

Corneal endothelial iayer changes in various stages of keratoconus and their correlation with topographic findings: a cross-sectional study

Rana Sorkhabi¹ , Saba Asghari¹, Amin Arasteh² , Ahad Jafari¹, Mohammad Hosein Ahoor^{1*} 

¹Ophthalmology Department, Nikookari Eye Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Ophthalmology Resident, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 18 Feb 2024

Accepted: 1 Jun 2024

ePublished: 18 Nov 2024

Keywords:

- Keratoconus
- Pleomorphism
- Polymegethism
- Endothelium
- Topography

Abstract

Background. Keratoconus (KCN) is a multifactorial progressive corneal disease that leads to significant disturbances in visual function. Various layers of the cornea, such as the endothelium, are affected by this condition. This study aimed to evaluate the corneal endothelial layer in different stages of the KCN and its correlation to topographic findings.

Methods. It is a cross-sectional study of 110 eyes of 70 patients (28 females and 42 males) with KCN. The KCN severity staging in this study was based on the Amsler-Krumeich criteria and topographic findings. Specular microscopy was used to evaluate and compare the condition of the endothelial layer in different stages of KCN.

Results. The prevalence of the various stages of KCN was 10%, 33.6%, 13.6%, and 42.8%, respectively, for stages I to IV. There was no significant difference between various stages of OCN regarding endothelial cell density and polymegethism ($P=0.759$ and $P=0.052$, respectively). However, the mean frequency of the hexagonal endothelial cells (6A) in stage IV was 7.8% lower than in stage II eyes ($P=0.025$). In addition, the K_{max} had a positive correlation with polymegethism ($P<0.001$, $r^2=0.110$) and a negative correlation with 6A ($P=0.007$, $r^2=0.066$).

Conclusion. According to our findings, the progression of KCN could be associated with increased endothelial cell pleomorphism, and higher K_{max} could be associated with polymegethism. However, there was no significant difference in endothelial cell density or polymegethism between the various stages of KCN.

Practical Implications. Regarding the possible changes in the corneal endothelial layer with KCN progression, the pre-operative endothelial evaluations could improve the surgical plans in these patients.

How to cite this article: Sorkhabi R, Asghari S, Arasteh A, Jafari A, Ahoor M H. Corneal endothelial iayer changes in various stages of keratoconus and their correlation with topographic findings: a cross-sectional study. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2024; 46():doi:10.34172/mj.025.33588. Persian.

*Corresponding author; Email: mh.ahoor@gmail.com

© 2024 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Background

Keratoconus (KCN) is a multifactorial progressive corneal disease that causes significant visual dysfunction starting at young ages. Globally, it has been estimated that 1.38 people are affected by KCN in 1,000 people. Previously, it was assumed that it was mainly a structural disease of the cornea; however, it has been demonstrated that inflammatory pathways enroll in its physiopathology. Since then, the disease could influence all the cornea's layers, such as the endothelium. The therapeutic options of KCN, such as contact lenses, crosslinking (CXL), and corneal transplantations, could alter the endothelial layer. A better understanding of the endothelial condition in various stages of KCN could be helpful. There have been limited studies on evaluating the corneal endothelial layer in KCN; however, the results were heterogeneous. This study sought to evaluate the endothelial layer by specular microscopy in KCN cases and investigate the possible association between the topographic findings and endothelial features.

Methods

This cross-sectional observational study was conducted at Nikookari Eye Hospital, Tabriz, Iran, between November 2021 and January 2022. The Local Medical Research Ethics Committee at Tabriz University of Medical Sciences ethically approved the study (IR.TBZMED.REC.1398.1078). All the patients entered the study after obtaining informed written consent.

Overall, 110 eyes of 70 patients (28 females and 42 males) with KCN were examined in the study. Forty patients had bilateral KCN, and 30 cases had unilateral KCN. None of the included eyes had any history of ocular surgery, contact lens use, glaucoma, or corneal dystrophy. All the included eyes underwent a thorough ophthalmic examination with slit-lamp, corneal topography (Pentacam HR), and corneal specular microscopy (EM-3000).

The maximum keratometry (K_{max}), the thinnest thickness of the cornea, and the anterior chamber (AC) depth were extracted from corneal topography

imaging. The endothelial cell density (CD), variations in the size of the endothelial cells (polymegethism, CV), and the hexagonal cell proportion (pleomorphism, 6A) were evaluated by specular microscopy.

Patients were staged into four groups based on the severity of the KCN using the Amsler-Krumeich staging system: the I, the mildest form, and the IV, the most advanced form of KCN. The refractive error, mean keratometry, the thinnest thickness of the cornea, and the corneal scar are the determining factors of this staging system.

IBM SPSS v25.0 was used to conduct statistical analyses. The parametric data were analyzed using ANOVA and Tukey HSD post-hoc tests. Moreover, the non-parametric and categorical data were analyzed using the Kruskal-Wallis test and a Chi-square test, respectively. The linear regression method was utilized to evaluate the correlation between variables. The statistical significance threshold was set to 0.05.

Results

The mean age of the included patients was 24.6 (95% CI=23.2–25.9). The prevalence of the various stages of KCN, from the mildest to the most advanced form, was 10% (n=11), 33.6% (n=37), 13.6% (n=15), and 42.8% (n=47), respectively. The stage III cases were significantly older than stage II (28.5 vs. 22.0, $P=0.004$). The gender distribution showed no significant difference between the four stages ($P=0.702$).

Predictably, the K_{max} and the thinnest thickness of the cornea differed significantly between the various stages of the KCN. The mean K_{max} was 46.6, 50.5, 53.9, and 58.8 D, respectively, in stages I to IV ($P<0.001$). The stage I cases had 48.8 μm and 72.2 μm thicker cornea compared to stages III and IV in mean (490.3 vs. 441.4 and 418.1 μm , respectively). Moreover, stage II cases had a mean corneal thinnest thickness of 54.5 μm thicker than stage IV cases (472.6 vs. 418.1 μm). Regarding the K_{max} , all four groups had significantly different values pairwise. The AC depth demonstrated no significant difference

between the four stages (3.38,3.39,3.40, and 3.54mm, respectively, $P=0.704$).

