

- vol 172, 112-118.
12. Anderson, C., NIMhurchu, C., Scott, D., et al. Triggers of subarachnoid hemorrhage: Role of physical exertion, smoking, and alcohol in the Australasian Cooperative Research on Subarachnoid Hemorrhage Study (ACROSS), Stroke, 2003, vol. 347, 1771-1776.
  13. Koton, S., Tanne, D., Bornstein, N.M., et al. Triggering risk factors for ischemic stroke a case-crossover study, Neurology, 2004, vol. 6311, 2006-2010.
  14. Rothwell PM, Warlow CP. Timing of TIAs preceding stroke: time window for prevention is very short. Neurology 2005;64:817-20.
  15. Giles MF, Rothwell PM. Risk of stroke early after transient ischaemic attack: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol 2007;6:1063-72.
  16. Chandratheva A, Mehta Z, Geraghty OC, et al. Population based study of risk and predictors of stroke in the first few hours after a TIA. Neurology 2009;72:1941-7.
  17. Rothwell PM, Giles MF, Chandratheva A, et al. Effect of urgent treatment of transient ischaemic attack and minor stroke on early recurrent stroke (EXPRESS Study): a prospective population-based sequential comparison. Lancet 2007;370:1432-42.
  18. Prabhakaran S, Silver AJ, Warrior L, et al. Misdiagnosis of transient ischemic attacks in the emergency room. Cerebrovasc Dis 2008;26:630-5.
  19. Josephson SA, Sidney S, Pham TN, et al. Higher ABCD2 score predicts patients most likely to have true transient ischaemic attack. Stroke 2008;39:3096-98.
  20. Amort M, Fluri F, Schafer J, et al. Transient ischaemic attack versus transient ischaemic attack mimics: frequency, clinical characteristics and outcome. Cerebrovasc Dis 2011;32:57-64.
  21. Merwick A, Albers GW, Amarenco P, et al. Addition of brain and carotid imaging to the ABCD2 score to identify patients at early risk of stroke after transient ischaemic attack: a multicentre observational study. Lancet Neurol 2010;9:1060-9.
  22. Warach S, Kidwell CS. The redefinition of TIA: the uses and limitations of DWI in acute ischaemic cerebrovascular syndromes. Neurology 2004;62:359-60.
  23. Ferro JM, Falcao I, Rodrigues G, et al. Diagnosis of transient ischemic attack by the nonneurologist. A validation study. Stroke 1996;27:2225-9.
  24. Martin PJ, Young G, Enevoldson TP, et al. Over diagnosis of TIA and minor stroke: experience at a regional neurovascular clinic. QJM 1997;90:759-63.
  25. Calanchini PR, Swanson PD, Gotshall RA, et al. Cooperative study of hospital frequency and character of transient ischaemic attacks. IV. The reliability of diagnosis. JAMA 1977;238:2029-33.
  26. Fisher CM. Late-life migrainous accompaniments—further experience. Stroke 1986;17:1033-42.
  27. Tentschert S, Wimmer R, Greisenegger S, et al. Headache at stroke onset in 2196 patients with ischemic stroke or transient ischemic attack. Stroke 2005;36:e1-3.
  28. Kaplan PW. Focal seizures resembling transient ischaemic attacks due to subclinical ischaemia. Cerebrovascular Dis 1993;3:241-3.
  29. Kerber KA, Brown DL, Lisabeth LD, et al. Stroke among patients with dizziness, vertigo, and imbalance in the emergency department: a population-based study. Stroke 2006;37:2484-7.
  30. Harrison M, Williams M. The diagnosis and management of transient global amnesia in the emergency department. Emerg Med J 2007;24:444-5.
  31. Stone J, Warlow C, Sharpe M. Functional weakness: clues to mechanism from the nature of onset. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012;83:67-9.
  32. Charidimou A, Law R, Werring DJ. Amyloid “spells” trouble. Lancet 2012;380:1620.
  33. Charidimou A, Peeters A, Fox Z, et al. Spectrum of transient focal neurological episodes in cerebral amyloid angiopathy: multicentre magnetic resonance imaging cohort study and meta-analysis. Stroke 2012;43:2324-30.
  34. Ueno Y, Tanaka A, Nakayama Y. Transient neurological deficits simulating transient ischemic attacks in a patient with meningioma—case report. Neurol Med Chir (Tokyo) 1998;38:661-5.
  35. Schulz UG, Rothwell PM. Transient ischaemic attacks mimicking focal motor seizures. Postgrad Med J 2002; 78:246-7.
  36. Baquis GD, Pessin MS, Scott RM. Limb shaking—a carotid TIA. Stroke 1985;16:444-8
  37. Tatemichi TK, Young WL, Prohovnik I, et al. Perfusion insufficiency in limb-shaking transient ischemic attacks. Stroke 1990;21:341-7.
  38. Persoon S, Kappelle LJ, Klijn CJ. Limb-shaking transient ischaemic attacks in patients with internal carotid artery occlusion: a case-control study. Brain 2010;133(Pt3): 915-22.
  39. Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. Stroke 1990;21:637-76.
  40. Wilson LK, Benavente OR, Woolfenden AR, et al. Spontaneous limb movements and posturing secondary to acute basilar artery occlusion: a potentially devastating seizure mimic. Pract Neurol 2014;14:42-4.
  41. Donnan GA, O'Malley HM, Quang L, et al. The capsular warning syndrome: pathogenesis and clinical features. Neurology 1993;24:957-62.
  42. V Nadarajan, R J Pery, J Johnson, D J Werring, Transient ischaemic attacks: mimics and chameleons, Pract Neurol 2014;14:23-31.
  43. A. Gregory Sorensen. Transient Ischemic Attack Definition, Diagnosis, and Risk Stratification. Neuroimaging Clin N Am. 2011 May ; 21(2): 303-313.
  44. BAQUIS G.D. et al. ,Limb Shaking — A Carotid TIA, Stroke Vol 16, No 3, 1985

## Η συνεστιακή μικροσκοπία του κερατοειδούς χιτώνα του οφθαλμού για τη διάγνωση της διαβητικής περιφερικής νευροπάθειας



Θεανώ Πενλίογλου

Θεανώ Πενλίογλου<sup>1</sup>, Νικόλαος Παπάνας<sup>1</sup>, Dan Ziegler<sup>2,3</sup>

**1.** Διαβητολογικό Κέντρο-Ιατρείο Διαβητικού Ποδιού, Β΄ Παθολογική Κλινική, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης **2.** Institute for Clinical Diabetology, German Diabetes Center at Heinrich Heine University, Leibniz Center for Diabetes Research, Düsseldorf, Germany **3.** Department of Endocrinology and Diabetology, Medical Faculty, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany

