

共焦显微镜在角膜病变中应用的新进展

郑巧,张琪

引用:郑巧,张琪. 共焦显微镜在角膜病变中应用的新进展. 国际眼科杂志 2019;19(9):1503-1506

基金项目:重庆市卫生计生委医学科研项目(No. 2016MSXM003)

作者单位:(400010)中国重庆市,重庆医科大学附属第一医院眼科

作者简介:郑巧,硕士,研究方向:角膜及眼表疾病。

通讯作者:张琪,博士,副主任医师,副教授,硕士研究生导师,研究方向:角膜及眼表疾病. cqzqwxm@163.com

收稿日期:2019-01-11 修回日期:2019-08-02

摘要

共焦显微镜(confocal microscopy, CM)检查作为一种“活体组织学检查”方法,以其实时、无创、快速、高清的特点,在角膜生理、病理研究及疾病诊断、病情评估、随访等方面显示出优越性,已在眼科临床及科研中得到广泛应用。本文将对CM在感染性角膜疾病、变性性角膜疾病及全身疾病所致角膜病变中应用的新进展作一综述。

关键词:共焦显微镜;角膜;角膜病变

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.9.13

Advances in the application of confocal microscopy to keratopathy

Qiao Zheng, Qi Zhang

Foundation item: Medical Research Project of Chongqing Health and Family Planning Commission (No. 2016MSXM003)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

Correspondence to: Qi Zhang. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China. cqzqwxm@163.com

Received:2019-01-11 Accepted:2019-08-02

Abstract

• Confocal microscopy serving as an *in vivo* histological examination for cornea holds superiority in disease diagnosis, assessment and follow-up as well as physiological and pathological study due to its real-time, non-invasive, quick operation with high-resolution imaging, and has been widely applied in ophthalmic clinic and research. This article reviewed the recent advances in the application of confocal microscopy in infectious or degenerative corneal diseases, and ocular surface diseases caused by systemic diseases.

• **KEYWORDS:** confocal microscopy; cornea; keratopathy

Citation: Zheng Q, Zhang Q. Advances in the application of confocal microscopy to keratopathy. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2019;19(9):1503-1506

0 引言

共焦显微镜(confocal microscopy, CM)检查作为一种“活体组织学检查”方法,以其实时、无创、快速、高清的特点,已在眼科临床及科研中得到广泛应用。其放大倍率可达800倍,分辨率可达1 μ m,能够从细胞水平对活体角膜组织进行观察,在角膜生理、病理研究及疾病诊断、病情评估、随访等方面显示出优越性。

1 共焦显微镜在感染性角膜疾病中的应用

1.1 真菌性角膜炎 真菌性角膜炎(fungal keratitis, FK)近年发病率呈上升趋势,其病程迁延,是导致角膜盲的常见原因,早期诊断并启动有效的抗真菌治疗是改善其预后的重要因素。角膜刮片镜检及培养是FK诊断的金标准,但丝状真菌生长缓慢,其培养可能需数周,且敏感性低,阳性率不到50%^[1]。角膜组织病理学检查及PCR技术已用于诊断FK,但限于其侵入性,难以早期实施。CM可无创、快速的检测角膜中的真菌。CM下真菌菌丝多呈高反光的线型结构,可见分节或分支,呈竹节状或树枝状,丛状杂乱排列。镰刀菌属分支夹角多为90°,曲霉菌属多为45°,据此可做出初步鉴别。孙晓会等^[2]对比分析了CM与角膜刮片镜检在FK诊断中的作用,发现CM有更高的阳性诊断率,观察到的菌丝和孢子与角膜刮片检查所见相似,对于病程较长,已使用抗真菌药物或已行病灶刮除等治疗的患者,两者诊断敏感度均下降。有学者就检查者经验在CM诊断FK中的影响做了研究,发现有经验的检查者诊断的平均敏感度为71%,缺乏经验的检查者为43%,所有检查者诊断的特异性为75%或更高,显示检查者经验在CM的诊断准确性中扮演重要角色。目前,CM的分辨率还不能满足对真菌微观结构的观察,无法准确鉴别菌种。近期Chidambaram等^[3]使用CM观察不同病原体所致FK的角膜细胞变化,发现前基质星状细胞与镰刀菌性角膜炎相关,树突状细胞与曲霉菌性角膜炎相关,提示角膜细胞的反应可能具有一定特异性,为菌种鉴别提供线索。

