T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL PROF. DR. CEMİL TAŞÇIOĞLU
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
GÖZ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

SIÇANLARDA KOMPLET FREUND'S ADJUVANTI İLE İNDÜKLENEN MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU SONRASI TARSAL KONJONKTİVAYA UYGULANAN MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOM ETKİSİ

Dr. Yasemin Aksu

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL / 2026

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL PROF. DR. CEMİL TAŞÇIOĞLU
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
GÖZ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

SIÇANLARDA KOMPLET FREUND'S ADJUVANTI İLE İNDÜKLENEN MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU SONRASI TARSAL KONJONKTİVAYA UYGULANAN MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOM ETKİSİ

Dr. Yasemin Aksu

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap Yurttaşer Ocak
Yardımcı Tez Danışmanı: Dr. Aslı Kırmacı Kabakcı

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL /2026

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimiz boyunca iyi birer göz hekimi olarak yetişebilmemiz için bütün imkanları bize sunan, desteğini esirgemeyen değerli hocam, klinik şefimiz ve eğitim sorumlumuz Prof. Dr. Mustafa Nuri Elçioğlu'na,

Akademik bilgi ve tecrübeleriyle eğitim sürecimize katkı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Arzu Taşkıran Çömez'e

Klinik çalışma sürecinde bilgi ve deneyimleriyle katkı sağlayan, destekleyici ve eğitici yaklaşımıyla yol gösteren değerli hocamız Prof. Dr. Seray Aslan Bayhan'a,

Klinik deneyimi, bilgi birikimi ve cerrahi yaklaşımıyla her zaman örnek aldığım; tez sürecim boyunca bilgi ve deneyimiyle bana rehberlik eden, desteğini her aşamada hissettiren değerli tez danışmanım Doç. Dr. Serap Yurttaşer Ocak'a

Hekimlik anlayışı ve cerrahi birikimiyle her zaman örnek aldığım; bilgi ve deneyimleriyle mesleki gelişimime katkı sağlayarak göz hekimliği sürecinde bana vizyon kazandıran değerli hocam Doç. Dr. Akın Çakır'a,

Asistanlık sürecim boyunca bilgi, deneyim ve desteğiyle her zaman yanımda olan; oküloplasti alanında gelişebilmem için bana değerli fırsatlar sunan, her ihtiyaç duyduğumda yardımını esirgemeyen ve yol göstericiliğiyle mesleki gelişimime katkı sağlayan çok sevgili Başasistan Uzm. Dr. Ahu Yılmaz'a,

Eğitim sürecim boyunca bilgi, deneyim ve destekleriyle her zaman yanımda olan; klinik ve cerrahi anlamda gelişimime katkı sağlayan kliniğimizin değerli uzmanlarına,

Başta tez sürecimde desteklerini hissettiğim Dr. Dilara Demir, Dr. Aslı Kahraman, Dr. Rüveyda Sevimli, Dr. Kardelen Uzun ve Dr. Gözde Severen olmak üzere; uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, güzel anılar paylaştığımız tüm asistan arkadaşlarıma,

Asistanlık sürecim boyunca destekleri ve özverili çalışmalarıyla katkı sağlayan tüm hemşirelerimiz , sekreterlerimiz ve personellerimize,

Hayatım boyunca sevgileri, destekleri ve emekleriyle bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan canım annem, babam, ablalarıma ve abime,

Tıp fakültesinden asistanlık sürecimin sonuna kadar her anımda yanımda olan, sevgisi, anlayışı ve desteğiyle bana güç veren; tüm mutluluğumu, heyecanımı ve kaygılarımı büyük bir sabırla dinleyen, bu uzun yolculuğu benimle birlikte yaşayan canım eşim Ufuk Can Aksu'ya sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER iii
ÖZET v
ABSTRACT vii
SİMGELER VE KISALTMALAR ix
ŞEKİL LİSTESİ x
TABLO LİSTESİ xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. MEİBOMİAN BEZ 3
2.1.1. Anatomisi 3
2.1.2. Embriyolojisi ve Histolojisi 4
2.1.2.1. Embriyolojisi 4
2.1.2.2. Histolojisi 4
2.2. MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU 4
2.2.1. Meibomian Bez Disfonksiyonunun Tanımı ve Epidemiyolojisi 4
2.2.2. Meibomian Bez Disfonksiyonunun Sınıflaması 4
2.2.2.1. Düşük Sekresyonlu Durumlar 4
2.2.2.2. Yüksek Sekresyonlu Durumlar 5
2.3. MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU İLE KURU GÖZ İLİŞKİSİ 6
2.4.MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONUNUN KLİNİK BULGULARI VE TANI YÖNTEMLERİ 7
2.5. MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU TEDAVİSİ 9
2.5.1. Suni Gözyaşları ve Topikal Lipid Destekleri 9
2.5.2. Ilık Kompres, Kapak Hijyeni ve Sıcak Uygulama 10
2.5.3. Topikal Antibiyotikler 10
2.5.4. Sistemik Tetrasiklin Deriveleri 10
2.5.5. Kortikosteroidler 10
2.5.6. Siklosporin A (Cs A) 11
2.5.7. Gelişmekte Olan Farmakolojik Tedaviler 11
2.5.8. Cerrahi Prosedürler 11

2.5.9. Meibomian Bez Disfonksiyonu Tedavisinde Mezenkimal Kök Hücre Kaynaklı Eksozom Uygulaması 11
3. GEREÇ VE YÖNTEM 14
3.1. DENEY HAYVANLARI VE ÇALIŞMA PROTOKOLÜ 14
3.2. DENEYSEL MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU MODELİ 14
3.2.1. Meibomian Bez Orifis Skorlama (MBOS) Sistemi: 16
3.3. DENEYSEL GRUPLARIN OLUŞTURULMASI VE UYGULAMA PROTOKOLÜ 16
3.4. MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOM ÖZELLİKLERİ 16
3.5. MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOM UYGULAMA DOZU VE ENJEKSİYON TEKNİĞİ 18
3.6. DEĞERLENDİRME ZAMANLAMASI VE KLİNİK PARAMETRELER 19
3.6.1. Schirmer Testi 19
3.6.2. Telenjiektazi Derecelendirmesi 19
3.6.3. Gözyaşı Film Kırılma Süresi (TBUT) 20
3.6.4. Fluorescein ile Boyanma Derecelendirilmesi 20
3.7. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME 21
3.8. İSTATİKSEL ANALİZ 21
4. BULGULAR 23
5. TARTIŞMA 32
6. SONUÇ 38
7. KAYNAKLAR 40

ÖZET

Sıçanlarda Komplet Freund's Adjuvanti İle İndüklenen Meibomian Bez Disfonksiyonu Sonrası Tarsal Konjonktivaya Uygulanan Mezenkimal Kök Hücre Kaynaklı Eksozom Etkisi

Amaç: Bu çalışmanın amacı, komplet Freund's adjuvantı ile indüklenen sıçan meibomian bez disfonksiyonu modelinde tarsal konjonktivaya uygulanan mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozomların oküler yüzey, gözyaşı filmi stabilitesi, inflamasyon ve histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini değerlendirmek ve dirençli meibomian bez disfonksiyonu olgularında eksozom tedavisinin potansiyel bir tedavi seçeneği olarak etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu kontrollü deneysel çalışmada, 16 adet erişkin dişi Wistar albino sıçanda komplet Freund's adjuvanı kullanılarak deneysel meibomian bez disfonksiyonu modeli(MBD) oluşturuldu. MBD gelişimi klinik olarak doğrulandıktan sonra, her bir sıçanın sağ gözüne üst ve alt tarsal konjonktivaya eşit dağılımla toplam 60 µL hacimde 200×10^6 partikül içeren mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozom tek doz olarak uygulanırken, sol gözü kontrol grubu olarak değerlendirilmiş ve eş hacimde serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. Klinik değerlendirmeler tedavi sonrası haftalık olarak gerçekleştirilmiş; Schirmer testi, gözyaşı kırılma zamanı, telenjiektazi derecelendirmesi ve fluorescein boyanma skorları değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen kapak dokuları histopatolojik incelemeye alınarak meibomian bez yapıları, inflamasyon ve doku değişiklikleri açısından karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Başlangıçta Schirmer, TBUT ve fluorescein boyanma skorları açısından MKH-Eks uygulanan ve kontrol gözleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$); bu durum, grupların başlangıç düzeylerinde homojen olduğunu göstermektedir. Telenjiektazi skorlarının sağ ve sol karşılaştırmaları incelendiğinde; bazal ölçümlerde sağ medyan değerinin genel değere göre daha yüksek olduğu ve farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p:0,04$). Schirmer testi değerleri tedavi edilen gözde zamanla anlamlı artmıştır ($p<0,01$). Kontrol gözünde ise zaman içi anlamlı değişiklik izlenmemiştir

(p>0,05). Zaman içinde kontrol gözünde telenjiektazi skorları belirgin artış göstermiştir (p<0,01). TBUT sonuçlarında her iki grupta da zaman içinde anlamlı farklılık saptanmış (MKH-Eks göz p<0,01; kontrol göz p<0,01). Tedavi grubunda ikinci hafta ölçümlerinin bazal, birinci ve üçüncü hafta ölçümlerinden; dördüncü hafta ölçümlerinin ise birinci ve üçüncü hafta ölçümlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda ikili karşılaştırmalar sonucunda bazal ölçümlerin birinci, üçüncü ve dördüncü hafta ölçümlerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır.2. ve 4. haftalarda MKH-Eks grubunun TBUT değerleri kontrole göre daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla p<0,001 ve p<0,01). Fluorescein boyanma skorlarında başlangıç ile 1. ve 2. hafta karşılaştırmalarında grup farkı yokken (p>0,05), 3. ve 4. haftalarda kontrol grubu değerleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (her iki hafta için p<0,001). Histopatolojik incelemede kontrol grubunda belirgin MB hasarı ve nötrofil infiltrasyonu gözlenirken, MKH-Eks uygulanan göz kapağı dokularında glandüler yapılar büyük ölçüde korunmuştur.

Sonuçlar: MBD modelinde intratarsal eksozom uygulaması gözyaşı filmi stabilitesini artırmış (TBUT artışı, fluorescein boyanma azalması) ve korneal hasarı azaltarak meibom bezini korumuştur. ST değerlerinde gruplar arası fark olmamasına rağmen, tedavi gözünde zamanla görülen artış, eksozomların gözyaşı salgısı artışına olumlu etki edebileceğini düşündürmektedir. Telenjiektazi progresyonunun sınırlanması, eksozomların inflamatuar süreci modüle ettiğine işaret eder. Histopatolojik olarak eksozom uygulanan dokularda normal meibom bezi yapıları daha fazla bulunmuştur. Bu bulgular, intratarsal MKH-Eks uygulamasının deneysel MBD'de inflamasyonu baskılayan, oküler yüzey bütünlüğünü destekleyen ve bez yapısını koruyan yenilikçi bir tedavi stratejisi olabileceğini düşündürmektedir. Ancak optimal doz ve uygulama rejiminin belirlenmesi ile etkinliğin klinik doğrulanması için ek araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Meibomian bez disfonksiyonu, mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozom, hayvan modeli, komplet Freund's adjuvant

ABSTRACT

Therapeutic Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Applied to the Tarsal Conjunctiva in a Rat Model of Complete Freund's Adjuvant-Induced Meibomian Gland Dysfunction

Purpose: This study aimed to evaluate the effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes applied to the tarsal conjunctiva on ocular surface findings, tear film stability, inflammation, and histopathological changes in a rat model of Complete Freund's Adjuvant-induced meibomian gland dysfunction, and to investigate the potential therapeutic efficacy of exosome therapy in refractory meibomian gland dysfunction.

Material and Methods: In this controlled experimental study, an experimental model of meibomian gland dysfunction was established in 16 adult female Wistar albino rats using Complete Freund's Adjuvant. Following clinical confirmation of MBD development, a single dose of mesenchymal stem cell-derived exosomes containing 200×10^6 particles in a total volume of 60 µL was equally administered to the upper and lower tarsal conjunctiva of the right eye of each rat, while the left eye served as the control group and received an equal volume of saline injection. Clinical evaluations were performed weekly after treatment, including Schirmer test, tear break-up time, telangiectasia grading, and fluorescein staining scores. At the end of the study, eyelid tissues were obtained for histopathological examination and comparatively analyzed in terms of meibomian gland structures, inflammation, and tissue alterations.

Results: At baseline, no significant differences were observed between the MSC-derived exosome (MSC-Exo)-treated and control eyes in terms of Schirmer test, TBUT, and fluorescein staining scores ($p>0.05$), indicating comparable baseline characteristics between the groups. When telangiectasia scores were compared between the right and left eyes, the baseline median value was significantly higher in the right eye ($p=0.04$).Schirmer test values increased significantly over time in the treated eye ($p<0.01$), whereas no significant temporal change was observed in the control eye ($p>0.05$). Telangiectasia scores showed a marked increase over time in the control eye ($p<0.01$). Significant temporal changes were observed in TBUT values in

both groups (MSC-Exo-treated eye, $p<0.01$; control eye, $p<0.01$). In the treatment group, second-week TBUT measurements were significantly higher than baseline, first-week, and third-week measurements, while fourth-week measurements were significantly higher than first- and third-week measurements. In the control group, pairwise comparisons demonstrated that baseline TBUT values were significantly higher than those recorded at weeks 1, 3, and 4. Furthermore, TBUT values in the MSC-Exo-treated group were significantly higher than those in the control group at weeks 2 and 4 ($p<0.001$ and $p<0.01$, respectively).For fluorescein staining scores, no significant differences were observed between the groups at baseline or during weeks 1 and 2 ($p>0.05$). However, fluorescein staining scores were significantly higher in the control group at weeks 3 and 4 (both $p<0.001$). Histopathological examination revealed marked meibomian gland damage and neutrophil infiltration in the control group, whereas glandular structures were largely preserved in the eyelid tissues treated with MSC-derived exosomes.

Conclusion: In the experimental MBD model, intratarsal exosome administration enhanced tear film stability, as evidenced by increased TBUT values and reduced fluorescein staining scores, and preserved meibomian gland structure by mitigating corneal surface damage. Although no significant intergroup difference was observed in Schirmer test results, the progressive increase observed in the treatment eye suggests that exosomes may exert a beneficial effect on secretory function. The attenuation of telangiectasia progression further indicates a modulatory effect of exosomes on the inflammatory process. Histopathological evaluation revealed a greater number of morphologically preserved meibomian glands in exosome-treated tissues. Collectively, these findings suggest that intratarsal administration of MSC-derived exosomes may represent a novel therapeutic strategy for experimental MBD by suppressing inflammation, supporting ocular surface integrity, and preserving meibomian gland architecture. Nevertheless, further studies are required to determine the optimal dosing regimen and to validate the clinical efficacy of this approach.

Keywords: Meibomian gland dysfunction, mesenchymal stem cell-derived exosomes, animal model, Complete Freund’s Adjuvant.

