

Kısa Süreli Silikon Hidrojel Kontakt Lens Kullanımı Sonrasında Ön Segmentte Meydana Gelen Değişikliklerin Konfokal Mikroskopisi ile Değerlendirilmesi

Evaluation of Anterior Segment Alterations After Short-Term Silicone Hydrogel Contact Lens Use by Confocal Microscopy

© Cem Şimşek, © Cansu Kaya, © Aylin Karalezli

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Muğla, Turkey

Öz

Amaç: Kısa süreli silikon hidrojel kontakt lens (SİHKL) kullanımının korneal subbasal sinir morfolojisi, korneal duyarlılık ve ön segment etkilerinin konfokal mikroskopisi ile değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya daha önce SİHKL kullanım öyküsü olmayan 25-30 yaş arası 25 erkek gönüllünün 25 sağ gözü dahil edilmiştir. Kontakt lens (KL) kullanım öncesi ve 1 ay KL kullanım sonrası oküler yüzey hastalıkları indeksi, gözyaşı kırılma zamanı, Schirmer testi, gözyaşı menisküs alanı, şerit meniskometri tüp, kornea duyarlılığı ve korneal subbasal sinir morfolojisi değerlendirilmiştir. Çalışmaya genel sağlık durumu iyi olan, daha önce oküler yüzey cerrahisi geçirmemiş, ciddi kuru göz şikayetleri ve bulguları olmayan, korneayı etkileyebilecek sistemik veya oküler yüzey hastalığı ve ilaç kullanım hikayesi olmayan hastalar dahil edilmiştir.

Bulgular: Oküler yüzey hastalıkları indeksi KL kullanım öncesi $10,6 \pm 1,1$ iken KL kullanım sonrası 1. ayda $17,2 \pm 1,2$ ($p < 0,01$) idi. Schirmer testi KL öncesi $16,3 \pm 2,3$ mm iken KL sonrası 1. ayda $14,3 \pm 1,9$ mm ($p > 0,05$) idi. Gözyaşı filmi kırılma zamanı KL öncesi $7,1 \pm 0,4$ sn iken KL kullanım sonrası $6,2 \pm 0,3$ sn idi ($p > 0,05$). Gözyaşı menisküs alanı KL öncesi $0,026 \pm 0,002$ mm² iken KL kullanım sonrası 1. ayda $0,024 \pm 0,001$ mm² olarak bulunmuştur ($p > 0,05$). Şerit meniskometri tüp değeri KL öncesi $5,4 \pm 0,9$ mm iken KL sonrası 1. ayda $4,9 \pm 0,8$ mm ($p > 0,05$) idi. Kornea duyarlılığı KL öncesi $3,2 \pm 0,4$ mm iken KL sonrası 1. ayda $2,95 \pm 0,3$ mm ($p > 0,05$) olarak ölçüldü. Konfokal mikroskop incelemesi ile değerlendirilen dendritik hücre yoğunluğu KL öncesi $14,84 \pm 3,1$ hücre/mm² iken KL kullanım sonrası 1. ayda $32,57 \pm 4,2$ hücre/mm² ($p < 0,01$) idi. Subbasal sinir tortuositesi KL öncesi $0,92 \pm 0,2$ evre iken KL sonrası 1. ayda $1,03 \pm 0,2$ evre ($p > 0,05$) idi. Subbasal sinir yoğunluğu ise KL öncesi 4726 ± 310 piksel/resim iken KL kullanım sonrası 4570 ± 272 piksel/resim olarak ölçüldü ($p > 0,05$).

Sonuç: Bir ay süre SİHKL kullanım sonrasında gözyaşı sekresyonunda, kornea duyarlılığında, gözyaşı menisküs hacminde, subbasal kornea sinir yoğunluğunda, reflektivitesinde ve tortuositesinde anlamlı değişiklik izlenmezken oküler yüzey hastalıkları indeksi ve dendritik hücre yoğunluğunda ise anlamlı artış saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Konfokal mikroskop, kontakt lens, korneal duyarlılık, subbasal hücre yoğunluğu, oküler yüzey hastalıkları indeksi

Abstract

Objectives: To evaluate the corneal subbasal nerve morphology, corneal sensitivity and anterior segment alterations in short-term silicone hydrogel contact lenses (SİHCL) users by confocal microscopy.

Materials and Methods: The study included 25 right eyes of 25 male volunteers aged between 25-30 years who had never used SİHCL before. Ocular surface disease index, tear break-up time, Schirmer test, tear meniscus area, strip meniscometry tube, corneal sensitivity and corneal subbasal nerve morphology were evaluated before and 1 month after CL use.

Results: Ocular surface diseases index score was 10.6 ± 1.1 before CL use and 17.2 ± 1.2 after 1 month CL use ($p < 0.01$). The Schirmer test was 16.3 ± 2.3 mm before CL, it was 14.3 ± 1.9 mm after one month of CL ($p > 0.05$). Tear film break-up time was 7.1 ± 0.4 seconds before CL and 6.2 ± 0.3 seconds after KL use ($p > 0.05$). The tear meniscus area was 0.026 ± 0.002 mm² before CL, 0.024 ± 0.001 mm² after 1 month of CL use ($p > 0.05$). The value of strip meniscometry tube was 5.4 ± 0.9 mm before CL use, 4.9 ± 0.8 mm after 1 month of CL use ($p > 0.05$). Corneal sensitivity values were 3.2 ± 0.4 mm before CL use and 2.95 ± 0.3 mm after 1 month of CL use ($p > 0.05$). The dendritic

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Cem Şimşek, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Muğla, Turkey

E-posta: cemsimsek1@hotmail.com **ORCID-ID:** orcid.org/0000-0001-8003-745X

Geliş Tarihi/Received: 25.05.2021 **Kabul Tarihi/Accepted:** 09.12.2021

Bu çalışma, Türk Oftalmoloji Derneği 54. Sanal Ulusal Kongresi ve Canlı Cerrahi Birleşik Toplantısı (9-13 Aralık 2020)'nda sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Cite this article as: Simsek C, Kaya C, Karalezli A. Effects of Short-Term Contact Lens Use.

cell density evaluated by confocal microscopy was 14.84 ± 3.1 cells/mm² before CL and 32.57 ± 4.2 cells/mm² after one month of CL use ($p < 0.01$). Subbasal nerve tortuosity was 0.92 ± 0.2 before CL and 1.03 ± 0.2 after one month of CL use ($p > 0.05$). Subbasal nerve density was measured as 4726 ± 310 pixels/frame before CL use and 4570 ± 272 pixels/frame after one month of CL use ($p > 0.05$).

Conclusion: After one month of SİHCL use, no significant changes were observed in tear secretion, corneal sensitivity, tear meniscus volume, subbasal corneal nerve density, reflectivity and tortuosity, while a significant increase was found in ocular surface diseases index score and dendritic cell density.