The specular microscopy evaluations revealed no significant difference between the various stages regarding endothelial CD and polymegethism ($P=0.759$ and 0.052 , respectively). The mean CD was 2674.8, 2584.9, 2613.6, and 2636.5 cells per mm^2 , respectively, in stages I to IV. The mean CV was 42.6,38.5,45.2, and 46.2, respectively. However, the prevalence of hexagonal cells was significantly higher in stage II cases compared to stage IV ones (38.4% vs. 30.5%, $P=0.025$). Thus, stage IV cases demonstrated a higher pleomorphism than stage II cases. In addition, it should be noted that all the stages of KCN represented a 6A lower than 50%, indicating endothelial malfunction (33.2,38.4,35.3, and 30.5%, respectively, stages I to IV).

The K_{max} significantly correlated with polymegethism and pleomorphism ($P<0.001$ and 0.007 , respectively). Higher K_{max} indicated higher polymegethism ($r^2=0.110$) and pleomorphism

($r^2=0.066$). In addition, pleomorphism was higher when the cornea was thinner ($r^2=0.097$, $P=0.001$).

Conclusion

The KCN could affect all the layers of the cornea, and it could be noticed during the management of these patients. Although our results did not demonstrate a significant decrease in CD and an increase in polymegethism, the more advanced stages of KCN were associated with higher pleomorphism. Furthermore, the increase in K_{max} was associated with increased polymegethism and pleomorphism. Prescribing contact lenses, CXL, cataract surgery, and deep anterior lamellar keratoplasty could predispose the endothelium to more damage, leading to endothelial decompensation. Hence, a pre-operative evaluation of the endothelium in KCN cases, especially in more advanced stages, may reduce the risk of post-operative endothelial complications by altering the therapeutic plan.

تغییرات اندوتلیوم قرنیه در مراحل مختلف کراتوکونوس و ارتباط آن با یافته‌های توپوگرافی: مطالعه مقطعی

رعنا سرخابی^۱، صبا اصغری^۱، امین آراسته^۲، احد جعفری^۱، محمد حسین آهور^{۱*}

^۱ گروه چشم‌پزشکی، بیمارستان چشم‌پزشکی نیکوکاری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲ رزیدنت چشم‌پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

زمینه. بیماری کراتوکونوس یک بیماری پیش‌رونده چندعاملی قرنیه می‌باشد که منجر به کاهش بینایی می‌گردد. لایه‌های مختلف قرنیه از جمله اندوتلیوم در این بیماری دستخوش تغییرات می‌گردد. هدف از این مطالعه ارزیابی اندوتلیوم قرنیه در مراحل مختلف کراتوکونوس و ارتباط آن با یافته‌های توپوگرافی قرنیه می‌باشد.

روش کار. این مطالعه به روش مشاهده‌ای مقطعی بر روی ۱۱۰ چشم از ۷۰ بیمار (۲۸ زن و ۴۲ مرد) مبتلا به کراتوکونوس در سال ۱۴۰۰ انجام شده است. تقسیم‌بندی شدت کراتوکونوس با معیارهای Amsler-Krumeich و با استفاده از یافته‌های توپوگرافی قرنیه انجام گردید. میکروسکوپ اسپکولار برای ارزیابی و مقایسه اندوتلیوم بیماران استفاده گردید. از نسخه ۲۵ نرم‌افزار IBM SPSS برای آنالیز آماری استفاده شده و ۰/۰۵ به‌عنوان حد معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها. فراوانی مراحل I تا IV کراتوکونوس به ترتیب ۱۰٪، ۳۳/۶٪، ۱۳/۶٪ و ۴۲/۸٪ بوده است. تراکم سلول‌های اندوتلیال و پلی‌مگاتیسیم تفاوت معنی‌داری بین مراحل مختلف کراتوکونوس نداشت (P به ترتیب ۷۵۹/۰ و ۵۲/۰). با این وجود، فراوانی سلول‌های هگزگونال در مرحله IV نسبت به مرحله II کراتوکونوس به میزان ۷/۸٪ کمتر بود ($P: ۰/۰۲۵$). همچنین ارتباط معنی‌داری بین K_{max} با میزان پلی‌مگاتیسیم (همبستگی مثبت، $P: ۰/۰۰۱ > P^2$ ، $۰/۱۱۰$) و فراوانی سلول‌های هگزگونال (همبستگی منفی، $P: ۰/۰۰۷$ ، $۰/۰۶۶ < P^2$) وجود دارد.

نتیجه‌گیری. بر اساس نتایج مطالعه ما مراحل پیشرفته کراتوکونوس با افزایش پلی‌مورفیسیم سلول‌های اندوتلیال همراه می‌باشد، اما تفاوت معنی‌داری از لحاظ تراکم اندوتلیال و پلی‌مگاتیسیم بین مراحل مختلف کراتوکونوس وجود نداشت.

پیامدهای عملی. ارزیابی اندوتلیوم بیماران کراتوکونوس قبل از اقدامات جراحی می‌تواند در تصمیم‌گیری نهایی برای روش جراحی تأثیرگذار باشد.

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۹

پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۱۲

انتشار برخط: ۱۴۰۳/۸/۲۸

کلیدواژه‌ها:

- کراتوکونوس
- پلی‌مورفیسیم
- پلی‌مگاتیسیم
- اندوتلیوم
- توپوگرافی

مقدمه

بیماری کراتوکونوس مربوط به لایه استرومای قرنیه و کراتوسیت‌های این لایه می‌باشد، لایه‌های اپیتلیوم و اندوتلیوم نیز در این بیماری دستخوش تغییراتی می‌شوند.^۱ شیوع گزارش شده برای کراتوکونوس در مطالعات و جمعیت‌های مختلف متفاوت است. میزان تخمین زده شده میانگین شیوع جهانی بر اساس یک مرور نظام‌مند اخیر حدود ۱/۳۸ نفر به ازای هر ۱۰۰۰ نفر جمعیت می‌باشد.^۲

برای بهبود دید بیماران مبتلا به کراتوکونوس، بسته به میزان پیشرفت بیماری می‌توان از روش‌های کمتر تهاجمی همچون

کراتوکونوس یک بیماری چندعاملی درگیر کننده قرنیه می‌باشد، که منجر به نازک شدن و اکتازی پیش‌رونده قرنیه معمولاً به صورت دوطرفه می‌گردد، که با تری دید ناشی از آستیگماتیسیم نامنظم همراه است. تغییرات ممکن است به‌طور قابل‌توجهی بین دو چشم نامتقارن باشند. در گذشته این بیماری بیشتر به‌عنوان یک بیماری غیر انتهایی شناخته می‌شد، اما اکنون با پیشرفت مطالعات مولکولی، نشان داده شده که فاکتورهای انتهایی نیز در بروز و پیشرفت آن نقش دارند.^۱ علی‌رغم اینکه پاتولوژی اصلی

* نویسنده مسئول: ایمیل: mh.ahoor@gmail.com

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

دیگر از جمله گلوکوم و دیستروفی‌های قرنیه وارد مطالعه شدند. بیماران دارای هیدروپس، سابقه استفاده از لنزهای تماسی، کراس لینکینگ، ترومای چشمی یا هرگونه مداخله جراحی چشمی از مطالعه کنار گذاشته شدند.

