الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

الجامعة السورية الخاصة

كلية الطب البشري

قسم الجراحة

كثافة خلايا البطانة القرنية وشكلها عند الأصحاء في سوريا

Questionnaire for the Corneal Endothelial Cell Density and Morphology in Healthy Syrian Eyes

رسالة جامعية أعدّت لنيل درجة إجازة دكتور في الطب البشري M.D

أُعدّت في قسم الجراحة في الجامعة السورية الخاصة

بإشراف

أ.د. يسرى حدة

رئيس القسم

أ.د. يوسف دياب

إعداد الطالبة

ساره محمد رامز الخطيب

العام الدراسي: 2024-2023

كلمة الشكر والتقدير والعرفان

وأن أعظم فضل يتفضل الله به على العبد هو العلم، فالحمد لله الذي ما تم جهد ولا ختم سعيٌ إلا بفضله، مَنَّ الله عليَّ في هذا اليوم بالنجاح والتخرج...

أول مشكور هو الله عز وجل..

ثم والداي على كل مجهوداتهم منذ ولادتي إلى هذه اللحظات، اللذان سهرا على تربيتي وتعليمي منذ أن بدأت حياتي...

يسرني أن أوجه شكري لكل من نصحني أو أرشدني أو وجهني أو ساهم معي في إعداد هذا البحث بإيصالي للمراجع والمصادر المطلوبة في أي مرحلة من مراحله...

وأشكر على وجه الخصوص أستاذتي الفاضلة الدكتورة يسرى حدة

على مساندتي وإرشادي بالنصح والتصحيح. . .

وأود أيضاً أن أشكر المعلمين في كليتي وبشكل خاص الدكتورة عفراء

سليمان والدكتورة تغريد حمود على إرشاداتهم القيمة طوال فترة

دراستي، فقد زودتني ملاحظاتهم بالخبرة الصحيحة التي مكنتني من

اختيار الاتجاه الصحيح وإكمال رسالتي بنجاح. . .

كما أن شكري موجه لإدارة كلية الطب البشري في الجامعة السورية

الخاصة لتوفير أفضل بيئة لتدريس الطب في أفضل الأحوال التي تلائم طلبة

العلم. . .

الدكتورة ساره محمد رامز الخطيب

قائمة المحتويات list of Content:

قائمة الإختصارات List of Abbreviations: V
قائمة الجداول List of Tables: VI
قائمة الصور والأشكال Graphics: VI
ملخص الدراسة العملية: VII
الملخص باللغة الإنجليزية: IX
1. مقدمة Introduction: ... 2
2. لمحة جنينية عن القرنية Embryology: . 3
3. لمحة تشريحية وفيزيولوجية Anatomy and Physiology: 5
3.1 طبقة الخلايا الظهارية Epithelial cell layer: 6
3.2 طبقة بومان أو غشاء بومان Bowman's membrane: 7
3.3 الطبقة اللُحمية Stromal layer: 7
3.4 طبقة دوا Dua's Layer: 7
3.5 غشاء ديسميه Descemet's membrane: 8
3.6 طبقة الخلايا البطانية Endothelial cell layer: 8
3.7 الحوف limb: 8
4. تعصيب القرنية Corneal innervation: 9
5. تعداد وكثافة بطانة القرنية Corneal cell count and density: 9
6. العوامل المؤثرة على كثافة خلايا بطانة القرنية Influencing factors: 10
7. ثخانة القرنية المركزي Central Corneal Thickness: 11
8. دراسة بطانة القرنية Corneal endothelial study: 12
8.1. قياس خلايا بطانة القرنية Measurement of the Endothelium: 12
8.2. تعداد خلايا بطانة القرنية ECD: 13
9. الطرق المستخدمة لدراسة خلايا البطانية Methods used to study endothelial cells: 14
9.1. المجهر المرآوي Specular microscopy: 15
9.2. جهاز التعداد المستخدم في الدراسة PERSEUS: 17
1. أهمية البحث Scientific research importance: 20
2. أهداف البحث Scientific research objectives: . 20
3. مواصفات العينة وحجمها Sample specifications and size: 20
4. طرائق ومواد الفحص Methods and materials: 22
5. النتائج Results: . 24
6. المناقشة Discussion: 29
7. قائمة المراجع List of References: .. 34

قائمة الإختصارات List of Abbreviations:

ECD	**Endothelium cell density**
EX	**Percentage of hexagonal cells**
CV	**Coefficient of Variations in cell size**
MCA	**Mean Cell area**
NCSM	**Non-contact specular microscopy**
CCT	**Central Corneal thickness**

قائمة الجداول List of Tables:

الجدول 1الخصائص الأساسية لدى المشاركين في البحث.....25

الجدول 2 القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين 27

الجدول 3 دراسة القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين باختلاف العمر 27

الجدول 4 دراسة القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين باختلاف الجنس 28

الجدول 5 يبين كثافة الخلايا البطانية (خلية\ ملم2) لدى العروق المختلفة.....31

الجدول6 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الهندية باختلاف العمر.....32

الجدول7 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الايرانية باختلاف العمر. 32

الجدول8 مقارنة كثافة الخلايا البطانية بين كل من العمر والجنس لدى الاصحاء في ألمانيا.....32

الجدول9 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الصينية باختلاف العمر.....33

الجدول10 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الفلبينية باختلاف العمر. 33

قائمة الصور والأشكال Graphics:

الشكل 1طبقات القرنية 4

الشكل 2 التشكل الجنيني للقرنية 4

الشكل 3 مقطع نسيجي لطبقات القرنية 13 6

الشكل 4 صورة لخلايا بطانة القرنية بواسطة المجهر البراق 60 16

الشكل 5 لتقنيات الأربعة المستخدمة لتحليل خلايا البطانة القرنية [57] 17

الشكل 6 جهاز التعداد المستخدم في الدراسة [61] 18

الشكل 7التوزع النسبي للمشاركين حسب العمر 26

الشكل 8 التوزع النسبي حسب الجنس 26

ملخص الدراسة العملية:

هدف البحث: دراسة كثافة خلايا البطانة القرنية وشكلها عند الأصحاء في سوريا ومقارنة خصائص خلايا بطانة القرنية عند المجتمع السوري مع القيم المذكورة للمجتمعات الآخرى.

الطرائق والمواد: تم إجراء فحص بطانة القرنية بالمجهر المرآوي لـ 260 مواطن سوري (520 عين) (العمر بين 18_96 سنة)، تمت دراسة المعايير التالية متوسط كثافة الخلايا، وسطي مساحة الخلية، معامل تغير حجم الخلايا، نسبة الخلايا السداسية.

النتائج: كان متوسط كثافة الخلايا 1189 ± 326، ومتوسط نسبة الخلايا السداسية 47.75% ± 5.8%، ومتوسط معامل التغاير 0.4 ± 0.05، ومتوسط وسطي مساحة الخلية 452 ± 90، بينت الدراسة أنه يوجد اختلاف بين الجنسين في متوسطات قيم معامل التغاير ووسطي مساحة الخلية (الدلالة الإحصائية 0.007و 0.013) على التوالي ويوجد اختلاف في كثافة الخلايا البطانية (ESD)، نسبة معامل التغاير (CV)، ومتوسط ثخانة القرنية المركزي (CCT)، ونسبة الخلايا السداسية (EX) حيث الدلالة الإحصائية (0.000،0.000،0.000،0،006،0.000) على التوالي.

الخلاصة: تم تسجيل القيم الطبيعية لطبقة خلايا البطانة القرنية لدى الأصحاء في سوريا. هذه المعلومات أضافت للمعرفة حول خصائص الخلايا البطانية القرنية في العيون السليمة للأفراد في سوريا ويمكن استخدامها عند المقارنة بالمجتمعات الأخرى.

كلمات مفتاحية: القرنية، الخلايا البطانية، المجهر المرآوي، سوريا.

الملخص باللغة الإنجليزية:

purpose: To study corneal endothelial cell density and morphology in healthy Syrian eyes and compare endothelial cell characteristics in the Syrian population with data available in the literature for other populations.

Methods and materials: Specular microscopy was performed in 520 eyes of 260 healthy Syrian volunteers, 18 to 96 years of age, Parameters studied included endothelial cell density (CD), cell area (CA), coefficient of variation (CV) in cell area, and percent of hexagonally (EX)

Results: The mean cell density was 1189 ± 326, the mean percentage of hexagonal cells was 47.75% ± 5.8%, the mean coefficient of variation was 0.4 ± 0.05, and the mean cell area was 452 ± 90, The study showed that there is a difference between the sexes in the mean values of the coefficient of variation and the mean cell area (statistical significance 0.007 and 0.013), respectively, and there is a difference in the endothelial cell density (ESD), the coefficient of variation (CV), the mean central corneal thickness (CCT), and the percentage of Hexagonal cells (EX), where the statistical significance is (0.000, 0.000, 0.000, 0,006, 0.000), respectively.

Conclusion: Normative data for the corneal endothelium in the Syrian population are reported. Our data add to the knowledge about endothelial cell parameters in Syrian eyes and serve as a baseline for comparative studies with other populations.

Keyword: Cornea, endothelial cells, specular microscopy

الإطار النظري

Theoretical framework

1. مقدمة Introduction:

بطانة القرنية السليمة ضرورية للحفاظ على شفافية القرنية [2,1] بما أن الإنقسام الفعال للبطانة القرنية الطبيعية غير عادي فقد لوحظ النقص التدريجي بكثافة الخلايا مع العمر [4,3] مع غياب الإستجابة التكاثرية لنقص الخلايا فإن الخلايا البطانية المغطية للوجه الخلفي للقرنية يحافظ عليها بالزيادة التدريجية بحجم الخلايا المتبقية مما يؤدي لزيادة التفاوت في حجم الخلايا ونقص نسبة الخلايا السداسية مع العمر [3,6].

معرفة هذه التغيرات بالأشخاص الأصحاء ضروري لأن لهذه المعلومات صلة بالعناية السريرية للمرضى والدراسات البحثية.

قبل عام 1970 كان دراسة البطانة القرنية تتم فقط بالفحص المجهري الحيوي لتقييم التثنيات والترسبات القرنية وغوتات.

في هذه الأيام الفحص بالمجهر المرآوي غير التماسي (specular microscpe) جعل تقييم البطانة ممكنا حيث أن تصوير البطانة غير التماسي يقلل خطر أذية الظهارة ونقل الإنتان.

الهدف من التحميل الكمي بواسطة المجهر المرآوي هو وضع قيم للخلايا البطانية تستطيع إعطاء قياس لحالتها الوظيفية.

لقد أصبح قياس كثافة الخلايا البطانية ومساحة الخلية ومعامل تغير حجم الخلايا ونسبة الخلايا السداسية ممكنا.

