

Primer Konjenital Glokomlu Gözlerdeki Korneal Değişimlerin İn Vivo Konfokal Mikroskopi ile İncelenmesi

In Vivo Confocal Microscopy Analysis of Corneal Changes in Primary Congenital Glaucoma

Sevgi SUBAŞI¹, Nurşen YÜKSEL², Enes KESİM³

ÖZ

Amaç: Primer konjenital glokomlu (PKG) gözlerdeki korneal değişimlerin in vivo konfokal mikroskopi (İVKM) ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Glokom Departmanı'nda PKG tanısıyla takipli 8 hastanın 13 gözü çalışma kapsamına alındı ve 20 kontrol göz ile karşılaştırıldı. En iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EİDGK), santral korneal kalınlık (SKK), ön kamara derinliği (ÖKD), horizontal kornea çapı (HKÇ), aksiyel uzunluk (Aks) ve İVKM ile bazal epitelyal hücre, anterior ve posterior stromal keratosit ve endotel hücre dansiteleri ölçüldü. İVKM yapılabilmesini engelleyecek düzeyde skarlı kornealar çalışma dışı bırakıldı.

Bulgular: SKK, PKG grubunda $547.29 \pm 51.93\mu\text{m}$, kontrol grubunda $562.65 \pm 28.55\mu\text{m}$, ($p=0.301$) ve ÖKD, PKG grubunda $4.14 \pm 0.74\text{mm}$, kontrol grubunda $3.43 \pm 0.27\text{mm}$, ($p=0.005$) olarak ölçüldü. HKÇ, PKG grubunda istatistiksel anlamlı olarak yüksekti ($p<0.001$). İVKM değerlendirmesinde PKG grubunda bazal epitelyal hücre dansitesi 5582 ± 488 hücre/ mm^2 kontrol grubunda 6249 ± 531 hücre/ mm^2 ($p=0.003$), arka keratosit dansitesi PKG grubunda 338 ± 82 hücre/ mm^2 kontrol grubunda 486 ± 109 hücre/ mm^2 ($p=0.042$) ve endotel hücre dansitesi PKG grubunda 2203 ± 630 hücre/ mm^2 kontrol grubunda 3317 ± 551 hücre/ mm^2 olarak saptandı ($p<0.001$). Ön keratosit hücre dansitesinde gruplar arasında anlamlı bir değişim saptanmadı ($p=0.803$). Stromada anormal morfolojik yapıda sinir fibrilleri izlendi. Endotel hücrelerde pleomorfizm bazı buftalmik gözlerde dikkat çekiciydi.

Sonuç: Korneal tabakalardaki bu dansite azalması ve endotel hücrelerinde gösterilen pleomorfizm hastaların takibinde ve cerrahi kararı öncesinde akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Konfokal mikroskopi, konjenital glokom.

ABSTRACT

Purpose: To describe the clinical features and microstructural characteristics assessed by in vivo confocal microscopy (IVCM) in patients with primary congenital glaucoma (PCG).

Material and methods: Thirteen eyes of eight patients with clinically diagnosed PCG were enrolled and compared with twenty control corneas in Kocaeli University Medical Faculty Ophthalmology Clinic Glaucoma Department. Clinical parameters; best corrected visual acuity (BCVA), central corneal thickness (CCT), anterior chamber diameter (ACD), corneal diameter (WTW), axial length (Ax) and IVCM parameters; the cell density of basal epithelium, keratocytes and endothelium were compared with control corneas. The scarred corneas were excluded.

Results: CCT was measured as $547.29 \pm 51.93\mu\text{m}$ in the PCG group, $562.65 \pm 28.55\mu\text{m}$ in the control group ($p=0.301$) and ACD was measured as 4.14 ± 0.74 mm in the PCG group and $3.43 \pm 0.27\text{mm}$ in the control group ($p = 0.005$). There was statistically significant difference between groups in terms of WTW ($p<0.001$). Basal epithelial cell density was 5582 ± 488 cell/ mm^2 in PCG group and 6249 ± 531 cell/ mm^2 in control group ($p=0.003$). There were statistically significant difference in terms of posterior keratocytes and endothelial cell densities between PCG (338 ± 82 cell/ mm^2 , 2203 ± 630 cell/ mm^2 , respectively) and control groups (6249 ± 531 cell/ mm^2 , 3317 ± 551 cell/ mm^2 , respectively), ($p=0.042$, $p<0.001$, respectively). There was no significant change in anterior keratocyte cell density ($p=0.803$). Stromal nerve fibrils were observed in the abnormal morphological structure. Endothelial cell pleomorphism was notable in some buphthalmic eyes.

