



Aydın SAĞLIYAN ^{1,a}
Merve ÇELİKTEN ^{1,b}
Cihan GÜNAY ^{1,c}
Ali Said DURMUŞ ^{1,d}
Eren POLAT ^{1,e}
Mustafa ÖZKARACA ^{2,f}

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Erzurum, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-8226-0740

^b ORCID: 0000-0001-9517-0579

^c ORCID: 0000-0002-0476-6164

^d ORCID: 0000-0003-4873-5690

^e ORCID: 0000-0002-3999-1310

^f ORCID: 0000-0002-6359-6249

Sığır Amniyotik Sıvısının Tavşanlardaki Deneysel Kornea Defektlerinin İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Değerlendirmesi *

Bu çalışmada korneada deneysel olarak oluşturulan defektlerin iyileşmesi üzerine sığır amniyotik sıvısının etkinliğini belirlemek amaçlandı. Çalışmada 14 adet Yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Kornealarında 3 mm çapında tam kat epitel defekti oluşturulan tavşanlar rastgele iki gruba ayrıldı. Amniyon grubuna (AS), günde 3 kez 3 damla amniyon sıvısı uygulanırken; kontrol grubundaki (KG) tavşanlara günde 3 kez 3 damla serum fizyolojik uygulandı. Çalışma sonunda dekapite edilerek ötenazi edilen tavşanların defekt oluşturulan sol gözleri ve sağlam sağ gözleri uygun koşullarda alınarak histopatolojik olarak incelendi. Çalışmada AS grubundaki tavşanlarda neovaskülarizasyon ve yangısal infiltrasyon hücrelerinin varlığı açısından KG grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı farklılıklar elde edildi. Sonuç olarak sığır amniyotik sıvısının korneal defektlerin sağaltımında uygulanabilir bir tedavi seçeneği olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kornea, defekt, neovaskülarizasyon, histopatoloji, yangı

Histopathological Evaluation of the Effects of Bovine Amniotic Fluid on the Healing of Experimental Corneal Defects in Rabbits

In this study, it was aimed to determine the efficacy of bovine amniotic fluid on healing of experimentally created defects in the cornea. 14 New Zealand rabbits were used in the study. The rabbits with 3mm diameter full thickness epithelial defects in their cornea were randomly divided into two groups. While 3 drops of amniotic fluid was applied to the amniyon group (AS) 3 times a day, 3 drops of saline solution was applied to the rabbits in the control group (KG) 3 times a day. At the end of the study, defected left eyes and intact right eyes of rabbits that were decapitated and euthanized were taken under appropriate conditions and examined histopathologically. In the study, significant differences were found in the rabbits in the AS group in terms of neovascularization and the presence of inflammatory infiltration cells compared to the KG group. As a result, it was concluded that the bovine amniotic fluid is a viable treatment option in the treatment of corneal defects.

Key Words: Cornea, defect, neovascularization, histopathology, inflammation

Giriş

Kornea, tunika fibroza bulbinin en önemli dokusudur. Korneanın en önemli görevi, göze gelen ışığı kırarak görüntü oluşması sırasında yeterli miktarda kaliteli ışığın göze girmesini sağlamaktır. Korneanın diğer bir işlevi ise, olumsuz çevresel koşullara karşı gözün etkilenmesini engellemektir. Yapısında kan ve lenf damarları bulunmayan kornea dokusu duyu sinirleri ve ağrı reseptörleri bakımından oldukça zengindir. Bu yapısı korneanın saydamlığının korunmasına yardımcı olmaktadır (1-3).

Kornea eliptik yapıya sahip bir doku olup, çoğunlukla yatay çapı dikey çapına göre daha büyüktür. Kedi, köpek ve tavşanlarda bu iki çapın birbirine yakın olması korneanın bu türlerde yuvarlağa daha yakın olmasına neden olmaktadır (3, 4). Korneanın kalınlığı ise türlere göre farklılık göstermekle beraber 1 mm daha azdır. Ortalama 0.5-0.8 mm arasında değişen kornea kalınlığı tavşanlarda 0.37 mm civarındadır (2, 5-8).

