

T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KURU GÖZ TEDAVİSİNDE TOPIKAL  
%0.05'LİK SIKLOSPORİN A İLE  
OTOLOG SERUM KULLANIMININ  
GÖZYAŞINDA IL-6 VE IL-8 SEVİYELERİ  
ÜZERİNE ETKİSİNİN VE İMPRESYON  
SİTOLOJİK BULGULARIN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr.Sibel Gökşen BEKİŞ  
UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. M.İlker TOKER**

**SİVAS-2008**

T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KURU GÖZ TEDAVİSİNDE TOPIKAL  
%0.05'LİK SIKLOSPORİN A İLE  
OTOLOG SERUM KULLANIMININ  
GÖZYAŞINDA IL-6 VE IL-8 SEVİYELERİ  
ÜZERİNE ETKİSİNİN VE İMPRESYON  
SİTOLOJİK BULGULARIN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr.Sibel Gökşen BEKİŞ**

**UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS-2008**

Bu araştırma CÜBAP Fon Saymanlığı tarafından

“T-322” sayı ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
KISALTMALAR	iii
TABLO VE GRAFİKLER	iv
RESİMLER	v
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Gözyaşı Filmi	3
2.2 Kuru Göz	6
2.2.1 Kuru göz patogenezi	6
2.2.2 Kuru göz patogenezinde inflamasyonun rolü	8
2.2.3 Kuru göz tanısı	9
2.3 İmpresyon Sitolojisi	12
2.4 Kuru Göz Tedavisi	14
2.4.1 Suni gözyaşı preparatları	16
2.4.2 Otolog serum	16
2.4.3 Topikal kortikosteroidler	17
2.4.4 Siklosporin A	18
3. MATERYAL- METOD	23
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
7. ÖZET	49
8. İNGİLİZCE ÖZET	51
9.KAYNAKLAR	53

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalanmamda bana sonsuz yardımlarının yanı sıra bir abla şefkati ile desteğini her zaman yanımda hissettiğim hocam ve bölüm başkanımız Prof.Dr.Ayşen Topalkara'ya, eğitimimde büyük katkıları olan değerli hocalarım Prof.Dr.M.Kemal Arıcı, Doç.Dr.Haydar Erdoğan, Yrd.Doç.Dr. M.İlker Toker'e, eğitimimde verdiği desteğin yanı sıra fikirleri ve yardımları ile sosyal ve kişisel açıdan her zaman yanımda olan hocam ve sevgili dostum Yrd.Doç.Dr.Ayşe Vural'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin seçiminde yardımlarından dolayı tez danışmanım ve hocam Yrd.Doç.Dr.M.İlker Toker'e, sitolojik, immunolojik ve istatistiksel çalışmalarında zamanlarını ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof.Dr.D.Sema Arıcı, Prof Dr.Ömer Poyraz ve Yrd.Doç.Dr.Ziyet Çınar'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte huzurlu bir çalışma ortamı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma, başta sevgili servis hemşiremiz Şemsi Kılıç olmak üzere servis ve poliklinikteki tüm hemşire arkadaşlarıma, asistanlık sürem boyunca yardımlarını esirgemeyen teknisyenlerimiz Mehmet Düz, Fahri Kuldemir, sekreterlerimiz Kadriye Ağtaş, Tuğba Güzel, sağlık memurumuz Bülent Hatipoğlu ve personellerimiz Hayrettin, Sefer ve Hasan Beylere teşekkürlerimi bildiririm.

Uzmanlık eğitimime başlamamda ve bitirmemde en büyük ve en zorlu desteği veren canım iki aileme, sevgisi, inancı ve sonsuz desteği ile eğitimimi bitirmemi sağlayan canım eşime ve kendileri ile geçirmem gereken zamanı bilmeden bana sorgusuzca veren melek yavrularım Buğu'm ve İris'ime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## KISALTMALAR

- GKZ:** Gözyaşı filmi kırılma zamanı
- ICAM-1:** İntersellüler adezyon molekülü-1
- TNF- $\alpha$ :** Tümör nekroze edici faktör- $\alpha$
- PEX :** Psödoeksfoliasyon sendromu
- MUC:** Müsin benzeri glikoprotein
- EGF:** Epidermal büyüme faktörü
- NEI:** National Eye Institute
- SS:** Sjögren sendromu
- SLE:** Sistemik lupus eritematosus
- MBD:** Meibomian bez hastalığı
- MMPs:** Matriks metaloproteinazlar
- DGS:** Disfonksiyonel gözyaşı sendromu
- bFGF:** Temel fibroblast büyüme faktörü
- IGF-1:** İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
- TGF- $\alpha$ :** Transforme edici büyüme faktörü- $\alpha$
- NGF:** Nöron büyüme faktörü
- GİB:** Göz içi basıncı
- MS:** Memnuniyet skoru

## TABLO VE GRAFİKLER

**Grafik 4.1:** Gruplara ait Snellen eşeli ile görme keskinliği değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılması

**Grafik 4.2:** Gruplara ait GKZ değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılması

**Grafik 4.3:** Gruplara ait tedavi öncesi ve sonrası Schirmer testinin karşılaştırılması

**Grafik 4.4:** Gruplara ait tedavi öncesi ve sonrası gözyaşı IL-6 seviyelerinin karşılaştırılması

**Grafik 4.5:** Gruplara ait tedavi öncesi ve sonrası gözyaşı IL-8 seviyelerinin karşılaştırılması

**Grafik 4.6:** Gruplara ait tedavi sonrası memnuniyet skorlarının karşılaştırılması

**Tablo 4.1:** Tedavi öncesi ve sonrası gruplara ait alt nazal konjunktiva impresyon sitoloji sonuçları

**Tablo 4.2:** Tedavi öncesi ve sonrası gruplara ait temporal bulber konjunktiva impresyon sitoloji sonuçları

## RESİMLER

**Resim 4.1:** İmpresyon Sitolojisi Evre 0

**Resim 4.2:** İmpresyon Sitolojisi Evre 1

**Resim 4.3:** İmpresyon Sitolojisi Evre 2

**Resim 4.4:** İmpresyon Sitolojisi Evre 3

# 1.GİRİŞ

Kuru göz, gözyaşı salgısının yetersizliğinden ya da aşırı gözyaşı buharlaşmasından kaynaklanan ve interpalpebral alanda oküler yüzey hasarına ve oküler rahatsızlık semptomlarına yol açan bir gözyaşı filmi bozukluğudur. Kuru gözün etkileri birçok hasta için önemsiz sayılabilecek rahatsızlıklardan şiddetli vakalarda görmeyi tehdit eden komplikasyonların oluşumuna neden olabilecek kadar değişkenlik gösterir (1, 2).

Kronik kuru gözde oküler rahatsızlık semptomları mevcuttur. Hastalar yanma, batma, gözde yabancı cisim hissi, oküler ağrı gibi nonspesifik şikayetlerle göz hekimlerine başvurmakta ve bu semptomlar bulanık görme, fotofobi, korneal epitel defektleri ve hatta korneal ülserasyonlar gibi ciddi sonuçlara yol açabilmektedir (3). Oküler yüzeyin ekosistemi sağlıklı kapakların dinamik çalışmasına, yeterli göz kırpma refleksine, yeterli ve sağlıklı gözyaşı üretimine, kornea ve konjunktivayı içeren normal oküler yüzeye bağlıdır (4).

Kuru göz tanısında tam anlamıyla güvenilir bir yöntem bulunmamaktadır. Hastaların anamnezleri teşhiste önemli bir yer tutmakla beraber tanıya yardımcı olan basit ve oftalmoloji kliniklerinde sıklıkla kullanılan Schirmer testi, gözyaşı kırılma zamanı (GKZ) ölçümü gibi testler bulunmaktadır (5).

Kronik kuru göz hastalığının; oküler yüzey dengesindeki bozukluklar ve gözyaşı filminde anomalilere neden olan lakrimal bez asinileri ve kanallarının çeşitli sitokin ve reseptör aracılı inflamasyonu sonucu oluştuğunu düşündüren kanıtlar giderek artmaktadır (6). 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- $\alpha$  (tümör nekroze edici faktör- $\alpha$ ) gibi sitokinlerin konjunktiva epitelinde arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır (7-9).

İmpresyon sitolojisi, selüloz asetat şeritler veya Biopor membran filtreler (Millipore®) kullanılarak basit noninvasiv bir teknikle alınan örneklerde oküler yüzeyin bazı hastalıklarının teşhisini kolaylaştıran bir yöntemdir. Bu hastalıklar içinde kuru göz, oküler yüzeyin squamöz metaplazileri, limbal kök hücre yetmezliği,

spesifik viral infeksiyonlar, vitamin A yetmezliği, allerjik reaksiyonlar, psödoeksfoliyasyon (PEX) sendromunun konjunktival etkileri, konjunktival melanosis ve malign melanom sayılabilir (10-13).

Kuru göz tedavisi için henüz kesinleşmiş bir protokol bulunmamaktadır (1). Tedavilerin çoğu palyatiftir. Bunların arasında prezervanlı veya prezervansız suni gözyaşı preparatları, punktal oklüzyon, bandaj kontakt lensler, sekresyon uyarıcıları ve kapak hastalıklarının uygun tedavisi sayılabilir (14-16). Ancak artık günümüzde replasman tedavileri yerine patogeneze yönelik tedaviler ön plana çıkmaya başlamıştır.

Otolog serum, kornea ve konjunktiva epitelinin büyümesi, gelişimi ve sağlıklı işlev görebilmesi için gerekli olan epidermal büyüme faktörü (EGF), fibronektin ve bazı nörotrofik faktörler gibi maddeleri içermektedir. Kuru göz tedavisinde kullanılan birçok farmakolojik ajan bu maddeleri içermez. Otolog serum içerdiği bu maddelerden dolayı kuru göz tedavisinde kullanılmaktadır (17-19).

Kuru göz patogenezinde proinflamatuvar sitokinlerin rol oynadığını gösteren yayınlar, bu hastalığın tedavisinde antiinflamatuvar prosedürlü tedavi protokollerini ön sıralara çıkarmaya başlamıştır (20, 21). Antiinflamatuvar tedaviler içinde kliniklerde genel olarak en fazla kullanılan ilaçlar olan kortikosteroidler, göz ardı edilemeyecek derecedeki yan etkilerinden dolayı sadece çok ciddi vakalarda ve sınırlı süre için kullanılabilir. Topikal siklosporin A da, belirgin antiinflamatuvar ve immunmodulatör etkisi ile kuru göz tedavisinde kullanılan bir diğer ajandır (22). Topikal siklosporin A kullanımı ile ilgili yapılan çok sayıda çalışma bu ajanın oldukça güvenli, etkili, şikayet ve bulgularda belirgin azalmaya yol açan bir tedavi seçeneği olduğu yönündedir (23-26).

Bu çalışmada amacımız kuru göz olgularında etkinliği bilinen tedavi seçeneklerinden otolog serum uygulaması ile topikal %0.05'lik siklosporin A kullanımını klinik, sitolojik ve immunolojik açıdan karşılaştırmaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. GÖZYAŞI FİLMİ

Gözyaşı filmi korneayı yabancı cisimlerden ve infeksiyöz maddelerden yıkayarak korumakta ve korneal yüzeyi nemli tutarak korneanın antiviral ve antibakteriyel komponentlerinin çalışmasını sağlamaktadır (27). Normal gözyaşı hacmi 6  $\mu$ l ile 7  $\mu$ l arasında olup gözyaşı sekresyonu 1-2  $\mu$ l/dakikadır. Gözyaşı volümünün 1.1  $\mu$ l'si kapak açıklığında prekorneal gözyaşı filmi içinde, 2.9  $\mu$ l'si kenar şeritte ve 4.5  $\mu$ l'si forniksler içinde bulunur (5).

Gözyaşı filmi lakrimal fonksiyonel üniteden refleks olarak salınır. Lakrimal fonksiyonel ünite kornea ve konjunktiva epitelinden oluşan oküler yüzeyi, esas gözyaşı bezini, yardımcı gözyaşı bezlerini (Krause ve Wolfring bezleri), Meibomian bezlerini, sensorial ve motor inervasyonları içeren karmaşık bir sistemdir (28). Gözyaşı filmi bu fonksiyonel ünitenin en dinamik yapısını oluşturmakta olup oküler yüzeyin sağlıklı kalmasındaki en önemli etkidir. Gözyaşı filminin üretimi refleks bir nöral halka ile regüle edilir. Bu nöral halka oküler yüzeyin dengesi ve işlevlerini sürdürebilmesi için gereken sağlıklı gözyaşı filminin üretilmesinde gereklidir (28, 29). Gözyaşı filminin salgılanması refleks veya bazal olarak yapılır. Bazal salgılama musin, aköz ve lipid salgılayan bezlerden yapılırken refleks salgılama esas gözyaşı bezinden olur. Esas gözyaşı bezinin inervasyonunu trigeminal, fasial, sempatik ve parasempatik sinirlerden oluşan karmaşık bir refleks zincir gerçekleştirmektedir (5, 29).

Gözyaşı filmi her biri ayrı işlev gören 3 tabakadan oluşmuştur. Bu tabakalar içten dışa doğru:

1-Müsin tabaka

2-Aköz tabaka

3-Lipid tabakadır.

**Müsin Tabaka:** 0.02-0.05 µm kalınlığındaki müsin tabaka, konjunktivadaki goblet hücrelerinden, fornikslerdeki Henle kriptalarından ve limbal sınırdaki Manz hücrelerinden salınmaktadır (27, 28). Sekonder mukus sekresyonunu Goblet dışı hücreler denen konjunktivadaki müsin vezikülleri salgılar. Kornea ve konjunktiva epiteli glikokaliks oluşturmak üzere müsin benzeri bir glikoprotein (MUC-1) sentezler. Glikokaliks gözyaşının göze tutunmasını sağlayan bir komponenttir. İnsan konjunktivası MUC1, MUC4, MUC5AC gibi birçok farklı müsin de salgılar. Bu müsinlerin azalması kuru göz patogeneğinde yer almaktadır (29, 30).

Muköz tabakanın işlevleri çeşitlidir. Kornea epiteli ile aköz tabaka arasında hidrofilik bir alan oluşturur böylece hidrofobik kornea epitel yüzeyi hidrofilik hale dönerek ıslanır (5, 27, 28). Muköz tabaka yabancı maddeleri muköz iplikçikler içinde hapsederek gözden uzaklaştırır. İmmunglobulinler (Ig), lizozim ve diğer gözyaşı elemanlarının gözyaşı filmine tutunmasını sağlar ve böylece oküler yüzeyin bakteriler gibi yabancı maddelerden korunmasına yardım eder. Gözyaşı vizkositesinin korunmasını sağlar (30, 31).

**Aköz Tabaka:** 70 µm kalınlık ile gözyaşı filminin en büyük hacimli tabakasıdır. Esas ve yardımcı gözyaşı bezlerinden bazal ve refleks uyarı ile salınır. Refleks salınım esas gözyaşı bezindeki myoepitelyal hücrelerden, bazal salınım ise Krause ve Wolfring bezlerinden yapılır (5). Aköz tabaka yüksek oranda (%98.2) suyun yanı sıra elektrolitler, karbohidratlar, üre, aminoasit, lipid, çeşitli enzimler, seruloplasmin, laktoferrin, lizozim, β-lizin gibi birçok besinsel ve antibakteriyel ajanı da içerir (28, 29). Avasküler korneaya oksijen difüzyonunu sağlar, kornea ve konjunktivadaki yabancı maddeleri temizler.

Aköz tabakada spesifik ve nonspesifik Ig'ler vardır. Spesifik Ig'ler; predominant gözyaşı proteini olan IgA, mikroorganizmaların fagositoz ve lizisine yardım eden IgG, alerjik reaksiyonlarda yer alan IgE ve bunların dışında küçük oranlarda IgD ile IgM'dir. Nonspesifik Ig'ler içinde ise güçlü bakterisidal etkiye sahip lizozim, bakteri metabolizması için gereken demiri bağlayarak bakteriyostatik etki yapan ve kompleman sistemi modülasyonu ile antiinflamatuvar işlev gösteren laktoferrin, bakır metabolizmasında yer alan seruloplasmin sayılabilir (27-29). Aköz tabaka ayrıca epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü- α

(TGF- $\alpha$ ) gibi büyüme faktörlerini ve HLA-DR, IL-6, IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinleri de içermektedir (27, 32).

**Lipid Tabaka:** Meibomius, Zeiss ve Moll bezlerinden salınan lipidlerin oluşturduğu bu tabakanın en önemli etkisi gözyaşının aşırı buharlaşmasını engellemektir. Lipid tabaka %15 polar, %85 non-polar lipidlerden oluşmuştur (5). Gözyaşının lipid tabakasinda yer alan polar lipidler; fosfolipidler, sfingomiyelinler, seramidler ve serebrozidler içerir ve lipid tabakayı aköz-müsin jel tabakaya bağlar (15). Lipid tabaka vücut ısısında erimiş halde bulunmaktadır ve altında yer alan aköz tabakadan bağımsız bir film niteliği taşımaktadır. Her göz kırpma sırasında kapak kenarından gözyaşı filmine lipid yayılır. Kapaklar kapanınca lipid tabaka sıkışarak kalınlaşır ve kapaklar açılırken aköz tabakaya yönelmiş olan polar gruplar hızla yayılır. Non-polar lipidler polar lipidlerin üzerinden akarak gözyaşında iki katlı lipid filmini oluşturur.

Sentezi nöronal, hormonal ve vasküler faktörlere bağlı bu sıvı haldeki lipid formu kapak kenarında bir bariyer oluşturup gözyaşının cilde akmasına engel olur, vertikal stabilite sağlar, kırpma sırasında yüzey gerilimini azaltarak aköz komponenti kalınlaştırır (5, 27, 28, 33). Lipid tabaka ayrıca kapak cildinde bulunan yüksek polariteli lipidlerin gözyaşını kontamine etmesini de engellemektedir (5). Bakteriyel meibomian enfeksiyonlar bu lipid formu bozar, serbest yağ asidi oluşumuna neden olur ve bu iritan yağ asitleri gözyaşı filmi stabilitesini azaltarak aşırı buharlaşmaya sebep olur ve kuru göz oluşumuna zemin sağlar (33).

Gözün normal fonksiyonunun ve düzgün bir optik yüzeyin sağlanması için optik bütünlüğünün korunması, oküler yüzeyi kaplayan sağlıklı bir gözyaşı film tabakası ile mümkün olabilmektedir. Vital ve dinamik bir yapı olan gözyaşı filminin korneayı sağlıklı bir şekilde kaplayıp koruyabilmesi; normal kırpma refleksine, göz kapakları ve oküler yüzeyin uyumuna ve kornea epitelinin sağlıklı olmasına bağlıdır (5).

## **2.2. KURU GÖZ**

1993 yılında NEI (National Eye Ins.) tarafından yapılan kuru göz tanımlaması, gözyaşı yetersizliğinden ya da aşırı gözyaşı buharlaşmasından kaynaklanan ve interpalpebral alanda oküler yüzey hasarına ve oküler rahatsızlık semptomlarına yol açan bir gözyaşı filmi bozukluğu olarak bildirilmiştir (34). Ancak son yıllarda yapılan çalışmaların sonucunda bu tanımlama değişikliğe uğramıştır. Günümüzde kuru göz lakrimal fonksiyonel ünitenin kompleks inflamatuvar bir sendromu olarak tanımlanmaktadır (20, 23, 35). “Disfonksiyonel gözyaşı sendromu” veya “lakrimal keratokonjunktivit” terimlerinin de kullanılabildiği kuru göz sendromunda oküler yüzeyde klinik ya da subklinik bir inflamasyon bulunmaktadır (35).

Kuru göz tüm dünyada yaygın olan global bir hastalıktır. Görülme sıklığı %0.7 ile %30 arasında değişmektedir. 65 yaş üstü popülasyonda daha fazla görülmekte ve ilerleyen yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Kadınlarda görülme sıklığı erkeklerden 2 kat hatta bazı toplumlarda 3 kat daha fazladır (36). Postmenapozal dönemde bu oran daha da artmaktadır. Çeşitli otoimmün ve sistemik hastalıklarla beraber de görülmektedir (37).

