

Dermatolojide Yeni Bir Tanı Yöntemi: Reflektans Konfokal Mikroskopisi

A New Diagnostic Method in Dermatology: Reflectance Confocal Microscopy: Review

Vefa Aslı TURGUT ERDEMİR,^a
Mehmet Salih GÜREL^a

^aDermatoloji Kliniği,
İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 22.01.2012
Kabul Tarihi/Accepted: 15.05.2012

Yazışma Adresi/Correspondence:
Vefa Aslı TURGUT ERDEMİR
İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Dermatoloji Kliniği, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
vefaasli@hotmail.com

ÖZET Dermatoloji alanında, son 15 yıl içinde, deri lezyonlarının noninaziv ve mikroskopik düzeyde görüntülenebilmesi için; dermoskopi, optik koherans tomografi, yüksek frekanslı ultrason, manyetik rezonans görüntüleme, floresan mod konfokal mikroskopisi ve reflektans mod konfokal mikroskopisi (RKM) gibi birçok teknik geliştirilmiştir. Tüm bu in vivo teknikler içinde sadece RKM, epidermis ve papiller derminin histolojik çözünürlük düzeyinde ayrıntılı incelenmesine olanak tanımaktadır. Bu yöntem, melanin ve melanosomların yüksek kontrast kaynağı olması nedeni ile normal derinin ve özellikle melanositik deri lezyonlarının değerlendirilmesinde büyük kolaylıklar sağlamaktadır. RKM inflamatuvar deri lezyonlarının da in vivo ve noninaziv bir şekilde tanımlanması için kullanılmıştır. Psöriyazis, kontakt dermatit, mikozis fungoides, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar karakteristik konfokal özelliklerin tanımlanması için değerlendirilmiştir. Bu konuda RKM'nin avantajı benign inflamatuvar deri hastalıklarının daha çok epidermis ve üst epidermise sınırlı olmasıdır ki bu bölge RKM'nin çözünürlüğünün geleneksel histoloji ile karşılaştırılabilir olduğu bölümdür. RKM'nin deri lezyonlarını noninaziv olarak değerlendirme yeteneği, cerrahi tedavi ve cerrahi olmayan tedavi öncesinde lezyon sınırlarını belirleyebilmesi anlamına gelmektedir. Özellikle radial büyüme fazındaki lentigo malign melanom, bazı bazal hücreli karsinomlar veya klinik olarak tespit edilemeyen tümörlerin sınırlarının belirlenmesinde yararlıdır. Görüntüleme yöntemi ağrısızdır, doku hasarı oluşturmaz, dokuda değişikliğe neden olabilecek fiksasyon ve boyama yöntemleri gerektirmez. Eş zamanlı bilgi toplama histolojiden daha hızlı gerçekleşmekte, tekrarlanabilir özelliği ile doku büyümesi, yara iyileşmesi ve tedaviye yanıt defalarca görüntülenebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikroskopisi, konfokal; tanısal görüntüleme; cilt

ABSTRACT In the last 15 years, for noninvasive microscopic evaluation of the skin lesions; dermoscopy, optical coherence tomography, high-frequency ultrasound, magnetic resonance imaging, fluorescence-mode confocal microscopy and reflectance-mode confocal microscopy (RCM) has been developed in dermatologic field. Of all these in vivo techniques only in vivo confocal microscopy enables a detailed examination of the epidermis and papillary dermis at a resolution approaching histological detail. In vivo RCM is a useful method for evaluating normal skin, especially melanocytic skin lesions because melanin and melanosomes are strong sources of contrast. RCM also has been used to describe inflammatory skin conditions in vivo and non-invasively. Psoriasis, contact dermatitis, mycosis fungoides, bacterial and fungal infections have been evaluated to define their characteristic confocal features. An advantage of RCM is that the majority of benign inflammatory skin conditions are limited to the epidermis and upper dermis, where RCM has a resolution comparable with traditional histology. The ability of RCM to perform noninvasive evaluation of skin lesions means that it has the potential to define lesion margins before surgical or nonsurgical therapy. This could be particularly helpful in margin assessment of tumors with radial growth phases, including lentigo maligna melanomas, some basal cell carcinomas, or tumors that are difficult to see clinically. Imaging technique is painless, does not create any tissue damage and does not need to fixation or staining methods that can change the tissue. Real-time data collection is faster than histology and the technique is repetitive for the tissue growth, wound healing and can be observed in terms of response to treatment.

Key Words: Microscopy, confocal; diagnostic imaging; skin

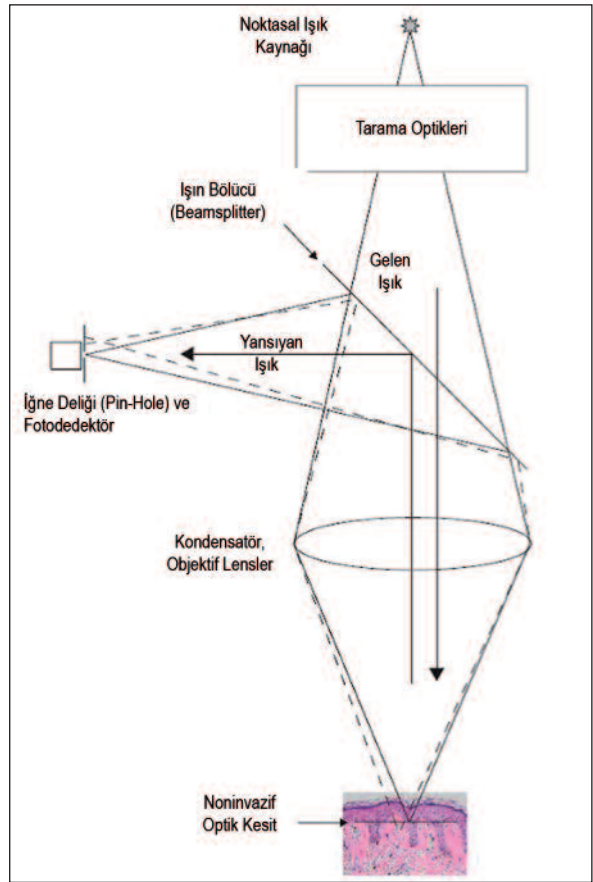
Konfokal tarayıcı mikroskop çalışma ilkeleri 1950'li yıllarda tanımlanmasına rağmen lazer ışık kaynağı ve bilgisayar teknolojisinin gelişmesiyle, ancak 1980'lerden itibaren uygulama alanı bulabilmiştir. Konfokal tarayıcı lazer mikroskop ile in vivo insan dokusu görüntülemesi ilk kez 1995 yılında gerçekleştirilmiştir.¹ İn vivo reflektans konfokal mikroskopi (RKM)'nin son yıllarda kullanımı dermatoloji ve dermatopatoloji alanında, özellikle melanositik lezyonların değerlendirilmesinde, benign ve malign lezyonların ayırıcı tanısında giderek önem kazanmıştır.²⁻⁴ Ayrıca psöriyazis, allerjik ve iritan kontakt dermatit, fungal ve paraziter hastalıkların tanısında yardımcı olarak RKM kullanılmaktadır.⁵⁻⁷ Bu çalışmada RKM'nin çalışma ilkesi, melanositik ve melanositik olmayan lezyonlarda ve diğer alanlarda kullanımına değinilecektir.

REFLEKTANS KONFOKAL MİKROSKOPİNİN ÇALIŞMA İLKESİ

RKM, monokromatik ışık kaynağı (lazer), dikroik ayna (beam splitter), ışının istenilen noktaya odaklanmasını sağlayan objektif lensler (kondensatör), sadece odaklanılan noktadan gelen ışınların geçmesine izin veren iğne deliği (pin-hole) ve bunun ardında geri dönen ışınları saptayan fotodedektör bölümlerinden oluşur (Şekil 1).