SİMGELER VE KISALTMALAR

MB : Meibomian Bez

MBD : Meibomian Bez Disfonksiyonu

CFA : Komplet Freund's Adjuvantı (Complete Freund's Adjuvant)

MKH-eks : Mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozom

IPL : Yoğun Atımlı Işık Terapisi

TFOS DEWS III : Gözyaşı filmi ve Oküler Yüzey Derneği Uluslararası Kuru Göz Çalışma Grubu (Tear Film & Ocular Surface Society-İnternational Dry Eye Workshop)

KGH : Kuru Göz Hastalığı

MBOS : Meibomian Bez Orifice Skorlama

SF : Serum Fizyolojik

H&E : Hematoksilen-eozin

GF : Gözyaşı Filmi

TBUT : Gözyaşı Kırılma Zamanı (Tear Break-Up Time)

ST : Schirmer Testi

MKH : Mezenkimal Kök Hücre

BAK : Benzalkonyum Klorür

Ml : Mililitre

µL : Mikrolitre

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Meibomian bezinin morfolojisi

Şekil 2: Uluslararası Meibomian Bez Disfonksiyonu (MBD) Çalıştayı tarafından önerilen yeni sınıflandırma sistemi

Şekil 3: TFOS DEWS III kuru göz hastalığı sınıflandırması

Şekil 4: Normal MB'lerin, meibografi ile görüntülenmesi

Şekil 5: Opak meibumun ekspresyonu

Şekil 6: MKH-eks Ürün Spesifikasyonları (LivMedCell)

Şekil 7: Eksozom ve Kontrol Gruplarında Schirmer Değerlerinin Haftalara Göre Değişimi

Şekil 8: Eksozom ve Kontrol Gruplarında Telenjiektazi Skorlarının Haftalara Göre Değişimi

Şekil 9: Eksozom ve Kontrol Gruplarında TBUT Ölçümlerinin Haftalara Göre Değişimi

Şekil 10: Eksozom ve Kontrol Gruplarında Fluroscein Boyanma Skorlarının Haftalara Göre Değişimi

Şekil 11: Deney gruplarına ait göz kapağı doku morfolojisi

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Meibomian Bez Orifis Tıkanıklığı Skorlama Sistemi

Tablo 2: Kapak Kenarı Telenjiektazi Derecelendirmesi

Tablo 3: Çalışmada Kullanılan Korneal Boyanma Sınıflaması

Tablo 4: Schirmer Değerlerinin Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik Bulgular

Tablo 5: Telenjiektazi Skorlarının Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik Bulgular

Tablo 6: TBUT Değerlerinin Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik Bulgular

Tablo 7: Fluroscein Boyanma Skorlarının Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik

Bulgular

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meibomian bezleri (MB), üst ve alt tarsal plaklar içinde yerleşmiş, salgı yapan sebase bezlerdir. Bu bezler tarafından üretilen meibum; fosfolipitler gibi polar lipitler ile kolesterol ve balmumu esterleri gibi non-polar bileşenlerden oluşur ve gözyaşı filminin stabilitesini destekler, ayrıca mikrobiyal ve çevresel ajanlara karşı koruyucu bir bariyer oluşturur. Meibomian bez disfonksiyonu (MBD) ise, bezlerin yapısal veya işlevsel bozukluklarıyla ilişkili hastalıkları tanımlamakta olup; gözyaşı filmi bileşeninin bozulmasına, oküler yüzey hasarına ve rahatsızlık hissine ve evaporatif tip kuru göze neden olabilmektedir (1)MBD, kronik ve ilerleyici bir hastalıktır; bu nedenle yalnızca semptomatik tedaviler genellikle yetersiz kalır. Mevcut tedavi seçenekleri (sıcak kompres, omega-3 takviyeleri, göz kapak hijyeni, topikal ajanlar) genellikle yalnızca semptomatik iyileşme sağlamakta, ancak altta yatan doku hasarını onarmada yetersiz kalmaktadır. Bu bağlamda, oküler yüzey ve MB hastalıklarında rejeneratif tıp yaklaşımlarına olan ilgi son yıllarda belirgin biçimde artmıştır.

Komplet Freund's adjuvanti (CFA), güçlü inflamatuvar ve immünolojik yanıt oluşturan bir ajan olup deneysel modellerde sıkça kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda CFA uygulamasıyla sıçanlarda MBD modeli başarıyla oluşturulmuş; bu ajanın, MBD'ye özgü histopatolojik değişiklikleri ve inflamatuvar süreçleri taklit ederek meibomian bezlerinde fonksiyon kaybına ve gözyaşı filminde bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle CFA, MBD'nin patofizyolojisini ve tedavi yaklaşımlarını değerlendiren preklinik araştırmalarda değerli bir deneysel araç hâline gelmiştir. Mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozomlar(MKH-Eks) immünmodülatör ve anti-inflamatuvar etkilerinin yanı sıra doku onarımını destekleyici ve düşük immünojenik özellikleri sayesinde oküler yüzey hastalıklarında dikkat çeken yeni nesil terapötik ajanlar arasında yer almaktadır(2) .

Son yıllarda yapılan çalışmalar, MKH-Eks'lerin korneal epitel iyileşmesini hızlandırdığı, inflamatuvar yanıtı azalttığı ve gözyaşı filmi stabilitesini artırdığı yönünde önemli bulgular ortaya koymuştur. Ayrıca hem deneysel hayvan modellerinde hem de ilk klinik uygulamalarda, özellikle kuru göz hastalığı ve diğer oküler yüzey bozukluklarında topikal MKH-Eks tedavisinin güvenli ve etkin bir yaklaşım

olabileceği rapor edilmiştir. Literatürde, inflamasyona bağlı MBD modellerinde tarsal konjonktivaya uygulanan MKH-Eks tedavisinin etkinliği araştırılmamıştır.

Bu çalışma, sıçanlarda CFA ile indüklenen MBD modelinde, tarsal konjonktivaya uygulanan MKH-Eks tedavisinin terapötik potansiyelini kapsamlı biçimde değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Eksozomların, immün yanıtı modüle eden, doku yenilenmesini uyaran etkileri göz önüne alındığında, bu hücre dışı veziküllerin doğrudan tarsal bölgeye hedefli uygulanmasının MBD patofizyolojisi üzerindeki etkisinin ortaya konulması ve MB'lerin fonksiyonel kapasitesinin artırılması ve gözyaşı filmi stabilitesinin yeniden sağlanması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, yapılacak analizler hem histopatolojik hem de fonksiyonel parametreler üzerinden gerçekleştirilecektir. MBD'nin kronik ve tedavisi güç bir hastalık olması göz önüne alındığında, bu çalışmadan elde edilecek bulguların eksozomların mevcut tedavi seçeneklerini aşan, daha hedefe yönelik ve yenilikçi bir yaklaşım olarak değerlendirilebilmesine önemli katkı sağlaması beklenmektedir.

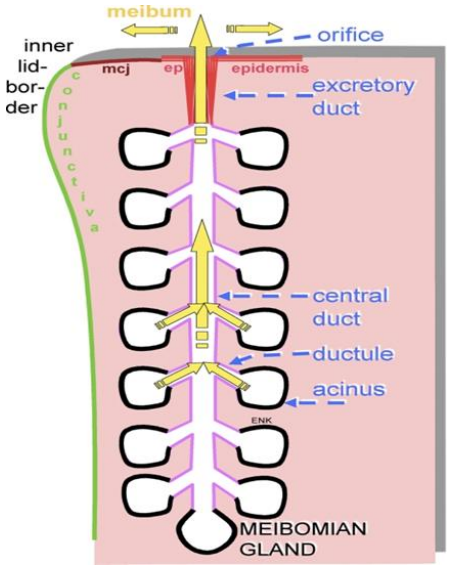
2. GENEL BİLGİLER

2.1. MEİBOMİAN BEZ

Meibomian bezleri, göz kapaklarında bulunan sebase yağ bezleridir. Bu bezler ilk olarak MS 200 yılında Galen tarafından anılmış, daha sonra 1666 yılında Alman hekim ve anatomi bilgini Heinrich Meibom tarafından daha ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. MB'lerinin ürettiği lipidler, gözyaşı filminin yüzeyindeki lipid tabakasının ana bileşenidir. Bu tabaka, gözyaşının buharlaşmasını engeller ve yüzey gerilimini azaltarak gözyaşı filmini(GF) stabilizeeder. Dolayısıyla oküler yüzey sağlığının ve bütünlüğünün korunması için gereklidir (3).

2.1.1. Anatomisi

Tek bir MB, uzun bir merkezi kanalın etrafında dairesel biçimde yerleşmiş salgılayıcı asinilerden oluşur ve bu asiniler kısa kanalcıklarla merkezi kanala bağlanır. Merkezi kanalın bir ucu kördür; diğer ucu ise göz kapağı sınırında, mukokutanöz birleşim hattının hemen önünde, arka kapak kenarına yakın açılır. MB, diğer sebase bezlerden farklı olarak kıl foliküllleriyle doğrudan temas hâlinde değildir. Üst göz kapağındaki MB sayısı vehacmi alt kapaktakilere göre daha fazladır. Üst göz kapağında ortalama 31, alt gözkapağında ise ortalama 26 MB bulunmaktadır(3).



Şekil 1. Meibomian bezinin morfolojisi(3)

2.1.2. Embriyolojisi ve Histolojisi

2.1.2.1. Embriyolojisi

Meibomian bezlerinin embriyolojik gelişimi, göz kapaklarının kapalı olduğu gebeliğin üçüncü ile yedinci ayları arasında ektodermden gelişir, mezoderm dokusunun içine doğru ilerleyerek tarsal plak içinde yerleşir.

2.1.2.2. Histolojisi

Meibomian bezinin kanalları, keratinize olabilen çok katlı skuamöz epitelden oluşur. Tam keratinizasyon ise sadece merkezi kanalın son bölümünde izlenir ve serbest kapak kenarındaki keratinize epitelin kanala doğru ilerlemesiyle gelişir(3). Asinilerin merkezinde konumlanan meibositler, ürettikleri salgıyı duktal sisteme aktarır, meibum daha sonra merkezi kanala taşınır ve bez açıklığından oküler yüzeye ulaşır. Asinilerin periferinde yer alan bazal hücreler bölünerek meibositlere farklılaşır(4).

2.2. MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU

2.2.1. Meibomian Bez Disfonksiyonunun Tanımı ve Epidemiyolojisi

Meibomian bez disfonksiyonu, MB'lerini etkileyen kronik ve yaygın bir patolojik durum olup; bezlerin terminal kanallarında obstrüksiyon gelişmesi ve bez sekresyonunun miktarında ve bileşiminde meydana gelen değişikliklerle karakterizedir. Bu durum, gözyaşı filmi stabilitesinin azalmasına, oküler irritasyon semptomlarının ortaya çıkmasına, oküler yüzey hastalığının gelişimine yol açabilmektedir(5). MBD, dünya genelinde sık görülen bir oküler yüzey hastalığıdır. Yapılan bir meta-analizde, global popülasyonda MBD prevalansının yaklaşık %35,8 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca MBD sıklığının yaşla birlikte arttığı ve erkeklerde kadınlara kıyasla daha yüksek oranda görüldüğü ortaya konmuştur(6).

2.2.2. Meibomian Bez Disfonksiyonunun Sınıflaması

2.2.2.1. Düşük Sekresyonlu Durumlar

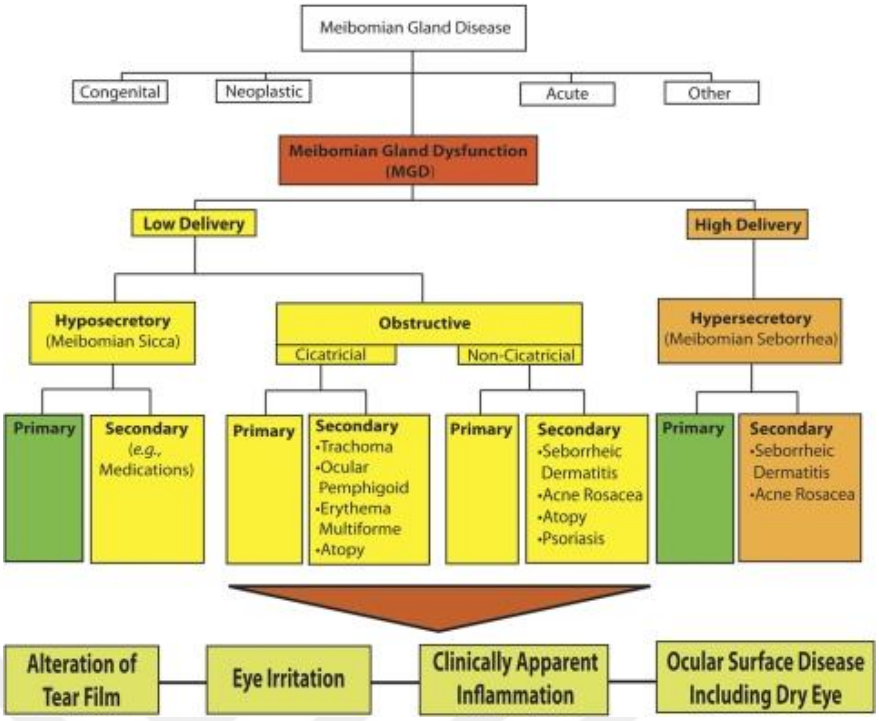
Meibomian bez sekresyonunun azaldığı durumlar, hiposekretuar ve obstrüktif olmak üzere iki ana grupta ele alınmaktadır. Hiposekretuar MBD, bez kanallarında belirgin

bir tıkanıklık olmaksızın meibomian lipid üretiminin azalması ile tanımlanır ve bez atrofisi ile ilişkilidir. MB sayısındaki azalmanın kontakt lens kullanımı ile ilişkili olduğu ve bu azalmanın kullanım süresi uzadıkça arttığı bildirilmiştir.

Obstrüktif MBD, MBD'nin en sık formudur. Bu tabloda, terminal duktuslarda gelişen tıkanıklık veya meibumun niteliksel değişikliklerine bağlı olarak bez sekresyonu azalır. Obstrüktif MBD sıklıkla ileri yaş grubunda ve akne tedavisinde retinoid kullanımı sonrasında ortaya çıkmaktadır. Obstrüktif MBD, skatrisyel ve non-skatrisyel olmak üzere iki gruba ayrılır. Skatrisyel obstrüktif MBD; trahom, oküler skatrisyel pemfigoid, eritema multiforme ve atopik göz hastalığı gibi durumlarla ilişkilidir. Buna karşılık non-skatrisyel obstrüktif MBD; Sjögren sendromu, seboreik dermatit, akne rozasea, atopi ve psöriazis gibi sistemik ya da dermatolojik hastalıklarda görülebilmektedir(5).

2.2.2.2. Yüksek Sekresyonlu Durumlar

Hipersekretuar MBD, tarsal bölgeye uygulanan basınç sonrasında kapak kenarından artmış miktarda meibomian lipid salınımı ile tanımlanan bir klinik tablodur. Literatürde hipersekretuar MBD'nin tüm olgularda seboreik dermatit ile ilişkili olduğu bildirilmiş olmakla birlikte, bu durumun atopik hastalıklar ve akne rozasea gibi diğer dermatolojik tablolarla birlikte olabileceği belirtilmektedir ve bu olgular sekonder hipersekretuar MBD olarak değerlendirilmektedir. Bunun yanı sıra, eşlik eden sistemik ya da dermatolojik hastalık saptanmayan primer hipersekretuar MBD olguları da tanımlanmıştır. Hipersekretuar MBD, aktif inflamasyon bulguları ile seyretmez ve meibografi incelemelerinde MB'lerin yapısında belirgin bir morfolojik değişiklik izlenmez(5).



