



Oküler Alerjide İn Vivo Konfokal Mikroskopinin Yeri

The Role of In Vivo Confocal Microscopy in Ocular Allergies

© Cem Şimşek¹, © Takashi Kojima², © Murat Doğru²

¹Muğla Sırtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

²Keio Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Tokyo, Japonya

Öz

İn vivo konfokal mikroskopi (İVKM), kornea ve konjonktivanın tabakalarını gerçek zamanlı olarak görselleştirmek için kullanılan invaziv olmayan bir görüntüleme tekniğidir. Atopik keratokonjunktivitli (AKK) ve vernal keratokonjunktivitli (VKK) hastalarda bu teknoloji, hastalığın teşhis edilmesi ve izlenmesinin yanı sıra tedavilerin etkinliğinin değerlendirilmesinde de yararlı olabilmektedir. Konfokal mikroskopi, AKK'nin ve vernal konjunktivitinin patogenezi hakkında bilgi sağlayabilen, bununla birlikte, enflamatuvar hücre infiltratları ve doku hasarı gibi kornea ve konjunktival epiteldeki subklinik anormallikleri ortaya koyabilen bir tekniktir. AKK'de İVKM ile konjunktivada papilla çevresinde değişiklikler, kornea epitelinde punktat defektler çevresinde enflamatuvar hücreler, subbasal sinir morfolojisi değişiklikleri, meibomian bezinde goblet hücrelerinde ve kapaklarda başta fibrozis olmak üzere bozulmalar gözlenmektedir. VKK'de ise korneadaki yüzeysel epitel hücrelerinin çaplarında, parlaklıklarında ve çekirdek/sitoplazma oranlarında değişiklikler görülebilmektedir. Bu nedenle, AKK ve VKK'de İVKM kullanımı, hastalığın erken teşhisine ve tedavisine yardımcı olabileceği gibi, altta yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına da katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: Atopik keratokonjunktivit, vernal keratokonjunktivit, in vivo konfokal mikroskop, kornea, konjunktiva, meibomian bezler

Abstract

In vivo confocal microscopy (IVCM) is a non-invasive imaging technique used to visualize the layers of the cornea and conjunctiva in real time. In patients with atopic keratoconjunctivitis (AKC) and vernal keratoconjunctivitis (VKC), this technology can be useful in diagnosing and monitoring the disease, as well as evaluating the efficacy of treatments. IVCM can reveal subclinical abnormalities in the corneal and conjunctival epithelium such as inflammatory cell infiltrates and tissue damage, which can provide insight into the pathogenesis of AKC. In AKC, IVCM reveals changes around the conjunctival papillae, inflammatory cells around punctate defects in the corneal epithelium, changes in subbasal nerve morphology, and deteriorations in the goblet cells in the meibomian gland are observed. In VKC, alterations can be observed in the diameter, brightness and nucleus/cytoplasm ratio of the superficial epithelial cells in the cornea. The use of IVCM in AKC and VKC can therefore aid in the early detection and management of the disease, as well as contribute to a better understanding of its underlying mechanisms.

Keywords: Atopic keratoconjunctivitis, vernal keratoconjunctivitis, in vivo confocal microscopy, cornea, conjunctiva, meibomian glands

Giriş

Atopi kelimesi, kalıtsal olarak alerjik hastalık geçmişi olan kişilerde yaygın ev veya çevre alerjenlerine yönelik aşırı duyarlılığı tanımlar. Atopik hastalıklar genel popülasyonun %5 ile %20'sinde mevcuttur.¹ Bronşiyal astım, alerjik rinit, atopik dermatit ve oküler alerjik bozukluklar, alerjik kişilerin en sık karşılaştıkları durumlar arasındadır. Son araştırmalar, bu atopik hastalıkların çocuk ve ergenlerde yaşam boyu yaygınlık oranının %24 ile %45 arasında değiştiğini göstermektedir.² Atopik dermatit tek başına Amerika Birleşik Devletleri'nde nüfusun yaklaşık %3'ünü etkilerken, Japonya'da bu oran yaklaşık %8 gibi daha yüksek bir oranda görülmektedir.³

Atopik dermatitte oküler tutulum hastaların %25 ila %40'ında görülmektedir. Bu hastalığın en şiddetli oküler yüzey tutulumu atopik keratokonjunktivit (AKK) şeklindedir. AKK hastaları, göz kapaklarında tipik egzama ve keratinizasyon başta olmak üzere, skatrisyel konjunktivit, şiddetli yüzeysel punktat

Cite this article as: Şimşek C, Kojima T, Doğru M. The Role of In Vivo Confocal Microscopy in Ocular Allergies. Turk J Ophthalmol. 2024;54:344-353

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Murat Doğru, Keio Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Tokyo, Japonya
E-posta: muratodooru2005@yahoo.co.jp
ORCID-ID: orcid.org/0000-0003-1487-2435
Geliş Tarihi/Received: 20.02.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 21.10.2024

DOI: 10.4274/tjo.galenos.2024.49769



keratopati, korneal neovaskularizasyon, incelme, ülserasyon ve perforasyona kadar değişen bulgular ile başvururlar (Tablo 1).^{4,5,6,7}

Oküler alerji ise çevresel alerjenlere karşı göz eklerinin aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucunda göz yüzeyinde meydana gelen enflamatuvar reaksiyon olarak tanımlanır. Mevsimsel ve pereniyal alerjik konjonktivit %6-%30 oranında görülen en sık formudur.⁸ Alerjinin patofizyolojisinin anlaşılması, tanı ve tedavisini optimize edilebilmesi için gereklidir. Korneal ve konjonktival dendritik hücreler oküler alerjinin patofizyolojisinin

anlaşılmasında kritik öneme sahip olan hücrelerdir.⁸ Oküler alerjik enflamasyonda dendritik hücrelerin fonksiyonuna ilişkin bilginin artırılmasının, yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir. Yapılan in vivo konfokal mikroskopi (İVKM) çalışmalarında alerjik konjonktiviti olan hastaların, kontrol grupları ile karşılaştırıldıklarında kornea ve konjonktivada dendritik hücre yoğunluğunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir.^{8,9} Yine bu hastalarda daha büyük hücre gövdelerine sahip ve aynı zamanda daha uzun dendritli hücrelerin olduğu gösterilmiş bu da korneada dendritik hücrelerin daha fazla antijen yakalama kapasitesine sahip olduğunu gösterilmiştir.⁹ Sonuç olarak alerjik konjonktivitte kornea ve konjonktival dendritik hücre yoğunluğunda ve morfolojisinde değişiklik görülmüştür.^{8,9} Bu bulgular oküler yüzey immünolojik tepkisinin alerjik konjonktivitte arttığını göstermektedir (Tablo 2).^{8,9}

AKK, sistemik atopik dermatit ile ilişkili oküler yüzeyin bilateral kronik aşırı duyarlılık hastalığıdır. Oküler enflamasyon süreci ve alerjik mediatörlerin oküler yüzeye ve gözyaşı filmine salınmasının, keratokonus, herpetik keratit, yüzeyel punktat keratit, makroerozyonlar, korneal ülserasyon, plak oluşumu, kuru göz hastalığı, korneal neovaskularizasyon ve lipit infiltrasyonu dahil olmak üzere çok çeşitli klinik kornea belirtilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir.¹⁰ Daha önce yapılan bir çalışmada atopik dermatiti olan hastalarda oküler yüzey bozukluğunun belirgin gözyaşı filmi dengesizliği, goblet hücre kaybı, konjonktival skuamöz metaplazi ve azalmış kornea duyarlılığı ile karakterize olduğunu bildirilmiştir.¹⁰

İVKM, korneanın hücresel düzeyde incelenmesine olanak tanıyan girişimsel olmayan bir görüntüleme yöntemi olup hem sağlıklı kornealarda hem de birçok hastalığın ayırıcı tanısı ve takibinde sıklıkla kullanılmaktadır. İVKM ile kuru göz hastalığı, diyabet, *Akantamoeba* keratiti, enfeksiyöz kornea ülserleri, herpetik keratit, keratokonus, yaşlanma, kontakt lens kullanımı ve refraktif cerrahi prosedürlerdeki patolojik değişikliklerin değerlendirilebilmesi mümkündür.^{11,12,13,14,15,16,17,18,19,20} İVKM'nin klinikte kullanımının artmasıyla birlikte, sağlıklı ve patolojik korneadaki korneal subbazal sinirlerin ve immün/enflamatuvar (dendritik) hücrelerin yüksek çözünürlükteki görüntüleri elde edilebilmektedir.¹²