### **2.2.1. KURU GÖZ PATOGENEZİ**

Kuru göz lakrimal fonksiyonel ünitenin multifaktöriyel bir hastalığı olup osmolarite artışı, görme azalması, oküler yüzey harabiyeti ve proinflamatuvar sitokinlerin artışı ile sonuçlanmaktadır. Disfonksiyonel gözyaşı üretimi gözyaşı hacminde azalma, bozulmuş gözyaşı kompozisyonu ve bu iki durumun tetiklediği oküler yüzey inflamasyonuna sebep olmaktadır (35). Kuru göz patogenezi gözyaşı yetersizliği ve buharlaşma artışı başlıkları altında incelenmektedir:

### **2.2.1.1. GÖZYAŞI YETERSİZLİĞİ**

Kuru göze sebep olan, lakrimal foksiyonel ünite bozukluğudur. Lakrimal işlevin bozulması sonucu oluşan gözyaşı yetersizliği iki kategoride incelenir. Bunlar Sjögren Sendromu ve Sjögren Sendromu Dışı Gözyaşı yetersizliğidir (1).

Sjögren Sendromu (SS) gözyaşı ve tükürük bezlerinde progresif lenfosit infiltrasyonu sonucu bu bezlerde yetmezliğin sebep olduğu klinik belirti ve bulgularla seyreden sistemik otoimmün bir hastalıktır (1, 5, 9). SS, 30-50 yaş aralığında daha fazla görülür. SS, primer olabildiği gibi sistemik lupus eritematosus (SLE), romatoid artrit, sistemik skleroz ve Wegener granulomatozu gibi farklı otoimmün hastalıklara sekonder olarak da bulunabilir. SS, T hücre aracılı bir otoimmün hastalık olup gözyaşı ve tükürük bezleri; plazma hücreleri, CD4+ ve B lenfositleri tarafından infiltrasyona uğrar. Bunun sonucunda gelişen fibrosis gözyaşı ve tükürük bezlerinin işlevlerini bozar (1, 38).

Sjögren Sendromu Dışı Gözyaşı yetersizliği ise gözyaşı bezi üretim bozukluğu, afferent veya efferent ileti bozukluğu ya da lokal oküler yüzey hastalığından kaynaklanabilir (1). Gözyaşı bezi yetersizliği primer veya sekonder olabilir. Sekonder sebepler içinde lenfoma, sarkoidoz, hemakromatoz, amiloidoz, Graft-Versus-Host hastalığı sayılabilir. Ayrıca çeşitli ilaçlar, cerrahi travma, radyoterapi gibi nedenler de sekonder aköz yetmezlik yapabilir (37). Postmenapozal kadınlarda artan kuru göz sendromu azalmış östrojene ve daha önemlisi azalmış androjen seviyelerine bağlanmıştır. Yapılan hormon replasman tedavilerinin kuru gözde yararlı olmaması östrojenden çok androjen eksikliğinin önemini göstermektedir (39, 40).

### **2.2.1.2. AŞIRI GÖZYAŞI BUHARLAŞMASI**

Gözyaşı yapımı normal bile olsa buharlaşma artışı kuru göze neden olur. Aşırı buharlaşma lipid tabaka ve/veya müsün tabakadaki patolojilerden kaynaklanabilir (33). Meibomian bezi disfonksiyonu (MBD) glandların obstrüksiyonuna veya defektlerine bağlı olabilir. Kapak kenarının bakteriyel enfeksiyonları, lipazların artmasına ve lipid içeriklerinde değişmelere neden olur. Sonuçta iritan etkiye sahip serbest yağ asitleri miktarı artar, gözyaşı filmi stabilitesi

bozulur ve gözün nemli kalma süresi kısalmır (41). MBD, ön ve arka blefaritler sonucu olabildiği gibi akne rozacea gibi dermatolojik hastalıklar sonucu da olabilir (42).

Müsin üreten goblet hücrelerinin bozukluğu veya azalması da kuru göz nedenlerindedir. Steven-Johnson sendromu, A vitamin yetmezliği, trahom, oküler pemfigoid gibi hastalıklar ve kimyasal, termal yanıklar müsin yetmezliği ile giden ciddi kuru göze sebep olabilir (30, 31). Bu hastalıklarda goblet hücrelerinden salınan MUC5A başta olmak üzere MUC1, MUC2, MUC4 gibi birçok müsin tipi azalmıştır. Müsin yetmezliğinde Schirmer testi normal bulunurken gözyaşı filmi stabilitesi bozulur ve gözyaşı filmi kırılma zamanı azalır (5, 30, 31).

### **2.2.2. KURU GÖZ PATOGENEZİNDE İNFLAMASYONUN ROLÜ**

Kuru göze yol açan inflamasyon, gözyaşı filmine birçok proinflamatuvar sitokin ve immun aktivatör uyarıcılarının salınımına neden olur. Salınan bu immun aktivatör uyarıcıları içinde HLA-DR, ICAM-1 ve CD40 sayılabilir (43, 44). Sjögren sendromunda hastaların gözyaşı bezlerinde, immunohistokimyasal olarak CD4+, T ve B lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir. Aktive lenfositlerden salınan proinflamatuvar sitokinler lakrimal fonksiyonel ünite ile korele işlev gören sinir hücrelerinde harabiyete sebep olur (21, 44). Sjögren Sendromu dışı keratokonjunktivitis sikka hastalarında da bu aktive T hücreleri ve proinflamatuvar sitokinler saptanmıştır.

Kuru gözde proinflamatuvar sitokinlerden en fazla artış gösterenler IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ 'dır (7, 8, 20, 38, 43-45). Lakrimal disfonksiyonu olan hastalarda artmış osmolarite de yukarıda sayılan sitokinlerin artmasına sebep olur. Oküler yüzey travması nöral refleksi arkını aktive eder. Korneal hasarlanma, gözyaşı bezinde gen ekspresyonunu değiştirerek gözyaşı üretimini azaltır. Bu durum, korneal refraktif cerrahi sonrası oluşan kuru göz patogenezi açıklayabilen bir durumdur (3, 35, 46).

Kuru göz hastalarının gözyaşında çeşitli metalloproteinazların (MMPs) arttığı bildirilmiştir. Özellikle MMP-9 düzeylerinde yükselme tespit edilmektedir. MMP-9 korneal epitelyal bazal membranında lizise yol açarak korneal epitelyal bariyer disfonksiyonu sonucu kuru göze neden olan bir enzimdir. A vitamin yetmezliklerinde düzeyi düşük bulunduğu halde keratokonjunktivitis sikka

hastalarında aktivitesinde artış saptanmıştır (20, 47). Kuru gözde epitel koruyucu ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etkileri olan EGF seviyeleri azalmıştır (48).

İmmun kökenli inflamasyon, kuru gözde proapoptotik belirteçleri de artırır (49). Epitelyal hücrelerin apoptotik hücre ölümü Fas, FasL, APO-2.7, CD-40 ve perforin gibi apoptotik arayolların aktivasyonundaki artışa bağlı olarak ortaya çıkar. İnflame gözyaşı epitel hücreleri apoptotik hücre ölümünde rol oynayan sitokinler (IL-1, TNF- $\alpha$ ) ve protoonkojenler salarlar (38, 49). Potent antiinflamatuvar etkili androjen hormon düzeylerindeki azalmalar inflamasyonu arttırmak yoluyla kuru göze sebep olurlar (50, 51).

### 2.2.3 KURU GÖZ TANISI

Kuru göz hastaları nedeninden bağımsız olarak genelde benzer şikayetler bildirmektedir. Kuru gözde “Oküler Rahatsızlık” olarak genellenebilecek yaygın semptomlar:

- Yanma,
- Batma,
- Kaşıntı,
- Sulanma,
- Gözde yabancı cisim hissi,
- Kuruluk,
- Fotofobi,
- Mukoid paternde sekresyon,
- Oküler yorgunluk,
- Kızarıklık,
- Görmede bulanıklıktır (1, 5, 53, 54) .

Kuru göz tanısında halen altın standart sayılabilecek ve kesin tanıda kullanılabilecek bir yöntem yoktur. Birçok klinikte yaygın kullanılmakta olan ve tanıda yararlı olabilecek testlerden bazıları şunlardır:

**A. HASTA ANAMNEZİ:** Bu bir test olmamakla beraber kuru göz tanısında en önemli parametrelerden birini oluşturmaktadır. Hastalar genelde diüurnal bir şikayet paterni tarifler. Semptomlar günün ilerleyen saatlerinde ve çevresel koşulların değişimi fark gösterebilir. Aköz azlığı gün ilerledikçe artarken, blefaritte semptomlar sabahları fazladır. Klima, kuru ısıtıcılar (soba, kalorifer vb.) soğuk ve rüzgarlı havalar, bilgisayar ve televizyona uzun süre bakma ve kuru iklim ve mevsimler semptomların artmasına neden olur (1, 5, 53).

**B. GÖZYAŞI FİLMİ KIRILMA ZAMANI:** Gözyaşı stabilitesini ölçer. Özellikle müsün eksikliğini gösterir. Göz kırpması ile ilk kuru noktanın ortaya çıktığı zaman arasındaki prekorneal gözyaşı filminin buharlaşma süresini verir. İki şekilde yapılabilir:

**B.1. İnvaziv:** Gözyaşının floresein ile boyanması için alt fornikse floresein emdirilmiş kağıt değiştirilir. Göz bir-iki kez kırılır ve sonra mavi kobalt ışığı altında biomikroskopta gözyaşı filmi incelenir. Floresein boyasının parçalanma süresi olan gözyaşı filmindeki ilk kuru noktanın görüldüğü süre tespit edilir. Bu süre normalde 15 sn'den fazladır. On saniyenin altı patolojik kabul edilir. GKZ gözyaşının kalite ve kantitesine, kırpması gücüne ve korneal ıslanabilmeye bağlıdır. Ancak bu değişkenler topikal anestezi ve gözün açık tutulması ile en aza indirilir (5,53).

**B.2. Non-invaziv:** Floreseinsiz plasido diskinin korneaya yansıtılması ile yapılır. Hasta 1-2 kez göz kırptıktan sonra plasido disk görüntüsünün bozulması ile belirlenen ilk kuru noktanın ortaya çıktığı süre ölçülür. Normal değeri 40-42 sn'dir (5).

Gözyaşı parçalanmasının, lokal ayrılma, mukus tabaka parçalanması, veya yüzey gerilim farkına bağımlı akım nedeniyle oluşan stabilizasyon bozukluğuna bağlı olabileceği gibi müsün tabakasındaki bazı maddelerin lipid tabakasından gelen lipidlere bağımlı olarak hidrofobik karakter kazanması ve sonuçta gözyaşı stabilizasyonunu koruyamaması nedeniyle olabildiği düşünülmüştür (28).



**C. SCHIRMER TESTİ:** Gözyaşı akımı ve hacmi hakkında bilgi verir. Anestezik madde veya floresein kullanılması ve biomikroskopik muayene sonucu etkileyebileceği için diğer muayene ve testlerden önce bu testin uygulanması doğrudur. İki şekilde yapılır:

**C.1.Schirmer I testi:** Beş mm eninde 35 mm uzunluğundaki filtre kağıdının 5 mm'lik kısmının katlanıp alt forniks 1/3 dış kısmına yerleştirilmesinden sonra 5 dakika beklenerek ıslanan bölümün ölçülmesi ile yapılan bir testtir. Anestezisiz yapıldığı zaman refleks, anestezili yapıldığı zaman bazal gözyaşı miktarını gösterir. Normal değeri 5 dakikada 15mm ve üzeridir. Anestezili yapıldığı zaman 5 mm ve altı, anestezisiz yapıldığı zaman 10 mm ve altı patolojik kabul edilir (5, 54, 55).

**C.2 Schirmer II testi:** Refleks gözyaşı sekresyonu ölçülür. Anestezisiz ve anestezili olarak burun mukozası pamuklu çubuklar ile irrite edilirken gözyaşı sekresyonu Schirmer I testinde olduğu gibi 5 dakika süre ile ölçülür. Onbeş mm'den az ıslanma patolojik kabul edilir (5, 27). Kinetik Schirmer testinde buharlaşmayı önlemek amacıyla Schirmer kağıdı plastik muhafaza ile sarılır. Schirmer testinde yanlış negatif ve yanlış pozitif sonuçlar fazla olduğu, tekrarlayan testlerde farklı sonuçlar elde edilebildiği ve birçok sebeple test etkilenebildiği için güvenilirlik derecesinin düşük olduğu düşünülmektedir (1, 50).

**D. İPLİK TESTİ:** İlk 3 mm'sine fenol kırmızısı boya emdirilmiş 75 mm'lik pamuk ipliğin alt kapak dış 1/5'lik kısma yerleştirilip 15 sn gözyaşını emmesi beklenir. Gözyaşı ile temas sonucu alkalin pH'dan dolayı renk parlak turuncuya döner. İplik iritan olmadığı için anestezi gerekmez. Islanan uzunluk ölçülür (1, 5).

**E. ROSE BENGAL TESTİ:** Değişik konsantrasyonlarda kullanılan vital bir boyadır. Dejenere kornea ve konjunktivayı boyar, korneal flamanları gösterir. Yaygın olarak kullanılan %1'lik konsantrasyonu özellikle kuru göz hastalarında iritan etki gösterdiğinden daha düşük konsantrasyonlar tercih edilmektedir. Ancak konsantrasyon değişimi ile boyanma miktarı değiştiği ve hastalar için rahatsız edici bir yöntem olduğu için sık kullanılmamaktadır (1, 54, 55).

**F. GÖZYAŞI MENİSKÜS YÜKSEKLİĞİ ÖLÇÜMÜ:** Alt kapakta biriken gözyaşının yüksekliğinin pakimetri veya modifiye cihazlarla ölçümüne dayanır.

**G. MUKUS FERN TESTİ:** Müsin eksikliğinin gösterilmesinde kullanılabilen bir testtir. Gözyaşının kurutulup lam lamel arasında ışık mikroskobu ile incelenerek karakteristik çam ağacı görüntüsünün değerlendirilmesine dayanır.

**H. GÖZYAŞI pH TESTİ:** Gözyaşı normal pH'ı 6.5-7.6'dır. pH değişimleri kuru göz tanısında yararlı olabilse de bu değişiklikler birçok faktöre bağlı olduğu için kullanımı pratik ve spesifik değildir.

**I. GÖZYAŞI OSMOLARİTE ÖLÇÜMÜ:** Normal gözyaşı 302 mosm/l iken kuru gözde osmolaritenin 340-350mosm/l gibi yüksek değerlere ulaşması nedeniyle önemli olan bir testtir (54).

**J. DİĞER TESTLER:** Gözyaşında lizozim, laktoferrin ölçümleri gibi spesifik testler pahalı olmaları, pratik olmamaları gibi sebeplerle daha çok araştırma amaçlı kullanılmaktadır.

## 2.3 İMPRESYON SİTOLOJİSİ

İlk kez 1977 yılında Egbert ve Thatcher tarafından basit konjunktiva biopsisi olarak tanımlanan impresyon sitolojisi çeşitli konjunktival patolojilerin tanı ve takibinde kullanılmaktadır. Noninvasiv, kolay tekrarlanabilen ve güvenli bir yöntem olan impresyon sitolojisi konjunktivanın yüzeysel tabakalarının sitolojik düzeyde incelenmesi amacıyla selülöz asetat filtre kağıtlarını konjunktiva üzerine yapıştırarak epitel örneklerinin alınması esasına dayanmaktadır (10, 56). İmpresyon sitolojisi kuru göz dışında oftalmolojide psöriasis, limbal kök hücre yetmezliği, spesifik viral hastalıklar, A vitamin yetmezliği, allerjik hastalıklar, konjunktival melanosis ve malign melanom gibi hastalıkların tanısında da kullanılmaktadır (10, 12, 13).

0.022µm ve 0.045µm por çaplı filtre kağıtları (Millipor®, Biopor®) mat yüzeyi konjunktivaya gelecek şekilde palpebral veya bulber alana yerleştirilip 3-5

saniye bastırıldıktan sonra kaldırılır ve fiksator (%95 alkol) içine konur. Filtre kağıdı konjunktivadan çekilince epitelin bir/birkaç hücre katı kağıda yapışır (56). Fikse edildikten sonra hetoksilen ve PAS ile ya da Gill'in modifiye papanicolau tekniği ile boyanıp lam-lamel arasında ışık mikroskopunda incelenir (56-58).

Preparatların incelenmesi sırasındaki amaç;

a-Epitel hücrelerindeki morfolojik değişimlerin anizositoz, çekirdek sitoplazma oranı ve nükleer kromatindeki yapısal değişikliklerin varlığı ile belirlenen squamöz metaplaziye gidişin;

b-Goblet hücre yoğunluğundaki değişimlerin saptanmasıdır (10, 56, 58).

Bu iki ana kritere göre Nelson ve Tseng tarafından impresyon sitolojisi iki farklı şekilde evrelendirilmiştir. Nelson 0-1-2-3 ve Tseng 0-1-2-3-4-5 basamaklarından oluşan evreleme sistemi tanımlamıştır (57, 59).

En sık kullanılan Nelson evrelendirme sistemidir (59). Buna göre:

**Evre 0:** Epitel hücreleri küçük ve yuvarlaktır. Sitoplazma eozinofilik boyanır. Nükleus küçük ve bazofiliktir. Nükleositoplazmik oran 1/2 dir. Goblet hücreleri sayıca fazla, yoğun, dolgun ve oval karakterde olup PAS pozitif sitoplazmalıdır.

**Evre I:** Epitel hücreleri biraz daha büyük ve poligonaldır. Sitoplazma eozinofilik boyanır. Nükleus büyümeye başlamıştır. Nükleositoplazmik oran 1/3'dür. Goblet hücreleri sayıca azalmış olmasına rağmen büyüklükleri aynı, dolgun ve oval, PAS pozitif sitoplazmalıdır.

**Evre II:** Epitel hücreleri daha büyük ve poligonaldır. Değişik boyanma gösteren sitoplazma ve nadiren multinükleus vardır. Nükleositoplazmik oran 1/4-1/5 dir. Goblet hücreleri sayıca belirgin biçimde azalmış, küçülmüş ve kaybolmaya başlamıştır. Hücresel sınırları belirsizleşmiştir. Daha hafif olarak PAS pozitif boyanma vardır.

**Evre III:** Epitel hücreleri çok büyük ve poligonaldır. Renkleri açıktır ve katlanmalar gösterir. Sitoplazma bazofilik boyanır. Nükleus küçük, piknotik ve çoğu hücrede mevcut değildir. Nükleositoplazmik oran 1/6'dan fazladır. Goblet hücreleri çok az veya bütünüyle yok olmuştur (59).

İmpresyon sitolojisi ayrıca IL-1 subtiplerinin, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokin düzeylerinin saptanmasında da kullanılmaktadır (43).

## 2.4 KURU GÖZ TEDAVİSİ

Kuru göz, kronik, genelde dirençli ve altta yatan birçok faktöre bağlı olarak kesin tedavisi oldukça güç olan bir hastalıktır. Kuru göz semptomları çok geniş bir yelpazede bulunduğu ve birçok oftalmolojik hastalıkta ortak seyrettikleri için tedavisinde yanlıgılar olmaktadır.

Kuru göz tedavisinde amaç etkene ve altta yatan sebebe yönelik olmalıdır. Son zamanlarda bu hastalığın inflamatuvar bir sendrom olduğu tespit edildiği için tedavi protokolleri artık antiinflamatuvar ve immun modülatör alanlara kaymaya başlamıştır (2, 20).

2006 yılında kuru göz konusunda uzman 25 panelistin katılımı ile yapılan Delphi toplantısında kuru göz sendromu yerine “disfonksiyonel gözyaşı sendromu” (DGS) teriminin kullanılması konusunda fikir birliğine varılmıştır. Delphi paneline göre DGS semptomların ve bulguların ciddiyetine göre sınıflandırılmalı ve tedaviyi yönlendiren etkenlerin en önemlisi hastalığın ciddiyeti olmalıdır (60).

