

# 准分子激光屈光性角膜切削术后 10 年 角膜内皮细胞的观察

吴迪 王雁 耿维莉 左彤 金颖 王静 张琳 李晶 李智敏 谢丽丽

**【摘要】** 目的 评价和了解准分子激光屈光性角膜切削术 (PRK) 对角膜内皮细胞密度和形态的远期影响, 并探究其与切削深度、激光扫描时间等手术参数的相关性。方法 回顾性病例研究。PRK 术后 10 年患者 24 例 (44 眼); 随机选取未接受过眼科手术的正常眼作为对照组, 共 25 例 (45 眼)。应用非接触角膜内皮镜测量角膜中央内皮细胞密度和形态。利用 Pearson 线性相关分析研究 PRK 术后 10 年组内皮细胞密度和形态与手术参数间的相关性。另将 PRK 术后 10 年患者按切削量大小分为低切削 ( $<60 \mu\text{m}$ )、中切削 ( $60\sim 90 \mu\text{m}$ ) 和高切削 ( $>90 \mu\text{m}$ ) 3 组, 并对比分析此 3 组及对照组间角膜中央内皮细胞密度和形态的差异。采用独立样本  $t$  检验、Pearson 相关分析、单因素方差分析进行数据处理。结果 PRK 术后 10 年组与对照组间平均内皮细胞面积、内皮细胞密度、内皮细胞面积变异系数、六边形内皮细胞百分比的差异均无统计学意义 ( $t=-1.390, 1.323, 0.569, 0.788, P>0.05$ )。平均内皮细胞面积和内皮细胞密度与等效球镜度间具有明显相关性 ( $r=-0.424, 0.420, P<0.01$ ), 同时该两参数与准分子预切削深度间亦显示具有相关关系 ( $r=0.391, -0.388, P<0.01$ )。PRK 术后低、中、高切削组与对照组间平均内皮细胞面积、内皮细胞密度、内皮细胞面积变异系数、六边形内皮细胞百分比的差异均无统计学意义 ( $F=2.195, 1.961, 0.817, 1.529, P>0.05$ )。结论 PRK 术后远期角膜中央内皮细胞密度及形态无明显异常改变。等效球镜度及预切削深度会影响平均内皮细胞面积和内皮细胞密度。

**【关键词】** 屈光性角膜切削术; 内皮, 角膜; 激光, 准分子

## Evaluation of corneal endothelial cells ten years after photorefractive keratectomy

WU Di, WANG Yan, GENG Wei-li, ZUO Tong, JIN Ying, WANG Jing, ZHANG Lin, LI Jing, LI Zhi-min, XIE Li-li. Tianjin Eye Hospital & Eye Institute, Ophthalmology and Visual Science Key Laboratory, Tianjin Medical University, Tianjin 300020, China

Corresponding author: WANG Yan, Email: wangyan7143@vip.sina.com

**【Abstract】 Objective** To evaluate and determine the long-term effects of photorefractive keratectomy (PRK) on corneal endothelial cell density and morphology, and investigate their correlation with surgically designed parameters such as ablation depth and laser scan time. **Methods** In this retrospective study, 24 patients (44 eyes) who underwent PRK 10 years earlier and 45 normal eyes of 25 cases without any ophthalmologic surgery were enrolled in this study as the PRK group and the control group, respectively. Noncontact specular microscopy (Topcon, SP3000P, Japan) was used to measure central corneal endothelial cell density and morphology. A Pearson correlation was used to analyze the relationship between corneal endothelial cell density and morphology, and surgically designed parameters. The PRK group was divided into 3 subgroups based on the depth of tissue ablation: low ablation group (ablation depth  $<60 \mu\text{m}$ ), moderate ablation group (ablation depth:  $60\sim 90 \mu\text{m}$ ) and high ablation group (ablation depth  $>90 \mu\text{m}$ ). The differences in corneal endothelial cell density and morphology between these 3 groups and the control group were analyzed. Data were analyzed using independent samples  $t$  test, Pearson correlation, ANOVA. **Results** The differences in average endothelial cell area, endothelial cell density, coefficient of variation of the endothelial cell area and percentage of hexagonal cells between the PRK group and control group were not statistically significant ( $t=-1.390, 1.323, 0.569, 0.788, P>0.05$ ). However, there were statistically significant

correlations between average endothelial cell area and endothelial cell density and manifest refraction spherical equivalent (MRSE) ( $r=-0.424, 0.420, P<0.01$ ). The 2 parameters were also significantly correlated with attempted ablation depth ( $r=0.391, -0.388, P<0.01$ ). The differences in average endothelial cell area, endothelial cell density, coefficient of variation of the endothelial cell area and percentage of hexagonal cells between the low ablation group, moderate ablation group, high ablation group and control group were not statistically significant ( $F=2.195, 1.961, 0.817, 1.529, P>0.05$ ).