Conclusion: This diminished density in the corneal layers and pleomorphism in endothelial cells should be kept in mind following the patients and before the surgical decision.

Key Words: Confocal microscopy, congenital glaucoma.

- 1- Uz. Dr., Körfez Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları, Kocaeli, Türkiye
- 2- Prof. Dr., Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Göz Hastalıkları, Kocaeli, Türkiye
- 3- Asist. Dr., Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Göz Hastalıkları, Kocaeli, Türkiye

Geliş Tarihi - Received: 06.09.2017

Kabul Tarihi - Accepted: 21.03.2018

Glo-Kat 2018; 13: 70-74

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

Sevgi SUBAŞI

Körfez Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları, Kocaeli, Türkiye

Phone: +90 544 915 5893

E-mail: sevgiozel_5@hotmail.com

Primer konjenital glokom (PKG), CYP1B1 ve LTBP2 genlerinde mutasyonun gösterildiği çocukluk çağında görme azlığı yapan en önemli sebeplerden bir tanesidir.¹ Trabeküler ağ yapısının gelişimsel anomalisi sonucu oluşan bu tablo %65 oranında bilateralite göstermektedir. İlk bulguları epifora, lakrimasyon ve blefarospazm şeklinde olan bu tabloda yükselmiş göz içi basıncı kontrolsüz kaldığında globun genişlemesi, kornea tabakalarının incelenmesi, desme membranında çatlakların oluşumu (Haab striaları), korneal çap ve aksiyel uzunluk artışıyla karakterize buftalmus gelişimine, astigmatizma ve miyopiye kayışla birlikte ambliyopi gelişimine sebep olmaktadır.²⁻⁵ Artmış göz içi basıncının glob üzerinde yaptığı bu değişiklikler birçok çalışmada gösterilmiştir.

Korneal tabakaların in vivo olarak mikroskopik düzeyde görüntülenmesine fırsat veren in vivo konfokal mikroskop (İVKM) birçok korneal hastalığın bulgularının tespitinde kullanılmaktadır.⁶ Çalışmamızda PKG'a bağlı gelişmiş buftalmik gözlerin korneal değişimleriyle normal gözlerin korneal yapılarının karşılaştırılmasını amaçladık.

HASTALAR VE METOD

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Glokom Departmanı'nda PKG tanısıyla takipli 8 hastanın 13 gözü çalışma kapsamına alındı. Kontrol grubu olarak rutin poliklinik muayenesine gelen herhangi bir göz patolojisi saptanmamış aynı yaş grubundan 20 göz kullanıldı. Çalışma hastanemiz yerel etik kurulu tarafından onaylandı (GOKAEK-2017/11/7, 2017/230) ve çalışma süresince Helsinki Bildirisi kurallarına uyuldu. Tüm hastalara rutin oftalmolojik muayene yanında santral korneal kalınlık (SKK) ölçümü (Tomey Pachymeter SP 3000, Nagoya, Japan), ön kamara derinliği (ÖKD), horizontal kornea çapı (HKÇ), aksiyel uzunluk (Aks) ölçümleri (Carl Zeis IOL Master, 07740, Jero, Germany) yapıldı. İVKM (Heidelberg Retina Tomografi, Rostock Kornea modülü), cihazın kornea modülünde santral korneal kesitlerde manuel hücre sayım modu kullanılarak; bazal epitelyal hücre, ön (epitelyal tabaka bitiminden sonraki ilk kesitlerde keratosit çekirdekleri sayılarak) ve arka

(endotelyal tabakanın başlangıcından önceki son kesitlerde keratosit çekirdekleri sayılarak) stromal keratosit ve endotel hücre dansiteleri (hücre/mm²) ölçümü yapıldı.^{7,8} İVKM yapılabilmesini engelleyecek düzeyde skarlı kornealar çalışma dışı bırakıldı.