Υπεύθυνος επικοινωνίας

**Θεανώ Πενλίογλου,**

Διαβητολογικό Κέντρο-Ιατρείο Διαβητικού Ποδιού, Β΄ Παθολογική Κλινική, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη 68100, **τηλ. 25513 52528**

**email: theanopen@gmail.com**

### Περίληψη

Η ανάγκη για τη γρήγορη και έγκαιρη διάγνωση της διαβητικής περιφερικής νευροπάθειας (ΔΠΝ) παραμένει. Η συνεστιακή μικροσκοπία του κερατοειδούς χιτώνα του οφθαλμού (ΣΜΚΟ) αποτελεί νέα μη επεμβατική μέθοδο που συμβάλλει στην έγκαιρη διάγνωση αυτής της επιπλοκής σε εξειδικευμένα κέντρα, ανιχνεύοντας τις πρώτες μορφολογικές αλλοιώσεις των μικρών νευρικών ινών ήδη κατά τον πρώτο χρόνο του σακχαρώδους διαβήτη ή ακόμη και κατά τον προδιαβήτη. Μπορεί επίσης να εκτιμήσει τη σοβαρότητα της ΔΠΝ. Η ΣΜΚΟ παρουσιάζει ικανοποιητική διαγνωστική ευστοχία και επαναληψιμότητα. Επιτρέπει ακόμη την εκτίμηση της αναγέννησης των νευρικών ινών έπειτα από αποτελεσματικές θεραπευτικές παρεμβάσεις (μεταμόσχευση παγκρέατος ή εντατικοποίηση της αντιδιαβητικής αγωγής). Τέλος είναι χρήσιμη τόσο για τη διάγνωση της ΔΠΝ σε ειδικούς πληθυσμούς (π.χ. παιδιά και εφήβους) όσο και για τη μελέτη της φυσικής ιστορίας και πορείας αυτής.

**Λέξεις ευρητηριασμού:** διάγνωση, επιπλοκές, νευροπάθεια, σακχαρώδης διαβήτης, συνεστιακή μικροσκοπία του κερατοειδούς χιτώνα του οφθαλμού

### Corneal confocal microscopy of the human eye for the diagnosis of diabetic peripheral neuropathy

Theano Penlioglou<sup>1</sup>, Nikolaos Papanas<sup>1</sup>, Dan Ziegler<sup>2,3</sup>

**1.** Diabetes Centre-Diabetic Foot Clinic, Second Department of Internal Medicine, Democritus University of Thrace, University Hospital of Alexandroupolis, Greece **2.** Institute for Clinical Diabetology, German Diabetes Center at Heinrich Heine University, Leibniz Center for Diabetes Research, Düsseldorf, Germany **3.** Department of Endocrinology and Diabetology, Medical Faculty, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany

## Summary

There is still a need for fast and early diagnosis of diabetic peripheral neuropathy (DPN). Corneal confocal microscopy (CCM) of the human eye represents a new non-invasive modality, which contributes to the early diagnosis of this complication in specialised centres, detecting the first nerve fibre morphological changes as early as during the first year after diagnosis of diabetes mellitus or even during prediabetes. It can also assess the severity of DPN. CCM exhibits satisfactory diagnostic performance and reproducibility. Moreover, it enables the assessment of nerve fibre regeneration after efficacious therapeutic interventions (pancreas transplantation or intensification of antidiabetic treatment). Finally, it is useful both for the diagnosis of DPN in special populations (e.g. children and adolescents) and for the study of its natural history and course.

**Key words:** complications, corneal confocal microscopy, diabetes mellitus, diagnosis neuropathy

## Εισαγωγή

Η διαβητική νευροπάθεια (ΔΝ) ανήκει στις συχνότερες επιπλοκές του σακχαρώδους διαβήτη (ΣΔ)<sup>1,2</sup>. Εκδηλώνεται περίπου στο ένα τρίτο των ατόμων με ΣΔ τύπου 2 (ΣΔτ2), και στο ένα πέμπτο των ασθενών με ΣΔ τύπου 1 (ΣΔτ1)<sup>1-4</sup>. Οι κύριοι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν την πτωχή γλυκαιμική ρύθμιση, τη μεγάλη διάρκεια ΣΔ, την ηλικία, τη δυσλιπιδαιμία αλλά και το ύψος<sup>1-4</sup>.

Η ΔΝ αποτελεί ετερογενή παθολογική οντότητα, που μπορεί να επηρεάσει διάφορα τμήματα του νευρικού συστήματος<sup>4,5</sup>. Η κατηγοριοποίηση της μπορεί να γίνει βάσει της ανατομικής της κατανομής (περιφερική ή κεντρική, συμμετρική ή ασύμμετρη, εστιακή, πολυεστιακή ή διάχυτη), της κλινικής της πορείας (οξεία ή υποξεία), των χαρακτηριστικών της (επώδυνη ή μη επώδυνη, περιφερικού ή αυτόνομου νευρικού συστήματος, μικρών ή μεγάλων νευρικών ινών) και της παθοφυσιολογίας της<sup>1-5</sup>. Η πιο χαρακτηριστική μορφή είναι η διαβητική περιφερική νευροπάθεια (ΔΠΝ) (καλούμενη και άπω συμμετρική πολυνευροπάθεια, distal symmetric polyneuropathy, DSPN), η οποία τυπικά είναι αισθητικοκινητική, εξαρτώμενη από το μήκος, συμμετρική πολυνευροπάθεια<sup>1,2,5</sup>.

Η ΔΠΝ αποτελεί τη συχνότερη μορφή της ΔΝ: αντιπροσωπεύει το 75% της ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔτ1 και ΣΔτ2<sup>1-4</sup>. Νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε στάδιο του ΣΔ, συμπεριλαμβανομένου και του προδιαβήτη<sup>2,6,7</sup>. Η ΔΠΝ μπορεί να επηρεάσει τόσο μικρές όσο και μεγάλες νευρικές ίνες<sup>1-5</sup>. Συχνότερα εντοπίζεται στον άκρο πόδα, οδηγώντας σε νευροπαθητικά έλκη, οστεοαρθροπάθεια Charcot και άλλες εκδηλώσεις, αυξάνοντας τελικά τόσο τον αριθμό των ακρωτηριασμών, όσο και το κόστος νοσηλείας των ασθενών<sup>1-5</sup>.

