

## KÖPEKLERDE DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KORNEAL DEFEKTLERİN SAĞALTIMINDA ASETİLSİSTEİNİN ETKİSİ

Cihan GÜNAY<sup>1</sup> Aydın SAĞLIYAN<sup>2</sup> Mine YAMAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi, Süleyman Demirel Keban Meslek Yüksekokulu, Elazığ-TÜRKİYE

<sup>3</sup> Fırat Üniversitesi Veteriner, Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.02.2005 Kabul Tarihi: 24.05.2005

### ÖZET

Bu çalışma, köpeklerde deneysel olarak oluşturulan korneal defektlerin sağaltımında asetilsisteinin etkinliğini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Çalışmada 5'i erkek 2'si dişi olmak üzere toplam 7 adet sağlıklı köpek kullanıldı. Hayvanlar anestezide alındıktan sonra aynı hayvanın her iki gözünde korneanın tam merkezine gelecek şekilde 7.5 mm çapında bir trepan yerleştirilerek korneal defekt (lamellar keratektomi) oluşturuldu. Köpeklerin sol gözlerine % 3'lük asetilsistein, sağ gözlerine ise % 0.9'luk serum fizyolojik günde üç kez 3-4 damla iki ay süreyle damlatıldı.

Klinik incelemeler sonucunda, sol gözlerde korneal bulanıklığın 20. günde kaybolduğu görülürken, sağ gözlerde iyileşme görülmedi. Çalışmanın sonunda rastgele 3 hayvan seçilerek ötenazi edildikten sonra korneadaki yara iyileşmesi biyomikroskopik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Biyomikroskopik incelemelerde sağ gözlerde defekt sınırları belirgin bir şekilde tespit edilirken, sol gözlerde defekt sınırları belli belirsiz bir durumdaydı. Histopatolojik incelemelerde ise sağ gözlerde korneal iyileşme tam olarak gelişmezken, sol gözlerde kornea epitelinde tam bir iyileşme tespit edildi.

Sonuç olarak; asetilsisteinin korneal yara iyileşmesi üzerine önemli bir etkisinin olduğu kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Asetilsistein, Korneal defekt, Köpek.

### ABSTRACT

#### Effect of Acetylcystein on Treatment Outcome of Experimentally Induced Corneal Defects in Dogs

The primary objective of this study was to investigate the role of acetylcysteine on the treatment of experimentally induced corneal defects in dogs.

Seven dogs, 5 males and 2 females, were used in this study. After anesthesia a corneal defect (lamellar keratectomy) at the center of right and left corneas of each dog was created with a trephine of a 7.5 mm in diameter. Then, it was administered to the left eye of each dog 3% acetylcysteine and to the contralateral right eye serum physiologic 3-4 drops each eye and three times per day for two months.

During clinical examination, it was observed that corneal opacity disappeared in 20 days in left eyes contrary to any progress in the right eyes. At the end of the study, three randomly selected dogs were killed and the corneal wound healing processes of their both eyes were biomicroscopically and histopathologically evaluated. Biomicroscopic examination revealed that the boundaries of the defect, at the right eyes were evident whereas those at the left eyes were not distinctly evident. On the histopathologic examination, it was observed that there was a marked healing on the corneal epithelial layer of the left eyes in contrast to incomplete corneal epithelial healing on the right eyes.

As a result, acetylcysteine was found to have a marked induction on corneal wound healing process in dogs.

**Key Words:** Acetylcysteine, Corneal defect, Dog.

### GİRİŞ

Sağlam kornea epitelyumu, enfeksiyonlara karşı çok dirençlidir. Epitelyumun bütünlüğünü bozan bir yıkımlanma, mikroorganizmaların geçişine izin vererek ülserasyonla sonuçlanabilir. Entropiyum, distişiasis, konjunktival litiasis, keratokonjunktivitis sikka, yabancı cisimlerin korneaya batması veya membrana niktitans'ın altına yerleşmesi, göz kapağı kenarındaki tümörler, ektopik siliya, kimyasal

yanıklar, paraliz, senil değişiklikler ve birçok bakteriden kaynaklanan enfeksiyonlar ulkus korneaya neden olabilirler. Bu durumda ağrı, gözyaşı akıntısı, blefarospazm, lökosit infiltrasyonu nedeni ile korneanın saydamlığını kaybetmesi ve değişik derecelerde korneal damarlaşma gibi klinik belirtiler ortaya çıkabilir (1-7).

