

· 临床研究 ·

角膜上皮基底神经丛结构拼图法对全视网膜光凝后糖尿病患者角膜神经损伤的评估

黄淑兰¹ 赵少贞¹ 王效武² 杨纪忠² 郑晓汾² 韩玉萍² 赵炬伟² 侯广平² 于花²

¹天津医科大学眼科医院 天津医科大学眼视光学院 天津医科大学眼科研究所 国家眼耳鼻喉疾病临床医学中心天津市分中心 天津市视网膜功能与疾病重点实验室 300384; ²山西省眼科医院, 太原 030002

通信作者: 于花, Email: yvonne3234323@126.com

【摘要】 目的 采用结构拼图观察糖尿病患者全视网膜光凝 (PRP) 前后角膜上皮基底神经丛 (SNP) 的变化, 探讨 PRP 对 SNP 的损伤及相关机制。方法 采用随机对照研究方法, 于 2019 年 4—11 月纳入拟在山西省眼科医院行 PRP 治疗的 2 型糖尿病合并双眼糖尿病视网膜病变 (DR) IV 期的患者 57 例 114 眼, 采用随机数字表法将患者分为水平-垂直激光组和垂直-水平激光组。其中水平-垂直激光组 29 例 29 眼, 光凝顺序为颞侧-鼻侧-下方-上方; 垂直-水平激光组 28 例 28 眼, 光凝顺序为下方-上方-颞侧-鼻侧。选择病情较重的眼为治疗眼, 对侧眼为对照眼, 分别于 PRP 治疗前、每次光凝后 1 周和 PRP 完成后 1 个月采用角膜激光扫描共焦显微镜 (CCM) 采集 SNP 涡状结构及其周围 2~3 mm 区域的图像, 采用 Photoshop CC 2017 图像处理软件合成拼图, 于 Neuron J 图像分析软件中测量涡状区神经纤维长度 (NFL); 于每次光凝后采用简式 McGill 疼痛问卷调查患者激光术后治疗眼疼痛情况; 比较患者不同眼别及不同光凝顺序组间不同观察时间点 SNP 的 NFL 变化。结果 治疗眼 PRP 后有 11 眼出现不同程度 SNP 神经结构缺失的神经损伤表现, 对照眼 SNP 神经纤维未观察到明显变化。不同观察时间点治疗眼与对照眼 NFL 总体比较差异有统计学意义 ($F_{\text{眼别}} = 2.020$, $P = 0.039$; $F_{\text{时间}} = 4.062$, $P = 0.001$)。水平-垂直激光组在第 1 次光凝后和第 2 次光凝后出现光凝侧 SNP 结构缺失; 垂直-水平激光组在第 3 次光凝后和第 4 次光凝后出现光凝侧 SNP 结构缺失。2 个组间治疗眼 NFL 总体比较差异无统计学意义 ($F_{\text{分组}} = 0.099$, $P = 0.754$), 治疗前后不同时间点 NFL 总体比较差异有统计学意义 ($F_{\text{时间}} = 5.231$, $P < 0.001$)。PRP 后治疗眼出现疼痛者 9 例, 其中 7 例疼痛发生于第 1 次光凝后。结论 DR 患者 PRP 后可出现 SNP 损伤, 水平径线光凝时容易导致光凝侧的 SNP 损伤。

【关键词】 糖尿病视网膜病变; 角膜; 神经损伤; 全视网膜光凝; 角膜上皮基底神经丛; 涡状结构; 结构拼图法

基金项目: 山西省眼科医院院内青年基金项目 (q201804)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200615-00436

Evaluation of corneal nerve damage in diabetic patients after panretinal photocoagulation based on the wide-field mosaic analysis of corneal subbasal nerve plexus

Huang Shulan¹, Zhao Shaozhen¹, Wang Xiaowu², Yang Jizhong², Zheng Xiaofen², Han Yuping², Zhao Juwei², Hou Guangping², Yu Hua²

¹Tianjin Key Laboratory of Retinal Functions and Diseases, Tianjin Branch of National Clinical Research Center for Ocular Disease, Eye Institute and School of Optometry, Tianjin Medical University Eye Hospital, Tianjin 300384, China; ²Shanxi Eye Hospital, Taiyuan 030002, China

Corresponding author: Yu Hua, Email: yvonne3234323@126.com

【Abstract】 **Objective** To explore the damage of panretinal photocoagulation (PRP) to the subbasal nerve plexus (SNP) and its related mechanisms by comparing SNP changes in wide-field mosaic between before and after PRP treatment in diabetic patients. **Methods** A randomized controlled study was conducted. Fifty-seven patients (114 eyes) with type 2 diabetes mellitus and binocular diabetic retinopathy (DR) stage IV to receive PRP treatment in Shanxi Eye Hospital from April to November 2019 were enrolled. The subjects were randomly divided into horizontal-vertical laser group and vertical-horizontal laser group according to a random number table. Twenty-nine eyes from 29 patients were assigned to the horizontal-vertical laser group with the photocoagulation sequence of