## Συμπτωματολογία της ΔΠΝ

Η κλινική εικόνα της ΔΠΝ εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια<sup>1-4</sup>. Συνηθέστερα είναι ύπουλη και ασυμπτωματική<sup>1-4</sup>. Τα άτομα με ΣΔ χάνουν την προστατευτική αίσθηση του άλγους, της αφής και της θερμοκρασίας. Έτσι τα πόδια εκτίθενται σε επανειλημμένους τραυματισμούς, οι οποίοι δεν γίνονται αντιληπτοί<sup>1-5</sup>. Σε βαρύτερες περιπτώσεις επέρχεται και μυϊκή ατροφία, με προοδευτική διαταραχή της κατανομής των πιέσεων στο πέλμα, η οποία αποτελεί επιπλέον παράγοντα κινδύνου για τη δημιουργία εξελκώσεων στα πόδια<sup>1-5</sup>.

Σε άλλους ασθενείς εκδηλώνονται δυσάρεστα συμπτώματα<sup>1-5</sup>. Αυτά μπορεί να περιλαμβάνουν δυσαισθησίες, καυσalgίες, υπεραλγσία, αλλωδυνία και παραισθησίες, δηλαδή αιμωδίες, αίσθημα νυγμών ή αίσθημα σαν από ηλεκτροπληξία<sup>1,4,5</sup>. Άλλοτε πάλι περιγράφεται αίσθημα «νεκρών» κουρασμένων ποδιών<sup>1,4,5</sup>. Συχνά υπάρχει τυπική επιδείνωση κατά τις νυκτερινές ώρες ή κατά την ανάπαυση<sup>1,4,5</sup>.

## Κύριες αρχές διάγνωσης της ΔΠΝ

Η διάγνωση της ΔΠΝ είναι κυρίως κλινική και βασίζεται στη λήψη ιστορικού και στην κλινική εξέταση<sup>1-5</sup>. Η αναζήτηση πιθανής ΔΠΝ σε ασθενείς με ΣΔ πρέπει να γίνεται σε ετήσια βάση, ξεκινώντας από τον πρώτο χρόνο διάγνωσης στον ΣΔτ2 και πέντε χρόνια μετά τη διάγνωση του ΣΔτ1<sup>1,5</sup>. Σήμερα γίνεται δεκτό ότι ο διαγνωστικός έλεγχος πρέπει να πραγματοποιείται και στα άτομα με προδιαβήτη τα οποία εκδηλώνουν ύποπτα συμπτώματα<sup>1,2</sup>. Σε ύποπτα ΔΠΝ πρέπει πρώτα να αποκλεισθούν άλλα πιθανά αίτια, κυρίως συστηματικά, μεταβολικά, φλεγμονώδη, λοιμώδη και κληρονομικά νοσήματα<sup>1-5</sup>.

Στο ιστορικό αναζητούνται, αν υπάρχουν, τα τυπικά συμπτώματα που προαναφέρθηκαν<sup>1,4,5</sup>. Η κλινική εξέταση περιλαμβάνει

τον έλεγχο του αισθητικού και του κινητικού μηχανισμού<sup>1,4,5</sup>. Εξετάζεται η λειτουργία των μικρών αισθητικών ινών με τον έλεγχο της αντίληψης του άλγους (με αποστειρωμένη καρφίδα μιας χρήσης) και της θερμοκρασίας (κατά προτίμηση, με ειδικά ραβδία)<sup>1,4,5</sup>. Επίσης εξετάζεται η λειτουργία των μεγάλων αισθητικών ινών με τον έλεγχο της αντίληψης της αφής (με τολύπιο βάμβακος) και της παλαισθησίας (με βαθμονομημένο τονοδότη 128 Hz)<sup>1,4,5</sup>. Στη συνέχεια εξετάζεται η μυϊκή ισχύς και τα Αχίλλεια αντανακλαστικά<sup>1,4,5</sup>.

Σημαντικός είναι και ο επισκοπικός έλεγχος. Κατ' αυτόν αναζητούνται σημεία ΔΠΝ, όπως ξηρότητα του δέρματος των πελμάτων, ατροφία των μικρών μεσώστεων μυών στη ραχιαία επιφάνεια του ποδός, διάταση των φλεβών στη ραχιαία επιφάνεια του άκρου ποδός καθώς και τραυματισμοί, οι οποίοι είναι πιθανό να μην έχουν γίνει αντιληπτοί από τον ασθενή<sup>1,4,5</sup>.

Την εξέταση μπορούν να συμπληρώσουν δύο δοκιμασίες που εκτιμούν ακριβέστερα τον κίνδυνο ανάπτυξης νευροπαθητικού έλκους<sup>1,4,5</sup>. Πρόκειται για το μονοϊνίδιο 10 g (Semmes Weinstein monofilament, SWMF) και τη μέτρηση του ουδού αντίληψης των ηλεκτρικών δονήσεων (vibration perception threshold, VPT) με ειδική συσκευή (νευροθεσιόμετρο)<sup>1,4,5</sup>. Στα άτομα που δεν αντιλαμβάνονται την ελαφρά πίεση κατά την εφαρμογή του μονοϊνιδίου ή που παρουσιάζουν αυξημένο ουδό αντίληψης ηλεκτρικών δονήσεων (κυρίως VPT > 25 V) αυξάνεται σημαντικά ο κίνδυνος ανάπτυξης εξελκώσεων στα πόδια<sup>1,4,5</sup>.

Άλλες, πιο εξειδικευμένες εξετάσεις για τον έλεγχο της νευρικής λειτουργίας (π.χ. νευροφυσιολογικός έλεγχος) συνιστώνται σπάνια και πραγματοποιούνται κυρίως σε μη τυπικές μορφές, ασαφή διάγνωση ή ύποπτα άλλης αιτιολογίας<sup>1,5</sup>.

## ΔΠΝ: νεότερα διαγνωστικά μέσα

Τα τελευταία χρόνια έχει επιτευχθεί σημαντική εξέλιξη στα διαγνωστικά μέσα, προκειμένου η διάγνωση της ΔΠΝ να γίνεται με περισσότερη αξιοπιστία<sup>8,9</sup>. Κύρια τέτοια διαγνωστικά μέσα είναι το Neuropad, το Vibratip, το NC-Stat/DPN Check και η βιοψία δέρματος<sup>8-14</sup>.

**NC-Stat/DPN Check:** Είναι μία φορητή συσκευή για τον έλεγχο της αγωγιμότητας αποκλειστικά του γαστροκνημιαίου νεύρου<sup>10,11</sup>. Παρουσιάζει 90% ευαισθησία και 86% ειδικότητα στη διάγνωση της ΔΠΝ σε σχέση με την κλασική κλινική εξέταση που προαναφέρθηκε<sup>10</sup>.