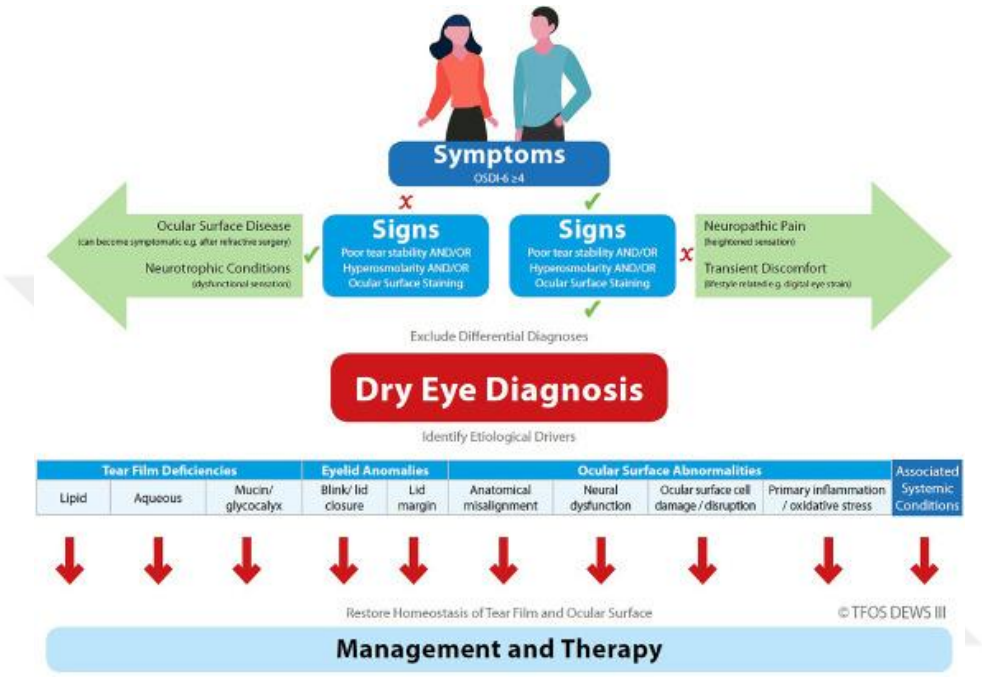
Şekil 2. Uluslararası Meibomian Bez Disfonksiyonu (MBD) Çalıştayı tarafından önerilen yeni sınıflandırma sistemi(5)

2.3. MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU İLE KURU GÖZ İLİŞKİSİ

TFOS DEWS III'ün güncel tanımına göre kuru göz hastalığı(KGH), GF ve/veya oküler yüzey homeostazının bozulması ile karakterize, multifaktöryel ve semptomatik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Bu süreçte gözyaşı filmi instabilitesi ve hiperosmolaritesi, oküler yüzey inflamasyonu ve hasarı ile nörosensoriyel anormallikler hastalığın temel etyolojik faktörlerini oluşturur. DEWS III sınıflamasında KGH, altta yatan patofizyolojik mekanizmalara göre GF tabakası eksiklikleri (lipid, aköz veya müsin/glikokaliks eksikliği), göz kapağına ait bozukluklar ve oküler yüzey anomalileri olmak üzere üç ana bileşen altında ele alınmaktadır. Bu sınıflamada MBD, gözyaşı lipid tabakasındaki bozulma ve göz kapağı anormallikleri yoluyla evaporatif kuru gözün temelini oluşturur ve hastalık patogenezinde önemli rol oynar(7).

Meibomian bez disfonksiyonunda meibumun miktar ve kalitesindeki azalma, gözyaşı filmi stabilitesinin bozulmasına ve oküler yüzeyde inflamatuar süreçlerin

oluşmasına zemin hazırlar. Lipid tabakasındaki bu yetersizlik, GF buharlaşmasının artmasına ve hiperosmolaritenin ortaya çıkmasına neden olur; hiperosmolarite ise oküler yüzey hücrelerinde hasar ve inflamatuar yanıtı tetikleyerek KGH'nin kısır döngüsünü başlatır.



Şekil 3. TFOS DEWS III kuru göz hastalığı sınıflandırması(7).

2.4.MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONUNUN KLİNİK BULGULARI VE TANI YÖNTEMLERİ

Meibomian bez disfonksiyonu tanısı öncelikle klinik olarak konulmakta olup, temel bulguları; MB kaybı, MB sekresyonunda değişiklik, kapak kenarında vasküler dilatasyon ve kapak kenar düzensizliği, mukokutanöz birleşim çizgisinin öne veya arkaya doğru yer değiştirmesi gibi kapak kenarı anomalileridir. MBD saptanan birçok hastada belirgin bir oküler rahatsızlık bulunmayabilir ve olguların önemli bir bölümü asemptomatik seyredebilir. Semptomatik olgularda KG ile ilişkili şikayetler ön planda olup, yabancı cisim hissi, yanma, batma, fotofobi, oküler ağrı ve konjonktival hiperemi en sık bildirilen semptomlardır. GF stabilitesindeki bozulmaya bağlı olarak fonksiyonel görme kalitesinde azalma görülebilir(1).

Meibomian bez kaybı; meibografi ile gösterilen asiner doku kaybını tanımlar. Kapak eversiyonu sonrasında uygulanan transillüminasyon ile meibom bezleri değerlendirilir. Meibografinin klinik kullanım alanı, noninvaziv kızılötesi meibografi tekniği ile genişlemiştir(8).

Sağlıklı bireylerde, tarsal plağa uygulanan basınç ile MB'de sekresyon berrak yağ şeklinde eksprese edilir ve bu sekresyon meibum olarak adlandırılır. MBD'de ise sekresyonun hem kalitesi hem de eksprese edilebilirliği bozulur. Meibum kalitesi; 0 berrak sıvı, 1 bulanık sıvı, 2 partikül içeren bulanık sekresyon ve 3 diş macunu kıvamında yoğun sekresyon olacak şekilde derecelendirilmektedir(7).



Şekil 4. Normal MB'lerin, meibografi ile görüntülenmesi(8)



Şekil 5. Opak meibumun ekspresyonu(8)

Asemptomatik bireylerde, alt kapağın santraline uygulanan orta derecede dijital basınç ile MB ekspresyonunun değerlendirilmesi, subklinik MBD'nin belirlenmesinde uygun bir yöntemdir. Oküler yüzey semptomları veya kapak kenarına ait morfolojik bulguları olan hastalarda ise, MB fonksiyonları alt ve üst kapaklarda değerlendirilerek hastalığın şiddeti, yaygınlığı ve sekresyonun kalitesi belirlenmelidir. Ardından, oküler yüzey hasarı ve KG varlığını ortaya koymaya yönelik ileri tanısal testler planlanmalıdır. Bu amaçla, gözyaşı kırılma zamanı (TBUT) GF stabilitesinin değerlendirilmesinde, floresein boyanma kornea ve konjonktiva yüzeyindeki epitel hasarının saptanmasında ve Schirmer testi (ST) gözyaşı üretiminin ölçülmesinde kullanılmaktadır. Bu testlerden elde edilen bulgular, KG varlığını göstermekle birlikte, KG'ün aköz yetmezliğe mi yoksa evaporatif mekanizmaya mı bağlı olduğunu ayırt etmekte yeterli değildir. Aköz yetmezlikli KG'de ST bariz düşük bulunurken, evaporatif tipte KG'de ST normal veya hafif azalmıştır(8).

2.5. MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU TEDAVİSİ

Meibomian bez disfonksiyonunun tedavi yaklaşımları, klinisyenler arasında belirgin farklılıklar göstermektedir. Tanı aşamasında hastalığın gözden kaçabilmesi ve hastaların yeterli süreklilikte izlenememesi, klinik uygulamalarda tedavi yaklaşımlarının farklılaşmasına neden olmaktadır.

Klinik uygulamada en sık tercih edilen tedavi yöntemleri arasında ılık kompres uygulamaları, kapak hijyeni ve masajı, oküler lubrikanlar, topikal antibiyotikler, topikal kortikosteroidler veya antibiyotik–steroid kombinasyonları ile sistemik tetrasiklin türevleri yer almaktadır. Bunun yanı sıra, bazı çalışmalarda topikal siklosporin A kullanımının MBD tedavisinde yararlı olabileceği bildirilmiştir.

2.5.1. Suni Gözyaşları ve Topikal Lipid Destekleri

Meibomian bez disfonksiyonu ile ilişkili KG ve aköz yetmezliğinin ayırıcı tanısını yapmak her zaman mümkün olmamaktadır. Aköz yetmezlik MBD patofizyolojisinde temel bir rol oynamasa da, bu iki durum sıklıkla birlikte görülmektedir. Suni gözyaşı kullanımı ile oküler yüzeydeki sürtünme hafifletilmekte ve lipid tabaka desteklenmektedir.

Lipid içerikli gözyaşı damlaları, spreyler, emülsiyon preparatları MBD tedavisinde topikal uygulama seçenekleri arasında yer almaktadır. Kullanım sonrası geçici görme bulanıklığı, klinik uygulamada tercih edilmelerini sınırlayan önemli bir faktördür. Son dönemde geliştirilen yeni formülasyonlar daha iyi tolere edilse de, klinik kullanım yaygınlığı sınırlıdır(9).

2.5.2. Ilık Kompres, Kapak Hijyeni ve Sıcak Uygulama

Kapak hijyeni, MBD'nin temel tedavi yöntemidir ve sıcak uygulama ile mekanik masajdan oluşur. Sıcak uygulama, meibomian sekresyonların akışkanlığını artırmayı amaçlar; mekanik masaj ise bez tıkanıklıklarının giderilmesine yardımcı olur. Yöntemler arasında standart bir uygulama bulunmamakla birlikte, düzenli kapak hijyeninin semptomları azalttığı kabul edilmektedir. Gerekli durumlarda LipiFlow ve yoğun atımlı ışık (IPL) gibi cihaz temelli tedaviler destekleyici seçenekler olarak kullanılabilir(9).

2.5.3. Topikal Antibiyotikler

Meibomian bez disfonksiyonunda bakterilerin rolü net değildir ve antibiyotikler daha çok anti-inflamatuar etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Makrolidler, bu grup içinde öne çıkmakta olup, sitokin salınımını azaltıcı ve biyofilm üzerine etkileri nedeniyle dikkat çekmektedir. Azitromisin, MB sekresyon kalitesi, kapak kenarı inflamasyonu ve semptomlarda iyileşme sağlamaktadır(10).

2.5.4. Sistemik Tetrasiklin Deriveleri

Tetrasiklinler MBD tedavisinde anti-inflamatuar ve lipid metabolizmasını düzenleyici etkileri sebebiyle tercih edilir. Doksisiklin günde 1–2 kez 50–100 mg olarak kullanılabilir. Tedavi ortalama 8 hafta sürmektedir.

2.5.5. Kortikosteroidler

Şiddetli inflamasyonda kısa süreli kullanılır; uzun süreli kullanım yan etkiler (katarakt, glokom) nedeniyle önerilmez.

2.5.6. Siklosporin A (Cs A)

Siklosporin A, inflamasyonu baskılar. KG tedavisinde onaylanmış olup, MBD da etkinlik göstermiştir(11).

2.5.7. Gelişmekte Olan Farmakolojik Tedaviler

Meibomian bez disfonksiyonu ile ilişkili KGH için bazı ajanlar ileri evre (faz 2-3) klinik aşamadadır.

NOV03, perflorohekziloktan içeren, koruyucu gerektirmeyen damladır. Buharlaşmayı azaltarak bozulmuş lipid tabakasını destekler. Faz 2 (SEECASE) ve faz 3 (GOBI, MOJAVE) randomize kontrollü çalışmalarda, NOV03'ün MBD ilişkili KGH'de hem klinik bulguları hem de semptomları kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde iyileştirdiği gösterilmiştir(12–14).

AZR-MD-001, selenyum sülfid içeren ve MBD'de rol aldığı düşünülen hiperkeratinizasyonu hedefleyen merhemdir.

Faz 2 aşamasında olan diğer ajanlar arasında selektif glukokortikoid reseptör agonisti AXR-270, meibum kalitesini artırmayı hedefleyen kolesterol bağlayıcı CBT-006 ve blefarit ilişkili oküler yüzey hastalığında değerlendirilen topikal minosiklin merhemi HY-02 yer almaktadır. Bu ajanların etkinlik ve güvenliliklerinin netleşmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır(15).

2.5.8. Cerrahi Prosedürler

Cerrahi girişimler, MBD'nin tedavisinden ziyade konjonktivaşalazis, entropiyon, ektropiyon, trikiazis gibi MBD'ye eşlik eden durumların tedavisinde kullanılmaktadır. İleri evre olmayan olgularda intraduktal probing uygulanabilir, bu yöntemin etkinliğine ilişkin kanıtlar henüz sınırlıdır.

2.5.9. Meibomian Bez Disfonksiyonu Tedavisinde Mezenkimal Kök Hücre Kaynaklı Eksozom Uygulaması

Mezenkimal kök hücreler; kemik iliği, periferik kan, yağ dokusu, umblikal kord ve pulpa gibi çeşitli dokulardan elde edilebilirler, kendini yenileyebilen ve adipositlere, osteoblastlara ve kondrositlere farklılaşabilen multipotent hücrelerdir.

MKH'ler düşük immünojenisiteye sahiptir; çünkü düşük düzeyde MHC I ekspresyonu gösterirler ve MHC II ekspresyonu yoktur(16). MKH' lerin T lenfosit, B lenfosit, doğal öldürücü hücreler ve dendritik hücreler gibi aktive olmuş çeşitli immün hücreler üzerinde immünomodülatör etkiler oluşturduğu bildirilmektedir(17–19).

MKH'lerin farklı hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneği, özellikle immün aracılı hastalıkların tedavisinde dikkat çekici bir potansiyel ortaya koymuştur. Bu durum, hücrelerin düşük immünojenik özellik göstermeleri ve immün sistemi düzenleyici etkilerinden kaynaklanmaktadır. Ancak MKH kullanımının tümör oluşumu ve ektopik kemik oluşumu gibi potansiyel riskler taşıdığına dair endişeler de bulunmaktadır(20). Bu nedenle, hücre içermeyen tedavi yaklaşımları daha güvenli bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Bu veziküller arasında eksozomlar, öne çıkmaktadır. Eksozomlar, 30–150 nm boyutlarında olup hücreler arası iletişimde rol oynayan veziküllerdir. Proteinler, peptitler, nükleik asitler (RNA, mikroRNA, uzun kodlamayan RNA, DNA), lipidler ve metabolitler içerirler(21). Eksozomların içeriği, kaynaklandıkları hücre tipi ve salgılanma mekanizmasına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Eksozomlar inflamatuvar süreçlerin hem başlatılmasında hem de düzenlenmesinde rol oynayabilmektedir. Fosfolipit çift tabakalı yapıları sayesinde taşıdıkları biyomolekülleri biyolojik ortamda bozulmaya karşı koruyabilmektedirler.

