



Erken Diyabetik Retinopatide Retina Tabakalarındaki Değişimlerin İncelenmesi

Mehmet Rağıp Ekmen

Malatya Devlet Hastanesi Göz Hastalıkları Bölümü Malatya, Türkiye

Özet

Amaç: Diyabetik hastalarda retina içi tabakalardaki nöral değişimlerin tespiti ve bunun erken diyabetik retinopatinin tespitindeki önemini araştırmak.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 100 hastanın 200 gözü dahil edildi. Çalışmaya tip 2 diyabeti olup da diyabetik retinopatisi olmayan 50 hasta (Grup 1) ile diyabeti olmayan 50 kişi kontrol grubu (Grup 2) olarak dahil edildi. Çalışmaya maküla ödemi, proliferatif diyabetik retinopatisi, $>+/-6$ diyoptrinin üzerindeki refraksiyon kusuru, glokomu, üveiti, oküler cerrahi öyküsü olan hastalar dahil edilmedi. Diyabeti olan hastaların diyabet süreleri, HbA1c düzeyleri kaydedildi. Tüm hastalara tam oftalmolojik muayene, dilate fundus muayenesi ve renkli fundus fotoğrafı, optikal kohorens tomografi (OCT) tetkikleri yapıldı. OCT 'de maküla kalınlığı (MK), ganglion hücre+iç pleksiform tabaka süperior/inferior (GCC/IPL_{s/i}), iç nükleer+dış pleksiform tabaka (INL/OPL) kalınlıkları her iki grup için ayrı ayrı ölçülerek kaydedildi.

Bulgular: Çalışmaya katılan 100 hastanın 46'sı erkek, 54'ü kadın idi. Ortalama yaş grup 1'de 56,85 ($\pm 6,09$) grup 2'de 57,19 ($\pm 5,045$)'idi. Her iki grupta görme keskinlikleri sırasıyla, $0,97 \pm 0,15$, $0,98 \pm 0,12$ ortalama göz içi basınçları sırasıyla; $13,54 \pm 2,8$, $13,68 \pm 3,4$ ' idi. Diyabetik grupta ki hastaların ortalama diyabet süreleri $11,8 \pm 1,9$ yıl, HbA1c düzeyi $7,2 \pm 1,9$ idi. Grup 1'de ortalama MK 231μ ($\pm 22,75$) GCC/IPL $95,44 \mu$ ($\pm 11,13$), GCC/IPL $97,15 \mu$ ($\pm 13,35$), INL+OPL $55,19 \mu$ ($\pm 21,7$)' idi. Grup 2'de ortalama MK 232μ ($\pm 23,78$), GCC+IPL $96,53 \mu$ ($\pm 7,4$), GCC/IPL $100,49 \mu$ ($\pm 9,05$), INL/OPL $49,39 \mu$ ($\pm 20,8$)' idi. Her iki grup arasında MK değerleri açısından anlamlı bir fark yoktu ($p=0,830$, $p=0,372$, $p=0,051$). Grup 1 ve grup 2 arasında GCC/IPL_{s,i}, INL/OPL değerleri açısından anlamlı fark yoktu ($p=0,830$, $p=0,372$, $p=0,051$).

Sonuç: Diyabetik grupta GCC+INL kalınlıkları kontrol grubuna göre düşük; INL+OPL değerleri ise kontrol grubuna göre yüksek değerlerde olmasına rağmen her iki grup arasında bu değerler açısından anlamlı bir fark yok idi. Çalışmada OCT'deki GCC/IPL ve INL/OPL değerlerinin erken diyabetik retinopatinin tanısında nöronal hasarın erken teşhisinde tek başına kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Diyabetik Retinopati; Retina Katmanları; Optikal Kohorens Tomografi.

Evaluation of Retinal Layers Changes in Early Diabetic Retinopathy

Abstract

Purpose: To evaluate the neuronal changes in diabetic patients and investigate the importance of these changes in early diabetic retinopathy determination.

Material and Methods: Two hundred eyes of 100 patients were included in this study: 50 diabetics without diabetic retinopathy (group 1) and 50 controls (group 2). Exclusion criteria were macular edema, proliferatif diabetic retinopathy, refractive error $>+/-6$ diopters, glaucoma, uveitis, ocular surgery. HbA1c levels and duration of diabetes were recorded in group 1. Full ophtalmic examination, stereoscopic fundus photography, and optical coherence tomography (OCT) were taken after adequate dilatation. Mean macular thickness (MT), ganglion cell layer+iner plexiform layer superior, and inferior quadran (GCC/IPL_{s,i}) thickness, inner nuclear layer+outer plexiform layer (INL/OPL) thickness were calculated for each group.