1.2 棘阿米巴性角膜炎 棘阿米巴性角膜炎(acanthamoeba keratitis, AK)由棘阿米巴原虫感染所致,较真菌性角膜炎、细菌性角膜炎等少见,近年隐形眼镜使用的增加使其发病率明显上升,随地区不同,每10000名隐形眼镜配戴者有0.01~1.5名感染棘阿米巴原虫^[4-5]。由于早期临床表现缺乏特征性,AK常被误诊为单纯疱疹病毒性角膜炎、细菌性角膜炎或真菌性角膜炎^[6-7]。据报道,在培养物中分离出棘阿米巴的概率为0~68%^[8]。棘阿米巴有滋养体和包囊两种形态,体积均较大(>10 μ m),在CM下呈圆形或卵圆形、高反光,易于检出。1992年

Chew等^[9]首次报道通过CM诊断AK。此后许多研究者研究并肯定了CM对AK的诊断意义,但报道的诊断灵敏度、特异性不一。王玉亭^[10]回顾了58例AK,发现CM的检出率为86.4%,其中32例根据CM确定的感染范围切除病灶,实施角膜移植术,取得满意效果。据文献报道,棘阿米巴包囊可长期存留于角膜组织中,最长达31mo,角膜炎症控制后仍需药物治疗3~4mo^[11]。感染后期角膜上皮愈合,此时可利用CM随访观察,指导治疗。现有研究对棘阿米巴在CM下的表现描述各异。近期Craene等^[12]首次参照PCR对CM诊断AK的价值进行了评估并研究了其诊断标准,认为4种影像与AK显著相关:亮点(没有双壁结构的圆形或卵形高反射物),目标图像(具有低反射光晕的高反射物),滋养体样图像(直径>30 μ m,表面呈棘状突起的高反射物)和高反射物体簇。其中目标图像和滋养体样图像诊断特异性最高,为100%,但敏感性最低,分别为8.7%和10.9%,因此需要寻找多方面证据确定诊断。Chidambaram等^[3]发现,滋养体样图像可形成簇,尤其在局部类固醇治疗后的病例。Zhang等^[13]对29例AK进行观察,发现滋养体样图像的线性或簇状排列与预后不良相关。另有研究者在病程较长的AK中观察到滋养体样图像簇状排列,且比例很高,这些患者曾使用局部类固醇治疗^[14]。滋养体样图像的簇状排列是否是AK有用的预后指标还需要更大量的研究确定。这些研究提示,CM可能提供诊断以外的更多信息。

1.3 病毒性角膜炎 单纯疱疹病毒性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)是发达国家最常见的感染致盲原因^[15]。原发性角膜感染后,单纯疱疹病毒进入三叉神经节,终生潜伏并周期性激活,引起复发性HSK^[16]。其严重并发症之一是神经营养性角膜病变^[17]。CM虽然无法分辨病毒,但可用于HSK的病理研究。Müller等^[18]使用CM观察HSK后角膜瘢痕形成眼及对侧临床未受累眼,发现瘢痕眼角膜内皮细胞密度、总神经长度显著低于健康对照组,对侧眼亦相应降低,两者角膜内皮细胞密度与总神经长度、角膜知觉呈正相关,推测单侧HSK后,双侧角膜神经受损,神经肽水平降低,内皮细胞损失。

