

· 临床研究 ·

角膜基底下神经弯曲度客观分析及其在干眼和糖尿病患者中的改变

马佰凯¹ 赵昆^{2,3} 马思翼¹ 刘容均¹ 高玉菲¹ 胡晨曦¹ 谢建洋³ 刘一昀¹ 赵一天³ 齐虹¹¹北京大学第三医院眼科 眼部神经损伤的重建保护与康复北京市重点实验室 100191; ²沈阳建筑大学信息与控制工程学院 110168; ³中国科学院宁波材料技术与工程研究所慈溪生物医学工程研究所 315200

马佰凯和赵昆对本文有同等贡献

通信作者: 齐虹, Email: doctorqihong@163.com

【摘要】 目的 建立评价角膜神经弯曲度的客观标准并分析干眼及糖尿病患者角膜基底下神经弯曲度的改变。**方法** 根据主观分级方法任意选取 I ~ IV 级弯曲度的角膜神经图像各 80 幅, 将神经提取分割后对 6 个角膜神经弯曲度相关参数(L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean、Specific_p、ICM 和 SCC_mean)进行分析。确认参数有效性后, 进行横断面研究, 收集 2018 年 6 月至 2019 年 2 月在北京大学第三医院就诊的干眼非糖尿病患者 28 例 56 眼, 糖尿病非干眼患者 24 例 48 眼, 糖尿病干眼患者 23 例 46 眼, 招募健康志愿者 28 人 56 眼作为正常对照组。收集受检者基本资料及干眼和糖尿病相关信息后, 每眼选取 2 幅角膜基底下神经图像进行弯曲度及密度相关参数分析。**结果** I ~ IV 级弯曲度神经图像 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean、Specific_p、ICM 和 SCC_mean 随弯曲度级别增高而增大, 总体比较差异均有统计学意义($F=39.100, 36.367, 57.743, 4.043, 6.818, 33.493$, 均 $P<0.01$), 其中 L_C 及 Cur_mean 两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。角膜知觉方面, 糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组角膜知觉测量(C-BE)较正常对照组均降低, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$), 而干眼非糖尿病组与正常对照组之间 C-BE 差异均无统计学意义($P\geq 0.05$)。糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组神经密度较正常对照组降低, 差异均有统计学意义(均 $P<0.001$); 干眼非糖尿病组神经密度较正常对照组有降低趋势, 但差异无统计学意义($P\geq 0.05$)。干眼非糖尿病组、糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组 L_C、Cur_mean、Seg_L_C_mean 和 SCC_mean 较正常对照组均增大, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$); ICM 与正常对照组相比差异均无统计学意义(均 $P\geq 0.05$)。角膜基底下神经弯曲度相关参数用于诊断干眼的曲线下面积(AUC)均在 0.5 ~ 0.7。**结论** L_C 和 Cur_mean 用于分析角膜神经弯曲度较为可靠。与正常人相比, 干眼及糖尿病患者角膜基底下神经弯曲度增高。

【关键词】 角膜基底下神经; 弯曲度; 干眼; 糖尿病**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81570813); 教育部留学回国人员科研启动基金项目; 北京大学第三医院优秀出国留学人员启动基金项目; 北京大学第三医院眼科林护基金项目

临床试验注册: Clinical trial 网站注册, NCT03576300

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.08.009

Objective analysis of corneal subbasal nerve tortuosity and its changes in patients with dry eye and diabetesMa Baikai¹, Zhao Kun^{2,3}, Ma Siyi¹, Liu Rongjun¹, Gao Yufei¹, Hu Chenxi¹, Xie Jianyang³, Liu Yiyun¹, Zhao Yitian³, Qi Hong¹¹Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing Key Laboratory of Restoration of Damaged Ocular Nerve, Beijing 100191, China; ²Information and Control Engineering Faculty, Shenyang Jianzhu University, Shenyang 110168, China; ³Cixi Institute of BioMedical Engineering, CNITECH, CAS, Cixi 315200, China

Ma Baikai and Zhao Kun are contributed equally to the article

Corresponding author: Qi Hong, Email: doctorqihong@163.com

【Abstract】 Objective To construct an objective analysis system of corneal nerve tortuosity and detect the changes of corneal subbasal nerve tortuosity in patients with dry eye and diabetes. **Methods** Grade I to IV nerve tortuosity were evaluated and 80 photos of each grade were randomly chosen from the *in vivo* confocal microscopy library. Nerve fibers were extracted, segmented and then analyzed by 6 tortuosity related parameters including L_C, Seg_L_C_mean, Cur_mean, Specific_p, ICM and SCC_mean. After verifying the validity of parameters above, a cross-sectional study was conducted. Subjects were collected from June, 2018 to February, 2019 in Peking University Third Hospital, and were divided into healthy control group (28 persons 56 eyes), dry eye without diabetes group (28 patients 56 eyes), diabetes without dry eye group (24 patients 48 eyes), diabetes with dry eye group (23 patients 46

