

准分子激光上皮下角膜磨镶术中应用丝裂霉素 C 对角膜内皮及后表面的影响

陈昕纬 陈昕阳 戚晓圆 周浩 褚仁远 周行涛 戴锦晖

【摘要】 目的 探讨准分子激光上皮下角膜磨镶术(LASEK)术中应用 0.02%丝裂霉素 C(MMC)对角膜内皮及后表面的影响。方法 前瞻性连续性双盲病例研究。在复旦大学附属眼耳鼻喉科医院行 LASEK 手术的连续病例 33 例(66 眼),随机选择一眼,在准分子激光切削后在基质床面留置 0.02% MMC 棉片 20 s,另一眼不应用 MMC;对比患者术后 3、6 个月中央角膜内皮细胞计数、变异系数以及角膜后表面前移量。采用配对 *t* 检验进行统计学分析。结果 术后 3、6 个月 MMC 应用眼的内皮细胞密度分别为(3353.3±290.3)个/mm²、(3407.6±298.4)个/mm²;变异系数分别为(13.36±6.29)%、(13.48±4.34)%;对照眼相应时间段的内皮细胞密度分别为(3258.7±284.6)个/mm²、(3339.2±213.4)个/mm²;变异系数分别为(14.52±7.85)%、(14.06±6.50)%,各参数差异均无统计学意义。术后 3、6 个月 MMC 应用眼的角膜后表面前移量分别为(-0.67±2.26)μm、(-0.52±2.67)μm;角膜后表面曲率改变分别为(0.01±0.20)D、(0.01±0.21)D;对照眼相应时间段的角膜后表面前移量分别为(-0.85±2.31)μm、(-0.15±3.00)μm;角膜后表面曲率改变分别为(-0.01±0.22)D、(0.05±0.17)D,差异均无统计学意义。结论 LASEK 术中使用 0.02% MMC 对角膜内皮细胞密度、变异系数、角膜后表面高度等无明显影响,安全性较高。

【关键词】 丝裂霉素 C; 角膜磨镶术,激光上皮下; 角膜内皮; 角膜后表面

The effect of mitomycin C on the corneal endothelium and corneal posterior surface after laser subepithelial keratomileusis

CHEN Xin-wei*, CHEN Xin-yang, QI Xiao-yuan, ZHOU Hao, CHU Ren-yuan, ZHOU Xing-tao, DAI Jin-hui. * Department of Ophthalmology, Eye and ENT Hospital, Fudan University, Shanghai 200031, China

Corresponding author: ZHOU Hao, Email: zheent@139.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical effect of mitomycin C (MMC) on the corneal endothelium and corneal posterior surface after laser subepithelial keratomileusis (LASEK). **Methods** In a continuity prospective double-blind study, 0.02% MMC was used topically for 20 seconds in 33 eyes of 33 patients who had undergone LASEK after excimer laser ablation in the Fudan EENT Hospital. The other eye of these patients without MMC treatment was used as the control. Three and 6 months after surgery, the changes in the curve and elevation of the corneal posterior surface, and the density and variation coefficient of corneal endothelial cells were observed to evaluate the MMC toxicity. Data were analyzed using a paired *t* test. **Results** In the MMC-treated eyes, 3 and 6 months after the operation, the average corneal endothelium cell density was 3353.3±290.3 cells/mm² and 3407.6±298.4 cells/mm²; the variation coefficient was 13.36%±6.29% and 13.48±4.34%. In the control eyes 3 and 6 months after the operation, the average corneal endothelium cell density was 3258.7±284.6 cells/mm² and 3339.2±213.4 cells/mm²; the variation coefficient was 14.52%±7.85% and 14.06%±6.50%. The changes in the elevation and curve of the corneal posterior surface in the MMC treated eyes were -0.67±2.26 μm and -0.52±2.67 μm and 0.01±0.20 D and 0.01±0.21 D, 3 and 6 months after the operation. The changes in the control eyes were -0.85±2.31 μm and -0.15±3.00 μm and -0.01±0.22 D and 0.05±0.17 D at the respective time points after the operation. There were no significant differences in the above parameters either between preoperative or postoperative data or between these two groups. **Conclusion** The study showed that the application of 0.02% mitomycin C in LASEK is safe.

