



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ERKEN EVRE DİYABETES MELLİTUS HASTALARI VE SAĞLIKLI
BİREYLERDE GÖZYAŞI MEDİYATÖRLERİ, GÖZYAŞI FONKSİYONLARI VE
KORNEANIN YAPISAL PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Hilal TOPRAK TELLİOĞLU

UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2023



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ERKEN EVRE DİYABETES MELLİTUS HASTALARI VE SAĞLIKLI
BİREYLERDE GÖZYAŞI MEDİYATÖRLERİ, GÖZYAŞI FONKSİYONLARI VE
KORNEANIN YAPISAL PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Hilal TOPRAK TELLİOĞLU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI:

Prof. Dr. Sibel KOCABEYOĞLU

Doç. Dr. Özlem DİKMETAŞ

ANKARA

2023

TEŐEKKÖR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesindeki çaba ve emeklerinden ötürü; engin bilgi ve tecrübeleriyle desteklerini esirgemeyen tez danıőman hocalarım Sayın Prof. Dr. Murat İRKEÇ'e, Sayın Prof. Dr. Sibel KOCABEYOĞLU'na ve Sayın Doç. Dr. Özlem DİKMETAŞ'a, laboratuvar aőamasındaki yardımları için Sayın Dr. İsmail YAZ ve Dr. Begüm ÖZBEK'e, çalışmanın istatistiksel analizi aőamasında sabırla alıőan Sayın Doç. Dr. Jale KARAKAYA'ya, bu tez çalıőması ile noktaladığım uzmanlık eğitimimde bana emeği geçen tüm Hacettepe Göz ailesine ve baőtta eőim Buray TELLİOĞLU olmak üzere her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

ÖZET

TELLİOĞLU TOPRAK H. Erken Evre Diyabetes Mellitus Hastaları ile Sağlıklı Bireylerde Gözyaşı Mediyatörlerinin, Gözyaşı Fonksiyonlarının ve Korneanın Yapısal Parametrelerinin Karşılaştırılması, Ankara 2023. Bu çalışmanın amacı; Sistemik komplikasyon gelişmemiş erken evre tip 2 diyabetes mellitus (DM) hastalarının oküler yüzey parametreleri, gözyaşı mediyatörleri ve korneanın yapısal parametrelerinin değerlendirilmesi, ve sonuçların sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasıdır. Bu amaçla kliniğimize başvurmuş, son 5 yıl içinde tip 2 DM tanısı almış, herhangi bir sistemik komplikasyon geliştirmemiş, oküler yüzey şikayeti olmayan 23 hasta ile sağlıklı 22 kişi kontrol grubu olarak değerlendirildi. Oküler yüzey ve gözyaşı fonksiyonları; OSDI (Oküler yüzey hastalık indeksi) anketi, flöresein ile oküler yüzey boyanması, Schirmer testi, in vivo konfokal mikroskopisi (İVKM) ölçümleri ve Cochet-Bonnet ile kornea hassasiyet ölçümleri ile değerlendirildi. Hastaların gözyaşlarında IL-1 β , IL-10, IL-13, IL-6, IL-12, IL-15, IL-17A, IL-5, IFN- α , IFN- γ , IL-1RA, TNF- α , IL-2, IL-2R, IL-7, IL-8, RANTES, Eotaksin, IP-10, MIP-1 α , MCP-1, MIG düzeyleri Luminex ile, gözyaşlarında Substans P (SP) düzeyi ise ELISA ile çalışıldı. Yaş ve cinsiyet açısından hasta grubu ile kontrol grubu benzerdi. Flöresein ile korneal boyanma, OSDI anket skoru ve schirmer testi açısından iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı. İVKM ölçümlerinde sinir tortuozitesi DM grubunda anlamlı olarak artmış bulundu ($p=0,015$). Korneal hassasiyet ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi. Gözyaşı SP düzeyi DM grubunda anlamlı olarak düşük saptandı ($p=0,05$). Gözyaşında, IL-6 ve IL-8 düzeyi hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,01$). Gözyaşı SP düzeyi ile İVKM ölçümlerinden uzun sinir lifi ($p=0,00$) ve total sinir lifi ($p=0,00$) arasında güçlü pozitif korelasyon görüldü. Sonuç olarak, DM hastalığının kornea sinir lifi yoğunluğu, gözyaşı SP ve gözyaşı inflamatuvar sitokin düzeyi üzerine etkisi olduğu görülmüştür. DM hastalığına ait en yaygın sistemik mikrovasküler komplikasyonlardan olan periferik nöropatinin henüz gelişmemiş olduğu hastalarda dahi kornea sinirlerinin etkilendiği ve gözyaşı SP düzeyinin azaldığı görüldü. Ayrıca hastalar asemptomatik olsa bile oküler yüzeylerinde inflamasyon saptandı.

Anahtar kelimeler: Tip 2 diyabetes mellitus, periferik nöropati, in vivo konfokal mikroskopisi, sitokin, substans p, oküler yüzey

ABSTRACT

TELLİOĞLU TOPRAK H. Comparison of Tear Mediators, Tear Functions and Structural Parameters of the Cornea in Early Stage Diabetes Mellitus Patients and Normal Individual, Ankara 2023. The aim of this study is to evaluate the ocular surface parameters, the levels of tear inflammatory mediators and corneal structural parameters of early stage type 2 diabetes mellitus (DM) patients without any systemic complications, and to compare of these results with healthy control subjects. 23 patients with type 2 DM who diagnosed in the last 5 years and had no history of any systemic complications, 22 patients who had no history of any ocular disease except refractive errors were enrolled in this study. Ocular surface and tear functions were evaluated with; OSDI (Ocular surface disease index) questionnaire, Fluorescein staining of the ocular surface, Schirmer test, in vivo confocal microscopic (IVCM) parameters and corneal sensitivity measurements using Cochet-Bonnet. IL-1 β , IL-10, IL-13, IL-6, IL-12, IL-15, IL-17A, IL- 5, IFN- α , IFN- γ , IL-1RA, TNF- α , IL-2, IL-2R, IL-7, IL-8, RANTES, Eotaksin, IP-10, MIP-1 α , MCP-1, MIG levels in tears were examined with Luminex and SP levels in tears were measured with ELISA. Groups were similar in terms of age and gender. The difference of fluorescein staining, Schirmer test and OSDI score were not significant between groups. Nerve tortuosity was found to be significantly increased in DM group compared to healthy subjects. Corneal sensitivity measurements were not significantly different between two groups. In DM group, tear SP levels was lower than control group ($p=0,05$). In DM group, tear IL-6 and IL-8 levels were higher than control group (respectively $p=0,002$ and $p=0,01$). There was a strong positive correlation between tear SP level and long nerve fiber ($p=0,00$), also between tear SP level and total nerve fiber ($p=0,00$). In conclusion; DM effects corneal nerve fiber density, tear SP levels and tear inflammatory cytokines. Corneal nerves were found to be effected and tear SP levels were decreased even in patients in whom without peripheral neuropathy, which is the most common systemic microvascular complications of DM. In addition, even if the patients were asymptomatic, inflammation was present on the ocular surface.

Key words: Type 2 diabetes mellitus, peripheral neuropathy, in vivo confocal microscopy, cytokine, substance p , ocular surface

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER	viii
TABLolar	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Prekorneal Gözyaşı Filmi	3
2.1.1. Lipid Tabaka	4
2.1.2. Muko-Aköz Tabaka	4
2.2. Gözyaşı Üretimi	5
2.3. Kornea Ve Subbazal Sinir Pleksusu	5
2.4. Substans P	7
2.5. Oküler Yüzey Muayene Yöntemleri	8
2.5.1. Korneal Boyanma	8
2.5.2. Schirmer Testi	9
2.5.3. Cochet Bonnet Esteziometresi	9
2.5.4. İn Vivo Konfokal Mikroskop (İVKM)	10
2.6. Diyabetes Mellitus	10
2.7. Diyabetes Mellitus ve Göz	11
2.8. Diyabetes Mellitus ve Oküler Yüzey	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇLAR	37
7. KAYNAKLAR	38

SİMGELER VE KISALTMALAR

DM	: Diyabetes mellitus
OSDI	: Ocular Surface Disease Index
İVKM	: İn vivo konfokal mikroskopi
SP	: Substans P
MBD	: Meibomian bez disfonksiyonu
TGF- β	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta
CNTF	: Siliyer nörotrofik faktör
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
AGE	: Advanced glycation end product (ileri glikasyon son ürünleri)
NGF	: Sinir büyüme faktörü
NT	: Nörotrofin

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Sağlıklı gözyaşı film tabakası	4
2.2. Kornea tabakaları	6
2.3. Kornea sinir pleksusu	7
3.1. OSDI Anketi	17
3.2. Oxford skalasına göre oküler yüzey boyanması	19
3.3. Confoscan 4.0 (Nidek, Vigonza, İtalya)	21
3.4. Luminex cihazı	23
4.1. A) Tip 2 DM grubuna ait en genç hastanın konfokal korneal sinir kesiti B) Sağlıklı gruba ait en genç hastanın konfokal sinir kesiti.	27

TABLULAR

Tablo	Sayfa
4.1. Grupların yaş ortalaması karşılaştırılması	25
4.2. Grupların cinsiyet dağılımı	25
4.3. Grupların Schirmer sonuçlarının karşılaştırılması (median, min-max)	26
4.4. Grupların OSDI sonuçlarının karşılaştırılması (median, min-max)	26
4.5. Grupların Floresein ile boyanma evrelerinin karşılaştırılması (median, min-max)	26
4.6. Grupların Cochet-Bonnet esteziometre ölçümlerinin karşılaştırılması (median, min-max)	27
4.7. Grupların bazal epitel hücre ve subbazal sinir pleksusu İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması (median, min-max)	28
4.8. Grupların endotel hücrelerinin İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması (median, min-max)	28
4.9. Grupların gözyaşı Substans P düzeylerinin karşılaştırılması (median, min-max)	29
4.10. Gruplara göre gözyaşı sitokin ve kemokin düzeylerinin (pg/ml) karşılaştırılması (Ort. \pm SS)	30
4.11. Floresein ile boyanma evresi ile OSDI korelasyonu	31
4.12. Floresein ile boyanma evresi ile Schirmer testi korelasyonu	31
4.13. Cochet bonnet esteziometre ile İVKM sinir ölçümlerinin korelasyonu	31
4.14. Gözyaşı Substans P düzeyi ile İVKM sinir ölçümlerinin korelasyonu	31

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM) tüm dünyada hızla artmakta olan kronik multisistemik bir hastalıktır. Kan şekeri kontrol altına alınmadığında birçok mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır [1]. DM'ye bağlı gelişebilecek göz komplikasyonları uygun tarama, takip ve profilaktik ya da terapötik yaklaşımlarla önlenabilmektedir [2].

DM gözün tüm segmentlerini tutabilen bir hastalıktır ancak DM'ye bağlı oküler yüzey bulguları çoğu zaman arka segment bulgularının gerisinde kalmaktadır. Ancak diyabetik hastalarda ciddi oküler yüzey hastalıklarına rastlanmaktadır [3]. DM tanısı almış hastalar sıklıkla yanma, batma, ara ara bulanık görme ve yabancı cisim hissi şikayetleriyle başvururlar. Bu hasta grubunda biyomikroskopik muayenede oküler yüzey doğal görünse bile, korneada biyomekanik değişiklikler ve altta yatan mikroyapısal anormallikler mevcut olabilir [3, 4]. Oluşan bu oküler yüzey hasarında birçok mekanizma yer almaktadır. Lakrimal bezin mikrovasküler hasarına bağlı gözyaşı üretiminde azalma, goblet hücre kaybına bağlı gözyaşı stabilitesinde bozulma, hiperglisemik metabolizmada oluşan birikimlerin bazal membranlara verdiği hasar sonucu oluşan epitelyal fragilite, sinir iskemisine bağlı azalmış sinir yoğunluğu ve artmış inflamasyon DM hastalarındaki oküler yüzey hastalıklarının başlıca mekanizmalarındandır [5, 6].

Korneal sinir pleksusu, sağlıklı epitel yüzeyinin devamlılığında sorumludur. Bu görevi kornea duyarlılığını koruyarak, normal epitel metabolizmasını devam ettirerek ve gerekli nöropeptitler ile büyüme faktörlerini üreterek sağlar [7]. Sinir uçlarından salınan Substans P ve epitel hücrelerinde bulunan Nörokinin-1 reseptörü kornea epitel devamlılığı sürecinde rol oynar. Substans P sağlıklı bir korneal sinir pleksusunun göstergesidir. DM hastalarında ise korneadaki sinir pleksus yoğunluğu ve korneal sensitivite azalır [8]. Epitel rejenerasyonu bozulur, tekrarlayan epitel defektleri, iyileşmeyen korneal ülserler meydana gelir. Ayrıca refleks gözyaşı üretiminin azalması kuru göz semptomlarını açığa çıkarır [9]. Hiperglisemi ile karakterize DM hastalarında artmış oküler yüzey inflamasyonu mevcuttur [3]. Oküler yüzey inflamasyonunun konjonktiva ve kornea epitel hücreleri ile goblet hücrelerine

hasarına bağlı gözyaşı filmi ve oküler yüzey sağlığı bozular. Hastalarda ciddi oküler yüzey problemleri meydana gelir [10, 11]. Yapılan alışmalarda DM hastalarının gözyaşlarında önemli inflamatuvar sitokinlerden IL-1RA, IL-8 ve TNF-alpha artmış olduğu ve oküler yüzey hasarına bu inflamatuvar süreçlerin neden olduğu gösterilmiştir [12, 13].