Delphi panelinde DGS’un zemininde hastalığı başlatan veya devam ettiren inflamatuvar bir süreç olduğu ve ilk muayenede hastaların 3 majör klinik kategoriden birine sokulmaları gerektiği konusunda da fikir birliği oluşmuştur. Bu klinik kategoriler:

- 1-Göz kapağı hastalığı olanlar;
- 2-Gözyaşı dağılımı ve temizlenmesinde sorun olanlar;
- 3-Göz kapağı hastalığı olmayanlar olarak sayılabilir.

### **I-Göz kapağı hastalığı olanlarda tedavi basamakları:**

I-I. Anterior kapak hastalığında: Kapak hijyeni ve topikal antibiyotik

I-II. Posterior kapak hastalığında: Sıcak masaj, oral tetrasiklin, topikal steroid

### **II-Gözyaşı dağılımı ve temizlenmesinde sorun olanlarda tedavi basamakları:**

II-I-Azalmış veya tam olmayan göz kırpmasında: Lubrikasyon, kontakt lensler, cerrahi

II-II Artmış yüzey lezyonlarında: Lubrikasyon, yamalama, steroidler, cerrahi

II-III Kapak ve kirpik malpozisyonu: Lubrikasyon, kontakt lens, cerrahi

II-IV Konjunktivoşalasis: Lubrikasyon, steroidler, cerrahi

### **III- Göz kapağı hastalığı olmayan DGS hastalarında tedavi basamakları:**

III-I 1. derece Ciddiyeti olanlar: Prezervanlı veya prezervansız suni gözyaşı

III-II 2. derece Ciddiyeti olanlar: İnflamasyon yoksa prezervansız suni gözyaşı, jeller, gece merhemler

İnflamasyon varsa siklosporin A, steroid, gözyaşı salgılatıcıları

III-III 3. derece Ciddiyeti olanlar: Tetrasiklinler, otolog serum, punktal oklüzyon

III-IV 4. derece Ciddiyeti olanlar: Topikal A vitamini, kontakt lensler, asetilsistein, nemlendirici gözlükler, gerekirse cerrahi (60).

#### **2.4.1 SUNİ GÖZYAŞI PREPARATLARI:**

Prezervanlı veya prezervansız olabilir. Toksik olabildiği için prezervanlı olanlar tercih edilmez. Sıvı, jel veya pomad şeklinde olabilir. Sıvı ya da jel olanlar selüloz eter (hipromelloz, hidroxietsellüloz, metilsellüloz vb.), karbomer, polivinilalkol, sodyum hyaluronat olabilir (2, 61). Pomadlar lipid bazlıdır. Petrol deriveleri (parafin, vazelin, mineral yağı), lanolin, lesitin yapıda olabilir (2).

#### **2.4.2 OTOLOG SERUM**

Gözyaşı kornea epitelinin bütünlüğünün korunması ve sağlıklı kalmasındaki en önemli etkenlerden biri olmasının yanısıra oküler yüzey epitelinin çoğalması, gelişmesi ve farklılaşması için gerekli olan epidermal büyüme faktörü (EGF), A vitamini, fibronektin, ve nörotrofik büyüme faktörü gibi önemli bazı büyüme elemanlarını içeren dinamik bir yapıdır (62). Kuru göz tedavisinde sıklıkla kullanılan suni gözyaşı preparatları bu faktörleri içermemektedir.

Serum ise kanın şekilli elemanlarından ve pıhtılaşma faktörlerinden ayrılmış olan sıvı içeriği olup EGF, fibronektin, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), substance B, IGF-1(insülin benzeri büyüme faktörü-1), TGF- $\beta$ 1 (transforme edici büyüme faktörü), sinir büyüme faktörü (NGF) gibi birçok büyüme faktörünü içermektedir (63). Serumun A vitamini, TGF-  $\beta$ 1, IGF-1, NGF, fibronektin ve lizozim konsantrasyonları gözyaşından fazla iken Ig-A, EGF, ve C vitamini konsantrasyonları gözyaşındaki düzeylerden düşüktür (64, 65). Bu bilgilerden yola çıkarak 1984 yılında Fox ve ark. (66) ilk defa otolog serum kullanımının kuru gözde etkili bir tedavi olduğunu bildirmişlerdir.

Otolog serum kullanımının özellikle ciddi seyirli kuru göz olgularında etkili bir tedavi seçeneği olduğunu kanıtlayan birçok yayın yapılmıştır (4, 16-19). Delphi panelinde kabul edilen tedavi basamaklandırmasında da 3. derece ciddiyeti olan olgularda otolog serumun kullanılması önerilmektedir (60). Sjögren sendromu kuru gözün ciddi ve yıkıcı seyrettiği en önemli hastalıklardan biri olup otolog serum kullanımı ile tedavisinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir (18).

Otolog serum, kuru göz dışında oftalmolojide farklı hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Kronik inflamatuvar bir hastalık olan superior limbik keratokonjunktivit, travma veya korneal bazal membran distrofisine sekonder gelişen rekürren erozyon sendromu, kuru göz veya romatoid artrit gibi hastalıklar sonucu oluşabilen persistan epitelyal defektler ve garft-versus-host hastalığı otolog serumun tedavide kullanılabildiği bazı hastalıklardır (19, 67). Özellikle dirençli persistan epitelyal defektler; keratokonjunktivitis sicca, açıkta kalma keratopatisi, nörotrofik kornea, limbal kök hücre yetmezliği ve post-enfeksiyöz ülserler sonucunda gelişebilmektedir. Otolog serumun içerdiği büyüme faktörleri ve proteinler bu hastalığın tedavisinde yarar sağlayabilmektedir (68, 69). Otolog serum ile oküler yüzey hastalıklarının klasik tedavilerinin karşılaştırıldığı çalışmaların sonucunda otolog serumun klasik tedaviler göre daha etkili ve güvenli bir seçenek olduğu bulunmuştur (4).

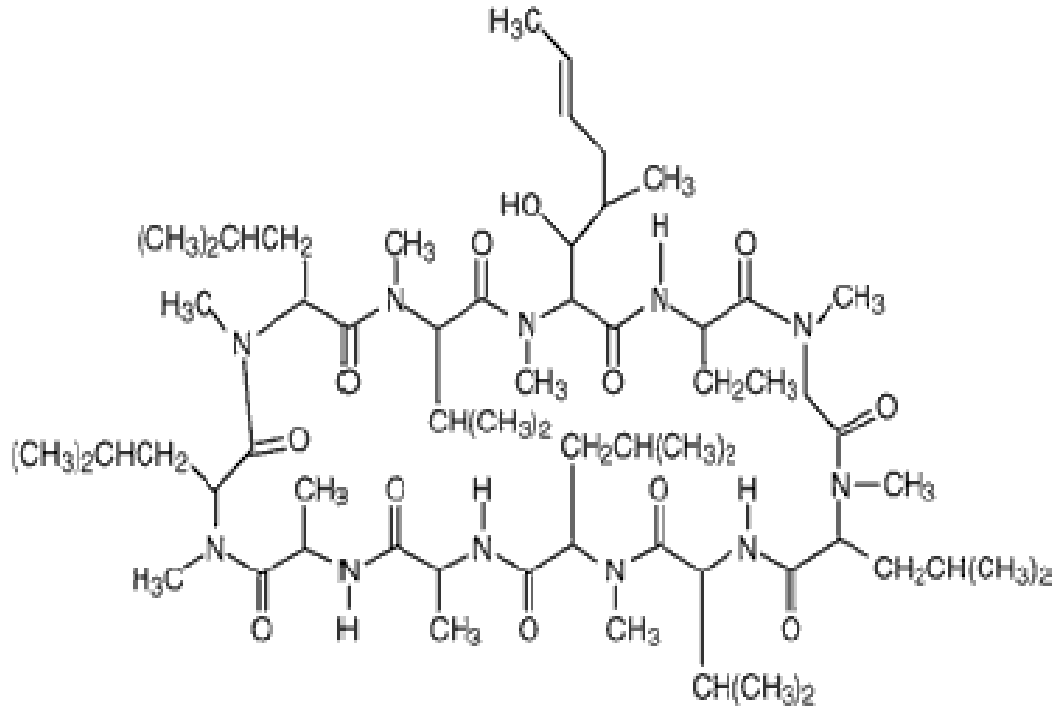
Otolog serum yoğun protein içeriği sonucu kontaminasyona oldukça açık bir preparattır. Kontaminasyonu önlemek amacı ile eklenebilecek koruyucu maddeler otolog serumun etkilerini belirgin şekilde azaltabildikleri için genelde tercih edilmemektedir (70). Ancak yoğun protein içeriğinin yanı sıra otolog serum; lizozim, kompleman ve bazı Ig'ler gibi bakteriyostatik maddeleri de içermektedir. Bu nedenle ayrıca bakteriyostatik bir madde eklenmesi gerekli görülmemektedir. Preparatın alınması, hazırlanması, saklanması ve kullanılması sırasında son derece dikkatli olunmalı ve sterilit şartlarına uyulmalıdır. Bu şartlara gerekli şekilde uyulması durumunda ciddi bir enfeksiyon (keratit, konjunktivit vb.) ya da komplikasyon riski oldukça azdır (4, 18, 70).

### **2.4.3 TOPİKAL KORTİKOSTEROİDLER**

Kuru göz patogenezinde inflamasyonun yerinin ne kadar önemli olduğu vurgulanmıştır (2, 20, 21, 38, 43-45). Bu nedenle antiinflamatuvar tedaviler kuru gözde en önemli seçeneklerden birini oluşturmaktadır. Topikal kortikosteroidler özellikle Sjögren sendromu gibi ciddi seyirli kuru göz tedavisinde kısa dönemli kullanılabilmektedir (71). Kortikosteroidler T hücre çoğalması, kemotaksis ve neovaskülarizasyonu önleyerek etki göstermektedir.

Kortikosteroidlerin sadece kuru gözde değil diğer birçok oküler hastalıkta kronik kullanımları; inflamasyonu baskılamakta başarılı oldukları halde, oküler hipertansiyon, katarakt, epitelyal defektlerin oluşumunu arttırma ya da iyileşmesini yavaşlatma ve sekonder infeksiyon gelişimine sebep olma gibi ciddi yan etkileri sebebi ile kısıtlıdır. Sayılan yan etkilerinden dolayı topikal kortikosteroidler yalnızca kuru göz hastalığının akut ataklarının tedavisinde kısa dönemli kullanım alanı bulmaktadır (2, 20).

#### 2.4.4 SİKLOSPORİN A



Şekil 2.4.1 SİKLOSPORİN

Siklosporin A *Tolypocladium inflatum* mantarının siklik endekapeptid bir metabolitidir. İlk kez 1970 yılında kültürde üretilmiştir (72). Yaygın olarak organ veya doku transplantasyonundan sonra red reaksiyonlarını önlemek için kullanılmakta olan güçlü bir immunsupresör ve immunmodülatördür. T hücre aracılı immun yanıtı suprese eden biyoyararlanımı değişken, terapötik aralığı dar, kompleks



farmokokinetik ve farmokodinamik etkiye sahip önemli intrensek toksisiteleri olan bir ilaçtır. İmmüsupresör etkisi geçici olup tedavi sonlandırıldığı zaman geri döner (73, 74). Siklosporin, nötral, lipofilik, siklik 11 aminoasitli bir polipeptittir. İntravenöz infüzyon veya oral olarak kullanılır. Siklosporinin metabolizması sitokrom P450 gen ailesi aracılığıyla karaciğer ve bağırsakta olur (74).

Sitokin ve immün aracılı birçok hastalık siklosporin A'nın tedavi hedefine girer. Siklosporin A'nın sistemik kullanımı, Wegener granülomatozu ile ilişkili periferik ülseratif keratit (75), ciddi Graves oftalmopati (76) ve keratoplasti sonrası greft reddini (77) önlemede başarılı bulunmuştur. Kornea, konjunktiva, lakrimal bez ve lokal drenaj sisteminin hedeflendiği kuru göz, vernal konjunktivit, atopik keratokonjunktivit, korneal greftlemede epitelyal red reaksiyonu gibi hastalıklarda topikal kullanım yeterli siklosporin seviyesinin elde edilmesini sağlarken, korneal greftlemede endotelyal red reaksiyonu, üveit ve intraoküler inflamasyonlar gibi intraoküler hastalıklarda, aköz humor, iris ve silier cisimde çok daha yüksek konsantrasyonlar gerektirdiği için topikal kullanım yerine sistemik veya lokal kullanım uygundur (73).

#### **2.4.4.1 SİKLOSPORİN A'NIN ETKİ MEKANİZMASI**

Siklosporin T-hücre aracılı alloimmün ve otoimmün yanıtı inhibe ederek etki gösterir. T-hücre aracılı inflamatuvar hastalıklarda T-hücrelerinin uyarılması sonucu başta interlökin-2 (IL-2) olmak üzere çeşitli sitokin ve inflamatuvar maddeler açığa çıkar. Bu sitokinler dokuda hasarlanmaya ve daha fazla T hücre salınımına dolayısı ile daha fazla sitokin üretimine neden olur. Oluşan bu kısır döngü inflamasyonu artırır. Siklosporin A selektif olarak T-hücre aracılı IL-2 sentezini hem in vivo hem de in vitro olarak azaltmaktadır (73, 74).

Siklosporin bir prodrogdur. Etkisini sitozolde siklofilin adı verilen sitozolik reseptör proteine bağlanarak gösterir. Siklofilin immunofilin adıyla anılan izomeraz aktivitesi olan hücre içi bir proteindir. Siklosporin-Siklofilin kompleksi aktif bir ilaçtır. Bu kompleks, kalsiyuma bağlı serin fosfatazı (kalsinörin) inhibe eder. Kalsinörin inhibisyonu ile kalsinörine bağlı aktif T hücreindeki nükleer faktörü de

içeren transkripsiyon faktörlerini azaltır. Bu faktörler; TNF-alfa, IL-2, IL-4, interferon-gama ve CD-40 gibi transkripsiyon genlerinin aktivasyonu ile oluşan T-hücre sitokinleridir (74). Topikal uygulanan siklosporin konjunktivadaki CD4+ hücrelerini azaltmakta, lenfosit aktivasyon belirteçleri olan CD11a, HLA-DR ve CD3 seviyelerini de düşürmektedir (23, 24, 78). Siklosporin A konjunktiva epitelindeki önemli inflamatuvar sitokinlerden biri olan IL-6 seviyesini de düşürmektedir (8).

#### **2.4.4.2 TOPIKAL %0.05'LİK SİKLOSPORİN A**

Topikal formunun üretilmesinden önce siklosporin A birçok hekim tarafından farklı çözücülerle (zeytinyağı, hintyağı, vb.) çözdürülerek klinikte vernal konjunktivit, superior limbik konjunktivit, steroide dirençli keratokonjunktivitler gibi dirençli ve ciddi vakalarda kullanılmaktaydı (80-82). Ancak siklosporinin hidrofobik yapıda olması, düşük aköz çözünürlüğü, yapılan çözeltilerin dayanıklılık, güvenilirlik ve etkinliğinin değişken olması, standardizasyonun tam olarak sağlanamaması ve her hasta için özel olarak hazırlamak zorunda olunması gibi nedenlerle pratik kullanımı oldukça güçtü. Siklosporin A için uygun taşıyıcı madde bulunması uzun bir süreç sonunda gerçekleşebilmiştir. Önce bitki yağları gibi çözücüler denenmiş ancak bunların tolerasyonlarının zayıf ve raf ömürlerinin kısa olması nedeni ile başarılı bulunmamıştır. Birçok araştırma sonrası hintyağının sudaki mikroemulsifikasyonunun polisorbata-80 ile stabilize edilmesi ile oda ısısında 9 ay gibi uzun süre etkisini muhafaza edebilen form hazırlanabilmiştir (73).

Topikal %0.05'lik siklosporin A (Restasis®, Allergan, USA ) etken madde olarak 0.5 mg (%0.05) siklosporin A ile gliserol, hintyağı, polisorbata-80, karbomer 1342, sodyumhidroksit ve distile su içerir. Topikal %0.05'lik siklosporin A'nın içerdiği taşıyıcı kompleks suni gözyaşı olarak ABD'de halen kullanılmaktadır (Endura®, Allergan, USA ). Topikal %0.05'lik siklosporin A hafif bulanık, beyaz, opak, homojen bir emülsiyondur (25, 73, 79).

2002 yılında FDA onayı almış olan preparatın etkinliği ve güvenilirliğini kanıtlayan çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. 877 hastayı içeren çift merkezli, randomize klinik çalışmada orta ve ciddi kuru göz hastalarında siklosporin A'nın %0.1 ve %0.05'lik konsantrasyonları kullanılmış ve her iki konsantrasyonun da tedavide objektif ve subjektif sonuçlar açısından önemli düzeyde etkili ve güvenilir olduğu kanıtlanmıştır. Yine aynı çalışma etkinlik benzer olduğu halde %0.1'lik konsantrasyonun yan etkilerinin biraz daha fazla olması nedeniyle düşük konsantrasyon (%0.05) içeren preparatın kullanılmasını önermiştir (23). Daha yüksek konsantrasyonları da içeren (%0.05 ve %0.1'e ek olarak %0.2 ve %0.4) diğer bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (6). Faz III çalışmalarında 3 yıl izlenen hastalarda belirgin bir yan etki gözlenmemiş ve istenen etkiler devam etmiştir (83). Topikal %0.05'lik siklosporin A ciddi kuru göz hastalarının dışında Graft-Versus-Host hastalığı, dirençli atopik kerakonjunktivitlerin tedavisinde de etkili ve güvenli bulunmuştur (84-87). Topikal %0.05'lik siklosporin A özellikle çocuk ve genç erişkinlerde ciddi kaşıntı, fotofobi, kızarıklık ile seyreden ve mevsimsel olarak kronik bir seyir gösteren vernal konjunktivit tedavisinde atak sıklığını ve semptomlarını azaltmaktadır (88-90).

Topikal %0.05'lik siklosporin A kullanımı; inflamasyonu baskılaması ve aktif enfeksiyonlarda tedaviyi olumsuz etkileyebileceği düşüncesi ile aktif oküler enfeksiyon ve oküler herpes simplex enfeksiyonlarında önerilmemektedir. Bu klinik durumların dışında kullanım kontrendikasyonu yoktur. %0.05'lik siklosporin A, topikal kullanımı ile sistemik dolaşıma geçmemektedir. Bu konuda yapılmış çalışmada 6 aydan uzun süre topikal %0.05'lik siklosporin A kullanan hastaların siklosporin kan konsantrasyonlarının ölçülebilir değer olan 0.1 ng/ml düzeyinin altında olduğu saptanmıştır (91). Topikal %0.05'lik siklosporin A kullanımının güvenli olduğu; oküler enfeksiyonlarda artmaya sebep olmaması, kan biokimyasında renal ve hepatik fonksiyonlar dahil değişikliğe sebep olmaması, tedaviye bağlı göz içi basınçta, görme keskinliğinde, biomikroskopik incelemede bir değişiklik olmaması ve kana geçişinin yok denecek kadar az olması nedeniyle kanıtlanmıştır (6, 23, 83, 91). Gebelerde kullanım kategorisi C'dir. Gebeler üzerinde araştırma yapılmamış olmasına rağmen sistemik dolaşıma geçmiyor olması kullanımda bir kontrendikasyon olmadığını düşündürüyorsa da bu konuda henüz kesin bir şey söylenemez.

Topikal %0.05'lik siklosporin A kullanımında hastalarda en fazla şikayet edilen yan etki, batma hissi ve geçici kızarıklık olmaktadır. Ancak hastaların çok azı bu şikayetler nedeni ile tedaviyi kesmekte, belirgin iyileşmeleri olduğu için birçoğu tedavilerini sürdürmektedirler(83).

