

干燥综合征分类标准的变化与诊断新进展

郝 然,李学民

引用:郝然,李学民.干燥综合征分类标准的变化与诊断新进展.国际眼科杂志 2019;19(10):1713-1716

基金项目:首都卫生发展科研专项项目(No.首发 2018-2-4093)

作者单位:(100191)中国北京市,北京大学第三医院眼科

作者简介:郝然,北京大学医学部在读硕士研究生,研究方向:干眼与眼表疾病。

通讯作者:李学民,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向:

白内障、干眼症、眼视光学. 13911254862@163.com

收稿日期:2019-03-11 修回日期:2019-08-23

摘要

干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)是一种发病率仅次于类风湿性关节炎的复杂结缔组织病。对该病的最早记录始于19世纪末的个案报道,1930年Sjögren首次提出干燥性角结膜炎,初步认识SS是一类系统性疾病。而后,特异性自身抗体的发现及唇腺活检技术的临床应用,使SS的诊断准确性明显提高。随着对该疾病的深入认识,不同学者提出了不同的分类标准,以求进一步提高诊断准确性。由于病理机制仍不清楚,至今没有一个分类标准可以作为诊断标准使用,目前SS仍然需要眼科、风湿免疫科和口腔科的综合诊断。深入研究发病机制和发展新型检查有望提高SS的诊断准确性。本文旨在回顾SS分类标准的变化及眼科诊断方法新进展,以期对疾病的诊断提供帮助。

关键词:干燥综合征;分类标准;唇腺活检;印记细胞学;在体共聚焦显微镜

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.10.18

New progress in classification and diagnosis of Sjögren's syndrome

Ran Hao, Xue-Min Li

Foundation item: Capital's Funds for Health Improvement and Research (No.CFH2018-2-4093)

Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Correspondence to: Xue-Min Li. Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China. 13911254862@163.com

Received:2019-03-11 Accepted:2019-08-23

Abstract

• Sjögren's syndrome (SS) is a complex connective tissue disease, with an incidence only secondary to rheumatoid arthritis. The initial record was case reports in the late 19th century. In 1930, Henrik Sjögren proposed the conception of "Keratoconjunctivitis Sicca" for the first

time, and preliminarily realized that SS was a systemic disease. Subsequently, the discovery of specific autoantibodies and the application of labial biopsy technique significantly improved the accuracy for SS diagnosis. As the understanding the disease improving, different classification criteria were proposed to improve the diagnostic accuracy. However, there still no classification criteria that can be applied as diagnostic criteria so far due to uncovered pathological mechanism of the disease. Currently, comprehensive managements are required with the cooperation of rheumatology, ophthalmology, and stomatology department. Further exploration of the pathogenesis and development of new diagnostic tools are expected to improve the diagnosis of SS. The paper aims to review the development of the classification criteria and to propose new ophthalmic examinations in order to improve the diagnosis of SS.

• **KEYWORDS:** Sjögren's syndrome; classification criteria; labial biopsy; impression cytology; *in vivo* confocal microscopy

Citation: Hao R, Li XM. New progress in classification and diagnosis of Sjögren's syndrome. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(10):1713-1716

0 引言

干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)是一种主要累及外分泌腺体的慢性进行性自身免疫性疾病^[1-4],主要侵犯唾液腺和泪腺而出现口眼干燥,此外尚有其它外分泌腺及多系统损害的症状^[2,5-6]。其可分为原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, PSS)和继发性干燥综合征两类,前者指不具有另一诊断明确的结缔组织病,后者是指继发于另一诊断明确(如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等^[1-9])的结缔组织病。SS属全球性疾病,是全球第二大常见的弥漫性结缔组织疾病,患病率为0.29%~0.77%,老年人群患病率为3%~4%。本病女性多见,男女比例为1:9^[1,4]。发病年龄多在50岁以上^[1-3]。30%~50%的患者可出现全身多器官、多系统病变,5%~10%的患者在其随访的10~15a内可发展为最严重的并发症—非霍奇金淋巴瘤^[1-3]。

从最初的病例报道到系统性疾病的提出,从血清特异性抗体的表达达到唇腺活检淋巴细胞浸润的发现,数百年间,我们对SS的认识不断深入,分类标准也在不断地被提出和完善,以求达到更高的诊断准确性。目前各种类型的分类标准仍然无法作为诊断标准,诊断需要风湿免疫科联合眼科和口腔科专家的综合判断。新的检查方法不断提出,有望进一步提高SS诊断的准确性,并纳入形成新的分类标准。本文就SS的分类标准和眼科诊断新进展进行综述。