Çalışmamızda yeni tanı almış, herhangi bir sistemik komplikasyon geliştirmemiş Tip 2 DM hastaları ile sağlıklı bireylerin gözyaşı mediyatörlerinin, gözyaşı fonksiyonlarının ve korneanın yapısal parametrelerinin karşılaştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prekorneal Gözyaşı Filmi

Gözyaşı filmi, bir lipid tabakası ile kaplanmış, lakrimal bez ve aksesuar lakrimal bezler olan Krause ve Wolfring bezleri tarafından üretilen sıvı ve çözünür faktörleri ile goblet hücreleri tarafından salgılanan müsin içeren muko-aköz tabakasından oluşur [14] (**Şekil 2.1**). Gözyaşı filminin su, elektrolit, müsin, bir dizi protein-glikoprotein ve lipid içeren oldukça karmaşık bir yapısı vardır. Gözyaşı filmi yaklaşık 3 ila 10 µL hacimde, 3 µm kalınlığındadır ve 1 ila 2 µL/dk hızında salgılanır. Alt kapak kenarında ölçülen gözyaşı menisküsü ise yaklaşık 0.2-0.4 mm'dir . Gözyaşının oküler yüzeyin lubrikasyonunu sağlamanın yanı sıra içermiş olduğu proteinler, glikoproteinler ve lipidler ile birçok temel görevi vardır [15];

Avasküler korneanın oksijenasyonu

Oküler yüzeyde bulunan devitalize epitel hücrelerinin ve debrisin temizlenmesi

Pürüzsüz bir optik yüzey sağlama

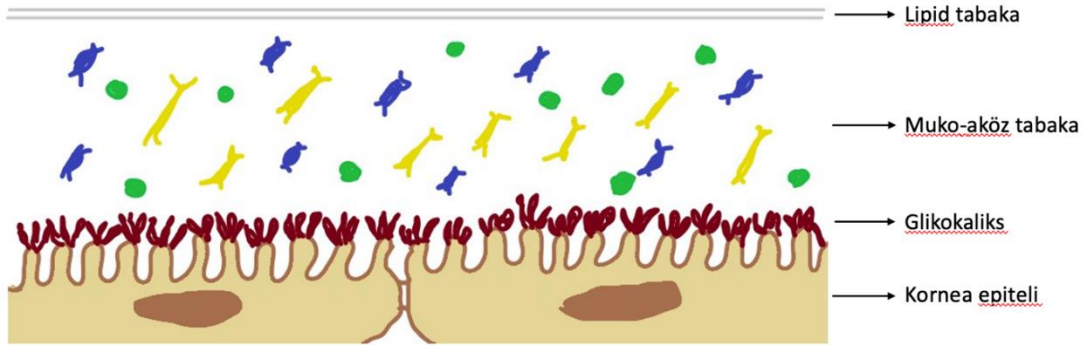
Lakrimal bez tarafından üretilen aköz içeriğindeki lizozim, laktoferrin, IgA ile antimikrobiyel etki

İnflamasyon veya travma sonucu oluşan oksijen radikallerini temizleme

İçerisinde bulunan büyüme faktörleri ile korneal sinirlerin devamlılığını ve epitel rejenerasyonunu sağlama

Yara iyileşmesini tetikleme

Gözyaşı filmindeki yapıların bozukluğu veya fonksiyon kaybı ise artmış evaporasyon, gözyaşı instabilitesi, oküler yüzey inflamasyonu ve bu durumlar sonucunda günlük hayatı etkileyen ciddi komorbiditelere neden olur [14, 15].



Şekil 2.1. Sağlıklı gözyaşı film tabakası

2.1.1. Lipid Tabaka

Gözyaşı filminin en dış tabakası olup çevre ile oküler yüzey arasında bir bariyer görevi görür. Esas olarak tarsta bulunan meibomian bezler tarafından üretilir [16]. Gözyaşı filmi lipid tabakası kornea ile arasında bulunan muko-aköz tabakası ile ara yüz oluşturan ince bir polar lipid tabakasından ve hava arayüzünde daha kalın olan nonpolar lipid tabakasından oluşur [17]. Göz kırma refleksi ile tüm oküler yüzeye yayılır. Sürfaktan etkisiyle yüzey gerilimini azaltır ve gözyaşının evaporasyonunu engeller. Lipid tabaka bozukluğunun en sık nedeni meibomian bez disfonksiyonudur (MBD). MBD sonucunda evaporatif kuru göz oluşur. DM hastalarında kapak kenarında bakteriyel kolonizasyon ile MBD normal popülasyona göre daha sıktır ve evaporatif kuru göz oldukça sık gözlenir.

2.1.2. Muko-Aköz Tabaka

Muko-aköz tabakasında bulunan aköz kısım lakrimal bez ve aksesuar bezler olan Krause ve Wolfring bezleri tarafından salgılanır. Aköz tabaka protein yapıda birçok büyüme faktörü ve nöromedyatör içerir. Bu faktörlerden bazılarının inflamasyonu engellemek, kornea innervasyonunu sağlamak ve bariyer işlevini sürdürmek gibi homeostatik işlevleri mevcutken bir kısmı ise epitel ve stromanın yara iyileşmesinde görev alır [18].

Sekretuar müsinler glikokaliksten lipid tabakasına kadar aköz tabaka içerisinden diffüz bir şekilde yayılmıştır, bu nedenle artık muko-aköz tek bir tabaka

kabul edilmektedir [19]. Oküler yüzeyde prekorneal filmde bulunan müsin tabakası başlıca konjonktival goblet hücreleri ve kısmen lakrimal bezler tarafından salgılanır. Sekretuar müsinin yanı sıra kornea ve konjonktival epitelin apikal zarında transmembran müsin bulunur. Epitel apikal ucunda bulunan bu müsinler gözyaşı filminin en iç kısmını oluşturur. Transmembran ve sekretuar müsinler oküler yüzeyin lubrikasyonunu sağlamak, gözyaşı filminin stabilitesini ve ozmolaritesini korumada rol oynar [20].

2.2. Gözyaşı Üretimi

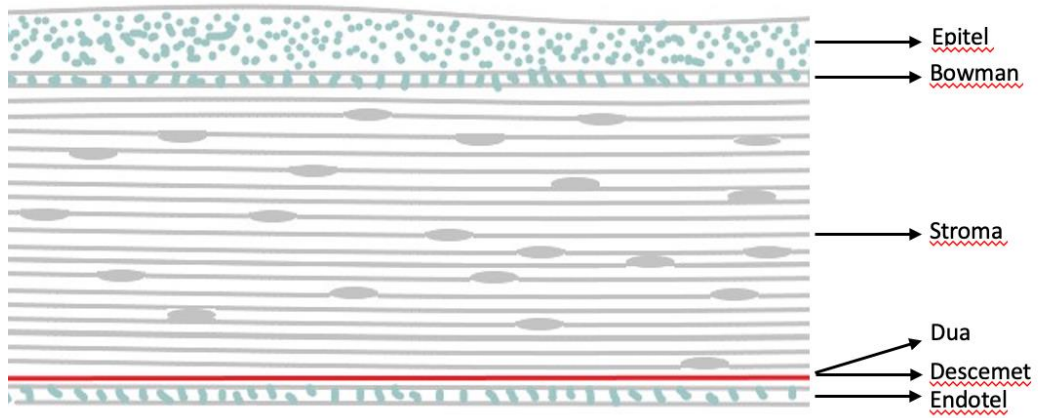
Gözyaşının aköz komponenti lakrimal bezden salgılanır, göz kırpmaya refleksi ile oküler yüzeye dağılır, evaporasyon ile az bir kısmı (yaklaşık %10) kaybedilir, geri kalan kısım nazolakrimal kanal ile drene olur. Lakrimal ve meibomian bezler otonom sistemden innervasyon alır ve goblet hücrelerinin de parasempatik innervasyon yoluyla nörojenik kontrol altında olduğu düşünülmektedir. Bu sinirlerden gelen uyarılar oküler yüzeyin sağlıklı bir şekilde devamlılığını sağlayan gözyaşı salgısının ayarlayan refleksi arkının temelini oluşturur. Gözyaşı değişimi normal koşullar altında 1–3 µl/dakika'dır, ancak iritasyona veya emosyonel uyarılara bağlı olarak büyük ölçüde artabilir [21].

2.3. Kornea Ve Subbazal Sinir Pleksusu

Kornea, gözün refraktif gücünün 2/3'ünü sağlayan ve oküler dokulara karşı ana yapısal bariyer görevi gören saydam, avasküler bir dokudur. Sağlıklı bir erişkinde korneanın yatay çapı 11,5 ila 12,0 mm'dir ve dikey çapından yaklaşık 1,0 mm daha büyüktür. Merkezde yaklaşık 500-520 µ kalınlığındadır [22]. İnsan korneası 6 tabakadan oluşur (**şekil 2.2**): epitel, Bowman, stroma, Descemet ve endoteldir. Kornea epiteli gözyaşı filmi ile etkileşim içinde olan çok katlı keratinize olmayan skuamöz epitel katlarından oluşur. Bazal tabakada bulunan bazal hücreler epitel rejenerasyonundan sorumludur. Kornea epitel hücrelerinin ortalama ömrü 7-10 gündür. Düzenli olarak apoptoza uğrar, deskuamasyon ile dökülür ve bazal hücreler tarafından yeniden üretilen epitel hücreleri yüzeye doğru ilerler. Bu apikal hücrelerde

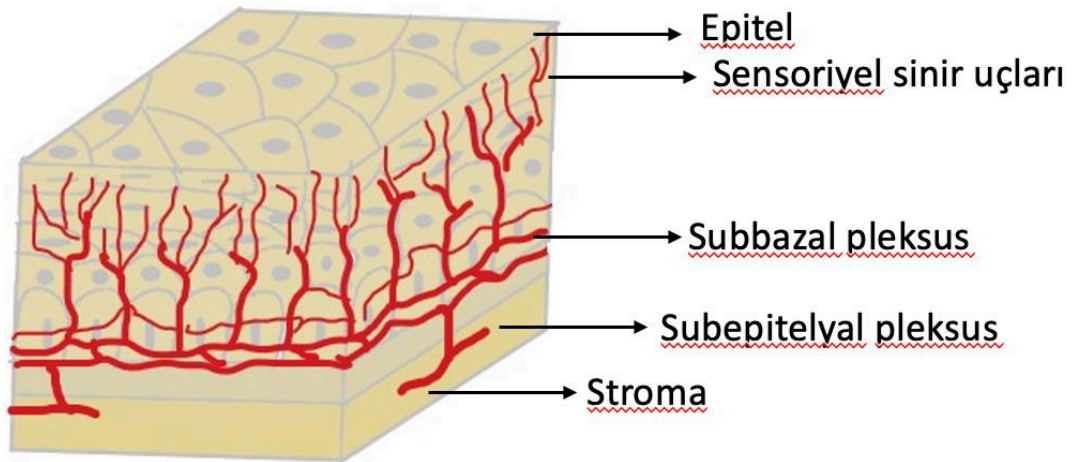
bulunan mikrovilliler msinlerin oluşturduğu glikokaliks tabakası ile etkileşim halindedir. Bu mikrovilliler yüzey genişliğini ve gözyaşı filmi ile olan teması arttırmaları [22, 23]. Kornea epitelinde binlerce sinir ucu bulunur, bu durum korneayı vücuttaki en hassas bölgelerden biri yapar. Bu nedenle travma veya bir inflamasyon sonucu epitel tabaka btnlğu bozulursa ciddi oküler rahatsızlık ortaya çıkar.

Epitel bazal membranı altta aselüler olan ve kollajenden oluşan bowman tabakası ile temas halindedir. Bowman tabakasının altında ise korneanın en kalın tabakası olan stroma yer alır. Stromada keratinositler, ekstraselüler matriksi oluşturan glikozaminoglikanlar ve bolca kollajen bulunur [24]. Stroma ve descemet membran arasında korneanın en ince tabakası olan dua tabakası (pre-descemet posterior stromal layer-15 μ) yer alır [25]. Descemet membranı endotel tarafından yapılıır ve bowman tabakasından farklı olarak travma sonrası rejenere olabilir. Korneanın en iç kısmında ise tek sıralı hegzagonal endotel hücreleri bulunur. Apikal ve bazolateral yüzünde bulunan iyon kanalları ve aktif taşıma pompaları ile korneanın sıvı dengesinden yani transparanlığından sorumludur [24].