BULGULAR

PKG tanısıyla takipli 2 kız 6 erkek hastanın yaş ortalamaları 17.23±8.20 yıl iken kontrol grubunun yaş ortalaması 15.65±4.89 yıldır (p=0.539). 8 göze trabekülektomi, 3 göze Ahmed glokom valv implantasyonu uygulanmıştı. Takip edilen 13 gözden 10'unda (%77) antiglokomatöz damla kullanımına halen devam edilmekteydi. PKG grubunun EİDGK değerleri 0.1 ile 1.00 arasında seyretmekte ve ortalaması 0.47±0.32, kontrol grubunun EİDGK ortalaması 1.00 idi (p<0.001). 13 buftalmuslu gözden 5 tanesinde mikroskopik incelemede Haab striaları gözlenmekteydi, hastaların hiçbirinde anlamlı bir kornea ödemi ve korneal bulanıklık bulunmamaktaydı.

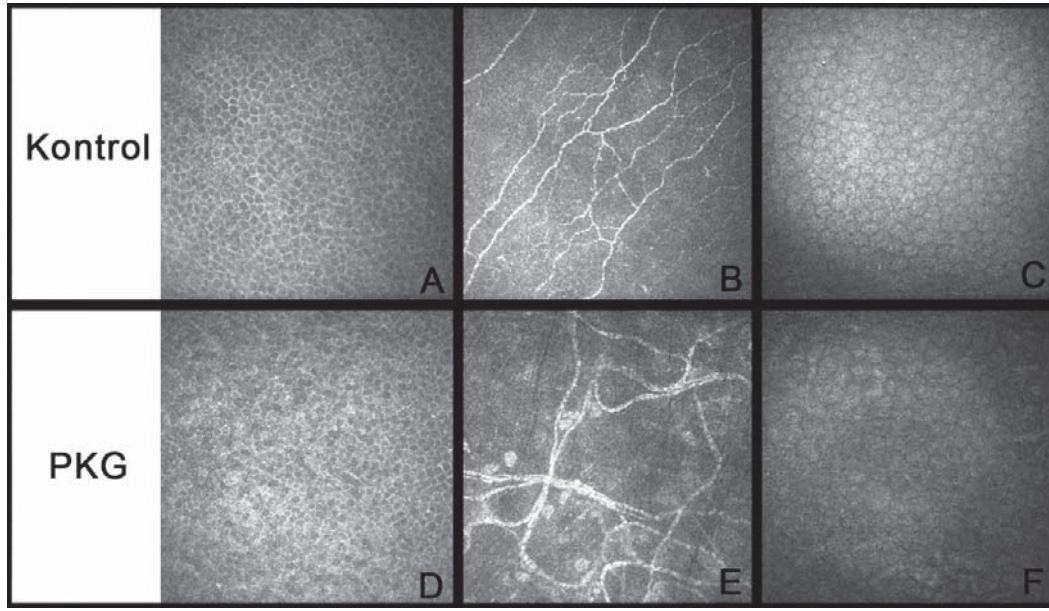
SKK, PKG grubunda (547±51.93µm) kontrol grubundan (562.65±28.55 µm) düşük olmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.301). ÖKD, PKG grubunda 4.14±0.74mm iken kontrol grubunda 3.43±0.27mm ölçüldü ve PKG grubunda istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.005). Kornea çapları PKG grubunda (13.69±1.13mm) kontrol grubundan (12.17±0.32mm) istatistiksel anlamlı düzeyde yüksekti (p<0.001), (Tablo 1).

İVKM değerlendirmede bazal epitelyal hücre dansitesi PKG grubunda 5582±488 hücre/mm² kontrol grubunda 6249±531 hücre/mm² idi ve PKG grubunda istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu görüldü (p=0.003), (Resim 1A ve 1D). Ön keratosit dansitesi PKG grubunda 750±313 hücre/mm², kontrol grubunda 776±139 hücre/mm² olarak ölçüldü ve gruplar arasında anlamlı bir değişim gözlenmedi (p=0.803). Arka keratosit dansitesi PKG grubunda 380±158 hücre/mm² iken kontrol grubunda 486±109 hücre/mm² saptandı ve PKG grubunda istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu gözlendi

Tablo 1. Olguların demografik ve klinik özellikleri

	PKG grubu	Kontrol grubu	p değerleri
Yaş	17.23±8.20	15.65±4.89	0.539
EİDGK	0.47±0.32	1.00	<0.001
SKK	547.29±51.93	562.65±28.55	0.301
ÖKD	4.14±0.74	3.43±0.27	0.005
HKÇ	13.69±1.13	12.17±0.32	<0.001
Aks	25.86±3.31	23.17±0.57	0.013

EİDGK:En iyi düzeltilmiş görme keskinliği HKÇ: Horizontal kornea çapı (mm) ÖKD: Ön kamara derinliği (mm) SKK: Santral korneal kalınlık (µm) Aks: Aksiyel uzunluk (mm)



Resim 1. Kontrol grubundan epitel (A), subbazal pleksus (B) ve endotel (C) İVKM görüntüleri. PKG grubundan epitel (D), subbazal pleksus (E) ve endotel (F) İVKM görüntüleri.