لقد تم استخدام المجهر المرآوي غير التماسي لتبيان القيم الطبيعية الخاصة بالخلايا البطانية القرنية ومقارنتها بالمجموعات العرقية [7,9] وحسب الجنس [7 ،8، 10]هذه المعايير تعطي مؤشر عن السعة الوظيفية للبطانة.

القيم الطبيعية الخاصة بكثافة وشكل الخلايا البطانية القرنية ضرورية لأنها تسهل تقييم الاحتياطي المدخر الوظيفي للبطانة عند الأفراد أظهرت لدراسات وجود اختلافات مهمة بهذه المشعرات بين العروق [11,9,6,2] لذلك فان كثافة خلايا البطانة القرنية وشكلها لدى الأفراد في سوريا قد تختلف عن العروق الآخرى وحسب معرفتنا لا توجد دراسة حول هذه المشعرات عند الأفراد في سوريا لذلك تم إجراء هذه الدراسة من أجل معرفة كثافة الخلايا البطانية وشكلها وعلاقتها بالعمر والجنس.

2. لمحة جنينية عن القرنية Embryology:

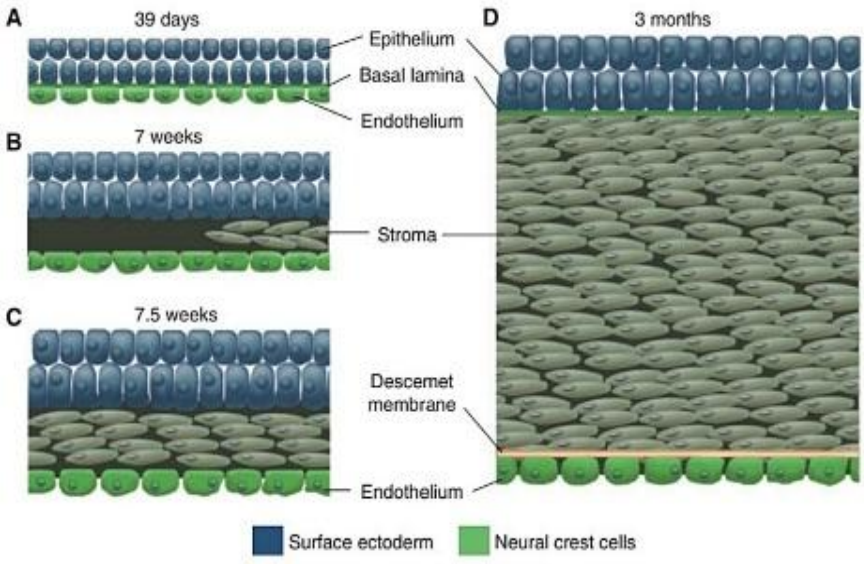
يبدأ تطور القرنية في اليوم 33 من الحمل، بعد انفصال كوب العدسة عن سطح الأديم الظاهر وتُشتق ظهارة القرنية من الأديم الظاهر السطحي، في حين أن البطانة والأورمات الليفية التي تنتج سدى القرنية مشتقة من خلايا القمة العصبية. [13]

يتم تحديد القطر النهائي للقرنية بقطر الكأس البصري وتعتبر قرنية الجنين رطبة جدًا مقارنة بالشكل البالغ، وبالتالي فهي شفافة وليست شفيفة والخطوة الأولى في تطور القرنية هي إنتاج ظهارة ثنائية الطبقات وغشاء قاعدي منفصل عن طبقة ثنائية (أو في بعض الأحيان ثلاثية الطبقات) من الخلايا البطانية والغشاء القاعدي المرتبط بها. [15]

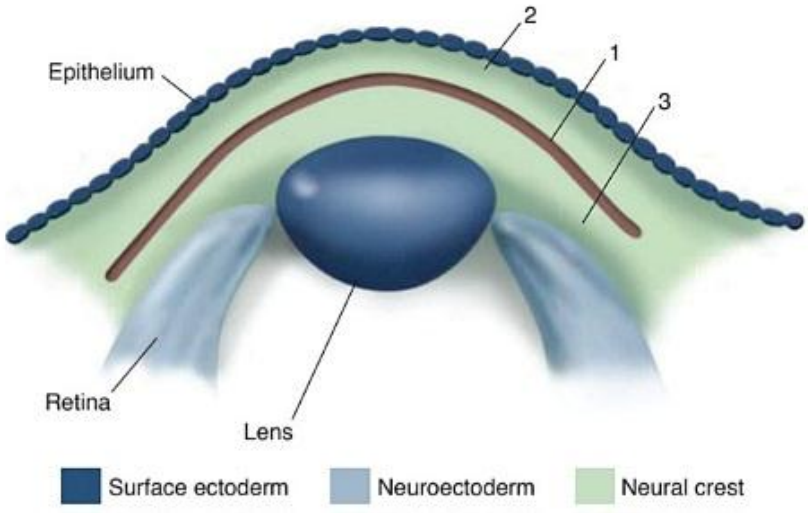
في حوالي 7 أسابيع من الحمل، يتم تكوين سدى بدائي، يتم اختراقه بواسطة الخلايا الليفية التي تنتج ألياف الكولاجين وبحلول الشهر الثالث، تكون السدى عبارة عن بنية من 25 إلى 30 طبقة، وغشاء ديسميه الرقيق موجود، والبطانة تكون قد أصبحت طبقة واحدة. [12]

بحلول 5 أشهر، تكون أعصاب القرنية موجودة وفي الشهر السادس تصل القرنية إلى شكلها النهائي لا تشكل القرنية كرة مثالية، حيث أن متوسط قطرها الأفقي (11.7 مم) أكبر من متوسط قطرها العمودي

(10.6 مم). يبلغ نصف قطر انحناء السطح الأمامي للقرنية 7.8 مم تقريبًا بينما يبلغ نصف قطر السطح الخلفي 6.5 مم. [14]



الشكل 1طبقات القرنية



الشكل 2 التشكل الجنيني للقرنية

كقاعدة عامة، يكون خط الزوال العمودي منحنيًا أكثر من الأفقي ويبلغ قياس القرنية 1.1 ملم في الحوف ويخف إلى 0.5 ملم مركزياً. معامل الانكسار للقرنية هو 1.36 (على عكس الخلط المائي، الذي له معامل انكسار 1.33). والشكل الأخير للقرنية عبارة عن بنية من خمس طبقات تتكون من ظهارة وغشاء بومان وسدى وغشاء ديسميه وبطانة. [15]

3. لمحة تشريحية وفيزيولوجية Anatomy and Physiology:

القرنية هي نسيج شفاف غير موعى قطرها الأفقي 11–12 ملم أفقياً و10–11 ملم عمودياً، وتبلغ قرينة انكسارها1.376 تعتمد القرنية في تغذيتها على الغلوكوز المنتشر من الخلط المائي والأكسجين المنتشر من فيلم الدمع، إضافة إلى ذلك يتم تزويد القرنية المحيطية بالأكسجين من الدوران اللمي.

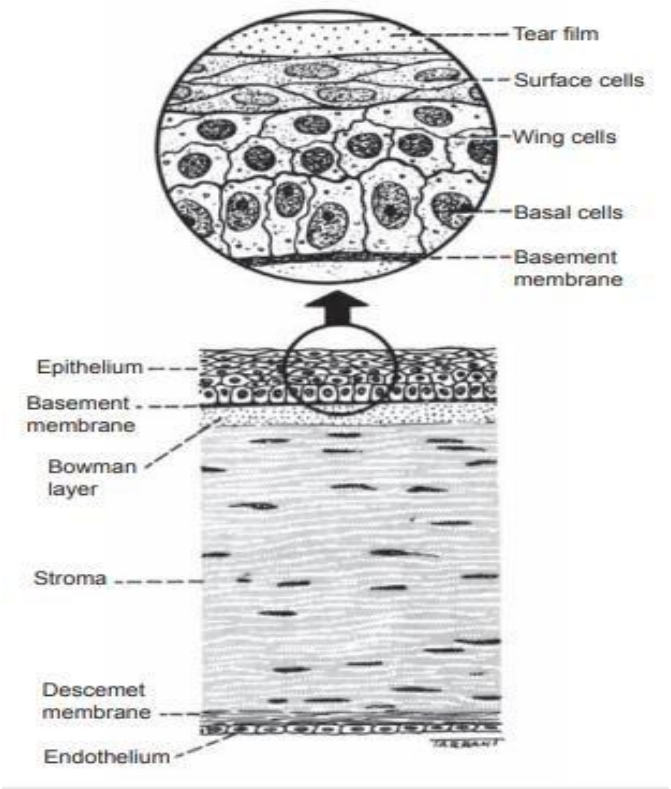
تعتبر القرنية من أغنى نسج الجسم كثافة بالنهايات العصبية، كما أن حساسية القرنية أعلى بـ 100 مرة من حساسية الملتحمة، الألياف العصبية الحسية تمتد من الأعصاب الهدبية الطويلة وتشكل ضفيرة تحت ظهارية.

تتكون القرنية من مكونات خلوية ومكونات لا خلوية:

المكونات الخلوية: هي الخلايا الظهارية، الخلايا القرنية والخلايا البطانية.

المكونات اللا خلوية: تشمل الكولاجين والغلوكوز أمين وغليكان.

تتضمن طبقات القرنية: الظهارة، غشاء بومان، اللحمة، غشاء ديسميه والبطانة [13].



الشكل 3 مقطع نسيجي لطبقات القرنية 13

3.1. طبقة الخلايا الظهارية Epithelial cell layer:

الظهارة القرنية مطبقة حرشفية غير متقرنة، تشكل 5% من ثخانة القرنية، تتوسف الخلايا السطحية وتطرح في فيلم الدمع بعد فترة مدتها 7–14 يوم، ولا تتندب بسبب قدرتها العالية على التجدد [14].

تشكل الظهارة وفيلم الدمع سطح بصري أملس، كما تمنع الارتباطات القوية بين الخلايا الظهارية السطحية نفوذ فيلم الدمع إلى اللحمة [15].

يبلغ متوسط ثخانة الظهارة القرنية 53.4±4.6 ميكرون دون وجود فروق هامة إحصائيا من الناحية الجنسية أو العمرية [16].

3.2. طبقة بومان أو غشاء بومان Bowman's membrane:

عندما تتم مناقشتها ككيان منفصل عن الغشاء القاعدي تحت الظهارة، يمكن وصف طبقة بومان بأنها منطقة غير منتظمة، تتكون بشكل أساسي من ألياف كولاجين منسوجة عشوائياً ولكنها منسوجة بإحكام. تتفاعل هذه الألياف مع بعضها البعض وتربطها ببعضها البعض. تتراوح هذه الطبقة من 8 إلى 14 ميكرومتر [15]

3.3. الطبقة اللُحمية Stromal layer:

تشكل حوالي 85% من ثخانة القرنية، وتتألف من خلايا قرنية منتجة للكولاجين، مادة أساسية، وألياف من الكولاجين مرتبة في حوالي 200 صفيحة متوازية تمتد من اللم إلى اللم، وهي المسؤولة عن القوة الميكانيكية للقرنية. تتجمع بشكل متقارب بأكثر في الثلثين الأماميين من القرنية، وفي المحور أو مقابل الحدقة من القرنية، أكثر مما هي عليه في الجزء المحيطي من القرنية [13].