تمامی بیماران تحت معاینه کامل چشمی شامل ارزیابی حدت بینایی (VA)، عیوب انکساری، بیومیکروسکوپی با اسلیت لامپ قرار گرفتند. در نهایت بیماران مورد مطالعه تحت تصویربرداری قرنیه با دستگاه پنتاکم (جهت ارزیابی توپوگرافی و توموگرافی قرنیه) و میکروسکوپ اسپیکولار (جهت ارزیابی تراکم و وضعیت سلول‌های اندوتلیال قرنیه) قرار گرفتند.

توموگرافی قرنیه مبتنی بر Scheimpflug با استفاده از Pentacam HR; Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Germany) انجام شد. تمامی تصویربرداری‌ها توسط یک کارشناس خبره در تصویربرداری با دستگاه Pentacam صورت گرفته است. داده‌های جمع‌آوری شده از نتایج تصویربرداری دستگاه Pentacam شامل کراتومتری حداکثر (K_{max})، کم‌ترین ضخامت قرنیه و عمق اتاقک قدامی بوده است.

برای ارزیابی وضعیت لایه اندوتلیوم قرنیه بیماران از میکروسکوپ اسپیکولار EM-3000 (CBD/Tomey, Phoenix, aZ, USA) استفاده شده است و تمامی ارزیابی‌ها توسط یک کارشناس خبره انجام شده است. داده‌های جمع‌آوری شده از میکروسکوپ دوربینی شامل تراکم سلولی در هر میلی‌متر مربع (CD)، میزان واریاسیون و تنوع سایز سلول‌ها (پلی‌مگاتیسیم) (CV) و فراوانی سلول‌هایی که شکل شش‌ضلعی دارند (6A) می‌باشد.

برای طبقه‌بندی شدت کراتوکونوس در بیماران، از سیستم طبقه‌بندی (Amsler-Krumeich, AK) استفاده شده است. داده‌های مورد استفاده برای این سیستم طبقه‌بندی شامل معاینه بالینی قرنیه از جهت وجود اسکار، میزان میانگین کراتومتری، نازک‌ترین ضخامت قرنیه و عیب انکساری بیمار می‌باشد. طبق جدول ۱، بیماران بر اساس این معیارها به ۴ مرحله از بیماری کراتوکونوس از نظر شدت تقسیم می‌گردند.

داده‌ها بین نوامبر ۲۰۲۱ و ژانویه ۲۰۲۲ جمع‌آوری شد. معاینات چشم‌پزشکی، شرح حال‌گیری و اخذ رضایت آگاهانه بیماران برای شرکت در مطالعه توسط چشم‌پزشکان فوق تخصص قرنیه در کلینیک فوق تخصصی بیمارستان انجام شد و یافته‌ها در پرونده بیماران درج گردید و نهایتاً جهت آنالیز آماری جمع‌آوری گردید.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۵) انجام شد. برای ارزیابی توزیع داده‌ها از هیستوگرام و تست آماری

عینک، لنزهای نرم، لنزهای سخت و لنزهای اسکرال و هیبریدی استفاده کرد.^۴ همچنین در موارد پیشرفته‌تر و عدم تحمل لنز تماسی می‌توان از روش‌های جراحی همچون تعبیه حلقه‌های داخل قرنیه (ICRS) یا روش‌های مختلف پیوند قرنیه برای بهبود دید بیماران استفاده کرد.^۵ به‌طور معمول در گذشته روش جراحی (Penetrating Keratoplasty, PK) روش انتخابی پیوند قرنیه برای کراتوکونوس‌های پیشرفته بوده است. با این حال پیشرفت‌های تکنیک‌های جراحی و مطالعات بیشتر، روش DALK را به‌عنوان یکی از روش‌های جایگزین مطرح کرده است، زیرا عوارض کمتری نسبت به روش PK به دنبال دارد.^۶ نکته‌ای که در موفقیت جراحی DALK تأثیر بسزایی دارد، عملکرد سلول اندوتلیال میزبان می‌باشد، که میزان بقای بافت پیوندی و شفافیت آن را می‌تواند تأمین کند و در صورت اختلال عملکرد لایه اندوتلیوم، انجام DALK توصیه نمی‌گردد.^۷ لذا شناخت صحیح از وضعیت لایه اندوتلیوم قرنیه در مراحل مختلف کراتوکونوس می‌تواند از جهت پیش‌بینی میزان موفقیت جراحی‌های پیوند قرنیه حائز اهمیت باشد.

مطالعات گوناگونی به بررسی وضعیت و تراکم سلول‌های اندوتلیال قرنیه در بیماران مبتلا به کراتوکونوس پرداخته است، که نتایج متفاوت و متناقضی را به همراه داشته‌اند. برخی مطالعات در مقایسه با جمعیت نرمال اشاره به افزایش تراکم اندوتلیال^۸، برخی به کاهش^۹ و برخی به عدم تفاوت^{۱۰} در بیماران کراتوکونوسی اشاره کرده‌اند. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات لایه اندوتلیوم قرنیه در مراحل مختلف کراتوکونوس با استفاده از میکروسکوپ اسپیکولار و ارزیابی ارتباط آن با یافته‌های توپوگرافی می‌باشد.