Tablo 1. Atopik dermatitli hastalarda göz bulguları		
Klinik bulgular	Göz sayısı	%
Kapaklar		
Egzama	476	65,7
Trikiazis	14	1,9
Ektropiyon	2	0,2
Konjonktiva		
Atopik keratokonjonktivit	489	65,7
Konjonktival papiller reaksiyon		
Üst tars	179	24,7
Alt tars	310	42,8
Kemosis	489	65,7
Hiperemi	489	65,7
Sembelfaron	2	0,2
Limbus		
Trantas noktaları	2	0,2
Kornea		
Yüzeysel punktat keratopati	489	65,7
Epitel defekti	9	1,2
Keratokonus	24	3,3
Periferel yeniden damarlanma	16	2,2
Gözyaşı filmi anormallikleri		
GFKZ <10 s	452	62,4
Schirmer testi <5 mm	407	56,2
GFKZ zamanı <10 s ve Schirmer testi <5 mm	242	33,4
GFKZ: Gözyaşı filmi kırılma zamanı		

Tablo 2. Alerjik (mevsimsel ve vernal) konjonktivit ile ilişkili konfokal mikroskop bulguları	
Bulgular	Açıklama
Korneal epitelin kalınlığında değişiklikler	Alerjik reaksiyonlarda korneal epitelin kalınlığı artabilir
Hücre infiltrasyonu	Epitelyal ve subepitelyal hücre infiltrasyonu (özellikle eozinofiller ve lenfositler) gözlemlenebilir
Yüzeysel keratopati	Kornea yüzeyinde düzensizlik, erozyon ve keratopati bulguları
Meibomian bezlerinin durumu	Meibomian bezlerinde genişleme veya atrofik değişiklikler
Papiller hiperplazi	Konjonktival papillalarda şişlik ve hiperplazi görülebilir
Subepitelyal kistik oluşumlar	Korneal epitel altında küçük kistik lezyonlar gözlemlenebilir
Stroma kalınlığında değişiklikler	Stromada ödem veya kalınlaşma gibi değişiklikler görülebilir
Bağlantı ve hücre düzensizliği	Epitelyal hücreler arasında normalden farklı bağlantılar ve düzen bozuklukları

Atopik Keratokonjonktivit Hastalarında Kornea Değişikliklerinin İn Vivo Konfokal Mikroskopi ile Değerlendirilmesi

AKK'nin herpetik keratit, keratokonus ve kuru göz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.^{15,21,22,23} Daha önce AKK hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada ise eşlik eden keratokonus olmamasına rağmen, bazal epitel hücrelerinde ve subbazal sinir yoğunluğunda azalma gibi bazı benzer morfolojik değişiklikler gözlenmiştir.²⁴

AKK'nin kısa gözyaşı filmi kırılma zamanı (GFKZ) tipi kuru gözler ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir.¹⁰ Pediatrik dönemlerinde şiddetli aktif atopik dermatiti olan hastaların, yetişkinlikte hala aktif deri hastalığı devam etmekteyse erişkin yaşta aköz eksiklik tipinde kuru göz hastalığına sahip olma ihtimali yüksektir.²⁵ Keratokonjonktivitis sikka'da bildirilen İVKM bulguları, yüzeysel epitel hücre yoğunluğunda bir artış veya duruma göre azalma, bazal epitel hücre yoğunluğunda azalma, sağlıklı kontrol gruba kıyasla daha az sayıda ve yoğunlukta subbazal sinir lifi ve sinir kıvrımlanma (tortuosite) artışıdır.^{26,27,28,29}

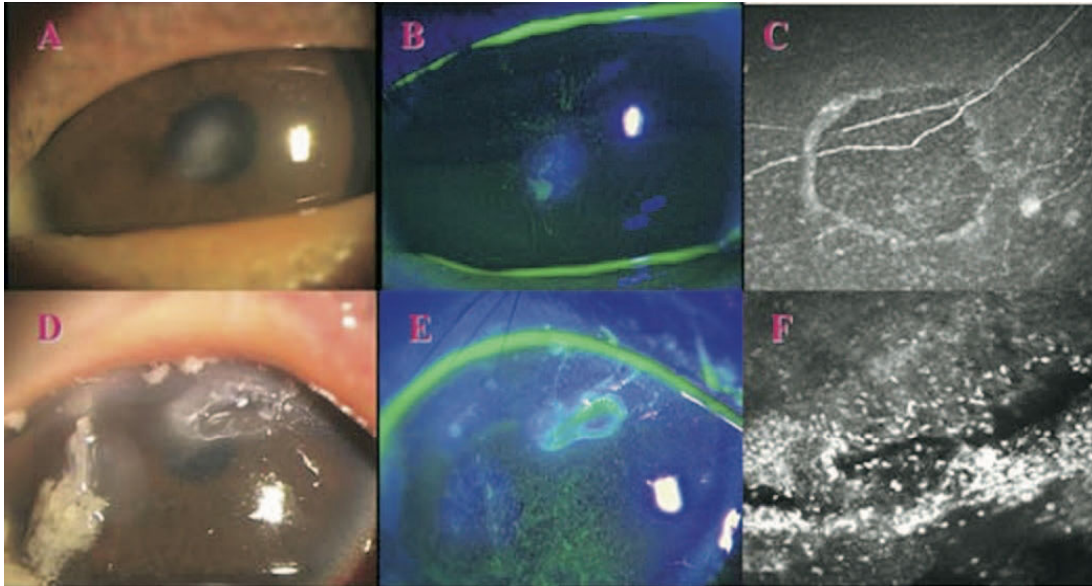
AKK hastaları üzerinde yapılmış bir çalışmada, aköz eksiklik tipi kuru göz olmamasına rağmen, benzer şekilde subbazal sinir yoğunluğunda azalma ve sinir kıvrımlarında artış (kontrol denekleriyle karşılaştırıldığında) gözlemlenmiştir.²⁴ Yine aynı çalışmada hastaların hiçbirinde keratokonus, kontakt lens kullanım hikayesi, herpetik göz hastalığı hikayesi, keratokonjonktivitis sikka, geçirilmiş oküler cerrahi veya başka herhangi bir oküler hastalık bulunmadığından, subbazal sinir yapısında gözlenen anormalliklerin öncelikle AKK ve

onunla ilişkili patofizyolojik mekanizmalarla ilgili olduğu düşünülmektedir (Şekil 1).²⁴

AKK hastalarında konfokal mikroskopide, sinir liflerinin Bowman tabakası yoluyla perforasyon bölgelerini veya sinir dejenerasyon bölgelerini temsil edebilen subbazal sinirlerin ani sonlanmaları görülebilmektedir.²⁴ Daha önce kuru göz ve diyabetik hastalarda bildirildiği gibi, AKK hastalarında da daha yüksek oranda spirallanma (loop) ve kıvrılma paternleri ile birlikte yüksek bir metabolik aktivite veya sinir rejenerasyonu görülebilir. Bu kadar yüksek metabolik aktivitenin, muhtemelen epitel seviyesinde gözlenen değişiklikleri onarmaya yönelik olduğu düşünülmektedir (Şekil 2).²⁴

Sadece subbazal sinir pleksusu değil, aynı zamanda stromal sinirlerde de anormal bir mimari görülebilmektedir.²⁴ Sapma ve çatallanma anormallikleri ile daha kalın stromal sinirler (muhtemelen ödem ve artan metabolik aktivite nedeniyle) gözlemlenmekte bu da sağlıklı bir stromal ortamı yeniden oluşturma girişimleri olarak düşünülmektedir. AKK'li hastalarda stromal sinirler sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında nispeten daha kalın, daha az reflektif ve kıvrımlı yapıda olmasının sebebi bu rejenerasyon prosesi olduğu düşünülmektedir.²⁴