2 共焦显微镜在变性性角膜疾病中的应用

2.1 角膜营养不良 角膜营养不良包括一大类与家族遗传有关的原发性进行性角膜疾病,以角膜异常物质沉积为共同特征,表现各异,根据主要受累层次分为上皮和上皮营养不良、上皮-基质TGFBI营养不良、基质营养不良和内皮营养不良四类。CM是观察CD组织特征的有用工具。Meesmann角膜营养不良主要累及上皮层,表现为上皮囊泡样病变,囊泡突起或破裂后引起眼部不适,可被误诊为干眼。CM下其上皮细胞间存在多量圆形或卵圆形囊泡,大小不一,边界清晰,多呈高反光,内部可含高反光结构,亦可见单独的高反光结构散在于细胞间,在病变区域与正常区域间可见明显的分界^[19]。颗粒状角膜营养不良属上皮-基质TGFBI营养不良一类,表现为Bowman膜下及浅基质层内白色颗粒状物质沉着,逐渐融合成片,形成盘状、雪花状等外观^[20]。CM下可见Bowman膜不规则增厚,反光增强,基质层结构紊乱,出现大片高反光,其间可见短棒状强反光结构。Fuchs角膜内皮营养不良(Fuchs' endothelial corneal dystrophy, FECD)是较常见的一

种CD,相关研究较多。遗传突变和环境触发因素如氧化应激等引起内皮细胞凋亡,异常胶原沉积,后弹力膜增厚,滴状赘疣形成,最终导致角膜水肿和视力下降^[21-22]。利用CM对FECD进行分级,与临床主观分级有很好的相关性,CM可作为FECD研究的有用工具^[23]。FECD患者角膜基底膜下神经形态异常,敏感性下降。几项研究显示晚期FECD角膜神经减少或缺失,认为其归因于角膜水肿^[23-24]。Aggarwal等^[25]通过前瞻性研究发现,FECD大多数神经改变已经存在于早期,伴有树突细胞(dendritic cell, DC)显著增加,显示免疫激活和神经缺失可能参与FECD的发病机制。研究表明,FECD前角膜结构和细胞在早期出现异常,这解释了为什么角膜后弹力层剥除联合深板层内皮移植术(descemet's stripping endothelial keratoplasty, DSEK)后角膜结构和光学功能不能恢复正常^[26]。随着技术进步,更精准的DSEK带来更好的预后,此时宿主角膜早期的亚临床变化与术后视觉结果更加相关。Amin等^[27]使用CM观察角膜基质细胞密度、数量及异常上皮细胞,根据共焦图像光强度分布测量角膜背向散射,发现FECD各期患者的前角膜背向散射升高,基质细胞密度和前10%角膜基质细胞绝对数降低,可见异常上皮细胞,这些改变在DSEK后持续存在,影响术后视力和视觉质量^[28]。对这些变化的深入研究可能有助于揭示FECD的最佳干预时间。

2.2 圆锥角膜 圆锥角膜是一种双侧性、进行性、角膜扩张性疾病,由于不规则散光或角膜混浊损害视力,晚期常需角膜移植^[29]。其病因目前尚不清楚,可能涉及许多因素,包括生化、遗传和环境。早期诊断圆锥角膜有赖于角膜地形图,其通过计算机图像处理系统精确分析整个角膜表面的形态和曲率的变化,诊断灵敏度、特异度高。CM从组织学角度观察角膜,可发现圆锥角膜的早期改变,如后基质层出现褶皱样暗纹、细胞拉长等,与角膜地形图具有良好的互补性。此外,CM在圆锥角膜治疗方法的探索上具有重要价值。角膜胶原交联(corneal collagen cross-linking, CXL)是治疗圆锥角膜的一种成熟技术,已被证明可以减缓或阻止其进展,具有长期的安全性和有效性,为避免紫外线对内皮造成不可逆损伤,常规CXL要求去除上皮后角膜厚度在400 μ m以上^[30]。近年有学者提出,可通过增加功能性角膜厚度来扩展适应证^[31]。Mazzotta等^[32]对圆锥角膜患者施行隐形眼镜辅助的角膜胶原交联(contact lens assisted collagen cross-linking, CACXL):将隐形眼镜浸泡于核黄素30min,在照射紫外线前将其覆盖于角膜表面,以增加功能性角膜厚度至400 μ m以上。术后使用CM随访观察,术后3mo,患者角膜神经开始再生,到术后6mo,角膜神经完全修复,前基质细胞再生,周围分布致密细胞外基质,水肿消失,随访期内内皮细胞规则,密度无明显改变,显示CACXL可能是薄圆锥角膜安全有效的治疗选择。治疗范围上,国内外学者也做了探索。Cassagne等^[33]对比分析了地形图引导的角膜胶原交联(topography-guided CXL, TG-CXL)与常规CXL对进展期圆锥角膜的疗效和安全性。TG-CXL组根据角膜地形图设计紫外线照射部位:以后角膜最高点为中心,包含前角膜异常轴向曲率范围的锥形区域。术后通过CM发现TG-CXL组锥形区域和周围区域间存在一模糊的分界线,