3.4. طبقة دوا Dua's Layer:

وهي طبقة مكتشفة حديثاً، سميت على اسم الباحث الذي قام باكتشافها **البروفيسور هارميندر دوا** **Prof Harminder Dua** حيث قام بتأكيد وجودها مع مجموعة من الباحثين البريطانيين من خلال حقنهم للهواء في رقعة من القرنية لفصل الطبقات عن بعضها البعض، ثم فحصوا الطبقات تحت المجهر الالكتروني (الشكل 2)، ووجدوا طبقة يبلغ سمكها 15 ميكرون، ترتيبها الاربع بين الطبقات، تتوضع قبل غشاء ديسميه، وهي متينة بشكل كبير وقوية بما فيه الكفاية لمقاومة ١,٥ إلى ٢ بار من الضغط[17].

3.5. غشاء ديسميه Descemet's membrane:

طبقة خلوية رقيقة تعمل بمثابة الغشاء القاعدي المعدل لبطانة القرنية، التي تشتق منها الخلايا. وتتكون هذه الطبقة بشكل رئيسي من ليفات من النوع الرابع من الكولاجين، وهو أقل صلابة من النوع الأول من الكولاجين، وتبلغ سماكته حوالي 5–20 ميكرومتر، حسب عمر الشخص. [15]

3.6. طبقة الخلايا البطانية Endothelial cell layer:

تحافظ طبقة البطانة على شفافية القرنية من خلال ضمان المحافظة على نسبة ثابتة تقريبا من الماء في لحمة القرنية (87%) [18]، وتنظم حالة الإماهة من خلال مضخة تعتمد على ATP adenosine triphosphate والبيكربونات وبالتالي تحافظ على شفوفية القرنية [19].

أبعاد خلية بطانة القرنية النموذجية تبلغ (5) ميكرون ارتفاعا، في حين يبلغ عرضها (18–20) ميكرون وتملك الخلية النموذجية نواة دائرية بقطر (7) ميكرون [20].

تمتلك بطانة القرنية أقل قدرة على الانقسام، وبالتالي فإن أذيتها أخطر من أذية أي جزء آخر من القرنية [21]، كما وتستجيب الخلايا البطانية للأذية الصغيرة من خلال تمددها وهجرتها مركزيا إلى مكان الأذية[22].

3.7. الحوف limb:

يبلغ عرض الحوف أو الوصلة القرنية من 1.5 إلى 2 مم وهي النقطة التي تصبح فيها القرنية متصلة مع الصلبة (هذا 1 مم خلف حوف الملتحمة). يتم تحديد الحوف التشريحي من خلال خط شوالبي ويقع خلف الحوف الجراحي قليلاً. يتميز السطح الخارجي بأخدود مشابه (التلم الصلب الداخلي) الذي يحتوي على الشبكة التربيقية وقناة شليم.

4. تعصيب القرنية Corneal innervation:

تعتبر القرنية واحدة من أكثر الأنسجة حساسية في الجسم، حيث تتغذي بكثافة بالألياف العصبية الحسية من خلال الفرع البصري للعصب الثلاثي عن طريق 70–80 من الأعصاب الهدبية الطويلة.

تشير الأبحاث إلى أن كثافة مستقبلات الألم في القرنية أكبر بمقدار 300–600 مرة من الجلد و20–40 مرة أكبر الأسنان، [18] مما يجعل أي ضرر لهيكلها مؤلما للغاية. [19]

تنتهي الأعصاب القرنية للطبقة تحت الظهارة بالقرب من الطبقة الظهارية السطحية للقرنية في نمط لولبي لوغاريتمي.[20] كثافة الأعصاب الظهارية تتناقص مع تقدم العمر، خاصة بعد العقد السابع.

5. تعداد وكثافة بطانة القرنية Corneal cell count and density:

تستمر كثافة الخلايا البطانية وتضاريسها في التغير طوال الحياة من العقد الثاني إلى الثامن من الحياة، حيث تنخفض كثافة الخلايا البطانية من (3000–4000) خلية/ملم2 إلى حوالي 2600 خلية/مم2، وتنخفض النسبة المئوية للخلايا السداسية من حوالي 75% إلى حوالي 60% [23].

السبب الأولي لفقدان خلايا بطانة القرنية مع الوقت هو الوقت بحد ذاته، مع تعداد خلايا بطانية مرتبط عكسيا مع العمر [18]. ويقدر معدل انخفاض كثافة الخلايا البطانية المركزية بمعدل متوسط 0.6%– 0.5% سنوياً في القرنيات الطبيعية [13].

إن القرنيات مع تعداد خلايا بطانية بين 2000 خلية/مم2 و1000 خلية/مم2 تكون أكثر عرضة لانكسار المعاوضة [24]، كما أن تعداد خلايا البطانة متغير على امتداد القرنية وهو أعلى في القرنية المحيطة بـ 9% إلى 10% من القرنية المركزية. هذا الفرق في التعداد على امتداد القرنية يكون أعلى عند المرضى الأكبر سناً، هذا الاختلاف ممكن أن يعزى إلى التجدد repopulation للخلايا

المحيطية من قبل الخلايا الجذعية القرنية اللمية أو تحسين الحيوية لخلايا بطانة القرنية المجاورة للتجمعات الحوفية الغنية بالبروتين [25]

6. العوامل المؤثرة على كثافة خلايا بطانة القرنية Influencing factors:

تنخفض بشكل هام في الحالات التالية:

جفاف العين [26]، التهاب القرنية التغذوي العصبي [27]، السكري [28]، التهاب القرنية بالحلأ البسيط [29]، متلازمة التوسف الكاذب [٣٠]، الزرق [٣١]، جراحة استئصال الساد [32]، حثول بطانة القرنية [33]، العمر، الحسر المتوسط والشديد والعدسات اللاصقة [٢٠]. إضافة إلى أن استخدام العدسات اللاصقة يسبب تغيرات شكلية في خلايا البطانة [٣٤].

لكن دراسة أجريت بعنوان (تغيرات الخلايا البطانية القرنية عند المرضى الحسيرين المستخدمين للعدسات اللاصقة الطرية) أظهرت أن الاستخدام اليومي للعدسات اللاصقة الطرية لمدة 6–36 شهر لا يسبب تغيرات شكلية في الخلايا البطانية القرنية لدى عينة من المرضى السوريين، وقد يكون ذلك بسبب نفوذية العدسة العالية للأكسجين وقصر فترة استخدام العدسات اللاصقة [٣٥].

كما بينت دراسة أجريت عام 2018 في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية أن تعداد الخلايا البطانية ونسبة الخلايا السداسية فيها يتأثران سلبا بازدياد درجة اللابؤرية [٣٦].

وأيضا في دراسة أخرى بعنوان (مقارنة تعداد خلايا بطانة القرنية ونسبة الخلايا السداسية منها وثخانة القرنية بين حالات اللابؤرية الحسرية والمدية (تبين أن تعداد خلايا بطانة القرنية وثخانة القرنية لدى الأفراد الذين لديهم لابؤرية حسرية أكبر منه عند الذين لديهم لا بؤرية مدية بفارق إحصائي مهم ونسبة الخلايا السداسية لدى المديين أكبر بشكل مهم إحصائيا منه عند الحسيرين [37]

7. ثخانة القرنية المركزي Central Corneal Thickness:

تعتبر ثخانة القرنية مؤشراً مهما عن الحالة الصحية للقرنية، فهي تقدر سلامة الحاجز القرني من حيث المرونة والقساوة، كما أنها تقدر سلامة المضخَّة البطانية التي تزيد من الثخانة عند وجود أي خلل فيها عبر إحداثها وذمة في القرنية [37]

تبلغ ثخانة القرنية المركزية الطبيعية بين (551 – 565) ميكرون، في حين بلغت سماكة القرنية المحيطية الطبيعية (612 – 640) ميكرون.

هنالك ازدياد تدريجي في ثخانة القرنية من المركز باتجاه المحيط بشكل طبيعي [37]، ويعود ذلك إلى زيادة كثافة ألياف الكولاجين في اللحمة المحيطية.

في وقتنا الحالي تلعب ثخانة القرنية المركزية دوراً هاماً جداً في الممارسة السريرية، خصوصاً بعد الانتشار الواسع للجراحة الانكسارية بأنواعها المختلفة: تمييع القرنية الموضع بالليزر (Lasik) ، قطع القرنية الضوئي الانكساري (PRK)، وتمييع لحمة القرنية السطحية بالليزر (Lasik)، حيث تتم قياس ثخانة القرنية المركزية (CCT) في هذا المجال قبل الجراحة كإجراء ماسح يساهم في تحديد إمكانية إجراء العمل الجراحي ونوعه، وتجرى بعد الجراحة أيضا لتقييم مدى نجاح العمل الجراحي و الاختلاطات التالية له إن وجدت، وإمكانية تصحيح هذه الاختلاطات [17].

توجد مجموعة من العوامل التي يعتقد أنها تؤثر على ثخانة القرنية كالعرق، العمر، الجنس، بعض الأدوية، أو حتى نوع الجهاز المستخدم في القياس [17].

أظهرت الدراسات أن قيم قياس ضغط العين تعتمد بشكل كبير أيضاً على ثخانة القرنية، فالقرنيات السَّميكة تعطي قيم عالية كاذبة للضغط العيني، والقرنيات الرقيقة تعطي قيم ضغط منخفضة بشكل

كاذب أيضا [38,39]، ويجب أن يؤخذ ذلك بعين الاعتبار عند تشخيص مرضى الزرق خاصة لدى كبار السن.

كذلك تبين أن ثخانة القرنية المركزية تتغير خلال فترة الحمل عند النساء، فقد لوحظ ازدياد هذه الثخانة في الثلث الثاني والثالث لدى الحوامل [40]، وتم تفسير ذلك على أنه بسبب التغيرات الهرمونية الحاصلة خلال الحمل، لذلك تم التأكيد على ضرورة عدم إجراء أي نوع من الجراحة الانكسارية لديهم لأن نتائجها ستكون غير متوقعة [41].

