

准分子激光原位角膜磨镶术后弥漫性板层角膜炎的共焦显微镜观察

郭宁 周跃华 瞿佳 潘志强 王立

【摘要】目的 探讨准分子激光原位角膜磨镶术(LASIK)后弥漫性板层角膜炎(DLK)的临床病理学特征及发病机制。方法 LASIK术后 DLK患者 30例(39只眼)(Ⅰ~Ⅲ期),术后 1、3、5、7 d及 1个月进行裂隙灯显微镜检查,术后 3、7 d及 1个月进行共焦显微镜检查。结果 Ⅰ期及 Ⅱ期 DLK的典型表现出现在术后 3 d,共焦显微镜观察所见:角膜板层切口前基质及层间可见大量直径 12~20 μm的圆形或卵圆形细胞,反光较强,散在分布或排列成行,细胞内可见偏心的高反光的核和低反光的细胞内结构。层间还可见大量直径 8~12 μm的圆形细胞,强反光,多聚集成簇或排列成行,细胞核形态不规则。术后 7 d上述细胞几乎消失。Ⅲ期 DLK出现于术后 3~5 d,表现为前基质中的细胞浸润更浓密,层间无定形的高反光物质较明显。Ⅳ期 DLK在术后 5~7 d出现明显的前基质结构模糊,高反光,角膜瓣全层皱褶,晚期形成大量高反光的瘢痕组织。结论 LASIK术后弥漫性板层角膜炎是角膜瓣层间的炎性反应,主要病理学特征为角膜瓣层间的炎性细胞浸润,其发病是多种因素通过内源性途径和外源性途径共同作用的结果。(中华眼科杂志, 2006, 42: 330-333)

【关键词】 显微镜检查,共焦; 角膜炎; 角膜磨镶术,激光原位

Evaluation of diffuse lamellar keratitis after LASIK with confocal microscopy GUO Ning*, ZHOU Yue-hua, QU Jia, PAN Zhi-qiang, WANG Li* Tongren Ophthalmic Center, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100730, China
Corresponding author: GUO Ning, Email: eguoning@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical pathologic characteristics and the pathogenesis of diffuse lamellar keratitis(DLK) after laser in situ keratomileusis(LASIK). **Methods** On 30 patients with 39 eyes being diagnosed with DLK(grade I-III) after LASIK, slit-lamp examinations were performed 1, 3, 5, 7 and 30 days postoperatively, and scanning slit confocal microscope in vivo were performed 3, 7 and 30 days postoperatively. **Results** Typical characteristics of grade I and grade II DLK by confocal microscope examination showed up at 3 days postoperatively. We found that the epithelium, the posterior stroma and the endothelium were normal. In the lamella in front of the incision, many round or oval-shaped cells with diameter of approximately 12~20 μm were detected. These cells had eccentric, highly reflective nuclei and less reflective intracellular structures. They were most likely to be mononuclear cells. These cells distributed diffusely or arranged in line shape. In the lamella, clusters and lines of small, highly reflective, irregular shaped cells 8 to 10 μm in diameter were seen. They were similar to granulocytes or lymphocytes. Seven days postoperatively, these cells almost disappeared. Grade III DLK appeared from 3 to 5 days postoperatively, with more dense infiltration and more highly reflective irregular shape materials in the lamella. Grade IV DLK appeared 5 to 7 days postoperatively. Anterior stroma structure became unclear, with highly reflective and folded corneal flap. Numerous highly reflective scarring formed late. **Conclusions** DLK after LASIK is a inflammatory response in corneal lamella, its typical pathologic characteristic is inflammatory cells infiltration in the lamella. Several factors work together to cause DLK through endogenous and exogenous mechanisms. (Chin J Ophthalmol, 2006, 42: 330-333)

【Key words】 Microscopy, confocal; Keratitis; Keratomileusis, laser in situ

随着准分子激光原位角膜磨镶术(laser in situ

keratomileusis, LASIK)的普及,新的并发症逐渐被人们发现和认识^[1-3]。1998年 Smith等^[3]首次报道了一种出现于 LASIK术后早期的综合征,表现为局限于角膜瓣层间的弥漫性白色颗粒状浸润,并将之定义为“弥漫性板层角膜炎(diffuse lamellar