周围区域具有更轻微的去神经和细胞凋亡现象,恢复得更快——TG-CXL 具有更显著的平坦效应,诱导锥体和周围区域间的生物学梯度,促进神经和细胞恢复,提高视敏度。Mastropasqua 等^[34]对 10 例晚期稳定圆锥角膜患者施行飞秒激光辅助的基质透镜植入术,术后以 CM 观察透镜的存活情况,到术后 6mo,透镜内大部分细胞形态趋于正常,呈规则明亮的反光,细胞外组织呈正常的透明性,显示基质透镜已很好的整合于宿主角膜,肯定了该手术方式的有效性。

3 共焦显微镜在全身疾病所致角膜病变中的应用

3.1 糖尿病周围神经病变 糖尿病周围神经病变 (diabetic peripheral neuropathy, DPN) 是糖尿病的主要长期并发症之一,发病率在 50% 以上,严重威胁患者生存质量^[35]。表皮内神经纤维密度 (intra-epidermal nerve fiber density, IENFD) 是评估小神经纤维病变的金标准,对早期诊断 DPN 有重要意义,但有创性限制了其在 DPN 诊断和研究中的应用。角膜富含末梢神经,是 DPN 重要受累部位之一。糖尿病患者角膜神经纤维密度下降,与 IENFD 改变显著相关^[36]。研究表明,CM 具有与 IENFD 相当的诊断性能,可检测小神经纤维的早期病变,有良好的重复性,具有快速和无创的优势^[37]。近期的一项荟萃分析汇总分析了 13 项研究,包括 1680 例受试者,独立证实了角膜神经纤维密度、长度及其分支密度是区分有或没有 DPN 的糖尿病患者与健康对照者的最佳参数^[38]。Lovblom 等^[39]报道,随访 1 型糖尿病患者约 4a,DPN 发生率为 17%,基线角膜神经纤维长度小于 14.9mm/mm² 是发生 DPN 的最强预测因素。

3.2 干燥综合征 干燥综合征 (Sjögren syndrome, SS) 是一类主要累及唾液腺和泪腺的慢性、炎症性、自身免疫性疾病,包括原发性和继发性两类。眼表炎症是干眼的关键事件。Hitomi 等^[40]利用 CM 观察发现,SS 相关干眼的角结膜炎症细胞密度较非 SS 相关干眼显著增高。通过 CM 测量的角膜背向散射已被证明是评估不同临床情况下角膜炎症的有效参数^[41-42]。Lanza 等^[43]报道,原发性干燥综合征相关干眼患者的角膜背向散射较健康对照组显著增高。这些研究均显示 SS 相关干眼存在更高水平的眼表炎症。