【Key words】 Mitomycin C; Keratomileusis, laser subepithelial; Corneal endothelium; Corneal posterior surface

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2013.07.011

作者单位: 200031 上海, 复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科(陈昕纬、陈昕阳、周浩、褚仁远、周行涛、戴锦晖); 214200 宜兴市人民医院眼科(戚晓圆)

通信作者: 周浩, Email: zheent@139.com

准分子激光上皮下角膜磨镶术 (laser subepithelial keratomileusis, LASEK) 是目前广泛应用的屈光手术。比起传统的准分子激光原位角膜磨镶术 (laser in situ keratomileusis, LASIK), 它能避免角膜瓣的各种并发症, 对角膜生物力学的影响更小^[1], 故安全性更高。然而, 表层切削术后因创伤反应, 易造成角膜上皮雾状混浊 (haze) 和回退^[2]。丝裂霉素 C (mitomycin C, MMC) 被证明对术后 haze 和回退有抑制的作用^[3], 但其安全性存在争议。本实验将 0.02% 的 MMC 应用到手术中, 比较术后 3、6 个月的角膜内皮细胞变化和角膜后表面变化, 评价其安全性。

1 对象与方法

1.1 对象

2011 年 5~12 月在我院接受 LASEK 手术的患者 33 例 (66 眼), 其中男 17 例, 女 16 例, 年龄 18~44 岁, 平均 (25.3±6.5) 岁。左右眼对照, 采用抛硬币法随机选择一眼联合应用 0.02% MMC, 另一眼行常规 LASEK 手术。MMC 眼和对照眼等效球镜度分别为 (-5.17±2.10)D 和 (-4.84±1.97)D, 角膜厚度分别为 (544.52±25.96)μm 和 (546.76±27.32)μm, 预切削深度分别为 (102.45±29.42)μm 和 (100.64±30.94)μm, 各参数差异均无统计学意义。本研究通过医院伦理委员会论证。所有入选患者符合常规准分子激光适应证, 无其他眼部疾病史, 并签署知情同意书。

1.2 方法

手术均由同一术者完成。常规冲洗、消毒、表面麻醉后, 使用 Mel-80 准分子激光系统 (德国 Zeiss 公司) 行 LASEK 手术。显微镜下用 20% 乙醇

浸泡中央区直径为 8.5 mm 的角膜上皮 15 s 后, 角膜上皮铲掀开角膜上皮瓣, 用准分子激光仪切削角膜, 切削完毕后 MMC 眼立即用浸有 0.02% MMC 的明胶海绵棒环形刷角膜基质床面, 置留 20 s, 然后用平衡盐溶液冲洗术区, 复位角膜上皮瓣, 配戴软性角膜接触镜。对照眼常规冲洗复瓣。术后常规应用激素类滴眼液, 待角膜上皮愈合后 (5~7 d) 取下角膜接触镜。期间根据眼压和 haze 反应情况调整激素滴眼液用量和时间, 双眼用药频度、时间相同。

1.3 主要指标

采用 Pentacam HR 眼前节分析系统 (德国 Oculus 公司), 分别在术前及术后 3、6 个月对术眼进行眼前节三维图像采集, 得到角膜地形图。术后最佳拟合球面调整成与术前一致, 角膜地形图的后表面中央点高度改变量即为角膜后表面前移量, 后表面中央点曲率差异值即为角膜曲率改变量; 分别于术后 3、6 个月以 SP-2000P (日本 Topcon 公司) 测量角膜中央处内皮细胞密度及变异系数。

1.4 统计学方法

前瞻性连续性双盲病例研究。应用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析, 数据以均数±标准差表示, 两组间各参数比较及各参数组内随访点间比较采用配对 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

术后 3 个月和 6 个月相比, 2 组角膜内皮细胞计数、变异系数、角膜后表面前移量、角膜后表面曲率改变等差异均无统计学意义。在术后同一时间段相比, A 组和 B 组的上述 4 项参数差异也都无统计学意义。见表 1、表 2。