### 3. MATERYAL – METOD

#### 3.1 HASTA SEÇİMİ:

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD polikliniğine Şubat 2007-Ekim 2007 tarihleri arasında kuru göz şikayetleri ile başvuran veya rutin muayeneleri sonucunda kuru göz hastalığı tespit edilen hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya başlanmadan önce CÜTF etik kurulundan çalışma onayı alındı. Hastalara yapılması planlanan çalışma konusunda ayrıntılı bilgi verilerek, kendilerinde kullanılacak ilaçların etkileri, yan etkileri, kullanım ve saklama yöntemleri anlatıldı. Hazırlanan özel hasta onam formları okutulup onayları alındı.

Aktif veya kronik keratiti veya konjunktiviti olan, non-steroid antienflamatuvar tedavi almakta olan veya çalışmaya başlamadan önceki 6 ay içinde kortikosteroid tedavisi almış olan ve daha önceden siklosporin A tedavisi başlanmış olan hastalar çalışma dışı tutuldu.

Çalışmaya henüz kuru göz tedavisi başlanmamış veya sadece suni gözyaşı tedavisi başlanmış olan 64 hastanın 128 gözü dahil edildi. Bu hastalardan 7'si çeşitli sebepler sonucu kontrole gelemedikleri için çalışma dışı bırakıldı. Tedaviyi 57 hasta tamamladı. Hastaların kadın/erkek oranı 49/8 (%85.96 ) idi.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların anamnezleri alındıktan sonra, Snellen eşeli ile görme keskinliği, non-kontakt tonometre (Canon®, TX-F, 2005, Japonya) ile GİB ölçümü, ön segment muayenesi ve fundus muayenesini içeren oftalmolojik muayeneleri yapıldı. Hastaların rutin muayenelerinden sonra Schirmer testi ve bu testin tamamlanmasından 5 dakika sonra GKZ testi uygulandı. Daha sonra impresyon sitolojik inceleme için örnekleme yapıldı. IL-6 ve IL-8 düzey tespiti için gözyaşı örneği alındı.

Schirmer testi için standart Schirmer filtre kağıdının (Dina strip, Schirmer Plus®, Lanotte-Beuvron, Fransa) 5 mm'lik kısmı, katlanarak topikal anestetik madde olarak %0,5 proparacaine hydrochloride (Alcaine®, Alcon, Belçika) damlatıldıktan sonra alt göz kapağının 1/3 dış ve 1/3 orta kısmının birleştiği yere gelecek şekilde alt fornikse yerleştirildi. Schirmer kağıdının korneaya değmemesine dikkat edildi.

Hastaların gerekirse gözlerini kırabilecekleri ancak gözlerini açık tutmaya çalışmaları söylendi. Beş dakika sonunda kapak kenarından itibaren ıslanan kısım ölçüldü. On mm'nin altındaki değerler kuru göz olarak kabul edildi.

GKZ ölçümü için topikal anestetik madde kullanılmadan fluorescein emdirilmiş kağıtlar alt fornikse değdirilerek kornea ve konjunktiva boyandı. Hastanın birkaç kez gözünü açıp kapaması istenerek boyanın yayılımı sağlandı. Daha sonra biomikroskop ile kobalt mavisi filtre kullanılarak geniş aydınlatma altında gözyaşı filmi, kornea ve konjunktiva incelendi. Son göz kırpmadan sonra hastanın gözünü kapatmaması istenerek gözyaşı filminin ilk kırıldığı süre saptandı. Ölçüm üç kez tekrarlanıp ortalama değer esas alındı.

### 3.2 İMPRESYON SİTOLOJİSİ:

İmpresyon sitolojisi örnekleri her iki göze %0,5 proparacaine hydrochloride (Alcain® %0.5, Alcon, Belçika) damlatılarak lokal anestezi sağlandıktan sonra alındı. 0.22µm por çaplı selüloz asetat filtre kağıdı (Millipore® Corp., Type GS, USA) 3 mm kare ve 3 mm üçgen şekillerinde kesildi. Temporal bulber konjunktiva için üçgen, alt nasal konjunktiva için kare şeklindeki filtre kağıtları kullanıldı. Dişsiz bir penset yardımıyla önce üçgen şeklindeki filtre kağıdının mat yüzeyi temporal limbustan 2 mm distal olacak şekilde konjunktivaya yerleştirilip birkaç saniye hafifçe bastırıldı. Filtre kağıdı yapıştığı konjunktivadan yine dişsiz bir penset yardımıyla yavaşça kaldırıldıktan sonra fiksasyon solüsyonu olarak %95 etil alkol içeren ependorf tüplerine kondu. Daha sonra bu kez alt nazal konjunktivadan örnek almak amacıyla kare şeklindeki filtre kağıtları ile aynı işlemler uygulandı. İşlemler hastaların önce sağ sonra sol gözlerine aynı şekilde uygulandı.

Örnekler, Tseng tarafından tarif edilen Gill'in modifiye Papanicolau tekniği ile boyanarak Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında ışık mikroskobu altında tek bir uzman tarafından incelendi. İncelenen örnekler, Nelson tarafından tarif edilen konjunktiva epitel hücre morfolojisi ve goblet hücre yoğunluğuna göre yapılan evrelendirmeye göre gruplandırıldı.

### 3.3 SİTOKİN İNCELEMESİ:

Gözyaşında IL-6 ve IL-8 ölçümü için gözyaşı örnekleme almak amacı ile standart kağıt filtre şeritleri ( Periopaper strips, Proflow®, USA) kullanıldı. Dişsiz bir penset ile renkli kısmından tutulan periopaper kağıtları hastaların önce sağ sonra sol göz alt nasal fornikslerine topikal anestezi altında yerleştirildi. Periopaper kağıtları maksimum gözyaşı emilimi sağlamak amacı ile 30 saniye nasal fornikte bekletildikten sonra aynı penset yardımıyla alınarak ependorf tüplerine kondu ve -30 °C de tetkik süresine kadar bekletildi.

Sitokin ölçümleri ELISA (Enzym Linked İmmunosorbent Assay) yöntemi ile IL-6 ve IL-8 için standart kit (Immunotech, Beckman-Coulter Inc., France) kullanılarak yapıldı. Örnekler değerlendirme için -30°C den alındıktan sonra 1 saat oda ısısında bekletildi. Serum bovine albumin %0.2 oranında Hank's Buffer solüsyonu ile eritildi. Elde edilen solusyondan 200 µl alınarak periopaper içeren örneklerin üzerine sitokinlerin ayrılması için eklenip örnekler vortekslendi. Daha sonra örnekler üretici firmanın önerilerine uyularak çalışıldı.

### 3.4 TEDAVİ DÜZENLENMESİ:

Hastalar randomize olarak iki gruba ayrıldı. İlk gruba 26'sı kadın 4'ü erkek toplam 30, ikinci gruba 23'ü kadın 4'ü erkek toplam 27 hasta alındı. Birinci gruba %0.05'lik topikal siklosporin A (Restasis®, Allergan, USA) ikinci gruba topikal otolog serum damlası başlandı. Hastaların hepsine tedavilerine ek olarak günde 6 kez birer damla kullanılacak şekilde prezervansız suni gözyaşı damlası (Refresh®, Allergan, USA) başlandı. Hastaların %0.05'lik topikal siklosporin A'yı 12 saat ara ile günde iki kez kullanmaları önerildi. Hazırlanan otolog serum gözyaşı damlaları her iki göze günde 6 kez birer damla dozunda başlandı. Hastalar tedavi başlangıcından sonra ilk hafta, 2.hafta, 4.hafta ara kontrollere çağrıldı. Son kontrol tedavi başlangıcından 3 ay sonra yapıldı. Bu kontrol sırasında tedavi öncesinde yapılan tüm oftalmolojik muayeneler, GKZ, Schirmer testi tekrarlandı. Tedavi sonrası değerleri karşılaştırmak amacıyla yukarıda anlatıldığı şekilde her iki gözden sitokin incelemesi için gözyaşı örneği alındı ve konjunktival impresyon sitolojik inceleme için örnekleme yapıldı.

### 3.5 OTOLOG SERUM HAZIRLANMASI:

Hastalara otolog serum hazırlamak için brakial venden 40 cc tam kan alındı. Oda ısısında güneş almayan bir yerde 2 saat bekletilerek şekilli elemanlarının çökmesi sağlandı. Kanlar daha sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüje edilerek serumlarının ayrılması sağlandı. Ayrılan serumlar steril şartlar altında alınarak %20 oranında dengeli tuz solüsyonu (BSS) ile sulandırıldı. Hazırlanan preparatlar 5 ml 'lik steril damlalıklar içine yerleştirildi. Hastalara kendileri için özel hazırlanan preparatları evlerinde hızlıca derin dondurucularına yerleştirmeleri, preparatlardan bir tanesini hemen kullanmaya başlamaları, kullanıyor oldukları preparatı buzdolabının rafında saklamaları önerildi. Hastalara preparatları 1 hafta içinde kullanmaları, 1 hafta sonunda bitmemiş olan preparatı atarak yeni preparata başlamaları anlatıldı. Yeni preparata başlamadan bir gün önce kullanacakları preparatı derin dondurucudan çıkararak buzdolabı rafında yavaş çözdürmeleri gerektiği, çözdürme işlemi için ocak, fırın vb. gibi başka hiçbir yöntem kullanmamaları gerektiği anlatıldı.

Otolog serum kullanımı ile ilgili tüm bilgiler hastalara ayrıca yazılı olarak verildi.

### 3.6 MEMNUNİYET SKORLAMASI

Hastaların, tedavi sonucunda tedaviye ait etki ve yan etkiler bakımından subjektif semptomlarını belirlemek amacıyla 1 ile 4 arasında değişen rakamlardan oluşan bir memnuniyet skorlaması bildirmeleri istendi. Bu skorlamada:

- 1-Tedavi başlangıcından daha kötü hissetme, şikayetlerde artma
  - 2-Tedavi başlangıcından farklı hissetmeme, şikayetlerde değişiklik olmaması
  - 3-Tedaviden memnun olma, şikayetlerde azalma
  - 4-Tedaviden çok memnun olma ve şikayetlerde belirgin şekilde azalma
- olarak basit bir sınıflama kullanıldı.



### 3.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver:13.0) programına yüklenerek veriler değerlendirilmiştir. Bu çalışmada topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serum kullanılan gruplarda yaş, Snellen eşeli ile görme keskinliği, GKZ, Schirmer testi, IL-6 ve IL-8 seviyelerinin değerlendirilmesinde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi; topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serum kullanılan her bir grupta kendi içinde tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerler karşılaştırılırken eşler arası farkın önemlilik testi; cinsiyet, impresyon sitolojik analizler ve tedavi sonrası memnuniyet skorlaması sonuçlarının değerlendirilmesinde Khi-Kare testi uygulanmıştır.

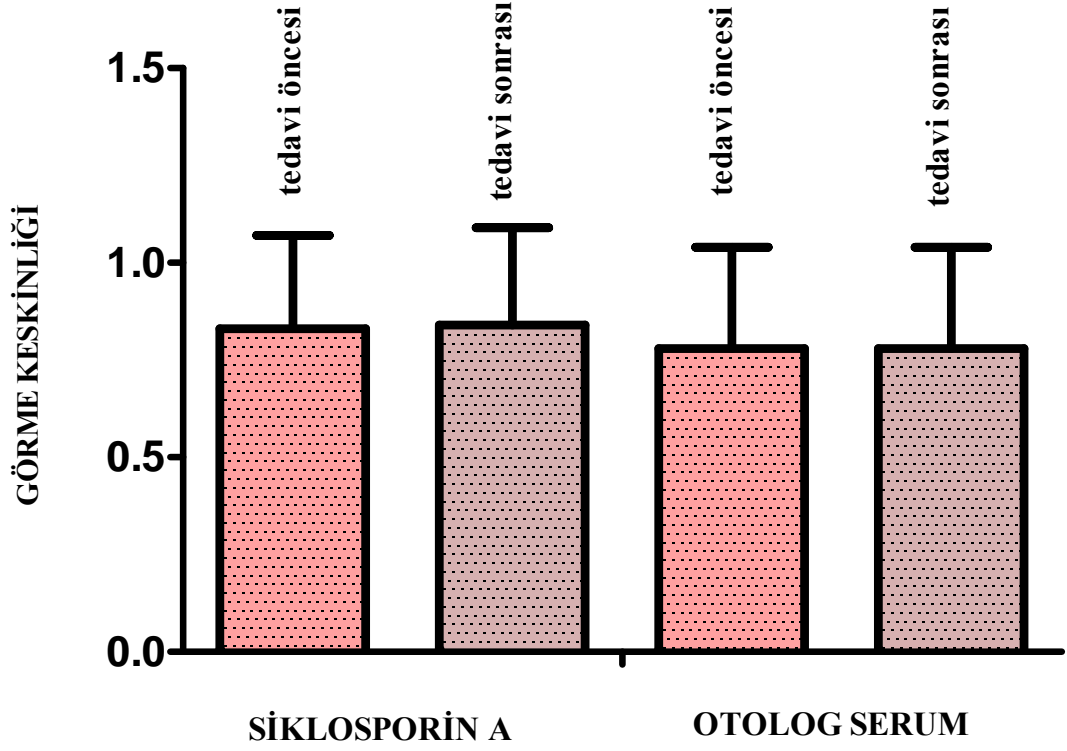
## 4. BULGULAR

Çalışmaya, topikal %0.05'lik siklosporin A kullanan grupta 30, otolog serum gözyaşı damlası kullanan grupta 27 olmak üzere toplam 57 hastanın 114 gözü dahil edildi. Siklosporin grubundaki hastaların 26'sı kadın (%86.7) 4'ü erkek (%13.3) ve yaşları 24-80 arasında olup ortalama  $52.73 \pm 12.59$  yıl; otolog serum grubundaki hastaların 23'ü kadın (%85.2), 4'ü erkek (%14.8) ve yaşları 27-82 arasında olup ortalama  $53.29 \pm 12.99$  yıl idi. Yaş ve cinsiyet bakımından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

Her iki gruptaki hastaların tedavi öncesi ve sonrası değerleri karşılaştırıldığında Snellen eşeli ile görme keskinliğinde anlamlı fark bulunmazken GKZ, Schirmer testi, gözyaşında IL-6 ve IL-8 seviyelerindeki değişimler anlamlı bulundu. İmpresyon sitolojik analizler arasındaki farklılık anlamlı bulunmadı.

Her iki grubun tedavi öncesi ve sonrasındaki Snellen eşeli ile görme keskinliği değerleri Grafik 1'de verilmiştir:

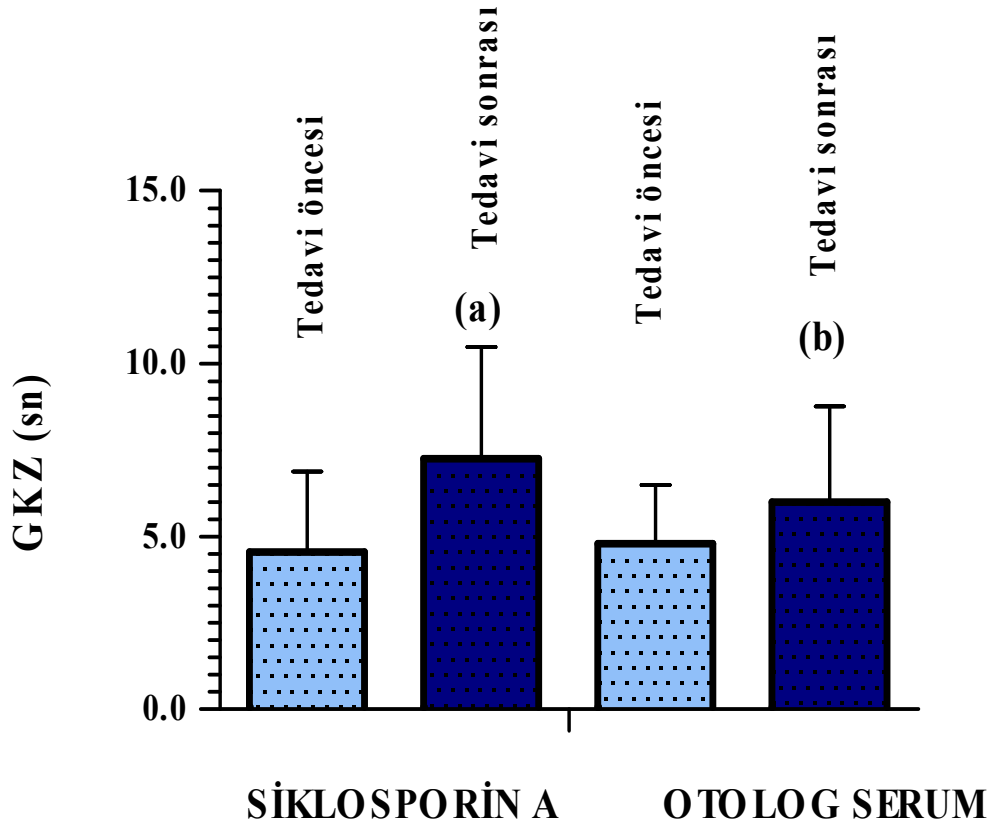
**Grafik 4.1: Gruplara ait Snellen eşeli ile görme keskinliği değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılması**



Siklosporin A grubunun tedavi öncesi Snellen eşeli ile görme keskinliği  $0.83\pm 0.24$  iken bu değer tedavi sonrasında  $0.84\pm 0.25$  olarak tespit edildi. Ototolog serum grubunda tedavi öncesi görme keskinliği  $0.78\pm 0.26$  iken tedavi sonrasında bu değerde değişme olmadı. Her iki grubun tedavi öncesi ve sonrasındaki görme keskinliği değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Her iki grubun tedavi öncesi ve sonrasındaki GKZ değerleri Grafik 2’de verilmiştir:

**Grafik 4.2: Gruplara ait GKZ değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılması**



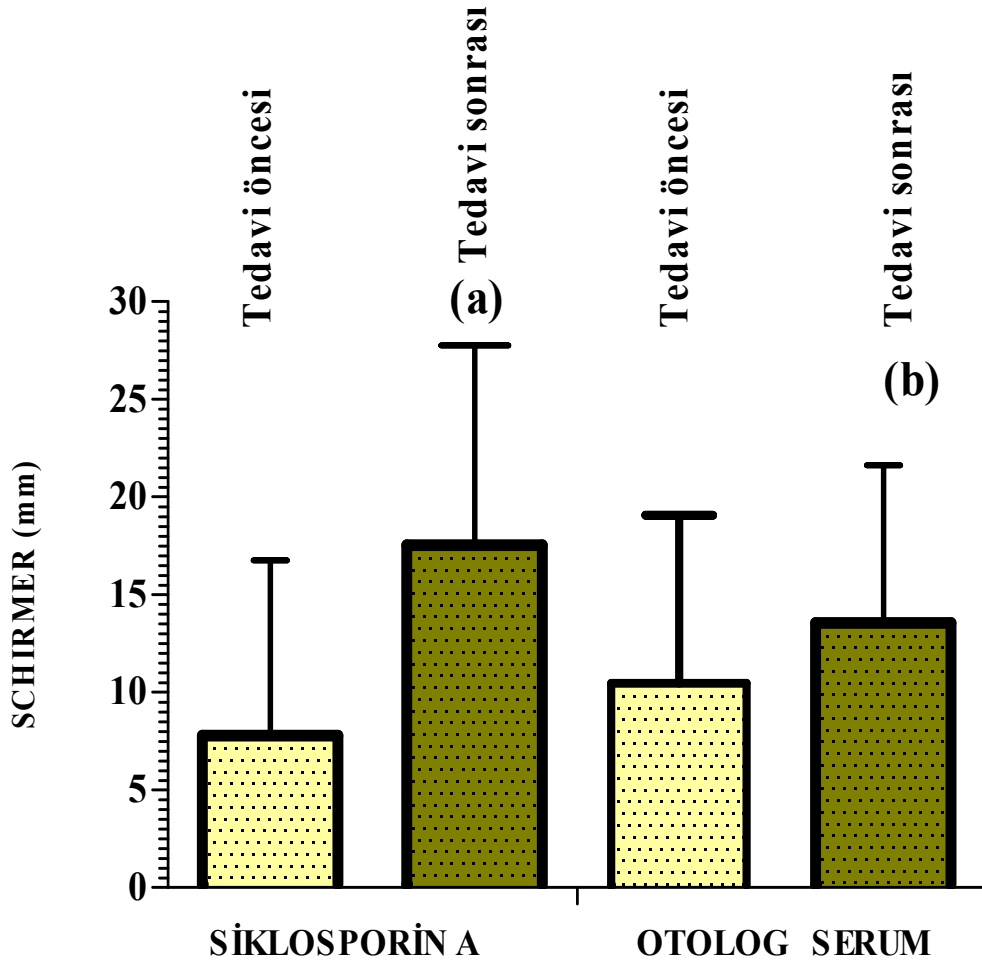
(a) Siklosporin A kullanan hastaların tedavi sonrası GKZ değeri tedavi öncesinden ve otolog serum kullanan hastaların tedavi sonrasındaki GKZ değerinden anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

(b) Otolog serum kullanan hastaların tedavi sonrasındaki GKZ değeri tedavi öncesi değerlerinden anlamlı olarak yüksekti.