Results: Of the 100 patients, 50 were diabetic patients (46 males, 54 females). Of the 50 healthy subjects, 46 were males and 54 were females. The mean age of the diabetics was 56,85 ($\pm 6,09$) years; this was 57,19 ($\pm 5,045$) years for the control group patients. Visual acuity was $0,97 \pm 0,15$ in group 1 and $0,98 \pm 0,12$ in group 2, while the mean intraocular pressure was $13,54 \pm 2,8$ in group 1 and $13,68 \pm 3,4$ in group 2. The mean HbA1c levels were $7,2 \pm 1,9$ and mean duration of diabetes was $11,8 \pm 1,9$ in group 1. The GCC/IPL was thinner and INL/OPL was thicker in group 1 but there was no significant difference between the two groups ($p=0,830$, $p=0,372$, $p=0,051$).

Conclusions: We observed decreased thickness GCC+IPL_{s,i} and increased INL/OPL in group 1 but there was no significant difference between the two groups. The GCC/IPL and INL/OPL layering by OCT did not prove to be a useful tool alone to diagnose neuronal damage in early diabetic retinopathy.

Keywords: Diabetic Retinopathy; Retinal Layer; Optical Coherence Tomography.

GİRİŞ

Diyabetik retinopati çalışan yaş grubunda en sık körlük sebeplerinden biridir (1). Uzun zamandır diyabetik retinopatinin hiperglisemi ve glikozun metabolik yan ürünlerinin sebep olduğu mikroanjiyopatiye bağlı olduğu düşünülmüyordu (2). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda nörotoksik ve nöroprotektif faktörlerin neden olduğu retinal nörodejenerasyonun klinik olarak tespit edilebilen

mikro vasküler hasardan önce ortaya çıktığı gösterilmiş ve bunun erken mikroanjiyopatinin tespitinde kullanılabileceği görülmüştür (2,3,4). Retinal nörodejenerasyon retinanın tüm katmanlardaki nöral hücreleri etkileyebilmektedir ve bu elektrorretinografideki ossilatuar potansiyellerdeki amplitüt ve latans değişiklikleri ile renkli görmede değişiklik, kontrast sensisivitede azalma, retinal fototransdüksiyon zamanında gecikme şeklinde ortaya çıkabilmektedir (5,6,7).

Bu çalışmamızda diyabeti olup da diyabetik retinopatisi olmayan hastalar ile diyabeti olmayan bireyler arasında, seçilmiş retina tabakalarındaki değişikliklerin optikal kohörens tomografi (OCT) ile değerlendirilmesi ve nörodejenerasyonun diyabetik retinopatinin patogenezindeki yerini tespit etmek amaçlandı.

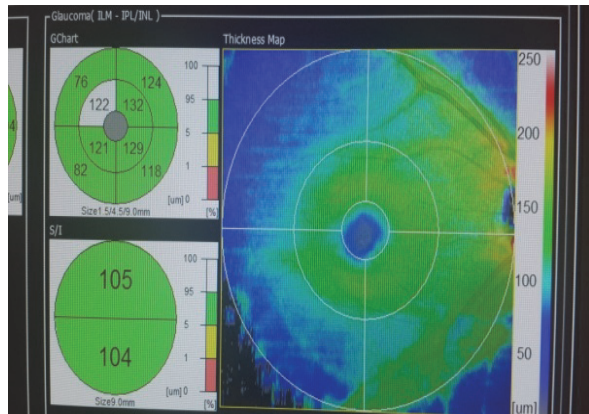
GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya 100 hasta kabul edildi. Çalışmada hastalardan Helsinki deklarasyonuna uygun olarak onam formu alındı. Bu hastalardan 50'si diyabeti olup da diyabetik retinopatisi olmayan hastalar olup grup 1 olarak sınıflandırılırken, kontrol grubu grup 2 olarak sınıflandırıldı. Çalışmaya ileri evre non proliferatif diyabetik retinopati(NPDR), proliferatif diyabetik retinopati(PDR), maküler ödem, lazer fotokoagülasyon, intravitreal steroid veya antianjiyotik ilaçlar, oküler cerrahi öyküsü,glokom veya oküler hipertansiyon öyküsü, üveit,>+/-6 D refraksiyon kusuru, fundus muayenesini engelleyecek yoğunlukta kataraktı olan hastalar dahil edilmedi.