روش کار

این مطالعه مشاهده‌ای مقطعی در بخش چشم‌پزشکی (بیمارستان نیکوکاری) دانشگاه علوم پزشکی تبریز در پاییز و زمستان ۱۴۰۰ انجام شده است. این مطالعه با توجه به رعایت اصول اخلاقی بنامیه هلسینکی، به تأیید کمیته اخلاق محلی دانشگاه علوم پزشکی تبریز رسیده است (کد اخلاق: IR.TBZMED.REC.1398.1078). جهت ورود به مطالعه از همه بیماران رضایت‌نامه کتبی آگاهانه اخذ شده است. ۷۰ بیمار با ۱۱۰ چشم وارد این مطالعه شده‌اند. ۴۰ بیمار مبتلا به کراتوکونوس دوطرفه بوده‌اند و در ۳۰ بیمار تنها یکی از چشم‌ها با توجه به معیارهای تشخیصی مبتلا به کراتوکونوس بوده است. بیماران سرپایی مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های تخصصی و فوق تخصصی مبتلا به کراتوکونوس یک یا دوطرفه بدون هرگونه بیماری چشمی

گروه‌ها با یکدیگر بوده است. در رابطه با میزان عمق اتاقک قدامی نتایج نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین مراحل مختلف کراتوکونوس بوده است ($P: 0.074$). جزئیات بیشتر در رابطه با داده‌های به‌دست‌آمده از تصویربرداری پنتاکم در جدول ۳ موجود می‌باشد.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز داده‌های میکروسکوپ اسپیکولار، تفاوت معنی‌داری بین مراحل مختلف کراتوکونوس از لحاظ تراکم سلول‌های اندوتلیال و پلی‌مگاتیسم آن‌ها وجود نداشته است (P به ترتیب 0.0709 و 0.052). باین‌وجود از نظر فراوانی سلول‌های اندوتلیال هگزگونال تفاوت معنی‌دار بین شدت‌های مختلف کراتوکونوس وجود داشته است ($P: 0.025$). طبق نتایج افراد مبتلا به مرحله ۴ کراتوکونوس نسبت به افراد مرحله ۲ به‌طور میانگین $7/8\%$ ($95\%CI: 10/0-0/5$) سلول‌های هگزگونال کمتری داشته‌اند ($P: 0.029$). همچنین این نکته حائز اهمیت می‌باشد، که همگی مراحل بیماری میزان $6A$ کمتر از 50% دارند، که نشان‌دهنده تضعیف لایه اندوتلیال می‌باشد. نتایج میکروسکوپ اسپیکولار با جزئیات بیشتر در جدول ۴ موجود است. نتایج بررسی ارتباط بین داده‌های میکروسکوپ اسپیکولار و توپوگرافی قرنیه، نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار K_{max} با میزان پلی‌مگاتیسم ($P: 0.001 > t^2: 0/110$) و فراوانی سلول‌های هگزگونال ($P: 0.007 > t^2: 0/66$) بوده است. افرادی که K_{max} ‌های بالاتری داشتند، میزان پلی‌مگاتیسم بیشتر و فراوانی سلول‌های هگزگونال کمتری داشتند. همچنین بین فراوانی سلول‌های هگزگونال و میزان ضخامت نازک‌ترین قسمت قرنیه ارتباط معنی‌دار وجود داشته است ($P: 0/001 > r^2: 0/97$). افرادی که ضخامت قرنیه بیشتری داشتند فراوانی سلول‌های هگزگونال بالاتری داشتند. باوجود معنی‌داری آماری این ارتباطها، با توجه به میزان پایین r^2 در هر سه مورد، قدرت این ارتباط ضعیف بوده و میزان پیشگویی‌کنندگی پایینی دارند.

Kolmogorov-Smirnov استفاده گردید. برای توصیف داده‌های کمی با توزیع نرمال از مقادیر میانگین، بازه اطمینان 95% و حداقل/حداکثر استفاده گردید. برای مقایسه داده‌های کمی با توزیع نرمال در شدت‌های مختلف کراتوکونوس از تست پارامتریک ANOVA استفاده گردید و برای آنالیز پست‌هاک از تست تعقیبی Tukey HSD استفاده گردید. در مواردی که توزیع داده‌ها غیر نرمال بوده از تست غیر پارامتریک Kruskal-Wallis استفاده شد. برای آنالیز فراوانی داده‌های غیر کمی از Chi-Square استفاده گردید. برای ارزیابی همبستگی بین داده‌های کمی از رگرسیون خطی استفاده گردید و جهت گزارش میزان همبستگی و قدرت پیشگویی‌کنندگی از r^2 استفاده گردید. در این مطالعه مقادیر P کمتر از $0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

این مطالعه شامل 70 بیمار (28 زن (40%) و 42 مرد (60%)) با 110 چشم بود. میانگین سنی بیماران $24/6$ ($23/2-25/9$) می‌باشد. بر اساس معیارهای AK، 11 چشم (10%) در مرحله I، 37 چشم ($33/6\%$) مرحله II، 15 چشم ($13/6\%$) در مرحله III و 47 چشم ($42/8\%$) در مرحله IV کراتوکونوس قرار داشتند.

میانگین سنی بین 4 گروه مختلف کراتوکونوس تفاوت معنی‌داری داشته است ($P: 0/004$) که بررسی بین گروهی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین سنی بین مرحله ۲ و ۳ کراتوکونوس بوده است. به‌طور میانگین افراد مبتلا به مرحله ۳ کراتوکونوس $6/4$ سال ($95\%CI: 11/8-0/95$) بزرگ‌تر از افراد مبتلا به گروه مرحله ۲ بوده‌اند. توزیع جنسیتی بین مراحل مختلف کراتوکونوس تفاوت معنی‌داری نداشته است ($P: 0/7$). مشخصات دموگرافیک افراد در مراحل مختلف کراتوکونوس با جزئیات در جدول ۲ ارایه شده است. همان‌طور که انتظار می‌رود تفاوت معنی‌داری بین مراحل مختلف کراتوکونوس در رابطه با کراتومتري حداکثر (K_{max}) ($P: 0/001 >$) و نازک‌ترین ضخامت قرنیه ($P: 0/001 >$) وجود دارد.

افراد با مرحله ۱ کراتوکونوس نسبت به افراد مرحله ۳ به‌طور میانگین $48/8$ میکرون ($95\%CI: 1/2-95/0$) و نسبت به افراد مرحله ۴ به‌طور میانگین $72/2$ میکرون ($95\%CI: 10/6/5-37/9$) قرنیه ضخیم‌تری دارند. همچنین افراد مرحله ۲ کراتوکونوس نسبت به افراد مرحله ۴ به‌طور میانگین $54/5$ میکرون ($32/0-95\%CI: 7/0$) قرنیه ضخیم‌تری دارند. در رابطه با میزان K_{max} آنالیزهای پست‌هاک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین یک‌به‌یک