Siklosporin grubunda tedavi öncesinde  $4.55 \pm 2.33$  sn olan GKZ tedavi sonrasında  $7.25 \pm 3.23$  sn'ye, otolog serum grubunda tedavi öncesinde  $4.79 \pm 1.70$  sn olan GKZ tedavi sonrasında  $6.00 \pm 2.77$  sn'ye yükseldi. Bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

Her iki grubun tedavi öncesi ve sonrasındaki Schirmer testi değerleri Grafik 3’de verilmiştir:

**Grafik 4.3: Gruplara ait tedavi öncesi ve sonrası Schirmer testinin karşılaştırılması**



(a) Siklosporin A kullanan hastaların tedavi sonrası Schirmer testi tedavi öncesinden ve otolog serum kullanan hastaların tedavi sonrasındaki Schirmer testinden anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

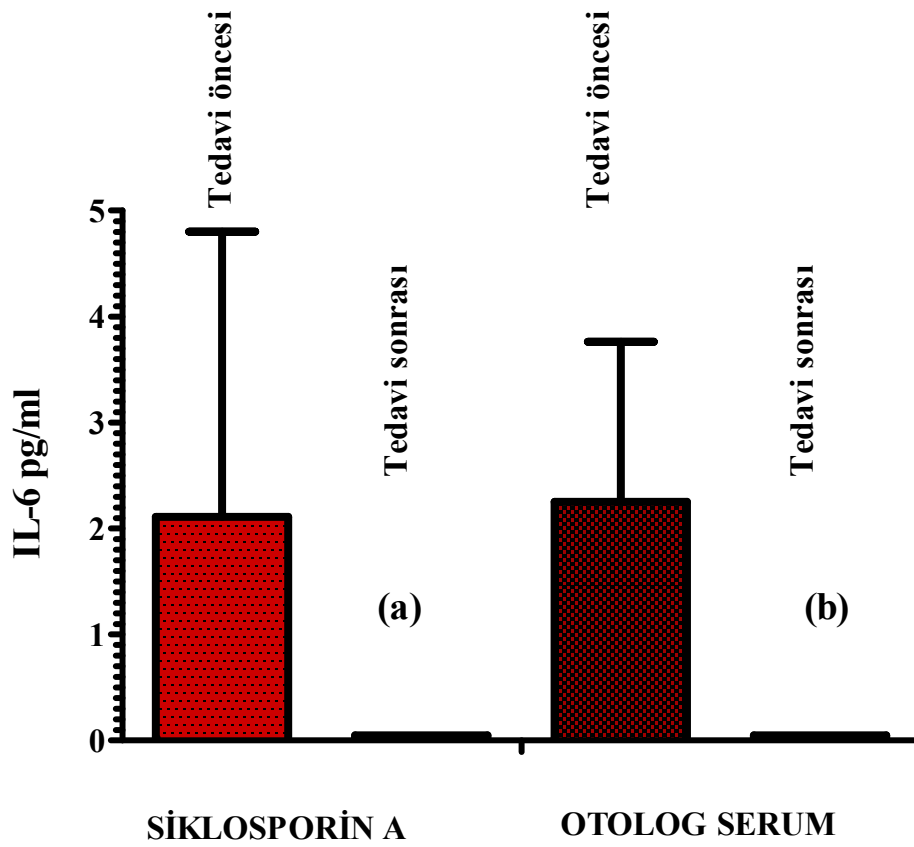
(b) Otolog serum kullanan hastaların tedavi sonrasındaki Schirmer testi tedavi öncesi değerlerinden anlamlı olarak yüksekti.

Siklosporin grubunda tedavi öncesinde  $7.78 \pm 8.97$  mm olan Schirmer testi tedavi sonrasında  $17.53 \pm 10.23$  mm'ye, otolog serum grubunda tedavi öncesinde

10.46±8.6 mm olan Schirmer testi tedavi sonrasında 13.55±8.07 mm'ye yükseldi. Bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

Her iki grubun tedavi öncesi ve sonrasında gözyaşında IL-6 seviyeleri Grafik 4'de verilmiştir:

**Grafik 4.4: Gruplara ait tedavi öncesi ve sonrası gözyaşı IL-6 seviyelerinin karşılaştırılması**



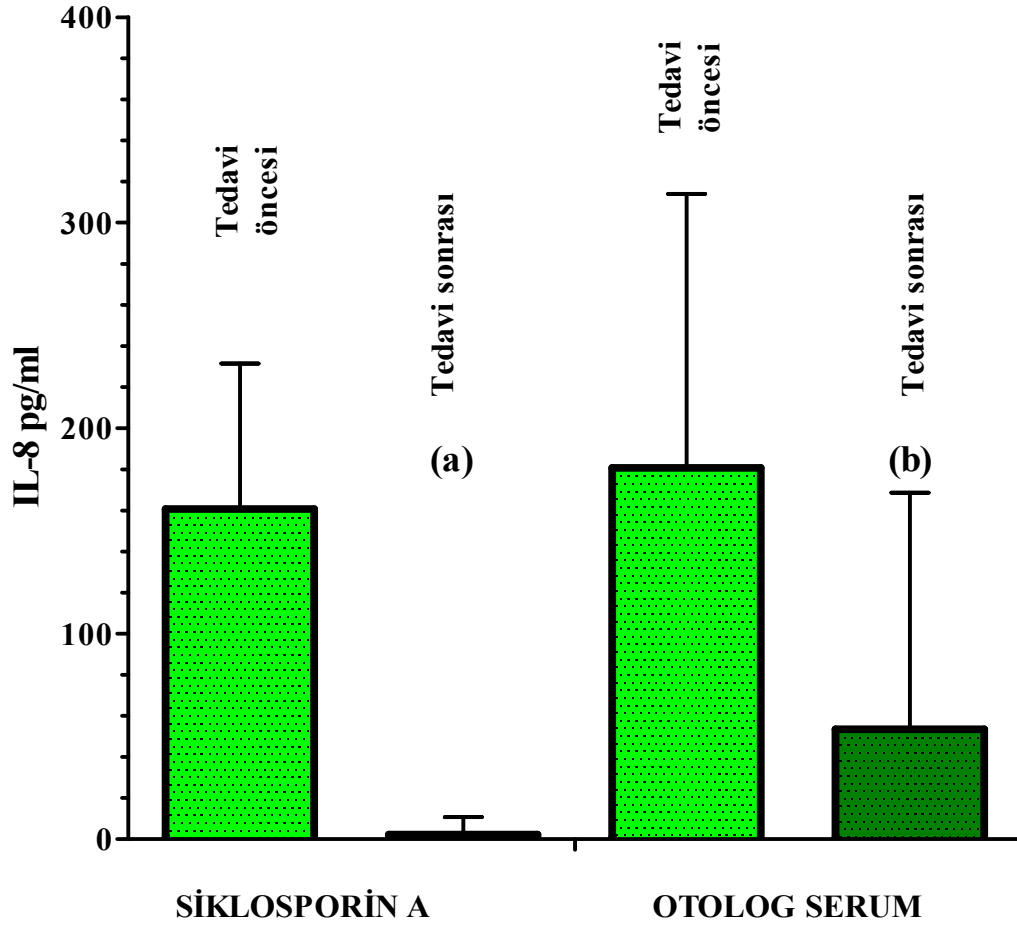
(a) Siklosporin A kullanan hastaların tedavi sonrası gözyaşında IL-6 seviyesi tedavi öncesinden anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ).

(b) Otolog serum kullanan hastaların tedavi sonrası gözyaşında IL-6 seviyesi tedavi öncesinden anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ).

Siklosporin grubunda tedavi öncesinde 2.11±2.69 pg/ml, otolog serum grubunda 2.25±1.51 pg/ml olan gözyaşı IL-6 seviyeleri tedavi sonrasında ölçüm seviyesinin altında bulundu ( $p<0.05$ ).

Her iki grubun tedavi öncesi ve sonrasında gözyaşında IL-8 seviyeleri Grafik 5’de verilmiştir:

**Grafik 4.5: Gruplara ait tedavi öncesi ve sonrası gözyaşı IL-8 seviyelerinin karşılaştırılması**



(a) Siklosporin A kullanan hastaların tedavi sonrası gözyaşında IL-8 seviyesi tedavi öncesinden ve otolog serum kullanan hastaların tedavi sonrasındaki gözyaşında IL-8 seviyesinden anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ).

(b) Otolog serum kullanan hastaların tedavi sonrasındaki gözyaşında IL-8 seviyesi tedavi öncesi değerlerinden anlamlı olarak bulundu ( $p<0.05$ ).

Siklosporin grubunda tedavi öncesinde  $160.73 \pm 70.74$  pg/ml olan gözyaşındaki IL-8 seviyesi tedavi sonrasında  $2.18 \pm 8.52$  pg/ml'ye, otolog serum grubunda tedavi öncesinde  $180.57 \pm 133.38$  pg/ml olan gözyaşındaki IL-8 seviyesi tedavi sonrasında  $53.48 \pm 15.02$  pg/ml'ye yükseldi. Bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

Tedavi öncesi ve sonrasında her iki gruptaki hastaların alt nazal konjunktival impresyon sitoloji sonuçları Tablo 4.1’de gösterilmiştir:

**Tablo 4.1 Tedavi öncesi ve sonrası gruplara ait alt nazal konjunktiva impresyon sitoloji sonuçları**

GRUPLAR	SİKLOSPORİN A		OTOLOG SERUM	
	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
<b>Evre 0</b>	12 (% 22,6)	9 (% 17,6)	9 (% 19,6)	7 (% 15,2)
<b>Evre 1</b>	14 (% 26,4)	18 (% 35,3)	18 (% 39,1)	20 (% 43,5)
<b>Evre 2</b>	16 (% 30,2)	14 (% 27,5)	15 (% 32,6)	9 (% 19,6)
<b>Evre 3</b>	11 (% 20,8)	10 (% 19,6)	4 (% 8,7)	10 (% 21,7)

Tedavi öncesi ve sonrasında Nelson evrelendirmesine göre yapılan değerlendirmede alınan sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Tedavi öncesinde her iki grupta toplam 15 gözden, tedavi sonrasında ise toplam 17 gözden alınan sitolojik örnekte hücre tespit edilemediğinden evreleme yapılamadı.

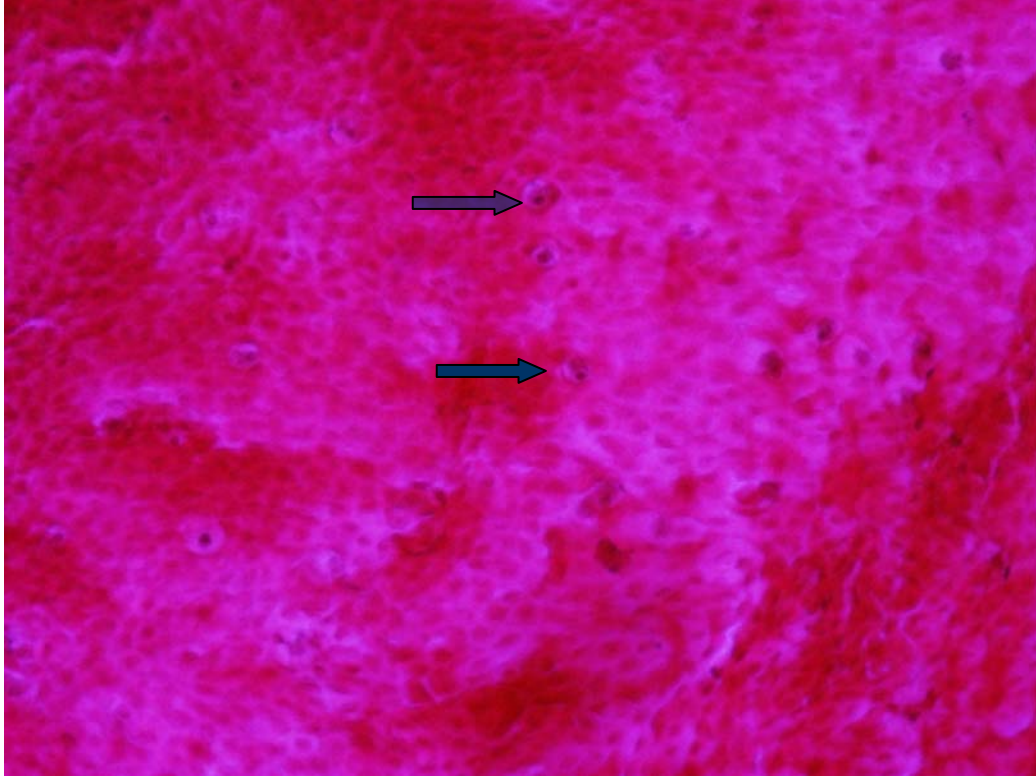


Tedavi öncesi ve sonrasında her iki gruptaki hastaların temporal bulber konjunktival impresyon sitoloji sonuçları Tablo 4.2’de gösterilmiştir:

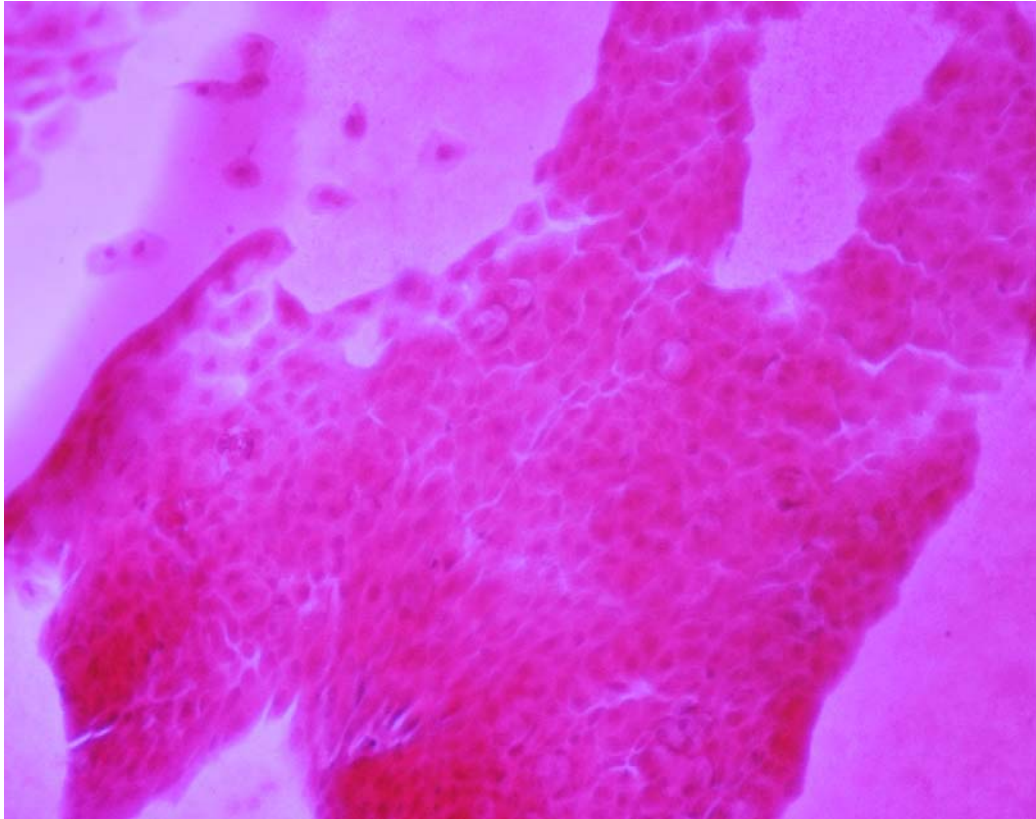
**Tablo 4.2 Tedavi öncesi ve sonrası gruplara ait temporal bulber konjunktiva impresyon sitoloji sonuçları**

GRUPLAR	SİKLOSPORİN A		OTOLOG SERUM	
	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
<b>Evre 0</b>	13 (% 25,5)	7 (% 14,3)	7 (% 16,3)	5 (% 10,2)
<b>Evre 1</b>	19 (% 37,3)	15 (% 30,6)	16 (% 37,2)	22 (% 44,9)
<b>Evre 2</b>	14 (% 27,5)	15 (% 30,6)	14 (% 32,6)	12 (% 24,5)
<b>Evre 3</b>	5 (% 9,8)	12 (% 24,5)	6 (% 14,0)	10 (% 20,4)

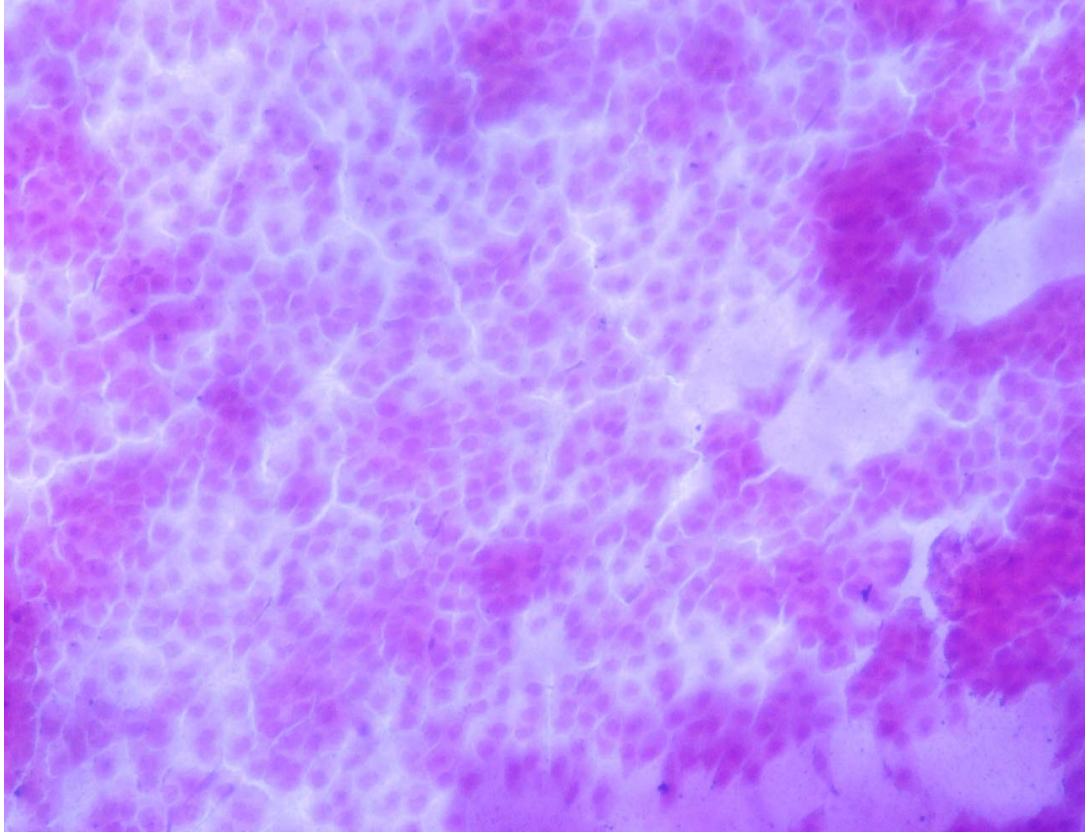
Tedavi öncesi ve sonrasında Nelson evrelendirmesine göre yapılan değerlendirmede alınan sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Tedavi öncesinde her iki grupta toplam 20 gözden, tedavi sonrasında ise toplam 16 gözden alınan sitolojik örnekte hücre tespit edilemediğinden evreleme yapılamadı.