Korneanın etrafını çevreleyen ve sklera ile birleştiği yerdeki çukur yapıya limbus adı verilir. Yapısında kan damarları bulunmayan kornea dış tarafta gözyaşı tabakası, iç tarafta ön kamaradaki humor aqueous ve periferde limbus korneadaki kan damarlarından difüzyon ile beslenir. Korneanın yapısında damar olmamasına rağmen korneadaki yangısal durumlarda limbusta bulunan kan damarları korneaya invaze olurlar. Buna korneal vaskülarizasyon adı verilir (5, 8-10).

Kornea, dıştan içe doğru epitel katmanı, lamina limitans anterior, stroma katmanı, lamina limitans posterior ve endotel katmanı olarak beş histolojik katmandan oluşur (2, 3, 6, 11). Korneadaki defektler ise lezyonların derinliğine göre; epitelyal defekt, ön stromal defekt, derin stromal defekt ve endotelle beraber tüm katların defekti olmak üzere dörde ayrılır (12, 13). Korneada oluşan epitelyal defektlerde lezyonlu bölgenin etrafındaki sağlam epitel hücrelerinin migrasyonu ile lezyon kapatılmaya çalışılır.

* Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Rektörlüğü, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince (FÜBAP) desteklenmiştir (Proje No: VF.18.03).

Geliş Tarihi : 21.10.2020
Kabul Tarihi : 18.12.2020

Yazışma Adresi Correspondence

Eren POLAT
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Elazığ – TÜRKİYE

erenpolat@firat.edu.tr

Migrasyon ile beraber epitel dokuda mitozisde şekillenerek çok katlı epitelium tamamlanır (8, 9, 12, 14). İyileşen defektli kornea epiteli normal korneal epitelenden daha incedir. Ancak gerçekleşen mitotik hücre bölünmesiyle bu ince epitel normal kalınlığa ulaşır. Kornea epitelinin yerine gelen konjunktival epithelium, birkaç hafta ile birkaç ay içinde normal korneal epitheliumun morfolojik yapısını kazanır (9).

Amniyotik sıvı temel olarak su ve elektrolitlerden oluşmakla birlikte %1-2'lik kısmı da organik maddeler, inorganik tuzlar ve fetustan dökülen epitel hücrelerden oluşur. Organik bileşiklerin yarısı protein diğer yarısı da karbonhidrat, yağ, enzim, hormon ve pigmentlerden ibarettir (15-18). AS baskın büyüme faktörleri olan, epidermal growth faktör (EGF), fibroblast growth faktörler (FGF), insülin like growth faktörler (İGF) içerir (19).

İlk defa 1940 yılında Rotth ve arkadaşları amniyotik membranı konjunktival defektlerde kullanmıştır. Daha sonraki yıllarda korneal epitel üzerinde reepitelizasyon, inflamatuvar cevap ve skar oluşumu üzerine olumlu etkiler gösterdiği anlaşılan amniyotik membran ve sıvının korneal lezyonlarda kullanımı popüler hale gelmiştir (20, 21). Ayrıca amniyotik membran ve sıvı içermiş oldukları sitokinler, antiinflamatuvar ve antiangiogenik proteinlerle oküler hasarı sınırlamada etkili bileşenlerdir (22).

Yapılan bu çalışmada da deneysel olarak korneal defekt oluşturulan tavşanlarda amniyon sıvısının terapötik etkisi KG grubu ve sağlıklı korneal dokudaki histopatolojik parametrelerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem

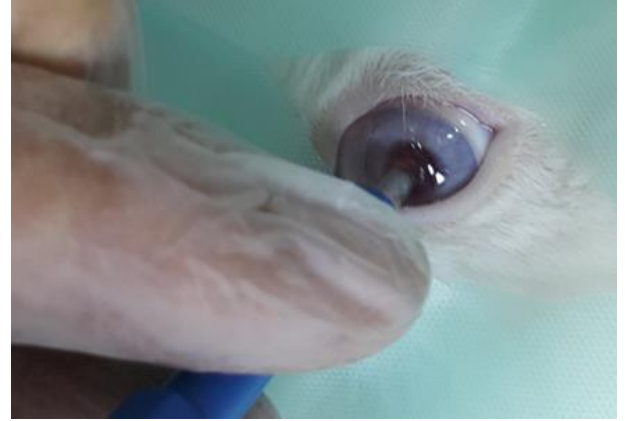
Hayvan Materyali: Bu deneysel çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden temin edilen, 4-5 aylık 14 adet, Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 03.05.2017 tarih ve 199767 sayılı onayı alındı. Çalışma süresince tavşanlar özel laboratuvar koşullarında (24 ± 3 ° C %40-60 nem, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık) ve özel bölmeler içerisinde tutuldular. Beslenmesi standart palet yem kullanılarak yapıldı.

