

准分子激光原位角膜磨镶术后早期共焦显微镜研究

杨浩江, 杨 斌, 王 铮, 陈家祺
(中山大学中山眼科中心, 广东 广州 510060)

摘要:【目的】研究激光原位角膜磨镶术(LASIK)矫正屈光不正术后角膜出现的变化。【方法】对屈光不正 30 例(60 只眼)患者在激光原位角膜磨镶术术前行共焦显微镜检查,与术后角膜共焦显微镜检查结果相比较。【结果】术后多数术眼出现前弹力层及浅基质层皱折,层间出现反光较强的颗粒,术后早期基质细胞激活,激活范围与角膜瓣厚度负相关 $[(136.2 \pm 18.1) \mu\text{m}]$,角膜瓣的实际测量值低于角膜瓣预期值(160 μm),手术前后最浅层和最深层角膜基质细胞及内皮细胞密度无差异。【结论】使用共焦显微镜检查发现 LASIK 术后层间出现微小皱褶和碎屑,角膜瓣实际厚度低于预期值,角膜基质细胞被激活,角膜瓣越薄反应范围越广。

关键词:共焦显微镜;激光原位角膜磨镶术;屈光不正

中图分类号:R77

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2003)05-0513-03

Early Study on the Corneal Changes After Laser *in situ* Keratomileusis with Confocal Microscopy

YANG Hao-jiang, YANG Bin, WANG Zheng, CHEN Jia-qi
(Zhongshan Ophthalmic Centre, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: 【Objective】To study the changes of cornea after LASIK for correction of ametropia. 【Methods】The corneas of thirty patients(60 eyes) were selected and all subjects received Confocal microscopy examinations. Preoperative data and postoperative data were compared. 【Results】Microfolds were found at Bowman's layer and anterior stromal layer. High refractive particles were found at the interface. Stromal keratocyte were activated in the early stage after operation. Activated zone and flap thickness showed negative correlation. The actual thickness of flap were thinner than expected. The density in the first stromal layer and most posterior stromal layer did not change. The density of endothelial cells also remained unchanged. 【Conclusion】The study confirms that microfold and particle do not cause the clinical symptoms. The actual thickness of the flaps is thinner than predictive value. The stromal keratocytes are found to be activated. The thinner the corneal flap, the wider the activated zone.

Key words: confocal microscopy; laser *in situ* keratomileusis; refractive error

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2003, 24(5):513 ~ 515, 519]

激光原位角膜磨镶术(Laser *in situ* Keratomileusis, LASIK)由于保留了完整的角膜前弹力层,具有术后反应小,恢复快等优点,矫正屈光不正疗效确切,已成为最主要的角膜屈光性手术方式。如何理解,控制,改变角膜伤口的愈合反应成为人们日益关心的问题。以往对于角膜的非侵入性检查主要依赖于裂隙灯、角膜内皮镜等手段,但限于角

膜组织的低对比度特性及光学显微镜的低分辨率和低放大倍数,一直没有一种能在活体上使用并具有高放大倍数的精密设备供研究使用。最近出现的共焦显微镜检查能观察到角膜伤口愈合时细胞的特征性变化。通过它人们可以在高分辨率下观察角膜基质,角膜细胞和角膜神经的变化。通过共焦显微镜能在活体角膜上观察角膜细胞和神经的形态

收稿日期:2003-03-28

作者简介:杨浩江(1975-),男,江西南昌人,在读硕士。

学变化并进行定性和定量分析,目前国外已广泛应用于研究角膜手术前后各层结构的变化,但在国内尚未见相关报道。

1 材料和方法

1.1 病例选择

30 位屈光不正的患者 60 只眼(2002 年 10 月至 12 月手术患者)。排除圆锥角膜、青光眼、单纯疱疹病毒感染活动期、全身结缔组织疾病及免疫性疾病、葡萄膜炎活动期及糖尿病等全身疾病。平均年龄为(27.3 ± 8.5)岁,术前平均等效球镜为(-6.7 ± 5.5)D, 屈光范围为(-12.2D 至 -1.2D), 平均切削量为(107.5 ± 75.5) μm。

1.2 术前检查

术前检查包括:远、近视力、散瞳验光及主观试镜、裂隙灯和眼底检查、Goldman 眼内压检查、超声角膜测厚检查和角膜地形图检查等。手术屈光度的选择,以复光时最好矫正视力时的度数为准。