Korneal sinir lifleri, kornea epitelini üzerinde trofik etkilere sahiptir ve sağlıklı bir oküler yüzeyin korunması için önemlidir.^{30,31,32} Korneal sinirlerin, önceki deneysel çalışmalarda gösterildiği gibi, nörotrofik özelliklere sahip kalsitonin geni ile ilişkili peptit ve P maddesi gibi nöropeptitleri ve nörotransmitterleri barındırdığı gösterilmiştir.^{33,34} Korneal sinir lifleri, epitel büyümesini, çoğalmasını, farklılaşmasını ve tip VII kolajen üretimini uyarıcı yayılabilir faktörleri serbest



Şekil 1. A-C) Atopik keratokonjonktivitli (AKK) 27 yaşındaki bir erkek hastanın ön segment fotoğrafları ve in vivo konfokal taramalı lazer mikroskopi görüntüsü. Merkezi kornea opaklığı (A), geniş yüzeysel punktat keratopati (B), skar dokusunu çevreleyen epitelin yüksek yansıtıcı düzensiz sınırları ve konfokal mikroskopide belirgin hale gelen intraepitelial sinir lifleri (C) görülmektedir. Schirmer test değeri 9 mm, gözyaşı filmi kırılma süresi 2 saniye ve kornea hassasiyeti 40 mm idi. D-F) AKK ve kornea ülseri olan 20 yaşındaki bir erkek hastanın ön segment fotoğrafları ve in vivo konfokal taramalı lazer mikroskopi görüntüsü. Oküler yüzeyde bol mukus akıntısı (D), ülserin pozitif floresan boyanması ve bozulmuş kornea epitelini (E) ile parasantral ülserasyon görülmektedir. Kornea ülserasyonunun üzerinden çekilen konfokal tarama görüntüsü, yaygın yuvarlak, yüksek oranda yansıtıcı enflamatuvar infiltratlar (F) gösterdi. Hastanın, Schirmer test değeri 7 mm, gözyaşı filmi kırılma süresi 0 saniye ve kornea hassasiyeti 25 mm idi.²⁴

bırakır.¹² Epitel hücreleri, nöronal büyüme faktörü ve nörotrofik etkiye sahip glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör gibi çözünebilir faktörler üretir.

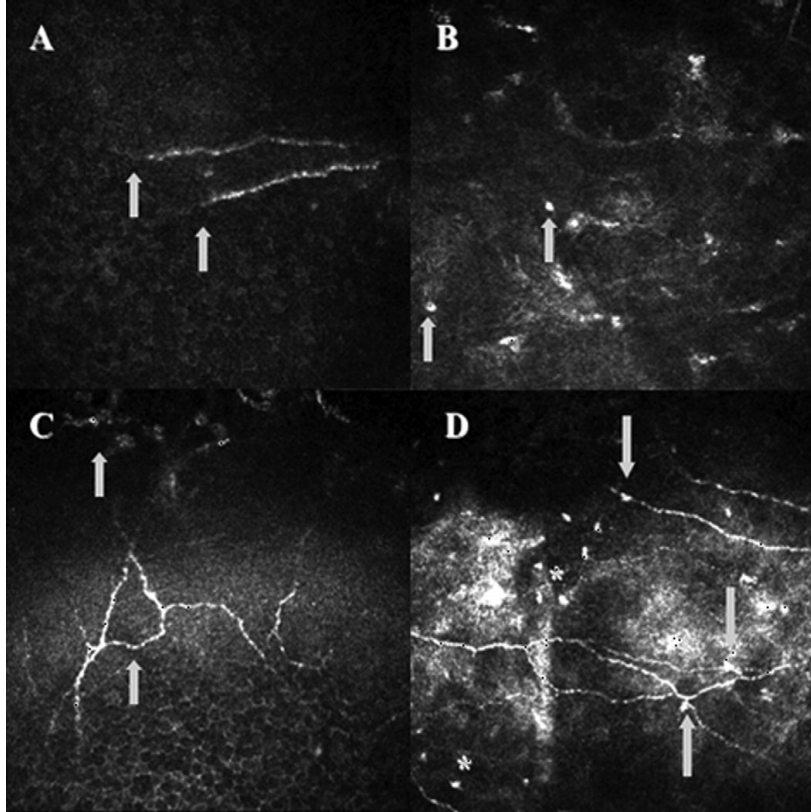
Kornea hassasiyeti ile bazal epitel hücre yoğunluğu ayrıca subbazal sinir yoğunluğu ile bazal epitel hücre yoğunluğu arasında anlamlı pozitif korelasyonlar gösterilmiştir, bunların tümü kornea sinirlerinin kornea epitelinde trofik bir etki uyguladığı iddiasını desteklemektedir.²⁴ Trofik etkinin kaybı, bazal epitel hücre yoğunluğunun azalmasına, daha yüksek oküler yüzey vital boyama skorlarına ve kornea ülserasyonuna yol açabilir.

Diğer önemli İVKM gözlemleri ise özellikle yaygın yüzeysel punktat keratopatili hastalarda ülser kenarları çevresinde ve subbazal sinirler ile stromal sinirlerin yakın çevresinde enflamatuvar infiltratların varlığıdır.²⁴ Bununla birlikte, daha yüksek enflamatuvar hücre yoğunluklarına sahip gözlerde kornea hassasiyetinin önemli ölçüde azaldığına dair önemli bulgular gösterilmiştir. Korneal uzun sinir liflerinin ve sinir dallanmalarının yoğunluğunun, İVKM taramalarında sağlıklı kontrol denekleriyle karşılaştırıldığında AKK hastalarında önemli ölçüde daha düşük olduğu bildirilmiştir.²⁴ İVKM ile, korneal subbazal ve stromal sinirlerin yakın çevresinde veya üzerinde çok sayıda enflamatuvar hücre olduğunu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir, bu da AKK'li hastalarda daha

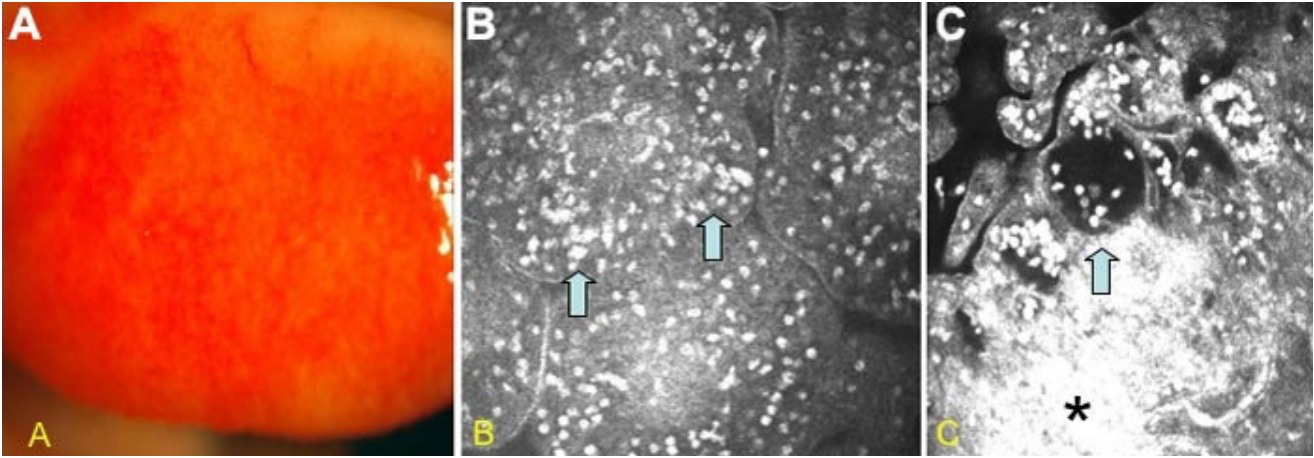
düşük kornea duyarlılık skorlarını ve daha şiddetli oküler yüzey enflamasyonunu açıklamaktadır.³⁵

Atopik Keratokonjonktivit Hastalarında Konjonktiva Değişikliklerinin İn Vivo Konfokal Mikroskopi ile Değerlendirilmesi