temporal-nasal-inferior-superior. Twenty-eight eyes from 28 patients were assigned to the vertical-horizontal laser group with the photocoagulation sequence of inferior-superior-temporal-nasal. The severer eyes of each subject were chosen as the treatment eye and the contralateral eyes were chosen as the control eye. Corneal confocal laser scanning microscopy (CCM) was performed before PRP treatment, 1 week after each photocoagulation, and 1 month after the completion of PRP treatment to collect images of the SNP over an area of 2–3 mm around the whorl-like pattern. Captured images at each time were merged into one image by using the Photoshop CC 2017 image processing software, and then the nerve fiber length (NFL) of whorl-like pattern was measured by Neuron J image analysis software. McGill pain questionnaire was used to investigate the pain of patients after each photocoagulation. The NFL changes of SNP at different time points were compared between different eyes and different photocoagulation sequence groups. The study protocol adhered to the Declaration of Helsinki and was approved by an Ethics Committee of Shanxi Eye Hospital (No. 201804b). Written informed consent was obtained from each patient prior to entering the study cohort. **Results** After PRP treatment, there were different degrees of neural structure loss of SNP nerve fibers in 11 treatment eyes, but there was no significant change in SNP nerve fibers in the control eyes. There were significant differences in NFL between the treatment eyes and the control eyes at various time points ($F_{eyes} = 2.020, P = 0.039$; $F_{time} = 4.062, P = 0.001$). In the horizontal-vertical laser group, different degrees of neural structure loss on the photocoagulation side were found in SNP nerve fibers after the first and second photocoagulation. In the vertical-horizontal laser group, different degrees of neural structure loss on the photocoagulation side were found in SNP nerve fibers after the third and fourth photocoagulation. There was no significant difference in NFL of treatment eyes between the two groups ($F_{group} = 0.099, P = 0.754$), but there was a significant difference in NFL at various time points before and after treatment ($F_{time} = 5.231, P < 0.001$). There were 9 (9/57) patients who complained of pain after PRP, which occurred at the first time of photocoagulation in 7 of them. **Conclusions** SNP damage may occur after PRP in patients with DR, and SNP is prone to be damaged on the photocoagulation side when performing horizontal photocoagulation.

[Key words] Diabetic retinopathy; Cornea; Nerve damage; Panretinal photocoagulation; Corneal subbasal nerve plexus; Whorl-like pattern; Wide-field mosaic

Fund program: Shanxi Eye Hospital Fund for Young Scholars (q201804)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200615-00436

糖尿病是临床常见的慢性代谢性疾病,可引起全身多种组织器官的损害,在中国的患病率约为 11.6%^[1]。糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病严重的眼部并发症,其在糖尿病人群中的患病率高达 23%^[2]。全视网膜光凝术(panretinal photocoagulation, PRP)可有效阻止 DR 的进展^[3]。但是,PRP 在发挥治疗作用的同时也会对眼组织的正常结构和功能造成一定影响,如局部热量扩散导致 Bruch 膜破裂、脉络膜和神经纤维层损伤^[4-5]。近年来,PRP 对眼前节的影响也日益受到关注。研究表明,氩激光光凝会明显加重增生期 DR 患者的角膜神经损伤^[6]。但也有研究发现 PRP 治疗后 6 个月和未接受 PRP 治疗的增生期 DR 患者角膜中央区角膜上皮基底神经丛(subbasal nerve plexus, SNP)密度并无明显差异^[7]。角膜激光扫描共焦显微镜(corneal confocal laser scanning microscopy, CCM)是活体角膜神经检测的主要手段。CCM 观察视野小且缺乏定位功能,不能保证对同一部位进行重复检查,由此获得的神经参数具有高度不确定性。因此需设立 CCM 检查的定位标志,以保证纵向研究中图像采集的一致性。

SNP 神经纤维呈放射状向中央聚集,最终在角膜顶点鼻下方 1~2 mm 处聚集形成一个旋涡状集合,称为涡状结构^[8]。这一结构形态特殊,容易辨识,可能成为 CCM 检查的理想定位标志^[9]。Edwards 等^[10]以涡状结构为起始和终止的标志设计了 CCM 图像采集流程,并利用计算机软件将检查得到的单张图像拼接合成大范围的 SNP 结构拼图,在此基础上再进行参数分析。这种方法不仅扩大了观察视野,使研究者获得更多的形态学信息,而且可针对同一区域进行重复测量,使神经参数分析具有更高的准确性和稳定性^[11],从而有效克服了 CCM 检查设备的局限性。本研究拟采用 SNP 结构拼图法观察 PRP 治疗前后 SNP 的变化并探讨其发病机制,为 PRP 治疗过程中角膜神经损伤的临床预防和治疗相关眼表病变提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用随机对照研究方法,纳入 2019 年 4—11 月在山西省眼科医院就诊、经荧光素眼底血管造影确诊为 2 型糖尿病合并双眼 DR IV 期的患者 57 例 114 眼,其