جدول ۱. معیارهای طبقه‌بندی (AK) Amsler-Krumeich برای شدت کراتوکونوس

معیارها	Stage
وجود Eccentric steepening میوپیا/آستیگماتیسم > ۵ دیوپتر میانگین کراتومتري > ۴۸ دیوپتر	I
میوپیا/آستیگماتیسم بین ۵ تا ۸ دیوپتر میانگین کراتومتري > ۵۳ دیوپتر عدم وجود اسکار قرنیه	II
کم‌ترین ضخامت قرنیه بیش از ۴۰۰ میکرومتر میوپیا/آستیگماتیسم بین ۸ تا ۱۰ دیوپتر میانگین کراتومتري < ۵۳ دیوپتر عدم وجود اسکار قرنیه	III
کم‌ترین ضخامت قرنیه بین ۳۰۰ تا ۴۰۰ میکرومتر عدم امکان ارزیابی عیب انکساری میانگین کراتومتري < ۵۵ دیوپتر وجود اسکار مرکزی قرنیه کم‌ترین ضخامت قرنیه > ۳۰۰ میکرومتر	IV

جدول ۲. اطلاعات دموگرافیک مراحل مختلف کراتوکونوس

P	IV	III	II	I	مرحله
۰/۰۰۴	۲۵/۹ (۲۳/۶ - ۲۸/۱)	۲۸/۵ (۲۶/۰ - ۳۱/۰)	۲۲/۰ (۱۹/۷ - ۲۴/۳)	۲۲/۱ (۱۹/۵ - ۲۴/۷)	سن (میانگین، بازه اطمینان ۹۵٪)
۰/۷۰۲	۲۸ (۵۹٪) ۱۹ (۴۰٪)	۱۱ (۷۳٪) ۴ (۲۶٪)	۲۱ (۵۶٪) ۱۶ (۴۳٪)	۶ (۵۴٪) ۵ (۴۵٪)	جنسیت (تعداد، فراوانی) مرد زن

جدول ۳. یافته‌های توبوگرافی در مراحل مختلف کراتوکونوس

P	IV	III	II	I	مرحله
۰/۰۰۱	۵۸/۸ (۵۷/۶ - ۵۹/۹)	۵۳/۹ (۵۳/۲ - ۵۴/۵)	۵۰/۵ (۵۰/۱ - ۵۰/۸)	۴۶/۶ (۴۶/۲ - ۴۶/۹)	کراتومتري حداکثر (میانگین، بازه اطمینان ۹۵٪)
۰/۰۰۱	۴۱۸/۱ (۴۲۹/۴ - ۴۰۶/۸)	۴۴۱/۴ (۴۷۰/۹ - ۴۱۲/۰)	۴۷۲/۶ (۴۸۵/۴ - ۴۵۹/۸)	۴۹۰/۳ (۵۰۰/۲ - ۴۸۰/۴)	نازک‌ترین ضخامت قرنیه (میانگین، بازه اطمینان ۹۵٪)
۰/۷۰۴	۳/۵۴ (۳/۶۸ - ۳/۴۱)	۳/۴۰ (۳/۵۴ - ۳/۲۶)	۳/۳۹ (۳/۴۹ - ۳/۲۹)	۳/۳۸ (۳/۴۸ - ۳/۲۸)	عمق اتاقک قدامی (میانگین، بازه اطمینان ۹۵٪)

جدول ۴. یافته‌های میکروسکوپ اسپیکولار در مراحل مختلف کراتوکونوس

P	IV	III	II	I	مرحله
۰/۷۵۹	۲۶۳۶/۵ (۲۷۳۷/۲ - ۲۵۳۵/۷)	۲۶۱۳/۶ (۲۷۵۳/۷ - ۲۴۷۳/۵)	۲۵۸۴/۹ (۲۶۹۰/۸ - ۲۴۷۹/۰)	۲۶۷۴/۸ (۲۸۰۵/۶ - ۲۵۴۴/۰)	تراکم سلولی (میانگین، بازه اطمینان ۹۵٪)
۰/۰۵۲	۴۶/۲ (۵۰/۲ - ۴۲/۳)	۴۵/۲ (۵۱/۷ - ۳۸/۶)	۳۸/۵ (۴۱/۳ - ۳۵/۶)	۴۲/۶ (۴۸/۱ - ۳۷/۰)	پلی‌مگاتیسم (میانگین، بازه اطمینان ۹۵٪)
۰/۰۲۵	۳۰/۵ (۳۴/۴ - ۲۶/۷)	۳۵/۳ (۳۸/۲ - ۳۲/۳)	۳۸/۴ (۴۳/۲ - ۳۳/۵)	۳۳/۲ (۴۰/۴ - ۲۶/۰)	فراوانی سلول‌های هگزگونال (میانگین، بازه اطمینان ۹۵٪)

بحث

یافته و ژن‌های کنترل‌کننده تمایز از جمله CK3/12 کمتر بیان می‌شوند.^{۱۴}

اندوتلیوم قرنیه نیز با توجه به ارتباطی که با سلول‌های استرومال از طریق پیام‌رسان‌های بین سلولی دارد، می‌تواند در کراتوکونوس دستخوش تغییر گردد. یکی از اولین مطالعاتی که به تغییرات بافت‌شناسی لایه اندوتلیوم قرنیه در بیماران کراتوکونوس پرداخته، در سال ۱۹۹۳ توسط استوربام و همکاران انجام شده است. نتایج این مطالعه که بر روی بافت قرنیه برش داده شده بیماران کراتوکونوس جهت پیوند قرنیه بوده است، نشان داده که شواهد پلئومورفیسم و پلی‌مگاتیسم سلول‌های اندوتلیال همراه با لیز غشایی و دژنراسیون مشاهده شده که شدت آن در نواحی محیطی Cone بیشتر از قله آن بوده است.^{۱۵} بعدها با پیشرفت روش‌های تصویربرداری به‌خصوص میکروسکوپ‌های اسپکولار، مطالعات متعددی در این رابطه صورت گرفته است که نتایج متناقضی را به همراه داشته‌اند.