**Vibratip:** Είναι μία φορητή συσκευή, η οποία εξετάζει την αντίληψη των δονήσεων στον άκρο πόδα<sup>12,13</sup>. Έχουν αναφερθεί υψηλή ευαισθησία (79-100%) και ειδικότητα (82-97%) για τη ΔΠΝ<sup>12,13</sup>.

**Neuropad:** Το Neuropad είναι ένα εξαιρετικά εύχρηστο επίθεμα με το οποίο ελέγχεται η έκκριση ιδρώτα στο πέλμα μέσω της χρωματικής αλλαγής του επιθέματος (από μπλε σε ροζ) εντός 10

λεπτών<sup>14</sup>. Παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία (65-100%) και υψηλή αρνητική προγνωστική αξία (63-100%) στη διάγνωση της ΔΠΝ [14]. Παρουσιάζει άριστη επαναληψιμότητα και βοηθά στην αυτοεξέταση αλλά και την εκπαίδευση των ατόμων με ΣΔ<sup>14</sup>.

**Βιοψία δέρματος:** Αξιολογεί κυρίως την πυκνότητα των εντός της επιδερμίδας νευρικών ινών (intra-epidermal nerve fibre density, IENFD) στο κάτω τριτημόριο της κνήμης ή στον άκρο πόδα<sup>15</sup>. Με ελάχιστο επεμβατικό τρόπο, λαμβάνεται μία μικρή ποσότητα δέρματος με αποστειρωμένο μιας χρήσης στυλεό βιοψίας (biopsy punch) 4 mm και εκτιμάται η μείωση της πυκνότητας των εντός της επιδερμίδας νευρικών ινών κατά την εξέταση του παρασκευάσματος<sup>15</sup>. Συμβάλλει αποφασιστικά στην πρόωπη διάγνωση της ΔΠΝ καθώς και στην ερευνητική δραστηριότητα σε αυτό το πεδίο. Μειονέκτημά της είναι ότι εφαρμόζεται μόνο σε εξειδικευμένα κέντρα<sup>15</sup>.

## Συνεστιακή Μικροσκοπία του Κερατοειδούς χιτώνα του Οφθαλμού: τι είναι;

Η συνεστιακή μικροσκοπία είναι μία τεχνική τρισδιάστατης οπτικής απεικόνισης, η οποία βασίζεται στον περιορισμό του φωτισμού και της παρατήρησης σε ένα μικρό σημείο του εξεταζόμενου αντικειμένου<sup>16-18</sup>. Για να επιτευχθεί αυτό, χρησιμοποιείται πολύ μικρό διάφραγμα στους οπτικούς άξονες του αντικειμενικού και του συγκεντρωτικού φακού<sup>16-18</sup>. Το μικροσκόπιο σαρώνει το εξεταζόμενο αντικείμενο με μια δέσμη φωτός, σχηματίζοντας πλήρη εικόνα και εξαλείφοντας παράλληλα το φως από περιφερικές δομές, εξασφαλίζοντας τελικά την αύξηση της αντίθεσης και την καλύτερη ευκρίνεια<sup>16-18</sup>.

Η συνεστιακή μικροσκοπία του κερατοειδούς χιτώνα του οφθαλμού (ΣΜΚΟ) (διεθνώς corneal confocal microscopy, CCM) είναι μία μη επεμβατική μέθοδος μικροσκοπίας του οφθαλμού και προσφέρει τη δυνατότητα απεικόνισης των μικροσκοπικών δομών του κερατοειδούς και αξιολόγησης των μικρών νευρικών ινών αυτού<sup>16-18</sup>. Λόγω της βασικής της αρχής, δηλαδή της επικέντρωσης του φωτός σε ένα συγκεκριμένο σημείο, εξαλείφεται η ανάκλαση του φωτός από γειτονικές δομές και αυξάνεται η αξιοπιστία της εξέτασης<sup>16-18</sup>. Η αυξημένη διακριτική ικανότητα και αντίθεση αποτελεί ιδιαίτερα χρήσιμο πλεονέκτημα, καθώς ο κερατοειδής χιτώνας του οφθαλμού ανήκει στους ιστούς με τη μεγαλύτερη πυκνότητα νευρικών ινών. Οι τελευταίες προέρχονται το οφθαλμικό νεύρο, δηλαδή τον πρώτο κλάδο του τριδύμου νεύρου<sup>16-18</sup>.

Ο κερατοειδής χιτώνας είναι μια ανάγγειος (εκτός από την περιοχική της σκληροκερατοειδούς στεφάνης), διαφανής, άχρωμη δομή που λειτουργεί και ως προστατευτικός φραγμός για τον οφθαλμό<sup>16-18</sup>. Αποτελείται από το επιθήλιο, τη θεμέλια ουσία (η οποία είναι υπεύθυνη για το 90% του πάχους του κερατοειδούς)

και το ενδοθήλιο, τα οποία χωρίζονται από ειδικές μεμβράνες<sup>16-18</sup>. Οι νευρικές ίνες του κερατοειδούς ακολουθούν ακτινοειδή πορεία και διατάσσονται σε 3 σχηματισμούς: το υπό την βασική στοιβάδα πλέγμα, το υπο-επιθηλιακό πλέγμα και τις εντός της θεμέλιας ουσίας νευρικές ίνες<sup>16-18</sup>. Από αυτούς, κυρίως το υπό την βασική στοιβάδα πλέγμα έχει μελετηθεί με τη ΣΜΚΟ για τη διάγνωση της ΔΠΝ<sup>17,18</sup>.

Υπάρχουν τρεις μεθοδολογικές παραλλαγές για την παρατήρηση του κερατοειδούς χιτώνα του οφθαλμού: η ΣΜΚΟ διαδοχικής σάρωσης (διεθνώς tandem scanning confocal microscopy, TSCM), η ΣΜΚΟ σάρωσης σχισμής (διεθνώς slit scanning confocal microscopy, SSCM) και η πιο πρόσφατη ΣΜΚΟ σάρωσης με λέιζερ (διεθνώς laser scanning confocal microscopy, LSCM)<sup>16-19</sup>. Οι μέθοδοι αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξέταση των νευρικών ινών του κερατοειδούς σε ασθενείς με ΣΔ<sup>16-19</sup>. Η ΣΜΚΟ σάρωσης σχισμής επιτρέπει την ταχεία απεικόνιση όλων των σημείων κατά μήκος του άξονα μιας δεδομένης σχισμής<sup>16-19</sup>. Η ΣΜΚΟ σάρωσης με λέιζερ χρησιμοποιεί μια δέσμη λέιζερ ως πηγή φωτός, προσφέροντας υψηλότερη ανάλυση και σαφέστερη απεικόνιση του επιθηλίου του κερατοειδούς και του στρώματος<sup>16-19</sup>.

