



Tavşanlarda Asidik Korneal Yanıklarda CD8 ve CD68 Pozitif Hücrelerin Dağılımı

Hakan SAĞSÖZ^{*1}, Uğur TOPALOĞLU¹, Berna GÜNEY SARUHAN¹,
M. Erdem AKBALIK¹, M. Aydın KETANİ¹, Semih ALTAN², Zeki OĞURTAN³

¹Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

²Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

³Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Geliş Tarihi/Received
25.03.2018

Kabul Tarihi/Accepted
16.05.2018

Yayın Tarihi/Published
30.06.2018

Öz

Asitler genel olarak alkali maddelere göre daha az zararlıdır. Temas ettikleri dokularda proteinleri denatüre ederek ve çökerterek hasara neden olurlar. Pıhtılaşmış proteinler de, asidin daha fazla nüfuz etmesini önlemek için bariyer görevi görür. İstisnai bir durum olarak, hidroflorik asitdeki (HFA) florid iyonlar korneanın derin katmanlarına nüfuz eder ve belirgin ön segment yıkımına neden olur. HFA, zaman zaman korneal kök hücre eksikliklerine yol açarak oküler yüzeyde ciddi kronik yangılara neden olabilir. Bu çalışmanın amacı, tavşanlarda HFA ile yakılan korneada CD8 ve CD68 pozitif hücrelerin lokalizasyonunu ve dağılımını incelemektir. Bu amaçla 72 erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Genel anestezi altında, HFA ile korneal yanık oluşturulduktan sonra dimetil sülfoksit (DMSO), indometazin ve DMSO + indometazin ilaçları ile tedavi uygulandı. Hayvanlar, uygulamaların 2., 7. ve 14. günlerinde ötenazi edildi ve her bir kornea % 10 nötral formol solüsyonunda tespit edildi. CD8 ve CD68 ekspresyonu açısından kontrol, DMSO ve DMSO + indometazin grupları arasında fark yoktu. Ancak, uygulama günleri arasında farklılıklar vardı. Deneylerin 2. ve 7. günlerinde, korneal stromadaki CD8 ve CD68 pozitif hücrelerin sayısı artmıştı. Yangı 14. günde azaldığı için indometazin grubu hariç tüm gruplarda CD8 ve CD68 pozitif hücrelerin sayısı azalmıştı. Sonuç olarak, bizim bulgularımız gruplar arasında farklılığın olmadığını, CD8 ile CD68 pozitif hücrelerin yangının dönemlerine göre arttığını göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Asit yanık, CD8, kornea, makrofaj, tavşan

Distribution of CD8 and CD68 Positive Cells in Acid Corneal Burns in Rabbits

Abstract

Acids are generally less harmful than alkali substances. They cause damage by denaturing and precipitating proteins in the tissues they contact. The coagulated proteins act as a barrier to prevent further penetration. The one exception to this is hydrofluoric acid (HFA), where the fluoride ion rapidly penetrates the thickness of the cornea and causes significant anterior segment destruction. HFA is associated with chronic, severe inflammation of the ocular surface that occasionally lead to corneal stem cell deficiencies. The purpose of this study is to examine the localization and distribution of CD8 and CD68 positive cells in cornea burned with HFA in the rabbit. For this purpose, 72 mature male New Zealand rabbits were used. Under general anesthesia, after a corneal burn was formed by hydrofluoric acid, drug treatments of DMSO, indomethacin and DMSO+indomethacin were performed. The animals were euthanized on the 2nd, 7th and 14th days of the experiment and each cornea was fixed in 10% neutral formol solution. There was no difference among the control, DMSO and DMSO+indomethacin groups in terms of CD8 and CD68 expression. But, there were differences between the days of application. On the 2nd and 7th days of experiments, the number of CD8 and CD68 positive cells in the corneal stroma were increased. Because inflammation decreased in 14 days, the numbers of CD8 and CD68 positive cells were decreased in other groups except indomethacin. In conclusion, these findings indicate that there is no difference between the groups and CD8 and CD68 positive cells were increased during the inflammation period.

