



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**EVAPORATİF KURU GÖZ HASTALIĞI OLUŞUMUNDA
MEİBOMİUS BEZ HASTALIĞININ VE
NÖROMEDİYATÖRLERİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ahmet Alp BİLGİÇ

ANKARA

2019



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**EVAPORATİF KURU GÖZ HASTALIĞI OLUŞUMUNDA
MEİBOMİUS BEZ HASTALIĞININ VE
NÖROMEDİYATÖRLERİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ahmet Alp BİLGİÇ

TEZ DANIŞMANLARI:

Prof. Dr. Murat İRKEÇ

Doç. Dr. Sibel KOCABEYOĞLU

ANKARA

2019

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesindeki çaba ve emeklerinden ötürü; engin bilgi ve tecrübeleriyle desteklerini esirgemeyen tez danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Murat İRKEÇ'e ve Sayın Doç. Dr. Sibel KOCABEYOĞLU'na, çalışmanın laboratuvar aşamasındaki yardımları için Sayın Dr. Çağman TAN'a, çalışmanın istatistiksel analizi aşamasında sabırla çalışan Sayın Doç. Dr. Jale KARAKAYA'ya, bu tez çalışması ile noktaladığım uzmanlık eğitimimde bana emeği geçen tüm Hacettepe Göz ailesine ve başta eşim Işıl olmak üzere her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.



ÖZET

Bilgiç AA. Evaporatif Kuru Göz Hastalığı Oluşumunda Meibomius Bez Hastalığının ve Nöromediyatörlerin Rolü, Ankara 2019. Bu çalışmanın amacı; ekran kullanımının oküler yüzey üzerinde yaptığı değişiklikleri ve bunların kuru göz bulgularıyla ilişkisini ve meibomius bez disfonksiyonunun (MBD) oküler yüzey üzerinde yaptığı değişiklikleri incelemek, ve ekran kullanımı ile oluşan değişiklikler ile karşılaştırmaktır. Ayrıca, bu değişikliklerin gözyaşı sitokin düzeyleri ve Substans P (SP) düzeyleri ile ilişkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu amaçla kliniğimize başvurmuş, günde 4 saatten fazla ekran kullanımı olan 17 hasta, günde 4 saatten fazla ekran kullanımı ile birlikte MBD'si olan 17 hasta, ekran kullanımı günde 4 saatten az olan ve MBD'si olan 26 hasta ile yaş ve cinsiyet dağılımı benzer olan, oküler yüzey hastalığı veya şikayeti olmayan sağlıklı 20 kişi kontrol grubu olarak değerlendirildi. Ekran kullanım süresi sorgulandı. Oküler yüzey ve gözyaşı fonksiyonları; OSDI (Oküler yüzey hastalık indeksi) anketi, gözyaşı kırılma zamanı (GKZ) değerlendirmesi, flöresein ve lizamin ile oküler yüzey boyanması, Schirmer testi, meibografi ile MBD evrelendirmesi, in vivo konfokal mikroskopi (İVKM) ölçümleri ve Cochet-Bonnet ile kornea hassasiyet ölçümleri ile değerlendirildi. Hastaların gözyaşlarında GM-CSF, G-CSF, IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, TNF- α , MCP-1, IP-10, MIG, RANTES, Eotaksin, MIP-1 α , MIP-1 β , EGF, FGF, HGF ve VEGF düzeyleri Luminex ile, gözyaşlarında SP düzeyi ise ELISA ile çalışıldı. Ekran kullanım süresi 4 saatin üzerinde olanlarda ve MBD olanlarda anlamlı olarak OSDI skorunun daha yüksek olduğu ($p<0,001$), flöresein ve lizamin ile korneal boyanmanın daha fazla olduğu ($p=0,029$), GKZ'nin kısaldığı ($p<0,001$) bulundu. Schirmer testi açısından anlamlı farklılık saptanmadı. İVKM ölçümlerinde anlamlı farklılık izlenmedi. Sinir tortuozeitesi sadece MBD olanlarda anlamlı olarak artmış bulundu ($p=0,024$). Korneal hassasiyet ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi. Gözyaşında, sadece IL-6 düzeyi hasta gruplarında anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,006$). Gözyaşı SP düzeylerinde anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0,265$). Ekran kullanım süresi ile OSDI skoru ($p=0,014$) ve SP düzeyi ($p=0,011$) arasında zayıf pozitif korelasyon görüldü. Sonuç olarak, ekran kullanımı süresinin uzamasının oküler yüzey ve gözyaşı filminde değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Ekran kullanımı ile birlikte MBD olmasının oküler yüzey bulgularını ve semptomlarını şiddetlendirmedeği görülmüştür. Ekran kullanımı veya hafif-orta MBD varlığında gelişen evaporatif kuru gözde, oküler yüzeyde anlamlı bir iltihabi cevabın oluşmadığı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Evaporatif kuru göz, meibomius bez disfonksiyonu, in vivo konfokal mikroskopi, sitokin, substans p

ABSTRACT

Bilgiç AA. The Role of Meibomius Gland Disease and Neuromediators in Evaporative Dry Eye Disease, Ankara 2019. The aim of this study is to evaluate the effects of visual display terminal (VDT) work and meibomian gland dysfunction (MGD) on the ocular surface and their association with dry eye disease. In addition, the comparison of the changes with VDT work and changes with MGD were evaluated and the relationship between these changes and tear cytokine levels and Substance P (SP) levels were evaluated. 17 patients with more than 4 hr/day VDT work, 17 patients with more than 4 hr/day VDT work and with MGD, 26 patients with less than 4 hr/day VDT work and with MGD who admitted to our clinic and a sex and age matched control group of 20 patients who had no history of any ocular disease except refractive errors were enrolled. VDT work duration were examined, ocular surface and tear functions were evaluated with; OSDI (Ocular surface disease index) questionnaire, tear breakup time (TBUT) assesment, Fluorescein and Lissamine staining of the ocular surface, Schirmer test, MGD staging with meibography, in vivo confocal microscopy (IVCM) measurement and corneal sensitivity measurement with Cochet-Bonnet. GM-CSF, G-CSF, IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, TNF- α , MCP-1, IP-10, MIG, RANTES, Eotaksin, MIP-1 α , MIP-1 β , EGF, FGF, HGF ve VEGF levels in tears were examined with Luminex and SP levels in tears were examined with ELISA. In VDT work group and in MGD group, OSDI score was higher ($p<0,001$), corneal flourescein and lissamine staining was increased ($p=0,029$), TBUTs were shorter ($p<0,001$). The difference of Schirmer test was not significant between groups. The difference of IVCM measurements was not significant between the groups but nerve tortuosity was increased in the group who is with MGD and had less than 4 hr/day VDT work. Corneal sensitivity measurements were not significantly different between groups. In dry eye groups tear IL-6 levels was higher than control group ($p=0,006$). Tear SP levels had no significant difference between the groups ($p=0,265$). There was a weak positive correlation between VDT work time and OSDI score ($p=0,014$), also between VDT work time and SP levels ($p=0,011$). In conclusion; prolongation of VDT work time was seen to cause changes in ocular surface and tear film. It was also seen that MGD with VDT work did not exacerbate ocular surface findings and symptoms. It was considered that there was no significant inflammatory response on the ocular surface in the evaporative dry eye developing in the presence of VDT work or mild to moderate MGD.

Key words: Evaporative dry eye, meibomian gland dysfunction, in vivo confocal microscopy, cytokine, substance p

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gözyaşı Film Tabakası Yapısı ve İşlevleri	3
2.2. Kuru Göz Hastalığı	5
2.2.1. Kuru Göz Tanımı ve Sınıflandırılması	5
2.2.2. Meibomian Bez Disfonksiyonu	10
2.2.3. Göz Kırpma ve Ekran Kullanımı	12
2.2.4. Kuru Göz Tanı Yöntemleri	15
2.3. Kuru Göz Patofizyolojisinde Sitokinlerin Yeri	22
2.4. Nörojenik İnflamasyon ve Substance-P	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR	61
7. KAYNAKLAR	62

KISALTMALAR

GKZ: Gözyaşı kırılma zamanı

MBD: Meibomian bez disfonksiyonu

DEWS: Kuru Göz Çalıştay

TFOS: Gözyaşı Filmi ve Oküler Yüzey Topluluğu

KL: Kontak lens

İVKM: İn vivo konfokal mikroskopi

OSDI: Oküler Yüzey Hastalık İndeksi

SP: Substans P

CGRP: Kalsitonin gen ilişkili peptid

NK: Nörokinin

IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1

NGF: Sinir büyüme faktörü

NPY: Nöropeptid Y

VIP: Vazointestinal peptid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Sağlıklı gözyaşı film tabakası	5
2.2. Kuru gözde “Kısır Döngü”	7
2.3. DEWS II Kuru Göz Etiyolojik Sınıflaması	8
2.4. DEWS II Kuru Göz Algoritması	9
2.5. Göz kırpma döngüsü	12
2.6. MBD Sınıflaması	13
2.7. Meibografi Skalası	21
2.8. Ağır Kuru Göz Algoritması	22
3.1. OSDI Anketi	32
3.2. Oxford skalasına göre oküler yüzey boyanması	34
3.3. Confoscan 4.0	37
3.4. Luminex cihazı	38
4.1. MBD evrelerine göre meibografi görüntüleri	47

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
4.1. Grupların yaş ortalaması karşılaştırılması	40
4.2. Grupların cinsiyet dağılımı karşılaştırılması	40
4.3. Gruplar arasında sigara kullanımının karşılaştırılması	41
4.4. Grupların OSDI skor ortalamalarının karşılaştırılması	41
4.5. İkili gruplar arasında OSDI skorlarının karşılaştırılması	41
4.6. Gruplar arasında GKZ ve Schirmer testi sonuçlarının karşılaştırılması	42
4.7. Floresein ile boyanma durumunun gruplar arasında dağılımı	43
4.8. Oxford skalasına göre Floresein ile boyanma evrelerinin gruplar arasında karşılaştırılması	43
4.9. Oxford skalasına göre Floresein ile boyanma evrelerinin ikili gruplar arasında karşılaştırılması	43
4.10. Lizamin ile boyanma durumunun gruplar arasında dağılımı	44
4.11. Oxford skalasına göre Lizamin ile boyanma evrelerinin gruplar arasında karşılaştırılması	44
4.12. Oxford skalasına göre Lizamin ile boyanma evrelerinin gruplar arasında karşılaştırılması	45
4.13. Gruplar arasında bazal epitel ve endotel hücrelerinin İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması	45
4.14. Gruplar arasında subbazal sinir pleksusu İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması	46
4.15. İkili gruplar arasında sinir tortuozite evrelerinin karşılaştırılması	46
4.16. Grupların ortalama sitokin düzeyleri	48
4.17. IL-6 düzeyi ile bazı değişkenlerin korelasyon araştırılması	50
4.18. Gözyaşı SP ortalamalarının gruplar arası karşılaştırılması	50
4.19. Gözyaşı SP düzeyleri ile bazı değişkenlerin korelasyonu	51
4.20. Ekran kullanım sürelerine göre gruplar arası OSDI skoru ve SP düzeyleri karşılaştırılması	52
4.21. Ekran kullanım süresi ile OSDI skoru arasındaki korelasyon	52

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik	Sayfa
4.1. Gruplar arasında ODISSEY kriterleri baz alınarak OSDI skorları karşılaştırılması	42
4.2. Grup 2’de ve Grup 3’deki MBD olan hastaların meibografi evrelerinin değerlendirilmesi	47
4.3. Grup 1 ve Grup 2’deki ekran kullanım sürelerinin karşılaştırılması	51



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kuru göz, gözyaşı ve oküler yüzeyin multifaktöriyel bir hastalığı olup, oküler yüzey hasarı ve görme kaybı ile sonuçlanabilmektedir. Kuru göz gelişiminde yaş, cinsiyet, hormonlar, otoimmün hastalıklar, çevresel faktörler, ekran kullanımı, KL kullanımı ve bazı topikal ve/veya sistemik ilaçlar gibi pek çok intrinsik ve ekstrinsik tetikleyici faktör bulunmaktadır (1). Bu faktörlerin temel olarak gözyaşı film instabilitesine, hiperozmolariteye ve inflamasyona yol açması ile kuru göz tablosu meydana gelmektedir (2, 3).

Kuru göz hastalığının, oküler yüzey değişiklikleri ve gözyaşı filminde anomalilere neden olan lakrimal bez asinileri ve kanallarının çeşitli sitokin ve reseptör aracılı inflamasyonu sonucu oluştuğunu düşündüren kanıtlar giderek artmaktadır. Kuru göz patogeneğinde oküler yüzey inflamasyonu olduğu ve bu inflamasyonda HLA-DR, intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve CD-40 gibi immün aktivatör uyarıcılarının ve IL-1 (interlökin-1), IL-6 (interlökin-6), IL-8 (interlökin-8) ve TNF- α (tümör nekroze edici faktör- α) gibi sitokinlerin konjonktiva epitelinde arttığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (1, 2, 4).

Gözyaşı fonksiyonel ünitesindeki bozukluk aynı zamanda nörojenik inflamasyonu da tetikler. Özellikle Substans P, CGRP, VIP, NPY gibi nöromediatörler oküler yüzey epitel hücreleri, lakrimal bez hücrelerinden ve sinir son uçlarından salınarak, göz yaşında inflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6, TNF gibi) artmasına yol açarlar. Bu durum göz yüzeyinde daha fazla inflamatuvar hücre toplanmasına ve inflamasyonun şiddetlenmesine neden olur (5).

Otonomik ve duyuşal sinir uçlarından salınan bazı mediyatörler asiner bez sekresyonunu ve aynı zamanda inflamatuvar etki ile lakrimal bezi ve konjonktivayı etkileyebilir. Bu nöromediyatörlerden SP'nin, literatürde kuru göz hastalarında ve korneal hipoestezi hastalarında gözyaşı miktarlarında azalma olduğu gösterilmiş (6, 7).

Evaporatif kuru göz temel olarak gözyaşı filminin lipid tabakasındaki yetmezlik veya bozukluğa bağlı gözyaşı buharlaşmasının artması sonucunda meydana gelir. Bu bozukluğun en sık nedeni ise meibomian bez disfonksiyonudur. MBD bezin hiposekresyonu ve obstruksiyonu sonucu meydana gelebilir (2, 8). Evaporatif kuru gözün etyolojik nedenlerinden biri de azalmış göz kırpma sayısıdır. Normal göz

kırpma sayısı gözyaşı lipid tabakasının sekresyonunda ve gözyaşı film tabakasının kalınlığının korunmasında önemli bir faktördür. Tam olmayan göz kırpma veya az sayıda göz kırpma sonucunda gözyaşı buharlaşması artarak kuru göz semptomları meydana gelir (2, 9).

Evaporasyonun en sık nedeni MBD olmasına rağmen, günümüzde teknolojik gelişmelerin de etkisiyle ekran kullanımının artmasıyla birlikte göz kırpma sayısı ve ekran kullanımının evaporatif kuru göz etyolojisindeki yeri daha önemli hale gelmiştir (9, 10). Sağlıklı bir gözyaşı film tabakası için efektif göz kırpma sürecinin devamı önemlidir. Her göz kırpmada lipid tabaka ve gözyaşı filmi yenilenir. Bilgisayar karşısında olduğu gibi yüksek konsantrasyonda çalışılan durumlarda göz kırpma süreci tam olarak etkili yapılamayabilir. Bu durum da lipid tabakada bozulmaya yol açarak evaporasyonda artış ile sonuçlanır (10, 11).

Çalışmamızın amacı, evaporatif kuru göz oluşumunda MBD'nin ve ekran kullanımına bağlı evaporasyonun etkisini araştırmaktır. Aynı zamanda bu şekilde oluşan kuru göz hastalığının patofizyolojisini daha iyi anlamak için nöromediyatörlerle ilişkisinin de araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gözyaşı Film Tabakası Yapısı ve İşlevleri

Gözyaşı film tabakası lipid, aköz ve müsin tabakalarından oluşmaktadır. Santral korneal bölgede kalınlığı yaklaşık 3 μm 'dir (12). Bu tabaka sağlıklı optik sistemin korunması için önemlidir. Kornea, konjonktiva ve göz kapaklarının lubrikasyonunu sağlar. Anatomik bir bariyer fonksiyonu göstererek, göz ön yüzeyini dış ortamdan korur. Avasküler korneanın oksijenizasyonunu sağlar. Elektrolitlerin dengelenmesinden ve pH düzenlenmesinden sorumludur (13).

- **Lipid Tabaka**

Gözyaşı filminin en dış tabakasıdır. Yaklaşık 50-100 nm kalınlığında olup, oküler yüzey ile dış ortam arasındaki bariyeri oluşturur. Altındaki aköz tabakanın evaporasyonunu önler. Aynı zamanda antimikrobiyal etkinliği de vardır (14). Esas olarak Meibomian bezleri tarafından üretilen lipidlerin, göz kırpması ile oküler yüzeye yayılması sonucu lipid tabaka oluşur (15, 16). Lipid tabaka iki fazdan oluşur. Bunlardan ilki; balmumu esterler, kolesterol esterler, hidrokarbonlar ve trigliseridler gibi non-polar lipidlerin oluşturduğu kalın dış fazdır. İkincisi ise fosfolipidler, serebrozidler, seramidler ve uzun zincirli (O-açıl)-omega-hidroksi yağ asitlerinin (OAHYA) oluşturduğu ince polar fazdır (17). Polar faz gözyaşı stabilizasyonundan esas sorumlu tabakadır. Bunu, içerisindeki moleküllerin, hidrofilik başlarının aköz tabakaya doğru ve hidrofobik kuyruklarının nonpolar faza doğru yerleşmesiyle sağlamaktadır. Ayrıca, lipid tabakanın yayılması ve stabilitesi, gözyaşı proteini olan lipokalin ile artırılır. Lipokalin, polar lipidlerle kompleks oluşturup aköz yüzey gerilimini azaltarak bu etkiyi sağlar (18). Son zamanlarda, esas olarak OAHYA'nın amfifilik ve sürfaktan benzeri özelliklerinden dolayı aköz tabaka ile polar faz arasında yüzeyi oluşturan moleküller olduğu ve stabilitenin sağlanmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (17, 19).

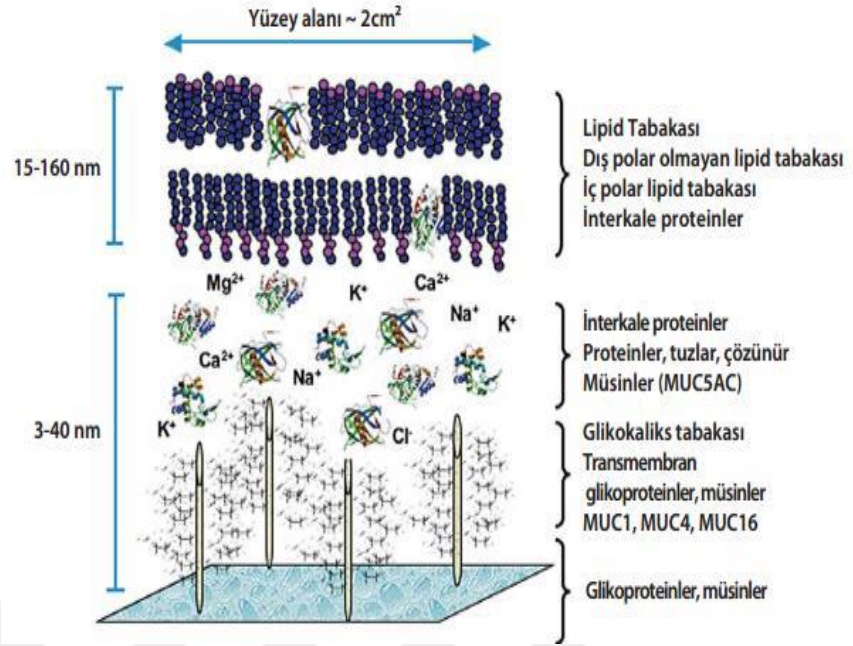
- **Aköz Tabaka**

Aköz tabaka yaklaşık 7 μm kalınlığındadır. Temel olarak lakrimal glanddan ve Krause ve Wolfring aksesuar lakrimal glandlarından salgılanmaktadır. Oküler

yüzeydeki elektrolitleri, proteinleri (lizozim, laktoferrin ve lipokalin), peptit büyüme faktörleri (EGF, HGF, TGF β), vitaminleri, sitokinleri, immunglobulinleri (IgA) ve hormonları içerir. Bu nedenle oküler yüzeyin korunmasında ve diğer tabakalarla iletişimde çok önemlidir (20). Aköz tabaka, avasküler kornea epitel hücrelerinin beslenmesinden ve bu hücrelere oksijen transferinden sorumludur. Aynı zamanda epiteliyal debrisin, toksinlerin ve yabancı cisimlerin uzaklaştırılmasını sağlar. Aköz tabaka, gözyaşı film ozmolaritesinin stabilizasyonunu sağlar, pH'yı düzenler, hiperozmolariteyi ve elektrolit konsantrasyon artışını önler. Bu sayede epiteliyal hücrelerin bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur. Aköz tabakadaki proteinler oküler yüzey savunmasına katkı sağlar. Bunların yanı sıra aköz tabaka büyüme faktörleri ve antioksidanlar içermektedir; bu sayede epitel hücre rejenerasyona ve yara iyileşmesine yardımcı olmaktadır (21).

- **Müsin Tabaka**

Müsin tabaka 0,2-0,5 μm kalınlığındadır. Konjonktiva epitel hücreleri arasındaki goblet hücrelerinden ve bir miktar da Henle kriptleri ve Manz bezlerinden salgılanmaktadır. Kornea ve konjonktiva epitel hücrelerinin apikal membranlarına bağlanmış transmembran müsinler ise glikokaliks tabakayı oluşturur. Gözyaşı müsinini $\frac{1}{4}$ oranında protein, $\frac{3}{4}$ oranında karbonhidrat içeren bir glikoproteindir. Bu karbonhidrat yapıları, yüksek oranda glikozile olan ekstraselüler bölgeye yerleşerek, Galektin-3 gibi karbonhidrat bağlayıcı proteinlerle etkileşirler. Bu sayede dış epiteliyal hücrelerin apikal bölgesinde bir çeşit bariyer yapısı oluştururlar (22). Müsin tabakası, hidrofobik kornea epitelini hidrofilik hale getirir, kornea yüzeyinde gözyaşı filminin kararlılığını sağlar, yüzey gerilimini azaltarak nonpolar yüzeylerin ıslatılmasını sağlar ve gözyaşı elemanlarının tutunacağı iskelet yapısı oluşturur. Ayrıca, lubrikasyon, nötralizasyon ve yabancı cisimlerin uzaklaştırılması gibi fonksiyonları da vardır.



Şekil 2.1. Sağlıklı gözyaşı film tabakası (23). Tomlinson ve ark.'dan uyarlanmıştır.

2.2. Kuru Göz Hastalığı

2.2.1. Kuru Göz Tanımı ve Sınıflandırılması

Kuru göz, hastaların görmesini ve yaşam kalitesini etkileyebilen multifaktöriyel bir hastalıktır (1). Dünyadaki erişkin popülasyonun yaklaşık %5-50'sini etkilemektedir (24). Kuru göz gelişiminde yaş, cinsiyet, hormonlar, otoimmün hastalıklar, çevresel faktörler, ekran kullanımı, kontakt lens kullanımı ve ilaçlar gibi bir çok intrinsik ve ekstrinsik tetikleyici faktör rol oynamaktadır (1). Bu faktörlerin gözyaşı film instabilitesine, hiperozmolariteye ve inflamasyona yol açması sonucu kuru göz tablosu meydana gelir (25, 26). Hastalığın multifaktöryel doğası ve hastaların semptomatolojisi ile oküler yüzey bulguları arasında sıklıkla görülen uyumsuzluk nedeniyle kuru gözün teşhisi ve şiddetinin değerlendirilmesi zorluklara neden olmaktadır (1).