eyes). Basic and dry eye information includes sex, age, ocular surface disease index (OSDI), tear film break-up time (TBUT), Schirmer I test (S I t) and corneal fluorescence staining (CFS) score. Fasting plasma glucose (FPG) and hemoglobin A1c (HbA1c) were detected in diabetic patients. Cochet-Bonnet examination (C-BE) was detected to evaluate corneal sensation and 2 corneal subbasal nerve photos of each eye were selected for effective tortuosity and density related parameters analysis. Data was analyzed by SPSS and diagnostic test were performed by MedCalc. This study followed the Declaration of Helsinki. This study protocol was approved by Ethic Committee of Peking University Third Hospital (No. IRB00006761-M2017354). Written informed consent was obtained from each subject prior to entering study cohort. **Results** L_C, Seg_L_C_mean, Cur_mean, Specific_p, ICM and SCC_mean increased as the nerve tortuosity increased from Grade I to Grade IV, with an overall significance among 4 groups ($F = 39.100, 36.367, 57.743, 4.043, 6.818, 33.493$; all at $P < 0.01$). Among the above 6 parameters, Cur_mean and L_C of any two groups were of significant difference (all at $P < 0.01$). Twenty three to twenty eight persons were enrolled in each group of the cross-sectional study. Sex and age were comparable among 4 groups. Diagnostic criteria were met in dry eye and diabetes. Corneal sensation parameter C-BE decreased in diabetes without dry eye group and diabetes with dry eye group compared with healthy control group (all at $^{Adj}P < 0.05$), other than in dry eye without diabetes group ($^{Adj}P \geq 0.05$). Nerve density of diabetes without dry eye group and diabetes with dry eye group was lower compared with healthy control group (all at $P < 0.001$), while no significant difference between dry eye without diabetes group and healthy control group ($P \geq 0.05$). Among the effective parameters of tortuosity, L_C, Cur_mean, Seg_L_C_mean and SCC_mean of dry eye without diabetes group, diabetes without dry eye group, diabetes with dry eye group were higher compared with healthy control group (all at $P < 0.05$). Diagnostic tests of tortuosity related parameters all showed an area under curve (AUC) from 0.5 to 0.7. **Conclusions** L_C and Cur_mean can be used to analyze corneal nerve curvature more reliably. Compared with normal volunteers, patients of dry eye or diabetes show higher corneal subbasal nerve tortuosity.

[Key words] Corneal subbasal nerve; Tortuosity; Dry eye; Diabetes

Fund Program: National Natural Science Foundation of China (81570813); Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, State Education Ministry; Scientific Research Foundation for the Excellent Returned Overseas Chinese Scholars, Peking University Third Hospital; LinHu Scientific Research Foundation of Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital

Trial Registration: ClinicalTrials.gov (NCT03576300)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.08.009

角膜内神经分布密集,神经末梢终点数量约为 $7\,000/\text{mm}^2$ [1]。支配角膜的神经纤维起源于三叉神经眼支,经睫状神经节后形成多个分支到达角膜缘,进入角巩膜缘1 mm后脱髓鞘,在施万细胞包裹下走行在距眼表面 (293 ± 106) μm 的角膜基质,垂直穿过 Bowman 层后平行于角膜表面走行,在角膜上皮基底与 Bowman 层之间构成角膜基底下神经丛,支配角膜上皮 [2]。弯曲度是角膜神经形态学的重要参数之一。角膜神经弯曲度改变与多种疾病相关,如糖尿病患者角膜基底下神经纤维密度的降低和神经弯曲度的增加与外周神经病变的分期或严重程度相关 [3]。目前广泛应用的角膜神经弯曲度的评估方法为肉眼主观评估,直观明了,但存在错分偏倚等不足。本研究中拟建立一种角膜神经弯曲度的客观分析方法,并探讨其在干眼及糖尿病中的应用。

1 资料与方法

1.1 角膜神经图像的采集以及弯曲度与密度相关参数的重建

1.1.1 角膜基底下神经图像的采集 受检者局部点用盐酸奥布卡因滴眼液(美国爱尔康公司)后常规行

激光扫描共焦显微镜(HRT3,德国 Heidelberg 公司)检查。于角膜中央区域采集 $60 \sim 80\,\mu\text{m}$ 深度角膜基底下神经图像 [1],每眼拍摄 5 幅,此过程由同一技术员完成。双眼各任意取 2 幅分析。

1.1.2 角膜神经的提取及弯曲度相关参数分析 本课题组前期人工标注的重复性和再现性评价结果显示一致性较高,故首先由 5 年以上临床经验的主治医师对神经进行人工标注。采用 MorelRetinal 算法 [4-5] 对原图进行增强,然后采用 B-COSFIRE 算法 [6] 对神经结构进行增强,得到最终的增强效果图;采用 Graph-Cut 算法 [7] 对增强后的图像进行分割,得到最终分割效果图(图 1A~D)。对分割后满足要求的神经图像进行不同参数的计算。神经曲率图中,红点表示局部曲率最小,绿点表示局部曲率最大(图 1E,F)。

1.1.3 角膜神经弯曲度相关参数的选择及分析 先对单支神经进行分析,参数包括 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean、Specific_p、ICM 和 SCC_mean,进行整幅图像的神经弯曲度分析(表 1)。参考血管弯曲度分析方案,按照神经长度对角膜神经进行排序,提取长度前 30% 的神经,对各参数值求平均值,表示整幅图像的弯曲程度 [8]。