Key words: Acid burn, CD8, cornea, macrophage, rabbit

GİRİŞ

Kimyasal ve termal yanıklar, korneada hızlı ve ilerleyici tahribata yol açarak ciddi komplikasyonlara sebep olur (1). Bunlardan, kimyasal yanıklar tüm göz travmalarının %12'sini oluşturur. Oluşan komplikasyonların ciddiyeti maruz kalınan ajanın konsantrasyonu, pH'sı temas süresi, oküler yüzeye ve dokulara

invazyon gücü ile ilişkilidir (1-3). Dokulara temas eden kimyasal maddeler başlangıçta ciddi bir hasara neden olmaz. Ancak bu maddeler, tedavi edilmedikleri durumlarda dokuların derin katmanlarına nüfuz etme özelliğine sahip oldukları için göz de dahil olmak üzere temas ettikleri organlarda ciddi hasarlar

oluştururlar. Gözdeki kimyasal yanıklarda, korneanın epitel ve stromal hücre proteinlerinde denatürasyon ile kollagen ipliklerde kalınlaşma ve boylarında kısalma meydana gelir (4,5). Ayrıca, korneada iyileşmeyen epitel defektleri, stromal yangı, neovaskülarizasyon, konjonktivalizasyon ve korneal opasifikasyonlar da dikkati çeker (1,2).

Yangı süresince, yangı hücreleri korneal stroma içerisine infiltre olur ve kornea sarımtırak yeşil bir renkte görülür. Yangı hücreleri korneaya; prekorneal gözyaşı tabakası, limbus, yeni şekillenen korneal damarlar ve humor akuoz aracılığıyla uveal alandan gelerek hızlı bir şekilde birikir. Yangı hücreleri; lenfokinler, dejeneratif enzimler ve serbest oksijen radikalleri gibi kemotaktik maddeler salgılayarak defekt sahasında kendileri gibi yangı hücrelerinin sayısını daha da arttıran bir etki gösterirler (4). Yangı bölgesine lenfositler, nötrofiller, plazma hücreleri, makrofajlar, mast hücreleri gibi birçok hücre göç eder (4, 6, 7). Fare ve tavşanlarda monosit ve makrofajlar, CD68 de dahil olmak üzere bir dizi kemokin reseptörü ekspresse eder (8). Bu reseptör, yaygın olarak bir makrofaj markırı olarak kullanılır, ancak monosit/makrofaj ailesindeki hücreler için spesifik bir belirteç değildir. Çünkü mast hücreleri, melanositler ile lizozomal veya fagozomal özellikler içeren diğer immüno-reaktif hücrelerde de ekspresse olabilir (8,9). CD8 ise fonksiyonel olarak farklı T hücre popülasyonlarının hücre yüzey membranlarında ekspresse olan bir glikoproteindir ve sitotoksik T-lenfosit hücre yüzey reseptörüdür. Ancak, bu reseptör T hücreleri ile birlikte monosit, makrofaj, langerhans hücresi, doğal öldürücü hücreler, dentritik hücreler gibi sitotoksik aktiviteye sahip hücrelerin yüzeylerinden de ekspresse olur (10).

Gözdeki kimyasal yanık çalışmaları yoğun ve güçlü hasar oluşturmasından dolayı asit yanıklardan ziyade alkali yanıklar üzerine yoğunlaşmıştır (11-13). Ancak HFA'nın sanayide çok yaygın kullanılması (yarı iletken, cam, deri, petrokimya gibi) ve

diğer asitlerin aksine lipofilik özelliği nedeniyle biyolojik membranlardan kolaylıkla geçmesinden dolayı insanlarda ve birçok türde önem arz etmektedir (14). Şekillenen HFA yanıklarının tedavisinde temel amaç, temas eden kimyasalın ve meydana gelen yangı ürünlerinin uzaklaştırılmasını sağlayarak hasarlı dokuların tamiri ve en sonunda re-epitelizasyonunu sağlamaktır (15). Bu amaçla da, olabildiğince erken dönemde toksik olmayan bir sıvı ile temas bölgesi yıkanır ve iyileşmeyi sağlamak için de anti-inflamatuvar, antibiyotikler, oftalmik steroidler ve nonsteroid ilaçlardan faydalanılır (16). Deneysel korneal kimyasal yanıklarda, nonsteroid olan indometazin steroidlere alternatif olarak tek başına ya da antioksidan maddelerle kombine (17), dimetil sülfoksit (DMSO) ise antioksidan, anti-inflamatuvar, analjezik ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılmıştır (12).