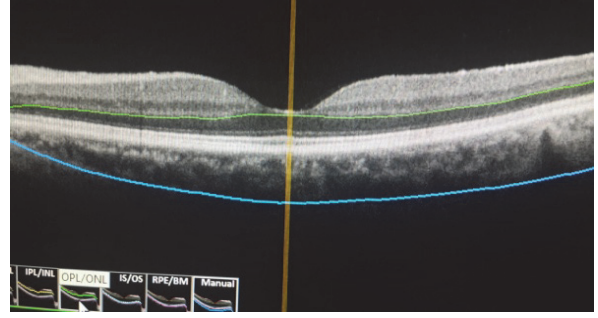
Çalışmaya katılan bireylerin en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri, goldman aplanasyon tonometresi ile ölçülmüş göz içi basınçları, diyabetik hastaların son 6 aydaki HbA1c düzeyleri tespit edilerek kaydedildi.

Çalışmaya katılan tüm bireylerin ön segment ve posterior segmenti içeren tam biyomikroskopik muayeneleri, arka segment renkli fundus fotoğrafı ve floresein anjiyografi(TOPCON TRC 50 IATokyo,japan)'leri ve spektral OCT ile retina içi katmanların analizi, maküla kalınlığı ölçümleri yapıldı(SD-OCT,RS-3000,NIDEK,Gamagori,japan)

Retina içi katmanlar ve maküla kalınlığı ölçümü yapılırken OCT'de "Macula Map"ve "Macula Line"protokolleri kullanıldı. Macula line modunda 5 farklı retina tabakası ölçümü yapılarak sadece MK ve (INL/OPL) tabakalarının kalınlık değerleri kaydedildi. Macula Map modunda ise (GCC/IPL) süperior ve inferior kalınlık değerleri tespit edilerek kaydedildi.(Resim1, 2)



Resim1. GCC/İPL superior ve inferior kalınlık haritasını gösteren OCT resmi



Resim 2. İNL/OPL kalınlık analizini gösteren OCT resmi

İstatiksel Analiz

Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılıma uyan veriler ortalama ve standart sapma ile özetlenirken karşılaştırmalarda bağımsız gruplarda t-testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan veriler medyan, minimum ve maksimum değerler ile özetlendi ve gruplar Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Kategorik değişkenlerin özetlenmesi için sayı ve yüzde kullanılırken, gruplar ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler spearman sıra korelasyon katsayısı ile incelendi. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi.

SONUÇ

Çalışmaya katılan 100 hastanın 46 Erkek, 54 Kadın'idi. Grup 1 de yaş ortalaması 56,85(±6,09) grup 2'de 57,19(±5,045)'idi. Ortalama en iyi düzeltilmiş görme keskinliği(Snellen eşeli ile) grup 1'de 0,97±0,15, grup 2'de0,98±0,12, göz içi basınçları grup 1'de 13,54±2,8, grup 2'de 13,68±3,4 olup her iki grup arasında görme keskinliği ve göz içi basınç arasında fark yok idi. Grup 1'de ortalama HbA1c düzeyi 7,2±1,9 ; diyabet süresi 11,8±1,9 'idi.(Tablo 1)

Tablo 1. Çalışmaya katılan bireylerin demografik özellikleri

	Grup1	Grup2
Ortalama yaş	56,85(±6,09)	57,19(±5,045)
Görme keskinliği	0,97±0,15	0,98±0,12
İntraokuler basınç	13,54±2,8	13,68±3,4
Diyabet süresi	11,8±1,9	-
HbA1c	7,2±1,9	-

