

Study of dry eye effect on corneal endothelial cell density.

Dr.Habib Yousef *
Dr.Mahmod Rajab**
Roa'a Raef Saleh***

(Received 15 / 7 / 2019. Accepted 20 / 8 / 2019)

□ ABSTRACT □

Purpose: To evaluate corneal endothelium cell density (ECD) in patients with dry eye disease (DED) compared to an age-matched control group.

Methods: This study included 160 eyes of 80 patients. They were divided into groups based on their dry eye disease severity. All subjects had a complete ophthalmic evaluation including symptoms assessment using the Ocular Surface Disease Index (OSDI), tear break-up time (TBUT) Schirmer1 and then the specular microscope was performed to measure ECD, percentage of hexagonal cells (EX), coefficient of variation CV) and the mean central corneal thickness (CCT).

Results: The mean ECD was significantly lower in subjects with moderate dryness (2714.3 ± 138.1 cell/mm²) and severe dryness (2406 ± 129.7 cell/mm²) $p=0.001$. There were statistically significant correlations between corneal ECD and dry eye severity depending on OSDI score. In addition, the mean (EX) was lower in subjects with moderate dryness ($50.07 \pm 1.8\%$) and severe dryness ($42.8 \pm 3.9\%$), $p=0.001$. The mean (CV) was higher in subjects with moderate dryness (42.3 ± 3.9) and severe dryness (47.3 ± 3.5) in, $p=0.001$. The mean (CCT) was lower in subjects with moderate dryness (568 ± 20.1) and severe dryness (543.1 ± 23.1), $p=0.001$

Conclusion: There is a significant reduction in corneal ECD in moderate and severe DED which correlates with clinical severity of the disease.

Keywords: Corneal endothelial cell density; Dry eye syndrome; Non-contact specular microscope.

* Assistant Professor, Department of ophthalmology, Faculty of medicine, Tishreen University, Lattakia, Syria.

** Professor, Department of ophthalmology, Faculty of medicine, Tishreen University, Lattakia, Syria.

*** Postgraduate Student, Department of ophthalmology, Faculty of medicine, Tishreen University, Lattakia, Syria.

" دراسة تأثير جفاف العين على كثافة خلايا بطانة القرنية "

د. حبيب يوسف*

د. محمود رجب**

رؤى رفيف صالح***

(تاريخ الإيداع 15 / 7 / 2019. قُبِلَ للنشر في 20 / 8 / 2019)

□ ملخص □

الهدف: تقييم كثافة خلايا بطانة القرنية عند مجموعة مرضى جفاف العين ومقارنتها مع مجموعة شواهد متجانسة معها من ناحية العمر.

الطرائق: تضمنت هذه الدراسة 160 عين ل 80 مريض. تم تقسيم المرضى إلى مجموعات وفق شدة جفاف العين لديهم، خضع كل الأشخاص لفحص عيني كامل متضمناً مشعر أمراض سطح المقلة، زمن تحطم فيلم الدمع، شيرمر 1. ثم خضعوا لفحص بالمجهر المنطاري غير التماسي لدراسة كثافة خلايا بطانة القرنية، نسبة خلايا بطانة القرنية السداسية، معامل التغير في حجم خلايا بطانة القرنية، وثخانة القرنية المركزية.

النتائج: أظهرت الدراسة أن متوسط قيم كثافة خلايا بطانة القرنية كان أقل بشكل هام في مجموعة مرضى جفاف العين المتوسط (38,1±2714) خلية/ملم² والشديد (129,7±2406,2) خلية/ملم²، P=0,001. ويزداد انخفاض متوسط قيم كثافة خلايا بطانة القرنية مع زيادة شدة جفاف العين سريرياً وفق مشعر ال OSDI، بالإضافة إلى انخفاض مهم في متوسط قيم نسبة خلايا البطانة السداسية في مجموعة جفاف العين المتوسط (1,8±50,07)% والشديد (3,9±42,8)، P=0,001. وازدياد متوسط قيم معامل تغير حجم خلايا البطانة بشكل هام في مجموعة مرضى جفاف العين المتوسط (1,8± 42,3) والشديد (3,5±47,3)، P=0,001. كما لوحظ انخفاض متوسط قيم ثخانة

القرنية المركزية في مرضى جفاف العين المتوسط (20,1±568,7) والشديد (23,1±543,1) P=0,001

الخلاصة: تتخفف كثافة بطانة القرنية بشكل هام في العيون المصابة بجفاف العين المتوسط والشديد ويزداد هذا الانخفاض مع ازدياد شدة الأعراض السريرية لجفاف العين.