AKK hastalarının konjonktival değişikliklerinin hücresele düzeyde incelenmesi potansiyel olarak körlüğe neden olabilen atopik oküler alerjilerin patogenezi ve sonraki klinik görünümünü açıklamaya yardımcı olabilir. Histopatolojik olarak AKK'de tarsal konjonktival değişiklikler, bağ dokusunda hiperplazi, epitelde proliferatif ve dejeneratif değişiklikler, epitelde belirgin infiltrasyonlar ve substantia propriaada eozinofiller, lenfositler, mast hücreleri, makrofajlar, bazofiller, plazma ve dendritik hücrelerde artış olarak bildirilmiştir.³⁶ AKK'deki en önemli bulgulardan biri, jelatinimsi, sapsız papillalardan oluşan konjonktival bağ dokusunun aşırı büyümesidir. Konjonktivanın derin katmanlarında kolajen lifler papilla içinde fibröz bir yapı oluşturur. Kılcal damarların çoğalması ve vasküler neoformasyonlar papillaya vasküler destek sağlar (Şekil 3).³⁶ Papiller lezyonlarda konjonktival stromanın hiyalin dejenerasyonu da gözlenmiştir. Konjonktival biyopsiler gibi invaziv teknikler, birçok çalışmada bu tür kıymetli bilgilerin kaynağı olmuştur. Konjonktival enflamatuvar



Şekil 2. Atopik keratokonjonktivitli (AKK) hastalarda subbazal sinir pleksusunun in vivo konfokal taramalı lazer mikroskopi görüntüleri. A) Beyaz oklar, ani sonlanan uzun sinir liflerinin sayısındaki azalmayı göstermektedir. B) AKK'li bazı hastalarda subbazal sinir pleksusu izlenemedi. Beyaz oklar enflamatuvar hücreleri göstermektedir. C) Sinir lifleri gelişigüzel yönelmiş, dalgalı görünümde ve sık sık looplanma göstermektedir. D) Subbazal sinirler (oklar) üzerindeki reflektivitesi artmış enflamatuvar hücreler ve subbazal sinirlerin (beyaz yıldızlar) yakın çevresindeki çok sayıda enflamatuvar hücre görülmektedir.²⁴



Şekil 3. Yalnızca topikal steroid ve topikal anti-alerjik kullanan atopik keratokonjunktivitli bir hastadan konjunktival yarıklı lamba fotoğrafı ve in vivo konfokal mikroskopi (İVKM) görüntüleri. A) Yarıklı lamba fotoğrafı, tarsal konjunktivanın kiraz kırmızısı enjeksiyonunu göstermektedir. B) Papiller oluşumların yüzeyinde ki yoğun iltihaplanmanın İVKM görüntüleri (mavi oklar). C) Papilla formasyonundan daha derinlere inildikçe, hiperreflektif ödematöz alanlar (siyah yıldız) ve enflamatuvar infiltratlarla çevrili (mavi ok) boşluk alanlar (lakünler) görüldü.³⁶

hücre yoğunluğu ile oküler yüzey vital boyanmaları arasında anlamlı pozitif korelasyonlar ve ayrıca kornea duyarlılığı, gözyaşı stabilitesi ve enflamatuvar hücre yoğunluğu arasında anlamlı negatif korelasyonlar bildirilmiştir, tüm bunlar konjunktival enflamasyonun gözyaşı fonksiyonlarını olumsuz etkilediği ve oküler yüzey epitel hastalığına yol açtığı iddiasını desteklemektedir.^{36,37} Daha önce yapılan bir çalışmada AKK'li hastalarda GFKZ konjunktival goblet hücre yoğunluğu ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu gösterilmiştir.³⁸ Goblet hücrelerinin enflamasyona karşı çok duyarlı olduğu ve daha yüksek enflamasyon derecelerinde azaldığı bilinmektedir.^{39,40} Enflamatuvar hücre yoğunluğuna sahip hastaların daha düşük goblet hücre yoğunluğuna sahip olabileceği, bunun da daha düşük GFKZ skorlarına yol açtığı düşünülmektedir.⁴⁰ Zayıf bir korelasyon olmasına rağmen, daha yüksek konfokal enflamatuvar hücre yoğunluğuna sahip hastalarda önemli ölçüde daha düşük GFKZ olduğu görülmüştür.³⁵

Daha önce yapılan bir çalışmada, fırça sitoloji örneklerinde AKK'de yaygın oküler yüzey enflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu gösterilmiş ayrıca fırça sitoloji örneklerindeki enflamatuvar hücre sayılarının da kornea lezyonlarının ciddiyeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.^{41,42,43} İVKM gözlemleri ise konjunktival enflamasyonun oküler yüzey hastalığı sürecindeki rolünü doğruladı ve AKK'de farklı tedavi protokollerinin oküler yüzey üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesine ve karşılaştırmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (Şekil 4).³⁶

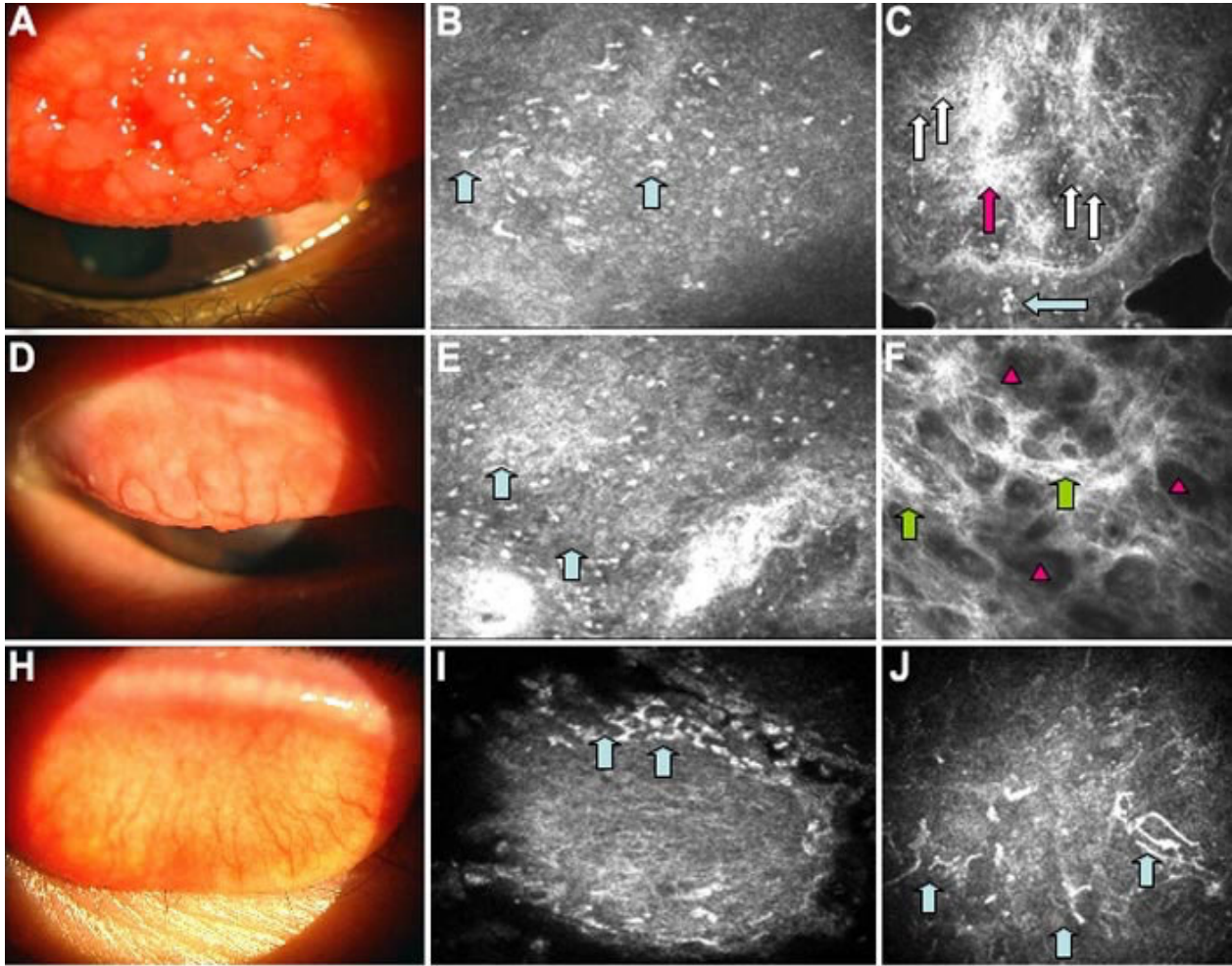
İVKM ile tarsal konjunktival papillaların mimarisi ve enflamasyon durumu hakkında dikkate değer gözlemler yapılmıştır.³⁶ Topikal siklosporin kullanmayan AKK hastalarında papilla yüzeyinde ve papilla içindeki laküner boşluklarda stromal ödem ile birlikte çok daha yaygın enflamatuvar hücre infiltratları

görülmüştür.³⁶ Topikal siklosporin kullanan hastalarda papillalarda, dendritik hücrelerde, vasküler looplarda ve laküner boşluklar çevresinde infiltratlarda belirgin azalma ile birlikte fibrotik yanıt gözlemlendi.³⁶ Papilla içindeki laküner morfoloji, yeniden şekillenme süreçleri sırasında kolajen rezorbsiyon alanları veya stromal dejenerasyon alanları görülmektedir (Şekil 5).³⁶