3.3 慢性移植物抗宿主病 同种异体造血干细胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) 后,30%~70% 的患者发生慢性移植物抗宿主病 (chronic graft-vs-host disease, cGVHD)^[44],其中 60%~90% 累及眼睛^[45]。cGVHD 眼部病变表现多样,最常见的形式是干眼,发生率为 40%~76%^[45-46]。He 等^[47]利用 CM 观察发现 cGVHD 相关干眼患者角膜缘上皮 DC 密度和中央角膜球状免疫细胞密度显著高于无 GVHD 的 HSCT 受者,显示 cGVHD 相关干眼患者眼表面的免疫激活和炎症程度较高,两者可作为 cGVHD 相关干眼患者眼表损伤和炎症严重程度的可靠指标。Kheirkhah 等^[48]道,CM 下,cGVHD 相关干眼的角结膜细胞变化与具有相同疾病严重程度的非 GVHD 相关干眼患者相似。Tepelus 等^[49]也观察到两者的 CM 表现没有显著差异。因此,cGVHD 相关干眼的角结膜改变可能只代表了局部疾病严重程度。

综上所述,CM 以无创的方式将对角膜的观察深入到微观,提供更加客观、真实的信息,在感染性角膜疾病、变

性角膜疾病及全身疾病所致角膜病变中具有独特的应用价值。然而,随着疾病研究的深入,CM 应用越来越广泛的同时,也显现出一些不足:(1)操作相对复杂,学习曲线较长,需要患者良好的配合;(2)重复定位较难;(3)无法准确鉴别病原体及细胞等的种类,无法分辨细菌、病毒等体积更微小的病原体。未来,随着技术进步,操作更简便、定位更准确、分辨率更高的 CM 将具有更加广阔的应用前景。

参考文献

- Gopinathan U, Sharma S, Garg P, et al. Review of epidemiological features, microbiological diagnosis and treatment outcome of microbial keratitis: experience of over a decade. *Indian J Ophthalmol* 2009; 57 (4):273-279
- 孙晓会, 厉新新, 张佳君, 等. 激光共焦显微镜与角膜组织刮片检查在真菌性角膜炎中应用的比较. *国际眼科杂志* 2017; 17 (6): 1147-1149
- Chidambaram JD, Prajna NV, Palepu S, et al. In Vivo Confocal Microscopy Cellular Features of Host and Organism in Bacterial, Fungal, and Acanthamoeba Keratitis. *Am J Ophthalmol* 2018;190:24-33
- Carvalho FR, Foronda AS, Mannis MJ, et al. Twenty years of acanthamoebakeratitis. *Cornea* 2009;28(5):516-519
- Fraser MN, Wong Q, Shah L, et al. Characteristics of an Acanthamoeba keratitis outbreak in British Columbia between 2003 and 2007. *Ophthalmology* 2012;119(6):1120-1125
- Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *BMJ* 2015;61(12):1446-1452
- Szentmáry N, Goebels S, Matoula P, et al. Acanthamoeba keratitis—a rare and often late diagnosed disease. *Klin Monbl Augenheilkd* 2012;229 (5):521-528
- Wang Y, Feng X, Jiang L. Current advances in diagnostic methods of Acanthamoebakeratitis. *Chin Med J (Engl)* 2014;127(17):3165-3170
- Chew SJ, Beuerman RW, Assouline M, et al. Early diagnosis of infectious keratitis with *in vivo* real time confocal microscopy. *CLAO J* 1992;18(3):197-201
- 王玉亭. 棘阿米巴角膜炎的诊断及治疗转归. 济南大学 2014
- 张琛, 邓世靖, 王智群, 等. 激光共焦显微镜在阿米巴性角膜炎诊断中的应用. *眼科研究* 2007;25(10):772-774
- Craene SD, Knoeri J, Georgeon C, et al. Assessment of Confocal Microscopy for the Diagnosis of Polymerase Chain Reaction-Positive Acanthamoeba Keratitis. *Ophthalmology* 2018;125(2):161-168
- Zhang X, Sun X, Jiang C, et al. A new *in vivo* confocal microscopy prognostic factor in Acanthamoeba keratitis. *J Fr Ophthalmol* 2014; 37 (2):130-137
- Yokogawa H, Kobayashi A, Yamazaki N, et al. Bowman's layer encystment in cases of persistent Acanthamoeba keratitis. *Clin Ophthalmol* 2012;6:1245-1251
- Farooq AV, Shukla D. Herpes simplex epithelial and stromal keratitis: an epidemiologic update. *Surv Ophthalmol* 2012; 57 (5): 448-462
- Higaki S, Fukuda M, Shimomura Y. Virological and molecular biological evidence supporting herpes simplex virus type 1 corneal latency. *Jpn J Ophthalmol* 2015;59(2):131-134
- Chucair-Elliott AJ, Jinkins J, Carr MM, et al. IL-6 Contributes to Corneal Nerve Degeneration after Herpes Simplex Virus Type I Infection. *Am J Pathol* 2016;186(10):2665-2678
- Müller RT, Pourmirzaie R, Pavan-Langston D, et al. In Vivo Confocal Microscopy Demonstrates Bilateral Loss of Endothelial Cells in Unilateral Herpes Simplex Keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56 (8):4899-4906

