

糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的研究进展

吴燕妮, 张琪

引用: 吴燕妮, 张琪. 糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的研究进展. 国际眼科杂志 2020;20(8):1367-1370

基金项目: 重庆市科卫联合医学科研项目 (No.2019MSXM003); 重庆市自然科学基金面上项目 (基础研究与前沿探索) (No.cstc2019jcyj-msxmX0398)

作者单位: (400016) 中国重庆市, 重庆医科大学附属第一医院眼科

作者简介: 吴燕妮, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜、眼表疾病。

通讯作者: 张琪, 博士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 角膜、眼表疾病. cqzqwxm@163.com

收稿日期: 2019-12-04 修回日期: 2020-06-28

摘要

糖尿病患者角膜上皮损伤后愈合延迟较常见, 持续不愈合的角膜损伤可导致复发性上皮糜烂、角膜溃疡甚至角膜穿孔, 影响视功能。本文就糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的病理基础、发病机制以及相关治疗的研究进展做一综述。概述了糖尿病患者角膜上皮结构和功能的改变, 阐述了高糖、蛋白酶、泪膜、生长因子和细胞因子、角膜神经以及 microRNA 等在发病机制中的作用, 总结了治疗糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的最新思路。

关键词: 糖尿病; 角膜上皮; 愈合延迟

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.8.15

Recent advances in research on delayed corneal epithelial wound healing in diabetes

Yan-Ni Wu, Qi Zhang

Foundation items: Joint Project of Health Bureau with Science and Technology Bureau of Chongqing (No. 2019MSXM003); Basic Research program of Chongqing Natural Science Foundation Project (No.cstc2019jcyj-msxmX0398)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Qi Zhang. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China. cqzqwxm@163.com

Received: 2019-12-04 Accepted: 2020-06-28

Abstract

• Delayed healing of diabetic corneal epithelial wound is a commonly encountered condition, and persistent corneal epithelial defects may give rise to recurrent epithelium erosion, corneal ulceration, and subsequent perforation as well as affecting visual loss. The current review focused

on the pathological basis, updates of the pathogenesis, and recent advances in the treatment of delayed healing of diabetic corneal epithelial wounds, wherein the roles of hyperglycemia, tear film, proteases, cytokines, corneal nerves and genes were elaborated, and the latest views on treatment strategies, for the delayed healing were summarized as well. Recent advances in research on delayed corneal epithelial wound healing in diabetes mellitus.

• KEYWORDS: diabetes mellitus; corneal epithelium; delayed wound healing

Citation: Wu YN, Zhang Q. Recent advances in research on delayed corneal epithelial wound healing in diabetes. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2020;20(8):1367-1370

0 引言

糖尿病是影响全身的代谢性疾病, 目前全世界有 4.15 亿人患有糖尿病, 并且它的患病率将持续上升^[1]。糖尿病因其导致的各器官慢性并发症而严重损害人们的健康及生活质量, 涉及周围神经、大血管、微循环、肾脏、视网膜等多系统损害。近年来, 糖尿病眼表病变也日渐引起人们重视, 包括干眼、角膜神经病变、角膜上皮损伤愈合延迟等。研究表明糖尿病患者角膜上皮损伤愈合较正常人明显延迟^[2], 持续不愈合的角膜损伤可导致复发性上皮糜烂、角膜溃疡甚至角膜穿孔, 往往影响糖尿病眼术后康复进程且治疗棘手, 严重影响患者的视觉质量和视功能, 也日益引起眼科医生的关注。本文就糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的病理基础、发病机制及相关治疗的最新进展做一综述。

