

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**TIP 1 VE TIP 2 DİYABET HASTALARININ
KORNEALARINDAKİ STROMA VE ENDOTEL
DEĞİŞİKLİKLERİN KONFOKAL
MİKROSKOP İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sibel Zorlu Öztürk

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Sinan Emre

MANİSA, 2011

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde emeği geçen, iyi bir göz doktoru olarak yetişmem için gayret gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Esin F. Başer'e, Prof. Dr. Süleyman Sami İlker'e, Prof. Dr. Özcan Kayıkçıoğlu'na, Yard. Doç. Dr. Göktuğ Seymenoğlu'na çok teŖekkür ederim.

Eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında bana bilgi ve deneyimlerini içten bir Ŗekilde aktaran, değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Sinan Emre'ye

Eğitim boyunca beraber pek çok Ŗey paylaŖtıđımız doktor arkadaşlarım Dr. Yusuf Ziya Kaya'ya, Dr. Hüseyin Mayalı'ya, Dr. Meliha Cinali'ye, Dr. Nehir İnceoğlu'na, Dr. Yener Silindir'e, Dr. Bilge Öztürk'e, Dr. Ceren Gülhan'a, Dr. Sinan Bilgin'e Dr. Oğuz Ulusoy'a, Dr. İbrahim Türker'e, Dr. Gülsüm İrey'e, Dr. Duygu Akbulut'a, Dr. Fatih Ballı'ya, Dr. Ŗaban Kılıç'a, Dr. Mehmet Türkoğlu'na, Dr. ÇađdaŖ Cansız' a,

Ameliyathanede bana her zaman yardımcı olan Yusuf Atıcı'ya

Tezimin hazırlanması süresince ve uzmanlık eğitimim süresince bana destek olan sevgili eŖim Sidar'a, kızım Hazal'a, sevgili anneme, kardeŖim IŖıl'a çok teŖekkür ederim.

Dr. Sibel Zorlu Öztürk

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
Kornea Anatomisi	4
Kornea Fiziyojisi	8
Diabetes Mellitus	11
Konfokal Mikroskop	21
MATERYAL – METOD	40
BULGULAR	46
TARTIŞMA	52
ÖZET	60
İNGİLİZCE ÖZET	61
KAYNAKLAR	62

GİRİŞ

Diabetes kelimesi ilk kez Anadolu topraklarında milattan sonra 2.yüzyılda Arateus tarafından kullanılmıştır (1). Endojen insulinin mutlak veya göreceli yetersizliği, periferik etkisizliği sonucu ortaya çıkar. Kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluk, kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış aterosklerozis ile seyreden bir sendromdur (2).

Diabetes Mellitus (DM) tüm dünyada en sık rastlanan endokrin hastalıktır. Dünya nüfusunun %6'sını etkilediği düşünölmektedir. 2025 yılında 300 milyon diyabetik hasta olacağı tahmin edilmektedir (3).

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) 2007 yılında yapılan 19. kongresinde yayınlanan verilere göre 20-79 yaş arası yetişkinlerin %7.3'ünde diyabet saptanmıştır (4).

İstanbul Tıp Faköltesi tarafından gerçekleştirilen 'Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevelans Çalışması-II (TURDEP-II Çalışması)'nın saha araştırması Ocak 2010-Haziran 2010 tarihleri arasında birçok merkezde yapılmıştır. TURDEP-II'ye göre Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığının %13.7'ye ulaştığı görölmüş. Daha önceki çalışmanın aksine kentserde diyabet oranı biraz daha yüksek olmakla birlikte, TURDEP-II çalışmasına göre kentsele ve kırsal diyabet sıklığı arasında çok anlamlı bir fark kalmadığı, bilinen diyabet ve yeni diyabet oranları birbirine yakın olduğu (%45 ve %55) bulunmuştur. Diyabet sıklığı erkeklerde kadınlarda hafifçe daha düşük bulunmuş olup kadın ve erkekler arasında çok anlamlı bir fark görölmemiş. Bölgesel diyabet prevelansı Kuzey Anadolu'da %14.5 ile en az, Doğu Anadolu'da ise %18.2 ile en fazla, diyabet farkındalığı Batı Anadolu'da en yüksek (Bilinen Diyabetlilerin Toplam Diyabetlilere oranı %61.6), Doğu Anadolu Bölgesi'nde ise en düşük (Bilinen/Toplam Diyabet oranı %47.2) bulunmuştur. TURDEP-II çalışmasına göre 40-44 yaş grubundan itibaren nüfusun en az %10'u diyabetik olduğu görölmüştür. (TURDEP-I'de ise %10'nun üzerindeki diyabet sıklığı 45-49 yaş grubunda başlamakta). Buna dayanarak Türkiye'de diyabetin 1998 yılına göre yaklaşık olarak 5 yaş daha erken başladığı düşünölmüştür. Erkeklerde açlıkta gizli diyabet, kadınlarda ise

toklukta gizli diyabet oranı daha fazla olduğu, kentsel ve kırsal arasında gizli şeker (prediyabet) açısından anlamlı bir fark kalmadığı bulunmuştur (5).

Sonuç olarak 1998'de yapılan TURDEP-I'e göre, yeni tamamlanan TURDEP-II çalışmasında Türkiye'de diyabet 12 yılda diyabet sıklığı %90 arttığı görülmüştür (5).

Diyabetin göze olan etkisi, ilk olarak 1855 yılında Jaeger tarafından tanımlanmıştır (6). Diyabetik hastalarda yapılan sonraki araştırmalarda, kornea hassasiyetinde azalma, gözyaşı yapımında azalma, epitelyal keratopati, gecikmiş yara iyileşmesi, kornea epitelinde değişiklikler, katarakt, retinal kapiller iskemik değişiklikler, makula ödemi ve iskemisi, optik nöropati, vitreus hemorajisi, traksiyonel retina dekolmanına kadar uzanabilen birçok patolojiye rastlanmıştır (6).

Diyabetik retinopati ciddiyetinde en iyi belirteç hastalığın süresidir (7). Beş yıldan az süreli tip I DM (İnsuline bağımlı DM)'de retinopati sıklığı nadirdir, buna karşın 5-10 yıldır tip I DM olanların % 27'sinde, 10 yıldan uzun süredir tip I diyabeti olanların % 71-90'ında diyabetik retinopatisi mevcutken, 20-30 yıl sonra insidans % 95'e yükselir ve bu hastaların % 30-50'sinde proliferatif diyabetik retinopati (PDR) gelişir (8).

Tip II diyabetli hastalardaki retinopati prevalansı 11-13 yıllık sürenin sonunda %23'iken 16 yıl veya daha eski olgularda bu oran %60'a ulaşmaktadır. Bu olgularda 10 yılın üzerindeki süreçte PDR ortaya çıkış oranı %3'tür (6). Diyabetik retinopati, "Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)" çalışmaları, yapılan tedavilere rağmen görme keskinliği kaybının nedeni olmayı sürdürmektedir. Özellikle makulopati, DM'li hastalarda en sık görme keskinliği azalması nedenidir.

10 yıl boyunca diyabetik hastalarda yapılan izlemde retinopati ortaya çıkması insülin almayan grupta %89, insülin alan grupta %67 saptanmıştır (9).

Ağır diyabetlerde tekrarlayan kornea erezyonları seyrek değildir ve retinopati ile bozulan görmeyi daha da bozabilir. Bu erezyonlar genelde bariz hafif yaralanmalar takiben gelişir, ancak epitel yıkımı katarakt çıkarımı ve vitrektomi işlemleri gibi oftalmik cerrahi sonrası da gelişebilir. Bowman tabakasına daha az bazal sıkı bağların girişi ve güçsüz sıkı bağ kopyaları diyabetik kornealarda tarif edilmiştir (10).

Diyabetik olmayan kornea erezyonlarından farklı olarak diyabetik kornealar sadece kornea erezyonu gelişimine yatkın olmazlar ayrıca devam eden iyileşmeyen epitel defektleri vardır. Bu nörotrofik hastalık ve limbal vaskülopati gibi faktörlerin eklenmesine bağlı olabilir (11).

Kornea endoteli normal korneal hidrasyon, kalınlık ve geçirgenliğin korunması için esastır. İlk defa Vogt tek sıra hücreleri gözlemlemiştir. Korneal endoteli tek sıra, çoğunlukla hegzagonal hücrelerden oluşur. Bu hücrelerin apikal yüzeyleri ön kamarada, basal yüzeyleri Descement membranındadır. Tipik olarak genç endotelial hücreler büyük nükleuslu ve belirgin mitokondrilidir. Bu organeller aktif transportta ve normal stromanın geçirgenliğinin korunmasında önemli rol oynar

İnsan endotel hücreleri proliferer olmaz. Hücre kaybı genişleme ve komşu hücrelerin defektif alanı örtmek için ilerlemesi ile sonuçlanır. Endotelial hücre büyüklüğü, şekli ve sayısı yaş ve stres derecesi ile ilişkilidir. Örneğin yüksek hücre sayısı, uniform hegzagonal ve düşük varyasyon koefisienti normal durumu gösterirken, düşük hücre dansitesi, az sayıda hegzagonal hücre ve yüksek varyasyon koefisienti stres durumunda endoteli gösterir. Endotel hücrelerin lateral membranında bulunan endotelial hücre ve bağlantılarının (junction) bütünlüğü endotelial metabolik pompanın kontrolünde en önemli role sahip bariyeri oluşturur.

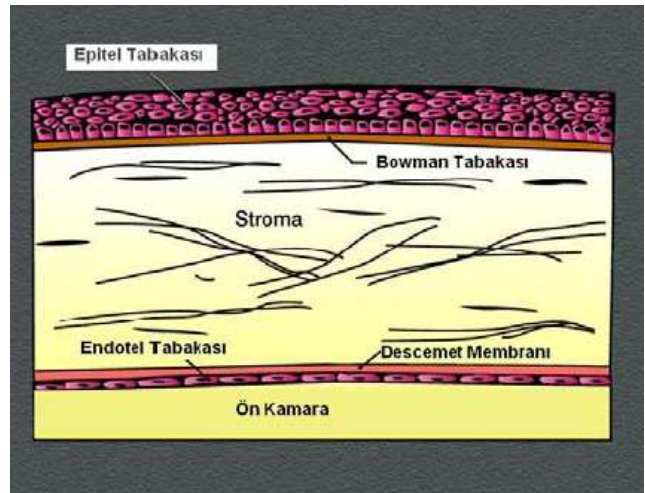
GENEL BİLGİLER

KORNEA ANATOMİSİ

Kornea

Kornea embriyolojik olarak incelendiğinde nöroektoderm ve mezenşim olmak üzere iki dokudan köken almıştır. İlk olarak intrauterin hayatın 8. haftasında yüzeyel ektodermden kornea epiteli ve Descemet zarı gelişmektedir. Ve hemen devamında nöroektodermden endotel oluşmaktadır. 5. ayda mezenşim dokunun göçüyle kornea stroması ve yüzey tabakada bu hücrelerin yoğunlaşmasıyla da Bowman katı gelişmektedir. Kornea, makroskopik olarak baktığımızda skleranın devamı ve 1/3 ön kısmında yer alan saydam ve optik özelliği olan bölümdür. Kornea skleraya adeta saat camı gibi yerleşmiş ve 40–45 diyoptri (D) kırma gücü olan konveks bir yüzeye sahiptir. Optik görevinden başka dış ortama karşı koruyuculuk görevini de üstlenmiştir. Normal kalınlığı merkezde 520 µm, periferde 650 µm'dir. Erişkinde horizontal çapı 12.6 mm, vertikal çapı 11.7 mm, ön eğrilik yarıçapı 7.8 mm ve arka eğrilik yarıçapı 6.8 mm'dir. Yeni doğan döneminde vertikal kornea çapı 10 mm'dir. Kırıcılık gücü yaklaşık 51 D'dir. Bir yaşında erişkin seviyeye ulaşır. Ön yüzey kırma gücü +48.8 D arka yüzeyinin kırma gücü -5.8 D olmak üzere toplam kırıcılık gücü +43.0 D'dir. Kornea, gözün toplam kırma gücünün %70'ini oluşturur. Refraktif indeksi 1.376'dır. Kornea gelişimi 6 yaşa kadar devam etmektedir.

Kornea şeffaf ve avasküler bir dokudur ve histolojik olarak 5 ayrı tabakadan oluşur: epitel, Bowman membranı, stroma, Descemet membranı, endotel. En dış tabaka olan epitel tabakası, oküler yüzeyi oluşturan elemanlardan biridir (Resim 1).



Resim 1: Kornea tabakalarının şematik görünümü (12).

Kornea Epiteli

Keratinize olmayan, çok katlı skuamoz epitelidir. Bazal kolumnar tabaka, bazal laminaya, hemidesmosomlarla tutunmuştur. Bazal tabaka üstünde, 2–3 kat poligonal kanat hücreler bulunmaktadır. Yüzeydeki epitel hücre tabakası, oldukça incedir (30 μ) ve birbirine zonula okludenslerle bağlıdır. Bu zonüller epitele yarı geçirgen özellik kazandırır. Yüzeydeki hücrelerde bulunan mikropili ve mikroviluslar, apikal yüzeyin düzensiz olmasına sebep olur. Prekorneal gözyaşı filmi ile oküler yüzeyin pürüzsüz ve düzgün olması sağlanır. Yüzey hücrelerinin altındaki epitel hücreleri, birbirine desmosomlarla bağlıdır. Fakat bu hücreler, bazal bölgeden yukarıya doğru göç eder ve dökülürler. Epitel hücreleri ayrıca kök hücrelerinin kaynağı olan limbustan, santrale doğru göç ederler. Kök hücrelerinin bölünmesi ile oluşan yeni nesil hücreler, kornea epitel hücrelerini oluştururlar. Limbal hücrelerin hasarı (kimyasal yanıklar, trahom gibi) süreklilik gösteren epitel defektlerine sebep olur.

Bowman Tabakası

Kalınlığı 10–14 μ 'dur. Temel olarak tip 1 kollajen yapıdadır. Hücresel içeriği ve çoğalma yeteneği olmayan bu tabakanın asıl fonksiyonu korneanın şeklini muhafaza etmektir. Rejenere olmadığından skar dokusu ile iyileşir.

Stroma

Kalınlığı santralde ortalama 450 μ 'dur. İçeriğindeki %78 su ile kornea kalınlığının %90'ını oluşturur. Destek dokusu olan stroma içerdiği kollajen liflerle korneanın korunmasını, mimarisinin muhafazasını ve saydamlığının sağlanması görevlerini üstlenmiştir. Temel olarak tip 1 kollajenden oluşmasına rağmen tip 3, 5 ve 6 da bulundurulur.

Stroma içerisinde seyrek olarak dağılmış keratosit adı verilen fibroblast kökenli hücreler bulunmaktadır. Sayıları 200 milyon ile 1.5 milyar arasında değişmektedir. Keratositler glikozaminoglikan yapımına aktif olarak katılırlar. Glikozaminoglikanlar; fibriller arası mesafeleri doldurmakta ve anyonik bir ortam oluşturarak katyon ve su bağlamaktadır. Stromada 3 tip glikozaminoglikan bulunmaktadır: keratan sülfat (%50), kondroitin sülfat (% 25) ve kondroitin sülfat A (%25).

Descement Membranı

Endotelin bazal membranıdır. Erişkinlerde 8–10 μ kalınlıktadır. Temel olarak tip 3 ve 4 kollajen bulundurur.

Endotel

Genelde tekli hegzagonal bir kısmı da poligonal hücrelerden oluşmuş 4–6 μ kalınlığındaki en iç tabakadır. Embriyogenezin erken döneminde korneanın arkası nöral-krest kaynaklı (13), düzenli yerleşmiş küp şeklinde hücreler ile kaplıdır (14). Sağlam insan endoteli aköz tarafından bakıldığında bal peteği benzeri mozaik bir yapıda tek katlı bir tabakadır. Hücreler kişi yaşlandıkça düzleşirler, erişkin yaşta 4 μ m boyuna geldiklerinde değişmezler. Rejenerasyon yeteneği olmayan bu hücrelerin genç erişkinde sayısı milimetre karede 3000–4000 dir. Bariyer ve pompa fonksiyonu ile korneal hidrasyonu düzenler ve böylelikle korneanın saydam kalmasını sağlar. Korneada damarsal yapı bulunmamaktadır. Sinirleri duyuşal sinirlerdir. N. trigeminusun oftalmik dalı ve uzun silier sinirler ile innerve olur. Sinir uçları, stromada Bowman membranı altında ve epitelyumda sonlanır. Korneada ağrı ve soğuk reseptörleri, ısı ve dokunma duyusu reseptörlerinden daha fazladır (12).

Strese Endotelin Cevabı

Endotelin strese nispeten sınırlı bir cevabı vardır. Hafif streste morfometrik değişiklikler görülürken daha ağır streste hücre kaybı ile birlikte morfometrik değişiklikler görülür. Morfometrik değişikliklerin endotel hücre iskeletindeki değişikliklerden kaynaklandığına inanılmaktadır (15). Stres kaynakları metabolik (hipoksi veya hiperglisemi gibi) veya toksik (ilaç veya koruyucu ajanlar) olabilir, ayrıca stres, pH, iyonizasyon ve ozmolarite veya cerrahi travma kaynaklı olabilir.

Metabolik streslerden biri de hiperglisemidir. Yaşa uygun kontrolleri ile karşılaştırıldığında tip 1 ve tip 2 diyabetiklerde daha düşük ortalama hücre yoğunluğu ve daha fazla pleomorfizm ve polimegatizm şeklinde morfometrik ve morfolojik değişiklikler gösterilmiştir (16).

Kornea İnervasyonu

Kornea sinir yönünden çok zengindir. Bunların hepsi duyu sinirleridir ve N. Trigemius'un oftalmik dalından (V1) gelen uzun arka siliyer sinirler, ön ve arka dala ayrılarak korneaya girmektedirler. Lifler korneaya ulaştıkları noktadan itibaren miyelin kılıflarını kaybederler. Ön kısma giden sinirler epitel bazal membranı ve bazal hücreler seviyesinde sonlanır. Buna karşılık endotel seviyesinde sinir lifi yoktur (17). Korneada fonksiyonu tam bilinmemekle beraber sempatik sinir lifleri de gösterilmiştir (18).

Konjonktiva

Konjonktiva, ince bir müköz membrandır. Palpebral konjonktiva, bulber konjonktiva ve forniksler olmak üzere 3 bölgeye ayrılabilir. Palpebral konjonktiva, göz kapağının mukokutanöz birleşim yerinden başlar ve kapağın iç yüzeyini kaplar. Bu bölüm, tarsa sıkıca yapışıktır. Bulber konjonktiva ve forniksi oluşturan konjonktiva, serbestçe hareket eder. Bulber konjonktiva, limbusta, tenon kapsülü ile birleşir (12).

Konjonktivayı; keratinize olmayan, çok sayıda goblet hücre içeren skuamoz epitel ve ince, iyi vaskülarize substansia propria oluşturur. Substansia propriada; lenfatik damarlar, plazma hücreleri, makrofajlar ve mast hücreleri bulunur. Konjonktivada, konjonktivaya ait lenfoid dokusunun özelleşmiş lenfosit kümeleri bulunmaktadır. Bu yapı, T ve B lenfositlerini ihtiva eder. Bu bölgeler, antijeni işlemekle yükümlüdür (12).

Konjonktiva epitelinin kalınlığı, 2 ile 5 hücre arasında değişmektedir. Bazal hücreler kübiktir, yüzeye ulaşırken polihedral, yassı hücrelere dönüşür. Henle kriptaları, üst tarsal konjonktivanın 1/3 üst ve alt tarsal konjonktivanın 1/3 alt kısmında yer almaktadır (12). Bulber konjonktivayı, anterior siliyer arterler besler. Tarsal konjonktiva, kapakların marjinal arter arkadlarının dalları tarafından beslenir. Posterior konjonktival arterler, forniks ve bulber konjonktivayı besler. Limbus, anterior konjonktival arterlerin dalları olan siliyer arterler ile beslenir. Anterior ve posterior arterler arasındaki anastomozlar, limbustan 3–4 mm uzaktadır (12). Konjonktivanın lenfatik drenajı, kapak lenfatikleri ile uyumlu şekilde, medial bölgeden submandibular lenf bezlerine, lateral bölgeden preauriküler lenf bezlerine olur (12). Konjonktivanın innervasyonu, 5. kranyal sinirin oftalmik dalı ile sağlanır.

KORNEA FİZYOLOJİSİ

Kornea hücrelerinde metabolizma

Korneanın epitelyum hücreleri, keratositler ve endotel hücreleri için ana enerji kaynağı glukozdur. Epitel hücreleri glukozu %90 oranında aköz hümörden alır, geri kalan %10 limbal damarlardan ve gözyaşından sağlanır. Korneada glukoz üç metabolik yolla kullanılır. Bunlar trikarboksilik asit (TCA) siklusu, anaerobik glikoliz ve heksoz monofosfat (HFM) şantıdır. Epitel hücreleri glukozu glukoz-6 fosfata çevirir ve bunun %85'i anaerobik glikoliz ile pürivata çevrilir. Pürivatin çoğu laktata çevrilirken bir kısımda TCA siklusunda kullanılır ve daha fazla oranda ATP elde edilir. Laktat epitelden geçemez ancak stroma ve endotelden difüzyonla geçerek aköze ulaşır. Hipoksik ortamda fazla miktarda laktoz oluşur. Bu durum bölgesel asidoza, epitelyum ve stromada ödeme yol açar. HMF şantı ile de glukozdan NADPH elde edilir ve serbest radikallerin ortamdaki uzaklaştırılması için kullanılır.