**Conclusion** Compared to normal eyes, no significantly abnormal change in central corneal endothelial cell density or morphology was observed 10 years after PRK. MRSE and attempted ablation depth may have an effect on the average endothelial cell area and endothelial cell density.

**[Key words]** Photorefractive keratectomy; Endothelium, corneal; Laser, excimer laser

准分子激光屈光性角膜切削术 (photorefractive keratectomy, PRK) 是我国 20 世纪 90 年代初主流角膜屈光手术之一<sup>[1]</sup>。PRK 手术自 1983 年应用于临床矫治各种屈光不正以来, 虽然在其基础上衍生出多种改良术式, 但 PRK 至今仍是较具代表性的表层角膜屈光手术。其有效性及可预测性已被广泛认可, 但其远期的安全性仍然是人们关注和热议的焦点。目前, 已报道的研究随访时间不过 3~5 年<sup>[2-4]</sup>, 而 10 年以上的报道则极为少见。笔者通过观察 PRK 术后 10 年活体角膜内皮细胞的密度及形态, 评价准分子激光对角膜组织的远期影响。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选取 1998-2001 年在天津市眼科医院角膜屈光手术中心接受近视 PRK 手术现定期来院随访患者 24 例 (44 眼), 其中男 9 例 (17 眼), 女 15 例 (27 眼); 术后时间平均为 (10.98±1.03) 年; 现年龄 30~55 岁, 平均 (38.3±6.6) 岁; 术前屈光不正球镜度 -2.25~-10.25 D, 平均 (-4.93±1.78) D, 柱镜度 0~-3.50 D, 平均 (-0.64±0.69) D, 等效球镜度 -2.50~-10.75 D, 平均 (-5.24±1.81) D。受检者角膜预切削深度 42.5~100.4 μm, 平均 (72.31±17.27) μm。

另选取未曾接受过角膜屈光手术者 25 例 (45 眼) 作为对照组, 包括男 12 例 (20 眼), 女 13 例 (25 眼); 年龄 25~53 岁, 平均 (37.2±5.7) 岁; 屈光不正球镜度 0~-11.00 D, 平均 (-4.88±1.93) D, 柱镜度 0~-3.00 D, 平均 (-0.59±0.66) D, 等效球镜度 0~-11.50 D, 平均 (-5.17±1.99) D。

PRK 术后 10 年组及对照组中全部受检者均进行常规眼科检查, 包括视力、裂隙灯、眼底及眼压检查, 排除角膜炎、青光眼等眼科疾病, 受检眼均无角膜接触镜配戴史及眼科手术史, 无高血压、糖尿病等全身疾病。明确告知受检者本研究的目的及方法, 并签署知情同意书。

### 1.2 方法

1.2.1 手术方法 手术采用日本 Nidek 公司生产的 EC-5000 准分子激光系统, 激光波长 193 nm, 裂隙扫描, 能量密度平均为 300 mJ/(cm<sup>2</sup>·scan), 脉冲重复率 30 Hz。术中用高尔夫球刀刮除角膜中央直径 8 mm 区内上皮组织, 后利用准分子激光行角膜切削。光学区为 5.5~6 mm。

1.2.2 内皮细胞密度及形态测量方法 应用 Topcon SP3000P 型非接触角膜内皮镜, 测量角膜中央内皮细胞密度和形态。采用 BT18-IMAGEnet 2000 细胞分析系统对平均内皮细胞面积、内皮细胞密度、内皮细胞面积变异系数及六边形内皮细胞百分比进行计数分析。2 组受检者内皮细胞检查均由同一熟悉仪器操作和软件分析的技师完成。每眼测量 3 次, 选择图像最为清晰的一次进行细胞分析。每张图像中至少包含 100 个内皮细胞。

1.2.3 分组方法 将 PRK 术后 10 年组按预切削量大小分成 3 组, 其中预切削量 <60 μm 为低切削组、60~90 μm 为中切削组、>90 μm 为高切削组。低切削组 13 眼, 切削量 42.5~58.8 μm, 平均 (50.19±8.91) μm; 中切削组 16 眼, 切削量 61.0~87.9 μm, 平均 (72.40±5.47) μm; 高切削组 15 眼, 切削量 90.5~100.4 μm, 平均 (95.83±3.17) μm。低、中、高切削 3 组平均年龄分别为 (37.4±6.5) 岁, (37.8±4.5) 岁和 (40.3±8.1) 岁, 3 组间差异无统计学意义 ( $F=1.731, P>0.05$ )。