1 糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的病理基础

角膜上皮损伤修复过程包括角膜缘干细胞增殖、分化、迁移至上皮损伤处, 细胞外基质重建等^[3], 糖尿病患者角膜上皮细胞结构和功能的改变, 上皮层黏附结构受损等情况, 可能与糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟密切相关。研究发现, 与正常人相比, 糖尿病患者角膜上皮细胞层数变少, 基底层细胞退化、凋亡, 微绒毛数量减少、水肿, 细胞间隙增大, 出现裂缝, 细胞间连接疏松; 上皮层基底膜脆性增加、退化^[4-5]。基底膜增厚, 脆性增加导致上皮细胞容易脱落, 从而增加角膜上皮损伤修复难度。对于糖尿病患者, 这些角膜上皮结构的改变有助于深入研究糖尿病角膜上皮愈合延迟的机制及治疗。

2 糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的发病机制

2.1 高血糖的作用 长期的高血糖环境首先对角膜上皮细胞产生直接而快速的损伤, 导致其功能减退。其次糖尿病患者体内蛋白质糖基化反应活跃, 糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs) 长期聚集, 其导致角膜上皮损伤愈合延迟的机制如下: (1) 体内高血糖状态

时,大量沉积于角膜上皮细胞和基底膜间的 AGEs 直接破坏基底膜及细胞黏附结构的功能,减少细胞间的黏附作用及扩展;(2) AGEs 与其受体 (RAGE) 结合促进活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生,ROS 可以直接损伤角膜上皮细胞,导致细胞凋亡,还可通过激活 JNK 和 p38 MAPK 通路诱导角膜上皮细胞的凋亡^[6-7]。另一方面活性氧抑制角膜上皮细胞迁移,破坏细胞膜上的蛋白、脂质以及细胞间黏附结构^[8]。

2.2 蛋白酶的作用 糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟与角膜基底膜脆性增加,细胞间黏附结构减少相关,研究发现部分蛋白酶 (protease) 参与了以上过程的发生发展。这些蛋白酶通过水解组成基底膜、细胞外基质的层粘连蛋白以及整合素,对上皮基底膜及细胞间黏附结构进行降解,最终导致基底膜脆性增加,细胞间黏附作用减弱,上皮细胞脱落,角膜上皮损伤修复困难,愈合延迟等^[9]。目前研究最多的是基质金属蛋白酶-10 (matrix metalloproteinase-10, MMP-10) 和组织蛋白 F (CF),二者在糖尿病患者角膜中显著升高,通过降解上皮基底膜及细胞间黏附结构导致角膜损伤愈合延迟^[10]。另外研究发现这两种蛋白酶也有可能参与细胞内信号通路,MMP-10 和 CF 可能通过作用于整合素,使其与相关生长因子受体结合,抑制相关通路的活化,例如整合素 $\alpha 3 \beta 1$,可与表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 结合,抑制 EGFR/Akt 通路,而 EGFR/Akt 通路是刺激角膜上皮损伤愈合的信号通路^[11]。

2.3 泪膜的改变 泪膜由泪腺分泌,自内向外分为黏蛋白层、水液层、脂质层,对于眼表的保护、细胞再生、润滑角膜结膜、伤口愈合具有重要作用。正常人稳定的泪膜中富含抗氧化剂,如维生素 C、维生素 E 等可保护眼表免受自由基等的攻击以维持角膜上皮细胞的完整性^[12],糖尿病患者泪膜不稳定,角膜上皮失去屏障保护,遭受氧化应激中自由基的攻击;另外糖尿病患者泪液成分中多了几种正常人泪液中未曾发现的蛋白,这可能也与眼表病变具有相关性^[13]。泪膜和上皮病变相互作用,当上皮细胞发生病变和缺失,又可影响泪膜的功能,从而形成恶性循环,最终发生角膜上皮病变,角膜上皮损伤愈合延迟甚至畸形。泪膜的改变提醒我们关注糖尿病患者眼表病变的相互影响。