Keratositler stromal kollajen ve proteoglikanları sentezlerler. Korneanın şeffaflığının sağlanmasında önemli işlev görürler. Normal koşullarda fazla aktif değildirler. Endotel hücreleri epitel hücrelerinden metabolik olarak beş kat daha aktiftir. Yoğun enerji gerektiren stromal hidrasyonun kontrolünden birinci derecede sorumludur. Enerji temel olarak anaerobik glikolizden ve kısmen TCA siklusundan sağlanır.

Oksijen Metabolizması

Epitel oksijenini gözyaşı tabakasından, stroma ve endotel ise aközden alır. Gözler açık olduğunda korneadaki oksijen kısmi basıncı 155 mmHg'ya ulaşırken gözler kapandığında bu oran 55 mmHg'ya düşer. Aközdeki oksijen basıncı ise 30-40 mmHg arasındadır. Oksijen, glukoz TCA siklusunda metabolizma olurken kullanılır. Her glukoz molekülü için 36-38 mol ATP elde edilir. Enerji elde etmek için TCA siklusu veya glikolitik yolun kullanım seçimi hücrelerin enerji gereksinimine göre değişir. Bu durumda endotelde TCA siklusu epitele göre daha aktiftir.

Oksijen süperoksite ve ondan sonra da hidrojen peroksite çevrildiğinde organizma için son derece hasar verici olmaktadır. Epitel ve endotel hücrelerinde serbest radikalleri indirgeyen glutatyon redüktaz ve peroksidaz enzimleri de işlevleri için glukozu ihtiyaç duyar.

İntraselüler glutasyon 1/3 oranında azaldığında, endotelin pompa fonksiyonu ve buna bağlı olarak kornea şeffaflığı belirgin olarak azalır.

Stromal Hidrasyon ve Kornea Şeffaflığı

Korneanın ağırlığının %78'ini su oluşturur. Korneanın şeffaflığını koruyabilmesi için suyun sürekli olarak stromadan epitelyum ve endotel yoluyla dışarıya pompalanması gerekmektedir. Endotel ve epiteli işlev görmeyen bir kornea 3 katına kadar genişleyebilir, opak bir görünüm kazanır. Korneanın hidrasyonunun kontrol edilmesinde başlıca 5 faktör rol oynar. Bunlar sırasıyla; epitelyum ve endotelin bariyer fonksiyonu, stromanın şişme basıncı, epitelyum ve endoteldeki iyon transferi, göz içi basıncı ve kornea yüzeyinden suyun buharlaşmasıdır.

Korneanın epitelyum hücreleri birbirine sıkı bağlar (zonula okludens) ile bağlanmıştır. Hücre zarları birbirine adeta kaynaşmıştır. Epitel hücrelerinin lipid yapısı ve hücreler arası sıkı bağlantılar bu katmandan iyon ve su geçişini engeller.

Endotelde zonula okludens yerine makula okludens tarzı sıkı bağlantı vardır. Bunlar hücreleri epiteldeki gibi çepeçevre sarmazlar. Normal şartlar altında epitelyum, stroma ve endotelin elektrolit difüzyonuna rölatif dirençleri sırasıyla 2000:1:10 dur. Endotelin sıvılara daha geçirgen olması avasküler olan korneanın glukoz ve aminoasit gibi gerekli maddeleri korneanın iç katlarına taşıyabilmesi için gereklidir.

Epitel ve endotel kaldırıldığında kornea stroması su alır şişer. Normal kornealarda korneanın şişme basıncı 55 mmHg'dır. Şişme basıncı kornea kalınlığı ile ters orantılıdır. Kornea su tutup kalınlaştıkça, şişme basıncı düşer. Korneanın su tutmasının sebebi negatif elektrik yükü taşıyan glikozaminoglikanların (keratan sülfat, kondriotin, kondroitin sülfat) birbirini itme gücüdür. Stromanın şişmesini engellemek için su emme basıncının, suyu stromadan çıkaran bir güçle dengelenmesi gerekmektedir.

Kornea göziçi basıncı 50 mmHg'ya ulaşıncaya kadar normal kornea kalınlığını korur. Bu yaklaşık stromanın şişme basıncı kadardır. Göziçi basıncı 50 mmHg'nın üzerine çıktığı zaman veya endotel fonksiyonu bozuk olduğunda, endotel pompası yetersiz kalır. Epitel ve stroma ödemi olur. Göziçi basıncı ve stromal şişme basıncı arasındaki ilişki aşağıdaki gibidir.

Su emme basıncı = GİB - stromanın şişme basıncı

Kornea kalınlığı arttıkça korneanın şişme basıncı düşer. Örneğin hafif kornea ödemi varlığında yani endotel pompa fonksiyonu korneayı dehidrate etmeye yetmiyorsa, 50 mm Hg'den daha düşük göziçi basınçları stromada ve epitelde ödem yaratır. Çünkü stromal şişme basıncı azalmıştır. Endotel fonksiyon yetmezliğine bağlı kornea kalınlığı 0,60 mm'ye ulaştı ise, 30 mmHg'lık göziçi basıncı epitelyum ödemi yaratmak için yeterli olmaktadır.

Endotelde bulunan sıvı pompası endotelin aktif dehidratasyonundan sorumludur. Stromadan aköze doğru aktif iyon pompalanması söz konusudur. Su da pasif olarak iyonları takip eder. İyon transportu 2-3 mOsm'lük osmatik fark yaratır ve bu fark stromanın şişme basıncını dengeler. Endotel hücrelerindeki pompa sisteminin ana amacı sodyumu aköze aktif olarak pompalamak ve buna bağlı olarak su geçişini sağlamaktır. Bu sistemin çalışması için gereken diğer molekül bikarbonattır. Bikarbonatın endotelden aköze aktif olarak pompalanması, endotel ve aköz arasında -500 µvoltluk (aköz negatif) bir elektrik potansiyel fark yaratır. Bu durum sodyum iyonunun aköze geçişi için gerekmektedir (19).

- a) Hücrenin basolateralinde olan Na/K ATP'az pompası Na'u hücre dışına pompalarken, K'u hücre içine alır.
- b) Endotel hücrelerinin basal bölgesinde Na/H pompası sayesinde hücre içindeki H, stromaya aktif olarak geçer. Bu durumun stromanın daha asidik olmasına neden olur. Ekstrasellüler alanın daha asidik olması, bu bölgeden hücre içine geçen karbondioksit miktarını artırır.
- c) Hücre içinde karbondioksit, karbonik anhidraz enzimi sayesinde önce su ile birleşerek karbonik aside, daha sonra ise de hidrojen ve bikarbonat iyonlarına dönüşür.
- d) Oluşan bikarbonat, endotel hücrelerinin apikal bölgesinden Na/2HCO₃ ortak transport sistemi ile aköze, aktif olarak pompalanır.
- e) Sonuçta bikarbonat iyon pompası nedeniyle yaratılan aközdeki bazık ortam, hücrenin basolateraline pompalanan sodyumun aköze geçişini sağlar. Ayrıca bikarbonat ile sodyumun ortak olarak aköze pompalanması, sodyumun aközdeki osmatik basıncını artırır. Su da bu osmatik fark nedeniyle stromadan aköze doğru geçer.

Aközdeki sodyum konsantrasyonu 143mEq/l'dır ve hepsi osmatik olarak aktiftir. Kornea stromasındaki Na konsantrasyonu 160mEq/l'dır ve bu durumun stromaya doğru bir su hareketine neden olması beklenir. Ancak Na çoğu stromanın matriksine bağlıdır ve ancak 134mEq/l sodyum miktarı osmatik olarak aktiftir. Isının düşmesi, anaerobik glikolizin engellenmesi, kornea oksijensiz veya glukozsuz kalması da kornea ödemeine neden olur.

Korneanın hidrasyonunun sağlanmasında yer alan diğer bir iyon transportu da epitelde dir. Epitelde bulunan klor pompası epitelde n gözyaşına su geçişini sağlar. Epitelde adrenerjik ve serotonerjik reseptörler mevcuttur. Klor pompası korneadaki sempatik sinirlerden salgılanan katekolaminlere yanıt verir.

Kornea Şeffaflığı

Kornea şeffaflığı korneanın avasküler olmasına, hidrasyonunun sıkı bir şekilde kontrolüne, özel yapı ve dizilimindeki kollajen liflerine bağlıdır. Stromada bulunan tip 1 kollajenin (stromadaki kollajenin %50-55'i) düzgün mazgal şeklindeki yerleşimi şeffaflık açısından önemlidir (19).

DIABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus Tanımı ve Tipleri

Diabetes Mellitus (DM) uygunsuz hiperglisemi ve kronik dönemde mikrovasküler veya makrovasküler komplikasyonlarla karakterli bir sendromdur. Dünya'da olduğu gibi, DM son yıllarda ülkemizde de giderek artış göstermektedir. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)'nin verilerine göre Dünya'da, 2003 yılı itibari ile 20-79 yaş arası yetişkin popülasyonun %5.1'inde, 2007 yılındaki en son değerlendirmesinde 20-79 yaş arası yetişkinlerin %7.3'ünde (246 milyon kişi) diyabet olduğu bildirilmektedir ve 2025 yılında diyabetli kişi sayısının 380 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (4).

Yine IDF'in değerlendirmesinde 2003 yılında 314 milyon kişide (20-79 yaş prevelansı % 8.2) tahmin edilen bozulmuş glukoz tolerans (BGT) nüfusunun, 2025 yılında %50 artışla 472 milyona (prevelans % 9) ulaşacağı tahmin edilmektedir (20).

Tip 2 diyabet tüm diyabetik olguların yaklaşık %85-90'nı oluşturur. Batı toplumunda, erişkin nüfusun yaklaşık %10-15'i diyabetiktir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2002'de yapılan bir çalışmada tüm yaş gruplarında diyabet prevelansı %6.3 (18.2 milyon kişi) bulunmuştur ve her yıl 1.3 milyon kişide yeni diyabet saptandığı bildirilmiştir (21). Hatalı beslenme, obezite, fiziksel inaktivite, yaşın artışı ve kentsel yaşam biçimi diyabetin hızla artışına neden olmaktadır.

Türkiye'de populyasyona dayalı ilk diyabet taraması 1999-2000 yıllarında Türk Diyabet Epidemiyoloji alışma Grubu (TURDEP) tarafından yapılmış ve diyabet prevelansının erişkin yaş nüfusta % 7.2 ve bozulmuş glukoz tolerans (BGT) prevelansının % 6.7 olduğu bildirilmiştir (22).

1998 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA: American Diabetes Association) ve Avrupa Diyabet Yönetim Grubu (EDPG: European Diabetes Policy Group) tarafından tanı ve göstergeleri gözden geçirilerek yeni kurallar getirilmiştir. Buna göre, aşağıda belirtilen üç kriterden herhangi birinin varlığında diyabet tanısı konulabilir (23).

- 1) Diyabet semptomları ile birlikte herhangi bir anda ölçülen plazma glukoz düzeyinin > 200 mg/dl olması.
- 2) Açlık plazma glukoz değerinin (en az 8 saat hiç kalori alınmadan) >126 mg/dl olması.
- 3) 75 gram glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testi sırasında ilk iki saat içinde glukoz değerinin > 200 mg/dl olması.

Çocuklarda ise teşhis; poliüri, polidipsi ve glukozüri ile birlikte rastgele kan şekeri değerinin 200 mg/dl üzerinde olması ile konulur.

Diabetes Mellitus 2 tipe ayrılır:

İnsüline Bağlı DM (Tip I, Juvenil Tip, Ketoasidoza Eğimli Tip):

Bu olgulardaki esas nokta pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinin olmaması veya hasarı sonucu, insülinin çok düşük seviyede salgılanması ya da hiç salgılanmamasıdır. En sık 10–20 yaşlar arasında görülmesine rağmen ileri yaş grubunda da görülebilir. Dolaşımda, pankreasın beta adacık hücrelerine karşı antikor varlığının tespit edilmesi hastalığın otoimmün karakterde olduğunu düşündürmektedir. Tip I DM'un, immunogenetik mekanizmalarla oluştuğu da düşünülmektedir. Bu tip DM'a, HLA-B8, HLA-BW15, HLA-DW3, HLA-DW4 (HLA: Human Leucocyte Antigen) alt gruplarında daha sık rastlanmaktadır (24).

Ayrıca tip I DM'te viral etioloji üzerinde de durulmaktadır. Özellikle Coxackie B4 ve kabakulak gibi viral hastalıklarından sonra ortaya çıkma ihtimalinin arttığı düşünülmektedir (24). Buna göre, kişide HLA genleri ile var olan genetik yatkınlık ve virüsler gibi değişik çevresel etkenler otoimmünite oluşturmakta, beta adacık hücrelerine karşı oluşan antikorlar, bu hücrelerin %90'dan fazlasını tahrip ettiği zaman klinik olarak DM görülmektedir. Tüm DM olgularının %10-15'i tip I DM'lu olup bu olgularda tanı 30 yaşından önce konur. Tip I DM'lu hastalar genellikle zayıf ve ketoasidoza eğilimlidirler (24).

İnsüline Bağlı Olmayan DM (Tip II, Erişkin Tip, Ketoasidoza Dirençli Tip):

Bu tür DM'ta dokuların insüline karşı duyarlılığı azalmış olduğu için, yüksek plazma insülin seviyelerine rağmen, DM tablosu ortaya çıkabilmektedir. Plazma insülini ketoasidozu önleyecek değerdedir. Bu tip diyabette, Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerine karşı antikora rastlanmamasına rağmen, ailevi bir yatkınlığın mevcut olduğu düşünülmektedir (24). Tüm DM olgularının %85-90'i tip II DM olup, olgular genellikle obez ve 40 yaşın üzerindedir.

Diabetes Mellitus'un Gözde Yol Açtığı Patolojiler

Diyabetin, retinopati ve katarakt gibi iyi bilinen komplikasyonları dışında son 10–15 yıldır gözyaşı fonksiyon bozukluğu, oküler yüzey hastalıkları ve diğer oküler hastalıklarla olan ilişkileri ortaya konulmaktadır. DM'ye bağlı oküler patolojilerin etiopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte son yıllarda bu konuda yapılan çalışmalarla önemli bulgular elde edilmiştir. DM'li hastalarda oküler patolojilere sebep olduğu düşünülen fakat üzerinde tam bir fikir birliği oluşmamış olan 3 temel patogeneze mevcuttur.

- 1) Kronik hiperglisemi
- 2) Kornea sinir hasarı
- 3) İnsülin etki bozukluğu (insülin direnci)

DM bu temel patogeneze sonucunda gözde şu problemlere yol açabilmektedir (25, 26).

Akut dönem değişiklikleri

- Hiperglisemiye bağlı olarak refraktif değişiklikler

Kronik komplikasyonlar

A- Orbita

- Akut orbital sellülitin daha sık görülmesi
- Mukormikozise artmış eğilim

B- Oküler Adneksler

- Göz Kapakları
- Daha sık blefarit ve ksantoma
- Akut kapak felci
- Ekstra-oküler kaslar
- 3. 4. ve 6. kranyal sinir paralizileri
- Gözyaşı
- Gözyaşı miktarında azalma
- Gözyaşında artmış glukoz konsantrasyonu
- Azalmış korneal yara iyileştirme yetisi
- Azalmış gözyaşı kırılma zamanı

C- Konjonktiva

- Goblet hücre kaybı
- Yüzeyel epitel hücrelerde azalma
- Skuamöz metaplazi (Konjonktival Keratinizasyon)
- Bakteriyel konjonktivitte artış

D- Kornea

- Keratoepitelyopati
- Süperfisyel punktat keratit
- Rekürren korneal erozyon
- Persistant epitelyal defektler
- Azalmış yara iyileşmesi
- Artmış epitelyal frajilite
- Striat keratopati
- Epitel oksijen alımında azalma
- Epitel bariyer fonksiyonunda bozulma
- Kornea epitelinin bazal membranının stromaya zayıf adhezyon göstermesi
- Kornea duyarlılığında azalma
- Kornea epitel hücrelerinde mitozun ve metabolizmanın baskılanması ile epitelyum hücrelerinde genişleme
- Korneal ülserler
- Mikrokistik ödem / Bleb oluşumu
- Stromal bozukluklar
- Glikozaminoglikan metabolizma bozuklukları
- Korneal endotel bozukluklar
- Endotelyal pompa fonksiyon bozukluğu
- Artmış endotelyal geçirgenlik
- Endotelyal morfoloji bozuklukları (Polimegatizm/Pleomorfizm)
- Santral korneal kalınlıkta artış
- Korneal eğrilik yarıçaplarında değişme

E-İris

- Ektropion uvea
- Pigment epitelinde glikojen depositleri
- Pigment saçılımı ve buna bağlı trabekulumda aşırı pigment birikimi
- Kronik oküler iskemiye bağlı olarak rubeosis iridis

F-Pupilla

- Azalmış fizyolojik hippus
- Normale göre küçülmüş pupil

G-Lens

- Hızlanmış katarak gelişimi
- Katarak cerrahisi sonrası komplikasyonlarda artış (Endoftalmi, Kistoid Maküler Ödem...)
- Lens epitelinde pigment birikimleri
- Presbiyopinin beklenen yaştan daha erken ortaya çıkması
- Azalmış akomodatif yetenek

H-Silier Cisim

- Pigment epitelinde glikojen birikimleri
- Bazal membran kalınlaşması

I-Vitreus

- Asteroid hyaloideus
- Vitreus dekolmanı
- Vitreus içi hemoraji

J-Maküla

- Maküler ödem ve heteropi

K-Retina

- Diyabetik retinopatinin tüm evreleri
- Retinal vaso-oklusif olaylarda artış

L-Optik Sinir

- Ön iskemik optik nöropati
- Diyabetik papillopati
- Optik atrofi

M- Glokom

- Primer açık açılı glokom
- Neovasküler glokom

N- Oküler İskemik Sendrom

Diyabetik Retinopati (DR)

Tip I ve tip II DM'un en önemli komplikasyonlarından biri olan DR, dünyada 20–65 yaşları arasındaki en sık körlük nedenini oluşturmaktadır. Körlük oranının zencilerde beyazlara oranla %20 ve kadınlarda erkeklere oranla %23 daha fazla olduğu bildirilmektedir

(27). DR, diyabetin diğerk vasküler komplikasyonları gibi mikrovasküler bozukluk sonucu meydana gelir. DR, ilk 3 yılda olağan değıl iken 7 yılın sonunda %70 oranında görölür. 20 yıllık insüline bağımlı DM'lu olguların hemen hemen tamamı; insüline bağımlı olmayan DM'li olguların ise %60'tan fazlası retinopati bulguları gösterirler (28).

Diyabetik Retinopatide Patogenez

DR, retinal prekapiller arterioller, kapillerler ve venüllerin mikroanjiopatisidir. DR'de bu damarlarda görülenler mikrovasküler tıkanıklık ve sızıntıdır.

1-Mikrovasküler Tıkanıklık

DR'de mikrovasküler oklüzyonun patogenezi şu şekildedir. Kapillerde bazal membranda kalınlaşma olur. Vasküler endotelyal hücrelerde harabiyet ve proliferasyon, eritrositlerde oksijen transportunun bozulmasına bağıl değışiklikler ve trombositlerin birleşip agregasyonları sonucu kapillerde oklüzyon oluşur. Oklüzyon neticesinde retinal kapillerde perfüzyon bozukluğına bağıl retinal iskemi ve retinal hipoksi oluşur. Başlangıçta non-perfüze alanlar midretinanın periferinde lokalizedirler. Retinal hipoksinin takibinde iki etki gözlenir:

a) Arteriovenöz şantlar: Kapiller oklüzyonlar ile birlikte dirler ve venüllerden arteriolere doğıru olmaktadır.

b) Neovaskülerizasyon: Hipoksik kalan retina dokusu, hipoksik alanları revaskülarize etmek için vasoformatif maddelerin oluşmasına yol açar. Anjiogenezise yol açan birçok faktör tanımlanmıştır. Bu anjiogenetik faktörlerin etkisi ile retina, optik sinir başı ve iriste neovaskülerizasyonlar gelişmektedir. DR'de anjiogenezisi önlemek için birçok anti-anjiogenetik faktör tanımlanmıştır ve bunlarla ilgili çalışmalar devam etmektedir.