作者单位: 100730 首都医科大学北京同仁眼科中心(郭宁、周跃华、潘志强、王立);温州医学院眼视光学院(瞿佳)
通讯作者:郭宁, Email: eguoning@163.com

keratitis, DLK)”,可见于原位角膜磨镶术、LASIK、LASIK二次治疗和掀开角膜瓣处理层间上皮等相关板层角膜屈光手术后。此后也有报道称之为“撒哈拉沙漠综合征(sands of Sahara syndrome)”、“流沙现象(shifting sands phenomenon)”、LASIK术后层间角膜炎、非特异性弥漫性板层内角膜炎和弥漫性板层内角膜炎等^[4,5]。既往对这一疾病的观察手段局限于裂隙灯显微镜,对其真正的病理改变和发病机制不甚了解。

近年来发展起来的共焦显微镜能够在细胞水平对活体角膜进行无创伤动态观察,使我们深入了解这一疾病成为可能。本研究应用共焦显微镜对LASIK术后DLK患者进行动态观察,以期了解DLK的临床病理学特征,探讨其发病机制。

资料和方法

一、研究对象

在北京同仁眼科中心接受LASIK治疗且术后裂隙灯显微镜检查确诊为DLK的患者30例(39只眼),于术后1、3、5、7 d及1个月行裂隙灯显微镜检查确定有无DLK并进行分期。根据文献^[5]的方法按照DLK的严重程度和累及部位将其分为4期:白色颗粒状浸润仅见于角膜瓣的周边部位,视轴中央部位未受累。期:白色颗粒状浸润见于角膜瓣的中央部位,视轴和周边部均受累。期:视轴中央部位的白色颗粒状浸润更为稠密并集结成簇,而周边部相对清晰。患者可出现视物模糊,视力下降1或2行。期:视轴中央部出现角膜基质混浊、水肿,基质溶解,角膜皱褶形成,晚期形成永久性瘢痕,并造成远视和视力严重下降。39只眼中DLK期22只眼,期11只眼,期4只眼,期2只眼。

二、共焦显微镜检查

1. 仪器:共焦显微镜(Confoscan2.0, Model P3, 意大利 Fortune Technologic Srl公司)由日本NIDEK公司提供,主要装置是:12 V、100 W的卤素光源和红外线、紫外线滤光器;40倍、0.75 W /0水浸式物镜;CCD照相机;高速数码录像机;NAVIS软件处理系统。

2. 主要参数:放大倍数为1000倍;水浸式物镜的扫描范围为340 μm × 255 μm,景深8 μm,侧向分辨率是1~2 μm;扫描频率为20 Hz,每次扫描可获得350幅图像,每次曝光时间为20 ms,即1 s可得到25幅图像;扫描厚度设置为700 μm。

3. 操作步骤:开机后选择半自动扫描;检查眼用

0.4%盐酸奥布卡因表面麻醉1或2次;于物镜头表面加Viscotirs眼用胶4~5 mm;患者坐于检查台前,钢丝开睑器开睑,将头部置于显微镜的架托上并固定,调整架托高度,使患者平视时角膜与镜头在同一水平;嘱患者向正前方平视,使物镜与角膜表面相垂直,缓慢前推物镜,待眼用胶与角膜接触时,放慢推进速度,此时即可观察到角膜各层图像,当看到内皮层时,再将镜头稍向前推进,随即按下记录键,角膜各层的扫描图像即被记录下来。

患者分别于术后3、7 d及1个月接受共焦显微镜检查。所有检查由同一医师完成。

结 果

一、裂隙灯显微镜观察

LASIK术后DLK最早出现于术后1 d,术后3~5 d达高峰,期和期DLK术后1周全部恢复。4例期DLK均由期DLK发展而来,出现于术后3~5 d,经治疗术后10~14 d恢复正常。2例期DLK出现于术后5~7 d,经过治疗,术后1个月病情稳定,但角膜基质瘢痕形成。

