeklinde gerçekleştirilmiştir. Kanda çözdürülmüş ozon oksijen karışımının subkonjunktival uygulamasının korneal iyileşmede daha etkin olduğu belirlenmiştir.

Lakrimal salgı, oküler yüzeyin kurumasını engeller ve gözdeki yabancı maddelerin dışarı atılmasını sağlar. Schirmer gözyaşı testi, kornea ve konjunktival bozuklukların tanısında kritik öneme sahiptir. Gözyaşı salgısı özel kâğıt şeritler kullanılarak ölçülmektedir (İşler ve ark. 2013). Çalışmamızda birinci gün sağlıklı göz yapısına sahip 32 adet Yeni Zelanda tavşanının sadece sağ gözlerinde yapılan Schirmer gözyaşı testi sonuçları değerlendirildiğinde, elde ettiğimiz ortalama gözyaşı miktarı (STT-1) 6.22 ± 0.40 mm/dk olarak ölçüldü. Koç ve ark. (2005), yapmış olduğu bir çalışmada Yeni Zelanda beyaz tavşanlarında ortalama STT-1 değerleri 7.91 ± 3.56

mm/dk, Abrams ve ark. (1990), yapmış olduğu başka bir çalışmada normal gözyaşı miktarı 4.97 ± 2.40 mm/dk olarak bildirilmiştir. Tüm gruptaki deneklerin, 21 gün içerisinde Schirmer gözyaşı testi sonuçları değerlendirildiğinde; grupları oluşturan tüm deneklerde 3. günde istatistiksel olarak anlam taşıyan yükselme tespit edildi ($p < 0.05$). Bu yükselmenin tüm gruptaki deneklerin 7. ve 21. günlerde de devam ettiği görüldü. Ancak deneklerin gözyaşı testi sonuçlarının 14. günde istatistiksel olarak anlam taşımayan değerlere çıktığı gözlemlendi ($p > 0.05$). Prekorneal gözyaşı filminin en içteki müsin tabakası konjunktival goblet hücreleri ve korneal epitelyal hücreler tarafından üretilir (Alkan ve ark. 2004). Korneal epitelyal hücrelerinin hasar görmesine rağmen, Schirmer gözyaşı testi sonuçlarının 21 gün içerisinde belli bir kurala bağlı olmaksızın normal sınırların üzerine çıkıp, o sınırın altına düşebileceği görüldü. Bazı yayınlar alkali hasarın goblet hücre sayısında artış olduğunu göstermektedir (Wagoner 1997). Korneal alkali yanıklarda gözyaşı miktarında, uygulanan sağıltım ya da günlere göre bir genellemenin yapılamayacağı düşünöldü. Şaroğlu ve Arıkan (2002), yaptığı deneysel bir çalışmada da korneada oluşturulan alkali hasar sonrası oküler yüzeyde gözyaşı üretimindeki düzensizliklerin azalma ya da artma şeklinde olabileceği belirtilmiştir.

Epitel defektlerine bakıldığında 0. gün gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktu. Ancak 3, 7, 14 ve 21. günlerde ise istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gözlemlendi ($p < 0.05$). Çalışmanın 21 günlük süresi boyunca tüm gruplardaki hayvanlarda korneal erozyon alanında azalma olduğu gözlemlendi. Herhangi bir sağıltım uygulanmayan kontrol grubunda korneal erozyon alanı sağıltım gruplarına kıyasla önemli oranda daha büyük bir yüzey alanına sahipti. Sağıltım grupları kendi aralarında kıyaslandığında ise istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gözlemlendi ($p < 0.05$). Sağıltımın 3. ve 7. günlerinde defekt alanında azalmanın en fazla M grubunda olduğu ve bu durumun istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlendi. Diğer grupların birbirleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlam taşımadığı gözlemlendi ($p > 0.05$). Sağıltımın 14. ve 21. günlerinde kontrol ve sağıltım grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı. Sağıltım sonucunda en hızlı epitelyal iyileşme gözlenen grup M grubu idi. İyileşmeyi sırasıyla O, S ve K grubunun takip ettiği belirlendi.

Çalışmamızda sağıltım grupları ile kontrol grubu arasında opasite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. 21. günün sonunda M grubunun korneal opasite diğer gruplara göre bir miktar daha küçüktü. Subaşı ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada, korneada alkali yanık oluşturmuş ve 18 günlük sağıltım sonrasında kollejen çapraz bağlama (CXL) ve kontrol grubu arasında korneal opasite açısından anlamlı bir fark saptamamışlardır. Colombo-Barboza ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada, alkali yanığın 15. gününde CXL ve kontrol grubu arasında korneal opasite yönünden anlamlı bir fark olmadığını belirlemişlerdir. Ancak aynı çalışmanın 30. gününde CXL grubunda, kontrol grubuna kıyasla korneal opasite anlamlı bir şekilde azaldığını göstermişlerdir. Alkali yanık sonrası şekillenen korneal opasitenin sağıltımında, çalışmamız ve yapılan diğer çalışmalar göstermektedir ki uzun dönem sağıltım sonuçlarına ihtiyaç vardır.