中男 24 例 48 眼,女 33 例 66 眼。采用随机数字表法将患者分为水平-垂直激光组和垂直-水平激光组。水平-垂直激光组 29 例 58 眼,其中男 11 例 22 眼,女 18 例 36 眼;平均年龄(55.01±4.49)岁;平均糖尿病病程(12.92±2.80)年。垂直-水平激光组 28 例 56 眼,其中男 13 例 26 眼,女 15 例 30 眼;平均年龄(54.94±4.15)岁;平均糖尿病病程(12.74±2.67)年。纳入标准:(1)双眼眼底病变符合 DR IV 期诊断标准^[12],即在非增生期 DR,如微动脉瘤、视网膜硬性渗出、出血和棉绒斑的基础上出现视网膜新生血管或视盘新生血管;(2)年龄 50~65 岁;(3)经内分泌科确诊为 2 型糖尿病,且病程为 10~15 年;(4)糖化血红蛋白水平为 6.5%~7.0%;(5)对数视力表单眼视力>0.1;(6)眼压正常;(7)眼表无明显炎症表现,角膜光滑、透明;(8)同意接受检查并能按时完成随访者。排除标准:(1)因瞳孔过小或玻璃体积血无法完成 PRP 者;(2)合并黄斑水肿或新生血管性青光眼者;(3)合并其他眼底血管性疾病或先天异常者;(4)有眼外伤、眼部手术及激光治疗史者;(5)有干眼、角膜斑翳、翼状胬肉、圆锥角膜、高度近视、变应性结膜炎、感染性角膜炎、葡萄膜炎、青光眼或眼部持续用药史者;(6)有角膜接触镜佩戴史者;(7)有除糖尿病以外的其他影响神经功能的系统性疾病和相关治疗史者;(8)1 型糖尿病或其他特殊类型的糖尿病患者;(9)糖尿病合并酮症酸中毒或高渗综合征患者;(10)有结缔组织病者;(11)有慢性肝脏或肾脏疾病者;(12)PRP 或随访期间接受抗血管内皮生长因子药物或内眼手术治疗者;(13)随访期间需要补充激光治疗者。2 个组患者各基线特征比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)(表 1)。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,经山西省眼科医院医学伦理委员会审核批准(批文号:201804b),所有受检者对本研究目的和方法知情并自愿参加本研究,所有受检者均签署知情同意书。

表 1 2 个组受检者基线特征比较
Table 1 Comparison of the baseline characteristics between the two groups

| 组别 | 例数 | 性别 (男/女) ^a | 年龄 (mean±SD,岁) ^b | 糖尿病病程 (mean±SD,年) ^b |
|--------------|----|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| 水平-垂直激光组 | 29 | 11/18 | 55.01±4.49 | 12.92±2.80 |
| 垂直-水平激光组 | 28 | 13/15 | 54.94±4.15 | 12.74±2.67 |
| t/χ^2 值 | | 0.616 | 0.058 | 0.281 |
| P 值 | | 0.433 | 0.951 | 0.780 |

(a: χ^2 检验; b: 独立样本 t 检验)

(a: χ^2 test; b: Independent samples t -test)

1.2 方法

1.2.1 眼科检查 分别于 PRP 治疗前,治疗 1 周(第 1 次光凝后 1 周)、2 周(第 2 次光凝后 1 周)、3 周(第 3 次光凝后 1 周)、4 周(第 4 次光凝后 1 周)和 PRP 完成后 1 个月行裂隙灯显微镜(SLM-8E,重庆康华瑞明科技股份有限公司)检查、裂隙灯显微镜下前置镜检查和非接触性眼压计(CT-80A,日本 Topcon 公司)测量,明确患者眼表是否有明显炎症,角膜是否存在斑翳、新生血管、增生物以及上皮是否完整,虹膜是否红变,前房是否存在炎症反应等,眼压是否正常以及眼底是否符合 DR IV 期表现,激光后是否有玻璃体积血等并发症。由同一位经验丰富医生采用频域光相干断层扫描仪(Spectralis OCT Blue Peak,德国海德堡工程有限公司)行荧光素眼底血管造影以评估双眼 DR 病情,视网膜无灌注区面积越大、新生血管数量越多或出现视盘新生血管,则说明病情越重。

1.2.2 PRP 治疗 根据荧光素眼底血管造影结果选择患者 DR 病情较重眼作为治疗眼,对侧眼作为对照眼。治疗眼治疗前采用复方托吡卡胺滴眼液[参天制药(中国)有限公司]点眼以充分扩瞳,采用盐酸丙美卡因滴眼液(美国爱尔康公司比利时分公司)点眼 2 次行表面麻醉。由同一位经验丰富的医生采用 SupraScan 577 多点扫描激光器(法国光太医疗公司)分 4 次完成标准 PRP,每次间隔 1 周。水平-垂直激光组先行 PRP 治疗时先行水平子午线方向的视网膜光凝,光凝顺序为颞侧-鼻侧-下方-上方;垂直-水平激光组先行垂直子午线方向视网膜光凝,光凝顺序为下方-上方-颞侧-鼻侧。光凝采用方形矩阵模式,周边视网膜因弧度变化导致聚焦困难或邻近大血管处给予单点模式补充治疗。每次视网膜光凝光斑数为 600~800 个,疗程结束时,光斑总数达到 2 500~3 000 个。激光参数:光斑直径 100~300 μm ;功率 100~200 mW;曝光时间 0.05 s;光斑间隔 1/2 光斑直径;光凝强度达到 T_{so} 分级 III 级轻~中度光斑反应。每次激光结束后均采用普拉洛芬滴眼液(山东海山药业有限公司)点眼,4 次/d,持续 1 个月。