2.4 生长因子和细胞因子相关通路的异常 生长因子和细胞因子是涉及角膜损伤修复在内的细胞活动 (cell behavior)、组织重塑的重要调控因子,它们的异常表达可导致角膜上皮基底膜改变、细胞黏附减少、上皮层脆性增加、基底下神经损伤等。相关的因子研究如下:(1) 胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factors, IGF-1) 对细胞生长及代谢具有重要作用,通过与角膜上皮细胞中的胰岛素受体及 IGF 受体结合介导上皮细胞的存活、增殖及迁移,从而参与角膜上皮损伤修复过程^[14]。对于糖尿病患者,IGF-1 与升高的胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBPs) 结合抑制 IGF-1R 信号通路的激活,并影响上皮细胞增殖、迁移等活动,从而抑制角膜上皮损伤愈合^[15]。(2) EGF 通过其受体 (EGFR 等) 激活其细胞通路下游的蛋白激酶效应器,激活 EGFR-PI3K (磷脂酰肌醇-3 激酶)/Akt 信号通路,这一途径对细胞增殖、迁移至关重要,有研究发现在糖尿病大鼠眼角膜中,EGFR 及其信号通路中 PI3K、Akt 等信号分子表达减少与糖尿病大鼠角膜上皮

损伤愈合延迟相关,部分学者认为高糖诱导的氧化应激抑制 EGFR 信号通路、PI3K/Akt 通路,导致糖尿病角膜上皮创伤愈合受损^[16]。(3) IL-1 β /IL-1Ra (IL-1 受体拮抗剂) 失衡:角膜上皮损伤时,上皮细胞产生较多 IL-1 β 通过与 IL-1R 结合来激活下游因子抑制上皮损伤愈合。正常人群中,上皮损伤还可以产生 IL-1Ra,拮抗 IL-1R 的生物活性,促进中性粒细胞、NK 细胞的浸润,促进上皮损伤愈合;糖尿病大鼠角膜损伤后,上皮细胞产生 IL-1 β 不变,IL-1Ra 的表达被抑制,IL-1 β /IL-1Ra 比值增高,上皮细胞增殖减少,凋亡增加,上皮损伤愈合受损。当加入外源性 IL-1Ra 后,糖尿病小鼠角膜上皮修复加快^[17]。其他因子:阿片类生长因子 (opioid growth factor, OGF)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、转化生长因子 (transforming growth factor- β , TGF- β) 等也逐渐被纳入研究中^[18]。这些生长因子和细胞因子的研究对于糖尿病患者角膜上皮愈合延迟的治疗有着重要意义。

2.5 角膜神经的改变 角膜神经多数来源于三叉神经眼分支,与上皮细胞通过互相释放可溶性营养物质提供营养支持。体外共培养显示三叉神经原细胞释放神经递质和神经肽刺激上皮细胞生长、增殖、分化和胶原蛋白的产生;同时,角膜上皮细胞分泌生长因子 (NGF、CNTF、EGF 等) 促进神经突的形成、延长和存活^[19]。糖尿病患者角膜神经纤维释放的可溶性营养物质减少,维持上皮完整性的营养支持不足;而当角膜上皮受到损伤时,又可以影响神经的延长、存活,这种恶性循环导致角膜上皮的营养支持受到严重影响,引起角膜上皮细胞肿胀、形状不规则、排列紊乱,易脱落,基底膜异常,细胞间黏附结构破坏,上皮损伤修复困难。另一方面,糖尿病患者角膜神经纤维主干密度、角膜神经纤维长度、角膜神经分支密度降低,角膜神经弯曲度增加^[20],角膜神经损伤可能导致角膜知觉减退,影响眨眼反射,导致泪膜的不均匀分布,引起干眼症、上皮修复功能受损等^[21]。