Kollajen lamellerin düzenli bir şekilde birbirine paralel seyretmesi kornea saydamlığının devamı için gereklidir. Stromal kalınlık artışı kollajen lamellerin yapısının bozulmasına ve korneal saydamlığın kaybına neden olur (He ve Bazan 2006; Maggs 2008; Altan ve Oğurtan 2017). Çalışmada 21 günlük sağıltım sonrası, normal stromal

kalınlığa en yakın olgular M grubunda olup, bu durumu sırasıyla O grubu ve S grubu takip etti. Diğer gruplarla kıyaslandığında K grubunun en yüksek stromal kalınlığa ve normalden en uzak değere sahip olduğu dikkati çekti. Korneal opasitenin klinik ve istatistiksel sonuçları, korneal stromal kalınlığın sonuçlarıyla paralellik gösterdi.

Histopatolojik incelemeler, alkali yanık oluşturulduktan sonra medikal ozonun farklı uygulama yöntemleriyle sağıltım uygulanan kornea dokularında en yüksek derecede rejenerasyon ve iyileşme bulgularının, M grubuna ait olgularda gözlemlendiğini gösterdi. Bu durumu O grubuna ait olguların kornea dokuları izledi. S grubuna ait olguların kornea dokularında rejenerasyon ve reparasyon faaliyetleri daha zayıftı. Ancak en yüksek derecede korneal doku hasarı K grubuna ait olgularda gözlemlendi.

Sonuç olarak, çalışmamızda korneada sınırlı alkali yanık oluşturulduktan sonra yapılan klinik muayeneler ve bunların istatistiksel sonuçları, histopatolojik bulgularla uyum göstermiştir. Ozonun kanda çözöndürölüp subkonjunktival uygulaması sonucu reepitelizasyonun en yüksek ve opasifikasyonun alanının diğer tedavi gruplarına göre daha küçük çıkması, ozonun biyolojik sıvılarda kolayca çözöner olması ve lokal uygulamalarının daha hızlı bir iyileşme sağladığını göstermiştir. Medikal ozonun farklı yöntemlerle uygulanan sağıltım teknikleri, kornea alkali yanığa bağlı olarak şekillenen klinik bulguların giderilmesinde etkili bir sağıltım yöntemi olup medikal ozonun elde edilmesi ve kullanımının kolay olması, mevcut noninvaziv sağıltım seçenekleri arasında yer alması gerektiği kanısına varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu araştırma Van Yüzöncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından "TDK-2017-6269" no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Bu çalışma Yağmur KUŞCU isimli yazarın doktora tezinden özetlenmiştir.

Bu çalışma 2nd International Cukurova Agriculture and Veterinary Congress isimli kongrede sözlü sunu olarak sunulmuş, kongre kitabına özet metin olarak basılmıştır.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: YK, İA
Denetleme/Danışmanlık: YK, İA
Veri Toplama ve/veya İşleme: YK, İA
Analiz ve/veya Yorum: YK, İA
Makalenin Yazımı: YK, İA
Eleştirel İnceleme: YK, İA

KAYNAKLAR

- Abrams KL, Brooks DE, Funk RS, Theran P (1990). Evaluation of the schirmer tear test in clinically normal rabbits. *Am J Vet Res*, 51 (12), 1912-1913.
- Akın F, Samsar E (2001). Göz Hastalıkları. 2. Baskı. Medipres Yayıncılık, Ankara.
- Alkan F, İzci C, Tepeli C, Koç Y (2004). Evaluation of the schirmer tear test in two Turkish breeds of shepherd dogs. *Rev Med Vet*, 155 (2), 67-70.
- Altan S, Oğurtan Z (2017). Dimethyl sulfoxide but not indomethacin is efficient for healing in hydrofluoric acid eye burns. *Burns*, 43 (1), 232-244.