### 1.3 统计学方法

回顾性病例研究 采用 SPSS 13.0 统计学软件进行数据分析。PRK 术后 10 年组与对照组间内皮细胞密度和形态的差异比较选用独立样本 *t* 检验; 采用 Pearson 线性相关分析研究 PRK 术后组内皮细胞密度和形态与年龄、切削深度、扫描时间等因素的相关性。应用单因素方差分析比较低、中、高切削组及对照组间内皮细胞密度和形态的差异。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PRK 术后 10 年组与对照组角膜内皮细胞密度和形态的比较

PRK 术后组与对照组间平均内皮细胞面积、内皮细胞密度、内皮细胞面积变异系数、六边形内皮细胞百分比的差异均无统计学意义。详见表 1。

### 2.2 PRK 术后 10 年角膜内皮细胞密度和形态与年龄及手术参数间的相关性

术中激光扫描时间为 25~58 s, 平均  $(44.81 \pm 9.67)$ s; 剩余角膜中央厚度为 412~560  $\mu\text{m}$ , 平均  $(478.1 \pm 31.0)$  $\mu\text{m}$ 。

分析结果表明, 平均内皮细胞面积和内皮细胞密度与等效球镜度具有显著相关性 ( $r = -0.424, 0.420, P < 0.01$ )。另外, 两者与预切削深度之间亦具有相关性 ( $r = 0.391, -0.388, P < 0.01$ )。其余相关性分析结果详见表 2。

### 2.3 低、中、高切削组及对照组间角膜内皮细胞密度和形态的比较

PRK 术后低、中、高切削组与对照组间平均内皮细胞面积、内皮细胞密度、内皮细胞面积变异系数、六边形内皮细胞百分比的差异均无统计学意义。详见表 3。

## 3 讨论

PRK 是矫治屈光不正的有效方式之一, 该手术对角膜内皮细胞的影响成为科学家们评价其安全性的重要指标。Kim 等<sup>[9]</sup>通过裂隙灯活组织显微镜观察到 LASIK 术后 15 min 内角膜内皮细胞的显著改变, 且在术后第 1 天监测到六角形内皮细胞数量较术前明显减少。Carones 等<sup>[9]</sup>对 PRK 的研究也得出相似结论。可见, PRK 和 LASIK 术后均可发生角膜内皮细胞的急性改变, 但相关病因学解释尚不明确。目前, 准分子激光消融致角膜内皮细胞损伤的机制多解释为震波造成的机械损伤、局部氧化及热损伤<sup>[7-9]</sup>。此外, LASIK 术中负压吸引使眼压在短时间内升高, 可能也是造成急性角膜内皮细胞损伤的重要原因之一。这些急性改变是否会对角膜内皮细胞造成持续性影响则需要术后远期的观察。

一项前瞻性随机对照研究显示, PRK 及飞秒激光制瓣 LASIK 术后 3 个月内, 角膜内皮细胞密度均无显著改变<sup>[10]</sup>。Rosa 等<sup>[11]</sup>也发现 PRK 术后 2 年内皮细胞密度和多形性指数均无明显变化, 高度近视者亦然。Collins 等<sup>[9]</sup>对 2 组 PRK 患者进行 12~55 个月的随访, 分别比较术前与术后、手术与未手术眼中央角膜内皮细胞情况, 证明 PRK 对角膜内皮细胞无损伤, 但由于细胞新陈代谢的变化或其他不明机制的

表 1 PRK 术后 10 年组与对照组内皮细胞密度及形态的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	眼数	平均内皮细胞面积 ( $\mu\text{m}^2$ )	内皮细胞密度 (个/ $\text{mm}^2$ )	内皮细胞面积变异系数 (%)	六边形内皮细胞百分比 (%)
PRK 术后 10 年组	44	372.51 $\pm$ 47.26	2721.10 $\pm$ 298.87	34.43 $\pm$ 4.99	56.34 $\pm$ 9.56
对照组	45	387.00 $\pm$ 50.96	2628.93 $\pm$ 355.26	33.74 $\pm$ 6.34	54.84 $\pm$ 8.33
<i>t</i> 值		-1.390	1.323	0.569	0.788
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 2 PRK 术后 10 年患者角膜内皮细胞密度和形态与年龄及手术参数间的相关系数 (44 眼)