2-Mikrovasküler Sızıntı: Retina kapillerlerinin hücresel elemanları endotelial hücreler ve perisitler tarafından oluşturulur. Endotelial hücreler kan-retina bariyerini oluştururlar. Perisitler kapillerlerin etrafını sararlar ve damar duvarının desteğini sağlayan hücrelerdir. Normal sağlıklı yapılarda herbir endotelial hücreye bir adet perisit hücre gelmektedir. Buna karşılık diyabetik hastalarda bu perisit hücrelerde sayıca azalma meydana gelmektedir. Bu perisitlerdeki azalma damar duvarının direncini azaltmaktadır. Bunun sonucunda plazma içeriği damar dışına sızmaktadır. Bu olay, retinal ödem ve hemorajiler ile sonuçlanmaktadır. Oluşan retinal ödem iki tipte görülmektedir:

a) Diffüz Ödem: Kapillerin dilatasyonu ve sızıntıları sonucu oluşmaktadır.

b) Lokal Ödem: Mikroanevrizmalarda fokal sızıntı ve dilate kapiller segmentlerden meydana gelip lokalizedirler. Kronik lokalize retinal ödemin etkisi ile sert eksudalar oluşmaktadır ve bu sert eksudalar sağlıklı ve ödematöz retinanın birleşme yerlerinde lokalizedirler. Sert eksudalar, lipoprotein ve lipid yüklü makrofajlardan oluşmaktadır. Sert eksudalar sızıntılı mikrovasküler lezyonun çevrelerinde tipik olarak sirsinat patternleri oluştururlar.

Diyabetik Retinopati Sınıflandırması

Günümüzde Diyabetik Retinopati ile ilgili değişik sınıflandırmalar kullanılmış olsa da şu an için tıbbi literatürde en çok kullanılan Diyabetik Retinopati sınıflandırması ETDRS'ye (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) göre olan sınıflandırmadır. ETDRS'ye göre diyabetik retinopati şu şekilde sınıflandırılabilir (29):

Non-proliferatif diyabetik retinopati

A- Hafif NPDR

— En az bir adet mikroanevrizma

— Orta ya da ağır NPDR bulgularının olmaması

B- Orta NPDR

- Hemoraji ya da mikroanevrizma
- Yumuşak eksuda, venöz boncuklanma veya İRMA (İntra Retina Mikrovasküler Anomaliler) olması
- Çok ağır ya da ağır NPDR bulgularının olmaması

C- Ağır NPDR: Şu 3 kriterden birinin olması

- Hemoraji ya da mikroanevrizma
- 2 ya da daha fazla kadranda venöz boncuklanma
- Daha büyük İRMA'nın en az 1 kadranda olması

D- Çok ağır NPDR

- Ağır NPDR de bahsedilen kriterlerden en az 2 tanesinin olması
- Proliferatif DR yönünde bulgu olmaması

PDR'ye Progresyon

ETDRS tarafından 4:2:1 kuralı ile tanımlanmış olan ağır NPDR aşağıdakilerden herhangi birisi ile karakterizedir:

-4 kadranda diffüz retina içi kanamalar ve mikroanevrizmalar

-2 kadranda venöz boncuklanma

-1 kadranda İRMA

ETDRS grubundaki araştırmacılar bahsedilen 4:2:1 kuralını PDR ve yüksek risk PDR'ye progresyonda büyük risk altında olan hastaların tanınmasında klinisyenlere yardımcı olmak amacıyla geliştirmişlerdir. ETDRS sonuçlarına göre ağır NPDR'nin 1 yıl içinde %15 yüksek risk PDR'ye ilerleme ihtimali vardır. Bu özelliklerin herhangi ikisinin varlığı ile tanımlanan çok ağır NPDR'nin ise 1 yıl içinde %45 yüksek risk PDR'ye ilerleme ihtimali vardır (28).

NPDR'de retina sinir lifi tabakası (RSLT) enfarktları (aynı zamanda pamuk atığı noktalar veya yumuşak eksudalar olarak tanımlanan) mevcut olabilir. RSLT enfarktlarının PDR'ye progresyonu tahmin etmede diğer ağır NPDR (kanamalar, venöz boncuklanma,

mikrovasküler anomaliler) özelliklerinden daha az faydalı olduğu ETDRS raporunda bildirilmiştir. Daha önceleri kullanılan preproliferatif diyabetik retinopati tanımlaması ağır veya çok ağır NPDR altında ETDRS tarafından tanımlanan özellikler yanında RSLT enfartlarını içermekteydi. RSLT enfartları klinik muayenede kolayca görülebilir ve varlığı PDR'ye progresyonu tahmin etmede kriter kabul edilen özelliklerin dikkatlice araştırılmasını akla getirir. Retinal iskeminin şiddeti ile vazoproliferatif faktörlerin salınımı artar. Vazoproliferatif bir faktör olan VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) PDR'li hastaların vitrektomi örneklerinden izole edilmiştir. Bu vazoproliferatif faktör retina, optik sinir başı veya ön segment neovaskülarizasyonunu stimüle edebilir (30).

Proliferatif Diyabetik Retinopati

Şu 3 kriterden en az birinin olmasını gerektirir.

- Optik disk ya da retinada herhangi bir yerde neovaskülarizasyon olması [NVD (Neovascularisation on the disc) yada (NVE) (Neovascularisations else were)].
- Preretinal ya da vitre içi hemoraji
- Fibröz doku proliferasyonu

A- Erken PDR

- Yeni damarlanmanın net olarak görülmesi
- Yüksek-risk PDR kriterlerine uyumsuzluk

B- Yüksek risk PDR: Şu 3 kriterden birinin mevcut olması

- Disk alanının 1/3 ya da 1/4' ünden büyük NVD
- NVD varlığında preretinal ya da Vitreus hemorajisinin olması
- Disk alanının 1/2'sinden daha büyük NVE varlığında preretinal ya da vitreus hemorajisinin olması

C- Ağır PDR

- Arka fundusun preretinal ya da vitreus hemorajisi ile kaplanması
- Maküla merkezinin ayrılması

Diyabetik Retinopati Gelişmesinde Sistemik ve Genetik Risk Faktörler

Diyabetin süresi, kronik hiperglisemi ve tipi DM'un başlama yaşı ve tedavi şekli, puberte, hipertansiyon, diyabetik hipertansiyon, diyabetik nefropati, gebelik, alkol ve sigara kullanımı, geçirilmiş katarakt cerrahisi ve genetik faktörler diyabetik retinopati gelişmesinde önemli oldukları bilinen risk faktörleridir.

Bizim bu çalışmayı planlarken amacımız non- invaziv bir yöntem olan konfokal mikroskopi ile hiçbir retina bulgusu olmayan non-proliferatif diyabetik hastalarda henüz retinopati bulguları oluşmadan korneanın ne kadar etkilendiğini değerlendirmektir.

Şu an klinik pratiğimizde korneayı değerlendirmek amacıyla speküler mikroskopi ve konfokal mikroskopi bulunmaktadır.

Speküler mikroskopi, speküler (örneğin, ayna gibi) yansımadan faydalanarak, kornea endotelinin kantitatif, kalitatif ve morfometrik analizinin invaziv olmayan bir yöntemle yapılmasına izin verir. Kalın ve yansıtıcılığı fazla olan kornea dokusunun optik kesitlerinin incelenmesi sağlanır.

Korneanın her bir tabakasının sağlıklı gözlerde ve endotelyal / stromal kornea distrofileri, keratokonus ve kornea birikimleri gibi kornea patolojilerinde, kendine özgü konfokal mikroskopi görüntüleri mevcuttur. Böylece speküler ve konfokal mikroskobinin hem tanı koyma hem de tedavi takibi amacıyla kullanımı, oftalmoloji pratiğinde önemli bir rol oynar.

KONFOKAL MİKROSKOP

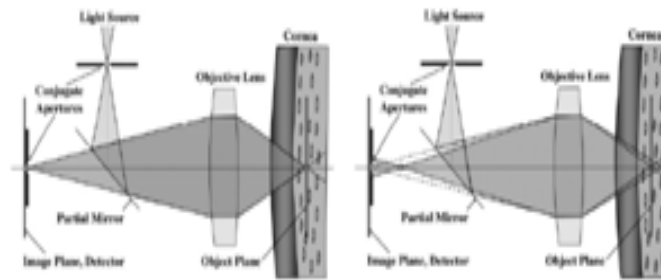
Kornea ve hastalıklarının değerlendirilmesinde son 15 yıl içinde konfokal mikroskobinin önemi giderek artmaktadır. Korneanın muayenesinde kullanılan beyaz ışıklı biyomikroskop 40x büyütme sağlamakta ancak düşük bir çözünürlükte dokunun incelenmesine olanak vermektedir. Biyomikroskobik muayene ile hücresel düzeyde tatminkar ve ayrıntılı bir muayene yapılamamasının temel nedeni muayene yapılan düzlemin üzerinde ve altında yer alan oluşumlardan yansıyan ışığa bağlı girişim (interferans) ve bunun sonucunda çözünürlüğün azalmasıdır (31,32). Konvansiyonel biyomikroskobik muayenede çözünürlük ancak 20 µm'dir. Bu durumda büyütmenin artırılması görüntünün daha da bulanık

bir hal almasına yol açar. Ayrıca korneanın hemen tamamen saydam bir doku olması ve korneaya düşen ışığın ancak %1'inin yansıtılması da gözlemleri güçleştiren bir husustur (33).

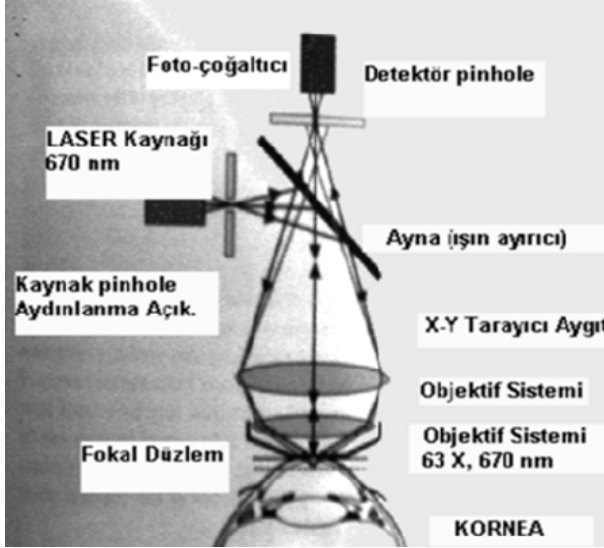
Konfokal mikroskopi konusunda en önemli gelişme 1957 yılında Minsky tarafından konfokal mikroskobinin ilkelerinin tanımlanmasıyla ortaya çıkmıştır. Konfokal mikroskop, canlı hücrelerin görüntülenmesi, gıda mühendisliği alanında (mikrobiyolojik özellikler, gıdaların yapılarının görüntülenmesi), dermatoloji (melanositik deri tumörü), biyoloji, biyomedikal bilim dallarında kullanılmaya başlanmıştır. Konfokal mikroskopları günümüze kadar sıralarsak:

1. Tandem scanning konfokal mikroskop TSCM (Tandem tarayıcı konfokal mikroskop)
2. Confo scan 4 slit- scanning konfokal mikroskop (Confoskan P4 –Tomey, Confoskan 4-Nidek) (Confo scan 4 yarıkli tarayıcı konfokal mikroskop)
3. Heidelberg RetinaTomograph Rosstock Corneal Module laser scanning konfokal mikroskop HRT3 (Laser tarayıcı konfokal mikroskop)'tür.

Konfokal mikroskobide temel yapılar monokromatik ışık kaynağı (lazer), dikroik ayna (Beam Splitter), soğurulma (pin-hole), foton çarpıcı (PMT), emisyon filtreleridir. Konfokal mikroskobide odaklanmış ışık pin-holeden geçerek merceğe gelir, mercek ışığı dokuda odaklar. Reflekte ışık paralel bir mercekten ve ayrı bir pin-holeden geçerek detektörde toplanır. Korneanın 400-600 defa büyütülmesi gerçekleşir. Minsky'e göre konfokal mikroskobide aydınlatma (kondansör) ve gözlem (objektif) sistemleri tek bir noktaya (konfokal) odaklanmaktadır. Bu şekilde odak dışı bilgi ortadan kaldırılmak suretiyle mikroskobinin lateral (x-y) ve aksiyal (z) çözünürlüğü önemli derecede artırılmaktadır (Resim 2). Konvansiyonel konfokal mikroskobide lateral çözünürlük 1-2 μm , aksiyal çözünürlük ise 5-10 μm düzeyindedir.

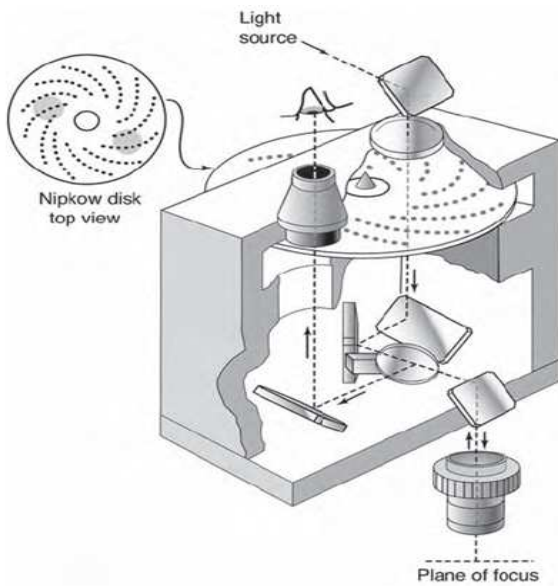


Resim 2: Laser tarayıcı konfokal mikroskobinin fizik ilkeleri (34)

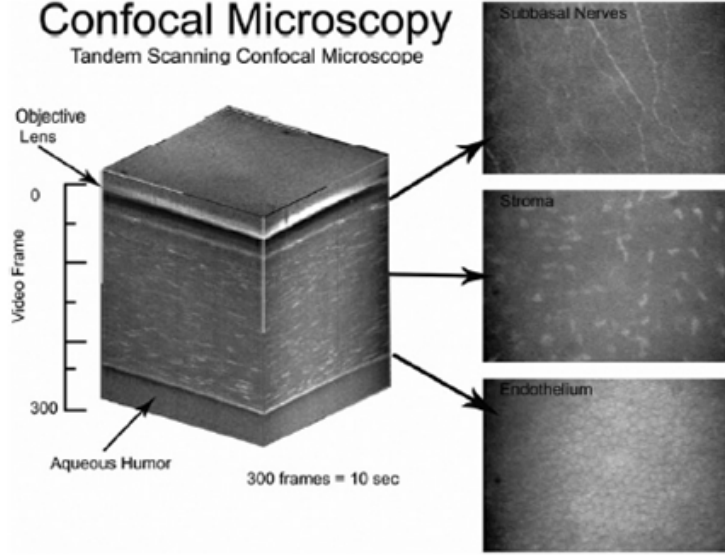


Resim 3: Laser tarayıcı konfokal mikroskobinin fizik ilkeleri (35)

Başlangıçta gözün ön segment yapılarının incelenmesi için dönen bir Nipkow diskini veya ardarda (tandem) yarıklı-tarayıcı sistemleri kapsayan konfokal mikroskoplar kullanılmıştır. Bu konfokal tarama sistemleri çok sınırlı bir görüntüleme alanına sahiptir ve bu nedenle fokal noktayı incelenecek doku üzerinde süratle hareket ettirmek ve gerçek zamanlı bir görüntü temin etmek için görüntüyü yeniden oluşturmak gerekmektedir. Nipkow diski Arşimediyan spiral pin-holelerden oluşmaktadır. Işık kaynağından gelen ışık ve detektörün pin-holeleri konjuge çalışır (Resim 4). Cihaz $11\ \mu\text{m}$ 'luk derinlikten görüntü alabilmektedir (Resim 5). Görüntü diğer konfokal mikroskoplara göre düşük kontrastlıdır. $5\ \mu\text{m}$ 'un altındaki küçük yapıların görüntülenmesi zordur. Dezavantajı hastada ışıktan rahatsızlık hissi oluşturmaktadır.

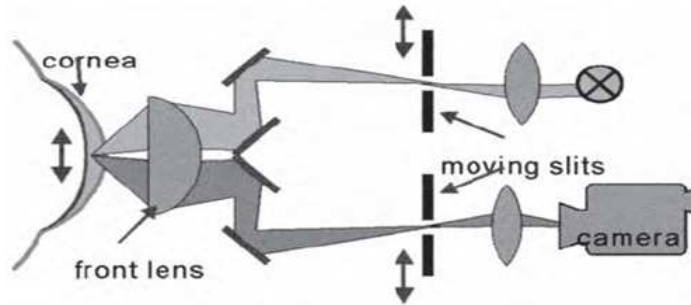


Resim 4: Tandem Scanning Mikroskop (36)



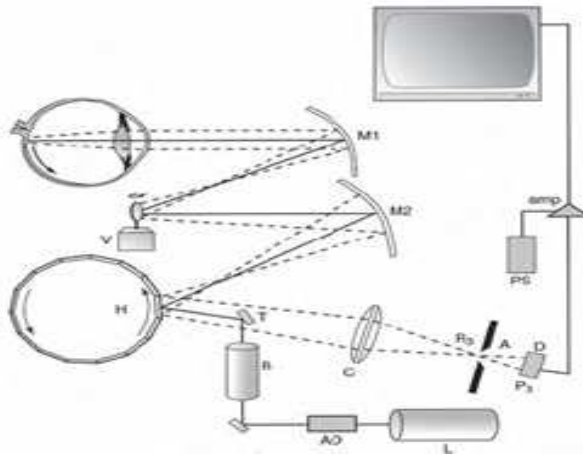
Resim 5: Tandem Scanning Konfokal Mikroskop Görüntüsü (36)

Yarıklı-tarayıcı konfokal mikroskoplarda saniyede 25 kare çeken bir video kamera senkronize edilerek hareketten etkilenmeyen ve net resimler elde edilmektedir. Oskülte olan iki konfokal aynası bulunmaktadır. Işık kaynağından gelen ve ışığı toplayan aparatlar oskülte olarak görüntünün daha parlak, daha keskin, daha detaylı olmasını sağlar (Resim 6). Daha az ışıkla görüntü alınabilir. Görüntü alınabilen doku derinliği $26 \mu\text{m}$ 'dur. Işıktan rahatsızlık hissi tandem scanning mikroskobine göre daha azdır. Ancak bu sistemlerde çözünürlük kaybı yine de önemli bir sorun olarak dikkati çekmektedir.



Resim 6: Yarıklı Tarayıcı Konfokal Mikroskop (36)

Konvansiyonel konfokal mikroskobide karşılaşılan bu sorunlar hızlı laser tarayıcı sistemleri kullanan konfokal mikroskoplarda (Rostock Kornea Modülü; RCM/HRT II) ortadan kaldırılmıştır. RCM/HRT II, göz ve Heidelberg Retina Tomografi II cihazı arasına yerleştirilen yüksek kalite bir mikroskop vasıtasıyla 1 μm 'den daha küçük bir çapta laser odağı oluşturmaktadır. 670 nm dalga boyunda laser ışını kullanılmaktadır (Resim 7). Böylece korneanın in vivo olarak yüksek çözünürlükte değerlendirilmesi mümkün olmaktadır. Korneadaki alt yapılar epitel, sinirler, keratositler, endotel, hatta dendriform hücreler hızla ve güvenilir bir şekilde incelenebilmektedir. 80 μm derinliğinde görüntü alabilmektedir.



Resim 7: Konfokal Mikroskop HRT 3 (36)

Kornea Hastalıklarında Konfokal Mikroskopi

Kornea hastalıklarında korneanın patolojik uyarılara vermiş olduğu yanıtlar in vivo konfokal mikroskopi ile takip edilebilir. Korneanın değişik tabakalarında hücresel değişiklikler, ödem, yara iyileşmesi ve skar dokusunun oluşumu konfokal mikroskopi ile saptanabilir ve izlenebilir. Kornea hastalıklarının tanısında ve takibinde in vivo kornea mikroskobisi ile yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün bir hayli artmaktadır. Bu bakımdan çeşitli kornea hastalıklarında konfokal mikroskobinin değişik klinik uygulamalarına ait örnekler verirsek (37):

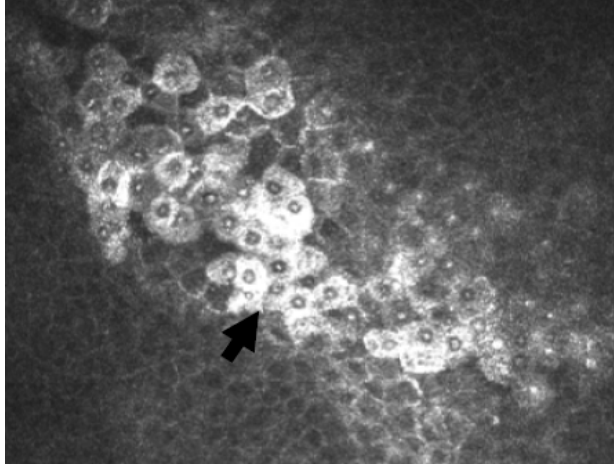
1. Korneada Birikimlerinin Değerlendirilmesinde
2. Kontakt Lens Kullanımı
3. Kornea Enfeksiyonlarında
4. Kornea Hücre Dansitesi Sayımı
5. Hassas Kornea Epiteli Kalınlığı Ölçümü
6. Dendritik Hücre Kaydedilip, Sayılması
7. Kontakt Lenslerin Epitelyal Hücre Dansitesi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi
8. Korneanın Viral ve Bakteriyel İnfeksiyonlarıyla İlişkili İnflamatuvar Hücrelerin Kaydedilmesi, Sayılması
9. Korneal Refraktif Cerrahi Sonrası Flep Kalınlığı ve Doku İyileşmesi Ölçümü
10. Korneal Sinirin Üç Boyutlu Kaydedilmesi
11. Kornea Distrofileri

In vivo konfokal mikroskopi korneanın gerek sağlık gerekse hastalıkta patolojik kesitlerle uyumlu bir biçimde incelenmesine olanak tanımaktadır. Korneadaki normal ve anormal hücre popülasyonları konfokal mikroskopi ile değerlendirilebilir ve sayıları belirlenebilir. Bu yönüyle konfokal mikroskopi çeşitli kornea hastalıklarında örneğin kornea enfeksiyonlarında hem tanıda hem de hastalık sürecini ve tedavinin etkinliğini izlemede çok değerlidir. Laser tarayıcı konfokal sistemler elde edilen görüntünün kalitesini yükseltmiş ve muayene süresini kısaltmıştır.