Konfokal mikroskopi ile ilgili temel ilke, dokudaki sadece hedef düzlemden yansıyan ışığın selektif olarak bir noktada toplanmasıdır. Işık kaynağı, aydınlatılan nokta ve fotodedektör optik olarak karşılıklı odaksal düzlemlerde yerleştikleri için "konfokal" (conjugate focal planes-confocal planes) olarak adlandırılmaktadır.⁸

Dijital görüntüleme; temel eleman "piksel" olarak adlandırılan ufak noktacıkların yatay ve dikey biçimde yan yana sıralanmasıyla dijital görüntüler oluşur. RKM ile görüntüleme, önce lazer ışını incelenmek istenilen noktaya objektif lensler yardımıyla odaklanarak düşürülür. Buradaki canlı dokudan yansıyan ışınlar dikroik ayna yardımıyla fotodedektör önündeki iğne deliğine (pin-hole) ulaşır. Işınlar, fotodedektörler tarafın-



ŞEKİL 1: Reflektans konfokal mikroskobunun çalışma prensibi.⁸
(Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)

dan yakalanır ve dijital ortamda piksel şeklinde kaydedilir. Böylelikle sadece odaklanılan dokudan yansıyan ışınlar ile görüntü oluşur. Görüntü düzlemi önüne konan iğne deliği aynı zamanda filtre görevi görür ve odak dışı yansıyan ışığın dedektöre ulaşmasını engeller. Çalışılan örnekteki tüm alanın görüntüsünü elde etmek için noktasal ışık kaynağı ile tüm alan taranır. Bu da canlı dokunun in vivo ince horizontal doku katmanları şeklinde görüntülenmesini sağlar.⁸

REFLEKTANS KONFOKAL MİKROSKOPİNİN ÖZELLİKLERİ

RKM ile elde edilen görüntünün çözünürlüğü, görüntüleme için kullanılan ışının dalga boyuna ve enerji gücüne, iğne deliğinin boyutu, objektif lenslerin sayısal açıklığına bağlıdır. RKM görüntüleme ışık kaynağı olarak değişik dalga boyları

rında lazer ışınları kullanılır. Uzun dalga boylarındaki ışınlar derinin derinliklerine penetre olurken daha az lateral çözünürlük elde edilir.⁹ Ayrıca, yüzeysel tabakaların ışını yansıtma özelliği ve dermisin ışığı dağıtma özelliği de görüntünün kalitesini belirler.¹⁰ İnsan derisindeki en güçlü kontrast kaynağı melanin pigmentidir. Bunu sırasıyla keratin, mitokondri, sitoplazmik organeller, nukleustaki kromatin, dermisteki kollajen izler (Şekil 2).⁸

Günümüzde klinik uygulamada kızılötesi 830 nm (diode lazer) veya çoklu dalga boylarına (488 nm, 658 nm ve 785 nm) sahip floresans filtreli konfokal lazer mikroskoplar kullanılmaktadır. Cihazdaki diyod lazer penetrasyon gücü 830 nm dalga boyunda 15 mW ile sınırlandırılarak dokuya ve göze zarar vermeden çalışması sağlanmıştır.

Lazer ışınının hava-doku boşluğunu geçerken sapmasını en aza indirmek için RKM görüntü-

leme işlemi sırasında epidermisin (1,34) refraktif indeksine çok yakın su (1,33) bazlı jeller kullanılır. Böylelikle su immersiyonlu lenslerle 20-100 kat büyütme sağlanırken, 800-1064 nm dalga boyunda lateral çözünürlük 0,5-1,0 mikron (μ) ve optik kesit kalınlığı 2-5 μ arasında değişebilmektedir. 30X objektif lens ve 0,9 sayısal açıklık (NA) genellikle 0,5 mm'lik bir alanın, optik kesit kalınlığı 3 μ ve lateral çözünürlük 0,7 μ olacak şekilde görüntülenmesini sağlar. Böylelikle 250-300 mikron derinliğe inilerek epidermis, papiller dermis ve retiküler dermisi içerecek şekilde normal deri görüntülenmesi yapılabilir.^{10,11}

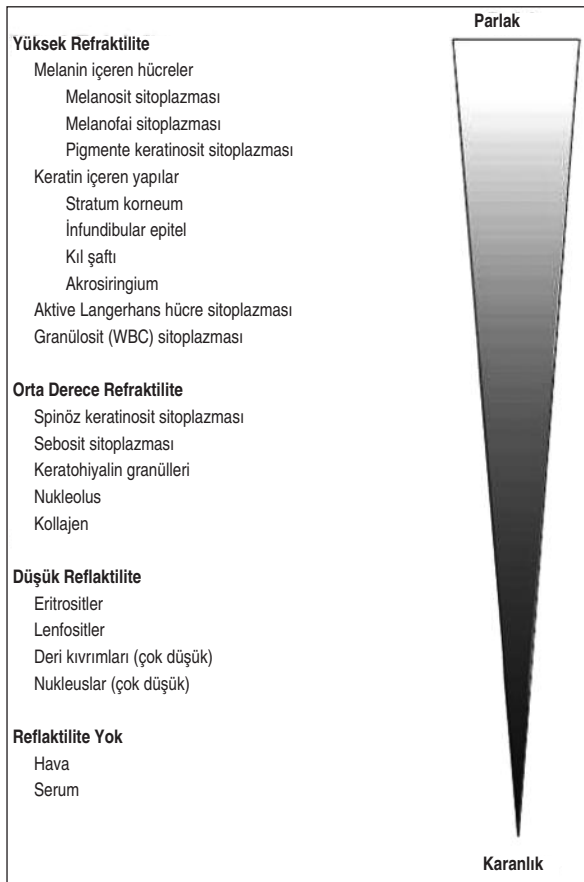
Deriye göre z (vertikal) düzleminde objektif lensler hareket ettirildiğinde dokunun farklı horizontal düzeylerinde görüntüleme yapmak mümkün olmaktadır. Bu görüntüler hem derinin horizontal tabakalarının statik resimlerini oluşturmak için "yakalanır" hem de kan akımı gibi dinamik olayları gösteren video kaydı için kullanılır.^{11,12}

Hareket artefaktını azaltmak için metal bir halkanın bir tarafı deriye yapıştırılırken, diğer tarafı da mikroskobun başlığına mıknatıs yardımıyla bağlanır. Görüntüleme sırasında bu halka su bazlı bir jelle doldurulur. Bu jel sayesinde 0,5x0,5 mm büyüklüğündeki bir alan taranabilir (Resim 1).

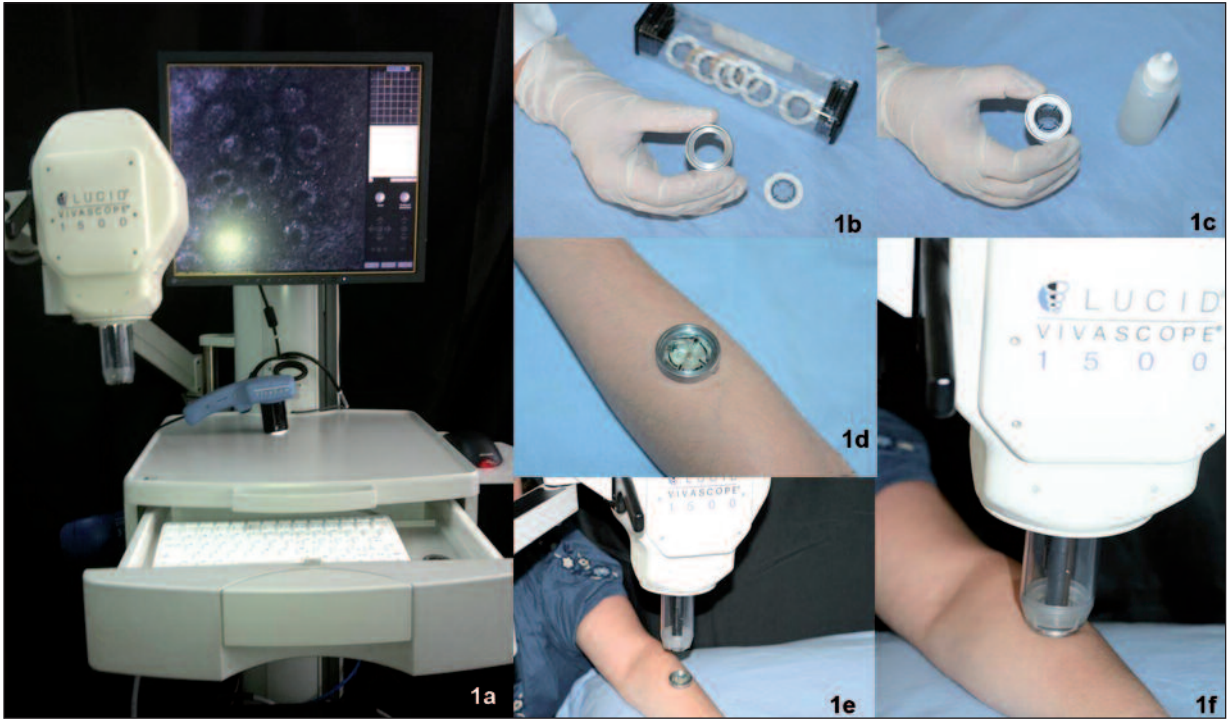
NORMAL DERİNİN REFLEKTANS KONFOKAL MİKROSKOPİ İLE GÖRÜNTÜLENMESİ

İnsan derisi in vivo RKM ile görüntüendiğinde önce düzleşmiş, nukleusu olmayan keratinositlerden oluşan 0-15 μ m kalınlığında stratum korneum (SK) izlenir. SK çok parlak, büyük (10-30 μ), nukleus içermeyen poligonal hücreler ve bunları çevreleyen koyu sınırların bulunduğu adacıklardan oluşur. Bu koyu sınırlar deri kıvrımlarıdır, hücrelerle karşılaştırıldığında oldukça koyu renkli görülür (Resim 2a).^{10,13}