Keywords: Confocal microscope, contact lens, corneal sensitivity, subbasal cell density, ocular surface diseases index

Giriş

Silikon hidrojel kontakt lens (SİHKL) kullanımı, artan miyopi prevalansı ve gelişen teknolojik değişiklikler sonucunda lens konforundaki artışa bağlı olarak günümüzde refraksiyon kusurlarının giderilmesinde oldukça sık kullanılmaktadır.¹ Sosyal açıdan kullanıcılar için avantaj sağlasa da kontakt lens (KL) kullanımının, görme düzeyini kalıcı olarak etkileyebilen keratit gibi oküler enfeksiyonlar da dahil çeşitli komplikasyonlarla olan ilişkisi iyi bilinmektedir.² Rutin klinik pratikte sıkça kullanılıyor olması, SİHKL' nin oküler yüzey etkileri ile ilgili çok fazla araştırma yapılması gerekliliğini ortaya çıkarmış ve bu bağlamda in vivo konfokal mikroskopi (İVKM) kullanımı gittikçe artmıştır.

İn vivo konfokal mikroskopi oküler yüzey yapısının in vivo gözlemlenmesine izin veren ve invaziv olmayan bir görüntüleme yöntemidir, sağlıklı korneaların görüntülenmesinde ve birçok kornea hastalığının tanı ve takibinde kullanılmaktadır.³ Dendritik hücreler, immün sistem yanıtında bir aktivasyon belirteci olarak kabul edilen güçlü antijen sunucu hücreler olup bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde önemli bir role sahiptirler.^{4,5} İn vivo konfokal mikroskopi, subbasal sinir pleksus tabakası boyunca sıklıkla görülen korneal dendritik hücrelerin, in vivo görüntülenmesine de olanak sağlar.^{6,7} Kuru göz, alerji, keratitler, keratokonus ve korneal distrofiler gibi oküler yüzey patolojisiine sebep olan durumlarda, korneal morfolojik yapılar da meydana gelen dendritik hücre yoğunluğundaki değişiklikler, daha önce İVKM ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.^{8,9} Ön segment inflamasyonu, immün yanıtın bir parçası olarak korneadaki ve konjonktivadaki Langerhans hücrelerinin aktivasyonu ile sonuçlanır.^{10,11} Bunun yanı sıra göz kuruluğu ile ilişkili semptomlar birçok hastanın yumuşak KL kullanım süresini kısaltmasına veya KL kullanmayı tamamen bırakmasına neden olabilir.¹² Daha önce yapılan çalışmalarda KL kullanımına bağlı kornea duyarlılığında azalma bildirilmiştir.^{13,14} Bununla birlikte kornea duyarlılığındaki azalmanın KL kullanımını bırakma sonrasında normale döndüğü gösterilmiştir.^{15,16} Geleneksel düşük oksijen geçirgenliği (Dk) olan KL' ler korneada hipoksik ortam oluşturarak duyuşal sinir fonksiyonlarının azalmasına sebep olurlar.¹⁷ Bu duyarlılık kaybına katkıda bulunan diğer faktörler arasında duyuşal adaptasyon¹⁸ ve asidozla baskılanmış duyuşal sinir fonksiyonu gösterilmiştir.¹⁹ Yayınlanan çalışmaların çoğu düşük Dk değerine sahip malzemelerden üretilen eski nesil KL' ler ile yapılmıştır. Yeni nesil SİHKL kullanımı ile lens kaynaklı hipoksi oldukça azalmakta hatta ortadan kalkmaktadır. Oluşan bu düşük hipoksik ortamla birlikte SİHKL' nin kısa ve uzun dönem kullanımı sonrasında oküler yüzey duyarlılığındaki değişiklikler tam olarak bilinmemektedir.²⁰

Silikon hidrojel KL kullanımı özellikle genç erişkinlerde daha sıktır ve SİHKL' nin neden olduğu oküler yüzey değişikliklerinin araştırılması, SİHKL kullanımına bağlı oluşan komplikasyonların ve sorunların çözülebilmesi için yol gösterici olacaktır. Bu çalışmada kısa süreli (1 ay) SİHKL kullanımı sonrası göz kuruluğu bulguları, korneal subbasal sinir morfolojisi, kornea duyarlılığı ve ön segment değişikliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Katılımcılar ve Kontakt Lens

Bu prospektif çalışma için Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırma Etik Kurulu'ndan 7/XII sayılı karar numarası ile 31/03/2021 tarihinde onay alınmıştır. Çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine bağlı kalmıştır. Tüm katılımcılar bu çalışmanın doğası ve amacı hakkında detaylı bilgi aldıktan sonra bilgilendirilmiş onam formu vermiştir. Araştırmalardan önce tüm katılımcılara refraksiyon değeri ölçümü, Snellen eşeli ile görme keskinliği bakılması, aplanasyon tonometri ile göz içi basınç ölçümü, biyomikroskopi ve indirekt oftalmoskopi dahil olmak üzere tam bir oftalmolojik muayene yapılmıştır. Çalışmaya xxx Üniversitesi Tıp Fakültesi göz hastalıkları polikliniğine KL kullanmak için başvuran, daha önce KL kullanım öyküsü olmayan, 18-30 yaş arası 25 hastanın 25 sağ gözü dahil edilmiştir. Gebelik ve menstrüel siklus gibi ölçüm değerlerimizi etkileyebilecek hormonal faktörlerden kaçınmak amacı ile yalnızca erkek bireyler çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm katılımcılarda standardize edebilmek için lotrafilcon B (Air Optix, Alcon Laboratories, Fort Worth, ABD) silikon hidrojel aylık KL' leri (Lensin Dk/t oranı 138 @-3.00D) kullanılmıştır. Sferik değeri -1 diyoptri (D) ile -6D arasında olan ve astigmatizması bulunmayan gözler çalışmaya dahil edilmiştir. Kullanıcılardan günde en az 8 saat ve haftada 5 günden az olmamak üzere KL' lerini takmaları istenmiştir. Çalışmamızın dışlama kriterleri; ciddi kuru göz şikayetleri ve bulguları olması, sistemik hastalık öyküsü, geçirilmiş oküler yüzey cerrahisi, korneayı etkileyebilecek sistemik veya oküler yüzey hastalığı ve herhangi bir ilaç kullanım öyküsü olarak belirlenmiştir. Katılımcılarda, SİHKL kullanım öncesi ve 1 ay kullanım sonrası; Oküler Yüzey Hastalıkları İndeksi (OYHİ), gözyaşı kırılma zamanı, Schirmer testi, gözyaşı menisküs alanı, şerit meniskometri tüp (SM tüp), kornea duyarlılığı ve İVKM değerlendirilmiştir.