1 分类标准

1.1 Bloch 标准 1965年, Bloch等提出SS的诊断至少需要符合干燥性角结膜炎、口腔干燥、明确的结缔组织病3项中的2项^[10]。同时发现高免疫球蛋白血症在仅有干燥性角结膜炎和口腔干燥的非结缔组织患者中也普遍存在,提示SS本身即存在免疫学异常, PSS的概念被首次提出。

1.2 Shearn 标准 Shearn^[11]认为干燥性角结膜炎和大量淋巴细胞浸润泪腺或唾液腺是SS的特征性改变,并于1971年提出满足两者其一即可分类为SS。而反复发作的腮腺肿胀伴有无法解释的口干的结缔组织疾病归类为可疑SS。

1.3 旧金山标准 1930年, Sjögren^[12]首次提出干燥性角结膜炎的概念和标准,为SS眼部病变的评估提供了客观依据。然而口腔病变的评估缺乏特异性,主要依靠患者主观感受或唾液流率进行诊断,影响了SS的诊断准确性。唇腺活检技术弥补了这一缺陷。Sjögren^[12]最早使用了该项技术, Chisholm等^[13]最早采用唇腺淋巴细胞灶状浸润描述SS唇腺的病理改变并沿用至今。1975年, Daniels等^[14]首次使用唇腺活检评估口腔干燥,提出了SS的旧金山标准,至少符合下列2项可分类为SS:(1)干燥性角结膜炎;(2)结缔组织病;(3)唇腺活检淋巴细胞灶>1。

1.4 哥本哈根标准 Manthorpe等^[15]于1981年在Bloch标准的基础上明确了干燥性角结膜炎和口腔干燥的诊断标准,即哥本哈根标准。干燥性角结膜炎至少需要满足以下2项:(1)Schirmer试验<10mm/5min;(2)泪膜破裂时间<10s;(3)角膜染色评分(van Bijsterveld评分^[16])>4分/眼。口腔干燥至少需要满足以下2项:(1)唇腺活检淋巴细胞灶>1;(2)静态唾液流率<1.5mL/15min;(3)腮腺造影或涎腺同位素检测阳性。

1.5 欧洲标准 随着研究的深入和国际交流的需求,亟待提出统一的SS分类标准。欧洲干燥综合征分类标准研究小组于1988年正式开启了一项全球多中心研究,来自13个国家24个中心历经8a的努力,最终于1996年发表欧洲标准^[17],分为6个部分:(1)口腔症状,至少满足1项:1)每日感到口干持续≥3mo;2)成年后腮腺反复或持续肿大;3)吞咽干性食物需用水帮助。(2)眼部症状,至少满足1项:1)每日感到不能忍受的眼干,持续≥3mo;2)有反复的砂子进眼或砂磨感;3)每日需用人工泪液≥3次。(3)眼部体征,至少满足1项:1)Schirmer试验<5mm/5min;2)角膜染色评分(van Bijsterveld评分)>4分/眼。(4)唇腺活检淋巴细胞灶≥1。(5)唾液腺受累,至少符合1项:1)静态唾液流率<1.5mL/15min;2)腮腺造影检测阳性;3)涎腺同位素检测阳性。(6)干燥综合征抗体A(抗SSA)和(或)干燥综合征抗体B(抗SSB)阳性。排除淋巴瘤、获得性免疫缺陷综合征、移植物抗宿主病、结节病、涎腺症、抗抑郁药、抗高血压药、副交感阻滞药和镇静剂使用史,未合并其它疾病,满足4条即可分类为PSS;合并其它结缔组织病,满足第1条或第2条及第3、4、5条任意2条即分类为继发性SS。

1.6 欧美共识 欧洲标准简便易行,被学术界广泛接受,但是第4条和第6条是SS的特征性表现,诊断特异性最高,该标准未突出其重要性,仅满足另外4条也可符合分类标准,易造成误诊。因此,欧洲干燥综合征分类标准研究小组联合美国专家,在欧洲标准的基础上,从多个国家

多个中心重新纳入新病例进行研究分析,并于2002年发表了改进的欧美共识(American-European Consensus Group, AECG)^[18],6部分内容同欧洲标准。排除头颈面部放疗史、丙型肝炎病毒感染、淋巴瘤、结节病、获得性免疫缺陷综合征、移植物抗宿主病、抗乙酰胆碱药应用的前提下,未合并其它疾病, PSS的诊断需要满足以下2条中的任意1条:(1)符合上述4条或4条以上,但同时必须符合第4条和(或)第6条;(2)第3、4、5、6条满足任意3条。合并其它结缔组织病,满足第1条或第2条,同时符合第3、4、5条任意2条即分类为继发性SS。