Stratum granulozum (SG) yüzeyden 10-20 μ daha aşağıda 2-4 sıra nukleuslu hücrelerden oluşur. SG 25-35 μ boyutlarında, birbiri ile birleşen paternde, merkezinde koyu oval veya yuvarlak yapıları çevreleyen parlak beyaz noktalardan oluşan



ŞEKİL 2: Refraktif yapılar (azalan parlaklık sırasıyla).⁸



RESİM 1: Reflektans konfokal mikroskopi ile görüntüleme. (1a; Vivascope 1500. 1b,c; Metal halkaya yapıştırılan pencerenin diğer yüzüne yağ bazlı immersiyon damlatılır. 1d; Yağ damlatılan yüzdeki yapıştırıcı bant çıkarılarak deri üzerine yerleştirilir, halkanın içerisine su bazlı bir immersiyon jeli konur. 1e,f; Vivascope başlığı ve metal halka dik olacak şekilde birleştirilir).

(Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)

sitoplazma halkası bulunan hücrelerden oluşur (Resim 2b).^{14,15}

Stratum spinosum (SS), yüzeyden yaklaşık 20-100 μ aşağıda, SG hücrelerinden daha küçük (15-25 μ) hücrelerin oluşturduğu sıkı bal peteği manzarası ile karakterizedir (Resim 2c).^{14,15}

Stratum bazalis (SB), SK'dan 50-100 μ derinlikte boyutları 7-12 μ arasında değişen dermoepidermal bileşkede parlak kümeler oluşturan hücreler şeklinde görülür (Resim 2d). Bu bileşkenin altında, dermal papilla içindeki kapiller ağlar görülür (Resim 2e). Daha derin görüntülemelerde, retiküler liflerin ve küçük kan damarlarının gözlemlendiği papiller dermis ortaya çıkar (Resim 2f).^{14,15}

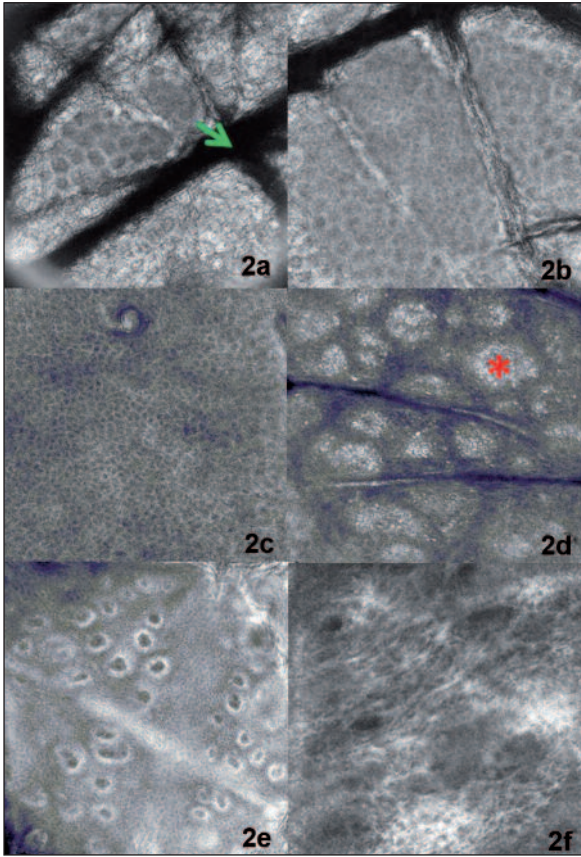
Normal deride gözlenebilen diğer yapılar, ekrin kanallar parlak merkezi oyuk şeklinde ve epidermis-dermis içine doğru spiral oluşturan yapılar şeklinde gözlenirken, pilo-sebase üniteyle bağlantılı kıl shaftı da görüntülenebilir.^{14,15}

Normal derinin görüntüsü görüntülenen deri bölgesi ve deri rengine göre değişiklikler gösterir. Güneşe maruz kalmış deri veya koyu pigmente alanlar bazal tabakada daha fazla pigment olması nedeni ile genellikle parlak görünür. Güneşe maruz kalmış deri kalın, daha yarıklanma veya kırışıklık gösteren SK'ya sahip olup, dermal papillalar düzensiz şekillidir.^{8,15}

DERMATOLOJİK UYGULAMADA REFLEKTANS KONFOKAL MİKROSKOPİNİN KULLANIM ALANLARI

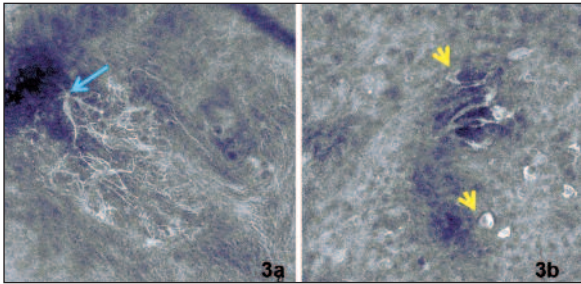
MELANOSİTİK DERİ LEZYONLARI

Pigmente lezyonlar melanosit, pigmente keratinosit ve melanofaj gibi üç farklı bileşenle oluşurlar. Pigmente keratinositler poligonal, parlak granüler sitoplazmalı hücreler şeklinde görülürken; melanositler parlak, yuvarlak, oval, fusiform veya dendritik şekildedir. Melanositler dermo-epider-



RESİM 2: Normal deri (**2a**; Stratum korneumda oldukça parlak yüzey ve belirgin deri kıvrımları (yeşil ok). **2b**; Stratum granulozumda poligon keratinositler, lezyonun orta kısmında daha derinde stratum spinosum izlenmekte. **2c**; Bal peteği manzarası gösteren stratum spinosum. **2d**; Stratum bazalenin yüzeyel kısmında biraraya gelerek kümeler oluşturmuş yuvarlak hücrelerden oluşan melanin başlıklar (melanin cap-kırmızı yıldız). **2e**; Dermoeperidermal bileşkenin yüzeyel kısımlarında dermal papillayı çevreleyen dermal papiller halkalar **2f**; Retiküler yapı gösteren dermal papiller fibriller kollajen.

(Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)



RESİM 3: Atipik melanositik hücreler (**3a**; Dendritik uzantıları net olarak görülen kümeleşmiş melanositik hücreler (mavi ok). **3b**; Yuvarlak, oval, kama şeklinde atipik melanositler (sarı ok).

(Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)

mal bileşkede veya yüzeyel dermis içinde birbiri içine geçmiş, büyüme paterni gösteren kümeler oluşturmaları ile ayırt edilebilirler. Bunun yanında,

dermoepidermal bileşkede birbirinden bir miktar keratinosit ile ayrılmış tekli hücreler şeklinde de karşımıza çıkarlar (Resim 3). Melanofajlar büyük, parlak, sitoplazmik sınırları seçilemeyen, genellikle yüzeyel dermiste damarlar çevresinde yerleşmiş hücrelerdir.^{14,16}

Melanositik Nevus

RKM esas olarak, benign ve malign melanositik lezyonların tanınması ve ayırt edilmesinde kullanılır. Melaninin sağladığı kuvvetli kontrast nedeni ile melanositler kolaylıkla değerlendirilebilir. Bu da melanositik lezyon tanısını koymada, cerrahi eksizyon sonrası lokal nükslerin tespitinde ve in vivo tümör takibinde avantajlar sağlar.¹⁷

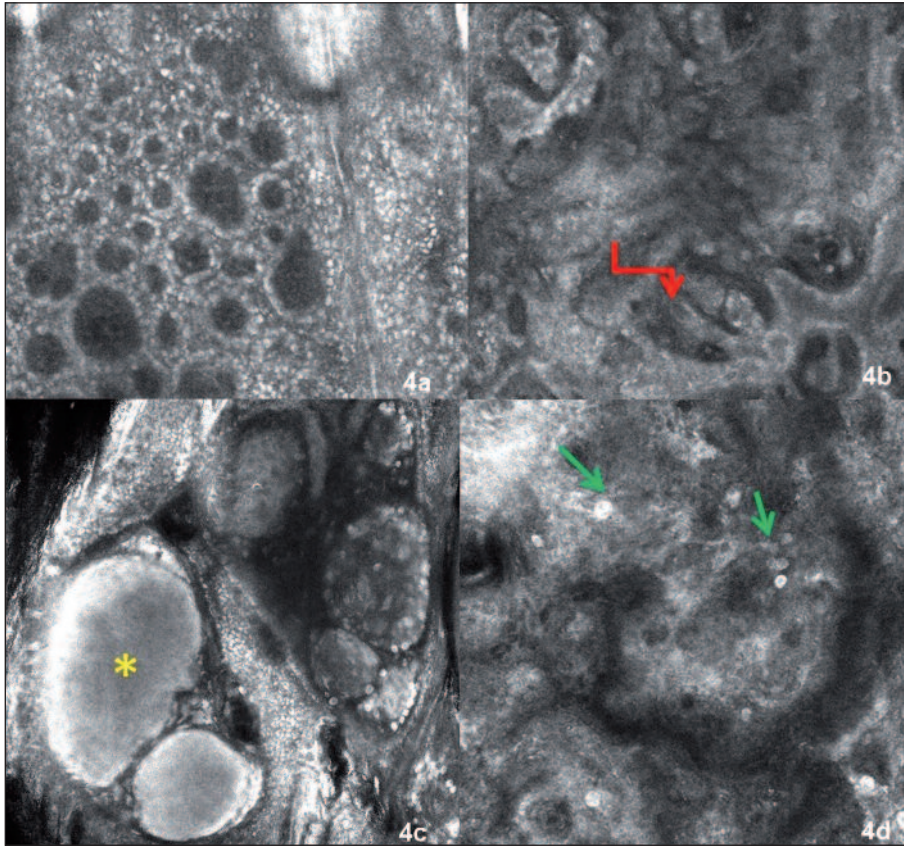
Melanositik nevüs hücreleri dermoepidermal bileşkedeki yuvalarda veya papiller dermiste parlak, yuvarlak, monomorf diskoid yapılar şeklinde karşımıza çıkar. Nükleus nadiren hücrenin ortasında koyu oval yapı şeklinde görülebilir. Derinlik arttıkça nevus hücreleri olgunlaşır, boyutları azalır, ancak bu özelliğin RKM ile tespit edilmesi zordur. Dermal kapillerler genellikle dilatedir.¹⁸⁻²⁰

Bileşik nevüs hücreleri dermoepidermal bileşkede, epidermis içinde dermal papillayı çevreler tarzda karşımıza çıkar. Dermal nevüslerde ve bazı bileşik nevüslerde hücreler dermoepidermal bileşkede ve yüzeyel dermiste görülebilir. Bunlar genellikle yuvarlak şekilde, kan damarları çevresinde yerleşmiştir. Bu tip nevüslerde epidermisin katmanlarında herhangi bir değişiklik yoktur (Resim 4).¹⁸⁻²⁰

Displastik Nevus

Melanositik nevusların aksine hücre popülasyonu boyut, şekil ve refraktilite açısından daha heterojen bir yapıya sahip olup, yuvarlak veya oval olmaya eğilimlidir. Bazı alanlarda keratinosit sınırları kaybolmuştur ve epidermiste melanin parçalarını temsil eden parlak granüller tespit edilebilir.¹⁹

Spitz nevusta RKM ile uniform, agregre globüller saptanır. Üst epidermiste parlak granüller partiküller görülebilir, bu da pigment toplulukları ile



RESİM 4: Farklı nevus tiplerinde RKM (4a; Melanositik nevüste düzgün sınırlı ve düzenli papiller halkalar. 4b; Dermal papilla içerisinde parmaklı çıkıntılar şeklinde dermise uzanan junksyonel nestler (kırmızı ok). 4c; Dermiste yerleşmiş keskin sınırlı papillaları tamamen dolduran dermal nestler (sarı yıldız) 4d: Papillaların net seçilemediği, az sayıda, yuvarlak parlak atipik melanositik hücrelerin (yeşil ok) gözlemlendiği displastik nevus). (Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)

uyumludur. Suprabazal tabakalar dağınık, yuvarlak-oval şekilli, parlak granüler sitoplazmalı ve koyu nukleuslu, pagetoid dağılım gösteren nevomelanositleri içerebilir. Dermal papilla içerisinde parlak-tombul hücreler görülebilir.²¹

Malign Melanoma

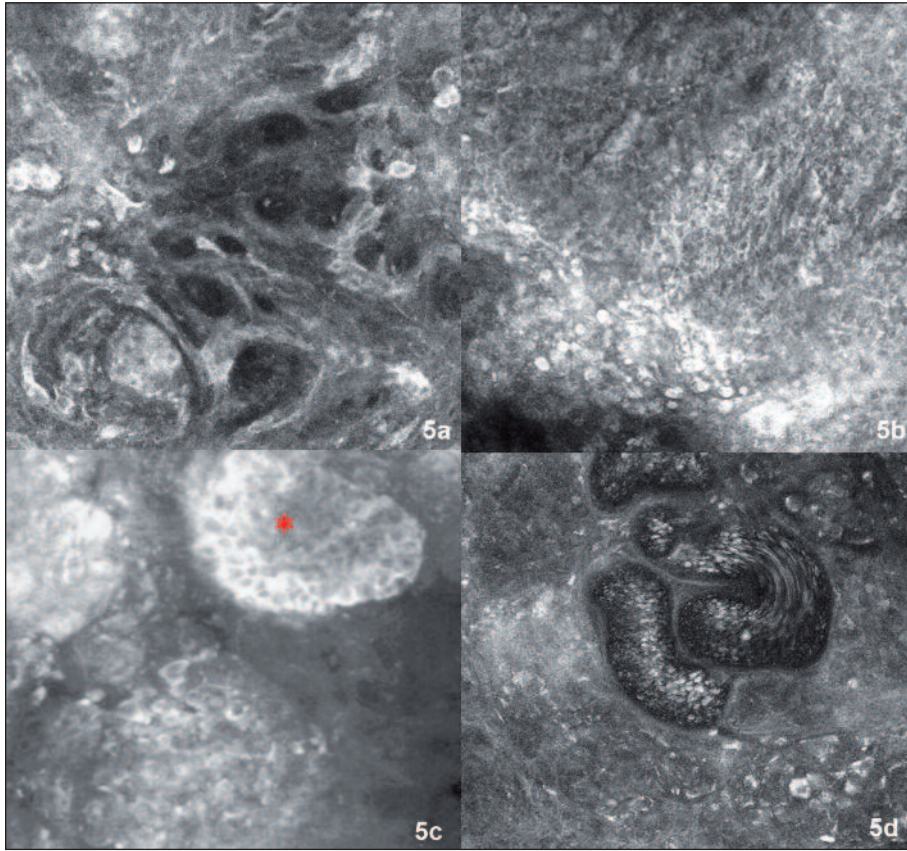
Pigmente ve amelanotik melanomlar premelanozomlardaki melanin varlığı nedeniyle benzer özellikler gösterirler.^{19,22} Melanomda SS ve SG düzeyinde yapısal değişiklikler, keratinosit düzensizlikleri ve interselüler sınırların kaybı, genişlemiş, atipik, polimorfik görünümdeki değişen derecede refraktil, köşeli nukleuslu hücreler epiderminin birkaç tabakasına ve dermise saçılmış şekilde görülür. Hücreler oval, yıldızimsı veya fusiform olabilir. Epidermisteki düzenli bal peteği gö-

rünümü bozulmuştur. Lentigo maligna ve melanoma in situ düzenli, oldukça refraktil hücreler, sıklıkla dendritik benzeri yapılar şeklinde karşımıza çıkar ve histolojideki atipik melanositlerle uyumludur (Resim 5).^{19,23,24}