بذلك يعتبر قياس ثخانة القرنية المركزية مشعر حساس لصحة القرنية ويخدم كمشعر للإماهة والاستقلاب في القرنية [41]، وتتم قياس ثخانة القرنية المركزية بعدة طرق منها فحص القرنية باستخدام الأمواج فوق الصوتية (pachymeter)، إجراء طبوغرافيا كاملة للقرنية، أو قياسها بالمجهر المرآوي (Microscopy Specular)

8. دراسة بطانة القرنية Corneal endothelial study:

8.1. قياس خلايا بطانة القرنية Measurement of the Endothelium:

هو تقييم بنيوي استقرائي يعكس الاستطاعة الوظيفية للنسيج من خلال معيارين أساسيين لهذا التقييم:

8.2. تعداد خلايا بطانة القرنية ECD:

القياسات الشكلية لخلايا البطانة Morphological measurements of endothelial cells:

معامل تغاير الحجم (polymegathism) أي تنوع مناطق الخلايا (انتظام قياس الخلايا) تعدد الأشكال (pleomorphism) أي نسبة الخلايا السداسية (انتظام شكل الخلايا) [42].

- **بالنسبة لمعامل تغير حجم خلايا بطانة القرنية Efficient of variation (CV):**

الانحراف المعياري لمتوسط مساحة الخلية/متوسط مساحة الخلية وهو قياس لتماثل uniformity خلايا البطانة [43].

عندما تتموت خلايا بطانة القرنية تنسلخ من السطح الخلفي للقرنية إلى البيت الأمامي محدثة فجوة في الموزاييك البطاني، ولإصلاح هذه الفجوة تتحرك خلايا البطانة المجاورة للأذية لتملأ الفراغ وتعيد هيكلة السطح الخلفي للقرنية.

حركة الخلايا البطانية هذه تخلق اختلاف في حجم الخلايا يعبر عنها بـ cv [44] وتبلغ القيمة الطبيعية 33±5 [45]، وفي دراسة أخرى34±7 [46].

- **أما نسبة خلايا بطانة القرنية السداسية Percentage of hexagonal cells (EX)**

وتعبر عن نسبة الخلايا الطبيعية لبطانة القرنية بالنسبة للعدد الكلي للخلايا في البطانة، تبلغ النسبة الطبيعية 59%±9 [45]، وفي دراسة أخرى 46%±8 [46].

وقد تم تسجيل القيم الطبيعية لطبقة بطانة القرنية لدى الأصحاء في الصين، وكان متوسط كثافة الخلايا 2664±407 خلية/مم2، نسبة الخلايا السداسية كانت 56±8 %، وكان هناك نقص هام إحصائيا بكثافة خلايا البطانة ونسبة الخلايا السداسية مع العمر، وكان متوسط مساحة الخلية

ومعامل تغير حجم الخلايا 387±65um² و 34±7 على التوالي، وكان هناك زيادة ملحوظة بمساحة الخلية ومعامل تغير حجم الخلايا مع العمر.

لم يكن هناك فرق هام إحصائيا بالمعايير السابقة بين الجنسين وأيضاً هناك العديد من الدراسات التي درست هذا للموضوع والتي اجريت في مصر وثاني وتركيا والفلبين والهند ودراسات اخرى في الصين وجنوب اسيا [47].

9. الطرق المستخدمة لدراسة خلايا البطانية Methods used to study endothelial cells:

التصوير البطاني القرني هو إجراء يتم من خلاله تصوير الخلايا البطانية المبطنة للسطح الخلفي للقرنية في العين الحية بواسطة كاميرا مرفقة إلى مجهر تخصصي، كثافة الخلية البطانية تقاس بالخلية لكل ملم2، يتم الحصول عليها من فيديو أو صورة فوتوغرافية، كثافة الخلية القرنية للفرد بعدها تتم مقارنتها بكثافة خلايا موثقة مسبقا لهذا الفرد أو بقيمة متوسطة من قيم السكان المطابقين عمريا، ويعتبر التصوير البطاني القرني إجراء دقيق وأداة مفيدة في صنع مجموعة متنوعة من القرارات السريرية [49].

في الماضي كان من الصعب جداً تقييم خصائص الخلايا البطانية والاحتياطي الوظيفي، وقد أتاح إدخال تقنيات التقييم المتقدمة متضمنة المجهر البراق specular microscopy، قياس التألق الضوئي fluorophotometry، مقياس الثخانة القرنية pachymetry، من تقييم كثافة الخلايا البطانية ووظيفتها. [49].

وكذلك المجهر المتحد البؤر الذي يوفر صورا لكل من الطبقات الخمس الأساسية: ظهارة القرنية، طبقة بومان، اللحمة، غشاء ديسميه وبطانة القرنية [50].

9.1. المجهر المرآوي Specular microscopy:

- **التعريف Definition:**

المجهر البراق Specular microscopy هو جهاز القياس المعياري الغير غازي للبطانة ويتوفر منه النموذجان التماسي وغير التماسي مع تحليل محوسب برمجي [57].

طور موريس أول مجهر براق لفحص بطانة القرنية في التجارب الحية in vivo عام 1968 [٥٨]، ولاحقا تم تطويره ليصبح أداة سريرية لتقييم بطانة القرنية عام 1970 من قبل بورنية وكاو فمان [٥٩] حيث يستطيع أن يأخذ صور للخلايا بمساحة سطح صغيرة جدا 0.08 مم2 مقارنة بمساحة سطح البطانة التي تبلغ 100 مم 2، حيث يتم بعدها تحليل الصورة بواسطة برنامج حاسوبي مدمج ضمن المجهر البراق للحصول على تعداد الخلايا وقياساتها الشكلية [24].

في المجهر البراق يتم أخذ صورة لبطانة القرنية بعد انكسار الضوء عن السطح الأمامي للقرنية، ويمكن تقدير تعداد الخلايا البطانية عن طريق حساب عدد الخلايا في منطقة معينة، في المجهر البراق التماسي يتم تسطيح سطح القرنية على عكس المجهر غير التماسي حيث لا يتغير انحناء سطح القرنية، وقد تبين أن التكبير يختلف بشكل بسيط بين المجهر التماسي وغير التماسي وذلك بتغير ثخانة القرنية المركزية، وأيضا فإن التكبير في المجهر غير التماسي يتغير قليلا بتغير القوة الكاسرة للسطح الأمامي للقرنية [60].



الشكل 4 صورة لخلايا بطانة القرنية بواسطة المجهر البراق 60

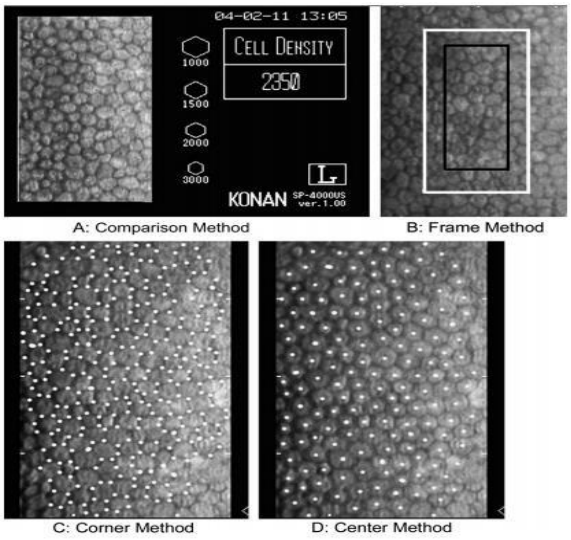
- **آلية عمل المجهر البارق Mechanism:**

يعتمد مبدؤه الفيزيائي على الانعكاس البراق (مثل المرآة) عند عبور الضوء لمختلف طبقات القرنية، حيث ينعكس عبر كل طبقة، وكلما زاد عمق الطبقة كلما ظهرت بلون أغمق على الصورة، وهذا ما يفسر وجود كثافات متنوعة في الصور والذي يتلاءم فيزيائيا مع تراكب عدة طبقات مختلفة [24].

- **تحليل كثافة البطانة ممكن أن يتم بـ 4 تقنيات:**

1. مقارنة الصورة المعيارية بصورة تابع subject's image aطريقة المقارنة comparison method
2. حساب عددي لعدد الخلايا في المشهد view طريقة الإطار (frame method)
3. تحليل كمي للجوانب المتقابلة للخلية طريقة الزاوية (corner method)
4. تحديد بشكل رقمي للمركز من كل خلية على الإطار (طريقة المركز (center method

النتيجة المعطاة تضاعف ب 106، وهكذا فإن خطأ الإحصاء الخلوي له تأثير رياضي/حسابي كبير على الإحصاء النهائي لكثافة الخلية، وتعتبر طريقة المركز هي التقنية الأشيع والأكثر استخداما [57].



الشكل 5 لتقنيات الأربعة المستخدمة لتحليل خلايا البطانة القرنية [57]

9.2. جهاز التعداد المستخدم في الدراسة PERSEUS:

استخدمنا في هذه الدراسة جهاز **PERSEUS** المنتج من الشركة الإيطالية **(Costruzione Italy،CSOStrumenti Oftalmici)** ، وهو جهاز مؤتمت غير تماسي يتم فيه إجراء تحليل آلي للخلايا البطانية بواسطة الكمبيوتر [61] ويعطي صور تظهر المعايير النوعية للقرنية:

1. كثافة الخلايا البطانية Endothelium cell density:
2. معامل التغاير Coefficient of Variation:
3. نسبة الخلايا سداسية الأضلاع Percentage of hexagonal cells:
4. ثخانة القرنية المركزية Central Corneal Thickness:

5. متوسط مساحة الخلايا Mean Cell area:



الشكل 6 جهاز التعداد المستخدم في الدراسة [61]

الإطار العملي

Practical framework

1. أهمية البحث Scientific research importance:

الخلايا البطانية غير قادرة على الانقسام وأي نقص فيها سيؤدي لتضخم الخلايا المتبقية كآلية إعاضة فيتغير شكلها وكثافتها والذي بدوره سيؤثر على وظيفة المضخة الفيزيولوجية وبالتالي تأثُّر شفافية القرنية ووظيفتها، بما أن الإنقسام الفعال للبطانة القرنية الطبيعية غير عادي فقد لوحظ النقص التدريجي بكثافة الخلايا مع العمر 3،4. وإن معرفة هذه التغيرات بالأشخاص الأصحاء ضروري لأن لهذه المعلومات صلة بالعناية السريرية للمرضى والدراسات البحثية وهنا تكمن أهمية بحثنا.

2. أهداف البحث Scientific research objectives:

يهدف بحثنا هذا إلى دراسة كثافة خلايا البطانة القرنية وشكلها عند الأصحاء في سوريا ومقارنة خصائص خلايا بطانة القرنية عند المجتمع السوري مع القيم المذكورة للمجتمعات الآخرى.

3. مواصفات العينة وحجمها Sample specifications and size:

شارك بالدراسة 260 مريضاً (520 عين) مراجعي قسم أمراض العين في مستشفى الأندلس التخصصي خلال فترة 2022 ـ 2023 والمحققين معايير الاشتمال في البحث وتراوحت أعمار مرضى عينة البحث بين (18–96 سنة) وبلغ متوسط أعمارهم (36.37 ± 16.71 سنة).