Vernal keratokonjunktivit (VKK) hastalarında da topikal siklosporin tedavisinin korneal mikro yapı üzerindeki etkileri incelenmiştir.³⁸ Konjunktiva ve kornea, VKK'den etkilenen gözün temel bileşenleri arasında yer alır ve tedavi sürecinde yapılan gözlemler, bu önemli yapılar üzerindeki değişiklikler hakkında değerli bilgiler sağlayabilir.³⁸ Topikal siklosporin ile tedavi edilen hastalarda, korneal mikro yapıda gözlemlenen değişiklikler, tedaviye yanıt ve hastalığın seyrinin değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olabilir. Bu tür bulguların derlenmesi, VKK'nin patofizyolojisi ve tedavi yaklaşımlarının gelişimine katkıda bulunarak, araştırmaların odak noktalarından biri haline gelmesine olanak tanıyacaktır. Özellikle, bu mikro yapısal değişikliklerin mekanizmasının anlaşılması ve tedavi süreçlerine entegre edilmesi, gelecekte daha etkili VKC yönetim stratejilerinin geliştirilmesine zemin hazırlayabilir.³⁸

Atopik Keratokonjunktivitli ve Vernal Keratokonjunktivitli Hastalarında Meibomian Bezi Disfonksiyonunun İn Vivo Konfokal Mikroskopi ile Değerlendirilmesi

Meibomian bezleri (MB), oküler yüzeye lipitler salgılar ve bu lipitler gözyaşı filminin dış tabakasını oluşturur. MB salgısı, gözyaşı filminin hızlı buharlaşmasını önler, kontaminasyonu önlemek için bir bariyer görevi görür ve yağlanma sağlayarak oküler yüzeyde göz kırpmalardan kaynaklanan sürtünmeyi azaltır.⁴⁵



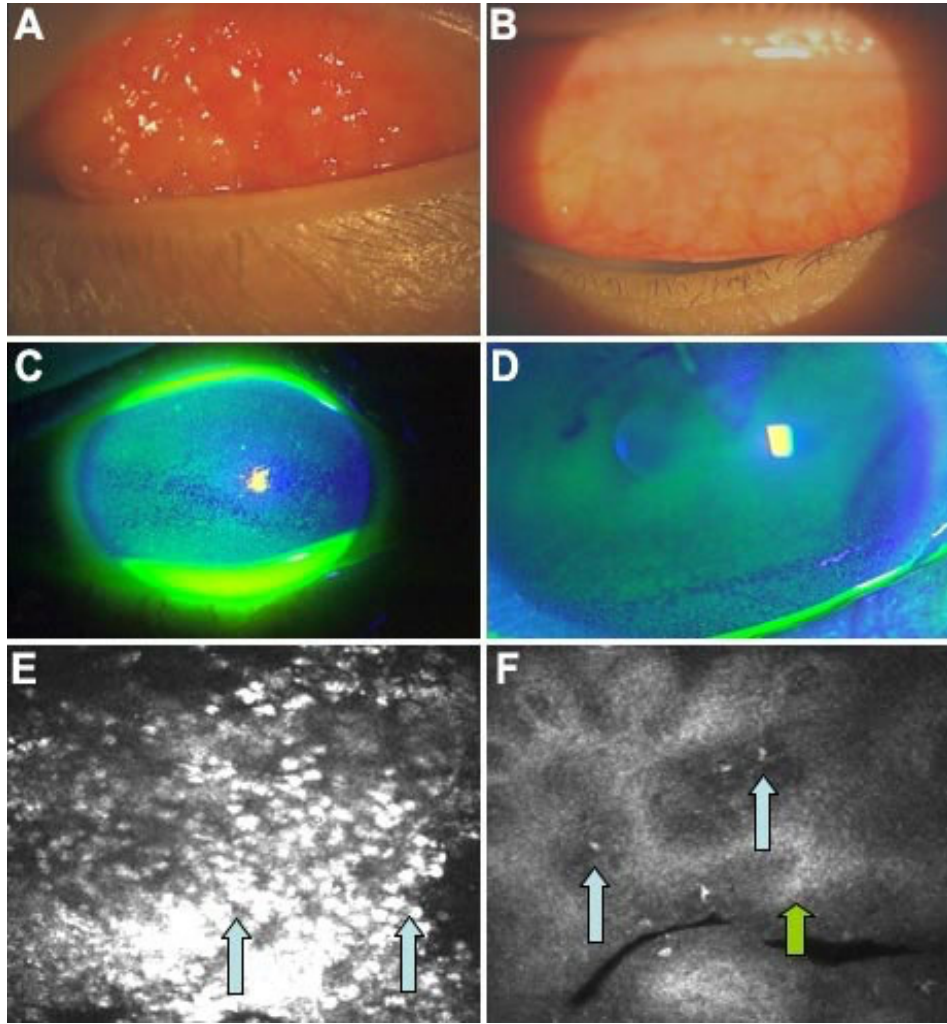
Şekil 4. Topikal siklosporin kullanan atopik keratokonjunktivitli (AKK) hastalardan konjunktival yarıklık lamba fotoğrafı ve in vivo konfokal tarama görüntüleri. Üst sıra: A) Yarıklık lamba fotoğrafı, tarsal konjunktivada enjeksiyon ve papiller hipertrofi görülmektedir. B) Konfokal görüntüler papiller oluşumların yüzeyinde daha az iltihaplanma gösterdi (mavi oklar). C) Papiller oluşumlardaki daha derin görüntülerde, fibrozis (pembe ok) ve vasküler neoformasyonlar (beyaz oklar) ile birlikte enflamatuvar hücreler görülmektedir. Orta sıra: Bu sıra, topikal siklosporin kullanan AKK'li başka bir hastanın konjunktival yarıklık lamba fotoğrafını ve in vivo konfokal tarama görüntülerini göstermektedir. D) Yarıklık lamba fotoğrafında, papiller hipertrofi ve konjunktival hiperemi. E) Konfokal görüntüler, papiller oluşumların yüzeyinde daha az iltihaplanma gösterdi (mavi oklar). F) Daha derin kesitler, enflamatuvar infiltratlar (pembe üçgenler) göstermeyen laküner boşluklarla birlikte geniş fibrozu (yeşil oklar) ortaya çıkardı. Alt sıra: Konjunktival yarıklık lamba fotoğrafı ve konfokal tarama görüntüleri başka bir AKK hastasından gösterilmektedir. H) Yarıklık lamba fotoğrafındaki konjunktival hiperemiye dikkat edin. Konfokal taramalar, papiller oluşumların (mavi oklar; I) ve dendritik hücrelerin (mavi oklar; J) yüzeyinin kenarlarında daha az iltihaplanma gösterdi.³⁶

İVKM'nin klinik kullanımının artmasıyla birlikte, oküler yüzeydeki patofizyolojik değişiklikler daha detaylı araştırılmaya başlandı. Yapılan çalışmalarda, asiner ünite yoğunluğu ve asiner ünite çapı gibi İVKM parametrelerinin, obstrüktif meibomian bezi disfonksiyonunda (MBD) glandüler atrofi ve asiner/duktal dilatasyon gibi histopatolojik değişiklikleri anlamada değerli olduğu bildirilmiştir.^{46,47} Bununla birlikte, periglandüler enflamatuvar hücre yoğunluğu, enflamatuvar obstrüktif MBD'yi enflamatuvar olmayan alt tiplerden ayırt edebilen başka bir İVKM parametresi olarak tanımlanmıştır.⁴⁶ Bu parametreler, MBD tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllük ile karakterize edilmiş ve oküler yüzey durumu ile iyi bir korelasyon göstermiştir.