Amniyon Sıvısının Elde Edilmesi: Sağlıklı gebe ineklerde sezaryen operasyonu esnasında steril şartlarda toplanan amniyon sıvısı kullanıldı. Bakteriyolojik muayeneleri yapılan amniyon sıvıları 2000 devirde 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Üstte kalan ve supernatant kısmı alındı ve steril tüplere konularak -20 ° C'de muhafaza edildi. Kullanıma başlamadan 1 gün önce $+4$ ° C'de bekletilen amniyon sıvısı uygulamada kullanıldı (16, 17, 23, 24).

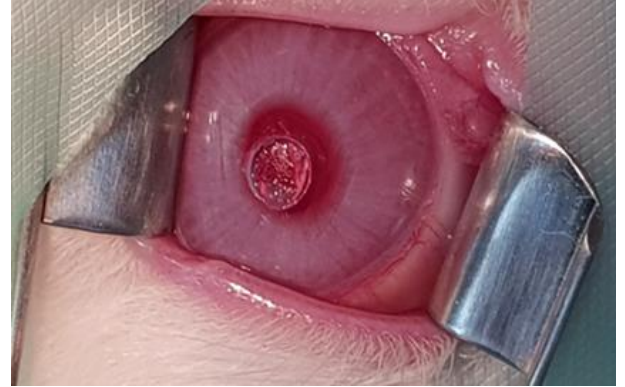
Anestezi protokolü: Anestezi için 4 mg/kg dozunda ksilazin hidroklorür (Rompun 23.32 mg/mL, Bayer) kas içi enjekte edildikten 10 dakika sonra 50 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar 50 mg/ml, Parke-Davis) kas içi yolla uygulandı.

Kornea Defekt Modelinin Oluşturulması:

Tavşanlar anestezide alındıktan sonra, defekt oluşturulacak sol gözde asepti-antisepsi sağlandı. Korneada defekt oluşturulmadan 10 dk önce %0.5'lik proparakain (Alcain) damlatılarak lokal anestezi sağlandı. Standart korneal epitel defektin sınırları 3 mm çapındaki punç trepan ile belirlendi (Şekil 1). Epitel tabaka bu sınırdan tam kat olarak kazınarak düzgün kenarlı yuvarlak epitel defekt oluşturuldu (Şekil 2).



Şekil 1. Kornea defekt alanının punç trepan ile oluşturulması



Şekil 2. Kornea tam kat epitel defektinin oluşturulması

Grupların Oluşturulması: Epitel defekt oluşturulduktan sonra tavşanlar rastgele her grupta 7 tavşan olacak şekilde 2 eşit gruba ayrıldı ve uygulamalara aynı gün başlandı. I. gruptaki tavşanlar AS grubu olarak belirlendi. Bu gruptaki tavşanlara (n=7) günde 3 kez 3'er damla olacak şekilde amniyon sıvısı damlatıldı. II. gruptaki tavşanlar ise KG grubu olarak seçildiler. Bu gruptaki tavşanlara (n=7) ise günde 3 kez 3'er damla serum fizyolojik damlatıldı. Her iki gruptaki uygulamaya da 20 gün boyunca devam edildi.

Postoperatif Bakım: Tavşanlar, grupların oluşturulmasından sonra üçerli ve dörderli olmak üzere özel bölmelere konularak, günlük olarak palet yem ve su verilmeye devam edildi. Her iki gruptaki hayvanlara da postoperatif antibiyotik uygulaması yapılmadı.

Mikroskopik Değerlendirme: Histopatolojik değerlendirmelerin yapılması amacıyla tavşanlar 20. günde anestezi altında dekapite edildi. Defekt oluşturulan sol gözlerin ve sağlıklı olan sağ gözlerin korneaları alındı.