1.3 手术方法

采用美国 CHIRON 公司的 KERACOR217 型准分子激光机和自动微型板层角膜刀或旋转式微型板层角膜刀。均在表面麻醉下进行。治疗远视,采用直径为 9.5 mm 的负压吸附环,切削量为验光所测得的远视度数增加 20%,散光度不加减;治疗近视,采用直径为 8.5 mm 的负压吸附环,切削量为验光所测得的近视度数增加 10%,散光度不加减。手术步骤均按常规 LASIK 方法进行。

1.4 术后处理

术后第 1 天开始点氟甲松龙滴眼液,开始时每天 4 次,1 周后减为每天 3 次,依此类推,共持续 1 个月。于术后 1 周、1 个月、3 个月、6 个月和 1 年复诊。按常规复查视力、屈光度、Goldman 眼内压和角膜地形图、共焦显微镜等,并检查角膜情况。共焦显微镜检查:我院使用 FORTUNE 公司的 CONFOSCAN 2.0 共焦显微镜,采用标准 40 × 浸入式镜头,可以显示角膜 340 μm × 255 μm 范围大小。横向分辨率为 1 μm,深度分辨率为 10 μm,工作距离为 1.92 μm,通过数码视频录像机记录图像,储存在计算机内。检查中将角膜厚度设为 700 μm,通道数为 4,则相邻两张图片间隔为 8 μm,14 s 内将记录 350 张图片。

患者在术前、术后 1 周、1 个月、3 个月、6 个月

行共焦显微镜检查,对每次测量结果进行定性与定量分析。观察角膜各层细胞的形态学变化,上皮细胞基底膜下神经纤维变化,测量最表层角膜上皮至内皮的距离为角膜厚度。高反光颗粒为角膜瓣层间的判断标志,最表层角膜上皮至角膜瓣层间的距离为角膜瓣厚度,角膜瓣层间至角膜内皮的距离为基质床厚度,最浅层细胞激活反应层面至最深层细胞激活反应层面厚度为细胞激活范围。使用软件自带的细胞计数模块进行角膜细胞密度分析,分别对最浅层基质细胞和最深层基质细胞、内皮细胞、角膜瓣层间高亮度颗粒行手工计数。

1.5 统计学分析

所有统计数据使用 SPSS 11.0 软件包计算,数据以均数 ± 标准差表示,4 组均数之间的比较用方差分析,采用 SNK - *q* 方法进行多重两两比较。两变量的相关分析应用 Pearson 相关系数进行分析。

2 结果

最浅层基质细胞和最深层基质细胞、内皮细胞见图 1、2、3。术后多数患眼出现不同程度的前弹力层及浅基质层皱折(图 4),上皮细胞与内皮细胞未见形态学异常,手术前后数量无差异。角膜瓣层间出现不同程度的亮高反光颗粒,随时间变少。角膜瓣实际厚度低于预计厚度,预计角膜瓣厚度为 160 μm,实际角膜瓣测量值为(136.2 ± 18.1) μm。浅层角膜基质细胞激活,最浅层基质细胞密度和最深层基质细胞密度术前比较无显著性差异。基质激活范围与切削量无相关性($P > 0.05$),而与角膜瓣厚度呈负相关($r = -0.835$; $P = 0.008$),并随时间激活范围减小。术后大多数上皮细胞下神经丛未见再生。各种细胞密度的统计学结果见表 1。