الكلمات المفتاحية: متلازمة جفاف العين، كثافة خلايا بطانة القرنية، المجهر المنطاري غير التماسي.

*أستاذ مساعد-قسم أمراض العين وجراحاتها- كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية- سورية.

**أستاذ-قسم أمراض العين وجراحاتها- كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية- سورية.

***طالبة دراسات عليا (ماجستير) قسم أمراض العين وجراحاتها- كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية- سورية

مقدمة:

تعد متلازمة العين الجافة من أكثر الأمراض شيوعاً في مجال أمراض العين، فهي تؤثر على 5-35% من عامة الناس [1].

كما أنها تؤثر بشكل كبير على جودة الحياة من خلال التأثير على حدة البصر والأداء الاجتماعي والبدني وإنتاجية العمل [2].

ويعتقد أن الآليات الأساسية المسببة للعين الجافة تتمثل ب فرط اسمولية الدمع، عدم ثباتية فيلم الدمع، والفعالية الالتهابية [3].

وقد سجلت العديد من الدراسات تأثيرات جفاف العين على مختلف البنى العينية، شملت هذه التأثيرات زيادة في كثافة الخلايا الالتهابية للملتحمة، نقص ظهارة القرنية السطحية ونقص التعصيب القرني تحت القاعدي [4]. تمت دراسة بطانة القرنية لدى مرضى السكري [5] ، ولدى مرضى اللابؤرية المدية والحسرية [6] ، لكن قليل من الدراسات بحثت في تأثير جفاف العين على كثافة خلايا بطانة القرنية [7] ، والصفات الشكلية لهذه الطبقة [8].

أهمية البحث وأهدافه:**أهمية البحث:**

على الرغم من وجود دراسات متنوعة حول تأثير جفاف العين على الملتحمة وظهارة القرنية إلا أن الدراسات حول تأثير جفاف العين على بطانة القرنية غير كافية، وباعتبار بطانة القرنية ذات أهمية حاسمة في الحفاظ على شفافية القرنية وبالتالي سلامة الوظيفة البصرية مع الأخذ بعين الاعتبار خصوصية البطانة بعدم القدرة على التجدد والانقسام، وجدنا أنه من الضروري أن نقوم بدراسة تبدلات بطانة القرنية عند مرضى جفاف العين.

هدف البحث:

دراسة تأثير جفاف العين على كثافة خلايا بطانة القرنية والعلاقة بين كثافة خلايا البطانة وشدة الأعراض السريرية، كذلك مقارنة نسبة الخلايا السداسية ومعامل الاختلاف في حجم خلايا البطانة وثخانة القرنية المركزية بين مرضى جفاف العين ومجموعة الشواهد.

صفات العينة وحجمها:

تمت دراسة 90 عين ل 45 مريض من مراجعي العيادة العينية في مشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة الواقعة بين 2018/4/1 ولغاية 2019/5/1 ممن لديهم جفاف عين متوسط وشديد في حين تمت دراسة 70 عين ل 35 شخص ممن ليس لديهم جفاف العين للمقارنة.

تم استبعاد مرضى حثول وتكسات وتندبات القرنية، سوابق رض أو جراحة انكسارية، مرتدي العدسات اللاصقة مرضى التهاب العنبية ومرضى الحسر المتوسط والشديد، مرضى السكري والزرق ومتلازمة التوسف الكاذب، الذين يستعملون أدوية موضعية أو جهازية ذات تأثير سمي على القرنية، التهاب القرنية بالحلأ البسيط حالي أو سابق، تندبات أو شتر في الأجفان.

طرائق البحث ومواده:

تم استجواب المرضى حول وجود أعراض جفاف العين وفق مشعر أمراض سطح المقلة ocular surface disease index (OSDI) [9]، ثم أجري لهم فحص عيني كامل، كما أجري لهم اختبارين تشخيصيين خاصين بجفاف العين هما زمن تحطم فيلم الدمع (TBUT) tear break up time واختبار شيرمر دون مخدر ثم استخدام جهاز تعداد خلايا بطانة القرنية غير التماسي (NCSM) non-contact specular microscopy. تم تشخيص جفاف العين اعتماداً على نتيجة ال OSDI وال TBUT