نتایج مطالعه ما نشان داده است، که تفاوتی از نظر پلی‌مگاتیسم و تراکم سلول‌های اندوتلیال در مراحل مختلف کراتوکونوس وجود نداشته، با این‌وجود پلئومورفیسم بیشتر در مرحله ۴ بیماری نسبت به مرحله ۲ مشاهده شده است. همچنین همبستگی ضعیفی بین K_{max} بالاتر و میزان پلئومورفیسم و پلی‌مگاتیسم بیشتر سلول‌های اندوتلیال مشاهده شد. همچنین تمامی مراحل بیماری در مطالعه ما میزان فراوانی سلول‌های هگزآگونال زیر ۵۰٪ داشته‌اند و پلئومورفیسم بیشتری نسبت به مقادیر نرمال داشته‌اند. مطالعه المسری و همکاران روی ۱۵۰ چشم مبتلا به کراتوکونوس نشان داده است، که در مراحل پیشرفته کاهش تراکم سلول‌های اندوتلیال و افزایش پلئومورفیسم و پلی‌مگاتیسم مشاهده می‌شود.^۹ درحالی‌که در مطالعه دیگری روی ۶۵ بیمار مبتلا به کراتوکونوس که لنزهای تماسی استفاده نمی‌کردند، نشان داده، که فارغ از مرحله کراتوکونوس و ضخامت مرکزی قرنیه، تفاوتی بین بیماران و افراد سالم از نظر تراکم سلول‌های اندوتلیال وجود نداشته است.^{۱۰} با این‌وجود مطالعه ادموندز و همکاران نشان داده است که افراد مبتلا به کراتوکونوسی که از لنزهای تماسی نرم استفاده می‌کنند، حدود ۱۸ درصد کاهش در تراکم سلول‌های اندوتلیال نسبت به افراد کراتوکونوسی دارند که از هیچ‌گونه لنزی استفاده نمی‌کنند. همچنین با توجه به یافته‌های این مطالعه انواع دیگر لنزهای از جمله لنزهای سخت نیز می‌توانند در کاهش تراکم سلول‌های اندوتلیال با شدت کمتر نقش داشته باشند.^{۱۱}

این مطالعه مقطعی جهت ارزیابی وضعیت اندوتلیوم قرنیه، تراکم و مورفولوژی سلول‌های اندوتلیال در مراحل مختلف بیماری کراتوکونوس و ارزیابی ارتباط آن با یافته‌های توپوگرافی قرنیه انجام شده است. بیماری کراتوکونوس یک بیماری چندعاملی ساختاری در قرنیه افراد می‌باشد، که تغییرات در بافت میکروسکوپی قرنیه موجب ضعف شدن مکانیکال آن و در نتیجه تغییرات توپوگرافیک قرنیه می‌باشد که از لحاظ کلینیکی حائز اهمیت می‌باشد. مطالعات بر روی ساختار میکروسکوپی قرنیه‌های مبتلا به کراتوکونوس نشان داده‌اند، که تراکم سلول‌های کراتوسیتی در استرومای قدامی و خلفی قرنیه نسبت به افراد نرمال کم‌تر بوده و اعصاب داخل استروما ضخامت بیشتری داشته‌اند.^{۱۱} علاوه بر تئوری‌های مبتنی بر تفاوت ساختار سلولی و پروتئینی قرنیه بیماران کراتوکونوس، نظریه‌هایی در رابطه با نقش سیتوکین‌های التهابی و برخی فاکتورهای رشد در پاتولوژی این بیماری مطرح شده است. نشان داده شده که تولید برخی فاکتورهای التهابی از جمله اینترلوکین ۱ از لایه اپیتلیوم این بیماران می‌تواند باعث تحریک روند التهابی و فعال شدن متالوپروتئینازها در لایه استروم گردد که نهایتاً منجر به آسیب سلول‌های کراتوسیت این لایه گردد. از طرف دیگر خود سلول‌های کراتوسیت آسیب‌دیده برخی فاکتورهای رشد از جمله فاکتور رشد کبدی (HGF) و فاکتور رشد کراتینیوسیتی (KGF) از خود ترشح می‌کنند که با گذر از لایه بومن و دسمه بر سلول‌های اپیتلیوم و اندوتلیوم تاثیر می‌گذارند.^{۱۲}

با وجود اینکه پاتولوژی اصلی کراتوکونوس مربوط به لایه استرومای قرنیه می‌باشد، لایه‌های دیگر قرنیه نیز با توجه به ارتباطات مولکولی بین سلولی می‌توانند در این بیماری دستخوش تغییر گردند. به‌طور مثال نشان داده شده است که در بیماران کراتوکونوس لایه اپیتلیوم می‌تواند با مکانیسم جبرانی در جهت جبران نازک‌شدگی استروما در برخی افراد دچار هایپرپلازی گردد.^{۱۳} همچنین در بیماران کراتوکونوسی ممکن است تراکم سلول‌های اپیتلیوم بازال نسبت به افراد نرمال کاهش یافته‌تر باشد.^۲ همچنین نشان داده شده است که میزان بیان ژن‌های مختلف در سلول‌های اپیتلیوم سطح ناحیه Cone قرنیه با سلول‌های اطراف متفاوت بوده است، به‌نحوی که بیان ژن‌های پروآپتوتیک مثل BAX در سلول‌های مفروش‌کننده Cone بیشتر بوده و ژن‌های مربوط به چرخه سلولی از جمله Cyclin D1 و Ki67 در سلول‌های خارج از Cone بیشتر بیان می‌شده‌اند. همچنین میزان تمایز سلول‌های اپیتلیومی روی Cone نسبت به سلول‌های نرمال کاهش

مطالعات محدودی قبلاً در رابطه با ارزیابی اندوتلیوم در مراحل مختلف کراتوکونوس انجام شده است، با این وجود مطالعه‌ای بر روی جمعیت مبتلا به کراتوکونوس در ایران انجام نشده است. با توجه به اینکه نتایج جمعیت‌های مختلف ناهمگون بوده است، نتایج این مطالعه در ایران می‌تواند به شناخت بهتر این موضوع کمک‌کننده باشد. همچنین در اکثر مطالعات به ارزیابی ارتباط بین یافته‌های توپوگرافی و وضعیت اندوتلیوم پرداخته نشده است، درحالی‌که در مطالعه حاضر این امر نیز مورد بررسی قرار گرفته است. با این وجود تعداد چشم‌های مورد بررسی در این مطالعه در حد متوسط بوده و مطالعات با جمعیت بیشتر و جامع‌تر و از نقاط مختلف ایران می‌تواند در آینده با قوت بیشتری به بررسی این موضوع بپردازد. همچنین مطالعات مشابهی که در کنار یافته‌های بالینی به ارزیابی فاکتورهای مولکولی این پدیده بپردازند می‌توانند کمک شایانی به شناخت بهر این مسئله نمایند.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های مطالعه‌ی ما و مقایسه آن با مطالعات مشابه قبلی می‌توان به این نتیجه رسید، که پیشرفت بیماری کراتوکونوس می‌تواند با مکانیسم‌های کمتر شناخته شده منجر به تغییر در لایه اندوتلیال قرنیه شوند. این تغییر می‌تواند به شکل کاهش تراکم سلول‌های اندوتلیال، افزایش پلی‌مگاتیسم و یا افزایش پلئومورفیسم آن‌ها باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد، که مراحل پیشرفته‌تر کراتوکونوس با پلئومورفیسم بیشتر اندوتلیوم قرنیه همراهی دارد. علی‌رغم این‌که در مطالعه ما تراکم سلول‌های اندوتلیال و پلی‌مگاتیسم به‌طور معنی‌داری بین مراحل مختلف بیماری تفاوت معنی‌داری نداشته است، اما افزایش پلئومورفیسم نیز یکی از معیارهای مهم نشان‌دهنده تضعیف ساختار و عملکرد لایه اندوتلیوم می‌باشد. این مسئله از این لحاظ حائز اهمیت می‌باشد که روش‌های درمانی مختلف از جمله انواع پیوندهای قرنیه، کراس لینکینگ و یا جراحی کاتاراکت می‌توانند اندوتلیوم این بیماران را دستخوش تغییر کنند. لذا در موارد پیشرفته کراتوکونوس قبل از اقدام به جراحی انجام اسپکولار میکروسکوپی می‌تواند ما را از بابت احتمال بروز عوارض مربوط به نارسایی اندوتلیوم راهنمایی کند تا با تصمیم‌گیری صحیح‌تر از بروز عوارض ناخواسته پیشگیری گردد.

قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از سرپرستار محترم بخش تصویربرداری بیمارستان نیکوکاری، سرکار

باین‌حال مطالعه بزرگی روی ۷۱۲ بیمار کراتوکونوسی نشان داده است، که مراحل پیشرفته کراتوکونوس با میزان تراکم اندوتلیال پایین‌تر و پلی‌مگاتیسم بیشتر همراهی دارد و مصرف لنزهای سخت با افزایش پلی‌مگاتیسم همراهی دارد و مصرف انواع لنزها تأثیری بر تراکم اندوتلیال نداشته‌اند.^{۱۷} همچنین بزکورت و همکاران با مطالعه‌ای روی ۳۹۱ چشم کراتوکونوسی نشان دادند، که در مراحل پیشرفته این بیماری تراکم اندوتلیال کاهش می‌یابد و این کاهش همبستگی معنی‌داری با کراتومتري‌های بیشتر و ضخامت قرنیه‌های کمتر دارد.^{۱۸} در نقطه مقابل مطالعه قبلی، مطالعه‌ی دیگری روی ۴۰ چشم نشان داده است که مراحل مختلف کراتوکونوس هیچی ارتباطی با تراکم اندوتلیال، پلی‌مگاتیسم و پلئومورفیسم ندارد. البته در این مطالعه قادر به ارزیابی مرحله ۴ کراتوکونوس با میکروسکوپ اسپکولار نبودند.^{۱۹} به‌طور بحث‌برانگیزی جونا و همکاران با مطالعه خود روی ۲۹ چشم کراتوکونوسی نشان داده‌اند که در قرنیه‌های کراتوکونوسی میزان تراکم اندوتلیال ۶ درصد نسبت به قرنیه‌های نرمال بیشتر بوده است و تفاوتی از نظر پلی‌مگاتیسم نداشتند.^۸ همان‌طور که مشاهده می‌شود، مطالعاتی که به افزایش یا عدم تغییر تراکم اندوتلیال در مراحل مختلف کراتوکونوس اشاره می‌کنند، تعداد بیماران کمی را مورد ارزیابی قرار داده‌اند و شاید این مسئله موجب این یافته‌ها شده است. همچنین این مسئله را باید مد نظر قرار داد، که استفاده از لنزهای تماسی نیز روی تراکم اندوتلیال قرنیه تأثیر می‌گذارد و بیماران کراتوکونوسی از این نظر می‌توانند با یکدیگر متفاوت باشند و یک جمعیت هتروژن رو تشکیل دهند. علاوه بر مطالعاتی که در رابطه با تفاوت‌های اندوتلیوم بیماران کراتوکونوسی با افراد نرمال صورت گرفته است، مطالعات دیگر به بررسی تأثیر روش‌های درمانی این بیماری بر روی اندوتلیوم پرداخته‌اند. بر اساس مطالعه کوبال اوغلو و همکاران بیماران کراتوکونوسی بعد از جراحی DALK در مقایسه با جراحی PK کمتر دچار از دست دادن تراکم سلول‌های اندوتلیومی و افزایش ضخامت قرنیه می‌شوند (۲۱/۶۲ درصد در مقایسه با ۴۷/۸۲ درصد در طول ۴ سال).^{۲۰} همچنین در رابطه با تأثیر کراس لینکینگ (CXL) روی تراکم اندوتلیال، دو مطالعه آینده‌نگر ۱۲ ماهه، نشان داده است که این روش تأثیر بر روی لایه اندوتلیال قرنیه افراد کراتوکونوسی نداشته است.^{۲۱،۲۲} مشابه با مطالعات قبلی، مطالعه دیگر نشان داده است، که انجام accelerated CXL ممکن است به‌صورت گذرا بر روی تراکم اندوتلیال قرنیه تأثیر گذاشته و آن را کاهش دهد، ولی بعد از ۶ ماه میزان آن به حالت اولیه بازمی‌گردد.^{۲۳}

خانم طاهره عطار، که در انجام دقیق تصویربرداری‌های این مطالعه کمال لطف و همکاری را داشته اند، به عمل آورند.

مشارکت پدیدآورندگان

ایده‌پردازی و طراحی مطالعه و انتخاب بیماران توسط دکتر رعنا سرخابی صورت گرفته است. تصویربرداری‌های بیماران و جمع‌آوری داده‌ها توسط دکتر صبا اصغری و دکتر احد جعفری انجام شده است. آنالیز آماری و نوشتن متن اولیه مقاله توسط دکتر امین آراسته و دکتر محمد حسین آهور صورت گرفته است. تمامی نویسندگان سپس متن اولیه مقاله را مطالعه کرده و متن نهایی آماده شده را مورد تأیید قرار داده‌اند.

منابع مالی

هیچ منبع مالی برای این مطالعه مورداستفاده قرار نگرفته است.

دسترس‌پذیری داده‌ها

داده‌های ایجادشده در مطالعه فعلی در صورت درخواست معقول از پدیدآور رابط آرایه می‌گردد.

ملاحظات اخلاقی

انجام این مطالعه بعد از اخذ کد اخلاق به شماره IR.TBZMED.REC.1398.1078 از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز آغاز گردید. تمامی بیماران قبل از ورود به مطالعه، اطلاعات کامل در رابطه با روند مطالعه و علت انجام آن را از محققین مطالعه دریافت کرده‌اند و در صورتی که رضایت به ورود به مطالعه داشتند با اخذ رضایت آگاهانه کتبی وارد مطالعه شده‌اند. همچنین در صورت انصراف هر فردی از شرکت در مطالعه، داده‌های مربوط به وی از مطالعه خارج گردیده است.