Για την εξέταση χορηγείται τοπικό αναισθητικό στον οφθαλμό<sup>16-19</sup>. Πρώτο βήμα είναι η προετοιμασία του αντικειμενικού φακού, ο οποίος αρχικά απολυμαίνεται και στη συνέχεια τοποθετείται μπροστά του ένα ειδικό πλαστικό κάλυμμα<sup>16-19</sup>. Προτού έρθει σε επαφή με τον κερατοειδή, στο κάλυμμα αυτό τοποθετείται γέλη δακρύων και ο εξεταστής μετακινεί τη μηχανή σάρωσης λέιζερ όσο το δυνατόν πιο πίσω στη βάση της κάμερας. Ο εξεταζόμενος τοποθετείται μπροστά από το μικροσκόπιο, ενώ ο εξεταστής ευθυγραμμίζει το σύστημα με τον οφθαλμό, μετακινώντας τον πρόσθιο φακό<sup>16-19</sup>. Τέλος, όταν ο φακός έρθει σε κατάλληλη απόσταση από τον κερατοειδή, αρχίζει η καταγραφή των εικόνων. Οι εικόνες αυτές ψηφιοποιούνται μέσω ειδικού λογισμικού στον ηλεκτρονικό υπολογιστή κι έτσι λαμβάνεται το τελικό αποτέλεσμα<sup>16-19</sup>. Με τη βοήθεια της τεχνολογίας καθίστανται δυνατές ειδικές αναλύσεις με καλύτερη ευκρίνεια, αυτοματοποιημένη μέτρηση των παραμέτρων, εξέταση μεγαλύτερης επιφάνειας του κερατοειδούς κ.ά.<sup>20-23</sup>.

### Παράμετροι που αξιολογούνται με τη ΣΜΚΟ

Η μη επεμβατική φύση και η ταχύτητα της διαδικασίας έχουν καταστήσει τη ΣΜΚΟ ιδανική μέθοδο, για να μελετηθούν εκτενώς όλες οι μικροδομές του κερατοειδούς, συμπεριλαμβανομένων των πλεγμάτων νευρικών ινών αυτού<sup>16-19</sup>. Οι κύριες παράμετροι, οι οποίες μπορούν να μετρηθούν μέσω του λογισμικού, και τις οποίες αξιολογεί ο εξεταστής είναι:

**1.** Η πυκνότητα των νευρικών ινών του κερατοειδούς (corneal

nerve fibre density, CNFD). Πρόκειται για το συνολικό αριθμό των κύριων νευρών ανά mm<sup>2</sup><sup>16-19</sup>.

**2.** Το μήκος των νευρικών ινών του κερατοειδούς (corneal nerve fibre length, CNFL). Πρόκειται για το συνολικό μήκος όλων των νευρικών ινών και των κλάδων τους και μετριέται σε mm/mm<sup>2</sup><sup>16-19</sup>.

**3.** Η πυκνότητα των κλάδων νευρικών ινών του κερατοειδούς (corneal nerve branch density, CNBD). Ορίζεται ως ο αριθμός των κλάδων που προέρχονται από τα κύρια νεύρα ανά mm<sup>2</sup><sup>16-19</sup>.

**4.** Η μορφολογία (ελίκωση) των νευρικών ινών του κερατοειδούς (corenal nerve fibre tortuosity, CNFT)<sup>16-19</sup>.

### Εφαρμογές της ΣΜΚΟ στη ΔΠΝ

Η ΣΜΚΟ έχει πολλές εφαρμογές στην κλινική πράξη, που αφορούν όχι μόνο την παρακολούθηση και διάγνωση παθολογικών καταστάσεων του ίδιου του οφθαλμού και του κερατοειδούς χιτώνα, αλλά και λοιπές παθολογικές οντότητες<sup>16,17</sup>. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η συμβολή της στην ποσοτική έκφραση των παραμέτρων που αφορούν τη νεύρωση του κερατοειδούς, με εφαρμογή στη ΔΠΝ και σε άλλες μορφές νευροπάθειας<sup>16-18</sup>.

Από 15ετίας περίπου, η ΣΜΚΟ χρησιμοποιείται για τη μελέτη της ΔΠΝ<sup>16-18</sup>. Έχει αναφερθεί συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας ΔΠΝ και της πυκνότητας και του σχήματος των ινών του κερατοειδούς<sup>16-18</sup>. Κύριο εύρημα επί ΣΔ είναι οι ελαττωμένες τιμές των παραμέτρων CNFD, CNFL και CNBD σε σχέση με άτομα χωρίς ΣΔ, ενώ η CNFT παρουσιάζεται συνήθως αυξημένη<sup>17,18,24,25</sup>. Η ευαισθησία της ΣΜΚΟ μάλιστα στη διάγνωση της ΔΠΝ, όπως αναφέρεται σε διάφορες μελέτες, είναι από μέτρια έως υψηλή (50-91%) όπως επίσης και η ειδικότητα της (45-93%)<sup>17,18</sup>.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σύγκριση της ΣΜΚΟ (κύρια παράμετρος η CNFD) και της βιοψίας δέρματος (κύρια παράμετρος η IENFD) ως προς τη διαγνωστική τους ευαισθησία και ειδικότητα<sup>26,27</sup>. Για την CNFD έχουν αναφερθεί: 56% ευαισθησία και 75% ειδικότητα για τη ΔΠΝ, 63% ευαισθησία και 72% ειδικότητα για τη βαρύτητα ΔΠΝ, 50% ευαισθησία και 84% ειδικότητα για τη νευροπάθεια των μικρών ινών<sup>27</sup>. Για την IENFD έχουν αναφερθεί: 78% ευαισθησία και 56% ειδικότητα για τη ΔΠΝ, 88% ευαισθησία και 54% ειδικότητα για τη βαρύτητα ΔΠΝ, 69% ευαισθησία και 63% ειδικότητα για τη νευροπάθεια των μικρών ινών<sup>27</sup>. Πιο πρόσφατα, βρέθηκαν για την CNFD 77% ευαισθησία, 79% ειδικότητα και 0.81 περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC (receiver operator characteristics), ενώ για την IENFD 61% ευαισθησία, 80% ειδικότητα και 0.73 περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC για τη ΔΠΝ<sup>26</sup>. Ολοφάνερα η διαγνωστική αξία της ΣΜΚΟ δεν υστερεί καθόλου και μάλιστα επιπρόσθετο πλεονέκτημα είναι ο μη επεμβατικός χαρακτήρας της μεθόδου.