AKK hastalarında konjunktival goblet hücre popülasyonunda azalma ile gözyaşı kalitesi ve miktarında bozulma olduğu

bildirilmiştir.⁴⁷ Bu hastalardaki gözyaşı filmi istikrarsızlığı, kısmen goblet hücre yoğunluğunun azalmasından kaynaklanan gözyaşı müsinlerindeki bozukluklara bağlandı.⁴⁷ İbrahim ve ark.⁴⁸ tarafından yapılan başka bir çalışmada ise AKK hastalarında daha fazla MB hasarı ve kapak kenarı değişiklikleri meydana geldiği için, gözyaşı filminin lipid tabakasındaki bozulmalar nedeniyle, gözyaşı stabilitesinin bozulmasına yol açtığı ve sonuç olarak oküler yüzey epitel hasarını şiddetlendirdiği düşünülmektedir. Yine aynı çalışmada İVKM incelemeleri sonucunda, MB'de ciddi derecede fibroz ve atrofi bununla birlikte MB asiner birimlerinin boyutunda ve yoğunluğunda bir azalma olduğu gösterilmiştir (Şekil 6).⁴⁸

Ayrıca MB asiner ünite atrofisi, MB hasarının değerlendirilmesinde kullanılabilecek yeni bir İVKM



Şekil 5. Atopik keratokonjunktivitli (8 hafta boyunca steroid ve antialerjik göz damllarına dirençli) bir hastanın, antialerjik ve steroid göz damllarına ek olarak topikal siklosporin damlları ile 8 haftalık tedavi öncesi ve sonrası ön segment fotoğrafları ve konfokal tarama görüntüleri. A, B) Papiller oluşumların gerilemesi ile tarsal konjunktival enjeksiyon ve ödemde belirgin azalma oldu. C, D) Siklosporin tedavisi ile kornea epitel hasarındaki değişimler görülmektedir. E, F) Papiller oluşumların yüzeyindeki (mavi oklar) konjunktival enflamatuvar hücre infiltratlarındaki dramatik düşüşü ve papiller oluşumlardaki fibrotik yanıtı (yeşil ok) göstermektedir.³⁶

parametresidir.⁴⁸ MB asiner birim alanı değerleri, AKK hastalarında obstrüktif MBD ve kontrol denekleriyle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.⁴⁸ Bununla birlikte, AKK hastalarında obstrüktif MBD ve normal kontrollerle karşılaştırıldığında periglandüler enflamatuvar hücre yoğunluğunda önemli bir artış görülmüştür.⁴⁸

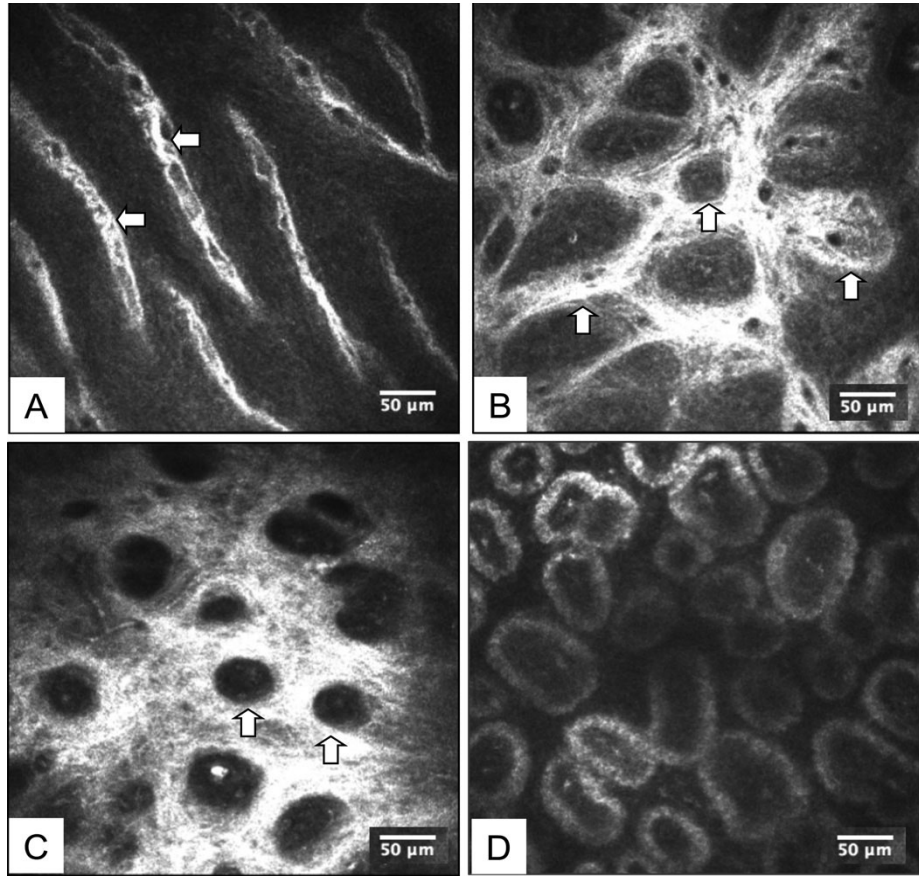
AKK hastalarında MB durumu, bir kısır döngü yoluyla enflamatuvar durumu artırarak gözyaşı filminin yapısında bozulmalara yol açabildiği için üzerinde dikkatlice durulması gerekir. İVKM ve kızılötesi meibografi teknolojileri kullanarak AKK ve VKK hastalarındaki MB durumundaki farklılıkları araştıran daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

VKK hastalarında yapılan incelemelerde ise her ne kadar meibomian orifislerinde tıkanıklık ve metaplazi gözlenmemiş olsa da, MB lümen ve konturlarında intralümenal hiperaktif katı madde gösterilmiştir.⁴⁹ Ek olarak MB'lerin çevresinde özellikle

de tarsal bölgelerde yaygın Langerhans hücreleri gözlenmiştir. Bu Langerhans hücrelerinin MB asiner ünite yoğunluğu ile yakından ilişkili olduğu ve bu hücreler tarafından başlatılan immünolojik enflamasyonun MB'lerine zarar vererek ortadan kaldırılabileceği düşünülmektedir.⁴⁹

Sonuç olarak, bu çalışmalarda kullanılan İVKM, AKK hastalarında meydana gelen kornea, konjunktiva ve MB yapısal ve fonksiyonel değişikliklerini aydınlatmak için kullanılabilen invaziv olmayan etkili bir yöntemdir (Tablo 3). Ayrıca İVKM, AKK'li hastalarda azalmış olan korneal sinir yoğunluğu ve dağılımı hakkında bilgi verebilir ve hastalığın ciddiyetini ve tedaviye yanıtı değerlendirmek için kullanılabilir.

Çalışmalar, İVKM'nin, AKK ve VKK'li hastalarda infiltratif hücreleri, dendritik hücreleri ve subepitelyal fibrozu belirlemeye yardımcı olabileceğini göstermiştir. Ek olarak, AKK için topikal ve sistemik tedavilerin etkilerini izlemek



Şekil 6. Sağlıklı bir denekle karşılaştırıldığında atopik keratokonjunktivit hastalarında meibomian bezinin (MB) değişikliklerinin in vivo konfokal mikroskopi görüntüleri. A) MB'nin doğrusal fibrozis çizgileri. B) MB'nin, atrofik kalıntılarını çevreleyen geniş fibrotik doku ile mimarisinin kaybı. C) MB ve yakın konjunktival dokularda gözlenen yoğun fibrotik değişiklikler. Beyaz oklar, MB'de fibroz alanlarını gösterir. D) Normal bir konumda MB asiner birimlerinin temsili görüntüsü.⁴⁸

için İVKM kullanılabileceğini göstermiştir.^{36,48} Böylelikle, farklı yaklaşımların etkinliğine ilişkin görüşler oluşmuş ve gerektiğinde ayarlamaların yapılmasına olanak sağlanmıştır.