Histopatolojik Yöntem: Alınan kornea örnekleri %10'luk nötral formalinde tespit edildi. Yıkama işleminden sonra rutin alkol-ksilol serilerinden geçirilen dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 5 µ kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Değerlendirmede, her örneğin ışık mikroskopunda x20'lik büyütmedeki rastgele üç alanındaki oluşumlar incelendi. Mikroskopik değerlendirilmede yeni damar oluşumu, yangısal hücre infiltrasyonu ve ödem oluşumu Tablo 1'de belirtildiği gibi değerlendirildi.

Tablo 1. Histopatolojik bulguların skorlaması

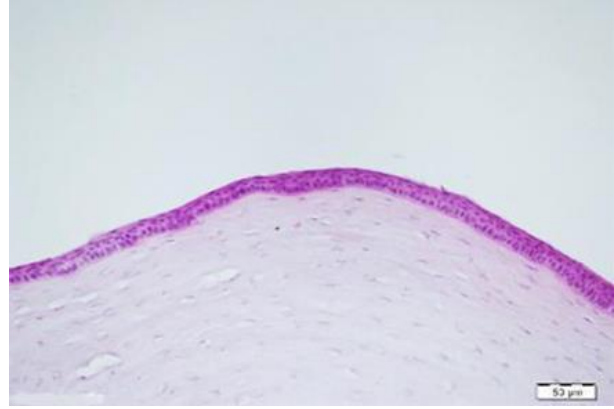
Skor	Hücre infiltrasyonu ve Ödem	Neovaskülarizasyon
0	Yok	Yok
1	Hafif	0-3 damar
2	Orta	3-8 damar
3	Şiddetli	8 > damar

İstatistiksel Analiz: İstatistiksel değerlendirme için SPSS (22.0 versiyonu) kullanıldı. Gruplar arasındaki ortalama farklılıkları karşılaştırmak için Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farklılıkları karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Veriler ortalama ± standart hata olarak sunuldu. İstatistiksel önemlilik $P \leq 0.05$ olduğunda kabul edildi (25).

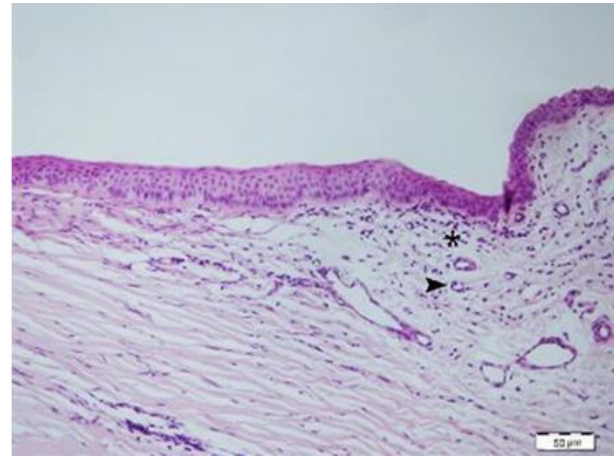
Bulgular

Klinik Bulgular: Korneal defektin oluşturulmasından hemen sonra hem AS grubundaki tavşanlarda hem de KG grubundaki tavşanlarda epifora, blefarospazm ve fotofobi ile birlikte şiddetli derecede konjunktivit, skleral damarlaşma ve üçüncü göz kapağı üzerinde damarlaşmalar tespit edildi. Çalışmanın ilerleyen dönemlerinde bu klinik bulgular AS grubundaki tavşanlarda hızla düzeliyor, KG grubundaki tavşanlarda çeşitli derecelerdeki şiddetlerde tüm klinik bulguların devam ettiği görüldü. Çalışmanın sonunda AS grubundaki tavşanların sadece üç tanesinde hafif skleral damarlaşma tespit edilmesine rağmen; KG grubundaki tavşanlar blefarospazm, konjunktivitis, skleral damarlaşma ve üçüncü göz kapağındaki damarlaşmaların devam ettiği görüldü.