Daha önceki çalışmalarda, korneadaki kimyasal yanıklar (alkali) sonrasında meydana gelen akut yangı ve yangı hücrelerinden CD8 ve CD68 ekspresyonları gösterilmiştir (6,18). Sunulan çalışmada biz, deneysel olarak tavşan korneasında HFA yanığı meydana getirerek akut yangı modeli oluşturduk. Daha sonrasında tavşanlara topikal olarak DMSO ve indometazin uygulayarak korneal yangıyı tedavi etmeyi amaçladık. Tedavi süresince de CD8 ve CD68 reseptörlerinin uygulama günleri süresince korneadaki yangı hücrelerinde ekspresyon yoğunluklarını ortaya koymayı amaçladık.

MATERYAL ve METOT

Sunulan çalışmada, yazarlardan Dr. Semih ALTAN'ın doktora tez çalışmasında kullandığı tavşanlara ait kornea blokları kullanıldı (4). 72 adet erişkin, 2-2.5 kg ağırlığında Yeni Zelanda ırkı erkek tavşanlar kullanıldı. Hayvanlar, deney süresince 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodunda pelet yem ve su ile ad libitum olarak beslendi. Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Onay no: 10/15).

Korneal yanık için deneysel prosedür, genel anestezi altında Beiran ve ark. (1997) tarafından belirtildiği gibi yapıldı (19). Tavşanlar her bir grupta 18 hayvan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı. Her bir grupta kendi içinde, uygulamanın 2., 7. ve 14. günü olacak şekilde üç alt gruba ayrıldı. Hayvanlardaki ağrıyı azaltmak için % 0.5'lik proparacaine hidroklorid (Alcon, Forth Worth, Texas, USA) sağ gözünün korneal yüzeyi üzerine topikal olarak uygulandı. %2'lik HFA 0.05 ml'si direkt sağ gözün korneası üzere 60 sn uygulanarak asit yanık oluşturuldu. Asit yanık sonrasında, gözler 500 ml %0.9 izotonik sodyum klorür solüsyonu ile yıkandı. Yakma işleminden sonra gruplara; Birinci grupta (n:18), DMSO her seferinde 4 damla olacak şekilde günde 4 kez uygulandı ve uygulama dozu 175 mg/kg/gün olarak belirlendi (20). İkinci grupta (n:18) indometazin her seferinde 4 damla olacak şekilde 6 saat aralıklarla günde 4 kez uygulandı. Üçüncü grupta (n:18), DMSO ve indometazin günde 6 saat aralıklarla ile DMSO ve indometazin gruplarındaki gibi 4 kez eşit doz ve miktarda uygulandı. Dördüncü gruba ise kontrol grubu olarak herhangi bir uygulama yapılmadı. Kontrol grubundaki altı hayvanın sol gözleri herhangi bir işlem yapılmayan sağlıklı kontrol olarak kullanıldı.

Uygulamaların 2., 7. ve 14. günlerinde kas içi yüksek dozda sodyum pentotal ile tavşanlar ötenazi edildi. Uygulama yapılan gözler total olarak çıkarıldıktan sonra kornea dokusu sirküler olarak gözlerden ayrıldı. Elde edilen kornealar hızlı bir şekilde ortadan ikiye bölünerek %10 nötral formol solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Rutin histolojik prosedürleri takiben dokular parafine bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. İmmunohistokimyasal (IHC) analizler için, gruptaki her örnekten iki preparat hazırlandı. Her bir preparat minimum 10 mikrometre aralıklarla dört kesit içermekteydi.