Vernal Keratokonjunktivit Hastalarının İn Vivo Konfokal Mikroskopi ile Değerlendirilmesi

VKK, özellikle çocukları ve genç yetişkinleri etkileyen enflamatuvar bir göz hastalığıdır. Kaşıntı, kızarıklık ve aşırı yaşarma gibi belirtilerle karakterizedir.⁵⁰ VKK bağlamında kornea İVKM, kornea tutulumunun varlığı ve ciddiyetini değerlendirmede önemli bilgiler sağlayabilir.⁵⁰ Kornea yüzeyindeki epitel hücrelerin çaplarında, parlaklıklarında ve çekirdek/sitoplazma oranlarında anlamlı artış, bazal epitel hücre yoğunluğunda azalma, korneal subbazal sinir yoğunluğunda azalmanın yanı sıra stromal sinirlerin kalınlıklarında dallanmasında ve kıvrımlanmasında artış, ön stromada keratosit yoğunluğunda azalma ile birlikte aktif keratosit ve enflamatuvar hücre sayısında belirgin artış gibi yapısal değişikliklerin görselleştirilmesine yardımcı olabilir.^{50,51,52,53} Csorba ve ark.⁵² VKK'nin aktif olmadığı dönemlerde bile papiller hipertrofinin ciddiyeti paralel olarak yüksek yoğunlukta ve oldukça fazla

miktarda olgun fenotipte Langerhans hücrelerinin olduğunu gösterdiler. Bununla birlikte Langerhans hücrelerindeki değişiklikler, oküler semptomlar olmadan da sublinik bir inflamatuvar süreç olduğunu göstermiştir. İVKM görüntüleme tekniği, tanı koyma, hastalık şiddetini değerlendirme ve tedaviye yanıtın izlenmesi gibi konularda önemli bir araçtır.⁵³ Ayrıca, VKK'nin altında yatan patofizyolojinin anlaşılmasına katkıda bulunabilir. Aynı zamanda hastalar için rahatsız edici olabilecek kornea biyopsisi gibi geleneksel invaziv prosedürlere invaziv olmayan bir alternatif sunar.

Mevcut literatür değerlendirmeleri sonucunda, konfokal mikroskopinin gözün alerjik hastalıkları, özellikle VKK gibi durumlar üzerindeki etkilerini detaylı bir şekilde ortaya koyduğu görülmektedir. Bu görüntüleme yöntemi, korneal epitelin mikro yapısında meydana gelen değişiklikleri, hücresel infiltrasyonu ve dejeneratif süreçleri net bir şekilde gözlemleme imkanı sağlamaktadır. Konfokal mikroskopi sayesinde, alerjik hastalıkların seyri sırasında korneal hücrelerdeki morfolojik değişiklikler, bağışıklık yanıtları ve tedaviye yanıt gibi önemli parametreler daha iyi anlaşılmakta; bu da klinik uygulamalara yönelik yeni bakış açıları sunmaktadır. Sonuç olarak, konfokal

Tablo 3. Atopik keratokonjonktivitli hastalarda oküler yüzey in-vivo konfokal mikroskopi bulguları
Konjonktival değişiklikler
Papilla yüzeyinde ve papilla içindeki laküner boşluklarda stromal ödem
Papiller oluşumların yüzeyinde yoğun enflamatuvar hücreler
Papilla formasyonunun derinliklerinde hiperreflektif ödematöz alanlar
Papilla formasyonunun derinliklerinde enflamatuvar infiltratlarla çevrili boşluk alanlar (lakünler)
Papiller oluşumlardaki daha derin görüntülerde, fibrozis ve yeni vasküler oluşumlar
Goblet hücre popülasyonunda azalma
Korneal değişiklikler
Epitel
Punktat keratopati hastalarda ülser kenarları çevresinde enflamatuvar hücrelerin varlığı
Açığa çıkan intraepitelyal sinir lifleri
Epitel düzensizlikleri ile birlikte subepitelyal fibrozis
Sinirler
Subbazal sinir yoğunluğunda azalma
Sinir kıvrımlarında artış
Subbazal sinirlerin ani sonlanmaları
Yüksek oranda spirallanma (loop) ve kıvrılma paternleri
Stromal sinirlerde anormal mimari
Sapma ve çatallanma anormallikleri ile daha kalın stromal sinirler
Stroma
Stromal sinirlerin yakın çevresinde enflamatuvar infiltratların varlığıdır
Stromal bulanıklık
Stromal fibrozis
Meibomian bezi (MB) değişiklikleri
Kapak kenarı değişiklikleri
Ciddi derecede fibroz ve atrofi
MB asiner birimlerinin boyutunda ve yoğunluğunda azalma
Periglandüler enflamatuvar hücre yoğunluğunda artış

mikroskopi, alerjik göz hastalıklarının mekanizmalarını anlamada ve tedavi süreçlerinin değerlendirilmesinde önemli bir araç olarak değerlendirilmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, başta İVKM olmak üzere görüntüleme yöntemleri, AKK ve VKK'nin patolojisi hakkında daha derinlemesine bilgi edinmemizi sağlayarak, klinisyenlerin tedavi yaklaşımlarına yön vermektedir. Bu yöntemler, özellikle AKK ve VKK'nin tanı ve tedavisinde değerli bir araç olarak kabul edilmekte, hastalıkların daha iyi anlaşılmasına ve hastalara daha etkin bakım sunulmasına katkıda bulunmaktadır.

Beyan

Yazarlık Katkıları

Konsept: C.Ş., T.K., M.D., Dizayn: C.Ş., T.K., M.D., Veri Toplama veya İşleme: C.Ş., T.K., M.D., Analiz veya Yorumlama: C.Ş., T.K., M.D., Literatür Arama: C.Ş., T.K., M.D., Yazan: C.Ş., T.K., M.D.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Çalışmamız için hiçbir kurum ya da kişiden finansal destek alınmamıştır.

Kaynaklar

1. Dogru M, Nakagawa N, Tetsumoto K, Katakami C, Yamamoto M. Ocular surface disease in atopic dermatitis. *Jpn J Ophthalmol.* 1999;43:53-57.
2. Mortz CG, Lauritsen JM, Bindslev-Jensen C, Andersen KE. Prevalence of atopic dermatitis, asthma, allergic rhinitis, and hand and contact dermatitis in adolescents. The Odense Adolescence Cohort Study on Atopic Diseases and Dermatitis. *Br J Dermatol.* 2001;144:523-532.
3. Albert DM, Miller JW, Azar DT, Young LH. Albert & Jakobiec's principles and practice of ophthalmology. 4th ed. Springer; 2008.
4. Foster CS, Calonge M. Atopic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology.* 1990;97:992-1000.
5. Tuft SJ, Kemeny DM, Dart JK, Buckley RJ. Clinical features of atopic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology.* 1991;98:150-158.
6. Bacon AS, Tuft SJ, Metz DM, McGill JI, Buckley RJ, Baddeley S, Lightman SL. The origin of keratopathy in chronic allergic eye disease: a histopathological study. *Eye (Lond).* 1993;7(Pt 3 Suppl):21-25.
7. Roat MI, Ohji M, Hunt LE, Thoft RA. Conjunctival epithelial cell hypermitosis and goblet cell hyperplasia in atopic keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol.* 1993;116:456-463.
8. Tajbakhsh Z, Golebiowski B, Stapleton F, Alghamdi A, Gray PE, Altavilla B, Briggs N, Jalbert I. Increased dendritic cell density and altered morphology in allergic conjunctivitis. *Eye (Lond).* 2023;37:2896-2904.
9. Tajbakhsh Z, Golebiowski B, Stapleton F, Salouti R, Nowroozzadeh MH, Zamani M, Briggs N, Jalbert I. Dendritic cell density and morphology can be used to differentiate vernal keratoconjunctivitis from allergic conjunctivitis. *Biomolecules.* 2023;13:1469.
10. Dogru M, Okada N, Asano-Kato N, Tanaka M, Igarashi A, Takano Y, Fukagawa K, Shimazaki J, Tsubota K, Fujishima H. Atopic ocular surface disease: implications on tear function and ocular surface mucins. *Cornea.* 2005 24(8 Suppl):18-23.
11. Benítez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, Garcia-Sanchez J. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:3030-3035.
12. Rosenberg ME, Tervo TM, Immonen IJ, Müller LJ, Grönhagen-Riska C, Vesaluoma MH. Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:2915-2921.
13. Pfister DR, Cameron JD, Krachmer JH, Holland EJ. Confocal microscopy findings of Acanthamoeba keratitis. *Am J Ophthalmol.* 1996;121:119-128.
14. Labbe A, Dupas B, Bensoussan L, Baudouin C. Bilateral infectious ulcers associated with atopic keratoconjunctivitis. *Cornea.* 2006;25:248-250.
15. Rosenberg ME, Tervo TM, Müller LJ, Moilanen JA, Vesaluoma MH. In vivo confocal microscopy after herpes keratitis. *Cornea.* 2002;21:265-269.
16. Patel DV, McGhee CN. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in keratoconus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:1348-1351.