2.6 microRNA 的作用 microRNA 是短链非编码的寡核苷酸,具有强大的调控作用,影响广泛生物活动,并且这些作用多为负性调控,它们通过与相应的 mRNA 结合,阻止基因在转录后水平产生相应蛋白质^[22]。多项研究证实它们在细胞的增殖、分化、迁移、凋亡中具有重要作用^[3]。近年来,学者们发现了 miRNA 在糖尿病患者角膜上的差异性表达,并且对于其作用有了更多认识。Winkler 等^[23] 发现 miR-146a 在糖尿病患者角膜缘细胞的表达高于正常人,miR-146a 通过抑制角膜上皮细胞损伤愈合通路中的信号分子 p38、EGFR 的磷酸化,影响角膜上皮细胞移行,延迟上皮损伤愈合。miR-204-5p 高表达于糖尿病小鼠的角膜中,抑制其下游基因 SIRT1 (silent mating type information regulation 2 homolog-1) 通过蛋白质的去乙酰化调控细胞的存活、发育、代谢和细胞周期。糖尿病患者角膜中 SIRT1 的表达减少,提高 SIRT1 的表达可促进糖尿病角膜上皮损伤的修复,使角膜上皮细胞周期阻滞,增殖发育受损,修复功能减退。给糖尿病小鼠结膜下注射 miR-204-5p 抑制剂可促进 SIRT1 和 cyclin D1 上调来加速创面愈合^[24]。miR-424、miR-182 等异常表达也与角膜上皮细胞损伤愈合延迟相关。虽然糖尿病眼角膜 miRNA 变化的研究刚开始,相关机制仍需进一步探索^[25],但对于糖尿病眼角膜 miRNA 的研究也为我们对于糖尿病角膜上皮愈合延迟的研究打开了新的思路。

3 糖尿病患者角膜上皮损伤愈合延迟的治疗

糖尿病发病率持续上升,其并发症尤其是糖尿病角膜上皮损伤愈合延迟的诊疗仍是一项挑战,目前临床上常规治疗方法包括人工泪液润眼、角膜接触镜,更严重者可可行裂隙缝合术^[26],但这些方法只是为角膜再上皮化提供一个良好环境,并不能从根本上加速角膜上皮化,因此如何加快角膜修复速度已被提上日程,越来越多的学者已加入到当前的探讨中。

3.1 抗氧化应激治疗 氧化应激是引起糖尿病角膜上皮病变的一个重要因素,ROS 直接或间接损伤角膜上皮细胞及细胞间黏附结构引起角膜上皮损伤愈合延迟^[7],相关治疗思路如下:有学者发现局部使用消退素 d1 (resolvin D1, RvD1) 促进糖尿病角膜上皮修复的机制主要是通过抑制 AGEs 途径中相关氧化酶的活性减少 ROS,并且 RvD1 的应用可重新激活氧化应激反应性转录因子 Nrf2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2) 及其下游受损的抗氧化基因的表达^[27]。另外 P 物质 (substance P, SP) 通过作用于 NK-1 受体促进 ROS 的清除以缓解高血糖对角膜上皮的损伤^[28]。

3.2 胰岛素治疗 胰岛素主要用于控制血糖及糖尿病相关并发症,随着对糖尿病并发症认识的加深,人们开始关注胰岛素在眼部并发症方面的应用。2007 年就有学者提出局部使用胰岛素可加快糖尿病小鼠角膜创面的愈合^[29],随着研究深入,研究者发现胰岛素滴眼液可以防止角膜基底神经纤维的丢失^[30],促进角膜上皮昼夜节律性改变的恢复,这可能是胰岛素促进角膜上皮修复的机制^[31]。在临床研究中,术前使用胰岛素眼液可加快患者玻璃体切除术术后角膜上皮愈合速度^[32]。但需要注意的是胰岛素并不能促进正常角膜损伤的愈合,高糖培养的角膜即使处于高浓度胰岛素中,角膜伤口愈合速度仍不及正常角膜^[33]。对于胰岛素的应用仍需更多试验进行探讨,但其前景是可观的。