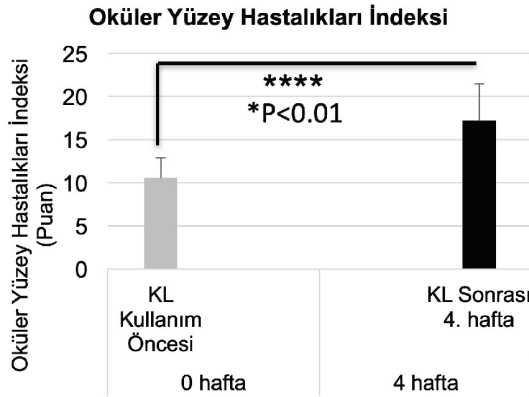
Oküler Yüzey Hastalık İndeksi

Oküler yüzey hastalıkları indeksi (OYHİ), kuru göze bağlı oküler irritasyon semptomlarını ve bunların görme ile ilgili

fonksiyonlarını değerlendiren 12 sorulu bir ankettir. Tüm katılımcılara bu anket soruları SİHKL kullanım öncesi ve 1 ay SİHKL kullanım sonrası yüz yüze sorularak yanıtları sisteme kaydedilmiştir. OYHİ anketindeki her bir soru sıfır ile dört arasında puanlanmaktadır. OYHİ skoru, orijinal ankette belirtildiği gibi 12 soruya verilen puanların toplamının 25 ile çarpımı sonucu elde edilen değer, cevaplanan soru sayısına bölünmesi ile elde edildi. OYHİ 0-100 arasında değişen bir skorlama sistemidir. OYHİ skoruna göre; 0-12 puan arası normal, 13-22 puan arası hafif, 23-32 puan arası orta ve 33-100 puan arası ağır oküler yüzey hastalığı olarak kabul edildi.²¹

Schirmer testi, Gözyaşı Kırılma Zamanı, Gözyaşı Menisküs Alanı ve SM Tüp

Schirmer testi, steril Schirmer kağıdının (Tearflo; Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, TX, USA) alt göz kapağının dış 1/3' lük kısmına yerleştirilmesinin ardından 5 dakika beklenilerek kağıdın ıslanma miktarı ile belirlenen değer kaydedilmesi ile gerçekleştirildi. Gözyaşı kırılma zamanının değerlendirilmesi, steril flöresin çubuğun konjonktivaya olan teması sonrası katılımcılardan gözlerini kapatıp açmaları daha sonra da kapatmadan beklemeleri istenerek biyomikroskopta kobalt mavisi ışığı yardımı ile ilk siyah noktanın oluştuğu anın saniye olarak kaydedilmesi ile yapıldı. Gözyaşı menisküs alanı, ön segment optik kohorens tomografi (OKT) (RTVue, Optovue Inc, USA) ile ölçüldü. Menisküs alanı, mm² cinsinden sınırlar belirlenerek değerlendirildi (Şekil 1a,b).²² SM Tüp skoru,



gözyaşı menisküsünde biriken gözyaşı miktarını değerlendirmek amacı ile meniskometri şeritleri ile değerlendirilmektedir. Şerit alt kapakta gözyaşı menisküsüne göz yüzeyine temas olmadan dokundurulup 5 saniye sonra şeritteki ıslanma miktarı üzerindeki skala ile milimetre cinsinden ölçüldü.²²

Kornea Duyarlılığı

Kornea duyarlılığını değerlendirmek için, daha önceki başka bir çalışmamızda kullandığımız modifiye bir Cochet-Bonnet esteziometre kullandık.²³ 0,09 mm çaplı 0,3 naylon filamanlar (Unitika Ltd. Tokyo, Japonya) kullanıldı. 0,5 cm ile 4 cm arasında değişen uzunlukta yedi filaman hazırlandı. En uzun filamandan (4 cm, en düşük basınç) başlanarak, her uzunluktaki naylon filaman, kornea sinirlerini uyarmak ve korneal göz kırpmaya tepkisine neden olmak için üç kez uygulandı. Filaman, kırpıklara ve kapak kenarlarına dokunmadan merkezi korneaya dik olarak temas ettirildi. Naylon filaman uzunluğu, tam bir göz kırpmaya refleksi görülene kadar her seferinde 0,5 cm kısaltılarak aynı işlem tekrarlandı. Her göz için üç ölçüm kaydedildi ve analiz için ortalama değer alındı. Bu yöntemin kornea duyarlılığı ölçümlerinin elde edilmesinde tekrarlanabilirliği, tüm testler yapılmadan önce doğrulanmıştır.

İn vivo konfokal mikroskopi ve Görüntü Analizi

Tüm değerlendirmelerden sonra en son %0,5' lik proparakain hidroklorür (Alcaine®, Alcon, Fort Worth, Texas, ABD) damla ile topikal anestezi uygulanmasının ardından HRT III (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) cihazı

OSDI SKORU						
Aşağıdaki 12 soruya hastanız sorunuz ve hastanızın verdiği her cevap için uygun rakamı dairesine alarak işaretleyiniz. Daha sonra yanlarındaki değerlendirilmeyi dikkate alarak A, B, C, D ve E kutularını doldurunuz.						
GEÇEN HAFTA BOYUNCA AŞAĞIDAKİLERDEN HERHANGİ BİRİNİ YAŞADINIZ MI?						
Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman		
4	3	2	1	0		
1. Gözler şişme hassas	4	3	2	1	0	
2. Gözde batma hissi	4	3	2	1	0	
3. Gözde ağrı veya yanma	4	3	2	1	0	
4. Gözlerin bulantılaşması*	4	3	2	1	0	
5. Göme acığı*	4	3	2	1	0	
1-5 numaralı sorulara cevapları alt toplamı					A	
* Gerekli durumlarda test uygulayıcıyı ayıkama yapılmalıdır.						
GEÇEN HAFTA BOYUNCA GÖZÜNÜZDEKİ PROBLEMLER AŞAĞIDAKİ AKTİVELERİNİZİ ENGELLEDİ Mİ?						
Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman	Geçersiz	
4	3	2	1	0		
6. Uzun süreli okuma	4	3	2	1	0	Okunmuyor
7. Gece araba kullanma	4	3	2	1	0	Araba kullanmıyor
8. Bilgisayarda çalışma	4	3	2	1	0	Bilgisayar kullanmıyor
9. Televizyon izleme	4	3	2	1	0	Televizyon izlemiyor
6-9 numaralı sorulara verilen cevapları alt toplamı					B	
GEÇEN HAFTA BOYUNCA AŞAĞIDAKİ DURUMLARDA GÖZÜNÜZDE RAHATSIZLIK HİSSETTİNİZ Mİ?						
Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman	Geçersiz	
4	3	2	1	0		
10. Rüzgarda	4	3	2	1	0	Rüzgarda bulunmuyor
11. Dışık nemli (pik kuru yerlerde)	4	3	2	1	0	Dışık nemli yerde bulunmuyor
12. Kışın yerler	4	3	2	1	0	Kışın yerlerde bulunmuyor
10-12 numaralı sorulara verilen cevapları alt toplamı					C	
D için A, B ve C'yi toplayınız (D= Cevaplanan tüm sorular için toplam skor)						
E için A, B ve C'yi toplayınız (E= Cevaplanan toplam soru sayısı Geçersiz olarak cevaplanan soruları eklemeyiniz)						
OSDI= (Dx25)/E						

Şekil 1. Ön segment OKT kullanılarak gözyaşı menisküs alanı ölçümü temsili görseli. (a) Silikon hidrojel kontakt lens (SİHKL) kullanım öncesi (b) SİHKL kullanım sonrası gözyaşı menisküsünün enine kesit ön segment OKT görüntüsü gösterilmektedir. Kuru göz hastasında gözyaşı menisküs alanı normal insanlara göre önemli ölçüde daha düşük ölçülür. Siyah bar 250 µm' u göstermektedir