表 1 准分子激光上皮下角膜磨镶术后 3、6 个月丝裂霉素 C (MMC) 眼和对照眼角膜内皮情况 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 眼数 | 角膜内皮细胞密度 (个/mm ²) | | | | 内皮变异系数 (%) | | | |
|------------|----|-------------------------------|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 术后 3 个月 | 术后 6 个月 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 | 术后 3 个月 | 术后 6 个月 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
| MMC 眼 | 33 | 3353.3±290.3 | 3407.6±298.4 | -0.793 | >0.05 | 13.36±6.29 | 13.48±4.34 | -0.088 | >0.05 |
| 对照眼 | 33 | 3258.7±284.6 | 3339.2±213.4 | -1.427 | >0.05 | 14.52±7.85 | 14.06±6.50 | 0.257 | >0.05 |
| <i>t</i> 值 | | 1.421 | 1.223 | | | -0.708 | -0.451 | | |
| <i>P</i> 值 | | >0.05 | >0.05 | | | >0.05 | >0.05 | | |

表 2 准分子激光上皮下角膜磨镶术后 3、6 个月丝裂霉素 C (MMC) 眼和对照眼角膜后表面情况 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 眼数 | 角膜后表面前移量 (μm) | | | | 角膜后表面前曲率改变 (D) | | | |
|------------|----|---------------|------------|------------|------------|----------------|-----------|------------|------------|
| | | 术后 3 个月 | 术后 6 个月 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 | 术后 3 个月 | 术后 6 个月 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
| MMC 眼 | 33 | -0.67±2.26 | -0.52±2.67 | -0.312 | >0.05 | 0.01±0.20 | 0.01±0.21 | 0.197 | 0.845 |
| 对照眼 | 33 | -0.85±2.31 | -0.15±3.00 | -1.342 | >0.05 | -0.01±0.22 | 0.05±0.17 | 1.807 | >0.05 |
| <i>t</i> 值 | | 0.369 | -0.653 | | | -0.221 | 0.699 | | |
| <i>P</i> 值 | | >0.05 | >0.05 | | | >0.05 | >0.05 | | |

3 讨论

比起传统的 LASIK, LASEK 手术除了能避免基质瓣的各种并发症, 对角膜生物力学的损害也更小, 对薄角膜、高度数的患者是安全性更高的选择。然而, 表层切削术后上皮和角膜基质间的创伤反应, 会使得活性角膜细胞增多和新合成的胶原纤维排列不规则, 造成 haze 和屈光回退^[1], 对视力造成直接的危害, 此为该技术最大的缺陷。近年来, MMC 被证明对术后 haze 和回退有抑制的作用^[2], 但同时它的作用机理会造成 2 条 DNA 互补链间产生共价键, 发生链间交联, 继而阻止 DNA 复制和转录^[3], 继而产生细胞毒性; Torres 等^[4]报道无论是否行 PRK 手术的母鸡眼, 角膜前表面局部应用 0.02% MMC 2 min 均可在房水中检测到其存在, Talamo 等^[5]的兔眼实验也表明 MMC 影响了角膜内弹力层和内皮细胞。对于其应用的安全性可谓一直存在争议。

目前临床研究对于 LASEK 手术联合应用 MMC 的毒性探讨主要集中于两个部位: 角膜基质细胞及内皮细胞。曾有研究证实, 在表层准分子激光切削手术中应用 MMC 会造成角膜细胞凋亡, 浅基质细胞密度减少^[7-8], 而且这种效应可以持续半年之久^[9]。也有研究指出, LASEK 术中应用 MMC 后, 术后早期角膜基质细胞经历重分布过程, 深基质细胞减少, 前、中部基质细胞则补偿性地增加^[10]。我们认为, 假如角膜基质细胞受到明显的破坏, 造成基质细胞数量显著减少, 那么极可能会导致角膜后表面的前凸以及角膜生物力学的不稳定。既往有关 LASEK 术中应用 MMC 对角膜生物力学影响的研究非常少, 有记载的仅有 Zare 等^[11]将 LASEK 近视患者依据准分子激光切削深度分组, 切削深度越深者 MMC 浸泡时间越长, 术后 3 个月以眼反应分析仪 (ORA) 测量各组角膜生物力学强度 (包括角膜黏滞性和角膜整体硬度) 变化, 发现 MMC 在角膜基质滞留时间长短不会影响角膜生物力学强度, 说明术中联合应用 MMC 安全性高, 但作者也提出角膜的黏弹性是角膜厚度、胶原纤维和水合作用的综合体现, 所以角膜前基质细胞密度的减少并不一定会在角膜生物力学的测量上完整反映出来。