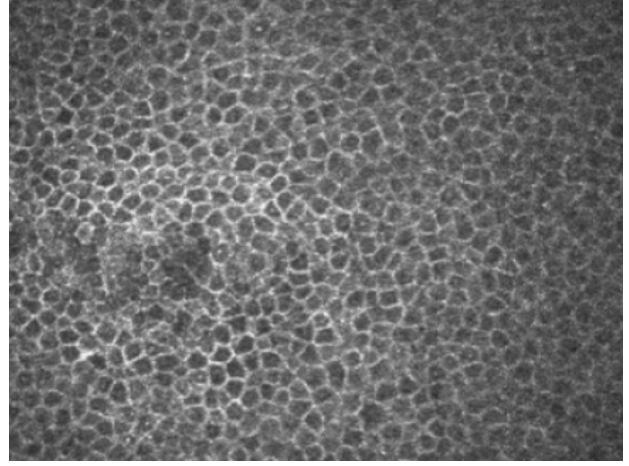
Normal Kornea Anatomisi

Kornea anormalliklerinin teşhis edilmesi için normal kornea yapısına ait özelliklerin bilinmesi gerekir. Konfokal mikroskobide kornea epitel tabakası yaklaşık olarak 50 µm çapta yüzeyel hücreler, 20 µm çapta ara hücreler (kanat hücreleri) ve 10 µm çapta bazal hücrelerden oluşmaktadır. Korneanın yüzeyel epitel hücreleri konfokal mikroskobide parlak hücre sınırları ve koyu hücre çekirdeği ve sitoplazmaları ile dikkati çekerler. Bu hücreler poligonal, çoğunlukla altıgen şeklindedir. Yüzeyel epitel hücreleri arasında dökülmekte olan hücreler parlak sitoplazmalıdır, çekirdekleri piknotiktir ve parlaktır, çekirdeklerin etrafında koyu bir perinükleer boşluk bulunmaktadır (Resim 8). Korneanın histolojik olarak ara hücrelerden oluşan tabakası, devamlılık gösteren poligonal, kanat-şeklindeki hücreleriyle dikkati çeker. Konfokal mikroskobide bu hücreler 20 µm çaptadır ve parlak hücre sınırları ve koyu sitoplazmaları ile ayırt edilebilirler (Resim 9). Sağlıklı bireylerde kanat hücreleri büyüklükleri

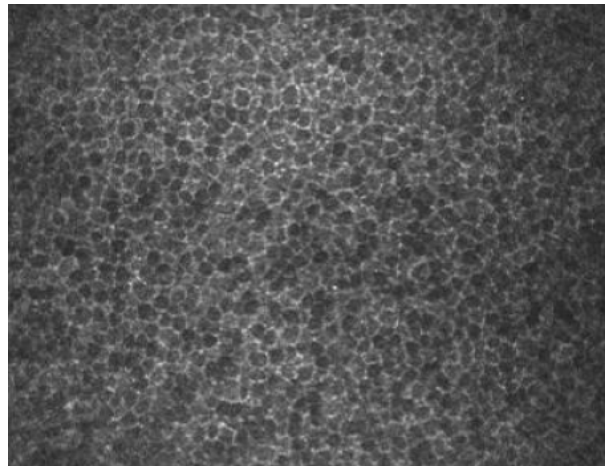
ve görünümüleri açısından önemli bir değişkenlik göstermezler. Histolojik olarak bazal membran üzerine oturan tek tabakalı küboid hücrelerden oluşan bazal epitel tabakası konfokal mikroskobide hemen Bowman tabakasının üzerinde yer almaktadır (38,39). Bu hücrelerin sınırları parlak olup çekirdekleri görünmemektedir.



Resim 8: RCM ile kornea yüzey hücrelerinin görünümü. Dökülmekte olan epitelyum hücrelerinde (okla işaretli) parlak sitoplazma ve piknotik çekirdeği de içine alan koyu renkli hücre içi boşluk dikkati çekmektedir (35).

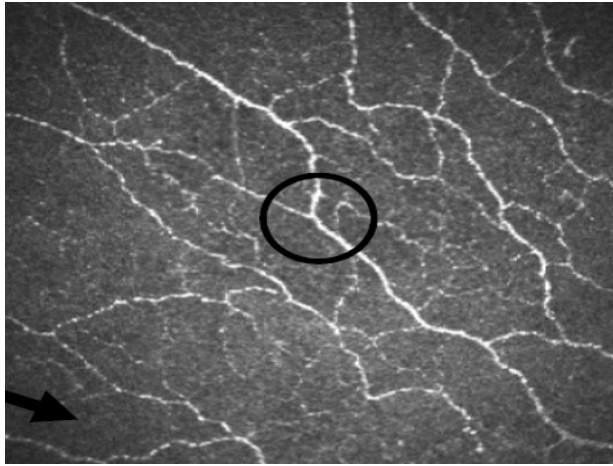


Resim 9: Ara (kanat) hücrelerinin konfokal mikroskobik görünümü. Hücre sınırları parlak, sitoplazmaları ise koyu renkte olup, çekirdekler çok kolay görünmemektedir (35).

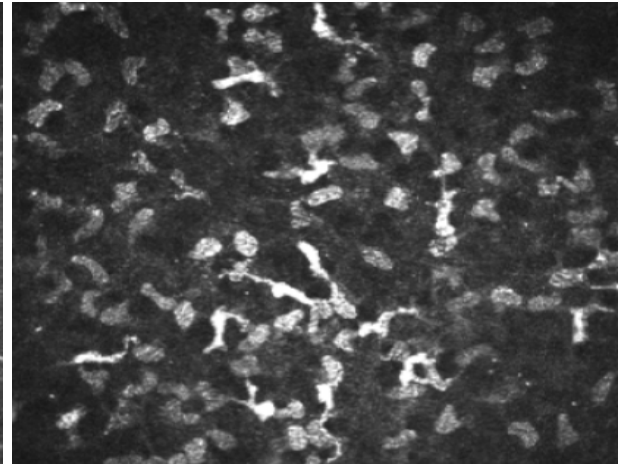


Resim 10: Bazal epitelyum hücreleri parlak sınırları ve çekirdeklerinin görülmemesiyle dikkati çekmektedir. Hücre sitoplazmaları değişken reflektans göstermemektedir (35).

Bazal hücreler birbirleri ile karşılaştırıldıklarında, sitoplazmalarının ışığı yansıtmaları açısından her zaman benzerlik göstermezler. Bazal epitel hücreleri de hem şekilleri hem de büyüklükleri bakımından minimal değişkenlik gösterir (Resim 10). Konfokal mikroskobide bazal membranı ancak epitelyal bazal membran distrofinde olduğu gibi aşırı derecede kalınlaştığı takdirde görmek mümkün olur. Bowman tabakası histolojik olarak 10-16 µm kalınlıktadır ve konfokal mikroskobide subepitelyal sinir pleksusu tarafından kolayca belirlenir (Resim 11). Kornea içinden geçen çok sayıda sinir lifi nedeniyle yüksek duyarlılığa sahiptir. Sinirlerin epitel tabakasının bütünlüğünün korunması, metabolizmasının düzenlenmesi ve yara iyileşmesinde rolü bulunmaktadır. Kornea inervasyonu trigeminal sinirin terminal dalı olan oftalmik sinirle sağlanmaktadır. İnsanda kornea sinirleri miyelinsizdir ve kalınlıkları 0.2-10 µm arasında değişmektedir (40). Kornea periferinden ön ve merkezi stromaya giren sinir lifleri radyal bir seyirden sonra dik bir dönüş yaparak Bowman tabakası ve bazal epitel hücreleri arasında uzanırlar ve epitel hücreleri arasında serbest olarak sonlanırlar (Resim 11). Kornea sinirlerinin in vivo konfokal mikroskopi ile kolaylıkla incelenmesi bazı hastalıklarda bu yapıların morfolojik değişiklikler gösterdiğini açığa çıkarmıştır. Diyabetik keratopati olarak bilinen ve yüzeysel noktasal epiteliopati, persistan epitel erozyonları ve kornea duyarlılığının azalması ile birlikte sık görülen tabloda korneada sinir lifinin kalınlığının arttığı, sinir lif yoğunluğunun ise azaldığı tespit edilmiştir (41).

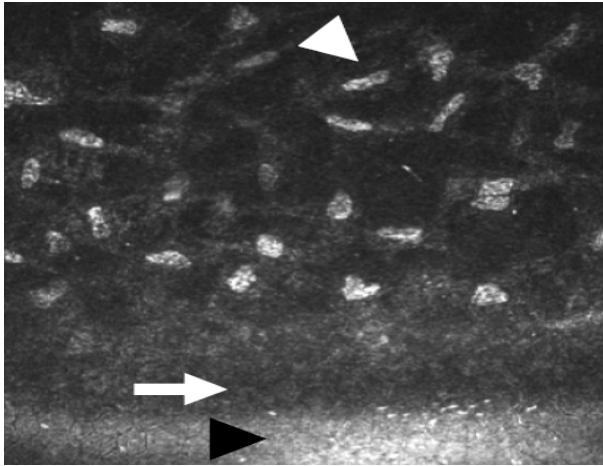


Resim 11: Bowman tabakası (okla işaretli) düzeyinde subepitelyal sinir pleksusu (daire içinde) sağlıklı bir bireyde izlenmektedir (35).

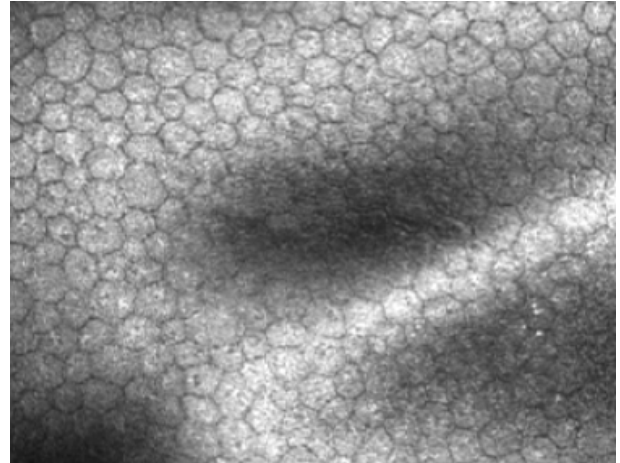


Resim 12: Bowman tabakasına komşu ön stroma. Keratositlerin çekirdekleri parlak olarak görünmekte, sitoplazmaları ise ayırt edilmemektedir. Aktive keratositlerin çekirdekleri daha parlak olarak dikkati çekmektedir (35).

Konfokal mikroskobide normal kornea stromasında hiperreflektif keratosit çekirdekleri karanlık bir zemin üzerinde dağınık olarak görülür. Keratositlerin sitoplazmaları ve yaptıkları kollajen lifleri kolaylıkla ayırmak mümkün olmamaktadır. Kornea keratositleri Bowman tabakasının hemen altında sayıca yoğun olduğu halde, merkezi kornea ve arka stromada sayıca önemli derecede azalmaktadır (Resim 12 ve 13) (42). Descement tabakası da Bowman tabakası gibi amorf bir görünüme sahip bulunmaktadır ve sağlıklı kişilerde konfokal mikroskobik inceleme esnasında net olarak görülmemektedir (Resim 13). Descement tabakasının hemen arkasında nispeten düzenli, hegzagonal hücrelerden oluşan endotel tabakası izlenmektedir. Konfokal mikrogramlarda endotel hücrelerinin kenarları sitoplazmadan daha az yansıma gösterirler. Hücre çekirdekleri ise görülmez (Resim14). Konfokal mikroskopi ile endotel sayısı speküler mikroskobik değerlerle uyumlu olarak hesaplanabilir (43).



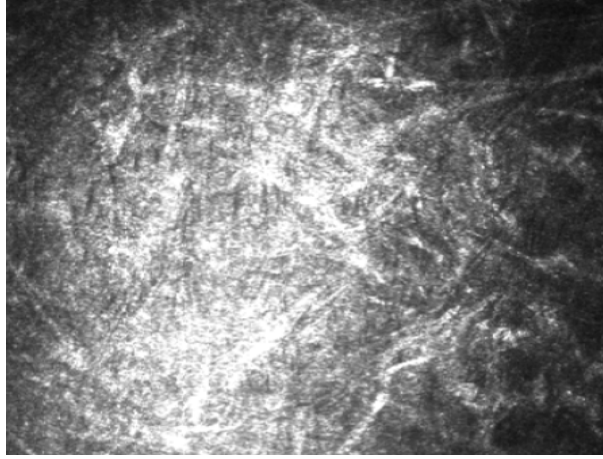
Resim 13: Arka stromada keratositler daha seyrek, iyi sınırlı ve yüksek yansımali, oval çekirdekli olarak görülürler (beyaz ok ucu). Oblik olarak alınan konfokal kesit Descement (beyaz ok) ve endotel (siyah ok ucu) tabakalarını da kapsamaktadır (35).



Resim 14: Kornea endotelini: Hekzagonal, parlak sitoplazmalı ve çekirdekleri görünmeyen hücreler

Kornea Hastalıklarında Konfokal Mikroskopisi

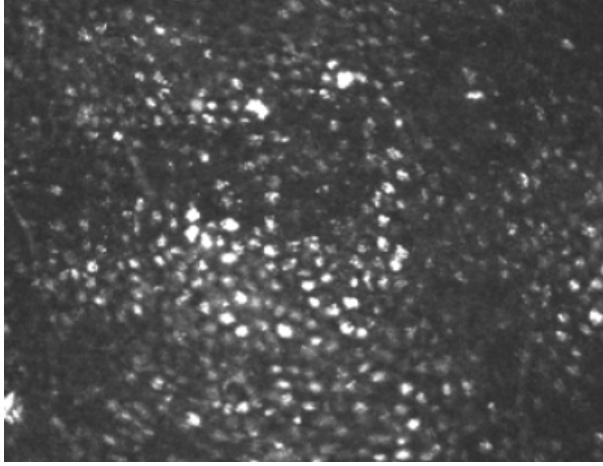
Kornea hastalıklarında korneanın patolojik uyarılara karşı verdiği yanıtlar in vivo konfokal mikroskopisi ile takip edilebilir. Korneanın değişik tabakalarında hücresel değişiklikler, ödem, yara iyileşmesi ve skar dokusunun oluşumu konfokal mikroskopisi ile saptanabilir ve izlenebilir (Resim 15). Kornea hastalıklarının tanısında ve takibinde in vivo kornea mikroskopisi ile yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün bir hayli artmaktadır. Bu bakımdan çeşitli kornea hastalıklarında konfokal mikroskopinin değişik klinik uygulamalarına ait örnekler verilecektir.



Resim 15: Bakteriyel keratit sonrasında Bowman tabakası ve ön stroma düzeyinde skar oluşumu konfokal mikroskopide aşırı yansımaya gösteren ve düzensiz kollajen yığılımlarına işaret eden görüntü vermektedir (35).

Korneada Birikimlerinin Değerlendirilmesinde Konfokal Mikroskopisi

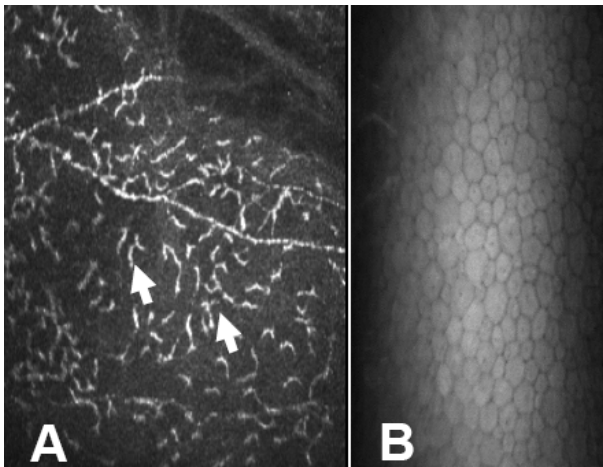
Konfokal mikroskopisi ile korneada epitel tabakasında veya subepitelyal bölgelerdeki birikimlerin tespiti mümkündür. Birçok ilaç ve bileşiğin korneada biriktiği bilinmektedir. Amiodaron, altın bileşikler, klorokin, siprofloksasin ve demir korneada sık görülen birikintilerdir. Sistinosis ve Fabry hastalığı gibi metabolik bozukluklarda da birikintiler konfokal mikroskopisi ile çarpıcı bir biçimde gösterilebilir. Amiodaron keratopatisinde epitel hücreleri içinde yüksek yansımali, parlak hücre içi birikimler görünmektedir (Resim 16) (44). Stroma da dahil olmak üzere korneanın diğer tabakalarında da amiodaron birikintilerine rastlanabilir.



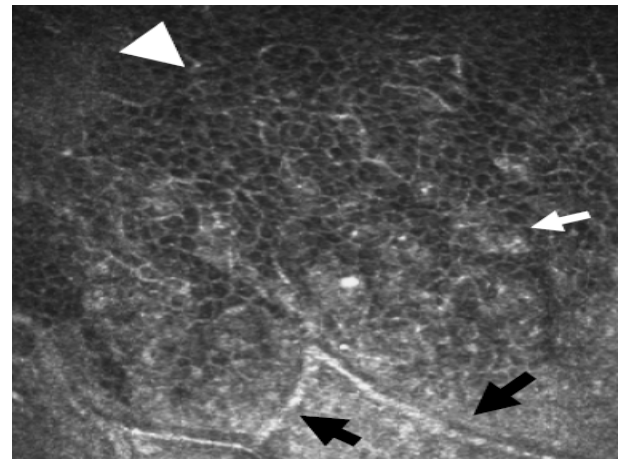
Resim 16: Amiodaron tedavisindeki bir olguda kornea epitelinde ilaç birikimi parlak inklüzyonlar olarak görülmektedir (35).

Kontakt Lens Kullanımı ve In Vivo Konfokal Mikroskopi

Kontakt lens kullanan olgularda kornea morfolojisi, pakimetri ve yapısında ortaya çıkan değişiklikler konfokal mikroskopi ile ayrıntılı olarak değerlendirilebilir. Kontakt lens kullanıcılarında yüzeysel epitel hücre yoğunluğunun hem kornea merkezinde hem de periferinde arttığı gösterilmiştir. Kanat hücrelerinin ve bazal epitel hücrelerinin sayısı kornea periferinde azalırken, kornea stromasında mikrodepozitler, dendriform hücrelerin sayısında artış, endotelde polimegatizm ve polimorfizm bulguları dikkati çekicidir (Resim 17 A ve B) (37). Kontakt lens kullanan olgularda kornea hipoksisi in vivo olarak kornea periferinde damarlanma ve konjonktivalizasyon bulgularıyla kendisini gösterir. Konfokal mikroskobide korneaya uzanan konjonktiva epitel hücreleri daha reflektif ve küçük büyüklükte olup sınırları daha belirsizdir. Konjonktiva epitel hücrelerinin çekirdekler nispeten büyük ve parlaktır (Resim 18).