Eksozomların terapötik amaçlı ilk klinik kullanımı, 2005 yılında onkoloji alanında melanoma tedavisine yönelik çalışmalarda gerçekleştirilmiştir(22). Oftalmolojide eksozomlarla ilgili ilk çalışmalar, 2005 yılında insan trabeküler ağ hücrelerinde miyosilinin eksozom benzeri veziküller aracılığıyla taşındığının gösterilmesiyle başlamıştır(23). Eksozomların oftalmolojide terapötik kullanımına ilişkin ilk deneysel veriler retina alanında elde edilmiş; retinal astrosit kaynaklı eksozomların lazerle indüklenen koroidal neovaskülarizasyonu baskıladığı gösterilmiştir(24).

Son yıllarda eksozomların ön segment hastalıkları ve KGH tedavisindeki potansiyel etkileri dikkat çekmektedir. Bu doğrultuda Wang ve ark.(2022), MKH-Eks'lerın göz inflamasyonunu baskılamadaki terapötik etkinliğini incelemek amacıyla farelerde benzalkonyum klorür (BAK) ile oluşturulmuş KGH modelini kullanmıştır. Topikal olarak kullanılan MKH-Eks'ler devam eden göz inflamasyonunu doza bağımlı

şekilde baskılamıştır. MKH-Eks'ler gözyaşı filmi stabilitesini artırmış ve kornea epitel hücresi apoptozunu engellemiştir(25).

Ma ve ark. (2022) askorbik asit ve MKH-Eks'den oluşan göz damlası formülasyonu geliştirmiştir. Farelerde BAK ile oluşturulan deneysel KG modelinde damlanın kullanımıyla inflamasyonun azaldığı oküler yüzey bariyer onarımının desteklendiği ve gözyaşı üretiminin arttığı bildirilmiştir(26).

Kuru göz hastalığı olgularının büyük çoğunluğunda evaporatif bileşen baskındır ve MBD bu tablonun temel nedenini oluşturmaktadır. Mevcut tedavilere rağmen, MBD ile ilişkili KGH'de altta yatan patofizyolojik mekanizmaların tam olarak aydınlatılamamış olması, yeni ve hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarına duyulan ihtiyacı artırmaktadır. Özellikle inflamasyonun MBD gelişimindeki merkezi rolü göz önüne alındığında, yalnızca semptomatik rahatlama sağlayan yaklaşımların ötesine geçilmesi gerekmektedir. MKH-Eks'lerin antiinflamatuvar, immünmodülatör ve doku onarımını destekleyici etkileri çeşitli oküler yüzey ve KG modellerinde gösterilmiş olsa da, literatürde MBD üzerine etkilerini değerlendiren deneysel bir çalışma bulunmamaktadır. MBD patogenezinde inflamasyon, kapak kenarı vasküler değişiklikleri, epitel hasarı ve gözyaşı filmi instabilitesi ön planda olduğundan, MKH-Eks'lerin bu süreçler üzerinde düzenleyici etkiler gösterebileceği düşünülmektedir.Bu nedenle mevcut çalışmada, CFA ile indüklenen sıçan MBD modelinde MKH-Eks uygulamasının inflamasyon, glandüler doku hasarı ve oküler yüzey değişiklikleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI VE ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

Bu araştırma, kontrollü deneysel bir hayvan modeli kullanılarak planlanmıştır. Çalışmada, 16 haftalık, erişkin dönemde bulunan dişi Wistar albino sıçanlardan oluşan toplam 16 adet deney hayvanı kullanılmıştır. Sıçanların vücut ağırlıkları 200–300 gram arasında değişmekte olup, deney süresince hayvanlar standart koşullara sahip bir laboratuvar ortamında barındırılmıştır. Barınma koşulları, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde düzenlenmiş ışık döngüsü, 22 ± 2 °C ortam sıcaklığı ve %55 ± 10 bağıl nem oranı sağlanacak biçimde ayarlanmıştır. Tüm hayvanlara standart laboratuvar yemi ve içme suyu ad libitum olarak verilmiştir. Çalışmada uygulanan tüm deneysel işlemler, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış olup (Etik Kurul Onay No: 2025/57), araştırma etik ilkelere uygun şekilde yürütülmüştür.

Bu çalışmada deney hayvanı sayısının belirlenmesinde istatistiksel güç analizi yöntemi esas alınmıştır. Güç analizi hesaplamaları, G*Power (versiyon 3.1.9.4) yazılımı kullanılarak yapılmış olup, çalışmada hedeflenen istatistiksel güç %80 ($1-\beta = 0.80$) ve anlamlılık düzeyi %5 ($\alpha = 0.05$) olarak kabul edilmiştir. Örneklem büyüklüğünün hesaplanmasında, daha önce benzer deneysel hayvan modellerinde raporlanan ST ve TBUT ölçümlerine ait veriler referans alınmıştır. Analizde, Chen ve ark. (2018) tarafından raporlanan ST sonuçları referans alınmış ve bu veriler doğrultusunda grup başına 8 sıçanın yeterli olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, Peng ve ark. (2010) tarafından bildirilen TBUT ölçümlerine dayalı değerlendirmede, gruplar için gerekli en düşük örneklem sayısının 4 olduğu görülmüştür. Bu iki farklı klinik parametreden elde edilen sonuçlar dikkate alınarak, deneysel düzenleme toplam 16 sıçan kullanılarak her bir sıçanda bir göz deney, karşı göz kontrol olacak şekilde planlanmıştır(27,28)

3.2. DENEYSEL MEİBOMİAN BEZ DİSFONKSİYONU MODELİ

Bu çalışmada MBD oluşturulması amacıyla, deney hayvanlarına bilateral CFA enjeksiyonu uygulanmıştır. Kullanılan CFA (Merck®, Almanya) 10 mL içeren flakonlar halinde temin edilmiş ve üretici firma tarafından bildirilen koşullar

doğrultusunda 2–8 °C'de soğuk zincir altında muhafaza edilip laboratuvara ulaştırılmıştır. Uygulama sırasında herhangi bir sulandırma yapılmamıştır.

Komplet Freund's adjuvanının içeriğinde, her 1 mL'de 1 mg ısı ile inaktive edilmiş ve kurutulmuş *Mycobacterium tuberculosis* (H37Ra, ATCC 25177), 0.85 mL parafin yağı ve 0.15 mL mannide monooleat bulunmaktadır.

Deneysel modelin oluşturulma sürecinde, ana deney protokolü öncesinde uygulama zamanlamasını ve model oluşumunu değerlendirmek amacıyla dört sıçan üzerinde bir pilot uygulama gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, dört sıçana bilateral CFA enjeksiyonu uygulanmış ve enjeksiyondan sonraki 7. günde yapılan değerlendirmede MBD gelişiminin yeterli düzeyde olmadığı gözlenmiştir. Bunun üzerine aynı sıçanlara ikinci bir CFA enjeksiyonu yapılmış ve14. günde gerçekleştirilen değerlendirmede MBD oluştuğu saptanmıştır. Pilot uygulamadan elde edilen bu bulgular doğrultusunda, çalışmanın devamında yer alan diğer sıçanlarda CFA enjeksiyonlarının 0. ve 7. günlerde uygulanması planlanmış ve deneysel süreç bu protokole göre yürütülmüştür.

Komplet Freund's adjuvanı enjeksiyonları, üst ve alt göz kapaklarının tarsal plakalarına uygulanmıştır. Her bir göz için toplam enjeksiyon hacmi 60 µL olacak şekilde düzenlenmiş; üst göz kapağının santral, medial ve lateral bölgelerine 10'ar µL olmak üzere toplam 30 µL, alt göz kapağına da aynı dağılımla toplam 30 µL CFA enjekte edilmiştir. Böylece her bir sıçanın her iki gözüne toplam 120 µL CFA uygulanmıştır.

Oluşturulan deneysel MBD modelinin, MB orifislerinde tıkanıklık, gözyaşı film stabilitesinde bozulma ve sekresyon miktarında azalma gibi insan MBD'sinde gözlenen klinik ve fonksiyonel bulguları yansıttığı; ayrıca tarsal plakada kronik inflamasyon ve bez yapısında atrofi gibi insan MBD'sine benzer histopatolojik değişikliklerle uyumlu olduğu, CFA kullanılan hayvan modellerinde daha önce bildirilen çalışmalarla gösterilmiştir.(29,30)

MBD tanısı, meibomian bez orifis skorlama sistemi kullanılarak konmuş; skoru 2 ve üzeri olan hayvanlar MBD olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1. Meibomian Bez Orifis Skorlama (MBOS) Sistemi:

Tablo 1: Meibomian Bez Orifis Tıkanıklığı Skorlama Sistemi(31)

Skor	Tanım
0	Orifis tıkanıklığı yok
1	1 veya 2 orifisin tıkalı olması
2	3 veya 4 orifisin tıkalı olması
3	Tüm orifislerin (5 orifis) tıkalı olması

Değerlendirmede, üst ve alt göz kapaklarının santralinde bulunan beş MB orifisi ayrı ayrı incelenmiştir. Alt ve üst kapaktan elde edilen skorlar birleştirilerek toplam orifis tıkanıklık skoru hesaplanmıştır(31)

3.3. DENEYSEL GRUPLARIN OLUŞTURULMASI VE UYGULAMA PROTOKOLÜ

MBD tanısı doğrulanan toplam 16 sıçan çalışmaya dahil edilmiş ve deneysel düzenleme gözler arasında karşılaştırma yapılmasına olanak sağlayacak şekilde planlanmıştır. Bu kapsamda her bir sıçanın gözleri aşağıdaki şekilde gruplandırılmıştır:

- **Tedavi Grubu (n = 16 göz):** Sıçanların sağ gözlerine tek doz MSC-Eks uygulanmıştır.
- **Kontrol Grubu (n = 16 göz):** Sıçanların sol gözlerine, tedavi grubuyla aynı enjeksiyon yöntemi kullanılarak tek doz serum fizyolojik uygulanmıştır.

Uygulama MBD'nin klinik olarak doğrulanmasının ardından tüm hayvanlarda aynı gün gerçekleştirilmiştir.

3.4. MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOM ÖZELLİKLERİ

Eksozomlar, hücreler tarafından hücre dışı ortama salınan ve çapları 50–200 nm arasında değişen doğal keseciklerdir. Bu yapılar; nükleik asit türleri, lipidler ve

proteinler gibi çeşitli bileşenleri içerir. Hücreler arasında bir iletişim aracı olarak görev yapan eksozomlar, sinyal iletimi, hücreler arası madde taşınımı ve doku iyileşmesi süreçlerinde rol oynar. CD81, CD9 ve CD63 eksozomlar için uluslararası kabul gören belirteçlerdendir(32)

cGMP (current Good Manufacturing Practices) standartlarında üretilen eksozomların şekilde belirtilen spesifikasyonlara uygun olması gerekmektedir.

ANALİZ/TEST	YÖNTEM/TEKNİK	NORMAL SINIRLAR (SPESİFİKASYON)
STERİLİTE	BACTEC FX ve BacT/ALERT 3D (Mikrobiyal tespit sistemleri)	Son ürün sterilitesi NEGATİF olmalıdır.
İMMUNFENOTİPLEME	Flow Sitometri (BD FACSCanto Flow Cytometry System)	CD81, CD9 ve CD63 yüzey belirteçleri pozitif olmalıdır.
MİKOPLAZMA	PCR yöntemi (PCR detection kit, 209 tür saptama özelliği), MycoStrip hızlı test	NEGATİF
ENDOTOKSİN	Endotoksin saptama testleri (Türbidimetrik metot, Pyrosate metodu)	**Türbidimetrik metot:** Toplam ml ile 0,0625 EU çarpılır. **Pyrosate metot:** Toplam ml ile 0,250 EU çarpılır. İntra-tekal uygulamalar için kg başına 0,2 EU/kg, diğer uygulamalar için ise kg başına 5 EU/kg sınır değerdir.
HIZLI MİKROBİYOLOJİK TEST	Gram boyama	Bakteri gözlemlenmemelidir.
PARTİKÜL ANALİZİ	NTA (NanoSgiht NS300, Malvern Panalytical B.V.)	30-200 nm arasında olmalıdır.

Şekil 6. MKH-eks Ürün Spesifikasyonları (LivMedCell)

Umblikal kord kaynaklı mezenkimal kök hücreler cGMP laboratuvarında uygun kültür yöntemi ile çoğaltılmaktadır. Yeterli sayıya ulaşan hücreler çeşitli yöntemlerle strese maruz bırakılarak eksozom üretmesi sağlanmaktadır. Elde edilen eksozomlar uygun saflaştırma yöntemi ile saflaştırılmaktadır. Son ürün halini alan eksozomlar homojen süspansiyon olarak steril şekilde soğuk zincir ile saklanmaktadır. Çalışmada kullanılan eksozomlar, LivMedCell Rejeneratif Tıp ve Kök Hücre Merkezi'nden temin edilmiş olup, −80 °C'de soğuk zincir korunarak laboratuvara ulaştırılmıştır.

Deneysel hayvan çalışmalarında eksozom uygulamalarının çoğunlukla topikal damla veya subkonjonktival enjeksiyon yoluyla gerçekleştirildiği bildirilmektedir. Bu çalışmada ise MBD'nin tedavisine yönelik olarak, MB'lerinin yer aldığı tarsal bölgeye lokal ve hedefe yönelik intratarsal enjeksiyon yöntemi uygulanmıştır. Bu yaklaşım ile eksozomların, fonksiyonel bozukluğun bulunduğu anatomik bölgeye doğrudan ulaştırılması amaçlanmıştır.

3.5. MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOM UYGULAMA DOZU VE ENJEKSİYON TEKNİĞİ

Bu çalışmada eksozom uygulama dozu, literatürde deneysel oküler ve kuru göz modellerinde bildirilen terapötik doz aralıkları dikkate alınarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan stok eksozom süspansiyonu, üretici firma tarafından **5×10^9 partikül/mL** konsantrasyonda sağlanmıştır.

Uygulama öncesinde, stok eksozom süspansiyonu steril serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve her bir göz için toplam 200×10^6 partikül /60 µL olacak şekilde uygulamaya hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan eksozom süspansiyonu, mikroenjektör yardımıyla uygulanmıştır. Enjeksiyonlar, MB'lerinin yer aldığı tarsal konjonktivayı hedefleyecek şekilde planlanmış; üst ve alt göz kapaklarının medial, santral ve lateral bölgelerine eşit hacimlerde dağıtılmıştır. Böylece alt ve üst kapak tarsal konjonktivasına toplam 200×10^6 partikül /60 µL /göz olacak şekilde uygulama gerçekleştirilmiştir. Her bir sıçanın sağ gözüne 200×10^6 partikül içerecek şekilde tek doz eksozom uygulaması yapılmıştır. Sol gözlerine aynı hacimde serum fizyolojik verilmiştir. Tüm enjeksiyonlar, uygun genel anestezi altında ve steril gerçekleştirilmiştir.