IHC analizleri, streptavidin-biyotin-peroksidaz kompleks yöntemi ve Zymed Histostain Plus Bulk Kit kullanılarak yapıldı (code: 85-9043, Histostain Plus Bulk Kit, Zymed, South San Francisco, CA, USA). Kısaca seri kesitler, deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra distile suda çalkalandı. Her bir uygulamadan sonrasındaki yıkama işlemleri 0.01 M fosfat tamponlu tuz çözeltisinde [Phosphate buffer saline (PBS)] 3 kez 5'er dakika olarak yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için kesitler distile suda hazırlanmış %3'lük H₂O₂ ile 20 dakika muamele edildi. Antijen retrieval işlemi uygulanmaksızın, immünoglobulinlerin özgül olmayan bağlanmalarını engellemek için bloking serumda 15 dakika muamele edilen kesitler, 1/200 oranında sulandırılmış fare monoklonal CD8 ve CD68 primer antikoları ile +4°C'de 1 gece süresince inkübe edildi. Daha sonra, kesitler biotillenmiş sekonder antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ve enzim konjugatlı streptavidinde (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) 20 dakika muamele edildi. Peroksidaz aktivitesini göstermek için, kesitler diaminobenzidine (DAB) kromojen solüsyonunda 5-15 dakika bekletildi. Gill'in hematoksileninde 2 dakika süreyle zıt boyama yapılan kesitler çeşme suyunda mavileşinceye kadar yıkandı. Daha sonra, alkoller ve ksilolden geçirilen kesitler entellan ile kapatıldı.

İmmunohistokimyasal prosedürlerin spesifitesi negatif ve pozitif kontroller kullanılarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak insan plasenta, kolon ve meme kanseri kesitleri kullanılırken, negatif kontroller için primer antikor yerine PBS kullanıldı. Bütün preparatlar değerlendirildi ve dijital kamera ataçmanlı (Nikon Coolpix 4500), Nikon Eclipse E400 (Nikon, Tokyo, Japan) mikroskobu ile fotoğraflandı.

BULGULAR

Asit yanık şekillendirildikten sonra oluşturulan grupların tamamında korneal stromada lokalize olan yangı hücrelerinde uygulama günlerindeki yangının şiddetine göre farklı yoğunluklarda CD8 ve CD68 ekspresyonu gösteren hücrelerin olduğu belirlendi.

CD8 ve CD68 ekspresyonunun kontrol, DMSO, indometazin ve DMSO+indometazin gruplarında uygulamanın 2. ve 7. günlerinde yangının yoğunluğuna paralel olarak güçlü olduğu ve stromada lokalize olan birçok yangı hücresinde de bu faktörlerin pozitif olduğu belirlendi. Uygulamanın 14. gününde kontrol, DMSO ve DMSO+indometazin gruplarında korneal stromada yangının şiddetinin azaldığı, buna bağlı olarak da yangı hücrelerinin sayısının ve CD8 ile CD68 pozitif hücrelerin sayısının da azaldığı saptandı. Buna karşın, indometazin grubunda 14. günde de yangının şiddetli olduğu, korneal stromada çok sayıda yangı hücresinin bulunduğu ve CD8 ile CD68 pozitif hücrelerin sayısının da yüksek olduğu ortaya konuldu (Şekil 1 ve 2).