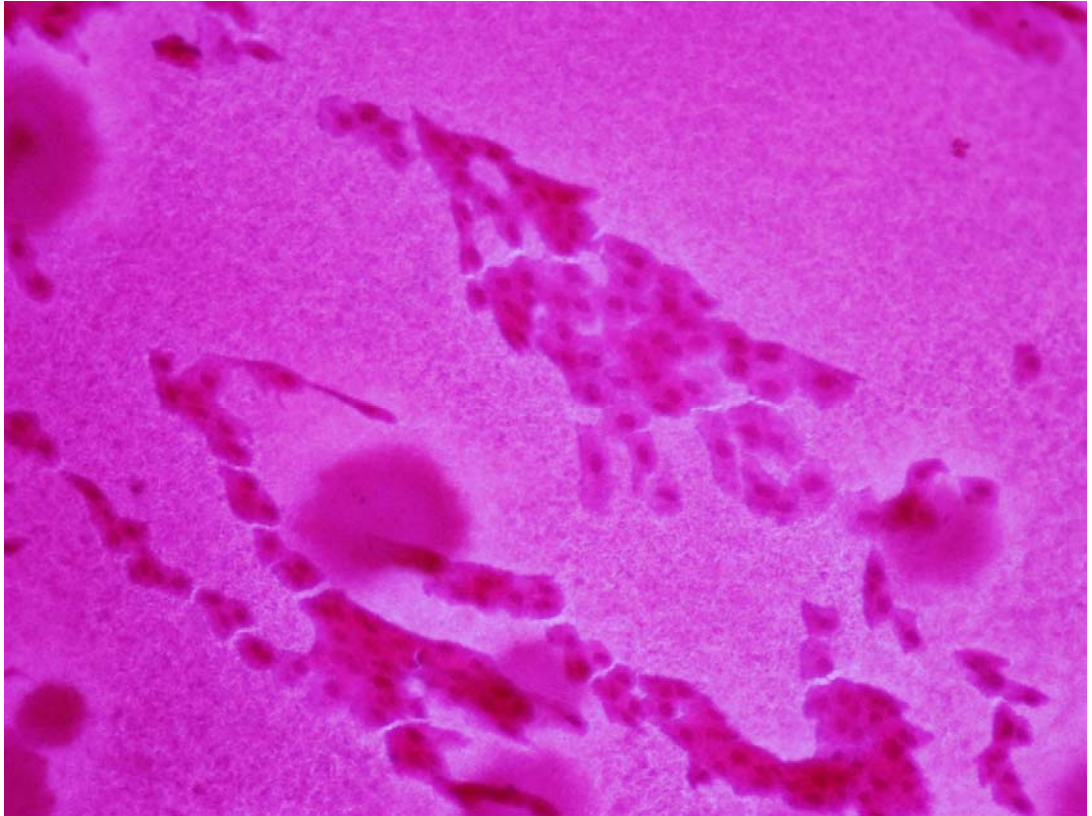
**Resim 4.1: İmpresyon Sitolojisi Evre 0. Mod.Pap.x 20 Goblet hücreleri (Ok)**



**Resim 4.2: İmpresyon Sitolojisi Evre 1 Mod.Pap.x 20**



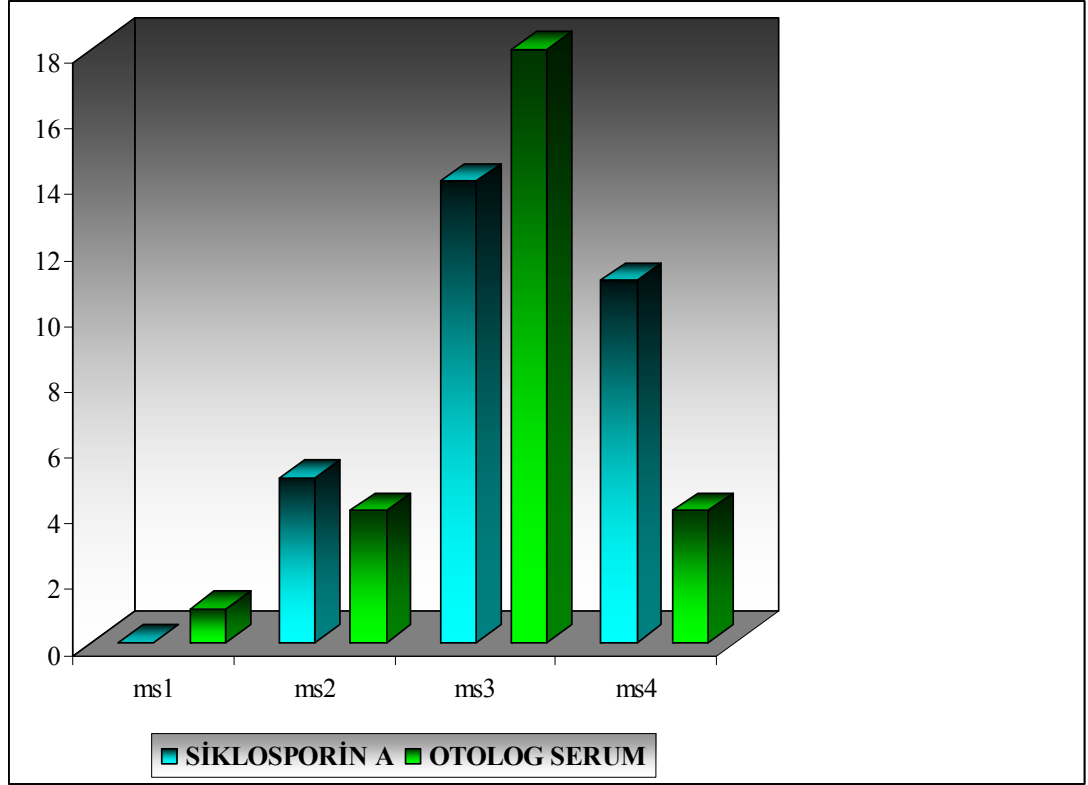
**Resim 4.3: İmpresyon Sitolojisi Evre 2 Mod.Pap.x 20**



**Resim 4.3: İmpresyon Sitolojisi Evre 3 Mod.Pap.x 20**

Gruplara ait memnuniyet skorlarının karşılaştırılması Grafik 6'da verilmiştir:

**Grafik 4.6: Gruplara ait tedavi sonrası memnuniyet skorlarının karşılaştırılması**



Topikal siklosporin A kullanan grupta tedaviden memnun olmayı değerlendiren memnuniyet skorlamasında (MS), MS 1 olan hasta hiç yokken (%0), MS 2 olan hasta sayısı 5 (%16.7), MS 3 olan hasta sayısı 14 (%46.7) ve MS 4 olan hasta sayısı 11 (%36.7) olarak tespit edildi.

Aynı skorlamanın otolog serum kullanan gruptaki dağılımında ise MS 1 olan hasta sayısı 1 (%3.7), MS 2 olan hasta sayısı 4 (% 14.8), MS 3 olan hasta sayısı 18 (%66.7) ve MS 4 olan hasta sayısı 4 (%14.8) olarak tespit edildi. Buna göre tedaviden memnun olma bakımından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Ancak tedaviden çok memnun olduğunu belirten MS 4,

topikal %0.05'lik siklosporin A kullanan hastalarda (11 hasta), otolog serum kullanan hastalardan (4 hasta) daha fazla bulundu.

Topikal %0.05'lik siklosporin A kullanan hastalar şikayetlerinde daha hızlı (ilk hafta içinde şikayetlerde azalma), daha fazla ve tedavi bitiminden sonra daha uzun süre (tedaviden 4-6 hafta sonrasına dek) devam eden bir rahatlama olduğunu bildirirken otolog serum kullanan hastalar tedavideki etkinin 2 haftadan sonra başladığını ve tedaviyi bıraktıktan 2-3 hafta sonra şikayetlerinin yeniden başladığını bildirdiler.

Tedaviye başladıktan sonraki ara kontrollerde (ilaca başladıktan 1 hafta, 2 hafta, 4 hafta sonrası) ve son kontrolde (3 ay) ve bazı hastalarda daha uzun süre (6 ay) sonunda kullanılan ilaçlara (topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serum göz damlaları) ve doza bağımlı belirgin bulgu (Göz içi basınç değişimleri, biomikroskopik muayene, enfeksiyon bulguları gibi) ve semptomlara (kızarıklık, batma, yanma, çapaklanma vb.) rastlanmadı. Topikal %0.05'lik siklosporin A kullanan hastalardan 7'si tedavi başlangıcında rahatsız edici batma ve yanma şikayetleri olduğunu bildirdi ancak devam eden süreçte bu semptomlarda azalma oldu ve hiçbir hasta tedaviyi kesmedi. Otolog serum kullanan hastalardan 4 tanesinde hafif kızarıklık, batma, kaşıntı şikayetleri oldu ancak tedaviyi kesmeyi gerektirecek bir etkiye rastlanmadı. Bununla beraber otolog serum kullanan 1 hastada tedavi başladıktan 1 hafta sonra şiddetli kızarıklık, çapaklanma ve kaşıntı ile seyreden akut konjunktivit tablosu gelişti. Hastanın kullanıyor olduğu otolog serum preparatından yapılan yayma ve kültürde herhangi bir mikrobiyolojik ajana rastlanmadı ve üreme olmadı. Topikal antibiyotik tedavisi ile semptom ve bulgularda 2 gün içinde azalma saptandı. Hastanın otolog serum tedavisine devam edildi.

## 5.TARTIŞMA

Yapmış olduğumuz bu çalışma, genel populasyon içinde sık görülen bir hastalık olan kuru göz hastalığının tedavisinde kullanılmakta olan topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serumdan hazırlanan gözyaşı damlasının; GKZ, Schirmer testi ve subjektif bulguları içeren klinik sonuçlarını, gözyaşında bulunan proinflamatuvar sitokinlerden IL-6 ve IL-8 seviyeleri üzerine etkilerini ve impresyon sitolojik bulgularını karşılaştırmayı hedeflemekte idi. Çalışmamızın sonucunda her iki tedavinin de klinik ve laboratuvar sonuçlar bakımından etkili olduğunu saptadık. Ayrıca bu etkilerin topikal %0.05'lik siklosporin A kullanımı ile daha belirgin olduğunu da bulduk.

Kuru göz ya da daha yeni ve patogenez açısından doğru bir terminolojik yaklaşımla “disfonksiyonel gözyaşı sendromu”nun oküler yüzeyi ilgilendiren inflamatuvar bir süreç olduğu birçok araştırma sonucu kanıtlanmıştır (38, 60). Bu inflamatuvar sürecin olayı başlatan bir faktör mü yoksa bu sendromun kronikleşmesine ve bir kısır döngüye girmesine neden olan bir sonuç mu olduğu konusundaki tartışmalar ise halen devam etmektedir (35, 38, 44, 92, 93). Ancak son yıllardaki araştırmalar neden veya sonuç olmasından bağımsız olarak disfonksiyonel gözyaşı sendromunda konjunktiva epitelinden salınan IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , başta olmak üzere birçok proinflamatuvar faktörün ve MMP-9 gibi patogeneze önemli rol oynayan birçok maddenin, gözyaşındaki seviyelerinin anlamlı derecede attığını göstermektedir (43-45, 47, 94). Bu maddelerin ve seviyelerinin tespit edilmesi teşhiste önemli olduğu kadar patogenezin ayrıntılarının aydınlatılmasında ve tedavinin kalıcı sonuçlarının değerlendirilmesinde de yararlı olmaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda günümüzde artık tedavi seçenekleri sadece semptomlara yönelik olmaktan çok bu inflamatuvar süreci düzeltmek ve patogeneze rol oynayan etkenleri iyileştirmeye yönelik olmaktadır (20, 95).

Topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serum göz damlaları hastalar tarafından kolay tolere edilen, belirgin yan etkileri olmayan, tedavi uyumunun son

derece iyi olduğu kuru göz tedavi seçenekleridir. Topikal siklosporin A kuru göz tedavisinde klinik bulgular ve semptomlar açısından etkinliği, sistemik dolaşıma geçmemesi ve yan etki profilinin son derece az olması nedeniyle de güvenilirliği kanıtlanmış bir preparattır (6, 23, 83, 91).

Topikal siklosporin A ile ilgili yapılan birçok çalışmada özellikle kronik ve ciddi kuru göz hastalarında hasta uyumunun fazla olduğu ve şikayetlerin kısa sürede düzeldiği tespit edilmiştir (22, 83, 96). Topikal siklosporin A tedavisi sonrasında gözyaşında IL-6 seviyeleri düşmekte, apopitozda azalmalar izlenmekte ve bu sonuçlar 6 aydan uzun süre yapılan izlemlerde değişmemektedir (8, 78, 97, 98).

Topikal %0.05'lik siklosporin A ile suni gözyaşı preparatlarının ve viskoelastik maddelerin karşılaştırıldığı klinik ve deneysel bazı çalışmalar yapılmıştır (23, 99, 100). Bu çalışmaların sonuçları da topikal %0.05'lik siklosporin A etkisinin daha fazla olduğu yönündedir. Yine benzer şekilde otolog serum ile klasik tedavileri (suni gözyaşı preparatları, lubrikanlar vb.) karşılaştıran çalışmada da otolog serumun suni gözyaşı preparatlarına göre daha etkin olduğu bildirilmiştir (4). Otolog serum göz damlası ile göbek kordonundan hazırlanan “umblikal serum” göz damlasının karşılaştırıldığı bir çalışmada da göbek kordonundan yapılan damlaların daha etkili olduğu yayınlanmıştır (101). Ancak yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda şimdiye kadar topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serumdan hazırlanan göz damlalarını klinik ya da laboratuvar sonuçlar açısından karşılaştıran bir çalışmanın yapılmadığını tespit ettik.

Bu nedenle yaptığımız çalışmanın amacı, kuru gözü olan hastalarda topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serum uygulamasının GKZ, Schirmer testi ve tedavi sonrası subjektif memnuniyeti belirlemeyi amaçlayan skorlamayı içeren klinik; gözyaşında IL-6 ve IL-8 seviyelerinin tespitini içeren immunolojik ve impresyon sitolojik analizi içeren sitolojik açılardan karşılaştırılmasını sağlamaktır. Topikal %0.05'lik siklosporin A proinflamatuvar sitokinlerin yapımını engellemek yoluyla tedavide yer alırken, otolog serum klasik tedavi seçenekleri arasında en büyük yeri kaplayan suni gözyaşı preparatlarının içermediği ve oküler yüzey epitelinin çoğalması ve yenilenmesinde önemli yer tutan EGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$  ile fibronektin gibi büyüme faktörlerini içermektedir.

Topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serum göz damlaları hastalar tarafından kolay tolere edilen, belirgin yan etkileri olmayan, tedavi uyumunun son derece iyi olduğu kuru göz tedavi seçenekleridir. Sonuçlarda ayrıntılı olarak belirtildiği gibi her iki grupta da, hastalarda bazı yan etkiler gözlemlendi (batma, kızarıklık, çapaklanma gibi) ancak bunlar tedaviyi sonlandırmayı gerektirmeyecek şiddette oldukları için tedaviye devam edildi. Çalışmaya başlayan 64 hastanın 57 tanesi çalışmayı tamamladı, 7 hasta ise kontrollere gelmemeleri sebebiyle çalışmayı tamamlamadı.

Bu çalışmada sitokin miktarlarını değerlendirmek için gözyaşı toplamak amacıyla daha önce oftalmolojik çalışmalarda çok yaygın olarak kullanılmayan bir yöntem uygulandı. Gözyaşında sitokin ölçümü için gözyaşı örnekleri mikropipetlerle elde edilmektedir (8, 43, 44, 45). Çok invaziv bir yöntem sayılmasa da hastaya rahatsızlık veren bu yöntemin yerine periodontolojide uzun zamandır kullanılmakta olan ve periopaper olarak bilinen sıvı emici filtre şeritleri kullanıldı (102-104). Bu kağıtlar penset ile tutmayı sağlayıcı renkli bir kısım ile sıvıyı emen bir kağıttan oluşan iki parçadan oluşmaktadır. Oftalmolojide daha önce de kullanılmış olan bu filtreler uygulaması ve eldesi kolay maliyeti düşük araçlardır. Bu yayınlarda periopaper kağıtları gözyaşı filminin osmolaritesini ve gözyaşında laktoferrin ve lizozim değerlerini göstermek için kullanılmıştır (105, 106). Ancak sitokin değerlerini göstermek amacıyla kullanıldığını gösteren bir yayına rastlamadık.

Kontakt lens kullanıcılarında gözyaşında albümin, laktoferrin, lizozim değerlerinin ve osmolaritenin refleks ve bazal değerlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada mikropipetlerle ve schirmer kağıdı ile alınan gözyaşı örnekleri karşılaştırılmış ve refleks uyarının aktive edildiği schirmer kağıdı ile alınan değerler daha yüksek bulunmuştur (107). Ancak biz çalışmamızda topikal anestezi madde kullandığımız için refleks gözyaşı salınımını aktive etmeden periopaper kağıdını hastaların alt fornikslerine yerleştirdik. 30 sn gözyaşını emme süresinden sonra alınan periopaper kağıtları standart tüpler (eppendorf) içinde -30° C'de tetkik süresine kadar beklettik.

Sitokin değerlendirmesi sonucunda IL-6 ölçümünde tedavi öncesi ile tedavi sonrasında elde edilen değerlerin istatistikleri yapıldığında anlamlı bir sonuç elde



edildi. IL-6'nın normal gözyaşı seviyesini tespit etmek için birçok çalışma yapılmıştır (108, 109, 110). IL-6 için bildirilen normal değerler  $3.59 \pm 3.38$  pg/ml ile  $226.2 \pm 29.6$  pg/ml gibi oldukça farklı rakamlar arasında değişmektedir (43, 108-112). Nakamura ve ark.'nın (111)1998'de 270 sağlıklı birey üzerinde bazal ve refleks gözyaşında ayrı ayrı yaptıkları sitokin ölçümlerinde IL-6 seviyesi; bazal gözyaşında  $226.2 \pm 29.6$  pg/ml ve refleks gözyaşında  $11.6 \pm 1.6$  pg/ml olarak geniş bir aralıkta bildirilmiştir (111). Sonuçta çalışmalardaki değerler arasındaki fark ölçüm tekniklerine, kullanılan ELISA kitlerinin standartlarına, ölçümlerin yapıldığı saatlere, bazal veya refleks gözyaşı alınımına ve gözyaşı örneği toplama şekillerindeki farklılara büyük ölçüde bağlı olabilir.

IL-6 seviyeleri kuru gözde  $18.57 \pm 8.92$  pg/ml ile  $88.0 \pm 16.2$  pg/ml arasında değişmekle beraber normal ölçümlere göre oldukça artmıştır (43, 108, 109). Sjögren sendromu ve non Sjögren sendromlu kuru göz hastalarında yapılan çalışmada non Sjögren sendromu olan kuru göz hastalarında gözyaşında IL-6 seviyesi yüksek bulunurken Sjögren sendromundaki yükseklik çok daha belirgin olarak tespit edilmiştir (43). Siklosporin A ile tedavi edilen kuru göz hastalarında gözyaşında IL-6 seviyelerinde düşüş saptanmıştır (8). Biz de yaptığımız çalışmada tedavi öncesine oranla tedavi sonrasında her iki grupta da gözyaşında IL-6 seviyelerinde düşüş saptadık. Ancak tedavi sonrasında elde ettiğimiz değerler ölçüm standartlarının altında tespit edildiği için 0 kabul edildi.