Resim 17: A. Kontakt lens olgusunda bazal epitelde dendriform hücre sayısında artış B. 25 yaşındaki bir kontakt lens olgusunda endotelde polimegatizm ve polimorfizm (35)

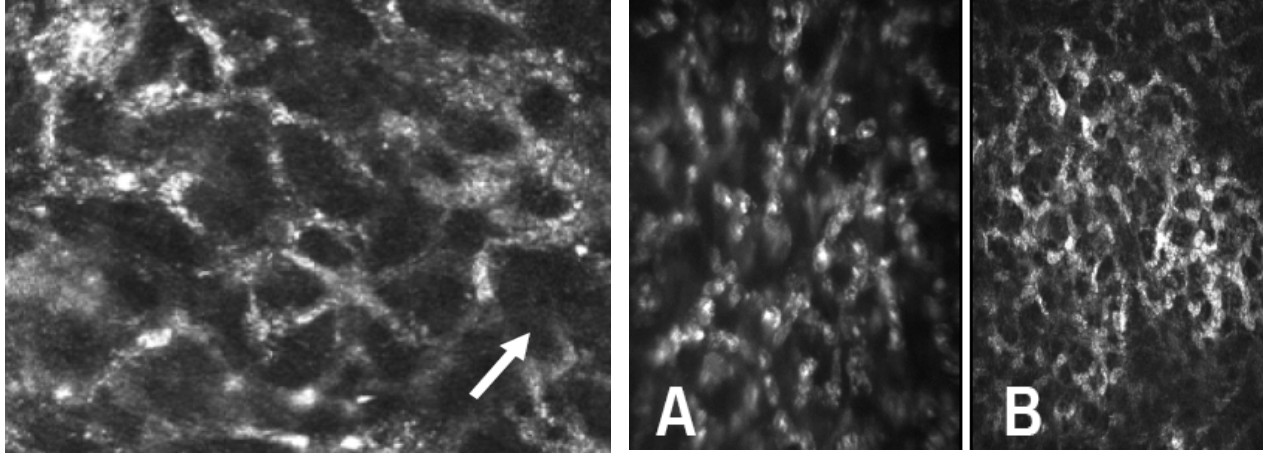


Resim 18: Kontakt lens kullanımına bağlı hipoksik korneada periferik damarlanma (siyah oklar) ve konjonktivalizasyon (beyaz ok). Kornea epiteli beyaz ok ucu ile gösterilmiştir (35).

Kornea Enfeksiyonlarında Konfokal Mikroskopi

Korneanın bakteriyel, fungal, parazitik ve viral enfeksiyonlarında konfokal mikroskopi hem erken tanı hem de tedavinin takibi açısından önemli avantajlara sahiptir. Herhangi bir boyama yapmaksızın konfokal mikroskopi ile kornea enfeksiyonlarında bakterileri, mantarları ve amipleri gösterme olanağı vardır (45). Acanthamoeba keratiti çok ciddi bir kornea enfeksiyonu olup tanısında gecikildiği takdirde körlükle sonuçlanmaktadır. Amip keratiti, bazen mantar keratiti ve herpetik keratit ile karıştırılabilir. Bu olgularda amip kistlerinin ya da düzensiz trofozoitlerin gösterilebilmesi hem erken ve doğru tanıya varmak için hem de tedavinin düzenlenmesi ve monitörize edilmesi açısından önem taşımaktadır (45,46). Amip keratitlerinde konfokal mikroskopi ile kornea stromasında kavitasyonlar da dikkati çekicidir (Resim 19). Fungal keratitlerin klinik tanısında da amip keratitleri gibi güçlükler bulunmaktadır. Mantar keratitlerinde kornea kültürleri önem taşımakla birlikte, bazen sonuçlar gecikebilmekte, ya da mantarların derin yerleşimi nedeniyle kültür sonuçları olumsuz olabilmektedir. Konfokal mikroskopi ile Aspergillus dahil olmak üzere çeşitli keratomikozları, örneğin Fusarium ve Candida keratitlerini erken ve doğru olarak teşhis etmek mümkün olmaktadır (47,48).

Bakteriyel keratitlerde aktif ülser döneminde lezyon bölgesinde iltihabi hücre infiltrasyonunu konfokal mikroskobide izlemek olasıdır (Resim 20 A, B). Ülserin iyileşme döneminde dendriform hücreler, keratosit aktivasyonu ve yeni kollajen yapımı kolayca izlenebilir. Böylece yara iyileşmesinin modülasyonu imkan dahiline girebileceği gibi, dendriform hücrelerin sayıları izlenerek kornea nakli için en uygun zamanlama da yapılabilecektir. Herpetik keratitin stromal şeklinde, adenoviral keratitlerde ve Thygeson keratiti gibi nadir görülen ve etiyolojisinde viral faktörlerin rol oynaması olası kornea hastalıklarında da konfokal mikroskopi iltihabi olay sürecini takip etme olanağı verir. Kesafetler nedeniyle görmesi azalmış olan postherpetik keratit olgusunda kornea nakli için doğru zamanlama, greft reddinde kritik rolü olan santral dendriform hücre sayısını takip ederek rasyonel bir biçimde gerçekleştirilebilir.



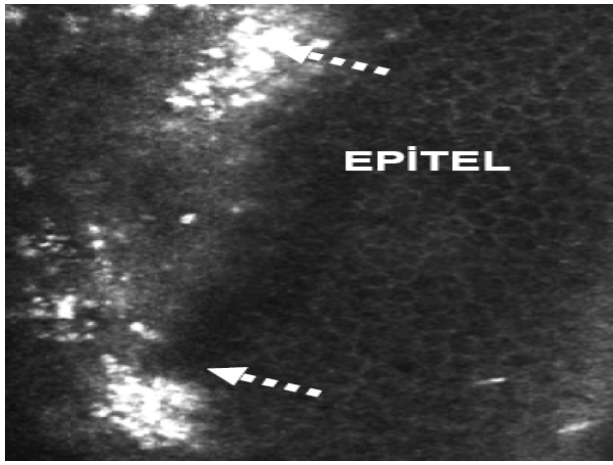
Resim 19: Histopatolojik olarak amip keratitli bir olguda stromada kavitasyonlar (ok işaretli) (35)

Resim 20: A.Bakteriyel ülserde lezyonda iltihabi hücre infiltrasyonu, B.Ülserde iyileşme fazında keratosit aktivasyonu hiperreflektif keratositlerin sayıca artışı ile dikkati çekmektedir (35).

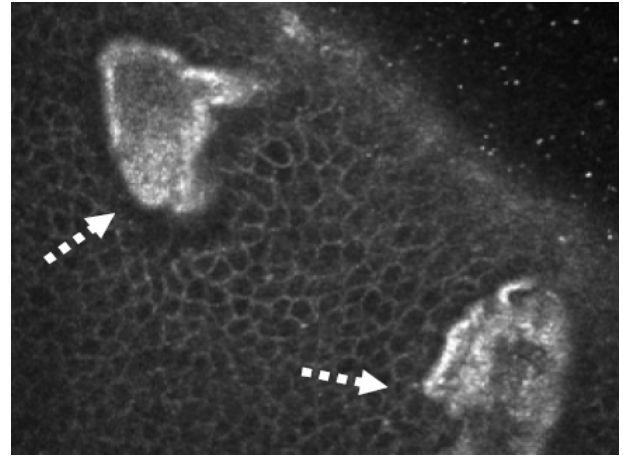
Kornea Distrofilerinin Tanısında Konfokal Mikroskopisi

In vivo konfokal mikroskopisi ile incelenen kornea dejenerasyon ve özellikle distrofileri her gün sayıca artmaktadır. Bu bakımdan Meesmann distrofisi, epitelyal bazal membran distrofisi, Reis Bückler distrofisi, granüler, maküler ve latis distrofileri gibi stromal distrofiler, Schnyder kristalin distrofisi, benek distrofisi, pre-Descemet distrofi, posterior polimorf distrofi, Fuch's endotelyal distrofisi ön planda sıralanabilir (31, 49). Kornea distrofilerinde klinik ve biyomikroskopik görünüm önem taşımaktadır, ancak distrofilere kesin tanı patolojik değerlendirme sonucunda konabilir. Konfokal mikroskopisi dikkatli kullanıldığı takdirde bazı distrofilere, örneğin epitelyal bazal membran distrofisine eşlik eden mikrokistik lezyonların Meesman distrofisinden ayırımı mümkün olur. Stromal distrofilere ise konfokal mikroskopisi birikintilerin yeri, derinliği ve mikromorfolojisi açısından bilgi sağlar. Bu durum tedavide önemlidir ve gerek fototerapötik keratektominin, gerekse derin lameller veya penetran keratoplasti endikasyonlarının belirlenmesinde değer taşır (Resim 21). Epitelyal bazal membran distrofisi (Cogan distrofisi/harita-nokta-parmak izi distrofisi) oldukça sık görülen ve nükseden kornea erozyonlarına yol açabilen bir distrofidir. Klinik olarak grimsi-beyaz epitel içi noktacıklar, haritamsı yamalar ve parmak izi şeklinde lezyonlar genellikle kombinasyon halinde görülmektedir. Patolojik değişiklikler bazal membranın kalınlaşması ve epitel içine uzanması, epitel içi kistler ve sitoplazmik artıklar şeklindedir (50). Nükseden kornea erozyonu olan olgularda biyomikroskopide dikkati çekmeyen epitelyal bazal membran distrofisine in vivo konfokal mikroskopisi ile tanı konabilir (Resim 22). Fuch's endotelyal

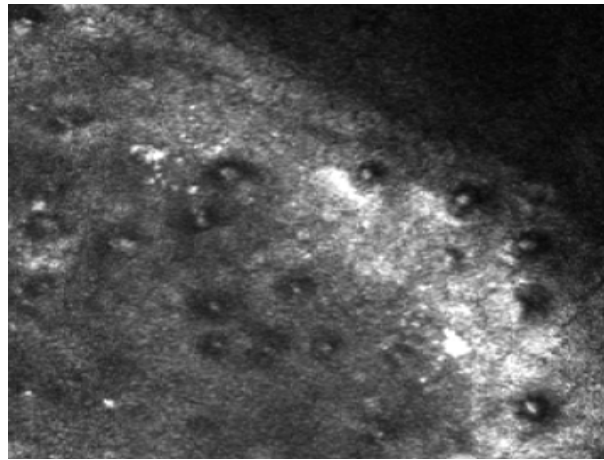
distrofisinde endotelyal hücrelerin değerlendirilmesi ve hastalık sürecinin takibi açısından konfokal mikroskobinin değeri oldukça yüksektir (51). Korneanın ödemli olduğu durumlarda, örneğin iridokorneal endotelyal sendromda (Chandler sendromu) konfokal mikroskopi ile endotelin yapısal değişikliklerinin takibi ve ayırıcı tanısının yapılması mümkündür (52). Konfokal mikroskopi yardımıyla endotelyal distrofilerde mikromorfolojinin yanısıra hücre sayısının belirlenmesi de olanaklıdır (Resim 23). Kornea guttatalı veya Fuch's distrofili hastalarda, katarakt cerrahisi veya intraoküler bir cerrahi öncesi konfokal mikroskobik muayene olası postoperatif endotel dekompanasyonu ve kornea ödemi komplikasyonlarını azaltma ve cerrahi yöntemin seçimi açısından değer taşımaktadır.



Resim 21: Granüler distrofide ön stromada granüler birikintiler (kesintili beyaz ok) (35)



Resim 22: Rekürren kornea erozyonlu bir olguda konfokal mikroskobide epitelial bazal membran distrofisine uygunluk gösteren bazal membran kalınlaşması ve epitel içine uzanımı (kesintili oklar) (35)

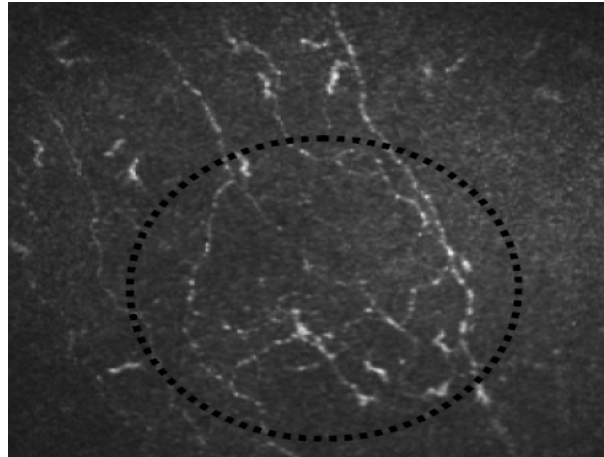


Resim 23: Fuch's endotelyal distrofisinde guttat oluşumlar. Bu oluşumlar hiporeflektif yapılar olup, bazen merkezlerinde yansımaya yol açan bir bölge dikkati çeker. Resimde endotel morfolojisinin değiştiği ve sayısının azaldığı izlenmektedir (35).

Refraktif Cerrahi Sonrası Konfokal Mikroskopi

Fotorefraktif keratektomi, LASİK (Laser-In-Situ-Keratomileusis), LASEK, epi-LASİK, keratotomi, konduktif keratoplasti ve kornea içi operatif halka cerrahisinden sonra korneada ortaya çıkan dokusal değişiklikler, yara iyileşme yanıtları ve cerrahi ile ilgili komplikasyonlar konfokal mikroskopi yardımıyla değerlendirilebilir (53).

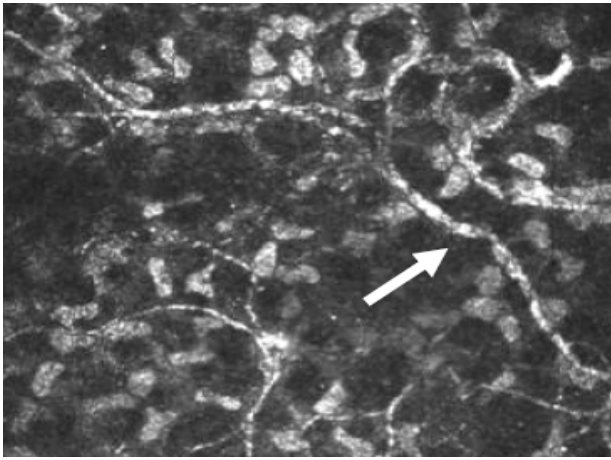
Korneada yara iyileşmesi uygulanan cerrahi yönteme göre farklılık göstermektedir. Refraktif cerrahiden sonra yapılan in vivo konfokal mikroskopi keratositlerin morfolojik ve işlevsel durumunu göstermekte, stromanın ve epitelin yeniden invazyonu hakkında bilgi vermektedir. LASİK uygulamalarından yıllarca sonra bile kornea doku ve sinir yapısında değişiklikler devam etmektedir (Resim 24) (54, 55). LASİK sonrasında stromal flepte ve ön retroablasyon bölgesinde keratositlerin sayısında bir azalma olduğu ve 2 yılı aşkın bir sürede dahi bu azalmanın devam ettiği belirlenmiştir. Refraktif cerrahiden sonra ortaya çıkabilecek bazı sorunların, örneğin fleple ilgili komplikasyonların, epitel yürümesi, mikro-kıvrımlar ve diffüz lameller keratitin konfokal mikroskopiyle tanı ve takibi yapılabilir. Kornea içine yerleştirilen halkaların konfokal mikroskobik muayenelerinde merkezi korneanın yapılan cerrahiden etkilenmediği görülmektedir. Buna karşılık halkaya komşu olan stromada hafif bir yara iyileşmesi aktivasyonu dikkati çekmektedir (56).



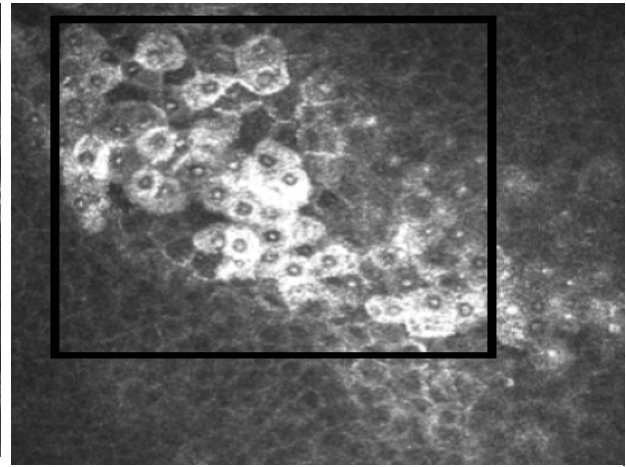
Resim 24: Komplikasyonsuz LASİK cerrahisi yapılan bir olguda postoperatif 1. yılda sinir rejenerasyonunun tamamlandığı izlenmektedir (kesintili daire) (35).

Diğer Kornea Hastalıklarında Konfokal Mikroskopi

Oküler yüzey hastalıkları arasında en önemli sorunlardan birisi gözyaşının salgılanmasına veya yapısına bağlı değişiklikler sonucunda gelişen kuru göz tablosudur. Kuru gözlü hastalarda kornea duyarlılığında azalma saptanmış olgularında yüzey epitelinde hücresel uzama ve daha fazla dökülme, kanat hücrelerinde genişleme, bazal hücrelerde düzleşme, stromada keratosit organizasyonunda bozukluk ve keratosit çekirdeklerinde hiperreflektivite, yer yer keratosit toplanması ve anormal kollajen nedeniyle bulanıklık saptanmıştır (Resim 25-26) (57, 58).

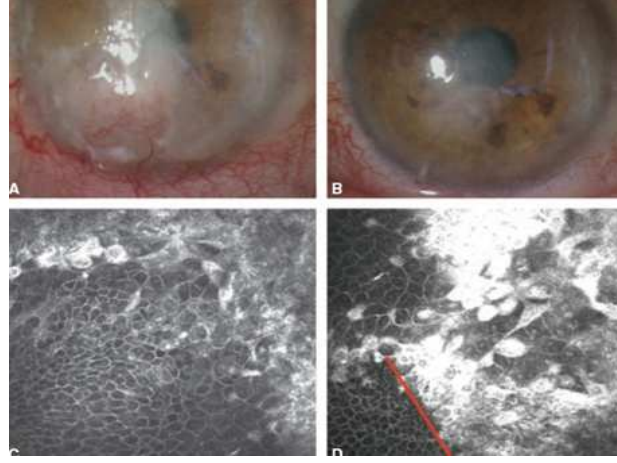


Resim 25: Kuru gözlü bir olguda ön stromada kalınlaşmış ve kıvrıntılı sinir lifi (okla işaretli) (35)

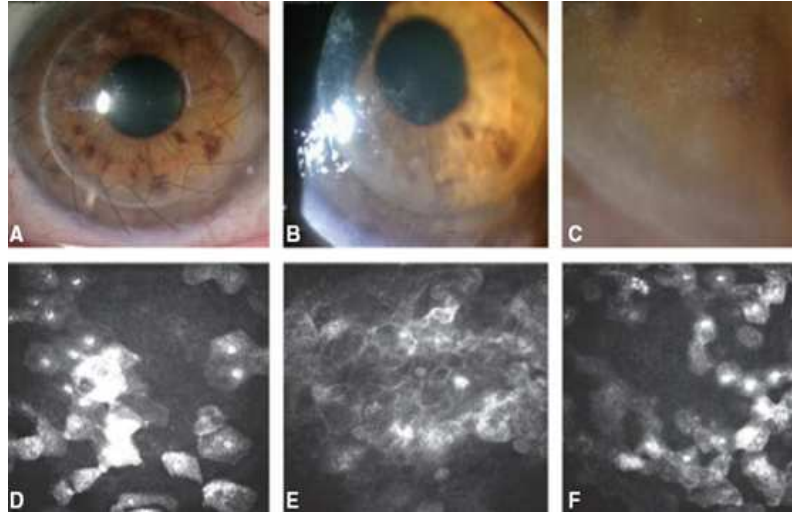


Resim 26: Keratokonusta yüzey epitel hücrelerinde artmış dökülme eğilimi (dörtgen içindeki alan) ve kanat hücrelerinde genişleme (35)

In vivo konfokal mikroskopi ile melanositik konjonktival tümörler değerlendirilebilir. Klinik ayırıcı tanıya gidilmesinde, biyopsi ve tümör eksizyonu sonrası takipte kullanılır. Skleral komponenti olan koroidal melanomlarda tanıya yardımcı olur (59). Rekürren konjonktival intraepitelyal neoplazili hastada in vivo konfokal mikroskopi kullanılabilir (Resim 27). Kornea süperfisyel alanda çok sayıda parlak gruplar görülür. Lezyon kenarındaki epitel hücrelerde irregüler şekil ve kenarlar izlenir. Nukleus parlaktır. Konjonktival intraepitelyal neoplazi tanılı hastalarda izlemde de faydalıdır (Resim 28) (60).

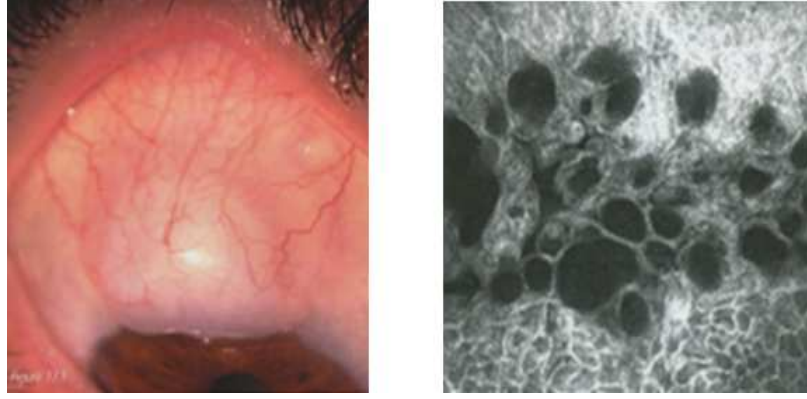


Resim 27: İntraepitelyal neoplazili bir olguda in vivo konfokal mikroskobi (60)



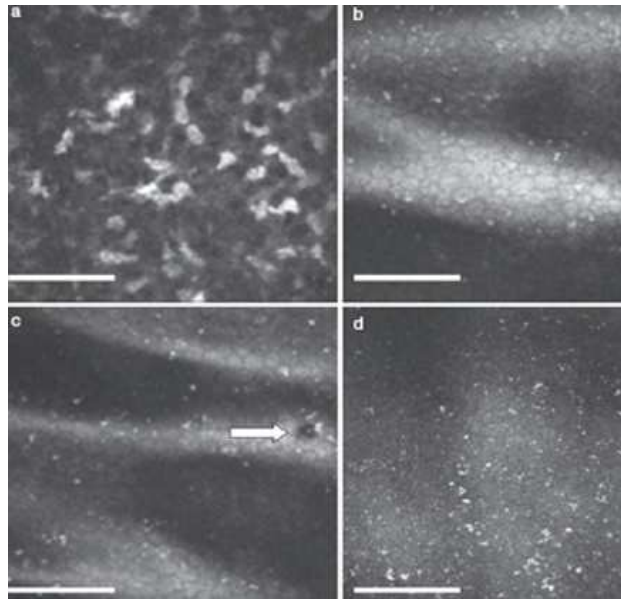
Resim 28: İn vivo konfokal mikroskobi ile inraepitelyal neoplazili hastada post-op izlem (60)

İn vivo konfokal mikroskopi ile trabekülektomi sonrası bleb değerlendirilebilir (Resim 29) (61).



