

穿透性角膜移植术后共焦显微镜下角膜移植片内皮细胞异常研究

侯飞 黎明 方敏

【摘要】 目的 分析穿透性角膜移植术后共焦显微镜下角膜移植片的内皮细胞异常显现情况。**方法** 收集行穿透性角膜移植术患者共 40 例 (40 眼) 作为研究对象。根据是否有内皮细胞异常显现分为观察组 (有异常) 20 眼、对照组 (无异常) 20 眼, 比较 2 组患眼在角膜形态学指标以及术后并发症发生率的差异。**结果** 观察组的内皮细胞密度和六边形细胞比例均低于对照组 (P 均 < 0.01)。观察组的内皮细胞面积、六边形细胞变异率和内皮细胞丢失率均高于对照组 (P 均 < 0.01)。2 组的角膜中央厚度比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。观察组患术后继发性青光眼发生率为 35%, 一过性高眼压发生率为 55%, 均高于对照组 (P 均 < 0.05)。**结论** 共焦显微镜检查可清晰显示穿透性角膜移植术后患者角膜移植片的内皮细胞异常状态, 如检查结果提示患者角膜内皮形态结构有异常改变, 其发生并发症的可能性高, 需要引起临床重视。

【关键词】 穿透性角膜移植术; 共焦显微镜; 角膜移植片; 内皮细胞

Observation of abnormal endothelial cells of corneal graft under confocal microscope after penetrating keratoplasty Hou Fei, Li Ming, Fang Min. Shenzhen Key Laboratory of Ophthalmology, Shenzhen Eye Hospital Affiliated to Jinan University, Shenzhen 518040, China

【Abstract】 Objective To investigate abnormality of endothelial cell in the corneal graft under confocal microscope following penetrating keratoplasty. **Methods** Forty patients (40 eyes) undergoing penetrating keratoplasty were recruited in this study. All participants were assigned into the observation and control groups. The corneal morphological parameters and the incidence of postoperative complications were statistically compared between two groups. **Results** In the observation group, the endothelial cell density and the percentage of hexagonal cells were significantly lower compared with those in control group (both $P < 0.01$). In the observation group, the endothelial cell area, CV of hexagonality and endothelial cell loss rate were considerably higher than those in the control group (all $P < 0.01$). No statistical significance was identified in terms of central corneal thickness between two groups ($P > 0.05$). In the observation group, postoperative incidence of secondary glaucoma was 35%, and 55% for transient ocular hypertension, significantly higher compared with those in the control group (both $P < 0.05$). **Conclusions** Confocal microscope explicitly displays the endothelial cell abnormality in the corneal graft after penetrating keratoplasty. Observation of morphological changes in the corneal endothelial cells is suggestive of a high incidence of postoperative complications, which captivates widespread attention from the clinicians.

【Key words】 Penetrating keratoplasty; Confocal microscope; Corneal graft; Endothelial cell

穿透性角膜移植术是目前临床应用于致盲性角膜病患者复明的重要手术方案之一, 术后移植片是否能够成功存活的关键在于角膜内皮细胞功能的恢复情况^[1]。共焦显微镜对穿透性角膜移植术后角膜移植片内皮细胞密度以及形态变化的观察有重要的临床价值^[2]。本研究以行穿透性角膜移植术患

者 40 例 (40 眼) 作为研究对象, 以是否有内皮细胞异常显现为标准分组, 分别设置观察组、对照组。通过共焦显微镜检查的方式对穿透性角膜移植术后角膜移植片内皮细胞异常显现情况进行研究分析, 现报告如下。

对象与方法

一、研究对象

收集 2014 年 3 月至 2015 年 8 月在我院眼科行穿透性角膜移植术患者共 40 例(40 眼)。其中 20 例术后共焦显微镜下显示角膜移植片内皮细胞异常, 纳入观察组, 另 20 例直至末次随访均未见内皮细胞异常显像, 纳入对照组。观察组中, 男 13 例、女 7 例, 年龄 15~80 岁、中位年龄 39 岁; 对照组中, 男 15 例、女 5 例, 年龄 18~80 岁、中位年龄 40 岁。2 组患者的一般资料比较差异无统计学意义 (P 均 >0.05)。本研究经医院医学伦理委员会批准, 入组患者均签署知情同意书。