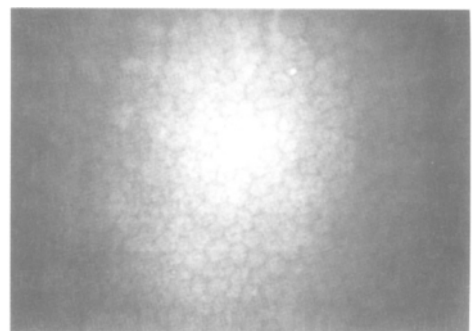


图 1 术前正常角膜内皮细胞

Fig. 1 Normal corneal endothelial cells before operation

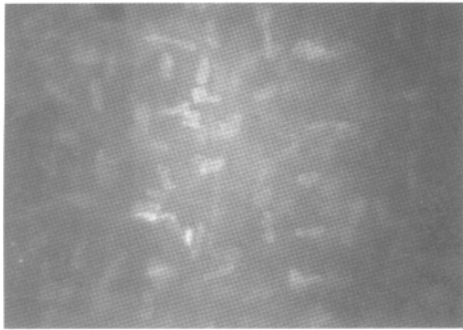


图 2 最深层角膜基质细胞

Fig. 2 Keratocyte of the deepest stromal layer

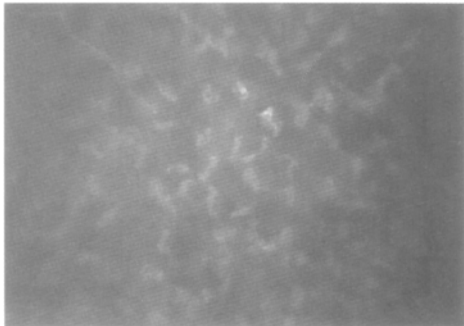


图 3 最浅层角膜基质细胞

Fig. 3 Keratocyte of the first stromal layer

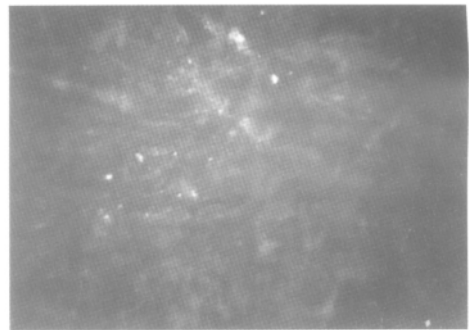


图 4 LASIK 术后层间高反光颗粒

Fig. 4 High refractive particles at the interface after LASIK

3 讨论

随着角膜屈光性手术的广泛开展, 激光原位角膜磨镶术矫正屈光不正疗效确切, 并具有术后反应轻, 恢复快等优点。但手术后角膜愈合与神经再生的研究成为人们所关注的问题。早期大多数相关活体细胞水平研究在动物眼上进行, 中山大学眼科医院杨斌等进行准分子激光原位角膜磨镶术创面

表 1 各种细胞手术前后密度比较

Table 1 Cell density of cornea in confocal microscope

cells/ mm²

	Before operation	1 week after	1 month after	3 month after	P
Endothelial cells	2 623 ± 127	2 590 ± 122	2 683 ± 137	2 712 ± 119	0. 63
Keratocyte density of the first stromal layer	487 ± 92	501 ± 50	497 ± 88	511 ± 39	0. 52
Keratocyte density of the deepest stromal layer	703 ± 101	716 ± 87	712 ± 76	714 ± 96	0. 57
High refractive particles	247 ± 58	165 ± 71	113 ± 42	98 ± 31	0. 03
Zone of activated stromal keratocyte (mm)	49 ± 13	32 ± 11	19 ± 13	11 ± 7	0. 008

愈合机制的免疫组化实验, 发现 LASIK 后 1 周中央区角膜有少量的角膜细胞出现及产生少许Ⅲ型胶原及纤维连接蛋白, 术后 1~3 个月时达高峰, 6 个月时明显减少。认为准分子激光原位角膜磨镶术后, 角膜愈合反应极轻, 因而较少引起角膜混浊的发生^[1]。共焦显微镜能够在人体上直接观察角膜伤口的愈合, 同时可以精确测量角膜厚度, 角膜瓣厚度和角膜基质床厚度, 进行角膜各层细胞的形态学观察, 并作定性与定量的分析。

共焦显微镜测量角膜厚度与角膜地形图及角膜超声厚度有着良好的相关性, 并且能够判断检查时患者的配合程度, 具有很好的可重复性。用于术后角膜基质床的厚度测量, 可避免术中掀开角膜瓣测量角膜基质床厚度。对于术后回退患者特别是高

度近视患者的再次手术, 为了避免术后角膜膨出精确测量角膜瓣下基质床的厚度有重要意义。术后角膜瓣的实际测量值低于角膜瓣预期值, 这与以前的相关研究结果一致^[2]。但在本研究中未与其他微型角膜板层刀作比较。

术后绝大多数患者共焦显微镜检查见角膜前弹力层和浅基质层出现不同程度的皱褶。但一般程度的微小皱褶不会引起临床症状, 明显的皱褶可能导致不规则散光, 视觉质量下降而需要进一步处理。相信结合波前像差检查可进行进一步的研究。

术后角膜瓣间出现层间不同程度的高反光颗粒, 这成为角膜瓣层间的判断标志。临床上 16% 的病例在裂隙灯下肉眼可以观察到层间金属碎屑。这

(下转第 519 页 to page 519)