3.3 生长因子及神经保护因子治疗 糖尿病角膜上皮损伤愈合延迟与角膜神经改变及生长因子关系密切。NGF 因其抗凋亡、抑制炎症的作用促进糖尿病角膜上皮修复^[34-35]。睫状神经营养因子 (ciliary neurotrophic factor, CNTF) 是具有神经保护作用的细胞因子,一方面它可以通过激活 STAT3 刺激角膜上皮干细胞的有丝分裂,另一方面可以促进角膜神经再生,减轻角膜神经病变,从而加速角膜上皮修复^[36]。色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF) 联合二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 促进角膜上皮创面愈合。目前较公认的机制主要包括抑制氧化应激,神经营养保护作用以及抑制炎症反应,未来还需要更多的实验去探讨^[37]。也有学者提出患者自体血清可促进角膜创面的愈合^[38],目前考虑血清中黏附分子、EGF、TGF- β 与这种效果有关,但具体机制并不清楚。尽管我们对相关因子治疗糖尿病角膜上皮损伤愈合延迟的前景看好,但大多数药物的具体使用方案及副作用仍需进一步探讨^[39]。

3.4 角膜缘干细胞移植 角膜上皮细胞由角膜缘干细胞增殖、分化而来,当角膜上皮损伤,一系列的信号通路启动,角膜缘干细胞开始增殖、分化、迁移至上皮损伤处进行修复,糖尿病患者角膜缘干细胞功能障碍,影响角膜上皮的修复^[40]。干细胞移植可能成为治疗糖尿病角膜上皮病变严重病例的有效方法。干细胞来源包括捐献者的健康

干细胞以及脐带血中提取的造血干细胞 (HSC),在糖尿病大鼠的实验中,注射人 HSC 可改善角膜上皮修复情况,但其作用机制尚不明^[41]。虽然角膜缘干细胞的移植技术目前并不成熟,但前景可观,未来可能应用于较多因角膜上皮愈合延迟而影响生活质量的糖尿病患者。

3.5 基因治疗 基因疗法已成功应用于包括角膜在内的不同组织,当前糖尿病角膜病变研究较多的靶基因主要是 MMP-10、组织蛋白 F 以及 C-met,糖尿病患者体内 C-met 含量下调, MMP-10、组织蛋白 F、miRNA (miR-204-5p 等) 表达过量,病毒转染 C-met cDNA 以及 shRNA 沉默 MMP-10、组织蛋白 F 基因与 miRNA,从而治疗角膜上皮损伤愈合延迟^[25],基因治疗目前还有许多未解决的问题,包括基因片段的载体病毒可能诱导机体免疫反应等副作用,但总体来说,基因治疗方案极具前景,极有可能恢复糖尿病患者角膜功能,可以考虑是否进一步开发以供将来临床使用。

4 小结

糖尿病患者角膜病变尤其上皮损伤愈合延迟是糖尿病眼病患者的常见临床问题,影响术后康复且治疗相对棘手,近年来日益引起人们的关注。目前对于糖尿病患者角膜上皮愈合延迟的发病机制及治疗探索仍处于比较初始的阶段,相信随着对糖尿病角膜上皮损伤机制研究的逐渐深入,以及对相关治疗思路的不断探讨,将有望从源头上治疗糖尿病患者的角膜病变,加快对角膜上皮损伤的修复,提高患者的视觉质量。