二、共焦显微镜观察

LASIK术后DLK的典型表现出现在术后3 d,表现为上皮层、后基质及内皮层正常,板层切口前基质及层间可见大量直径约12~20 μm的圆形或卵圆形细胞,反光较强,细胞内可见偏心的高反光的核和低反光的细胞内结构。这些细胞或散在分布,或排列成行,可贯穿整个前基质直至Bowman's膜(图1)。层间还可见大量较小的、直径约8~12 μm的圆形细胞,强反光,细胞核形态不规则,多聚集成簇或排列成行(图2)。术后7 d上述细胞几乎消失,偶尔可见极少量细胞散在分布于前基质及层间(图3)。术后1个月则完全消失。DLK期及期的病例表现出上述典型的病理改变,两者之间似乎没有明确的界限。

期及期DLK术后早期也出现上述表现,但病程不断进展。术后3 d,期DLK细胞浸润更加浓密(图4),术后7 d,层间无定形的高反光物质增多(图5),且恢复较慢,术后1周仍可见少量细胞浸润,术后1个月完全消失。期DLK在术后7 d表现出明显的前基质结构模糊,高反光,角膜瓣全层皱褶,看不到正常角膜结构(图6),术后1个月恢复,但层间可见大量高反光的瘢痕组织。

讨 论

一、DLK的临床病理学特征

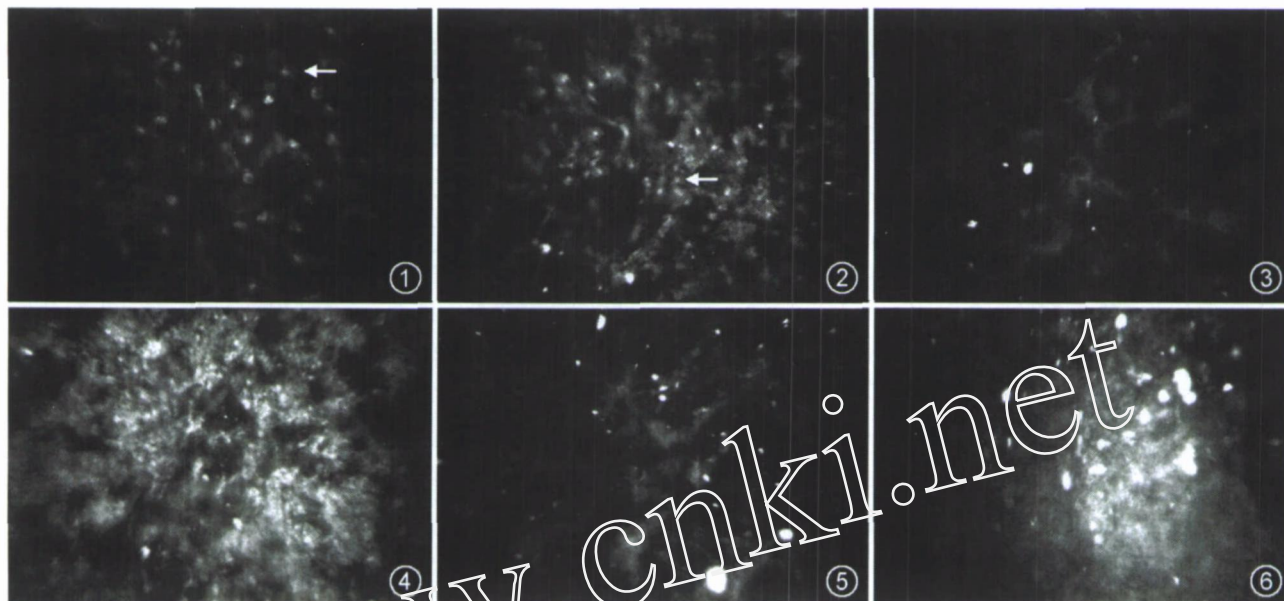


图 1 期及 期 DLK患者术后 3 d,共焦显微镜下板层切口前基质及层间可见大量直径约 12~20 μm的圆形或卵圆形细胞,反光较强,细胞内可见偏心的高反光的核和低反光的细胞内结构,散在分布或排列成行(箭头) ×1000 图 2 期及 期 DLK患者术后 3 d,共焦显微镜下角膜瓣层间可见大量直径约 8~12 μm的圆形细胞,强反光,聚集成簇或排列成行,细胞核形态不规则(箭头) ×1000 图 3 期及 期 DLK患者术后 7 d,共焦显微镜下角膜前基质和层间的浸润细胞几乎消失 ×1000 图 4 期 DLK患者术后 3 d,共焦显微镜下角膜前基质及层间可见浓密的细胞浸润,几乎不能分辨 ×1000 图 5 期 DLK患者术后 7 d,共焦显微镜下可见角膜瓣层间无定形的高反光物质明显增多 ×1000 图 6 期 DLK患者术后 7 d,共焦显微镜可见角膜前基质结构模糊,高反光,看不到正常角膜组织,提示出现角膜基质水肿、基质溶解 ×1000