- Arffa RC (1997)**. Grayson's diseases of the cornea. 4. Edition. Mosby-Year Book, St. Louis.
- Arıcan M, Carter SD, Alkan F (1998)**. Treatment of bovine traumatic keratoconjunctivitis with hyaluronic acid. *Vet Cer Derg*, 4 (1), 15-18.
- Bocci V (1999)**. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine? *Br J Biomed Sci*, 56 (4), 270-279.
- Bocci V (2006)**. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res*, 37 (4), 425-435.
- Bocci V (2007)**. Can ozonotherapy be performed if the biochemistry of the process cannot be controlled? *Arch Med Res*, 38 (5), 584-585.
- Burns FR, Stack MS, Gray RD, Paterson CA (1989)**. Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30 (7), 1569-1575.
- Burns FR, Gray RD, Paterson CA (1990)**. Inhibition of alkali-induced corneal ulceration and perforation by a thiol peptide. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 31 (1), 107-114.
- Christmas R (1991)**. Management of chemical burns of the canine cornea. *Can Vet J*, 32 (10), 608-612.
- Colombo-Barboza M, Colombo-Barboza G, Felberg S, Dantas PE, Sato EH (2014)**. Induction of corneal collagen cross-linking in experimental corneal alkali burns in rabbits. *Arq Bras Oftalmol*, 77 (5), 310-314.
- Dıraçoğlu D (2016)**. Kas iskelet hastalıklarında ozon-oksijen tedavileri. *Türk J Phys Med Rehab*, 62 (2), 183-191.
- Eslani M, Baradaran-Rafii A, Movahedan A, Djalilian AR (2014)**. The ocular surface chemical burns. *J Ophthalmol*, 2014, 1-9.
- Fish R, Davidson RS (2010)**. Management of ocular thermal and chemical injuries, including amniotic membrane therapy. *Curr Opin Ophthalmol*, 21 (4), 317-321.
- Gerard M, Merle H, Chiambaretta F, Rigal D, Schrage N (2002)**. An amphoteric rinse used in the emergency treatment of serious ocular burn. *Burns*, 28 (7), 670-673.
- Griffith GL, Wirostko B, Lee HK ve ark. (2018)**. Treatment of corneal chemical alkali burns with a crosslinked thiolated hyaluronic acid film. *Burns*, 44 (5), 1179-1186.
- Hatipoğlu F, Ogurtan Z, Sezer AD ve ark. (2008)**. Effect of laminarin and chitosan gel formulations on the treatment of hydrofluoric acid induced corneal burns in the rabbits. *Rev Med Vet*, 159, 207-214.
- He J, Bazan HEP (2006)**. Synerjistic effect of platelet-activating factor and tumor necrosis factor- α on corneal myofibroblast apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47 (3), 883-91.
- Hendrix DVH (2007)**. Diseases and surgery of the canine conjunctiva and nictitating membrane. Gelatt KN (Ed). *Veterinary Ophthalmology* (pp. 662-689). Blackwell Publish, Ames.
- Iuzhakov AM, Bykov VP, Ziurniaeva ID, Gogodze MG (2000)**. New prospects in the treatment of intraocular infection. *Vestn Oftalmol*, 116 (2), 20-22.
- İşler CT, Altuğ ME, Kılıç S (2013)**. Tear secretion and Intraocular Pressure in the Sheep and Goats. *Revue Méd. Vét.*, 164 (5), 278-282.
- Kaufman HE, Barron BA, Mcdonald MB (1998)**. The cornea. 2. Edition. Butterworth-Heinemann, Boston.
- Kaya A, Sonmez M, Kar T et al. (2016)**. Efficiency of ozone therapy in a rat model of experimental uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*, 25 (5), 695-700.
- Koç Y, Alkan F, Tepeli C (2005)**. Schirmer tear test in different rabbit breeds. *Hayvanlık Araş Derg*, 15 (2), 1-5.
- Maggs DJ (2008)**. Cornea and Sclera. Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (Eds). *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology* (pp. 175-202). Saunders Elsevier, St. Louis.
- Marchegiani A, Spaterna A (2017)**. Ozone-based eye drops in anterior segment pathologies: rationale and pre-clinical data. *Ozone Therapy*, 2 (6743), 1-4.
- Meller D, Pires RT, Marc RJ et al. (2000)**. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology*, 107 (5), 980-989.
- Ogata A, Nagahata H (2000)**. Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci*, 62(7), 681-686.
- Özler M, Öter Ş, Korkmaz A (2009)**. Ozon gazının tıbbi amaçlı kullanılması. *TAF Prev Med Bull*, 8 (1), 59-64.
- Schrage NF, Langefeld S, Zschocke J (2000)**. Eye burns: an emergency and continuing problem. *Burns*, 26 (8), 689-699.
- Sechi LA, Lezcano I, Nunez N et al. (2001)**. Antibacterial activity of ozonized sun-ower oil (oleozon). *J Appl Microbiol*, 90 (2), 279-284.
- Singh P, Tyagi M, Kumar Y, Gupta KK, Sharma PD (2013)**. Ocular chemical injuries and their management. *Oman J Ophthalmol*, 6 (2), 83-86.
- Subasi S, Altintas O, Yardimoglu M ve ark. (2017)**. Comparison of collagen cross-linking and amniotic membrane transplantation in an experimental alkali burn rabbit model. *Cornea*, 36 (9), 1106-1115.
- Şaroğlu M, Arıkan N (2002)**. Tavşanlarda deneysel oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında bazı antikollajenezik ilaçların karşılaştırılması üzerine araştırmalar. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 28 (2), 287-300.
- Tuft SJ, Shortt AJ (2009)**. Surgical rehabilitation following severe ocular burns. *Eye (Lond)*, 23(10), 1966-1971.
- Valacchi G, Bocci V (1999)**. Studies on the biological effects of ozone: 10. release of factors from ozonated human platelets. *Mediators Inflamm*, 8 (4-5), 205-209.
- Vigna I, Menéndez-Cepero S (2007)**. Ozone therapy application in different ophthalmologic diseases. *RECVET*, 2 (11), 1-9.
- Wagoner MD (1997)**. Chemical injuries of the eye: Current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol*, 41 (4), 275-313.
- Wilkie DA, Whittaker C (1997)**. Surgery of the Cornea. Vassallo J (Ed). *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* (pp. 1067-1107). W.B. Saunders Company, Philadelphia.