1.2.3 疼痛程度评估 每次视网膜光凝后采用简式 McGill 疼痛问卷^[13]对患者进行问卷调查并评分,内容包括疼痛分级指数、现时疼痛强度和视觉模拟评分。疼痛分级指数包含 11 个感觉项和 4 个情绪项,结果分为无、轻、中、重 4 项,分别计为 0、1、2、3 分;现时疼痛强度分为无痛、轻度不适、不适、难受、可怕的痛和极为痛苦 6 项,分别计为 0、1、2、3、4、5 分,评估时根据患者主观感受在相应分值上作记号;视觉模拟评分是使用



1 把长 10 cm 的标尺, 0~10 cm 相应地记为 0~10 分, 0 分表示无痛, 10 分代表难以忍受的剧烈疼痛或难受至想要摘除眼球的程度。评分时在标尺上用笔标出能代表自己发作时疼痛或难受程度的相应位置, 医生根据患者标出的位置评估分数。总分为 3 种评分之和, 评分越高表示疼痛越严重。每例患者共完成 4 次调查问卷, 取平均值及重复率高者作为该患者的最终调查结果。

1.2.4 CCM 检查及局部神经形态图像的获取 采用海德堡 II 代激光断层扫描系统(HRT-II, 德国海德堡工程有限公司)的 Rostock 角膜模块进行 CCM 检查。角膜接触帽与镜头之间的耦合剂为卡波姆滴眼液(美国博士伦公司)。检查前用盐酸丙美卡因滴眼液(美国爱尔康公司比利时分公司)点眼行表面麻醉。扫描深度定位到 SNP 层后, 首先查找涡状结构, 然后以该结构为中心以“回”字形方式向外移动物镜扩展检查范围, 使用“section”模式快速采集涡状区及其周围 2~3 mm 范围的 SNP 图像。去除不聚焦或神经结构不全的图像, 可以得到 200~400 张 SNP 图像。将图像在 Photoshop CC 2017 图像处理软件(美国奥多比系统公司)中载入堆栈, 手动把具有重复区域的单张图像拼接合成局部神经形态图。拼接完成后由完成 CCM 检查的医生检查拼图的准确性, 并纠正原始拼接处的图像错位或神经缺失。以涡状结构为中心裁剪 700 μm × 700 μm 大小的图片, 采用 ImageJ 软件的 Neuron J 插件进行神经参数定量分析, 计算单位面积的神经纤维长度(nerve fiber length, NFL)。

1.2.5 评估指标 主要评估指标为不同眼别及不同光凝顺序组间不同观察时间点 SNP 的 NFL 变化; 次要评估指标为 PRP 后治疗眼的疼痛程度。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计分析。计量资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布, 以 mean \pm SD 表示; 计数资料以频数表示。水平-垂直激光组与垂直-水平激光组间患者年龄和糖尿病病程差异比较

采用独立样本 *t* 检验, 组间性别构成差异比较采用 χ^2 检验; 治疗眼和对照眼及不同激光组各时间点 NFL 总体差异比较均采用重复测量两因素方差分析, 组内多重比较采用 Tukey 检验, 同一时间点治疗眼和对照眼或不同组间 NFL 比较采用配对 *t* 检验。采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗眼和对照眼各观察时间点 SNP 比较

在 PRP 治疗眼中, 接受 PRP 治疗后出现不同程度 SNP 神经结构缺失的神经损伤表现者 11 眼, 以颞侧多见, 其次为鼻侧; 对照眼 SNP 神经纤维未观察到明显变化。不同观察时间点治疗眼与对照眼 NFL 总体比较差异均有统计学意义 ($F_{\text{眼别}} = 2.020, P = 0.039$; $F_{\text{时间}} = 4.062, P = 0.001$); 治疗眼 PRP 治疗 1、2、3、4 周时 NFL 均明显低于治疗前, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), PRP 治疗后 1 个月 NFL 低于 PRP 前, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 对照眼各观察时间点 NFL 与治疗前比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。治疗眼与对照眼 PRP 治疗前 NFL 比较差异无统计学意义 ($P = 0.991$); PRP 治疗 1、3、4 周治疗眼 NFL 均低于对照眼, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 治疗眼 PRP 治疗 2 周和治疗后 1 个月 NFL 均低于对照眼, 但差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (表 2)。

2.2 不同光凝顺序组间 SNP 损伤情况比较

水平-垂直激光组治疗眼第 1 次光凝(颞侧光凝)后出现颞侧 SNP 神经纤维部分或全部缺失者 6 例 6 眼, 第 2 次光凝(鼻侧光凝)后出现鼻侧 SNP 神经纤维缺失者 1 例 1 眼; 垂直-水平激光组治疗眼第 3 次光凝(颞侧光凝)后出现 SNP 颞侧神经纤维部分或全部缺失者 3 例 3 眼(图 1), 第 4 次光凝(鼻侧光凝)后出现鼻侧 SNP 神经纤维缺失者 1 例 1 眼。2 个组间治疗眼 NFL 值总体比较差异无统计学意义 ($F_{\text{分组}} = 0.099, P = 0.754$), 但治疗前后不同时间点 NFL 总体比较差异有

