

Speküler Mikroskopi ve Konfokal Mikroskopi-Çalışma Mekanizmaları ve Oftalmolojideki Uygulamaları

Specular Microscopy and Confocal Microscopy- Mechanisms of Action and Applications in Ophthalmology: Review

Dr. Canan Aslı UTİNE^a

^aYeditepe Üniversitesi Göz Hastalıkları
Araştırma ve Uygulama Merkezi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 31.12.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 03.02.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Canan Aslı UTİNE
Yeditepe Üniversitesi Göz Hastalıkları
Araştırma ve Uygulama Merkezi,
İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
cananutine@gmail.com

ÖZET Konvansiyonel ışık mikroskopisinde görüntüler sadece odak düzleminde değil, bu düzlemin hemen önündeki ve arkasındaki düzlemlerden gelen ışığı da kapsar. Bu nedenle, görüntüler üst üste çakışır. Aksiyel ve transvers (lateral) çözünürlük ile birlikte son görüntünün kontrastı azalır. Speküler ve konfokal mikroskopi sistemleri, konvansiyonel beyaz ışıklı mikroskopun aksine sadece odaksal düzlemden görüntü elde edip, bu düzlemin önünden ve arkasından gelen ışınların görüntüyü etkilemesine izin vermedikleri için kornea tabakalarından net görüntü elde edilebilmesini sağlarlar. Speküler mikroskopi, speküler (örneğin, ayna gibi) yansımadan faydalanarak, kornea endotelinin kantitatif, kalitatif ve morfometrik analizinin invaziv olmayan bir yöntemle yapılmasına izin verir. Konfokal mikroskopi, ışığı, sadece objektif lensin odak noktasından gelen ışık demetini görüntüleyecek şekilde sınırlar. Koheran olmayan beyaz ışık veya koheran olan lazer ışığı kullanarak incelenen dokuyu dönen bir Nipkow diski ile veya hareketli aynalar yardımıyla tarayarak, sadece tek bir düzleme odaklanır. Böylece, hem incelenen odaksal düzlemden daha yüksek transvers çözünürlük elde edilir, hem de odaksal (fokal) düzlem dışındaki dokulardan dağılan ışık en aza indirilerek yüksek aksiyel çözünürlük elde edilir. Kalın ve yansıtıcılığı fazla olan kornea dokusunun optik kesitlerinin incelenmesi sağlanır. Korneanın her bir tabakasının sağlıklı gözlerde ve endotelial/stromal kornea distrofileri, keratokonus ve kornea birikimleri gibi kornea patolojilerinde, kendine özgü konfokal mikroskopi görüntüleri mevcuttur. Böylece speküler ve konfokal mikroskopinin hem tanı koyma hem de tedavi takibi amacıyla kullanımı, oftalmoloji pratiğinde önemli bir rol oynar.

Anahtar Kelimeler: Mikroskopi, konfokal; kornea

ABSTRACT In conventional light microscopy, light originating from the focal plane and the planes just in front and back of this plane are incorporated into the image. For this reason, images overlap. The axial and transverse (lateral) resolution and the final image contrast decrease. Specular and confocal microscopy systems provide clear images of the corneal layers by imaging only the focal plane and not letting light originating anterior or posterior to this plane affect the final image, unlike conventional light microscopes do. Specular microscopy allows quantitative, qualitative, and morphometric analysis of the corneal endothelium in a non-invasive way, by making use of specular (i.e., mirror-like) reflection. Confocal microscopy limits the light so that only the light beam originating from the focal point of the objective lens is imaged. The tissue is scanned by using incoherent white light or coherent laser light, with a rotating Nipkow disc or dynamic mirrors; and only a single plane is focused on. In this way, both higher transverse resolution is provided at the focal plane, and the light scattered from tissues outside the focal plane is minimized, providing higher axial resolution. Optical sections of the thick and highly reflective corneal tissue can be examined. Each layer of the cornea has its unique image in both healthy eyes and pathologic states such as endothelial/stromal corneal dystrophies, keratoconus, and corneal accumulations. Thus, the use of specular and confocal microscopy, for both diagnostic and treatment follow-up purposes, plays an important role in ophthalmology practice.

Key Words: Microscopy, confocal; cornea

Konvansiyonel ışık mikroskopisinde görüntüler sadece odak düzleminde değil, bu düzlemin hemen önündeki ve gerisindeki düzlemlerden gelen ışığı da kapsar. Bu nedenle görüntüler üst üste çakışır ve algı derinliği içindeki yapıların detayları bozulur. Aksiyel ve transvers çözünürlük ile görüntü kontrastı azalır.¹

Aberasyonsuz sistemlerde merceklerin net görüntü oluşturdukları düzleme “odaksal (fokal) düzlem” denir. Tüm görüntüleme sistemlerinin temelinde yatan optik biliminin amacı, görüntülenmek istenen dokuyu sistemin odaksal düzlemine yerleştirip, odak dışı görüntülerden kurtulmaktır. Speküler ve konfokal mikroskopi, sadece odaksal düzlemden görüntü elde edip, bu düzlemin önünden ve arkasından gelen ışınların görüntüyü etkilemesine izin vermedikleri için korneadan net görüntü elde edilebilmesini sağlarlar.^{2,3}

Bu yazıda, speküler ve konfokal mikroskopi sistemlerinin çalışma mekanizmalarını ve oftalmoloji kliniğindeki kullanım alanlarını özetlemeyi amaçladık.

SPEKÜLER MİKROSKOPİ

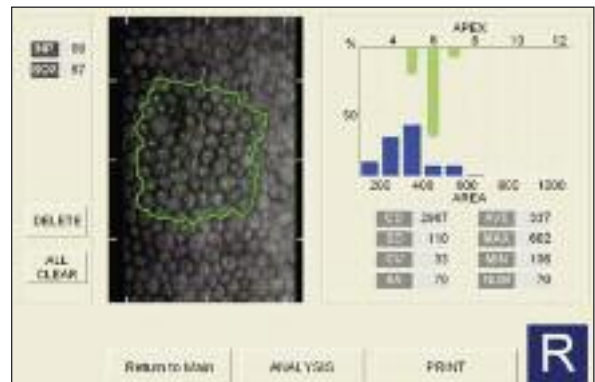
Speküler mikroskopi (SM), kornea endotelinin yapısını değerlendirmek için invaziv olmayan bir tekniktir. Kornea endotelinin direkt olarak görüntülenmesini ilk olarak 1918 yılında Vogt gerçekleştirmiştir.⁴ Klinik speküler mikroskoplar, ilk defa 1968’de Maurice’in kornea endotelinden speküler yansıyan ışığın yüksek büyütmeli bir görüntüsünü elde edebilmek için tasarladığı laboratuvar mikroskopundan geliştirilmiştir.⁵

