

· 实验研究 ·

飞秒激光蘑菇状穿透性环切角膜对环切口及内皮细胞的影响



扫码观看
手术视频

贾桂祯 施昀青 程梦雅 曹雪倩 王林农

南京医科大学附属南京医院 南京市第一医院眼科 210006

贾桂祯、施昀青现在南京医科大学附属儿童医院

通信作者:王林农, Email: linnongwang@aliyun.com

【摘要】 目的 比较分析不同点/线间距、不同激光能量的飞秒激光蘑菇状穿透性环切角膜对环切口光滑度及内皮细胞的影响,并与普通穿透性环切进行比较。**方法** 根据点/线间距及爆破能量,采用随机数字表法将 48 只猪眼角膜随机分为 6 个组,每组 8 只,其中 A、B、C、D 和 E 组点/线间距分别为 4/4、4/4、8/8、8/8 和 4/2 μm ,爆破能量分别为 1.5、2.0、1.5、2.0 和 2.0 μJ ;F 组为负压环钻进行穿透性环切。使用 200 kHz 的飞秒激光在猪角膜上制作相应的蘑菇状穿透切口,并与环钻环切组进行比较。分别采用光学显微镜和激光扫描电子显微镜评估各组环切口光滑度。采用飞秒激光对 4 片人角膜进行蘑菇状穿透性环切,参数为点/线间距 4/2 μm ,爆破能量为 1.5 μJ ,作为实验组;3 片采用负压环钻进行穿透性环切,作为对照组。对实验组和对照组角膜内皮细胞的丢失率进行观察和比较。**结果** 飞秒激光蘑菇状穿透性环切口完成率均为 100%。光学显微镜下可见, A 组和 E 组环切口剖面最光滑,激光扫描电子显微镜下可见 E 组环切口表面最光滑。光学显微镜下各组猪角膜环切口表面光滑度评分总体比较,差异有统计学意义($F=22.75, P<0.01$),其中 A 组切口光滑度较 B 组高, C 组切口光滑度评分较 D 组高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。激光扫描电子显微镜下各组猪角膜环切口表面光滑度评分总体比较差异有统计学意义($F=122.33, P<0.01$),其中 A 组切口光滑度评分较 B 组高, C 组切口光滑度评分较 D 组高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。实验组角膜内皮细胞形态规则,连接紧密,对照组角膜内皮细胞形态欠规则,连接疏松。实验组平均内皮细胞丢失率为 $(2.2 \pm 1.3)\%$,明显低于对照组的 $(6.7 \pm 2.1)\%$,差异有统计学意义($t=3.569, P<0.05$)。**结论** 飞秒激光可制作完美蘑菇状穿透切口,环切口光滑度明显优于环钻切割。飞秒激光环切对角膜内皮损失更小。

【关键词】 飞秒激光; 蘑菇状穿透性环切; 环切口质量; 内皮细胞丢失率

基金项目: 南京市医学科技发展项目 (ZKX14034)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115985-20200325-00200

Effects of femtosecond laser mushroom-like penetrating ring-cut on ring incision and corneal endothelial cells

Jia Guizhen, Shi Yunqing, Cheng Mengya, Cao Xueqian, Wang Linnong

Department of Ophthalmology, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China

Jia Guizhen and Shi Yunqing are now working at Children's Hospital of Nanjing Medical University

Corresponding author: Wang Linnong, Email: linnongwang@aliyun.com

[Abstract] Objective To evaluate the effect of mushroom-like pattern femtosecond laser enabled penetrating keratoplasty with different laser energies on the ring incision and corneal endothelial cells, and compare with conventional penetrating keratoplasty. **Methods** According to the point/line separation and blasting energy, 48 porcine corneas were randomly divided into 6 groups by using a random number table. In group A, B, C, D and E, the point/line separation was 4/4, 4/4, 8/8, 8/8 and 4/2 μm , and the blasting energy was 1.5, 2.0, 1.5, 2.0 and 2.0 μJ ; In group F, a negative pressure ring drill was used to make penetrating incisions. There were 8 porcine corneas in each group. Femtosecond laser of 200 kHz was used to make corresponding mushroom-shaped penetrating incisions on the porcine corneas, and compared with porcine corneas incisions with a ring drill. The optical and scanning electron microscope images were used to evaluate the glossiness of ring incisions. Four human corneas used femtosecond laser for mushroom-like penetrating incisions with point/line separation 8/8 μm , and blasting energy 2.0 μJ as the experimental group; three human corneas received a negative pressure ring drill for penetrating incisions as the control group. The loss rate of corneal endothelial cells was observed and compared between experimental group and control

