

# 飞秒激光制瓣 LASIK 术后角膜内皮细胞的观察

芦晓磊, 杨方列, 包煜芝

作者单位: (409000) 中国重庆市黔江民族医院眼科  
作者简介: 芦晓磊, 毕业于湖北医药学院, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 角膜病、玻璃体视网膜疾病、白内障。  
通讯作者: 杨方列, 毕业于武汉大学医学院, 副主任医师, 研究方向: 屈光、眼底病。1846627331@qq.com  
收稿日期: 2014-11-03 修回日期: 2015-01-20

## Observation of corneal endothelial cells after femtosecond laser *in situ* keratomileusis

Xiao-Lei Lu, Fang-Lie Yang, Yu-Zhi Bao

Department of Ophthalmology, Chongqing Qianjiang National Hospital, Chongqing 409000, China

**Correspondence to:** Fang - Lie Yang. Department of Ophthalmology, Chongqing Qianjiang National Hospital, Chongqing 409000, China. 1846627331@qq.com

Received: 2014-11-03 Accepted: 2015-01-20

### Abstract

• **AIM:** To observe the morphology of corneal endothelial cells after femtosecond laser *in situ* keratomileusis (Femto-LASIK).

• **METHODS:** From May to September in 2013, 88 eyes of 45 patients with myopia who accepted Femto-LASIK were enrolled in this study. The morphology of central corneal endothelial cells was measured by a non-contact corneal endothelial cell analyzer before, 1mo and 1a after surgery. The number, density, average size, size standard deviation, size coefficient of variation and hexagonality of the corneal endothelial cells were observed. All the measurements were analyzed by statistical analysis.

• **RESULTS:** All patients underwent operation smoothly, and no complication was observed during and after surgery; One month after surgery, the endothelial cell density (ECD) was  $2815.34 \pm 297.07/\text{mm}^2$ , which had a 2.64% decrease compared with preparative ECD ( $t=4.60, P=0.00$ ), there was no statistical significance between ECD measurements of 1mo and 1a after surgery ( $P>0.05$ ); One month after surgery, the size standard deviation ( $S_{SD}$ ) was  $118.47 \pm 31.58\mu\text{m}^2$ , which increased significantly compared with the preoperative  $S_{SD}$  ( $t=-3.87, P=0.03$ ), there was no statistical significance between  $S_{SD}$  measurements of 1mo and 1a after surgery ( $P>0.05$ ); After surgery, the number, hexagonality, average size and size coefficient of variation of the corneal endothelial cells didn't change statistically ( $P>0.05$ ).

• **CONCLUSION:** In the early period after Femto-LASIK, the ECD decreased slightly, however this kind of surgery

did not have significant harm to the function of corneal endothelial cells, and the surgery didn't cause the progressive loss of corneal endothelial cells.

• **KEYWORDS:** femtosecond laser; corneal endothelial cell; morphology

**Citation:** Lu XL, Yang FL, Bao YZ. Observation of corneal endothelial cells after femtosecond laser *in situ* keratomileusis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(2):208-210

### 摘要

**目的:** 观察飞秒激光制瓣 LASIK 术后角膜内皮细胞的形态。

**方法:** 随机选取 2013-05/09 接受飞秒激光制瓣 LASIK 手术的近视患者 45 例 88 眼, 术前、术后 1mo 和术后 1a 时, 使用非接触式角膜内皮细胞仪测量患者角膜中央区单位面积内的角膜内皮细胞形态, 测量指标包括角膜内皮细胞数目、角膜内皮细胞密度、六边形细胞百分比、角膜内皮细胞平均面积、角膜内皮细胞面积标准差和细胞面积变异系数等, 对测量结果进行统计学分析。

**结果:** 所有患者手术顺利, 随访期内未见并发症发生; 术后 1mo 时患者角膜内皮细胞密度为  $2815.34 \pm 297.07$  个/ $\text{mm}^2$ , 较术前减少 2.64% ( $t=4.60, P=0.00$ ), 术后 1mo 和术后 1a 的角膜内皮细胞密度差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 术后 1mo 时患者角膜内皮细胞面积标准差为  $118.47 \pm 31.58\mu\text{m}^2$ , 较术前显著增加 ( $t=-3.87, P=0.03$ ), 而术后 1mo 和术后 1a 角膜内皮细胞面积标准差测量值差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 角膜内皮细胞数目、六边形细胞百分比、角膜内皮细胞平均面积和细胞面积变异系数等指标在手术前后各时间点的测量值差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