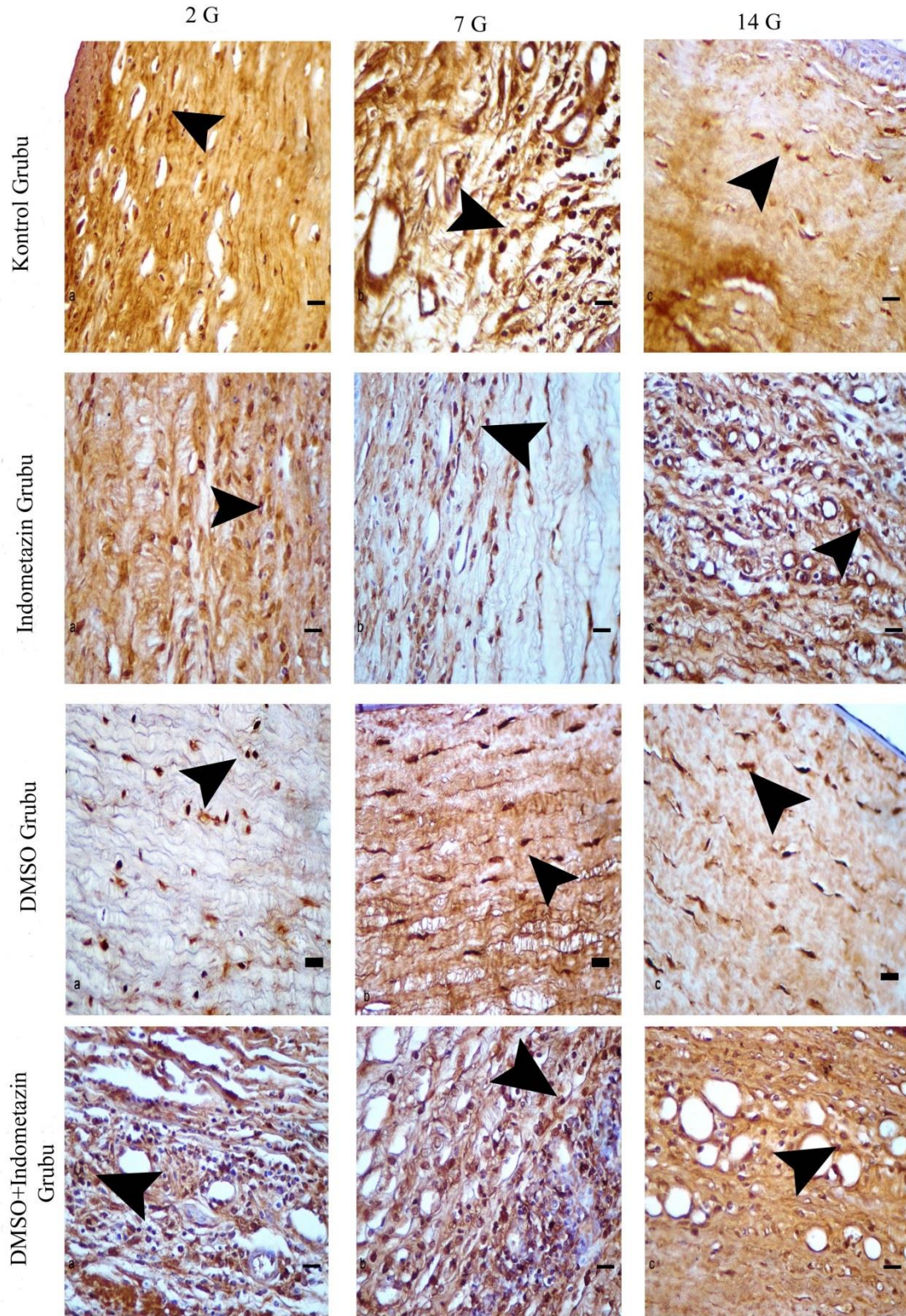
TARTIŞMA ve SONUÇ

Sunulan çalışmada, biz tavşanların korneasında asit yanık meydana getirerek akut korneal yara modeli oluşturduk. Burada, korneal yangıyı ve yangı sırasında buradaki yangı hücrelerinde CD8 ve CD68 ekspresyonları üzerine DMSO ile indometazinin etkilerini değerlendirdik. Bizim sonuçlarımız, DMSO ve DMSO+indometazinin topikal uygulamasının yangının şiddetini azalttığını ve buna paralel olarak da CD8 ve CD68 ekspresyonu gösteren hücrelerinde sayılarının da azaldığını gösterdik. Buna karşın, tek başına topikal indometazin uygulamasının yangının şiddetini azaltmadığı ve CD8 ile CD68 reseptörlerinin hücrelerdeki ekspresyonlarının miktarlarını da etkilemediğini belirledik.