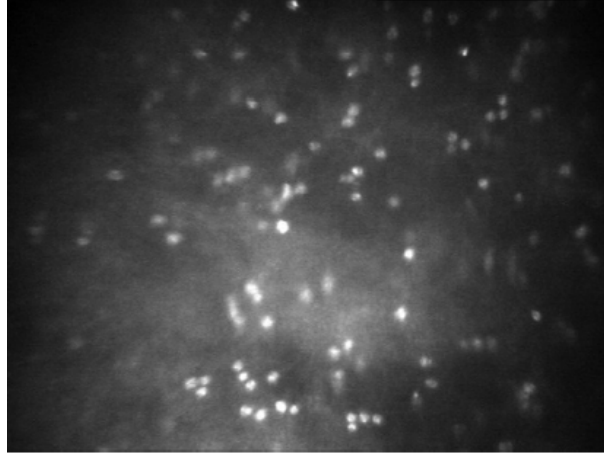
Resim 29: Post-op trabekülektomli bir olgu (61)

İn vivo konfokal mikroskopi ile psödoeksfoliyasyon sendromu analizi yapılabilir (Resim 30). Psödoeksfoliyasyonlu gözlerde konfokal mikroskobide bazal epitelde fazlaca röfle veren depozitler, çok fazla dendritik hücreler, endotel hücre anormallikleri (pleomorfizm, polimegatizm), hiperreflektif küçük endotel depozitler (Descemet membran, posterior stromada) fibriler subepitelyal yapılar, dentritik hücre dansite yüksekliği, stromal keratositler görülür. Anterior keratositlerde yüksek röfle izlenir (62, 63).



Resim 30: Psödoeksfoliyasyonlu bir olguda in vivo konfokal mikroskopi (62)

İn vivo konfokal mikroskopi, korneanın gerek sağlık gerekse hastalıkta patolojik kesitlerle uyumlu bir biçimde incelenmesine olanak tanımaktadır. Korneadaki normal ve anormal hücre populasyonları konfokal mikroskopi ile değerlendirilebilir ve sayıları belirlenebilir. Bu yönüyle konfokal mikroskopi çeşitli kornea hastalıklarında, örneğin kornea enfeksiyonlarında hem tanıda hem de hastalık sürecini ve tedavinin etkinliğini izlemede çok değerlidir. Mantar ve akantamoeba keratiti enfeksiyonlarının tanısında, refraktif cerrahi hastalarının cerrahi sonrası izleminde kullanılabilir (Resim 31). Ana uygulama alanı halen araştırmalardır. Laser tarayıcı konfokal sistemler elde edilen görüntülerin kalitesini yükseltmiş ve muayene süresini kısaltmıştır. Dezavantajları olarak aynı lokalizasyona tekrarlanabilirliğinin zorluğu, hareket halinde görüntü alınmasının güçlüğü, bulunan değerleri standardize etmenin zorluğudur. Non-kontakt bir teknik halen günümüzde bulunmamaktadır (64).



Resim 31: Akantamoeba keratitinde çift duvarlı kist, parlak yansıyan oval yapılar (64)

Konfokal mikroskopi sadece korneanın değer limbus ve konjonktivanın muayenesinde de potansiyel bir yere sahiptir. Böylece oküler yüzey oluşumları bütünlük içinde değerlendirilebilecektir.

Bu çalışmada amacımız non-invaziv bir yöntem olan konfokal mikroskopi ile hiçbir retina bulgusu olmayan non-proliferatif diyabetik hastaların kornealarının subbazal sinir pleksuslarını, stromadaki keratosit ve endoteldeki hücre dansitesini değerlendirmek, metabolik stres altındaki hücrelerin kontrol grubuyla dansitelerini karşılaştırmaktır.

MATERYAL –METOD

Çalışmaya Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Kliniğine Şubat 2010-Şubat2011 tarihleri arasında yaşları 18-65 arasında değişen 30 non-proliferatif tip 2 DM, 20 non-proliferatif tip 1 DM, 55 sağlıklı olgu olmak üzere toplam 105 hasta dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen kontrol grubu herhangi bir sebeple polikliniğimize başvuran DM olmayan hastalar arasından seçildi. DM grubu, endokrin polikliniğinden polikliniğe başvuran, fundus muayenesinde hiçbir retinopati bulgusu olmayan hastalar alınarak oluşturuldu.

Olguların tüm muayene ve parametre ölçümleri bu araştırmayı yapan hekim tarafından yapıldı. Muayene ve ölçümler aynı günde yapıldı. Muayene, test ve ölçümlerin alınmasında şu sıra takip edildi:

1. Anamnez alınması
2. Ayrıntılı oftalmolojik muayene
 - a. Otofrefraktometri ve otokeratometri
 - b. En iyi düzeltilmiş görme keskinliği değerlendirmesi (*Snellen* eşeli ile)
 - c. Biyomikroskopi ile ön segment bakışı
 - d. Göz içi basıncı (GİB) ölçümü (*Goldmann* aplanasyon tonometresi)
 - e. Dilatasyonlu fundus bakışı (+ 90 dioptri lens ile) oftalmolojik muayene
3. Heidelberg RetinaTomograph Rosstock Corneal Module laser scanning confocal mikroskop HRT3 ile kornea değerlendirildi.

Çalışmaya Dâhil Edilmeme Kriterleri

1. Ön segment parametrelerini etkileyebilecek geçirilmiş herhangi bir oküler cerrahi
2. Oküler travma öyküsü
3. Kornea morfolojisini etkileyebilecek herhangi bir korneal patoloji varlığı (korneal distrofiler, geçirilmiş korneal patolojiler, geçirilmiş keratit, korneal ektaziler vs..)
4. Konjonktival patolojiler (konjonktivitler, pterjium, semblefaron vs..)
5. Kapak hastalıkları (entropium, pitozis, lagoftalmus vs..)

6. Nazolakrimal kanal tıkanıklıkları
7. Kuru göz hastaları (anamnezinde daha önce kuru göz tanısı almadığı belirlenenler)
8. Gözyaşı üretimini etkileyecek ilaç ve sistemik hastalık öyküsü (Romatoid artrit, Sjögren sendromu, antihistaminikler, trisiklik antidepresanlar vs..)
9. Glokomatöz görme alanı defekti ve glokomatöz optik disk değişikliğinin olması
10. Birinci derece akrabalarda primer açık açılı glokom veya oküler hipertansiyon öyküsünün olması
11. Geçmiş oküler patoloji ve intraoküler cerrahi öyküsünün olması
12. Yapılan fundus muayenesinde herhangi bir DR bulgusu olması
13. Retina patolojisi olanlar (yaşa bağlı maküla dejenerasyonu, retinitis pigmentosa, retinal skar, dejeneratif miyopi vs..)
14. Yaş aralığı, 18 yaşından küçük, 65 yaşından büyük hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya Alınan Olgularda Yapılan Uygulamalar

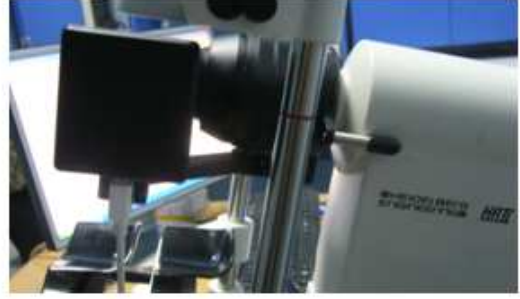
Yapılan tam oftalmolojik muayene ardından, hastaların korneaları Heidelberg Retina Tomograph Rosstock Corneal Module laser scanning confocal mikroskop HRT3 ile değerlendirildi.

1. Tüm olgulara işlem öncesi bilgi verildi.
2. Hasta adı, soyadı, doğum tarihi, cinsiyeti kaydedilerek program hazırlandı.
3. Modül takılmadan +12 dioptri ayarlandı (Resim 32).
4. Modül takıldı, baş ve çene yeri ayarlandı (Resim 32).
5. Modülün önüne tamocap başlık [İçi viscotears jel (karbomer) ile dolduruldu.] takıldı. Her başlık yalnızca bir hastaya steril olarak kullanıldı.
6. Başlık önüne viscotears jel (karbomer) steril şekilde sıkıldı (Resim 32).
7. İşlem öncesi hastalara topikal anestezi alcaine (Proparacain HCl 0.5 %9) damlatıldı (Resim 32).
8. Hastaların baş, çene pozisyonları ayarlanarak cihaza yakınlaşmaları sağlandı (Resim 33).
9. Başlık hastanın korneasına temas ettirildi (Resim 34).

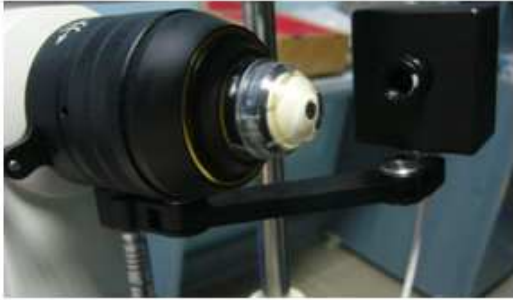
Hazırlık:



+ 12 dioptri



Baş-Çene yeri



Başlık



Topikal anestezi

Resim 32: Hazırlık aşamasında cihazın uygun eklentiler takılmakta, hastanın uyumun ve konforunu arttırmak için topikal anestezi damlatılmakta.



Resim 33: Konfokal mikroskobinin uygulanış şekli



Resim 34: Muayene sırasında kornea epitelyum yüzeyinden başlanarak endotele kadar tabakalar manuel olarak netlik ayarı yapılmakta ve aynı anda ekrandaki görüntüler ayak pedalı vasıtasıyla kaydedilmektedir.

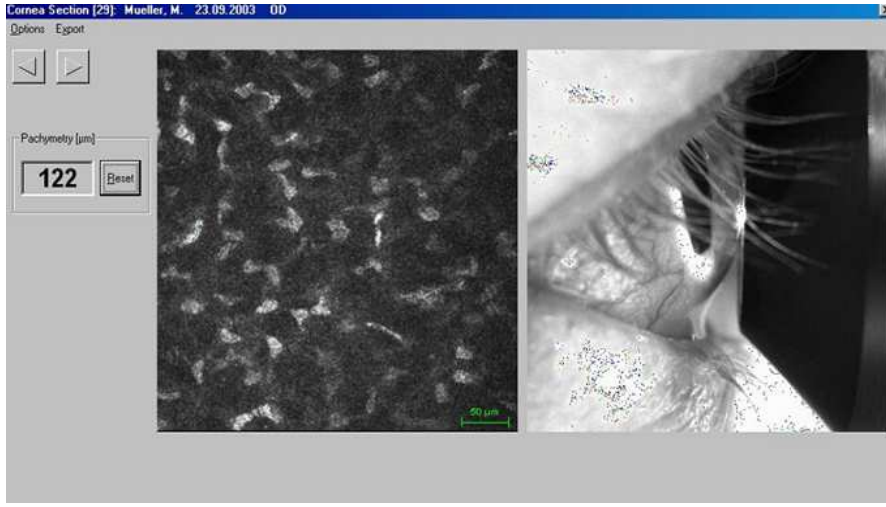
10. Korneaya başlığın temasından sonra, manuel olarak saat yönüne çevrilerek kornea epitelinden başlayarak endotele kadar devam eden derinlikte görüntüler alındı.



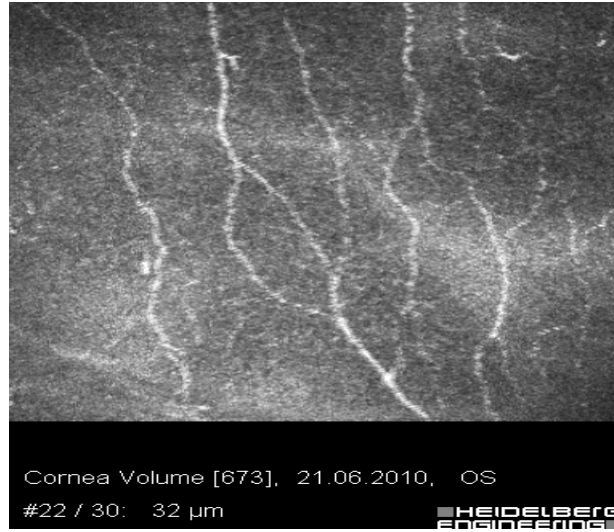
Resim 35: Muayene sırasında ekranın sol korneanın görüntülediği seviye izlenirken, sağ tarafında derinlik, kalite ile ilgili değerler görülmektedir.

11. Ekranda focus: derinlik, sensitivity: kalite, focus position µm: derinlik, section: tek tek resim alma, sequence: aynı derinlikte 100 kadar resim alabilme, volume: 80µm derinliğe

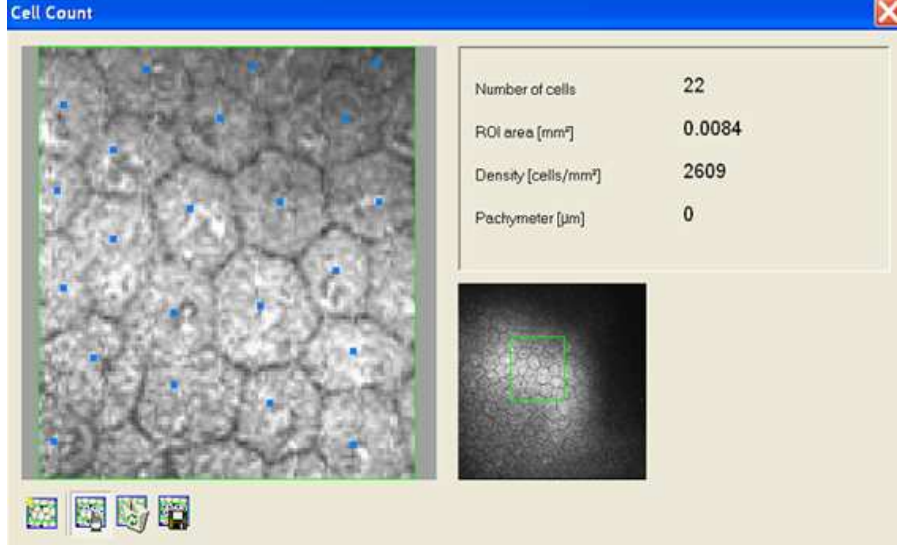
kadar cihazın kendinin inip tekrar bulunulan derinliğe gelmesi yararlanılan parametrelerdir (Resim 35).



Resim 36: Ön stomaya ait bir görüntü



Resim 37: Subepitelyal sinir pleksusuna ait görüntü



Resim 38: Endotel hücre dansitesinin hesaplanması

12.Endotel, ön stroma, subbazal sinir tabakasına ait istenilen resim belirlenip cell count'a basıldığında, dört küçük kare sayfanın altında belirlemekte. İlk kare seçilip sayım yapılacak alan belirlenir, ikinci kare seçilip fareok'un sağ tuşuna basarak hücreleri saymaya başlar, ve sonra dördüncü kare seçilerek kayıt işlemi yapılır. Sayfanın yanında kaç hücrenin sayıldığı (number of cells), seçilen alanın boyutu (mm²), seçilen alanda hücre dansitesi (cells/mm²), seçilen resimin derinliği (µm) hakkında bilgi edilebilir (Resim 38).

Çalışma verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 16.0 programı kullanıldı. Bulgular ortalama \pm standard deviasyon (ort \pm SD) olarak belirtildi. Çalışma parametrelerinin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım izlenen parametreler için grupların karşılaştırılmasında Oneway ANOVA, normal dağılım izlenmeyen parametreler için Kruskal Wallis Varyans Analiz testi kullanıldı. Bu testler sonucunda istatistiksel farklılık bulunduğunda ikili karşılaştırmalar için Oneway ANOVA için Tukey testi, Kruskal Wallis için Bonferronili Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada çalışmaya dâhil edilme kriterlerini karşılayan kontrol grubundaki 55 hastanın 55 sağ gözü (n=55) ve gözdibi muayenelerinde hiçbir DR bulgusu saptanmayan 50 DM'lu hastanın 50 gözü (n=50) olmak üzere toplam 105 sağ göz çalışmaya alındı. **Grup 1:** Tip 1 DM, **Grup 2:** Tip 2 DM, **Grup 3:** Tip 1 DM kontrol grubu, **Grup 4:** Tip 2 DM kontrol grubu olarak adlandırıldı.

Olguların Cinsiyete Göre Dağılımları

Çalışmaya 53 erkek ve 52 kadın olgu dâhil edildi. Cinsiyet oranlarının gruba göre dağılımı aşağıdaki tabloda verilmektedir. Grupların cinsiyet açısından dağılımları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$).

Tablo 1: Olguların cinsiyete göre dağılımları.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Kadın	9	18	19	6
Erkek	11	12	13	17
Toplam	20	30	32	23

Grupların Yaş Ortalamalarına ve Diyabet Sürelerine Göre Dağılımları

Çalışmaya alınan 105 olgunun gruplara göre yaş ortalamaları gruplara göre dağılımı ve diyabet süreleri aşağıdaki tabloda verilmektedir (Tablo 2). Grup 1'in diyabet süresi 101.40 ay, grup 2'nin diyabet süresi 44.23 ay olarak bulunmuştur

Tablo 2: Grupların yaş ortalamalarına göre dağılımları.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Yaş	25.20	53.17	24.20	51.50	0.000
DM Süresi (ay)	101.40	44.23	-	-	0.006

Grupların Endotel Hücre Dansitelerine Göre Karşılaştırılması

Her üç grubun endotel hücre dansiteleri aşağıdaki tabloda (Tablo 3) gösterilen şekilde karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 3: Gruplar Arasında Endotel Dansitesinin Karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Endotel Dansitesi (hücre/mm ²)	3238.15	2527.63	3596.73	3231.75	0.000

Grupların Keratosit Dansitesi, Sinir Dansitesi, Dallanma Sayısı, Açılanmalarına Göre Karşılaştırılması

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada keratosit dansitesi, sinir dansitesi, dallanma sayısı açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Açılanma karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4: Gruplar Arasında Keratosit Dansitesi, Sinir Dansitesi, Dallanma Sayısı, Açılanmalarına Göre Karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
Keratosit Dansitesi	304.65	318.80	547.76	496.75	0.352
Sinir Dansitesi	51.58	58.79	75.38	63.21	0.493
Dallanma Sayısı	7.05	5.68	8.55	7.38	0.75
Açılanma	49.74	28.93	21.21	23.37	0.000

Grup 1 ve Grup 2'nin Yaş, DM Süresi, Endotel Dansitesi, Keratosit Dansitesi, Sinir Dansitesi, Dallanma Sayısı, Açılanmasının Karşılaştırılması

Grup 1 ve grup 2 arasında yapılan karşılaştırmada keratosit dansitesi, sinir dansitesi, dallanma açısından istatistiksel anlamlı farklılık tesbit edilmedi ($p>0.05$). DM süresi, endotel dansitesi, açılanma ile ilgi değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5: Grup 1- Grup 2'nin Karşılaştırılması

	P=
Yaş	0.000
DM Süresi	0.006
Endotel Dansitesi	0.000
Keratosit Dansitesi	0.886
Sinir Dansitesi	0.493
Dallanma Sayısı	0.075
Açılanma	0.000

Grup 1 ve Grup 3'ün Yaş, DM Süresi, Endotel Dansitesi, Keratosit Dansitesi, Sinir Dansitesi, Dallanma Sayısı, Açılanmasının Karşılaştırılması

Grup 1 ve grup 3 arasında yapılan karşılaştırmada bazı parametreler için (Endotel dansitesi, keratosit dansitesi, sinir dansitesi, açılanma) istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p < 0.05$). Yaş ve dallanma sayısı ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilemedi ($p > 0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6: Grup 1- Grup 3' ün Karşılaştırılması

	P=
Yaş	0.456
Endotel Dansitesi	0.000
Keratosit Dansitesi	0.000
Sinir Dansitesi	0.000
Dallanma Sayısı	0.094
Açılanma	0.000

Grup 2 ve Grup 4'ün Yaş, DM Süresi, Endotel Dansitesi, Keratosit Dansitesi, Sinir Dansitesi, Dallanma Sayısı, Açılanmasının Karşılaştırılması

Grup 2 ve grup 4 arasında yapılan karşılaştırmada endotel dansitesi, keratosit dansitesi ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulundu ($p < 0.05$). Sinir dansitesi, dallanma sayısı, açılanmayla ilgili istatistiksel anlamlı sonuçlar bulunamadı ($p > 0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7: Grup 2- Grup 4' ün Karşılaştırılması

	p=
Yaş	0.508
Endotel Dansitesi	0.000
Keratosit Dansitesi	0.000
Sinir Dansitesi	0.071
Dallanma Sayısı	0.42
Açılanma	0.379

Grup 3 ve Grup 4'ün Yaş, DM Süresi, Endotel Dansitesi, Keratosit Dansitesi, Sinir Dansitesi, Dallanma Sayısı, Açılanmasının Karşılaştırılması

Grup 3 ve grup 4 arasında yapılan karşılaştırmada yaş, endotel dansitesi, sinir dansitesi ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p < 0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8: Grup 3- Grup 4'ün Karşılaştırılması

	P=
Yaş	0.000
Endotel Dansitesi	0.000
Keratosit Dansitesi	0.072
Sinir Dansitesi	0.017
Dallanma Sayısı	0.251
Açılanma	0.691

TARTIŞMA

Diabetes mellitus (DM), insülinin yetersiz salınması ve/veya fonksiyonundaki kusura bağlı olarak, kan şekeri yüksekliği sonucu oluşturmuş olduğu komplikasyonlarla, mortalite ve morbiditesi yüksek bir hastalıktır. Kronik hiperglisemi göz, böbrek, sinir, kalp ve damar sistemi başta olmak üzere pek çok organda hasara neden olur (65).