تم تقسيم المرضى اعتماداً على نتيجة ال OSDI إلى ثلاث مجموعات:

مجموعة 1: تضمنت 70 عين ل 35 شخص طبيعى ليس لديه جفاف عين

مجموعة 2: تضمنت 14 عين ل 7 أشخاص لديه جفاف عين متوسط

مجموعة 3: تضمنت 76 عين ل 38 شخص لديه جفاف عين شديد

وتم إنشاء استمارة لكل مريض تحوي البيانات التالية:

اسم المريض - العمر - الجنس - رقم الهاتف، الشكاية الرئيسية، القصة العينية الحالية أو السابقة، السوابق العامة (أمراض جهازية أو أدوية جهازية) ، القدرة البصرية و تحري أسوء الانكسار ، تسجيل نتيجة ال OSDI، الفحص بالمصباح الشقي(الأجفان- الملتحمة - القرنية - البببب الأمامي - القرنية - الحدقة - العدسة) ، قياس زمن تحطم فيلم الدمع(TBUT)، اختبار شيرمر دون مخدر، قياس كثافة خلايا بطانة القرنية ونسبة الخلايا السداسية و معامل الاختلاف في الحجم (CV) وثخانة القرنية المركزية(CCT) باستخدام المجهر المنظاري غير التماسي (Specular microscope, Perseus, CSO, Italy).

تم استخدام اختبار Independent T student لدراسة الفرق بين متوسطي مجموعتين مستقلتين، و اختبار

One Way ANOVA لدراسة فروقات المتوسطات لأكثر من مجموعتين، ومعامل الارتباط

(Pearson correlation) لدراسة الارتباط بين المتغيرات الكمية، و اختبار (chi-square) لدراسة العلاقات بين

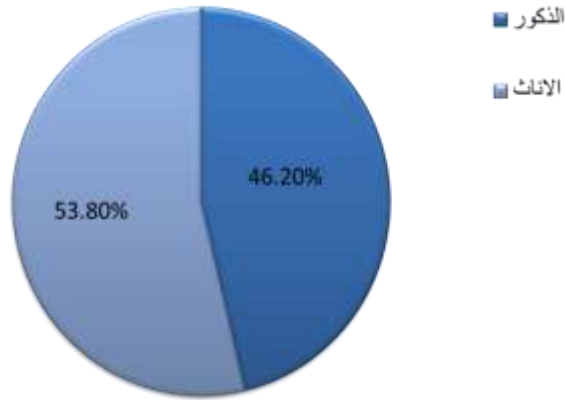
المتغيرات الكيفية .

واعتبرت النتائج هامة احصائياً مع $p\text{-value} < 5\%$.

النتائج والمناقشة

النتائج:

تضمنت الدراسة 90 عين ل 45 مريض لديهم جفاف عين (20 ذكر و 25 أنثى) وكان متوسط العمر في هذه المجموعة 40 سنة حيث تراوحت الأعمار بين (24) و(60) سنة، في حين تضمنت مجموعة الشواهد 70 عين ل 35 شخص ليس لديهم جفاف عين وكان متوسط العمر لديهم 36 سنة وتراوحت أعمارهم بين (22) و (60) سنة.



الشكل (1) التوزيع حسب الجنس لـ 80 شخص مشارك في الدراسة من مراجعي العيادة العينية في مشفى تشرين الجامعي في اللاذقية خلال الفترة 2018 - 2019

جدول (1) التوزيع حسب الصفات الديموغرافية لـ 80 شخص مشارك في الدراسة من مراجعي العيادة العينية في مشفى تشرين الجامعي في اللاذقية عام (2018 - 2019)

	الحالات	الشواهد	p-value
الجنس			0.7
الذكور	20 (44.4%)	17(48.6%)	
الإناث	25(55.6%)	18(51.4%)	
العمر(سنة)	40[24 - 60]	36[22 - 60]	0.5

من الجدول السابق لم نلاحظ وجود فروقات إحصائية فيما يتعلق بالعمر والجنس، وبالتالي فإن المجموعتين متماثلتين من الناحية العمرية والجنسية.

متوسط قيم القياسات السريرية الخاصة بتشخيص جفاف العين:

تم استخدام اختبار الـ One way ANOVA لمقارنة نتائج هذه القياسات بين مجموعة الشواهد ومجموعتي مرضى جفاف العين، ولوحظ أن القيم المتوسطة لقياس الـ OSDI كانت في تزايد ملحوظ مع زيادة شدة جفاف العين في حين كانت قيم Schirmer 1, TBUT في انخفاض مع وجود فروقات إحصائية بالنسبة لكافة المقاييس.