表 2 治疗眼和对照眼 PRP 前后不同时间点 NFL 比较 (mean \pm SD, mm/mm²)
Table 2 Comparison of NFL at various time points between treated eyes and fellow eyes (mean \pm SD, mm/mm²)

| 眼别 | 眼数 | 不同时间点 NFL | | | | | |
|-----|----|------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------|
| | | 治疗前 | 治疗 1 周 | 治疗 2 周 | 治疗 3 周 | 治疗 4 周 | 治疗后 1 个月 |
| 对照眼 | 57 | 14.90 \pm 3.03 | 14.82 \pm 3.09 | 14.76 \pm 2.94 | 14.71 \pm 2.96 | 14.83 \pm 3.06 | 14.73 \pm 2.83 |
| 治疗眼 | 57 | 15.27 \pm 3.48 | 14.27 \pm 3.32 ^{ab} | 14.45 \pm 3.45 ^a | 14.35 \pm 3.28 ^{ab} | 14.33 \pm 3.34 ^{ab} | 14.54 \pm 3.41 |

注: $F_{\text{眼别}} = 2.020, P = 0.039$; $F_{\text{时间}} = 4.062, P = 0.001$; $F_{\text{交互作用}} = 2.591, P = 0.025$ 。与治疗前 NFL 比较, ^a $P < 0.05$; 与各时间点对照眼 NFL 比较, ^b $P < 0.05$ (重复测量两因素方差分析, Tukey 检验) NFL: 神经纤维长度

Note: $F_{\text{group}} = 2.020, P = 0.039$; $F_{\text{time}} = 4.062, P = 0.001$; $F_{\text{interaction}} = 2.591, P = 0.025$. Compared with pretreatment NFL of treatment eyes, ^a $P < 0.05$; compared with NFL of fellow eyes at corresponding time points, ^b $P < 0.05$ (Repeated measurement two-way ANOVA, Tukey test) NFL: nerve fiber length

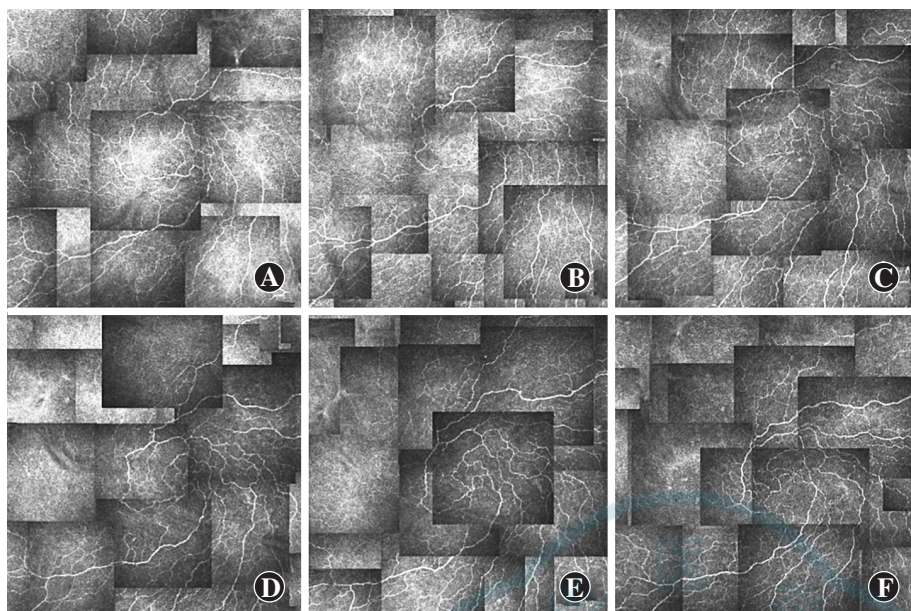


图 1 垂直-水平激光组治疗眼治疗前后不同时间点涡状区 CCM 图像 (×800, 观察视野 1.0 mm×1.0 mm) 可见在第 3 次光凝后治疗眼出现颞侧神经纤维缺失 A: 治疗前 B: 治疗 1 周 C: 治疗 2 周 D: 治疗 3 周 E: 治疗 4 周 F: 治疗后 1 个月
Figure 1 CCM images of the whorl-like region at various time points in the vertical-horizontal laser group (×800, view field: 1.0 mm×1.0 mm) The loss of the temporal nerve fiber was found after the third photocoagulation A: Before treatment B: One week after the first PRP C: One week after the second PRP D: One week after the third PRP E: One week after the fourth PRP F: One month after PRP treatment