Diyabetin, retinopati ve katarakt gibi iyi bilinen komplikasyonları dışında son 10–15 yıldır gözyaşı fonksiyon bozukluğu, oküler yüzey hastalıkları ve diğer oküler hastalıklarla olan ilişkileri ortaya konulmaktadır. DM'ye bağlı oküler patolojilerin etiopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte son yıllarda bu konuda yapılan çalışmalarla önemli bulgular elde edilmiştir. DM'li hastalarda oküler patolojilere sebep olduğu düşünülen fakat üzerinde tam bir fikir birliği oluşmamış olan 3 temel patogenez mevcuttur (66, 67).

- 1) Kronik hiperglisemi
- 2) Kornea sinir hasarı
- 3) İnsülin etki bozukluğu (insülin direnci)

Diyabetin korneaya etkisinden daha önce bahsetmiştik:

- Keratoepitelyopati
- Süperfisyel punktat keratit
- Rekürren korneal erozyon
- Persistant epitelyal defektler
- Azalmış yara iyileşmesi
- Artmış epitelyal frajilite
- Striat keratopati
- Epitel oksijen alımında azalma
- Epitel bariyer fonksiyonunda bozulma
- Kornea epitelinin bazal membranının stromaya zayıf adhezyon göstermesi
- Kornea duyarlılığında azalma

- Kornea epitel hücrelerinde mitozun ve metabolizmanın baskılanması ile epitelyum hücrelerinde genişleme
- Korneal ülserler
- Mikrokistik ödem / Bleb oluşumu
- Stromal bozukluklar
- Glikozaminoglikan metabolizma bozuklukları
- Korneal endotel bozukluklar
- Endotelyal pompa fonksiyon bozukluğu
- Artmış endotelyal geçirgenlik
- Endotelyal morfoloji bozuklukları (Polimegatizm/Pleomorfizm)
- Santral korneal kalınlıkta artış
- Korneal eğrilik yarıçaplarında değişme.

Günümüze kadar diyabetin kornea üzerine etkisi ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır:

Diyabetlilerde kornea adlı bir yayında diyabetin korneayı morfolojik, metabolik, fizyolojik, klinik olarak etkilediği belirtilmiştir (68). Yine yayınlanan bir yayında büyük bir diyabetik ve kontrol grubunun ön segment parametreleri (kornea eğrilik yarıçapı, korneal kalınlık, santral kornea sensitivitesi, medikal dilatasyon öncesi ve sonrası pupil çapı ölçümü, lens şeffaflığı, intraoküler basınç) değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda kornea eğrilik yarıçapı, korneal kalınlık, intraoküler basınç sonuçları diyabetle korele değilken, kataraktın anlamlı şekilde diyabetten etkilendiği görülmüştür. Kornea sensitivitesinin, retinopatisi ve nöropatisi olan diyabetik grupta anlamlı azaldığı ve pupil dilatasyonu için geçen sürenin diyabetlilerde kontrol grubuna göre yüksek bulunduğu bildirilmiştir (69).

Malik ve ark. 18 diyabetik hasta ve 18 sağlıklı gönüllü oluşan çalışma gruplarında korneal değişiklikleri konfokal mikroskopi ile araştırmışlardır. Araştırmacılar hastaları nöropatolojik defisitine göre aldıkları skorlarla ılımlı, orta, ciddi diyabet olarak gruplandırmışlardır. Hastaların Bowman tabakalarında sinir lifi uzunluğu, sinir lifi dansitesi ve dallanma dansiteleri incelenmiştir. Çalışma sonunda dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.01$). Diyabetik nöropatisi ciddi olan grupta, sinir lifi uzunluğu, sinir lifi dansitesi, dallanma dansitesi en düşük bulunan grup olarak rapor edilmiştir (70).

Bizim yaptığımız konfokal çalışmada istatistiksel olarak dört grup arasından sinir dansitesi açısından anlamlı fark bulunamamış olsa da, en yüksek sinir dansitesi grup 3 (Tip 1

DM kontrol grubunda): 75.38, daha sonra grup 4 (Tip 2 DM kontrol grubunda): 63.21, grup 2 (Tip 2 DM): 58.79, grup 1(Tip 1 DM): 51.58 bulundu. Burada dikkat edilmesi gereken konu, sinir lifi dansitesinin genç ve sağlıklı kişilerde en yüksek çıkarken, ileri yaştaki sağlıklı kişilerde bu oranın göreceli olarak azaldığıdır. Diyabet hastalarında ise, tip 2 DM hastaların değerleri sağlıklı gönüllülere daha yakın izlenmektedir. Ancak DM süresinin tip 2 hasta grubunda çok daha kısa olması bunda etken olabilir. Bizim çalışmamızda dallanma sayısı açısından en yüksekte en düşüğe doğru dağılım ise şu şekilde idi; grup 3: 8.55, grup 4: 7.38, grup 1: 7.05 ve grup 2: 5.68. Malik ve ark.'nın yaptığı çalışmayla bizim çalışmamız çalışmaya alınan gruplar açısından farklıdır. Biz tip 1 ve tip 2 DM olan, hiçbir diyabetik retinopati bulgusu olmayan hasta grubunu aldık. Ancak her iki çalışmanın ortak noktası, diyabetli hastalarda sinir dansitesinin ve dallanma sayısının azaldığı yönündedir. Bizim çalışmamızda sinir yoğunluğunda olduğu gibi, dallanma sayısı da diyabetten olumsuz etkilenmiş izlenmektedirler. Ancak dallanma sayısında, sinir lifi yoğunluğunun aksine, tip 1 DM hastalar, tip 2 DM'lu hastalara göre kontrol gruplarına daha yakın dallanma sayısı göstermektedirler. Bu da, yaşın muhtemel bir etken olabileceğini düşündürmektedir.

Benzer başka bir çalışmada tip 1 diyabetli hastalarda konfokal mikroskopi ile epitelyal kalınlık, kornea kalınlığı, uzun sinir lifi sayısı, korneal sensitivite değerlendirilmiştir. Hastalar gruplandırılırken nöropatilerine göre yok, orta, ciddi olarak gruplandırılmışlardır. Çalışma sonucunda nöropati bulgusu arttıkça uzun sinir lif sayısının azaldığı, nöropatisi olmayan diyabetli grubun kontrol grubuna göre kornea kalınlığının arttığı, ciddi nöropatisi olan diyabetli grubun, nöropatisi olmayan diyabetli gruba göre epitelinin anlamlı olarak daha ince olduğu bulunmuştur (71). Bizim çalışmamız yukarıdaki çalışma ile uyumlu idi ve her iki DM'lu hasta grubunda sinir dansitesinin yaş uyumlu kontrol gruplarına göre daha düşük olduğunu bulduk.

Ancak konfokal mikroskopi kullanılarak yapılan, tip 1 ve tip 2 diyabetli hastaların bulguların tek kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada gruplar arasında bazal epitelyal hücre dansitesi, ön stroma keratosit sayıları, endotel hücre sayıları yönünden fark bulunamamıştır. Ancak bu çalışmada tip 1 ve 2 diyabet hasta grupları için yalnız bir kontrol grubunun oluşturulması ve hasta gruplarında ki göreceli düşük hasta sayıları çalışmanın eksik yönleri olarak görülmektedir (72).

Biz çalışmamızda tip 1 ve tip 2 DM gruplarına yaş uyumlu 2 farklı kontrol grubu oluşturduk. Bizim sonuçlarımıza göre grup 1 ile grup 3 arasında yapılan karşılaştırmada bazı

parametreler için (Endotel dansitesi hücre/mm² grup 1: 3238.15, grup3: 3596.73, keratosit dansitesi grup 1: 304.65 grup3: 547.76, sinir dansitesi grup 1: 51.58 grup 3: 75.38, açılanma grup 1: 49.74 grup3: 21.21) istatiksels olarak anlamlı sonuçlar elde edildi (p<0.05). Ancak iki grup arasında dallanma sayısı (grup 1: 7.05, grup 3: 8.55) yönünden DM'lu gruptaki değer her ne kadar kontrol grubuna göre düşük olsa da, istatiksels olarak anlamlı düzeyde değildi (p>0.05). Bizim çalışmamız, Frueh ve ark, yaptıkları çalışmaya göre daha fazla sayıda hasta ve kontrol gruplarını içermiştir. Frueh ve ark, yaptıkları çalışmada diyabetik grupların retinopatileri hakkında bilgi verilmemiş, biz ise tamamen hiçbir diyabetik retinopati bulgusu olmayan hasta grubunu dahil ettik. Yine onların yaptıkları çalışmada kontrol grubunun yaş ortalaması hakkında bilgi verilmemektedir. Biz yaptığımız çalışmada yaş ortalamasına göre oluşturduğumuz iki grup, grup 3 ve grup 4'te farklı sonuçlar elde ettik, bu da kontrol grubunun yaş ortalamasının çalışma açısından önemini vurgulamaktadır.

Başka bir çalışmada ise pankreas ve böbrek transplantı yapılacak tip 1 DM'li 20 hasta ve 15 kişilik kontrol grubunda in vivo konfokal mikroskopi ile korneal değişiklikler incelenmiştir. Transplant öncesi alınan ölçümlerde sinir lifi dansitesi, dallanma dansitesi, sinir lifi uzunluğu anlamlı düşük, sinir lifi tortuositesi anlamlı yüksek bulunmuştur. In vivo konfokal mikroskopi, transplantasyon sonrası yeniden yapıldığında sinir lifi dansitesi ve sinir lifi uzunluğunda olumlu yönde giden anlamlı bulgular bulunurken, dallanma dansitesi ve sinir lifi tortuositesinde anlamlı fark bulunamamıştır (73).

Öte yandan erken diyabetik nöropatili bir grup hasta ile yapılan bir konfokal mikroskopi çalışmasında korneal sinir ve dallanma dansitesinin azaldığı görülmüş, korneal sinir tortuositesinde farklılık bulunmuştur. Bunların hastada var olan nöropati ile uyumlu olduğu kaydedilmiştir. Non invaziv bir test olan konfokal mikroskobinin diyabetik nöropatinin erken tanısında kullanılabileceği vurgulanmıştır (74).

Midena ve ark, 42 diyabetik, 27 sağlıklı gönüllülerden oluşan bir grupta yaptıkları konfokal mikroskopi çalışması ile sinir lif sayısının, lifin boncuklanmasının, lifin dallanmasının kontrol grubuna göre azaldığı, tortuositenin ise anlamlı olarak arttığını bulmuşlardır (75).

De Cilla ve ark. 23 NPDR, 27 PDR (ALP-PDR:14, not ALP-PDR: 13) (ALP=Argon laser fotokoagulyasyon) hastayla yaptıkları bir çalışmada diyabetik hastaların lif sayısının ve reflektivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğu, tortuositenin ise anlamlı yüksek olduğu

bulunmuştur. Gruplar arasında PDR'li grubun lif sayısının anlamlı düşük, tortuositesinin ise anlamlı yüksek olduğu belirtilmiştir. Ancak bu çalışmanın en dikkat çeken noktası PDR'li hastalardan argon laser tedavisi alan grupta subbasal sinir lifi tabakasının yoğunluğunun, tedavi almayan gruba göre daha düşük bulunmasıdır. Bu sonuçlar ışığında panretinal uygulanan argon laserin korneal hipoesteziye yol açıp açmadığı tartışılabilir (76).

Ülkemizden yapılan bir diğer çalışmada ise, 12 hasta NDR, 10 hasta background diyabetik retinopati (BDR), 13 hasta proliferatif diyabetik retinopati grubu ve 24 hastalık bir kontrol grubu oluşturulmuştur ve bu hastalarda konfokal mikroskopi ile subbazal ve stromal sinir tabakası morfolojisi ve kalınlığı değerlendirilmiştir. Diyabetli hastalarda stromal sinir tabakasının kalınlığının kontrol grubuna göre artmış olduğu ve açılanmalarının da artmış olduğu görülmüştür. Subbazal uzun sinir lifleri ve toplam sinir lif dansitesi de kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur. BDR'li gruba göre PDR'li grupta stromal sinir tabakası kalınlığı yüksek bulunmuş. Ek olarak diyabetli hastaların subbazal sinir pleksusu anlamlı daha kalın ve tortuositesi artmış görülmüştür. Subbazal sinir tabakasının diyabetik hastalarda artmış olan tortuositesi diyabetin süresi ile korele bulunurken, kan glukoz düzeyiyle ve HbA1c ile korele bulunmamıştır (41).

Bizim yaptığımız çalışmamızda gruplar arasında yapılan karşılaştırmada keratosit dansitesi, sinir dansitesi, dallanma sayısı açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Açılanma karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Grup 1 ve grup 2 arasında yapılan karşılaştırmada keratosit dansitesi, sinir dansitesi, dallanma açısından istatistiksel anlamlı sonuç elde edilemedi ($p<0.05$). Açılanma ile ilgili değerler istatistiksel anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grup 1 ve grup 3 arasında yapılan karşılaştırmada bazı parametreler için (Endotel dansitesi, keratosit dansitesi, sinir dansitesi, açılanma) istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edildi ($p<0.05$). Yaş ve dallanma sayısı ile ilgili istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edilemedi ($p>0.05$). Grup 2 ve grup 4 arasında yapılan karşılaştırmada endotel dansitesi, keratosit dansitesi ile ilgili istatistiksel anlamlı sonuçlar bulundu ($p<0.05$). Yaş, sinir dansitesi, dallanma sayısı, açılanmayla ilgili istatistiksel anlamlı sonuçlar bulunamadı ($p>0.05$). Grup 3 ve grup 4 arasında yapılan karşılaştırmada dallanma sayısı, keratosit dansitesi ve açılanma dışındaki değerlerle ilgili istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edildi ($p<0.05$).

Korneada stromal keratosit sayısının konfokal mikroskop ile incelendiği bir çalışmada sağlıklı bireylerde keratosit dansitesinin yaşla anlamlı azaldığı gösterilmiştir (77).

Quadrado ve ark, tip 2 DM hastalar ile kontrol grubunda keratosit ve endotel hücre yoğunluklarını konfokal mikroskopi karşılaştırmışlardır. Yazarlar stromal keratosit dansitesini ön, orta ve arka stroma olarak gruplandırdıkları çalışmalarında, orta stromadaki hücre yoğunluğunun ön ve arka stromaya göre yüksek olduğu göstermişlerdir. Ön ve arka hücre yoğunluk farklarının ise ön stroma lehine daha fazla olduğu gösterilmiştir. Korneal endotelial dansite açısından diyabetli grupla, sağlıklı grup arasında fark bulunmamış. Her iki grup endotel hücreli arasında morfolojik farklılık kaydedilmemiş (78).

Bizim çalışmamızda ön stroma hücreleri dikkate alındı ve daha önce bahsedildiği gibi her iki DM grubunun ön stromal keratosit sayıları kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). Bizim çalışmamızda endotel dansiteleri gruplara göre karşılaştırıldığında benzer şekilde DM gruplarıdaki ortalama endotel sayıları kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük idi (Tablo 3) ($p<0.05$).

Ancak speküler mikroskopi kullanılarak tip 1 ve tip 2 DM'lu hastaların endotel hücre dansitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir başka çalışmada gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı rapor edilmiştir (79). Bu çalışmada alınan grupların retinopati bulguları olup olmadığı hakkında bilgi verilmemesi bizim çalışmamızla karşılaştırmamızı güçleştirmektedir. Ve hücre sayımında mikroskobun manuel mi yoksa otomatik mi kullanıldığını bilmek bizim için değerlidir. Bizim çalışmamızın en büyük zorluklarından biri hücre sayımının manuel, araştırmacı tarafından yapılıyor oluşuydu. Bizim cihazımızda otomatik hücre sayım için gerekli yazılım programı olmadığı için sayımlar tek kişi (SZ) tarafından manuel olarak hücreler işaretlenerek yapıldı.

Öte yandan speküler mikroskopi kullanılarak yapılan bir başka çalışmada, proliferatif diyabetik retinopatisi bulunan hastaların endotel hücre yoğunluklarının kontrol grubuna göre farklı olmadığı gösterilmiştir (80).

Ancak speküler mikroskopi ile konfokal mikroskobinin karşılaştırıldığı ve sağlıklı gönüllüler ve Fuch's endotelial distrofi hastaların dahil edildiği bir çalışmada, her iki cihazında sağlıklı gönüllülerde rahatlıkla kullanıldığını fakat endotel distrofi gibi patolojik durumlarda konfokal mikroskopi ile endotel hücre şekillerinin daha iyi değerlendirildiği belirtilmektedir (81). Bu çalışma göstermiştir ki her ne kadar yapılmış speküler mikroskop yayınlarından bahsetsek de speküler mikroskopi ve konfokal mikroskopi sonuçlarını karşılaştırmak çok sağlıklı olmayabilir. Hatta, non-kontakt ve kontakt speküler mikroskobun

karşılaştırıldığı bir çalışmada kontakt speküler mikroskobinin daha yüksek değerler verdiği görülmüştür (82).

Kontakt konfokal mikroskopi kullanmak hasta uyumu açısında da karşılaştığımız zorlukların başında geldi. Bizim cihazımızın herhangi bir analiz programı olmadığı için endotel hücreleri sadece tek kişi tarafından manuel olarak işaretlenip, değerlendirildi. Bir yazılım programı olsaydı ve bizimde bulduğumuz iki değeri karşılaştırma olanağımız olsaydı, daha sağlıklı sonuçlara ulaşabileceğimizi düşünüyoruz.

Yapılan son güncel çalışmalarda invaziv olmayan konfokal mikroskopi ile kornea sinir tabakasının rejenerasyonunun kornea cerrahisi geçirmiş, keratokonuslu ve diyabetik hastalarda değerlendirilebileceği belirtilmiştir (83).

DM'lu hastaların sinir lifi tortuositesinin konfokal mikroskopi ile incelendiği bir çalışmada, hastalar klinik nöropatilerine göre hafif, ılımlı, ciddi olarak gruplandırıldıklarında, ciddi nöropatisi olan diyabetik hastalarda sinir lifi tortuositesi anlamlı olarak diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Ancak bulunan sonuçların, yaş, diyabet süresi, HbA1c ile korele olmadığı belirtilmiştir (84).

Bizim çalışmamızda da hiçbir retinopati bulgusu olmayan hastalar değerlendirildiğinde diyabetin yine de kornea endotel hücrelerini etkilediğini gördük. Yukarıdaki çalışmada da ciddi nöropatisi olan gruplarda diyabetin anlamlı derecelerde kornea hücre değişikliklerine yol açtığı bulunmuştur.

Bu konuyla ilgili yapılmış bir diğer çalışmada, retinopatisi olmayan diyabetik hastalar, retinopatisi olan diyabetik hastalar ve kontrol grubu alınmış, hastalar düşük oksijen geçirgenliği olan kontakt-lens takılmış. Kontakt lensin indüklediği kornea ödeminin düzelmesi gruplar arasında karşılaştırıldığında en düşük düzelleme retinopatisi olan grupta, daha sonra retinopatisi olmayan grupta olmuş. Bu çalışmada kornea endotel hücrelerinin diyabete bağlı olarak fonksiyonun azaldığı görülmüştür (85).