1.7 美国风湿病协会标准 欧美共识是目前应用最广泛的分类标准,但是诊断试验较多,分类复杂。一种疾病的分类标准必须明确、简单易行且具有较高的敏感性和特异性。因此经过多国、多中心、多学科共同努力,美国风湿病协会(American College of Rheumatology, ACR)于2012年发表了新的分类标准^[3],以下3项中至少满足2项即可分类为SS:(1)抗SSA和(或)抗SSB阳性,或类风湿因子阳性联合抗核抗体滴度≥1:320;(2)眼表染色评分(ocular staining score, OSS)>3分;(3)唇腺活检淋巴细胞≥1灶/4mm²。

1.8 欧洲抗风湿病联盟/美国风湿病协会标准 ACR标准虽然简单,但是片面地强调了客观检查的重要性。Rasmussen等^[19]采用2002年AECG标准和2012年ACR标准,先后评估了600余例SS患者,发现目前缺乏明确的证据显示ACR标准诊断价值高于AECG标准。为进一步提高诊断准确性,多国专家经过研究分析,于2016年正式发表了新的仅用于PSS的欧洲抗风湿病联盟/美国风湿病协会(the European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology, EULAR/ACR)分类标准^[2]。排除头颈面部放疗史、活动性丙型肝炎病毒感染(聚合酶链反应证实)、获得性免疫缺陷综合征、结节病、淀粉样变、移植物抗宿主病、IgG4相关性疾病。首先应至少符合1项干燥症状,而后进行评分,总分≥4分诊断为PSS:(1)唇腺活检淋巴细胞≥1灶/4mm²(3分);(2)抗SSA阳性(3分);(3)至少1眼OSS评分≥5分(或van Bijsterveld评分≥4分)(1分);(4)至少1眼Schirmer试验≤5mm/5min(1分);(5)静态唾液流率≤0.1mL/min(1分)。Rasmussen等^[19]经过科学统计及小组讨论将干燥性角结膜炎和口腔干燥的主观症状作为入选标准,使仅有口眼干燥或以系统功能障碍为主不伴明显干燥症状的患者均能纳入分类。

2 诊断困境和新进展

唇腺活检作为形态病理学检查,被称为SS的病理诊断“金标准”,诊断敏感性和特异性很高,该项检查与SS自身抗体的发现并称为人类探索认识SS的两大里程碑,被广泛纳入之后的各项分类标准中并占据重要地位。但由于其为有创性操作,患者难以接受,临床使用率较低且不利于预后评估,因此在病理诊断过程中面临着难以广泛实施的困境,亟待发现安全有效的新型无创或微创的检查方法来评估口腔干燥。在体共聚焦显微镜和印迹细胞学检查作为两项在细胞学水平研究病变的检查方式,在干眼症和眼表疾病诊治中得到了广泛的应用,但是至今未有将其应用于口腔黏膜病变的报道。

2.1 在体共聚焦显微镜 1957年, Marin首次阐述了共聚焦显微镜技术的基本原理。而后,串联式、裂隙式与激光

式共聚焦显微镜相继问世,开启了无创、实时观察活体组织细胞形态变化的新时代。1990年,Cavanagh^[20]首次将共聚焦显微镜技术应用于眼科,观察活体人类角膜分层结构形态学改变,自此之后,在体共聚焦显微镜(*in vivo* confocal microscopy,IVCM)在眼表疾病的应用愈发广泛。临床最常使用波长为670nm的红色激光用于眼表各层的扫描成像,图像放大倍率可达400倍,轴向分辨率可达1 μm ^[21],为眼表疾病的诊断、治疗与预后提供了客观依据。

在过去的数十年中,IVCM发展迅速,逐渐走出实验室,越来越多地用于与遗传性角膜疾病^[22]、角膜感染^[23]、角膜接触镜的配戴和角膜手术效果有关的临床试验中^[24]。相较于传统的角膜刮片法,IVCM不仅诊断准确性相差无几,而且省时省力、价格实惠,且为无创性操作,患者更加易于接受。近年来,对于IVCM的研究逐渐深入,通过发现眼表的早期改变,有助于某些系统性疾病的早期诊断与治疗。糖尿病患者的角膜神经病变早于其它系统的改变,应用IVCM可检测角膜上皮神经密度的改变从而发现糖尿病患者眼部的早期病变,该指标甚至被学者^[25]提出列入糖尿病的诊断标准中。