جدول (2) مقارنة القيم المتوسطة للقياسات السريرية لجفاف العين (OSDI, TBUT, Schirmer1)

بين مجموعة الشواهد ومجموعتي مرضى جفاف العين.

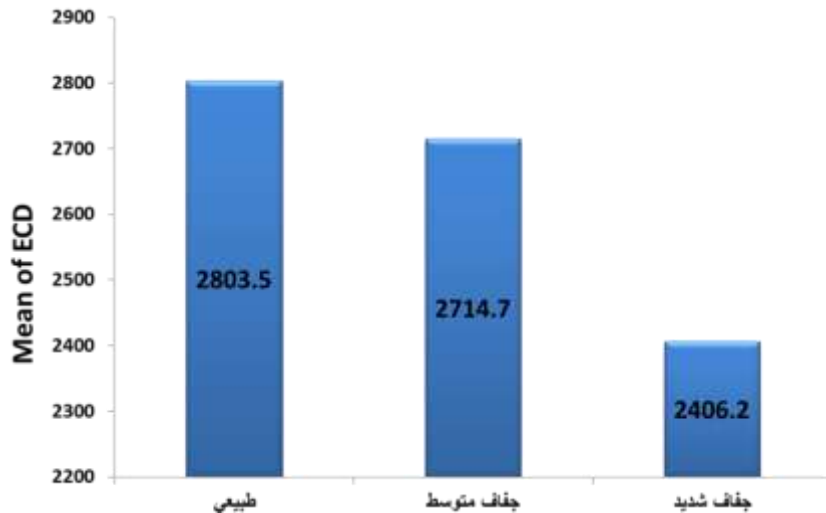
القياسات السريرية لشدة جفاف العين	الطبيعي	جفاف متوسط	جفاف شديد	P-value
OSDI	12.8 ± 3.9	26.9 ± 3.8	65.3 ± 13.9	0.001
Schirmer 1	18.07 ± 3.2	14.3 ± 2.06	12.3 ± 0.9	0.001
TBUT	11.25 ± 1.9	7.1 ± 0.8	4.4 ± 0.9	0.001

مقارنة القيم المتوسطة لمتغيرات خلايا بطانة القرنية وثخانة القرنية المركزية: حيث شملت متغيرات بطانة القرنية كثافة الخلايا البطانية (ECD) Endothelial cell density ونسبة خلايا البطانة السداسية (EX) percentage of hexagonal cells ومعامل التغير في حجم خلايا البطانة (CV) coefficient of variation.

جدول (3) مقارنة القيم المتوسطة ل ECD وEX ومعامل التغير في الحجم CV و ثخانة القرنية المركزية (CCT) central corneal thickness بين مجموعة الشواهد ومجموعتي مرضى جفاف العين

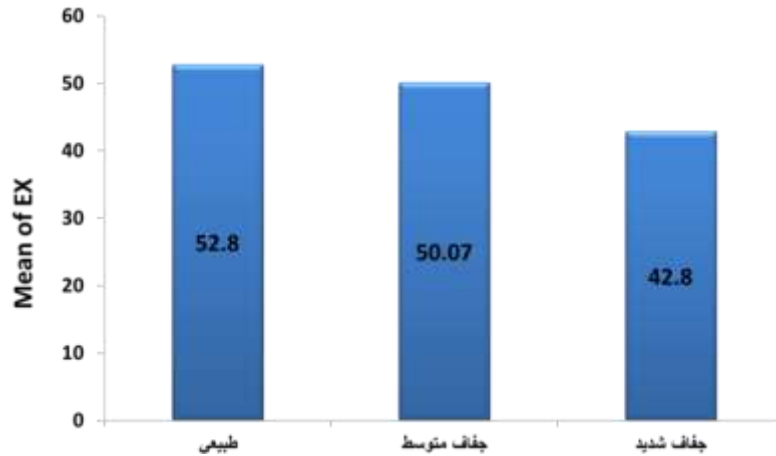
	الطبيعي	جفاف متوسط	جفاف شديد	P-value
ECD	2803.5 ± 159.7	2714.7 ± 38.1	2406.2 ± 129.7	0.001
EX	52.8 ± 5.3	50.07 ± 1.8	42.8 ± 3.9	0.001
CV	35.7 ± 3.5	42.3 ± 1.8	47.3 ± 3.5	0.001
CCT	579 ± 16.1	568.7 ± 20.1	543.1 ± 23.1	0.001

أظهرت الدراسة أن متوسط قيم كثافة خلايا بطانة القرنية كان أقل بشكل هام عند مرضى جفاف العين المتوسط (38,1±2714) خلية/ملم² والشديد (129,7±2406) خلية/ملم² من مجموعة الشواهد (159,7±2803) خلية/ملم²، (P=0,001).