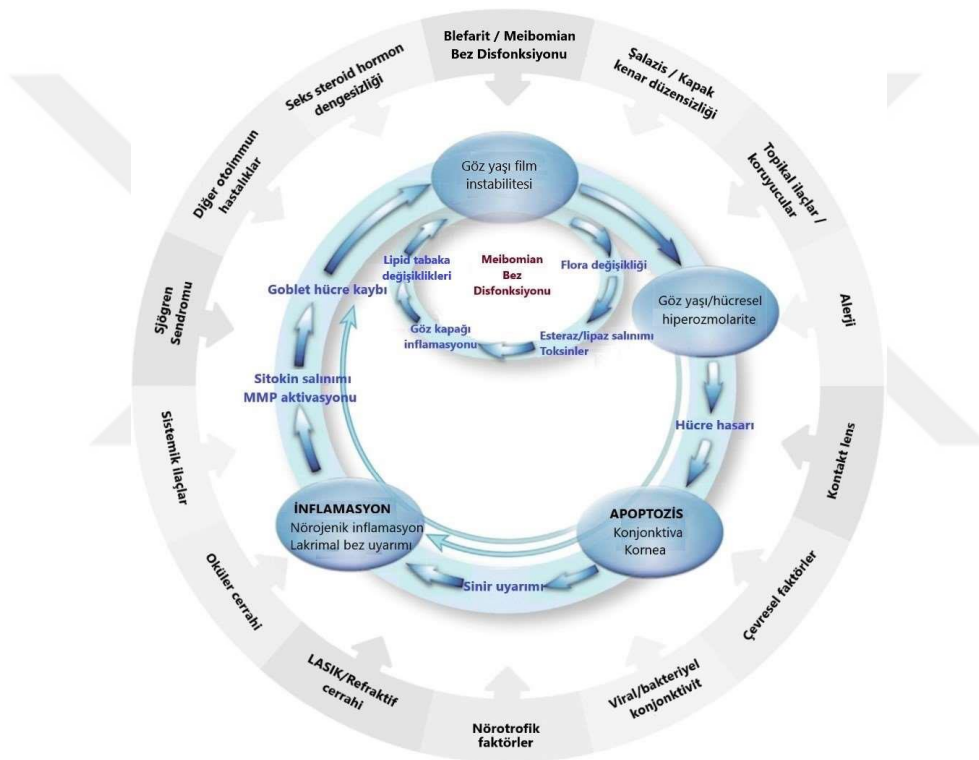
Altta yatan mekanizma değişse de kuru gözde temel olay, gözyaşı homeostazında bozulma ve bunun sonucunda ortaya çıkan rahatsızlık hissi ve görme bozukluğudur (2). Bu bilgiler doğrultusunda TFOS Uluslararası Kuru Göz Çalıştayı (DEWS), 2017 yılında yayınladığı DEWS II raporunda; “Kuru göz; etiolojisinde

gözyaşı film instabilitesinin, hiperozmolaritenin, oküler yüzey inflamasyonunun ve hasarının, nörosensöriyel anomalilerin rol oynadığı ve oküler semptomların eşlik ettiği gözyaşı film homeostazında kayıp ile karakterize oküler yüzeyin multifaktöriyel bir hastalığıdır” şeklinde yeni bir tanım getirmiştir (27).

Kronik inflamatuvar yanıt, kuru göz patogenezindeki en önemli mekanizmalardan biridir. Bu yanıtta, doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerinin ikisi de rol oynamaktadır (1). Oküler yüzey epiteli, çevresel faktörlere karşı fiziksel bir bariyer fonksiyonu göstermesinin yanında mukozal defans üzerine de katkı sağlamaktadır. Gözyaşında IgA, lizozim, laktoferrin, beta-defensin gibi birçok nonspesifik defans mekanizması bulunmuştur. Ayrıca oküler yüzey epiteli, IL-1 α , TNF- α , IL-6 ve IL-8 gibi birçok proinflamatuvar sitokinin üretiminde önemli yere sahiptir. Bu nedenle, oküler yüzey epiteli çeşitli patojenlere cevap verebilir ve inflamasyon ile sonuçlanabilir (28). Kuru gözdeki hiperozmolar stres, MAPK yolu aktivasyonu ile ana düzenleyici NKFB’yi aktive eder ve böylece IL-1 ile TNF- α üretiminin artması sonucu bu defans sistemi bozulur. IL-1 ve TNF- α ise korneal epitel hücrelerinden MMP-9 üretimini upregüle eder ve bu durum epiteliyal korneal bariyer hasarı ile ilişkilidir (2, 29). Doğal bağışıklık sisteminin bir yönü de Toll benzeri reseptör (TLR) ve NOD-benzeri reseptör (NLR) içermeleridir. Bu reseptörlerin uyarılmaları IL-1, TNF- α ve IL-6 upregülasyonu ile ilişkilidir. Bu epitel kaynaklı proinflamatuvar sitokinler inaktif antijen sunan hücreleri (APCs) aktive eder. Aktif APC rejyonel lenf nodlarına göç ederek, Th1 ve Th17 içeren naif CD4⁺ T hücreler aracılığıyla kazanılmış bağışıklık sistemini başlatır (30). T hücrelerin aktivasyonu, inflamatuvar sitokinlerde artışa yol açar ve bu durum inflamasyonun kronikleşmesi ile sonuçlanır. Çalışmalarda, konjonktiva epitelinde ve stromada T hücre infiltrasyonu gösterilmiştir. Siklosporin tedavisi de inflamasyonun bu yolağının anlaşılması ile geliştirilmiş ve etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir (31).

Erken evrelerde veya hafif-orta düzey kuru gözlerde, kompensatuvar mekanizmaların devreye girmesi ve tedaviye yanıtın başlaması mümkün olabilmektedir, ancak eğer başlatıcı faktör uzun süredir var ise veya ağır kuru göz tablosu mevcut ise goblet hücre tamir mekanizmaları duraksamakta ve müsin salgısı bozulmaktadır. Değişen müsin salgısı ile gözyaşı film stabilitesi bozulur ve bu durum inflamasyonu daha çok şiddetlendirir (32). Bunlara ek olarak, hiperozmolaritenin

tetiklediği epiteliyal hücre hasarı, kornea sinir uçlarının ekspoz olmasına ve kronik olarak stimüle olmasına sebep olur. Bunun sonucunda kornea hassasiyeti azalır, bu da oküler yüzeyde nörojenik stresin artmasına neden olur. Artmış göz kırpma ve refleks gözyaşı salgılanması ile sinir büyüme faktörü (NGF) gibi nörotrofik faktörlerin ve çeşitli nöropeptidlerin (Kalsitonin, Substans P ve nöropeptid Y gibi) salınımı artmaktadır. Bu da immün hücre degranülasyonunu artırarak inflamatuvar yanıt artışına yol açar. Bütün bu süreç, oküler yüzey homeostazının daha çok bozulmasıyla sonuçlanır ve “kısır döngü” bu şekilde başlamış olur (1, 2).



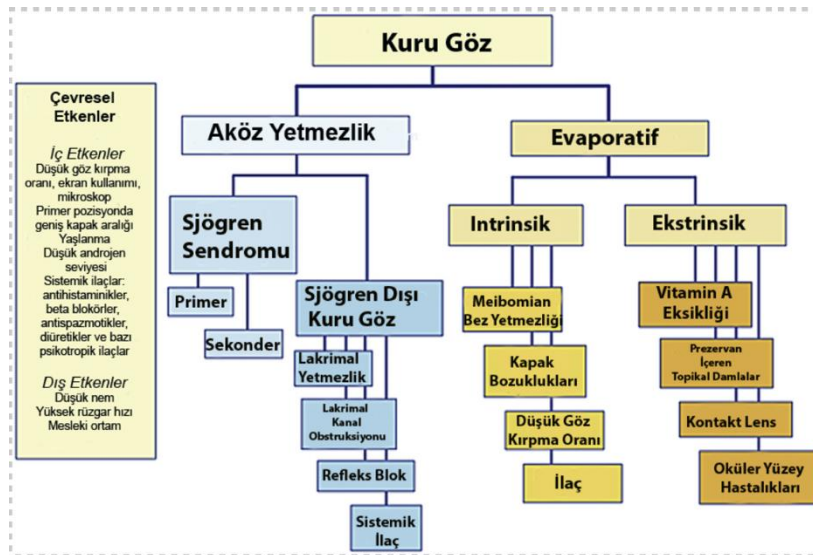
Şekil 2.2. Kuru gözde “Kısır Döngü”

Baudouin ve ark.’dan (1) uyarlanmıştır.

Kuru göz mekanizmasında üzerinde durulan nörosensöriyel patofizyolojik süreç sonucunda, korneadaki duyuşal sinirlerin uyarılması ile “*semptomatik kuru göz*” tablosu meydana gelmektedir. Ek olarak, hiperozmolarite ve bunun sebep olduğu artmış evaporasyon ve gözyaşında kırılma, salgılanan inflamatuvar sitokinlerin aljezik özellikleri de rahatsızlık hissine sebep olmaktadır. Ancak, yapılan bazı çalışmalarda

hastaların %40'a varan oranda asemptomatik olabildiği belirtilmiştir (3). Yapılan başka bir çalışmada MBD olan hastaların daha büyük oranda asemptomatik olduğu ve oküler yüzey bulgularının ciddiyeti ile semptomların korele olmadığı vurgulanmıştır (33). Bu diskordansın ileri tablolarda gelişen kompensatuar mekanizmalar ile semptomların azalması ve/veya korneal sinirlerin hasarlanması ile rahatsızlık hissinin maskelenmesi sonucu gelişebileceği düşünülmektedir (1, 2).

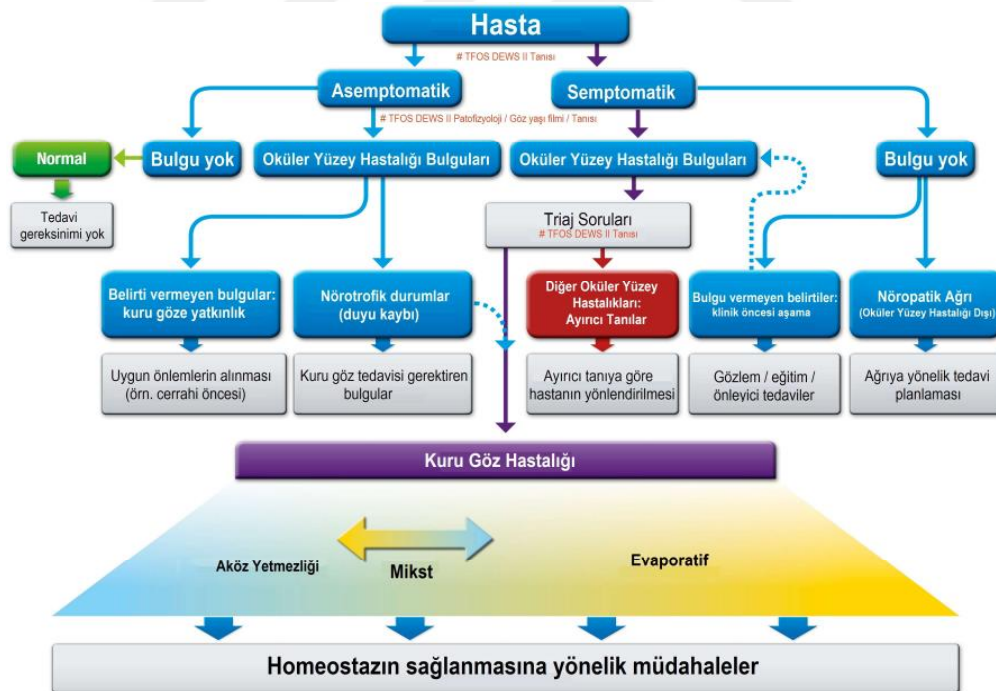
Kuru göz, aköz yetmezlik ve evaporatif olarak iki ana başlıkta incelenmekteydi. Ancak artık kuru gözde “kısır döngü” bir kez tetiklendikten sonra, etyolojik faktörlerin net olarak ayrımını yapmak güç hale gelmektedir. Çünkü meydana gelen değişiklikler hem gözyaşı miktarını hem de yapısını etkilemektedir. Bu nedenle DEWS II raporunda, bu iki mekanizmanın ayrı ayrı değil birbirini etkileyerek beraber devam eden süreçler olduğu, bu yüzden de birbirlerine sebep olabilecek, birbirleriyle süreklilik gösteren iki mekanizma olarak değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (27). Örneğin; ciddi bir evaporatif kuru göz tablosunda azalmış kornea hassasiyetine bağlı kompensatuar gözyaşı sekresyonunun azalması ile sekonder aköz yetmezlik oluşabilir. Aynı şekilde ciddi bir aköz yetmezlik sonucunda gözyaşı film tabakasının incelmeye, lipid tabakasında bozulmaya ve evaporatif kuru göz tablosunun oluşmasına yol açabilir. Her iki durumun bir arada görüldüğü bu tablolar “hibrid kuru göz” şeklinde DEWS raporunda da gösterilmiştir (2).



Şekil.2.3. DEWS II Kuru Göz Etiyolojik Sınıflaması

Craig ve ark.’dan (27) uyarlanmıştır.

Gözyaşı hiperozmolaritesi temel olarak evaporasyon zemininde gelişir bu nedenle tüm kuru göz formlarında evaporatif bir süreç görülür. Normal şartlarda gözyaşının %90'ı lakrimal punktumdan drene olur, %10'u ise evaporasyon ile kaybedilir. Sağlıklı bir lipid tabaka varlığında oluşan normal miktarda evaporasyon, lakrimal bez refleksi ile kompanse edilebilir (9). Evaporatif kuru göz, kapak ilişkili (intrinsik) ve oküler yüzey ile ilişkili (ekstrinsik) olacak şekilde sınıflandırılmıştır. Yaşa bağlı meibomius bez değişiklikleri, meibomius bez disfonksiyonu, göz kapağının sağlıklı kapanmasının bozulduğu kapak hastalıkları ve göz kırpmaya ilişkili bozukluklar kapak ilişkili evaporatif kuru göz etyolojisinde önemli faktörlerdir (2, 34, 35). Allerjik göz hastalıkları, vitamin A eksikliği, kontakt lens kullanımı, kısa gözyaşı kırılma zamanı ve topikal ilaç kullanımı ise oküler yüzey ilişkili evaporasyonla ilişkili görülmüştür (2). Yapılan çalışmalarda kuru gözün başta gelen sebepleri MBD ve buna bağlı görülen evaporatif kuru göz olarak belirtilmiştir. Kuru gözde evaporatif komponentin aköz yetmezliğe göre daha sık görüldüğü bildirilmiştir (36).



Şekil.2.4. DEWS II Kuru Göz Algoritması

Craig ve ark.'dan (27) uyarlanmıştır.

Özetle DEWS II raporunda; kuru göz hastalarının evaporatif ve aköz yetmezlik etyolojileri temel alınarak değerlendirilmesi ve tedavi planlanması gerektiği, bu süreçte tüm bu etyolojik faktörlerin birlikte de görülebileceğinin göz önünde tutularak tanı ve tedavi algoritmasının düzenlenmesi önerilmektedir.

2.2.2. Meibomian Bez Disfonksiyonu

Meibomian bezler tubuloasiner yapıda, holokrin sebace bezlerdir. Üst ve alt göz kapakları tarsal bölgelerinde bulunurlar. İçeriğinde; kolesterol esterleri, balmumu esterleri, diesterler, triaçilgliseroller, fosfolipidler, seramidler, serebrozidler ve uzun zincirli (O-açıl) omega-hidroksi yağ asitleri gibi lipidlerin olduğu kompleks bir lipid salgı bulunmaktadır. Sekresyonları, kapak kenarında mukokütanöz bileşkenin hemen önüne iletilir ve her göz kırpmada göz ön yüzeyine yayılarak gözyaşı filminin lipid tabakasını oluşturur (8).

Her bir Meibomian bez, multipl sekretuar asini içeren meibositler, lateral kanaliküller, santral kanal ve posterior kapak marjinine açılan terminal bir kanal içerir. Meibomian bez sayısı ve hacmi üst kapakta alt kapaktan daha fazladır (8).

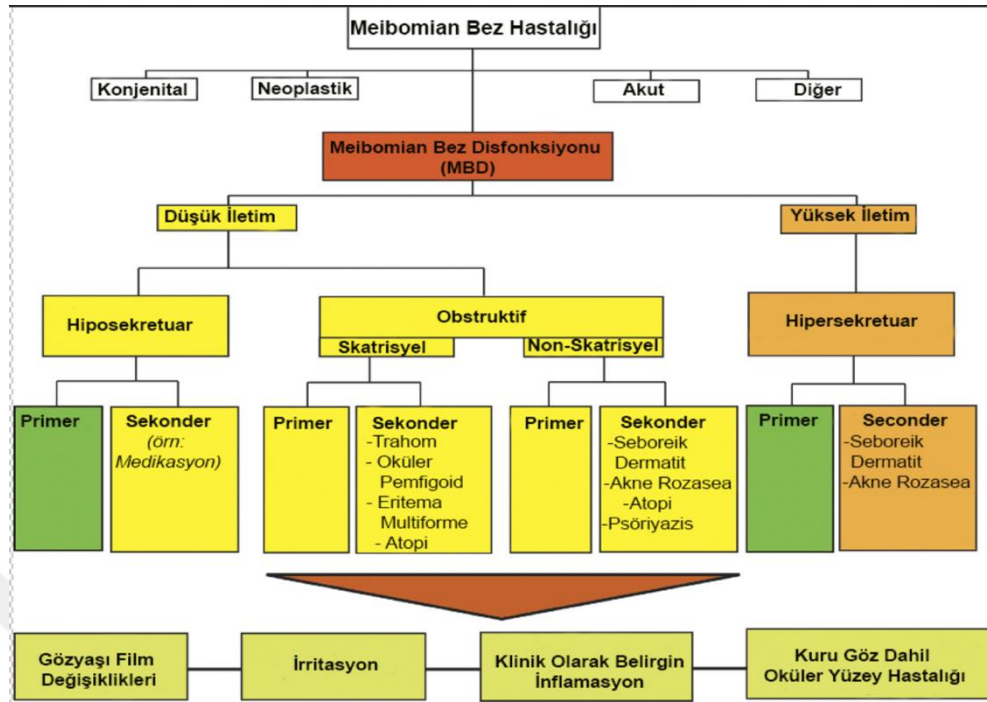
Meibomian bezler yoğun bir innervasyona sahiptir ve fonksiyonları androjenler, östrojenler, progestinler, retinoik asit, büyüme faktörleri ve bazı nörotransmitterler ile düzenlenir (8). Bu sinir lifleri; Substans P, vazoaaktif intestinal peptid (VIP), nöropeptid Y (NPY), kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) gibi nöropeptidleri eksprese ederler (37).

TFOS Uluslararası Meibomian Bez Disfonksiyonu Çalıştayı 2011’de MBD’yi; *‘Terminal kanal obstrüksiyonu veya bez sekresyonundaki kalitatif, kantitatif değişikliklerle karakterize Meibomian bezlerin kronik, diffüz bir hastalığıdır’* şeklinde tanımlamıştır. MBD temel olarak keratinize hücre materyali içeren kalınlaşmış opak meibum ile terminal kanal tıkanmasıyla gelişir. Bu tıkanma ise kanal epitelinde hiperkeratinizasyon ve artmış meibum viskozitesine yol açar. Tıkanma bez içinde kistik dilatasyon, meibosit atrofisi, bez kaybı ve sekresyonda azalmaya yol açar. MBD’nin sonucu, kapak kenarı ve gözyaşı filminde azalmış meibumdur (8). Bu azalmış lipid sekresyonu sonucunda artmış evaporasyon, gözyaşı filmi hiperozmolaritesinde artış ve stabilitesinde bozulma, kapak marjinde bakteri kolonizasyonunda artış ve oküler yüzey inflamasyonu meydana gelir.

MBD prevalansı %3.5-%69.3 arasında olacak şekilde büyük değişkenlik göstermektedir. Ancak çalışmalarda özellikle Asya toplumlarında sıklığın beyaz ırka göre belirgin fazla olduğu görülmüştür (38, 39).

Uluslararası Meibomian Bez Disfonksiyonu Çalışma Grubu Tanımlama ve Sınıflandırma Komitesi MBD için bir sınıflandırma şeması belirtmiştir. Bu sınıflandırmada MBD, bezlerin salgı miktarının yüksek veya düşük oluşuna göre iki gruba ayrılmıştır. Düşük salgı miktarı olan durumlar “hiposekresyona” bağlı veya “obstrüktif” durumlarda ortaya çıkabilmektedir. Obstrüktif MBD en sık görülen şeklidir. Bu sınıflandırmada obstrüktif MBD, “sikatriyel” ve “sikatriyel olmayan” şeklinde iki kategoride incelenmektedir. Meibomian bez duktus ve orifisleri, sikatriyel formunda, mukozada arkaya doğru yer değiştirirken, sikatriyel olmayan formunda normal anatomik pozisyonlarını korumaktadır. Sikatriyel obstrüktif MBD nedenleri arasında Trahom, oküler sikatriyel pemfigoid, eritema multiforme ve atopik göz hastalığı sayılabilir. Sikatriyel olmayan obstrüktif MBD ise Sjögren sendromu, seboreik dermatit, akne rozasea, atopi ve psoriasis ile birlikte görülebilmektedir. Yüksek salgı miktarı olan durumlar, tarsi uygulanan basınç ile kapak kenarına yüksek miktarda meibomian lipid salınımı meydana gelmesi ile karakterizedir. Hipersekretuar MBD’nin, olguların tamamında seboreik dermatit ile ilişkili olduğu bildirilmiş olsa da, bu durum atopi ve akne rozasea gibi farklı hastalıklar sonucunda da meydana gelebilmektedir (40).

MBD gelişiminde oküler, sistemik, iatrojenik birçok faktör rol oynamaktadır. Oküler faktörler arasında; anterior blefarit, KL kullanımı, Demodex Folliculorum ve kuru göz hastalığı sayılabilir. Sistemik faktörler ise; yaş, androjen eksikliği, menapoz, Sjögren sendromu, lipid profil bozuklukları, psoriasis, atopi, akne rozasea, hipertansiyon ve benign prostat hipertrofisi (BPH) şeklinde sayılabilir. MBD patogeneziyle ilişkili ilaçlar arasında; antiandrojenler, BPH ilaçları, postmenapozal hormon terapileri (östrojen ve progetin), antihistaminikler, antidepresanlar ve retinoidler vardır (8).



Şekil.2.5. MBD Sınıflaması

Nichols ve ark.dan (8) uyarlanmıştır.