Speküler refle (yani, ayna gibi yansıma), 2 farklı refraktif indisli ortama ait düzgün bir arayüzde, gelen ışığın açısına eşit refleksiyon açısında yansıma ile oluşur. SM, korneanın ışığı yansıtan yüzeylerine, yani epitel ve endotel tabakalarına odaklanır.² Bu tabakalardan yeterli çözünürlük ve kontrast elde edilebilir, çünkü yansıyan ışığın yoğunluğu, odak noktasının önündeki ve gerisindeki yapılardan yansıyan ışığın yoğunluğundan fazladır. Örneğin; endotel hücrelerinin refraktif indisi, aköz hümörünkünden (1.336) büyük olduğu için gelen ışığın %0.022’si yansır ve görüntü alınabilir.⁶ An-

cak epitel ve endotel tabakaları arasındaki yapıların detayları çözünmemektedir.¹

Speküler refletin yüzey alanı, yansıtan yüzeyin kurtatür yarıçapına ve yansıtıcı epitel ve endotel yüzeylerinin birbirine yakınlığına bağlıdır. Stromadaki keratositler ve kollajen lamellerden saçılan ışık görüntü kontrastını etkiler. Saçılma, gönderilen ışık demetinin genişliği ile artar. Skar ve ödem gibi kornea patolojilerinde stromadan saçılan ışığın artması endotel görüntülerini kapatır. İristen gelen ışık yansımaları da endotel mozayigini kapatabilir. Bu nedenle midriasis durumunda daha iyi görüntü elde edilir. Temas ederek çalışan SM cihazlarında, kornea yüzeyini düzleştiren bir objektif mikroskop lensi ile speküler refle alanı genişlemiştir. Temas etmeyen cihazlar ise bir otomatik görüntü odaklama teknolojisi kullanır.

Endotel hücre sayımı için farklı yöntemler tanımlanmıştır.⁶ Bunlardan **sabit çerçeve** yönteminde, belli bir alan içindeki tüm hücreler sayılır. Bu sayıma, bir kare veya dikdörtgen alanın dört kenarının ikisindeki yarım hücreler dâhil edilir. **Değişken çerçeve** yönteminde, bilgisayar yazılımı yardımıyla incelenecek hücre grubunun kenarları belirlenir ve belirlenen alan içinde kalan hücreler sayılır (Şekil 1). Bu yöntem, sabit çerçeve yönteminden daha güvenilirdir. **Mukayeseli hücre yönteminde** ise, incelenecek endotel hücre mozayigi, büyüklüğü bilinen bir hücre deseni ile karşılaştırılır. Ortalama hücre alanı ve hücre yoğunluğu subjektif olarak tahmin edilir.



ŞEKİL 1: Speküler mikroskopide değişken çerçeve yöntemi ile hücre sayılması (Yeditepe Üniversitesi Göz Hastalıkları Araştırma ve Uygulama Merkezi Arşivinden).

SM ile endotel hücrelerinin kantitatif, kalitatif ve morfometrik analizi yapılabilir. Endotel hücre morfoloji analizinde hücre alanı (μm^2), ortalama hücre alanı ($\mu\text{m}^2/\text{hücre}$), hücre yoğunluğu (= $10^6/\text{ortalama hücre alanı}$) ($\text{hücre}/\text{mm}^2$), polimegatizm (varyasyon katsayısı) ve pleomorfizm (heksagonal hücre yüzdesi) ölçümleri yapılır. **Polimegatizm**, bireysel hücre alanındaki varyasyon olarak tanımlanır. Ortalama hücre alanının standart sapması arttıkça, hücre yoğunluğu tahmininin doğruluğu azalır. Varyasyon katsayısındaki (= Hücre alanı standart sapması/ortalama hücre alanı, μm^2) artış, ortalama hücre alanı tahmininin doğruluğunda da azalmaya neden olur. Genç erişkinlerde varyasyon katsayısı ortalama 0.27 (~0.22-0.31 arası)'dır.⁷ **Pleomorfizm** ise, hücre şeklindeki varyasyonun bir ölçümüdür. Tek başına hücre yoğunluğu değeri ile anlaşılabilen hücre kaybı, polimegatizm ve pleomorfizm değerlerinin ölçümü ile daha hassas bir biçimde ortaya konulabilir. Örneğin; yüz hücre arasından bir altıgen hücre eksilirse, ortalama hücre yoğunluğu %1 oranında azalır. En az iki (%2) ve en fazla altı (%6) hücre bu eksikliği kapatmaya çalışır. Bu durumda polimegatizm ve pleomorfizm değerleri %2-6 oranında değişir.⁸ Sağlıklı bir korneada, endotel hücrelerinin en az %60'ı heksagonal olmalıdır. İncelenen hücre kümesinde heksagonal hücre yüzdesinin %50'den az olması ve varyasyon katsayısının 0.40'dan yüksek olması durumunda, kornea endotel tabakasının anormal olduğu ve intraoküler cerrahi sonrası kornea ödemi riskinin yüksek olduğu sonucuna varılır.⁶ İki göz arasındaki hücre yoğunluğu farkı $280 \text{ hücre}/\text{mm}^2$ den fazla olması patoloji işaret ediyor olması bakımından anlamlıdır.⁹

Hücre yoğunluğu, 3-6 yaş arasında $3500-4000 \text{ hücre}/\text{mm}^2$ dir; artan yaşla birlikte azalır. Hücre yoğunluğu 30'lu yaşlarda $2700-2900 \text{ hücre}/\text{mm}^2$, 75 yaş üzerinde $2400-2600 \text{ hücre}/\text{mm}^2$ dir.⁷ Ortalama hücre büyüklüğü $150-350 \mu\text{m}^2$ dir. Artan yaşla birlikte yıllık endotel kaybı %0.5 oranındadır. Hücre kaybı, en fazla doğumdan sonraki ilk birkaç yıl belirgindir. Bunun, hızlı büyüme ile birlikte globun genişlemesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Yirmi ile elli yaşları arasında hücre yoğunluğu ve büyüklüğü hemen hemen durmaktadır. Altmış ya-

şından sonra hücre yoğunluğu belirgin olarak düşmeye başlar. Polimegatizm, pleomorfizm ve iki göz arasındaki hücre yoğunluğu farkı artar.

Korneada klinik olarak anlamlı ödem olmaması için gerekli eşik endotel hücre yoğunluğu $300-700 \text{ hücre}/\text{mm}^2$ olarak saptanmıştır; fakat bu değer her göz için değişkendir.^{10,11} Bir intraoküler cerrahi sonrası kalıcı kornea ödemi meydana gelmemesi için preoperatif olarak hücre yoğunluğunun $1000-1200 \text{ hücre}/\text{mm}^2$ den fazla olması gerekmektedir. Çünkü herhangi bir intraoküler cerrahi ile endotel hücre yoğunluğunda %0 ile %30 arasında hücre kaybı meydana gelebilir.⁶ Penetran keratoplasti geçirmiş hastalarda, operasyondan 5-10 yıl sonra endotel hücre yoğunluğunda normalden yaklaşık 7 kat hızlı kayıp gerçekleştiği bildirilmiştir.¹² Bir çalışmada keratoplasti sonrası endotel hücre kaybı, postoperatif ikinci haftada %10, üçüncü ayda %33, bir yıl sonra %50 olarak saptanmıştır.¹³

SM tetkikinin yapılması için klinik endikasyonlar, biyomikroskopide kornea guttata görünümü saptanması, keratik presipiteler, pigmente ve inflamatuvar hücreler, endotel veya Descemet zarı düzensizlikleri ve kornea kalınlığının artmış olarak saptanmasıdır. Ailede kornea distrofisi varlığı, geçirilmiş travma veya intraoküler cerrahi, akut dar açılı veya kronik açık açılı glokom, üveit, keratit, kornea nakli, sekonder göz içi lensi implantasyonu ve fakik göz içi lensi implantasyonu hikâyeleri durumunda da SM tetkiki yapılması endikedir.