Gözyaşında normal IL-8 seviyeleri birçok çalışmada farklı tespit edilmiştir. Bazal ve refleks gözyaşı alınımı, gözyaşının alındığı saat, kullanılan ELISA kitlerinin standartlarının farklılığı gibi sebeplere bağlı olabileceği düşünülen bu farklarla beraber IL-8 için verilen normal değerler  $75.2 \pm 88.7$  pg/ml ile  $731.4 \pm 116.2$  pg/ml arasında değişmektedir (111-114). Gözyaşında IL-8 seviyesi dev papiller konjunktivit, kontakt lens kullanımı gibi inflamatuvar durumların yanı sıra kuru gözde de artmaktadır (44, 45, 113, 114).

Siklosporin A'nın sistemik kullanımının IL-8 seviyelerini inhibe ettiğini gösteren birçok yayın vardır. İnsan retina pigment epitel hücrelerinde travma ile indüklenen IL-8 seviyeleri siklosporin A ile inhibe edilebilmiştir (115). Siklosporin

A, kolon epitel hücrelerinde IL-1 $\beta$  ile indüklenen IL-8 seviyelerini ve kültüre edilmiş insan keratositlerinde IL-8 üretimini de inhibe etmektedir (116, 117). Topikal %0.05'lik siklosporin A kullanımının gözyaşındaki IL-8 seviyelerine etkisi ile ilgili yapılmış bir çalışma ise bulunmamaktadır. Biz yaptığımız bu çalışmada kuru göz hastalarında topikal %0.05'lik siklosporin A kullanımının gözyaşındaki IL-8 seviyelerini düşürdüğünü tespit ettik.

İmpresyon sitolojisi oküler yüzeyin birçok birçok hastalığının teşhisinde ve tedavinin etkinliğinin takibinde yararlı olan bir tekniktir. Oküler yüzey epitelindeki bulguların gösterilmesinde, bazal epitel ve bazal membrandaki değişimlerin gösterilmesinden daha spesifik olduğu için kuru göz ile ilgili birçok araştırmada teşhise ve tedavi takibine yardımcı bir teknik olarak sıklıkla kullanılmaktadır (118). Kuru göz tedavisi ile ilgili yapılan çalışmalarda tedavi başlangıcından önce alınan impresyon sitolojik örneklemelerde konjunktival goblet hücre sayısının belirgin şekilde az olduğu, nükleostoplazmik oranın 1/3'den fazla olduğu ve epitelyal hücre morfolojisinin Nelson evrelendirmesinde Evre 2, Evre 3 gibi ileri evrelerde bulunduğu tespit edilmiştir (119, 120). Siklosporin ile tedavi sonrasında bulgularda belirgin iyileşmeler saptanmıştır (120, 121). Benzer şekilde kuru gözde kullanılan otolog serum, umblikal serum ile yapılan tedaviler sonrasında da impresyon sitolojik düzelmeler tespit edilmiştir (4, 101). Ancak bizim yaptığımız çalışmada impresyon sitolojik evrelendirmede tedavi öncesinde ve sonrasında belirgin bir fark saptanmadı.

Hastaların tedaviden elde ettikleri memnuniyeti subjektif olarak değerlendirmeyi amaçlayan çeşitli skorlamalar bazı çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu çalışmaların bazıları, tedaviden alınan sonuçların, farklı yüz ifadelerinin 1'den 9'a kadar olan rakamlarla sembolize edilerek hastaların tedavi sonrasındaki rahatlamalarını subjektif olarak değerlendirmeye dayanmaktadır. Bu skorlamalarda en düşük olan 1 rakamı mutsuz bir ifadeyi sembolize ederken tedavi sonrasında rahatlama olmadığını belirtirken; en yüksek olan 9 rakamı çok mutlu bir yüz ifadesini sembolize etmekte tedavi sonrası rahatlamanın çok iyi olduğunu belirtmektedir. Hastalar bu yüz ifadelerinden kendilerine en uygun olanını seçerek tedaviden elde ettikleri memnuniyeti klinisyene bildirmektedir (18, 122). Yine benzer bir skorlamada

1'den 7'ye kadar olan rakamlarla belirlenen farklı yüz ifadeleri, hastaların subjektif bulgularını değerlendirmek amacı ile kullanılmıştır (4). Biz de çalışmamızda benzer bir yöntem kullanarak tedaviden elde edilen memnuniyeti 1 ile 4 arasındaki rakamlarla sembolize ettik. Yukarıda ayrıntılı olarak açıklanan bu rakamların ifade ettiği subjektif yanıtların sonucunda her iki grubun da tedaviden memnun olduğu sonucuna ulaştık.

Sonuç olarak kuru göz, patogeneğinde inflamasyonun yoğun olarak yer aldığı ve gözyaşında proinflamatuvar sitokinlerin arttığı bir disfonksiyonel gözyaşı sendromudur. Tedavisinde inflamasyonu baskılamayı amaçlayan topikal %0.05'lik siklosporin A, suni gözyaşı preparatlarının içermediği oküler yüzey epitelinin çoğalması ve farklılaşması için gereken birçok maddeyi içeren otolog serum yanında gözyaşı eksikliğini yerine koymayı ya da gözyaşı kaybını engellemeyi amaçlayan suni gözyaşı preparatları, lubrikanlar, punktum tıkaçları, ve ayrıca kuru göz sebeplerine yönelik olarak cerrahinin de içinde bulunduğu çok sayıda seçenek olmakla beraber kesin bir tedavisi bulunmamaktadır.

Otolog serum göz damlaları kuru göz tedavisinde özellikle ciddi klinik durumlarda kullanılan bir seçenektir. Ancak bu preparatın hazırlanması pratik kullanımda hem hasta ve hemde klinisyen için zahmetli, zaman alıcı, ek cihaz ihtiyacı gerektiren bir durumdur. Bunların yanı sıra hazırlanması ve saklanması sırasında kontaminasyon riski içermekte olduğu için yoğun dikkat gerektirmektedir. Hazırlanmasında benzer teknikler kullanıldığı halde tam olarak standardize edilmiş olduğu söylenemez. Ayrıca kullanılması ve saklanmasında ciddi dikkat gerektirdiği için sosyoekonomik seviyesi düşük olan hasta grubunda kullanılması sakıncalı olabilmektedir. Yine de yapılan çalışmalarda daha önce de belirtildiği gibi kontamine edilmediği ve kullanım süresine dikkat edildiği sürece güvenli bir tedavi seçeneğini oluşturmaktadır.

Topikal %0.05'lik siklosporin A ise piyasada hazır ve kolay elde edilebilir preparatı bulunan bir tedavi seçeneğidir. Ancak reçete edilmesi ülkemizde kuru göz tanısını içeren uzman hekim raporu karşılığında olmaktadır.

Çalışmamızda kuru göz hastalarında topikal %0.05'lik siklosporin A ve otolog serum göz damlalarını kullanarak bu iki preparatı klinik, sitolojik ve

immunolojik açıdan karşılaştırdık. Çalışmamızın sonucuda her iki ilacın da tedavide etkin ve yan etki bakımından güvenli olarak tespit etmiş olmamıza rağmen topikal %0.05'lik siklosporin A'nın göz yaşı yapımını artırma ve gözyaşında IL-8 seviyelerini düşürmede etkisinin daha fazla olduğunu saptadık.

## 6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kuru göz hastalığı tedavisinde topikal %0.05'lik siklosporin A ile topikal otolog serum kullanımının gözyaşında IL-6 ve IL-8 seviyeleri ile impresyon sitolojik evrelendirme üzerine olan etkisini ve iki ilacın klinik sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla yaptığımız çalışmanın sonuçlara kısaca aşağıda belirtilmiştir:

1- Çalışmamıza 49 kadın (%85.96), 8 erkek (%14.04) olmak üzere toplam 57 hasta dahil edildi. Hastalar randomize olarak topikal %0.05'lik siklosporin A ve otolog serumla tedavi edilmek üzere iki gruba ayrıldı. Topikal %0.05'lik siklosporin A ile tedavi edilecek gruba 26'sı kadın 4'ü erkek toplam 30 hasta; otolog serumla tedavi edilecek gruba 23'sı kadın 4'ü erkek toplam 27 hasta alındı.

2- Tüm hastalara rutin oftalmolojik muayene, GKZ ve Schirmer testi yapıldı. IL-6 ve IL-8 düzey tespiti için gözyaşı örneği ve konjunktival impresyon sitolojik örnek alındı. İki grup arasında yaş, cinsiyet, gözyaşında IL-6 ve IL-8 ile konjunktival impresyon sitolojik örnekleme bakımından anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

3- Topikal siklosporin A kullanan grupta tedavi öncesinde GKZ  $4.55 \pm 2.33$  sn, Schirmer testi  $7.78 \pm 8.97$  mm, gözyaşında IL-6 düzeyi  $2.11 \pm 2.69$  pg/ml, IL-8 düzeyi  $160.73 \pm 70.74$  pg/ml olarak tespit edilirken tedavi sonrasında GKZ  $7.25 \pm 3.23$  sn'ye, Schirmer testi  $17.53 \pm 10.23$  mm'ye yükseldi; gözyaşında IL-6 ölçülebilir düzeyin altına IL-8 düzeyi  $2.18 \pm 8.52$  pg/ml'ye düştü.

4- Otolog serum kullanan grupta tedavi öncesinde GKZ  $4.79 \pm 1.70$ sn, Schirmer testi  $10.46 \pm 8.6$  mm, gözyaşında IL-6 düzeyi  $2.25 \pm 1.51$  pg/ml, IL-8 düzeyi  $180.57 \pm 133.38$  pg/ml olarak tespit edilirken tedavi sonrasında GKZ  $6.00 \pm 2.77$ sn'ye, Schirmer testi  $13.55 \pm 8.07$  mm'ye yükseldi; gözyaşında IL-6 ölçülebilir düzeyin altına IL-8 düzeyi  $53.48 \pm 15.02$  pg/ml' ye düştü.

5- İki grupta da tedavi öncesi ve sonrası değerler bakımından GKZ, Schirmer testi, gözyaşında IL-6 ve IL-8 düzeylerindeki değişim açısından istatistiksel anlamlı bir iyileşme saptanırken ( $p<0.05$ ), topikal siklosporin A kullanan gruptaki iyileşme otolog serum alan gruptaki iyileşmeden istatistiksel bakımdan anlamlı olarak daha iyi bulundu ( $p<0.05$ ).

6- Hastaların şikayetlerinde subjektif düzelmeyi tespit etmek amacıyla yapılan memnuniyet skorlamasında her iki gruptaki hastaların genel olarak tedaviden memnun oldukları belirlenirken skorlamada topikal siklosporin A kullanan gruptaki memnuniyetin anlamlı derecede daha fazla olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).

7- Her iki grupta yapılan nazal konjunktival ve temporal bulber konjunktival impresyon sitolojik evrelendirmede; grupların kendi aralarında ve iki grup arasında tedavi öncesi ve sonrasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Bu çalışmamızda vardığımız en önemli sonuç; kuru göz tedavi seçeneklerinden topikal %0.05'lik siklosporin A ve otolog serum göz damlasının kuru göz hastalığında GKZ, Schirmer testlerini içeren klinik bulgularda ve tedavi sonrası subjektif olarak semptomlarda düzelmeye sağladığıdır. Benzer şekilde her iki tedavi seçeneği ile gözyaşında bulunan proinflatuvar sitokinlerinlerden IL-6 ve IL-8 seviyelerinde de belirgin düşüşler sağlanabilmektedir.

Çalışmamızda vardığımız diğer bir sonuç bu iki grubun yukarıda belirtilen bulgular açısından karşılaştırılması ile topikal %0.05'lik siklosporin A tedavisinden elde edilen iyileşmenin otolog serum kullanan gruptan daha iyi olduğudur.

## 7.ÖZET

Bu çalışmanın amacı kuru göz sendromunun tedavisinde kullanılan topikal %0.05'lik siklosporin A ile otolog serum göz damlalarının terapötik etkilerini karşılaştırmaktır. Ek olarak iki grup arasında tedavi öncesi ve sonrasında gözyaşı örneklerinde proinflatuvar sitokinlerden IL-6 ve IL-8'in seviyeleri ve konjunktival impresyon sitolojik analizi karşılaştırıldı. Çalışmaya 57 hasta dahil edildi. Hastaların 49'u kadın (%85.06) ve 8'i erkek (%14.01) idi. Hastaların ortalama yaşı  $53.01 \pm 12.79$  yıl (24-82 arası) idi. Çalışmaya akut veya kronik keratiti veya konjunktiviti olan, yakın zamanda (çalışmadan 6 ay öncesine dek) kortikosteroid tedavisi ya da daha önce topikal %0.05'lik siklosporin A tedavisi almış olan hastalar dahil edilmedi. Tedaviye başlamadan önce hastalara görme keskinliği, ön segment muayenesi, applanasyon tonometresi ile göz içi basınç ölçümleri ve dilate fundus muayenesi yapıldı. Gözyaşı kırılma zamanı (GKZ), topikal anestezili Schirmer testi ve impresyon sitolojik örnekleme yapıldı. ELISA yöntemi ile IL-6 ve IL-8 çalışılmak üzere alt kapak gözyaşı menisküsünden periopaper kağıdı ile bazal gözyaşı örneği alındı. Daha sonra hastalar randomize olarak en az 3 ay süreyle prezervansız gözyaşı damlası eklenerek veya eklenmeyerek günde iki kez topikal %0.05'lik siklosporin A ve günde 6 kez olarak otolog serum gözyaşı damlası ile tedavi edilmek üzere 2 gruba ayrıldı. Tüm testler 3 aylık tedavi sonrasında tekrarlandı.

Tedavi başlangıcında her iki grup arasında GKZ, Schirmer testi, impresyon sitolojik analiz, gözyaşında IL-6 ve IL-8 seviyeleri bakımından anlamlı bir fark yoktu ( $p > 0.05$ ). Tedavi sonrasında GKZ ve Schirmer testleri topikal siklosporin alan grupta  $4.55 \pm 2.33$  sn'den  $7.25 \pm 3.23$  sn'ye ve  $7.78 \pm 8.87$  mm den  $17.53 \pm 10.23$  mm'ye; otolog serum alan grupta  $4.79 \pm 1.70$  sn'den  $6.00 \pm 2.77$  sn'ye ve  $10.46 \pm 8.6$  mm'den  $13.55 \pm 8.07$  mm'ye yükseldi. Her iki grubun tedavisi sonrasında GKZ ve Schirmer testlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken topikal siklosporin alan gruptaki farklılık otolog serum alan gruptan anlamlı olarak daha fazla düzelme gösterdi ( $p < 0.05$ ).

Her iki grup arasında gözyaşında IL-6 ve IL-8 seviyeleri bakımından tedavi öncesinde anlamlı fark saptanmadı. Bununla beraber, tedavi sonrasında gözyaşında IL-6 ve IL-8 seviyelerinde her iki grup arasında anlamlı düşüş bulduk ( $p<0.05$ ). Tedavi sonrasında gözyaşında IL-6 seviyesi siklosporin grubunda  $2.11\pm 2.69$  pg/ml'den, otolog serum grubunda ise  $2.25 \pm 1.51$ pg/ml'den ölçüm seviyesinin altına düştü. Gözyaşında IL-8 seviyesi siklosporin grubunda  $160.73\pm 70.74$  pg/ml'den  $2.18\pm 8.52$  pg/ml'ye, otolog serum grubunda  $180.57\pm 133.38$  pg/ml'den  $53.48\pm 115.02$  pg/ml'ye düştü. Gözyaşında IL-6 ve IL-8 seviyeleri siklosporin grubunda otolog serum grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Her iki grup arasında impresyon sitolojik analiz açısından tedavi öncesi ve sonrasında anlamlı fark bulunmadı.

Çalışmamızda aldığımız en önemli sonuç, kuru göz tedavisi için hem topikal %0.05'lik siklosporin A ve hem otolog serum gözyaşı damlası ile tedavi edilen gruplarda iyileşme bulunmasıdır. Bunun yanısıra bu iki tedavi karşılaştırıldığında saptanan iyileşme, topikal %0.05'lik siklosporin A'da, GKZ, Schirmer testleri, gözyaşında bulunan proinflamatuvar sitokinlerden IL-6 ve IL-8 seviyeleri ve klinik semptomlar açısından otolog serumdan daha üstün bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Kuru göz, siklosporin A, otolog serum, IL-6, IL-8, impresyon sitolojisi



## 8.ABSTRACT

The purpose of this study was to compare the therapeutic effects of topical cyclosporin A %0.05 and autologous serum eye drops in the treatment of dry eye syndrome. In addition the study included the comparison of proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8 levels in tear samples and conjunctival impression cytologic analysis before and after the treatment between the both groups. Fifty seven patients were recruited for the study. Forty nine (%85.96) of the patients were female and 8 (%14.01) of them were male. The mean $\pm$ SD age of the patients was 53.01 $\pm$  12.79 (range, 24-82). Patients were excluded from the study if they had acute or chronic keratitis, conjunctivitis, or had used topical corticosteroid therapy recently (within 6 months prior to study) or had used topical cyclosporin A %0.05 before. The clinical evaluations at the initial visit included visual activity, slit-lamp examinations, applanation tonometry and dilated fundus examination. Tear film breakup time (BUT), simple Schirmer test with anaesthesia, conjunctival impression cytology were performed. Basal tear samples were collected from tear meniscus with peripaper strips to quantify IL-6 and IL-8 levels in tear fluid with ELISA assays. Then patients were randomized to receive either at least 3 months of topical cyclosporin A %0.05 two times daily or to receive at least 3 months of autologous serum eye drops six times daily both with or without unpreserved artificial tear therapy. All examinations repeated 3 months after the therapy.

There were no significant differences in BUT and Schirmer scores, impression cytologic analysis and IL-6, IL-8 levels in the tear fluid between both groups initially ( $p>0.05$ ). Significant improvements from baseline in BUT and Schirmer scores were observed with both treatment groups but improvements in topical cyclosporine %0.05 treatment group were significantly higher than autologous serum eye drops treatment group ( $p<0.05$ ). The mean levels for BUT and Schirmer scores after the treatment increased to 7.25 $\pm$ 3.23 seconds from 4.55 $\pm$ 2.33 sec. and 17.53 $\pm$  10.23mm from 7.78 $\pm$ 8.87mm in topical cyclosporin A %0.05 group; 6.00  $\pm$ 2.77sec. from 4.79 $\pm$ 1.70 sec. and 13.55 $\pm$ 8.07mm from 10.46 $\pm$ 8.6mm in autologous serum eye drops group.

There were no significant differences between both groups in IL-6 and IL-8 levels in tear fluid before the treatments. In contrast, we found significant decreases between both groups in IL-6 and IL-8 levels in tear fluid after the treatments. ( $p < 0.05$ ). IL-6 levels in tear fluid were decreased to undetectable values from  $2.11 \pm 2.69$  pg/ml in topical cyclosporin A group and from  $2.25 \pm 1.51$  pg/ml in autologous serum group after the treatments. In addition, IL-8 levels in tear fluid were decreased to  $2.18 \pm 8.52$  pg/ml from  $160.73 \pm 70.74$  pg/ml in topical cyclosporine A group and to  $53.48 \pm 115.02$  pg/ml from  $180.57 \pm 133.38$  pg/ml in autologous serum group after the treatments. IL-6 and IL-8 levels in tear fluid were significantly lower for cyclosporin A treatment group when compared with autologous serum group ( $p < 0.05$ ). There were no significant differences in impression cytologic analysis between and before and after the treatment in two groups.

The most important results of this study were that both topical cyclosporine A 0.05% and autologous serum eye drops treatments led to improve tear film BUT, Schirmer scores, proinflammatory cytokines in tear fluid and symptoms in dry eye patients but when two treatments compared the improvements in topical cyclosporine A 0.05% group were significantly higher than autologous serum eye drops group in clinical and immunological findings.