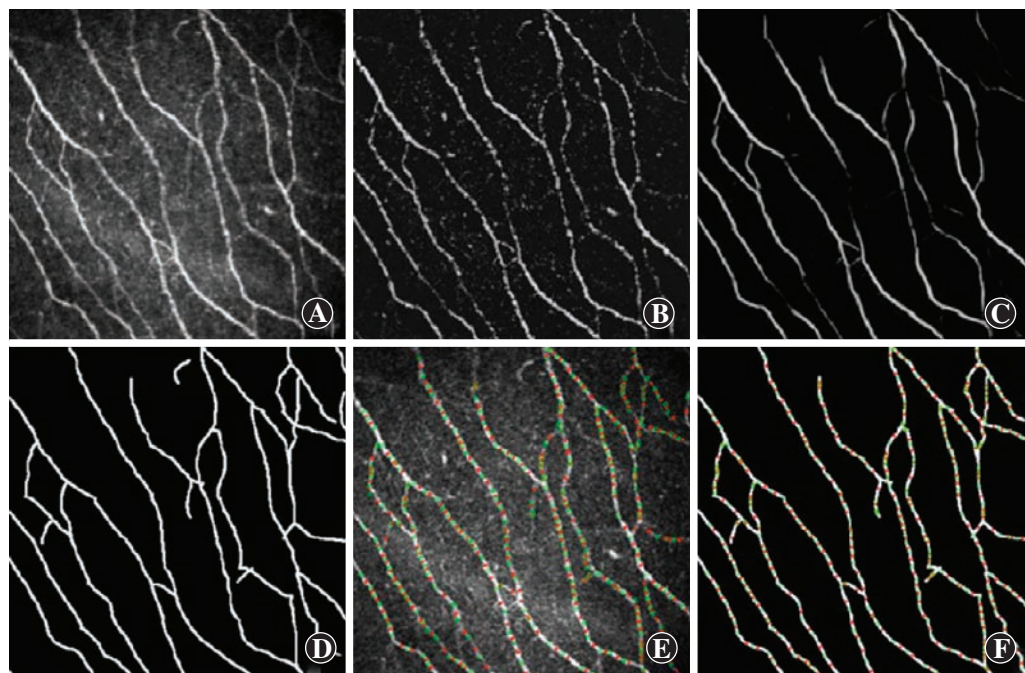


图1 角膜神经提取与分割过程示意图 红点表示局部曲率最小,绿点表示局部曲率最大 A:原图 B: MorelRetinal 增强 C:B-COSFIRE 增强 D:神经分割图 E:原图曲率覆盖 F:分割图曲率覆盖

表1 角膜神经弯曲度的参数详情

参数名称	参数英文全称	参数意义	与曲率的关系	计算公式	部分参数示意图
L_C	Arc length over chord length ratio	C 表示曲线长度, L 表示曲线两端点之间的直线距离	越大表示越弯曲	$L_C = 1 - L/C$	
Seg_L_C_mean	Local arc length over chord length ratio	Seg_L_C 表示 2 个曲率极小值点之间的 L/C; Seg_L_C_mean 表示所有 Seg_L_C 的平均值	越大表示越弯曲	$Seg_L_C_mean = \frac{1}{L} \sum_{i=1}^n \frac{L_i}{C_i}$	
Cur_mean	Curvature mean	单只神经段曲率 κ 的平均值	越大表示越弯曲	$\kappa(l) = \frac{\frac{dx}{dl} \frac{d^2y}{dl^2} - \frac{d^2x}{dl^2} \frac{dy}{dl}}{\left(\left(\frac{dx}{dl} \right)^2 + \left(\frac{dy}{dl} \right)^2 \right)^{3/2}}$	
Specific_p	Density of significant point	特征点(曲率极大值点)的密度	越大表示越弯曲	$Specific_p = \text{number}(\text{specific point})/C$	
ICM	Inflection count metric	特征点的个数与 L/C 的乘积, n_{ic} 为特征点的个数	越大表示越弯曲	$ICM = (n_{ic} + 1) \left(1 - \frac{L}{C} \right)$	
SCC_mean	Slope chain code mean	角 α 表示曲率极大值与相邻的 2 个曲率极小值之间的角度, SCC_mean 表示单支神经元上所有 α 的平均值,其中 n 为曲率极大值点的个数	越大表示越弯曲	$SCC_mean = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \alpha_i$	

1.1.4 角膜神经密度计算 以单位面积(mm^2)内神经纤维总长度(mm)作为角膜神经密度。

1.2 角膜神经弯曲度分级和相关参数的有效性验证

收集 2018 年 5 月 1 日至 7 月 1 日北京大学第三医院眼科门诊激光扫描共焦显微镜平台照片库中,不论患者信息,根据 Laura 弯曲度分级法^[9]任意挑选各个弯曲度等级的角膜基底下神经图像 80 幅,用以证实 1.1.3 中角膜神经弯曲度相关参数的有效性。由于 5 级中的 0 级与 I 级相近,为便于使用客观指标区分不同级别的角膜神经弯曲度,本研究中将 0 级与 I 级合并为 I 级,从而将角膜神经弯曲度划分为 4 级(图 2)。