KONFOKAL MİKROSKOPİ

Konvansiyonel beyaz ışıklı biyomikroskop, görüntüde kırk kat büyütme sağlar. Kornea saydam bir doku olduğu için, korneaya düşen ışığın ancak yaklaşık %1'i geri yansıtılır.³ Ancak, muayene edilen düzlemin üzerinde ve altında yer alan oluşumlardan yansıyan ışığa bağlı girişim (interferans) sonucu çözünürlük, en fazla $20 \mu\text{m}$ olacak şekilde azalır.^{3,14,15} Büyütmenin artırılması görüntünün daha bulanıklaşmasına yol açar.³ Konfokal mikroskop (KM) prensibi ilk defa 1957'de Prof. Marvin Minsky tarafından tarif edilmiştir.¹⁶ Konfokal, kelime anlamı olarak "ortak odaksal nokta" anlamına gelir. Bu optik sistem, sadece objektif lensin odak

noktasından gelen ışığı son görüntüde görüntüleyecek şekilde sınırlar. Odaksal düzlem dışındaki dokulardan dağılan ışık en aza indirilerek dokuların ince katlar halinde optik kesitleri alınabilir.

Prof. Minsky, 1950'li yıllarda Harvard'da araştırma görevlisi olarak beyin dokusunun görüntülenmesi üzerine çalışırken, beyin hücrelerinin birbiri içine geçmiş dokusunda net görüntü elde edebilmek için sadece tek bir düzlemi görüntülemek gerektiğini fark etti. Minsky, dağılmayı önlemek için hem aydınlatma (kondansör) hem de inceleme (objektif) sistemlerinin bir aynı odak noktasında olması (yani, konfokal olması) gerektiğini belirtti.¹⁶ İncelediği beyin dokusunun bir tarafına bir iğne deliği (pinhol) ve diğer tarafına bir objektif lens yerleştirdi. Konfokal iğne deliği ile odak ışığı dışındaki ışık ortamdan uzaklaştırılarak mikroskobun aksiyel (z eksenindeki) çözünürlüğü 5-10 µm, lateral (x ve y eksenlerinde) çözünürlüğü 1-2 µm'a kadar artırılabilirdi.¹⁷ Böylece invaziv olmayan optik kesitleme mümkün olabildi. Ancak tek noktada aydınlatmanın bedeli, bir seferde sadece bir noktadan ölçüm alabilmektir. Burada en önemli tasarım problemi, doku örneğini veya ışını hareket ettirme seçimindeydi. Minsky, incelediği beyin dokusunu hareket ettirerek, tüm örneği taradı.

Lukosz prensibi olarak bilinen konfokalite prensibine göre çözünürlük, görüntülenenden alandan ödün verilerek iyileştirilebilir.¹⁸ Optik sistem tek bir noktaya odaklanarak, bir defada sadece tek bir kesit görüntüleyebilir. Odak noktasına hedeflenmeyen tüm ışınlar ve doku üzerindeki odak-dışı noktalardan saçılan ışıklar uzaklaştırılır. Böylece sistem çok küçük bir alanda maksimum çözünürlük kazanır. Tarama ile tüm alanın görüntüsü elde edilebilir.

1980'li yılların sonlarında geliştirilen KM sistemleri, konvansiyonel beyaz ışıklı mikroskoba göre iki önemli avantaj sunar. Daha yüksek transvers (lateral) çözünürlük elde edilerek, incelenen odaksal düzlemde yüksek çözünürlük sağlanabilir. Ayrıca, daha yüksek aksiyel çözünürlük elde edilerek kalın ve yansıtıcılığı fazla olan bir örneğin optik kesitleri incelenebilir (Tablo 1).¹ KM sistemi, saydam bir ortamdan değişik derinliklerde yüksek büyütme ile optik kesit alınabilmesi (Ör., ConfoScan4) ve optik disk gibi saydam olmayan bir ortamın yüzey topografisinin oluşturulmasına (Ör., HRTII) izin verir.¹⁹

Wilson ve Sheppard 1984'te KM'nin teorik optik sistemini ayrıntılı olarak tarif ettiler.^{20,21} Buna göre KM sisteminde iki temel unsur, noktasal aydınlatma sağlayacak bir ışık kaynağı bulunması ve görüntüyü oluşturmak için cismin/dokunun taranmasıdır. İdeal olarak dokudaki tek bir nokta, bir noktasal ışık kaynağı ile optimal olarak aydınlatılır ve aynı anda bir noktasal dedektör ile görüntülenir. Difraksiyon sınırlamalı optik sistemler için, belli bir numerik apertürü olan bir objektif lenste konfokal sistemin nokta cevabı, konvansiyonel mikroskopa göre 1.4 oranında daha dardır. Lineer cevapta 1.4 oranında daralma ile birlikte, lateral lineer çözünürlük artar. Transvers (x,y) eksenlerinde cevap azalınca, vertikal (z) ekseninde de algı derinliği azalır. Böylece dokunun hacmi, konvansiyonel mikroskopa göre 1.4³ kat yani yaklaşık 3 kat küçülür, aynı oranda da çözünürlükte artış olur. Maksimum lateral ve aksiyel çözünürlük, kontrast duyarlılık ve optik kesitleme kabiliyeti için yüksek numerik apertürlü (≥ 0.9) objektif lense gereksinim duyulur.¹

Konfokal görüntü oluştururken incelenen dokuyu taramak için, dokunun ya da görüntüleme sis-

TABLO 1: Konfokal görüntülemenin kendine özgü özellikleri.