group. The donor guardians agreed to the acquisition and use of the donors' cornea and signed informed consents. This study protocol was approved by the Ethics Committee of Nanjing First Hospital. **Results** Femtosecond laser mushroom penetrating ring incision completion rate was 100%. The corneal ring incision in each group was stepped, and sections of ring incisions in group A and group E were glossiest by the light microscope. Sections of ring incisions in group E were glossiest by the laser scanning electron microscope. The overall glossiness scores of the corneal ring incisions among various groups were statistically significantly different by the light microscopy ($F=22.75, P<0.01$). Among them, the glossiness scores in the group A were higher than those in the group B, and the glossiness scores in the group C were higher than those in the group D, with statistically significant differences (both $P<0.05$). The overall glossiness scores of corneal ring incisions among various groups were statistically significantly different by laser scanning electron microscopy ($F=122.33, P<0.01$). Among them, the glossiness scores in the group A were higher than those in the group B, and the glossiness scores in the group C were higher than those in the group D, with statistically significant differences (both $P<0.05$). The corneal endothelial cells showed regular shape and tight arrangement in the experimental group, and irregular shape and loose connections were seen in the control group. The average corneal endothelial cell loss rate in the experimental group was $(2.2\pm1.3)\%$, lower than $(6.7\pm2.1)\%$ of the control group, with a significant difference between them ($t=3.569, P<0.05$). **Conclusions** Femtosecond laser can produce perfect mushroom configuration, and the ring incision glossiness is better in comparison with trephine cutting. Femtosecond laser ring cut can lessen corneal endothelial loss.

[Key words] Femtosecond laser; Mushroom-like penetrating ring-cutting; Ring incision quality; Loss rate of corneal endothelial cells

Fund program: Nanjing Science and Technology Development Project (ZKX14034)

DOI:10.3760/cma.j.cn115985-20200325-00200

飞秒激光是一种以脉冲形式运转的固体激光,通过激光束焦点处的微等离子体形成的光爆破作用对角膜组织进行切削。飞秒激光具有多功能性、精确性、可重复性和安全等优点^[1]。同时飞秒激光作为一种辅助技术,在角膜移植手术中也得到很好的应用^[2]。临床上可以根据患者角膜病变的不同情况来设计不同厚度、直径、形状的飞秒激光角膜植片切口,包括蘑菇状、锯齿形、高帽状、圣诞树形及直线形(图1),以实现个性化治疗^[3-4]。蘑菇状切口上宽下窄,成阶梯状,密闭性好,既可保留较多的内皮细胞,又能增加吻合口面积,提高切口稳定性,常用于置换浅层基质病变较大的角膜全层病变,如角膜白斑和基质层病变严重的圆锥角膜等^[5-7]。目前,飞秒激光在角膜移植手术中激光参数的设定尚缺乏足够经验。飞秒激光可以切割各种病变组织,但角膜瘢痕易造成能量衰减,需要调整参数,增大能量等,使实际角膜切削深度的可预测性下降,对角膜环切口的光滑度及角膜内皮细胞的影响需要观察研究^[8]。本研究探讨飞秒激光制作蘑菇状穿透切口的可行性、有效性和安全性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 角膜来源 48只新鲜猪眼购于南京某屠宰场,用湿房保存,2h内运至实验室。中期保存液保存的7片人角膜由南京市红十字眼库提供,供体编号分

别为170608J、170711J、170710J、171008J、171009J、171203J和171204J。本研究方案经南京医科大学附属南京医院伦理委员会审核批准(伦审号:JKT1415),符合赫尔辛基宣言。供体监护人对供体角膜的取得和使用表示同意,均签署知情同意书。

1.1.2 主要试剂及仪器 中期保存液(EUSOL-C,意大利 Alchimia 公司)。飞秒激光器(Wave Light FS-200,德国鹰视公司);负压环钻(Hessburg-Borron,美国 Instrumen 公司);光学显微镜(Axio Scope A1,德国蔡司公司);激光扫描电子显微镜(SU8010,日本日立公司);眼库型角膜内皮显微镜(EB-3000xyz,美国 HAI 公司)。