角膜内皮临床研究方面, 仅 Morales 等^[12]和 Nassiri 等^[13]发现应用了 MMC 的术眼角膜内皮细胞密度会减少, 但多数的研究表明 MMC 并不会对角膜内皮细胞造成影响^[14-19]; 这些研究多数使用 0.02% MMC, 时间 10~110 s 不等, 随访多在术后 3 个月至 1 年左右。分析这 2 例阳性报告, 发现 Morales 等的

样本量明显少于其他研究 (9 例 9 眼), 不能排除因样本量过少导致的研究误差; Nassiri 等的 MMC 浓度和使用时间、随访时间、样本量与其他研究差异不大, 得出独排众议研究结果的原因无法明确。本研究发现, 术后 3 和 6 个月的角膜内皮细胞密度和变异系数, MMC 组和对照组无统计学意义差异, 也不会随时间进展出现角膜内皮细胞密度减少或变异系数增加。

目前没有关于 MMC 对角膜后表面的前凸影响的相关文献记录。本研究利用 Pentacam-HR 眼前节分析仪比较了用或不用 MMC 两组术后 3 和 6 个月的角膜后表面中央点前移量和后表面曲率改变量, 发现无论应用 MMC 与否, 2 个时间段角膜后表面都不出现前移或曲率改变, 说明术中应用 MMC 不会造成角膜后表面的前凸, 也不会对角膜基质造成显著的损伤。

综上所述, LASEK 术中应用 0.02% MMC 20 s 在术后半年内并不会对角膜内皮和基质细胞造成损伤, 但有学者^[20]认为, 人角膜内皮的“安定特性”可能会使短期间内细胞损伤的表现小于实际情况, 也就是说这种“安静”的状态可能只是假象, DNA 的损伤需要一段时间的累积才会表现出来, 所以长时间的影响是不容忽视的。对于 MMC 的安全性仍需要更大样本和更长时间的研究。

参考文献:

- [1] Qazi MA, Sanderson JP, Mahmoud AM, et al. Postoperative changes in intraocular pressure and corneal biomechanical metrics Laser in situ keratomileusis versus laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg*, 2009, 35: 1774-1788.
- [2] Rajan MS, Watters W, Patmore A, et al. In vitro human corneal model to investigate stromal epithelial interactions following refractive surgery. *J Cataract Refract Surg*, 2005, 31: 1789-1801.
- [3] Gambato C, Ghirlando A, Moretto E, et al. Mitomycin C modulation of corneal wound healing after photorefractive keratectomy in highly myopic eyes. *Ophthalmology*, 2005, 112: 208-218, 219.
- [4] Tomasz M. Mitomycin C: small, fast and deadly (but very selective). *Chem Biol*, 1995, 2: 575-579.
- [5] Torres RM, Merayo-Llodes J, Daya SM, et al. Presence of mitomycin-C in the anterior chamber after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg*, 2006, 32: 67-71.
- [6] Talamo JH, Gollamudi S, Green WR, et al. Modulation of corneal wound healing after excimer laser keratomileusis using topical mitomycin C and steroids. *Arch Ophthalmol*, 1991, 109: 1141-1146.
- [7] Kim TI, Tchah H, Lee SA, et al. Apoptosis in keratocytes caused by mitomycin C. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44: 1912-1917.
- [8] Kim TI, Pak J H, Lee SY, et al. Mitomycin C-induced