IVCM作为一项有效、无创且快速的检查方法,开启在细胞水平研究角膜形态、生理和病理变化的新篇章,成为一项强大的临床和科研工具^[26]。使用共聚焦显微镜,角膜的细胞结构可被清楚地可视化,且已被证明符合免疫组织化学检测结果^[27-29]。且可以清楚地分辨出正常上皮结构^[26-27]、异常细胞成分^[30-35]、炎性细胞^[36-39]、杯状细胞^[40]、朗格汉斯细胞^[41]等。目前,IVCM广泛应用于皮肤和角膜疾病的诊断。口腔黏膜、角膜、皮肤均属于上皮组织,组织结构有一定的相似性。口腔黏膜由上皮和固有层构成,其中上皮相当于皮肤的表皮,固有层相当于皮肤的真皮,小唇腺就存在于固有层。使用IVCM扫描口腔黏膜,取得相应组织结构,将所得结果和唇腺活检的结果比较,便可以探知它们之间的关联。同时可将IVCM结果进行分级,帮助诊断SS或进行严重性分级。IVCM操作简便易行,是一项适用于疾病各个阶段快速的无创性检查。在不致任何组织发生变化的前提下,使重复检测细胞结构成为可能,甚至有望取代唾液腺活检,成为评估口腔干燥的客观指标,对于早期发现病变、理解病变过程、观察预后等均具有重要价值。

2.2 印迹细胞学检查 Egbert等^[42]于1977年首次提出了一项简单易行、可重复、创伤小的眼表细胞形态学检查方法,即印迹细胞学检查(impression cytology,IC)。相较于结膜刮片,患者对于IC接受性更好,因此在临床和基础研究中得到了广泛的应用。随着技术的发展,IC联合免疫与电镜技术,在眼科尤其是眼表形态学领域得到广泛应用,是收集眼表细胞和评价细胞学变化的常见检查^[43-47]。IC可进行分级和形态学分析,分级标准多样^[48-49]。IC属于病理形态学检查,能客观明确地反映结膜上皮细胞和杯状细胞的病理改变,具有特异性,属于干眼症诊断的“金标准”,广泛应用于眼表炎症、感染及过敏的诊断,眼部用药及眼表重建的评价,眼表肿瘤的早期诊断,全身性疾病眼部表现的诊断及研究,眼表解剖学、生理学、病理学、免疫学等基础研究^[43-47,50]。

鉴于口腔黏膜和结膜同属于上皮组织,SS影响泪腺和唾液腺分泌导致眼表和口腔黏膜发生相应的变化,IC

可通过醋酸纤维素滤纸取材黏膜表面的相应细胞观察眼表细胞的改变,进而诊断疾病。同理,采用IC收集口腔黏膜细胞观察口腔环境的改变,为SS提供相应的病理诊断依据。研究表明,1层醋酸纤维素滤纸可粘取2~3层表层细胞结构,深层组织取材可通过在同一位置的反复粘取实现。唾液腺活检取材的是位于口腔黏膜固有层的小唇腺组织,通过IC利用醋酸纤维素滤纸在唇腺组织表面反复取材,或许可以取到唇腺及其周围组织,从而得到与唇腺活检相似的病理结果,实现无创检查代替有创操作,开启口腔黏膜IC无创诊断SS的新篇章。

3 小结

SS的诊断需要风湿免疫科、眼科和口腔科医师的综合判断,需要结合患者的主观干涩症状、眼部及口腔的客观体征和血液学抗体检查^[1-3]。多学科合作和多种分类条目的检查对SS的诊断提出了挑战,导致该病诊断与治疗相对滞后。自身抗体和唇腺活检病理特征被发现之后,SS在诊断方法上便少有突破性进展。然而,血液学抗体检查阴性并不能排除SS的诊断,唇腺活检因其有创性操作为患者身心带来极大痛苦,在临床的应用并不广泛,因此,新型诊断方式亟待被发掘。IC、IVCM等无创、实时简便、可重复的新型检查方法,在疾病早期诊断、发展和预后评估中都具有极大的潜力,有望完善SS的分类标准,但从分类标准进阶为诊断标准仍有赖于对疾病本质的深刻理解。