1.3 临床研究对象

1.3.1 受检者组别与样本量 采用横断面研究设计。在验证神经弯曲度客观参数的有效性后,收集 2018 年 6 月至 2019 年 2 月在北京大学第三医院眼科门诊就诊的干眼非糖尿病患者 28 例 56 眼,糖尿病非干眼患者 24 例 48 眼,糖尿病干眼患者 23 例 46 眼,招募健康志愿者 28 人 56 眼作为正常对照组。根据独立样本均值与标准差计算样本量,计算公式为: $n = \frac{2\sigma^2(t_\alpha + t_\beta)^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$ (α 取 0.05, β 取 0.1)。所有受

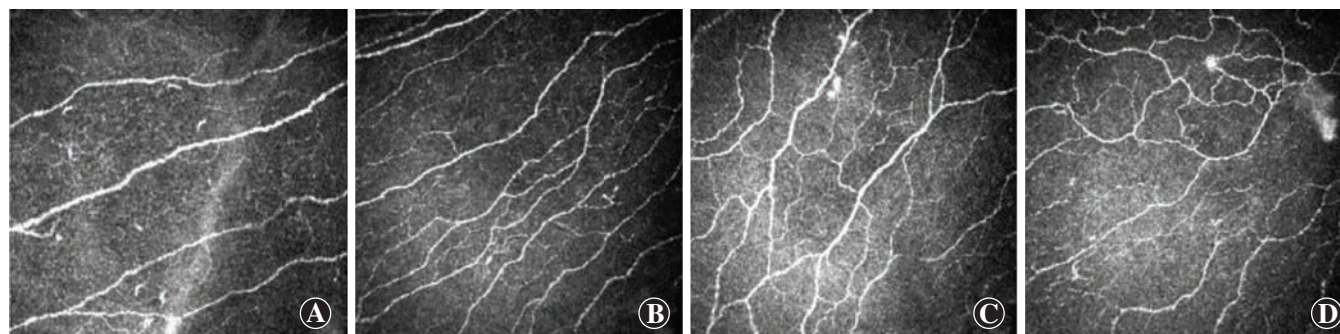


图2 不同级别弯曲角膜神经图像 A:神经纤维走行基本呈直线或稍有弯曲(I级) B:神经纤维中度弯曲,小幅度方向改变(II级) C:神经纤维明显弯曲,大幅度方向改变(III级) D:神经纤维非常弯曲,神经主干不明显(IV级)

检者在进入本研究前均签署知情同意书。本研究遵循 Helsinki 宣言,并经北京大学第三医院医学科学研究伦理委员会批准(批文号:IRB00006761-M2017354)。

1.3.2 纳入及排除标准 纳入标准:(1)正常对照组:无干眼症状,如干涩感、烧灼感、异物感等,眼表疾病指数(ocular surface disease index, OSDI)评分 <13 ;泪液分泌试验 I (Schirmer I test, S I t) ≥ 10 mm/5 min 或泪膜破裂时间(tear breakup time, TBUT) ≥ 10 s;角膜荧光素钠染色(corneal fluorescein staining, CFS)阴性,裂隙灯显微镜下可排除变态反应性结膜炎、角膜炎等常见眼表疾病。(2)干眼非糖尿病组:OSDI 评分 ≥ 13 ;具有干眼阳性体征(S I t <10 mm/5 min 或 TBUT <10 s)^[10],或 CFS 阳性,并且无糖尿病病史。(3)糖尿病非干眼组:三级以上医院诊断为 2 型糖尿病;OSDI 评分 <13 ;S I t ≥ 10 mm/5 min 或 TBUT ≥ 10 s;CFS 阴性。(4)糖尿病干眼组 三级以上医院诊断为 2 型糖尿病;OSDI 评分 ≥ 13 ;具有干眼的阳性体征(S I t <10 mm/5 min 或 TBUT <10 s),或 CFS 阳性。排除标准:与干眼无关的感染或炎症;任何眼部手术史;3 个月内行眼底激光治疗;除人工泪液以外的任何眼部治疗;佩戴角膜接触镜;角膜、结膜或眼睑异常;其他影响泪液分泌的系统性疾病,包括干燥综合征、精神疾病、恶性肿瘤等;1 型糖尿病患者。

1.3.3 各组受检者的基线特征

正常对照组、干眼非糖尿病组、糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组性别构成比及年龄比较,差异均无统计学意义($\chi^2=3.048$, $P>0.05$; $F=1.504$, $P>0.05$)。干

眼相关检查方面,与正常对照组比较,干眼非糖尿病组和糖尿病干眼组 OSDI 评分明显升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.001$);CFS 评分明显升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.001$);S I t 及 TBUT 降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。糖尿病非干眼组与正常对照组之间 OSDI 评分、S I t 和 TBUT 比较,差异均无统计学意义(均 $P\geq 0.05$);CFS 评分差异无统计学意义($P\geq 0.05$)。角膜知觉方面,糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组角膜知觉测量(Cochet-Bonnet examination, C-BE)值较正常对照组均降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),而干眼非糖尿病组与正常对照组之间 C-BE 差异无统计学意义($P\geq 0.05$)。此外,糖尿病非干眼组与糖尿病干眼组之间空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)均无明显差异($t=-1.173$, $t=0.293$, 均 $P\geq 0.05$)(表 2)。