17. Erie JC, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. The effect of age on the corneal subbasal nerve plexus. *Cornea*. 2005;24:705-709.
18. Patel SV, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Confocal microscopy in vivo in corneas of long-term contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:995-1003.
19. Sonigo B, Iordanidou V, Chong-Sit D, Auclin F, Ancel JM, Labbé A, Baudouin C. In vivo corneal confocal microscopy comparison of intralase femtosecond laser and mechanical microkeratome for laser in situ keratomileusis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:2803-2811.
20. Guthoff RF, Stave J. In vivo micromorphology of the cornea: confocal microscopy principles and clinical applications. In: Reinhard T, Larkin D, eds. *Cornea and External eye disease. Essentials in Ophthalmology*. Springer Berlin: Heidelberg; 2006.
21. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res*. 2003;76:521-542.
22. Gabison EE, Alfonsi N, Doan S, Racine L, Sultan G, Baudouin C, Hoang-Xuan T. Archipelago keratitis: a clinical variant of recurrent herpetic keratitis? *Ophthalmology*. 2007;114:2000-2005.
23. Efron N, Hollingsworth JG. New perspectives on keratoconus as revealed by corneal confocal microscopy. *Clin Exp Optom*. 2008;91:34-55.
24. Hu Y, Matsumoto Y, Adan ES, Dogru M, Fukagawa K, Tsubota K, Fujishima H. Corneal in vivo confocal scanning laser microscopy in patients with atopic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 2008;115:2004-2012.
25. Onguchi T, Dogru M, Okada N, Kato NA, Tanaka M, Takano Y, Fukagawa K, Shimazaki J, Tsubota K, Fujishima H. The impact of the onset time of atopic keratoconjunctivitis on the tear function and ocular surface findings. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:569-571.
26. Benítez-Del-Castillo JM, Acosta MC, Wassfi MA, Díaz-Valle D, Gegúndez JA, Fernandez C, García-Sánchez J. Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:173-181.
27. Villani E, Galimberti D, Viola F, Mapelli C, Ratiglia R. The cornea in Sjogren's syndrome: an in vivo confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:2017-2022.
28. Zhang M, Chen J, Luo L, Xiao Q, Sun M, Liu Z. Altered corneal nerves in aqueous tear deficiency viewed by in vivo confocal microscopy. *Cornea*. 2005;24:818-824.
29. Erdélyi B, Kraak R, Zhivov A, Guthoff R, Németh J. In vivo confocal laser scanning microscopy of the cornea in dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;45:39-44.
30. 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;24:608-613.
31. Garcia-Hirschfeld J, Lopez-Briones LG, Belmonte C. Neurotrophic influences on corneal epithelial cells. *Exp Eye Res*. 1994;59:597-605.
32. Quadrado MJ, Popper M, Morgado AM, Murta JN, Van Best JA. Diabetes and corneal cell densities in humans by in vivo confocal microscopy. *Cornea*. 2006;25:761-768.
33. Reid TW, Murphy CJ, Iwahashi CK, Foster BA, Mannis MJ. Stimulation of epithelial cell growth by the neuropeptide substance P. *J Cell Biochem*. 1993; 52:476-485.
34. Lambiasi A, Manni L, Bonini S, Rama P, Micera A, Aloe L. Nerve growth factor promotes corneal healing: structural, biochemical, and molecular analyses of rat and human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:1063-1069.
35. Hu Y, Dogru M, Adan ES, Fukagawa K, Matsumoto Y, Tsubota K, Fujishima H. In vivo investigation of the cornea in atopic keratoconjunctivitis patients using confocal laser scanning microscopy. *Investigat Ophthal Vis Sci*. 2007;48:4018.
36. Hu Y, Adan ES, Matsumoto Y, Dogru M, Fukagawa K, Takano Y, Tsubota K, Fujishima H. Conjunctival in vivo confocal scanning laser microscopy in patients with atopic keratoconjunctivitis. *Mol Vis*. 2007;13:1379-1389.
37. Abelson MB. *Allergic Diseases of the Eye*. Saunders; 2001.
38. Modugno RL, Scalora T, Bonaldo A, Lazzarini D, Leonardi A. Corneal microstructural changes by confocal microscopy in vernal keratoconjunctivitis patients treated with topical cyclosporine. *Ocul Immunol Inflamm*. 2021;29:1599-1605.
39. Dogru M, Katakami C, Nakagawa N, Tetsumoto K, Yamamoto M. Impression cytology in atopic dermatitis. *Ophthalmology*. 1998;105:1478-1484.
40. Kinoshita S, Kiorpes TC, Friend J, Thoft RA. Goblet cell density in ocular surface disease. A better indicator than tear mucin. *Arch Ophthalmol*. 1983;101:1284-1287.
41. Simsek C, Dogru M, Shinzawa M, Den S, Kojima T, Iseda H, Suzuki M, Shibasaki Y, Yoshida N, Shimazaki J. The efficacy of 2% topical rebamipide on conjunctival squamous metaplasia and goblet cell density in dry eye disease. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2019;35:350-358.
42. Takano Y, Fukagawa K, Dogru M, Asano-Kato N, Tsubota K, Fujishima H. Inflammatory cells in brush cytology samples correlate with the severity of corneal lesions in atopic keratoconjunctivitis. *Br J Ophthalmol*. 2004;88:1504-1505.
43. Tanaka M, Dogru M, Takano Y, Miyake-Kashima M, Asano-Kato N, Fukagawa K, Tsubota K, Fujishima H. The relation of conjunctival and corneal findings in severe ocular allergies. *Cornea*. 2004;23:464-467.
44. Şimşek C, Doğru M, Kojima T, Tsubota K. Current management and treatment of dry eye disease. *Turk J Ophthalmol*. 2018;48:309-313.
45. Krachmer H, Mannis J, Holland J. *Seborrhea and meibomian gland dysfunction*. In: Driver PJ, Lempl MA, eds. *Cornea*, 2nd ed. Philadelphia; Elsevier-Mosby; 2005:485-491.
46. Matsumoto Y, Sato EA, Ibrahim OM, Dogru M, Tsubota K. The application of in vivo laser confocal microscopy to the diagnosis and evaluation of meibomian gland dysfunction. *Mol Vis*. 2008;14:1263-1271.
47. Dogru M, Matsumoto Y, Okada N, Igarashi A, Fukagawa K, Shimazaki J, Tsubota K, Fujishima H. Alterations of the ocular surface epithelial MUC16 and goblet cell MUC5AC in patients with atopic keratoconjunctivitis. *Allergy*. 2008;63:1324-1334.
48. Ibrahim OM, Matsumoto Y, Dogru M, Adan ES, Wakamatsu TH, Shimazaki J, Fujishima H, Tsubota K. In vivo confocal microscopy evaluation of meibomian gland dysfunction in atopic-keratoconjunctivitis patients. *Ophthalmology*. 2012;119:1961-1968.
49. Wei Q, Le Q, Hong J, Xiang J, Wei A, Xu J. In vivo confocal microscopy of meibomian glands and palpebral conjunctiva in vernal keratoconjunctivitis. *Indian J Ophthalmol*. 2015;63:327-330.
50. Leonardi A, Lazzarini D, Bortolotti M, Piliago F, Midena E, Fregona I. Corneal confocal microscopy in patients with vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology*. 2012;119:509-515.
51. Le Q, Hong J, Zhu W, Sun X, Xu J. In vivo laser scanning confocal microscopy of vernal keratoconjunctivitis. *Clin Exp Ophthalmol*. 2011;39:53-60.
52. Csorba A, Maneschg OA, Resch MD, Nagy ZZ. Examination of corneal microstructure in the quiescent phase of vernal keratoconjunctivitis using in vivo confocal microscopy. *Eur J Ophthalmol*. 2023;33:196-202.
53. Nebbioso M, Zicari AM, Lollobrigida V, Marengo M, Duse M. Assessment of corneal alterations by confocal microscopy in vernal keratoconjunctivitis. *Semin Ophthalmol*. 2015;30:40-43.