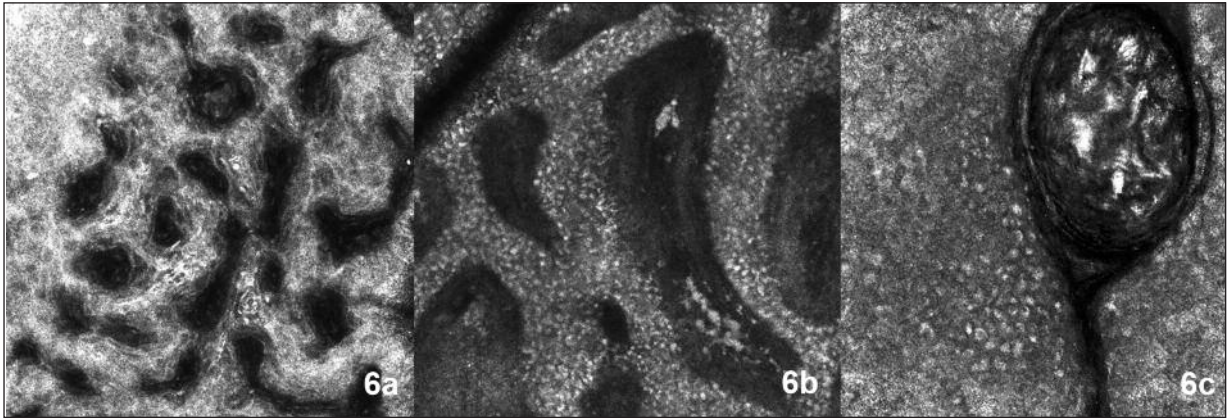
MELANOSİTİK OLMAYAN DERİ LEZYONLARI

Seboreik Keratoz

RKM ile epiderminin mozaik görüntüsü iyi sınırlı serebriform bir yapı gösterir. Bir beyin sulkusunu andıran koyu alanlar dermoskopideki fissürlerle ve histopatolojide keratin dolu yüzey invajasyonları ile örtüşür. Komodo benzeri açılımlar ve milia benzeri kistler RKM'de iyi sınırlı parlak refraktil, yuvarlak sarmal materyal birikimleri ve onu çevreleyen keratinosit şeritleri şeklinde görülür. Normal deri ile karşılaştırılacak olunursa, SK nor-



RESİM 5: Malign melanoma (**5a**; Dermiste papilla kaybı, çok sayıda yuvarlak, fusiform dentritik ve anormal şekilli melanositler **5b**; Epidermisi ve dermisi istila etmiş çok sayıda poligonal parlak hücreler. **5c**; Tümör adaları (kırmızı yıldız) **5d**; Anormal anjiogeneze bağlı damarlarda artış ve genişleme). (Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)



RESİM 6: Seboreik keratoz (**6a**: Seboreik keratozda beyin benzeri görüntü. Siyah yarık şeklindeki alanlar keratin dolu yüzey invajinasyonları ile gri gyrus benzeri alanlar ise anastomoz yapan epidermis uzantıları ile uyumlu. **6b**: Düzensiz ve kalınlaşmış dermal papilla ve papilla içerisinde parlak melanofajlar. **6c**: Yuvarlak siyah oyukların içinde sarmal yapmış şekilde oldukça parlak refraktil materyal ile dolu keratin kisti)

mal deriden daha fazla refraktil pigment içerir. Pigmente seboreik keratozda SS'de kaldırım taşı manzarası gözlenir. Dermoepidermal bileşkede genişlemiş, bozulmuş dermal papillalar oldukça ref-

raktil hücrelerle çevrelenmiştir. Dermal papillada tek tek veya kümelenmiş tombul, parlak, yuvarlak veya poligonal melanofajları temsil eden hücreler gözlenir (Resim 6).^{25,26}

Aktinik keratoz, Bowen hastalığı ve Skuamöz hücreli karsinom

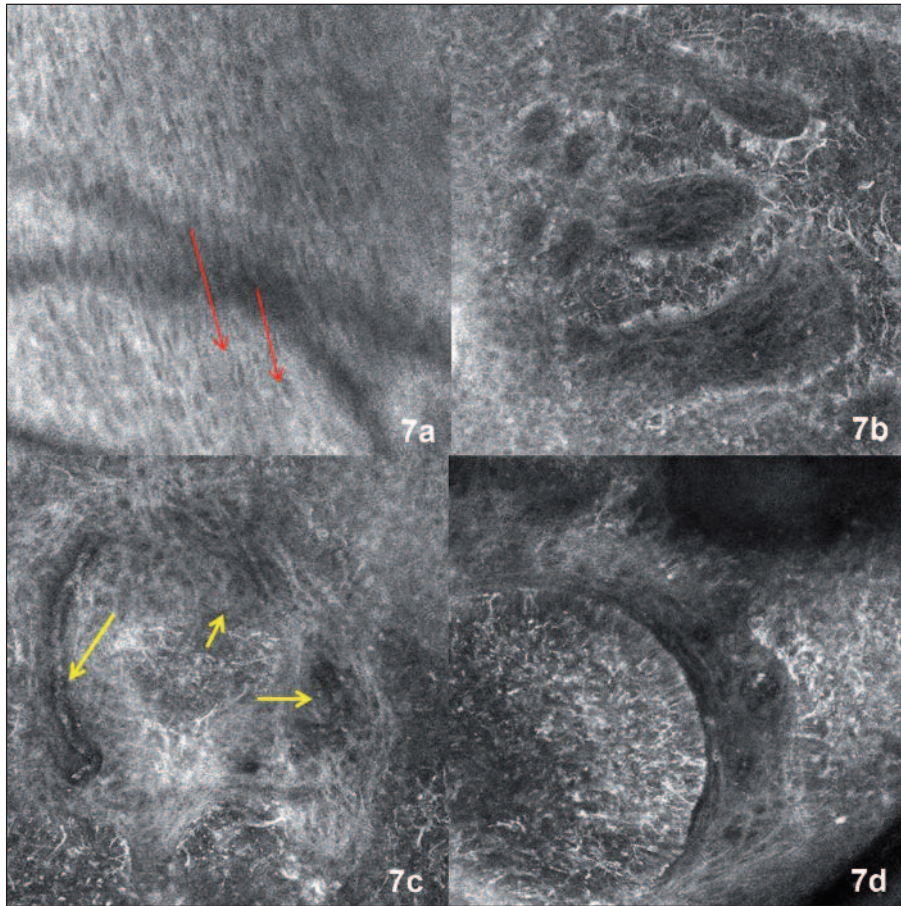
RKM'de SK'da parakeratoz korneositler içinde koyu, yuvarlak iyi sınırlı yerleşmiş nukleusa uyan yapılar, SS ve SG'de displaziyle uyumlu değişen derecede yapısal bozukluk tespit edilir. Ancak RKM'in penetrasyon derinliğinin yetersiz olması nedeni ile aktinik keratoz (AK) ile skuamöz hücreli karsinom (SHK) ayrımı her zaman mümkün olmamaktadır. RKM'de tam kat displastik özelliklerin saptanması, vasküler patern ve keratin incilerinin varlığı SHK tanısı için yol göstericidir.²⁷

Bowen hastalığının değerlendirilmesinde de, SHK'ya benzer şekilde parakeratoz, epidermiste tam kat atipik bal peteği görüntüsü tespit edilebilir. Hedef hücreleri olarak ifade edilen parlak merkezli

çevresi koyu renkli hücreler, S şeklinde kan damarları ve parlak inflamatuvar hücreler diğer bulgulardır.^{28,29}

BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

Bazal hücreli karsinomların RKM için karakteristik özellikleri, polarize görüntü veren ve nukleusu uzamış monomorfik tümör hücrelerinin oluşturduğu adacıklardır. Bu polarize hücre adacıkları deri kalınlığı boyunca devam eder. Epidermiste normal bal peteği görüntüsü kaybolmuştur. Dermal papilla yapısı gözlenmez. Yüzeyel kan damarları belirginleşmiş, genişlemiş ve kıvrımları artmıştır, lökositlerin endotel duvarı boyunca hareketi gözlemlenebilir. BHK'daki tümör adacıkları çevredeki stroma ile karşılaştırıldığında (koyu silüet benzeri adalar) hiporefraktif alanlar şeklinde görülür.