Maküla kalınlığı grup 1'de 231µ(±22,75) grup 2'de232µ(±23,78) olup her iki grup arasında anlamlı fark yoktu.(p=0,644) Grup 1'de İNL/OPL kalınlığı 55,19µ(±21,7), grup2'de 49,39µ(±20,8) olup her iki grup arasında anlamlı fark yoktu.(p=0,051). GCC/İPLs kalınlığı grup1'de 95,44µ (±11,13) ; grup2'de 96,53µ(±7,4) her iki grup arasında anlamlı fark yoktu.(p=0,830) GCC/İPL ; kalınlığı grup1'de 97,15µ(±13,35) , grup2'de 100,49µ(±9,05) olup her iki grup arasında anlamlı fark yoktu.(p=0,372) (Tablo 2)

Diyabetik grupta HbA1c düzeyi ve diyabet süresi ile MK,İNL/OPL, GCC/İPL düzeyleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanılmadı.(Tablo3)

Tablo 2. Çalışmaya katılan bireylerin ortalama MK,INL+OPL,ve GCC+İPL düzeyleri

	Grup1	Grup2	p
Maküla kalınlığı	231μ(±22,75)	232μ(±23,78)	0,644
INL/OPL _s	55,19μ(±21,7)	49,39μ(±20,8)	0,051
GCC/İPL _s	95,44μ (±11,13)	96,53μ(±7,4)	0,830
GCC/İPL _i	97,15μ(±13,35)	100,49μ(±9,05)	0,372

Tablo3. HbA1c ve Diyabet süresi ile MK,INL+OPL, GCC+İPL düzeyleri arasındaki ilişki

	HbA1c	DM süresi
Maküla kalınlığı	r=0,82, p=0,562	r=0,034, p=0,810
INL/OPL	r=0,156 ,p=0,270	r=0,108, p=0,445
GCC/İPL _s	r=-0,096, p=0,499	r=-0,136, p=0,336
GCC/İPL _i	r=-0,052, p=0,715	r=-0,118, p=0,406

TARTIŞMA

Diyabetik retinopatinin seyri boyunca apoptotik hücre ölümü retinanın tüm katmanlarında olmaktadır. Yapılan birçok çalışmada da retinanın tüm katmanlarındaki farklı tip nöronların diyabetik retinopatinin seyri sırasında farklı yönde değişim gösterdiği gösterilmiştir (8,9).

Bazı yazarlar erken diyabetik retinopatide nörodejenerasyonun belirtisi olarak retina sinir lifi tabakasının(RNFL) incelmelerini (10,11)bazı yazarlarda GCL/İPL kompleksindeki azalmanın erken nöron hasarının belirtisi olduğunu ve bunun klinik olarak diyabetik retinopatinin bulguları ortaya çıkmadan kullanılabileceğini çalışmalarında göstermişlerdir (11,12).

Bialosterski ve arkadaşları hafif non proliferatif diyabetik retinopatisi(NPDR) olan 53 diyabetik hastalı çalışmalarında perisantral maküla kalınlığının kontrol grubuna göre azaldığını tespit etmişler (13). Biz çalışmamızda santral maküla kalınlığını her iki grupta ölçtük ve gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edemedik. Kan HbA1c düzeyi ve diyabet süreleri ile maküla kalınlığı arasında anlamlı bir ilişkiye rastlamadık. Bu sonucun diyabetik hasta grubumuzdaki bireylerin iyi bir kan glikoz regülasyonuna sahip olmasına bağlıdır.

Van Dijik ve arkadaşları yaptıkları çalışmada GCL/İPL kompleksinin kalınlığının hafif NPDR'si olan hastalarda azaldığını ve bunun ganglion hasarının göstergesi olarak perisantral alandaki maküla kalınlığının ve RNFL düzeylerindeki azalmanın erken belirtisi olabileceğini vurgulamışlardır (14,15). S.Vujosevic ve E.midena yaptıkları çalışmalarında GCL/İPL kompleksinin kalınlığının diyabetik grupta azaldığını fakat kontrol grubuna göre anlamlı bir farkın olmadığını göstermişlerdir (16). Biz de çalışmamızda GCL/İPL kompleksinin kalınlığının diyabetik grupta azaldığını fakat kontrol grubuna göre anlamlı bir farkın olmadığını tespit ettik. Ayrıca HbA1C düzeyi ve diyabet süreleri ile GCL/İPL arasında anlamlı bir ilişkiye rastlamadık

Bazı çalışmalarda INL/OPL kompleksinin kalınlığının diyabetik hasta grubunda azaldığı ve bunun müller hücrelerdeki apoptotik hücre ölümüne bağlı olabileceği belirtilmektedir (16,17). INL daha çok müller ve bipolar hücrelerin nükleuslarından oluşmaktadır. Müller hücreleri

hiperglisemiye çok duyarlı olup nöronal hasarın başlamasında kilit rol oynamaktadır. Kan glikoz düzeylerindeki artma müller hücrelerinde şişmeye ve hipertrofiye neden olarak apoptotik hücre ölümünü başlatmaktadır(18,19).