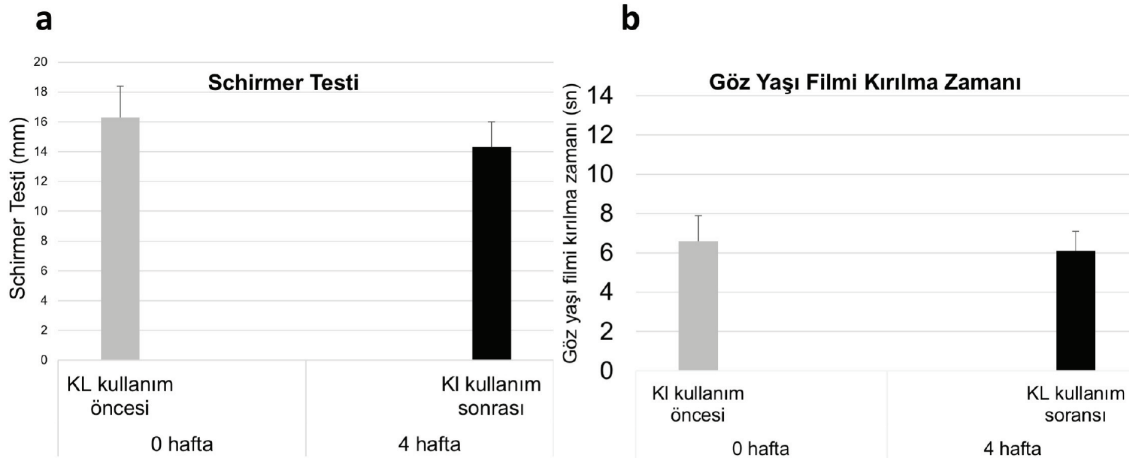
ile Rostock kornea modülü kullanılarak İVKM uygulandı. HRT' ye dahili olarak monte edilen lazer kaynağı, 670 nm' lik kırmızı dalga boylu bir diyet lazeri sağlamaktadır. İVKM tarafından elde edilen yüksek çözünürlüklü gerçek zamanlı görüntüler, 1 mm/piksel çözünürlükle 400 x 400 mm'lik (yatay 3 dikey) bir alanı kaplayan 384 x 384 pikselden oluşuyordu. Görüntüler, 8 bit veri çözünürlüğü ve 128 bitlik ikili kayan nokta formatında bir JPEG formatında kaydedildi. Her korneadan her biri 100 görüntü içeren altı ila sekiz tam dizi kaydedildi (her çerçeve 160.00 mm²'lik bir alanı temsil ediyor). Korneal morfolojik analiz için her korneanın örtüşmeyen üç temsili görüntüsü seçildi. İVKM çekilmeden önce mikroskop objektifinde bulunan TomoCap (Heidelberg Engineering) içine ve üzerine birer damla Viscotears jel (Alcon Laboratories, Inc., Texas, ABD) konuldu. Daha önce TomoCap' in ucu hastanın korneası ile temas ettirilerek hastadan sabit bir noktaya bakması istenip çekim gerçekleştirildi. Merkezi korneadan elde edilen en iyi 3 görüntünün ortalamaları alındı. Sinir sayısı ve sinir yoğunluğu sinir liflerinin yarı otomatik izlenmesine izin veren ve miktar tayini sağlayan ImageJ yazılımından NeuronJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, ABD) eklentisi kullanılarak ölçüldü. Dendritik hücreler parlak hücre gövdelerinden dolayı ayırt edilerek subbazal sinir pleksusunda, ImageJ yazılımı kullanılarak manuel olarak sayıldı.²⁴ Sinir tortuosite ve reflektivite derecesi, Oliveira-Soto ve Efron tarafından bildirilen ölçeğe (0-4) göre değerlendirildi.²⁵

İstatistiksel Analiz

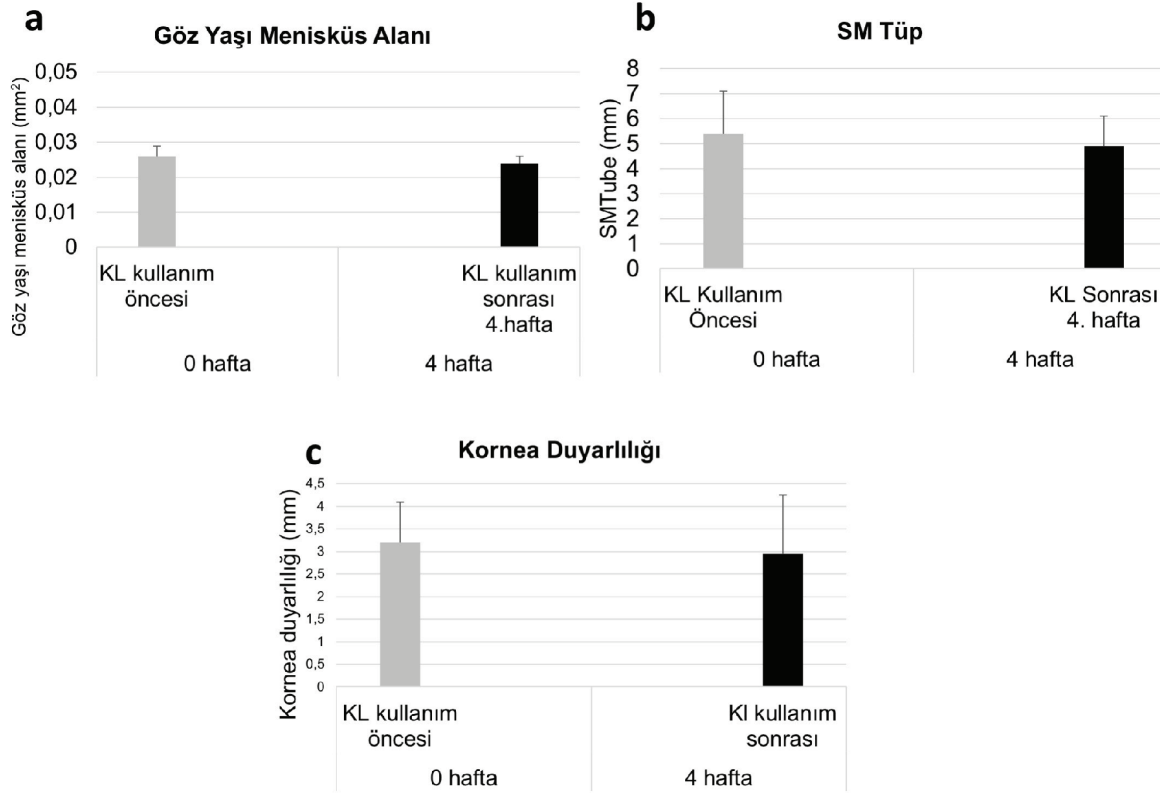
Tüm istatistiksel analizler, SPSS Sürüm 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Farklı zaman noktalarında, iki faktörün etkilerini analiz etmek için, gözyaşı miktarını, vital boyama skorlarını, kornea duyarlılığını ve korneal subbazal hücre parametrelerini karşılaştırmak için 2 yönlü ölçümler ANOVA testi ile yapıldı. Tukey testi, çoklu karşılaştırma testi olarak gerçekleştirildi. %5' in altındaki bir P değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Yaptığımız çalışmada; OYHİ skorunu, SİHKL kullanım öncesi $10,6 \pm 1,1$ ve 1 ay SİHKL kullanım sonrası $17,2 \pm 1,2$ olarak bulundu ($p < 0,01$) (Şekil 2). Schirmer testi, SİHKL kullanım öncesi $16,3 \pm 2,3$ mm iken 1 ay SİHKL kullanım sonrası $14,3 \pm 1,9$ mm olarak ölçüldü ($p > 0,05$) (Şekil 3a). Gözyaşı filmi kırılma zamanı, SİHKL kullanım öncesi $7,1 \pm 0,4$ saniye iken 1 ay SİHKL kullanım sonrası $6,2 \pm 0,3$ saniye olarak ölçüldü ($p > 0,05$) (Şekil 3b). Gözyaşı menisküs alanı, SİHKL kullanımı öncesinde $0,026 \pm 0,002$ mm² iken 1 ay SİHKL kullanımı sonrası $0,024 \pm 0,001$ mm² olarak ölçüldü ($p > 0,05$) (Şekil 4a). SM tüp değeri, SİHKL kullanmadan önce $5,4 \pm 0,9$ mm iken 1 ay SİHKL kullanımı sonrası $4,9 \pm 0,8$ mm olarak ölçüldü ($p > 0,05$) (Şekil 4b). Kornea duyarlılığı, SİHKL kullanımı öncesi $3,2 \pm 0,4$ mm iken 1 ay SİHKL kullanımı sonrası $2,95 \pm 0,3$ mm olarak ölçüldü ($p > 0,05$) (Şekil 4c). Yapılan İVKM sonucunda dendritik hücre yoğunluğu ise SİHKL kullanımı öncesi $14,84 \pm 3,1$ hücre/mm² iken 1 ay SİHKL kullanımı sonrasında $32,57 \pm 4,2$ hücre/mm² istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ölçüldü ($p < 0,01$) (Şekil 5a). Subbazal sinir tortuositesi, SİHKL kullanımı öncesinde $0,92 \pm 0,2$ evre iken 1 ay SİHKL kullanımı sonrasında $1,03 \pm 0,2$ evre olarak ölçüldü (Şekil 5b). Silikon hidrojel KL kullanım öncesinde subbazal sinir yoğunluğu 4726 ± 310 piksel/resim iken 1 ay SİHKL kullanımı sonrası 4570 ± 272 piksel/resim olarak ölçüldü ($p > 0,05$) (Şekil 5c). Subbazal sinir reflektivitesi, SİHKL kullanımı öncesinde $1,73 \pm 0,3$ evre iken 1 ay KL kullanımı sonrasında $1,66 \pm 0,2$ evre olarak ölçüldü ($p > 0,05$) (Şekil 5d). Dendritik hücrelerin İVKM temsili görseli (Şekil 6a,b)' de gösterilmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda 1 ay SİHKL kullanımı sonrası, SİHKL kullanmadan öncesi ile kıyaslandığında gözyaşı sekresyonunda, kornea duyarlılığında ve gözyaşı menisküs hacminde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmezken, OYHİ' de istatistiksel anlamlı artış görülmüştür. İVKM' de ise subbazal korneal sinir yoğunluğunda, reflektivitesinde ve tortuositesinde değişiklik görülmezken dendritik hücre aktivasyonunda artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Şekil 2. Oküler yüzey hastalıkları indeksi (OYHİ) değerlendirmesi. Kısa süreli (1 ay) SİHKL kullanımı sonrasında OYHİ SİHKL kullanım öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış göstermiştir (* $p < 0,01$)