- reduction of keratocytes and fibroblasts after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45:2978-2984.
- [9] Netto MV, Mohan RR, Sinha S, et al. Effect of prophylactic and therapeutic mitomycin C on corneal apoptosis, cellular proliferation, haze, and long-term keratocyte density in rabbits. *J Refract Surg*, 2006, 22:562-574.
- [10] de Benito-Llopis L, Canadas P, Drake P, et al. Keratocyte density 3 months, 15 months, and 3 years after corneal surface ablation with mitomycin C. *Am J Ophthalmol*, 2012, 153:17-23.
- [11] Zare M, Feizi S, Azimzadeh A, et al. Effect of photorefractive keratectomy with mitomycin-C on corneal biomechanical features. *Curr Eye Res*, 2012, 37:457-462.
- [12] Morales AJ, Zadok D, Mora-Retana R, et al. Intraoperative mitomycin and corneal endothelium after photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmol*, 2006, 142:400-404.
- [13] Nassiri N, Farahangiz S, Rahnavardi M, et al. Corneal endothelial cell injury induced by mitomycin-C in photorefractive keratectomy: nonrandomized controlled trial. *J Cataract Refract Surg*, 2008, 34:902-908.
- [14] 曾锦, 郭海科, 张洪洋, 等. LASEK 术中应用丝裂霉素 C 对角膜内皮细胞的影响. *眼科研究*, 2007, 25:869-871.
- [15] Goldsberry DH, Epstein RJ, Majmudar PA, et al. Effect of mitomycin C on the corneal endothelium when used for corneal subepithelial haze prophylaxis following photorefractive keratectomy. *J Refract Surg*, 2007, 23:724-727.
- [16] Zhao LQ, Wei RL, Ma XY, et al. Effect of intraoperative mitomycin-C on healthy corneal endothelium after laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg*, 2008, 34:1715-1719.
- [17] 杨浩江, 窦晓燕, 司马晶. 丝裂霉素预防准分子激光屈光性角膜切削术后角膜混浊的临床研究. *国际眼科杂志*, 2008, 8:1483-1485.
- [18] 史建江, 任明玉. 0.2 g/L 丝裂霉素 C 对 LASEK 术后效果的影响. *国际眼科杂志*, 2010, 10:1316-1318.
- [19] 郝更生, 税丹, 李玉茹, 等. LASEK 术中应用 0.01% 丝裂霉素 C 对角膜内皮细胞的影响. *临床眼科杂志*, 2012, 20:33-36.
- [20] Roh DS, Funderburgh JL. Impact on the corneal endothelium of mitomycin C during photorefractive keratectomy. *J Refract Surg*, 2009, 25:894-897.

(收稿日期:2012-10-24)

(本文编辑:季魏红)

· 消息 ·

第 51 届国际临床视觉电生理学会 (ISCEV) 年会暨第 13 届全国视觉生理大会将在重庆召开

第 51 届国际临床视觉电生理学会 (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, ISCEV) 年会暨第 13 届全国视觉生理大会将于 2013 年 10 月在美丽的山城重庆召开。首先, 第 51 届国际临床视觉电生理学会年会于 2013 年 10 月 12 日至 10 月 17 日在重庆喜来登大酒店召开, 这是国际临床视觉电生理学会年会时隔 23 年后再次在中国举办, 预计有来自世界数十个国家的代表参会, 国内外顶尖眼科专家和视觉电生理学专家将进行精彩的学术演讲。同时, 第 13 届全国视觉生理大会将于 2013 年 10 月 11 日至 10 月 13 日在重庆滨江皇冠假日酒店召开, 会议由中华医学会眼科学分会主办, 第三军医大学西南眼科医院承办, 是国内眼科学临床视觉电生理学界的盛会, 参会者可获国家级 I 类教育学分 8 分。

这次大会的交流形式有继续教育、专题演讲和自由论文。内容包括各种眼病的视功能检测、视觉科学研究进展、视网膜变性疾病与干细胞治疗策略、基因诊断和治疗在眼科学的应用、视觉电生理基础研究及临床应用、视觉电生理继续教育课程等。大会将邀请多位国内外著名的眼科学专家和视觉科学专家前来作专题讲座, 将展示眼科学、视觉科学和视觉电生理学的最新进展、最新技术及最新成果。同时还将开办精彩的继教课程, 由国内外知名的视觉电生理专家授课和指导操作, 将为广大从事眼科学及视觉电生理学工作的专家和青年学者搭建一个不断创新的交流平台和 Learning 进步的良机。

征文要求: 投 ISCEV 年会请通过网站 <http://www.iscev.org/symposia/2013/index.html> 在线投稿, 截稿日期 2013 年 6 月 30 日。投全国视觉生理大会者请将 800 字以内的中文摘要寄到 ccrvo2011@163.com, 注明作者姓名、工作单位、通信地址、邮编、联系电话及 Email, 截稿日期 2013 年 7 月 31 日。

大会秘书处: ccrvo2011@163.com, 电话: 023-68765389, 网址: <http://www.iscev2013.org>

中华医学会眼科学分会视觉生理学组