**结论:** 飞秒激光制瓣 LASIK 术后早期角膜内皮细胞密度较术前轻度下降, 但角膜内皮细胞功能未受到显著影响, 随访期内未发生进行性角膜内皮细胞丢失。

**关键词:** 飞秒激光; 角膜内皮细胞; 形态学

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2015.2.06

**引用:** 芦晓磊, 杨方列, 包煜芝. 飞秒激光制瓣 LASIK 术后角膜内皮细胞的观察. 国际眼科杂志 2015;15(2):208-210

### 0 引言

自美国 FDA 2003 年批准飞秒激光应用于眼科临床以来, 这一崭新的技术得到飞速发展<sup>[1,2]</sup>。由于飞秒激光制作的角膜瓣厚度具有良好的灵活性、重复性和可预测性, 近年来飞秒激光制瓣 LASIK 在角膜屈光手术中的应用日益广泛, 与此同时, 该术式对角膜内皮细胞的影响也逐渐受到关注。本研究拟使用非接触式角膜内皮细胞仪测量飞秒激光制瓣 LASIK 手术前后患者的角膜内皮细胞形态, 从而探讨飞秒激光制瓣 LASIK 对角膜内皮细胞的影响。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 随机选取 2013-05/09 于我院接受飞秒激光制瓣 LASIK 手术的近视患者 45 例 88 眼,其中男 18 例 34 眼,女 27 例 54 眼;年龄 18 ~ 34 (平均  $25.43 \pm 3.11$ ) 岁;等效球镜度  $-7.25 \sim -2.25$  (平均  $-4.77 \pm 3.12$ ) D。本研究经伦理委员会批准及每位患者知情同意后进行。入选标准:年龄  $\geq 18$  岁;屈光度稳定 2a 以上;无隐形眼镜配戴史;能按时随访。所有患者术前均接受详细的术前检查,包括裸眼视力、矫正视力、眼压、裂隙灯显微镜、眼底、电脑验光、主观验光、散瞳验光及角膜地形图等。

## 1.2 方法

**1.2.1 检查方法** 术前、术后 1mo 和术后 1a 时,使用 SP 3000P 非接触式角膜内皮细胞仪 (Topcon, 日本) 观察患者角膜中央区内皮细胞形态,采用低闪光、自动拍摄模式获取图像,测量指标包括角膜中央区单位面积内的角膜内皮细胞数目、角膜内皮细胞密度 (endothelial cell density, ECD)、六边形细胞百分比 (hexagonality, HG)、角膜内皮细胞平均面积 ( $S_{avg}$ )、面积标准差 ( $S_{SD}$ ) 和面积变异系数 (coefficient of variation, CV),所有检查均由同一操作熟练的技师完成,每眼测量 3 次取平均值。

**1.2.2 手术方法** 采用瑞士 Ziemer LDV 飞秒激光 (Femtosecond Laser) 制作角膜瓣,频率 5MHz,单眼制瓣过程约 17 ~ 20s,术中负压吸引约 30mmHg (1kPa = 7.5mmHg)。设定角膜瓣切削厚度 110 $\mu$ m,蒂位于上方,制瓣后采用美国 VISX S4 IR 准分子激光机行标准化 LASIK 激光切削,所有手术均由同一名熟练的屈光手术医师完成。

统计学分析:采用 SPSS 19.0 统计软件包,对飞秒激光制瓣 LASIK 手术前后角膜内皮细胞等观察指标测量值进行配对  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 所有患者手术顺利,无术中并发症。术后随访期内未见角膜扩张、角膜感染、弥漫性板层角膜炎、层间上皮植入等并发症。

**2.2 手术前后角膜内皮细胞数目** 术前、术后 1mo 和术后 1a 时,患者角膜中央区单位面积内皮细胞数目分别为  $125.13 \pm 14.67$ ,  $121.15 \pm 12.42$  和  $122.82 \pm 15.15$  个,术后 1mo 时角膜内皮细胞数目较术前差异无统计学意义 ( $t = 2.19, P = 0.68$ ),术后 1a 和术后 1mo 时角膜内皮细胞数目差异无统计学意义 ( $t = 4.97, P = 0.89$ )。