表 2 各组受检者基本资料比较

组别	例数	性别构成比 [*]	年龄 [#]	OSDI 评分 [#]	TBUT [#]	CFS 评分 ^{&}
		(男/女, <i>n</i> / <i>n</i>)	(mean±SD, 岁)	(mean±SD)	(mean±SD, s)	[<i>M</i> (<i>Q</i> 1, <i>Q</i> 3)]
正常对照组	28	5/23	60.68± 9.13	9.83± 5.94	8.11±3.35	0 (0 ,0)
干眼非糖尿病组	28	8/20	56.08±15.68	30.53±15.50 ^a	4.87±2.53 ^a	4.5 (1.2,8.0) ^a
糖尿病非干眼组	24	8/16	62.29±10.20	6.79± 6.45	6.73±3.30	0 (0 ,1.0) ^a
糖尿病干眼组	23	9/14	61.96±10.92	26.97±13.11 ^a	5.05±2.55 ^a	3.0 (1.0,6.0) ^a
χ ² / <i>F</i> / <i>H</i> 值		3.048	1.504	29.635	13.615	85.307
<i>P</i> 值		0.384	0.218	<0.001	<0.001	<0.001

组别	例数	S I t [#]	C-BE ^{&}	FPG ^{&}	HbA1c ^{&}
		(mean±SD, mm)	[<i>M</i> (<i>Q</i> 1, <i>Q</i> 3) ,cm]	(mean±SD, mmol/L)	(mean±SD, %)
正常对照组	28	12.28±8.25	6.0 (6.0,6.0)	NA	NA
干眼非糖尿病组	28	8.77±6.13 ^a	6.0 (5.6,6.0)	NA	NA
糖尿病非干眼组	24	9.85±7.04	6.0 (5.5,6.0) ^a	7.87±1.84	7.79±1.83
糖尿病干眼组	23	7.40±6.06 ^a	6.0 (5.5,6.0) ^a	8.99±3.30	7.98±1.47
<i>F</i> / <i>H</i> / <i>t</i> 值		4.205	9.591	−1.173	−0.293
<i>P</i> 值		<0.01	<0.05	0.249	0.772

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$ (^{*}: χ^2 检验;[#]:单因素方差分析, LSD- t 检验;[&]:Kruskal Wallis H 检验;[§]:独立样本 t 检验) OSDI:眼表疾病指数;TBUT:泪膜破裂时间;CFS:角膜荧光素钠染色;S I t:泪液分泌试验 I;C-BE:角膜知觉测量;FPG:空腹血糖;HbA1c:糖化血红蛋白;NA:未测量

1.4 干眼相关检查

1.4.1 主观症状评估 所有受检者均接受 OSDI 问卷调查,并进行症状评分。

1.4.2 干眼相关检查 (1)TBUT 质量分数 0.3% 荧光素钠滴眼液,点 1 滴于受检者的结膜囊内,无菌棉签擦干,嘱其轻轻瞬目使荧光素钠均匀分布,用裂隙灯显微镜钴蓝光观察受检者从末次瞬目至角膜表面出现第 1 个黑斑的时间,记录 3 次取平均值。(2)SIT 将测试泪液专用 5 mm×35 mm 滤纸(天津晶明公司)一端反折 5 mm,轻轻放置于受检者下睑结膜囊中外 1/3 处,另一端自然下垂,嘱受检者轻轻闭眼,5 min 后测量滤纸被泪液湿润的长度。(3)CFS 评分 将角膜分为 5 个象限(中央+鼻/颞/上/下),每个象限染色分 0~3 分,规定无染色为 0 分,染色<30 个点为 1 分,出现片状染色且融合、丝状物形成 3 分,介于两者之间为 2 分,5 个象限评分之和为整个角膜的得分情况,整个角膜 CFS 评分为 0~15 分。(4)C-BE 角膜知觉计纤维丝调整至 6 cm,水平轻触受检者角膜,询问是否有异物接触感,若无感觉,调整至 5.5 cm 再次测试;每次缩短 0.5 cm,依次类推,至受检者感觉到异物,记录下纤维丝长度代表角膜知觉。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 24.0 统计学软件进行统计分析。性别采用卡方检验;连续型变量的数据资料经 Kolmogorov-Smirnov 检验证实呈正态分布,以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,采用单因素方差分析对各组间的差异显著性进行检验,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验(方差齐)或 Tamhane 检验(方差不齐)。等级变量的数据资料以 $M(Q1, Q3)$ 表示,采用 Kruskal Wallis *H* 检验比较 2 个组以上独立样本及组间两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。等级变量组间两两比较取^{Adj} $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 GraphPad Prism 7 绘制统计图。采用 MedCalc v14.8 分析角膜基底神经弯曲度相关参数对干眼的诊断价值,以曲线下面积(area under curve, AUC) ≥ 0.7 认为该指标具有较高诊断价值, $0.5 \leq \text{AUC} < 0.7$ 认为该指标具有较低诊断价值, $\text{AUC} < 0.5$ 认为该指标无诊断价值。