معايير الإستبعاد من الدراسة Exclusion criteria:

1. أي كثافة في الأوساط الشفافة.
2. سوابق ارتداء عدسات لاصقة.
3. جراحة عينية سابقة.
4. أمراض قرنية وراثية أو إنتانية سابقة أو حالية.
5. رض عيني سابق.
6. قرنية مخروطية.
7. أسواء انكسار عالية (حسر بصر عالي أكثر من −6، مد بصر عالى أكثر من+ 6).
8. أمراض جهازية (سكري/ ضغط شرياني).
9. ارتفاع الضَّغط العيني أكثر من 22 ملم/ز.

معايير الإشتمال في الدراسة Inclusion criteria:

1. جميع الأعمار (ذكور، اناث).
2. قدرة بصرية مصحَّحة 10/10.
3. المدخنين والغير مدخنين.

4. طرائق ومواد الفحص Methods and materials:

تم أخذ القصة المرضية المفصلة لكل المراجعين الذين حققوا معايير الإدخال والاستبعاد، وتسجيل معلومات عن العمر، الجنس، السوابق المرضية، الجراحية، التحسسية والمستوى التعليمي والمعيشي.

بعد أخذ الموافقة المستنيرة تم **إجراء فحص عيني** شامل يتضمن:

فحص القدرة البصرية باستخدام لوحة سنلن.

قياس أسواء الإنكسار بواسطة Autorefractometer.

فحص على المصباح الشقي للأقسام الأمامية والخلفية (الأجفان، الملتحمة، القرنية، البيت الأمامي، القزحية، الحدقة، العدسة، إجراء تنظير قعر العين بعد توسيع الحدقة بالـ Trobicamid تركيز 1%.

قياس الضغط داخل العين باستخدام جهاز غولدمان.

اختبار زمن تحطم فيلم الدمع (TBUT) لاستبعاد أي جفاف مرافق.

فحص القرنية بجهاز Non-contact specular microscopy (Perseus) لقياس ثخانة القرنية المركزية (Central Corneal thickness)، كثافة خلايا بطانة القرنية Endothelium cell (density)، نسبة الخلايا السداسية (Percentage of hexagonal cells)، معامل الاختلاف في الحجم (Coefficient of Variations)، وسطي مساحة الخلية (Mean Cell area).

تم تحليل البيانات الخاصة بالمرضى وحساب جرعة التدخين المتراكمة كما يلي:

عدد علب السجائر المدخنة يوميا مضروباً بعدد سنوات التدخين وينتج لدينا ما نطلق عليه (pack\year) وهذه الطريقة تساعدنا على تقدير كمية التدخين المتراكمة خلال مدة طويلة [62].

كمثال: 1 (pack\year) يعادل تدخين علبة سجائر يومياً لمدة سنة.

15 (pack\year) يعادل تدخين علبة سجائر يومياً لـ 15 سنة أو تدخين 3 علب سجائر يومياً لـ 5 سنوات.

مدخن شره إذا كان معدل التدخين أعلى من 15 (pack\year).

تم تصنيف متغيرات الدراسة حسب الجنس إلى (ذكور وإناث).

تم تصنيف متغيرات الدراسة حسب العمر إلى فئات عمرية (18 لـ 30 سنة، 31 لـ 40 سنة، 41 لـ 50 سنة، 51 لـ 60 سنة و > 60 سنة).

الجهاز المستخدم device used:

المجهر المرآوي غير التماسي Non-contact specular microscopy من نوع (Specular microscope، Perseus، CSO، Italy).

الدراسة الإحصائية Statistical study:

تصميم الدراسة Study design:

دراسة مقطعية مستعرضة cross sectional study.

الإحصاء الوصفي Description Statistical:

تم التعبير عن المتغيرات الكمية quantitative بمقاييس النزعة المركزية ومقاييس التشتت والمتغيرات النوعية qualitative بالتكرارت والنسب المئوية.

إحصاء استدلالي Inferential Statistical بالاعتماد على قانون الإحصاء:

اختبار One Way Anova لدراسة الفرق بين متوسط أكثر من مجموعتين.

واختبار T-Test independent لدراسة الفرق بين متوسط مجموعتين.

تعتبر النتائج هامة احصائياً مع p>value<5%.

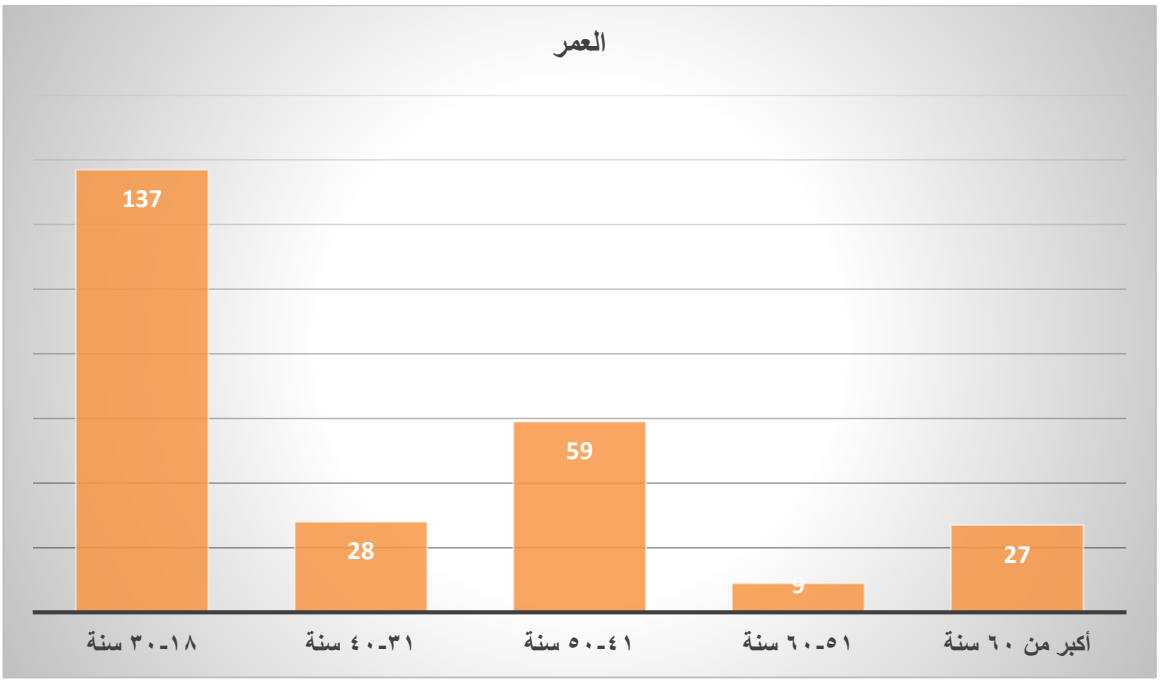
اعتماد البرنامج IBM SPSS statistics (version26) لحساب المعاملات الاحصائية وتحليل النتائج.

5. النتائج Results:

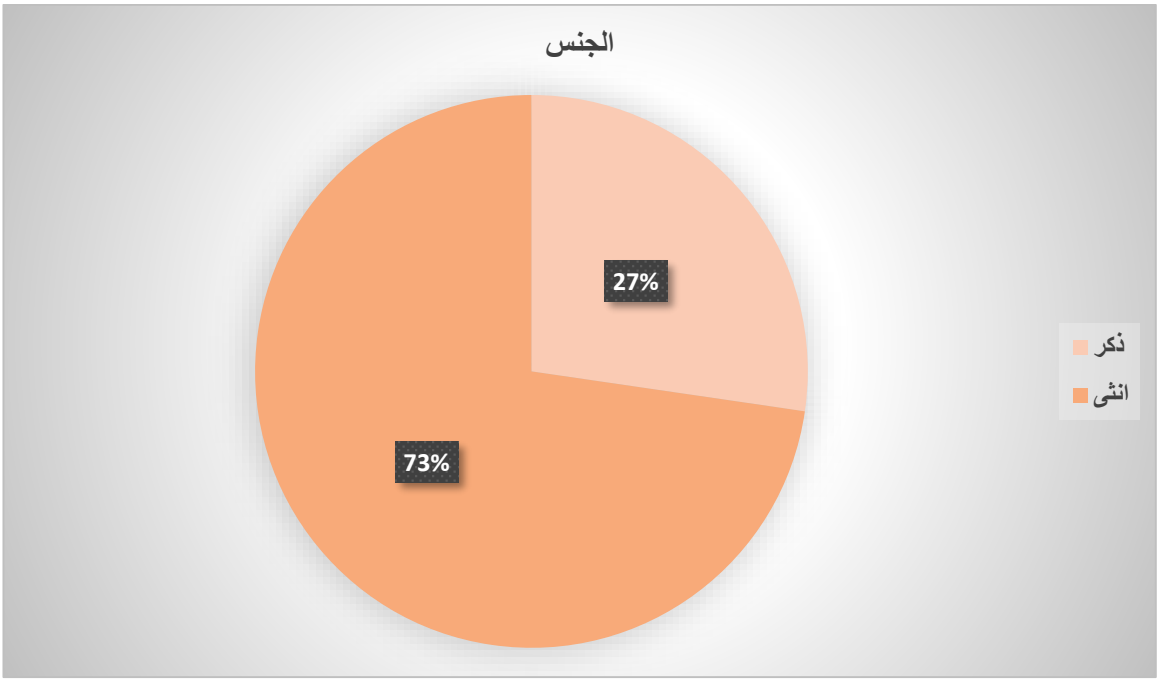
يوضح الجدول (1) الخصائص الأساسية للمشاركين الأصحاء في البحث، وبلغ عدد المشاركين النهائي 260 مشارك (520 عين)، وكان متوسط العمر 36.37 ± 16.71 سنة، وقد وجد أن أغلب المشاركين هم من الفئة العمرية 18– 30 سنة (52.7%)، ثم الفئة العمرية 41–50 سنة (22.7%)، وتوزع المشاركين تبعاً للجنس إلى (72.7%) اناثاً، (27.3%) ذكوراً، كما بلغت نسبة المشاركين المدخنين (22.3%)، ونسبة من يدخنون النرجيلة (11.5%)، ونسبة المتزوجين والعازبين والخاطبين هي 56.2%، 43.5%،0.4% على التوالي، ونسبة مني يسكنون المدينة والريف هي 58.5%، 41.5% على التوالي.

الجدول 1الخصائص الأساسية لدى المشاركين في البحث.