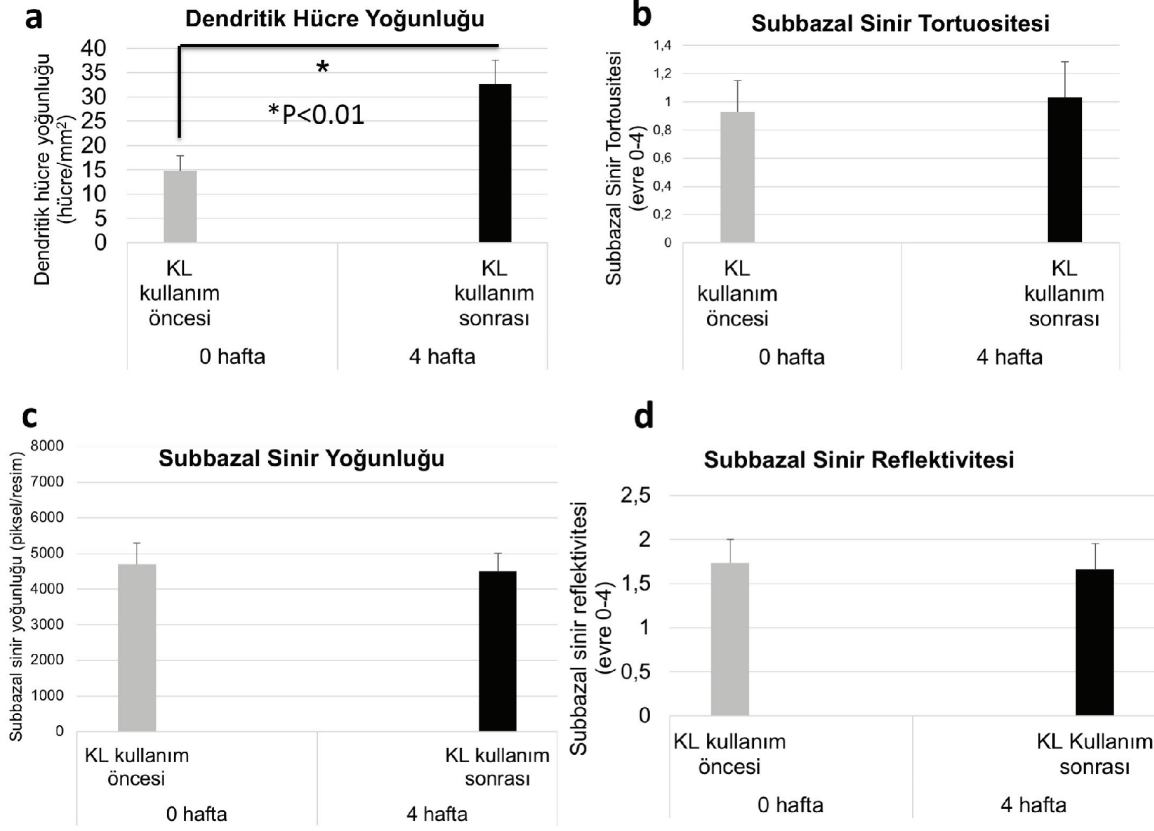
Şekil 3. SİHKL kullanım öncesi ve SİHKL kullanım sonrası Schirmer testi ve gözyaşı kırılma zamanı karşılaştırılması. Kısa süreli SİHKL kullanım sonrası Schirmer testi (a) ve gözyaşı kırılma zamanı (b) istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermedi ($p>0,05$)

Tartışma

In vivo konfokal mikroskopi, korneanın hücresel düzeyde incelenmesine olanak tanıyan yeni, girişimsel olmayan bir görüntüleme yöntemi olup hem sağlıklı kornealarda hem de birçok hastalığın ayırıcı tanısı ve takibinde sıklıkla kullanılmaktadır. İVKM sayesinde korneal subbazal sinirlerin ve immün/inflamatuvar (dendritik) hücrelerin yüksek çözünürlükteki görüntüleri elde edilebilmektedir.²⁶ İVKM' nin klinikte kullanımının artmasıyla birlikte, sağlıklı ve patolojik korneadaki subbazal sinirlerin değerlendirildiği birçok çalışma yayınlanmıştır.