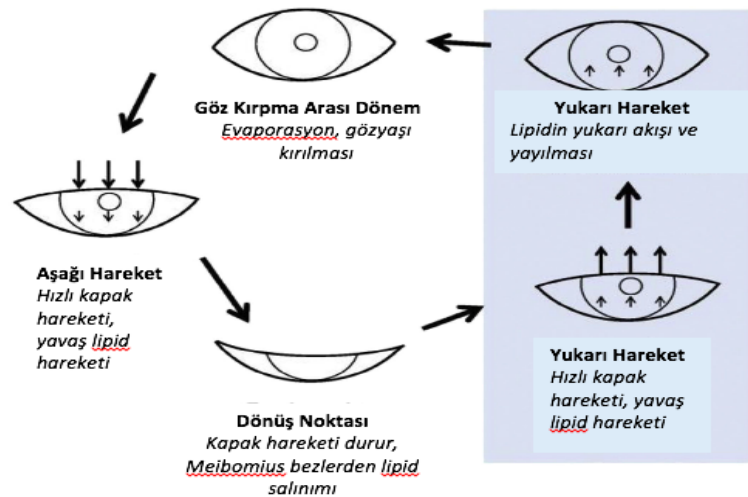
Hastalar, tutulumun ağırlığına göre semptomatik veya asemptomatik olabilirler. Semptomlar MBD'nin kendisine bağlı olabileceği gibi, ikincil olarak meydana gelmiş kuru göz ve oküler yüzey hasarına bağlı da ortaya çıkabilir. Başvuruda en sık karşılaşılan belirtiler, gözlerde yanma, batma ve kaşıntı, kapaklarda kızarıklık ve şişliktir. Muayenede kapak kenarlarının dikkatle incelenmesi ile görülebilecek bulgular; meibomian orifis tıkaçları ve yapı bozuklukları, kapak kenarı şekil bozuklukları, mukokutanöz birleşim yerinin anterior veya posteriora yer değiştirmesi, telenjektaziler, kapak kenarı arka sınırında artmış damarlanma ve bezlerde kistoid değişikliklerdir (23).

2.2.3. Göz Kırpma ve Ekran Kullanımı

Göz kırpma fonksiyonu, oküler yüzeyin ıslanmasında ve intakt bir gözyaşı filmi oluşmasında önemlidir. Göz kırpma sırasında, meibomian bezlerden salgılanmış lipid tabaka oküler yüzeye yayılır. Bu nedenle göz kırpma sayısında veya fonksiyonunda oluşan problemler, gözyaşı lipid tabakada bozulmaya, bu da evaporasyonda artışa yol açar (41). Göz yüzeyi kurduğunda veya herhangi bir nedene

bağlı irritasyon oluştuğunda göz kırpma uyarılır. Benzer şekilde rüzgar maruziyeti gibi, gözyaşı evaporasyonunu arttıran durumlarda da göz kırpma artar (42). Buna karşılık topikal anestezinin, kornea hassasiyetini azaltarak göz kırpmada azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (43).

Göz kırpma döngüsü 4 aşamadan oluşmaktadır. Bunlar sırasıyla; göz kapağının aşağı hareketi (downstroke), dönüş noktası, kapağın yukarı hareketi (upstroke) ve yeni göz kırpma başlayana kadar olan bekleme aralığı şeklindedir (10). Göz kapağının aşağı hareketi sırasında gözyaşı filmi hızlıca oküler yüzeyde aşağı doğru hareket eder. Aşağı hareketin sonlanıp, yukarı hareketin başlayacağı yere dönüş noktası denir. Bu nokta, göz kırpmanın etkin olması açısından önemlidir. Üst göz kapağı bu aşamada alt kapak marjiniyle temas ederek meibomian bezlerden salgılanan lipid tabakanın efektif şekilde oküler yüzeye salgılanmasını sağlar. Bu nedenle göz kırpma tam olarak yapılmadığı takdirde lipid tabakada bozulma, bunun sonucunda da gözyaşı filminde incelme meydana gelir (10, 44). Kapağın yukarı hareketi aşağı hareketine göre 1-2 saniye daha yavaştır. Bu hareket sırasında lipid tabaka ve diğer yüzey proteinleri oküler yüzeye yayılarak sağlıklı bir gözyaşı filmi oluşmasını sağlar. Kapak hareketi tamamlandıktan sonra yeni kırpma döngüsü başlayana kadar geçen aralıkta gözyaşı filmi akımı en düşük düzeydedir ancak bu aralık evaporasyon açısından çok önemlidir. Normal gözyaşı evaporasyonu bu sürede gerçekleşir ve buradaki sürenin uzadığı durumlarda fazla evaporasyon olması sonucu kuru göz meydana gelebilir (9, 45)



Şekil.2.6. Göz kırpma döngüsü

Braun ve ark.dan (10) uyarlanmıştır.

Göz kırpma sonrası gözyaşı filmindeki incelme özellikle yaklaşık ilk 2 saniyede daha belirgindir. Bu incelme hem evaporasyona hem de kapağın yukarı hareketinde aköz tabakanın da aynı yöndeki hareketine bağlanmıştır (15, 46). Bazı çalışmalarda evaporasyonu azaltmaya yönelik gözlük kullanımı sonrası kontrol grubuna göre evaporasyonda azalma ve gözyaşı filminde daha az incelme gösterilmiştir (46, 47).

Spontan göz kırpma aktivitesinin santral sinir sisteminden başlayıp, eksternal uyarılarla düzenlenen bir refleks olduğu düşünülmektedir. Motor kontrol, konuşma merkezi, duyu ve fizyolojik durum ve dikkat durumu gibi faktörler bu reflekste etkili görülmüştür. Özetle, hem santral nöral kontrol hem de lokal oküler duyu iletileri göz kırpmayı uyarmak için birlikte hareket edebilir (48).

Bilgisayar kullanımı gibi yüksek konsantrasyon gerektiren aktivitelerde göz kırpma sayısında azalma ve buna bağlı gözyaşı kırılmasında artma olduğu gösterilmiştir. Göz kırpma sayısı dışında önemli bir diğer faktör de göz kırpmanın tam olarak yapılmasıdır. Sayı olarak normal olsa bile tamamlanmamış göz kırpma durumunda da özellikle alt korneal bölgede gözyaşı kırılmada artış olduğu gösterilmiştir (10, 47-48).

Düşük göz kırpma sayısı ve bununla ilişkili uzamış göz kırpma aralığı oküler yüzey kuruluğu riskini artırır. Göz kırpmalar arasındaki bu aralığın ortalama 3-4 saniye olması gerektiği gösterilmiş, ancak göz kırpma sayısının dakikada 10'dan az olduğu ve kırpma arası sürenin 6 saniye ve üzerine çıktığı durumlarda kuruluk oluşma riskinin ve KL kullananlarda depozit birikme riskinin arttığı gösterilmiştir (41). Çalışmalarda ortalama göz kırpma sayısı dakikada 10-22 şeklinde belirtilmiş, bu sayının kitap okurken dakikada 8'e düştüğü, karşılıklı konuşma aktiviteleri sırasında dakikada 21'e kadar çıktığı gösterilmiştir (49, 50). Bilgisayar kullanımında ise göz kırpmanın dakikada 4'e kadar azaldığı gösterilmiştir (51). Başka bir çalışmada yapılan aktivitenin gerektirdiği dikkat miktarı arttıkça göz kırpma sayısının azaldığı belirtilmektedir (52). Film izleme, kitap okuma ve okurken metindeki "a" harflerini sayma şeklinde üç farklı aktivitede göz kırpma sayılarının sırasıyla anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (52).

Göz kırpma sırasında kornea yüzey sıcaklığı 0.5-1°C artar (53). Bununla birlikte, sıcaklık değişimlerinin göz kırpma sayısının düzenlenmesine katkıda

bulunma ihtimali, sıcaklık değişimini tespit etmek için korneal eşik değerin 1°C den büyük olduğu temeline dayandırılmıştır (54). Göz kırpma uyarısını sağlayan bir diğer mekanizma da artmış gözyaşı evaporasyonudur. Göz kırpma aralarında oluşan evaporasyon korneal sıcaklıkta azalmaya yol açar. Bu durum aynı zamanda yüksek sıcaklıkta evaporasyonun artarak korneal sıcaklığı normal düzeye getirmeye destek olmasını açıklamaktadır (54).

İn vitro çalışmalar, sağlam bir korneanın nöronlarının ve epitel hücrelerinin, hücre büyümesini, çoğalmasını ve farklılaşmasını destekleyen çözünabilir maddelerin karşılıklı salınması yoluyla birbirlerini trofik olarak desteklediklerini ortaya koymaktadır. Normal oküler yüzey devamlılığı için uygun konsantrasyonlarda ilave nörokimyasallar gözyaşı filmine, konjonktiva, lakrimal bez ve aksesuar orbital ve göz kapağı bezleri ile sağlanır. Böylece, sağlıklı (normal innervasyonlu) bir gözde, oküler yüzeye küçük travmalar, gözyaşı filminin katkıda bulunduğu sürekli bir trofik ortamda hızla iyileşir. Bununla birlikte, saatler süren sinir hasarı içerisinde; epitel şişer, mikrovilluslar kaybolur ve hücre dökülme hızı artar. Ek olarak, hücre mitogenezi, kornea kalınlığının kaybı ve yara iyileşme kapasitesinin azalması ile azalır (55).

Herpetik keratit, diyabetes mellitus, uzun süreli KL kullanımı, ileri yaş veya refraktif cerrahi nedeniyle bozulmuş kornea innervasyonu, kornea sinirleri ve gözyaşı filmi tarafından sağlanan trofik destekte azalamaya yol açarak korneayı yüksek risk altına sokar. Nörotrofik keratit kaynaklı korneal kuruma, korneal sinirlerin trofik etkisinin kaybına ek olarak, azalmış lakrimal bez salgısı, koruyucu göz kırpma refleksi inhibisyonu ve bozulmuş epitel metabolizması nedeniyle olabilir (55).

2.2.4. Kuru Göz Tanı Yöntemleri

Kuru göz hastalığı aköz yetmezliğe bağlı veya evaporasyona bağlı olacak şekilde iki ana gruba ayrılmıştır. Bu gruplardaki etyolojik sebeplerin iç içe olması, aynı zamanda semptomların ve klinik bulguların diskordansı, kuru gözde hastaya yaklaşımı ve tedavi planlamasını zorlaştırmaktadır (56). Kuru gözün tanısını ve ciddiyetini belirlemede hala bir altın standart uygulama bulunmamaktadır (3, 56).

Kuru göz tanısında en sık kullanılan klinik tanı yöntemleri; hastaların semptomlarını belirlemek amacıyla kullanılan Oküler Yüzey Hastalık İndeksi [Ocular Surface Disease Index (57)] ve McMonnies Kuru Göz Anketi, oküler yüzeyi ve

gözyaşı fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla; GKZ, kornea ve konjonktivanın Floresein ve Lizamin Yeşili ile boyanması, Meibomian bezlerin değerlendirilmesi, sekresyon skorlaması ve Schirmer testi şeklinde sıralanabilmektedir (58, 59).

TFOS DEWS II Tanısal Metodoloji Raporunda; eski DEWS raporları ışığında, kuru göz tanısında hem uygulanabilirliği, hem invaziv olup olmaması hem de sensitivite ve spesifitesi göz önünde bulundurularak kullanılabilecek muayene yöntemleri incelenmiştir (60). Bu yöntemler kısaca şu şekilde özetlenebilir:

- **Semptomların Değerlendirilmesi**

Kuru göz tanısında her ne kadar semptomlar ve klinik bulgular her zaman korele olmasa da semptomların değerlendirilmesi hastalığın tanısı için ek inceleme yapma gerekliliğini göstermede, hastalığın progresyonunu takip etmede ve tedaviye yanıtı değerlendirmede yardımcı önemli bir tanı aracıdır (60).

Kuru göz çalışmalarında sıklıkla OSDI anketi tercih edilmektedir. Semptomların sıklığını, çevresel tetikleyici faktörleri, görme fonksiyonu üzerine etkilerini sorgulayan bir ankettir. Bunun yanı sıra uygulanabilirliği kolay olan, kısa süren ve ayırım gücü yüksek olan, özellikle gün içerisinde görme fonksiyonundaki değişiklikleri sorgulayan Kuru Göz Anketi-5 [Dry Eye Questionnaire (DEQ-5)] de DEWS II Raporunda kullanımı önerilen anketlerdendir (60).

- **Gözyaşı Film Stabilitesinin Değerlendirilmesi**

Kuru göz mekanizmasında altta yatan esas mekanizma gözyaşı stabilitesinin bozulması olarak tanımlandığı için, tanıda gözyaşı stabilitesini değerlendirmek oldukça önemlidir. Klinik olarak kullanılabilen testler; GKZ, flöresein kırılma zamanı, non-invaziv GKZ ölçümü, termografi, ozmolarite değişiklikleri değerlendirilmesi, gözyaşı evaporasyon hızı değerlendirmesi şeklindedir (60).

Gözyaşı kırılma zamanı, klinikte en sık kullanılan, film stabilitesini değerlendirme yöntemidir (61). Göz kırpmadan sonra, gözyaşı filminde oluşan ilk kırılma zamanı değerlendirilir. On saniyenin altındaki değerler gözyaşı stabilitesinin bozulduğunun göstergesidir ve patolojik olarak kabul edilmektedir (62). Flöresein kırılma zamanında ise; Flöresein uygulayarak gözyaşı filminin görünür hale gelmesi ile değerlendirmenin kolaylaşması sağlansa da Flöresein maddesi gözyaşı stabilitesini

bozmaktadır. Bu durum testin güvenilirliğini azaltmaktadır (63). Kullanılan Flöreseinin aynı zamanda standart düzeyde olması gerekmektedir. Bu amaçla, Flöresein stripler daha çok tercih edilmektedir. Dezavantajlarına rağmen yine de Flöresein kırılma zamanı klinik pratikte en sık kullanılan testlerdendir.

Gözyaşı film stabilitesi; sıcaklık, nem, hava sirkülasyonu gibi pek çok faktörden etkilendiği için non-invaziv GKZ ölçümleri klinik pratikte popüler hale gelmeye başlamıştır. Bu ölçümler topografi, interferometri, video keratoskopi gibi cihazlarla gözyaşı filmi üzerine farklı paternlerde yansıtılan ışıktan alınan speküler yansımalar ile ölçülmektedir (64). Yapılan bazı çalışmalarda, non-invaziv GKZ ölçümlerinde sensitivite %82-84 ve spesifite %76-9 olarak belirtilmiştir (60).

- **Oküler Yüzey Hasarının Belirlenmesi**

Oküler yüzey hasarının değerlendirilmesinde; oküler yüzey boyanmaları, impresyon sitolojisi, İVKM görüntülemesi ve oküler yüzey hassasiyeti ölçümü kullanılmaktadır (60).

-Oküler yüzey boyanmaları: Klinikte sıklıkla Flöresein, Rose Bengal ve Lizamin Yeşili kullanılmaktadır. Mikropunktat boyanmalar kuru göz tanısı ve tedavisinde yol göstermekte, boyanma paternleri etiyolojik sebep hakkında ipucu verebilmektedir (65).

Flöresein, yüzey hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların bozulması veya glikokaliks tabakasında defekt gelişmesi ile canlı hücrelerde boyanmaya sebep olur. Rose Bengal ise, müsin veya glikokaliks koruması olmayan canlı hücreleri aynı zamanda da ölü yüzey hücrelerini boyar. Ancak Rose Bengal uygulandığı zaman refleks göz yaşarmasına neden olmaktadır ve toleransı zordur, buna ek olarak in vitro koşullarda kornea hücrelerine toksik olduğu gösterilmiştir (66, 67). Lizamin Yeşili ise daha az toksik, toleransı Flöresein gibi daha kolay olan bir boya olmasından dolayı Rose Bengal'e göre oküler yüzey değerlendirmesinde daha çok tercih edilmektedir. Müsin tabakası varlığından bağımsız olarak, hücre membran hasarı gelişmiş hücreleri boyar (66). Punktat epitelyopatiyi değerlendirmek için Lizamin Yeşili'nin ve Rose Bengal'in %1 konsantrasyonda ve ≥ 25 µl hacimde olacak şekilde; Flöresein'in ise 1-2 µl gibi daha az volümde ve yaklaşık %0,1 konsantrasyonda olacak şekilde uygulanması önerilmektedir (59).

Boyanma durumunu değerlendirmek için çeşitli evreleme sistemleri bulunmaktadır. Bunlar; van Bijsterveld Sistemi, Oxford Skalası, Oküler Boyanma Skorlaması, Ulusal Göz Enstitüsü (NEI) Çalıştay Kılavuzu, Alan-Yoğunluk Kombinasyon İndeksi gibi sistemlerdir. Daha çok Oxford Skalası ve Oküler Boyanma Skorlaması kullanılmaktadır. Oxford Skalasında; 0-5 arasında, kornea ve konjonktivadaki punktat boyanma dağılımına göre evrelendirme yapılmıştır. Oküler Boyanma Skorlamasında ise 0-3 arasında Flöresein ile korneal boyanma, Lizamin Yeşili ile konjonktival boyanma evrelendirilmiştir (60).

-İn vivo konfokal mikroskopik değerlendirme: Kuru gözde oküler hasarın hücresel boyutta incelenmesini sağlayan minimal invaziv bir yöntemdir. Kuru gözde görülebilen korneal ve konjonktival epitel hücre yoğunluğundaki azalmayı, konjonktival skuamöz metaplaziyi, korneal sinir değişikliklerini (azalmış subbazal sinir yoğunluğu, artmış tortuozite) göstermede yardımcı olmaktadır. Aynı zamanda, akantamoeba keratitlerinin ve fungal keratitlerin tanı ve takibinde yardımcı bir yöntemdir (60, 68). İVKM inflamasyonu göstermede etkili bir yöntem olup, yapılan çalışmalarda artmış inflamasyonun göstergesi olan korneal dendritik hücrelerin, stromal hiperreflektif (aktive hücre) hücrelerin ve konjonktival yuvarlak şekilli hücrelerin varlığı ile kuru gözde subepitelyal ve stromal bölgelerde belirgin farklılıklar geliştiği gösterilmiştir (69, 70). İVKM, kuru gözde subklinik oküler yüzey inflamasyonu durumlarında ve tedaviye yanıt izleminde de faydalı olabilmektedir (60).

-Kornea hassasiyetinin değerlendirilmesi: Mekanik, kimyasal veya termal uyaran ile korneal hassasiyeti ölçen, Cochet-Bonnet ve non-kontakt hava esteziometrelerinin de dahil olduğu pek çok esteziometre tasarımı mevcuttur. Kornea hassasiyetindeki azalma ile oküler yüzeyde hasarlanma boyutu artabilmekte ve sonucunda nörotrofik keratit gibi ciddi tablolar gelişebilmektedir (53, 60). Bazı çalışmalarda, kuru gözde Cochet-Bonnet ile yapılan ölçümlerde hassasiyette azalma olduğu gösterilmiştir (53, 71). Kornea hassasiyetinin diğer kuru göz testleri ile korelasyonu az olduğu ve kuru göz değerlendirilmesinde palpebral konjonktiva hassasiyetinin, kornea hassasiyetinden daha önemli olduğu da belirtilmiştir (72).

- **Gözyaşı Miktarı Ölçülmesi**

Gözyaşı miktarı, oküler yüzey homeostazının sağlanmasında çok önemlidir. Meniskometri, fenol kırmızısı iplik testi ve Schirmer testi bu değerlendirmede kullanılan yöntemler arasındadır (60).

Schirmer testi gözyaşı miktarını ölçmede klinikte sık kullanılır. Schirmer kağıdı, alt kapak dış 1/3'lük kısma yerleştirilerek 5 dakika sonunda kağıttaki ıslanma miktarının ölçülmesiyle değerlendirilir. ≤ 5 mm/5 dk, ≤ 10 mm/5 dk gibi çeşitli eşik değerler belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda bu değerlerin sensitivitesi sırası ile %77 ve %85, spesifitesi ise %70 ve %83 olarak bulunmuştur (60). Schirmer testi, anestezili veya anestezisiz olarak uygulanır. Anestezisiz uygulanan Schirmer testi (Schirmer I testi) stimüle refleks gözyaşı miktarını gösteren iyi ve standardize bir testtir. Ancak kuru gözde anestezi ile ölçülmesinin daha objektif ve güvenilir olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (73).

- **Oküler Yüzey İnflamasyonunun Değerlendirilmesi**

Kuru göz hastalığının patogeneğinde inflamasyon önemli bir yere sahiptir. Bazı oküler ve sistemik inflamatuvar hastalıklarda da kuru göz tablosu gelişebilir. Bu nedenle bazı otoimmün serum belirteçleri kuru gözde tanıya yardımcı olabilir. Aynı zamanda, gözyaşı sitokin ve kemokin düzeyleri, matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) düzeyleri ve oküler yüzey immün belirteçleri oküler yüzey inflamasyonunu göstermede yardımcı yöntemlerdir (60). Literatürde, disfonksiyonel gözyaşı olan hastalarda gözyaşı inflamatuvar sitokin ve kemokin düzeylerinin daha yüksek olduğu ve bunların klinik bulgularla korele olduğu gösterilmiştir (74).

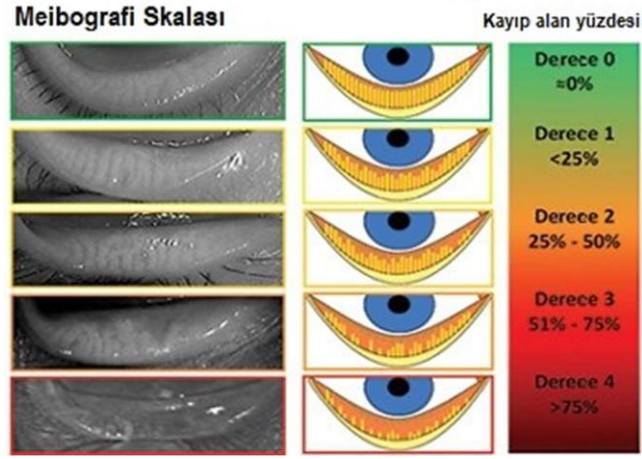
- **Göz Kapağının Değerlendirilmesi**

Kuru gözün en sık sebeplerinden biri MBD varlığıdır. Bu sebeple meibomian bezlerin değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Bezlerin anatomisini, fizyolojisini ve patolojik değişiklikleri göstermek için farklı testler mevcuttur. Bunlar; meibomian bez eksprese edilebilirlik testi, interferometre, meibografi ve İVKM şeklinde sıralanabilir. Bu testlerin sırayla yapılması önemlidir, çünkü birbirlerinin sonucunu etkileyebilirler (60).

-Meibomian bez eksprese edilebilirliği: Bu yöntemde alt kapak santraline, orta dereceli basınç uygulayarak bezlerin sekresyon kalitesi değerlendirilir. Genellikle parmak ile basılarak yapılırsa da standart güç uygulayan cihazlar da bu amaçla geliştirilmiştir. Normalde hafif basınçla orifislerde saydam sekresyon görülmektedir. Ancak MBD varlığında zor eksprese edilebilen, dış macunu benzeri salgıya kadar değişik spektrumda sekresyonlar görülebilmektedir. Subklinik MBD olgularında da yardımcı olabilen bir yöntemdir (60).

-Meibografi: Meibomian bezlerinin morfolojik olarak görüntülenmesini sağlayan yöntemdir (75). İlk olarak Tapie ve ark. 1977'de, kapağı evertte ettikten sonra kapak kenarına kutanöz taraftan beyaz ışık probu ile transillüminasyon sağlayarak görüntü elde etmişlerdir ((76). Elde edilen bu görüntüler önce siyah beyaz daha sonra kızılötesi (IR) filmler şeklinde geliştirilmiştir. Daha sonra 1994'te Matters ve ark. daha sonra da 1996'da Matsuoka ve ark., IR CCD kameraları [infrared, charge coupled device (kızılötesi, yükten bağlaşımlı aygıtlı)] aydınlatma probuna entegre ederek video meibografi sistemini ortaya koymuşlardır (76). Arita ve ark. 2008 yılında ilk non-kontakt meibografiyi geliştirmişlerdir. Aydınlatma probu olmadan, biyomikroskoba entegre edilen IR CCD kameralar ile çok daha kolay bir şekilde görüntüleme sağlanmıştır (75). Bu tekniği Pult ve ark. 2011'de geliştirerek, IR ışık veren ve IR CCD kamerası olan sistemle Meibomian bezleri görüntülemeyi başarmışlardır. Son olarak 2012'de Srinivasan ve ark. meibografi görüntüleme özelliğini topografi cihazlarına entegre etmişlerdir (77).