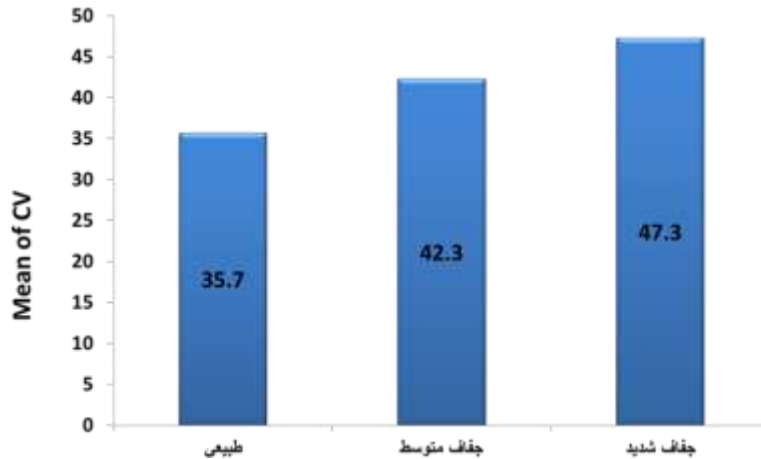
الشكل (2) القيم المتوسطة لكثافة الخلايا بطانة القرنية عند عينة الدراسة

وكان متوسط قيم نسبة خلايا بطانة القرنية السداسية أخفض عند مجموعة مرضى جفاف العين المتوسط (1,8±50,07) % والشديد (3,9± 42,8) % مقارنة بمجموعة الشواهد (5,3±52,8) % مع وجود فروقات ذات دلالة إحصائية (P = 0,001).



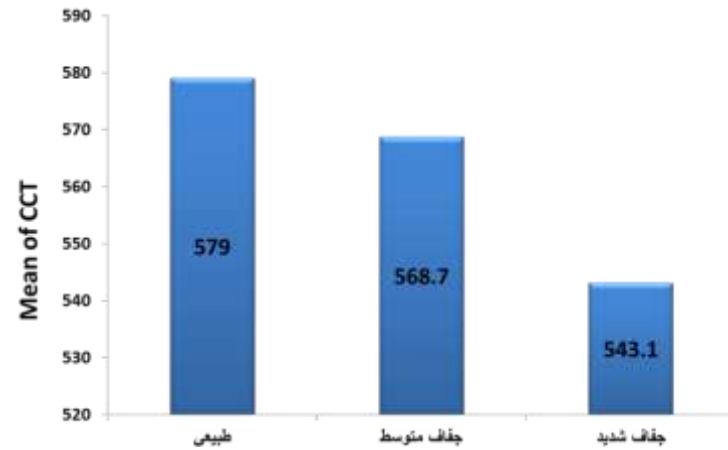
الشكل (3) القيم المتوسطة لنسبة الخلايا السداسية البطانية EX عند مجموعات مرضى عينة الدراسة.

ولوحظ أن متوسط قيمة CV كان أعلى في مجموعة مرضى جفاف العين المتوسط ($1,8 \pm 42,3$) والشديد ($3,5 \pm 47,3$) مقارنة بمجموعة الشواهد ($3,5 \pm 35,7$) مع وجود فروقات ذات دلالة إحصائية ($P=0,001$)



الشكل (4) القيم المتوسطة لمعامل تغير حجم الخلايا البطانية عند مجموعات عينة الدراسة