Seçilen 200×10^6 partikül /göz dozu, literatürde bildirilen BAK ile indüklenmiş kuru gözlü fare modellerinde bildirilen eksozom uygulamalarıyla uyumludur. Bu çalışmada $0,5 \times 10^{10}$, $2,5 \times 10^{10}$ ve $12,5 \times 10^{10}$ partikül/mL konsantrasyonları karşılaştırılmış; en etkili doz olarak belirlenen $2,5 \times 10^{10}$ partikül/mL formülasyonun her damlada yaklaşık $1,25 \times 10^8$ (125 milyon) eksozom içerdiği ve günde iki kez uygulandığında yedi gün sonunda korneal saydamlığın arttığı, kornea boyanmasının azaldığı ve gözyaşı sekresyonunda anlamlı artış sağlandığı bildirilmiştir.(33)

Benzer şekilde, hayvan modellerinde eksozom uygulamalarında kullanılan dozların uygulama yoluna bağlı olarak değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Ön kamara uygulamalarında $2,25–4,5 \times 10^8$ partikül/10 µL, intravitreal enjeksiyonlarda ise $3,9–4,5 \times 10^8$ partikül/10 µL dozlarının güvenli ve terapötik olarak etkili olduğu bildirilmiştir.(34,35) Topikal damla formunda ise $2,5 \times 10^{10}$ partikül/mL (yaklaşık 125 milyon/5 µL damla) dozunun etkin ve iyi tolere edildiği gösterilmiştir.

3.6. DEĞERLENDİRME ZAMANLAMASI VE KLİNİK PARAMETRELER

Meibomian bez disfonksiyonu tanısının doğrulanmasını takiben deney hayvanlarına tedavi uygulanmıştır. Deneysel protokol kapsamında tedavi uygulaması, dört hayvanda 28. günde, kalan on iki hayvanda ise 14. günde gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada MSC-Eks veya kontrol amacıyla serum fizyolojik intratarsal yolla tek doz halinde uygulanmıştır. Tedavi sonrasında klinik değerlendirmeler 21., 28., 35. ve 42. günlerde yapılmıştır. Belirlenen bu zaman noktalarında ST, telenjiektazi derecelendirilmesi, TBUT ve fluorescein ile boyanma ölçülerek kaydedilmiştir.

3.6.1. Schirmer Testi

Ticari Schirmer şeridi (Whatman®) her bir sıçanın alt göz kapağı lateral kantus bölgesine yerleştirilmiş ve 5 dakika süreyle bekletilmiştir. Ölçümler sırasında hayvanlar genel anestezi altında tutulmuştur. Süre sonunda, gözyaşı üretimini değerlendirmek amacıyla şeritte ıslanan bölümün uzunluğu ölçülmüştür. Ölçümlerin tamamı, gözlemciye bağlı değişkenliği azaltmak amacıyla aynı araştırmacı tarafından, aynı zaman diliminde ve oda sıcaklığı, nem ile aydınlatma koşulları sabit tutularak gerçekleştirilmiştir. ST, deneysel KG modeli kullanılan sıçanlarda literatürde bildirilen uygulamalara benzer şekilde gerçekleştirilmiştir.(27)

3.6.2. Telenjiektazi Derecelendirmesi

Göz kapağı kenarındaki vasküler değişikliklerin değerlendirilmesi amacıyla telenjiektazi derecelendirme sistemi kullanılmıştır. Derecelendirme ölçütleri, “Development of Definitive and Reliable Grading Scales for Meibomian Gland Dysfunction” başlıklı çalışmada tanımlanan kriterler esas alınarak belirlenmiş ve deneysel sıçan modeline uyarlanmıştır(36)

Telenjiektazi değerlendirmesi, 16 kat büyütme sağlayan slit-lamp biyomikroskop altında, göz kapağı kenarında yer alan telenjiektatik damarların dağılımı ve belirginliği dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Her bir göz kapağı (üst ve alt) ayrı ayrı değerlendirilmiş ve 0 ile 3 arasında puanlandırılmıştır:

Tablo 2: Kapak Kenarı Telenjiektazi Derecelendirmesi(36)

Derece	Tanım
0	Kapak kenarı konjonktivasında kızarıklık yok
1	Kapak kenarı konjonktivasında kızarıklık mevcut; meibomian bez orifislerini geçen telenjiektazi izlenmez
2	Kapak kenarı konjonktivasında kızarıklık mevcut; meibomian bez orifislerini geçen telenjiektazi göz kapağının yarısından azını kapsar
3	Kapak kenarı konjonktivasında kızarıklık mevcut; meibomian bez orifislerini geçen telenjiektazi göz kapağının yarısından fazlasını kapsar

3.6.3. Gözyaşı Film Kırılma Süresi (TBUT)

Gözyaşı filmi kırılma süresi, karanlık bir ortamda ölçülmüştür. Steril bir damlalık aracılığıyla, sıçanların konjonktival kesesine %1 sodyum fluorescein solüsyonundan bir damla uygulanmıştır. Fluoresceinin oküler yüzeye homojen şekilde yayılmasını sağlamak amacıyla göz kapakları üç kez nazikçe açılıp kapatılmıştır. Son kapama sonrası, kornea yüzeyinde ilk siyah noktanın ortaya çıkmasına kadar geçen süre saniye (sn) cinsinden kaydedilmiştir. Değerlendirme, 16× büyütmeli slit-lamp biyomikroskop altında kobalt mavisi filtre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçüm her bir sıçan için üç kez tekrarlanmış ve elde edilen değerlerin ortalaması analizlerde kullanılmıştır. TBUT ölçüm yöntemi, deneysel oküler yüzey hastalıkları kullanılan sıçan modellerinde literatürde bildirilen uygulamaya benzer şekilde gerçekleştirilmiştir(37).

3.6.4. Fluorescein ile Boyanma Derecelendirilmesi

Fluorescein boyanma değerlendirmesi, TBUT ölçümünde kullanılan fluorescein uygulamasını takiben gerçekleştirilmiştir.

Oxford derecelendirme sistemi KGH'nin değerlendirilmesinde yaygın olarak kabul edilen standart yöntemlerden biridir. Oxford sınıflaması, deneysel sıçan modeline göre uyarlanarak kullanılmıştır. Benzer bir fluorescein boyama ve derecelendirme yöntemi, deneysel sıçan KG modelinde daha önce kullanılmıştır(37)

Tablo 3: Çalışmada Kullanılan Korneal Boyanma Sınıflaması

Derece	Tanım
0	Boyanma yok
1	Hafif, sınırlı noktasal boyanma
2	Orta derecede yaygın boyanma
3	Şiddetli, diffüz boyanma

3.7. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Çalışmanın tamamlanmasının ardından, 42. günde gerçekleştirilen son klinik değerlendirmeleri takiben tüm deney hayvanlarına uygun dozda genel anestezi uygulanmış ve servikal dislokasyon yöntemi ile ötanazi işlemi gerçekleştirilmiştir. Ötanazi sonrasında her bir sıçanın üst ve alt göz kapakları cerrahi olarak çıkarılmış; elde edilen dokular sağ ve sol göz ile üst ve alt kapaklar ayrı ayrı olacak şekilde %10'luk nötral tamponlu formalin içinde 72 saat fikse edilmiştir. Fiksasyonu takiben dokular, yükselen etil alkol serisi (%70, %90, %96, %100) ile dehidrate edildi ve ksilenle şeffaflandırıldı. Daha sonra dokular parafine gömüldü. Mikrotom ile 5 µm kalınlığında alınan kesitler sıcak su banyosuna aktarıldı. Doku bloklarından elde edilen kesitler histolojik boyamalar için lamlara alındı. Kesitlere histolojik değerlendirme amacıyla hematoksilen-eozin (H&E) boyası uygulandı. Her gruptan alınan örnek kesitlerden en az 5 farklı alan x20 büyütmede incelendi ve ışık mikroskobu (Zeiss Lab A.1) altında fotoğraflandı. Meibomian bezlerinde asinus ve kanalların kistik dilatasyon morfolojisi ile asinus atrofisi H&E boyalı kesitlerde değerlendirildi.

Tüm histolojik kesitler, çalışma gruplarından habersiz olacak şekilde bir histopatolog tarafından incelenmiştir. Elde edilen histopatolojik bulgular tedavi ile kontrol grupları arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.8. İSTATİKSEL ANALİZ

Çalışmada her bir sıçanın sağ ve sol gözlerinden elde edilen ölçümler ayrı veri noktaları olarak değerlendirilmiştir. MKH-Eks ve serum fizyolojik uygulamaları intratarsal bölgeye lokal enjeksiyon şeklinde yapılmış olup, tedavi etkisinin öncelikli

olarak uygulama bölgesiyle sınırlı kalacağı varsayılmıştır. Bu nedenle uygulamaların sistemik dolaşıma geçişinin minimal düzeyde olacağı ve karşı gözde anlamlı bir sistemik ya da immünolojik etki oluşturmayacağı kabul edilmiştir.

Deneyde aynı genetikte albino Wistar sıçanların kullanılması ve hayvanların barınma, beslenme, sıcaklık ile ışık döngüsü gibi çevresel koşullarının standartlaştırılması, bireyler arası değişkenliği azaltmaya yönelik önlemler olarak değerlendirilmiştir. Bu koşullar altında sağ ve sol gözlerden elde edilen bulguların tedaviye bağlı lokal etkileri yansıttığı kabul edilmiştir.

Çalışmada elde edilen veriler SPSS for Windows 22.0 paket programı kullanılarak analiz edilmiştir.

Analizlerde kullanılacak istatistiksel yöntemlerin belirlenebilmesi için öncelikle verilerin parametrik test varsayımlarını karşılayıp karşılamadığı değerlendirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiş, bunun yanı sıra çarpıklık ve basıklık değerleri de göz önünde bulundurulmuştur. Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle analizlerde nonparametrik testler tercih edilmiştir.

Bağımlı iki grup karşılaştırmalarında Wilcoxon işaretli sıralar testi, aynı gruba ait ikiden fazla tekrarlı ölçümün karşılaştırılmasında Friedman testi kullanılmıştır. Friedman testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanması durumunda, farklılığın hangi ölçümlerden kaynaklandığını belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltmeli ikili karşılaştırmalar yapılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Bu çalışmada istatistiksel analizlerde kullanılan “bazal” zaman noktası, CFA uygulamasını takiben 14. günde MKH-Eks veya serum fizyolojik enjeksiyonu ile tedavinin başlatıldığı zamanı temsil etmektedir. CFA uygulaması sonrası MBD oluşturulduktan sonra veri toplama süreci başlatılmış ve istatistiksel değerlendirmelere yalnızca 14. gün ve sonrasında elde edilen ölçümler dahil edilmiştir. Bu doğrultuda, CFA uygulamasından sonraki 14. gün “bazal” ölçüm zamanı olarak kabul edilmiş; tedavi sonrası 1., 2., 3. ve 4. haftalara ait veriler analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

Tablo 4. Schirmer Değerlerinin Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik Bulgular

	Sağ Med(IQR)	Sol Med(IQR)	Sağ ve Sol karşılaştırma
[1]**Schirmer bazal**	3,0 [1,5-5,0]	3,0 [2,0-4,0]	z:-0,55,p:0,58
[2]**Schirmer 1. hafta**	2,5 [1,5-4,5]	3,0 [0,0-4,5]	z:-0,83,p:0,41
[3]**Schirmer 2. hafta**	5,0 [4,5-6,5]	3,5 [2,0-5,0]	z:-0,28,p:0,78
[4]**Schirmer 3. hafta**	5,0 [3,5-7,5]	3,0 [0,0-5,0]	z:-1,73,p:0,08
[5]**Schirmer 4. hafta**	7,5 [5,0-11,0]	3,0 [1,5-4,0]	z:-0,56,p:0,58
Zaman içi karş. X^2;p	35,19;p<0,01 Fark: 5>1,2,4	4,05;p:0,39	

X^2:Friedman test z:Wilcoxon test Med: Medyan IQR: %25/%75Çeyrek Açıklıklar

Schirmer değerlerinin sağ ve sol göz karşılaştırmaları incelendiğinde; bazal ölçümlerde sağ ve sol göz medyan değerlerinin benzer olduğu görülmüş ve gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (z=-0,55; p>0,05).

Birinci hafta ölçümlerinde sol göz medyan değerinin sağ göze göre daha yüksek olduğu belirlenmiş, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (z=-0,83; p>0,05).

İkinci hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değerinin sol göze göre daha yüksek olduğu görülmüş, fakat bu fark anlamlı değildir (z=-0,28; p>0,05).

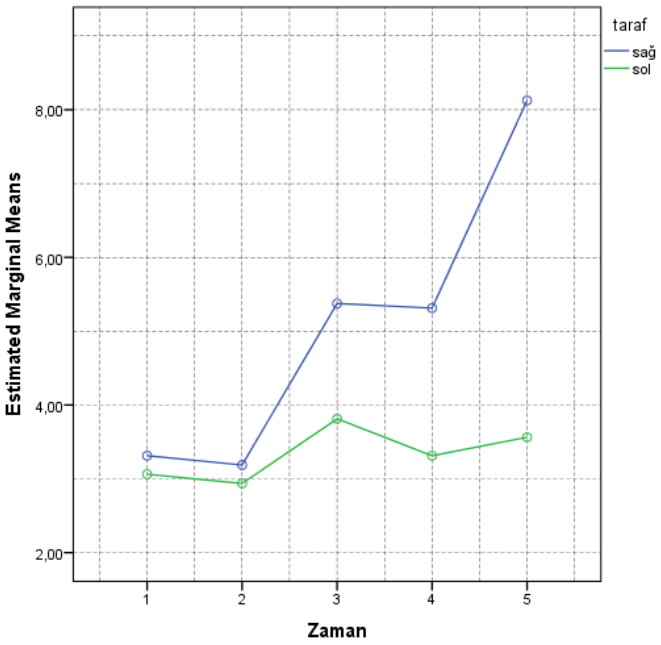
Üçüncü hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değerinin sol göze göre daha yüksek olduğu belirlenmiş, ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (z=-1,73; p>0,05).

Dördüncü hafta ölçümlerinde de sağ göz medyan değerinin sol göze göre daha yüksek olduğu görülmüş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (z=-0,56; p>0,05).

Zaman içi karşılaştırmalar incelendiğinde; sağ göz Schirmer değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu belirlenmiştir (χ^2=35,19; p<0,01). İkili karşılaştırmalar sonucunda 4. hafta ölçümünün bazal, 1. ve 3. hafta ölçümlerine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Buna karşılık sol göz Schirmer değerleri arasında

zaman içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (χ^2=4,05; p>0,05).

Schirmer değerlerinin zaman içi karşılaştırmalarında etki büyüklüğü Kendall's W katsayısı ile hesaplanmıştır. Sağ göz için etki büyüklüğü W=0,55 olarak, sol göz için ise W=0,06 olarak belirlenmiştir. Buna göre sağ gözde zaman içi değişim etkisinin sol göze göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.