2 结果

2.1 角膜神经弯曲

度相关参数的有效性验证

角膜神经弯曲度相关参数在 I~IV 级弯曲度角膜神经图像中的比较结果显示, L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean、Specific_p、ICM 和 SCC_mean 随弯曲度级别的增高而逐渐增大,总体比较差异均有统计学意义($F = 39.100, 36.367, 57.743, 4.043, 6.818, 33.493$, 均 $P < 0.01$),其中 L_C 和 Cur_mean 不同级别间两两比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);II 级与 I 级比较, Seg_L_C_mean 和 SCC_mean 的差异无统计学意义(均 $P \geq 0.05$),其余各级别之间的 Seg_L_C_mean 和 SCC_mean 两两比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。II~IV 级弯曲度神经图像 ICM 高于 I 级,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),且 IV 级弯曲度神经图像 ICM 较 II 级增大,差异有统计学意义($P < 0.05$)。然而,仅 IV 级弯曲度神经图像 Specific_p 较 I 级增大,差异有统计学意义($P < 0.01$),其余各级间两两比较差异均无统计学意义(均 $P \geq 0.05$),因此 Specific_p 不再作为评价角膜神经弯曲度的参数(表 3)。

2.2 正常对照组与不同疾病组的角膜基底神经弯曲度与密度相关参数分析

对正常对照组和不同疾病组的角膜基底神经图像进行弯曲度相关参数分析,结果显示干眼非糖尿病组、糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean 和 SCC_mean 较正常对照组增大,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);而 ICM 与正常对照组比较差异无统计学意义($P \geq 0.05$)。糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组神经密度较正常对照组降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$);干眼非糖尿病组神经密度较正常对照组有降低趋势,但差异无统计学意义($P \geq 0.05$)。与干眼非糖尿病组相比,糖尿病干眼组角膜基底神经弯曲度相关参数 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean 和 SCC_mean 均无明显改变,差异均无统计学意义(均 $P \geq 0.05$),神经密度降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与糖尿病非干眼组相比,糖尿病

表 3 不同弯曲度级别角膜神经弯曲度各参数的比较 (mean±SD)

组别	样本量	L_C ($\times 10^{-3}$)	Seg_L_C_mean ($\times 10^{-4}$)	Cur_mean ($\times 10^{-4}$)	Specific_p ($\times 10^{-3}$)	ICM ($\times 10^{-2}$)	SCC_mean ($\times 10^{-3}$)
I 级	80	25.69±7.62	56.12±19.91	90.16±13.44	79.56±10.60	53.57±22.50	49.83±9.56
II 级	80	42.64±23.99 ^a	65.06±22.55	98.70±14.30 ^a	84.41±12.13	74.03±47.41 ^a	52.32±9.25
III 级	80	58.83±23.42 ^{ab}	86.11±27.32 ^{ab}	113.26±14.91 ^{ab}	85.01±9.03	82.56±36.89 ^a	60.41±10.06 ^{ab}
IV 级	80	85.96±31.03 ^{abc}	112.60±31.95 ^{abc}	135.35±20.76 ^{abc}	89.51±10.17 ^a	101.23±42.78 ^{ab}	70.96±12.42 ^{abc}
<i>F</i> 值		39.100	36.367	57.743	4.043	6.818	33.493
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 I 级比较,^a $P < 0.05$;与 II 级相比,^b $P < 0.05$;与 III 级相比,^c $P < 0.05$ (单因素方差分析,LSD-*t* 检验,Tamhane 检验)

干眼组角膜基底神经弯曲度相关参数及神经密度均无明显改变,差异均无统计学意义(均 $P \geq 0.05$)(表 4)。角膜基底神经弯曲度相关参数 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean 和 SCC_mean 用于诊断干眼的 AUC 分别为 0.616、0.624、0.646 和 0.621,均在 0.5~0.7,诊断价值较低。

表 4 各组角膜基底神经弯曲度与密度相关参数比较 (mean±SD)

组别	样本量	L_C ($\times 10^{-3}$)	Seg_L_C_mean ($\times 10^{-4}$)	Cur_mean ($\times 10^{-4}$)	ICM ($\times 10^{-2}$)	SCC_mean ($\times 10^{-3}$)	密度 (/mm)
正常对照组	123	39.06±12.24	68.38±18.53	102.04±12.23	58.37±22.84	54.40±7.75	13.46±3.74
非糖尿病组	124	44.08±13.20 ^a	76.47±19.00 ^a	109.26±13.81 ^a	63.59±25.23	57.88±8.10 ^a	12.77±3.46
糖尿病非干眼组	120	51.78±23.71 ^a	75.53±22.52 ^a	108.99±15.52 ^a	65.99±27.79	56.80±8.87 ^a	11.47±3.07 ^{ab}
糖尿病干眼组	117	46.71±16.70 ^a	74.34±21.69 ^a	108.91±14.94 ^a	65.87±28.35	56.86±8.67 ^a	11.78±3.01 ^{ab}
F 值		9.523	3.188	6.187	1.832	3.139	9.075
P 值		<0.001	<0.05	<0.001	0.141	<0.05	<0.001

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与干眼非糖尿病组相比,^b $P<0.05$ (单因素方差分析,LSD-*t* 检验,Tamhane 检验)