Yaptığımız bu çalışma ile kısa süreli (1 ay) SİHKL kullanımı sonrası OYHİ skoru, gözyaşı kırılma zamanı, gözyaşı menisküs hacmi, Schirmer testi, kornea duyarlılığı, kornea subbazal sinir morfolojisi gibi parametreleri, SİHKL kullanmadan önceki değerler ile kıyasladık. Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında kısa dönem SİHKL kullanımı ile ilgili tüm bu parametrelerin bir arada değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır, çalışmamızın sonuçları bu nedenle önemli olabilir. Bu çalışma ile SİHKL kullanımı öncesine göre 1 ay KL kullanımı sonrası bakılan parametrelerde yalnızca dendritik hücre aktivasyonunda ve OYHİ skorundaki artış istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Schirmer testi, gözyaşı kırılma zamanı, kornea duyarlılığı ve kornea subbazal sinir yoğunluğunda ise

istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir. Literatürde benzer konularda yapılan daha önceki çalışmalar incelendiğinde KL kullanan kişilerde merkezi korneada daha yüksek bir dendritik hücre yoğunluğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Zhivov ve ark.²⁷ KL kullananların kornea epitelinde kullanmayan gruba göre daha fazla sayıda Langerhans hücresi gözlemlemişlerdir. Bu hücrelerin KL' ye bağlı inflamatuvar yanıt olarak santrale doğru hareket ettiği düşünülmektedir.^{28,29} Bu sonuç KL' nin mekanik etkisine yanıt olarak Langerhans hücrelerinin korneaya göçünü gösteren daha önceden yapılmış hayvan modeli çalışmaları ile uyumludur.^{30,31} Zhang ve ark.³² yaptıkları çalışmada bir sıçan modelinde, Dk değeri düşük olan SİHKL ile Dk değeri yüksek olan SİHKL' yi kıyaslamışlar ve Dk değeri düşük SİHKL kullanımı ile konjonktival dendritik hücre sayısının daha fazla arttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Alzahrani ve ark.^{33,34} iki farklı çalışmada yumuşak KL kullanıcılarında dendritik hücre yoğunluğunun arttığını göstermişlerdir. Bu sonuçların KL' ye bağlı korneada meydana gelen inflamasyon cevabının bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Sindt ve ark.³⁵ ise yaptıkları çalışmada bu dendritik hücre aktivasyonunun KL' ye bağlı oküler rahatsızlık nedeni ile olabileceğini düşünmüşlerdir. Bizim çalışmamızda kısa süreli SİHKL kullanımı sonrası subbazal sinir yoğunluğunda istatistiksel anlamlı değişiklik görülmez iken Liu ve ark.³⁶, KL kullananlarda kullanmayanlara göre daha düşük sinir lifi yoğunluğu bulmuşlardır. Bununla



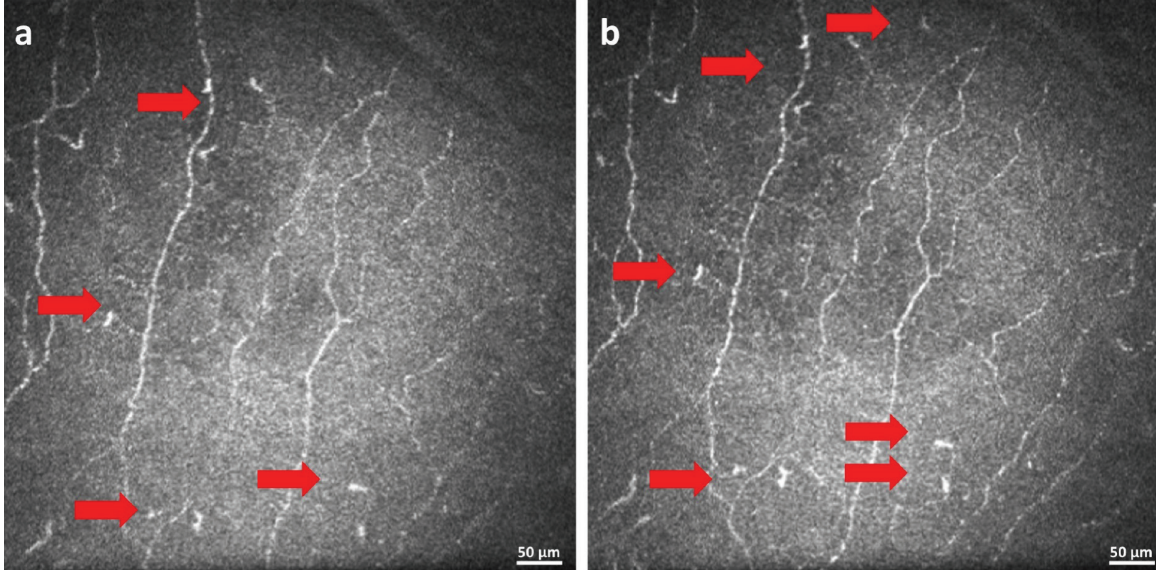
Şekil 4. SİHKL kullanım öncesi ve SİHKL kullanım sonrası gözyaşı menüsküs alanı (a), SM tüp (b) değerleri ve kornea duyarlılığı (c) değerlendirilmesinde her üç parametrede de istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$)

beraber kuru gözü olan ve olmayan KL kullanıcıları arasında da anlamlı fark olmadığını göstermişlerdir. Aynı zamanda kuru göz hastalığında da artmış dendritik hücre aktivasyonu gösteren çalışmalar literatürde yer almaktadır.³⁷ Liu ve ark.'nın³⁸ yapmış olduğu başka bir çalışmada yine dendritik hücre yoğunluğunun KL kullanımı sonrası giderek arttığını, 4. haftada pik değere ulaştığını, 4. haftadan sonra ise düştüğünü göstermişlerdir. Bu da oküler inflamasyonun 4. haftada en yüksek değerde olabileceğini düşündürmektedir. 4. haftadan sonra olan azalmanın nedeni ise katılımcıların adaptasyonuna bağlı KL' nin yarattığı rahatsızlık hissinin azalması ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.³⁹ Begley ve ark.⁴⁰, KL kullanıcılarının çoğunda, göz kuruluğu belirtileri, kaşıntı ve tahriş, ışık hassasiyeti, ağrı, bulanık veya değişken görme gibi semptomların olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da SİHKL kullanımı sonrasında OYHI skorlarının yüksek çıkmasının nedeni Begley ve ark.'nın⁴⁰ yapmış olduğu çalışmadakine benzer şekilde oluşabilecek ilk kullanım şikayetlerine bağlı olduğu düşünülmüştür.