($p=0.042$). Her iki grupta da arka keratosit dansiteleri ön keratosit dansitelerine göre belirgin olarak azalmıştı. Aynı zamanda sağlam kornealardan farklı olarak 4 buftalmik gözde stromada kalınlaşmış, dallanmalarını kaybetmiş ve kıvrımlanmış anormal morfolojik yapıda sinir fibrilleri izlendi (Resim 1B ve 1E). Endotelyal hücre dansitesinin PKG grubunda (2300 ± 687 hücre/ mm^2) kontrol grubuna (3317 ± 551 hücre/ mm^2) oranla istatistiksel anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$), (Tablo 2). Endotelyal hücre morfolojisi değerlendirildiğinde sağlam kornealardaki hegzagonal endotel hücre yapısına kıyasla bazı buftalmik gözlerde endotelyal hücre pleomorfizmi ve polimegatizmi dikkat çekiciydi (Resim 1C ve 1F). Mikroskopik incelemede Haab striaları görülen korneaların konfokal kesitlerinde bu alanlarda endotel görüntülemesi desme membran düzeylerinde çizgisel parlamalar nedeniyle zorlaşmıştı.

TARTIŞMA

PKG, otozomal resesif olarak kalıtım gösteren fakat toplumlardaki görülme sıklığı toplumsal yaşam ve akraba evlilikleriyle değişen bir glokom tipidir. PKG sıklığı Orta Asya ülkelerinde 1/2500 iken batılı toplumlarda 1/10.000 olarak

bildirilmektedir. Ülkemizde yüksek olan akraba evliliği oranları Turaçlı ve ark. tarafından %66, Suyugül ve ark. tarafından %66.6 ve Sarıcaoğlu tarafından ise %63 olarak tespit edilmiş ve bu yüksek oranlarında hastalığın ortaya çıkma olasılığını artırdığı bildirilmiştir.⁹⁻¹¹

Ön kamara sıvısının gelişimsel anomaliler nedeniyle dış akım bozukluğu PKG gelişimine neden olur ve primer tedavisi cerrahidir. Hastalığın tedavisinde kullanılan standart cerrahi yöntemler gonyotomi ve trabekülotomidir. Her iki yöntemde avantaj ve dezavantajları olmasının yanında başarı oranları %80 ve benzer olarak bildirilmektedir.¹²⁻¹⁵ Bu tedavilere yanıt vermeyen olgularda trabekülektomi veya glokom drenaj implant cerrahisi önerilmekte yanıt alınmazsa da siklodestrüktif prosedürler uygulanmaktadır.^{16,17}

PKG de trabeküler ağın gelişimsel anomalisi sonucu aköz drenajının bozulmasıyla başlayan süreç göz içi basıncının artışı ile elastik glob üzerinde genişleme etkisine, korneal çap ve aksiyel uzunluk artışıyla birlikte buftalmus gelişimine neden olarak PKG nin tipik bulgularını oluşturmaktadır.² PKG de klinik yanı sıra histopatolojik değişimleri inceleyen çalışmalar da mevcuttur.¹⁸ Konfokal mikroskopinin korneal

Tablo 2. Konfokal mikroskopi bulguları

Hücre dansiteleri (hücre/ mm^2)	PKG grubu	Kontrol grubu	p değerleri
Bazal epitel	5582±488	6249±531	0.003
Anterior stroma keratosit	750±313	776±139	0.803
Posterior stroma keratosit	380±158	486±109	0.042
Endotel	2305±687	3317±551	<0.001

incelemede in vivo şartlarda kullanılabilmesi buftalmusun korneal tabakalar üzerinde yaptığı değişimlerin incelenmesi açısından çok önemli bulgular vermiştir.⁷