1.2 方法

1.2.1 穿透环切口制作及分组 根据点/线间距及爆破能量,用随机数字表法将48只猪眼角膜随机分为6个组,A组为点/线间距 $4/4\mu\text{m}$,爆破能量 $1.5\mu\text{J}$;B组为点/线间距 $4/4\mu\text{m}$,爆破能量 $2.0\mu\text{J}$;C组为点/线间距 $8/8\mu\text{m}$,爆破能量 $1.5\mu\text{J}$;D组为点/线间距 $8/8\mu\text{m}$,爆破能量 $2.0\mu\text{J}$;E组为点/线间距 $4/2\mu\text{m}$,爆破能量 $2.0\mu\text{J}$;F组为负压环钻进行穿透性环切,每组8只。将猪眼角膜48只依次固定于人工前房上,40只用飞秒激光器制作蘑菇状穿透角膜环切口。观察各组环切口完成情况:分离器分离可获取植片视为切口完成;分离器分离不能完全获取植片,环切口需用剪刀剪开视为切口未完成。每组环切口完成率=完成例数/总例

数 $\times 100\%$ 。

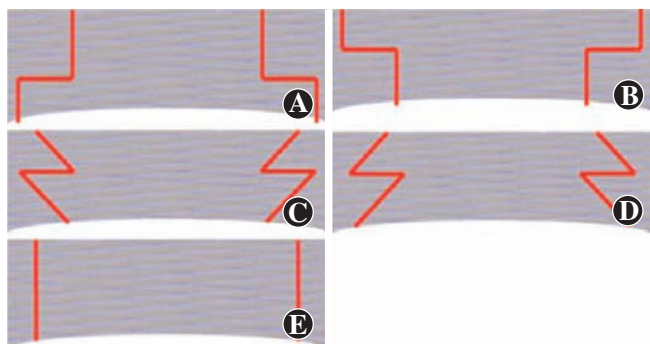


图 1 穿透环切口角膜示意图 A:高帽状 B:蘑菇状 C:锯齿形 D:圣诞树形 E:直线形

Figure 1 Schematic diagram of penetrating ring-cutting into cornea A: top hat-like B: mushroom-like C: zigzag-like D: Christmas tree-like E: straight shaped

1.2.2 猪角膜穿透环切口光滑度的评估 A、B、C、D、E 和 F 组各取 4 个标本,用质量分数 4% 多聚甲醛缓冲液固定,去除上皮,石蜡包埋,5 μm 厚切片,置于载玻片上,苏木精-伊红染色。每个猪角膜标本有 2 个植床组织块,各取 2 帧切片图像。光学显微镜下,4 名医师对图像中后切口和横切口(前、后环切口之间)的光滑度打分,取其平均值。分组信息对 4 名医师设盲。切口光滑度分级标准:最光滑为 1 分;次光滑为 2 分;中等光滑为 3 分;粗糙为 4 分;最粗糙为 5 分^[9]。

1.2.3 激光扫描电子显微镜下猪角膜穿透性环切口光滑度评估 A、B、C、D、E 和 F 组各取 4 个标本,用质量分数 2% 戊二醛 0.1 mmol/L 磷酸盐缓冲液固定,梯度乙醇脱水,叔丁醇干燥后覆盖银^[9]。每个猪眼球标本有 2 个植床组织块,每个组织块的后切口和横切口(前、后环切口之间)各取 1 帧图像。4 名医师在激光扫描电子显微镜下对图像中后切口和横切口(前、后环切口之间)的光滑度评分,取其平均值^[10]。光滑度评分标准同 1.2.2。

1.2.4 人角膜内皮细胞丢失率观察 4 片人角膜使用飞秒激光进行蘑菇状穿透性环切(视频 1:飞秒激光压平人工前房上的角膜,由深至浅穿透性环形切割,分离环切口桥状连接,获得角膜植片),点/线间距为 4/2 μm ,爆破能量为 1.5 μJ ,作为实验组;3 片使用负压环钻进行穿透性环切,作为对照组。术前用眼库型角膜内皮显微镜计算单位面积内的内皮细胞数。在人工前房上制作穿透性切口后,在光学显微镜下撕去植片后弹力层,内皮面朝上置于载玻片上,质量分数 0.25% 锥虫蓝染色 3 min,磷酸盐缓冲液漂洗,质量分数 0.2% 茜素红染色 1 min,磷酸盐缓冲液漂洗,0.25%