3 讨论

目前神经弯曲度根据肉眼所见角膜神经方向改变的频率和幅度进行分级^[9]。由于不同研究者之间评估结果一致性稍差^[11],因此,应用客观参数来评估角膜神经弯曲度可以有效辅助临床诊断,减少人为误差。角膜基底神经丛是直接支配角膜上皮的神经丛,与角膜神经病变最具相关性^[12-13]。因此,本研究中采集角膜基底神经图像进行分析。既往 Kallinikos 等^[12]和 Annunziata 等^[14]也对角膜神经弯曲度进行了量化分析。本研究的前期工作证明神经分割结果与人工标注结果相比,DICE 相似系数达到 0.856,证实了本研究中角膜神经分割方法的可靠性。

本研究借鉴视网膜血管弯曲度的研究方法^[8],选择 6 个弯曲度相关参数进行角膜神经弯曲度的分析,分别为 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean、Specific_p、ICM 和 SCC_mean。有效性验证结果显示 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean、Specific_p、ICM 和 SCC_mean 随弯曲度级别增高而增大,其中 L_C 及 Cur_mean 两两比较差异均有统计学意义,可以良好地区分不同级别弯曲度的角膜神经。II 级弯曲度神经图像的 Seg_L_C_mean 及 SCC_mean 较 I 级无明显增大,其余各组之间差异均有统计学意义,提示 Seg_L_C_mean 及 SCC_mean 可能更适合用于中高弯曲度神经图像的分析。II~IV 级弯曲度神经图像 ICM 均较 I 级增大,差异均有统计学意义;其余各组两两比较,仅 IV 级弯曲度神经图像 ICM 较 II 级明显增大,差异有统计学意义,提示 ICM 用于区分不同级别弯曲度神经图像的效能较低,或可用于角膜神经弯曲度的辅助分析。Specific_p 的

比较中,仅 IV 级弯曲度神经图像 Specific_p 较 I 级增大,差异有统计学意义,提示 Specific_p 无法用于分析神经弯曲程度。

我们前期发现不同类别干眼患者泪液中的细胞因子存在差异化表达,如干眼非糖尿病患者泪液中白细胞

介素 17A (interleukin 17A, IL-17A)、IL-1 β 和肿瘤坏死因子 α 蛋白水平较健康志愿者高,而糖尿病干眼患者泪液中表皮生长因子蛋白水平较健康志愿者和干眼非糖尿病患者均升高^[15]。在此基础上,本研究对于干眼与

糖尿病患者角膜基底神经弯曲度的改变进行了量化分析,以期从不同方面揭示干眼与糖尿病患者眼表微结构和生物化学成分的改变。本研究证实弯曲度相关参数的有效性后,进行横断面研究,纳入干眼非糖尿病、糖尿病非干眼及糖尿病干眼患者,并招募健康志愿者作为正常对照组。本研究中干眼非糖尿病组、糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组 L_C、Seg_L_C_mean、Cur_mean 和 SCC_mean 较正常对照组均增大,表明干眼及糖尿病患者角膜基底神经弯曲度增高。与干眼非糖尿病组、糖尿病非干眼组相比,糖尿病干眼组角膜基底神经弯曲度无明显改变,结果提示在角膜基底神经弯曲度方面,干眼与糖尿病无叠加作用。除角膜基底神经弯曲度以外,本研究中也分析了正常对照组和不同疾病组的角膜基底神经密度和角膜知觉。结果表明,糖尿病非干眼组和糖尿病干眼组的神经密度较正常对照组与干眼非糖尿病组均降低。干眼非糖尿病组与正常对照组相比、糖尿病干眼组与糖尿病非干眼组相比,神经密度差异均无统计学意义,结果提示影响角膜基底神经密度的为糖尿病而非干眼。并且,糖尿病患者角膜基底神经密度下降与角膜知觉下降相一致。神经感觉异常被 DEWS II 列为干眼的四大病理生理机制之一^[16]。然而,角膜基底神经弯曲度相关参数是否适用于诊断干眼的报道较少,因此本研究中分析了角膜基底神经弯曲度相关参数对于干眼的诊断价值,结果提示角膜基底神经弯曲度相关参数对于干眼的诊断价值较低。