Daha önce yapılan çalışmalarda, KL nedeniyle görülen kuru gözün en önemli sebepleri hipoksi, inflamasyon, enfeksiyon ve mekanik etki olarak gösterilmiştir.^{41,42} KL, oküler yüzeyin klinik veya subklinik inflamasyonuna yol açan yabancı bir cisimdir.^{43,44} Bu yanıtın sebebi mekanik iritasyon, hipoksi ve mediyatör salınımına bağlı olabilir. Hem KL' ye bağlı gelişen kuru gözün

kendi inflamasyonunun hem de KL ile ilişkili inflamasyonun artmış dendritik hücre yoğunluğuna yol açtığı düşünülebilir. Aynı zamanda KL' nin yarattığı oküler rahatsızlık hissinin de bu durum üzerinde etkili olabileceği OYHI skorundaki artış göz önüne alınarak söylenebilir. Uzun süreli kullanımda biz bu inflamasyon durumunun ve dendritik hücre aktivasyonunun adaptasyona bağlı olarak azalacağını düşünmekteyiz.

Korneal duyarlılık sağlıklı bir oküler yüzeyin devamlılığının sağlanması açısından oldukça önemlidir. Herhangi bir sebebe bağlı olarak göz kırpmaya refleksi ve gözyaşı miktarında azalma meydana gelmesi durumunda kornea epitel, *dış etkenlerden daha fazla etkilenir hale gelir. Aşırı buharlaşma ve soğuma sonucunda gözyaşı ozmolaritesinde artış meydana gelir.* Gözyaşı miktarında azalmaya ve ozmolaritedeki bu artışa bağlı olarak oküler yüzey epitelinde oluşan stres sonucunda lokal inflamasyon ve periferik sinir hasarı meydana gelmektedir.⁴⁵ Lokal inflamasyon ve sinir hasarı primer sensöryal nöronlarda kısa ve uzun dönem genetik ve moleküler değişiklikler yapabilmektedir.⁴⁶ Sensöryal sinir terminalleri kornea yüzeyindeki epitel hücreleri arasında yoğun ve yüzeysel bir şekilde yer alır. Bu yüzden çevresel etkenlerden (hava kirliliği, düşük nem), travmadan (katarakt ve refraktif cerrahi) ve oküler yüzey hastalıklarından (pterijium, konjonktivaşalazis, keratakonus) korneal yüzey sınırları kolaylıkla etkilenebilir.^{47,48} Bu çalışmada ise *kısa dönem SİHKL kullanımı*



Şekil 5. SİHKL kullanım öncesi ve SİHKL kullanım sonrası; (a) Dendritik hücre yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü (* $p<0,01$). (b) Subbazal sinir tortuositesi, (c) Subbazal sinir yoğunluğu, (d) Subbazal sinir reflektivesitesi açısından ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$)



Şekil 6. Dendritik hücrelerin in vivo konfokal mikroskopi temsili görseli, kırmızı oklar dendritik hücreleri göstermektedir. Aynı hastanın SİHKL kullanımı öncesine göre (a) ve SİHKL kullanımı sonrasında (b) dendritik hücre yoğunluğunda istatistiksel olarak da ispatlanan belirgin artış görülmüştür. Beyaz bar 50 μm ' u göstermektedir

sonrasında kornea duyarlılığında herhangi bir değişiklik meydana gelmediği gözlenmiştir.

Korneal subbazal sinir yoğunluğu ile birlikte en çok değerlendirilen diğer morfolojik parametreler ise tortuosite, reflektivite ve boncuklanma paterni olmuştur.^{49,50} Bizim çalışmamızda bu parametrelerde değişiklik meydana gelmediği gösterilmiştir ve bunun sebebinin subbazal korneal sinirlerde bir ay gibi kısa süreli mekanik etkiye maruz kalınmasının sinirsel dejenerasyonda ve rejenerasyonda herhangi bir etkiye yol açmadığı için olduğu düşünülmüştür.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Tüm katılımcıların erkek bireylerden oluşması, tek tip bir KL materyali kullanılması, çalışmaya dahil edilen kişi sayısının

az olması ve çalışmanın uzun süre sonuçlarının gözlenmemiş olması çalışmamızın kısıtlılıkları arasında gösterilebilir. Bu çalışmadaki kişi sayısının genişletilmesi ve farklı materyale sahip KL ile yeni bir grup oluşturulması daha iyi bir karşılaştırma sağlayabilir ve farklı sonuçlara neden olabilir.

Sonuç

Bu çalışmada, günlük pratikte sıklıkla kullanılan SİHKL kullanımına bağlı olarak normal kornealarda meydana gelen oküler yüzey değişiklikleri ve subbazal sinir yapı değişkenleri objektif prosedürler kullanarak incelenmiştir. Sonuç olarak, çalışmamız kısa süreli SİHKL kullanımının oküler yüzey ve korneal subbazal sinirler üzerindeki anatomik etkilerine ilişkin yararlı veriler sunmaktadır ve KL kullanımının uzun süreli etkilerini değerlendirmek için tasarlanan gelecekteki çalışmalara yön verebilir.

Etik

Etik Kurul Onayı: Bu prospektif çalışma için Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırma Etik Kurulu'ndan 7/XII sayılı karar numarası ile 31/03/2021 tarihinde onay alınmıştır.

Hasta Onayı: Hasta onamı alındı.

Hakem Değerlendirmesi:

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: C.S., C.K., Konsept: C.S., A.K., Dizayn: C.S., Veri Toplama veya İşleme: C.S., C.K., Analiz veya Yorumlama: C.S., A.K., Literatür Arama: C.S., C.K., Yazan: C.S., C.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