**2.3 手术前后角膜内皮细胞密度** 术前、术后 1mo 和术后 1a 时,患者角膜内皮细胞密度分别为  $2891.67 \pm 285.16$ ,  $2815.34 \pm 297.07$  和  $2801.21 \pm 214.71$  个/ $\text{mm}^2$ ,术后 1mo 时 ECD 较术前减少约 2.64% ( $t = 4.60, P = 0.00$ ),术后 1a 和术后 1mo 时 ECD 差异无统计学意义 ( $t = 3.10, P = 1.26$ )。

**2.4 手术前后六边形细胞百分比** 术前、术后 1mo 和术后 1a 时,患者角膜内皮六边形细胞百分比分别为 (49.14  $\pm$  8.79)%, (51.90  $\pm$  9.24)% 和 (53.42  $\pm$  10.40)%。手术前后各随访时间点角膜内皮六边形细胞比例之间差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

## 2.5 手术前后角膜内皮细胞面积

**2.5.1 角膜内皮细胞平均面积** 术前、术后 1mo 和术后 1a 时,患者  $S_{avg}$  分别为  $392.44 \pm 38.24$ ,  $386.15 \pm 41.97$ ,

$387.74 \pm 48.43 \mu\text{m}^2$ ;  $S_{avg}$  测量值在手术前后各时间点之间差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**2.5.2 细胞面积标准差** 术前、术后 1mo 和术后 1a 时,患者角膜内皮细胞面积标准差分别为  $109.12 \pm 25.77$ ,  $118.47 \pm 31.58$  和  $119.25 \pm 28.79 \mu\text{m}^2$ 。术后 1mo 时  $S_{SD}$  较术前显著增加 ( $t = -3.87, P = 0.03$ ),术后 1a 和术后 1mo 时  $S_{SD}$  测量值差异无统计学意义 ( $t = 2.17, P = 1.02$ )。

**2.5.3 细胞面积变异系数** 术前、术后 1mo 和术后 1a 时,患者角膜内皮细胞变异系数分别为  $32.61 \pm 5.71$ ,  $34.11 \pm 4.54$  和  $33.97 \pm 5.14$ ,手术前后各时间点角膜内皮细胞面积的变异系数之间差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

近年来,角膜屈光手术迅猛发展,LASIK 作为一种安全、有效、可预测的手术方式得到众多手术医师和近视患者的青睐。传统的 LASIK 使用微型机械角膜刀制作角膜瓣,制瓣过程中可能会发生不全瓣、纽扣瓣、游离瓣等角膜瓣相关并发症<sup>[3]</sup>,因此如何减少角膜瓣相关的术中并发症一直是屈光手术的热点和难点。飞秒激光在眼科的应用为 LASIK 制瓣提供了一种新的选择<sup>[4]</sup>。飞秒激光是一种以脉冲形式运转的红外激光,波长 1 053nm,是人类在目前的实验条件下所能获得的最短脉冲,持续时间短,能够聚焦于直径 3 $\mu$ m 的空间区域进行精确切削,并在透明组织中不被吸收,几乎没有能量衰减<sup>[5]</sup>。这种特殊的物理特性使它能在透明角膜组织设定的任意深度中进行精确聚焦,当激光功率超过阈值后,在角膜组织中便产生等离子体,等离子体以冲击波的形式扩展,在角膜基质内形成水和二氧化碳为成分的空化微气泡,大量的微气泡相互融合,从而形成基质内切割面,临床上据此利用飞秒激光代替微型机械角膜刀来制作角膜瓣进而进行 LASIK 手术<sup>[6]</sup>。

角膜内皮细胞位于角膜最内层,是人体唯一可被窥视的活体内皮细胞,其特定的单层六角形细胞镶嵌结构和细胞内主动液泵功能可维持角膜的透明及角膜厚度的相对恒定。当其受外伤、疾病或手术等损伤后,缺失的细胞区域由周围细胞增大、扩展和移行来填补,而细胞移行可导致平均细胞密度降低和细胞形态改变<sup>[7]</sup>。正常情况下角膜内皮细胞平均表面积约为 400 $\mu\text{m}^2$ ,大小相等,分布规则,细胞边界的交叉角约为 120°。随年龄增长,细胞密度下降,细胞形态随之变化,大小不等、多形性细胞增多,平均面积增大,六角形细胞比例减小。 $S_{avg}$  随细胞密度的下降而增大。研究发现,如果细胞密度降低 25% ~ 45%,六角形细胞百分比小于 30% ~ 40%,或细胞面积增加 3 ~ 4 倍,均可导致角膜内皮细胞功能失代偿<sup>[8]</sup>。由于人角膜内皮细胞的不可再生性,使得角膜内皮细胞功能成为评价角膜屈光手术安全性的重要指标之一。飞秒激光制瓣 LASIK 术中,首先利用飞秒激光制作角膜瓣,然后对瓣下基质进行准分子激光切削从而达到矫正目的,这种由两种激光相互配合共同参与的屈光手术对角膜内皮细胞的形态和功能是否产生影响,是本文的主要研究目的。