干眼与糖尿病患者角膜基底神经弯曲度较正常人增大已得到数项研究的支持^[17-18],但都是基于

Laura 分级法。本研究采用图像分析技术对角膜神经图像进行了精准生物学测量,挖掘了用于分析角膜神经弯曲度的客观参数,有望在一定程度上替代传统的主观分级方法,有一定的实际应用价值。本研究证实有效的神经弯曲度参数共有 5 个,不便于临床推广,未来将有效的神经弯曲度相关参数拟合为单一参数进行分析将有助于其在临床的应用。同时,由于单幅神经图像的面积较小,本研究在反映同一深度的全角膜神经弯曲度方面具有一定局限性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. *In vivo* confocal microscopy of corneal nerves in health and disease [J]. *Ocul Surf*, 2017, 15 (1): 15-47. DOI:10.1016/j.jtos.2016.09.004.
- [2] Eguchi H, Hiura A, Nakagawa H, et al. Corneal nerve fiber structure, its role in corneal function, and its changes in corneal diseases [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 3242649 [2019-01-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5697388/>. DOI:10.1155/2017/3242649.
- [3] Messmer EM, Schmid-Tannwald C, Zapp D, et al. *In vivo* confocal microscopy of corneal small fiber damage in diabetes mellitus [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2010, 248 (9): 1307-1312. DOI:10.1007/s00417-010-1396-8.
- [4] Zosso D, Tran G, Osher SJ. Non-local retinex—a unifying framework and beyond [J]. *SIAM J Imaging Sci*, 2015, 8 (2): 787-826. DOI:10.1137/140972664.
- [5] Azzopardi G, Petkov N. Automatic detection of vascular bifurcations in segmented retinal images using trainable COSFIRE filters [J]. *Pattern Recognition Letters*, 2013, 34 (34): 922-933. DOI:10.1016/j.patrec.2012.11.002.
- [6] Azzopardi G, Strisciuglio N, Vento M, et al. Trainable COSFIRE filters for vessel delineation with application to retinal images [J]. *Med Image Anal*, 2015, 19 (1): 46-57. DOI:10.1016/j.media.2014.08.002.
- [7] Bernier M, Jodoin PM, Humbert O, et al. Graph cut-based method for segmenting the left ventricle from MRI or echocardiographic images [J]. *Comput Med Imaging Graph*, 2017, 58: 1-12. DOI:10.1016/j.compmedimag.2017.03.004.
- [8] Grisan E, Foracchia M, Ruggeri A. A novel method for the automatic grading of retinal vessel tortuosity [J]. *IEEE Transact Med Imaging*, 2008, 27 (3): 310-319. DOI:10.1109/TMI.2007.904657.
- [9] Oliveira-Soto L, Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy [J]. *Cornea*, 2001, 20 (4): 374-384.
- [10] Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, et al. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report [J]. *Ocul Surf*, 2017, 15 (3): 539-574. DOI:10.1016/j.jtos.2017.05.001.
- [11] Lagali N, Poletti E, Patel DV, et al. Focused tortuosity definitions based on expert clinical assessment of corneal subbasal nerves [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56 (9): 5102-5109. DOI:10.1167/iov.15-17284.
- [12] Kallinikos P, Berhanu M, O'Donnell C, et al. Corneal nerve tortuosity in diabetic patients with neuropathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45 (2): 418-422.
- [13] Patel DV, McGhee CN. *In vivo* confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease, and following corneal surgery: a review [J]. *Br J Ophthalmol*, 2009, 93 (7): 853-860. DOI:10.1136/bjo.2008.150615.
- [14] Annunziata R, Kheirikhah A, Aggarwal S, et al. Two-dimensional plane for multi-scale quantification of corneal subbasal nerve tortuosity [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57 (3): 1132-1139. DOI:10.1167/iov.15-18513.
- [15] Liu R, Ma B, Gao Y, et al. Tear inflammatory cytokines analysis and clinical correlations in diabetes and non-diabetes with dry eye [J]. *Am J Ophthalmol*, 2019, 200: 10-15. DOI:10.1016/j.ajo.2018.12.001.
- [16] Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report [J]. *Ocul Surf*, 2017, 15 (3): 276-283. DOI:10.1016/j.jtos.2017.05.008.
- [17] Mocan MC, Durukan I, Irkec M, et al. Morphologic alterations of both the stromal and subbasal nerves in the corneas of patients with diabetes [J]. *Cornea*, 2006, 25 (7): 769-773. DOI:10.1097/01.ico.0000224640.58848.54.
- [18] Zhang X, Chen Q, Chen W, et al. Tear dynamics and corneal confocal microscopy of subjects with mild self-reported office dry eye [J]. *Ophthalmology*, 2011, 118 (5): 902-907. DOI:10.1016/j.ophtha.2010.08.033.

(收稿日期:2019-03-29 修回日期:2019-06-25)

(本文编辑:刘艳)

· 短篇论著 ·

光线追迹法对 Tetraflex 调节型人工晶状体的表观调节

史鹏飞 尚庆丽 张斌 马景学 苏晶

河北医科大学第二医院眼科,石家庄 050000

史鹏飞,硕士研究生,现在河北省眼科医院,邢台 054000

通信作者:尚庆丽,Email:qinglinshang2013@sina.cn

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.08.010

目前,白内障手术已进入屈光手术时代,如何能在获得良好远视力的同时改善白内障患者术后的近视力,从而使其拥有部分调节功能,成为医患双方共同的目标。理论上,单焦点 IOL 眼是没有调节力的,自 Sugitani 等^[1]在 1979 年首次报道了 IOL 眼的伪调节力以来,国内外众多学者对此进行了研究。然而实际工作中,许多技术手段并不能很好地对动态调节过程中人眼屈光变化进行连续监测,临床数据难以获得,并且各种主观检

测法容易受测量误差的影响。本研究应用中应用计算机光学模拟技术,选择 Tetraflex 调节型 IOL,在 ZEMAX 光学设计软件中建立 Liou-Brennan 精密模型眼,可以设定或消除各种误差,控制各种影响因素,体现出理论方法的优势,对 IOL 眼的调节力变化及影响因素进行分析。

1 材料与方法

采用 ZEMAX 光学设计软件(美国 Radiant Zemax 公司),对