1.	X, y, z eksenlerinde yüksek çözünürlük: Z ekseninde optik kesitleme yapılabilmesi konfokal mikroskopi için özgündür ve cihazın dinamik tarayıcı kabiliyetine izin verir. Konvansiyonel mikroskopa göre lateral ve aksiyel çözünürlük artmıştır.
2.	Görüntü kontrastı: Detayların yeterli çözünürlüğü için yüksek olmalıdır. Bunun için mikroskop içindeki başıboş ışık son görüntüden ekarte edilir.
3.	Aydınlanma: Doku içindeki yapıların görüntülenmesi için yeterli düzeyde olmalıdır.
4.	Işığın dokudan mikroskopa geri dönüşü: Işık kaynağı, tarama yöntemi, ışığın doku içindeki yolu ve objektifin optiği tarafından belirlenir.
5.	Dokunun durumu: Konfokal mikroskopi, kornea ödemi ve skar gibi opak dokular "içinden" görüntüleyebilme olanağı verir.

teminin hareket ettirilmesi gerekir. Dokunun hareket ettirilmesi çok yavaş olduğu için özellikle biyolojik örneklerin taranmasında uygun değildir. Alternatif olarak, dokuyu tarayan iğne delikleri hareket ettirilebilir. 1884'te Paul Nipkow, telgraf kabloları üzerinden transmisyona amacıyla, görüntüleri kodlama ve kodlarını çözmede kullanılan bir tarayıcı disk geliştirmiştir.²² Bu sistem, hızlı konfokal tarama elde edilebilmesi için öne sürülen ilk yöntemdir. **Nipkow diski**, yüksek devir (rpm) ile dönerken tarayıcı bir patern oluşturan, üzerinde spiral paternde iğne delikleri bulunan bir disklerdir. Hızlı ve gerçek zamanlı konfokal özelliği ile görüntünün optik çözünürlüğü artar. Ancak, disk üzerinden zayıf ışık etkinliği elde edilebilir. Diskin hafif yer değiştirmesi ile ciddi görüntü bozulması meydana gelebilir.²³ Başarılı konfokal görüntüleme için ışık kaynağı, iğne deliği boyutu (20-80 µm), diskin ışık geçirgenlik oranı (%0.25-2), disk üzerindeki delik sayısı (13.000-200.000) ve mekanik motor rotasyon hızı önemlidir.¹

1968 yılında Petrán ve Hadravský tarafından geliştirilen **Ardışık Tarayıcı KM** (Tandem Scanning KM, Advanced Scanning Corp, New Orleans, ABD) sisteminde, mikroskop içindeki bir Nipkow diski ardı ardına tarama yapar.²⁴ Doku, Nipkow diskinin bir bölgesinden geçen ışık ile aydınlatılır. Dokudan yansıyan ışık, aydınlatma ışığının geçtiği yerden 180° uzaktaki bir seri konjuge iğne deliğinden geçerek geri döner. Aynı ışık yolları nedeniyle aydınlatma ışığı ile yansıyan ışık arasında etkileşim yoktur.²⁵ Korneayı tarayan noktasal bir ışık kaynağı ve çözünürlüğü artırmak için noktasal bir detektör kullanılır. Stabil, güvenilir ve yüksek hızlı bir Nipkow diski gereklidir. Ancak, Nipkow diskinin manuel olarak hizalanması ölçüm sırasında vakit kaybettirir.²²

İlk defa 1958 yılında KM sistemine lazer ışığı eklenmiş ve beyaz ışıktan kaynaklanan görüntü bozulmalarının önüne geçilmeye çalışılmıştır.

Tarayıcı Yarık Konfokal Mikroskopu, Maurice tarafından 1974'te geliştirilmiştir.²⁶ Noktasal ışık kaynağı yerine dönen bir yarık açıklık ile birlikte beyaz ışık veya lazer ışığı kullanılır.²⁷ Işın yarığının daraltılması, görüntüye katılan saçılmış ışık hacmini azaltır. Daha iyi çözünürlük ve kontrast

elde edilirken, incelenen alan genişliğinden ödün verilmiş olur. Görüntü foto-montaj ile oluşturulur. Bu sistemin dezavantajları, dokunun hareket ettirilmesinin gerekmesi, gerçek-zamanlı ve in vivo görüntü elde edilememesi, korneada ödem veya diğer optik düzensizlikler olduğunda başarılı görüntüleme yapılamamasıdır.

Ön segment muayenesinde kullanılan Nipkow diski veya yarık tarayıcı sistemleri kapsayan konfokal sistemlerin çok sınırlı bir görüntüleme alanı vardır. Odak noktasının incelenen doku üzerinde süratle hareket ettirilmesi ve gerçek zamanlı görüntü elde etmek için görüntünün yeniden oluşturulması gerekmektedir. Biyolojik dokuların görüntülenmesinde kullanılan diğer bir alternatif ise noktasal aydınlatma kaynağını hareket ettirmektir. Bu amaçla galvanometre motorlarla hareket ettirilen vibrasyonlu aynalar kullanılabilir.²⁸ Galvo ayna lazer tarayıcılarda tarama Nipkow diski göre yavaş olsa da, çok iyi odaklanma ve yoğun noktasal kaynak aydınlatması yapılabilir. Ayrıca, iyi derecede uzaysal çözünürlük ve konfokalite sağlanabilir. Bilgisayar destekli lazer tarayıcılar tarafından dijital görüntü elde edilebilir. Ancak, yavaş ve yüksek derecede foto-ağarma ve foto-toksitesite riski vardır.

Konfokal tarayıcı lazer mikroskopu düşük güçte çeşitli dalga boylarında koheran olan lazer ışını kullanarak ön segment görüntüleme için kornea modülü ile mekano-optik tarama mekanizması içerir. Bu mekanizma, bir çift tarayıcı iğne deliği diski içerebilir veya çift aynalı sistem olabilir. Lazer ışını ile doku üzerindeki noktalar aydınlatılır. Her noktadan elde edilen görüntüler birleştirilerek üç boyutlu görüntü elde edilebilir. İlk modeller yarı çözünürlüklü (320 x 240) iken, yeni modellerde daha yüksek çözünürlük elde edilmiştir.²²

"Confocal Microscopy Through Focusing", korneayı hızlıca tam kat tarayan ve 30 görüntü/saniye video elde etme hızı ile korneanın dijital üç-boyutlu rekonstrüksiyonunu yapabilen bir sistemdir.²⁹⁻³¹ Bu esnada hastanın z ekseninde hareketi sabitlenmelidir. Yaklaşık 10-20 µm optik kesit görüntüleri elde edilir. Her karenin derinliği ölçü-

lebilmektedir. Böylece kornea kalınlığı ve mevcut yabancı cisim veya skar derinliği belirlenebilir.³²