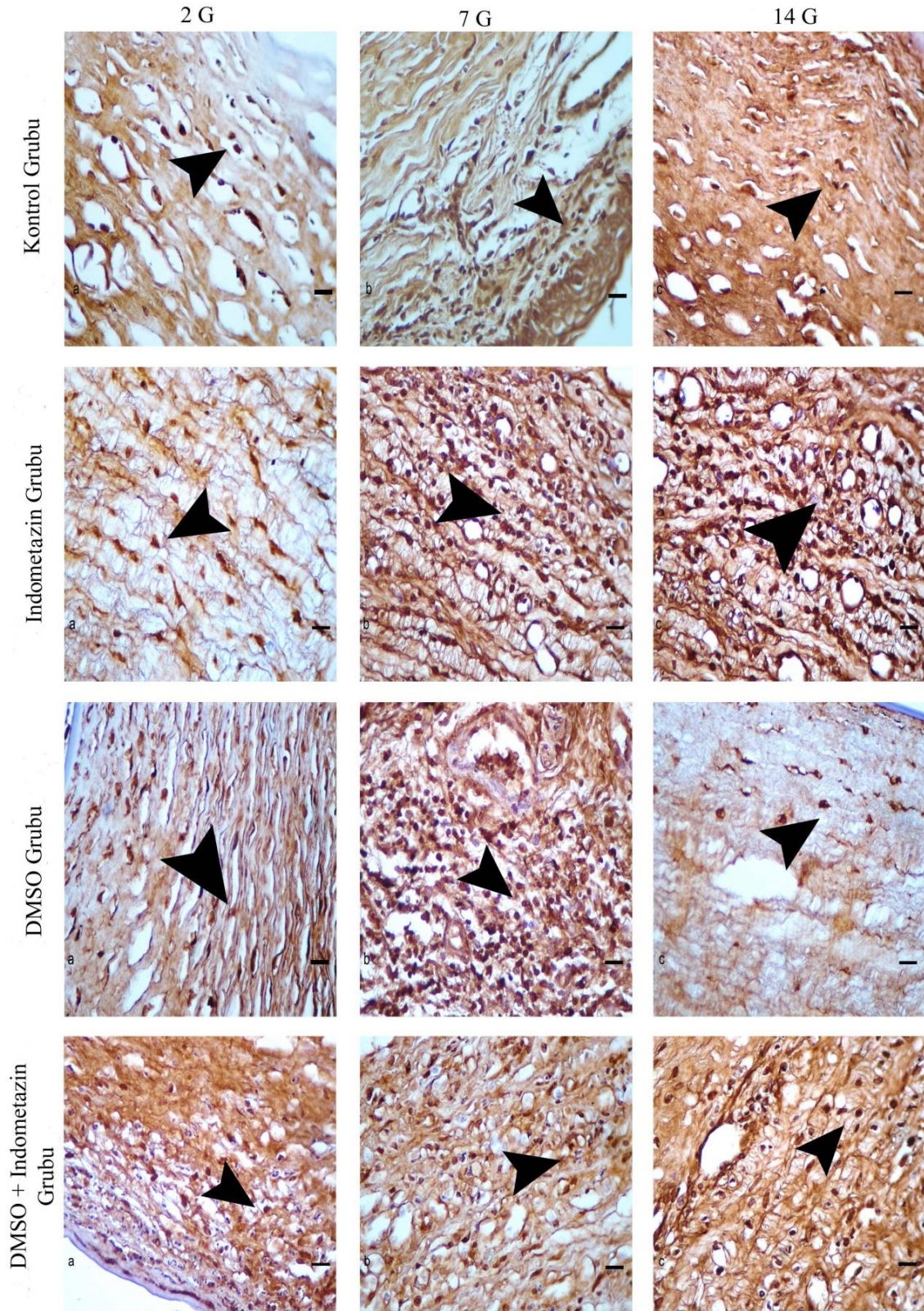
Alkali korneal yanık oluşturulan farelerde CD68 pozitif hücrelerin çok sayıda, buna karşın CD8 pozitif hücrelerin ise az sayıda olduğu bildirilmiştir