- 19 Ogasawara M, Matsumoto Y, Hayashi T, *et al.* KRT12 Mutations and *In Vivo* Confocal Microscopy in Two Japanese Families With Meesmann Corneal Dystrophy. *Am J Ophthalmol* 2014;157(1):93-102
- 20 Weiss JS, Moller HU, Aldave AJ, *et al.* IC3D Classification of Corneal Dystrophies—Edition 2. *Cornea* 2015;34(2):117-159
- 21 Schmedt T, Silva MM, Ziaei A, *et al.* Molecular bases of corneal endothelial dystrophies. *Exp Eye Res* 2012;95(1):24-34
- 22 Wilson SE, Bourne WM. Fuchs' dystrophy. *Cornea* 1988;7(1):2-18
- 23 Ahuja Y, Baratz KH, McLaren JW, *et al.* Decreased corneal sensitivity and abnormal corneal nerves in Fuchs endothelial dystrophy. *Cornea* 2012;31(11):1257-1263
- 24 Alomar TS, Al-Aqaba M, Gray T, *et al.* Histological and confocal microscopy changes in chronic corneal edema: implications for endothelial transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(11):8193-8207
- 25 Aggarwal S, Cavalcanti BM, Regali L, *et al.* *In Vivo* Confocal Microscopy Shows Alterations in Nerve Density and Dendritiform Cell Density in Fuchs' Endothelial Corneal Dystrophy. *Am J Ophthalmol* 2018;196:136-144
- 26 Patel SV, Baratz KH, Hodge DO, *et al.* The effect of corneal light scatter on vision after descemet stripping with endothelial keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 2009;127(2):153-160
- 27 Amin SR, Baratz KH, McLaren JW, *et al.* Corneal abnormalities early in the course of Fuchs' endothelial dystrophy. *Ophthalmology* 2014;121(12):2325-2333
- 28 Patel SV, Baratz KH, Maguire LJ, *et al.* Anterior corneal aberrations after Descemet's stripping endothelial keratoplasty for Fuchs' endothelial dystrophy. *Ophthalmology* 2012;119(8):1522-1529
- 29 Ferdi AC, Nguyen V, Gore DM, *et al.* Keratoconus Natural Progression: A Systematic Review and Meta-analysis of 111529 Eyes. *Ophthalmology* 2019;126(7):935-945
- 30 Kymionis GD, Portaliou DM, Diakonis VF, *et al.* Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A irradiation in patients with thin corneas. *Am J Ophthalmol* 2012;153(1):24-28
- 31 Raiskup F, Theuring A, Pillunat LE, *et al.* Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet - A light in progressive keratoconus: ten-year results. *J Cataract Refract Surg* 2015;41(1):41-46
- 32 Mazzotta C, Jacob S, Agarwal A, *et al.* *In Vivo* Confocal Microscopy After Contact Lens-Assisted Corneal Collagen Cross-linking for Thin Keratoconic Corneas. *J Refract Surg* 2016;32(5):326-331
- 33 Cassagne M, Pierné K, Galiacy SD, *et al.* Customized Topography-Guided Corneal Collagen Cross-linking for Keratoconus. *J Refract Surg* 2017;33(5):290-297
- 34 Mastropasqua L, Nubile M, Salgari N, *et al.* Femtosecond Laser-Assisted Stromal Lenticule Addition Keratoplasty for the Treatment of Advanced Keratoconus: A Preliminary Study. *J Refract Surg* 2018;34(1):36-44