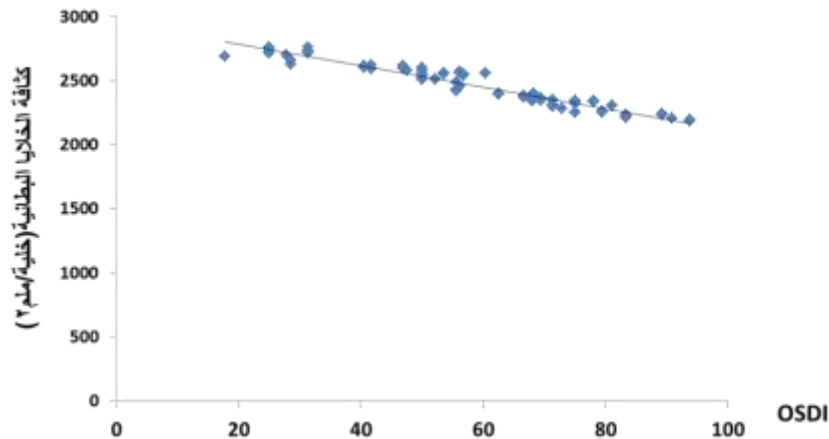
في حين كان متوسط قيم ثخانة القرنية المركزية أخفض في مجموعة مرضى جفاف العين المتوسط ($20,1 \pm 568,7$) ميكرون والشديد ($23,1 \pm 543,1$) ميكرون مقارنة بمجموعة الشواهد ($16,2 \pm 579$) ميكرون مع وجود فروقات ذات دلالة إحصائية ($P=0,001$)



الشكل (5) القيم المتوسطة لثخانة القرنية المركزية CCT عند مجموعات عينة الدراسة

العلاقة بين كثافة الخلايا البطانية ECD وقياس شدة جفاف العين اعتماداً على الـ OSDI

تمت دراسة العلاقة ما بين كثافة الخلايا البطانية وشدة جفاف العين بالاعتماد على مقياس الـ OSDI باستخدام معامل الارتباط (Pearson Correlation) وبلغت قيمة معامل الارتباط $(r = -0,5)$ وبالتالي وجود علاقة ارتباط عكسية بين المتغيرين المدروسين، أي كلما ازدادت شدة جفاف العين بالاعتماد على قيم مقياس الـ OSDI تتخضع كثافة خلايا بطانة القرنية مع $(P=0,001)$



الشكل (6) العلاقة بين كثافة خلايا بطانة القرنية وشدة جفاف العين وفق الـ OSDI

المناقشة:

استنتجت دراستنا أن كثافة خلايا بطانة القرنية كانت أقل في مجموعتي جفاف العين المتوسط والشديد مقارنة مع مجموعة الشواهد المتماثلة معها من ناحية العمر والجنس، كما أظهرت وجود ارتباط مهم بين زيادة شدة جفاف العين وفق مشعر الأعراض السريرية OSDI وانخفاض كثافة خلايا بطانة القرنية.

ويمكن أن تعزى هذه التغيرات إلى أن نقص التعصيب القرني تحت القاعدي الذي يحصل عند مرضى العين الجافة [7] ، قد يترافق مع نقص الدعم التغذوي العصبي مؤدياً إلى خسارة هذه الخلايا. حيث أكدت العديد من الدراسات أن الوظيفة التغذوية العصبية لأعصاب القرنية لا تقتصر على الظهارة وإنما تشمل كل طبقات القرنية بما فيها

البطانة [10,11] ، ومما يدعم هذه الفرضية ترافق نقص التعصيب القرني تحت القاعدي مع انخفاض كثافة خلايا البطانة في العديد من الأمراض أيضاً كالسكري [5] ، ارتداء العدسات اللاصقة [12] ، الإصابة بالحلأ البسيط [13] . وأظهر تحليل نتائج دراستنا أن متوسط نسبة خلايا البطانة السداسية كان أقل في مجموعة جفاف العين المتوسط (1,8±50,7) % والشديد (3,9±42,8) % مقارنة مع الشواهد (5,3±52,8) % مع فروق هامة احصائياً بين المجموعات.

وتشابهت نتائجنا مع نتائج دراسة Rania Fahmy [8] حيث وجدت أن متوسط قيم EX كان أقل في مجموعة جفاف العين المتوسط (5,2± 66,3) % والشديد (6,9±65,3) % مقارنة بمجموعة الشاهد (3,5±68,1) %، مع اختلاف أن متوسط قيم ال EX كان أعلى في مجموعة Rania Fahmy من متوسط القيم في دراستنا ويمكن أن يعود السبب إلى اختلاف الفئة العمرية بين الدراستين حيث شملت دراستنا الأعمار من (22-60) سنة بينما كانت في الدراسة الأخرى (19-25) سنة، حيث أن قيم EX تتناقص مع التقدم بالعمر [14] .