Şekil 2.2. Kornea tabakaları

Kornea, vücuttaki en yoğun innervasyona sahip dokulardan biridir (**Şekil 2.3**). Sağlıklı korneal innervasyon, kornea sağlığı ve oküler yüzey homeostazının sürdürülmesi için olmazsa olmazdır. Kornea sensöriyel ve otonom sinir lifleri oluşturduğu zengin bir sinir pleksusuna sahiptir [26]. Bu sinir pleksusu korneanın transparanlığının korunmasında ve gözyaşı üretimi ile sağlıklı bir kornea dokusunun devamlılığında önemli rol oynar. Enfeksiyon veya iritasyon durumlarında koruyucu refleksler oluşturur, kornea hücrelerine trofik destek sağlayan nöromedyatörlerin üretimi ve iletimini sağlar. Trigeminal gangliyondan çıkan bu karmaşık sinir yumağı korneada epitel hücrelerinin içinde veya arasında sonlanır. Sinir terminalleri/reseptörleri ise mekanik, ağrı, soğuk ve kimyasal uyarılar tarafından üretilen duyuşsal impulsları taşıır [27, 28].



Şekil 2.3. Kornea sinir pleksusu

2.4. Substans P

Subbazal korneal sinir pleksusunun organize edilmesinde SP oldukça önemlidir. Genel olarak sensöriyel sinir uçlarından salınan SP, nosiseptif iletimde rol oynayan ve nörotransmitter görevi gören 11-amino asitli bir nöropeptittir. Etkisini kornea hücrelerinde bulunan G-protein-bağlı reseptörlerden taşıkinin ailesine ait nörokinin reseptörlerinden nörokinin-1 (NK-1) üzerinden gösterir [29]. Epitel hücre göçü, adezyon ve proliferasyonunda ayrıca yara iyileşmesi, epitel rejenerasyonunda

rol oynar. SP subbazal pleksusu koruma etkisini indirekt olarak epitel hücre deskuamasyonunu azaltma ve kornea çevresinden reaktif oksijen radikallerinin uzaklaştırılmasını sağlama şeklinde yapar [30].

2.5. Oküler Yüzey Muayene Yöntemleri

2.5.1. Korneal Boyanma

Oküler yüzey muayenesinde birçok boya kullanılmaktadır. Bunlardan başlıcaları lisamin yeşili, rose bengal ve en sık kullanılan floresein adıyla geçen sodyum floreseindir [31]. Toksikite ve oküler yüzey hasarı nedeniyle rose bengal artık nadir kullanılmaktadır. Rose bengal esas olarak devitalize hücreleri boyarken floresein hasar görmüş, hücreler arası bağlantıları bozulmuş ve geçirgenliği artmış hücreleri boyamaktadır. Kornea epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ve bazal membran ile arasındaki hemidesmozomlar sayesinde sağlıklı korneada floresein hücreler arasına giremez, sonuç olarak sağlıklı korneada boya tutulumu izlenmez [32]. Oküler yüzey değerlendirilmesinde floresein uygulamasını ilk olarak Pfluger hayvan deneylerinde kornealarındaki epitel abrazyonları boyayarak göstermiştir. O zamandan itibaren kullanımı oldukça artmış ve oküler yüzey muayenesinin en önemli parçalarından biri haline gelmiştir. Floresein suda çözülebilen turuncu renkli bir boyadır. Oküler yüzeyin kuru göz muayenesinde kornea ile konjonktiva boyanmasında, gözyaşı kırılma zamanının tayininde ve gözyaşı menisküs yüksekliğini ölçmede kullanılır. Epitelyal defektlerin, ülserlerin ve abrazyonların teşhisinde kullanılır [33]. Bunlara ek olarak:

- Applanasyon tonometrisi ile göz içi basınç ölçümünde
- Perforan travmalarda sızıntıyı göstermek için Seidel testinde
- Nazolakrimal kanal değerlendirmesi için yapılan Jones testinde
- Kontakt lens uyumunun değerlendirilmesinde
- Retina vasküler hastalıkları değerlendirilmesi için yapılan fundus floresein anjiyografide (FFA) kullanılır [32, 33].

2.5.2. Schirmer Testi

Schirmer testi bir filtre kağıdı ile gözyaşı üretim miktarının ölçülmesidir. Bazal ve refleks gözyaşı üretimini gösteren invazif bir testtir [34]. Ucuzdur ve uygulanışı için pahalı ekipmanlara gerek yoktur [35]. Ancak schirmer testinin tekrarlanabilir bir test olmaması, duyarlılık ve özgüllüğün düşük olması, çocuklarda uygulanışının zor oluşu ve refleks gözyaşı üzerinde kontrol eksikliği gibi birçok dezavantajı mevcuttur. Ayrıca uygulanması sırasında korneal ve konjonktival hasara neden olabilir. Test uygulanırken refleks gözyaşı üretimi nedeniyle kuru göz hastalarında yanlış yüksek sonuçlar elde edilebilir, bu nedenle schirmer test sonuçları kuru göz semptomlarıyla korelasyon göstermeyebilir [36]. 5. Dakika ölçümü 10 mm üzeri genel olarak kabul edilirken, 5 mm altı değerler ciddi gözyaşı üretim eksikliği lehinedir [37].

2.5.3. Cochet Bonnet Esteziometresi

Korneanın sensöriyel innervasyonu çok yoğundur [38]. Oküler yüzey duyarlılığı, korneal sinir fonksiyonunun bir ölçüsü aynı zamanda oküler yüzeyin koruyucu mekanizmalarının sağlamlığının bir göstergesidir [39]. Sensöriyel iletim oküler yüzey epitelindeki serbest sinir uçlarının uyarılmasıyla ortaya çıkar. Bu nedenle, merkezi ve periferik sinir sisteminin dahil olduğu oküler yüzey hassasiyeti, oküler yüzey sağlığının önemli bir belirteçidir. Oküler yüzeyde korneanın duyarlılığı diyabet, kontakt lens kullanımı, refraksiyon cerrahisi ve nörotrofik keratit gibi sistemik ve kornea hastalıklarında azalır [6, 40, 41]. Bu durumların tespitinde kornea sensitivitesi, oküler yüzeyde çeşitli tipte nosiseptörleri uyaran çeşitli esteziometre tasarımları ile oküler yüzeye mekanik, kimyasal veya termal uyaranlar üzerinden ölçülür.

Von Frey'in konseptine dayanan cochet bonnet esteziometresi uzunluğu farklı uyaran yoğunluklarını uygulamak için değiştirilebilen ince bir naylon filamandan oluşur. Cochet-Bonnet esteziometresi taşınabilirliği, kullanım kolaylığı ve geleneksel olarak altın standart olarak kabul edilmesi nedeniyle oküler hassasiyeti ölçmek için yaygın olarak kullanılır [42].

2.5.4. İn Vivo Konfokal Mikroskopi (İVKM)

Konfokal mikroskopinin prensibi ilk olarak 1957 yılında Minsky tarafından tanımlanmıştır. Hem ilüminasyon hem de objektif sistemleri tek bir merkezde odaklandığı için (ortak odak noktalarına sahip) “konfokal” denmektedir. Bu prensip sonucu görüntü kalitesi ışık mikroskopisi ile karşılaştırıldığında oldukça artmıştır [43]. Korneanın hücresel düzeyde görüntülenmesini sağladığı için İVKM kornea hastalıklarının tanısında oldukça önem taşımaktadır. Kornea distrofileri, sistemik hastalıkların ve ilaçların kornea tutulumları, nöroftrofik keratit, mikrobiyel keratit ayırıcı tanısında oldukça yaygın kullanılmaktadır [44].

2.6. Diyabetes Mellitus

DM kronik hiperglisemi ile karakterize, ciddi komplikasyonları olan sistemik bir hastalıktır. DM'ye bağlı komplikasyonların morbidite ve mortalitesi oldukça yüksektir. Bu nedenle yaşam tarzı modifikasyonu, kan şekeri regülasyonu, komplikasyonların erken tanı ve yönetimi oldukça önemlidir [45]. Dünya Sağlık Örgütü (Global Burden of Disease Study) tip 2 DM prevalansının 2030 yılına kadar 366 milyona ulaşacağını bildirmiştir [46]. 2022 yılında yapılan güncel raporlara göre ise erişkin popülasyonunun yaklaşık %11,3'ü DM tanısı almıştır, bunların %95'i tip 2 DM'dir. Tip 2 DM, insülin direnci ile karakterize olan daha sıklıkla erişkinlerde gözlenen DM alt tipidir [47]. Bu artışta beklenen yaşam süresinin uzaması ve değişen hayat standartları (obezite, sigara vs.) rol oynamaktadır. Tip 2 DM (insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM)) insülin direnci ve hiperglisemi ile karakterize bir metabolik bozukluktur. Genelde ileri yaşta ortaya çıkar. Obezite, hiperlipidemi gibi birçok metabolik hastalık tip 2 DM'ye eşlik etmektedir [48]. Daha erken yaşta ortaya çıkan ve insülin yokluğu ile karakterize tip 1 DM'den bu yönleriyle ayrılmaktadır [49].

DM komplikasyonları mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrılmaktadır [50].

Mikrovasküler komplikasyonlar;

- Retinopati
- Nefropati
- Nöropati

Makrovasküler komplikasyonlar;

- Hipertansiyon
- İskemik kalp hastalığı
- Periferik vasküler hastalık

Mikrovasküler hasarlardan retinopati körlük ile sonuçlanabilirken, nefropati son evre böbrek yetmezliğine , periferik nöropati ise diyabetik ayak ve amputasyona kadar ilerleyebilir [50]. Hiperglisemi kaynaklı vasküler hasarın kesin olarak mekanizması aydınlatılamamış olmakla birlikte hiperglisemiye bağlı reaktif oksijen türlerinin üretiminin artmasının sonucu olarak poliol yolu aktivasyonu, ileri glikasyon son ürünleri oluşumu (AGE), protein kinaz C ve heksozamin artmış aktivitesinin sorumlu olduğu düşünülmektedir [51].

2.7. Diyabetes Mellitus ve Göz

DM gözün her segmentini tutabilir ve ciddi görme kayıplarına yol açar. Gözde en sık görülen komplikasyon diyabetik retinopatidir (DRP). DRP, 20-60 yaş arası görme kaybının en sık nedenlerindedir [52]. DRP dışında DM hastalarında

İridopati

Neovasküler glokom (retinal iskemiye sekonder olarak gelişir.)

Katarakt (özellikle senil katarakt daha erken dönemde izlenir.)

Oküler yüzey hastalıkları

Oküler motor sinir palsileri

Artmış enfeksiyon yatkınlığına bağlı tekrarlayan hordeolum, selülit, konjonktivitin sağlıklı gruba oranla artmış olduğu bilinmektedir [53, 54]. DM ile ilişkili oküler komplikasyonlar progresiftir ve ciddi morbiditelere yol açar. Ancak erken teşhis ve zamanında tedavi ile önlenir. Bu nedenle DM tanısı alan her hastanın

düzenli aralıklarla oftalmolojik muayeneden geçmesi çok önemlidir. Düzenli takip ve sıkı kan şekeri regülasyonu ile birçok komplikasyonun önüne geçilebilmektedir [55].

2.8. Diyabetes Mellitus ve Oküler Yüzey

DM'ye bağlı ön segment bulguları çoğu zaman arka segment bulgularının gölgesinde kalır ve çok önemli sorunlara yol açmadığı sürece gerekli önem verilmeyebilir [1]. Diyabetik hastaların yaklaşık %70'i hastalıklarının seyri sırasında oküler yüzey hastalıklarından rahatsız olmasına rağmen DM'nin oküler yüzey üzerindeki etkisine gereken dikkat verilmeyebilir [56]. Ancak DM tüm göz yapılarını etkileyen bir hastalıktır. DM hastalarında sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında kornea sinir yoğunluğunun azaldığı, schirmer testinin ve floresein kırılma zamanının daha düşük olduğu bilinmektedir [57]. Mevcut olan bu oküler yüzey bulgularında kuru gözden azalmış korneal sinir dansitesi, artmış epitelyal erozyon ve diyabetik keratopatiye uzanan kompleks bir dizi klinik tablo sorumlu tutulabilir [58, 59].