Çalışmamızda buftalmik gözlerdeki kornea dokularının SKK ortalamalarının kontrol kornealardan istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte düşük olduğu görülmektedir. Literatür bilgileri de SKK değerlerinin konjenital glokomlu kornealarda düşük olduğu yönündedir.¹⁹ Endotelial hücre dansitesinin azalmış olduğu birçok çalışmada gösterilmiş olmakla birlikte belirgin ödem ve haze gelişmemiş gözlerde korneal kalınlığın normale göre azalmış olduğu bildirilmiştir.^{8,20} Çalışmamızda da endotelial hücre dansitesinde azalma olduğu, endotel hücrelerinde polimegatizm ve pleomorfizmin belirgin olduğu görülmüştür. SKK değerlerindeki bu azalma literatürde de bildirildiği üzere geçirilen cerrahi girişimlere veya buftalmusa bağlı oluşan mekanik gerilmelere bağlı olabilmektedir.^{7,21,22} Bu değişimlerin geçirilen cerrahiye sekonder travmaya veya buftalmusun oluşturduğu gerilme etkisine bağlı olup olmadığını araştırmak için daha homojen grupların karşılaştırıldığı geniş seri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda normal kornealarda saptadığımız bazal epitelyal hücre dansitesi sonuçları literatürdeki bazı çalışmalardan^{23,24} az olmakla birlikte aynı yaş grubunda yapılmış Gabriella ve ark.'nın⁸ çalışmalarıyla uyumlu saptanmış ve bu çalışmada belirtildiği gibi çalışmanın yapıldığı pediatrik yaş grubuna bağlı olduğu düşünülmüştür. Literatürde bazal epitelyal hücre dansiteleri glokomlu gözlerde yüksek saptanmakla birlikte bu durum prezervanli ilaç kullanımına bağlı azalmış süperfişyal epitel hücrelerinin uyarımı nedeniyle mitotik aktivitesi olan bazal epitelyal hücrelerdeki artış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.^{25,26} Çalışmamızda PKG grubunda literatürün aksine bazal epitelyal hücrelerde azalma gözlenmektedir. Bu değişimin limbusu içeren cerrahi girişimler, kullanılan prezervanli antiglokomatöz damlaların toksik etkisi ve mekanik gerimin oluşturduğu artmış ihtiyacın mitotik aktivitedeki artıştan fazla olması gibi sebeplerle oluşmuş olabileceğini düşünmekteyiz.

Keratosit dansitesi değerlendirmesi açısından bulgularımız literatür ile uyumludur.^{20,27} PKG'lu gözlerde yapılan çalışmalardaki keratosit değerlendirmelerine bakıldığında Mastropasqua ve ark. çalışmalarında orta ve arka stromal yüzeydeki keratosit miktarının azalmış olduğunu, stromada anormal sinir fibril morfolojisi görüldüğünü, desme seviyesinde endotele uzanan hiperreflektif yapının olduğunu ve endotelde yoğun bir pleomorfizm, polimegatizm ve hücre sayısında azalma saptandığını bildirmişlerdir.⁷ Gabriela ve ark. da çalışmalarında bu bulguları desteklemekle birlikte posterior stromal keratosit yoğunluğunu sağlıklı kornealardan farksız olarak bildirmişler.⁸ Çalışmamızda da ön keratosit yoğunluğu sağlıklı kornealardan farksız iken arka keratosit yoğunluğunun PKG'da azalmış olduğu, anormal yapıda

sinir fibrillerinin görüldüğü ve endotel hücre yoğunluğunda anlamlı azalma ve morfolojisinde değişim olduğu saptanmıştır. Korneal sinir liflerinin dansite uzunluk ve dallanma açısından değerlendirilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, konjenital glokomlu gözlerde kornea tabakasında konfokal mikroskopisi ile değerlendirilebilecek çok önemli değişimler oluşmaktadır. Bu değişimlerde uygulanan cerrahi girişimlerin, uzun dönem kullanılan topikal tedavilerin etkisinin yanında buftalmusun oluşturduğu gerilme etkisinin de büyük payı olduğu düşünülmüştür. Oluşan hücresel düzeydeki değişimlerin bu parametrelerden hangisinden daha çok etkilendiği kanaatine varabilmek için daha geniş çaplı homojen gruplardan oluşan çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR / REFERENCES