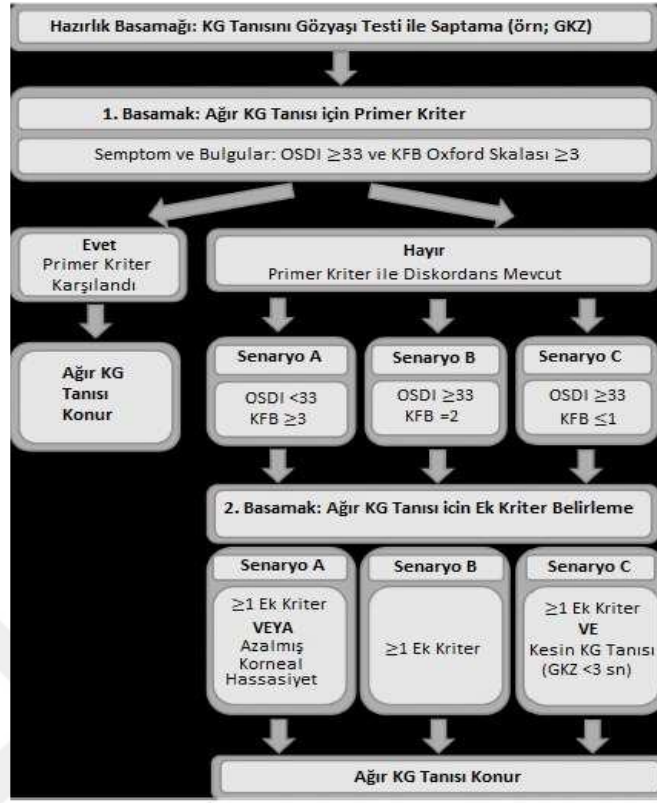
Bez kaybını değerlendirmede çeşitli skorum sistemi mevcuttur, ancak henüz belirlenmiş altın standart bir yöntem bulunmamaktadır. Nichols ve ark. meibografi görüntülerine göre 4 evreli bir skorum sistemi, Arita ve ark. Meibomian bez alan kaybı hesabına dayanan 4 evreli ve bez tortuozitesine göre olan 3 evreli başka bir skorum sistemi ortaya koymuşlardır. Son olarak, Pult ve ark. bez kaybı alan hesabına dayanan bilgisayar yardımı ile ölçülen 4 evreli skorum sistemini geliştirmişlerdir ve bu sistem daha sonra 5 evreli bir sisteme modifiye edilmiştir (Şekil 2.5) (77). Yapılan çalışmalarda, bilgisayarlı skorum yöntemlerinin, subjektif yöntemlere göre yaklaşık 3 kat daha doğru sonuçlar verdiği gösterilmiştir (78).



Şekil 2.7. Meibografi Skalası.

Pult ve ark.'dan (78) uyarlanmıştır.

ODISSEY grubu (ODISSEY European Consensus Group), kuru göz ciddiyetini belirlemede ve değerlendirmede pratik bir algoritma ortaya koymuştur. Oküler yüzeyin Flöresein ile boyanması, GKZ, gözyaşı ozmolaritesi, Schirmer testi, impresyon sitolojisi, filamenter keratit varlığı, görme fonksiyonunda etkilenme, MBD veya göz kapağı inflamasyonu varlığı, blefarospazm varlığı, aberrometre ölçümü, İVKM ölçümü, inflamatuvar biyobelirteçler ve tedaviye dirençli olma durumu şeklinde 14 kriter belirleyerek bu çerçevede bir yaklaşım şeması oluşturmuşlardır. Bu kriterlerden ve tanı yöntemlerinden özellikle Flöresein ile boyanma (Oxford Skalasına göre Evre-3 ve üzeri boyanma) ve OSDI skoru (Skorun 33 ve üzerinde olması) ile değerlendirmenin, hastaların büyük bir kısmında ağır kuru göz varlığını saptamada yeterli olabileceğini, semptom ve klinik bulgulara diskordans mevcut olduğunda ise diğer tanı kriterlerinden faydalanılabileceğini belirtmişlerdir (3). Tanı algoritması Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Ağır Kuru Göz Algoritması

Baudouin ve ark.'dan (3) uyarlanmıştır.

(**KG:** Kuru Göz, **KFB:** Korneal Floresein boyanma, **GKZ:** Gözyaşı kırılma zamanı)

2.3. Kuru Göz Patofizyolojisinde Sitokinlerin Yeri

Oküler yüzey immün homeostazı $CD8^+$ T hücreler, doğal öldürücü hücreler (natural killer-NK) ve $CD4^+$ T hücreler ile düzenlenir. Çevresel etkenler, enfeksiyonlar, otoimmünite, endojen stres ve genetik faktörler gibi stres faktörleri bu homeostazı bozarak, akut inflamatuvar cevabı aktive edebilir (1).

Kuru gözün erken evrelerinde, kornea ve konjonktiva epitel hücrelerinin hasarı, MAPK ve NF κ B gibi stres ilişkili sinyal yollarının aktivasyonunu uyarır (79). Bu aktivasyon sonucunda da TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, NGF, MMP-3 ve MMP9 gibi proinflamatuvar sitokin/kemokin ekspresyonunda artış olur. Bununla birlikte, konjonktiva goblet hücrelerinden salınan anti-inflamatuvar TGF- β_2 salınımında azalma olmasıyla, düzenleyici T hücreleri gibi immün koruyucu hücrelerin inhibisyonu ile, epitel ve goblet hücre apoptozisi düzenlenmesiyle ilişkili MAPK, TNF ve Fas-Fas

ligand yolaklarındaki artışla ve oküler yüzey inflamatuvar hücrelerinin apoptozisinin azalmasıyla pro-inflamatuvar süreç desteklenir (80).

Pro-inflamatuvar süreç; HLA-DR, CD40, TLR-4 ve 5 (toll benzeri reseptör), ICAM-1 (intersellüler adezyon molekül) gibi inflamatuvar mediyatörlerin oküler yüzeye göçünü ve girişini kolaylaştıran reseptörlerin salınımını da artırır (25). Tüm bu yollar inflamasyon cevaplarını güçlendirir ve sürdürür, böylece hücrel doku hasarı oluşur.

Epitel kaynaklı pro-inflamatuvar sitokinler, immatür antijen sunan hücreleri (APCs) aktive ederler. Bunlar oküler yüzey için dendritik hücrelerdir. Bu matür hücreler rejyonel lenf nodlarına göç eder ve kazanılmış bağışıklık cevabı başlatır. Bunun sonucunda naif CD4⁺ T hücrelerin Th1 ve Th17 hücrelere dönüşümü meydana gelir (79). Th1 hücreler IFN- γ , Th17 hücreler ise IL-17 sekresyonunu artırır.

IL-1 ve IFN- γ , oküler yüzey epitel hücrelerinde squamöz metaplaziye neden olur. IFN- γ ayrıca goblet hücre diferansiasyonunda azalmaya yol açar (81, 82). IL-17' nin de korneal epiteliyal bariyer hasarı yaptığı gösterilmiştir (83). IL-17 aynı zamanda, VEGF-C ve VEGF-D ekspresyonunu artırarak korneal lenfanjiogenezisin uyarılmasını tetikler (84).

Oküler yüzey epitel hücreleri IL-1, IL-6 ve TNF üretebilmektedir. Birçok klinik çalışmada bu sitokinlerin, kuru göz hastalarının gözyaşlarında artmış düzeyde olduğu gösterilmiştir (85, 86). Bunlar dışında, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 ve IFN- γ gibi sitokinlerin varlığı da kuru göz hastalarında gösterilmiş (79).

Kemokinler, immün hücrelerin kemotaksisi ve göçünü sağlayan sitokinlerdir. IL-8 (CXCL8), kuru göz hastalarının gözyaşında ve konjonktivasında tespit edilmiştir (74). IL-8, TLR içeren hücrelerden sentezlenebilir ve nötrofiller için kemoatraktandır. CXCL9, CXCL10 ve CXCL11 gibi kemokinlerin de kuru göz hastalarının gözyaşında arttığı gösterilmiştir. Tekrarlayıcı fliktenüler keratitte, kontakt lens kullanımında ve Sjögren sendromu ilişkili kuru göz hastalığında gözyaşında yüksek konsantrasyonlarda IL-8 saptanmıştır (87). Bu kemokinler IFN- γ ' ya cevap olarak salgılanır ve T hücre kemoatraktanı olarak fonksiyon gösterirler (85). Bir diğer T hücre kemoatraktanı olan RANTES (CCL5) in de kuru göz hastalarında arttığı gösterilmiş. CCR1, CCR2, CCR5 ve CXCR3 gibi kemokin reseptörleri de kuru göz patogeneğinde

etkili görülmüş ve bu reseptörler üzerinden ileride immunmodulasyon regülasyonu açısından önemli olduğu düşünülmektedir (79).

Göz dokularında IL-1 çok sayıda önemli role sahiptir. Korneanın stroma hücrelerindeki matriks metalloproteinaz ailesindeki enzimleri aktive eder, Langerhans hücrelerinin sentripedal hareketini artırır ve keratosit apoptozisi için bir aracı olabilir (88). IL-1 yalnızca hasarlanma sürecini başlatmaz, aynı zamanda keratinosit büyüme faktörü ve hepatosit büyüme faktörünün üretimini artırarak iyileşme sürecinde de önemli rol oynar (89). Bu iki büyüme faktörü kornea epitel hücreleri için güçlü parakrin mitojenlerdir.

IL-6, makrofaj ve T helper lenfositler tarafından üretilir. IL-6, T hücre büyümesini ve farklılaşmasını destekler. Ayrıca IL-1 ve TNF- α üretiminde baskılanmaya neden olarak, bu iki proinflamatuar sitokin oluşturduğu inflammatuar cevabın azalmasını sağlar. Kuru göz hastalarında gözyaşında artmış IL-6 düzeyleri gösterilmiştir (74).

GM-CSF, epitelial yüzeylerden salınarak nötrofil ve Langerhans hücrelerinin aktivasyonunda önemli rol oynar. Böylece pro-inflamatuar sitokinlerin salınımını indükler. Aynı zamanda lökositlerin kemotaksisini, süper oksit üretimini ve birçok kemoatraktana cevap olarak sitotoksik aktivitesini kolaylaştırır. Yapılan çalışmalarda, kornea epitel hücrelerinde, kornea fibroblastlarında ve konjonktiva epitel hücrelerinde IL-1 α ve TNF- α stimülasyonunu takiben GM-CSF üretimi olduğu gösterilmiştir (90).

2.4. Nörojenik İnflamasyon ve Substance-P

Kornea, vücutta en yoğun innervasyona sahip dokudur; yaklaşık 7000 sinir sonlanması/mm² içerir. Kornea hem parasempatik hem de sempatik innervasyona sahiptir, ancak korneal sinirlerin çoğu duyusaldır ve bunlar trigeminal sinirin oftalmik dalından köken almaktadır (55). Sinir demetleri periferik orta stromal alandan korneaya girerler. Korneaya girdikten kısa süre sonra ana stromal demetler, art arda stromanın daha yüzeysel katmanlarına uzanan küçük fasiküllere dallanır. Sonunda, stromal sinir lifleri aniden 90 derece döner ve Bowman tabakasına penetre olarak kornea yüzeyine doğru ilerler. Bowman tabakasına penetre olduktan sonra demetler bölünür ve Bowman ile bazal epitel tabakası arasında yüzeye paralel şekilde uzanır ve sub-bazal sinir pleksusunu oluştururlar (32).

Korneal sinirlerin uzunluk, dansite ve tortuoosite gibi morfolojik özellikleri, tanı koyma, tedaviye cevap veya hastalıkların progresyon takibinde kullanılabilir (91). Günümüzde bu özellikleri görüntülemeye konfokal mikroskopu etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Korneadaki bu duyusal sinirler, normal göz kırpmaya refleksi ve lakrimal ünite fonksiyonlarının sağlanmasında önemlidir. Korneal afferentleri santral sinir sistemine ileterek bunu sağlar. Bu sensöryel iletimde bir bozulma meydana geldiğinde, iki mekanizma ile kuru göz tablosu meydana gelebilir; azalmış refleks lakrimal sekresyon ve azalmış göz kırpmaya refleksine bağlı oluşan artmış evaporasyon (32).

Duyusal sinirlerin yoğunluğu yaş, cinsiyet, cerrahi öyküsü ve kontakt lens kullanımı gibi faktörlerden etkilenmektedir. Nöropeptid salınımı ile bu yoğun korneal sinir ağrı hem sağlıklı hem patolojik durumlarda, sinir-epitel tabakası homeostazının sağlanması ve gözyaşı üretimi gibi bazı fonksiyonları sağlar (92). Korneal innervasyonda bozulma sonucu persistan epitel defekti, superfisial punktat keratit ve kornea ülseri gibi tablolar ortaya çıkar.

Periferik sinir sisteminin nöral ve hormonal yollarla, doğal bağışıklık sisteminin reaksiyonlarını düzenlediği gösterilmiştir (93). Ayrıca, periferik sinir sisteminin herhangi bir disfonksiyonunda bu kontrol mekanizması bozulması nedeniyle, proinflatuar immünolojik cevaplar meydana gelebilir. Bu durum ise “nörojenik inflamasyon” olarak adlandırılır (94). Periferik sinirlerde meydana gelen hasar atopik dermatit, kolit ve artrit gibi, nöropeptidler ve nörotransmitter aracılığıyla baskılanabilen inflamatuvar hastalıklara yol açar. Bu nedenlerle periferik sinir sisteminin, bağışıklık sisteminin aktivasyonunu, yayılmasını ve homeostazını ve kazanılmış bağışıklığın hazırlanmasını düzenlediği düşünülmektedir (94).

Nörojenik inflamasyon oküler yüzeyi bir hasara karşı korumada ilk defans basamaklarındandır. Nörojenik inflamasyon ve doğal bağışıklık oküler yüzey dahil diğer mukozal yüzeylerin korunmasında birlikte çalışır. Göz herhangi bir patojene, kimyasal irritana veya mekanik travmaya maruz kaldığında, nöromodülatörlerin salınmasıyla nörojenik inflamasyon başlar (95).

Nörojenik inflamasyonun anatomik substratı öncelikle küçük çaplı aksonlara bağlıdır. Bu aksonlar özellikle havayolları ve göz gibi travmaya maruz kalmaya daha açık bölgelerde bulunur. Ağrı yanıtlarıyla ilişkili olan ve muhtemelen daha ilkel sinir

sistemlerinin bir analogu olan miyelinli ve miyelinsiz küçük çaplı aksonlar, kornea ve konjonktiva boyunca geniş çapta seyredir. Epitel yüzeylerinin altında, aksonlar gevşek bir ağ oluşturur ve epitelde duysal terminaller katmanlar boyunca dallanır. Nörojenik bileşen, normal koşullar altında çok az aktivite gösterir, ancak sinirlerin uyarılmasından kaynaklanan bir fizyolojik aktivite ile hızla aktive edilebilir (95).

Nörojenik inflamasyonun önemli bir komponenti aksonal reflekstir ve bu refleks esas olarak SP ve CGRP gibi nöromodülatörlerin salınmasına yol açar. Bunun sonucunda da, kan-doku bariyerinde bozulma, ödem ve polimorfonükleer lökositlerin gözyaşına salınımı meydana gelir.

Epitel yüzeyler arasında en yoğun innervasyon korneadadır ve bu epitel, her hücre tabakası içinde her seviyede sayısız duysal sonlanmalar sunmaktadır. Ek olarak, terminal dallanmanın yayılmasında, farklı aksonlardan kaynaklanan bitişik reseptörlerle büyük olasılıkla bir fazlalık veya örtüşme söz konusudur ve bunun muhtemel bir yaralanma olayını tespit etmek için ekstra güvenlik sağladığı düşünülmektedir (95). Fizyolojik çalışmalar, yaralanmanın ardından veya korneal herpes simpleks enfeksiyonunun ardından duysal cevapların arttığını ve akson refleksini içeren mekanizmalar yoluyla nöropeptitlerin salgılanmasına yol açtığını göstermiştir (96).

Substans P, özellikle periferel sinir uçlarından salınan, nosiseptif duyu için nörotransmitter görevi gören bir nöropeptittir. Taşikin grubu peptidlerin en önemlisidir ve pre-protaşikin A (Tac1) geni tarafından kodlanan öncü maddesinden üretilir. Üç adet nörokinin (NK1, NK2 ve NK3) reseptörü üzerinden etki gösterir. SP'ye en yüksek afinite gösteren NK1 reseptörüdür. Sinir uyarılmasını takiben SP salınır ve NK1 reseptörüne bağlanarak aktivasyona yol açar (97). Öncelikle SP, epitel hücre göçü, adezyonu ve proliferasyonunu uyarır. Böylece yara yeri iyileşmesini hızlandırır (98). Kapsaisin ile SP ve CGRP gibi nöromediyatörlerin inhibe edilmesiyle kornea epitelinde yara iyileşmesinde gecikme olduğu görülmüştür (99). SP'nin yara iyileşmesinde uyardığı kornea epitel hücre göçüne epidermal büyüme faktörü (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1-2 (IGF-1 ve IGF-2) sinerjistik etki gösterirler (100). SP ve IGF-1; integrin- α 5 ekspresyonunu, kornea epitel hücrelerinin ekstrasellüler matriks proteinlerine göçünü ve adezyonunu artırır (100), ancak kornea epitel mitozisine etki göstermez. Aynı zamanda sıkı bağlantı proteini olan zonula

okkludens-1 (ZO-1) ekspresyonunu da indükler. Bu durum epitel bariyer fonksiyonu açısından önemlidir (101). İkinci olarak; proinflatuar mediatörlerin salınımını arttırarak, artmış vasküler geçirgenlik, dilatasyon ve anjiogeneze yol açar. Özellikle subbazal korneal sinir pleksusunun organize edilmesinde SP önemli yer tutar. SP'nin bu pleksusu koruma üzerine etkisi indirektir. Örneğin; SP kornea epitel hücre deskuamasyonunu azaltır ve kornea çevresinden reaktif oksijen radikallerinin uzaklaştırılmasını destekler (97, 102).

Korneada sinir liflerinde SP immünreaktivitesi daha önce gösterilmiştir (103, 104). Korneal innervasyonu sağlayan trigeminal sinir lifleri SP içermektedir. Aynı zamanda konjonktiva ve lakrimal bez innervasyonunda görevli duyuşal sinir lifler de SP içermektedir (105). Kornea hipoestezisi olan hastalarda gözyaşı SP düzeylerinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (106).

İnflamasyon esnasında NK₁R eksprese edilmesinin ana düzenleyicisi NF- κ B dir (107). İnsan NK₁R gen bölgesinde, NF- κ B için bağlanma bölgesi olduğu çalışmalarda gösterilmiş (108). NF- κ B 'nin; splenik T hücrelerde IL-12 ve IL-18 ile indüklenen NK₁R transkripsiyonunu, astrositlerde IL-1 β ile uyarılan NK₁R ekspresyonunu ve meme kanseri hücrelerindeki NK₁R ekspresyonunu düzenlediği düşünülmektedir. Aynı zamanda SP ve NK₁R de NF- κ B'i tekrar aktive ederek proinflatuar gen transkripsiyonunu uyarırlar (107). SP periferik sinir uçlarından salındıktan sonra nörokinin reseptörleriyle etkileşerek NF- κ B'yi aktive eder ve sitokin ve kemokin salınımını uyarır, vasküler yapıları etkileyerek plazma ekstrasvazasyonuna neden olur. Aynı zamanda, nötrofil, mast hücreleri ve Langerhans hücreleri gibi inflamatuvar cevabı düzenleyen yapıları da aktive eder (107). SP ile uyarılan NF- κ B, IL-12 salınımını uyarır, IL-12 Th1 hücre cevabını arttırarak IFN- γ üretimini arttırır. NF- κ B aynı zamanda Th2 hücrelerinden IL-4 ve IL-13 salınımını uyarır. Hem Th1 hücreden üretilen IFN- γ hem de Th2 hücreden üretilen IL-4 ve IL-13, makrofajda SP reseptör ekspresyonunu çoğaltmaya yönelik etki gösterirler (109).

SP monosit ve nötrofillerin salınımını uyarmasına ek olarak, araşidonik asit metabolitlerinin (prostaglandin E2 ve tromboksan B2 gibi) üretimini de arttırarak, bunların doğal bağışıklık fonksiyonlarını uyarmaktadır. Ayrıca SP/NK1 etkileşimi, doğal bağışıklık ile kazanılmış bağışıklık arasındaki bağlantıyı sağlayan dendritik hücrelerin maturasyonunu etkiler (5). SP dendritik hücrelerin IL-10 sekresyonunu

inhibe eder ve CD4 T hücrelerinin, otoimmunitiyi düzenleyen Th17 lenfositlere dönüşümünü destekler (110).

Duyusal ganglionlardaki taşıyıcının içeren nöronlar, miyelinli C lifleri veya miyelinli Aδ lifleri içeren küçük hücre gövdelerine sahiptir. Bu nöronlar, fiziksel veya kimyasal uyarılara gelişen nosiseptif cevaba aracılık ederler. Ek olarak, bu sinir sonlanmalarından nöropeptid salınması ile arteriolar dilatasyon, plazma ekstrasvazyonu ve granülosit infiltrasyonu ile seyreden nörojenik inflamasyonu kontrol ederler (107).

SP, NK1 reseptörüne bağlandıktan sonra vücutta birçok biyolojik fonksiyonu düzenler. Kardiyovasküler sistemin regülasyonu, arteriyel dilatasyon, nöronal dejenerasyon, duyu algı, solunum sistemi regülasyonu, gastrik motilite, ağrı, kanser, platelet agregasyonu, hareket kontrolü ve inflamasyon gibi birçok sistemik olayda rol oynar (102).

SP ve NK1 reseptörü, spinal kord dorsal kök ganglionunda mevcuttur ve ağrı duyusunda SP ile Nörokinin A önemli rol oynamaktadır. İnflamasyona cevap olarak, sinir lifleri afferent sinyalleri santral sinir sistemine iletir. İnflamatuar süreçlerde, ağrının santral sinir sistemine iletiminde SP'nin katkıda bulunduğu gösterilmiştir (111). Bu anlamda, primer afferentlerin periferik sonlanmalarından salınan nöropeptitler, periferik sinir hasarından sonra oluşan mekanik hiperaljeziye önemli rol oynar ve periferik olarak salınan bu nöropeptitler, nöropatik ağrının oluşumuna katkıda bulunur. SP bu durumda indüksiyon fazına katılır (112).

Özetle SP; inflamasyonda, bağışıklık sistemlerinin düzenlenmesinde ve nöropatik ağrı yollarında en önemli nöropeptidlerden biridir. Korneada subbazal sinir plexusundan salınarak, kornea hassasiyeti ve kornea yara iyileşmesini sağlaması önemli özelliklerindendir. Çalışmamızda araştırdığımız gibi, kuru göz hastalarında oluşan inflammatuar süreç ve korneal sinir değişiklikleri ile SP ilişkisi günümüzde önemli bilgilere ışık tutacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (HÜTF) Göz Hastalıkları Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışma projesi için, 13.07.2018 tarihinde GO 18/661 sayılı 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 (TSA-2018-17524).