Şekil 7: Eksozom ve Kontrol Gruplarında Schirmer Değerlerinin Haftalara Göre Değişimi

Tablo 5. Telenjiektazi Skorlarının Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik Bulgular

	Sağ Med(IQR)	**Sol Med(IQR)**	**Sağ ve Sol karşılaştırma**
Telenjiektazi bazal	2,5 [2,0-3,0]	2,0 [2,0-3,0]	z:-2,00,p:0,04
Telenjiektazi 1.hafta	3,0 [3,0-4,0]	4,0 [3,0-5,0]	z:-3,14,p:0,01
Telenjiektazi 2.hafta	3,0 [3,0-4,0]	4,0 [4,0-5,0]	z:-3,24,p:0,01
Telenjiektazi 3.hafta	3,5 [3,0-4,0]	5,0 [4,5-5,0]	z:-0,35,p:0,73
Telenjiektazi 4.hafta	3,0 [3,0-4,0]	5,0 [5,0-6,0]	z:-3,52,p:0,01
Zaman içi karş. X^2;p	16,26;p<0,01 Fark: 4>1	42,31;p<0,01 Fark:1<2,3,4,5	

X^2:Friedman test z:Wilcoxon test Med: Medyan IQR: %25/%75Çeyrek Açıklıklar

Telenjiektazi skorlarının sağ ve sol karşılaştırmaları incelendiğinde; bazal ölçümlerde sağ medyan değerinin genel değere göre daha yüksek olduğu ve farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir (z=-2,00; p:0,04).

Birinci hafta ölçümlerinde sol medyan değerinin sağ değere göre daha yüksek olduğu ve bu farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir (z=-3,14; p<0,01).

İkinci hafta ölçümlerinde sol medyan değerinin sağ değere göre daha yüksek olduğu ve farkın anlamlı olduğu (z=-3,24; p<0,05).

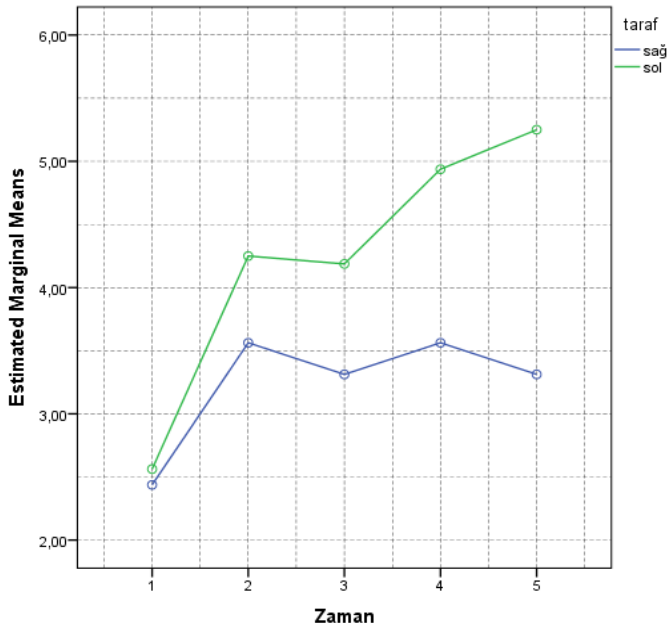
Üçüncü hafta ölçümlerinde sol medyan değerinin sağ değere göre daha yüksek olduğu görülmüş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (z=-0,35; p>0,05).

Dördüncü hafta ölçümlerinde sol medyan değerinin sağ değere göre daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (z=-3,52; p<0.01).

Zaman içi karşılaştırmalar incelendiğinde sağ göz telenjiektazi skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu belirlenmiştir (χ^2=16,26; p<0,01). İkili karşılaştırmalar sonucunda üçüncü hafta ölçümlerinin bazal ölçümlere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Sol göz telenjiektazi skorları incelendiğinde zaman içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu belirlenmiştir (χ^2=42,31; p<0,01). İkili karşılaştırmalar sonucunda bazal ölçümlerin birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü hafta ölçümlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır.

Telenjiektazi genel değerlerinin zaman içi karşılaştırmalarında etki büyüklüğü Kendall's W katsayısı ile hesaplanmıştır. Sağ göz için etki büyüklüğü W=0,25 olarak, sol değerler için ise W=0,66 olarak belirlenmiştir. Buna göre telenjiektazi değerlerinde zaman içi değişim etkisinin sağ göze göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.



Şekil 8: Eksozom ve Kontrol Gruplarında Telenjiektazi Skorlarının Haftalara Göre Değişimi

Tablo 6. TBUT Değerlerinin Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik Bulgular

	Sağ Med(IQR)	Sol Med(IQR)	Sağ ve Sol karşılaştırma
T But bazal	7,0 [6,0-8,0]	7,0 [7,0-8,0]	z:-1,00,p:0,32
T But 1. hafta	6,5 [6,0-7,0]	6,0 [5,0-6,5]	z:-0,72,p:0,47
T But 2. hafta	9,0 [8,0-9,0]	6,0 [6,0-7,0]	z:-2,89,p:0,001
T But 3. hafta	7,0 [5,5-7,0]	5,0 [5,0-6,0]	z:-1,34,p:0,18
T But 4. hafta	8,0 [7,5-9,0]	5,0 [4,5-6,5]	z:-2,83,p:0,01
Zaman içi karş. X^2;p	32,83;p<0,01 Fark:3>1,2,4 ve 5>2,4	25,47;p<0,01 Fark:1>2,4,5	

X^2:Friedman test z:Wilcoxon test Med: Medyan IQR: %25/%75Çeyrek Açıklıklar

TBUT değerlerinin sağ ve sol göz karşılaştırmaları incelendiğinde; bazal ölçümlerde sağ ve sol göz medyan değerlerinin benzer olduğu ve gruplar arasında anlamlı fark bulunmadığı belirlenmiştir (z=-1,00; p>0,05).

Birinci hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değerinin sol göze göre daha yüksek olduğu görülmüş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (z=-0,72; p>0,05).

İkinci hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değerinin sol göze göre daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (z=-2,89; p<001).

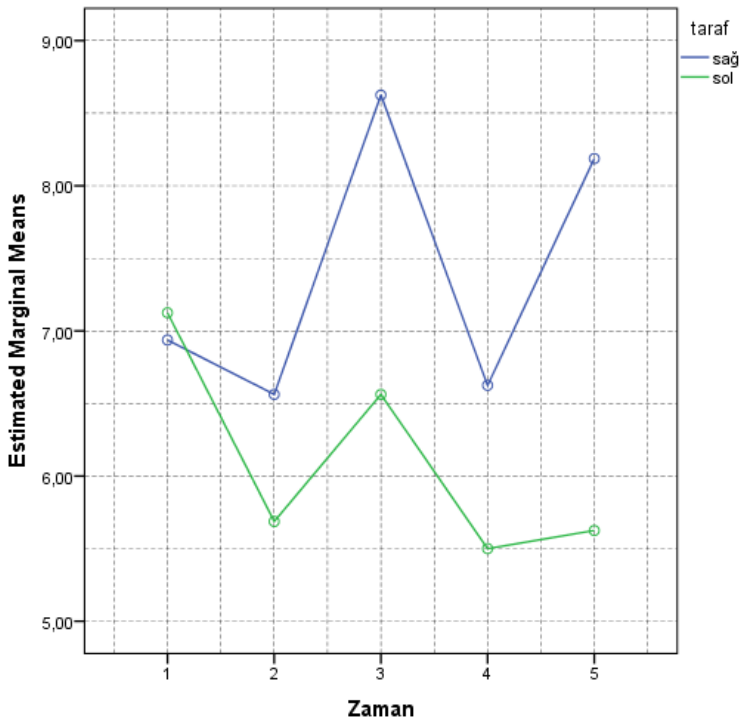
Üçüncü hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değerinin sol göze göre daha yüksek olduğu görülmüş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (z=-1,34; p>0,05).

Dördüncü hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değerinin sol göze göre daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (z=-2,83; p<0,01).

Zaman içi karşılaştırmalar incelendiğinde; sağ göz TBUT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu saptanmıştır (χ^2=32,83; p<0,01). İkili karşılaştırmalar sonucunda ikinci hafta ölçümlerinin bazal, birinci ve üçüncü hafta ölçümlerinden; dördüncü hafta ölçümlerinin ise birinci ve üçüncü hafta ölçümlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sol göz TBUT değerleri incelendiğinde zaman içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu belirlenmiştir (χ^2=25,47; p<0,01). İkili karşılaştırmalar sonucunda bazal ölçümlerin birinci, üçüncü ve dördüncü hafta ölçümlerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

TBUT değerlerinin zaman içi karşılaştırmalarında etki büyüklüğü Kendall's W katsayısı ile hesaplanmıştır. Sağ göz için etki büyüklüğü W=0,51 olarak, sol göz için ise W=0,40 olarak belirlenmiştir. Buna göre sağ gözde zaman içi değişim etkisinin sol göze göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.



Şekil 9: Eksozom ve Kontrol Gruplarında TBUT Ölçümlerinin Haftalara Göre Değişimi

Tablo 7. Fluroscein Boyanma Skorlarının Grup ve Zaman İçi Karşılaştırılmasına Yönelik

Bulgular

	Sağ Med(IQR)	**Sol Med(IQR)**	**Sağ ve Sol karşılaştırma**
[1]Boyanma skoru bazal	**1,00 [1,00-1,00]**	**1,00 [1,00-1,00]**	**z:-0,60;p:0,55**
[2]Boyanma skoru 1. hafta	**1,00 [0,00-1,00]**	**2,00 [0,50-2,00]**	**z:-1,91;p:0,06**
[3]Boyanma skoru 2. hafta	**0,00 [0,00-0,00]**	**0,50 [0,00-0,50]**	**z:-1,84;p:0,07**
[4]Boyanma skoru 3. hafta	**0,00 [0,00-0,00]**	**2,00 [1,00-2,00]**	**z:-5,02;p:0,001**
[5]Boyanma skoru 4. hafta	**1,00 [0,00-1,00]**	**2,00 [1,50-2,00]**	**z:-4,30;p:0,001**
Zaman içi karş. X^2;p	**29,26;p<0,01 Fark:2,3<1**	**21,88;p<0,01 Fark:3<4,5**	

X^2:Friedman test z:Wilcoxon test Med: Medyan IQR: %25/%75Çeyrek Açıklıklar

Sağ ve sol göz boyanma skorlarının karşılaştırılması incelendiğinde; bazal ölçümlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı belirlenmiştir (z=-0,60; p=0,55).

Birinci hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değeri 1,00 [0,00-1,00], sol göz medyan değeri ise 2,00 [0,50-2,00] olarak bulunmuş, sol göz boyanma skorlarının daha yüksek olduğu ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p=0,06).

İkinci hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değeri 0,00 [0,00-0,00], sol göz medyan değeri 0,50 [0,00-0,50] olup gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p=0,07).

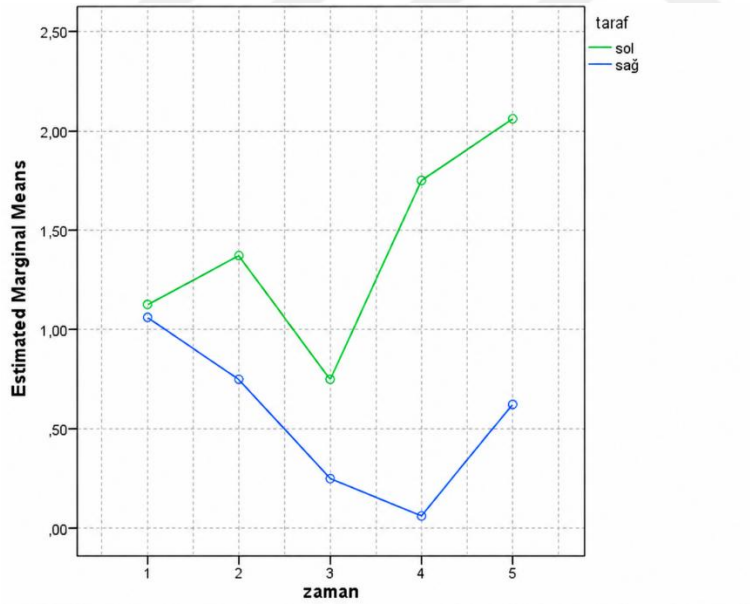
Üçüncü hafta ölçümlerinde sağ göz medyan değeri 0,00 [0,00-0,00], sol göz medyan değeri 2,00 [1,00-2,00] olarak bulunmuş ve sol göz boyanma skorlarının anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptanmıştır (p<0,001).

Dördüncü hafta ölçümlerinde de sağ göz medyan değeri 1,00 [0,00-1,00], sol göz medyan değeri 2,00 [1,50-2,00] olarak belirlenmiş ve sol göz boyanma skorlarının sağ göze göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bulunmuştur (z=-4,30; p<0,001).

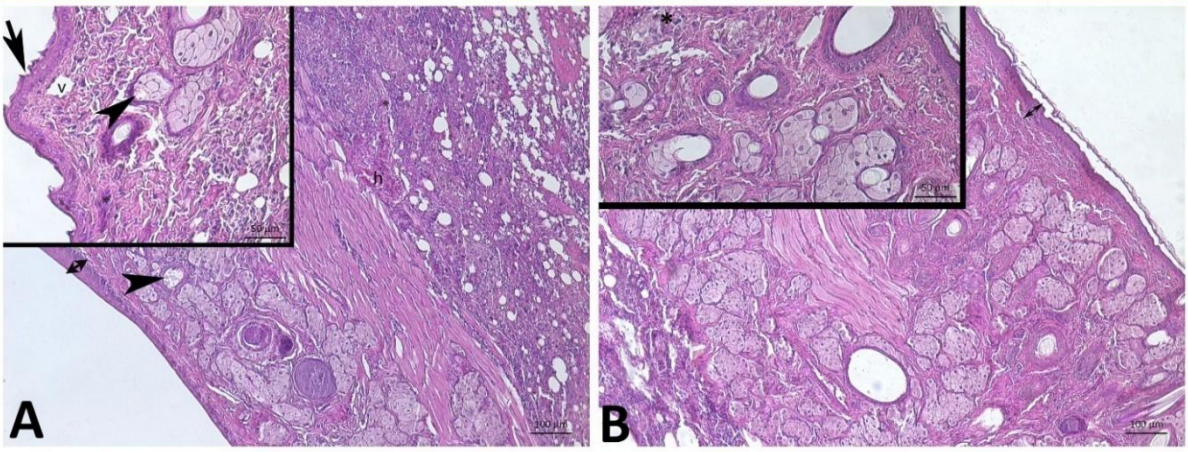
Zaman içi karşılaştırmalar incelendiğinde; sağ göz boyanma skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu belirlenmiştir (χ^2=29,26; p<0,01). İkili karşılaştırmalar sonucunda bazal ölçüm boyanma skorlarının 1. hafta ve 2. hafta ölçümlerine göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, zaman içerisinde sağ göz boyanma skorlarında azalma olduğunu göstermektedir.

Sol göz boyanma skorları açısından da zaman içinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir (χ^2=21,88; p<0,01). İkili karşılaştırmalar sonucunda 2. hafta boyanma skorlarının 3. hafta ve 4. hafta ölçümlerine göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, sol göz boyanma skorlarının ilerleyen haftalarda artış gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Boyanma skoru değerlerinin zaman içi karşılaştırmalarında etki büyüklüğü Kendall's W katsayısı ile hesaplanmıştır. Sağ göz için etki büyüklüğü W=0,46 olarak, sol değerler için ise W=0,34 olarak belirlenmiştir.



Şekil 10: Eksozom ve Kontrol Gruplarında Fluroscein Boyanma Skorlarının Haftalara Göre Değişimi



Şekil 11: Deney gruplarına ait göz kapağı doku morfolojisi.