统计学意义 ($F_{\text{时间}} = 5.231, P < 0.001$)。水平-垂直激光组 PRP 治疗 1 周、2 周以及 PRP 治疗后 1 个月 NFL 均低于治疗前, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 垂直-水平激光组治疗前后不同时间点间 NFL 比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 水平-垂直激光组与垂直-水平激光组 PRP 治疗前 NFL 比较差异无统计学意义 ($P = 0.994$); PRP 治疗 1 周、2 周时水平-垂直激光组 NFL 均低于垂直-水平激光组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); PRP 治疗 3 周、4 周以及治疗后 1 个月水平-垂直激光组与垂直-水平激光组 NFL 比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (表 3)。

究采用先进的拼图技术, 借助 SNP 结构拼图良好的图像再现性和稳定性对角膜神经参数进行评估, 发现 PRP 治疗后部分患者出现不同程度的神经损伤, 且治疗后 NFL 均较治疗前下降, 这一结果证实 PRP 可以导致 DM 患者角膜神经损伤。

目前 PRP 导致角膜神经损伤的确切机制尚未完全阐明, 多数研究者推测可能与激光对睫状后长神经的热损伤有关。角膜的感觉神经起源于睫状后长神经, 其在眼底位于水平子午线附近, 形如面条状, 呈黄白色或杏黄色, 大多数在赤道稍后处即可分辨, 前至锯齿缘。早在 20 世纪 80 年代即有视网膜光凝后患者出现调节功能障碍和瞳孔对光反应异常的报道^[17-20]。龚颂建^[21]也曾报道了 2 例患者接受半导体激光视网膜光凝后出现瞳孔散大、对光反射消失和角膜上皮糜烂, 根据患者的临床表现多诊断为睫状神经损伤。但是, 该研究只是根据临床体征进行的推断, 并没有睫状神经损

2.3 PRP 后治疗眼疼痛程度比较

简式 McGill 疼痛问卷调查显示, PRP 后出现疼痛者 9 例 9 眼, 总疼痛评分为 6.78 ± 2.73 , 其中 7 例 7 眼第 1 次光凝后出现疼痛。

3 讨论

DM 患者的角膜被称为“高危角膜”, 对外界侵袭的抵抗能力明显低于正常人^[14]。Ozdemir 等^[15]研究认为, PRP 是 2 型糖尿病患者眼表异常的高危因素。Neira-Zalentein 等^[16]研究发现, DR 患者行 PRP 治疗后角膜知觉明显减退。角膜知觉是神经功能的重要体现, 推测 PRP 可能会造成角膜神经损伤, 但是由于活体角膜神经检测手段的局限性, 目前国内外关于 PRP 对角膜神经的影响尚未达成共识^[6-7]。本研究

表 3 不同光凝顺序组治疗眼不同时间点 NFL 比较 (mean±SD, mm/mm²)
Table 3 Comparison of NFL at various time points between the two groups
 (mean±SD, mm/mm²)

| 组别 | 眼数 | 不同时间点 NFL | | | | | |
|----------|----|------------|--------------------------|--------------------------|------------|------------|-------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗 1 周 | 治疗 2 周 | 治疗 3 周 | 治疗 4 周 | 治疗后 1 个月 |
| 垂直-水平激光组 | 28 | 15.00±3.75 | 14.69±3.65 | 14.89±3.65 | 14.31±3.43 | 14.34±3.66 | 14.79±3.55 |
| 水平-垂直激光组 | 29 | 15.53±3.25 | 13.87±2.98 ^{ab} | 14.02±3.26 ^{ab} | 14.38±3.18 | 14.32±3.01 | 14.30±3.31 ^a |

注: $F_{\text{组别}} = 0.099, P = 0.754; F_{\text{时间}} = 5.231, P < 0.001; F_{\text{交互作用}} = 2.894, P = 0.015$ 。与治疗前 NFL 比较, ^a $P < 0.05$; 与各时间点垂直-水平激光组 NFL 比较, ^b $P < 0.05$ (重复测量两因素方差分析, Tukey 检验) NFL: 神经纤维长度
 Note: $F_{\text{group}} = 0.099, P = 0.754; F_{\text{time}} = 5.231, P < 0.001; F_{\text{interaction}} = 2.894, P = 0.015$ 。Compared with respective pretreatment NFL, ^a $P < 0.05$; compared with NFL of the vertical-horizontal laser group at corresponding time points, ^b $P < 0.05$ (Repeated measurement two-way ANOVA, Tukey test) NFL: nerve fiber length

伤的直接证据,并且视网膜光凝采用的是氩离子或者半导体激光器,易产生热效应损伤。由于视网膜和脉络膜对氩激光具有较高的吸收率,因此氩离子激光器容易产生过多的光热效应;而半导体激光器输出的是 810 nm 的长波长激光,作用部位可深达脉络膜层^[22]。因此,这 2 种激光的热效应比较容易透过脉络膜而刺激位于脉络膜上腔的睫状后长神经。随着激光技术的改进,目前临床上治疗 DR 常用 577 nm 的黄色激光,这种激光被认为是 PRP 治疗中的理想波长,国内外尚缺乏 577 nm 黄色激光对角膜神经影响的报道。本研究根据睫状后长神经在眼底的分布位置调整光凝顺序,分别观察了水平径线光凝和垂直径线光凝时 SNP 的改变,发现 577 nm 黄色激光在进行水平径线光凝时部分患者光凝侧 SNP 神经纤维部分或全部缺失,NFL 明显下降;但在进行垂直方向光凝时并未发现明显的神经纤维缺失。这一结果间接说明 577 nm 黄色激光在进行水平径线光凝时也可以通过热传导损伤睫状后长神经,进而影响角膜 SNP。