RESİM 7: Bazal hücreli karsinom (**7a**; Epidermiste elonge monomorf nukleuslu hücrelerin aynı aksta uzanımı. **7b**; Dermiste farklı refraktildeki tümör hücrelerinden oluşmuş periferinde palizatlanmanın görüldüğü tümör kordonları **7c**; Damarlarda artış ve damarların horizontal yerleşimi **7d**; Dermis seviyesinde, lezyon kenarında yarıklanma görülen, hafif-orta refraktif hücrelerden oluşmuş periferik palizatlanmanın izlendiği tümör).

(Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)

Tümör hücreleri çevresinde ise inflamatuvar hücreler artmıştır (Resim 7).^{30,31}

Mikozis Fungoides

Erken dönem mikozis fungoides (MF)'in RKM ile görüntülenmesinde histolojiye benzer şekilde tablo silik olarak karşımıza çıkar. Dermoepidermal bileşkede dermal papiller halkalar normal deriye göre silikleşmiştir. Epidermiste orta düzeyde epidermal bir düzensizlik, bazı alanlarda histolojideki spongiözla uyumlu interselüler alanlarda belirsizleşme tespit edilebilir. Epidermotropik atipik lenfositler ise yuvarlak-oval, hafif refraktil hücreler şeklinde epidermis içine saçılmıştır. Plak MF'de daha ayırt ettirici görüntüler tespit edilebilir. Pautrier mikroapseleri, epidermiste iyi sınırlı, yuvarlak vezikül veya mikrovezikül benzeri koyu boşluklar ve bunların içerisini dolduran hafif refraktil materyal şeklinde görülebilir. Tümöral dönem MF'nin RKM bulguları ise plak dönem ile benzerdir.³²

İNFLAMATUAR, MİKOTİK VE PARAZİTER DERİ LEZYONLARI

Psöriyazis

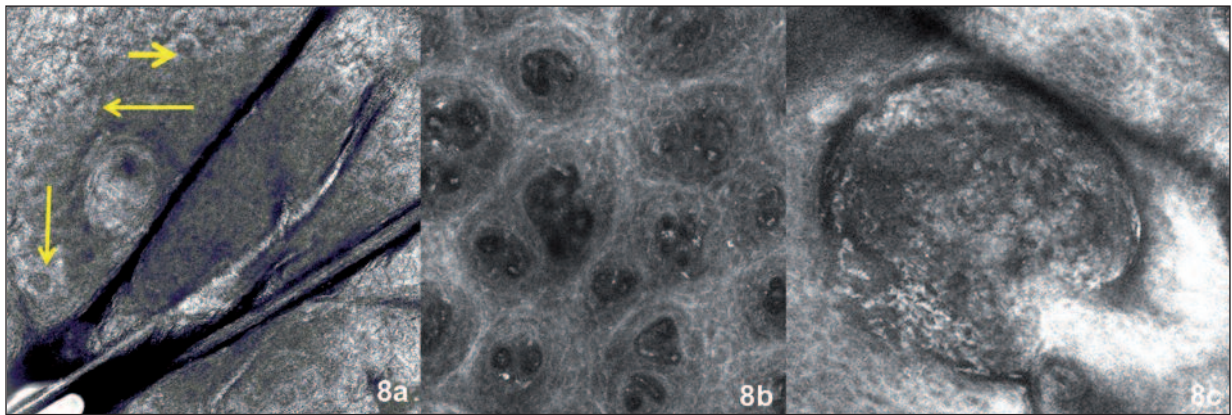
Psöriyazisde RKM görüntüsü korneositler içinde mevcut koyu küçük nukleuslar şeklinde görülen parakeratoz, SK içinde toplanmış oldukça refraktil yapılar şeklinde görülen Munro mikroapseleri, ka-

lınlaşmış epidermis (akantoz), dermal papillada kapiller dilatasyon, papillomatozudur. Yapılan çalışmalarda, bu bulguların histopatoloji ile yüksek oranda uyum gösterdiği tespit edilmiştir (Resim 8).^{33,34}

Tipik psöriyazis lezyonu olan 56 hastada yapılan bir çalışmada, lezyonlardaki vasküler özelliklerin tedavi öncesi ve sonrasında psöriyazis için oldukça spesifik olduğu, dermal papilla çaplarının genişlediği ve dermal papillaların arasının daraldığı tespit edilmiştir. Tespit edilen bu bulguların ise psöriyazis vulgaris tanısı koymada ve diğer hiperkeratotik deri hastalıklarından ayırmada sensitiv özellikler olduğu belirtilmiştir.³⁵

İrritan ve Allerjik Kontakt Dermatit

Allerjik ve irritan kontakt dermatitte (İKD) temel özellikler spongiöz ve inflamatuvar infiltrattır. RKM'de spongiöz hücreler arası parlaklık olarak görülür. Epidermal inflamatuvar hücre infiltratı keratinositlerin arasına yayılmış, parlak yuvarlak veya oval 9-12 µ çapında yapılar olarak tanımlanır. AKD'de konfokal mikroskopisi ile hafif parakeratozis (SK'da koyu nukleus), epidermiste uni veya multiloküler veziküller, lenfosit ve Langerhans hücreleri ile örtüşen beyaz, yuvarlak ve dendritik hücreler görülebilir. Vezikül formasyonu ve inflamatuvar infiltrat İKD'den daha fazla-



RESİM 8: Psöriyazis (8a: Stratum korneumda ortasında nukleusu temsil eden koyu yuvarlak alan bulunan ve çevresi parlak görünümde renkli parakeratotik hücreler (sarı ok) 8b: Papilla ve kapiller sayısında artış, kenarsız papilla görüntüsü ve papillaların inflamatuvar hücrelerle tutulması 8c: Epidermiste iyi sınırlı, içinde farklı refraktilitede hücrelerin izlendiği püstül oluşumu). (Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)

dır. Spongiosis ise İKD'de daha anlamlıdır. Nekrotik epidermis alanları, perivasküler inflamatuvar infiltrat ve bazal keratinositlerin artmış boyut ve parlaklığı her iki tip reaksiyonunda gözlenir. İKD korneosit demarkasyonu, ayrışması ve parakeratoz gibi SK ile ilişkili yüzeyel değişikliklerle karakterlidir.^{36,37}

Skabies

Konfokal görüntülerde oval bir gövde, ön segmentte 2 çift kısa bacak ve bacaklar arasında daha refraktil görülen baş, dorsal bölgede refraktil kıllar ve çıkıntılar tespit edilebilir. Sillonlar, sillon içerisindeki sarkopt yumurtaları ve çevrede ol-

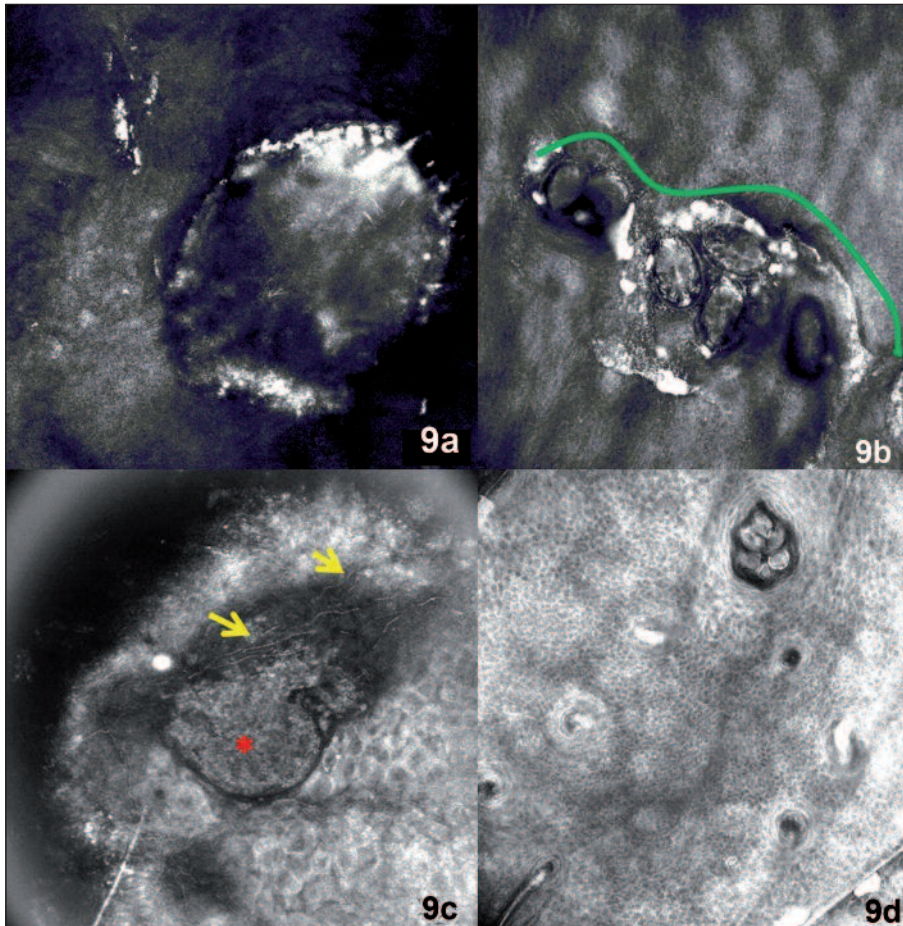
dukça refraktil daha küçük oval yapılar halinde sarkopt dışkıları kolaylıkla görülebilir (Resim 9a,b).^{6,7}