المتغير	العدد	النسبة المئوية
العمر		
30-18 سنة	137	%52.7
40-31 سنة	28	%10.8
50-41 سنة	59	%22.7
60-51 سنة	9	%3.5
أكبر من 60 سنة	27	10.4
العمر (Mean ± SD)	36.37 ± 16.71 سنة	
الجنس		
ذكر	71	%27.3
انثى	189	%72.7
السكن		
مدينة	152	%58.5
ريف	108	%41.5
الحالة الاجتماعية		
متزوج	146	%56.2
أعزب	113	%43.5
مخطوب	1	%0.4
التدخين		
نعم	58	%22.3
نرجيلة	30	%11.5
كمية التدخين		
0.5 باكيت\ السنة	15	%5.8
2 باكيت\ السنة	21	%8.1
3 باكيت\ السنة	11	%4.2
4 باكيت\السنة	1	%0.4
5 باكيت\ السنة	8	%3.1
10 باكيت على السنة	1	%0.4
الكحول		
نعم	4	%1.5
الحالة الاقتصادية		
فقير	98	%37.7
متوسط	68	%26.2
جيد	81	%31.2
جيد جداً	13	%5



الشكل 7التوزع النسبي للمشاركين حسب العمر



الشكل 8 التوزع النسبي حسب الجنس

وجد أن متوسط كثافة الخلايا البطانية (CD) (2189 ± 326)، ومتوسط معامل تغاير الخلايا (CV) (0.4 ± 0.05)، وكان متوسط وسطي مساحة الخلية (CA) (452 ± 90)، ومتوسط ثخانة القرنية المركزي (CCT)، (517 ± 30)، ومتوسط نسبة الخلايا السداسية (EX) (47.75% ± 6%).

الجدول 2 القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين

المتغير	العدد	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري	المدى
كثافة الخلايا البطانية (CD)	520	2189 ± 326	1886
معامل التغاير (CV)	520	0.4037 ± 0.05489	0.35
وسطي مساحة الخلية (CA)	520	452.32 ± 90.212	648
ثخانة القرنية المركزي (CCT)	520	517 ± 30.717	207
نسبة الخلايا السداسية (EX)	520	47.75% ± 5.809	33

دراسة فروق القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين باختلاف العمر وجد فروق ذات دلالة إحصائية لقياسات خلايا بطانة القرنية باختلاف العمر، حيث وجد أن الدلالة الإحصائية أقل من (0.05).

الجدول 3 دراسة القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين باختلاف العمر

قياسات الخلايا البطانية	العمر					الدلالة الإحصائية
	30-18	40-31	50-41	60-51	أكثر من 60	
	N=274 eyes	N=56 eyes	N=117 eyes	N=18 eyes	N=54 eyes	
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	
CD	2226 ± 350	2408 ± 180	2229 ± 150	1878 ± 233	1795 ± 237	*0.000
CV	0.4 ± 0.05	0.37 ± 0.04	0.42 ± 0.04	0.38 ± 0.01	0.39 ± 0.2	*0.000
CA	450 ± 100	395 ± 75	439 ± 49	540 ± 67	515 ± 75	*0.000
CCT	521 ± 36	509 ± 28	517 ± 22	525 ± 8	507 ± 15	*0.006
EX	%49 ± %6	%46 ± %5	%47 ± %4	%44 ± %6	%48 ± %6	*0.000

دراسة فروق القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين باختلاف الجنس وجد فروق ذات دلالة إحصائية لكل من (CV) و (CA) باختلاف الجنس، حيث وجد أن الدلالة الإحصائية أقل من (0.05).

الجدول 4 دراسة القيم المتوسطة لقياسات خلايا بطانة القرنية المأخوذة لدى المشاركين باختلاف الجنس

الجنس				
الدلالة الإحصائية	قيمة اختبار T- Test	انثى N=378 eyes Mean ±SD	ذكر N=142 eyes Mean ±SD	قياسات الخلايا البطانية
0.682	0.410	353 ± 2186	240 ± 2199	*CD*
*0.007	2.708	0.05 ± 0.4	0.05 ± 0.41	*CV*
*0.013	2709-	85 ± 458	100 ± 434	*CA*
0.263	0.945-	33 ± 518	23 ± 515	*CCT*
0.848	0.156-	%6 ± %48	%4 ± %47	*EX*

6. المناقشة Discussion:

من المعروف أن لخلايا بطانة القرنية مقدرة محدودة للإصلاح [72،73] وإن عمل مضخة بطانة القرنية ينقص مع العمر 14 ومع ذلك أظهرت بعض الدراسات أن الخلايا البطانية القرنية في الحي تملك مقدرة عمى التكاثر، غير أن معدل الانقسام الخلوي بطيء جداً بحيث لا يمكن ملاحظته وغير كافي لاستبدال الخلايا البطانية المفقودة [72] أيضاً من الواضح أن النقص بتكاثر الخلايا البطانية يؤدي لنقص كثافة متعمقة بالعمر وهذا النقص لا يؤثر عادة بشكل فعال على الرؤية، في بعض الحالات فإن النقص الشديد بعدد الخلايا البطانية يعطل عمل الحاجز البطاني مما يؤدي لنقص الرؤية [74].

لم يتم إيضاح أسباب نقص الخلايا البطانية مع الزمن بشكل كامل لكن هناك دليل يقترح دور موت الخلايا المبرمج و \ أو التنخر المسبب بالأذية التأكسدية المحرضة بالضوء [74،75] كذلك يتناقص عدد الخلايا البطانية بعد حالات الشدة مثل الرضوض زرع قرنية سابق، الشدة المسببة ببعض الأمراض الجهازية مثل السكري، علاج الزرق، جراحة الساد، زرع العدسات داخل العين [77،78] عندما يحدث نقص بالخلايا البطانية بسبب العمر أو المرض تستجيب الخلايا البطانية بزيادة حجمه وانزياح الخلايا الموجودة لتغطي المنطقة التي كانت سابقاً مشغولة بالخلايا المفقودة [77] لذلك تقييم كثافة خلايا البطانة وشكلها مهم جدا حيث يبدو أن النقص بكثافة الخلايا البطانية هو مؤشر رئيسي للتغير المرضي [79]

بالرغم من ذلك فأن وذمة القرنية تحدث عندما تصبح قيم كثافة الخلايا البطانية أقل مم ٥٠٠ إلى ٧٠٠ خلية مم [77،79]، كثافة الخلايا البطانية القليلة تؤدي لنقص مقدرة الشفاء من وذمة اللحمة القرنية لأن الكثافة الأقل من الخلايا البطانية تترافق مع وذمة قرنية أعلى وإزالة وذمة

أبطأ [80] العيون المفحوصة بالدراسة سليمة ولم يتم إجراء جراحة قرنية أو عينية عليها كما لا يوجد لدى المرضى أمراض عينية أو جهازية أو تناول أدوية تؤثر على القرنية لذلك تجنبنا العوامل المتعددة التي يمكن أن تؤثر على بطانة القرنية.

مما تقدم فإن تحليل خلايا بطانة القرنية يعطي معلومات سريرية هامة على وظيفة وحيوية القرنية حساب كثافة الخلايا البطانية أصبح ممارسة مقبولة سريرياً وبحثياً للحصول على معلومات عن الطبقة الخلوية الضرورية للحفاظ على شفافية القرنية [81].

الاستخدام السريري المحتمل يتضمن تقييم بطانة طعم القرنية، مراقبة الاختلاف في تقنيات جراحة القسم الأمامي، التأثيرات الطويلة الأمد للجراحة داخل العين كجراحة الساد وزرع العدسات داخل العين [81،86].

عند إجراء جراحة داخل العين يجب التقليل من رض بطانة القرنية وقد تم اعتبار المجهر المرآوي أساسي في تقييم أمان الإجراءات الجراحية الجديدة على القرنية داخل العين وزرع العدسات داخل العين [81،86].

هناك العديد من الدراسات عن العلاقة بين كثافة الخلايا البطانية وشكلها مع العمر والجنس والعرق، يختلف الباحثون بنتائجهم حول العلاقة بين العمر والجنس وخواص الخلايا البطانية ولكن من الواضح أن هناك اختلاف مهم بخواص الخلايا البطانية بين المجموعات العرقية [87،95].

القرار حول صحة ووظيفة الخلايا البطانية يجب أن يكون مشتقا من معلومات من نفس المجتمع. هذه الدراسة تعطي معلومات عن خواص خلايا بطانة القرنية عند الأفراد الأصحاء

في سوريا. كثافة الخلايا البطانية في هذه الدراسة كان ضمن القيم المعروفة للقرنية الطبيعية، هذه النتائج تظهر أن هناك ميل لتناقص كثافة الخلايا البطانية ونسبة الخلايا السداسية مع التقدم بالعمر وهذا مشابه للدراسات العالمية وميل لنقص حجم الخلية ومعامل التباين مع التقدم بالعمر وهذا متخالف مع الدراسات السابقة [65,68,69,71,72,96,95].

نقص معدل اعتلال القرنية الفقاعي بسبب العدسات المزروعة في عيون اليابانيون قد يكون بسبب زيادة كثافة خلايا بطانة القرنية لديهم [6] لذلك فإن عيون السوريين ذو الكثافة الأقل قد تكون معرضة أكثر لاعتلال القرنية الفقاعي.

المقارنة مع الدراسات السابقة بين أن كثافة الخلايا البطانية لدى السورين أقل منها لدى التايلانديين [95] والماليزيين والهنود [71]، والصينيين [63] واليابانيين [93] الفلبينيين [68] أكثر من الإيرانيين [72]، فقط.

الجدول 5 يبين كثافة الخلايا البطانية (خلية\ ملم2) لدى العروق المختلفة.

الدولة	العدد	الاعمار	نسبة الذكور\اناث	كثافة الخلايا البطانية (خلية\م2)	نسبة الخلايا السداسية	معامل التغاير	ثخانة القرنية المركزية	وسطي مساحة الخلية
ايران	525	85-20	48.3\51.7	457 ± 1961	%6.3 ± 44	%7.1 ± 24.1	24.65 ± 450	137.4 ± 537
ألمانيا	2062	40 <	35.5\64.5	385 ± 2929	%4.9 ± 54	%5.2 ± 26.8	23.1 ± 510	133 ± 555
الهند	537	87-20	لم يذكر	337 ± 2525	ذكرت كل مجموعة عمرية على حدى			
دراستنا	520	96-18	72.2\27.3	326 ± 2189	%5.1 ± 47.75	%5 ± 40	30.7 ± 517	90 ± 452
ماليزيا	404	80-20	55.5\44.5	310 ± 2648	%10.9 ± 51.5	%8.2 ± 39.4	لم تذكر	
تايلند	125	87-20	67\33	325 ± 2623	%11.5 ±44.3	%22.6 ± 58.1	لم يذكر	47.7 ± 382
الفلبين	640	86-20	49\51	307 ± 2798	لم يذكر			40.3 ± 363
الصين	1400	98-10	55.6\44.4	363 ± 2932.6	%9 ± 59	%5 ± 33	لم يذكر	46 ± 347
اليابان	640	88-20	57\43	387 ± 2943	%7 ± 54	4.7 ± 32	لم يذكر	84 ± 437

الجدول6 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الهندية باختلاف العمر.