在反映角膜内皮细胞形态和功能的各项指标中,ECD 体现了角膜的健康状况,HG 能反映角膜内皮细胞的变异程度<sup>[9]</sup>,已被公认为衡量内皮损害的灵敏指标,CV 代表角膜内皮细胞面积的变异,也是临床衡量角膜内皮细胞受损的量化指标。本研究使用 SP 3000P 非接触式角膜内皮细胞仪观察患者手术前后角膜内皮细胞形态,结果显示,术

后 1mo 时患者角膜中央单位面积内皮细胞数目为  $121.15 \pm 12.42$  个,虽较术前 ( $125.13 \pm 14.67$  个) 相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 但均数低于术前,提示飞秒激光制瓣 LASIK 对角膜内皮细胞的影响虽微,但仍可能存在一定影响,如若扩大研究的样本量,将会获得更加可靠的研究结果。此外,术后 1mo 时 ECD 较术前减少 2.64% ( $t = 4.60, P = 0.00$ ),  $S_{SD}$  较术前显著增加 ( $t = -3.87, P = 0.03$ ), 但术后 1mo 和术后 1a 时 ECD 和  $S_{SD}$  的测量值差异均无统计学意义,这表明飞秒激光制瓣 LASIK 术后早期角膜内皮细胞密度较术前会有轻微下降,但并未对角膜内皮细胞功能产生显著影响,且术后 1a 内并未发生进行性的角膜内皮细胞丢失。然而,Chaudhry 等<sup>[10]</sup> 于 2012 年报道 1 例 LASIK 术后因严重瓣下反应、角膜瓣水肿导致角膜 ECD 明显下降,提示严重的瓣下层间反应可能导致 ECD 降低。因此,如何规范手术操作流程、减少术中对角膜瓣和瓣下基质的损伤、加强围手术期护理是屈光手术医师需要关注的问题。本研究仅对手术前后角膜内皮细胞形态相关指标进行统计学分析,未对飞秒激光术中前房气泡和扫描深度等因素与角膜内皮细胞改变之间的关系进行定性和定量分析,今后我们将建立相关动物模型进行进一步研究。

#### 参考文献

- 1 Ang M, Mehta JS, Rosman M, et al. Visual outcomes comparison of 2 femtosecond laser platforms for laser *in situ* keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2013;39(11):1647-1652
- 2 Jie LM, Wang Q, Zheng L. Clinical analysis of real-time iris

recognition guided LASIK with femtosecond laser flap creation for myopic astigmatism. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2013;49(8):711-715

- 3 Karabela Y, Muftuoglu O, Gulkilik IG, et al. Intraoperative and early postoperative flap-related complications of laser *in situ* keratomileusis using two types of Moria microkeratomers. *Int Ophthalmol* 2014;34(5):1107-1114
- 4 Buzzonetti L, Petrocelli G, Valente P, et al. Comparison of corneal aberration changes after laser *in situ* keratomileusis performed with mechanical microkeratome and IntraLase femtosecond laser: 1-year follow-up. *Cornea* 2008;27:174-179
- 5 Xie LX, Gao H. Understanding the advantages and disadvantages of femtosecond laser comprehensive applications in ophthalmology. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2013;49(4):289-291
- 6 Le Harzic R, König K, Wüllner C, et al. Ultraviolet femtosecond laser creation of corneal flap. *J Refract Surg* 2009;25(4):383-389
- 7 Bi YL, Wu MF, Lu LX, et al. Functions of corneal endothelial cells do not change after uptake of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Mol Med Rep* 2013;7(6):1767-1772
- 8 Bikbova G, Oshitari T, Tawada A, et al. Corneal changes in diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev* 2012;8(4):294-302
- 9 Acquart S, Gain P, Zhao M, et al. Endothelial morphometry by image analysis of corneas organ cultured at 31 degrees C. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(3):1356-1364
- 10 Chaudhry P, Prakash G, Agarwal A, et al. Endothelial cell loss associated with diffuse lamellar keratitis because of laser-assisted *in situ* keratomileusis. *Eye Contact Lens* 2012;38(4):263-265