- Vitale S, Sperduto RD, Ferris FL 3rd. Increased prevalence of myopia in the United States between 1971-1972 and 1999-2004. *Arch Ophthalmol*. 2009;127:1632-1639
- Stapleton F, Keay L, Jalbert I, Cole N. The epidemiology of contact lens related infiltrates. *Optom Vis Sci*. 2007;84:257-272.
- Kocabeyoğlu S, Mocan MC, İrkeç M. Epidemik Keratokonjonktivit ile İlişkili Subepitelyal İnfiltratlarda İn Vivo Konfokal Mikroskopi Bulguları. *Turk J Ophthalmol*. 2015;45:119-121.
- Hamrah P, Zhang Q, Liu Y, Dana MR. Novel characterization of MHC class II-negative population of resident corneal Langerhans cell-type dendritic cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:639-646.
- Niederhorn JY, Peeler JS, Mellon J. Phagocytosis of particulate antigens by corneal epithelial cells stimulates interleukin-1 secretion and migration of Langerhans cells into the central cornea. *Reg Immunol*. 1989;2:83-90.
- Villani E, Baudouin C, Efron N, Hamrah P, Kojima T, Patel SV, Pflugfelder SC, Zhivov A, Dogru M. In vivo confocal microscopy of the ocular surface: from bench to bedside. *Curr Eye Res*. 2014;39:213-231.
- Zhivov A, Stave J, Vollmar B, Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243:1056-1061.
- Yamaguchi T, Hamrah P, Shimazaki J. Bilateral Alterations in Corneal Nerves, Dendritic Cells, and Tear Cytokine Levels in Ocular Surface Disease. *Cornea*. 2016;35:65-70.
- Simsek C, Dogru M, Kojima T, Tsubota K. Current management and treatment of dry eye disease. *Turk J Ophthalmol*. 2018; 48(6): 309-314.
- Rowden G. The langerhans cell. *Crit. Rev. Immunol*.1981;3: 95-180.
- Suzuki T, Sano Y, Kinoshita S. Conjunctival inflammation induces Langerhans cell migration into the cornea. *Curr Eye Res*. 2000;21:550-553.
- Brennan NA, Efron N. Symptomatology of HEMA contact lens wear. *Optom Vis Sci*. 1989;66:834-838.
- Epstein AB. Contact lens care products effect on corneal sensitivity and patient comfort. *Eye Contact Lens*. 2006;32:128-132.
- Murphy PJ, Patel S, Marshall J. The effect of long-term, daily contact lens wear on corneal sensitivity. *Cornea*. 2001;20:264-269.
- Millodot M. Effect of hard contact lenses on corneal sensitivity and thickness. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1975;53:576-584.
- Millodot M. Effect of the length of wear of contact lenses on corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1976;54:721-730.
- Millodot M, O'Leary DJ. Effect of oxygen deprivation on corneal sensitivity. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1980;58:434-439.
- Polse KA. Etiology of corneal sensitivity changes accompanying contact lens wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1978;17:1202-1206.
- Brennan NA, Bruce AS. Esthesiometry as an indicator of corneal health. *Optom Vis Sci*. 1991;68:699-702.
- Situ P, Simpson TL, Jones LW, Fonn D. Effects of silicone hydrogel contact lens wear on ocular surface sensitivity to tactile, pneumatic mechanical, and chemical stimulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:6111-6117.
- Irkeç MT, & Turkish OSDI Study Group. Reliability and validity of Turkish translation of the Ocular Surface Disease Index (OSDI) in dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(13):408-408.
- Kojima T, Dogru M, Kawashima M, Nakamura S, Tsubota K. Advances in the diagnosis and treatment of dry eye. *Prog Retin Eye Res*. 2020;78: 100842.
- Simsek C, Kojima T, Nakamura S, Dogru M, Tsubota K. The effects of rebamipide 2% ophthalmic solution application on murine subbasal corneal nerves after environmental dry eye stress. *Int J Mol Sci*. 2019;20:4031-4038.
- Simsek C, Kojima T, Nagata T, Dogru M, Tsubota K. Changes in Murine Subbasal Corneal Nerves After Scopolamine-Induced Dry Eye Stress Exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019, 60: 615-623.
- Oliveira-Soto L, Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea*. 2001;20:374-384.
- Hamrah P, Liu Y, Ziang Q, Dana R. Alterations in corneal stromal dendritic cell phenotype and distribution in inflammation. *Arch Ophthalmol*. 2003; 121:1132-1140.
- Zhivov A, Stave J, Vollmar B, Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the corneal epithelium of healthy volunteers and contact lens wearers. *Cornea*. 2007;26:47-54.
- Hazlett LD, McClellan SM, Hume EB, Dajcs J, O'Callaghan R. Extended wear contact lens usage induces Langerhans cell migration into cornea. *Exp Eye Res*. 1999;69:575-577.
- Sankaridurg PR, Rao GN, Rao HN, Sweeney DF, Holden BA. ATPase-positive dendritic cells in the limbal and corneal epithelium of guinea pigs after extended wear of hydrogel lenses. *Cornea*. 2000;19:374-377.
- van Klink F, Alizadeh H, He Y, Mellon JA, Silvany RE, McCulley JP, Niederhorn JY. The role of contact lenses, trauma, and Langerhans cells in a Chinese hamster model of Acanthamoeba keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993;34:1937-1944.
- Szliter EA, Barrett RP, Gabriel MM, Zhang Y, Hazlett LD. Pseudomonas aeruginosa-induced inflammation in the rat extended-wear contact lens model. *Eye Contact Lens*. 2006; 32:12-18.
- Zhang Y, Gabriel MM, Mowrey-McKee ME, Barrett RP, McClellan S, Hazlett LD. Rat silicone hydrogel contact lens model: effects of high- versus low-Dk lens wear. *Eye Contact Lens*. 2008;34:306-311.
- Alzaharani Y, Pritchard N, Efron N. Changes in corneal Langerhans cell density during the first few hours of contact lens wear. *Cont Lens Anterior Eye*. 2016;39:307-310.
- Alzaharani Y, Colorado LH, Pritchard N, Efron N. Longitudinal changes in Langerhans cell density of the cornea and conjunctiva in contact lens-induced dry eye. *Clin Exp Optom*. 2017;100:33-40.
- Sindt CW, Grout TK, Critser DB, Kern JR, Meadows DL. Dendritic immune cell densities in the central cornea associated with soft contact lens types and lens care solution types: a pilot study. *Clin Ophthalmol*. 2012;6:511-519.
- Liu Q, McDermott AM, Miller WL. Elevated nerve growth factor in dry eye associated with established contact lens wear. *Eye Contact Lens*. 2009;35:232-237.
- Tuisku IS, Konttinen YT, Konttinen LM, Tervo TM. Alterations in corneal sensitivity and nerve morphology in patients with primary Sjogren's syndrome. *Exp Eye Res* 2008;86:879-885.
- Liu Q, Xu Z, Xu Y, Zhang J, Li Y, Xia J, Wang Y, He X, Qu J, Hu L. Changes in Corneal Dendritic Cell and Sub-basal Nerve in Long-Term Contact Lens Wearers With Dry Eye. *Eye Contact Lens*. 2020;46:238-244.
- Mcmonnies CW. Psychological and other mechanisms for end-of-day soft lens symptoms. *Optom Vis Sci*. 2013;90:175-181.
- Begley CG, Caffery B, Nichols KK, Chalmers R. Responses of Contact Lens Wearers to a Dry Eye Survey. *Optom Vis Sci*. 2000;77:40-46.
- Chalmers RL, Wagner H, Mitchell GL, Lam DY, Kinoshita BT, Jansen ME, Richdale K, Sorbara L, McMahon TT. Age and other risk factors for corneal infiltrative and inflammatory events in young soft contact lens wearers from the Contact Lens Assessment in Youth (CLAY) study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52: 6690-6696
- Stapleton F, Marfurt C, Golebiowski B, Rosenblatt M, Bereiter D, Begley C, Dartt D, Gallar J, Belmonte C, Hamrah P, Willcox M; TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the subcommittee on neurobiology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54:71-97.
- Efron N. Contact lens wear is intrinsically inflammatory. *Clin Exp Optom*. 2017;100:3-19.
- Saliman NH, Morgan PB, MacDonald AS, Maldonado-Codina C. Subclinical inflammation of the ocular surface in soft contact lens wear. *Cornea*. 2019;00:1-9.
- Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S, Knop E, Ogawa Y, Perez V, Uchino Y, Yokoi N, Zoukhri D. TFOS DEWS II Pathophysiology report. *Ocul Surf*. 2017;15:438-510.
- Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*. 2009;139:267-284.
- Guthoff RE, Wiens H, Hahnel C, Wree A. Epithelial innervation of human cornea. *Cornea*. 2005;24:608-613.

49. Gallar J, Acosta MC, Gutierrez AR, Belmonte C. Impulse activity in corneal sensory nerve fibers after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:4033-4037.
50. Tuominen IS, Kontinen YT, Vesaluoma MH, Moilanen JA, Helintö M, Tervo TM. Corneal innervation and morphology in primary Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:2545-2549.
51. Benítez-Del-Castillo JM, Acosta MC, Wassfi MA, Díaz-Valle D, Gegúndez JA, Fernandez C, García-Sánchez J. Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:173-181.