DM ön segmenti, zayıf metabolik kontrol sonucu kuru göz, meibomian bez disfonksiyonu, kornea duyarlılığının azalması gibi birçok farklı mekanizma üzerinden etkiler [12]. DM'a bağlı oküler yüzey hastalıkları gözyaşı filmi miktarı ve kalitesindeki bozulmalar, skuamöz metaplazi ve goblet hücre kaybı ile karakterizedir [60]. DM'de görülen kuru gözün patogenezinde lakrimal bezin mikrovasküler hasarı ve korneal hassasiyetteki bozulmaya bağlı gözyaşı refleksindeki azalma suçlanmaktadır. DM hastalarında mevcut gözyaşı sekresyonunun hem niceliksel hem de niteliksel olarak azaldığı, bunun da oküler yüzey inflamasyonunu arttırdığı birçok çalışmada bildirilmiştir [11]. DM hastalarında mikrovaskülopati, nöropati ve gözyaşı hiperozmolaritesi oküler yüzeyde inflamatuvar bir kaskada neden olur. İnflamasyon lakrimal bez ünitelerine ve goblet hücrelerine zarar verir. Goblet hücre hasarı müsin üretimindeki azalma ile sonuçlanır. Buna bağlı gözyaşının stabilitesi bozulur ve gözyaşı evaporasyonu artar. Gözyaşı ozmolaritesi bir kısır döngü içinde artmaya devam eder [61]. Bunlara ek olarak hipergliseminin de direk hasarı söz konusudur. Aköz hümörde bulunan glukoz konsantrasyonunun DM hastalarında normalin üzerinde seyretmesi halinde, alternatif glukoz kullanım yolu olan aldoz redüktaz yolu aktive olmakta ve bu

yolağın ürünü olan sorbitol birikerek kornea epitelinin multilaminer bazal membranında ve endotel komşuluğundaki descemet membranda yapısal kalıcı hasara yol açmaktadır. Bu hasarlara bağlı epitel rejenerasyonu bozulur, tekrarlayan epitel erozyonları ve punktat epitelyopati gibi birçok oküler yüzey hastalıkları meydana gelir [58]. Hipergliseminin aynı zamanda TGF- β , CNTF ve EGF üretimini etkileyerek bu faktörlerin düzeyini de azaltır. Bu durumda epitel hücre proliferasyonu azalır, apoptoz artar ve sonuç olarak epitel yara iyileşme süreci bozulur [3].

Oküler yüzey hasarı yaratan bir diğer yolak ise AGE oluşumudur. Hiperglisemi oküler yüzey protein matriksinin yapısını değiştiren ve oksidatif strese neden olan AGE oluşumuna yol açar. Oksidatif strese bağlı biriken reaktif oksijen türlerinin ise NGF ve NT-3 gibi nörotrofik faktörlerin konsantrasyonunu azalttığı buna bağlı korneal sinir pleksusunun hasar gördüğü kanıtlanmıştır [62]. Ayrıca metabolik strese verilen hücresel yanıt, oküler yüzeyde nükleer faktör kappa-B'nin artışına neden olur. Artan AGE ve nükleer faktör kappa-B düzeylerinin deney hayvanlarında lakrimal bezde ve oküler yüzeyde meydana gelen inflamasyonda etkili olduğu gösterilmiştir [10, 63].

Normal koşullarda korneal subbazal sinir pleksusu nöropeptitler ve nörotrofik faktörler salgılayarak epitel metabolizmasının düzenlenmesinden ve böylelikle sağlıklı epitel yüzeyin devamlılığında sorumludur [64]. Kornea sinir uçlarından salınan SP, epitel hücre göçü, adezyonu ve proliferasyonunu uyarır. Böylece yara yeri iyileşmesini hızlandırır [7]. DM'nin ise periferik nöropati ile ilişkili bir biçimde korneal sinirleri etkilediği bilinmektedir. DM hastalarında korneal sinir değişiklikleri sinir dansitesinde ve dallanmasında azalma, tortuoza şeklinde artış şeklindedir [65, 66]. Azalmış olan sinir dansitesi sonucu kornea epitel ve endotel tabakasında bozulmalar meydana gelir. Korneada meydana gelen bu nöropati duyu kaybına yol açar. Sonuçta nörotrofik ülsürlere ve ciddi morbiditelere neden olabilir. DM hastalarında epitelyal bazal membran ile epitelyal adezyonun azalmasından kaynaklanan epitelyal fragilite ve kötü yara iyileşmesi kornea nöropatisi ile birlikte kalıcı kornea erozyonlarına neden olur. Bu durum ise enfeksiyona yatkınlığı ve cerrahisi sonrası oluşabilecek komplikasyonları artırır [67]. Ayrıca subbazal pleksustan salınan ve kornea epitel devamlılığında önemli rol oynayan SP'nin gözyaşı düzeyi DM tanısı almış hastalarda sağlıklı bireylerle

karşılaştırıldığında önemli oranda düşüktür. Korneal sinir yoğunluğu ile ilişkili olan SP seviyesindeki düşüklük DM hastalarında azalmış sinir yoğunluğu ile ilişkilidir [8].

Literatüre bakıldığında yapılan çalışmalar diyabetik retinopati kliniği olmasa bile DM hastalarının gözyaşı inflamatuvar sitokin düzeylerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında artmış olduğunu göstermektedir [12, 68]. Uzun süreli hiperglisemi, inflamasyonu artırır ve oksidatif strese neden olan AGE birikmesine neden olur [3]. Buna bağlı olarak kornea ve tüm oküler yüzeyde hipergliseminin yarattığı bir inflamasyon meydana gelir. Oküler yüzeyde birçok sitokin ve kemokin artışı olur [69, 70].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (HÜTF) Göz Hastalıkları Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışma projesi için, 23.06.2020 tarihli GO 20/563 karar numaralı rapor ile Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Tıp ve Sağlık Birimleri Komisyonu tarafından desteklendi (THD-2022-19664).

Çalışmaya Haziran 2020-Mart 2023 tarihleri arasında HÜTF Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran 45 hasta dahil edildi. Birinci grup son 5 yıl içerisinde Tip 2 DM tanısı almış ve herhangi bir sistemik komplikasyon gelişmemiş olan 23 hastadan, 2. Grup ise 22 sağlıklı bireyden oluşmaktaydı.

ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLME KRİTERLERİ

1. Hasta grubu

- Son 5 yıl içinde tip 2 DM hastalığı tanısı alması
- Tip 2 DM'ye bağlı sistemik komplikasyon gelişmemiş olması

2. Kontrol grubu

- DM hastalığı olmaması
- Sağlıklı oküler yüzeyle sahip olması
- Hasta grubu ile yaş ve cinsiyet açısından benzer olması

Çalışmadan dışlanma kriterleri;

- İnflamatuvar sistemik hastalığın olması
- Kontakt lens kullanımı
- Topikal tedavi alması
- Oküler travma/cerrahi öyküsü olması şeklinde belirlendi.

Hasta ve kontrol grubuna dahil edilen bireyler çalışmaya gönüllülük esasına göre dahil edildi ve bireylere çalışmanın amacı hakkında detaylı bilgi verildikten sonra aydınlatılmış onam alındı.

Çalışma kapsamındaki tüm hastalardan detaylı sistemik ve oftalmolojik öykü alındıktan sonra, otorefraktometre ölçümleri, en iyi düzeltilmiş görme keskinliği

düzeyleri, biyomikroskopik ön segment muayeneleri ve fundus incelemeleri yapıldı. Oküler yüzey incelemesi; oküler yüzey boyanması, schirmer testi ve İVKM ölçümleri alınarak yapıldı. Subjektif yakınmaların saptanması amacıyla OSDI anketi uygulandı.

Tüm hastaların sağ gözünün alt fornixindeki gözyaşı menisküsünden topikal anestezi uygulanmaksızın, konjonktiva ve korneaya temastan kaçınılarak mekanik ayarlanabilir laboratuvar pipeti kullanılarak 50 mikrolitre (μ l) gözyaşı örneği toplandı. Gözyaşı örnekleri Ependorf tüplere konularak 6000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra değerlendirme yapılıncaya kadar -80°C derin dondurucuda saklandı.

Oküler yüzey ve gözyaşı değerlendirmesi sırası ile; OSDI anketi, Floresein ile boyanma, Schirmer testi, gözyaşı toplanması ve İVKM ölçümleri şeklinde yapıldı.

İstatiksel analiz için hastaların sağ gözü seçilerek değerlendirmeye alındı.

- **OSDI Anketi**

OSDI (Ocular Surface Disease Index, OSDI; Allergan Inc., Irvine, Kalifornia) oküler yüzey semptomlarını değerlendiren bir ankettir. 12 soru içeren 3 bölümden oluşmaktadır (**Şekil 3.1**), her madde 0'dan 4'e kadar bir ölçekte derecelendirilir; burada 0, hiçbir zaman; 1, bazen; 2, zamanın yarısında; 3, çoğu zaman ve 4, her zaman şeklindedir. Toplam OSDI puanı=[(cevaplanan tüm soruların puanlarının toplamı) \times 25]/(cevaplanan toplam soru sayısı) şeklinde hesaplanır. İrkeç ve ark. [71] tarafından Türkçe validasyonu yapılan OSDI skorumlama sistemi hastaların oküler yüzey ile ilgili subjektif cevapları değerlendirildi. 0-100 puan arasında değişen OSDI skorları elde edildi.

OSDI SKÖRÜ						
<p>Aşağıdaki 12 soruyu hastanıza sorunuz ve hastanızın verdiği her cevap için uygun rakamı daire içine alarak işaretleyiniz. Daha sonra yanlarındaki değerlendirmeyi dikkate alarak A, B, C, D ve E kutularını doldurunuz.</p>						
GEÇEN HAFTA BOYUNCA AŞAĞIDAKİLERDEN HERHANGİ BİRİNİ YAŞADINIZ MI?						
	Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman	
1. Gözler ışığa hassas	4	3	2	1	0	
2. Gözlerde batma hissi	4	3	2	1	0	
3. Gözlerde ağrı yada yanma	4	3	2	1	0	
4. Görmenin bulanıklaşması*	4	3	2	1	0	
5. Görme azlığı*	4	3	2	1	0	
1-5 numaralı sorulara cevapların alt toplamı					A	
* Gerekli durumlarda test uygulayıcısı açıklama yapılmalıdır.						
GEÇEN HAFTA BOYUNCA GÖZÜNDEKİ PROBLEMLER AŞAĞIDAKİ AKTİVİTELERİNİZİ ENGELLEDİ Mİ?						
	Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman	Geçersiz
6. Uzun süreli okuma	4	3	2	1	0	Okunmuyor
7. Gece araba kullanma	4	3	2	1	0	Araba kullanmıyor
8. Bilgisayarda çalışma	4	3	2	1	0	Bilgisayar kullanmıyor
9. Televizyon izleme	4	3	2	1	0	Televizyon izlemiyor
6-9 numaralı sorulara verilen cevapların alt toplamı					B	
GEÇEN HAFTA BOYUNCA AŞAĞIDAKİ DURUMLARDA GÖZÜNÜZDE RAHATSIZLIK HİSSETTİNİZ Mİ?						
	Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman	Geçersiz
10. Rüzgarda	4	3	2	1	0	Rüzgarda bulunmuyor
11. Düşük nemli (çok kuru yerlerde)	4	3	2	1	0	Düşük nemli yerde bulunmuyor
12. Kışmalık yerler	4	3	2	1	0	Kışmalık yerde bulunmuyor
10-12 numaralı sorulara verilen cevapların alt toplamı					C	
D için A, B ve C'yi toplayınız (D= Cevaplanan tüm sorular için toplam skor)					D	
Cevaplanan toplam soru sayısı Geçersiz olarak cevaplanan soruları eklemeyiniz)					E	
OSDI= (Dx25)/E						

Şekil 3.1. OSDI Anketi






- **Kornea Hassasiyeti Ölçümü**

Kornea hassasiyeti, Cochet-Bonnet Esteziometresi (Luneau Ophtalmologue, Chartres, Fransa) ile ölçüldü. Çalışmaya dahil olan bireylerin tam karşılarında bir noktaya bakmaları istendi, ardından esteziometrenin 0,5 cm (minimum) ile 6 cm (maksimum) arasında uzunluğu değişen, 0,12 mm çapında naylon monofilaman ucu kornea santraline dik olacak şekilde dokunduruldu. Öncelikle filaman ucu 6 cm uzunlukta uygulandı eğer bireyler hissetmediğini iletirse hissedeceği değere kadar 0,5 cm azaltıldı, yani uygulanan basınç artırıldı ve sonuçlar kaydedildi.

- **Flöresein ile Boyanma**

Oküler yüzey boyanması, steril flöresein kağıtlar ile değerlendirildi. Steril flöresein kağıdı, 0.01 cc serum fizyolojik ile ıslatıldıktan sonra, alt konjonktival keseye uygulandı. Hastanın gözünü kırpması söylenerek boyanın oküler yüzeye yayılması sağlandı. Kobalt mavisi filtreli biyomikroskop ışığında, kornea ve konjonktivanın boyanma paternleri incelenerek Oxford skalasına göre evrelendirildi (**Şekil 3.2**).

**GRADING OF CORNEAL AND CONJUNCTIVAL STAINING
OXFORD SCHEME**

PANEL	GRADE	VERBAL DESCRIPTOR
A 	0	Absent
B 	I	Minimal
C 	II	Mild
D 	III	Moderate
E 	IV	Marked
>E	V	Severe

Şekil 3.2. Oxford skalasına göre oküler yüzey boyanması [72]

- **Schirmer Testi**

Schirmer testi için, 5 mm genişliğinde 35 mm uzunluğunda 41 numara Whatman filtre kağıdı kullanıldı. Katılımcıların hem bazal hem refleks gözyaşı miktarını ölçmek amacıyla işlem öncesi topikal anestezi uygulanmadı. Schirmer kağıdının 5 mm'lik kısmı kıvrılarak, alt kapak dış 1/3'üne yerleştirildi ve 5 dakika boyunca hastanın karşıya doğru bakması istenerek ölçüm alındı. Daha sonra ıslanma miktarı, kapak kenarına denk gelen bölümden itibaren ölçüldü.