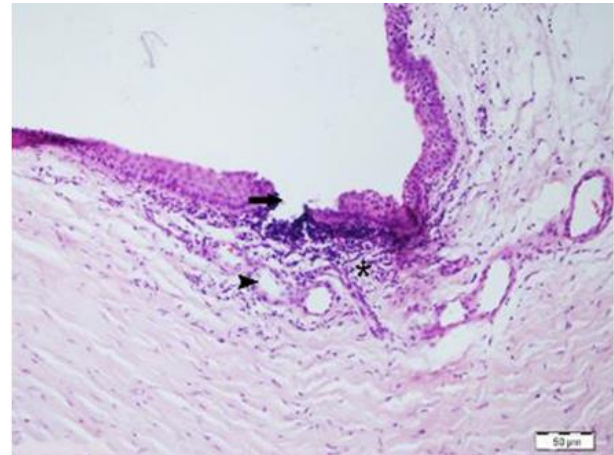
Histopatolojik Bulgular: Neovaskülarizasyon ve yangısal hücre infiltrasyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi (Tablo 2). Yangısal hücre tiplerine bakıldığında, AS grubundaki tavşanlarda yangısal hücrelerin lenfoplazmositer ağırlıklı olduğu, KG grubundaki yangısal hücrelerin ise nötrofil ağırlıklı olduğu ve erozyonun devam ettiği belirlendi (Şekil 3, 4, 5). KG ve AS grubunda ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi (Tablo 2).



Şekil 3. Sağlıklı korneanın (sağ göz) histolojik görünümü (H-E)



Şekil 4. Amnion grubunda ileri düzeyde damar oluşumu (okbaşı) ve orta düzeyde lenfoplazmositer ağırlıklı yangısal hücre infiltrasyonu (*) (H-E)



Şekil 5. Kontrol grubunda orta düzeyde yeni damar oluşumu (okbaşı), şiddetli düzeyde nötrofil lenfoplazmositer ağırlıklı yangısal hücre infiltrasyonu (*) ve erozyon (ok) (H-E)

Tablo 2. Histopatolojik ölçüm değerlerinin istatistiksel analizi

Grup	Yeni damar oluşumu	Yangısal hücre infiltrasyonu	Ödem
Sağlıklı kornea	0.28±0.18 ^c	0.14±0.14 ^c	0.00±0.00 ^b
Amniyon	1.57±0.29 ^b	2.71±0.18 ^a	2.00±0.21 ^a
Kontrol	2.57±0.29 ^a	2.00±0.21 ^b	2.14±0.14 ^a

^a, ^b, ^c: Aynı sütündeki farklı harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir (P<0.05)

Tartışma

Korneanın yüzeyinden defektlere sebep olan hastalıklar kornea dokusunun saydam, pigmentsiz, damar ve hücreden yoksun olan yapısını bozarak görüşün kısmen ya da tamamen kaybolmasına sebep olabilmektedir. Korneada bulanıklığa sebep olan bu durumlarda korneanın saydamlığını sağlamak için çeşitli cerrahi teknikler kullanılmaktadır. Tam kat korneal defektlerin sağaltımında penetran kornea transplantasyonları tercih edilir. Korneal ülser, korneal neoplazma, korneal dermoid gibi tam kat olmayan korneal defektlerin sağaltımında ise kornea konjunktival transpozisyonu, kornea skleral transpozisyonu, üçüncü göz kapağı grefti, amniyotik membran uygulamaları, korneal doku yapıstırıcıları ve limbal kök hücre transplantasyonlarının tercih edildiği bilinmektedir (9, 10, 26, 27). Yapılan bu çalışmada ise, tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan kornea epitel defekt amniyon sıvısı ile sağaltımının histopatolojik sonuçları değerlendirildi. Bu amaçla AS grubundaki hayvanlara günde 3 kez üçer damla olmak üzere amniyon sıvısı damlatıldı.

Kornea epitelindeki defektlerin iyileşmesinde gözyaşının etkisinin önemli olması oftalmologların benzer içerikli biyolojik ürünleri kornea defektlerinde kullanmaya yönlendirmiştir. Anne sütü, kan ürünleri (serum gibi), amniyotik membran ve amniyon sıvısı gibi gözyaşı temel bileşenlerinin çoğunu içeren bu ürünler aktif moleküllerin konsantrasyonu ve çeşitliliği açısından farklılıklar göstermektedirler (28-33). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada (34), organ kültüründe oluşturulan korneal epitel defektleri üzerinde fetal inek serumu, insan amniyon sıvısı ve at amniyon sıvısının etkinliklerini araştırmışlardır. Korneal defektlerin kapanma hızı açısından fetal inek serumu kullanılan grup ile KG grubu arasında bir farklılık olmamasına rağmen, insan amniyon sıvısı ve at amniyon sıvısı kullanılan grupların KG grubuna göre epitelizasyon hızlarının daha fazla olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yine farelerde