Age group (y)	Mean cell density (cells per mm^2) mean ± SD	Mean cell area (µm^2) mean ± SD	Coefficient of variation in cell size (%) mean ± SD	Hexagonality (%) mean ± SD	No. of cells analyzed mean ± SD
20–30	2,782 ± 250	361.4 ± 32.0	33.6 ± 5.1	61.6 ± 7.1	64.9 ± 8.6
31–40	2,634 ± 288	382.1 ± 42.6	36.1 ± 6.8	55.7 ± 7.8	60.9 ± 8.0
41–50	2,408 ± 274	422.8 ± 57.8	36.5 ± 7.5	54.5 ± 9.1	60.1 ± 7.3
51–60	2,438 ± 309	416.9 ± 56.1	36.8 ± 7.5	57.3 ± 6.3	61.0 ± 5.2
61–70	2,431 ± 357	421.3 ± 75.9	36.8 ± 8.4	57.6 ± 7.1	59.8 ± 8.3
>70	2,360 ± 357	436.2 ± 82.1	35.1 ± 4.5	56.9 ± 7.5	62.0 ± 4.7

الجدول7 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الايرانية باختلاف العمر.

Age group	No. of eyes	Mean cell density (cells / mm²) *	Mean cell area (µm²) *	Coefficient of variation in cell size (%)*
20–30	102	2,407 ± 399	427.8 ± 74.9	20.4 ± 5.5
31–40	45	2,245 ± 349	458.9 ± 81.0	23.1 ± 7.2
41–50	66	2,071 ± 340	496.5 ± 102.6	24.2 ± 7.8
51–60	87	1,939 ± 344	535.7 ± 106.6	24.1 ± 6.6
61–70	122	1,775 ± 348	584.7 ± 127.9	25.5 ± 7.5
>70	103	1,571 ± 328	649.6 ± 147.3	26.8 ± 6.4

الجدول8 مقارنة كثافة الخلايا البطانية بين كل من العمر والجنس لدى الاصحاء في ألمانيا

	Total		Female		Male	
	N	Mean SD	N	Mean SD	N	Mean SD
Age range (years) 40–49	427	3012 348	400	3050 369	827	3031 359
50–59	412	2976 363	303	2999 384	715	2986 372
60–69	236	2876 383	222	2920 342	458	2897 364
70–79	205	2770 386	263	2869 403	468	2825 398
80–	49	2671 519	85	2774 442	134	2736 473
Total	1329	2929 385	1273	2959 389	2602	2943 387

الجدول9 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الصينية باختلاف العمر.

Age Group (yr)	Cell Area (mm^2) (Mean 6 SD)	Cell Density (cells/mm^2)	CV in Cell Size (%) (Mean 6 SD)	Hexagonality (%) (Mean 6 SD)
11–20	306 6 34	3308 6 356	32 6 5	63 6 10
21–30	337 6 28	2988 6 243	30 6 5	63 6 9
31–40	346 6 37	2920 6 325	34 6 5	58 6 8
41–50	345 6 32	2935 6 285	33 6 5	59 6 7
51–60	361 6 45	2810 6 321	34 6 4	58 6 8
61–70	371 6 56	2739 6 316	35 6 5	57 6 9
.70	367 6 52	2778 6 365	35 6 4	57 6 7

الجدول10 مقارنة نسب قياسات الخلايا البطانية لدى مرضى الدراسة الفلبينية باختلاف العمر.

Age Group *years*	Age (mean±SD)	No. of Eyes	Mean Cell Density (*cells/mm^2*, mean±SD)	Mean Cell Area (*μm^2*, mean±SD)	CV in Cell Size (mean±SD)	Hexagonality (%, mean±SD)
20–30	25.3 ± 2.7	114	2949 ± 270	343.4 ± 34.1	31.8 ± 3.7	61.1 ± 7.5
31–40	34.2 ± 2.8	112	2946 ± 296	342.3 ± 32.3	32.5 ± 3.1	59.4 ± 6.7
41–50	44.8 ± 2.5	112	2761 ± 333	366.7 ± 46.2	31.9 ± 4.3	58.8 ± 7.1
51–60	55.4 ± 2.2	102	2555 ± 178	393.6 ± 33.3	31.6 ± 4.1	59.7 ± 4.8
61–70	64.9 ± 2.4	114	2731 ± 299	367.7 ± 39.7	32.0 ± 3.0	59.9 ± 4.4
>70	75.8 ± 4.4	86	2846 ± 467	364.5 ± 59.7	35.3 ± 3.8	57.7 ± 7.1
Pooled data	53 ± 17	640	2798 ± 307.2	363.0 ± 40.3	32.5 ± 3.7	59.4 ± 37.6

هذه الدراسة تعد الدراسة الأولى المطبوعة حول خصائص خلايا بطانة القرنية لدى الأفراد السليمين في سوريا.

بينت الدراسة أنه يوجد اختلاف بين الجنسين في متوسطات قيم معامل التغاير ووسطي مساحة الخلية البطانية، وأن هناك تناقص في كثافة الخلايا البطانية، ويوجد اختلاف في نسبة باقي قياسات الخلايا البطانية باختلاف العمر مع وجود قيمة هامة احصائياً.

7. التوصيات:

- التأكيد على اجراء فحص تعداد خلايا بطانة القرنية.
- تحديد قيمة (CV) منها لدى الفئة العمرية (31–40 سنة).
- تحديد قيمة (CA) منها لدى الفئة العمرية (31–40 سنة).
- تحديد قيمة (CCT) منها لدى الفئة العمرية (أكبر من 60 سنة).
- تحديد نسبة الخلايا السداسية لدى المتقدمين في العمر.
- تحديد قيمة (CV) منها لدى الاناث.
- تحديد قيمة (CA) منها لدى الذكور.
- القيام بدراسة تاثير التدخين على القرنية.

8. قائمة المراجع List of References:

1. Joyce NC. Proliferative capacity of corneal endothelial cells. Experimental eye research. 2012;95(1):16-23.
2. 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):1119-22.
3. Assessment OP. Corneal endothelial photography. Three-year revision. American Academy of Ophthalmology. Ophthalmology. 1997; 104:1360-64.
4. Ishikawa A. Risk factors for reduced corneal endothelial cell density before cataract surgery. Journal of Cataract & Refractive Surgery. 2002;28(11):198292.
5. Bourne WM, Kaufman HE. Specular microscopy of human corneal endothelium in vivo. American journal of ophthalmology. 1976;81(3):319-23.
6. McCarey BE. Noncontact specular microscopy: a macrophotography technique and some endothelial cell findings. Ophthalmology. 1979;86(10):1848-60.
7. Rio-Cristobal A, Martin R. Corneal assessment technologies: Current status. Survey of ophthalmology. 2014;59(6):599-614.

8. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Current eye research. 1985;4(6):671-8

9. Abib FC, Barreto J. Behavior of corneal endothelial density over a lifetime. Journal of Cataract & Refractive Surgery. 2001;27(10):1574-8. JUST ACCEPTED

10. Shin YJ, Nishi Y, Engler C, Kang J, Hashmi S, Jun AS, et al. The effect of phacoemulsification energy on the redox state of cultured human corneal endothelial cells. Archives of ophthalmology. 2009;127(4):435-41.

11. Kim E, Yoon SY, Shin YJ. Oxidative Stress in Cornea. Studies on the Cornea and Lens: Springer; 2015. p. 3-22.

12. Bernaards CM, Twisk JW, Snel J, Van Mechelen W, Kemper HC. Is calculating pack-years retrospectively a valid method to estimate life-time tobacco smoking? A comparison between prospectively calculated pack-years and retrospectively calculated pack-years. Addiction (Abingdon, England). 2001;96(11):1653-61.

13. Kanski, Jack J.2011- Clinical Ophthalmology, 7th Edition, pp122-.421

14. Snell R. Clinical Anatomy of the Eye. Blackwell Publication,1989, PP 82-.111

15. External Disease and Cornea. External Disease and Cornea. Basic and Clinical Science Course, Section 8, American Academy of Ophthalmology 20142015.

16. "Epithelial Thickness in the Normal Cornea: Three-dimensional Display with Artemis Very High-frequency Digital Ultrasound," J. Refract. Surg. 24(6), 571– 581 (2008).

17. Due HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe I. Human corneal anatomy redefned: A novel pre-descemet's layer (Dua's layer) ophthalmology.2013;38:779-.28

18. Roszkowska AM, Colosi P, D'Angelo P, Ferreri G. Age-related modifications of the corneal endothelium in adults. Int Ophthalmol 2004; 25:163–166.

19. Krachmer H, Manis J, Holland J. Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management 2nd edn. Elsevier Mosby: Beijing, China; 2005

20. Hogan MJ, Alvarado JA. In Histology of the Human Eye Philadilphia 1971.

21. Joyce NC, Harris DL, Mello DM. Mechanisms of mitotic inhibition in corneal endothelium: contact inhibition and TGF-beta2. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2002;43 (7:2152–.9512

22. Sheng H, Bullimore MA. Factors affecting corneal endothelial morphology. Cornea. 2007;26 (5:520–.525

23. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes inthe normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Curr Eye Res 1985; 4:671–.876

24. American Academy of Ophthalmology. Ophthalmic procedures assessment: corneal endothelial photography. Ophthalmology 1991; 98:1464–1468

25. Amann J, Holley GP, Lee S-B, Edelhauser HF. Increased endothelial cell density in the paracentral and peripheral regions of the human cornea. Am J Ophthalmol 2003; 135: 584–590

26. 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

27. Lambaste A, Bonini S. Corneal changes in neurosurgically induced neurotrophic keratitis. JAMA Ophthalmol. 2013;131(12):1547–1553.

28. Kenji Inoue et al. The Corneal Endothelium and Thickness in Type II Diabetes Mellitus. Jpn J Ophthalmol 2002; 46: 65–69

29. Hamrah P, Dastjerdi MH, et al. Corneal sensation and subbasal nerve alterations in patients with herpes simplex keratitis: an in vivo confocal microscopy study. Ophthalmology. 2010;117(10):1930–1936.

30. Zheng X, Okuma S, et al. In vivo confocal microscopic evidence of keratopathy in patients with pseudoexfoliation syndrome. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52(3):1755–1761.

31. emenetzi M, Yang Y, Lotery AJ. Current concepts on primary open-angle glaucoma genetics: a contribution to disease pathophysiology and future treatment. Eye. 2012; 26:355–369.

32. Bourne RR, Minassian DC, Dart JK, Rosen P, Kaushal S, Wingate N. Effect of cataract surgery on the corneal endothelium: Modern phacoemulsification compared with extracapsular cataract surgery. Ophthalmology. 2004; 111:679–85.