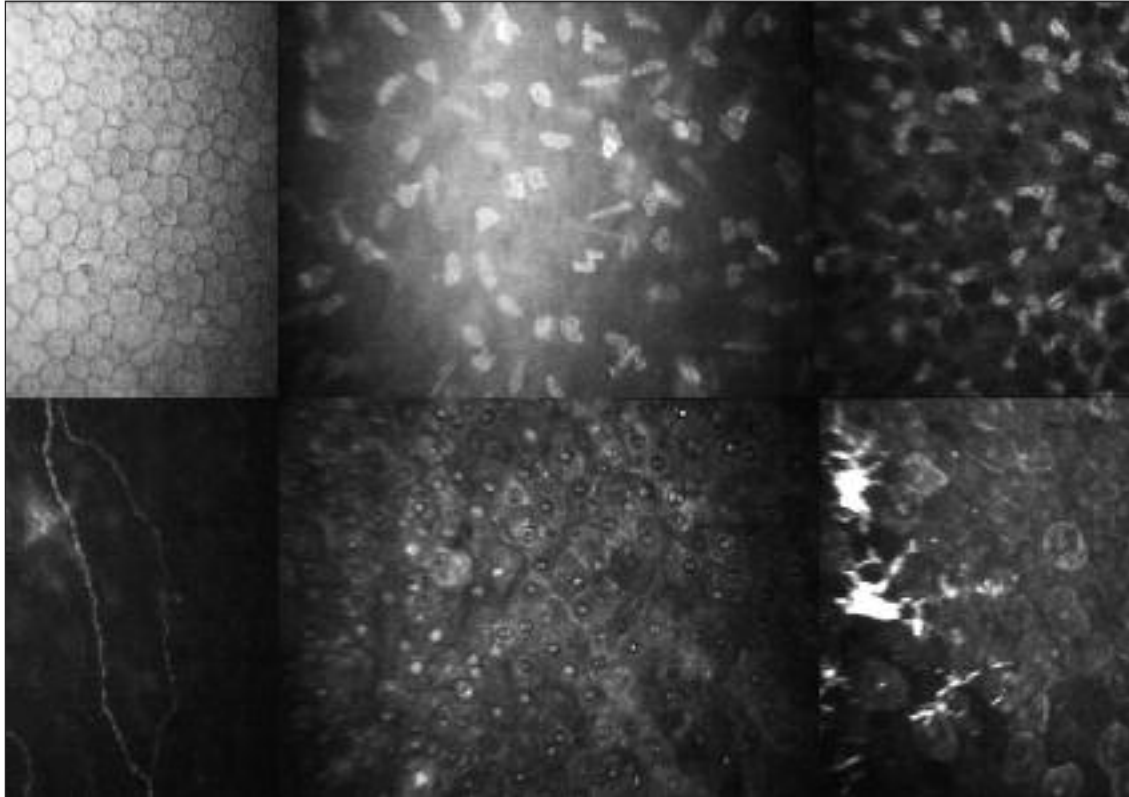
ConfoScan 4 cihazı (Nidek Tech, Vigonza, İtalya) ise halojen bir lamba ve korneanın tam kat taranmasını sağlayan iki tarayıcı yarık ve hızlı osilasyon gösteren iki taraflı bir ayna kullanır.³³ Tam dijital konfokal tarayıcı mikroskop, jel immersiyonu ile yaklaşık 2 mm çalışma mesafesinden temasız, aplanasyon uygulamadan 40x lens ile insan korneasının in vivo invaziv olmayan tam kat görüntülenmesini gerçekleştirir. Yaklaşık 345-460 µm alan, 400 kat büyütme ile 5 µm kalınlığında kesitlerle incelenir. Bir ölçümde, saniyede 25 görüntü alarak toplam 350 görüntü elde eder. Ayrıca, 20x lens ile 12 mm'den temasız endotel mikroskopisi yapılabilir. Z halkası ve 40x lens ile hassas pakimetri ölçümlerini de yapabilir ve kornea içi cisimlerin yerleşimlerinin belirlenmesinde faydalıdır.

Heidelberg Retina Tomografi II cihazı Rodstock Kornea modülünde (RCM/HRTII, Heidelberg

Eng, Almanya), araya yerleştirilen yüksek kaliteli bir mikroskop aracılığıyla 1 µm'den küçük çaplı lazer odakları oluşturulur. Lazer ışık kaynağı, iğne deliği diyaframından geçerek doku üzerinde bir noktaya odaklanır. Yansıyan ışın, gelen ışından bir ayna ile ayrılır ve ikinci bir konfokal diyaframdan geçerek fotosensitif dedektöre ulaşır. İki adet osilasyonlu ayna, ışın yolu boyunca hareket ederek tüm dokuyu tarar.¹⁵

KM, kornea hastalıklarında klinik tanı konmasında ve tedavi takibinde rol oynar. Ayrıca KM sistemleri, in vivo gerçek zamanlı, invaziv olmayan, dinamik görüntülemeye uyarlanabilir (Ör., yara iyileşmesi çalışmaları).³⁴ Normal kornealarda ve bazı kornea patolojilerindeki bulgular şöyle özetlenebilir:

A. Normal korneada her tabakanın kendine özgü görünümü mevcuttur (Resim 1).^{14,35} **Endotel tabakası**, hücre kenarları sitoplazmadan daha az yansıma gösteren heksagonal hücrelerin oluşturdu-



RESİM 1: Normal kornea tabakalarının konfokal mikroskopi görünümü.

(Yeditepe Üniversitesi Göz Hastalıkları Araştırma ve Uygulama Merkezi Arşivinden).

Üstte solda sağa: endotel tabakası, posterior stroma ve anterior stroma.

Altta soldan sağa: subepitelyal sinir pleksusu, bazal epitel hücreleri, yüzeysel epitel hücreleri arasında dendritik hücreler.

ğu bal peteği görünümündedir.³⁶ Hücre çekirdekleri görüntülenemez. Bazen fagosite edilmiş pigment granülleri olan yüksek reflektivite veren intraselüler depozitler içerebilir. **Descemet zarı**, 15-20 µm kalınlığında, reflektivitesi düşük amorf bir görünümde olup, hemen önündeki keratositler ve arkasındaki endotel hücrelerinin görüntü kontrastını artırır. Sağlıklı normal Descemet zarı, ayrı bir yapı olarak ayırt edilemez.¹⁸ **Stroma tabakası**, yaklaşık 450 µm kalınlığındadır. Geniş sinirler, stromal keratositler ve kollajen fibrillerinin ortogonal tabakalarını içerir. Hiperreflektif keratosit çekirdekleri, karanlık bir zemin üzerinde dağınık görünümündedirler. Keratositlerin hücre gövdeleri, çıkıntıları ve stroma kollajeni sağlıklı kornealarda görüntülenemez. Stroma keratositlerinin şekil ve dizilişleri buldukları lokalizasyona özgüdür.^{37,38} Posterior stroma, ince ve uzun çekirdekli keratositlerle karakterizedir. Anterior ve orta stromada ise oval ya da yuvarlak, ara sıra girintiler yapan çekirdekler görülür. Bowman tabakasının hemen posteriorunda çok açılı çekirdekleri bulunan en yoğun keratosit tabakası mevcuttur.³⁹ **Bowman tabakası** 10-16 µm kalınlıkta aselüler bir tabakadır; subepitelyal sinir pleksusu tarafından belirlenir.^{18,40}

Stromada kollajen fibrilleri arasında yüksek reflektivite veren **sinir lifleri** seçilebilir. İnsanda kornea sinirleri miyelinlidir ve kalınlıkları 0.2-10 µm arasında değişir.⁴¹ Kornea periferinden ön ve merkezi stromaya radyal seyir ile girer, daha sonra dik bir dönüş yaparak Bowman tabakası ve bazal epitel hücreleri arasında uzanırlar; epitel hücreleri arasında serbest olarak sonlanırlar.⁴²