تعارض منافع

هیچ‌یک از پدیدآورندگان این مقاله هیچ‌گونه تعارض منافی در رابطه با مطالب ذکرشده در این مطالعه با سازمان‌ها و افراد دیگری ندارند و این اثر حاصل یک پژوهش مستقل بوده است.

References

- Santodomingo-Rubido J, Carracedo G, Suzaki A, Villa-Collar C, Vincent SJ, Wolffsohn JS. Keratoconus: An updated review. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2022;45(3):101559. doi: 10.1016/j.clae.2021.101559
- Mocan MC, Yilmaz PT, Irkec M, Orhan M. In vivo Confocal Microscopy for the Evaluation of Corneal Microstructure in Keratoconus. *Curr Eye Res*. 2008;33(11-12):933-9. doi: 10.1080/02713680802439219
- Hashemi H, Heydarian S, Hooshmand E, Saatchi M, Yekta A, Aghamirsalim M, et al. The Prevalence and Risk Factors for Keratoconus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cornea*. 2020;39(2):263. doi: 10.1097/ico.0000000000002150
- Rathi VM, Mandathara PS, Dumpati S. Contact lens in Keratoconus. *Indian J Ophthalmol*. 2013;61(8):410-5. doi: 10.4103/0301-4738.116066
- Parker JS, van Dijk K, Melles GRJ. Treatment options for advanced Keratoconus: A review. *Surv Ophthalmol*. 2015;60(5):459-80. doi: 10.1016/j.survophthal.2015.02.004
- Atalay E, Özalp O, Yıldırım N. Advances in the diagnosis and treatment of keratoconus. *Therapeutic Advances in Ophthalmology*. 2021;13:25158414211012796. doi: 10.1177/25158414211012796
- Feizi S, Javadi MA, Fekri Y. Use of deep anterior lamellar keratoplasty (DALK) for Keratoconus: indications, techniques and outcomes. *Expert Rev Ophthalmol*. 2016;11(5):347-59. doi: 10.1080/17469899.2016.1222904
- Hollingsworth JG, Efron N, Tullo AB. In vivo corneal confocal microscopy in Keratoconus. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 2005;25(3):254-60. doi: 10.1111/j.1475-1313.2005.00278.x
- Elmassry A, Osman A, Sabry M, Elmassry M, Katkat M, Hatata MY, et al. Corneal endothelial cells changes in different stages of Keratoconus: a multi-Centre clinical study. *BMC Ophthalmol*. 2021;21(1):1-6. doi: 10.1186/s12886-021-01913-7
- Timucin OB, Karadag MF, Cinal A, Asker M, Asker S, Timucin D. Assessment of corneal endothelial cell density in patients with Keratoconus not using contact lenses. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2013;36(2):80-5. doi: 10.1016/j.clae.2012.10.081
- Ozgurhan EB, Kara N, Yildirim A, Bozkurt E, Uslu H, Demirok A. Evaluation of Corneal Microstructure in Keratoconus: A Confocal Microscopy Study. *Am J Ophthalmol*. 2013;156(5):885-893. doi: 10.1016/j.ajo.2013.05.043
- Volatier TLA, Figueiredo FC, Connon CJ. Keratoconus at a Molecular Level: A Review. *Anat Rec*. 2020;303(6):1680-8. doi: 10.1002/ar.24090

13. Crespo Millas S, López JC, García-Lagarto E, Obregon E, Hileeto D, Maldonado MJ, et al. Histological patterns of epithelial alterations in keratoconus. *Journal of Ophthalmology*. 2020;2020(1):1468258. doi: 10.1155/2020/1468258
14. Shetty R, Vunnava KP, Dhamodaran K, Matalia H, Murali S, Jayadev C, et al. Characterization of Corneal Epithelial Cells in Keratoconus. *Transl Vis Sci Technol*. 2019;8(1):2–2. doi: 10.1167/tvst.8.1.2
15. Sturbaum CW, Peiffer RL. Pathology of Corneal Endothelium in Keratoconus. *Ophthalmologica* . 1993;206(4):192–208. doi: 10.1159/000310390
16. Edmonds CR, Wung SF, Husz MJ, Pemberton B. Corneal endothelial cell count in keratoconus patients after contact lens wear. *Eye Contact Lens* . 2004;30(1):54–8. doi: 10.1097/01.icl.0000105561.89689.c8
17. Goebels S, Eppig T, Seitz B, Szentmáry N, Cayless A, Langenbacher A. Endothelial alterations in 712 keratoconus patients. *Acta Ophthalmol* . 2018;96(2):e134–9. doi: 10.1111/aos.13471
18. Bozkurt B, Yılmaz M, Meşen A, Kemiş Ü, Köktekir BE, Okudan S. Correlation of Corneal Endothelial Cell Density with Corneal Tomographic Parameters in Eyes with Keratoconus. *Turk J Ophthalmol* . 2017;47(5):255. doi: 10.4274/tjo.22800
19. El-Agha MSH, El Sayed YM, Harhara RM, Essam HM. Correlation of corneal endothelial changes with different stages of Keratoconus. *Cornea* . 2014 ;33(7):707–11. doi: 10.1097/ico.0000000000000134
20. Kubaloglu A, Koytak A, Sari E, Akyol S, Kurnaz E, Ozerturk Y. Corneal endothelium after deep anterior lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for Keratoconus: A four-year comparative study. *Indian J Ophthalmol* . 2012;60(1):35. doi: 10.4103/0301-4738.90490
21. Jordan C, Patel D V., Abeysekera N, McGhee CNJ. In Vivo Confocal Microscopy Analyses of Corneal Microstructural Changes in a Prospective Study of Collagen Crosslinking in Keratoconus. *Ophthalmology*. 2014;121(2):469–74. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.09.014
22. Goldich Y, Marcovich AL, Barkana Y, Avni I, Zadok D. Safety of corneal collagen crosslinking with UV-A and riboflavin in progressive keratoconus. *Cornea* . 2010;29(4):409–11. doi: 10.1097/ico.0b013e3181bd9f8c
23. Cingü AK, Sogutlu-Sari E, Çınar Y, Şahin M, Türkçü FM, Yüksel H, et al. Transient corneal endothelial changes following accelerated collagen crosslinking for the treatment of progressive Keratoconus. *Cutan Ocul Toxicol*. 2014 ;33(2):127–31. doi: 10.3109/15569527.2013.812107