- **İn Vivo Konfokal Mikroskopi Ölçümü**

İn vivo konfokal mikroskopi yöntemi kornea dokusunun biyomikroskopik muayene ile görüntülenemeyen hücresel özelliklerini 1 mikronluk kesitler ile inceleme imkanı vermektedir. Kontakt olmayan bir yöntem olup poliklinik şartlarında yaklaşık 1 dakika süren ve birçok hastalık tanı ve takibinde rutin olarak kullanılmakta olan değerli bir yöntemdir. Bu yöntem ile kornea sinir yapısı ve tüm katmanların hücresel özellikleri ve kantitatif değerlendirmesi yapılabilmektedir. Ölçümler imersiyon prensibi ile çalışan objektif lensi (Achromat 40x/0.75 W, Zeiss, Mannheim, Almanya) olan Confoscan 4.0 (Nidek, Vigonza, İtalya) cihazı ile yapıldı. Tüm katılımcılara, işleme geçilmeden Alcaine topikal anestezi damla (%0,5 proparakain hidroklorür, Alcon, İsviçre) damlatıldı. Mercek lensinin ön yüzüne Viscotears oftalmik jel (%0,2 Karbomer, Alcon, İsviçre) uygulandı. Kornea santralinden net ve güvenilir görüntüler alabilmek için, mercek göze yaklaştırıldı ve ön yüzeyinde bulunan jelin katılımcının korneasının ön yüzüne değmesi sağlandı. Merceğin kendinin kornea epiteline değmesinden kaçınıldı. Her ölçüm öncesi merceğinin ön yüzeyi %70 derişimde isopropil alkol ile temizlendi. Ardından her olgunun tetkik yapılacak olan sağ gözüne uygun şekilde çenesi ve başı mikroskopun baş desteği bölgesine yerleştirildi. Görüntüler kornea merkezine odaklandıktan sonra kaydedilmeye başlandı. Her olgunun kornea epitelinden endoteline kadar tüm tabakaları net bir şekilde 5 kez tam kat görüntüledikten sonra işleme son verildi. Çalışmaya dahil edilen İVKM görüntüleri, 450x340 µm boyutunda, 1 µm lateral çözünürlükte, 10 µm derinlik çözünürlüğündeydi. Görüntüler 15" bilgisayar ekranında (1024x768 piksel) 500x büyütme ile değerlendirildi. Her olgunun santral korneasının en iyi çekilmiş İVKM görüntüsünden; kornea epitel hücre yoğunluğu, endotel hücre yoğunluğu, endotel pleomorfizm ve polimegatizm oranları, subbazal sinir pleksusu değerlendirildi. Subbazal sinir pleksusu değerlendirilmesinde en net ölçüm alınan alanda uzun sinir lifi sayısı, total sinir lifi sayısı (uzun sinir lifleri ve dallarının toplam sayısı), total sinir yoğunluğu (uzun sinir lifleri ve dalların toplam yoğunluğu, µm/mm) ve sinir lifi tortuozitesi ölçümleri kaydedildi. Görüntü merkezinde boyutları sabit (200x300 µm) ve alanı 0,060 mm büyüklüğünde bir dikdörtgen alan içinde kalan

bölgedeki hücrelerin sayımı yapıldı. Sinir lifi tortuozitesi ise düz ya da kıvrımlı olmasına göre 4 evreye ayrılarak incelendi. Tamamen düz sinir lifleri: evre 0, minimal tortuozite artışı: evre 1, orta düzeyde tortuozite artışı: evre 2, orta-ileri düzeyde artışı: evre 3, ileri tortuozite artışı: evre 4 olarak kabul edildi. Yoğunluk ölçümleri için her hastanın farklı alanlardan geçmiş, en fazla sayıda sinir lifini barındıran iki görüntüsü Confoscan 4 cihazından (**Şekil 3.3**) dışa aktarılarak, Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, Amerika; <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) programı ile değerlendirildi.



Şekil 3.3. Confoscan 4.0 (Nidek, Vigonza, İtalya)

- **Gözyaşı Mediyatörlerinin ve Substans P Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

Toplanan gözyaşlarında mediyatörlerden

- IL-1B
- IL-10
- IL-13
- IL-6
- IL-12/IL-23p40
- IL-17A
- IL-15
- IL-5

- IFN- γ
- IFN- α
- IL-1RA
- TNF- α
- IL-2
- IL-7
- IL-2R
- IL-4
- IL-8
- RANTES
- Eotaxin
- IP-10
- MIP-1a
- MCP-1
- MIG

HÜTF HLA Laboratuvarı'nda bulunan Luminex (Austin, Texas, ABD) isimli cihazda (**Şekil 3.4**) Neuroscience Human 18-Plex ProcartaPlex (Invitrogen) (Waltham, Massachusetts, ABD) kullanılarak saptandı.

Luminex Analizi

1. 7 adet standart, 1 adet kör (blank) dilüsyon yöntemiyle hazırlandı. Kuyucuklar 200 μ l yıkama solüsyonu ile 2 kez yıkandı.
2. 14 kuyucuğa standart solüsyonlardan 50 μ l, 2 kuyucuğa 50 μ l yıkama solüsyonu pipetlendi.
3. Diğer 80 kuyucuğa örneklerden 50 μ l pipetlendi.
4. Plate üzeri kapatılarak oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda 500 rpm de 2 saat inkübe edildi. 2 saat inkübasyon sonrası kuyucuklardaki sıvı vakum ile aspire edildi.
5. 200 μ l yıkama solüsyonu ile 2 kez yıkandı.
6. Tüm kuyucuklara 100 μ l Biotin konjugat pipetlendi.

8. Plate üzeri kapatılarak oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda 500 rpm de 1 saat inkübe edildi.
9. 1 saat inkübasyon sonrası kuyucuklardaki sıvı vakum ile aspire edildi.
10. 200 µl yıkama solüsyonu ile 2 kez yıkandı.
11. Tüm kuyucuklara 100µl Streptavidin-RPE pipetlendi.
12. Plate üzeri kapatılarak oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda 500 rpm de 1/2 saat inkübe edildi.
13. 1/2 saat inkübasyon sonrası kuyucuklardaki sıvı vakum ile aspire edildi.
14. 100 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı.
15. Plate üzeri kapatılarak oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda 500 rpm de 2 dakika inkübe edildi.
16. Plate üzeri kapatılarak örnekler luminex cihazında analiz edildi.
Sonuçlar Procarta Plex (eBioscience, ABD) data analiz programı kullanılarak analiz edildi.



Şekil 3.4. Luminex cihazı

Toplanan gözyaşlarında Substans P seviyeleri HÜTF HLA Laboratuvarı'nda İnsan Substans P ELISA kiti (Cusabio) (Houston, ABD) kullanılarak saptandı.

1. 7 adet standart ve 1 adet kör (blank) dilüsyon yöntemiyle hazırlandı.
2. 14 kuyucuğa standart solüsyondan 100µl, 2 kuyucuğa kör solüsyondan 100µl pipetlendi.
3. Diğer 80 kuyucuğa örneklerden 100µl pipetlendi.
4. Plate üzeri kapatılarak orbital karıştırıcıda, 37°C sıcaklıkta 500 rpm de 2 saat inkübe edildi.
5. Her kuyucuğa 100µl Biotin-antikoru pipetlendi.
6. Plate üzeri kapatılarak orbital karıştırıcıda, 37°C sıcaklıkta 500 rpm de 1 saat inkübe edildi.
7. 200µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 100µl HRP-avidin pipetlendi.
9. Plate üzeri kapatılarak orbital karıştırıcıda, 37°C sıcaklıkta 500 rpm de 24 saat inkübe edildi.
10. 200µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
11. Her kuyucuğa, ışıktan koruyarak 90µl TMB substratı pipetlendi. 37°C sıcaklıkta 500 rpm de 15 dakika inkübe edildi.
12. Kuyucuklara 50µl durdurma solüsyonu eklendi. Ardından 450nm de analiz edildi.

Kontrol ve çalışma grupları için elde edilen değerler istatistiksel yöntemler kullanılarak karşılaştırıldı. İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics versiyon 22 (New York, ABD) paket programı kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren gruplarda tek yönlü ANOVA testi, normal dağılım göstermeyen gruplarda ise Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırma yapıldı. Korelasyon değerlendirmeleri Spearman korelasyon analizi ile yapıldı. Gruplarda niteliksel özelliklerin karşılaştırılmalarında ise çapraz tablo analizi ve ki-kare testi kullanıldı. p değerinin 0.05'den küçük ve eşit olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda değerlendirilen 45 hasta 2 gruba ayrıldı. Grup 1; son 5 yıl içerisinde tip 2 DM tanısı almış ve sistemik komplikasyon geliştirmemiş bireylerden, Grup 2; herhangi bir ek hastalığı olmayan sağlıklı bireylerden oluşmaktaydı.

Grup 1: 23 birey son 5 yıl içerisinde tip 2 DM tanısı almış ve sistemik komplikasyon geliştirmemiş hasta Grup 4: 22 birey sağlıklı kontrol

Gruplar arasındaki yaş ortalaması Welch ANOVA testi ile değerlendirildi (Tablo 4.1); cinsiyet dağılımı ise Ki-Kare testi ile değerlendirildi (Tablo 4.2) ve her iki karşılaştırmada da anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,0701$ ve $p=0,884$).

Tablo 4.1. Grupların yaş ortalaması karşılaştırılması

Grup	Yaş	p
DM	54,74 ± 8,297	0,070
Kontrol	49,55 ± 10,386	

Tablo 4.2. Grupların cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	DM N (%)	Kontrol N (%)	p
Kadın	12 (52,2)	11 (50)	0,884
Erkek	11 (47,8)	11 (50)	

İki grup arasındaki schirmer testi, OSDI skorları, Oxford skalasına göre floresein ile boyanma evreleri ve cocbet-bonnet esteziometre değerlerinin karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı.

Grupların schirmer test sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p= 0,3056$).

Tablo 4.3. Grupların Schirmer sonuçlarının karşılaştırılması (median, min-max)

	Schirmer	p
DM	16 (3-35)	0,305
Kontrol	19,5 (5-35)	

Grupların OSDI sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p= 0,820).

Tablo 4.4. Grupların OSDI sonuçlarının karşılaştırılması (median, min-max)

	OSDI	p
DM	5(0-40)	0,820
Kontrol	7(0-33)	

Grupların Floresein ile boyanma evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p= 0,072).

Tablo 4.5. Grupların Floresein ile boyanma evrelerinin karşılaştırılması (median, min-max)

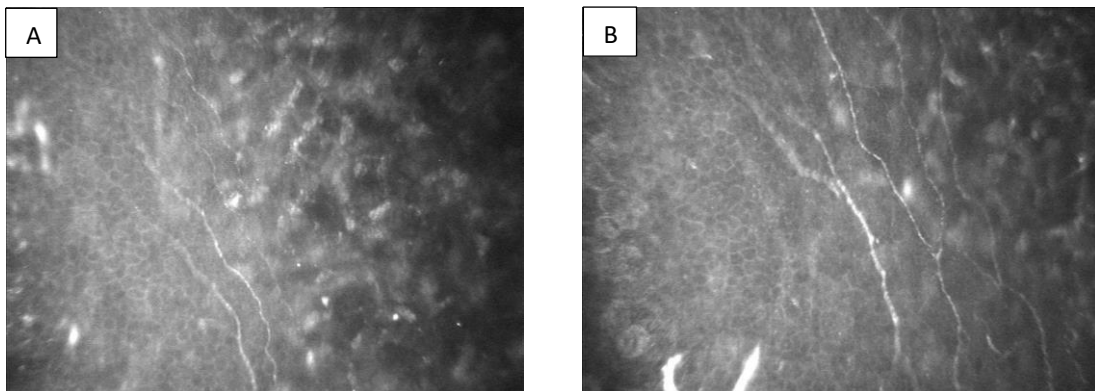
	Floresein ile boyanma evresi	p
DM	0(0-4)	0,072
Kontrol	0(0-1)	

Grupların Cochet-Bonnet esteziometre ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,087).

Tablo 4.6. Grupların Cochet-Bonnet esteziometre ölçümlerinin karşılaştırılması
(median, min-max)

	Cochet-Bonnet esteziometre	p
DM	6(3-6)	0,087
Kontrol	6(5-6)	

İVKM'de öncelikle bazal epitel sayısı ve korneal sinirlere ait uzun sinir lifi sayısı, total sinir lifi sayısı ve total sinir yoğunluğu incelendi. DM ve kontrol grubunun bazal epitel hücreleri, uzun sinir lifi, total sinir lifi ve total sinir yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Korneal sinir tortuozitesi ise DM grubunda artmış bulundu (Şekil 4.1), bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,015$).