视神经管减压术中切开视神经鞘膜时,应尽可能选择在神经的内侧和内下方,而不能在下方切开,因为眼动脉走行在视神经的外下方,有一些病例可能有变异,走行在视神经的下方,切开时极易引起大出血,损害患眼的血供。

鼻窦囊肿引起的视力损害,手术越早越好,对于囊袋的处理,应该强调建立良好的引流通道,并在手术后不断复查,防止引流口的闭合,囊壁可以不予处理,防止因为囊壁与周围重要组织或血管粘连,撕拉时容易造成并发症^[6,7]。

经鼻内窥镜鼻眼相关手术是介于鼻外科和眼科之间的边缘学科手术,在严格掌握适应证的情况下可以完成,应强调严格掌握手术适应症。对于位于视神经内侧的疾病和鼻部疾病引起的眼部并发症,鼻内进路有明确的优势,可以在熟练掌握内窥镜鼻窦外科技术的基础上进行更深入的探索。

参考文献:

- [1] 许庚,李源. 内窥镜鼻窦外科学[M]. 广州:暨南大学出版社,1994. 169~214.
- [2] 卜国铨. 鼻眼相关外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994. 38~210.
- [3] 李源,许庚,张革化,等. 鼻源性视功能损害的诊断和鼻内窥镜手术治疗[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2000, 35(4):260.
- [4] 周兵,唐忻. 鼻内窥镜下鼻内泪囊造孔术[J]. 耳鼻咽喉科-头颈外科杂志,1994, 1(2):80.
- [5] Allen K M, Berlin A J, Levine H L. Intranasal endoscopic analysis of dacrocystorhinostomy failure[J]. Ophthalm Plast Reconstr Surg, 1988,4(3): 143.
- [6] Benninger M S, Marks S. The endoscopic management of sphenoid and ethmoid mucocoeles with orbital and intranasal extension[J]. Rhinology, 1995,33(3):157.
- [7] Ikeda K, Takahashi C, Oshima T. Endonasal endoscopic marsupialization of paranasal sinus mucocoeles[J]. Am J Rhinol, 2000,14(2):107.

(编辑 刘清海)

(上接第 515 页 from page 515)

些都提示我们微型角膜刀尚需进一步完善,改进手术操作如合理的控制瓣下冲洗和手术操作区的清洁以提高治疗效果。

有学者报道术后短期内观察到无细胞区提示细胞凋亡,进而促使上皮下混浊的发生^[3]。本研究并未发现这种无细胞区,是否可能出现在术后1周内早期尚需进一步观察研究。术后角膜瓣两侧可见被激活的基质细胞与混浊的细胞间质,表现为明显增亮的细胞核与细胞体、高反光的细胞间结构。激活的范围与角膜瓣厚度负相关,而与激光切削量之间无相关,这与其他研究结果一致^[4],据此推想最浅角膜基质层细胞控制纤维母细胞的转型和上皮下混浊的产生,但可能需要进一步证实。有学者^[5]研究发现一年后前基质层细胞明显减少,并认为与神经纤维丧失有关。角膜基质各层细胞形态不同,在术后角膜的愈合中可能发挥着不同的作用,各层基质细胞密度的变化经长期的追踪观察可能会有所发现。此外,在共焦显微镜使用中病人的良好配合与图像光密度表现有一定关系,这也提示可能需要大样本的长期观察。

参考文献:

- [1] 杨斌,林小铭,王铮,等. 准分子激光原位角膜磨镶术创面愈合机制的免疫组化实验[J]. 中山医科大学学报,2001,22(5):356.
- [2] Gokmen F, Jester J V, Petroll W M, et al. *in vivo* confocal microscopy through-focusing to measure corneal flap thickness after laser *in situ* keratomileusis[J]. Cataract Refract Surg, 2002,28(6):962.
- [3] Pisella P J, Auzeerie O, Bokobza Y, et al. Evaluation of corneal stromal changes *in vivo* after laser *in situ* keratomileusis with confocal microscopy[J]. Ophthalmology, 2001, 108(10):1744.
- [4] Vesalunio M, Perez-Suntonja J, Petroll W M, et al. Corneal stromal changes induced by myopic LASIK[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000,41(8):2027.
- [5] Mitooka K, Ramirez M, Maguire L J, et al. Keratocyte density of central human cornea after laser *in situ* keratomileusis[J]. Am J Ophthalmol, 2002,133(3):307.

(编辑 刘清海)