二、方法

2 组患者的穿透性角膜移植术均由同一名手术医师完成, 手术均取得成功。术后 30 d 内均局部用地塞米松加妥布霉素眼液治疗, 视情况加用环孢素干预。患者术后第 1 个月内复诊 2 次, 术后半年内每 2 个月随访 1 次(无排斥反应的情况下)。随访期间对患者实施共焦显微镜下检查。检查方法为: 待检眼用浓度 0.4% 盐酸奥布卡因滴眼液滴眼, 开睑器开睑, 指导患者将下颌部放置于检查托架上, 前额紧贴检查托头带部分。检查仪器为 Nidek Confoscan 3.0 型共焦显微镜, 于圆锥状物镜上均匀涂抹眼用胶, 要求患者注视前方固定光点, 镜头缓慢向前移动, 使物镜通过眼用胶与患者眼部

角膜组织接触, 镜头与角膜移植片中央部距离控制在 2.0 mm 范围内, 通过镜头调节器调整其向各个方向移动, 显示器同步显示扫描图像, 选定清晰图像并进行记录。扫描记录图像分辨率为 1.0 μm , 扫描视野为 340.0 μm \times 250.0 μm 。

三、观察指标

对比 2 组的角膜形态学指标(六边形细胞比例、变异率)以及术后并发症发生率的差异。对照组角膜形态学指标测定结果以患者末次随访为标准, 观察组角膜形态学指标以首次观察到内皮细胞异常显像时测定结果为标准。

四、统计学处理

使用 SPSS 15.0 处理数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料以百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

一、角膜形态学对比

观察组的内皮细胞密度、六边形细胞比例均低于对照组 (P 均 <0.05)。观察组的内皮细胞面积、六边形细胞变异率、内皮细胞丢失率均高于对照组 (P 均 <0.05)。2 组间角膜中央厚度比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1、图 1。

表 1 观察组、对照组的术后角膜形态学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	眼数	内皮细胞密度 (/ μm^2)	六边形细胞比例 (%)	内皮细胞面积 (μm^2)	六边形细胞变异率 (%)	内皮细胞丢失率 (%)	角膜中央厚度 (μm)
观察组	20	876 \pm 52	31.3 \pm 2.5	1 150 \pm 69	46.9 \pm 2.1	63.5 \pm 4.5	581 \pm 36
对照组	20	1 270 \pm 86	43.1 \pm 2.6	811 \pm 46	39.2 \pm 2.6	48.5 \pm 3.6	565 \pm 34
t 值		17.596	14.630	18.368	10.303	11.641	1.446
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.156

二、移植术后并发症对比

观察组的术后继发性青光眼发生率为 35%, 一过性高血压发生率为 55%, 均高于对照组 (P 均 <0.05), 见表 2。

表 2 2 组术后并发症的发生情况比较 例 (%)

组别	眼数	继发性青光眼	一过性高血压
对照组	20	1 (5)	3 (15)
观察组	20	7 (35)	11 (55)
χ^2 值		-	7.033
P 值		0.044 ^a	0.008

注:^aFisher 确切概率法

讨论

目前, 角膜盲是我国主要的致盲眼病之一。对于绝大多数患者, 穿透性角膜移植是唯一有效的复明手段^[3]。然而, 角膜移植术后的免疫排斥反应可导致手术失败^[4]。由于正常角膜没有血管, 加之存在前房相关免疫偏离, 使角膜处于相对免疫赦免状态。因此, 在圆锥角膜、大泡性角膜病变、角膜营养不良等疾病进行的穿透性角膜移植, 术后免疫排斥反应发生率低, 约为 10%^[5]。在由于感染、外伤、各种免疫性疾病造成角膜有大量新生血管的

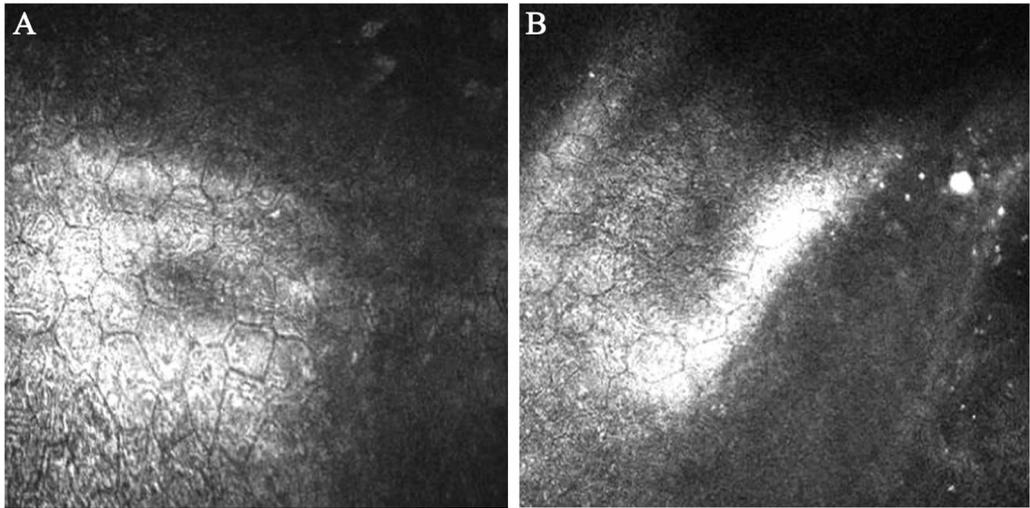


图 1 穿透性角膜移植术后角膜移植片的共焦显微镜下所见 ($\times 800$)