oluşturulan kuru göz sendromu üzerine farklı konsantrasyonlardaki (%20-50-100) amniyon sıvısının topikal uygulamalarının etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (35), gözyaşı üretimi, korneal boyanma ve goblet hücre sayısının amniyon sıvısı kullanılan gruplarda KG grubuna göre daha üstün olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yine farklı konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak bir farklılık tespit edememelerine rağmen; %50 ve %100 konsantrasyonlardaki gruplarda gözyaşı üretimi ve korneal boyanma açısından %20 konsantrasyondaki gruba göre üstün olduklarını tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise, gebe ineklerden sezeryan operasyonu sırasında steril şartlarda toplanan sağlıklı amniyon sıvısı sulandırılmadan kullanıldı. Yapılan klinik muayenelerde çalışmanın ilk günü iki gruptaki tüm tavşanlarda blefarospazm ile birlikte fotofobi ve çeşitli şiddetlerde konjunktivitis, skleral damarlaşma ile birlikte üçüncü göz kapağında damarlaşmalar tespit edildi. Tedavinin son gününde AS grubundaki tavşanlarda klinik bulgular ortadan kalkarken sadece üç tavşanda hafif düzeyde skleral damarlaşma olduğu tespit edildi. KG grubundaki tavşanlarda ise çeşitli şiddetlerde konjunktivitis, skleral damarlaşma ve üçüncü göz kapağındaki damarlaşmalar ile blefarospazm ve fotofobi bulgularının devam ettiği tespit edildi. Yapılan histopatolojik incelemelerde ise, gruplar arasında yeni damar oluşumu ve yangısal hücre infiltrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi. Yangısal hücre tiplerine bakıldığında, AS grubundaki tavşanlarda yangısal hücrelerin lenfoplazmositer ağırlıklı olduğu, KG grubundaki yangısal hücrelerin ise nötrofil ağırlıklı olduğu ve erozyonun devam ettiği belirlendi. KG ve AS grubunda ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Sonuç olarak; deneklerin 20 günlük klinik gözlem ve histopatolojik bulguları göz önüne alındığında, korneal defektlerin tedavisinde kullanılan amniyon sıvısının KG grubuna göre gerek klinik bulgular yönünden gerekse histopatolojik bulgular yönünden olumlu yönde etkili olduğu tespit edildi. Aynı zamanda daha hızlı bir iyileşme yanında görüşü engellemeyecek daha saydam bir korneal iyileşme sağlandığı belirlenmiştir. Bütün bu veriler ışığında yapılan çalışma amniyon sıvısının korneal defektlerde uygulanabilir bir tedavi seçeneği olduğu kanısına varıldı. Ancak yapılacak daha kapsamlı ve uzun süreli çalışmalar amniyon sıvısının kullanım konsantrasyonu, dozu, süresi veya beraber kullanılacak ilaçların belirlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Kaynaklar

1. Taner D. Fonksiyonel Nöroanatomi. II. Baskı, Ankara: Metu Press, 1999.
2. Gelatt KN. Essentials of Veterinary Ophthalmology. Third Edition, London: Wiley Blackwell, 2014.
3. Samuelson DA. Veterinary Ophthalmology. Ophthalmic Anatomy. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 1991.
4. Delmonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. J Cataract Refract Surg 2011; 37: 588-598.
5. Maggs DJ, Miller P, Ofri R. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4th Edition, London: Elsevier, 2008.
6. Akın F, Samsar E. Göz Hastalıkları. 3. Baskı, Ankara: Medipres, 2005.