Tinea Enfeksiyonları ve Onikomikoz

İn vivo ve in vitro konfokal mikroskopide parlak yansıma veren lineer yapılar şeklindeki parlak dallanan hifler görülebilir. Elde edilen kontrast tırnak üzerine damlatılan bir damla KOH ile artırılabilir (Resim 9c).^{38,39}

Demodesiozis

Konfokal mikroskopisi ile demodexler kıl folikülü içerisine yerleşmiş çok sayıda, yuvarlak, (çapı 6



RESİM 9: 9a: Erişkin sarkopt;oval bir gövde, ön segmentte 2 çift kısa bacak ve bacaklar arasında daha refraktil görülen baş, dorsal bölgede refraktil kıllar ve çıkıntılar. 9b: Sillon ve sillon içerisindeki sarkopt yumurtaları. 9c: Tinea inkognitoda püstül oluşumu (kırmızı yıldız) ve çevreye göre daha refraktil görülen lineer uzanımlı hifalar (sarı ok) 9d: Kıl folikülünü dolduran yuvarlak parlak demodexler. (Renkli hali için Bkz. <http://dermatoloji.turkiyeklinikleri.com/>)

μ) parlak çeperli yapılar şeklinde görülebilir. Yuvarlak yapılar folikül içerisinde baş aşağı yaşayan demodeksin arka kısmını temsil eder (Resim 10d).

Folikülit

Püstüler subkorneal folikülitte kıl folikülü çevresinde lökositleri gösteren infiltran parlak hücreler, püstüller, spongios ve kapiller dilatasyon tespit edilebilir.⁴⁰

Verrukalar

Hiperkeratotik SK ve çok sayıda hiperrefraktil 20-40 μm boyutlarında yuvarlak yapılar tespit edilebilir. Bu yapıların keratohiyalin granülleri veya enfekte keratinositler içerisinde bulunan viral partiküller olduğu düşünülmektedir.⁴¹

PİGMENTASYON BOZUKLUKLARI

Vitiligo

Vitiligo lezyonlarının RKM incelenmesinde normal dermoepidermal bileşkede gözlenen parlak papiller halkaların kaybolduğu tespit edilirken, vitiligolu hastaların normal derilerindeki papillalarda da bazı değişiklikler görülebilir. Bunlar parlak papiller halkalarda yarım halka görüntüsü ve taraksı sınır benzeri görüntüdür. Repigmente alanlarda ise dendritik melanositler tespit edilebilir.⁴²

KOZMETİK DERMATOLOJİ

RKM; yaşlanmaya bağlı epidermis ve papiller dermisin histolojik özelliklerinin belirlenmesinde ve yeni ürünlerin kullanımından sonra ortaya çıkan değişikliklerin tespiti ve takibinde kullanılabilir.

Daha önce yapılan çalışmalarda yaşla birlikte dermal papiller indeksin ve bazal tabaka kalınlığının azaldığı, granüler tabaka kalınlığının arttığı bil-

dirilmiştir. Dermal papiller indeksteki bu azalma, 18-50 yaş arasındaki kadınlarda daha yaşlı olanlara oranla daha fazla bulunmuştur. Bu grupta epidermal-dermal bileşkede düzleşme ve papillalarda tam kayıp tespit edilmiştir. Bu bölgelerde mikrodolaşımı oluşturan horizontal damarların çaplarının genişlemiş olduğu görülmüştür.⁴³

Kronolojik yaşlanma ve fotoyaşlanmanın değerlendirildiği bir çalışmada ultraviyole maruziyetinde; deri çizgilerinin azaldığı, epidermisin düzenli bal peteği görünümünün kaybolduğu, düzensiz pigmentasyon ve düzensiz papiller halkaların oluştuğu, kollajenin kalınlaşıp yer yer kaybolduğu tespit edilmiştir.⁴⁴

Antiaging ürün kullanımı ve lazer tedavisinde, uygulama süresince ve sonrasında epidermis ve yüzeysel dermis RKM ile gözlemlenebilir. Bu düşünceden yola çıkarak 5 haftalık topikal C vitamini kullanımı sonrası yapılan değerlendirmede genç deride epidermal-dermal bileşkenin anatomik yapısının düzeldiği, yaşlı deride ise kapiller yoğunluğunun arttığı tespit edilmiştir.⁴³

SONUÇ

RKM; tanı koymada gereksiz invaziv biyopsilerin yapılmasını önleyen bir tanı aracıdır. Tekniğin ana sınırlayıcı özelliği, sınırlı penetrasyon derinliği ve kontrast yokluğudur.

RKM araştırmacıya benign ve malign, pigmente ve pigmente olmayan deri lezyonlarının noninvaziv bir yolla, histolojik düzeyde incelenmesine olanak tanır. RKM ayrıca, biyopsi alınacak atipik alanların belirlenmesinde kullanılabilir. Moh's cerrahisinde eksize edilen materyalin tümör sınırlarının belirlenmesini sağlayabilir. RKM defalarca tekrarlanabilme özelliğiyle tedavilere yanıtın değerlendirilmesinde kullanılabilir. ^{23,24,45,46}