既往对 DLK的认识手段主要局限于裂隙灯显微镜观察,对其真正的病理学改变不甚了解,而共焦显微镜的应用使我们深入认识这一疾病的实质成为可能。

1998年, Kaufman等^[4]首先应用共焦显微镜观察了 DLK动物模型,发现层间碎屑周围有多形核粒细胞样的细胞聚集。2001年, Buhren等^[6]应用共焦显微镜观察了 2例 LASIK术后 DLK,发现术后早期角膜层间有大量类圆形高反光的细胞聚集,术后 1周消失。此后 Chung等^[7]也进行了个例报道。在本研究中,共焦显微镜观察显示 LASIK术后 DLK典型的临床病理学改变出现在术后 3 d,表现为板层切口前基质及层间可见大量直径约 12~20 μm的圆形或卵圆形细胞,反光较强,散在分布或排列成行,细胞内可见偏心的高反光的核和低反光的细胞内结构。层间还可见大量小的直径约 8~12 μm的圆形细胞,强反光,聚集成簇或排列成行,细胞核形态不规则。术后 7 d上述细胞几乎消失。由于共焦显微镜只能提供细胞形态及光反射方面的信息,因此不能明确浸润细胞的种类。但是根据浸润细胞的形态特点及大小,我们推测大的卵圆形的细胞可能为单核细胞,而小的圆形细胞可能为粒细胞或淋巴细胞。由此进一步推测, DLK的实质是一种炎症反应,其

主要病理学特征为角膜瓣层间的炎性细胞浸润。而期及 期 DLK术后早期也出现上述表现,但病程不断进展。 期 DLK除了细胞浸润更加浓密外,还可见层间无定形的高反光物质的增多,即亚临床期的基质混浊。 期 DLK则表现为明显的前基质结构模糊,高反光,角膜瓣层间皱褶,看不到正常角膜结构,提示出现基质水肿、基质溶解和角膜皱褶。

由此可见, DLK的病程发展是一个连续的过程。 期 DLK到 期 DLK是一个炎症反应过程的不同阶段,而且各期之间没有明确的界限,但似乎存在一个“阈值”。当没有达到这一阈值时,仅表现为炎性细胞浸润,病程具有一定的自限性;当超过这一阈值时,病程则不断进展,表现出组织损伤等相应临床表现。

因此, DLK的基本病理过程可能为:各种原因(物理性、化学性、机械性、生物性、免疫性)导致角膜组织损伤或引起角膜组织释放炎性细胞因子,从而引起炎症串联反应,即角膜缘血管扩张、血管通透性升高、白细胞渗出,在各种炎性细胞因子的作用下,沿角膜瓣层间向病变部位移动。由于板层角膜手术后,层间存在潜在的空隙,对白细胞的移动阻力最小,故白细胞在角膜瓣层间及其前后基质大量聚集。白细胞在发挥其防御作用的同时,也释放各种

酶、化学物质和自由基,这些物质达到一定浓度则可能延长炎症反应过程并导致组织损伤。同时由于致病因素的性质和程度不同,机体状态不一(免疫状态、反应性),引起炎症反应的程度也不同。