Çalışmaya Temmuz 2018-Mart 2019 tarihleri arasında HÜTF Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran 80 hasta dahil edildi. Birinci grup evaporatif kuru göz hastalığı ve günde 4 saatten fazla ekran kullanımı olan, MBD'si olmayan 17 hasta, 2. Grup evaporatif kuru göz hastalığı olup MBD'si olmayan ve günde 4 saatten fazla ekran kullanımı olan 17 hasta, 3. grup evaporatif kuru göz hastalığı ve MBD'si olan ve ekran kullanımı olmayan 26 hasta ve 4. Grup 20 sağlıklı bireyden oluşmaktaydı.

ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLME KRİTERLERİ

1. Meibomian bez disfonksiyonu olmayan hasta grubu

- Evaporatif kuru göz hastalığı olması
- Günde 4 saat ve üzeri ekran kullanımı olması
- Meibomian bez disfonksiyonu olmaması
- 20-40 yaş arasında olması
- İnflamatuvar kökenli ek sistemik hastalığı olmaması
- Kontakt lens kullanmaması
- Oküler travma ve/veya cerrahi öyküsü bulunmaması

2. Meibomian bez disfonksiyonu olan hasta grubu

- Evaporatif kuru göz hastalığı olması
- Meibomian bez disfonksiyonu olması
- Ekran kullanımı olmaması veya günde 4 saatten az olması
- 20-40 yaş arasında olması
- İnflamatuvar kökenli ek sistemik hastalığı olmaması
- Kontakt lens kullanmaması

- Oküler travma ve/veya cerrahi öyküsü bulunmaması

3. Kontrol grubu

- Sağlıklı oküler yüzeye sahip olması
- 20-40 yaş arasında olması
- İnflamatuvar kökenli ek sistemik hastalığı olmaması
- Kontakt lens kullanmaması
- Oküler travma ve/veya cerrahi öyküsü bulunmaması
- Topikal/sistemik tedavi kullanmaması

Çalışmadan dışlanma kriterleri; inflamatuvar sistemik hastalığın olması, KL kullanımı, oküler travma/cerrahi öyküsü olması, topikal veya sistemik tedavi almak şeklinde belirlendi.

Hasta ve kontrol grubuna giren bireyler çalışmaya gönüllülük esasına göre dahil edildi ve kendilerinden aydınlatılmış onam alındıktan sonra detaylı oftalmolojik muayeneleri yapıldı.

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, gözyaşı fonksiyon testleri, meibografi ve İVKM ölçümleri alınarak yapıldı. Subjektif yakınmaların saptanması amacıyla OSDI anketi uygulandı.

Tüm hastaların sağ gözünün alt forniksindeki 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 yapılincaya kadar -80°C derin dondurucuda saklandı.

Hasta ve kontrol grubunda günlük bilgisayar/akıllı telefon/televizyon karşısında geçirilen süre (saat/gün) sorularak kaydedildi.

Oküler yüzey ve gözyaşı değerlendirmesi sırası ile; OSDI anketi, Meibografi ile MBD evrelemesi, GKZ değerlendirmesi, Floresein ile boyanma, Lizamine ile oküler yüzey boyanması, Schirmer testi 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 bulgularının ciddiyetini ve bunların görme fonksiyonu üzerine etkilerini değerlendirmek üzere geliştirilmiş bir ankettir (113). İrkeç ve ark.(57) tarafından Türkçe validasyonu yapılan OSDI skrolama sistemi ile kuru göz ile ilişkili subjektif oküler irritasyon bulguları değerlendirildi.

OSDI skrolama sistemi 12 sorudan ve üç bölümden oluşmaktadır (Şekil 3.1). İlk bölümde 5 soru ile,kuru gözün yarattığı oküler irritasyon bulguları; ikinci bölümde 4 soru ile, görme fonksiyonu üzerine etkileri; üçüncü bölümde ise 3 soru ile, çevresel tetikleyici faktörler sorgulanmaktadır.

Her bölümdeki oküler semptomlar, sıklığına göre 0-4 arası puanlandırıldı (0=hiçbir zaman, 1=nadiren, 2=ara sıra, 3=sıklıkla, 4=her zaman). Görme ile ilgili fonksiyonları ve çevresel tetikleyici faktörleri içeren ikinci ve üçüncü bölümde, semptomu tetikleyen durum ile karşılaşılmadı ise soruya puan verilmedi. Skrolama, OSDI anketinde puan verilen, geçerli soru sayısı üzerinden yapıldı. Toplam puan x 25 /geçerli soru sayısı işlemi ile 0-100 arası değişen değerlerde OSDI skoru elde edildi.

- **Kornea Hassasiyeti Ölçümü**

Korneanın taktıl hassasiyeti, Cochet-Bonnet Esteziometresi (Luneau Ophtalmologue, Chartres, Fransa) ile ölçüldü . Çalışma grubundaki bireylerin ölçümü, tam karşılarında bir hedefe bakmaları söylendikten sonra esteziometrenin 0,5 cm (minimum) ile 6 cm (maksimum) arasında uzunluğu değişen, 0,12 mm çapında naylon monofilaman ucu kornea santraline dik olacak şekilde değdirilerek alındı. Öncelikle filaman ucu 6 cm uzunlukta uygulanarak başlanıp katılımcının hissedip hissetmediği sorgulandı; hissetmiyor ise hissettiği değere kadar

OSDI SKORU						
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.						
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. Kışmalarda	4	3	2	1	0	Kışmalarda 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

0,5'er cm azaltılarak -böylece uygulanan basınç artırılarak- hissettiği değer uzunluk (cm) cinsinden kaydedildi. Daha sonra üretici firma tarafından belirtilen dönüştürme tablosu kullanılarak bu değerler basınç birimine çevrildi (0,5-6 cm uzunluk, 200-11 mg/0,0113 mm² basınca karşılık gelmektedir).

Tüm ölçümler, gruplar arası kör olan aynı araştırmacı tarafından alındı. Aynı zamanda ısı, nem gibi çevresel faktörlerin ve diurnal değişimlerin etkisini ortadan kaldırmak amacıyla günün aynı saatlerinde ve ortamda uygulandı.

- **Meibografi Ölçümü**

Meibomian bezler; iki başlı, özel tasarım, yüksek çözünürlüklü, IR CCD [infrared, charge coupled device (kızılötesi, yükten bağımlı aygıtı)] kamerası olan Sirius Scheimpflug kamera (C.S.O, Floransa, İtalya; bon Optic, Lübeck, Almanya) cihazı ile değerlendirildi. Bu cihaz, monokromatik, 360 derece rotasyon yapan Scheimpflug kamera sistemi ve 22 halkalı Placido-disk'e sahip bir topografi cihazıdır. 475 nm mavi LED ışığı ile çalışmaktadır. Cihazda ek olarak bulunan yüksek çözünürlüklü kızılötesi ışık ve kamera sistemi sayesinde temassız olarak meibografik görüntüleme mümkün olmaktadır. Görüntüler, kapağın tamamını içerecek şekilde, aynı kontrast ayarında, üst ve alt kapaktan üçer kez olacak şekilde alındı.

Ölçüm alınırken, öncelikle her katılımcının çenesi ve başı, baş desteği bölgesine yerleştirildi. Ölçüm alan kişi, katılımcıya placido disk sistemi içerisindeki hedefe bakmasını söyledikten sonra alt kapağı (tüm tarsal doku görünecek şekilde) dışa çevirerek, tüm kapaktaki Meibomian bezlerin en fazla ve net şekilde görüldüğü alandan üç adet görüntü aldı. Daha sonra üst kapak, pamuk aplikatör yardımı ile evert edildi. Benzer şekilde üst kapağın da görüntülenmesi yapıldı.

Görüntüler, cihazda yüklü olan Phoenix-Meibography Imaging Module programı ile değerlendirildi. Analizler en net ve en fazla sayıda Meibomian bez içeren görüntü seçilerek yapıldı. Öncelikle ölçüm alınacak kapak seçildi (üst/alt kapak). Meibomian bezlerin net olarak seçildiği –kıvrılmış, Meibomian bezlerin net seçilemediği tarsal alanlar dahil edilemeyecek şekilde- görüldüğü kapak alanı seçildi. Daha sonra bezlerin sınırları manuel olarak işaretlendi. Ardından otomatik olarak kayıp alanı yüzdesine göre, daha önce yayınlanmış Meibografi Skalasına uygun evre (Evre 0-4) değeri cihaz tarafından belirlendi (77).

- **Flöresein ile Boyanma**

Oküler yüzey boyanması, steril Flöresein kağıtlar kullanılarak değerlendirildi. Öncelikle steril Flöresein kağıdı, bir damla 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 (66) göre evrelendirildi (Şekil 3.2).

OXFORD SKALASI				
PANEL	SAĞ GÖZ EVRE	SOL GÖZ EVRE	KRİTER	SÖZEL TANIMLAMA
A 	0 ☐	0 ☐	Panel A'ya eşit veya daha az	Yok
B 	I ☐	I ☐	Panel B'ye eşit veya daha az Panel A'dan daha fazla	Çok az
C 	II ☐	II ☐	Panel C'ye eşit veya daha az Panel B'den daha fazla	Hafif
D 	III ☐	III ☐	Panel D'ye eşit veya daha az Panel C'den daha fazla	Orta
E 	IV ☐	IV ☐	Panel E'ye eşit veya daha az Panel D'den daha fazla	Belirgin
>E	V ☐	V ☐	Panel E'den daha fazla	Şiddetli

Şekil 3.2. Oxford skalasına göre oküler yüzey boyanması (66)

- **Lizamin ile Boyanma**

Oküler yüzey boyanması, steril Lizamin kağıtları ile boyanarak değerlendirildi. Öncelikle steril Lizamin kağıdı, bir damla serum fizyolojik ile ıslatıldıktan sonra, alt konjonktival keseye uygulandı. Hastanın gözünü 15 saniye kapalı tutması söylenerek boyanın oküler yüzeye yayılması sağlandı. Normal biyomikroskop ışığında, kornea ve konjonktivanın boyanma paternleri incelenerek Oxford skalasına (66) göre evrelendirildi (Şekil 3.2).

- **Gözyaşı Kırılma Zamanı Değerlendirilmesi**

Hastanın gözüne steril Flöresein kağıdı uygulandıktan sonra geniş ışık huzmeli ve kobalt mavisi filtreli biyomikroskop ile GKZ değerlendirildi. Hastaya birkaç kez gözünü kırpması söylendikten sonra son göz kırpması ile kornea boyanma alanında oluşan ilk siyah noktanın görülmesi arasında geçen zaman saniye olarak ölçüldü ve üç ölçüm yapılarak ortalaması alındı. On saniye altındaki değerler anormal kabul edildi.

- **Schirmer Testi**

Schirmer testi için, 5 mm genişliğinde 35 mm uzunluğunda 41 numara Whatman filtre kağıdı kullanıldı. Katılımcılara işlemden önce Alcaine topikal anestezi damla (%0,5 proparakain hidroklorür, Alcon, İsviçre) damlatılıp, 1 dakika beklendikten sonra 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 Mikroskop Ölçümü**

Ölçümler, daldırma prensibi ile çalışan objektif lensin (Achromat 40x/0.75 W, Zeiss, Mannheim, Almanya) bağlı olduğu Confoscan 4.0 (Nidek, Vigonza, İtalya) cihazı ile yapıldı (Şekil 3.4). Objektif lensin çalışma mesafesi 2 mm, sayısal açıklık değeri 1,75 ve ön yüzey alanı $16,61 \text{ mm}^2$ boyutundadır.

Tüm katılımcılara, kornea santralinden görüntü almak üzere, işlemden önce Alcaine topikal anestezi damla (%0,5 proparakain hidroklorür, Alcon, İsviçre) damlatılıp ardından mercek lensinin ön yüzeyine Viscotears oftalmik jel (%0,2 Karbomer, Alcon, İsviçre) uygulandı. Kornea görüntülerini alabilmek için, daldırma merceğinin göze yaklaşması ve arada kalan oftalmik jelin kornea ön yüzey ile temas etmesi gerekmektedir. Bu işlem uygulanırken, merceğin kornea epitel yüzeyine dokunmamasına özen gösterildi. Her ölçüm alınmadan önce daldırma merceğinin ön yüzeyi %70 derişimde isopropil alkol ile temizlendi. Ardından her olgunun çenesi ve başı mikroskopun baş desteği bölgesine yerleştirildi. Görüntüler kornea merkezine odaklandıktan sonra kaydedilmeye başlandı. Her olgunun kornea epitelinden

endoteline kadar tüm tabakaları, 4-6 kez tam kat görüntülendikten sonra işlem sonlandırıldı.

Alınan İVKM görüntüleri, 450x340 μm boyutunda, 1 μm lateral çözünürlükte, 10 μm derinlik çözünürlüğündedir. Görüntüler 15" bilgisayar ekranında (1024x768 piksel) 500x büyütme ile değerlendirildi.

Her olgunun santral korneasının en iyi çekilmiş iki görüntüsünden; kornea epitel hücre yoğunluğu, endotel hücre yoğunluğu, endotel pleomorfizm ve polimegetizm oranları, subbazal sinir pleksusu değerlendirildi. Görüntü merkezinde boyutları sabit (200x300 μm) ve alanı 0,060 mm^2 büyüklüğünde bir dikdörtgen alan içinde kalan bölgedeki hücrelerin sayımı yapıldı. Tüm olgularda bu dikdörtgen alan büyüklüğü sabit tutuldu. Dikdörtgen alan sınırına denk gelen hücrelerden sadece sol ve üst tarafta kalanlar sayıma alındı.

Subbazal sinir pleksusu değerlendirmesi, en net ve ölçüm alınan alanda en fazla uzun sinir lifi içeren görüntüler üzerinde yapıldı. Ölçüm alanındaki (mm^2) uzun sinir lifi sayısı, total sinir lifi sayısı (uzun sinir lifleri ve dallarının toplam sayısı) ve total sinir lifi yoğunluğu (uzun sinir lifleri ve dalların toplam yoğunluğu, $\mu\text{m}/\text{mm}^2$) değerlendirildi. 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 değerlendirildi. Yoğunluk ölçümleri için her hastanın farklı alanlardan geçmiş, en fazla sayıda sinir lifini barındıran iki görüntüsü Confoscan 4 (Şekil 3.3) cihazından 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 Sitokin ve Substans P Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

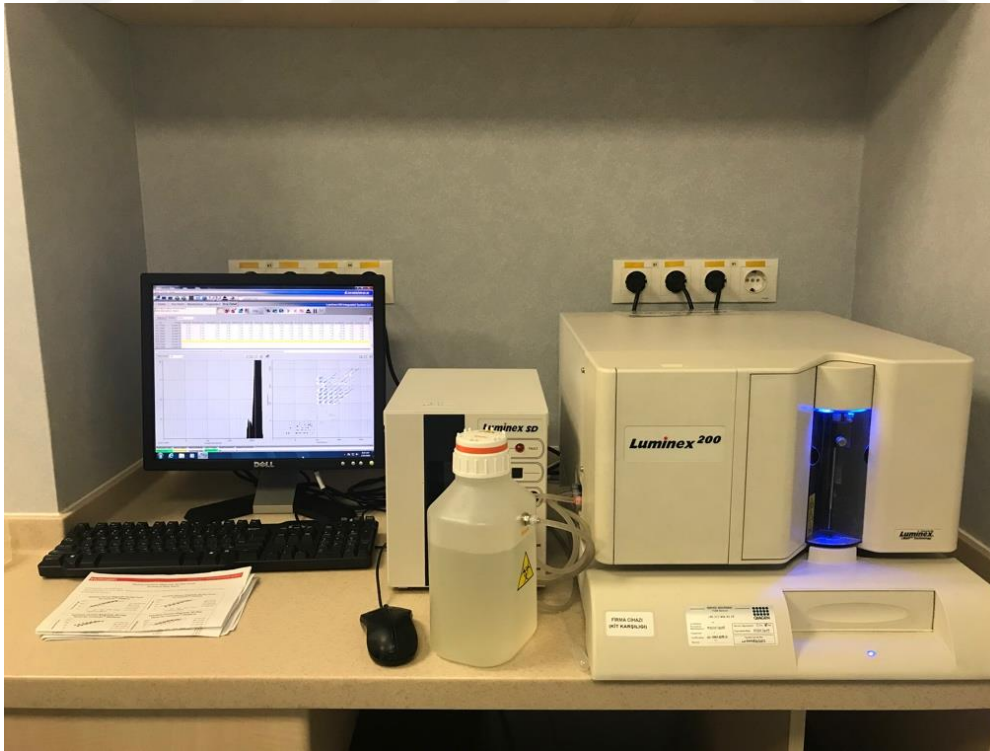
Toplanan gözyaşlarında sitokinlerden GM-CSF, G-CSF, IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, TNF- α , kemokinlerden MCP-1, IP-10, MIG, RANTES, Eotaxin, MIP-1 α , MIP-1 β , büyüme faktörlerinden EGF, FGF, HGF ve VEGF seviyeleri HÜTF HLA Laboratuvarı'nda bulunan Luminex (Austin, Texas, ABD) isimli cihazda İnsan Sitokin 30-plex kiti (İnvitrogen) (Waltham, Massachusetts, ABD) kullanılarak saptandı.

Luminex Analizi

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

4. BULGULAR

Çalışmamızda değerlendirilen 80 hasta 4 gruba ayrıldı. Grup 1; MBD olmayan ve günde 4 saat üzeri ekran kullanımı olan bireylerden, Grup 2; MBD olan ve günde 4 saat üzeri ekran kullanımı olan bireylerden, Grup 3; MBD olan ve ekran kullanımı olmayan bireylerden, Grup 4 ise MBD ve ekran kullanımı olmayan sağlıklı bireylerden oluşmaktaydı.

Grup 1: 17 birey MBD olmayan ve 4 saat üzeri ekran kullanımı olan

Grup 2: 17 birey MBD olan ve 4 saat üzeri ekran kullanımı olan

Grup 3: 26 birey MBD olan ve ekran kullanımı olmayan

Grup 4: 20 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 $p=0,939$ ve $p=0,063$).

Tablo 4.1. Grupların yaş ortalaması karşılaştırılması

	Grup 1 (n=17) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	Grup 2 (n=17) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	Grup 3 (n=26) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	Kontrol (n=20) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	p değeri
Yaş	27,1 $\pm$ 5,3 (20-38)	27,6 $\pm$ 4,2 (23-35)	27,1 $\pm$ 5,6 (20-37)	26,8 $\pm$ 3,1 (21-35)	0,929

Tablo 4.2. Grupların cinsiyet dağılımı karşılaştırması

Cinsiyet	Grup 1 (n=17) (%)	Grup 2 (n=17) (%)	Grup 3 (n=26) (%)	Kontrol (n=20) (%)	p değeri
Erkek	8 (47)	6 (35.2)	3 (11.5)	6 (30)	0,063
Kadın	9 (53)	11 (64.8)	23 (88.5)	14 (70)	

Gruplar arasında sigara kullanımı karşılaştırmasında anlamlı fark saptanmamakla birlikte hastaların çoğunda sigara kullanımı yoktu ($p=0,625$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Gruplar arasında sigara kullanımının karşılaştırılması

Sigara	Grup 1 (n=17) (%)	Grup 2 (n=17) (%)	Grup 3 (n=26) (%)	Kontrol (n=20) (%)	p değeri
Yok	10 (58,8)	13 (76,5)	17 (65,4)	4 (20)	0,625
Var	7 (41,2)	4 (26,5)	9 (34,6)	16 (80)	

Grupların OSDI skorlarının karşılaştırılmasında Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 te kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,001$) (Tablo 4.4). İkili gruplar arasında OSDI skorları karşılaştırıldığında kontrol grubu dışında diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.5).

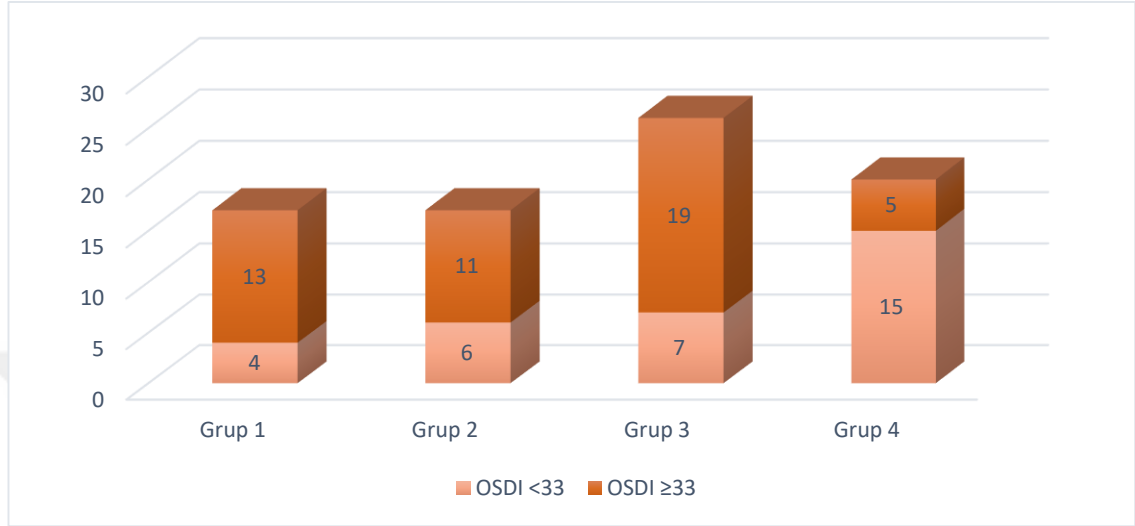
Tablo 4.4. Grupların OSDI skor ortalamalarının karşılaştırılması

	Grup 1 (n=17) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	Grup 2 (n=17) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	Grup 3 (n=26) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	Kontrol (n=20) Ortalama $\pm$ SS (min-maks)	p değeri
OSDI	49,9 $\pm$ 18,6 (14,5-82,5)	39,4 $\pm$ 15,4 (16,6-65,9)	43,5 $\pm$ 21,2 (4,1-84,3)	19,3 $\pm$ 19,7 (0-60)	<0,001

Tablo 4.5. İkili gruplar arasında OSDI skorlarının karşılaştırılması

	p değeri
Grup 4-2	0,012
Grup 4-1	<0,001
Grup 4-3	<0,001
Grup 2-1	0,892
Grup 2-3	0,384
Grup 3-1	0,714

ODISSEY çalışma grubunun kriterleri baz alınarak OSDI skorları <33 ve ≥ 33 olarak 4 grup arasında Ki-Kare testi ile incelendi. OSDI skoru ≥ 33 olan hasta sayısı Grup 1’de 13, Grup 2’de 11, Grup 3’de 19, Grup 4’de 5 idi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$) (Grafik 4.1).