Bazı çalışmalarda müller hücrelerindeki metabolik ve morfoljik değişikliklerin retinada progresif sinir hasarına neden olup ve hatta mikrovasküler komplikasyonların başlamasında anahtar rol oynayabileceği belirtilmektedir (20,21).

Carrasco ve arkadaşları yaptıkları çalışmada apoptozis ve glial hücre aktivasyonunun diyabetik mikrovasküler değişiklikleri tetiklediği fakat hangisinin diğerinden önce başladığının kesin olarak bilinemediğini tespit etmişler (22,23).

Bizde kendi çalışmamızda INL/OPL kompleksinin kalınlık analizini her iki grup için yaptık ve diyabetik grupta kontrol grubuna göre değerlerin yüksek olduğunu fakat gruplar arasında INL/OPL değerleri açısından anlamlı bir farkın olmadığını tespit ettik. HbA1c düzeyleri ve diyabet süreleri ile INL/OPL düzeyleri arasındaki ilişkiyi de inceledik ve anlamlı bir ilişkiye rastlamadık.

INL+OPL değerlerindeki bu artışın olmasının çalışmalarda belirtildiği gibi kan glikoz düzeyindeki değişikliklerin müller hücre aktivasyonuna neden olarak oluşabileceğini düşünmekteyiz. INL/OPL değerlerindeki artışın minimal düzeyde olup gruplar arasındaki fark gözetmemesinin diyabetik hasta grubundaki iyi bir metabolik regülasyonun olmasına bağlı olabileceği sonucuna vardık. Çalışmamızın eksik yönünün; dış plexiform tabaka, fotoreseptör tabakası, RNFL gibi diğer retina tabakalarını da içine alan geniş bir retina içi analizinin olmaması ve incelenecek gruplara ileri ve orta evre NPDR hastalarının dahil edilmemesi olarak görmekteyiz. Çalışmamızda bu hasta gruplarına yer verilmemesinin nedeni ise diyabetik hastalarda mikrovasküler bulgular ortaya çıkmadan önce nöronal hasar var mı veya ortaya çıkabilir mi sorusuna cevap aramaktı. Çalışmada GCL/İPL düzeylerinde azalmanın olması veya INL/OPL düzeylerindeki kısmi de olsa artışın olması erken nöronal hasarı işaret etse de sonuçlar arasında anlamlı bir farkın ortaya çıkmaması bu parametrelerin erken nöronal hasarın teşhisinde tek başına kullanılabilecek bir parametre olamayacaklarını göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda; diyabetik retinopatinin erken vasküler komplikasyonları ortaya çıkmadan önce bir takım nöronal değişikliklerin ortaya çıkabileceği ve bunların diğer yardımcı tanı yöntemleriyle beraber kullanılabileceği, erken nöronal hasarın teşhisinde daha