Korneal yaraların ve ulkusların sağaltımında başarı büyük ölçüde tanıya bağlıdır. Sağaltımda amaç; önce mevcut ağrıyı hafifletmek, perforasyona engel olmak, enfeksiyonla mücadele etmek, sikatrizasyonu hızlandırmak ve bunun bırakacağı sekeli en az düzeye indirmektir (1-4, 6). Sağaltım, ilaçlarla veya operatif olarak yapılır. Ağrıyı azaltıcı ve enfeksiyonu önleyici ilaçların lokal kullanımları, antikoajenazik ilaç (asetilsistein, sistein, progesteron, medroksipro-gesteron, sodyum sitrat, sodyum askorbat, tetrasiklinler, tiol peptitler, sodyum EDTA, kalsium EDTA, penisillamin, heparin, kan serumu, aprotinin ve polisülfat glikozaminoglikan) uygulamaları, vitamin (A, B2, B12, C) uygulamaları etkili birer ilaçla sağaltım şekilleridir (1-3, 7-9). Operatif sağaltımlar ise; nokta veya çizgi keratotomi, lamellar veya penetran keratoplasti, konjunktival flaplar, koterizasyon ve yumuşak kontak lens uygulamaları şeklinde sıralanabilir (1-3, 6-12). Erken dönemde ve uygun bir sağaltım yapılmadığında kısa sürede ulkus kornea gelişebilir ve derin katlara kadar inerek uveitis, panoftalmi, perforasyon ve korneal damarlaşma gibi önemli komplikasyonlara neden olabilir (1-4).

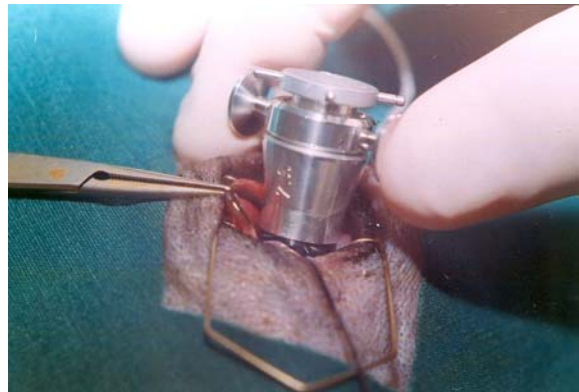
Asetilsistein ilk olarak solunum sistemi hastalıklarında koyulaşmış bronş sekresyonunu akıcı hale getirmek amacıyla kullanılmıştır. Oftalmolojide ise keratokonjunktivitis sikka, korneada oluşan alkali yanıklar, korneal yaralar ve ulkus kornea gibi korneal hastalıkların sağaltımında kullanılır. Bu etkisini, kollajenaz aktivitesini bloke ederek ve enfeksiyonu kontrol altına alarak yapar (13-22).

Bu çalışmanın amacı; köpeklerde deneysel olarak oluşturulan korneal defektlerin sağaltımında % 3'lük asetilsisteinin etkinliğini klinik, biyomikroskopik ve histopatolojik olarak ortaya koymaktır.

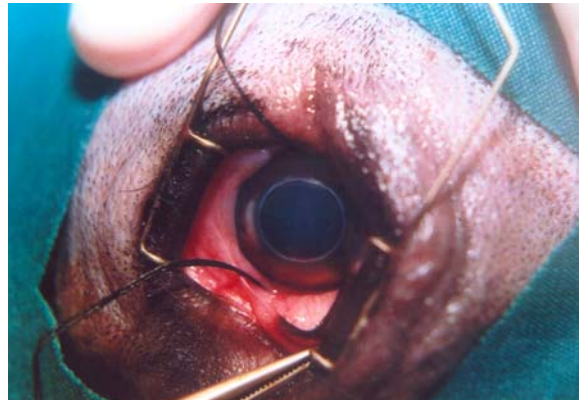
### GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada vücut ağırlıkları 16-30 kg arasında değişen 5'i erkek ve 2'si dişi olmak üzere toplam 7 adet sağlıklı köpek kullanıldı. Hayvanlar 2 mg/kg im. ksilazin hidroklorit (Rompun, Bayer) ve 15mg/kg im. ketamin hidroklorit (Ketanex, Alke) ile anesteziye alındı. Operasyon masasına lateral pozisyonda yatırılan hayvanların göz kapaklarının çevresi tıraş ve dezenfekte edildi. Daha sonra göz kapaklarına blefarost yerleştirilerek gözlerin tam olarak açılması sağlandı. Korneaya daha iyi bir yaklaşım sağlanması amacıyla bulbusa askı dikişleri uygulandı ve bir göz pensi ventral rektus kasına yerleştirildi. Önceden derinliği ayarlanmış 7.5 mm çapındaki bir trepan korneanın tam merkezine gelecek şekilde yerleştirildi (Şekil 1). Trepan ile korneada dairesel bir kesi oluşturulduktan sonra bir kornea pensi ve makası