Şekil 4.1. A) Tip 2 DM grubuna ait en genç hastanın konfokal korneal sinir kesiti
B) Sağlıklı gruba ait en genç hastanın konfokal sinir kesiti. DM hastasının kornea sinir tortuozitesinin daha belirgin olduğu görülmektedir.

Tablo 4.7. Grupların bazal epitel hücre ve subbazal sinir pleksusu İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması (median, min-max)

Grup	Bazal epitel hücre yoğunluğu (hücre/mm ²)	Uzun sinir lifi sayısı (sinir/mm ²)	Total sinir lifi sayısı (sinir/mm ²)	Total sinir lifi yoğunluğu (μm/mm ²)	Tortuoziye
DM	2628 (1826-3066)	2 (1-5)	5 (2-9)	474,72 (183,39-1203,30)	1 (0-3)
Kontrol	2507 (1991-2971)	3 (1-10)	6 (1-12)	548,47 (213,91-1231,33)	1 (0-2)
p	0,266	0,425	0,113	0,159	0,015

İVKM ölçümlerinde bazal endotel hücre sayısı, endotel hücre polimorfizmi ve polimegatizm yüzdesi incelendiğinde iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Sırasıyla p değerleri 0,352, 0,220 ve 0,683 olarak bulundu.

Tablo 4.8. Grupların endotel hücrelerinin İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması (median, min-max)

Grup	Endotel hücre yoğunluğu (hücre/mm ²)	Polimegatizm (%)	Polimorfizm (%)
DM	2486 (1787-2957)	53,8 (32,1-73,9)	35 (23,2-63)
Kontrol	2548 (1829-2998)	47,4 (34,8-72,6)	39,35 (12,8-63,3)
p	0,352	0,220	0,683

Grupların gözyaşı mediyatör düzeylerinin ortalama değerleri Tablo 4.9 ve Tablo 4.10'da verilmiştir. Bu değerlerden normal dağılıma uyanlar ANOVA testi ile, normal dağılıma uymayanlar ise Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi.

DM grubunun gözyaşı SP düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulundu ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,05$).

Tablo 4.9. Grupların gözyaşı Substans P düzeylerinin karşılaştırılması (median, min-max)

Grup	Substans P	(pg/ml)	p
DM	56,46	(16,06-302,342)	<u>0,050</u>
Kontrol	103,85	(25,656-911,893)	

Gözyaşı mediyatör düzeyleri iki grup arasında karşılaştırıldığında IL-6 ve IL-8 seviyesi DM grubunda daha yüksek bulundu (Sırasıyla $p= 0,002$ ve $p=0,01$). IL-13 ve MIG düzeylerine ait p değeri ise sırasıyla 0,060 ve 0,052'dir. İstatistiksel olarak anlamlı değildir ancak p değerleri 0,05'e yakın bulundu.

Tablo 4.10. Gruplara göre gözyaşı sitokin ve kemokin düzeylerinin (pg/ml) karşılaştırılması (Ort. ± SS)

	DM	Kontrol	p
IL-1B	42,99±19,83	46,57±21,35	0,518
IL-10	39,01±11,68	44,69±20,67	0,911
IL-13	36,28±28,55	76,03±68,69	0,060
IL-6	108,46±47,12	83,85 ±107,72	0,002
IL-12/IL-23p40	46,61±50,36	41,50±21,11	0,757
RANTES	172,31±141,68	188,82±271,25	0,136
Eotaxin	42,89±11,02	48,49±21,46	0,800
IL-17A	27,46±10,48	34,09±19,36	0,574
MIP-1A	55,23±67,74	35,85±19,03	0,325
GM-CSF	23,72±7,92	38,78±27,51	0,261
MIP-1B	43,67±23,27	42,47±22,98	0,673
MCP-1	56,83±31,04	54,49±24,72	0,822
IL-15	66,04±27,28	59,99±20,19	0,160
IL-5	31,78±11,76	38,25±21,56	0,536
IFN-G	37,42±12,72	44,92±20,52	0,325
IFN-A	30,28±18,65	31,56±20,41	0,932
IL-1RA	8345,37±3088,37	6897,76±3475,99	0,216
TNF-A	39,13±22,94	50,16±41,34	0,757
IL-2	46,42±28,49	45,89±24,87	0,910
IL-7	51,51±26,78	49,44±21,73	0,844
IP-10	1540,60±718,88	1183,41±697,29	0,081
IL-2R	35,10±12,06	37,70±18,81	0,888
MIG	182,93±170,97	96,60±58,17	0,052
IL-4	40,36±15,81	50,87±26,61	0,339
IL-8	910,19±622,95	487,35±314,90	0,010

Gözyaşı fonksiyon testleri arasındaki korelasyon spearman analizi ile incelendi. Floresein ile boyanma evresi ile OSDI anketi arasında pozitif korelasyon saptandı (p=0,00, r=0,620).

Tablo 4.11. Floresein ile boyanma evresi ile OSDI korelasyonu

OSDI		
Floresein ile boyanma evresi	r	<u>0,620</u>
	p	<u>0,000</u>

Floresein ile boyanma evresi ile schirmer testi arasında ise negatif korelasyon saptandı (p=0,0164, r=-0,356).

Tablo 4.12. Floresein ile boyanma evresi ile Schirmer testi korelasyonu

Schirmer		
Floresein ile boyanma evresi	r	<u>-0,356</u>
	p	<u>0,016</u>

Cochet Bonnet esteziometre sonuçları gözyaşı SP düzeyi ile İVKM'de ölçülen korneal sinire ait parametreler arasındaki korelasyon spearman analizi ile incelendi.

Cochet Bonnet esteziometre sonuçları ile İVKM sinir ölçümleri arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı.

Tablo 4.13. Cochet bonnet esteziometre ile İVKM sinir ölçümlerinin korelasyonu

Cochet bonnet esteziometre		Uzun sinir lifi sayısı	Total sinir lifi sayısı	Total sinir lifi yoğunluğu	Tortuozite
		r	0,023	0,042	0,215
	p	0,879	0,783	0,154	0,939

Gözyaşı SP düzeyi ile İVKM sinir ölçümlerinden uzun sinir lifi sayısı ve total sinir lifi sayısı arasında pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla p=0,00 ve p=0,00).

Tablo 4.14. Gözyaşı Substans P düzeyi ile İVKM sinir ölçümlerinin korelasyonu

		Uzun sinir lifi sayısı	Total sinir lifi sayısı	Total sinir lifi yoğunluğu	Tortuozite
		r	<u>0,811</u>	<u>0,566</u>	0,303
Substans P	p	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,072	0,075

5. TARTIŞMA

Kronik hiperglisemi ile karakterize olan DM yaygın bir sistemik hastalıktır. 2022 yılında yayınlanan güncel raporlara göre erişkin popülasyonunun yaklaşık %11,3'ü DM tanısına sahiptir, bunların ise %95'i tip 2 DM'dir [47]. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre ise tip 2 DM prevalansı 2030'da 366 milyona ulaşacaktır [73]. DM en önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biri olan diyabetik retinopati yaygın bir şekilde taranırken DM'ye bağlı ön segment bulguları yeterli önemi görmemektedir [3].

DM hastalarında tekrarlayan kornea epitel erozyonları, yara iyileşmesinde gecikme, gözyaşı fonksiyon testlerinde bozulma olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [74]. Bizim çalışmamızda tanı süresi 5 yıl altında olan, sistemik komplikasyonu ve oküler yüzey semptomu olmayan, kontrol grubu ile yaş ve cinsiyet açısından benzer DM hastaları incelendi. Hasta grubunun gözyaşı fonksiyon test sonuçları (korneal boyanma, OSDI ve schirmer testi) sağlıklı bireylerle benzerdi. Kaiserman ve ark. [11] DM hastalarında, sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında oküler yüzey hastalık insidansının arttığını, gözyaşı kompozisyonunun bozulduğunu ve lakrimal bez mikrovasküler hasarına bağlı gözyaşı miktarının azaldığını göstermiştir. Mısra ve ark. [4] ise yaklaşık 10 yıl sonra bunlara ek olarak goblet hücre hasarına bağlı gözyaşı müsin kaybından ve ciddi korneal sinir harabiyeti varlığı konusuna değinmiştir. Özdemir ve ark. [57] 41 tip 2 DM ve 20 sağlıklı bireyi karşılaştırdığı çalışmada DM hastalarının schirmer test sonuçları ve gözyaşı kırılma zamanları daha düşük bulunmuştur. Ayrıca DRP tutulumu olan ileri evre hastalarda oküler yüzey hasarı daha fazladır. Manaviat ve ark. [75] yapmış olduğu başka bir çalışmada ise DM hastalarında DRP ve kuru gözün benzer mekanizmalarla ortaya çıktığı ve DRP olgularında kuru gözün daha ciddi seyrettiği gösterilmiştir. 2000 yılında yayınlanan bir çalışmada diyabetik kadavra kornealarının elektron mikroskobu ile incelendiğinde makroskopik olarak sağlam gözükse de ciddi hücresel bozuklara sahip olduğu kanıtlanmıştır. Diyabet kadavralara ait kornealarda korneanın tüm katmanlarında bozulma mevcuttur. Bu bozukluklardan başlıcaları epitel hücrelerinde dejenerasyon

ve glikojen granül birikimi, bazal membranda irregüler kalınlaşma ve stromada bozulmuş kollajen yapısıdır [76].

İVKM’de meydana gelen gelişmelerle korneanın hücresel yapısı ve sinirleri detaylı bir biçimde incelenebilmektedir. DM hastalığının en yaygın komplikasyonlarından olan periferik nöropati taramasında İVKM önem kazanmıştır. Kornea ise vücutta en yoğun innervasyona sahip dokulardan biridir. DM mevcut olan mikrovasküler hasara bağlı kornea sinirleri de ciddi hasar görmektedir. Bu korneal sinir hasarı periferik nöropati tanısından yer almaktadır. Çalışmamıza dahil edilen 23 DM hastasının periferik nöropati veya başka bir sistemik komplikasyonu mevcut değildi. Herhangi bir periferik nöropati bulgusu gelişmemiş iken korneal sinir yoğunluğu sağlıklı bireyler ile benzer olsa da sinir tortuoziteleri belirgin artmış bulundu. 2015 tarihinde yayınlanan bir meta-analizde 13 çalışmadan 1680 periferik nöropati geliştirmiş DM hastasının kornea sinir parametreleri incelenmiştir. Total sinir yoğunluğu ve sinir lifi uzunluğu periferik nöropati hastalarında belirgin azalmış bulunmuştur [77]. Mocan ve ark. [78] yapmış olduğu bir çalışmada İVKM ile 35 DM ve 24 sağlıklı bireyin korneal sinir yapısı incelenmiş ve DM grubunda azalmış sinir yoğunluğu ile artmış sinir tortuozitesi varlığı kanıtlanmıştır. Çalışmamızda da DM hastalarında nöropati gelişmemiş olsa dahi sinir tortuozitesinin artmış olduğu görüldü. Periferik nöropati tanısı alan DM hastalarının kornea sinir yapısı incelendiğinde sinir yoğunluğunun sağlıklı bireylere göre belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir. Demill ve ark. [79] yapmış olduğu çalışmada periferik nöropati tanısı olan DM hastaları oküler yüzey açısından asemptomatik olsa dahi kornealarında sinir yoğunluğu azalmış bulunmuştur. Lyu ve ark. [80] ise 87 tip 2 DM ve 45 sağlıklı hastayı dahil ettiği çalışmada DM hastalarında schirmer testinin ve İVKM’de sinir parametrelerinin daha düşük olduğunu ve bu sinir kaybının hastalık süresi ile korele olduğunu, 10 yıldan uzun süredir tanısı olan DM hastalarında kornea sinir kaybının daha fazla olduğunu göstermiştir. Xiong ve ark. [81] yapmış olduğu başka bir çalışmada ise İVKM’nin diyabetik simetrik periferik nöropatinin tanısında non-invaziv bir metot olduğu, hastalık evresi arttıkça sinir kaybının daha fazla olduğu kanıtlanmıştır.