Επιπλέον, η ΣΜΚΟ έχει εφαρμογή στην έγκαιρη διάγνωση της

ΔΠΝ<sup>17,20,21</sup>. Όπως προαναφέρθηκε, η ΔΠΝ μπορεί να εμφανισθεί πολύ νωρίς, ακόμα και στο στάδιο του προδιαβήτη<sup>6,7</sup>. Έτσι είναι σημαντικό να υπάρχουν έγκυρα και αντικειμενικά διαγνωστικά μέσα της ΔΠΝ στα αρχικά στάδια του ΣΔ. Έχει βρεθεί ότι ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών με ΣΔ χωρίς συμπτώματα ΔΠΝ παρουσιάζει μορφολογικές αλλοιώσεις στις νευρικές ίνες του κερατοειδούς χιτώνα<sup>26,28,29</sup>. Επιπλέον παρατηρήθηκαν αλλαγές στην πυκνότητα των νευρικών ινών του κερατοειδούς σε ασθενείς με ΣΔ, προτού εμφανιστούν τα κλινικά σημεία ΔΠΝ, αμφιβλαστροειδοπάθειας ή μικρολευκωματιουρίας, ενώ παρατηρήθηκαν μεταβολές ακόμη και σε ασθενείς με μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη<sup>26,28,29</sup>. Έτσι λοιπόν η ΣΜΚΟ έχει αποδειχθεί ότι δίνει τη δυνατότητα της έγκαιρης αναγνώρισης των νευροπαθτικών βλαβών<sup>26-29</sup>. Ιδιαίτερα ο συνδυασμός της με το επίθεμα Neuropad<sup>14</sup> τεκμηριώνει με μεγαλύτερη εγκυρότητα την ύπαρξη πρώιμων βλαβών στις νευρικές ίνες<sup>17,18</sup>. Μάλιστα, έχει αναφερθεί ότι η παράμετρος CNFL θα μπορούσε να προβλέψει την εμφάνιση ΔΠΝ έπειτα από 4 χρόνια με ευαισθησία 63% και ειδικότητα 74%<sup>18</sup>.

Εκτός όμως από τη διάγνωση, η ΣΜΚΟ βοηθά και στην εκτίμηση της σοβαρότητας της ΔΠΝ<sup>17,20,21,26,30-34</sup>. Η μείωση της ευαισθησίας του κερατοειδούς και η αύξηση της εκφύλισης των νευρικών ινών του συσχετίζονται με τη σοβαρότητα της ΔΠΝ<sup>17,25,30-33</sup>. Συνεπώς, η ελάττωση των παραμέτρων CNFD, CNFL και CNBD μπορεί να χρησιμοποιηθεί αξιόπιστα για τη σταδιοποίηση της ΔΠΝ<sup>17,31-34</sup>. Παράλληλα, η ΣΜΚΟ παρουσιάζει ικανοποιητική ευαισθησία και ειδικότητα στον εντοπισμό ασθενών με αβληκή ΔΠΝ, αλλά και εκείνων οι οποίοι είναι υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ελκών στα κάτω άκρα<sup>17,24</sup>.

Επιπρόσθετα, η ΣΜΚΟ είναι χρήσιμη στην παρακολούθηση των ασθενών με διαγνωσμένη ΔΠΝ<sup>17,31-34</sup>. Αυτό συμβαίνει καθώς φαίνεται να έχει σημαντική επαναληψιμότητα<sup>17,35,36</sup>. Παρέχει τη δυνατότητα αξιολόγησης της λειτουργίας των νεύρων με έναν αντικειμενικό και ποσοτικό τρόπο<sup>17,34,35</sup>. Έτσι καθίσταται δυνατός ο έλεγχος της ΔΠΝ έπειτα από εντατική θεραπεία, με αυστηρό έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης του πλάσματος και της υπερκολληστερολαιμίας<sup>37</sup>. Έχει τεκμηριωθεί η αύξηση της πυκνότητας των νευρικών ινών του κερατοειδούς έπειτα από βελτίωση της γλυκαιμίας, της αρτηριακής πίεσης και των λιπιδίων σε ασθενείς με ΣΔ<sup>37</sup>. Πράγματι, η θεραπευτική παρέμβαση με βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου και της υπερκολληστερολαιμίας οδήγησε με τη σειρά της σε σημαντικές βελτιώσεις στις παραμέτρους CBF, CNBD και CNFT έπειτα από 24 μήνες, και μάλιστα η αύξηση της CNFD συσχετίστηκε με τη μείωση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης<sup>37</sup>.

Επιπλέον, εντυπωσιακά αποτελέσματα στην τεκμηρίωση της βελτίωσης των νευρικών ινών έχουν φανεί με τη ΣΜΚΟ σε ασθενείς με ΣΔ<sup>1,1</sup>, στους οποίους έχει γίνει ταυτόχρονη μεταμόσχευση παγκρέατος και νεφρών<sup>38</sup>. Πράγματι, διαπιστώθηκαν σημαντικές

βελτιώσεις στις παραμέτρους CNFD και CNFL στους 6 μήνες, καθώς και στις CNFD, CNFL, και CNBD στους 12 μήνες έπειτα από την ταυτόχρονη μεταμόσχευση παγκρέατος και νεφρού σε ασθενείς με ΣΔ<sup>1,38</sup>. Είναι σημαντικό ότι η ΣΜΚΟ αναδείχθηκε ως το μόνο διαγνωστικό μέσο που μπορεί να τεκμηριώσει τη βελτίωση των νευροπαθτικών βλαβών σε ασθενείς στους 12 μήνες μετά τη μεταμόσχευση<sup>38</sup>.

Η ΣΜΚΟ φαίνεται ακόμη να αποτελεί πολλά υποσχόμενη μέθοδο διάγνωσης της ΔΠΝ σε ιδιαίτερες ομάδες ασθενών με ΣΔ, όπως είναι τα παιδιά και οι έφηβοι<sup>35,39</sup>. Επίσης φαίνεται ότι έχει τη δυνατότητα να μας βοηθήσει να κατανοήσουμε καλύτερα την παθογένεια της ΔΠΝ με τη λεπτομερέστερη μελέτη αυτής<sup>17,18</sup>. Πράγματι, θεωρείται ότι ο κερατοειδής είναι σε θέση να ανταποκριθεί σε ξένα αντιγόνα και αυτοαντιγόνα, τα οποία παρουσιάζονται σε αυτόν κυρίως από τα κύτταρα Langerhans και τα δενδριτικά κύτταρα<sup>40</sup>. Σε μια μελέτη<sup>40</sup>, η ΣΜΚΟ εντόπισε τα κύτταρα Langerhans στον κερατοειδή χιτώνα του οφθαλμού σε ασθενείς με ΔΠΝ. Ο αριθμός των κυττάρων Langerhans σε ασθενείς με ΣΔ βρέθηκε αυξημένος, ενώ διαπιστώθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ της πυκνότητας κυττάρων Langerhans και της σοβαρότητας της ΔΠΝ<sup>40</sup>. Τα ευρήματα αυτά υπενθυμίζουν ότι μεταξύ άλλων και ανοσολογικοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί στην παθογένεια της ΔΠΝ<sup>1,2,4</sup>. Σύμφωνα με τη μελέτη αυτήν, οι φλεγμονώδεις παράγοντες μπορεί να αποτελούν τη βάση της αρχικής δημιουργίας της ΔΠΝ, ενώ στη συνέχεια η βλάβη διατηρείται από άλλους μηχανισμούς<sup>17,40</sup>.