- 35 Boulton AJ. Guidelines for diagnosis and outpatient management of diabetic peripheral neuropathy. European Association for the Study of Diabetes, Neurodiab. *Diabetes Metabolism* 1999;24(Suppl 3):55-65
- 36 Scarr D, Lovblom LE, Ostrovski I, *et al.* Agreement Between Automated and Manual Quantification of Corneal Nerve Fiber Length: Implications for Diabetic Neuropathy Research. *Canadian J Diabetes* 2015;39(6):1066-1073
- 37 Alam U, Jeziorska M, Petropoulos IN, *et al.* Diagnostic utility of corneal confocal microscopy and intra-epidermal nerve fibre density in diabetic neuropathy. *PLoS One* 2017;12(7):e0180175
- 38 Jiang MS, Yuan Y, Gu ZX, *et al.* Corneal confocal microscopy for assessment of diabetic peripheral neuropathy: a meta-analysis. *Br J Ophthalmol* 2016;100(1):9-14
- 39 Lovblom LE, Halpern EM, Wu T, *et al.* *In vivo* corneal confocal microscopy and prediction of future - incident neuropathy in type 1 diabetes: a preliminary longitudinal analysis. *Can J Diabetes* 2015;39(5):390-397
- 40 Hitomi WT, Adan SE, Yukihiko M, *et al.* Conjunctival *in vivo* confocal scanning laser microscopy in patients with Sjögren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;51(1):144-150
- 41 Hillenaar T, van Cleynebreugel H, Verjans GM, *et al.* Monitoring the inflammatory process in herpetic stromal keratitis: the role of *in vivo* confocal microscopy. *Ophthalmology* 2012;119(6):1102-1110
- 42 Schiano - Lomoriello D, Colabelli - Gisoldi RA, Nubile M, *et al.* Descemet and predescemet DALK in keratoconus patients: a clinical and confocal perspective study. *Biomed Res Int* 2014;2014:123156
- 43 Lanza M, Iaccarino S, Varricchi G, *et al.* Corneal confocal microscopy alterations in Sjogren's syndrome dry eye. *Acta Ophthalmol* 2017;95(5):e366-e372
- 44 Lee SJ, Flowers ME. Recognizing and managing chronic graft-versus-host disease. *Hematology* 2008;2008(1):134-141
- 45 Hessen M, Akpek EK. Ocular graft-versus-host disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12(5):540-547
- 46 Nassiri N, Eslani M, Panahi N, *et al.* Ocular graft versus host disease following allogeneic stem cell transplantation: a review of current knowledge and recommendations. *J Ophthalmic Vis Res* 2013;8(4):351-358
- 47 He J, Ogawa Y, Mukai S, *et al.* *In Vivo* Confocal Microscopy Evaluation of Ocular Surface with Graft-Versus-Host Disease-Related Dry Eye Disease. *Sci Rep* 2017;7(1):10720
- 48 Kheirkhah A, Qazi Y, Arnoldner MA, *et al.* *In Vivo* Confocal Microscopy in Dry Eye Disease Associated With Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(11):4686-4691
- 49 Tepelus TC, Chiu GB, Maram J, *et al.* Corneal features in ocular graft-versus-host disease by *in vivo* confocal microscopy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017;255(12):2389-2397