参考文献

- 1 International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 7th Edition 2015
- 2 Shih KC, Lam KS, Tong L. A systematic review on the impact of diabetes mellitus on the ocular surface. *Nutr Diabetes* 2017;7(3):e251
- 3 Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res* 2015;49:17-45
- 4 Ishibashi F, Kawasaki A, Yamanaka E, et al. Morphometric features of corneal epithelial basal cells, and their relationship with corneal nerve pathology and clinical factors in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Investig* 2013;4(5):492-501
- 5 Huang C, Liao R, Wang F, et al. Characteristics of Reconstituted Tight Junctions After Corneal Epithelial Wounds and Ultrastructure Alterations of Corneas in Type 2 Diabetic Rats. *Curr Eye Res* 2016;41(6):783-790
- 6 Li J, Zhang R, Wang C, et al. Activation of the small GTPase Rap1 inhibits choroidal neovascularization by regulating cell junctions and ROS generation in rats. *Curr Eye Res* 2018;43:934-940
- 7 Yu L, Gan X, Liu X, et al. Calcium oxalate crystals induces tight junction disruption in distal renal tubular epithelial cells by activating ROS/Akt/p38 MAPK signaling pathway. *Ren Fail* 2017;39:440-451
- 8 Jiang QW, Kaili D, Freeman J, et al. Diabetes inhibits corneal epithelial cell migration and tight junction formation in mice and human via increasing ROS and impairing Akt signaling. *Acta Pharmacol Sin* 2019;40(9):1205-1211
- 9 Ljubimov AV. Diabetic complications in the cornea. *Vision Res* 2017;139:138-152
- 10 Saghizadeh M, Kramerov AA, Yaghoobzadeh Y, et al. Adenovirus-driven overexpression of proteinases in organ-cultured normal human corneas leads to diabetic-like changes. *Brain Res Bull* 2010;81:262-272
- 11 Saghizadeh M, Epifantseva I, Hemmati DM, et al. Enhanced wound healing, kinase and stem cell marker expression in diabetic organ-cultured human corneas upon MMP-10 and cathepsin F gene silencing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(13):8172-8180

12 Peponis V, Papathanasiou M, Kapranou A, *et al.* Protective role of oral antioxidant supplementation in ocular surface of diabetic patients. *Br J Ophthalmol* 2002;86:1369-1373

13 Li B, Sheng M, Xie L, *et al.* Tear proteomic analysis of patients with type 2 diabetes and dry eye syndrome by two-dimensional nano-liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(1):177-186

14 Trosan P, Svobodova E, Chudickova M, *et al.* The key role of insulin-like growth factor I in limbal stem cell differentiation and the corneal wound - healing process. *Stem Cells Dev* 2012; 21 (18) : 3341-3350

14 Wu YC, Buckner BR, Zhu M, *et al.* Elevated IGFBP3 levels in diabetic tears: a negative regulator of IGF-1 signaling in the corneal epithelium. *Ocul Surf* 2012;10(2):100-107

15 Stuard WL, Titone R, Robertson DM. Tear Levels of Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 3 Correlate With Subbasal Nerve Plexus Changes in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(14):6105-6112

16 Xu KP, Li Y, Ljubimov AV, *et al.* High glucose suppresses epidermal growth factor receptor/phosphatidylinositol 3 - kinase/Akt signaling pathway and attenuates corneal epithelial wound healing. *Diabetes* 2009;58(5):1077-1085

17 Yan C, Gao N, Sun H, *et al.* Targeting imbalance between IL-1 β and IL-1 receptor antagonist ameliorates delayed epithelium wound healing in diabetic mouse corneas. *Am J Pathol* 2016;186:1466-1480

18 Sassani JW, Mc Laughlin PJ, Zagon IS. The Yin and Yang of the opioid growth regulatory system; focus on diabetes - the Lorenz E. Zimmerman tribute lecture. *J Diabetes Res* 2016;9703209

19 Kowtharapu BS, Stahnke T, Wree A, *et al.* Corneal epithelial and neuronal interactions; role in wound healing. *Exp Eye Res* 2014; 125: 53-61

20 Cai D, Zhu M, Petroll WM, *et al.* The impact of type 1 diabetes mellitus on corneal epithelial nerve morphology and the corneal epithelium. *Am J Pathol* 2014;184:2662-2670

21 Dehghani C, Pritchard N, Edwards K, *et al.* Abnormal Anterior Corneal Morphology in Diabetes Observed Using *In Vivo* Laser-scanning Confocal Microscopy. *Ocul Surf* 2016;14(4):507-514

22 Bartel DP. MicroRNAs; target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009;136:215-233

23 Winkler MA, Dib C, Ljubimov AV, *et al.* Targeting miR-146a to treat delayed wound healing in human diabetic organ-cultured corneas. *PLoS One* 2014;9:e114692