Çalışmamızı planlarken düşündüğümüz diyabetik hastalarda kornea endoteli diyabete bağlı etkilenir mi sorusu, yukardaki çalışmada da araştırılmış ve sonuç olarak bizim gibi endotelin etkileneceği belirtilmiştir.

Inoue ve ark, yaptıkları bir çalışmada endotel hücre dansitesine, hegzogonal hücrelerin yüzdesine, varyasyon gösteren hücre oranlarına, santral kornea kalınlığına bakılmışlardır. Diyabetik hastalarda santral kornea kalınlığı, hegzogonal hücre yüzdesi kontrol grubuna göre farklı bulunmamış ancak kornea endotel hücre dansitesinin azaldığını, varyasyon gösteren hücre oranlarının arttığı görülmüştür.. Diyabetik retinopati derecesine, laser öyküsü gibi oküler faktörlere, HbA1c, yaş, cinsiyet, diyabetin süresi, kanda üre, nitrojen düzeyleri gibi sistemik faktörlere bakılmış, bu değerlerden hiçbiri kornea endotel dansitesiyle korele bulunmamıştır (86). Bu çalışmanın endotel dansitesi ile ilgili ulaşılan sonuçları her ne kadar bizim sonuçlarımıza paralel olsa da uyguladıkları metod hakkında bilginizin sınırlı oluşu, bizim çalışmamızla karşılaştırmamızı güçleştirmektedir.

Bir diğer yapılan çalışmada tip 1 DM, tip 2 DM, kontrol gruplarının endotel hücre dansitelerine, endotel hücre morfolojilerine, santral kornea kalınlıklarına bakılmış. Endotel hücre dansitesinin kontrol grubuna göre tip 2 DM'lularda %5, tip 1 DM'lularda %11 azaldığı, santral kornea kalınlığının tip 2 DM'lularda en yüksek, kontrol grubunda en düşük olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak metabolik stres altında kornea endotel hücrelerinin etkilendiği görülmüştür (87).

Ülkemizde obezite ve diyabetin en önemli toplum sağlığı sorunları haline gelmektedir. Gelecek kuşaklarda bu sorunların azaltılabilmesi için obezite ve diyabeti önlemeye yönelik yaşam tarzını özendirici acil bir eylem planı oluşturulması ve derhal uygulamaya konulması gerekmektedir (5).

Bizler de bugün için elimizde mevcut imkanlarla diyabet komplikasyonlarıyla ilgili erken tanı amaçlı klinik çalışmalar yapmaktayız, ilerleyen günlerde non-kontakt cihazlarla çok daha verimli sonuçlara ulaşacağımızı düşünmekteyiz.

ÖZET

Amaç: Non-invaziv bir yöntem olan konfokal mikroakopi ile hiçbir retina bulgusu olmayan non-proliferatif diyabetik hastalarda, kornea subbazal sinir pleksuslarının, stromadaki keratosit ve endotel hücrelerinin dansitesini, subbazal sinir pleksuslarının açılanmasını değerlendirerek, diyabetin kornea üzerine olan olası etkilerini araştırmak.

Gereç ve Yöntem: 30 NPDR tip 2 DM, 20 NPDR tip 1 DM, 55 sağlıklı olgu olmak üzere 105 hasta dahil edildi. Heidelberg RetinaTomograph Rosstock Corneal Module laser scanning confocal mikroskop HRT3 (Laser tarayıcı konfokal mikroskop) ile kornea değerlendirildi.

Sonuç: Endotel dansitesi tip 1 DM kontrol grubunda en yüksek (3596.73 hücre/ mm²), tip 2 DM grubunda en düşük (2527.63 hücre/ mm²; (P<0,05) bulundu. Tip 1 DM, tip 1 DM kontrol grubuyla karşılaştırıldığında endotel dansitesi (sırayla): 3238.15, 3596.73 hücre/ mm², keratosit dansitesi: 304.65, 547.76, sinir dansitesi: 51.58, 75.38, açılma: 49.74, 21.21 ile ilgili istatistiksel anlamlı sonuç elde edildi (P<0,05). Tip 2 DM, tip 2 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında endotel dansitesi (sırayla): 2527.63, 3231.75 hücre/ mm², keratosit dansitesi: 318.80, 496.75 ile ilgili istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edildi. Tip 1 DM kontrol grubuyla, tip 2 DM kontrol grubu karşılaştırıldığında endotel dansitesi(sırayla): 3596.73, 3231.75 hücre/ mm² anlamlı sonuçlar elde edildi (P<0,05).

Tartışma: Endotel dansitesi, keratosit dansitesi, subbazal sinir pleksus dansitesi, subbazal sinir açılanmasına bakıldığında hiçbir retina bulgusu olmayan diyabetik hastalarda bile korneanın etkilenmiş olabileceği görüldü. Gelişen teknoloji, özellikle laser tarayıcı sistemlerin kullanılmasıyla konfokal mikroskopinin diyabetik hastaların kornealarının değerlendirilmesinde yeni ufuklar açacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: konfokal mikroskop, diyabet, kornea endotel hücre dansitesi, keratosit dansitesi, kornea subbazal sinir pleksus dansitesi

EVALUATION OF CORNEAL STROMAL AND ENDOTHELIAL ALTERATIONS OF TYPE 1 AND TYPE 2 NON-PROLIFERATIVE DIABETIC PATIENTS WITH CONFOCAL MICROSCOPY

ABSTRACT

Purpose: Herein we planned to investigate the probable effects of diabetes on cornea in a group of patients without any clinical retinal findings. With confocal microscopy we analyzed angulation of subbasal nerve and densities of the subbasal corneal nerve plexus, stromal keratocyte and endothelial cells and we compare our findings with those of nondiabetic patients.

Methods: Thirty-five corneas of patients with type 2 diabetes and 24 corneas of age-matched control subjects were included in the study. Patients with diabetes were further divided as Type 1 and 2 (Group 1 and 2). Also control patients were divided into 2 groups (group 3 and 4) for creation of age-match control groups. With Heidelberg Retina Tomograph Rosstock Corneal Module laser scanning confocal mikroskop HRT3 we analyzed angulation of subbasal nerve and densities of the subbasal corneal nerve plexus, stromal keratocyte and endothelial cells.

Results: Mean age of patients were 25.2, 53.1, 24.2, 51.5, respectively and there was not any statistical difference between groups 1 and 3 or groups 2 and 4. Among investigated parameters we detect statistical significant difference for endothelial and keratocyte cell densities between groups 1 and 3 (3238 vs 3596 and 304 and 547) and groups 2 and 4 (2527 vs 3231 and 318 vs 496) ($p < 0.05$). On the other hand, for nerve density plexus density and nerve angulation the statistical difference was obtained between groups 1 and 3 (51 vs 75 and 49 vs 21°) ($p < 0.05$) but not for group 2 and 4 (58 vs 63) (28 vs 23°) ($p > 0.05$).

Conclusion: With that study we documented that cornea could be effected in diabetic patients even in cases without any retinal findings. Developing technologies could provide new opportunities for more earlier detection of diabetic findings on cornea.

Key Words: confocal microscopy, diabetes, corneal endothelial cell density, keratocyte density, corneal subbasal nerve plexus density

KAYNAKLAR

1. Atabek E. Kapadokyalı Arateus. TDC Yayınları, Çelik Cilt Matb. 1973. s: 4-9.
2. Garber AJ. Diabetes Mellitus. Stein JH Mosby (Editor). Internal medicine. Missouri: St. Louis. 1994; 1391-92.
3. Adeghate E, Scattner P, Dunna E. An update on the etiology and epidemiology of diabetes mellitus. Ann N Y Acad Sci. 2006; 1084: 1–29.
4. Conference Report: The International Diabetes Federation 19th World Diabetes Congress; Cape Town, South Africa Pesach Segal, MD, FRCP.
5. Population-Based Study of Diabetes and Risk Characteristics in Turkey Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). Turdep-II Sonuçlarının Özeti. Ulaşılabilecek adres:URL: <http://www.itf.istanbul.edu.tr>. 11-05-2011
6. Davidson J K. Clinical Diabetes Mellitus. Diabetic eye disease. Thime Medical Puplishers. 1991. p: 427-44.
7. Klein R, Klein B. Epidemiology of proliferative diabetic retinopathy. Diabetes Care. 1992; 15: 1875-91.
8. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. Photocoagulation treatment of proliferative diabetic relinopathy: The second report of diabetic retinopathy study findings. Ophthalmology. 1978; 85: 82.
9. Klein R, Klein B, Moss S ve ark. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. Ten-year incidence and progression of diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol. 1994; 112: 1217-28.
10. Kenyon KR, Fogle JA, Stone DL, Stark WJ. Regeneration of corneal epithelial basement membrane following thermal cauterization. Invest Ophthalmol Vis. Sci. 1977; 16: 292-301
11. Yanoff M, Duker JS. Kornea epiteli. Bavbek T (Editör). Ophthalmology. Hayat tıp kitapçılık. 2007. p: 417

12. Katowitz AJ. Fundamentals and principles of ophthalmology. American Academy of Ophthalmology. 2007; 1: 149–203.
13. Beebe DC, Coats JM. The Lens organizes the anterior segment: specification of neural crest cell differentiation in the avian eye. *Dev Biol.* 2000; 22082: 424-31.
14. Sevel D, Isaacs R. A reevaluation of corneal development. *Trans Am Ophthalmol Soc.*1998; 136: 178-207.
15. Kim EK, Geroski DH, Holly GP ve ark. Corneal endothelial cytoskeletal changes in f-actin with aging, diabetes and after cytochalasin exposure. *Am J Ophthalmol.* 1992; 114: 329-35.
16. Roszkowska AM, Tringali CG, Colosi P ve ark. Corneal endothelium evaluation in type I and type II diabetes mellitus. *Ophthalmologica.* 1999; 213: 258-61.
17. Arffa RC. Disease of the cornea, fourth edition. Mosby Co (Editör) . 1997. p: 6-7.
18. K'yce SD. Distribution of sympathetic nerves in rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vsi Sci.* 1986; 27: 354-60
19. Evren Ö. Kornea fizyolojisi. *Kornea.* İstanbul: Türk oftalmoloji derneği eğitim yayınları. 2009; 27-31.
20. The 18th Congress of the International Diabetes Federation. *Diabetologia.* 2003; 46: A1-471.
21. Centers for Disease Control and Prevention: National Diabetes Surveillance System: Prevalence of Diabetes: Number (in Millions) of Persons With Diagnosed Diabetes, United States, 1980– 2005.
22. Satman I ve ark. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care.* 2002; 25: 1551-6.
23. Report of expert committee on diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2001; 24: 5–20.

24. Klein R, Klein BE, Moss SE. How many steps of progression of diabetic retinopathy are meaningful. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 2001; 119: 547–53.
25. Jeganathan VSE, Wang JJ. Ocular associations of diabetes other than diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2008; 31: 1905–12.
26. Alves M, Carvalheira JB, Módulo CM ve ark. Tear film and ocular surface changes in diabetes mellitus. *Arq Bras Oftalmol.* 2008; 71: 96–103.
27. Kahn HA, Hiller R. Blindness caused by diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 1974; 78: 58-67.
28. Early treatment diabetic retinopathy study research group. Early photocoagulation for diabetic retinopathy, ETDRS report number 9. *Ophthalmology.* 1991; 98: 766–85.
29. Early treatment diabetic retinopathy study research group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs-an extension of the modified Airlie House classification ETDRS, report number 10. *Ophthalmology* 1991; 98: 786–806.
30. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, ve ark. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med.* 1994; 331: 1480-7.
31. Chiou AGY, Kaufman SC, Kaufman HE, Beureman RW. Clinical confocal microscopy. *Surv Ophthalmol.* 2006; 51: 482-500.
32. Guthoff RF, Baudouin C, Stave J. Atlas of confocal scanning in vivo microscopy in ophthalmology. Berlin, Springer. 2006. p: 3-21.
33. Jalbert I, Stapleton F, Papas E ve ark. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 225-36.
34. Erie JC, McLaren JW, Patel VS. Perspectives confocal microscopy in ophthalmology. *Am J Ophthalmol* 2009; 148: 639–46.
35. İrkeç M, Bozkurt B. The place of confocal microscopy in diagnosis and pursuit of corneal diseases. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci.* 2007; 3: 15-24

36. Koester CJ. Confocal Microscopy of the Eye. Fankhauser F, Kwasniewska S. (Editörler) Lasers in Ophthalmology- Basic. Diagnostic and Surgical Aspects. The Netherlands: Kugler publications. 2003. p: 131-141.
37. Guthoff RF, Stave J. In vivo micromorphology of the cornea: confocal microscopy principles and clinical applications. Reinhard, T, Larkin, F (Editörler) Essentials in ophthalmology-cornea and external eye disease. Berlin: Springer-Verlang. 2006. p: 173-208.
38. Mastropasqua L, Nubile M. Confocal microscopy of the cornea. Thorofare: Slack Incorp. 2002. p: 1-6.
39. Nishida T. Cornea. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (Editörler) .Cornea. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Mosby. 2005. p: 3-26.
40. Guthoff RF, Wiens H, Hahnel C, Wree A. Epithelial innervation of human cornea: a three-dimensional study using confocal laser scanning fluorescence microscopy. Cornea. 2005; 24: 608-13.
41. Mocan MC, Durukan I, Irkeç M, Orhan M. Morphologic alterations of both the stromal and subbasal nerves in the corneas of patients with diabetes. Cornea. 2006; 25: 769-73
42. Prydal JI, Franc F, Dilly PN ve ark. Keratocyte density and size in unconscious humans by digital image analysis of confocal images. Eye. 1998; 12: 337-42.
43. Klais CM, Bühren J, Kohnen T. Comparison of endothelial cell count using confocal and contact specular microscopy. Ophthalmologica. 2003; 217: 99-103.
44. Ucakhan OO, Kanpolat A, Yilmaz N, Ozkan M. Amiodarone keratopathy: an in vivo confocal microscopic study. Eye Contact Lens. 2005; 31: 148-57.
45. Kaufman SC, Musch DC, Belin MW ve ark. Confocal microscopy. A report by the American Academy of Ophthalmology. Ophthalmology. 2004; 111: 396-406.
46. Pfister PR, Cameron JD, Krachmer JH, Holland EJ. Confocal microscopy findings of Acanthamoeba keratitis. Am J Ophthalmol. 1996; 121: 119-28.

47. Avunduk AM, Beuerman RW, Varnell ED, Kaufman HE. Confocal microscopy of *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87: 409-10.
48. Brasnu E, Bourcier T, Dupas B ve ark. In vivo confocal microscopy in fungal keratitis. *Br J Ophthalmol.* 2007; 91: 588-91.
49. Jalbert I, Stapleton F, Papas E ve ark. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87: 225-36.
50. Ehlers N, Moller HU. Pathology and pathomechanisms of epithelial microcystic and basement membrane abnormalities of the cornea. *Acta Ophthalmol.* 1988; 66: 318-26.
51. Chiou AGY, Kaufman SC, Beuerman RW ve ark. Confocal microscopy in cornea guttata and Fuch's endothelial dystrophy. *Br J Ophthalmol.* 1999; 83: 185-9.
52. Grupcheva CN, Craig JP, Sherwin T, ve ark. Differential diagnosis of corneal oedema assisted by in vivo confocal microscopy. *Clin Exp Ophthalmol.* 2001; 29: 133-7.
53. Ivarsen A, Laurberg T, Moller-Pedersen T. Role of keratocyte loss on corneal wound repair after LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45: 3499-506.
54. Linna TU, Vesaluoma MH, Perez-Santanzo JJ ve ark. Effect of myopic LASIK on corneal sensitivity and morphology of subbasal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41: 393-7.
55. Calvillo MP, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Corneal reinnervation after LASIK: Prospective 3-year longitudinal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45: 3991-6.
56. Ruckhofer J, Böhnke M, Alzner E ve ark. Confocal microscopy after implantation of intrastromal corneal ring segments. *Ophthalmology.* 2000; 107: 2144-51.
57. Hollingsworth JG, Boushek RE, Efron N. Correlation of the appearance of the keratoconic cornea in vivo by confocal microscopy and in vitro by light microscopy. *Cornea.* 2005; 24: 1397-405.
58. Ucakhan OO, Kanpolat A, Yılmaz N, Ozkan M. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens.* 2006; 32: 183-91.

59. Gerger A, Hofmann-Wellenhof R, Samonigg H, Smolle J. In vivo confocal laser scanning microscopy in the diagnosis of melanocytic skin tumours. *Br J Dermatology* 2009;160: 475–81.
60. Malandrini A, Martone G, Traversi C ve ark. In vivo confocal microscopy in a patient with recurrent conjunctival intraepithelial neoplasia. *Acta Ophthalmol.* 2008; 86: 690–1.
61. Labbe A, Dupas B, Harnard P, Baudouin C. In vivo confocal microscopy study of blebs after filtering surgery. *Ophthalmology.* 2005; 112: 1979-86
62. Naumann GOH, Schlötzer-Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation. A clinicopathologic study. *Ophthalmology.* 2000; 107: 1111–24.
63. Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M ve ark. Epithelial dendritic cell distribution in normal and inflamed human cornea: in vivo confocal microscopy study. *Am J Ophthalmol.* 2006; 142: 736–44.
64. Patel DV, McGhee CN. Contemporary in vivo confocal microscopy of the living human cornea using white light and laser scanning techniques: a major review. *Clin Exp Oph.* 2007; 35: 71-88.
65. American diabetes association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2004; 27: 5-10.
66. Jeganathan VSE, Wang JJ. Ocular associations of diabetes other than diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2008; 31: 1905–12.
67. Alves M, Carvalheira JB, Módulo CM ve ark. Tear film and ocular surface changes in diabetes mellitus. *Arq Bras Oftalmol* 2008; 71: 96–103.
68. Sánchez-Thorin JC. The cornea in diabetes mellitus. *Int Ophthalmol Clin.* 1998; 38: 19-36.
69. Touzeau O, Levet L, Borderie V ve ark. Anterior segment of the eye and diabetes mellitus. *J Fr Ophtalmol.* 2004; 27: 859-70.

70. Malik RA, Kallinikos P, Abbott CA ve ark. Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients. *Diabetologia*. 2003; 46: 683–8.
71. Rosenberg ME, Tervo TM, Immonen IJ ve ark. Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41: 2915–21.
72. Frueh BE, Korner U, Bohnke M. Confocal microscopy of the cornea in patients with diabetes. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 1995; 206: 317–319.
73. Mehra S, Tavakoli M, Kallinikos PA ve ark. Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration after pancreas transplantation in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2007; 30: 2608-12.
74. Hossain P, Sachdev A, Malik RA. Early detection of diabetic peripheral neuropathy with corneal confocal microscopy. *Lancet*. 2005;366: 1340-3
75. Midena E, Brugin E, Ghirlando A ve ark. Corneal diabetic neuropathy: a confocal microscopy study. *J Refract Surg*. 2006; 22: 1047-52.
76. De Cilla S, Ranno S, Carini E ve ark. Corneal subbasal nerves changes in patients with diabetic retinopathy: an in vivo confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50: 11.
77. Berlau J, Becker HH, Stave J ve ark. Depth and age-dependent distribution of keratocytes in healthy human corneas: a study using scanning-slit confocal microscopy in vivo. *J Cataract Refract Surg*. 2002; 28: 611-6.
78. Quadrado MJ, Popper M, Morgado AM ve ark. Diabetes and corneal cell densities in humans by in vivo confocal microscopy. *Cornea* 2006; 25: 761-8.
79. Larsson LI, Bourne WM, Pach JM, Brubaker RF. Structure and function of the corneal endothelium in diabetes mellitus type I and type II. *Arch Ophthalmol*. 1996; 114: 9-14.
80. Pardos GJ, Krachmer JH. Comparison of endothelial cell density in diabetics and a control population. *Am J Ophthalmol*. 1980; 90: 172-4.

81. Hara M, Morishige N, Chikama T, Nishida T. Comparison of confocal biomicroscopy and noncontact specular microscopy for evaluation of the corneal endothelium. *Cornea*. 2003; 22: 512-5.
82. Szalai E, Németh G, Berta A, Módis L Jr. Evaluation of the corneal endothelium using noncontact and contact specular microscopy. *Cornea*. 2011; 30: 567-70.
83. Patel DV, McGhee CN. In vivo confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease, and following corneal surgery: a review. *Br J Ophthalmol*. 2009; 93: 853-60.
84. Kallinikos P, Berhanu M, O'Donnell C ve ark. Corneal nerve tortuosity in diabetic patients with neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45: 418-22.
85. Saini JS, Mittal S. In vivo assessment of corneal endothelial function in diabetes mellitus.. *ArchOphthalmol*. 1996; 114: 649-53.
86. Inoue K, Kato S, Inoue Y ve ark. The corneal endothelium and thickness in type II diabetes mellitus. *Jpn J Ophthalmol*. 2002; 46: 65-9.
87. Roszkowska AM, Tringali CG, Colosi P ve ark. Corneal endothelium evaluation in type I and type II diabetes mellitus. *Ophthalmologica*. 1999; 213: 258-61.