(18). Korneal rejeksiyon şekillenmiş olan insanlarda güçlü bir yangı şekillenen korneal stromada CD8 ve CD68 pozitif hücrelerin sayılarının arttığı ifade edilmiştir (18, 21). Lizozom ve fagozomlarda bir hücre içi glikoprotein olan CD68 (8), makrofajlar, mikroglia hücreleri, osteoklastlar ve miyeloid dendritik hücreler gibi mononükleer fagosit sisteminde yer alan fagositoz yapma yeteneğine sahip hücrelerde yüksek oranda eksprese edilmektedir (8, 9). CD8 ise farklı T hücre popülasyonlarının hücre yüzey membranlarında ekspresse olan bir glikoproteindir ve sitotoksik T-lenfosit hücre yüzey reseptörüdür. Ancak, bu reseptör T hücreleri ile birlikte monosit, makrofaj, langerhans hücresi, doğal öldürücü hücreler, dendritik hücreler gibi sitotoksik aktiviteye sahip hücrelerin yüzeylerinde de ekspresse edilmektedir (10). Bizim sonuçlarımızda, HFA ile yanık oluşturulan tavşan kornealarında kontrol, topikal DMSO ile DMSO+indometazin uygulamalarının 2. ve 7. günlerde CD8 ve CD68 pozitif hücrelerin sayısının fazla olduğu, 14 günden itibaren yangı şiddetinin azalmasına bağlı olarak da pozitif hücre sayılarının azaldığı belirlenmiştir. Buna karşın, indometazin grubunda tüm uygulamalar süresince yangı şiddetinin değişmediği ve CD8 ile CD68 pozitif hücrelerin sayılarının fazla olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, korneal stromada yanık bölgesinde lokalize olan yangı hücrelerinin çoğunluğunun yukarıda bahsedildiği gibi makrofajlar ve sitotoksik T lenfositler olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, tavşanlarda korneal asit yanıklarında topikal DMSO ve DMSO+indometazin kullanımının tüm uygulamalar süresince yangının şiddetini azalttığı ve buna bağlı olarak korneal stromada CD8 ve CD68 pozitif hücrelerin sayılarının azaldığı belirlenmiştir. Buna karşın, tek başına topikal indometazin uygulamasının yangının şiddetini azaltmadığı, CD8 ve CD68 pozitif hücrelerin sayılarının da tüm uygulamalar süresince korneal stromada yüksek olduğu saptanmıştır.



Şekil 1. HFA yanığından sonra tavşan korneasında CD8 pozitif hücrelerin immunohistokimyasal lokalizasyonu. Kontrol grubunda a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu; 0.1% indometazin ile tedavi edilen grupta a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu; 40% aköz DMSO ile tedavi edilen grupta a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu; indometazin + DMSO ile tedavi edilen grupta a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu. Ok başı, pozitif yangı hücreleri (bar = 25 µm).



Şekil 2. HFA yanığından sonra tavşan korneasında CD68 pozitif hücrelerin immunohistokimyasal lokalizasyonu. Kontrol grubunda a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu; 0.1% indometazin ile tedavi edilen grupta a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu; 40% aköz DMSO ile tedavi edilen grupta a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu; indometazin + DMSO ile tedavi edilen grupta a) 2. gün, b) 7. gün ve c) 14. günlerde yangı hücrelerindeki lokalizasyonu. Ok başı, pozitif yangı hücreleri (bar = 25 µm).