kullanılarak korneanın stroma katına kadar ulaşan bir defekt (lamellar keratektomi) oluşturuldu (Şekil 2). Bu işlem aynı hayvanın her iki gözünde de uygulandı. Daha sonra sol gözlere iki ay süreyle, günde üç kez % 3'lük asetilsisteinden (N-Acetyl-L-cysteine, Grade minimum 99 % TLC, Sigma, Steinheim, Germany) 3-4 damla uygulandı. Sağ gözlere ise serum fizyolojiktan yine 3-4 damla damlatıldı ve sağ gözler kontrol olarak değerlendirildi. Tedavi süresince hayvanların boyunlarına yakalık takılarak gözlerin korunmasına çalışıldı. Gözlerin klinik muayeneleri günde bir kez yapıldı. Göze direkt ışık kaynağı tutularak ve floresein boyası damlatılarak yapılan muayenelerde; korneal bulanıklık, damarlaşma, konjunktivit, göz yaşı akıntısı, fotofobi olup olmadığı araştırıldı. İkinci ayın sonunda rastgele 3 hayvan seçilerek ötenazi edildi. Göz total olarak enükle edilerek biyomikroskopta (TOPCON, Tokyo, Japan) defekt boyutları ve damarlaşma muayenesi yapıldı. Daha sonra kornea, histopatolojik incelemelerin yapılması için % 10'luk formol solüsyonununa konuldu. Kornea bilinen klasik işlemlerden geçirdikten sonra 5µ kalınlığında kesilerek Hemotoksilen Eosin boyası ile boyanarak korneadaki yara iyileşmesi ışık mikroskopunda değerlendirildi (23).



Şekil 1. Korneanın merkezine trepanın (7.5 mm) yerleştirilmesi



Şekil 2. Korneal defektin oluşturulması

## BULGULAR

Keratektomi sırasında 1 köpeğin sağ gözünde korneal perforasyon oluştu, oluşan korneal perforasyon 8/0 naylon ip ile dikilerek kapatıldı. Bir olgunun ise her iki gözünde de trepanasyondan sonraki 2. günde desemetosel ve korneal bulanıklık şekillendi. Diğer olgularda ise operasyondan sonraki gün her iki gözünde de korneal bulanıklık, gözyaşı akıntısı, ağrı ve konjunktivit oluştu. Korneal bulanıklığın, asetilsistein uygulanan sol gözlerde altıncı günde azalma göstererek 20. günde tamamen ortadan kalktığı (Şekil 3), kontrol olan sağ gözlerde ise çalışmanın sonuna kadar (2 ay) tam bir iyileşmenin oluşmadığı görüldü (Şekil 4).



Şekil 3. 2 nolu olgunun postoperatif 20. gündeki görünümü



Şekil 4. 6 nolu olgunun postoperatif 60. gündeki görünümü

Gözyaşı akıntısı, deneme grubu olan sol gözlerde üçüncü günden itibaren bir azalma gösterirken, sağ gözlerde azalmakla birlikte çok hafif bir gözyaşı akıntısı 3. haftaya kadar devam etti.

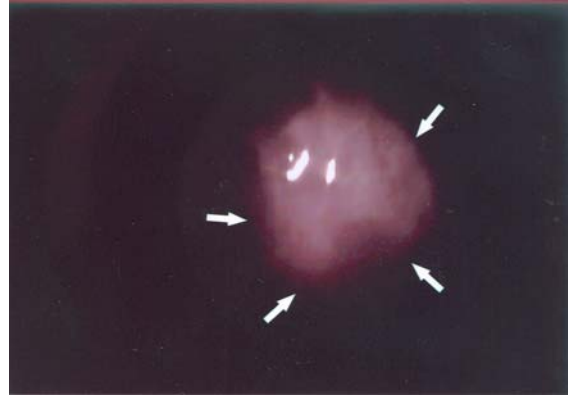
Konjunktivitis, asetilsistein uygulanan sol gözlerde korneadaki iyileşmeye bağlı olarak azalma gösterirken, sağ gözlerde ise uzun süre devam etti. Konjunktivitisin korneal defekt oluşturulduğu sırada oluşan tahriş ve ağrıya bağlı olarak hayvanın

pençeleri ile gözlerini zaman zaman kaşmasıyla ortaya çıktığı kanısındayız.