参考文献

- Mariette X, Criswell LA. Primary Sjögren's Syndrome. *N Engl J Med* 2018; 378(10): 931-939
- Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis* 2017; 69(1): 9-16
- Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012; 64(4): 475-487
- 中华医学会风湿病学分会. 干燥综合征诊断及治疗指南. *中华风湿病学杂志* 2010; 14(11): 766-768
- Goules AV, Tzioufas AG. Primary Sjögren's syndrome: clinical phenotypes, outcome and the development of biomarkers. *Immunol Res* 2017; 65(1): 331-334
- Qin B, Wang J, Yang Z, et al. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2015; 74(11): 1983-1989
- Karageorgas T, Fragioudaki S, Nezos A, et al. Fatigue in Primary Sjögren's syndrome: Clinical, Laboratory, Psychometric, and Biologic Associations. *Arthritis Care Res (Copenh)* 2016; 68(1): 123-131
- Santiago ML, Seiseddos MR, Garcia S, et al. Usefulness of Antibodies and Minor Salivary Gland Biopsy in the Study of Sicca Syndrome in Daily Clinical Practice. *Reumatol Clin* 2015; 11(3): 156-160
- Theander E, Mandl T. Primary Sjögren's syndrome: diagnostic and prognostic value of salivary gland ultrasonography using a simplified scoring system. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2014; 66(7): 1102-1107
- Bunim JJ. Sjögren's syndrome: a clinical, pathological, and serological study of sixty-two cases. *Medicine (Baltimore)* 1992; 71(6): 386-401
- Shearn MA. Editorial: Sjögren's syndrome. *West J Med* 1975; 122(1): 68-69