Son yıllarda gözyaşı mediyatörlerinin incelendiği çalışmalar literatürde oldukça artmıştır. Periferik sinir uçlarından salındığı bilinen ve kornea ile konjonktiva epitel hücreleri üzerinde önemli fonksiyonları olan SP de incelenen önemli bir gözyaşı nöromediyatörüdür [82]. Nörojenik inflamasyon ile giden kuru göz, alerjik konjonktivit gibi birçok oküler yüzey hastalığında gözyaşında SP düzeyinin arttığı ve artan SP düzeyinin inflamasyonu tetiklediği bilinmektedir [83]. Korneal sinir hasarı mevcut olan DM hastalarında ise gözyaşı SP düzeyi azalmaktadır. Çalışmamızda erken evre DM hastalarında korneal sinir yoğunluğu istatistiksel olarak anlamlı şekilde değişmemiş olsa bile gözyaşı SP düzeyi düşük bulundu. Ayrıca SP düzeyi ile kornea sinir parametrelerinden uzun sinir lifi sayısı ve total sinir lifi sayısı pozitif korele idi. Periferik nöropati ile takip edilen DM hastalarının dahil edildiği bir çalışmada korneal sinir yoğunluğunun azaldığı ve buna bağlı olarak periferik sinir uçlarından gözyaşına salınan SP düzeyinin de normal bireylere göre düşük olduğu gösterilmiştir [84]. Markoulli ve ark. [8] 9 tip 2 DM hastasını 18 sağlıklı birey ile karşılaştırdığında hastaların gözyaşı SP düzeyi daha düşük saptanmıştır. Ancak grupların katılımcı sayısının dengesiz olması, DM grubunun yaş ortalamasının daha yüksek olması ve sistemik hastalık bilgileri yetersiz olması nedeniyle sonuçların güvenilirliği düşüktür.

Çalışmamızda yer alan DM hastalarının gözyaşı IL-6 ve IL-8 düzeyi sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu sonuç DM'ye bağlı oküler yüzey inflamasyonu ile ilişkiliydi. IL-6 ve IL-8 ise inflamasyonda yer alan en önemli sitokinlerdendir. Oküler yüzeyi ilgilendiren birçok inflamatuvar ve enfeksiyöz süreçte gözyaşında artmış oldukları gösterilmiştir. Fodor ve ark. [85] yapmış olduğu bir çalışmada katarakt ve keratoplasti cerrahisi geçirmiş hastalar ile kornea yabancı cisim ve bakteriyel konjonktivit kliniği olan hastaların gözyaşında IL-6 ve IL-8 düzeyinin yüksek olduğunu saptamıştır. 2020 yılında kuru göz ve gözyaşı sitokinlerinin incelendiği bir meta-analizde oküler inflamasyon ile giden kuru göz tablosunda IL-6 ve IL-8 düzeyinin TNF- α , IL-1RA, IFN- γ ve IL-10 ile birlikte yükseldiği gösterilmiştir[86]. Kontakt lens kullanıcılarında gözyaşı IL-6 ve IL-8 düzeyinin yükseldiği gösteren çalışmalar da mevcuttur [87]. Santacruz ve ark. [88] yapmış olduğu çalışmada ise bakteriyel ve fungal keratit hastalarının gözyaşında IL-6, IL-8 ve IL-1 β sitokinleri

yüksek bulunmuştur. Oküler yüzey inflamasyonu ile giden konjonktivaşalazis hastalarının gözyaşında da IL-6 ve IL-8 düzeyi yüksek bulunmuş ve düzeylerinin hastalık evresi ile korele olduğu gösterilmiştir [89].

DM mikrovasküler hasara bağlı korneal sinir hasarına neden olurken aynı zamanda oküler yüzeyde inflamasyonuna bağlı oküler yüzey problemleri de açığa çıkarır. Hiperglisemiye bağlı ileri glikasyon son ürünleri oluşmakta ayrıca inflamasyonun tetiklenmesiyle oksidatif stres artmaktadır. Bu mekanizmalara bağlı olarak birçok sitokin ve kemokin düzeyi değişmektedir [90]. Yapılan birçok çalışmada DM hastalarında gözyaşı, aköz ve serumda artmış sitokin düzeyleri saptanmıştır [91]. 2020 yılında yapılan bir hayvan deneyinde DM kliniği oluşturulmuş deneklerin lakrimal bezinde IL-6 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [92]. Retinopati olgularında gözyaşı sitokinleriyle ilgili birçok çalışma mevcuttur [93, 94]. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar incelendiğinde retinopati gelişmeyen hastalarda da gözyaşı sitokin düzeyleri artmıştır. Bu durum diyabetin oküler yüzeyde meydana getirdiği inflamasyona bağlanabilir. Sorkhabi ve ark. [95] 2022 yılında yapmış olduğu DRP bulgusu olan ve olmayan DM hastalarının dahil edildiği güncel bir çalışmada sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında her iki DM grubunda gözyaşı IL-8 ve TNF- α düzeyi yüksek bulunmuştur. Ayrıca IL-8 düzeyinin hastalığın evresi ile pozitif korelasyonu saptanmıştır. Liu ve ark. [68] yapmış olduğu başka bir çalışmada ise 15 sağlıklı birey ile 15 DRP geliştirmemiş DM hastası ile 15 DRP gelişmiş DM hastasının gözyaşı sitokinleri incelendiğinde her iki DM grubunda IL-1RA düzeyi yüksek bulunmuştur. Ayrıca Anti-anjiyogenik / anjiyogenik sitokin oranı (IFN- γ /MCP-1 ve IL-4/MCP-1) her iki DM grubunda daha düşüktür. Liu ve ark. [12] yapmış olduğu başka bir çalışmada ise 4 farklı gruba ait gözyaşı mediyatörleri incelenmiştir. 1. Grup olan kuru göz tanısı olan DM hastalarının gözyaşında EGF düzeyi yüksek saptanmıştır ancak IL-17A, IL-1 β , ve TNF- α düzeyleri kuru göz tanısı olmayan DM grubu ile benzerdir. DM tanısı olmayan kuru göz hastalarının gözyaşlarında ise bu 3 sitokin (IL-17A, IL-1 β , ve TNF- α) yüksek bulunmuştur. Bu çalışma DM ve kuru göze bağlı oküler yüzey inflamasyonunda benzer mekanizmalar olsa dahi bazı farklılıklar olduğuna ışık tutmaktadır. Kim ve ark. [96] 30 DM hastası ile 30 sağlıklı bireyin katarakt cerrahisi

sonrası gözyaşı sitokinleri incelediği çalışmada DM hastalarında inflamatuvar sitokinlerin postoperatif 1. aya kadar daha uzun süre yüksek kaldığı, sağlıklı bireylerde ise IL-8 gözyaşı düzeyinin daha düşük olduğu görülmüştür. Ocak 2023 tarihinde yapılan güncel başka bir çalışmada ise katarakt cerrahisi sonrası DM hastaların gözyaşındaki IL-6 düzeyinin matriks metalloproteinazlarla birlikte daha yüksek seyrettiği gösterilmiştir [97].

Sonuç olarak çalışmamızda DM hastalarında oküler yüzey fonksiyon testleri belirgin olarak bozulmamış olsa dahi hastaların oküler yüzeyinde hücresel düzeyde bozukluklar olduğu görüldü. Periferik nöropati veya herhangi bir komplikasyon geliştirmemiş hasta grubumuzda korneal sinir yoğunluğu sağlıklı grup ile benzerdi ancak sinir tortuozitesi anlamlı şekilde yüksek bulundu. Ayrıca DM grubunun periferik sinir uçlarından salınan gözyaşı SP düzeyi daha düşüktü. Sağlıklı grup ile benzer korneal boyanma, OSDI ve schirmer sonuçları olmasına rağmen DM hastalarının gözyaşı sitokinlerinde IL-6 ve IL-8 düzeyi yüksekti. Bu sonuçlar ışığında DM hastalarında hastalığın komplikasyon gelişmemiş erken evrelerinde dahi korneal sinir hasarından ve oküler yüzey inflamasyonu varlığından bahsetmek mümkündür.

6. SONUÇLAR

- DM grubu ve kontrol grubu yaş ile cinsiyet açısından benzer bulundu.
- DM grubu ile kontrol grubu arasında schirmer testi, OSDI skoru ve floresein ile boyanma evresi (OXFORD) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.
- İVKM'de ölçülen korneal sinir tortuozitesi DM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmış bulundu.
- İVKM ölçümü ile elde edilen bazal epitel hücre sayısı ve endotel sayısı iki grup arasında benzer bulundu.
- Floresein ile boyanma evresi ile schirmer testi arasında negatif, OSDI skoru ile pozitif korelasyon mevcuttu.
- Cochet bonnet esteziometri ölçümleri ile sinir lifleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.
- Gözyaşı Substans P düzeyi ise total sinir lifi ve uzun sinir lifi sayısı korele idi.
- Substans P düzeyi DM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük saptandı.
- Gözyaşı IL-6 ve IL-8 düzeyi DM grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek saptandı ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

7. KAYNAKLAR

1. Han, S.B., H.K. Yang, and J.Y. Hyon, *Influence of diabetes mellitus on anterior segment of the eye*. Clinical interventions in aging, 2019. **14**: p. 53.
2. Adeoti, C., et al., *The anterior segment of the eye in diabetes*. Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ), 2012. **6**: p. 667.
3. Shih, K., K.S. Lam, and L. Tong, *A systematic review on the impact of diabetes mellitus on the ocular surface*. Nutrition & diabetes, 2017. **7**(3): p. e251-e251.
4. Misra, S.L., G.D. Braatvedt, and D.V. Patel, *Impact of diabetes mellitus on the ocular surface: a review*. Clinical & experimental ophthalmology, 2016. **44**(4): p. 278-288.
5. Beckman, K.A., *Characterization of dry eye disease in diabetic patients versus nondiabetic patients*. Cornea, 2014. **33**(8): p. 851-854.
6. Cousen, P., et al., *Tear production and corneal sensitivity in diabetes*. Journal of Diabetes and its Complications, 2007. **21**(6): p. 371-373.
7. Yang, L., et al., *Substance P promotes diabetic corneal epithelial wound healing through molecular mechanisms mediated via the neurokinin-1 receptor*. Diabetes, 2014. **63**(12): p. 4262-4274.
8. Markoulli, M., et al., *Corneal nerve morphology and tear film substance P in diabetes*. Optometry and Vision Science, 2017. **94**(7): p. 726-731.
9. Bikbova, G., et al., *Corneal changes in diabetes mellitus*. Current diabetes reviews, 2012. **8**(4): p. 294-302.
10. Alves, M., et al., *Increased expression of advanced glycation end-products and their receptor, and activation of nuclear factor kappa-B in lacrimal glands of diabetic rats*. Diabetologia, 2005. **48**(12): p. 2675-2681.
11. Kaiserman, I., et al., *Dry eye in diabetic patients*. American journal of ophthalmology, 2005. **139**(3): p. 498-503.
12. Liu, R., et al., *Tear inflammatory cytokines analysis and clinical correlations in diabetes and nondiabetes with dry eye*. American Journal of Ophthalmology, 2019. **200**: p. 10-15.
13. Sorkhabi, R., et al., *Assessment of tear inflammatory cytokines concentration in patients with diabetes with varying severity of involvement*. Experimental Eye Research, 2022. **224**: p. 109233.
14. Pflugfelder, S.C. and M.E. Stern, *Biological functions of tear film*. Experimental eye research, 2020. **197**: p. 108115.
15. Montés-Micó, R., et al., *The tear film and the optical quality of the eye*. The ocular surface, 2010. **8**(4): p. 185-192.

16. Cwiklik, L., *Tear film lipid layer: A molecular level view*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 2016. **1858**(10): p. 2421-2430.
17. Georgiev, G.A., P. Eftimov, and N. Yokoi, *Structure-function relationship of tear film lipid layer: A contemporary perspective*. Experimental eye research, 2017. **163**: p. 17-28.
18. Klenkler, B., H. Sheardown, and L. Jones, *Growth factors in the tear film: role in tissue maintenance, wound healing, and ocular pathology*. The ocular surface, 2007. **5**(3): p. 228-239.
19. Willcox, M.D., et al., *TFOS DEWS II tear film report*. The ocular surface, 2017. **15**(3): p. 366-403.
20. Baudouin, C., et al., *Reconsidering the central role of mucins in dry eye and ocular surface diseases*. Progress in retinal and eye research, 2019. **71**: p. 68-87.
21. Abusharha, A.A. and E.I. Pearce, *The effect of low humidity on the human tear film*. Cornea, 2013. **32**(4): p. 429-434.
22. DelMonte, D.W. and T. Kim, *Anatomy and physiology of the cornea*. Journal of Cataract & Refractive Surgery, 2011. **37**(3): p. 588-598.
23. Farjo, A., M. McDermott, and H.K. Soong, *Corneal anatomy, physiology, and wound healing*. Ophthalmology, 2009. **44**(2): p. 203-208.
24. Gipson, I.K. and M.A. Stepp, *Anatomy and cell biology of the cornea, superficial limbus, and conjunctiva*. Albert and Jakobiec's Principles and Practice of Ophthalmology, 2022: p. 3-30.
25. Dua, H.S., et al., *Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer)*. Ophthalmology, 2013. **120**(9): p. 1778-1785.
26. Müller, L.J., et al., *Corneal nerves: structure, contents and function*. Experimental eye research, 2003. **76**(5): p. 521-542.
27. Liu, Y.-C., M.T.-Y. Lin, and J.S. Mehta, *Analysis of corneal nerve plexus in corneal confocal microscopy images*. Neural regeneration research, 2021. **16**(4): p. 690.
28. Al-Aqaba, M.A., et al., *Corneal nerves in health and disease*. Progress in retinal and eye research, 2019. **73**: p. 100762.
29. Mantelli, F., et al., *Neurogenic inflammation of the ocular surface*. Current opinion in allergy and clinical immunology, 2010. **10**(5): p. 498-504.
30. Muñoz, M. and R. Coveñas, *Involvement of substance P and the NK-1 receptor in human pathology*. Amino acids, 2014. **46**(7): p. 1727-1750.
31. Bandamwar, K.L., E.B. Papas, and Q. Garrett, *Fluorescein staining and physiological state of corneal epithelial cells*. Contact Lens and Anterior Eye, 2014. **37**(3): p. 213-223.