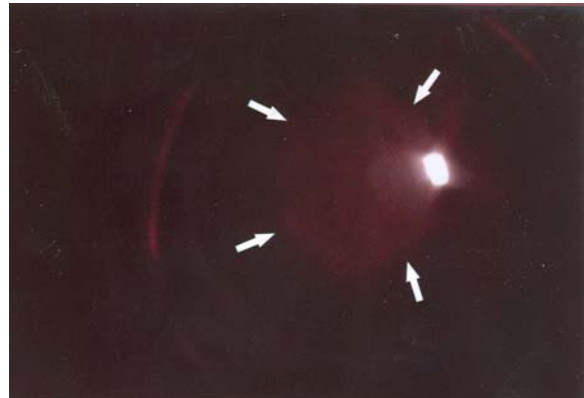
Olguların hepsinde her iki gözde de ışığa karşı hassasiyet geliştiğinden, özellikle fotoğraf çekimlerinde sürekli bir zorlukla karşılaşıldı.

Desemetosel ve korneal bulanıklık oluşan olgunun sol gözünde bu durumun 25. günde tamamen düzeldiği görülürken, sağ gözdeki desemetosel ve korneal bulanıklılığın çalışmanın sonuna kadar (2 ay) devam ettiği gözlemlendi.

Biyomikroskopik incelemelerde, sağ gözlerde korneal defektin sınırları belirgin bir şekilde tespit edilirken (Şekil 5), asetilsistein uygulanan sol gözlerde korneal defektin sınırları belli belirsiz bir durumdaydı (Şekil 6).



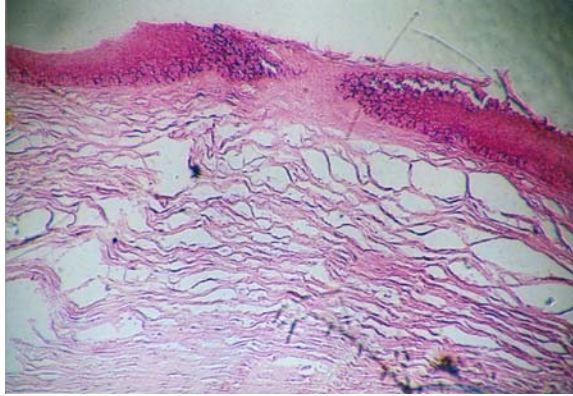
Şekil 5. Kontrollerden (sağ göz) birinde postoperatif 60. günde defektin biyomikroskopik görünümü (oklar)



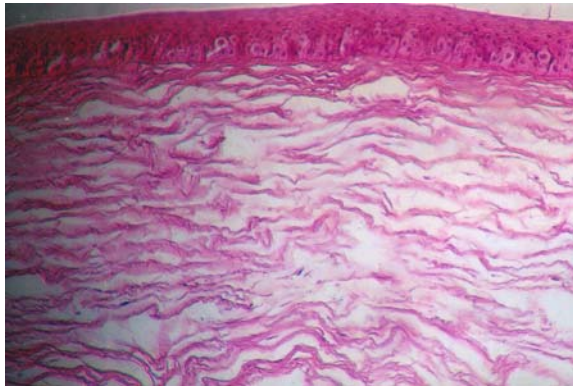
Şekil 6. Asetilsistein uygulanan sol gözlerden birinde postoperatif 60. günde defektin biyomikroskopik görünümü (oklar)

Yapılan histopatolojik muayenelerde kontrol ve uygulama grupları arasında belirgin farklılıklar tespit edildi. Kontrol gözlerde (sağ göz) kornea epitelinde iyileşme olayı tam olarak gözlenmedi. Defekli bölgede epitelyumun yeniden oluştuğu ancak bazı bölgelerde tam olarak gelişmediği ve bu alanların

kollajen ipliklerle dolmuş olduğu gözlemlendi. Yine bu alanlara komşu epitellerin stoplazmalarında şişkinlikler olduğu ve oldukça yuvarlaklaştığı dikkati çekti (Şekil 7). Asetilsistein uygulanan sol gözlerde ise, kornea epitelinde tam bir rejenerasyon ve altındaki stromada bütünlük söz konusuydu (Şekil 8).