7. Adams GGW, Dilly PN, Kirkness CM. Monitoring Ocular Disease by Impression Cytology. *Eye* 1988; 2: 506-516.
8. Crispin SM. Notes on Veterinary Ophthalmology. Ophthalmic Equipment and Examination. 1st Edition, Oxford, UK: Blackwell Publishing Company, 2005.
9. Gilger BC, Whitley RD. Surgery of the Cornea and Sclera. In: Gelatt KN (Editor). *Veterinary Ophthalmology*, Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 1991: 675-700.
10. Wilkie DA, Whittaker C. Surgery of the cornea. *Vet Clin North America Small Anim Prac* 1997; 27: 1067-1107.
11. Ollivier FJ, Samuelson DA, Brooks DE, et al. Comparative morphology of the Tapetum lucidum (among selected species). *Vet Ophthalmol* 2004; 7: 11-22.
12. Slatter D. Basic Diagnostic Techniques. In: Slatter D (Editor). *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1990: 84-146.
13. Torricelli AA, Santhanam A, Wu J, Singh V, Wilson SE. The corneal fibrosis response to epithelial-stromal injury. *Exp Eye Res* 2016; 142: 110-118.
14. Alexander VL, Mehrnoosh S. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res* 2015; 49: 17-45.
15. Esmaili A, Abbasian B, Kazemini H, Adibi S. Effect of bovine amniotic fluid on intra-abdominal adhesion in male rats. *Int J Surg* 2010; 8: 639-642.
16. Durmuş AS, Han MC. Effect of bovine amniotic fluid on intraabdominal adhesions. *Indian Vet J* 2006; 83: 621-623.
17. Gönenci R, Altuğ ME, Koç A, Yalçın A. Effect of amniotic fluid on acute corneal alkali burns in the rat. *JAVA* 2009; 8: 817-823.
18. Tahmasebi S, Tahamtan M, Tahamtan Y. Prevention by rat amniotic fluid of adhesions after laparotomy in a rat model. *Int J Surg* 2012; 10: 16-19.
19. Özgenel GY. The influence of human amniotic fluid on the potential of rabbit ear perichondrial flaps to form cartilage tissue. *Br J Plast Surg* 2002; 55: 246-250.
20. Li Q, Weng J, Mohan RR, et al. Hepatocyte growth factor and hepatocyte growth factor receptor in the lacrimal gland, tears, and cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 727-739.
21. Kakazu A, Sharma G, Bazan HE. Association of protein tyrosine phosphatases (PTPs)-1B with c-Met receptor and modulation of corneal epithelial wound healing. *Inv Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 2927-2935.
22. Kim JS, Kim JC, Na BK, Jeong JM, Song CY. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali burn. *Exp Eye Res* 2000; 70: 329-337.
23. Karabulut K. Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Tedavisinde Amniyon Sıvısının Etkinliğinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2018.
24. Aydın HB. Flunixin Meglumine ve Amniyon Sıvısının İntraabdominal Adezyonların Önlenmesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2019.
25. Karagöz Y. SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik. Güncellenmiş 2. Basım, Ankara: Nobel, 2015.
26. Slatter D. Cornea and sclera. In: Slatter D (Editor). *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001: 293-313.
27. Gökçe P, Sarıtaş Z, Tong S. Köpeklerde deneysel penetran keratoplasti uygulamaları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2001; 48: 67-73.
28. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 459-461.
29. Alío JL, Rodríguez AE, Wrobel Dudzińska D. Eye platelet-rich plasma in the treatment of ocular surface disorders. *Curr Opin Ophthalmol* 2015; 26: 325-332.
30. Pan Q, Angelina A, Zambrano A, et al. Autologous serum eye drops for dry eye. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 8: CD009327.
31. Saruhan BG, Akbalık ME, Topaloğlu U, et al. Tavşanlarda hidroflorik asit ile oluşturulan yanık sonrası, DMSO ve indometazinin korneal mast hücreleri üzerine etkilerinin araştırılması. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2017; 10: 130-137.
32. Sezen AY. Kornea Epitel İyileşmesinde Topikal İnsan Serum, Amniyon Sıvısı, Umbilikal Kord Serum ve Anne Sütü Etkilerinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2017.
33. Shahriari HA, Tokhmehchi F, Reza M, Hashemi NF. Comparison of the effect of amniotic membrane suspension and autologous serum on alkaline corneal epithelial wound healing in the rabbit model. *Cornea* 2008; 27: 1148-1150.
34. Castro-Combs J, Noguera G, Cano M, et al. Corneal wound healing is modulated by topical application of amniotic fluid in an ex vivo organ culture model. *Exp Eye Res* 2008; 87: 56-63.
35. Quinto GG, Castro-Combs J, Li L, et al. Outcomes of different concentrations of human amniotic fluid in a keratoconjunctivitis sicca-induced mouse model. *Int Ophthalmol* 2016; 36: 643-650.