**Key words:** Dry eye, cyclosporine A, autologous serum, IL-6, IL-8, impression cytology

## 9.KAYNAKLAR:

1. Rheinstrom SD; Dry Eye, In: Yanoff M, Duker JS, Eds. Ophthalmology, 1999 Mosby Int.,London, UK, sec:5;14
2. Calonge M. The treatment of dry eye. *Surv Ophthalmol.* 2001;45:227-39.
3. Salib GM, McDonald MB, Smolek M. Safety and efficacy of cyclosporine 0.05% drops versus unpreserved artificial tears in dry-eye patients having laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2006;32:772-8
4. Noble BA, Loh RS, MacLennan S, Pesudovs K, Reynolds A, Bridges LR, Burr J, Stewart O, Quereshi S. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol.* 2004;88:647-52
5. Bilgin LK, Gözyaşı, Aydın P, Akova YA ed. Temel göz hastalıkları, Güneş Kitabevi, Ankara, Türkiye, 2001:491-500
6. Stevenson D, Tauber J, Reis BL. Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: a dose-ranging, randomized trial. The Cyclosporin A Phase 2 Study Group. *Ophthalmology.* 2000;107:967-74.
7. Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:2283-92
8. Turner K, Pflugfelder SC, Ji Z, Feuer WJ, Stern M, Reis BL. Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. *Cornea.* 2000;19:492-6
9. Stern ME, Gao J, Schwalb TA, Ngo M, Tieu DD, Chan CC, Reis BL, Whitcup SM, Thompson D, Smith JA. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjögren's and non-Sjögren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002; 43:2609-14.

10. Topalkara A, Güler C, Düzcan E, Arıcı MK, Kuru göz tanısında impresyon sitolojisi. *Oftalmoloji* 1996;5:349-55
11. Arici MK, Arici DS, Topalkara A, Güler C. Adverse effects of topical antiglaucoma drugs on the ocular surface. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2000; 28:113-7.
12. Erdoğan H, Arici DS, Toker MI, Arici MK, Fariz G, Topalkara A. Conjunctival impression cytology in pseudoexfoliative glaucoma and pseudoexfoliation syndrome. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2006;34:108-13
13. McKelvie, Penelope MBBS, Ocular Surface Impression Cytology, *Advances in Anatomic Pathology.* 2003;10:328-37
14. Pflugfelder SC, Advancing the diagnosis of Dry Eye, *Review of Ophth,*1999;VI:79-86
15. Pflugfelder SC, Solomon A, Stern ME. The diagnosis and management of dry eye: a twenty-five-year review. *Cornea.* 2000;19:644-9
16. Kojima T, Ishida R, Dogru M, Goto E, Matsumoto Y, Kaido M, Tsubota K. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol.* 2005;139:242-6.
17. Özdemir FA, Erkam N, Aksu Ö; Kuru Gözde Otolog Serum uygulananı, *MN Oftalmoloji,* 2005; 12:58-62
18. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, Shimmura S. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol.* 1999;83:390-5
19. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol.* 2004;88:1467-74.
20. Pflugfelder SC. Antiinflammatory therapy for dry eye. *Am J Ophthalmol.* 2004;137:337-42
21. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea.* 1998;17:584-9

22. Cordero-Coma M, Anzaar F, Sobrin L, Foster CS Systemic immunomodulatory therapy in severe dry eye secondary to inflammation.. *Ocul Immunol Inflamm.* 2007;15:99-104.
23. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA Phase 3 Study Group. *Ophthalmology.* 2000;107:631-9.
24. 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;118:1489-96
25. Perry HD, Donnenfeld ED. Topical 0.05% cyclosporin in the treatment of dry eye. *Expert Opin Pharmacother.* 2004;5:2099-107..
26. Roberts CW, Carniglia PE, Brazzo BG. Comparison of topical cyclosporine, punctal occlusion, and a combination for the treatment of dry eye. *Cornea.* 2007;26:805-9
27. McGill J, The tear film in health and disease, In: Easty DL, Smolin G. Eds, *External Eye Disease*, 1st ed. UK, Butterworths corp, 1985, sec:4, 106-128
28. Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol.* 2001 ;45:203-10.
29. Doughty M. The cornea and conjunctival surfaces in relation to the tear film, In: Korb RD, Craig J, Doughty M, Guillon JP, Smith G, Tomlinson A. Eds, *The tear film : Structure, Function and Clinical Examination*, UK, Butterworth-Heinemann corp, 2002, sec:1, 1-34
30. Argüeso P, Balaram M, Spurr-Michaud S, Keutmann HT, Dana MR, Gipson IK. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjögren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:1004-11.
31. Berry M, Ellingham RB, Corfield AP. Human preocular mucins reflect changes in surface physiology. *Br J Ophthalmol.* 2004 ;88:377-83

32. van Setten GB, Tervo T, Tervo K, Tarkkanen A. Epidermal growth factor (EGF) in ocular fluids: presence, origin and therapeutical considerations. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1992;202:54-9
33. McCulley JP, Shine WE. Meibomian gland function and the tear lipid layer. *Ocul Surf.* 2003;1:97-106.
34. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* 1995;21:221-32
35. Park CY, Zhuang W, Lekhanont K, Zhang C, Cano M, Lee WS, Gehlbach PL, Chuck RS. Lacrimal gland inflammatory cytokine gene expression in the botulinum toxin B-induced murine dry eye model. *Mol Vis.* 2007, 29;13:2222-32.
36. Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol.* 1997 ;124:723-8
37. Fox RI. Systemic diseases associated with dry eye. *Int Ophthalmol Clin.* 1994;34:71-87.
38. Zoukhri D. Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res.* 2006;82:885-98.
39. Schaumberg DA, Buring JE, Sullivan DA, Dana MR. Hormone replacement therapy and dry eye syndrome. *JAMA.* 2001, 7;286:2114-9.
40. Mathers WD, Stovall D, Lane JA, Zimmerman MB, Johnson S. Menopause and tear function: the influence of prolactin and sex hormones on human tear production. *Cornea.* 1998 ;17:353-8
41. Bron AJ, Tiffany JM. The contribution of meibomian disease to dry eye. *Ocul Surf.* 2004;2:149-65
42. Yaylali V, Ozyurt C. Comparison of tear function tests and impression cytology with the ocular findings in acne rosacea. *Eur J Ophthalmol.* 2002;12:11-7
43. Yoon KC, Jeong IY, Park YG, Yang SY. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea.* 2007; 26:431-7

44. Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Conjunctival cytokine expression in symptomatic moderate dry eye subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47:2445-50.
45. 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; 19:201-11
46. Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. Dry eye after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol.* 2001 ;132:1-7.
47. Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, Chen LZ, de Paiva CS, Olmos LC, Li DQ, Fini ME. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol.* 2005;166:61-71.
48. Ohashi Y, Ishida R, Kojima T, Goto E, Matsumoto Y, Watanabe K, Ishida N, Nakata K, Takeuchi T, Tsubota K. Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol.* 2003;136:291-9.
49. Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:124-9
50. Tamer C, Oksuz H, Sogut S. Androgen status of the nonautoimmune dry eye subtypes. *Ophthalmic Res.* 2006;38:280-6.
51. Sullivan DA. Androgen deficiency & dry eye syndromes. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2004;79:49-50.
52. Sullivan DA, Bélanger A, Cermak JM, Bérubé R, Papas AS, Sullivan RM, Yamagami H, Dana MR, Labrie F. Are women with Sjögren's syndrome androgen-deficient? *J Rheumatol.* 2003;30:2413-9.
53. Nelson JD. Managing the dry eye. Accurate diagnosis is the key. *Postgrad Med.* 1989;15;85:38-41, 45-8, 55.
54. Witcher JP. Clinical diagnosis of the dry eye. *Int Ophthalmol Clin.* 1987;27:7-24

55. Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, Kell H, Garcia CG, Felix C, Feuer W, Reis BL. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea*. 1998;17:38-56
56. Söker S. İmpresyon Sitolojisi, *Dicle Tıp Dergisi*, 2007;34:220-5
57. Tseng SC. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology*. 1985;92:728-33.
58. Thatcher RW, Darougar S, Jones BR. Conjunctival impression cytology. *Arch Ophthalmol*. 1977;95:678-81
59. Nelson JD. Impression cytology. *Cornea*. 1988;7:71-81
60. Behrens A, Doyle JJ, Stern L, Chuck RS, McDonnell PJ, Azar DT, Dua HS, Hom M, Karpecki PM, Laibson PR, Lemp MA, Meisler DM, Del Castillo JM, O'Brien TP, Pflugfelder SC, Rolando M, Schein OD, Seitz B, Tseng SC, van Setten G, Wilson SE, Yiu SC; Dysfunctional tear syndrome study group. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea*. 2006;25:900-7.
61. Zilelioğlu G, Hoşal BM. Kuru Göz Tanı Ve Tedavisindeki Son Gelişmeler, *Türkiye Kln Oftalm*, 2004:13;53-8
62. Ohashi Y, Motokura M, Kinoshita Y, Mano T, Watanabe H, Kinoshita S, Manabe R, Oshiden K, Yanaihara C. Presence of epidermal growth factor in human tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1989;30:1879-82.
63. Nishida T, *Cornea* In: Jay H. Krachmer, Mark J. Mannis, Edward J. Holland. Eds, *Cornea*, St. Louis: Mosby corp. 1998, sec 1:3-27
64. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ohashi Y, Kojima T, Ishida R, Tsubota K. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophth*. 2004;111:1115-20
65. Tsubota K, Higuchi A. Serum application for the treatment of ocular surface disorders. *Int Ophthalmol Clin*. 2000;40:113-22.
66. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum*. 1984;27:459-61



67. Ogawa Y, Okamoto S, Mori T, Yamada M, Mashima Y, Watanabe R, Kuwana M, Tsubota K, Ikeda Y, Oguchi Y. Autologous serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31:579-83.
68. Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, Daniels JT. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol*. 2001;85:1188-97
69. Schultz GS, Davis JB, Eiferman RA. Growth factors and corneal epithelium. *Cornea*. 1988;7:96-101.
70. Lagnado R, King AJ, Donald F, Dua HS. A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88:464-5.
71. Marsh P, Pflugfelder SC. Topical nonpreserved methylprednisolone therapy for keratoconjunctivitis sicca in Sjögren syndrome. *Ophthalmology*. 1999;106:811-6
72. Borel JF, The history of cyclosporin A and its significance, In: *Cyclosporin A*, White DJG ed. Amsterdam, Elsevier pub. 1982:5-17
73. Lallemand F, Felt-Baeyens O, Besseghir K, Behar-Cohen F, Gurny R. Cyclosporine A delivery to the eye: a pharmaceutical challenge. *Eur J Pharm Biopharm*. 2003 ;56:307-18
74. Kahan BD Drug Therapy: Cyclosporin, *Medical Intelligence*, The New England journal of Medicine, 1989,321(2525):1725-1738
75. Georganas C, Ioakimidis D, Iatrou C, Vidalaki B, Iliadou K, Athanassiou P, Kontomerkos T. Relapsing Wegener's granulomatosis: successful treatment with cyclosporin-A. *Clin Rheumatol*. 1996;15:189-92.
76. Prummel MF, Mourits MP, Berghout A, Krenning EP, van der Gaag R, Koornneef L, Wiersinga WM. Prednisone and cyclosporine in the treatment of severe Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med*. 1989;16;321:1353-9.

77. Reinhard T, Sundmacher R, Godehardt E, Heering P. Preventive systemic cyclosporin A after keratoplasty at increased risk for immune reactions as the only elevated risk factor. *Ophthalmologie*. 1997;94:496-500
78. Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint Jean M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:1356-63
79. Solomon R, Perry HD, Wittpenn J, Donnenfeld ED, Restasis-Topical cyclosporin A In: Agarwall A .Ed, *Dry Eye: A Practical Guide to Ocular surface Disorders and Stem Cell Surgery*, Slack Incorp Pub. NJ, USA 2006 sec:3 chp:13;151-180
80. Gupta V, Sahu PK. Topical cyclosporin A in the management of vernal keratoconjunctivitis. *Eye*. 2001;15:39-41
81. Perry HD, Doshi-Carnevale S, Donnenfeld ED, Kornstein HS. Topical cyclosporine A 0.5% as a possible new treatment for superior limbic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 2003;110:1578-81
82. Doan S, Gabison E, Gatinel D, Duong MH, Abitbol O, Hoang-Xuan T. Topical cyclosporine A in severe steroid-dependent childhood phlyctenular keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:62-66
83. Barber LD, Pflugfelder SC, Tauber J, Foulks GN. Phase III safety evaluation of cyclosporine 0.1% ophthalmic emulsion administered twice daily to dry eye disease patients for up to 3 years. *Ophthalmology*. 2005;112:1790-4.
84. Lelli GJ Jr, Musch DC, Gupta A, Farjo QA, Nairus TM, Mian SI. Ophthalmic cyclosporine use in ocular GVHD. *Cornea*. 2006;25:635-8.
85. Rao SN, Rao RD. Efficacy of topical cyclosporine 0.05% in the treatment of dry eye associated with graft versus host disease. *Cornea*. 2006;25:674-8
86. Akpek EK, Dart JK, Watson S, Christen W, Dursun D, Yoo S, O'Brien TP, Schein OD, Gottsch JD. A randomized trial of topical cyclosporin 0.05% in topical steroid-resistant atopic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 2004;111:476-82

87. Daniell M, Constantinou M, Vu HT, Taylor HR. Randomised controlled trial of topical cyclosporin A in steroid dependent allergic conjunctivitis. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:461-4.
88. Bleik JH, Tabbara KF. Topical cyclosporine in vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 1991;98:1679-84.
89. Ozcan AA, Ersoz TR, Dulger E. Management of severe allergic conjunctivitis with topical cyclosporin a 0.05% eyedrops. *Cornea*. 2007;26:1035-8.
90. Spadavecchia L, Fanelli P, Tesse R, Brunetti L, Cardinale F, Bellizzi M, Rizzo G, Procoli U, Bellizzi G, Armenio L. Efficacy of 1.25% and 1% topical cyclosporine in the treatment of severe vernal keratoconjunctivitis in childhood. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006;17:527-32
91. Small DS, Acheampong A, Reis B, Stern K, Stewart W, Berdy G, Epstein R, Foerster R, Forstot L, Tang-Liu DD. Blood concentrations of cyclosporin a during long-term treatment with cyclosporin a ophthalmic emulsions in patients with moderate to severe dry eye disease. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2002;18:411-8
92. Jacobi C, Dietrich T, Cursiefen C, Kruse FE. The dry eye. Current concepts on classification, diagnostics, and pathogenesis. *Ophthalmologe*. 2006;103:9-17
93. Pflugfelder SC, Solomon A, Dursun D, Li DQ. Dry eye and delayed tear clearance: "a call to arms." *Adv Exp Med Biol*. 2002;506:739-43
94. Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:4293-301.
95. Stern ME, Pflugfelder SC. Inflammation in dry eye. *Ocul Surf*. 2004;2:124-30
96. Stonecipher K, Perry HD, Gross RH, Kerney DL. The impact of topical cyclosporine A emulsion 0.05% on the outcomes of patients with keratoconjunctivitis sicca. *Curr Med Res Opin*. 2005;21:1057-63

97. Gao J, Schwalb TA, Addeo JV, Ghosn CR, Stern ME. The role of apoptosis in the pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: the effect of topical Cyclosporin A therapy. *Cornea*. 1998;17:654-63
98. Brignole F, Pisella PJ, De Saint Jean M, Goldschild M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:90-5.
99. Lekhanont K, Leyngold IM, Suwan-Apichon O, Rangsin R, Chuck RS. Comparison of topical dry eye medications for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in a botulinum toxin B-induced mouse model. *Cornea*. 2007;26:84-9
100. Moon JW, Lee HJ, Shin KC, Wee WR, Lee JH, Kim MK. Short term effects of topical cyclosporine and viscoelastic on the ocular surfaces in patients with dry eye. *Korean J Ophthalmol*. 2007;21:189-94.
101. Yoon KC, Heo H, Im SK, You IC, Kim YH, Park YG. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2007;144:86-92.
102. Disabato-Mordarski T, Kleinberg I. Use of a paper-strip absorption method to measure the depth and volume of saliva retained in embrasures and occlusal fessae of the human dentition. *Arch Oral Biol*. 1996;41:809-20
103. Asikainen S, Etemadzadeh H, Ainamo J. Reliability of standardized narrow strips in the Periotron. *J Periodontol*. 1985;56:686-9
104. Stewart JE, Christenson PD, Maeder LA, Palmer MA. Reliability of filter-strip sampling of gingival crevicular fluid for volume determination using the Periotron. *J Periodontal Res*. 1993;28:227-30
105. Farris RL, Stuchell RN, Mandel ID. Basal and reflex human tear analysis. I. Physical measurements: osmolarity, basal volumes, and reflex flow rate. *Ophthalmology*. 1981;88:852-7.
106. Stuchell RN, Farris RL, Mandel ID. Basal and reflex human tear analysis. II. Chemical analysis: lactoferrin and lysozyme. *Ophthalmology*. 1981;88:858-61

107. Farris RL. Tear analysis in contact lens wearers. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1985;83:501-45.
108. Stern ME, Beuerman RW, Pflugfelder SC, The Normal Tear Film and Ocular Surface, In: Stephen C. Pflugfelder, Roger W. Beuerman, Michael Elliot Stern eds. *Dry Eye and Ocular Surface Disorders*, 2004, inpub. Informa Healthcare ,USA
109. Tishler M, Yaron I, Geyer O, Shirazi I, Naftaliev E, Yaron M. Elevated tear interleukin-6 levels in patients with Sjögren syndrome. *Ophthalmology.* 1998;105:2327-9.
110. Lema I, Durán JA . Inflammatory molecules in the tears of patients with keratoconus. *Ophthalmology.* 2005;112:654-9
111. Nakamura Y, Sotozono C, Kinoshita S. Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res.* 1998;17:673-6
112. Uchino E, Sonoda S, Kinukawa N, Sakamoto T. Alteration pattern of tear cytokines during the course of a day: diurnal rhythm analyzed by multicytokine assay. *Cytokine.* 2006;33:36-40.
113. Iwasaki Y, Shoji J, Inada N, Sawa M. Evaluation of the chemokine variation in tears of contact lens wearers. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 2006;110:723-9.
114. Malvitte L, Montange T, Vejux A, Baudouin C, Bron AM, Creuzot-Garcher C, Lizard G. Measurement of inflammatory cytokines by multicytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs. *Br J Ophthalmol.* 2007;91:29-32.
115. Yoshida A, Elnor SG, Bian ZM, Elnor VM. Induction of interleukin-8 in human retinal pigment epithelial cells after denuding injury. *Br J Ophthalmol.* 2001;85(7):872-6.
116. Saitoh O, Matsuse R, Sugi K, Nakagawa K, Uchida K, Maemura K, Kojima K, Hirata I, Katsu K. Cyclosporine A inhibits interleukin-8 production in a human colon epithelial cell line (HT-29). *J Gastroenterol.* 1997;32:605-10.

117. Kaplan A, Matsue H, Shibaki A, Kawashima T, Kobayashi H, Ohkawara A. The effects of cyclosporin A and FK506 on proliferation and IL-8 production of cultured human keratinocytes. *J Dermatol Sci.* 1995;10:130-8
118. Singh R, Joseph A, Umapathy T, Tint NL, Dua HS. Impression cytology of the ocular surface. *Br J Ophthalmol.* 2005;89:1655-9
119. Reddy M, Reddy PR, Reddy SC. Conjunctival impression cytology in dry eye states. *Indian J Ophthalmol.* 1991;39:22-4
120. Moon JW, Lee HJ, Shin KC, Wee WR, Lee JH, Kim MK. Short term effects of topical cyclosporine and viscoelastic on the ocular surfaces in patients with dry eye. *Korean J Ophthalmol.* 2007;21:189-94
121. Wang Y, Ogawa Y, Dogru M, Kawai M, Tatematsu Y, Uchino M, Okada N, Igarashi A, Kujira A, Fujishima H, Okamoto S, Shimazaki J, Tsubota K. Ocular surface and tear functions after topical cyclosporine treatment in dry eye patients with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41:293-302.
122. Creuzot-Garcher C, Lafontaine PO, Brignole F, Pisella PJ, d'Athis P, Bron A, Lapierre V, Baudouin C. Treating severe dry eye syndromes with autologous serum, *J Fr Ophtalmol.* 2004;27:346-51.