Şekil 7. Kontrollerden birinin postoperatif 60. gündeki histopatolojik görünümü (HEx40)



Şekil 8. Asetilsistein uygulanan sol gözlerden birinin postoperatif 60. gündeki histopatolojik görünümü (HEx100)

## TARTIŞMA

Yara iyileşmesinde önemli bir yere sahip olan kollajen, korneada büyük bir konsantrasyona sahiptir ve korneal yaralanmalarda çökerek daha derin katların yıkılmasını önler. Korneal yaralanmalarda lokal kollajenazlarda bir artış görülür. Bu artış genelde yaralanmış epitelyumdan, keratositlerden, makrofaj ve polimorf nükleer lökositlerden kaynaklanır. Bu durum korneal yapının olduğu kadar kollajenin de yıkılmasında etkili olur. Oysa yara iyileşmesi ve korneal dokunun tekrar eski halini alması için kollajenolitik aktivite esastır. Antikollajenazik etkili asetilsisteinin korneal defektlerin ve derin ulkus korneaların sağaltımında kollajen fibrillerin oluşumunu aktive ederek tedavi ettiği sanılmaktadır (1-2, 4, 7). Yapılan iki çalışmada

(15, 16) tavşanlarda deneysel olarak oluşturdukları korneadaki alkali yanıkların sağaltımında asetilsisteinin başarılı sonuçlar verdiğini vurgulamışlardır. Asetilsisteinin etki mekanizmasını ise  $Zn^{2+}$  atomlarına bağlanmasıyla oluştuğunu belirtmişlerdir. Bruns ve ark. (17), asetilsisteinin korneadaki alkali yanıkların kültür ortamını temizleyerek kollajenazların % 50'sini inhibe ettiğini açıklamışlardır. Kanao ve ark. (18), 71 köpekte görülen değişik karakterdeki korneal hastalıkların sağaltımı için kullandıkları % 3'lük asetilsisteinin herhangi bir ek tedaviye gerek kalmadan korneal lezyonları düzelttiğini ve asetilsisteinin göz üzerinde hiçbir yan etkisinin de bulunmadığını açıklamışlardır. Bu çalışmada kullanılan % 3'lük asetilsisteinin deneysel olarak oluşturulan korneal defektlerin klinik belirtilerini (korneal opasite) 20 gün içerisinde ortadan kaldırdığı görüldü.

Absolon ve Brown (13), % 20'lik asetilsisteinin lokal uygulamalarının korneal ülserlerin tedavisinde oldukça başarılı olduğunu vurgulamışlardır. Fraunfelder ve ark. (19) ise % 10'luk asetilsisteinin korneal mukus plak oluşumu üzerine iyi bir etki yaptığını belirtmişlerdir. Aldavood ve ark. (14), deneysel olarak oluşturdukları korneal defektler üzerinde % 3, 10 ve 20'lik asetilsistein uygulamalarından sadece % 3'lük konsantrasyonun etkili olduğunu ve bu uygulama sonunda sağlam korneal membran ile defektli bölgedeki korneal membran arasında bir farkın olmadığını açıklamışlardır. Sugar ve Waltman (20), tavşanlarda % 20'lik asetilsisteinin intrastromal olarak 0,1 ml'lik uygulamalarından 1 hafta sonra korneada hidrops ile lokalize bir keratokonusu andıran korneal ödem tespit etmişlerdir. Fakat 10. günden sonra keratokonusunda bir azalma ile birlikte korneanın tamamen bulutumsu opak bir görüntü ile kapandığını vurgulamışlardır. Bazı araştırmalarda (5, 12, 21, 22), asetilsisteinin korneal yara iyileşmesi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını ayrıca hücrel toksisite, hücrel lizis, nekroz ve epitel hücrelerde döküntüye neden olarak korneal yangıya yol açacağını bildirmiştir. Çalışmamızda, % 3'lük asetilsistein uygulanan sol gözler ile serum fizyolojik uygulanan sağ gözler karşılaştırıldığında korneal iyileşme zamanının (korneal bulanıklığın kaybolması, histopatolojik incelemelerde uygulama grubundaki gözlerde epitelyumun yenilenmesi) kısaldığı, klinik ve histopatolojik olarak tespit edildi. Ayrıca asetilsisteinin toksik etkisinin olmadığı, yapılan histopatolojik incelemelerle ortaya konulmuştur. Bu bulgular, araştırmacıların (13, 14, 19) yapmış oldukları çalışmaların sonuçlarına paralellik göstermektedir. Ancak, Sugar ve Waltman (20)'in belirttiği ve bir komplikasyon olarak ifade ettikleri