以往还有研究发现颞侧和鼻侧周边视网膜光凝时患者容易出现疼痛,认为与睫状后长神经的分布有关^[23]。然而在本研究中,疼痛发生的时间以第 1 次光凝时多见,并未发现疼痛与视网膜的光凝部位有明显关系,考虑造成此差异的原因除了与患者情绪、心理素质以及治疗过程中的配合程度等因素有关外,还可能与激光波长和光凝模式的选择有关。

综上所述,本研究通过拼图技术证实了 PRP 可以导致 DR 患者角膜神经损伤,并且根据睫状后长神经在眼底的分布位置进一步调整光凝顺序,分别观察了水平径线光凝和垂直径线光凝时 SNP 的改变,验证了 PRP 通过热传导损伤睫状后长神经,进而影响角膜 SNP 的理论。本研究结果提示我们在进行水平子午线方向的视网膜光凝时应当注意避开睫状后长神经,在对其周围视网膜进行光凝时也应适当调整激光能量,尽量避免损伤睫状后长神经。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 黄淑兰:参与选题、设计及资料的分析和解释,起草文章,根据编辑部的修改意见进行论文修改;赵少贞:指导选题、设计,对文章的知识性内容作批评性审阅;王效武、杨纪忠、郑晓汾、韩玉萍:技术或材料支持,资料的分析和解释;赵炬伟、侯广平:实施研究;于花:实施研究,收集数据,参与选题、设计及资料的分析和解释,修改论文中关键性结果和结论,根据编辑部的修改意见进行论文修改

参考文献

[1] Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013[J]. JAMA, 2017, 317(24): 2515-2523. DOI: 10. 1001/jama. 2017. 7596.

[2] Pan CW, Wang S, Qian DJ, et al. Prevalence, awareness, and risk factors of diabetic retinopathy among adults with known type 2 diabetes mellitus in an urban community in China[J]. Ophthalmic Epidemiol, 2017, 24(3): 188-194. DOI: 10. 1080/09286586. 2016. 1264612.

[3] Klein BE. Overview of epidemiologic studies of diabetic retinopathy[J]. Ophthalmic Epidemiol, 2007, 14(4): 179-183. DOI: 10. 1080/09286580701396720.

[4] Lee CJ, Smith JH, Kang-Mieler JJ, et al. Decreased circulation in the feline choriocapillaris underlying retinal photocoagulation lesions[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(6): 3398-3403. DOI: 10. 1167/iovs. 10-6560.

[5] Muqit MM, Gray JC, Marcellino GR, et al. *In vivo* laser-tissue interactions and healing responses from 20-vs 100-millisecond pulse Pascal photocoagulation burns[J]. Arch Ophthalmol, 2010, 128(4): 448-455. DOI: 10. 1001/archophthalmol. 2010. 36.

[6] DeCilla S, Ranno S, Carini E, et al. Corneal subbasal nerves changes in patients with diabetic retinopathy: an *in vivo* confocal study[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(11): 5155-5158. DOI: 10. 1167/iovs. 09-3384.

[7] Misra S, Ahn HN, Craig JP, et al. Effect of panretinal photocoagulation on corneal sensation and the corneal subbasal nerve plexus in diabetes mellitus[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(7): 4485-4490. DOI: 10. 1167/iovs. 12-10571.

[8] Patel DV, McGhee CN. Mapping of the normal human corneal sub-basal nerve plexus by *in vivo* laser scanning confocal microscopy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46: 4485-4488. DOI: 10. 1167/iovs. 05-0794.

[9] 于花, 苗英彬, 赵少贞, 等. 糖尿病视网膜病变程度与角膜上皮基底神经丛涡状区改变的关系[J]. 中华实验眼科杂志, 2020, 38(9): 767-772. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-2019-0618-00269.

Yu H, Miao YB, Zhao SZ, et al. Relationship between degree of diabetic retinopathy and changes of corneal sub-basal nerve plexus in the whorl-like region[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2020, 38(9): 767-772. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-2019-0618-00269.

[10] Edwards K, Ptchard N, Cosschalk K, et al. Wide-field assessment of the human corneal subbasal nerve plexus in diabetic neuropathy using a novel mapping technique[J]. Cornea, 2012, 31(9): 1078-1082. DOI: 10. 1097/ico. 0b013e318245c012.

[11] Kim G, Singleton JR, Mifflin MD, et al. Assessing the reproducibility of quantitative *in vivo* confocal microscopy of corneal nerves in different corneal locations[J]. Cornea, 2013, 32: 1331-1338. DOI: 10. 1097/ICO. 0b013e31829dd7f8.

[12] 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014年)[J]. 中华眼科杂志, 2014, 50(11): 851-865. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2014. 11. 014.