33. Zhang J, Patel DV. The pathophysiology of Fuchs' endothelial dystrophy—a review of molecular and cellular insights. Exp Eye Res. 2015; 130:97–.501

34. Sibug ME, Datiles MB III, Kashima K, McCain L, Kracher G. Specular microscopy studies on the corneal endothelium after cessation of contact lens wear. Cornea 1991; 10: 395–401

35. Darwish T. Corneal endothelial changes in myopic patients wearing soft contact lens. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (41) No. (2) 2019

36. Suleiman, Y. To investigate the relationship between the degree of astigmatism and the count of corneal endothelin-cells and the proportion of hexagonal-cells. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series 2018; 40(3): 409-17

37. Suleiman, Y. Comparison of the count of corneal endothelial cells and the proportion of hexagonal- cells and the corneal thickness between myopic astigmatism and hyperopic astigmatism. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series 2018; 40(3)

38. Galgauskas S, Ringailaite E, Juodkaite G. Central corneal thickness and its relationship to gender, intraocular pressure and corneal curvature. Medicinos Teorija ir Praktika. 2009;15(1):19–23.

39. Leskul M, Aimpun P, Nawanopparatskul B, et al. The correlations between central corneal thickness and age, gender, intraocular pressure and refractive

40. error of aged 12–60. J Med Assoc Thai. 2005;88 (Suppl 3): S175–S179.

41. Wang C, Li AL, Pang Y, Lei YQ, Yu L. Changes in intraocular pressure and central corneal thickness during pregnancy: a systematic review and Meta-analysis. Int J Ophthalmol. 2017 Oct 18;10(10):1573-1579.

42. Pizzarello LD. Refractive changes in pregnancy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2003 Jun;241(6):484-8.

43. Yann Gavet et al. Comparison and Supervised Learning of Segmentation Methods Dedicated to Specular Microscope Images of Corneal Endothelium. International Journal of Biomedical Imaging Volume 2014, Article ID 704791, 13 pages

44. Nishida T, Saika S. Cornea and sclera: anatomy and physiology. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds, Cornea, 3rd ed. St. Louis, MO, Mosby, 2011; 15–16

45. Edelhauser HF. The balance between corneal transparency and edema: The Proctor Lecture. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006;47(5):1754–67.

46. Yunliang S., Yuqiang H., Ying-Peng L., Ming-Zhi Z., Lam D. S. C., Rao S. K. Corneal endothelial cell density and morphology in healthy Chinese eyes. Cornea. 2007;26(2):130–132

47. Rahmi D, Irfan P. Corneal endothelial cell density in healthy Caucasian population. Saudi J Ophthalmol. 2016 Oct-Dec; 30(4): 236–.932 C

48. orneal Endothelial Photography Three~year Revision American Academy of Ophthalmology Ophthalmic Procedure Assessment Ophthalmology Volume 104, Number 8, August 1997

49. Abdellah MM, Ammar HG, Anbar M, Mostafa ME, et al. Corneal Endothelial Cell Density and Morphology in Healthy Egyptian Eyes. Journal of ophthalmology 2019; 6370241

50. Tavakoli M, Hossain P, Malik RA. Clinical application of confocal microscopy. Clin Ophthalmol 2008; 2(2): 435–445.

51. Mache J, Eriksen M. The Tobacco Atlas. Geneva, Switzerland: World Health Organization;2002.

52. Cheng AC, Pang Cpk, Leung at. The association between cigarette smoking and ocular diseases. Hong Kong Med J,2000;6:195-202.

53. Klump KE, McGinnis JF. The role of reactive oxygen species in ocular malignancy. Adv Exp Med Biol. 2014;801: 655–659.

54. Siegfried CJ, Shui Y-B, Holekamp NM, et al. Racial differences in ocular oxidative metabolism: implications for ocular disease. Arch Ophthalmol. 2011; 129:849–854.

55. Fletcher AE. Free radicals, antioxidants and eye diseases: evidence from epidemiological studies on cataract and agerelated macular degeneration. Ophthalmic Res. 2010;44: 191–198.

56. Fernandez-Robredo P, Moya D, Rodriguez JA, GarciaLayana A. Vitamins C and E reduce retinal oxidative stress and nitric oxide metabolites and prevent ultrastructural alterations in porcine hypercholesterolemia. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005; 46:1140–1146.

57. McCarey BE, Edelhauser HF, Lynn MJ. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices, and new intraocular drugs and solutions. Cornea 2008; 27:1–16

58. Maurice DM: Cellular membrane activity in the corneal endothelium of the intact eye Experientia 1968;24 :1.590

59. Beth Ann Benetz et al. Specular Microscopy.Cornea 2018 ;37: S7–S8

60. Peter Is ager et al. Comparison of endothelial cell density estimated by contact and non-contact specular microscopy. Acta Ophthalmol. Scand. 2000: 78: 42–44

61. PERSEUS Didascalia En https://www.csoitalia.it/en/prodotto/info/44perseus

62. Stocker FW. The endothelium of the cornea and its clinical implications. Trans Am Ophthalmol Soc. 1953; 51:669-678.

63. Yunliang S, Yuqiang H, Ying-peng L, Ming-zhi Z, Lam D, Rao S, Corneal Endothelial Cell Density and Morphology inHealthy Chinese Eyes Cornea 2007;26:130-132

64. Bourne WM, Kaufman HE. Specular microscopy of human corneal endothelium in vivo. Am J Ophthalmol. 1976; 81:319–323.

65. Laing RA, Sanstrom MM, Berrospi AR, et al. Changes in the corneal endothelium as a function of age. Exp Eye Res. 1976; 22:587–594.

66. Murata T, Hinokuma R, Matsumoto K. Related. A clinical study in humancorneal endothelium- observation with specular microscope. Nippon Ganka Gakkai Zasshi. 1979; 83:953-963.

67. Mishima S. Clinical investigations on the corneal endothelium. Am J Ophthalmol. 1982; 93:1-29.

68. Padilla MD, Sibayan SA, Gonzales CS: Corneal endothelial cell density and morphology in normal Filipino eyes. Cornea 2004, 23:129-35.

69. Snellingen T, Rao GN, Shrestha JK, Huq F, Cheng H: Quantitative and morphological characteristics of the human corneal endothelium in relation to age, gender, and ethnicity in cataract populations of South Asia. Cornea 2001, 20:55-8.

70. Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF: Comparison of the corneal endothelium in an American and a Japanese population. Arch Ophthalmol 1985, 103:68-70. 10-.

71. Rao SK, Ranjan Sen P, Fogla R, Gangadharan S, Padmanabhan P, Badrinath SS: Corneal endothelial cell density and morphology in normal Indian eyes. Cornea 2000, 19:820- 23.

72. Hashemian M N. Moghimi S, Fard M, Fallah M R Mansouri M R. Corneal endothelial cell density and morphology in normal Iranian eyes. BMC Ophthalmology 2006, 6:9.

73. Sanchis-Gimeno J. Lleó-Pérez A, Alonso L, Rahhal M. Martínez Soriano F. Corneal endothelial cell density decreases with age in emmetropic eyes. Histol Histopathol (2005) 20: 423- 42.

74. Ko M.K., Park W.K., Lee J.H. and Chi J.G. (2001). A histomorphometric study of corneal endothelial cells in normal human fetuses. Exp.Eye. Res. 72, 403-409.

75. Bourne W.M. and McLaren J.W. (2004). Clinical responses of the corneal endothelium. Exp. Eye Res. 78, 561-572.

76. Joyce N.C. (2003). Proliferative capacity of the corneal endothelium. Prog. Ret. Eye. Res. 22, 359-389.

77. Abib F.C. and Barreto J. (2001). Behavior of corneal endothelial density over a lifetime J. Cataract. Refract. Surg. 27, 1574-1578.

78. Ayala G., Díaz M.E. and Martínez Costa L. (2001). Granulometric moments and corneal endothelium status. Pattern Recognition 34, 1219-1227.

79. Gutiérrez J., Ayala G. and Díaz M.E. (2001). Set descriptors for visual evaluation of human corneal endothelia. Computer Vision Image Understanding 84, 249-263.

80. Sihota R., Lakshmaiah N.C., Titiyal J.S., Dada T. and Agarwal H.C. (2003). Corneal endothelial status in the subtypes of primary angle closure glaucoma. Clin. Exp. Ophthalmol. 31, 492-495.

81. Lee J.S., Park W.S., Lee S.H., Oum B.S. and Cho B.M. (2001). A comparative study of corneal endothelial changes induced by different durations of soft contact lens wear. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 239, 1-4.

82. Erickson P., Doughty M.J., Comstock T.L. and Cullen A.P. (1998). Endothelial cell density and contact lens-induced corneal swelling. Cornea 17, 152-157.

83. American Academy of Ophthalmology: Corneal endothelial photography. Three-year revision. Ophthalmology 1997, 104:1360-5.

84. Bourne WM. Nelson LR, Hodge DO: Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation. Ophthalmology 1994,101:1014-22.

85. Walkow T, Anders N, Klebe S: Endothelial cell loss after phacoemulsification: relation to preoperative and intraoperative parameters. J Cataract Refract Surg 2000, 26:727-32.

86. Pop M, Payette Y: Initial results of endothelial cell counts after Artisan lens for phakic eyes. Ophthalmology 2004, 111:309-17.

87. Padilla MD, Sibayan SA, Gonzales CS: Corneal endothelial cell density and morphology in normal Filipino eyes. Cornea 2004, 23:129-35.

88. Snellingen T, Rao GN, Shrestha JK, Huq F, Cheng H: Quantitative and morphological characteristics of the human corneal endothelium in relation to age, gender, and ethnicity in cataract populations of South Asia. Cornea 2001, 20:55-8.

89. Landesz M, Siertsema JV, Van Rij G: Comparative study of three semiautomated specular microscopes. J Cataract Refract Surg 1995, 21:409-16.

90. Inoue K, Tokuda Y, Inoue Y, Amano S, Oshika T, Inoue J: Corneal endothelial cell morphology in patients undergoing cataract surgery. Cornea 2002, 21:360-3.

91. Modis L, Langenbucher A, Seitz B. Corneal endothelial cell density and pachymetry measured by contact and noncontact specular microscopy. Journal of Cataract & Refractive Surgery. Vol 28. Issue 10, pages 1763-1767.

92. Higaa A, Sakaia H, Sawaguchia S, Iwaseb A, Tomidokoroc A, Amanoc. Corneal Endothelial Cell Density and Associated Factors in a Population-Based Study in Japan: The Kumejima Study. American Journal of Ophthalmoloy. Volume 149, Issue 5, May 2010, Pages 794-799.

93. Salih M. Corneal endothelial cell density and morphology in normal Malay Eyes. Med J Malaysia Vol 66 No 4 October 2011, pages 300-303.

94. Sopapornamorn N, Lekskul M, Panichkul S. Corneal endothelial cell density and morphology in Phramongkutklao Hospital. Clinical Ophthalmology 2008:2(1) 147-151 34-

95. Laule A, Cable MK, Hoffman CE, Hanna C: Endothelial cell population changes of human cornea during life. Arch Ophtalmol. 1978, 96:2031-5.

96. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF: Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Curr Eye Res 1985, 4:671-8.