KAYNAKLAR

1. Kılıç Müftüoğlu I, Aydın Akova Y, Çetinkaya A. (2015). Korneal Yanıklarda Klinik ve Tedavi Yaklaşımımız. Turk J Ophthalmol. DOI: 10.4274 /tjo.9926
2. Tuft SJ, Shortt AJ. (2009). Surgical Rehabilitation Following Severe Ocular Burns. Eye 23: 1966–1971.
3. Fish R, Davidson RS. (2010). Management of Ocular Thermal and Chemical Injuries, Including Amniotic Membrane Therapy. Curr Opin Ophthalmol. 21(4):317-321.
4. Altan S, Ogurtan Z. (2017). Dimethyl Sulfoxide but not Indomethacin is Efficient for Healing of Hydrofluoric Acid Eye Burn. Burns. 43(1):232-244.
5. Altan S, Sağsöz H, Ogurtan Z. (2017). Topical Dimethyl Sulfoxide Inhibits Corneal Neovascularization and Stimulates Corneal Repair in Rabbits Following Acid Burn. Biotech Histochem. 92(8): 619-636.
6. Kim JW, Jeong H, Yang MS, Lim CW, Kim B. (2017). Therapeutic Effects of Zerumbone in an Alkali-Burned Corneal Wound Healing Model. Int Immunopharmacol. 48: 126-134.
7. Güney Saruhan B, Akbalık ME, Topaloğlu U ve ark. (2017). Tavşanlarda Hidroflorik Asit ile Oluşturulan Yanık Sonrası, DMSO ve İndometazin Korneal Mast Hücreleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 10(2):130-137.
8. Chistiakov DA, Killingsworth MC, Myasoedova VA, Orekhov AN, Bobryshev YV. (2017). CD68/Macrosialin: Not Just a Histochemical Marker. Lab Invest. 97: 4-13.
9. Gottfried E, Kunz-Schughart LA, Weber A, et al. (2008). Expression of CD68 in Non-Myeloid Cell Types. Scand J Immunol. 67: 453-463.
10. Rehğ JE, Bush D, Ward JM. (2012). The Utility of Immunohistochemistry for the Identification of Hematopoietic and Lymphoid Cells in Normal Tissues and Interpretation of Proliferative and Inflammatory Lesions of Mice and Rats. Toxicol Pathol. 40(2): 345-374.
11. Amano S, Rohan R, Kuroki M, Tolentino M, Adamis AP. (1998). Requirement for Vascular Endothelial Growth Factor in Wound-and Inflammation-Related Corneal Neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci. 39(1): 18-22.
12. Balicki I. (2012). Clinical Study on the Application of Tacrolimus and DMSO in the Treatment of Chronic Superficial Keratitis in Dogs. Pol J Vet Sci. 15(4): 667-676.
13. Bock F, Onderka J, Dietrich T, et al. (2007). Bevacizumab as Apotent Inhibitor of Inflammatory Corneal Angiogenesis and Lymph Angiogenesis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 48(6): 2545-2552.
14. Atley K, Ridyard E. (2015). Treatment of Hydrofluoric Acid Exposure to the Eye. Int J Ophthalmol. 8: 157-161.
15. Wagoner MD. (1997). Chemical Injuries of the Eye: Current Concepts in Pathophysiology and Therapy. Surv Ophthalmol. 41(4):275-313.
16. Prabhat KP, Sanaz AL. (2007). Ocular Emergencies. Am Fam Physician. 76(6): 829-836.
17. Laria C, Alio JL, Ruiz-Moreno JM. (1997). Combined Non-Steroidal Therapy in Experimental Corneal Injury. Ophthalmic Res. 29(3):145-53.
18. Saito T, Nishida K, Sugiyama H, et al. (2008). Abnormal Keratocytes and Stromal Inflammation in Chronic Phase of Severe Ocular Surface Diseases with Stem Cell Deficiency. Br J Ophthalmol. 92(3):404-410.
19. Beiran I, Miller B, Bentur Y. (1997). The Efficacy of Calcium Gluconate in Ocular Hydrofluoric Acid Burns. Hum & Exp Toxicol. 16(4):223-228.
20. Gordon DM, Kleberger KE. (1968). The effect of Dimethylsulfoxide (DMSO) on Animal and Human Eyes. Arch Ophthal. (4):423-427.
21. Kuffova L, Holan V, Lumsden L, Forrester JV, Filipec M. (1999). Cell Subpopulations in Failed Human Corneal Grafts. Br J Ophthalmol. 83: 1364-1369.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ
 Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji
 ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 21280,
 Diyarbakır, Türkiye
 E-posta: hakan.sagsoz@dicle.edu.tr
 Tel: 0412 241 10 00
 Fax: 0412 241 10 47