Serum fizyolojik uygulanan deney modeline ait (A) dokuda glandular morfolojide hasar izlendi (ok) ayrıca bağ dokusunda yer yer nötrofil infiltrasyonu (yıldız) ve kanama (h) gözlendi. Ayrıca, epitelde yer yer kalınlaşma (çift taraflı ok) ve bölgesel hasar (ok) izlendi. Eksozom uygulanan göz kapağı doku örneklerinde (B) ise çok sayıda normal morfolojide glandular yapı izlenirken, yer yer epitelde kalınlaşma (çift taraflı ok) ve nötrofil infiltrasyonu (yıldız) da izlendi. (Boyama: Hematoksilen-Eozin, Büyütmeler: 10x, İnsetler:20x)

Serum fizyolojik uygulanan göz kapağı doku örneğinde, nötrofil infiltrasyonu ve çok sayıda hasarlı glandular bez hasarı görüldü. Eksozom uygulanan dokuda hasarlı gland yapısına rastlanmazken, yer yer epitelde kalınlaşma ve nötrofil infiltrasyonu gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Kuru göz hastalığı, gözyaşı filmi ve oküler yüzey homeostazının bozulması ile karakterize, multifaktöriyel bir oküler yüzey hastalığıdır. Hastalar sıklıkla yanma, batma, ışığa hassasiyet, ağrı ve bulanık görme gibi semptomlarla başvururken; klinik muayenede azalmış gözyaşı miktarı, gözyaşı filmi instabilitesi ve oküler yüzey hasarı gibi bulgular saptanabilmektedir. Hastalığın ileri evrelerinde korneal lezyonlar ve enfeksiyonlar gelişebilmektedir. KGH, yalnızca oküler yüzeyi etkilemekle kalmayıp, hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde düşürmekte, iş verimliliğini ve günlük aktiviteleri kısıtlamaktadır. KGH olgularının çoğunluğunda evaporatif komponent bulunmakta olup, MBD evaporatif kuru gözün başlıca nedeni olarak kabul edilmektedir. MBD; meibomian bez yapılarında kronik ve yaygın anormallikler, terminal kanal tıkanıklığı ve meibum sekresyonunda değişiklikler ile karakterizedir. Patogenezde kısır döngü söz konusudur. Bu döngüde bez tıkanıklığı, bez kaybı ve inflamasyon ile birlikte mikrobiyal artış ve lipid eksikliği gelişmekte;gözyaşı filmi lipid tabakası bozulmakta ve buharlaşma artmaktadır. Artmış buharlaşma ise oküler yüzey homeostazının daha da bozulmasına yol açarak hastalığın ilerlemesini desteklemektedir(15).

Dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen bu yaygın hastalığa rağmen, özellikle MBD'ye bağlı evaporatif kuru gözün yönetimi klinik açıdan halen zorluklar içermektedir. Günümüzde KGH için çok sayıda tedavi seçeneği bulunmakla birlikte, MBD ile ilişkili KG hastalarında bu tedavilerin etkinlik ve güvenliliğini değerlendiren yeterli sayıda, geniş ölçekli ve iyi tasarlanmış randomize kontrollü çalışma sınırlıdır. Mevcut tedavi yaklaşımlarının çoğu semptomatik rahatlama sağlamaya yönelik olup, hastalığın temel patofizyolojik mekanizmasını hedeflemede yetersiz kalabilmektedir.Bu nedenle, özellikle MBD'ye bağlı KGH patogenezini hedefleyen yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Klasik tedaviye dirençli olgular için yeni tedavi arayışları sürmektedir. Son yıllarda mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozomların anti-inflamatuar, immünmodülatör ve rejeneratif özellikleri sayesinde oküler yüzey hastalıklarında potansiyel tedavi ajanları olarak öne çıktığı görülmektedir. Bu tür yenilikçi biyolojik tedavilerin geliştirilmesi, mevcut tedavi

seçeneklerini genişletecek ve MBD'ye bağlı KG hastalarında daha etkili ve bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının uygulanmasına olanak sağlayacaktır.

Bu çalışmada, CFA ile oluşturulan MBD modelinde, intratarsal olarak uygulanan MKH-Eks'lerin oküler yüzey parametreleri üzerindeki terapötik etkileri; telenjiektazi, TBUT, ST ve boyanma skoru üzerinden değerlendirilmiş ve hastalık patofizyolojisini modüle ederek iyileşme sürecine katkı sağlayabileceği hipotezi öne sürülmüştür.

Schirmer testi bulguları değerlendirildiğinde, sağ ve sol göz karşılaştırmalarında tüm zaman noktalarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olmakla birlikte, sağ gözde medyan değerlerin genel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür.

Zaman içi analizler incelendiğinde ise sağ gözde Schirmer değerlerinde anlamlı artış saptanmış (χ^2=35,19; p<0,01) ve özellikle 4. hafta ölçümlerinin bazal, 1. ve 3. haftaya göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, yalnızca SF uygulanan sol gözde zaman içinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (χ^2=4,05; p>0,05). Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, eksozom tedavisinin gözyaşı sekresyonunu artırıcı etkisinin zamanla ortaya çıktığı ve özellikle ilerleyen haftalarda daha belirgin hale geldiği söylenebilir. Wang ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen BAK ile indüklenmiş kuru göz modelinde, MKH-Eks uygulamasının gözyaşı sekresyonunu anlamlı şekilde artırdığı gösterilmiştir(25). Zhou ve ark. (2022) GVHD ile ilişkili KG hastalarında yaptığı prospektif klinik çalışmada MKH-eks göz damlası tedavisi sonrasında ST ile ölçülen gözyaşı miktarında anlamlı artış saptamıştır(33). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde yalnızca eksozom uygulanan gözde ST değerlerinin zamanla arttığı gözlenmiştir. Her ne kadar gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olsa da, zaman içerisindeki artış eğilimi daha geniş örneklemli çalışmalarda anlamlı sonuçlar elde edilebileceğini düşündürmektedir. Bu konuda ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Meibomian bez disfonksiyonu modelinde telenjiektazi bulguları daha önce çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiş olsa da, MKH-Eks tedavisinin telenjiektazi üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma literatürde yer almamaktadır. Chan ve ark.(2025) tarafından yapılan lakrimal bez eksizyonu ile oluşturulan KG modelinde

korneal neovaskülarizasyonun değerlendirildiği bir çalışmada, topikal eksozom uygulamasının vasküler proliferasyonu anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, kontrol grubunda damar oluşumunun zamanla artış gösterdiği, eksozom uygulanan grupta ise takip süresince kademeli olarak azaldığı bildirilmiştir(38). Bu bulgular, eksozomların anti-inflamatuar ve anti-anjiyojenik etkileri ile oküler yüzeydeki vasküler yanıtı düzenlediğini göstermektedir. Veriler çalışmamızı desteklemektedir. Sağ ve sol göz karşılaştırmalarında, özellikle 1., 2. ve 4. haftalarda sol gözde telenjiektazi skorlarının anlamlı derecede daha yüksek bulunması, tedavi uygulanmayan gözde vasküler dilatasyon ve inflamatuvar yanıtın daha belirgin olduğunu düşündürmektedir. Zaman içi analizler de bu durumu destekler niteliktedir. Sağ gözde telenjiektazi skorlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmış olmakla birlikte etki büyüklüğünün sınırlı olması (W=0,25), bu gözde vasküler dilatasyonun daha kontrollü seyrettiğini düşündürmektedir. Buna karşılık sol gözde zaman içinde belirgin artış ve yüksek etki büyüklüğü (W=0,66) saptanması, hastalık progresyonunun bu gözde daha belirgin olduğunu ortaya koymaktadır. Kontrol gözde telenjiektazi skorlarının zamanla artış göstermesi, hastalık progresyonunun devam ettiğini ortaya koymaktadır. Kontrol grubunda zaman içerisinde gözlenen bu progresyonun tedavi grubunda izlenmemesi, eksozom tedavisinin vasküler yapılarda stabilizasyon sağlayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, eksozom uygulanan gözde bazal değerlere göre anlamlı bir azalma saptanmamış olması örneklem sayısının yetersizliği ile ilişkili olabilir. Bu nedenle, daha geniş örneklemli çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, eksozom tedavisinin telenjiektazi üzerinde belirgin bir gerileme sağlamaktan ziyade, vasküler değişimlerin progresyonunu sınırlayıcı ve stabilize edici etkiler gösterebileceği düşünülmektedir. Literatürde MBD modelinde telenjiektazi üzerine eksozom tedavisinin etkisini doğrudan inceleyen bir çalışma bulunmamakla birlikte, elde edilen bulgular eksozomların oküler yüzeyde inflamasyonu ve vasküler yanıtı modüle ederek telenjiektazi üzerinde düzenleyici etkiler oluşturabileceğini düşündürmektedir. Bu yönüyle çalışma, literatürdeki önemli bir boşluğu doldurmakta olup, ileri deneysel ve klinik çalışmalar için öncül veri niteliği taşımaktadır.

TBUT sağ ve sol göz karşılaştırmaları incelendiğinde, bazal ve 1. hafta ölçümlerinde iki göz arasında anlamlı fark bulunmaması, başlangıçta modelin bilateral

olarak benzer düzeyde etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Ancak 2. ve 4. haftalarda sağ gözde TBUT değerlerinin sol göze göre anlamlı derecede yüksek bulunması, tedaviye verilen yanıtı göstermektedir (p:0,001 ve p:0,01).

Zaman içi analizler daha dikkat çekici sonuçlar ortaya koymuştur. Sağ gözde TBUT değerlerinde anlamlı değişim saptanmış ve özellikle 2. hafta ölçümlerinin bazal, 1. ve 3. haftaya göre; 4. hafta ölçümlerinin ise 1. ve 3. haftaya göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, eksozom tedavisinin etkisinin yaklaşık 2.haftada başladığını ve zamanla artan bir terapötik etki gösterdiğini düşündürmektedir. Buna karşın, yalnızca SF uygulanan sol gözde sonraki haftalarda TBUT değerlerinin bazal değerlere kıyasla düşük bulunması, hastalık progresyonunun sürdüğünü ve gözyaşı filmi stabilitesinin zamanla bozulduğunu göstermektedir.

Literatürde, MKH-Eks tedavisinin oküler yüzey homeostazını iyileştirdiği, inflamasyonu baskıladığı ve gözyaşı filmi stabilitesini artırdığı gösterilmiştir. Nitekim Wang ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, topikal olarak MKH-Eks tedavisinin KG modelinde TBUT değerlerini anlamlı şekilde artırdığı ve oküler yüzey hasarını azalttığı bildirilmiştir(25). Habibi ve ark. (2025) tarafından yürütülen Sjögren hastalarında MKH-Eks damla formunun kullanıldığı çalışmada, TBUT değerlerinin özellikle erken dönemde (ilk iki hafta içerisinde) anlamlı şekilde arttığı ve bu artışın kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir(39). Zhou ve ark. (2022) GVHD ile ilişkili kuru göz hastalarında yürüttüğü bir çalışmada, MSC-Eks göz damlası uygulamasının ardından korneal epitel hasarında belirgin azalma, gözyaşı sekresyonunda artış ve gözyaşı filmi stabilitesinde anlamlı iyileşme sağlandığı gösterilmiştir. Bu çalışmada TBUT değerlerinin 14 gün sonunda anlamlı şekilde arttığı ve buna eşlik eden semptomatik iyileşme ile yaşam kalitesinde belirgin artış olduğu bildirilmiştir(33). Bizim çalışmamızda elde edilen TBUT bulguları, söz konusu literatür verileri ile büyük ölçüde uyumlu olup, eksozom tedavisinin özellikle erken dönemde gözyaşı filmi stabilitesini artırmada etkili olduğunu desteklemektedir.

Fluorescein boyanma skorlarında bazal ölçümlerde sağ ve sol göz arasında anlamlı fark bulunmaması, çalışma başlangıcında oküler yüzey hasarının her iki gözde benzer düzeyde olduğunu göstermektedir. Üçüncü ve dördüncü haftalarda sol göz boyanma skorlarının sağ göze göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulunması, yalnızca

SF uygulanan kontrol gözünde epitel hasarının ilerlediğini, eksozom uygulanan sağ gözde korneal yüzey bütünlüğünün daha iyi korunduğunu düşündürmektedir ($p<0,001$). Bu durum, eksozom tedavisinin oküler yüzey inflamasyonunu azaltarak epitel iyileşmesini desteklediğini düşündürmektedir. Elde edilen bulgular literatürde bildirilen çalışmalarla büyük ölçüde uyumludur. Wang ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, topikal MKH-Eks tedavisinin KG modelinde fluorescein boyanma skorlarını anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir(25). Zhou ve ark. (2022) tarafından GVHD ile ilişkili KG hastalarında yaptığı prospektif klinik çalışmada MKH-Eks göz damlası uygulaması sonrasında fluorescein boyanma skorlarında belirgin düşüş, korneal epitel iyileşmesinde artış ve oküler yüzey inflamasyonunda gerileme olduğu bildirilmiştir(33). Habibi ve ark. (2025) tarafından yürütülen Sjögren hastalarında MKH-Eks damla tedavisinin kullanıldığı çalışmada, tedavinin fluorescein boyanma skorlarını azalttığı ve inflamatuvar sitokin düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir.

Fluorescein boyanma skorları oküler yüzey epitel hasarının önemli göstergelerinden biridir. Eksozom uygulanan gözde boyanma skorlarının azalması; inflamasyonun baskılanması, epitel hücre apoptozunun azaltılması ve kornea epitel rejenerasyonunun desteklenmesi ile ilişkili olabilir. Kontrol gözünde ise ilerleyen haftalarda boyanma skorlarının artması, tedavi uygulanmayan gözde oküler yüzey hasarının progresif şekilde devam ettiğini göstermektedir.

Çalışmamızda SF uygulanan göz kapağı doku örneklerinde belirgin nötrofil infiltrasyonu, glandüler yapı hasarı, epitel kalınlaşması ve yer yer hemorajik alanlar gözlenirken; eksozom uygulanan grupta glandüler yapıların büyük ölçüde korunduğu görülmüştür. Literatürde, MBD ve blefarit olgularında nötrofil ekstraselüler tuzaklarının MB kanallarında birikerek obstrüksiyona, asiner atrofiye ve glandüler hasara neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca gözyaşında artmış IL-6, IL-8 ve IL-18 düzeylerinin nötrofil aktivasyonu ile ilişkili olduğu ve oküler yüzey inflamasyonunu şiddetlendirdiği gösterilmiştir(40). Bu veriler, kontrol grubumuzda gözlenen nötrofil infiltrasyonu ve glandüler hasar bulgularıyla uyumludur. Eksozom uygulanan grupta glandüler yapıların korunmuş olması, eksozomların antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkileri ile açıklanabilir. Bu doğrultuda, çalışmamızdan elde edilen histolojik bulgular eksozom uygulamasının inflamasyonu baskılayarak MB yapısının

korunmasına katkı sağladığını düşündürmektedir. Bununla birlikte, MBD'de eksozom tedavisinin histopatolojik etkilerini doğrudan değerlendiren bir çalışmanın bulunmaması, elde edilen bulguların literatüre katkı sağlayabilecek nitelikte olduğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Bu deneysel çalışmada, CFA ile oluşturulan MBD modelinde intratarsal bölgeye uygulanan MKH-Eks'lerin oküler yüzey ve kapak dokusu üzerindeki etkileri kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, eksozom uygulanan gözlerde gözyaşı filmi stabilitesinin arttığını, korneal yüzey hasarının azaldığını ve MB morfolojisinin daha iyi korunduğunu göstermektedir. Özellikle TBUT değerlerindeki anlamlı artış ve fluorescein boyanma skorlarındaki azalma, MKH-Eks uygulamasının oküler yüzey bütünlüğünü destekleyici etkisini ortaya koymaktadır.