Kornea epiteli merkezde yaklaşık 50 µm kalınlığındadır. Bazal epitel hücrelerinin bazal membranı, sadece "epitelyal bazal membranı distrofisi" gibi, aşırı kalınlaştığı durumlarda görüntülenebilir.¹⁸ **Bazal epitel hücreleri**, yaklaşık 10 µm çapta proliferasyon ve migrasyon yapan hücrelerdir. Epitelyal yenilenme sırasında kanat hücrelerine farklılaşma gösterebilirler. Kanat hücreleri de, öne doğru yer değiştirerek dökülmekte olan yüzeyel epitel hücrelerine dönüşürler. KM'de bazal hücreler hiperreflektif poligonal hücre sınırları ve koyu, reflektif olmayan hücre gövdeleri ile görülürler. Hücre çekirdekleri görüntülenemez.¹⁴ Ara katlardaki **kanat**

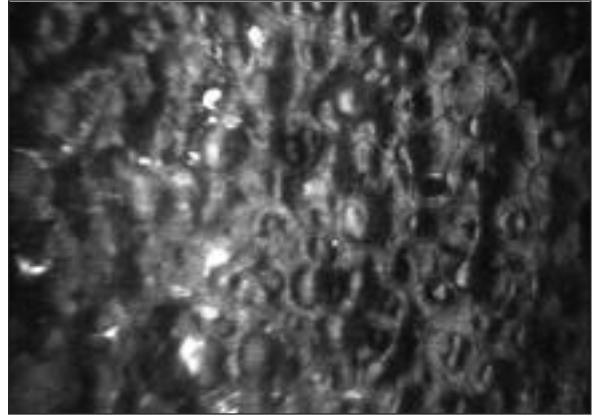
hücreleri, parlak hücre sınırları ve koyu sitoplazmaları olan, 20 µm çapındaki hücrelerdir. Hücre çekirdeğinin az reflektif olması nedeniyle zor ayır-dedilirler. **Yüzeyel hücreler** ise yaklaşık 50 µm çapta çoğunlukla heksagonal parlak hücre sınırları, koyu hücre çekirdeği ve sitoplazması olan hücrelerdir. **Dökülmekte olan hücrelerde** ise, parlak sitoplazma, piknotik ve parlak çekirdek, çekirdek etrafında perinükleer boşluk bulunur. **Dendriform hücreler**, diğer adıyla Langerhans hücreleri, olgunlaşma evrelerine göre küçük çıkıntısız veya büyük ve uzun çıkıntılı hücreler olarak görülürler.⁴³ Yara iyileşmesi modülasyonu veya kornea nakli zamanlaması, grefon reddinde kritik rolü olan merkezi dendriform hücre sayısı takip edilerek yapılabilir.¹⁸

B. Keratokonusta yüzey epitel hücrelerinde uzama, dökülme, kanat hücrelerinde genişleme, bazal hücrelerde düzleşme; stroma keratosit organizasyonunda bozukluk, yer yer keratosit toplanması ve anormal kollajen nedeniyle bulanıklık saptanabilir.⁴⁴ Vogt çizgilerine karşılık gelen açık-koyu bantlar, gerilim altındaki kollajen lameller nedeniyleledir.⁴⁵ Kornea içi sinirlerde kalınlaşma izlenir. Kon apeksi boyunca endotel hücreleri esner ve uzar. Endotel hücre yoğunluğu normal gözlerden daha düşük ölçülebilir.⁴⁶ Hidrops sonrası ruptür komşuluğunda 7-10 kat büyüklükte endotel hücreleri mevcuttur.

C. Endotel distrofleri: Kornea guttata, Descemet zarının arka yüzünde strese girmiş veya anormal endotel hücrelerince salgılanan fokal kollajen birikimidir. Descemet zarında mantar şekilli, merkezi beyaz parlak refle veren hiporeflektif birikintiler olarak izlenir.⁴⁷ Ayrıca pleomorfizm ve polimegatizm yüksektir. Eğer guttata kornea merkezi ile sınırlı ise ve kornea periferinde endotel sayısı yüksekse, katarakt cerrahisi sonrası kornea nakli ihtiyacı oluşma riski düşüktür. Ancak periferik korneada guttata varsa, risk yüksektir. Laing **Fuchs' distrofisi** bulgularını beş evreye ayırmıştır.⁴⁸ Evre 1'de görülen endotel hücreleri arasındaki küçük çıkıntılar, Evre 2'de endotel hücre büyüklüğüne ulaşır. Evre 3'te çevredeki endotel hücreleri de anormal bir görünüm taşır. Evre 4'te birikintiler birleşir ve çevre endotel hücrelerinin sınırları seçil-

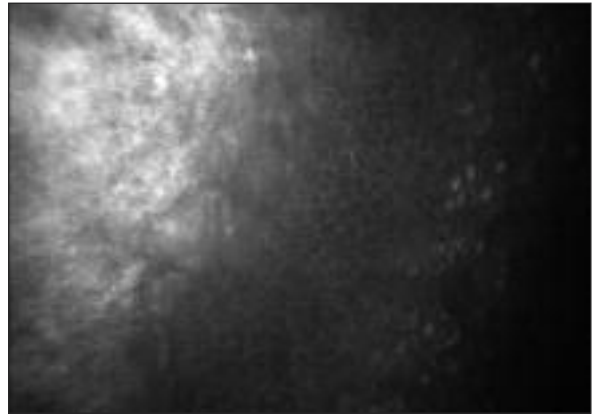
mez olur. Evre 5'te komşu endotel hücre mozaiyi tamamen dezorganize olur. Beyaz görünen Bowman tabakasındaki kırıklar, subepitelyal sıvı birikiminin en erken bulgularıdır. Ayrıca subepitelyal ödeme bağlı bazal hücre katı distorsiyona uğrar ve yüksek refleksiyon gösterir. Endotel ve Descemet zarı arayüzeyinde parlak refle ve ışık saçılması görülebilir (Resim 2). **İridokorneal endotelial sendrom**larda (Ör., **Chandler** sendromu), hiperreflektif nukleusları bulunan "epitel benzeri" endotel hücreleri tipiktir.⁴⁹ Ayırıcı tanıda Fuchs distrofindeki tipik hiporeflektif nukleuslardan bu şekilde ayırt edilir. Endotel hücre kenarlarının yuvarlanması ile karakterizedir. Hücre belirginliği ve heksagonal şekli bozulmuştur. Hücre içi detaylarda granülarite artışı bulunabilir. Bireysel hücrelerdeki küçük, merkezi koyu alanlar genişleyebilir ve hücre içinde tamamen siyah alanlar izlenebilir. Hastalık ilerledikçe endotel tabakası, hücre mozaiği görünümünü tamamen kaybeder. Beyaz kenarlı ve siyah merkezli "tersine görünüm" oluşur. Ayırıcı tanıda yer alan **posterior polimorföz distrofi** (PPMD)'de Descemet zarı seviyesinde küçük, yuvarlak hiporeflektif veziküller mevcuttur; komşu endotel hücreleri normaldir.⁵⁰ İridokorneal endotelial sendromlarda ise, veziküller endotel hücrelerinin içindedir; endotel hücreleri bozuk şekilli ve normalden küçük yapıdadır. Endotel dekompanzasyonuna bağlı kornea stromasında bulanıklık ve ödem bulunabilir.