keratokonus, bu çalışmada da bir olguda görülmüştür. Bu durum muhtemelen operasyon esnasında stromal katın kesilmesine bağlı olarak humor akusun desement membranını dışarı doğru itmesine bağlanmıştır. Fakat sol gözde epitelizasyona bağlı olarak desemetoselin 25. günde düzeldiği görülmüştür.

Campos ve ark. (5), deneysel olarak oluşturdukları alkali yanıklarda asetilsistein uygulanmasına rağmen neovaskülarizasyonun 10. günde ortaya çıktığını, 60. günde de mevcut olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar (5), bu durumu açıklarken fibroplasti ve polimorf nükleer hücreler arasında bir ilişkiden söz ederek limbik stem hücrelerinin eksikliğine bağlı olarak damarlaşmanın başlayabileceğini ve böylece iyileşmenin de gecikebileceğini bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar (14, 18, 19), ulkus korneaların bir komplikasyonu olarak gelişen korneal bulanıklık ile damarlaşmanın asetilsistein uygulamalarından sonra 10-30 gün içinde tamamen iyileşebileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, gerek korneaya direkt ışık kaynağı tutularak ve gerekse floresein boyası damlatılarak yapılan muayenelerde korneadaki bulanıklığın ve damarlaşmanın asetilsistein uygulanan sol gözlerde yaklaşık olarak 20. günde ortadan kalktığı, desemetosel oluşan bir olguda ise korneal bulanıklık ve damarlaşmanın 25. günde tamamen kaybolduğu görüldü. Bu durum asetilsisteinin kan damarlarını inhibe ederek damarlaşmayı engellediği şeklinde yorumlanmıştır.

Yapılan çalışmalarda (1-4, 8, 9) çeşitli ilaçlarla sağaltım yöntemleri korneal ülserlerin ve korneal defektlerin sağaltımında başarıyla kullanılmıştır. Gökçe (4) antiinflamatorik ve proteolitik bir enzim olan alfakimotripsinin tek başına nekrotik dokuları ve fibrini eriterek, aynı zamanda plazminojeni de aktive ederek kollajenaz sekresyonunu uyardığını ve korneadaki nekrotik dokuları da bu şekilde uzaklaştırdığını belirtmiştir. Alfakimotripsinin 3-4 gün arayla subkonjunktival olarak uygulanmasıyla korneal ülserlerin 1-4 hafta arasında değişen bir

sürede tedavi edilebileceğini bildirmiştir. Tedavi süresince gözlerin korunması için hayvanların boyunlarına bir yakalık takılmasının da zorunlu olduğunu vurgulamıştır. Bu çalışmada derin korneal defektlerin tedavisinde % 3'lük asetilsisteinin günde 3 kez 3-4 damla damlatılmasıyla klinik belirtilerin 20 gün içerisinde ortadan kalktığı görüldü. Altmışıncı günde yapılan klinik ve biyomikroskopik incelemelerde korneal defekt sınırlarının kaybolmaya başladığı saptandı. Histopatolojik muayenelerde ise korneal defekt alanında tam olarak bir epitel yenilenmesinin oluştuğu tespit edildi