锥虫蓝复染 3 min,磷酸盐缓冲液漂洗后加盖玻片。锥虫蓝着色内皮细胞,茜素红着色细胞间连接。光学显微镜下任意选取 4 个视野拍摄,计算术后单位面积内皮细胞数。角膜内皮细胞丢失率=(术前单位面积内角膜内皮数-术后单位面积内角膜内皮数)/术前单位面积内角膜内皮数 $\times 100\%$ 。比较实验组与对照组角膜内皮细胞丢失率。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计分析。本研究中计量资料经 Shapiro-Wilk 检验证实符合正态分布,以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示;各组方差经 Levene 检验方差齐;光学显微镜、激光扫描电子显微镜下各组环切口的光滑度总体比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD- t 检验;实验组与对照组内皮细胞丢失率比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组猪角膜环切口完成率比较

40 只猪角膜用飞秒激光制作的蘑菇状穿透性环切口,8 只猪眼角膜使用环钻进行穿透环切。2 种方式环切口完成率均为 100%。

2.2 各组猪角膜环切口形态学表现

光学显微镜下可见,A、B、C、D、E 和 F 组角膜环切口呈阶梯状,A 组和 E 组环切口剖面最光滑,B 组和 C 组次之,D 组和 F 组环切口剖面最粗糙(图 2)。

激光扫描电子显微镜下可见,A、B、C、D、E 和 F 组角膜阶梯状环切口,E 组环切口表面最光滑,其次是 A、B、C 和 D 组,F 组环切口表面最粗糙(图 3)。

2.3 各组猪角膜环切口表面光滑度评分比较

光学显微镜下,各组猪角膜环切口表面光滑度评分总体比较差异有统计学意义($F = 22.75, P < 0.01$),其中 B 组和 C 组切口光滑度评分较 A 组低,D 组切口光滑度评分较 B 组低,E 组切口光滑度评分较 B 组高,D 组切口光滑度评分较 C 组低,F 组切口光滑度评分较 E 组低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 1)。

激光扫描电子显微镜下,各组猪角膜环切口表面光滑度评分总体比较差异有统计学意义($F = 122.33, P < 0.01$);其中 B 组和 C 组切口光滑度评分较 A 组低,D 组切口光滑度评分较 B 组低,E 组切口光滑度评分较 B 组高,D 组切口光滑度评分较 C 组低,F 组切口光滑度评分较 E 组低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 1)。

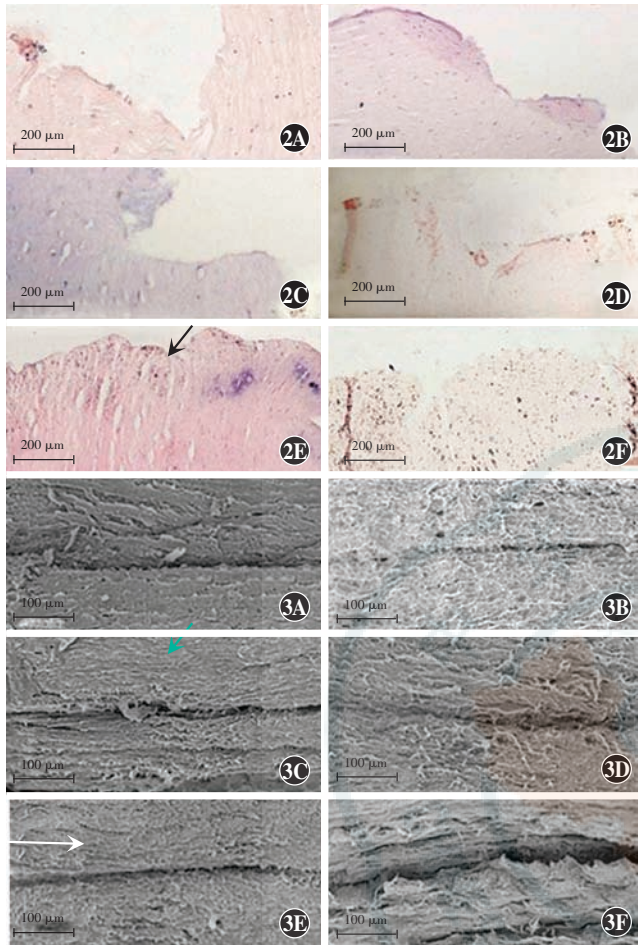


图 2 各组环切口的组织病理学表现 (HE ×100, 标尺 = 200 μm) A 组和 E 组环切口剖面最光滑, B 组和 C 组次之, D 组和 F 组环切口剖面最粗糙 黑色箭头示阶梯状切口 图 3 各组环切口超微结构表现 (×100, 标尺 = 100 μm) E 组环切口表面最光滑, 其次是 A、B、C 和 D 组, F 组环切口表面最粗糙 白色箭头示切口表面最光滑