二、DLK的发病机制

自 1998年 Smith和 Mabney^[3]首次报道 DLK以来,许多学者为探讨其发病机制进行了大量的研究。近年来,随着免疫分子生物学及其相关检查技术的不断发展,人们对 DLK的发病机制有了进一步的认识。Wilson等^[8]提出了 DLK的发生存在内源性和外源性两种途径。内源性致病途径的关键是角膜上皮损伤,任何导致角膜上皮损伤的因素均可通过内源性途径起作用。如术中或术后的角膜上皮擦伤,掀开角膜瓣处理层间上皮, LASIK手术中制作角膜瓣时角膜刀对周边上皮的切割等。研究表明,角膜上皮损伤后即释放上皮源性细胞因子,包括白细胞介素-1、Fas/FaL系统、骨诱导蛋白、碱性成纤维细胞生长因子、角质细胞生长因子、肝细胞生长因子和白细胞介素-8等。这些细胞因子作用于角膜基质细胞,刺激其进一步产生炎症细胞因子,包括单核细胞趋化激活因子、粒细胞集落刺激因子、白细胞介素-4、中性粒细胞激活蛋白、单核细胞诱导的粒细胞趋化因子等。这些炎症细胞因子对炎症细胞有趋化作用,可吸引大量炎症细胞聚集于角膜层间。由此可以看出,在内源性致病途径中,上皮源性的细胞因子是炎症反应的诱导者。在术中及术后各环节减少或避免上皮损伤就可以减少 DLK的发生。但由于 LASIK手术本身的特点(如必须切割角膜制作角膜瓣),瓣边缘的上皮损伤是不可避免的,这也可以解释为什么早期 DLK常发生于角膜周边部。

另外一些致病因素则可能通过外源性途径致病。这一类致病因素常可导致 DLK的聚集发病。例如微型角膜刀表面的碎屑、手术器械上残留的细菌内毒素和清洁剂、手套表面的滑石粉、Meibomian腺的分泌物等。这些物质通过手术操作被带到角膜层间,可能作为一种外来异物,刺激机体的防御免疫机制产生炎症反应,对其进行吞噬清除。也可能由于

其毒性作用造成组织损伤,从而引起炎症串联反应。具体过程尚不清楚。

同时笔者也注意到在本研究中有 9例 DLK患者为双眼发病,说明炎症反应的程度也取决于机体的免疫状态和反应性,即同一致病因素在不同的个体所引起的炎症反应程度是不同的。这与 Mcleod等^[9]的观点相同。

本研究通过应用共焦显微镜对 LASIK术后 DLK进行动态观察,初步证实 LASIK术后 DLK是角膜瓣层间的炎症反应,其主要病理学特征为角膜瓣层间的炎症细胞浸润。其发病可能是多种因素通过内源性途径和外源性途径共同作用的结果,但确切的发病机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Stulting RD, Carr JD, Thompson KP, et al Complications of laser in situ keratomileusis for the correction of myopia Ophthalmology, 1999, 106: 13-20.
- 2 Grupcheva CN, Malik TY, Craig JP, et al In vivo confocal microscopy of corneal epithelial ingrowth through a laser in situ keratomileusis flap buttonhole J Cataract Refract Surg, 2001, 27: 1318-1322.
- 3 Smith RJ, Mabney RK Diffuse lamellar keratitis A new syndrome in lamellar refractive surgery Ophthalmology, 1998, 105: 1721-1726.
- 4 Kaufman SC, Maitechouk DY, Chiou AG, et al Interface inflammation after laser in situ keratomileusis Sands of the Sahara syndrome J Cataract Refract Surg, 1998, 24: 1589-1593.
- 5 Linebarger EJ, Hardten DR, Lindstrom RL Diffuse lamellar keratitis: diagnosis and management J Cataract Refract Surg, 2000, 26: 1072-1077.
- 6 Bühren J, Baumeister M, Kohnen T Diffuse lamellar keratitis after laser in situ keratomileusis imaged by confocal microscopy Ophthalmology, 2001, 108: 1075-1081.
- 7 Chung MS, Pepose JS, El-Agha MS, et al Confocal microscopic findings in a case of delayed-onset bilateral diffuse lamellar keratitis after laser in situ keratomileusis J Cataract Refract Surg, 2002, 28: 1467-1470.
- 8 Wilson Steven-E, Ambrosio Renato-Jr Sporadic diffuse lamellar keratitis (DLK) after LASIK Cornea, 2002, 21: 560-563.
- 9 Mcleod SD, Tham VM, Phan ST, et al Bilateral diffuse lamellar keratitis following bilateral simultaneous versus sequential laser in situ keratomileusis Br J Ophthalmol, 2003, 87: 1086-1087.

(收稿日期: 2005-07-27)

(本文编辑: 郭维涛)