32. Morgan, P.B. and C. Maldonado-Codina, *Corneal staining: do we really understand what we are seeing?* Contact Lens and Anterior Eye, 2009. **32**(2): p. 48-54.
33. Kumar, A. and M. Thirumalesh, *Use of dyes in ophthalmology*. Journal of Clinical Ophthalmology and Research, 2013. **1**(1): p. 55.
34. Ünlü, C., et al., *Comparison of ocular-surface disease index questionnaire, tearfilm break-up time, and Schirmer tests for the evaluation of the tearfilm in computer users with and without dry-eye symptomatology*. Clinical ophthalmology (Auckland, NZ), 2012. **6**: p. 1303.
35. Miyake, H., et al., *Tear volume estimation using a modified Schirmer test: a randomized, multicenter, double-blind trial comparing 3% diquafosol ophthalmic solution and artificial tears in dry eye patients*. Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ), 2016. **10**: p. 879.
36. Singh Bhinder, G. and H. Singh Bhinder, *Reflex epiphora in patients with dry eye symptoms: role of variable time Schirmer-1 test*. European journal of ophthalmology, 2005. **15**(4): p. 429-433.
37. Lemp, M.A. and G.N. Foulks, *The definition and classification of dry eye disease*. Ocul Surf, 2007. **5**(2): p. 75-92.
38. Patel, D.V. and C.N. McGhee, *Mapping of the normal human corneal sub-basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy*. Investigative ophthalmology & visual science, 2005. **46**(12): p. 4485-4488.
39. Chao, C., et al., *Ocular surface sensitivity repeatability with Cochet-Bonnet esthesiometer*. Optometry and Vision Science, 2015. **92**(2): p. 183-189.
40. Rosenberg, M.E., et al., *Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus*. Investigative ophthalmology & visual science, 2000. **41**(10): p. 2915-2921.
41. Stapleton, F., et al., *The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the subcommittee on neurobiology*. Investigative ophthalmology & visual science, 2013. **54**(11): p. TFOS71-TFOS97.
42. Golebiowski, B., E. Papas, and F. Stapleton, *Assessing the sensory function of the ocular surface: Implications of use of a non-contact air jet aesthesiometer versus the Cochet–Bonnet aesthesiometer*. Experimental eye research, 2011. **92**(5): p. 408-413.
43. Jalbert, I., et al., *In vivo confocal microscopy of the human cornea*. British Journal of Ophthalmology, 2003. **87**(2): p. 225-236.
44. Niederer, R. and C. McGhee, *Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease*. Progress in retinal and eye research, 2010. **29**(1): p. 30-58.

45. Najafi, L., et al., *Dry eye and its correlation to diabetes microvascular complications in people with type 2 diabetes mellitus*. Journal of Diabetes and its Complications, 2013. **27**(5): p. 459-462.
46. Wild, S., et al., *Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030*. Diabetes care, 2004. **27**(5): p. 1047-1053.
47. Auster-Gussman, L.A., et al., *Reach of a Fully Digital Diabetes Prevention Program in Health Professional Shortage Areas*. Population Health Management, 2022.
48. Inzucchi, S.E. and R.S. Sherwin, *Type 2 diabetes mellitus*. Cecil Medicine. 24th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2011.
49. Ripsin, C.M., H. Kang, and R.J. Urban, *Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus*. American family physician, 2009. **79**(1): p. 29-36.
50. Marshall, S.M. and A. Flyvbjerg, *Prevention and early detection of vascular complications of diabetes*. Bmj, 2006. **333**(7566): p. 475-480.
51. Brownlee, M., *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Nature, 2001. **414**(6865): p. 813-820.
52. Tajunisah, I., et al., *Awareness of eye complications and prevalence of retinopathy in the first visit to eye clinic among type 2 diabetic patients*. International journal of ophthalmology, 2011. **4**(5): p. 519.
53. Forbes, J.M., G. Soldatos, and M.C. Thomas, *Below the Radar: Advanced Glycation End Products that Detour "around the side": Is HbA1c not an accurate enough predictor of long term progression and glycaemic control in diabetes?* The Clinical biochemist. Reviews/Australian Association of Clinical Biochemists., 2005. **26**(4): p. 123.
54. Kowluru, R.A. and P.-S. Chan, *Oxidative stress and diabetic retinopathy*. Experimental diabetes research, 2007. **2007**.
55. Sayin, N., N. Kara, and G. Pekel, *Ocular complications of diabetes mellitus*. World journal of diabetes, 2015. **6**(1): p. 92.
56. Priyadarsini, S., et al., *Diabetic keratopathy: Insights and challenges*. Survey of ophthalmology, 2020. **65**(5): p. 513-529.
57. Ozdemir, M., et al., *Risk factors for ocular surface disorders in patients with diabetes mellitus*. Diabetes research and clinical practice, 2003. **59**(3): p. 195-199.
58. Dogru, M., C. Katakami, and M. Inoue, *Tear function and ocular surface changes in noninsulin-dependent diabetes mellitus*. Ophthalmology, 2001. **108**(3): p. 586-592.
59. Pritchard, N., et al., *Corneal confocal microscopy predicts 4-year incident peripheral neuropathy in type 1 diabetes*. Diabetes care, 2015. **38**(4): p. 671-675.

60. Masmali, A.M., et al., *Investigation of ocular tear ferning in controlled and uncontrolled diabetic subjects*. Eye & contact lens, 2018. **44**: p. S70-S75.
61. Manchikanti, V., et al., *Ocular surface disorder among adult patients with type II diabetes mellitus and its correlation with tear film markers: A pilot study*. Taiwan Journal of Ophthalmology, 2021. **11**(2): p. 156.
62. Zherebitskaya, E., et al., *Development of selective axonopathy in adult sensory neurons isolated from diabetic rats: role of glucose-induced oxidative stress*. Diabetes, 2009. **58**(6): p. 1356-1364.
63. Skarbez, K., et al., *Comprehensive review of the effects of diabetes on ocular health*. Expert review of ophthalmology, 2010. **5**(4): p. 557-577.
64. Quadrado, M.J., et al., *Diabetes and corneal cell densities in humans by in vivo confocal microscopy*. Cornea, 2006. **25**(7): p. 761-768.
65. Papanas, N. and D. Ziegler, *Corneal confocal microscopy: recent progress in the evaluation of diabetic neuropathy*. Journal of diabetes investigation, 2015. **6**(4): p. 381-389.
66. Oliveira-Soto, L. and N. Efron, *Morphology of corneal nerves using confocal microscopy*. Cornea, 2001. **20**(4): p. 374-384.
67. Efron, N., *The Glenn A. Fry award lecture 2010: Ophthalmic markers of diabetic neuropathy*. Optometry and Vision Science, 2011. **88**(6): p. 661-683.
68. Liu, J., et al., *Changes to tear cytokines of type 2 diabetic patients with or without retinopathy*. Molecular Vision, 2010. **16**: p. 2931.
69. Wu, Y.-C., et al., *Elevated IGFBP3 levels in diabetic tears: a negative regulator of IGF-1 signaling in the corneal epithelium*. The ocular surface, 2012. **10**(2): p. 100-107.
70. Liu, H., et al., *Expression of SIRT1 and oxidative stress in diabetic dry eye*. International journal of clinical and experimental pathology, 2015. **8**(6): p. 7644.
71. Irkec, M. and T.O.S. Group, *Reliability and validity of Turkish translation of the Ocular Surface Disease Index (OSDI) in dry eye syndrome*. Investigative ophthalmology & visual science, 2007. **48**(13): p. 408-408.
72. Bron, A.J., V.E. Evans, and J.A. Smith, *Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests*. Cornea, 2003. **22**(7): p. 640-650.
73. Khan, M.A.B., et al., *Epidemiology of type 2 diabetes—global burden of disease and forecasted trends*. Journal of epidemiology and global health, 2020. **10**(1): p. 107.
74. Zhang, X., et al., *Dry eye syndrome in patients with diabetes mellitus: prevalence, etiology, and clinical characteristics*. Journal of ophthalmology, 2016. **2016**.

75. Manaviat, M.R., et al., *Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients*. BMC ophthalmology, 2008. **8**: p. 1-5.
76. Rehany, U., et al., *Ultrastructural changes in corneas of diabetic patients: an electron-microscopy study*. Cornea, 2000. **19**(4): p. 534-538.
77. Jiang, M.-S., et al., *Corneal confocal microscopy for assessment of diabetic peripheral neuropathy: a meta-analysis*. British Journal of Ophthalmology, 2016. **100**(1): p. 9-14.
78. Mocan, M.C., et al., *Morphologic alterations of both the stromal and subbasal nerves in the corneas of patients with diabetes*. Cornea, 2006. **25**(7): p. 769-773.
79. DeMill, D.L., et al., *Ocular surface disease in patients with diabetic peripheral neuropathy*. British Journal of Ophthalmology, 2016. **100**(7): p. 924-928.
80. Lyu, Y., et al., *The effect of the duration of diabetes on dry eye and corneal nerves*. Contact Lens and Anterior Eye, 2019. **42**(4): p. 380-385.
81. Xiong, Q., et al., *Corneal confocal microscopy as a non-invasive test to assess diabetic peripheral neuropathy*. Diabetes research and clinical practice, 2018. **136**: p. 85-92.
82. Yamada, M., et al., *Substance P in human tears*. Cornea, 2003. **22**(7): p. S48-S54.
83. Suvas, S., *Role of Substance P Neuropeptide in Inflammation, Wound Healing, and Tissue Homeostasis*. The Journal of Immunology, 2017. **199**(5): p. 1543-1552.
84. Tummanapalli, S.S., et al., *Tear film substance P: A potential biomarker for diabetic peripheral neuropathy*. The ocular surface, 2019. **17**(4): p. 690-698.
85. Fodor, M., et al., *Enhanced release of IL-6 and IL-8 into tears in various anterior segment eye diseases*. Ophthalmic Res, 2006. **38**(4): p. 182-8.
86. Roda, M., et al., *Dry Eye Disease and Tear Cytokine Levels-A Meta-Analysis*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(9).
87. Poyraz, C., M. Irkeç, and M.C. Mocan, *Elevated tear interleukin-6 and interleukin-8 levels associated with silicone hydrogel and conventional hydrogel contact lens wear*. Eye Contact Lens, 2012. **38**(3): p. 146-9.
88. Santacruz, C., et al., *Expression of IL-8, IL-6 and IL-1 β in tears as a main characteristic of the immune response in human microbial keratitis*. International Journal of Molecular Sciences, 2015. **16**(3): p. 4850-4864.
89. Erdogan-Poyraz, C., et al., *Elevated tear interleukin-6 and interleukin-8 levels in patients with conjunctivochalasis*. Cornea, 2009. **28**(2): p. 189-93.
90. Tangvarasittichai, O. and S. Tangvarasittichai, *Oxidative Stress, Ocular Disease and Diabetes Retinopathy*. Curr Pharm Des, 2018. **24**(40): p. 4726-4741.

91. Hagan, S., E. Martin, and A. Enríquez-de-Salamanca, *Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: potential use for predictive, preventive and personalised medicine*. Epma j, 2016. **7**(1): p. 15.
92. Mu, P.Y., et al., *PPAR γ : the dominant regulator among PPARs in dry eye lacrimal gland and diabetic lacrimal gland*. Int J Ophthalmol, 2020. **13**(6): p. 860-869.
93. López-Contreras, A.K., et al., *Importance of the Use of Oxidative Stress Biomarkers and Inflammatory Profile in Aqueous and Vitreous Humor in Diabetic Retinopathy*. Antioxidants (Basel), 2020. **9**(9).
94. Costagliola, C., et al., *TNF-alpha levels in tears: a novel biomarker to assess the degree of diabetic retinopathy*. Mediators Inflamm, 2013. **2013**: p. 629529.
95. Sorkhabi, R., et al., *Assessment of tear inflammatory cytokines concentration in patients with diabetes with varying severity of involvement*. Exp Eye Res, 2022. **224**: p. 109233.
96. Kim, A.Y., et al., *Ocular Surface and Tear Cytokine Changes after Cataract Surgery in Patients with Type 2 Diabetes*. Ocul Immunol Inflamm, 2022: p. 1-8.
97. Lv, J., et al., *Tear inflammation related indexes after cataract surgery in elderly patients with type 2 diabetes mellitus*. World J Clin Cases, 2023. **11**(2): p. 385-393.