D. Stroma distrofilere, konfokal mikroskopide kendilerine özgü stroma bulguları ortaya koyar. Örneğin; **granüler distrofi**de Bowman membranı seviyesinden başlayan granüler lezyonlar, subepitelyal hiperreflektif depozitler, ön stromada stellate reflektif opasiteler ile az sayıda fakat normal yapıda keratositler, arka stromada hafif derecede yaygın hiperreflektivite ve hiperreflektif opasiteler olarak görülür. Lezyonlar arasında normal stroma dokusu mevcuttur.⁵¹ **Maküler distrofi**de ise lezyonlar stroma boyunca yaygındır ve arada normal stroma dokusu gözlenmez (Resim 3).⁵² **Salzmann nodüler distrofinde** Bowman membranına benzer yüksek reflektiviteli materyal, subepitelyal alanda ve anterior stromada ekstraselüler alanda nodüler bir lezyon oluşturacak şekilde birikir.⁵³ Bu bölgede



RESİM 2: Fuchs endotelial distrofini.

(Yeditepe Üniversitesi Göz Hastalıkları Araştırma ve Uygulama Merkezi Arşivinden).



RESİM 3: Maküler distrofinin konfokal mikroskopisi görünümü.

Sağda epitel hücreleri ve solda subepitelyal yaygın hiperreflektivite.

(Yeditepe Üniversitesi Göz Hastalıkları Araştırma ve Uygulama Merkezi Arşivinden).

normal Bowman tabakası yoktur. Diğer taraftan **lattice distrofinde** histolojik olarak hem Bowman tabakası hem epitel tabakası anormal olarak tanımlanmıştır. Ön ve orta stromada kesişen, dallanan çizgisel ve düzensiz hiperreflektif depozitler saptanır.⁵⁴ Bu çizgilerin amiloid birikintileri veya amiloid birikintilerinin yol açtığı lezyonlar olduğu düşünülmüştür.⁵⁵ Endotel tabakasında anormallik bulunmamıştır. **Schnyder'in kristalin kornea distrofinin** erken dönemlerinde yüksek reflektiviteli kristalin depozitler, ön keratositlerin ve belirginleşmiş subepitelyal sinirlerin etrafında depolanır.⁵⁶ Zamanla korneanın normal yapısı, subepitelyal sinir pleksusunun hasarı, santral korneada opasiteye neden olan yüksek reflektif ekstraselüler matriks birikimi ve büyük ekstraselüler kristalin depozitler nedeniyle bozulmaktadır.

E. Kornea birikimleri de kendine özgü KM görüntüleri oluşturur. Bunlar arasında **amiodarone keratopatisinde** epitel tabakasında yüksek reflektiviteli parlak intraselüler birikimler izlenir.⁵⁷ Anterior ve posterior stromada, endotel hücrelerinde ve stromal sinirlerde de parlak amiodarone birikimle-

ri izlenebilmektedir. Benzer görüntü klorokin, sip-rofloksasin, demir birikimlerinde, amiloidozis, sistinozis ve Fabry hastalığında da izlenebilir.^{14,58} **Kalsifik bant keratopati** ise kalsiyum-fosfatın subepitelyal birikimi olup, Bowman tabakasında hiper-reflektif depozitler olarak görülür.⁴¹