A: 内皮细胞异常者; B: 内皮细胞正常者

情况下,角膜和前房的屏障功能被破坏,术后排斥反应发生率高达 65%,称为高危角膜移植^[6]。相关调查数据显示:在我国,约有超过 2 000 000 例角膜盲患者需要进行角膜移植,其中约有 35.2% 的患者属于高危角膜移植范畴,而我国每年进行的穿透性角膜移植手术不超过 5 000 例^[7]。因此,在我国供体材料十分匮乏的情况下,大量等待手术复明的高危角膜移植患者和术后高排斥反应发生率之间的矛盾尤为突出。

既往研究主要依靠病理学检查明确发生排斥的角膜移植片组织细胞浸润的种类和数量,但不能在早期活体动态显示移植片中的细胞浸润。共焦显微镜为解决这一问题提供了新的手段,其用于人活体角膜的检查,无需组织切片、固定及染色就能观察角膜组织结构和细胞形态,具有无创、实时、活体等优点^[8]。本研究显示,观察组患者内皮细胞密度、六边形细胞比例均低于对照组,内皮细胞面积、六边形细胞变异率、内皮细胞丢失率均高于对照组,2 组角膜中央厚度比较差异无统计学意义。结果提示,共焦显微镜能够清晰显示患者角膜移植片内皮细胞的反光情况,以上形态学指标的改变反映了内皮细胞的恢复状况,异常者提示内皮细胞损伤和功能障碍,此后可能发生内皮细胞功能衰竭或失代偿。但该现象的发生是否预示着角膜内皮细胞整体代偿功能接近临界状态,还需要进一步的研究。本研究同时显示,观察组患者术后继发性青光眼发生率为 35%,一过性高眼压发生率为 55%,均高于对照组,提示对于共焦显微镜下有内皮细胞异常显示的患者而言,术后并发症发生率较高。

综上所述,共焦显微镜检查可清晰显示穿透性角膜移植术后患者角膜移植片内皮细胞状态,如患者角膜内皮形态结构有异常改变,其发生并发症的可能性高,需要引起临床重视。

参 考 文 献

- [1] 刘高勤,肖艳辉,陈志刚,徐静,陆培荣.小鼠角膜新生血管内皮细胞的分离培养及其趋化因子受体的表达.中华实验眼科杂志,2016,34(2):132-136.
- [2] Jonuscheit S, Doughty MJ, Ramaesh K. Assessment of a variable frame (polygonal) method to estimate corneal endothelial cell counts after corneal transplantation. *Eye (Lond)*, 2012, 26(6): 803-809.
- [3] Ono T, Ishiyama S, Hayashidera T, Mori Y, Nejima R, Miyata K, Amano S. Twelve-year follow-up of penetrating keratoplasty. *Jpn J Ophthalmol*, 2017, 61(2): 131-136.
- [4] 孙琳.模拟人角膜内皮细胞微环境诱导人胚胎干细胞分化为角膜内皮细胞的研究进展.中华实验眼科杂志,2015,33(9):844-847.
- [5] Bertelmann E, Seeger C, Rieck P, Torun N. Immune reactions to posterior lamellar versus penetrating keratoplasty. A retrospective analysis. *Ophthalmologe*, 2012, 109(3): 257-262.
- [6] 张睿,李北晗,郑景华.吸烟和饮酒对角膜内皮细胞及角膜厚度的影响.新医学,2016,47(4):269-272.
- [7] Gauthier AS, Garcin T, Thuret G, He Z, Jullienne R, Trone MC, Nefzaoui C, Acquart S, Forest F, Péoc'h M, Delbosq B, Gain P. Very early endothelial cell loss after penetrating keratoplasty with organ-cultured corneas. *Br J Ophthalmol*, 2016 Dec 13, pii: bjophthalmol-2016-309615. [Epub ahead of print]
- [8] Szaflik JP, Kaminska A, Udziela M, Szaflik J. In vivo confocal microscopy of corneal grafts shortly after penetrating keratoplasty. *Eur J Ophthalmol*, 2007, 17(6): 891-896.

(收稿日期:2017-03-23)

(本文编辑:林薇薇)