وبالتالي فإن دراستنا بالتوافق مع الدراسة الأخرى توفر دليلاً على أن جفاف العين يؤثر على الخلايا الطبيعية لبطانة القرنية يزداد هذا التأثير مع زيادة شدة جفاف العين.

أما فيما يتعلق بمتوسط قيم ال CV فقد أظهرت دراستنا أن هذه القيم كانت أعلى في مجموعة جفاف العين المتوسط (1,8±42,3) والشديد (3,5±47,3) مقارنة بمجموعة الشواهد (3,5±35,7) مع فروق هامة بين المجموعات. ويعود هذا التغيير إلى أن نقص خلايا البطانة يؤدي إلى تحرك خلايا البطانة المجاورة للأذية لتزيد حجمها وتملاً الفراغ [15] ، ومن الملاحظ في دراستنا أن هذه الآلية تزداد مع زيادة شدة جفاف العين.

بينما أظهرت نتائج دراسة Rania Fahmy [8] تأرجح لقيم ال CV، فكانت القيم في مجموعة جفاف العين المتوسط (4,3±27,2) والشديد (3,6±25,5) بينما في مجموعة الشواهد (3,6±25). وقد يعود هذا الاختلاف إلى اختلاف توزيع مجموعات جفاف العين بين الدراستين أو اقتصار الدراسة الأخرى على الفئة العمرية الشابة.

في حين كانت ثخانة القرنية المركزية أقل في مجموعة جفاف العين المتوسط (20,1±568,7) ميكرون والشديد (23,1±543,1) ميكرون مقارنة بمجموعة الشاهد (16,1±579) ميكرون مع فروق هامة احصائياً.

ويمكن أن يفسر الانخفاض في ثخانة القرنية المركزية عند مرضى العين الجافة بأن نقص تشكل فيلم الدمع أو زيادة تبخره يؤدي إلى نقص ثخانة طبقة فيلم الدمع والتي تبلغ عادة 3-40 ميكرون [16] .

كما أنه يسبب فرط أسمولية الدمع الذي يساهم في تحفيز الفعالية الالتهابية والتي بدورها تدفع خلايا الظهارة لإنتاج السيتوكينات مفاضة بذلك الحلقة الالتهابية [17] مما يفعل آلية الموت المبرمج لخلايا الظهارة السطحية [18] .

وبمقارنة هذه النتائج مع نتائج دراستين [19,20] واللذان قامتا بدراسة ثخانة القرنية المركزية مرضى جفاف العين وجدت النتائج مشابهة حيث انخفضت ثخانة القرنية المركزية في مرضى العين الجافة مقارنة بالشواهد.

مع اختلاف أن الدراسة الأولى استخدمت ال Orbscan System Topography أما الدراسة الثانية استخدمت جهاز Scheimpflug photography.

أما بالنسبة لقيم قياسات جفاف العين فقد وجدت دراستنا أن قيم شيرمر I كانت أقل في مجموعتي جفاف العين مقارنة بمجموعة الشواهد، ولكن متوسط القيم كان ضمن الحدود الطبيعية ويعود ذلك إلى تفاوت نتائج اختبار شيرمر I بين المرضى وأحياناً المريض نفسه. فعلى الرغم من أن اختبار شيرمر واحد من أكثر الاختبارات استعمالاً في تشخيص جفاف العين إلا أن طبيعة الاختبار الطويلة المدة وحقيقة أن المرضى يعتبرونه مخرش وغازي تقلل من مصداقيته وموثوقيته وتجعله يحمل سلبية كاذبة عالية [21,22].

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

1. جفاف العين المتوسط والشديد يسبب نقص هام في كثافة خلايا بطانة القرنية يزداد هذا النقص مع زيادة شدة الأعراض السريرية لجفاف العين.
2. وجود نقص هام في نسبة خلايا بطانة القرنية السداسية وثخانة القرنية المركزية وازدياد مهم لمعامل تغير حجم خلايا البطانة في مجموعتي جفاف العين المتوسط والشديد ترتبط هذه التغيرات بشكل هام مع زيادة شدة جفاف العين سريرياً وفق ال OSDI
3. اختبار شيرمر I يحمل سلبية كاذبة وهذا يعني أن قيم شيرمر I الطبيعية لا تعني بالضرورة سلبية وجود جفاف العين.