Grafik 4.1. Gruplar arasında ODISSEY kriterleri baz alınarak OSDI skorları karşılaştırılması

GKZ ve Schirmer testi karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile gruplar arasında yapıldı. GKZ açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada; Grup 1, Grup 2 ve Grup 3’de GKZ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha kısa bulundu ($p<0,001$). Schirmer testi açısından karşılaştırıldıklarında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,240$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Gruplar arasında GKZ ve Schirmer testi sonuçlarının karşılaştırılması

	Grup 1 (n=17)	Grup 2 (n=17)	Grup 3 (n=26)	Kontrol (n=20)	p değeri
GKZ	8 (3-15)	8 (4-16)	7,5 (4-16)	12,5 (6-16)	<0,001
Schirmer	22 (9-30)	15 (5-32)	20 (6-32)	23,5 (12-30)	0,240

Flöresein ile boyanma, Grup 1’de toplam 10 kişide (%58,8), Grup 2’de toplam 8 kişide (%47), Grup 3’de toplam 15 kişide (%57,6), Grup 4’de ise toplam 4 kişide (%20) görüldü. Gruplar Ki-Kare testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,046$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Flöresein ile boyanma durumunun gruplar arasında dağılımı

Flöresein	Grup 1 (n=17) (%)	Grup 2 (n=17) (%)	Grup 3 (n=26) (%)	Kontrol (n=20) (%)	p değeri
Var	10 (58,8)	8 (47)	15 (57,6)	4 (20)	0,046
Yok	7 (41,2)	9 (53)	11 (42,4)	16 (80)	

Oxford skalasına göre Flöresein ile boyanma evrelendirildi. Gruplar, Flöresein ile boyanma evrelerine göre Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,029$) (Tablo 4.8). Flöresein ile boyanma evreleri ikili gruplar arasında karşılaştırıldığında ise sadece Grup 1 ile Grup 4 arasında ve Grup 3 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (sırasıyla $p=0,032$ ve $p=0,004$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.8. Oxford skalasına göre Flöresein ile boyanma evrelerinin gruplar arasında karşılaştırılması

	Grup 1 (n=17)	Grup 2 (n=17)	Grup 3 (n=26)	Kontrol (n=20)	p değeri
Flöresein	1 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-2)	0 (0-1)	0,029

Tablo 4.9. Oxford skalasına göre Flöresein ile boyanma evrelerinin ikili gruplar arasında karşılaştırılması

	p değeri
Grup 4-2	0,134
Grup 4-1	0,032
Grup 4-3	0,004
Grup 2-1	0,531
Grup 2-3	0,239
Grup 3-1	0,625

Grupların Lizamin ile boyanma durumları karşılaştırıldı. Lizamin ile boyanma, Grup 1’de toplam 10 kişide (%58,8), Grup 2’de toplam 8 kişide (%47), Grup 3’de toplam 14 kişide (%53,8), Grup 4’de ise toplam 3 kişide (%15) görüldü. Gruplar Ki-Kare testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,038$) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Lizamin ile boyanma durumunun gruplar arasında dağılımı

Lizamin	Grup 1 (n=17) (%)	Grup 2 (n=17) (%)	Grup 3 (n=26) (%)	Kontrol (n=20) (%)	p değeri
Var	10 (58,8)	8 (47)	14 (53,8)	3 (15)	0,038
Yok	7 (41,2)	9 (53)	12 (46,2)	17 (85)	

Oxford skalasına göre Lizamin ile boyanma evrelendirildi. Gruplar, Lizamin ile boyanma evrelerine göre Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,018$) (Tablo 4.11). Lizamin ile boyanma evreleri ikili gruplar arasında karşılaştırıldığında ise sadece Grup 1 ile Grup 4 arasında ve Grup 3 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (sırasıyla $p=0,011$ ve $p=0,004$) (Tablo 4.12).

Tablo 4.11. Oxford skalasına göre Lizamin ile boyanma evrelerinin gruplar arasında karşılaştırılması

	Grup 1 (n=17)	Grup 2 (n=17)	Grup 3 (n=26)	Kontrol (n=20)	p değeri
Lizamin	1 (0-2)	0 (0-1)	1 (0-2)	0 (0-1)	0,018

Tablo 4.12. Oxford skalasına göre Lizamin ile boyanma evrelerinin gruplar arasında karşılaştırılması

	p değeri
Grup 4-2	0,079
Grup 4-1	0,011
Grup 4-3	0,004
Grup 2-1	0,443
Grup 2-3	0,357
Grup 3-1	0,938

Hastaların kornea hassasiyet ölçümleri gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,866$).

İn vivo konfokal mikroskopik ölçüm analizleri, gruplar arasında ANOVA testi ve Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapıldı. Öncelikle gruplar arasında, bazal epitel hücre yoğunluğu (hücre/mm²), endotel hücre yoğunluğu (hücre/mm²) ile endotel hücre polimegetizm ve pleomorfizm yüzdeleri karşılaştırıldı. Bu değerler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,154$, $p=0,084$, $p=0,577$, $p=0,509$) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Gruplar arasında bazal epitel ve endotel hücrelerinin İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması

	Grup 1(n=17)	Grup 2(n=17)	Grup 3(n=26)	Kontrol (n=20)	p değeri
Bazal Epitel Hücre Yoğunluğu (hücre/mm ²)	3140,1±435 (2100-3800)	3204,6±394,4 (2688-3823)	3235,7±323,8 (2612-3800)	3418,5±405,8 (2850-4200)	0,154
Endotel Hücre Yoğunluğu (hücre/mm ²)	2514,9±277,2 (1800-2800)	2712,5±274,6 (2300-3362)	2669,7±322 (2140-3600)	2771,4±322,1 (2080-3259)	0,084
Polimegetizm (%)	44,3±11,2 (27,9-59,9)	39,5±6 (29,6-53)	44,9±6,7 (19,2-58,4)	40,2±7,7 (30-58,9)	0,577
Pleomorfizm (%)	45,9±9,8 (26,7-61,4)	49,5±10,1 (29-66,2)	50,3±9,2 (37,7-78)	47,5±11,2 (25-75,9)	0,509

Subbazal sinir lifi analizinde; total sinir lifi sayısı (sinir/mm²), uzun sinir lifi sayısı, total sinir lifi yoğunluğu(µm/mm²) ve tortuoze değerleri gruplar arasında karşılaştırıldı. Gruplar arasında tortuoze değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p=0,013). Diğer sinir ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. Gruplar arasında subbazal sinir pleksusu İVKM ölçümlerinin karşılaştırılması

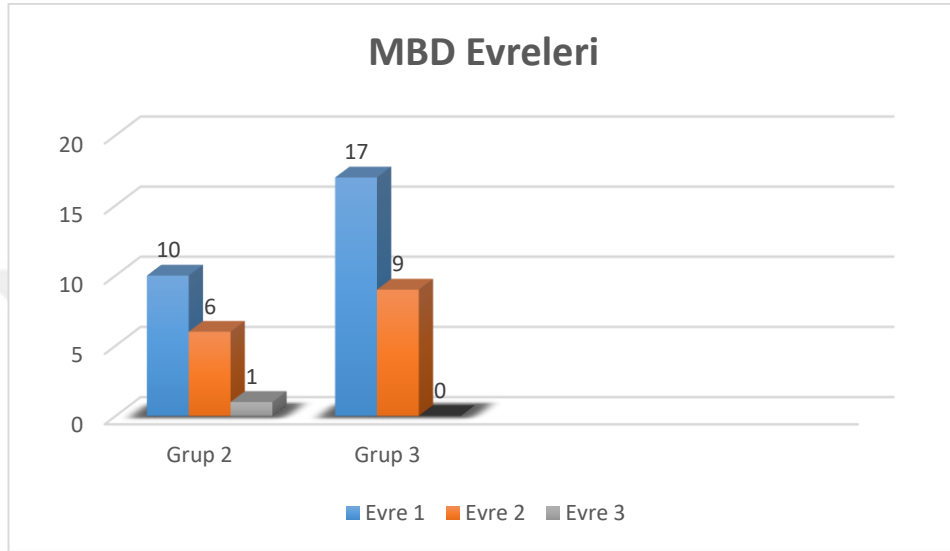
	Grup 1(n=17)	Grup 2(n=17)	Grup 3(n=26)	Kontrol (n=20)	p değeri
Uzun Sinir Lifi Sayısı (sinir/mm²)	2 (2-6)	3 (1-6)	3 (0-5)	3 (1-5)	0,496
Total Sinir Lifi Sayısı (sinir/mm²)	9 (6-14)	10 (7-13)	9 (7-15)	8 (5-12)	0,059
Total Sinir Lifi Yoğunluğu (µm/mm²)	1077 (480-1886)	1062,5 (679-1793)	1119 (852-1980)	1043,5 (728-1702)	0,718
Tortuoze	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (1-3)	1 (0-2)	0,013

Sinir tortuoze evrelerinin ikili gruplar arasında karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile incelendi. Grup 3’de tortuoze Grup 4’e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu (p=0,024). Diğer gruplar arasında tortuoze açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.15).

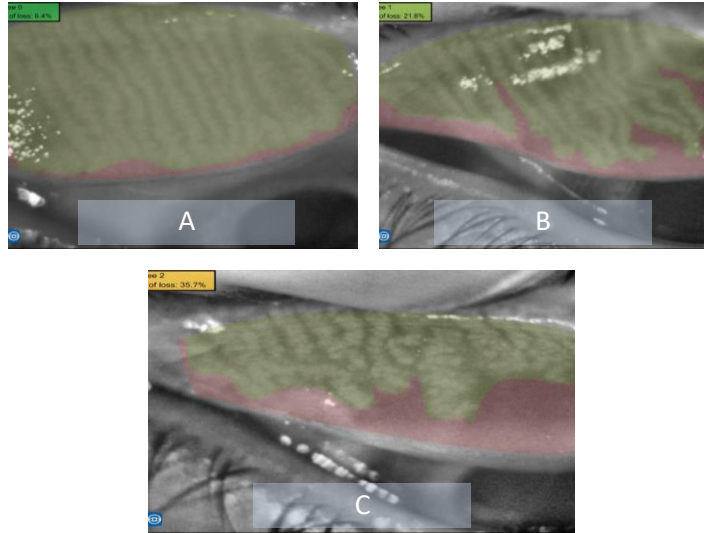
Tablo 4.15. İkili gruplar arasında sinir tortuoze evrelerinin karşılaştırılması

	p değeri
Grup 4-2	0,894
Grup 4-1	0,558
Grup 4-3	0,024
Grup 2-1	0,714
Grup 2-3	0,086
Grup 3-1	0,177

Grup 2’de ve Grup 3’de MBD olan bireylerin, meibografi görüntülerine göre yapılan evrelendirmeleri Ki-Kare testi ile değerlendirildi. Grup 2’de 10 bireyde evre 1 MBD (%58,8), 6 bireyde evre 2 MBD (%35,3), 1 bireyde ise evre 3 MBD (%5,9), Grup 3’de 17 bireyde evre 1 MBD (%65,4), 9 bireyde evre 2 MBD (%34,6) saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,783$) (Grafik 4.2).



Grafik 4.2. Grup 2’de ve Grup 3’deki MBD olan hastaların meibografi evrelerinin değerlendirilmesi



Şekil 4.1. MBD evrelerine göre meibografi görüntüleri

(**A**, kontrol grubunda MBD olmayan hastanın meibografi görüntüsü. **B**, ekran kullanımı olan ve Grade 1 MBD’si olan hastanın meibografi görüntüsü. **C**, ekran kullanımı olmayan ve Grade 2 MBD’si olan hastanın meibografi görüntüsü.)

Grupların gözyaşı sitokin düzeylerinin ortalama değerleri Tablo 4.16’de verilmiştir. Bu değerlerden normal dağılıma uyanlar ANOVA testi ile, normal dağılıma uymayanlar ise Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda IL-6 düzeyleri için istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,006$). İkili gruplar arasında bakıldığında IL-6 düzeyinin Grup 3’de, Grup 4’e göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha yüksek olduğu görüldü ($p=0,003$). Diğer ikili gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.16. Grupların ortalama sitokin düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p değeri
EGF	40,5±14,7 pg/ml	50,2±40,7 pg/ml	47,8±42,4 pg/ml	41,9±19 pg/ml	0,812
Eotaksin	63,3±26,9 pg/ml	69,2±22,3 pg/ml	77,1±17,7 pg/ml	70±17,1 pg/ml	0,240
FGF	32±5,9 pg/ml	33,3±8,1 pg/ml	32,1±14,1 pg/ml	35±10,4 pg/ml	0,816
G-CSF	65,2±25,8 pg/ml	80,6±20,3 pg/ml	82,3±21 pg/ml	78,5±30 pg/ml	0,165
GM-CSF	69,6±26 pg/ml	83,2±27,8 pg/ml	85,3±26,1 pg/ml	89,1±52 pg/ml	0,428
HGF	7,6±2,7 pg/ml	9,5±5,8 pg/ml	9,9±5,4 pg/ml	10±7,7 pg/ml	0,579
IFN-γ	51,9±20,4 pg/ml	64,8±19,1 pg/ml	67,9±228 pg/ml	67,8±23 pg/ml	0,105
IL-1β	71,4±17,9 pg/ml	80,8±13 pg/ml	71,2±15,7 pg/ml	78±13 pg/ml	0,124
IL-1RA	6525,1±10268 pg/ml	8698,3±12218 pg/ml	9767,2±14568 pg/ml	7576,7±9823 pg/ml	0,848
IL-12	91,9±59 pg/ml	107,8±60 pg/ml	93,9±34 pg/ml	86,5±53 pg/ml	0,651
IL-13	84,5±39,8 pg/ml	93,4±24,8 pg/ml	86,3±34,5 pg/ml	91,3±29 pg/ml	0,836
IL-15	69,5±23 pg/ml	64,7±34,8 pg/ml	62,3±29,7 pg/ml	67,1±32 pg/ml	0,905
IL-17A	68,7±25,4 pg/ml	75,3±28,1 pg/ml	69,7±21,1 pg/ml	71,2±27 pg/ml	0,869
IL-2	69,7±18,2 pg/ml	76±16,6 pg/ml	83,2±23,7 pg/ml	80,4±29 pg/ml	0,302

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p değeri
IL-4	78,7±43,9 pg/ml	70,7±24,9 pg/ml	63,8±23 pg/ml	65,6±21 pg/ml	0,405
IL-5	83,3±33,9pg/ml	70,8±18,2 pg/ml	69,8±30 pg/ml	66±26,3 pg/ml	0,192
IL-6	113,6±73 pg/ml	90,7±67,5 pg/ml	92,7±53 pg/ml	77±25,7 pg/ml	0,006
IL-7	78,3±16,8 pg/ml	72,9±14,2 pg/ml	70,4±15 pg/ml	72,1±19 pg/ml	0,433
IL-8	231,1±150,3 pg/ml	187,6±93,7 pg/ml	245±423,8 pg/ml	129,4±45,2 pg/ml	0,331
IP-10	9297,3±14091 pg/ml	8480,5±7665 pg/ml	11629,5±15264 pg/ml	10205,6±8787 pg/ml	0,886
MIP-1-α	74,5±48,8 pg/ml	74,3±23,6 pg/ml	67,3±26 pg/ml	77,2±27 pg/ml	0,862
MIP-1-β	69,2±34,4 pg/ml	75,5±27,9 pg/ml	68,6±27 pg/ml	72±28,5 pg/ml	0,903
RANTES	91,8±71,8 pg/ml	73±21,6 pg/ml	70±35,6 pg/ml	85,8±79 pg/ml	0,623
TNF-α	79±20,3 pg/ml	74,9±16,1 pg/ml	63±18,4pg/ml	72,7±16 pg/ml	0,056
VEGF-A	231,3±122 pg/ml	228±147 pg/ml	179,7±90 pg/ml	239,5±164 pg/ml	0,585
IFN-α	82,7±36,9pg/ml	69,1±20,8 pg/ml	69±20,4 pg/ml	68,6±27 pg/ml	0,420
IL-10	114,4±159 pg/ml	90,7±67,5 pg/ml	89±44,7 pg/ml	72,5±30 pg/ml	0,409
MCP-1	138,5±188 pg/ml	157,5±210 pg/ml	83±30,7 pg/ml	77,6±32 pg/ml	0,236
MIG	62,2±100 pg/ml	34,8±15,7 pg/ml	36,7±18 pg/ml	37±12,8 pg/ml	0,375

Gözyaşı IL-6 düzeyi ile bazı değişkenler arasındaki korelasyon ilişkisi Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. IL-6 düzeyi ile yaş, cinsiyet ve ekran kullanım süresi açısından korelasyon görülmedi. IL-6 düzeyi ile OSDI skoru arasında zayıf pozitif ilişki ($r=0,223$, $p=0,048$), MBD evresi ile arasında ise düşük pozitif ilişki ($r=0,328$, $p=0,003$) saptandı (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. IL-6 düzeyi ile bazı değişkenlerin korelasyon araştırılması

	Yaş	Cinsiyet	OSDI	Ekran kullanımı	MBD evresi
IL-6 r değeri	-0,135	0,045	0,223	0,004	0,328
p değeri	0,234	0,692	0,048	0,970	0,003

Gözyaşı Substans P düzeyleri ortalamaları Tablo 4.18’ de verilmiştir. Bu değerlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında gözyaşı SP düzeyleri ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,265$)(Tablo 4.18).

Tablo 4.18. Gözyaşı SP ortalamalarının gruplar arası karşılaştırılması

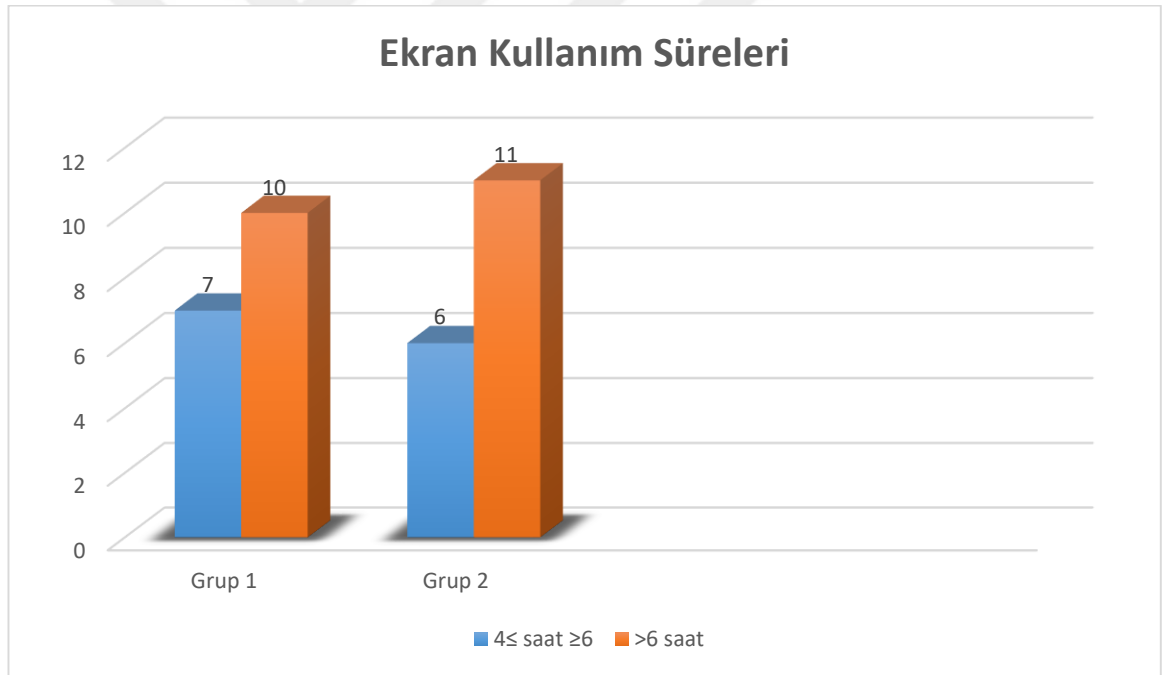
	Grup 1 (n=17)	Grup 2 (n=17)	Grup 3 (n=26)	Kontrol (n=20)	p değeri
Substans P	101,5	131,1	93,3	97,2	0,265
(pg/ml)	(38,5-678,2)	(51,2-998,6)	(39,7-624,1)	(39,1-389,9)	

Gözyaşı SP düzeyleri ile bazı değişkenlerin korelasyonu, Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. SP düzeyi ile yaş, cinsiyet, OSDI skoru ve total sinir lifi yoğunluğu arasında korelasyon saptanmadı. SP düzeyi ile ekran kullanımı süresi arasında zayıf pozitif ilişki saptandı ($r=0,284$, $p=0,011$) (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. Gözyaşı SP düzeyleri ile bazı değişkenlerin korelasyon araştırılması

		Yaş	Cinsiyet	OSDI	Ekran kullanımı	Total sinir lifi yoğunluğu
SP	r değeri	-0,014	-0,050	0,211	0,284	0,048
	p değeri	0,905	0,658	0,061	0,011	0,680

Grup 1’ de ekran kullanım süresi günde 4-6 saat arasında olan 7 birey (%41,2), 6 saatten fazla olan 10 birey (%58,8), Grup 2’ de ekran kullanım süresi günde 4-6 saat arasında olan 6 birey (%35,3), 6 saatten fazla olan 11 birey (%64,7) mevcuttu ve gruplar arasından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,921$) (Grafik 4.3).

**Grafik 4.3.** Grup 1 ve Grup 2’deki ekran kullanım sürelerinin karşılaştırılması.

Ekran kullanım süresine göre yapılan alt gruplar arasında OSDI skoru ve gözyaşı SP düzeyleri Mann Whitney u testi kullanılarak karşılaştırıldı. Gruplar arasında OSDI skoru ve SP düzeyleri açısından anlamlı fark görülmedi (sırasıyla $p=0,381$ ve $p=0,232$) (Tablo 4.20).

Tablo 4.20. Ekran kullanım sürelerine göre gruplar arası OSDI skoru ve SP düzeyleri karşılaştırılması

	4-6 saat ekran kullanımı (n=13)	>6 saat ekran kullanımı (n=21)	p değeri
OSDI	40,8±17,2 (14,5-67,5)	47±17,9 (18,7-82,5)	0,381
Substans P	160,5±200,8 (38,5-804,3)	248,8±265,7 (51,2-998,6)	0,232

Ekran kullanım süresi ile OSDI skoru arasındaki korelasyon, Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Ekran kullanım süresi ile OSDI arasında zayıf pozitif ilişki saptandı ($r=0,274$, $p=0,014$)(Tablo 4.21).

Tablo 4.21. Ekran kullanım süresi ile OSDI skoru arasındaki korelasyon

	Ekran kullanımı
OSDI	
r değeri	0,274
p değeri	0,014

5. TARTIŞMA

Kuru göz dünyada erişkin popülasyonun yaklaşık %5-50'sini etkilemektedir (24). Kuru göz gelişiminde; yaş, cinsiyet, hormonlar, otoimmün hastalıklar, çevresel faktörler, ekran kullanımı, kontakt lens kullanımı ve ilaçlar gibi bir çok intrinsik ve ekstrinsik tetikleyici faktör rol oynamaktadır (1). Bu faktörlerden özellikle ekran kullanımı ve meibomius bez disfonksiyonu evaporatif kuru göz gelişiminde önemli yer tutmaktadır. MBD, evaporatif kuru göz hastalığının en sık nedeni olmasıyla birlikte son yıllarda teknolojik gelişmelerle birlikte bilgisayar kullanımının artması nedeniyle ekran kullanımına bağlı oluşan kuru göz tablosunun önemi de artmaktadır (2).

Ekran kullanımı göz kırpma sayısında azalmaya sebep olması ve gözyaşı filminin evaporasyonunu arttırması sebebiyle kuru göz gelişiminde etkilidir. Göz kırpma sırasında, meibomian bezlerden salgılanmış lipid tabaka oküler yüzeye yayılır. Bu nedenle göz kırpma sayısında veya fonksiyonunda oluşan problemler, gözyaşı lipid tabakada bozulmaya bu da evaporasyonda artışa yol açar (41).