- 12 Sjögren H. Zur Kenntnis der Keratoconjunctivitis sicca. *Acta Ophthalmol(Copenh)* 1971; 49
- 13 Chisholm MD, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *J Clin Path* 1968; 21(5): 656-660
- 14 Daniels TE, Silverman S, Michalski JP, et al. The Oral Component of Sjögren's Syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975; 39(6): 875-885
- 15 Manthorpe R, Jacobsson LTH. Sjögren's syndrome. *Baillieres Clin Rheumatol* 1981; 9(3): 139-153
- 16 van Bijsterveld OP. Diagnostic Tests in the Sicca Syndrome. *Arch Ophthalmol* 1969; 82(1): 10-14
- 17 Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Assessment of the European classification criteria for Sjögren's Syndrome in a series of clinically defined cases; results of a prospective multicentre study. The European Study Group on Diagnostic Criteria for Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 1996; 55(2): 116-121
- 18 Vitali C. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of European criteria proposed by the America - European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(6): 554-558
- 19 Rasmussen A, Ice JA, Li H, et al. Comparison of the American-European Consensus Group Sjögren's syndrome classification criteria to newly proposed American College of Rheumatology criteria in a large, carefully characterised sicca cohort. *Ann Rheum Dis* 2014; 73(1): 31-38
- 20 Cavanagh HD. Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J* 1990; 16(1): 65-73
- 21 Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. *In Vivo* Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease. *Ocul Surf* 2017; 15(1): 15-47
- 22 Petroll WM, Robertson DM. *In Vivo* Confocal Microscopy of the Cornea; New Developments in Image Acquisition, Reconstruction, and Analysis Using the HRT-Rostock Corneal Module. *Ocul Surf* 2015; 13(3): 187-203
- 23 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(6): 24-33
- 24 Zhao J, Yu J, Rang L, et al. Changes in the anterior cornea during the early stages of severe myopia prior to and following LASIK, as detected by confocal microscopy. *Exp Ther Med* 2017; 14(4): 2869-2874
- 25 Qu JH, Tian L, Zhang XY, et al. Early central and peripheral corneal microstructural changes in type 2 diabetes mellitus patients identified using *in vivo* confocal microscopy: A case-control study. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96(38): e7960
- 26 Zheng T, Le Q, Hong J, et al. Comparison of human corneal cell density by age and corneal location; An *in vivo* confocal microscopy study. *BMC Ophthalmol* 2016; 16(1): 109
- 27 Mathews S, Chidambaram JD, Lanjewar S, et al. *In Vivo* Confocal Microscopic Analysis of Normal Human Anterior Limbal Stroma. *Cornea* 2015; 34(4): 464-470
- 28 Müller RT, Roxanna P, Deborah PL, 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
- 29 Peng S, Shuting W, Peicheng Z, et al. The Superficial Stromal Scar Formation Mechanism in Keratoconus; A Study Using Laser Scanning *In Vivo* Confocal Microscopy. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 7092938
- 30 Jester JV, Morishige N, Benmohamed L, et al. Confocal microscopic analysis of a rabbit eye model of high incidence recurrent herpes stromal keratitis (HSK). *Cornea* 2015; 35(1): 81-88
- 31 Kheirkhah A, Rahimi Darabad R, Cruzat A, et al. Corneal Epithelial Immune Dendritic Cell Alterations in Subtypes of Dry Eye Disease: A Pilot *In Vivo* Confocal Microscopic Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(12): 7179-7185
- 32 Kheirkhah A, Satitpitakul V, Hamrah P, et al. Patients with Dry Eye Disease and Low Subbasal Nerve Density Are at High Risk for Accelerated Corneal Endothelial Cell Loss. *Cornea* 2017; 36(2): 196-201
- 33 Cruzat A, Hamrah P, Cavalcanti BM, et al. Corneal Re-innervation and Sensation Recovery in Patients with Herpes Zoster Ophthalmicus: An *In Vivo* and *Ex Vivo* Study of Corneal Nerves. *Cornea* 2016; 35(5): 619-625
- 34 Moein HR, Kheirkhah A, Muller RT, et al. Corneal nerve regeneration after herpes simplex keratitis; An *in vivo* confocal microscopy study. *Ocul Surf* 2018; 16(2): 218-225
- 35 Cinotti E, Singer A, Labeille B, et al. Handheld *In Vivo* Reflectance Confocal Microscopy for the Diagnosis of Eyelid Margin and Conjunctival Tumors. *JAMA Ophthalmol* 2017; 135(8): 845-851
- 36 Qazi Y, Kheirkhah A, Blackie C, et al. *In vivo* detection of clinically non-apparent ocular surface inflammation in patients with meibomian gland dysfunction-associated refractory dry eye symptoms: a pilot study. *Eye(Lond)* 2015; 29(8): 1099-1110
- 37 Cruzat A, Schrems WA, Schrems-Hoels LM, et al. Contralateral Clinically Unaffected Eyes of Patients with Unilateral Infectious Keratitis Demonstrate a Sympathetic Immune Response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(11): 6612-6620
- 38 Chidambaram JD, Prajna NV, Larke N, et al. *In vivo* confocal microscopy appearance of Fusarium and Aspergillus species in fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2017; 101(8): 1119-1123
- 39 Gulfidan B, Kultigin T, Malik RA, et al. Corneal confocal microscopy detects corneal nerve damage and increased dendritic cells in Fabry disease. *Sci Rep* 2018; 8(1): 12244
- 40 DI Staso S, Agnifili L, Ciancaglini M, et al. *In Vivo* Scanning Laser Confocal Microscopy of Conjunctival Goblet Cells in Medically-controlled Glaucoma. *In Vivo* 2018; 32(2): 437-443
- 41 Resch MD, Marsovszky L, Németh J, et al. Dry eye and corneal langerhans cells in systemic lupus erythematosus. *J Ophthalmol* 2015; 2015: 543835
- 42 Egbert PR, Lauber S, Maurice DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol* 1977; 84(6): 798-801
- 43 Weber SL, Hazarbasanov RM, Nasaré A, et al. Conjunctival impression cytology evaluation of patients with dry eye disease using scleral contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye* 2017; 40(3): 151-156
- 44 Oltulu P, Oltulu R, Asil M, et al. Conjunctival Impression Cytology and Dry Eye in Patients with Ulcerative Colitis: A Pilot Study. *Eye Contact Lens* 2017; 44(Suppl 1): S190-S193
- 45 Li B, Liang QF. Attention to the impression cytology in the evaluation of ocular surface tumors. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2016; 52(10): 721-723
- 46 Zhu YF, Zheng LB, Yao YF. Impression cytological study for ocular surface disorders of late stage eye burns. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20(4): 605-612
- 47 Iskeleli G, Arici C, Bilgec MD, et al. Impression Cytology in Different Types of Contact Lens Users. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol* 2015; 4(3): 109-113
- 48 Nelson JD, Havener VR, Cameron JD. Cellulose acetate impressions of the ocular surface. Dry eye states. *Arch Ophthalmol* 1983; 101(12): 1869-1872
- 49 Tseng SC. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology* 1985; 92(6): 728-733
- 50 Kanavi MR, Hosseini SB, Aliakbar-Navahi R, et al. Impression Cytology in a Series of Clinically Diagnosed Ocular Surface Melanocytic Lesions. *J Ophthalmic Vis Res* 2017; 12(1): 17-22