التوصيات:

1. اعتبار جفاف العين المتوسط والشديد عامل خطر عالي لنقص كثافة خلايا بطانة القرنية
2. اجراء اختبار ال TBUT ومشعر الأعراض السريرية OSDI لدى المرضى الذين سيخضعون لإجراءات جراحية داخل المقلة.
3. اجراء قياس لكثافة خلايا بطانة القرنية قبل الإجراءات الجراحية داخل المقلة لمرضى جفاف العين المتوسط والشديد لاتخاذ الإجراءات اللازمة أثناء الجراحة.
4. بما أن قيم ثخانة القرنية المركزية تؤثر على قيم الضغط داخل المقلة، يجب الأخذ بعين الاعتبار قيم ال CCT لدى مرضى جفاف العين المتوسط والشديد عند قياس ضغط العين.

المراجع:

- 1.The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007) Ocul Surf. 2007;5(2):93–107.
2. Friedman NJ. Impact of dry eye disease and treatment on quality of life. Curr Opin Ophthalmol. 2010;21(4):310–316.
- 3.External Disease and Cornea. External Disease and Cornea.Basic and Clinical Science Course,Section 8, American Academy Of Ophthalmology 2014-2015.
4. Alhatem A, Cavalcanti B, Hamrah P. In vivo confocal microscopy in dry eye disease and related conditions. Semin Ophthalmol. 2012; 27:138–148.

5. Sudhir RR, Raman R, Sharma T. Changes in the corneal endothelial cell density and morphology in patients with type 2 diabetes mellitus: a population-based study, Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy and Molecular Genetics Study (SN-DREAMS, Report 23) *Cornea*. 2012;31(10):1119–1122.
6. Suleiman Y. Comparison of the count of corneal endothel-cells, the proportion of hexagonal-cells and the corneal thickness in individuals who have a myopic astigmatism with other persons who have a hyperopic astigmatism. *Tishreen University Journal .Health Sciences Series Vol. 40 No. 4* 2018 ,pages;73-79.
7. Kheirkhah A, Saboo US, Abud TB, et al. Reduced corneal endothelial cell density in patients with dry eye disease. *Am J Ophthalmol*. 2015;159:1022–1026
8. Fahmy R. Correlation between Corneal Endothelial Cell Characteristics and Dry Eye Disease. *Med Surg Ophthal Res vol 1.No 1* 2018,pages;270-277.
9. Walt JG, Rowe MM. Evaluating the functional impact of dry eye: The Ocular Surface Disease Index. *Drug Inf J*. 1997;31:1436
10. You L, Kruse FE, Volcker HE. Neurotrophic factors in the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41(3):692–702.
11. Koh SW, Yue BY. VIP stimulation of cAMP production in corneal endothelial cells in tissue and organ cultures. *Cornea*. 2002;21(3):270–274.
12. Efron N. Contact lens-induced changes in the anterior eye as observed in vivo with the confocal microscope. *Prog Retin Eye Res*. 2007;26(4):398–436.
13. Nagy RM, McFall RC, Sery TW, Nagle BT, McGreevy LM. Scanning electron microscope study of herpes simplex virus experimental disciform keratitis. *Br J Ophthalmol*. 1978;62(12):838–842.
14. Darwish T. Corneal Endothelial Cell Density and Morphology in Healthy Syrian eyes. *Tishreen University J.Health Sciences Series Vol 40 No 3*, 2018, pages:399-407.
15. Edelhauser HF. The balance between corneal transparency and edema: The Proctor Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(5):1754–67.
16. Sanchis-Gimeno JA, Herrera M, Alonso L, Rahhal MS, Martinez Soriano F. Morphometric differences between normal and dry eyes. *Eur J Anat*. 2005;9(3):143–148.
17. 2007 report of international dry eye workshop (DEWS) *Ocular Surf*. 2007;5(2):65–204.
18. Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflug-felder SC. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(1):124–129.
19. Sanchis-Gimeno JA, Herrera M, Sánchez-del-Campo F, Martínez-Soriano F. Differences in ocular dimensions between normal and dry eyes. *Surg Radiol Anat*. 2006;28(3):267–270.
20. Meyer LM, Kronschläger M, Wegener AR. Schleimpflug photography detects alterations in corneal density and thickness in patients with dry eye disease. *Ophthalmologe*. 2014;111(10):914–919.
21. Feldman F, Wood M. Evaluation of the Schirmer tear test. *Can J Ophthalmol*. 1979; 14:257–259.
22. Nichols KK, Mitchell GL, Zadnik K. The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea*. 2004; 23:272–285.