项目	平均内皮细胞面积	内皮细胞密度	内皮细胞面积变异系数	六边形内皮细胞百分比
年龄	0.432	-0.429 <sup>b</sup>	0.325 <sup>a</sup>	-0.215
等效球镜度	-0.424 <sup>b</sup>	0.420 <sup>b</sup>	-0.222	-0.090
剩余角膜中央厚度	-0.006	0.034	-0.136	0.121
预切削深度	0.391 <sup>b</sup>	-0.388 <sup>b</sup>	0.232	-0.161
激光扫描次数	0.344 <sup>a</sup>	-0.344 <sup>a</sup>	0.235 <sup>a</sup>	-0.313 <sup>a</sup>

注: <sup>a</sup>,  $P < 0.05$ ; <sup>b</sup>,  $P < 0.01$

表 3 PRK 术后 10 年低、中、高切削组与对照组内皮细胞密度及形态的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	眼数	平均内皮细胞面积 ( $\mu\text{m}^2$ )	内皮细胞密度 (个/ $\text{mm}^2$ )	内皮细胞面积变异系数 (%)	六边形内皮细胞百分比 (%)
低切削组	13	349.73 $\pm$ 26.78	2874.33 $\pm$ 214.85	34.02 $\pm$ 5.27	59.08 $\pm$ 7.55
中切削组	16	370.86 $\pm$ 30.33	2713.94 $\pm$ 228.05	32.91 $\pm$ 3.87	56.88 $\pm$ 6.75
高切削组	15	387.47 $\pm$ 64.97	2638.65 $\pm$ 371.57	35.95 $\pm$ 5.51	52.40 $\pm$ 11.90
对照组	45	387.00 $\pm$ 50.96	2628.93 $\pm$ 355.26	33.74 $\pm$ 6.34	54.84 $\pm$ 8.33
<i>F</i> 值		2.195	1.961	0.817	1.529
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

影响,可能引起细胞多形化。长期配戴角膜接触镜会影响内皮密度及形态<sup>[12-13]</sup>,因此有研究者认为,由于PRK或LASIK术后停戴角膜接触镜,反而会使得内皮细胞多形性下降,六边形细胞百分比增加<sup>[14]</sup>。

本研究对PRK术后10年患者的观察发现平均内皮细胞面积、内皮细胞密度、内皮细胞面积变异系数、六边形内皮细胞百分比与对照组间均无差异。国外一项关于PRK术后9年角膜内皮细胞的研究和我们的结果相似。他们认为PRK及LASIK手术并不对角膜内皮细胞产生远期影响,所以术后角膜组织可作为板层角膜移植的供体<sup>[15]</sup>。Bricola等<sup>[16]</sup>通过对接受PRK手术者进行长达14年的随访研究发现,不论高度或低度近视者,术后远期内皮细胞计数和形态与未手术眼相比无显著差异。另有研究提示,高度切削可能会对角膜内皮细胞的形态产生影响<sup>[17]</sup>。早期动物实验也证实,当准分子激光消融达90%角膜深度或距Descemet膜小于40 μm将对内皮造成损伤<sup>[19,18]</sup>。Kim等<sup>[19]</sup>证实,剩余角膜基质床厚度大于200 μm可避免角膜内皮受到准分子激光的伤害。本研究中所有患者术后剩余中央角膜厚度远远大于200 μm。

相关性分析显示术后10年内皮细胞密度和平均细胞面积与预切削深度相关。为验证内皮细胞密度与切削深度的相关性,我们又将术后10年组按切削深度的大小分为低切削、中切削和高切削组,且与对照组比较,结果显示4组间并无差异。此结果说明,即使PRK术后内皮细胞密度等部分评价内皮细胞健康状态的参数与预切削深度表现出一定相关性,但在常规切削深度范围内,较高的组织切削量仍不会对远期角膜内皮细胞的密度及形态产生显著影响。同时,预切削量乃根据术前屈光度计算得出,所以预切削深度与角膜内皮细胞密度和形态的相关性实际上可能反映的是患者屈光度与角膜内皮细胞状态的相关性。并且,等效球镜度比切削深度显示出与内皮细胞密度和平均细胞面积间更强的相关性。Urban等<sup>[20]</sup>在对一组儿童和青少年的研究中发现,近视屈光度与内皮细胞形态相关。但在成人中这种相关性是否存在还需进一步研究。