Figure 2 Histopathological manifestations of ring incisions among various groups (HE ×100, bar = 200 μm) Sections of ring incisions in group A and group E were glossiest, followed by group B and group C, which in group D and group F were roughest The black arrow indicated the stepping notch Figure 3 Ultrastructure performance of ring incisions among various groups (×100, bar = 100 μm) The corneal tissue of the circular incisions in group E were glossiest, followed by group A, B, C and D, while group F was the roughest The white arrow indicated the glossiest notch

表 1 各组角膜环切口光滑度评分比较 (mean±SD)
Table 1 Comparison of ring incision glossiness scores among six groups (mean±SD)

组别	样本量	光学显微镜下切口光滑度下评分	激光扫描电子显微镜下切口光滑度评分
A 组	4	1.81±0.32	1.69±0.43
B 组	4	2.69±0.68 ^a	2.47±0.21 ^a
C 组	4	2.89±0.43 ^a	3.53±0.21 ^a
D 组	4	4.03±0.60 ^{bc}	4.00±0.24 ^{bc}
E 组	4	1.50±0.27 ^b	1.24±0.08 ^b
F 组	4	4.44±0.51 ^d	4.71±0.19 ^d
F 值		22.75	122.33
P 值		<0.05	<0.05

注:与 A 组比较, ^a $P<0.05$;与 B 组比较, ^b $P<0.05$;与 C 组比较, ^c $P<0.05$;与 E 组比较, ^d $P<0.05$ (单因素方差分析, LSD- t 检验)
Note: Compared with group A, ^a $P<0.05$; compared with group B, ^b $P<0.05$; compared with group C, ^c $P<0.05$; compared with group E, ^d $P<0.05$ (one-way ANOVA, LSD- t test)

2.4 各组人角膜内皮细胞的形态学表现

实验组角膜内皮细胞形态基本规则,排列基本紧密;对照组角膜内皮细胞形态欠规则,连接疏松(图 4)。

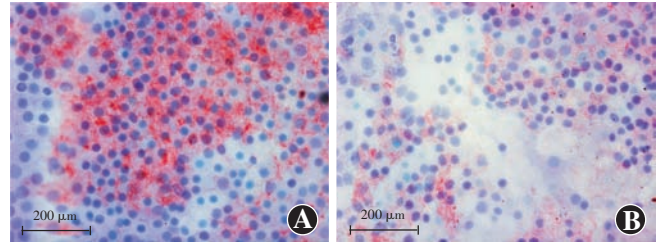


图 4 各组人角膜内皮细胞形态学表现 (锥虫蓝和茜素红, 标尺 = 200 μm) A: 实验组角膜内皮细胞形态尚规则, 连接基本紧密 B: 对照组角膜内皮细胞形态欠规则, 连接疏松

Figure 4 Morphological manifestations of human corneal endothelial cells between the two groups (trypan blue and alizarin red, bar = 200 μm) A: The corneal endothelial cells showed regular morphology and tight connections in the experimental group B: The corneal endothelial cells had irregular morphology and loose connections in the control group

2.5 各组人角膜内皮细胞丢失率比较

实验组角膜内皮细胞丢失率明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) (表 2)。

表 2 各组人角膜内皮细胞丢失率比较 (mean±SD, %)
Table 2 Comparison of endothelial cell loss rate between the two groups (mean±SD, %)

组别	样本量	内皮细胞丢失率
实验组	4	2.2±1.3
对照组	3	6.7±2.1
t 值		3.569
P 值		0.016

注: (独立样本 t 检验)
Note: (independent sample t test)