Schirmer testi açısından gruplar arası anlamlı fark saptanmamakla birlikte, tedavi grubunda zamanla gözlenen artış, eksozomların gözyaşı sekresyonu üzerinde olumlu bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir. Telenjiektazi skorları ise eksozom tedavisinin inflamatuvar sürecin progresyonunu sınırlayıcı bir etki gösterebileceğine işaret etmektedir.

Histopatolojik incelemelerde, eksozom uygulanan dokularda daha fazla sayıda normal morfolojide MB yapısının bulunması, bu tedavi yaklaşımının yalnızca fonksiyonel değil, aynı zamanda morfolojik düzeyde de koruyucu etkiler sağladığını desteklemektedir. MKH-eks terapötik etkilerinin, içerdiği immünmodülatör proteinler ve mikroRNA'lar aracılığıyla inflamatuvar hücrelerin fonksiyonlarını düzenlemesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu veziküller, makrofajlar, dendritik hücreler ve T lenfositler üzerinde anti-inflamatuvar ve immünsupresif etki oluşturarak inflamasyonu baskılayabilir ve antiapoptotik moleküller aracılığıyla bez hücrelerinin fonksiyonunu koruyarak gözyaşı filmi stabilitesine katkı sağlayabilir. Bu yönüyle elde edilen bulgular, eksozomların MBD patofizyolojisini hedefleyen mekanizma temelli bir tedavi yaklaşımı olabileceğini desteklemektedir.

Bu çalışmada intratarsal uygulama yolunun tercih edilmesi, tedavi ajanının doğrudan hedef dokuya ulaştırılmasını sağlayarak önemli bir avantaj sunmaktadır. Ayrıca eksozomların hücresel dönüşüm riski taşımaması, immünojenitelerinin düşük olması ve standardize edilebilir biyolojik ürünler olmaları, translasyonel açıdan güvenli ve uygulanabilir bir tedavi seçeneği olarak öne çıkmalarını sağlamaktadır.

Bu çalışma, MKH-Eks kullanımının yalnızca semptomatik iyileşme sağlamadığını, aynı zamanda doku iyileşmesini destekleyerek oküler yüzey hasarını azaltabileceğini gösteren preklinik düzeyde bilimsel bir temel sunmaktadır.

Bununla birlikte çalışmanın sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle elde edilen veriler yalnızca CFA oluşturulan MBD modeline dayanmaktadır; oysa blefaritin tüm etiyolojik nedenleri bu modelde temsil edilmemektedir. Her ne kadar bu çalışmada tek doz eksozom uygulaması tercih edilmiş olsa da, farklı doz rejimlerinin ve uzun dönem etkilerin değerlendirilmesi gelecekteki çalışmalar açısından önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, intratarsal uygulanan MKH-Eks tedavisinin deneysel MBD modelinde inflamasyonu baskılayan, oküler yüzey stabilitesini artıran ve bez yapısını koruyan etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular, MKH-Eks'ın MBD ve ilişkili evaporatif KG hastalığında yenilikçi, hedefe yönelik ve potansiyel olarak güvenli bir tedavi yaklaşımı olabileceğini düşündürmektedir. Ancak klinik uygulamaya geçiş öncesinde daha geniş kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalarla etkinlik ve güvenliliğinin doğrulanması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Chhadva P, Goldhardt R, Galor A. Meibomian Gland Disease: The Role of Gland Dysfunction in Dry Eye Disease. Ophthalmology. 2017 Nov 1;124(11):S20–6. doi:10.1016/j.ophtha.2017.05.031 PubMed PMID: 29055358.

2. Soleimani M, Masoumi A, Momenaei B, Cheraqpour K, Koganti R, Chang AY, et al. Applications of mesenchymal stem cells in ocular surface diseases: sources and routes of delivery. Expert Opinion on Biological Therapy. Taylor and Francis Ltd.; 2023. p. 509–25. doi:10.1080/14712598.2023.2175605 PubMed PMID: 36719365.

3. Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Mar;52(4):1938–78. doi:10.1167/iovs.10-6997c PubMed PMID: 21450915.

4. Sun M, Moreno IY, Dang M, Coulson-Thomas VJ. Meibomian Gland Dysfunction: What Have Animal Models Taught Us? International journal of molecular sciences. NLM (Medline); 2020. doi:10.3390/ijms21228822 PubMed PMID: 33233466.

5. Daniel Nelson J, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, Craig J, McCulley JP, Den S, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the definition and classification subcommittee. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Mar;52(4):1930–7. doi:10.1167/iovs.10-6997b PubMed PMID: 21450914.

6. Hassanzadeh S, Varmaghani M, Zarei-Ghanavati S, Heravian Shandiz J, Azimi Khorasani A. Global Prevalence of Meibomian Gland Dysfunction: A Systematic Review and Meta-Analysis. Ocular Immunology and Inflammation. Taylor and Francis Ltd.; 2021. p. 66–75. doi:10.1080/09273948.2020.1755441 PubMed PMID: 32589483.

7. Wolffsohn JS, Benítez-Del-Castillo JM, Loya-Garcia D, Inomata T, Iyer G, Liang L, et al. TFOS DEWS III: Diagnostic Methodology. American Journal of Ophthalmology. Elsevier Inc.; 2025. p. 387–450. doi:10.1016/j.ajo.2025.05.033 PubMed PMID: 40451408.

8. Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Ian Pearce E, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the diagnosis subcommittee. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Mar;52(4):2006–49. doi:10.1167/iovs.10-6997f PubMed PMID: 21450918.

9. Geerling G, Tauber J, Baudouin C, Goto E, Matsumoto Y, O'Brien T, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Mar;52(4):2050–64. doi:10.1167/iovs.10-6997g PubMed PMID: 21450919.

10. Foulks GN, Borchman D, Yappert M, Kim SH, McKay JW. Topical azithromycin therapy for meibomian gland dysfunction: Clinical response and lipid alterations. Cornea. 2010 Jul;29(7):781–8. doi:10.1097/ICO.0b013e3181cda38f PubMed PMID: 20489573.

11. Rubin M, Rao SN. Efficacy of Topical Cyclosporin 0.05% in the Treatment of Posterior Blepharitis. JOURNAL OF OCULAR PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS. 2006.

12. Tauber J, Wirta DL, Sall K, Majmudar PA, Willen D, Krösser S. A Randomized Clinical Study (SEECASE) to Assess Efficacy, Safety, and Tolerability of NOV03 for Treatment of Dry Eye Disease. Cornea [Internet]. 2021. Available from: www.corneajrnl.com

13. Tauber J, Berdy GJ, Wirta DL, Krösser S, Vittitow JL, Alpern LM, et al. NOV03 for Dry Eye Disease Associated with Meibomian Gland Dysfunction: Results of the Randomized Phase 3 GOBI Study. Ophthalmology. 2023 May 1;130(5):516–24. doi:10.1016/j.ophtha.2022.12.021 PubMed PMID: 36574848.

14. Sheppard JD, Kurata F, Epitropoulos AT, Krösser S, Vittitow JL. NOV03 for Signs and Symptoms of Dry Eye Disease Associated With Meibomian Gland Dysfunction: The Randomized Phase 3 MOJAVE Study. Am J Ophthalmol. 2023 Aug 1;252:265–74. doi:10.1016/j.ajo.2023.03.008 PubMed PMID: 36948372.

15. Sheppard JD, Nichols KK. Dry Eye Disease Associated with Meibomian Gland Dysfunction: Focus on Tear Film Characteristics and the Therapeutic Landscape. Ophthalmology and Therapy. Adis; 2023. p. 1397–418. doi:10.1007/s40123-023-00669-1

16. Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: Implications in transplantation. Transplantation. 2003 Feb 15;75(3):389–97. doi:10.1097/01.TP.0000045055.63901.A9 PubMed PMID: 12589164.

17. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. Blood. American Society of Hematology; 2007. p. 3499–506. doi:10.1182/blood-2007-02-069716 PubMed PMID: 17664353.

18. Jiang XX, Zhang Y, Liu B, Zhang SX, Wu Y, Yu XD, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. Blood. 2005 May 15;105(10):4120–6. doi:10.1182/blood-2004-02-0586 PubMed PMID: 15692068.

19. Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, Baxevanis CN, Papamichail M. Interactions Between Human Mesenchymal Stem Cells and Natural Killer Cells. Stem Cells. 2006 Jan 1;24(1):74–85. doi:10.1634/stemcells.2004-0359 PubMed PMID: 16099998.

20. Musiał-Wysocka A, Kot M, Majka M. The Pros and Cons of Mesenchymal Stem Cell-Based Therapies. Cell Transplantation. SAGE Publications Ltd; 2019. p. 801–12. doi:10.1177/0963689719837897 PubMed PMID: 31018669.

21. Skotland T, Sagini K, Sandvig K, Llorente A. An emerging focus on lipids in extracellular vesicles. Advanced Drug Delivery Reviews. Elsevier B.V.; 2020. p. 308–21. doi:10.1016/j.addr.2020.03.002 PubMed PMID: 32151658.

22. Escudier B, Dorval T, Chaput N, André F, Caby MP, Novault S, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: Results of the first phase 1 clinical trial. J Transl Med. 2005 Mar 2;3. doi:10.1186/1479-5876-3-10 PubMed PMID: 15740633.

23. Hardy KM, Hoffman EA, Gonzalez P, McKay BS, Stamer WD. Extracellular trafficking of myocilin in human trabecular meshwork cells. Journal of Biological Chemistry. 2005 Aug 12;280(32):28917–26. doi:10.1074/jbc.M504803200 PubMed PMID: 15944158.

24. Hajrasouliha AR, Jiang G, Lu Q, Lu H, Kaplan HJ, Zhang HG, et al. Exosomes from retinal astrocytes contain antiangiogenic components that inhibit laser-induced choroidal neovascularization. Journal of Biological Chemistry. 2013 Sep 27;288(39):28058–67. doi:10.1074/jbc.M113.470765 PubMed PMID: 23926109.

25. Wang G, Li H, Long H, Gong X, Hu S, Gong C. Exosomes Derived from Mouse Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Alleviate Benzalkonium Chloride-Induced Mouse Dry Eye Model via Inhibiting NLRP3 Inflammasome. Ophthalmic Res. 2022 Feb 16;65(1):40–51. doi:10.1159/000519458 PubMed PMID: 34530425.

26. Ma F, Feng J, Liu X, Tian Y, Wang WJ, Luan FX, et al. A synergistic therapeutic nano-eyedrop for dry eye disease based on ascorbic acid-coupled exosomes. Nanoscale. 2022 Dec 16;15(4):1890–9. doi:10.1039/d2nr05178h PubMed PMID: 36606731.

27. Chien KJ, Horng CT, Huang YS, Hsieh YH, Wang CJ, Yang JS, et al. Effects of Lycium barbarum (goji berry) on dry eye disease in rats. Mol Med Rep. 2018 Jan 1;17(1):809–18. doi:10.3892/mmr.2017.7947 PubMed PMID: 29115477.

28. Peng QH, Yao XL, Wu QL, Tan HY, Zhang JR. Effects of extract of Buddleja officinalis eye drops on androgen receptors of lacrimal gland cells of castrated rats with dry eye. Int J Ophthalmol. 2010;3(1):43–8. doi:10.3980/j.issn.2222-3959.2010.01.10

29. Miyake H, Oda T, Katsuta O, Seno M, Nakamura M. A novel model of meibomian gland dysfunction induced with complete freund's adjuvant in rabbits. Vision (Switzerland). 2017 Mar 1;1(1). doi:10.3390/vision1010010

30. Kim H, Kim HB, Seo JH, Kim H, Jin Cho K. Effect of 808-nm Laser Photobiomodulation Treatment in Blepharitis Rat Model [Internet]. 2020. Available from: www.corneajrnl.com.

31. Lu Y, Yin Y, Gong L. Meibomian gland dysfunction model induced with complete Freund's adjuvant in C57BL/6 mice. Int J Ophthalmol. 2020 Nov 18;13(11):1705–12. doi:10.18240/ijo.2020.11.04

32. Verma N, Arora S. Navigating the Global Regulatory Landscape for Exosome-Based Therapeutics: Challenges, Strategies, and Future Directions. Pharmaceutics. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025. doi:10.3390/pharmaceutics17080990

33. Zhou T, He C, Lai P, Yang Z, Liu Y, Xu H, et al. miR-204-containing exosomes ameliorate GVHD-associated dry eye disease. Sci. Adv [Internet]. 2022. Available from: https://clinicaltrials.gov/,

34. Ryu Y, Hwang JS, Noh KB, Park SH, Seo JH, Shin YJ. Adipose Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Promote the Regeneration of Corneal Endothelium Through Ameliorating Senescence. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2023 Oct 1;64(13). doi:10.1167/iovs.64.13.29 PubMed PMID: 37850944.

35. Seong HR, Noh CH, Park S, Cho S, Hong SJ, Lee AY, et al. Intraocular Pressure-Lowering and Retina-Protective Effects of Exosome-Rich Conditioned Media from Human Amniotic Membrane Stem Cells in a Rat Model of Glaucoma. Int J Mol Sci. 2023 May 1;24(9). doi:10.3390/ijms24098073 PubMed PMID: 37175778.

36. Arita R, Minoura I, Morishige N, Shirakawa R, Fukuoka S, Asai K, et al. Development of Definitive and Reliable Grading Scales for Meibomian Gland Dysfunction. Am J Ophthalmol. 2016 Sep 1;169:125–37. doi:10.1016/j.ajo.2016.06.025 PubMed PMID: 27345733.

37. Xia HQ, Jiang XD, Song YF, Li XM, Tian YJ. Hydrogel dressings on neurotrophic keratitis in an experimental animal model. Int J Ophthalmol. 2024 Aug 18;17(8):1396–402. doi:10.18240/ijo.2024.08.02

38. Chan SM, Tsai C, Lee TP, Huang ZR, Huang WH, Lin CT. Therapeutic Potential of Umbilical Cord MSC-Derived Exosomes in a Severe Dry Eye Rat Model: Enhancing Corneal Protection and Modulating Inflammation. Biomedicines. 2025 May 1;13(5). doi:10.3390/biomedicines13051174

39. Habibi A, Khosravi A, Soleimani M, Nejabat M, Dara M, Azarpira N. Efficacy of topical mesenchymal stem cell exosome in Sjögren's syndrome-related dry eye: a randomized clinical trial. BMC Ophthalmol. 2025 Dec 1;25(1). doi:10.1186/s12886-025-04078-9 PubMed PMID: 40394561.

40. Mahajan A, Hasíková L, Hampel U, Grüneboom A, Shan X, Herrmann I, et al. Aggregated neutrophil extracellular traps occlude Meibomian glands during ocular surface inflammation. Ocular Surface. 2021 Apr 1;20:1–12. doi:10.1016/j.jtos.2020.12.005 PubMed PMID: 33401018.