Ulkus korneaların ve korneal defektlerin sağaltımında başarılı bir çok cerrahi teknikten de söz edilmektedir. Bunlar arasında süperfisyal keratotomi, lamellar veya penetran keratoplasti ve konjunktival flaplar sayılabilir (1-3, 6, 8-10). Bu yöntemler oldukça başarılı olmalarına rağmen, bazı uygulamaların (keratoplasti gibi) oldukça pahalı olması, bir takım alet ve ekipman gerektirmesi ve postoperatif bakımlarının da mutlaka çok iyi bir şekilde takip edilmesi gerektiği araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir. Gül ve ark (11) total lamellar keratektomiden sonra iyileşme sürecini hızlandırmak ve postoperatif komplikasyonlara engel olmak için mutlaka etkili bir lokal medikal tedavi ile de desteklenmesi ve gözün tedavi süresince korunması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan derin korneal defektlerin yalnızca asetilsisteinle medikal sağaltıma tabi tutulmasının tedavi için yeterli olduğu, cerrahi tekniklere göre ucuz olduğu, ayrıca herhangi bir komplikasyona sebep olmadığı da yapılan klinik ve histopatolojik çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak; % 3'lük asetilsisteinin lokal uygulamalarının korneal defektlerin sağaltımında etkili olduğu ve düzenli olarak günde 3 kez 3-4 damla damlatıldığında başarılı sonuçlar alınacağı kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Akın F, Samsar E. Göz Hastalıkları. Ankara: Tamer Matbacılık Yayıncılık Tan. Hiz. Tic. ve Paz. Ltd. Şti., 1999.
2. Barnet KC. Veterinary Ophthalmology. London: Mosbt-Wolfe, 1996.
3. Gelatt KN. Veterinary Ophthalmology. Philadelphia: Lea and Febiger, 1981.
4. Gökçe P. Karnivorlarda (köpek ve kedi) ulkus kornea olgularının sağaltımında subkonjunktival alfakimotripsin enzimi uygulamaları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1989; 36: 704-721.
5. Campos CF, Jorge AT, Talieri IC, et al. Ocular alkali lesions in dogs: acetylcysteine and blood serum effect. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 2003; 40: 30-37.

6. Woods M. Corneal ulceration. *The European Journal of Companion Animal Practice* 2004; 14: 179-185.
7. Roberts SM. Management of slow healing corneal ulcers. *Eye Facts & Tips* 1999; 1: 120-125.
8. Bentley E, Abrams G, Covits D, et al. Morphology and immunohistochemistry of spontaneous chronic corneal epithelial defects (SCCED) in dogs. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2262-2269.
9. Bentley E, Campbell S, Woo HM, Murphy CJ. The effect of chronic corneal epithelial debridement on epithelial and stromal morphology in dogs. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2136-2142.
10. Turner AG, Blogg JR. Multiple striate keratotomy: a treatment for corneal erosions caused by epithelial basement membrane disease. *Aust Vet J* 1997; 75: 27-30.
11. Gül NY, Kaya M, Sağlık Y. Köpekte bilateral pannus olgusunun lamellar total keratektomi ile sağaltımı. *Veteriner Cerrahi Dergisi* 2002; 8: 65-70.
12. Fitton JH, Zieglaar BW, Hicks CR, et al. Assesment of anticollagenase treatments after insertion of a keratoprosthesis material in the rabbit cornea. *Cornea* 1998; 17: 108-114.
13. Absolon MJ, Brown CA. Acetylcysteine in Keratoconjunctivitis sicca. *Br J Ophthalmol* 1968; 52: 310-316.
14. Aldavood SJ, Behyar R, Sarchahi AA, et al. Effect of acetylcysteine on experimental corneal wounds in dogs. *Ophthalmic Res* 2002; 35: 319-323.
15. Berman M, Manable R. Corneal collagenases: evidence for zinc metalloenzymes. *Ann Ophthalmol* 1973; 5: 1193-1195.
16. Brown SI, Weller CA. Collagenase inhibitors in prevention of ulcers alkali-burned cornea. *Arch Ophthalmol* 1970; 83: 352-353.
17. Burns FR, Stack MS, Gray RD, Paterson CA. Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1569-1575.
18. Kanao S, Kouzuki S, Isuneno M, et al. Clinical application of 3% N-Acetylcysteine eye drops in corneal diseases in dog. *Journal of Japan Veterinary Medical Association* 1993; 46: 488-491.
19. Frauenfelder FT, Wright P, Tripathi RC. Corneal mucus plaques. *Am J Ophthalmol* 1977; 83: 191-197.
20. Sugar A, Waltman SR. Corneal toxicity of collagenase inhibitors. *Invest Ophthalmol* 1973; 12: 779-782.
21. Petroustos G, Guimaraes R, Graut JP, Renard G, Pouliquen Y. Effect of acetylcysteine (mucomyst) on epithelial wound healing. *Ophthalmic Res* 1982; 14: 241-248.
22. Therms F, Molon-Noblod S, Grove J. Effects of acetylcysteine on rabbit conjunctival and corneal surfaces. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 2958-2963.
23. Luna LG. *Manual of Histologic Staining Methods of Armed Forces Institute of Pathology*. USA: Mc Grow Hill Book Company, 1968.