1. Khan A O. Genetics of primary glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2011 Sep;22:347-55.
2. Walton DS. Primary congenital open angle glaucoma: a study of the anterior segment abnormalities. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1979;77:746-68.
3. Tai TYT, Mills MD, Beck AD, et al. Central corneal thickness and corneal diameter in patients with childhood glaucoma. *J Glaucoma* 2006;15:524-8.
4. Lopes JE, Wilson RR, Alvim HS, et al. Central corneal thickness in pediatric glaucoma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2007;44:112-7.
5. Kargi SH, Koc F, Biglan AW, et al. Visual acuity in children glaucoma. *Ophthalmology* 2006;113:229-38.
6. Guthoff RF, Zhivov A, Stachs O. In vivo confocal microscopy, an inner vision of the cornea – a major review. *Clin Experiment Ophthalmol* 2009;37:100-17.
7. Mastropasqua L, Carpineto P, Ciancaglini M, et al. In vivo confocal microscopy in primary congenital glaucoma with megalocornea. *J Glaucoma* 2002;11:83-9.
8. Gabriela Mahelkov'a, Ale's Filou's, Milan Odehnal, et al. Corneal Changes Assessed Using Confocal Microscopy in Patients With Unilateral Buphthalmos. *Invest Ophthalmol* 2013;54:4048-53.
9. Turaçlı ME, Aktan SG, Şaylı BS, et al. Therapeutical and genetic aspects of congenital glaucomas. *Int Ophthalmol* 1992;16:359-62.
10. Suyugül Z, Tamçelik N. Konjenital glokomda pedigr analizi. *T Oft Gaz* 1995;25:296-300.
11. Sarıcaoğlu MS, Karakurt A, Kalaycı D, ve ark. Konjenital glokom olgularında cerrahi sonuçlarımız. *MN Oftalmol* 2004;11:19-23.
12. Tamçelik N, Ozkiris A. Long-term results of viscotrabeculotomy in congenital glaucoma: comparison to classical trabeculotomy. *Br J Ophthalmol* 2008;92:36-9.
13. Ünlü K, Çaça Z, Çakmak SS, ve ark. Konjenital glokomlu olgularda mitomisin C ile trabeküektomi. *MN Oftalmol* 2005;12:211-4.
14. Ozkiris A, Tamçelik N. Long-term results of trabeculectomy with different concentrations of mitomycin C in refractory developmental glaucoma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2005;42:97-102.

15. Mendicino ME, Lynch MG, Drack A, et al. Long-term surgical and visual outcomes in primary congenital glaucoma: 360 degrees trabeculectomy versus goniotomy. *J AAPOS* 2000; 4:205-10.
16. Arıttürk N, Özge G, Özge İ. Konjenital glokomun primer tedavisinde uygulanan cerrahi yöntemlerin karşılaştırılması. *MN Oftalmoloji* 1998;5:345-9.
17. Dureau P, Dollfus H, Cassegrain C, et al. Long term results of trabeculectomy for congenital galucoma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1998;35:198-202.
18. Thiagalingam S, Jakobiec FA, Chen T, et al. Corneal anomalies in newborn primary glaucoma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2009;46:241-4.
19. Guigou S, Coste R, Denis D. Central corneal thickness and endothelial cell density in congenital glaucoma. *J Fr Ophthalmol* 2008;31:509-14.
20. Gatziofufas Z, Labiris G, Stachs O, et al. Biomechanical profile of the cornea in primary congenital glaucoma. *Acta Ophthalmol* 2013;91:29-34.
21. Arnavielle S, Lafontaine PO, Bidot S, et al. Corneal endothelial cell changes after trabeculectomy and deep sclerectomy. *J Glaucoma* 2007;16:324-8.
22. Soro-Martínez MI, Villegas-Pérez MP, Sobrado-Calvo P, et al. Corneal endothelial cell loss after trabeculectomy or after phacemulsification IOL implantation and trabeculectomy in 1 or 2 steps. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248:249-56.
23. Mustonen RK, McDonald MB, Srivannaboon S, et al. Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy. *Cornea* 1998;17:485-92.
24. Patel DV, McGhee CNJ. Contemporary in vivo confocal microscopy of the living human cornea using white light and laser scanning techniques: a major review. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35:71-88.
25. Martone G, Frezzotti P, Tosi GM, et al. An in vivo confocal microscopy analysis of effects of topical antiglaucoma therapy with preservative on corneal innervation and morphology. *Am J Ophthalmol* 2009;147:725-35.
26. Pisella PJ, Pouliquen P, Baudouin C. Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preserved free glaucoma medication. *Br J Ophthalmol* 2002;86:418-23.
27. Yılmaz N, Uçakhan Ö, Kanpolat A. Evaluation of normal human corneal tissue by in vivo confocal microscopy. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2003;12:76-81.