Τέλος, πέρα από την ΔΠΝ, η ΣΜΚΟ φαίνεται υποσχόμενη και για τη διάγνωση της νευροπάθειας του αυτόνομου νευρικού συστήματος που ελέγχει τη λειτουργία της καρδιάς και των αγγείων (KAN) (διεθνώς cardiac autonomic neuropathy, CAN)<sup>38,41</sup>. Μεταξύ ασθενών με ΣΔ<sup>1</sup>, η παράμετρος CNFD ήταν σημαντικά χαμηλότερη όταν υπήρχε KAN, και μάλιστα η διαφορά αυτή παρέμεινε σημαντική έπειτα από προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο, τη διάρκεια ΣΔ<sup>1</sup>, τη δοσολογία ινσουλίνης και τη σοβαρότητα της ΔΠΝ<sup>41</sup>. Ομοίως και η παράμετρος CNFL ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε παρουσία KAN<sup>41</sup>. Έχει αναφερθεί ότι οι παράμετροι CNFD, CNBD και CNFL έχουν πολύ υψηλή (86-100%) ευαισθησία και μέτρια έως υψηλή ειδικότητα (56-78%) για τη διάγνωση της KAN<sup>18</sup>.

### Συμπεράσματα

Η ΔΠΝ μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές περαιτέρω επιπλοκές τα άτομα με ΣΔ και για αυτόν το λόγο επιβάλλεται η έγκαιρη διάγνωση και η σχολαστική παρακολούθησή της<sup>1,2,5</sup>. Το ιδανικό εργαλείο για την ανίχνευση της ΔΠΝ στα πρώιμα στάδια πρέπει να είναι μη επεμβατικό, εύχρηστο και επαναλήψιμο, αλλά και να δύναται να εφαρμοστεί σε ευρεία κλίμακα<sup>4,5</sup>. Τα κύρια πλεονεκτήματα της ΣΜΚΟ περιλαμβάνουν το μη

επεμβατικό της χαρακτήρα, την υψηλή επαναληψιμότητα, την ικανοποιητική διαγνωστική ευστοχία, την ποσοτική έκφραση των μετρήσεων και την εκτίμηση της σοβαρότητας της ΔΠΝ<sup>16-21</sup>. Τα πλεονεκτήματα αυτά την αναδεικνύουν σε πολύ χρήσιμη μέθοδο για την έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση της ΔΠΝ<sup>16-21</sup> και πιθανότατα για την πρόληψη του διαβητικού ποδιού<sup>42, 43</sup>. Η σημασία της ως διαγνωστικής μεθόδου αναμένεται να αυξηθεί περαιτέρω, χάρη στη δημοσίευση και της διεθνούς βάσης φυσιολογικών τιμών για τις παραμέτρους της<sup>44</sup>. Δυστυχώς, η ευρεία χρήση της προς το παρόν περιορίζεται από το κόστος και την ανάγκη εξειδικευμένου προσωπικού<sup>16-18</sup>.