3 讨论

传统角膜移植手术是药物治疗无效的角膜盲患者复明的主要治疗手段。负压真空环钻的应用可获得相对光滑的环切口, 但仍然可能发生眼内结构损伤、不完全环切、环切口倾斜、内皮面吻合口闭合不全、极高度散光、不规则散光等并发症^[11]。飞秒激光辅助角膜移植手术可以提高手术精准性和安全性, 为 FS-PKP 联合白内障囊外摘出及人工晶状体植入三联手术带来了可能, 其在切割角膜深基质层精准性也较好^[12]。飞秒激光辅助大气泡深板层角膜移植术不仅可以去除病变的基质层, 恢复角膜的透明性, 同时可保留内皮^[13-14]。

本研究发现, 同等点/线间距, 爆破能量越大, 评分越高, 环切口越粗糙; 同等爆破能量, 点/线间距越大,

评分越高,环切口越粗糙;同等点间距及爆破能量,线间距越大,评分越高,环切口越粗糙;飞秒激光组环切口明显较环钻组光滑。环钻组光滑度与飞秒激光参数为点/线间距 8/8 μm 、爆破能量 2.0 μJ 的 D 组相似, E 组光滑度最好,明显优于环钻切割。飞秒参数点/线间距越小,爆破能量越小,环切口越光滑。临床上采用点/线间距 4/2 μm 、爆破能量 1.5~2.0 μJ 的参数进行飞秒激光环形穿透切割,由于能量降低,其切口光滑度应该比环钻光滑。点/线间距 4/2 μm 是最小值,在其不变情况下,透明角膜可以采用 1.5 μJ 能量切割,而对于混浊的角膜,可适当加大至 2.0 μJ ,以确保其切口光滑度仍然较优。

本研究中发现飞秒激光穿透性环切较普通环钻对角膜内皮细胞损伤更小。Angunawela 等^[15]和 Kim 等^[16]研究发现,环钻切割动物角膜较飞秒激光会发生更多的内皮细胞损伤,且切口愈合更慢。Kimakura 等^[9]研究发现,飞秒激光辅助板层角膜移植术中板层厚度小于 100 μm 会损伤角膜内皮细胞,建议飞秒激光制作角膜植片时厚度应大于 100 μm 。本研究应用中飞秒激光进行穿透环切,切口以外的角膜内皮细胞相对安全,故飞秒激光穿透环切是安全的,而传统环钻环切机械性操作过多,可能是角膜内皮细胞损失较多的原因。

此外,本研究发现光学显微镜与激光扫描电子显微镜下数据分析结果不完全一致,这可能与以下因素有关:(1)与光学显微镜相比,激光扫描电子显微镜图像更清晰,更易观察光滑度;(2)图中基质纤维可能会影响光滑度的判断;(3)主观评分受图片像素和人为因素影响。

本研究存在一定局限性。首先,中国角膜供体稀缺,成本高。本研究中环切口光滑度分析使用的是猪角膜,其解剖结构与人不同,可能会影响研究结果。其次,因角膜数量限制,并未研究飞秒激光不同参数对角膜内皮细胞的影响;同时本研究中仅使用 1 种飞秒激光机器的 1 种切割术式。其他不同脉冲能量、不同频率的飞秒激光机器及不同飞秒激光切割术式可能会产生不同的结果。尽管有上述局限性,但本实验从飞秒激光不同参数的角度来研究对角膜环切口及角膜内皮细胞的影响,为临床研究提供了理论依据,具有一定的指导作用。鉴于相同点间距,能量越小,切口越光滑,临床上采用参数为点/线间距 4/2 μm 、爆破能量 1.5~2.0 μJ 的飞秒激光制作穿透性切口,其光滑度可能优于普通环钻切割。