此外,本研究同样证实了年龄与角膜内皮细胞密度和形态的相关性,与已报道的国外研究结果一致<sup>[21]</sup>。

本研究通过长期随访发现,PRK术后10年患者的角膜中央内皮细胞密度及形态与正常对照组相比并无明显异常改变。因此提示,在合理的适应证下选择该术式,对角膜内皮细胞无明显远期损害,具有较好的安全性。

## 参考文献:

- [1] 褚仁远. 我国近年屈光矫正手术的进展. 中华眼科杂志, 2005, 41:724-728.
- [2] Mardelli PG, Piebenga LW, Matta CS, et al. Corneal endothelial status 12 to 55 months after excimer laser photorefractive keratectomy. *Ophthalmology*, 1995, 102:544-549.
- [3] 乔丽萍, 孙慧敏, 赵少贞, 等. LASIK术后远期角膜基质细胞及内皮细胞的共焦显微镜观察. *眼科新进展*, 2005, 25:348-350.
- [4] Collins MJ, Carr JD, Stulting RD, et al. Effects of laser in situ keratomileusis (LASIK) on the corneal endothelium 3 years postoperatively. *Am J Ophthalmol*, 2001, 131:1-6.
- [5] Kim T, Sorenson AL, Krishnasamy S, et al. Acute corneal endothelial changes after laser in situ keratomileusis. *Cornea*, 2001, 20:597-602.
- [6] Carones F, Brancato R, Venturi E, et al. The human corneal endothelium after myopic excimer laser photorefractive keratectomy immediate to one-month follow up. *Eur J Ophthalmol*, 1995, 5:204-213.
- [7] Seiler T, Bende T, Winckler K, et al. Side effects in excimer corneal surgery. DNA damage as a result of 193 nm excimer laser radiation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1988, 226:273-276.
- [8] Seiler T, McDonnell PJ. Excimer laser photorefractive keratectomy. *Surv Ophthalmol*, 1995, 40:89-118.
- [9] Marshall J, Trokel S, Rothery S, et al. An ultrastructural study of corneal incisions induced by an excimer laser at 193 nm. *Ophthalmology*, 1985, 92:749-758.
- [10] Smith RT, Waring GO 4th, Durrie DS, et al. Corneal endothelial cell density after femtosecond thin-flap LASIK and PRK for myopia: a contralateral eye study. *J Refract Surg*, 2009, 25:1098-1102.
- [11] Rosa N, Cennamo G, Del Prete A, et al. Endothelial cells evaluation two years after photorefractive keratectomy. *Ophthalmologica*, 1997, 211:32-39.
- [12] 宁琳, 高明宏. 长期配戴角膜接触镜对角膜形态的影响. *中华眼视光学与视觉科学杂志*, 2010, 12:290-294.
- [13] 韩治华, 胡楠. 配戴RGPCl和SCL后角膜组织病理学变化的比较. *中华眼视光学与视觉科学杂志*, 2010, 12:363-366.
- [14] Pérez-Santonja JJ, Sahla HF, Alió JL. Evaluation of endothelial cell changes 1 year after excimer laser in situ keratomileusis. *Arch Ophthalmol*, 1997, 115:841-846.
- [15] Patel SV, Bourne WM. Corneal endothelial cell loss 9 years after excimer laser keratorefractive surgery. *Arch Ophthalmol*, 2009, 127:1423-1427.
- [16] Bricola G, Scotto R, Mete M, et al. A 14-year follow-up of photorefractive keratectomy. *J Refract Surg*, 2009, 25:545-552.
- [17] 赵绍贞, 孙慧敏. 准分子激光屈光性角膜切削术对角膜内皮细胞的影响. *眼科研究*, 2000, 18:146-148.
- [18] Koch JW, Lang GK, Naumann GO. Endothelial reaction to perforating and non-perforating excimer laser excisions in rabbits. *Refract Corneal Surg*, 1991, 7:214-222.
- [19] Kim KS, Jeon SJ, Edelhauser HF. Corneal endothelial morphology and barrier function following excimer laser photorefractive keratectomy// Lass JH. *Advances in corneal research; selected transactions of the world congress on the cornea IV*. New York: Plenum, 1997:329-342.
- [20] Urban B, Bakunowicz-Lazarczyk A, Kretowska M. Corneal endothelium in children and adolescents with myopia. *Klin Oczna*, 2002, 104:381-383.
- [21] Mohammad-Salih PA. Corneal endothelial cell density and morphology in normal Malay eyes. *Med J Malaysia*, 2011, 66:300-303.

(收稿日期:2012-07-03)

(本文编辑:季魏红,毛文明)