### Βιβλιογραφία

- Pop-Busui R, Boulton AJ, Feldman EL, Bril V, Freeman R, Malik RA et al. Diabetic Neuropathy: A position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2017;40:136-54.
- Papanas N, Ziegler D. Risk factors and comorbidities in diabetic neuropathy: an update 2015. *Rev Diabet Stud* 2015;12:48-62.
- Ziegler D, Papanas N, Vinik AI, Shaw JE. Epidemiology of polyneuropathy in diabetes and prediabetes. *Handb Clin Neurol* 2014;126:3-22.
- Τεντολούρης ΝΚ, Τεντολούρης ΑΝ. Περιφερική και επώδυνη διαβητική νευροπάθεια. Στο: Μύγδαλης ΗΝ (υπεύθυνος έκδοσης), Στρατηγικές στο Σακχαρώδη Διαβήτη 2018, Ιατρικές Εκδόσεις Ζήτα, Αθήνα, 2018, σελ. 295-310.
- American Diabetes Association. Microvascular complications and foot care: standards of medical care in diabetes 2018. *Diabetes Care* 2018;41(Suppl. 1):S105-S118.
- Pafilis K, Papanas N, Ziegler D. Neuropathy in Diabetes: "One Cannot Begin It Too Soon". *Angiology* 2018 Jan 1 [Epub ahead of print].
- Papanas N, Vinik AI, Ziegler D. Neuropathy in prediabetes: does the clock start ticking early? *Nat Rev Endocrinol* 2011;7:682-90.
- Papanas N, Ziegler D. New diagnostic tests for diabetic distal symmetric polyneuropathy. *J Diabetes Complications* 2011;25:44-51.
- Papanas N, Ziegler D. New vistas in the diagnosis of diabetic polyneuropathy. *Endocrine*. 2014 Dec;47:690-8.
- Chatzikosma G, Pafilis K, Demetriou M, Vadikolias K, Maltezos E, Papanas N. Evaluation of sural nerve automated nerve conduction study in the diagnosis of peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Sci* 2016;12:390-3.
- Pafilis K, Maltezos E, Papanas N. NC-stat for the diagnosis of diabetic polyneuropathy. *Expert Rev Med Devices* 2017;14:251-4.
- Bracewell N, Game F, Jeffcoate W, Scammell BE. Clinical evaluation of the VibraTip: a new device in the assessment of peripheral sensory neuropathy in diabetes. *Diabet Med* 2012;29:1553-5.
- Willits I, Cole H, Jones R, Dimmock P, Arber M, Craig J et al. VibraTip for testing vibration perception to detect diabetic peripheral neuropathy: a NICE medical technology guidance. *Appl Health Econ Health Policy* 2015;13:315-24.
- Papanas N, Boulton AJ, Malik RA, Manes C, Schnell O, Spallone V et al. A simple new non-invasive sweat indicator test for the diagnosis of diabetic neuropathy. *Diabet Med* 2013;30:525-34.
- Lauria G, Dacci P, Lombardi R, Cazzato D, Porretta-Serapiglia C, Taiana M et al. Side and time variability of intraepidermal nerve fiber density. *Neurology* 2015;84:2368-71.
- Tavakoli M, Hossain P, Malik RA. Clinical applications of corneal confocal microscopy. *Clin Ophthalmol* 2008;2:435-45.
- Papanas N, Ziegler D. Corneal confocal microscopy: a new technique for early detection of diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep* 2013;13:488-99.
- Papanas N, Ziegler D. Corneal confocal microscopy: Recent progress in the evaluation of diabetic neuropathy. *J Diabetes Invest* 2015;6:381-9.
- Zhivov A, Stachs O, Stave J, Guthoff RF. In vivo three-dimensional confocal laser scanning microscopy of corneal surface and epithelium. *Br J Ophthalmol* 2009;93:667-72.
- Ziegler D, Papanas N, Zhivov A, Allgeier S, Winter K, Ziegler I et al. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes* 2014;63:2454-63.
- Ziegler D, Winter K, Strom A, Zhivov A, Allgeier S, Papanas N et al. Spatial analysis improves the detection of early corneal nerve fiber loss in patients with recently diagnosed type 2 diabetes. *PLoS One* 2017;12:e0173832.
- Holmes TJ, Pellegrini M, Miller C, Epplin-Zapf T, Larkin S, Luccarelli S et al. Automated software analysis of corneal micrographs for peripheral neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:4480-91.
- Zhivov A, Blum M, Guthoff R, Stachs O. Real-time mapping of the subepithelial nerve plexus by in vivo confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol* 2010;94:1133-5.
- Tavakoli M, Petropoulos IN, Malik RA. Corneal confocal microscopy to assess diabetic neuropathy: an eye on the foot. *J Diabetes Sci Technol* 2013;7:1179-89.
- Tavakoli M, Petropoulos IN, Malik RA. Assessing corneal nerve structure and function in diabetic neuropathy. *Clin Exp Optom* 2012;95:338-47.
- Alam U, Jeziorska M, Petropoulos IN, Asghar O, Fadavi H, Ponirakis G et al. Diagnostic utility of corneal confocal microscopy and intra-epidermal nerve fibre density in diabetic neuropathy. *PLoS One* 2017;12:e0180175.
- Quattrini C, Tavakoli M, Kallinikos P et al. Comparing skin biopsy with corneal confocal microscopy: diagnostic yield of nerve fibre density. *Diabetologia* 2010;53: Suppl 1:A1114.
- Wang EF, Misra SL, Patel DV. In vivo confocal microscopy of the human cornea in the assessment of peripheral neuropathy and systemic diseases. *Biomed Res Int* 2015;2015:951081.
- Azmi S, Ferdousi M, Petropoulos IN, Ponirakis G, Alam U, Fadavi H et al. Corneal confocal microscopy identifies small-fiber neuropathy in subjects with impaired glucose tolerance who develop type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2015;38:1502-8.
- Petropoulos IN, Green P, Chan AW, Alam U, Fadavi H, Marshall A et al. Corneal confocal microscopy detects neuropathy in patients with type 1 diabetes without retinopathy or microalbuminuria. *PLoS One* 2015;10:e0123517.
- Tavakoli M, Kallinikos PA, Efron N, Boulton AJ, Malik RA. Corneal sensitivity is reduced and relates to the severity of neuropathy in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2007;30:1895-7.
- Chen X, Graham J, Dabbah MA, Petropoulos IN, Ponirakis G, Asghar O et al. Small nerve fiber quantification in the diagnosis of diabetic sensorimotor polyneuropathy: comparing corneal confocal microscopy with intraepidermal nerve fiber density. *Diabetes Care* 2015;38:1138-44.
- Petropoulos IN, Alam U, Fadavi H, Asghar O, Green P, Ponirakis G et al. Corneal nerve loss detected with corneal confocal microscopy is symmetrical and related to the severity of diabetic polyneuropathy. *Diabetes Care* 2013;36:3646-51.
- Tavakoli M, Quattrini C, Abbott C, Kallinikos P, Marshall A, Finnigan J et al. Corneal confocal microscopy: a novel non-invasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 2010;33:1792-7.
- Sellers EA, Clark I, Tavakoli M, Dean HJ, McGavock J, Malik RA. The reliability and reproducibility of corneal confocal microscopy in children. *Diabet Med* 2013;30:630-1.
- Efron N, Edwards K, Roper N, Pritchard N, Sampson GP, Shahidi AM et al. Repeatability of measuring corneal subbasal nerve fiber length in individuals with type 2 diabetes. *Eye Contact Lens* 2010;36:245-8.
- Tavakoli M, Kallinikos P, Iqbal A, Herbert A, Fadavi H, Efron N et al. Corneal confocal microscopy detects improvement in corneal nerve morphology with an improvement in risk factors for diabetic neuropathy. *Diabet Med* 2011;28:1261-7.
- Tavakoli M, Mitu-Pretorian M, Petropoulos IN, Fadavi H, Asghar O, Alam U et al. Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration in diabetic neuropathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Diabetes* 2013;62:254-60.
- Pacaud D, Romanchuk KG, Tavakoli M, Gougeon C, Virtanen H, Ferdousi M et al. The reliability and reproducibility of corneal confocal microscopy in children. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:5636-40.
- Tavakoli M, Boulton AJ, Efron N, Malik RA. Increased Langerhans cell density and corneal nerve damage in diabetic patients: role of immune mechanisms in human diabetic neuropathy. *Cont Lens Anterior Eye* 2011;34:7-11.
- Maddaloni E, Sabatino F, Del Toro R, Crugliano S, Grande S, Lauria Pantano A et al. In vivo corneal confocal microscopy as a novel non-invasive tool to investigate cardiac autonomic neuropathy in Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2015;32:262-6.
- Παπάνας ΝΠ. Το διαβητικό πόδι. Στο: Μύγδαλης ΗΝ (υπεύθυνος έκδοσης), Στρατηγικές στο Σακχαρώδη Διαβήτη 2018, Ιατρικές Εκδόσεις Ζήτα, Αθήνα, 2018, σελ. 311-20.
- Zhivov A, Peschel S, Schober HC, Stachs O, Baltrusch S, Bambi MT et al. Diabetic foot syndrome and corneal subbasal nerve plexus changes in congolese patients with type 2 diabetes. *PLoS One* 2015;10:e0119842.
- Tavakoli M, Ferdousi M, Petropoulos IN, Morris J, Pritchard N, Zhivov A et al. Normative values for corneal nerve morphology assessed using corneal confocal microscopy: a multinational normative data set. *Diabetes Care* 2015;38:838-43.