飞秒激光不同参数设置对角膜环切口光滑度有显著影响。与普通环钻相比,飞秒激光环切对角膜内皮细胞损失影响要更小。本研究为临床上 FS-PKP 常用

飞秒参数的设定提供了一定的实验支持。飞秒激光制作蘑菇状穿透切口是可行的,有效性和安全性较好。

利益冲突 所有作者均声明不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Kymionis GD, Kankariya VP, Plaka AD, et al. Femtosecond laser technology in corneal refractive surgery: a review[J]. J Refract Surg, 2012, 28(12): 912-920. DOI: 10.3928/1081597X-20121116-01.
- [2] Kamiya K, Kobashi H, Shimizu K, et al. Clinical outcomes of penetrating keratoplasty performed with the VisuMax femtosecond laser system and comparison with conventional penetrating keratoplasty[J/OL]. PLoS One, 2014, 9(8): e105464[2019-03-03]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0105464>. DOI: 10.1371/journal.pone.0105464.
- [3] Bahar I, Kaiserman I, McAllum P, et al. Femtosecond laser-assisted penetrating keratoplasty: stability evaluation of different wound configurations[J]. Cornea, 2008, 27(2): 209-211. DOI: 10.1097/ICO.0b013e31815b7d50.
- [4] Baradaran-Rafii A, Eslami M. Femtosecond laser-assisted corneal transplantation[J]. Br J Ophthalmol, 2013, 97(6): 675-676. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2012-302196.
- [5] Angunawela RI, Riau A, Chaurasia SS, et al. Manual suction versus femtosecond laser trephination for penetrating keratoplasty: intraocular pressure, endothelial cell damage, incision geometry, and wound healing responses[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(6): 2571-2579. DOI: 10.1167/iovs.11-8403.
- [6] Lee HP, Zhuang H. Biomechanical study on the edge shapes for penetrating keratoplasty[J]. Comput Methods Biomech Biomed Engin, 2012, 15(10): 1071-1079. DOI: 10.1080/10255842.2011.571677.
- [7] Cheng YY, Tahzib NG, van Rij G, et al. Femtosecond laser-assisted inverted mushroom keratoplasty[J]. Cornea, 2008, 27(6): 679-685. DOI: 10.1097/QAL.0b013e31815bad0c.
- [8] Callou TP, Garcia R, Mukai A, et al. Advances in femtosecond laser technology[J]. Clin Ophthalmol, 2016, 10: 697-703. DOI: 10.2147/OPHT.S99741.
- [9] Kimakura M, Sakai O, Nakagawa S, et al. Stromal bed quality and endothelial damage after femtosecond laser cuts into the deep corneal stroma[J]. Br J Ophthalmol, 2013, 97(11): 1404-1409. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2013-303328.
- [10] Zhang C, Bald M, Tang M, et al. Interface quality of different corneal lamellar-cut depths for femtosecond laser-assisted lamellar anterior keratoplasty[J]. J Cataract Refract Surg, 2015, 41(4): 827-835. DOI: 10.1016/j.jcrs.2014.08.031.
- [11] Stechschulte SU, Azar DT. Complications after penetrating keratoplasty[J]. Int Ophthalmol Clin, 2000, 40(1): 27-43. DOI: 10.1097/00004397-200040010-00005.
- [12] 曹雪倩, 王林农, 周如侠. 飞秒激光蘑菇状切口穿透性角膜移植联合白内障摘除术的临床研究[J]. 中国实用眼科杂志, 2017, 35(8): 779-784. DOI: 10.3760/j.issn.1006-4443.2017.08.008. Cao XQ, Wang LN, Zhou RX. Clinical research of femtosecond laser mushroom incision penetrating corneal transplantation combined cataract extraction[J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2017, 35(8): 779-784. DOI: 10.3760/j.issn.1006-4443.2017.08.008.
- [13] 周李, 樊映川, 鲁齐. 飞秒激光深基质切削供体角膜基质面的规则性评估[J]. 国际眼科杂志, 2017, 17(1): 174-176. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2017.1.49. Zhou L, Fan YC, Lu Q. Irregularity of human donor lamellar surface after femtosecond laser deep stroma cutting[J]. Int Eye Sci, 2017, 17(1): 174-176. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2017.1.49.
- [14] 陆燕, 余婷, 段烟艺, 等. 飞秒激光辅助的大气泡法深板层角膜移植治疗圆锥角膜早期观察[J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(1): 64-65. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.01.013.
- [15] Angunawela RI, Riau A, Chaurasia SS, et al. Manual suction versus femtosecond laser trephination for penetrating keratoplasty: intraocular pressure, endothelial cell damage, incision geometry, and wound healing responses[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(6): 2571-2579. DOI: 10.1167/iovs.11-8403.
- [16] Kim JH, Choi SK, Lee D. The comparison of femtosecond laser-assisted penetrating keratoplasty with conventional surgery in terms of endothelial safety: ex vivo study using porcine eyes[J]. Cornea, 2009, 28(7): 812-816. DOI: 10.1097/ICO.0b013e318197ec0f.

(收稿日期: 2020-02-25)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)