geniş, kapsamlı ve karşılaştırmalı retina içi analizlerin yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Girach A, Manner D, and Porta M. Diabetic microvascular complications: Can patients at risk be identified? A review. *International Journal of Clinical Practice* 2006;60:1471-83.
2. Villeroel M, Ciudin A, Hernandez C, and Simo R. Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy. *World Journal of Diabetes* 2010;1:57-64.
3. Antonetti DA, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *The New England Journal of Medicine* 2012;366:1227-39.
4. Barber AJ, Gardner TW, and Abcouper SF. The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. *Investigate Ophthalmology and Visual Science* 2011;52:1156-63.
5. Midena E, Segato T, Guilano M, and Zuchetto M. Macular recovery function in diabetics without and with early retinopathy. *British Journal of Ophthalmology* 1990;74:106-8.
6. Midena E and Vujosevic S. Visual psychophysicals in diabetic retinopathy in visual dysfunction in diabetes. Tink JT, Barbnstable CJ, and Gardner TW, Eds, New York: Springer; 2012.p.69-105.
7. Kern TS, and Barber AJ. Retinal ganglion cells in diabetes. *Journal of Physiology* 2008;586: 4401-8.
8. Gastinger MJ, Singh RSJ, and Barber AJ. Loss of cholinergic and dopaminergic amacrine cells in streptozotocin-diabetic rat and ins2Akita-diabetic mouse retinas. *Investigate Ophthalmology and Visual Science* 2006;47:3143-50.
9. Ly A, Yee P, Vessey KA, Phipps JA, Jobling AI, and Fletcher EL. Early inner retinal astrocyte dysfunction during diabetes and development of hypoxia, retinal stress, and neuronal function loss. *Investigate Ophthalmology and Visual Science* 2011;52:9316-26.
10. Van Dijk HW, Kok PHB, Garvin M et al. Selective loss of inner retinal layer thickness in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. *Investigate Ophthalmology and Visual Science* 2009;50:3404-9.
11. Debuc DC and Somfai GM. Early detection of retinal thickness changes in diabetes using optical coherence tomography. *Medical Science Monitor* 2010;16:15-21.
12. Cabera Fernandez D, Somfai GM, Tatrai E et al. Potentiality of intraretinal layer segmentation to locally detect early retinal changes in patients with diabetes mellitus using optical coherence tomography. *Investigate Ophthalmology-Visual Science* 2008;49:3105-9.
13. Bialosterski C, Van Velthoven MEJ, Michels RPJ, Schlingman RO, DeVries JH and Verbraak FD. Decreased optical coherence tomography-measured pericentral retinal thickness in patients with diabetes mellitus type 1 with minimal diabetic retinopathy. *British Journal of Ophthalmology* 2007;91:1135-8.
14. Van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PHB et al. Decreased retinal ganglion cell layer thickness in patients with type 1 diabetes. *Investigate Ophthalmology and Visual Science* 2010;51:3660-5.
15. Van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PHB et al. Selective loss of inner layer thickness in patients in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. *Investigate Ophthalmology and Visual Science* 2009;50:3404-9.
16. Vujosevic S, Midena E, Retinal Layer Changes in Human Preclinical and Early Clinical Diabetic Retinopathy Support Early Retinal Neuronal and Müller Cells Alterations. *Journal of Diabetes Research* 2013;65:1013-8.
17. Bringman A, Landiew I, Pannicke T et al. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects. *Progress in Retinal and Eye Research* 2009;28:423-51.
18. Curtis TM, Hamilton R, Yong P-h-H et al. Müller glial dysfunction during diabetic retinopathy in rats is killed to accumulation of advanced glycation end-products and advanced lipoxidation end-products. *Diabetologia* 2011;54:690-8.
19. Yong PH, Zong H, Medina RJ et al. Evidence supporting a role for Nε-(3-formyl-3,4-dehydropiperidino)lysine accumulation in Müller glia dysfunction and death in diabetic retinopathy. *Molecular Vision* 2010;16:2524-38.
20. Reichenbach A, Wurn A, Pannicke T, Landiew I, Wiedeman P and Bringmann A. Müller cells as players in retinal degeneration and edema. *Graves Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 2007;245:627-36.
21. Gardner TW, Antonetti DA, Barber AJ, LaNoue KF and Levison SW. Diabetic retinopathy: more than meets the eye. *Survey of Ophthalmology* 2002;47:253-62.
22. Carrasco E, Hernandez C, Miralles A, Hudget P, Farres J and Simo R. Lower somatostatin expression is an early event in diabetic retinopathy and is associated with retinal neurodegeneration. *Diabetes Care* 2007;30:2902-8.
23. Carrasco E, Hernandez C, Miralles A, Hudget P, Farres J and Simo R. Lowered cortistatin expression is an early event in the human diabetic retina and is associated with apoptosis and glial activation. *Molecular Vision* 2008;14:1496-502.

Received/Başvuru: 25.06.2015, Accepted/Kabul: 26.06.2014

Correspondence/İletişim

Mehmet Ragıp EKMEN
Malatya Devlet Hastanesi Göz Hastalıkları Bölümü
MALATYA, TURKEY
E-mail: mrekm.80@outlook.com

For citing/Atf için

Ekmen.MR. Evaluation of retinal layers changes in early diabetic retinopathy. *J Turgut Ozal Med Cent* 2015;22:239-42 DOI: 10.7247/jtomc.2015.06.09