KAYNAKLAR

- Cavanagh HD, Jester JV, Essepian J, Shields W, Lemp MA. Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J* 1990;16(1):65-73.
- Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. Clinical specular microscopy. I. Optical principles. *Arch Ophthalmol* 1979;97(9):1714-9.
- Jalbert I, Stapleton F, Papas E, Sweeney DF, Coroneo M. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol* 2003; 87(2):225-36.
- Vogt A. [The visibility of the living endothelium of the cornea. A cheating on the methodology of slit lamp microscopy]. *Graefe's Arch Ophthalmol* 1920;101(2-3): 123-44.
- Maurice DM. Cellular membrane activity in the corneal endothelium of the intact eye. *Experientia* 1968;24(11):1094-5.
- Benetz BA, Yee R, Bidros M, Lass J. Specular microscopy. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea-Fundamentals, Diagnosis and Management*. 3rd ed. St Louis: Mosby; 2011. p.177-203.
- Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 1985;4(6):671-8.
- Honda H, Ogita Y, Higuchi S, Kani K. Cell movements in a living mammalian tissue: long-term observation of individual cells in wounded corneal endothelia of cats. *J Morphol* 1982; 174(1):25-39.
- Bigar F. Specular microscopy of the corneal endothelium. Optical solutions and clinical results. *Dev Ophthalmol* 1982;6:1-94.
- Holladay JT, Bishop JE, Prager TC. Quantitative endothelial biomicroscopy. *Ophthalmic Surg* 1983;14(1):33-40.
- Mishima S. Clinical investigations on the corneal endothelium. *Ophthalmology* 1982;89(6): 525-30.
- Ing JJ, Ing HH, Nelson LR, Hodge DO, Bourne WM. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1998; 105(10):1855-65.
- Obata H, Ishida K, Murao M, Miyata K, Sawa M. Corneal endothelial cell damage in penetrating keratoplasty. *Jpn J Ophthalmol* 1991; 35(4):411-6.
- Chiou AG, Kaufman SC, Kaufman HE, Beuerman RW. Clinical corneal confocal microscopy. *Surv Ophthalmol* 2006;51(5):482-500.
- Guthoff RF, Baudouin C, Stave J. Principles of confocal in vivo microscopy. *Atlas of Confocal Scanning In Vivo Microscopy in Ophthalmology*. 1st ed. Berlin: Springer; 2006. p.3-21.
- Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscope. *Scanning* 1988;10(4): 128-38.
- İrkeç M, Bozkurt B. [The place of confocal microscopy in diagnosis and pursuit of corneal diseases]. *Turkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2007;3(8):15-24.
- Lukosz W. Optical systems with resolving powers exceeding the classical limit. *J Opt Soc Am* 1966;56(11):1463-71. doi:10.1364/JOSA.56.001463.
- Sevim A, Turaçlı E. [Clinical evaluation of optic disc and retinal nerve fiber layer]. *Turkiye Klinikleri J Ophthalmol* 1999;8(3):208-18.
- Wilson J, Sheppard CJR. Theory and practice of scanning optical microscopy. *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy*. 1st ed. London: Academic Press; 1984. p.1-213.
- Wilson T. Confocal light microscopy. *Ann NY Acad Sci* 1986;483:416-26. doi: 10.1111/j. 1749-6632.1986.tb34551.x
- Kaufman SC, Kaufman HE. How has confocal microscopy helped us in refractive surgery? *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17(4):380-8.
- Sheppard CJR, Cogswell CJ, Gu M. Signal strength and noise in confocal microscopy: factors influencing selecting of an optimum detector aperture. *Scanning* 1991;13(3):233-40.
- Petrán M, Hadravský M, Egger MD, Galambos R. Tandem-scanning reflected-light microscope. *J Opt Soc Am* 1968;58(5):661-4.
- Courtney-Pratt JS. Avoiding unwanted scattered light in microscopy. *Scanning* 1986;8(5): 251-2.
- Maurice DM. A scanning slit optical microscope. *Invest Ophthalmol* 1974;13(12):1033-7.
- Wiegand W, Thaeer AA, Kroll P, Geyer OC, Garcia AJ. Optical sectioning of the cornea with a new confocal in vivo slit-scanning videomicroscope. *Ophthalmology* 1995;102(4): 568-75.
- Rietdorf J, Stelzer EHK. Special optical elements. In: Pawley JP, ed. *Handbook of Biological Confocal Microscopy*. 3rd ed. Berlin: Springer, Inc.; 2006. p.43-58.
- Patel S, McLaren J, Hodge D, Bourne W. Normal human keratocyte density and corneal thickness measurement by using confocal microscopy in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(2):333-9.
- Yaylılı V, Ohta T, Kaufman SC, Maitchouk DY, Beuerman RW. In vivo confocal imaging of corneal neovascularization. *Cornea* 1998; 17(6):646-53.
- Ying L, Xiao Z, Liuxueying Z, Yumei J. Clinical use of in vivo confocal microscopy through focusing in corneal refractive surgery. *J Refract Surg* 2006;22(9 Suppl):S1041-6.
- Li HF, Petroll WM, Møller-Pedersen T, Maurer JK, Cavanagh HD, Jester JV. Epithelial and corneal thickness measurements by in vivo confocal microscopy through focusing (CMTF). *Curr Eye Res* 1997;16(3):214-21.
- Erie JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology. *Am J Ophthalmol*. 2009;148(5):639-46. doi:10.1016/j.ajo.2009. 06.022
- Eğrilmez S. [Advances in anterior segment imaging and analysis]. *Turkiye Klinikleri J Ophthalmol-Special Topics* 2010;3(3):1-7.
- Yılmaz N, Ucakhan OO, Kanpolat A. [Evaluation of normal human corneal tissue by in vivo confocal microscopy]. *Turkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2003;12(2):76-81.
- 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(6):512-5.
- Prydal JI, Franc F, Dilly PN, Kerr Muir MG, Corbett MC, Marshall J. Keratocyte density and size in conscious humans by digital image analysis of confocal images. *Eye* 1998; 12(Pt 3a):337-42.
- Balci KE, Mocan MC, Arslan U, İrkeç M, Orhan M. [The evaluation of corneal cell density measurements in corneas of healthy subjects with in vivo confocal microscopy]. *Turkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2010;19(1):5-12.

39. Hahnel C, Somodi S, Weiss DG, Guthoff RF. The keratocyte network of human cornea: a three-dimensional study using confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Cornea* 2000;19(2):185-93.
40. Grupcheva CN, Wong T, Riley AF, McGhee CN. Assessing the sub-basal nerve plexus of the living healthy human cornea by in vivo confocal microscopy. *Clin Experiment Ophthalmol* 2002;30(3):187-90.
41. Guthoff RF, Baudouin C, Stave J. Confocal laser scanning in vivo microscopy. *Atlas of Confocal Scanning In Vivo Microscopy in Ophthalmology*. 1st ed. Berlin: Springer; 2006. p.31-148.
42. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003;76(5):521-42.
43. Zhivov A, Stave J, Vollmar B, Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(10):1056-61.
44. Uçakhan OO, Kanpolat A, Yılmaz N, Ozkan M. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens* 2006;32(4):183-91.
45. Hollingsworth JG, Efron N. Observations of banding patterns (Vogt striae) in keratoconus. A confocal microscopic study. *Cornea* 2005;24(2):162-6.
46. Bahadır AE, Aktay S, Coşar CB, Acar S. [Comparison of specular microscopy and pachymetry findings of keratoconic and normal eyes]. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2008;17(4):227-32.
47. Chiou AG, Kaufman SC, Beuerman RW, Ohta T, Soliman H, Kaufman HE. Confocal microscopy in cornea guttata and Fuchs' endothelial dystrophy. *Br J Ophthalmol* 1999; 83(2):185-9.
48. Laing RA. Specular microscopy of the cornea. *Curr Top Eye Res* 1980;3:157-218.
49. Chiou AG, Kaufman SC, Beuerman RW, Ohta T, Yaylali V, Kaufman HE. Confocal microscopy in the iridocorneal endothelial syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999;83(6):697-702.
50. Chiou AG, Kaufman SC, Beuerman RW, Maitchouk D, Kaufman HE. Confocal microscopy in posterior polymorphous corneal dystrophy. *Ophthalmologica* 1999;213(4):211-3.
51. Werner LP, Werner L, Dighiero P, Legeais JM, Renard G. Confocal microscopy in Bowman and stromal corneal dystrophies. *Ophthalmology* 1999;106(9):1697-704.
52. Kobayashi A, Fujiki K, Fujimaki T, Murakami A, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopic findings of corneal stromal dystrophies. *Arch Ophthalmol* 2007;125(9):1168-73.
53. Ku JY, Grupcheva CN, McGhee CN. Microstructural analysis of Salzmann's nodular degeneration by in vivo confocal microscopy. *Clin Experiment Ophthalmol* 2002;30(5):367-8.
54. Chiou AG, Beuerman RW, Kaufman SC, Kaufman HE. Confocal microscopy in lattice corneal dystrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999;237(8):697-701.
55. Rosenberg ME, Tervo TM, Gallar J, Acosta MC, Müller LJ, Moilanen JA, et al. Corneal morphology and sensitivity in lattice dystrophy type II (familial amyloidosis, Finnish type). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(3):634-41.
56. Gorgun E, Yenerel NM, Kucumen RB, Oncel B, Basar D. [In vivo confocal microscopy findings of a patient with Schnyder's crystalline corneal dystrophy]. *Turkish Journal of Ophthalmology* 2009;39(1):48-51.
57. Uçakhan OO, Kanpolat A, Yılmaz N, Ozkan M. Amiodarone keratopathy: an in vivo confocal microscopic study. *Eye Contact Lens* 2005;31(4):148-57.
58. Yılmaz N, Uçakhan OO, Kanpolat A, Duzgun N. [Confocal microscopy findings in cases under chloroquin treatment with normal eye examination findings]. *MN Ophthalmology* 2002;9(4):324-8.