Bilgisayar kullanımı gibi yüksek konsantrasyon gerektiren aktivitelerde göz kırpma sayısında azalma ve buna bağlı da gözyaşı kırılmasında artma olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Schlote ve ark. (114) 30 kuru göz hastasının spontan göz kırpma sayılarını normal konuşma sırasında ve bilgisayar kullanımı sırasında ölçmüşler. Bilgisayar kullanımında göz kırpma sayısının anlamlı olarak daha az olduğunu göstermişlerdir. Ancak gözyaşı kırılma zamanında bir fark saptamamışlardır.

Acosta ve ark. (11) dinlenme haline göre bilgisayar kullanımı sırasında göz kırpma sayısının azaldığını göstermişlerdir. Aynı zamanda hastalara bilgisayar kullanımı öncesi bazal salin içeren ve viskoelastik içeren göz solüsyonları damlatarak tekrar ölçüm yapmışlar. Bu uygulama sonrası göz kırpma oranları dinlenme haline göre bilgisayar karşısında yine azalmış saptanmış ancak bu azalmanın göz damlası uygulanmamış hale göre daha az olduğu görülmüş. Bu çalışmada oküler rahatsızlık şikayetlerinin de bilgisayar kullanımı sonrası arttığını göstermişlerdir.

Uchino ve ark. (115) 561 ofis çalışanı üzerinde yaptıkları araştırmada, kuru göz hastalığının özellikle 8 saatin üzerinde bilgisayar kullanımında (Odds oranı: 1.94), kadınlarda (Odds oranı: 2) ve 30 yaş üzerindekilerde (Odds Oranı: 2.22) daha sık

olduğu gösterilmiştir. Bireylerin çoğunda GKZ düşük saptanmış, Schirmer testi ise çoğunda normal saptanmış. Bizim çalışmamızda da ekran kullanımı 4 saatin üzerinde olanlarda GKZ azalmış olduğu, Schirmer testinin ise normal düzeylerde olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda cinsiyet ile kuru göz semptomları arasında bir ilişki görülmemiştir.

Cardona ve ark. (116) 25 sağlıklı bireyde bilgisayar kullanımında göz kırpma sayısındaki ve gözyaşı filmindeki değişikliği araştırmışlardır. Dinlenik primer bakış pozisyonuna kıyasla bilgisayar oynarken göz kırpma sayısının azaldığını ve GKZ'nın kısaldığını göstermişler. Gözyaşı volümü ile ilgili değişiklik saptamamışlar. Benzer şekilde Himebaugh ve ark. (42) 16 sağlıklı birey ve 16 kuru göz hastası ile yaptıkları araştırmada; bilgisayar kullanımında göz kırpma sayısının azaldığını, GKZ'nın azaldığını ve oküler yüzey boyanmasının arttığını göstermişlerdir.

Argiles ve ark. (117) 50 sağlıklı bireyin farklı okuma şartlarındaki göz kırpma sayılarını araştırmışlar. Normal dinlenme halindeki göre tüm okuma aktivitelerinde göz kırpma sayısının azaldığını göstermişler. Bu azalmanın bilgisayar karşısındaki okumalarda kitap ile okumaya göre daha fazla olduğunu saptamışlardır.

Göz kırpma sayısı dışında önemli bir diğer faktör de göz kırpmanın tam olarak yapılmasıdır. Sayı olarak normal olsa bile tamamlanmamış göz kırpma durumunda da özellikle alt korneal bölgede gözyaşıda kırılmada artış olduğu gösterilmiştir. Wang ve ark. (45) 154 birey ile yaptıkları çalışmada, inkomplet göz kırpma tespit ettikleri kişilerde daha fazla kuru göz tanısı, daha yüksek OSDI skoru ve daha fazla meibomius bez disfonksiyonu saptamışlardır.

Göz kırpma sayısının azalmasının veya göz kırpmanın efektif şekilde tam yapılamamasının evaporasyonda artışa yol açarak kuru göz gelişimine neden olduğu bilgisi literatürdeki birçok çalışma ile desteklenmektedir. Göz kırpma sırasındaki kas aktivitesinin meibomius bezlerdeki lipidlerin mekanik etki ile gözyaşı film tabakasına dağılımında anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle göz kırpmanın tam yapılmaması durumunda meibomius bezlerin salgıladığı lipid içeriğin etkili şekilde oküler yüzeye salınımı da bozulmaktadır. Böylece MBD meydana gelerek evaporasyonda artış devam etmektedir. Wan ve ark. (35) 7. Kranial sinir felci olan 60 hastanın göz kırpma fonksiyonlarını ve oküler yüzey bulgularını değerlendirmiştir. İnkomplet göz kırpma olan hastalarda; daha düşük GKZ, daha fazla punktat

epitelyopati, daha fazla kapak kenarı bozuklukları ve meibum salgınlmında daha fazla bozulmaya baēlı daha Şiddetli MBD olduēu gösterilmiştir.

Fenga ve ark. (118) bilgisayar karşısında çalışan 70 birey ile yaptıkları çalışmada, 52 kişide MBD (%74.3) olduēunu saptamışlar. Ekran kullanım süresi daha uzun olanlarda ve MBD olanlarda oküler Őikayetlerin daha fazla olduēunu bildirmişlerdir. Bizim  alıŐmamızda da ekran kullanım süresi uzadıkça OSDI skorunda artma eēilimi olduēu görülmüştür, ancak ek olarak MBD olmasının Őikayetleri arttırmadıēı görülmüştür.

Wu ve ark. (119) günde 4 saat üzeri ekran kullanımı olan 53 hasta ile yaptıkları çalışmada; hasta grubunda kontrol grubuna göre OSDI skorunun daha yüksek ve flöresein ile boyanmanın daha fazla olduēunu, GKZ'nin ise daha düşük olduēunu göstermişler. Ayrıca ekran kullanım süresi uzun olanlarda daha ileri MBD evresi olduēunu saptamışlardır. Schirmer testi açısından ise herhangi bir fark saptamamışlardır. Ekran süresi uzadıkça oküler rahatsızlık Şikayetlerinin artmasının MBD'nin Şiddetlenmesine baēlı olabileceēini düŐünmektedirler. Bu  alıŐmada MBD evresi hem meibografi ile hem de klinik olarak kapak kenarı deēerlendirilerek belirlenmiştir. Bizim  alıŐmamızda MBD evresi meibografi ile belirlenmiş olup, ekran kullanım süresi ile MBD evresi arasında ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızda ekran kullanım süresi ile GKZ ve flöresein ile boyanma açısından da bir ilişki saptanmamıştır. Ancak ekran kullanım süresi ile OSDI skoru arasında zayıf pozitif korelasyon saptanmamıştır.

Meibomius bezlerin gözyaşı lipid tabakasının stabilitesini saēlayarak, evaporasyonun normal sınırlarda gerçekleŐmesini desteklediēi bilinmektedir. MBD geliŐtiēinde lipid tabaka stabilitesi bozularak evaporasyonun arttıēı ve kuru göz tablosunun geliŐtiēi birçok çalışmada gösterilmiştir. Mathers ve ark. (120) , Goto ve ark. (121) , Shimazaki ve ark. (122) yaptıkları çalışmalarda MBD olan bireylerde evaporasyon oranlarının anlamlı olarak daha fazla olduēunu göstermişlerdir.

MBD riskinin ileri yaş ve kadın cinsiyet ile arttıēı literatürde gösterilmiştir (123). Bizim  alıŐmamızda kadın birey sayısı 57 (%71,2) olup, gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Yaş açısından da gruplar arasında fark saptanmamıştır.

Özetle, MBD olmadan ekran kullanımı tek başına evaporasyonda artış ile kuru göz semptom ve bulgularının oluşmasına neden olabilmektedir. Aynı zamanda MBD

varlığı da aynı semptom ve bulgulara neden olabilmektedir. Ekran kullanımı ile oluşan gözyaşı film instabilitesinin kuru göz tablosundaki temel etken olduğu düşünülmektedir. Gözyaşı fonksiyonu ve semptomların normal bireylerdeki dağılımına bakıldığında, ekran kullanımı olanlarda kuru göz tablosunun azalmış bir GKZ ile başladığı ve subjektif semptomların gelişmesine yol açtığı düşünülebilir. Literatürde ekran kullanımının günde 4 saatten fazla olduğu durumlarda GKZ’de kısıalma ve oküler yüzey boyanmasında artış meydana geldiği gösterilmiştir. Flöresein veya lizamin ile boyanma erken evrelerde görülmeyebilir, bu nedenle klinik olarak çok kuvvetli bir gösterge olduğu düşünülmemektedir. Bizim çalışmamızda da tüm hasta gruplarında GKZ’de kısıalma mevcuttu. Flöresein ile boyanma ise kuru göz olan hastaların 33’ünde (%55), lizamin ile boyanma kuru göz olan hastaların 32’sinde (%53.3) görülmüştür.

Castillo ve ark. (124) yaptıkları bir çalışmada, 21 kuru göz hastasının (11 primer Sjögren, 10 Sjögren dışı kuru göz) İVKM ölçümelerini 21 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubuyla karşılaştırmıştır. Yüzeyel epitel hücre yoğunluğunun kuru göz hastalarında kontrole göre ve Sjögren olanlarda Sjögren olmayanlara göre anlamlı düşük olduğunu göstermişlerdir. Bazal epitel hücre yoğunluğunda, anterior ve posterior stromal hücre yoğunluğunda fark saptamamışlardır. Subbazal sinir sayısı ve subbazal sinir lifi yoğunluğu hasta grubunda, 60 yaş altı kontrol grubundakilere göre azalmış olduğunu saptamışlardır. Sinir tortuozitesi ise kuru göz grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bazal epitel hücre yoğunluğu, endotel hücre yoğunluğu, sinir lifi sayısı ve yoğunluğu açısından fark saptanmamıştır.

Literatürde kuru göz hastalarında subbazal sinir lifi yoğunluğu açısından farklı sonuçlar gösterilmiştir. Bu farklılıkların sinir lifi yoğunluğunun hastalığın şiddeti ve evresi ile değişkenlik göstermesine bağlı olduğu düşünülmüştür. Tuominen ve ark. (125) 10 kuru göz hastası ile yaptıkları çalışmada, İVKM ölçümlerinde subbazal sinir lifi yoğunluğunda fark saptamamış, sinir tortuozitesinde ise hasta grubunda artış olduğunu göstermişlerdir. Castillo ve ark. (126) 11 primer Sjögren sendromuna bağlı kuru göz hastası ve 10 Sjögren dışı kuru göz hastasının sinir lifi tabakasını İVKM ile değerlendirdiği çalışmada, hasta grubunda sinir lifi yoğunluğunun kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, sinir tortuozitesinde artış olduğunu ve korneal hassasiyetin azalmış olduğunu göstermişlerdir. Zhang ve ark. (127) ise yaptıkları çalışmada, kuru

göz hastalarında sinir lifi yoğunluğunun daha yüksek olduğunu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadığını göstermişlerdir. Ayrıca sinir tortuozitesinde hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da sinir lifi yoğunluğunda anlamlı fark olmamakla birlikte, literatürdeki diğer çalışmalarla benzer olarak hasta grubunda sinir tortuozitesinde anlamlı artış saptanmıştır. Sinir tortuozitesindeki artışın, sinirlerde boncuklanma artışının muhtemelen epiteliyal düzeyde gözlenen değişiklikleri onarmaya yönelik bir olası yüksek metabolik aktivitenin göstergesi olduğu düşünülmektedir (128).

Kuru gözün inflamatuvar bir hastalık olduğu, patofizyolojisinde proinflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve bazı nöromediyatörlerin rolü olduğu bilinmektedir. Kuru gözün erken evrelerinde, korneal ve konjonktival epitel hücrelerinin hasarı, MAPK ve NF κ B gibi stres ilişkili sinyal yollarının aktivasyonunu uyarır. Bu aktivasyon sonucunda da TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, NGF, MMP-3 ve MMP9 gibi proinflamatuvar sitokin/kemokin ekspresyonunda artış olur (79, 80). Birçok doku ve organ epitel hücrelerinde olduğu gibi kornea epitel hücrelerinden de lokal inflamatuvar uyarılara cevap olarak sitokinler sentezlenir ve salgılanır. Bazı in vitro çalışmalarda kornea epitel hücrelerinin IL-6, IL-8, GM-CSF, LTB₄ üretme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (129, 130).

Gamache ve ark. (4) yaptıkları bir çalışmada kültüre insan konjonktiva epitel hücrelerinin uyarılmasına cevap olarak proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-11, IL-1RA, TNF- α ve GM-CSF salgıladıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda toplanan gözyaşlarında GM-CSF, G-CSF, IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, TNF- α , kemokinlerden MCP-1, IP-10, MIG, RANTES, Eotaksin, MIP-1 α , MIP-1 β , büyüme faktörlerinden EGF, FGF, HGF ve VEGF düzeyleri Luminex ile analiz edilerek araştırıldı. Luminex yönteminin ELISA'ya göre daha hassas olduğu yönünde literatürde bazı çalışmalar bildirilmiştir (131).

Nakamura ve ark. (88) sağlıklı bireylerde bazal ve refleks gözyaşında inflamatuvar sitokinlerden IL-1 β , IL-6, IL-8 düzeylerini ELISA ile araştırmışlardır. Refleks gözyaşındaki IL-1 β , IL-6, IL-8 seviyeleri bazal gözyaşındakine göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. İnflamasyon bulgularının olmadığı gözlerde IL-6 ve IL-8'in saptanması bu sitokinlerin sadece oküler enflamasyonda değil, aynı zamanda

oküler yüzey devamlılığının sağlanmasında da rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Salamanca ve ark. (85) hafif ve orta MBD ilişkili evaporatif kuru göz hastalığı olan 23 hastanın gözyaşı EGF, IL-1RA, IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, IP-10, TNF- α , IFN- γ , GM-CSF seviyelerini luminex ile inceledikleri bir çalışmada sadece IL-6, IL-8, IL-1RA ve EGF seviyelerinin orta dereceli MBD varlığında yükseldiğini göstermişler fakat sitokinlerden EGF, IL-1RA, IL-8, IP-10 ve VEGF olguların %94-100'ünde saptanabilmiştir. IL-6 düzeyi ile oküler yüzey boyanmaları arasında pozitif korelasyon olduğunu da göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda hasta gruplarında sadece IL-6 ortalama düzeylerinde yükselme olduğu saptandı ve bunlardan sadece MBD olan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu gösterilmiştir. IL-8 ortalamaları da hasta gruplarında yükselmiş olduğu görülmüştür ancak istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

Lam ve ark. (74) MBD olan ve olmayan kuru göz hastaları ile sağlıklı kontrollerde gözyaşı EGF, IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IFN- γ , TNF- α , IL-8, MIP-1 α ve RANTES seviyelerini luminex ile incelemişler ve MBD ve kuru gözün birlikte olduğu grupta gözyaşı IL-12 ve RANTES seviyelerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. IL-6, IL-8, TNF- α ve MIP-1 α düzeylerinin de hasta gruplarında kontrollere göre yüksek olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda IL-6 düzeyi ile oküler yüzey boyanmaları ve semptom şiddet skorlaması ile pozitif korelasyon saptamışlardır.

Yoon ve ark. (132) Sjögren sendromu, Sjögren sendromu dışı kuru göz hastalığı ve sağlıklı kontrolleri karşılaştırdığı bir çalışmada kuru göz hastalarını gözyaşı kırılma zamanı 5 saniyenin altında olan, Schirmer testi sonuçları 10 mm altı olan, rose bengal ile oküler yüzey boyanması evre 3 ve üstü hastalardan seçerek, gözyaşı IL-6 ve TNF- α düzeylerini karşılaştırılmış, kuru göz hastalarının gözyaşı IL-6 ve TNF- α düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Yine Massingale ve ark. (86) da 7 kuru göz hastasının gözyaşı IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α , IL-1 β ve IL-8 düzeylerini luminex ile araştırmış ve kontrol grubuna göre kuru göz hastalarında daha yüksek olduğunu ve hastalığın şiddeti ile de korelasyon gösterdiğini göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda gözyaşı sitokin düzeylerinde belirgin artış olmamasının, hastalarda çoğunlukla oküler yüzey bulgularının şiddetli olmaması ve meibomius bez

disfonksiyonunun da hafif ve orta düzeyde olması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Sadece IL-6 düzeyinde görülen yükselmenin, IL-6'nın birçok spesifik olmayan inflamatuvar olayda aktivite göstermesi nedeniyle kuvvetli bir belirteç olması beklenmediği düşünülmüştür. Çalışmamızda literatürün aksine IL-6 düzeyleri ile oküler yüzey bulguları arasında korelasyon saptanmamıştır. Ancak IL-6 düzeyi ile OSDI skoru arasında zayıf pozitif korelasyon ($p=0,048$) görülmüş olup, semptom şiddeti ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. IL-6 düzeyi ile yaş ve cinsiyet açısından da korelasyon görülmemiştir.

Substans P' nin kornea sinir liflerindeki aktivitesi ve korneal epitel hücre göçünü uyarak yara iyileşmesindeki etkisi literatürde daha önce gösterilmiştir (98, 100, 103). Yamada ve ark. (133) 26 persistan epitel defekti olan göz üzerinde yaptıkları çalışmada, hastalara SP'den türetilmiş peptid içeren ve IGF-1 içeren göz damlası ile tedavi uygulamışlar. Tedavi sonrası 4. haftada 19 gözde tam iyileşme saptamışlar. Morishige ve ark. (134) aynı tedaviyi alan nörotrofik keratopati hastalarının konfokal mikroskopideki sinir değişikliklerini araştırmışlar. Tedaviden 4 ay sonra subbazal sinirlerde belirgin iyileşme saptamışlardır. Bu çalışmalar ile SP'nin korneal epitel hücre göçünde ve sinir rejenerasyonundaki etkisi desteklenmiştir.

SP gözyaşı düzeyleri ve kuru göz ile ilişkisi açısından literatürde çalışma sayısı oldukça az görülmüştür. Yamada ve ark. (105) sağlıklı bireylerin gözyaşlarında yaptıkları çalışmada, SP düzeylerini ortalama $306 \pm 96,5$ pg/ml şeklinde saptamışlardır. SP düzeyi ile yaş ve cinsiyet açısından korelasyon saptamamışlardır. Korneal hipoestezi olan gözlerde sağlıklı göze göre SP düzeyinin daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda SP düzeyi ile yaş ve cinsiyet arasında korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca bizim çalışmamızda korneal hassasiyet açısından gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir.

Lambiase ve ark. (7) 5 Sjögren hastası, 10 Sjögren dışı kuru göz hastası ve 4 oküler skatrisyel pemfigoid hastası ile yaptıkları çalışmada gözyaşı SP, CGRP, NPY, VIP ve NGF düzeylerini sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Kuru göz hastalarında CGRP ve NPY düzeylerini anlamlı düşük, NGF düzeyini ise anlamlı yüksek bulmuşlardır. SP düzeyinde ise artma eğilimi olduğunu ancak anlamlı fark görülmediğini belirtmişlerdir. Bu değişikliklerin özellikle lakrimal bez disfonksiyonu ve oküler yüzey hasarı ile ilişkili olduğunu düşünmüşlerdir. Bizim çalışmamızda

gözyaşı SP ortalamaları hasta gruplarında artma eğiliminde olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Bunun standart sapmaların yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Markoulli ve ark. (135) diabetes mellitusu olan hastaların korneal sinir morfolojisi ve gözyaşı SP düzeylerini incelediği çalışmada; sinir lifi yoğunluğu ve SP düzeyinin DM olanlarda daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Sinir lifi yoğunluğu ile SP düzeyi arasında pozitif korelasyon saptamışlardır. Bizim çalışmamızda SP düzeyleri ile sinir lifi yoğunluğu arasında korelasyon saptanmamıştır.

Çalışmamızda SP düzeyi ile ekran kullanım süresi arasında zayıf pozitif korelasyon ($p=0,011$) saptanmıştır. Aynı zamanda ekran kullanım süresi ile OSDI skoru arasında da zayıf pozitif korelasyon ($p=0,014$) saptanmıştır. SP düzeyi ile OSDI skoru arasında ise korelasyon saptanmamıştır. Ekran kullanım süresi uzadıkça OSDI skorunun da artmaya eğilim göstermesi semptomların ekran kullanım süresinin uzun olduğu durumlarda daha şiddetli olabileceğini düşündürmüştür. Aynı zamanda ekran kullanımı uzadıkça SP düzeylerinde de artmaya eğilim görülmesi, SP'nin ağrı ile ilişkisi nedeniyle semptomlarda şiddetlenmeyi açıklayabileceği yönünde fikir vermiştir. OSDI skoru tam olarak bir ağrı anketi olmaması nedeniyle kuvvetli bir ilişki kurulamasa bile oküler rahatsızlık semptomlarını sorgulaması nedeniyle uzun ekran kullanım süresi ile ilişkisinin önem kazandırdığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamız ekran kullanımının oküler yüzeyi ve gözyaşı filmini etkilediğini göstermektedir. MBD varlığının tek başına oküler yüzeyde benzer değişikliklere neden olduğu, ancak ekran kullanımı ile birlikte MBD olmasının oküler yüzey değişikliklerini arttırmadığı görüldü. Gözyaşı nöromediyatörlerinden kontrol grubuna göre sadece IL-6 düzeyinde artış görüldü. Bu durumun çalışmadaki hastalarda genelde ileri evre kuru göz tablosu bulunmamasına bağlı olabileceği düşünüldü. SP düzeylerinde anlamlı değişiklik görülme de hasta grubunda artmaya eğilim görüldü. Kornea sinir yapılarında ve kornea hassasiyetinde değişiklik olmamasının, SP düzeylerinde fark olmayışını desteklediği düşünüldü. Ekran kullanım süresi uzadıkça oküler yüzey bulgularında değişiklik görülme de semptomların şiddetlenme eğiliminde olduğu görüldü.