KAYNAKLAR

- Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 1995;104(6):946-52.
- Calzavara-Pinton P, Longo C, Venturini M, Sala R, Pellacani G. Reflectance confocal microscopy for in vivo skin imaging. *Photochem Photobiol* 2008;84(6):1421-30.
- Kang HY, Bahadoran P, Ortonne JP. Reflectance confocal microscopy for pigmented disorders. *Exp Dermatol* 2010;19(3):233-9.
- Pellacani G, Longo C, Malvey J, Puig S, Carrera C, Segura S, et al. In vivo confocal microscopic and histopathologic correlations of dermoscopic features in 202 melanocytic lesions. *Arch Dermatol* 2008;144(12):1597-608.
- Koller S, Gerger A, Ahlgrimm-Siess V, Weger W, Smolle J, Hofmann-Wellenhof R. In vivo reflectance confocal microscopy of erythematous skin diseases. *Exp Dermatol* 2009;18(6):536-40.
- Longo C, Bassoli S, Monari P, Seidenari S, Pellacani G. Reflectance-mode confocal microscopy for the in vivo detection of *Sarcoptes scabiei*. *Arch Dermatol* 2005;141(10):1336.
- Turan E, Erdemir AT, Gurel MS, Basaran YK. The detection of *Sarcoptes scabiei* in human skin by in vivo confocal microscopy. *Eur J Dermatol* 2011;21(6):1004-5.
- Gareau D, Patel Y, Rajadhyaksha M. Basic principles of reflectance confocal microscopy. In: Gonzales S, Gill M, Halpern A, eds. *Reflectance Confocal Microscopy of Cutaneous Tumors: An Atlas With Clinical, Dermoscopic and Histological Correlations*. 1st ed. London, UK: Informa Healthcare; 2008. p.1-6.
- Luedtke MA, Papazoglou E, Neidrauer M, Kollias N. Wavelength effects on contrast observed with reflectance in vivo confocal laser scanning microscopy. *Skin Res Technol* 2009;15(4):482-8.
- Gonzalez S, Swindells K, Rajadhyaksha M, Torres A. Changing paradigms in dermatology: confocal microscopy in clinical and surgical dermatology. *Clin Dermatol* 2003;21(5):359-69.
- Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. Reflectance-mode confocal microscopy of pigmented skin lesions—improvement in melanoma diagnostic specificity. *J Am Acad Dermatol* 2005;53(6):979-85.
- Gerger A, Koller S, Weger W, Kollias N. Sensitivity and specificity of confocal laser-scanning microscopy for in vivo diagnosis of malignant skin tumors. *Cancer* 2006;107(1):193-200.
- Branzan AL, Landthaler M, Szeimies RM. In vivo confocal scanning laser microscopy in dermatology. *Lasers Med Sci* 2007;22(2):73-82.
- Rajadhyaksha M, Gonzalez S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol* 1999;113(3):293-303.
- Huzaira M, Rius F, Rajadhyaksha M, Anderson RR, Gonzalez S. Topographic variations in normal skin, as viewed by in vivo reflectance confocal microscopy. *J Invest Dermatol* 2001;116(6):846-52.
- Busam KJ, Charles C, Lee G, Halpern AC. Morphologic features of melanocytes, pigmented keratinocytes, and melanophages by in vivo confocal scanning laser microscopy. *Mod Pathol* 2001;14(9):862-8.
- Curiel-Lewandrowski C, Williams CM, Swindells KJ, Tahan SR, Astner S, Frankenthaler RA, et al. Use of in vivo confocal microscopy in malignant melanoma: an aid in diagnosis and assessment of surgical and nonsurgical therapeutic approaches. *Arch Dermatol* 2004;140(9):1127-32.
- Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. In vivo assessment of melanocytic nests in nevi and melanomas by reflectance confocal microscopy. *Mod Pathol* 2005;18(4):469-74.
- Langley RG, Rajadhyaksha M, Dwyer PJ, Sober AJ, Flotte TJ, Anderson RR. Confocal scanning laser microscopy of benign and malignant melanocytic skin lesions in vivo. *J Am Acad Dermatol* 2001;45(3):365-76.
- Pellacani G, Cesinaro AM, Longo C, Grana C, Seidenari S. Microscopic in vivo description of cellular architecture of dermoscopic pigment network in nevi and melanomas. *Arch Dermatol* 2005;141(2):147-54.
- Pellacani G, Cesinaro AM, Grana C, Seidenari S. In vivo confocal scanning laser microscopy of pigmented Spitz nevi: comparison of in vivo confocal images with dermoscopy and routine histopathology. *J Am Acad Dermatol* 2004;51(3):371-6.
- Busam KJ, Hester K, Charles C, Sachs DL, Antonescu CR, Gonzalez S, et al. Detection of clinically amelanotic malignant melanoma and assessment of its margins by in vivo confocal scanning laser microscopy. *Arch Dermatol* 2001;137(7):923-9.
- Busam KJ, Charles C, Lohmann CM, Marghoob A, Goldgeier M, Halpern A. Detection of intraepidermal malignant melanoma in vivo by confocal scanning laser microscopy. *Melanoma Res* 2002;12(4):349-55.
- Tannous ZS, Mihm MC, Flotte TJ, Gonzalez S. In vivo examination of lentigo maligna and malignant melanoma in situ, lentigo maligna type by near-infrared reflectance confocal microscopy: comparison of in vivo confocal images with histologic sections. *J Am Acad Dermatol* 2002;46(2):260-3.
- Ahlgrimm-Siess V, Hofmann-Wellenhof R, Cao T, Oliviero M, Scope A, Rabinovitz HS. Reflectance confocal microscopy in the daily practice. *Semin Cutan Med Surg* 2009;28(3):180-9.
- Elgart GW. Seborrheic keratoses, solar lentiginos, and lichenoid keratoses. Dermatoscopic features and correlation to histology and clinical signs. *Dermatol Clin* 2001;19(2):347-57.
- Aghassi D, Anderson RR, Gonzalez S. Confocal laser microscopic imaging of actinic keratoses in vivo: a preliminary report. *J Am Acad Dermatol* 2000;43(1 Pt 1):42-8.
- Ulrich M, Krueger-Corcoran D, Roewert-Huber J, Sterry W, Stockfleth E, Astner S. Reflectance confocal microscopy for noninvasive monitoring of therapy and detection of subclinical actinic keratoses. *Dermatology* 2010;220(1):15-24.
- Ulrich M, Kanitakis J, González S, Lange-Asschenfeldt S, Stockfleth E, Roewert-Huber J. Evaluation of Bowen's disease by in vivo reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 2011;166(2):451-3.
- González S, Tannous Z. Real-time, in vivo confocal reflectance microscopy of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 2002;47(6):869-74.
- Saueremann K, Gambichler T, Wilmert M, Rotterdam S, Stücker M, Altmeyer P, et al. Investigation of basal cell carcinoma [correction of carcinoma] by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res Technol* 2002;8(3):141-7.
- Agero AL, Gill M, Ardigo M, Myskowski P, Halpern AC, González S. In vivo reflectance confocal microscopy of mycosis fungoides: a preliminary study. *J Am Acad Dermatol* 2007;57(3):435-41.
- Ardigo M, Cota C, Berardesca E, González S. Concordance between in vivo reflectance confocal microscopy and histology in the evaluation of plaque psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009;23(6):660-7.
- Wolberink EA, van Erp PE, Teussink MM, van de Kerkhof PC, Gerritsen MJ. Cellular features of psoriatic skin: imaging and quantification using in vivo reflectance confocal microscopy. *Cytometry B Clin Cytom* 2011;80(3):141-9.

35. Hui D, Ai-E X. The vascular features of psoriatic skin: imaging using in vivo confocal laser scanning microscopy. *Skin Res Technol* 2012. doi: 10.1111/j.1600-0846.2011.00606.x. [Epub ahead of print]
36. Astner S, Gonzalez E, Cheung A, Rius-Diaz F, González S. Pilot study on the sensitivity and specificity of in vivo reflectance confocal microscopy in the diagnosis of allergic contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2005;53(6):986-92.
37. Swindells K, Burnett N, Rius-Diaz F, González E, Mihm MC, González S. Reflectance confocal microscopy may differentiate acute allergic and irritant contact dermatitis in vivo. *J Am Acad Dermatol* 2004;50(2):220-8.
38. Hongcharu W, Dwyer P, Gonzalez S, Anderson RR. Confirmation of onychomycosis by in vivo confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2000;42(2 Pt 1):214-6.
39. Markus R, Huzaira M, Anderson RR, González S. A better potassium hydroxide preparation? In vivo diagnosis of tinea with confocal microscopy. *Arch Dermatol* 2001;137(8):1076-8.
40. González S, Rajadhyaksha M, González-Serva A, White WM, Anderson RR. Confocal reflectance imaging of folliculitis in vivo: correlation with routine histology. *J Cutan Pathol* 1999;26(4):201-5.
41. Liu H, Chen S, Zhang F, Shi B, Shi Z, Zhang D, et al. Seborrheic keratosis or verruca plana? A pilot study with confocal laser scanning microscopy. *Skin Res Technol* 2010;16(4):408-12.
42. Ardigo M, Malizewsky I, Dell'anna ML, Berardesca E, Picardo M. Preliminary evaluation of vitiligo using in vivo reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21(10):1344-50.
43. Sauermann K, Jaspers S, Koop U, Wenck H. Topically applied vitamin C increases the density of dermal papillae in aged human skin. *BMC Dermatol* 2004;4(1):13.
44. Prow TW, Wurm E, Longo C, Curchin C, Soyer HP, Pellacani G. In-vivo assessment of chronological ageing and photoageing in forearm skin using reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 2012. doi:10.1111/j.1365-2133.2012.10943.x. [Epub ahead of print]
45. Chen CS, Elias M, Busam K, Rajadhyaksha M, Marghoob AA. Multimodal in vivo optical imaging, including confocal microscopy, facilitates presurgical margin mapping for clinically complex lentigo maligna melanoma. *Br J Dermatol* 2005;153(5):1031-6.
46. Torres A, Niemeyer A, Berkes B, Marra D, Schanbacher C, González S, et al. 5% imiquimod cream and reflectance-mode confocal microscopy as adjunct modalities to Mohs micrographic surgery for treatment of basal cell carcinoma. *Dermatol Surg* 2004;30(12 Pt 1):1462-9.