24 Gao J, Wang Y, Zhao X, *et al.* MicroRNA - 204 - 5p - mediated regulation of SIRT1 contributes to the delay of epithelial cell cycle traversal in diabetic corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 1493-1504

25 Funari VA, Winkler M, Brown J, *et al.* Differentially expressed wound healing-related microRNAs in the human diabetic cornea. *PLoS One* 2013;8(12):e84425

26 Bikbova G, Oshitari T, Baba T, *et al.* Neuronal changes in the

diabetic cornea; perspectives for neuroprotection. *Biomed Res Int* 2016; 2016;5140823

27 Zhang Z, Hu X, Qi X, *et al.* Resolvin D1 promotes corneal epithelial wound healing and restoration of mechanical sensation in diabetic mice. *Mol Vis* 2018;24:274-285

28 Yang L, Sui W, Li Y, *et al.* Substance P Inhibits Hyperosmotic Stress- Induced Apoptosis in Corneal Epithelial Cells through the Mechanism of Akt Activation and Reactive Oxygen Species Scavenging via the Neurokinin-1 Receptor. *PLoS One* 2016;11(2):e0149865

29 Zagon IS. Use of Topical Insulin to Normalize Corneal Epithelial Healing in Diabetes Mellitus. *Arch Ophthalmol* 2007;125(8):1082

30 Chen DK, Frizzi KE, Guernsey LS, *et al.* Repeated monitoring of corneal nerves by confocal microscopy as an index of peripheral neuropathy in type-1 diabetic rodents and the effects of topical insulin. *J Peripher Nerv Syst* 2013;18:306-315

31 Song F, Xue Y, Dong D, *et al.* Insulin restores an altered corneal epithelium circadian rhythm in mice with streptozotocin-induced type 1 diabetes. *Sci Rep* 2016;6:32871

32 Bastion ML, Ling KP. Topical insulin for healing of diabetic epithelial defects?: A retrospective review of corneal debridement during vitreoretinal surgery in Malaysian patients. *Med J Malaysia* 2013; 68: 208-216

33 Abdelkader H, Patel DV, McGhee CNJ, *et al.* New therapeutic approaches in the treatment of diabetic keratopathy: a review. *Clin Exp Ophthalmol* 2011;39:259-270

34 Park JH, Kang SS, Kim JY, *et al.* Nerve growth factor attenuates apoptosis and inflammation in the diabetic cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:6767-6775

35 Zhou Q, Chen P, Di G, *et al.* Ciliary neurotrophic factor promotes the activation of corneal epithelial stem/progenitor cells and accelerates corneal epithelial wound healing. *Stem Cells* 2015;33:1566-1576

36 He JC, Pham TL, Kakazu A, *et al.* Recovery of Corneal Sensitivity and Increase in Nerve Density and Wound Healing in Diabetic Mice After PEDF Plus DHA Treatment. *Diabetes* 2017;66:2511-2520

37 Schulze SD, Sekundo W, Kroll P. Autologous serum for the treatment of corneal epithelial abrasions in diabetic patients undergoing vitrectomy. *Am J Ophthalmol* 2006;142:207-211

38 Davidson EP, Holmes A, Coppey LJ, *et al.* Effect of combination therapy consisting of enalapril, α -lipoic acid, and menhaden oil on diabetic neuropathy in a high fat/low dose streptozotocin treated rat. *Eur J Pharmacol* 2015;765:258-267

39 Saghizadeh M, Soleymani S, Harounian A, *et al.* Alterations of epithelial stem cell marker patterns in human diabetic corneas and effects of c-met gene therapy. *Mol Vis* 2011;17:2177-2190

40 Kramerov AA, Ljubimov AV. Stem cell therapies in the treatment of diabetic retinopathy and keratopathy. *Exp Biol Med (Maywood)* 2016; 241:559-568

41 Zickri MB, Ahmad NA, Maadawi ZM, *et al.* Effect of stem cell therapy on induced diabetic keratopathy in albino rat. *Int J Stem Cells* 2012;5:57-64