6. SONUÇLAR

- Ekran kullanımı günde 4 saatin üzerinde olanlarda GKZ kısalmakta, oküler yüzey boyanması artmaktadır. OSDI skoru kontrol grubuna göre anlamlı yüksektir.
- MBD olanlarda GKZ kısalmakta, oküler yüzey boyanması artmaktadır. OSDI skoru kontrol grubuna göre anlamlı yüksektir. Ekran kullanımı günde 4 saatin üzerinde olan gruba göre bu testler açısından anlamlı fark yoktur.
- Ekran kullanımı olanlarda aynı zamanda MBD olması oküler yüzey bulgularının şiddetinde ve OSDI skorunda artışa yol açmamaktadır.
- Ekran kullanımı ile İVKM ölçümlerinde kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik saptanmamıştır. Sadece MBD olanlarda ise sinir tortuozitesinde artış görülmüştür.
- Gözyaşı IL-6 düzeyi, sadece MBD olanlarda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.
- Gruplar arasında gözyaşı SP düzeyleri açısından anlamlı fark görülmemiştir.
- Ekran kullanım süresi ile OSDI skoru ve SP düzeyleri arasında pozitif korelasyona eğilim görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Baudouin C, Irkeç M, Messmer EM, Benítez-del-Castillo JM, Bonini S, Figueiredo FC, et al. Clinical impact of inflammation in dry eye disease: proceedings of the ODISSEY group meeting. *Acta ophthalmologica*. 2018;96(2):111-9.
2. Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S, et al. TfoS deWS ii pathophysiology report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):438-510.
3. Baudouin C, Aragona P, Van Setten G, Rolando M, Irkeç M, del Castillo JB, et al. Diagnosing the severity of dry eye: a clear and practical algorithm. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(9):1168-76.
4. Gamache DA, Dimitrijevič SD, Weimer LK, Lang LS, Spellman JM, Graff G, et al. Secretion of proinflammatory cytokines by human conjunctival epithelial cells. *Ocul Immunol Inflamm*. 1997;5(2):117-28.
5. Sabatino F, Di Zazzo A, De Simone L, Bonini S. The intriguing role of neuropeptides at the ocular surface. *Ocul Surf*. 2017;15(1):2-14.
6. Yamada M, Ogata M, Kawai M, Mashima Y, Nishida T. Substance P and Its Metabolites in Normal Human Tears. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2002;43(8):2622-5.
7. Lambiase A, Micera A, Sacchetti M, Cortes M, Mantelli F, Bonini S. Alterations of Tear Neuromediators in Dry Eye Disease. *Archives of Ophthalmology*. 2011;129(8):981-6.
8. Nichols KK, Foulks GN, Bron AJ, Glasgow BJ, Dogru M, Tsubota K, et al. The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction: Executive Summary. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(4):1922-9.
9. Mathers W. Evaporation from the ocular surface. *Exp Eye Res*. 2004;78(3):389-94.
10. Braun RJ, King-Smith PE, Begley C, Li L, Gewecke N. Dynamics and function of the tear film in relation to the blink cycle. *Progress in retinal and eye research*. 2015;45:132-64.
11. Acosta MC, Gallar J, Belmonte C. The influence of eye solutions on blinking and ocular comfort at rest and during work at video display terminals. *Exp Eye Res*. 1999;68(6):663-9.
12. King-Smith E, Fink B, Hill R, Koelling K, Tiffany J. The thickness of the tear film. *Curr Eye Res*. 2004;29(4-5):357-68.
13. Montés-Micó R, Cervino A, Ferrer-Blasco T, García-Lázaro S, Madrid-Costa D. The tear film and the optical quality of the eye. *Ocul Surf*. 2010;8(4):185-92.
14. Mishima S, Maurice D. The oily layer of the tear film and evaporation from the corneal surface. *Exp Eye Res*. 1961;1(1):39-45.
15. Brown SI, Dervichian D. Hydrodynamics of blinking: in vitro study of the interaction of the superficial oily layer and the tears. *Arch Ophthalmol*. 1969;82(4):541-7.

16. Tiffany JM. Composition and biophysical properties of the tear film: knowledge and uncertainty. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes*: Springer; 1994. p. 231-8.
17. McCulley J, Shine W. A compositional based model for the tear film lipid layer. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1997;95:79.
18. Schoenwald RD, Vidvauns S, Wurster DE, Barfknecht CF. The role of tear proteins in tear film stability in the dry eye patient and in the rabbit. *Adv Exp Med Biol*. 1998;438:391-400.
19. Butovich IA, Uchiyama E, McCulley JP. Lipids of human meibum: mass-spectrometric analysis and structural elucidation. *J Lipid Res*. 2007;48(10):2220-35.
20. Johnson ME, Murphy PJ. Changes in the tear film and ocular surface from dry eye syndrome. *Prog Retin Eye Res*. 2004;23(4):449-74.
21. Craig JP, Willcox MD, Argueso P, Maissa C, Stahl U, Tomlinson A, et al. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the contact lens interactions with the tear film subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(11):Tfos123-56.
22. Corfield A, D. Carrington S, Hicks S, Berry M, Ellingham R. Ocular mucins: Purification, metabolism and functions 1997. 627-56 p.
23. Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Pearce EI, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(4):2006-49.
24. Stapleton F, Alves M, Bunya VY, Jalbert I, Lekhanont K, Malet F, et al. TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):334-65.
25. Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A, Diebold Y, González-García MJ, Reinoso R, Herreras JM, et al. Dry eye disease as an inflammatory disorder. *Ocul Immunol Inflamm*. 2010;18(4):244-53.
26. Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(10):4309-15.
27. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo C-K, et al. TFOS DEWS II definition and classification report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):276-83.
28. Ueta M. Innate immunity of the ocular surface and ocular surface inflammatory disorders. *Cornea*. 2008;27:S31-S40.
29. Chotikavanich S, de Paiva CS, Li DQ, Chen JJ, Bian F, Farley WJ, et al. Production and Activity of Matrix Metalloproteinase-9 on the Ocular Surface Increase in Dysfunctional Tear Syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(7):3203-9.
30. Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, De Paiva CS, Corrales RM, Gao J, et al. Desiccating Stress Induces T Cell-Mediated Sjögren's Syndrome-Like Lacrimal Keratoconjunctivitis. *J Immunol*. 2006;176(7):3950-7.
31. Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. Analysis of Topical

- Cyclosporine Treatment of Patients With Dry Eye Syndrome: Effect on Conjunctival Lymphocytes. *Arch Ophthalmol*. 2000;118(11):1489-96.
32. Dastjerdi MH, Dana R. Corneal Nerve Alterations in Dry Eye-associated Ocular Surface Disease. *Int Ophthalmol Clin*. 2009;49(1):11-20.
 33. Viso E, Rodríguez-Ares MT, Abelenda D, Oubiña B, Gude F. Prevalence of Asymptomatic and Symptomatic Meibomian Gland Dysfunction in the General Population of Spain. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(6):2601-6.
 34. Den S, Shimizu K, Ikeda T, Tsubota K, Shimmura S, Shimazaki J. Association Between Meibomian Gland Changes and Aging, Sex, or Tear Function. *Cornea*. 2006;25(6):651-5.
 35. Wan T, Jin X, Lin L, Xu Y, Zhao Y. Incomplete Blinking May Attribute to the Development of Meibomian Gland Dysfunction. *Curr Eye Res*. 2016;41(2):179-85.
 36. Lemp MA, Crews LA, Bron AJ, Foulks GN, Sullivan BD. Distribution of Aqueous-Deficient and Evaporative Dry Eye in a Clinic-Based Patient Cohort: A Retrospective Study. *Cornea*. 2012;31(5):472-8.
 37. Cox SM, Nichols JJ. The Neurobiology of the Meibomian Glands. *Ocul Surf*. 2014;12(3):167-77.
 38. Jie Y, Xu L, Wu YY, Jonas JB. Prevalence of dry eye among adult Chinese in the Beijing Eye Study. *Eye (Lond)*. 2009;23(3):688-93.
 39. Lin PY, Tsai SY, Cheng CY, Liu JH, Chou P, Hsu WM. Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology*. 2003;110(6):1096-101.
 40. Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, Craig JP, 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;52(4):1930-7.
 41. McMonnies CW. Incomplete blinking: exposure keratopathy, lid wiper epitheliopathy, dry eye, refractive surgery, and dry contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye*. 2007;30(1):37-51.
 42. Himebaugh NL, Begley CG, Bradley A, Wilkinson JA. Blinking and tear break-up during four visual tasks. *Optom Vis Sci*. 2009;86(2):E106-14.
 43. Collins M, Seeto R, Campbell L, Ross M. Blinking and corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1989;67(5):525-31.
 44. Kawashima M, Tsubota K. Tear lipid layer deficiency associated with incomplete blinking: a case report. *BMC Ophthalmol*. 2013;13:34.
 45. Wang MTM, Tien L, Han A, Lee JM, Kim D, Markoulli M, et al. Impact of blinking on ocular surface and tear film parameters. *Ocul Surf*. 2018;16(4):424-9.
 46. Kimball SH, King-Smith PE, Nichols JJ. Evidence for the major contribution of evaporation to tear film thinning between blinks. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.

2010;51(12):6294-7.

47. King-Smith PE, Fink BA, Nichols JJ, Nichols KK, Braun RJ, McFadden GB. The contribution of lipid layer movement to tear film thinning and breakup. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(6):2747-56.
48. Naase T, Doughty MJ, Button NF. An assessment of the pattern of spontaneous eyeblink activity under the influence of topical ocular anaesthesia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005;243(4):306-12.
49. Tsubota K. Tear dynamics and dry eye. *Prog Retin Eye Res.* 1998;17(4):565-96.
50. Doughty MJ. Consideration of three types of spontaneous eyeblink activity in normal humans: during reading and video display terminal use, in primary gaze, and while in conversation. *Optom Vis Sci.* 2001;78(10):712-25.
51. Patel S, Henderson R, Bradley L, Galloway B, Hunter L. Effect of visual display unit use on blink rate and tear stability. *Optom Vis Sci.* 1991;68(11):888-92.
52. York M, Ong J, Robbins JC. Variation in blink rate associated with contact lens wear and task difficulty. *Am J Optom Arch Am Acad Optom.* 1971;48(6):461-7.
53. Belmonte C, Nichols JJ, Cox SM, Brock JA, Begley CG, Bereiter DA, et al. TFOS DEWS II pain and sensation report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):404-37.
54. Efron N, Young G, Brennan NA. Ocular surface temperature. *Curr Eye Res.* 1989;8(9):901-6.
55. Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res.* 2003;76(5):521-42.
56. Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A, Foulks GN, Geerling G, et al. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(12):6125-30.
57. Irkec M, Group TOS. Reliability and validity of Turkish translation of the Ocular Surface Disease Index (OSDI) in dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(13):408-.
58. Korb DR. Survey of preferred tests for diagnosis of the tear film and dry eye. *Cornea.* 2000;19(4):483-6.
59. Bron AJ. Diagnosis of dry eye. *Surv Ophthalmol.* 2001;45:S221-S6.
60. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, et al. TFOS DEWS II diagnostic methodology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):539-74.
61. Lemp MA, Holly FJ, Iwata S, Dohlman CH. The precorneal tear film: I. Factors in spreading and maintaining a continuous tear film over the corneal surface. *Arch Ophthalmol.* 1970;83(1):89-94.
62. Abelson MB, Ousler GW, 3rd, Nally LA, Welch D, Krenzer K. Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506(Pt B):1121-5.
63. Mooi JK, Wang MT, Lim J, Müller A, Craig JP. Minimising instilled volume reduces the impact of fluorescein on clinical measurements of tear film stability.

- Cont Lens Anterior Eye. 2017;40(3):170-4.
64. Wang MT, Murphy PJ, Blades KJ, Craig JP. Comparison of non-invasive tear film stability measurement techniques. *Clin Exp Optom*. 2018;101(1):13-7.
 65. Bron A, Argüeso P, Irkeç M, Bright F. Clinical staining of the ocular surface: mechanisms and interpretations. *Prog Retin Eye Res*. 2015;44:36-61.
 66. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea*. 2003;22(7):640-50.
 67. Korb DR, Herman JP, Finnemore VM, Exford JM, Blackie CA. An evaluation of the efficacy of fluorescein, rose bengal, lissamine green, and a new dye mixture for ocular surface staining. *Eye Contact Lens*. 2008;34(1):61-4.
 68. Villani E, Baudouin C, Efron N, Hamrah P, Kojima T, Patel SV, et al. In vivo confocal microscopy of the ocular surface: from bench to bedside. *Curr Eye Res*. 2014;39(3):213-31.
 69. Kheirkhah A, Darabad RR, Cruzat A, Hajrasouliha AR, Witkin D, Wong N, et al. Corneal epithelial immune dendritic cell alterations in subtypes of dry eye disease: a pilot in vivo confocal microscopic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(12):7179-85.
 70. Alhatem A, Cavalcanti B, Hamrah P, editors. *In vivo confocal microscopy in dry eye disease and related conditions*. Semin Ophthalmol; 2012: Taylor & Francis.
 71. Nepp J, Wirth M. Fluctuations of corneal sensitivity in dry eye syndromes—A longitudinal pilot study. *Cornea*. 2015;34(10):1221-6.
 72. Cox SM, Nichols JJ. Association between meibomian gland testing and ocular surface sensitivity. *Cornea*. 2015;34(10):1187-92.
 73. Li N, Deng X-G, He M-F. Comparison of the Schirmer I test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye. *Int J Ophthalmol*. 2012;5(4):478.
 74. Lam H, Bleiden L, De Paiva CS, Farley W, Stern ME, Pflugfelder SC. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2009;147(2):198-205. e1.
 75. Arita R, Inoue K, Koo A, Amano S. A Novel Non-Contact Meibography Using an Infrared Filter and Camera. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(13):5658-.
 76. Ngo W, Srinivasan S, Jones L. Historical overview of imaging the meibomian glands. *J Optom*. 2013;6(1):1-8.
 77. Pult H, Nichols JJ. A review of meibography. *Optom Vis Sci*. 2012;89(5):E760-E9.
 78. Pult H, Riede-Pult B. Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Cont Lens Anterior Eye*. 2013;36(1):22-7.
 79. Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol*. 2012;130(1):90-100.
 80. Pflugfelder SC, de Paiva CS, Li D-Q, Stern ME. Epithelial-immune cell interaction in dry eye. *Cornea*. 2008;27(0 1):S9.

81. Chen Y-T, Nikulina K, Lazarev S, Bahrami AF, Noble LB, Gallup M, et al. Interleukin-1 as a phenotypic immunomodulator in keratinizing squamous metaplasia of the ocular surface in Sjögren's syndrome. *Am J Pathol.* 2010;177(3):1333-43.
82. De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, Rahman HT, Chang VY, Farley WJ, et al. Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon- γ . *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(6):2553-60.
83. De Paiva C, Chotikavanich S, Pangelinan S, Pitcher III J, Fang B, Zheng X, et al. IL-17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. *Mucosal Immunol.* 2009;2(3):243.
84. Chauhan SK, Jin Y, Goyal S, Lee HS, Fuchsluger TA, Lee HK, et al. A novel pro-lymphangiogenic function for Th17/IL-17. *Blood.* 2011;118(17):4630-4.
85. Enriquez-de-Salamanca A, Castellanos E, Stern ME, Fernandez I, Carreno E, Garcia-Vazquez C, et al. Tear cytokine and chemokine analysis and clinical correlations in evaporative-type dry eye disease. *Mol Vis.* 2010;16:862-73.
86. Massingale ML, Li X, Vallabhajosyula M, Chen D, Wei Y, Asbell PA. Analysis of inflammatory cytokines in the tears of dry eye patients. *Cornea.* 2009;28(9):1023-7.
87. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res.* 1999;19(3):201-11.
88. Nakamura Y, Sotozono C, Kinoshita S. Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res.* 1998;17(6):673-6.
89. Weng J, Mohan RR, Li Q, Wilson SE. IL-1 upregulates keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor mRNA and protein production by cultured stromal fibroblast cells: interleukin-1 beta expression in the cornea. *Cornea.* 1997;16(4):465-71.
90. Cubitt CL, Lausch RN, Oakes JE. Differential regulation of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene expression in human corneal cells by pro-inflammatory cytokines. *J Immunol.* 1994;153(1):232-40.
91. De Cilla S, Ranno S, Carini E, Fogagnolo P, Ceresara G, Orzalesi N, et al. Corneal subbasal nerves changes in patients with diabetic retinopathy: an in vivo confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(11):5155-8.
92. Stepp MA, Pal-Ghosh S, Tadvalkar G, Williams A, Pflugfelder SC, de Paiva CS. Reduced intraepithelial corneal nerve density and sensitivity accompany desiccating stress and aging in C57BL/6 mice. *Exp Eye Res.* 2018;169:91-8.
93. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(6):418.
94. Yamaguchi T, Hamrah P, Shimazaki J. Bilateral Alterations in Corneal Nerves, Dendritic Cells, and Tear Cytokine Levels in Ocular Surface Disease. *Cornea.* 2016;35 Suppl 1:S65-s70.
95. Beuerman RW, Stern ME. Neurogenic inflammation: a first line of defense for the ocular surface. *Ocul Surf.* 2005;3(4):S-203-S-6.

96. Thompson HW, Dupuy B, Beuerman RW, Hill JM, Rootman DS, Haruta Y. Neural activity from the acutely infected HSV-1 rabbit cornea. *Curr Eye Res.* 1988;7(2):147-55.
97. Barbariga M, Fonteyne P, Ostadreza M, Bignami F, Rama P, Ferrari G. Substance P Modulation of Human and Murine Corneal Neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(3):1305-12.
98. Yang L, Di G, Qi X, Qu M, Wang Y, Duan H, et al. Substance P promotes diabetic corneal epithelial wound healing through molecular mechanisms mediated via the neurokinin-1 receptor. *Diabetes.* 2014;63(12):4262-74.
99. Gallar J, Pozo MA, Rebollo I, Belmonte C. Effects of capsaicin on corneal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1990;31(10):1968-74.
100. Nishida T, Inui M, Nomizu M. Peptide therapies for ocular surface disturbances based on fibronectin–integrin interactions. *Prog Retin Eye Res.* 2015;47:38-63.
101. Ko JA, Yanai R, Nishida T. Up-regulation of ZO-1 expression and barrier function in cultured human corneal epithelial cells by substance P. *FEBS Lett.* 2009;583(12):2148-53.
102. Munoz M, Covenas R. Involvement of substance P and the NK-1 receptor in human pathology. *Amino Acids.* 2014;46(7):1727-50.
103. Tervo T, Tervo K, Eranko L, Vannas A, Eranko O, Cuello AC. Substance P immunoreaction and acetylcholinesterase activity in the cornea and Gasserian ganglion. *Ophthalmic Res.* 1983;15(6):280-8.
104. Miller A, Costa M, Furness JB, Chubb IW. Substance P immunoreactive sensory nerves supply the rat iris and cornea. *Neurosci Lett.* 1981;23(3):243-9.
105. Yamada M, Ogata M, Kawai M, Mashima Y, Nishida T. Substance P in human tears. *Cornea.* 2003;22(7 Suppl):S48-54.
106. Yamada M, Ogata M, Kawai M, Mashima Y. Decreased substance P concentrations in tears from patients with corneal hypesthesia. *Am J Ophthalmol.* 2000;129(5):671-2.
107. Steinhoff MS, von Mentzer B, Geppetti P, Pothoulakis C, Bunnett NW. Tachykinins and their receptors: contributions to physiological control and the mechanisms of disease. *Physiol Rev.* 2014;94(1):265-301.
108. Takahashi K, Tanaka A, Hara M, Nakanishi S. The primary structure and gene organization of human substance P and neuromedin K receptors. *Eur J Biochem.* 1992;204(3):1025-33.
109. Marriott I, Bost KL. Substance P receptor mediated macrophage responses. *Adv Exp Med Biol.* 2001;493:247-54.
110. Cunin P, Caillon A, Corvaisier M, Garo E, Scotet M, Blanchard S, et al. The tachykinins substance P and hemokinin-1 favor the generation of human memory Th17 cells by inducing IL-1 β , IL-23, and TNF-like 1A expression by monocytes. *J Immunol.* 2011;186(7):4175-82.
111. Samsam M, Covenas R, Csillik B, Ahangari R, Yajeya J, Riquelme R, et al. Depletion of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide from

- the contralateral and ipsilateral caudal trigeminal nucleus following unilateral electrical stimulation of the trigeminal ganglion; a possible neurophysiological and neuroanatomical link to generalized head pain. *J Chem Neuroanat.* 2001;21(2):161-9.
112. Jang JH, Nam TS, Paik KS, Leem JW. Involvement of peripherally released substance P and calcitonin gene-related peptide in mediating mechanical hyperalgesia in a traumatic neuropathy model of the rat. *Neurosci Lett.* 2004;360(3):129-32.
 113. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(5):615-21.
 114. Schlote T, Kadner G, Freudenthaler N. Marked reduction and distinct patterns of eye blinking in patients with moderately dry eyes during video display terminal use. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2004;242(4):306-12.
 115. Uchino M, Yokoi N, Uchino Y, Dogru M, Kawashima M, Komuro A, et al. Prevalence of dry eye disease and its risk factors in visual display terminal users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol.* 2013;156(4):759-66. e1.
 116. Cardona G, García C, Serés C, Vilaseca M, Gispets J. Blink Rate, Blink Amplitude, and Tear Film Integrity during Dynamic Visual Display Terminal Tasks. *Curr Eye Res.* 2011;36(3):190-7.
 117. Argiles M, Cardona G, Perez-Cabre E, Rodriguez M. Blink Rate and Incomplete Blinks in Six Different Controlled Hard-Copy and Electronic Reading Conditions. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(11):6679-85.
 118. Fenga C, Aragona P, Cacciola A, Spinella R, Di Nola C, Ferreri F, et al. Meibomian gland dysfunction and ocular discomfort in video display terminal workers. *Eye (Lond).* 2008;22(1):91-5.
 119. Wu H, Wang Y, Dong N, Yang F, Lin Z, Shang X, et al. Meibomian gland dysfunction determines the severity of the dry eye conditions in visual display terminal workers. *PLoS One.* 2014;9(8):e105575.
 120. Mathers WD. Ocular evaporation in meibomian gland dysfunction and dry eye. *Ophthalmology.* 1993;100(3):347-51.
 121. Goto E, Endo K, Suzuki A, Fujikura Y, Matsumoto Y, Tsubota K. Tear evaporation dynamics in normal subjects and subjects with obstructive meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(2):533-9.
 122. Shimazaki J, Sakata M, Tsubota K. Ocular surface changes and discomfort in patients with meibomian gland dysfunction. *Arch Ophthalmol.* 1995;113(10):1266-70.
 123. Schaumberg DA, Nichols JJ, Papas EB, Tong L, Uchino M, Nichols KK. The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction: Report of the Subcommittee on the Epidemiology of, and Associated Risk Factors for, MGD. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(4):1994-2005.
 124. del Castillo JMBt, Wasfy MA, Fernandez C, Garcia-Sanchez J. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients

- with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(9):3030-5.
125. Tuominen IS, Konttinen YT, Vesaluoma MH, Moilanen JA, Helinto M, Tervo TM. Corneal innervation and morphology in primary Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(6):2545-9.
 126. Benítez-del-Castillo JM, Acosta MC, Wassfi MA, Díaz-Valle D, Gegúndez JA, Fernandez C, et al. Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(1):173-81.
 127. Zhang M, Chen J, Luo L, Xiao Q, Sun M, Liu Z. Altered corneal nerves in aqueous tear deficiency viewed by in vivo confocal microscopy. *Cornea.* 2005;24(7):818-24.
 128. Murphy CJ, Marfurt CF, McDermott A, Bentley E, Abrams GA, Reid TW, et al. Spontaneous chronic corneal epithelial defects (SCCED) in dogs: clinical features, innervation, and effect of topical SP, with or without IGF-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(10):2252-61.
 129. Cubitt CL, Lausch RN, Oakes JE. Differential regulation of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene expression in human corneal cells by pro-inflammatory cytokines. *J Immunol.* 1994;153(1):232-40.
 130. Cubitt CL, Lausch RN, Oakes JE. Differences in interleukin-6 gene expression between cultured human corneal epithelial cells and keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36(2):330-6.
 131. Leng SX, McElhaney JE, Walston JD, Xie D, Fedarko NS, Kuchel GA. ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in inflammation and aging research. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2008;63(8):879-84.
 132. Yoon K-C, Jeong I-Y, Park Y-G, Yang S-Y. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- α levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea.* 2007;26(4):431-7.
 133. Yamada N, Matsuda R, Morishige N, Yanai R, Chikama T, Nishida T, et al. Open clinical study of eye-drops containing tetrapeptides derived from substance P and insulin-like growth factor-1 for treatment of persistent corneal epithelial defects associated with neurotrophic keratopathy. *Br J Ophthalmol.* 2008;92(7):896-900.
 134. Morishige N, Komatsubara T, Chikama T-i, Nishida T. Direct observation of corneal nerve fibres in neurotrophic keratopathy by confocal biomicroscopy. *The Lancet.* 1999;354(9190):1613-4.
 135. Markoulli M, You J, Kim J, Duong CL, Tolentino JB, Karras J, et al. Corneal nerve morphology and tear film substance P in diabetes. *Optom Vis Sci.* 2017;94(7):726-31.