[13] 李君, 冯艺, 韩济生, 等. 中文版简版 McGill 疼痛问卷-2 的制定与多中心验证[J]. 中国疼痛医学杂志, 2013, 19(1): 42-46. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-9852. 2013. 01. 014.

Li J, Feng Y, Han JS, et al. Multi-centered linguistic adaptation and validation of short-form mcgill pain questionnaire-2[J]. Chin J Pain Med, 2013, 19(1): 42-46. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-9852. 2013. 01. 014.

[14] Markoulli M, Flanagan J, Tummanapalli SS, et al. The impact of diabetes on corneal nerve morphology and ocular surface integrity[J]. Ocul Surf, 2018, 16(1): 45-57. DOI: 10. 1016/j. jtos. 2017. 10. 006.

[15] Ozdemir M, Buyukbese MA, Cetinkaya A, et al. Risk factors for ocular surface disorders in patients with diabetes mellitus[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2003, 59(3): 195-199. DOI: 10. 1016/s0168-8227(02) 00244-9.

[16] Neira-Zalentein W, Holopainen JM, Tervo TM, et al. Corneal sensitivity

in diabetic patients subjected to retinal laser photocoagulation [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52 (8) : 6043-6049. DOI: 10. 1167/ iovs. 10-7054.

[17] Schiødt SN. Effects on choroidal nerves after panretinal xenon arc and argon laser photocoagulation [J]. Acta Ophthalmol (Copenh), 1984, 62 (2) : 244-255. DOI: 10. 1111/j. 1755-3768. 1984. tb08401. x.

[18] Menchini U, Davì G, Leoni G, et al. Complications of argon laser retinal buckling performed in myopic subjects presenting rhegmatogenous degenerations [J]. Ophthalmologica, 1988, 196 (1) : 11-14. DOI: 10. 1159/000309867.

[19] Riss B, Binder S. Corneal sensitivity after photocoagulation for diabetic retinopathy [J]. Albrecht Von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol, 1981, 217 (2) : 143-147. DOI: 10. 1007/BF00418989.

[20] Lobes LA Jr, Bourgon P. Pupillary abnormalities induced by argon laser photocoagulation [J]. Ophthalmology, 1985, 92 (2) : 234-236. DOI: 10. 1016/s0161-6420 (85) 34047-2.

[21] 龚颂建. 半导体激光凝致睫状神经损伤二例 [J]. 中华眼底病杂志, 2000, 16 (1) : 50. DOI: 10. 3760/j. issn: 1005-1015. 2000. 01. 034.

[22] 蔡克波, 沈泽民. 兔视网膜激光凝的组织学研究 [J]. 上海第二医科大学学报, 2005, 25 (8) : 819-822. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-8115. 2005. 08. 016.

Cai KB, Shen ZM. Histopathologic study of laser photocoagulation in rabbit retina [J]. Acad J Shanghai Second Med Univer, 2005, 25 (8) : 819-822. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-8115. 2005. 08. 016.

[23] Ozdek S, Lonneville YH, Onol M, et al. Assessment of nerve fiber layer in diabetic patients with scanning laser polarimetry [J]. Eye (Lond), 2002, 16 (6) : 761-765. DOI: 10. 1038/sj. eye. 6700207.

(收稿日期: 2021-04-20 修回日期: 2021-09-28)

(本文编辑: 张宇)

读者 · 作者 · 编者

眼科常用英文缩略语名词解释

- | | |
|---|--|
| AMD: 年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration) | MTT: 四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium) |
| ANOVA: 单因素方差分析 (one-way analysis of variance) | NF: 核转录因子 (nuclear factor) |
| BUT: 泪膜破裂时间 (breakup time of tear film) | OCT: 光相干断层扫描 (optical coherence tomography) |
| DR: 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy) | OR: 优势比 (odds ratio) |
| EAU: 实验性自身免疫性葡萄膜炎 (experimental autoimmune uveitis) | PACG: 原发性闭角型青光眼 (primary angle-closure glaucoma) |
| EGF: 表皮生长因子 (epidermal growth factor) | PCR: 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction) |
| ELISA: 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay) | RGCs: 视网膜节细胞 (retinal ganglion cells) |
| ERG: 视网膜电图 (electroretinogram) | POAG: 原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma) |
| FFA: 荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography) | RB: 视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma) |
| FGF: 成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor) | RPE: 视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium) |
| GFP: 绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein) | RNV: 视网膜新生血管 (retinal neovascularization) |
| IFN- γ : γ 干扰素 (interferon- γ) | RP: 视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa) |
| IL: 白细胞介素 (interleukin) | S I t: 基础泪液分泌试验 (Schirmer I test) |
| IOL: 人工晶状体 (intraocular lens) | shRNA: 小发夹 RNA (short hairpin RNA) |
| IRBP: 光间受体视黄类物质结合蛋白 (interphotoreceptor retinoid binding protein) | siRNA: 小干扰 RNA (small interfering RNA) |
| LASIK: 准分子激光角膜原位磨镶术 (laser in situ keratomileusis) | α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin) |
| ICGA: 吲哚菁绿血管造影 (indocyanine green angiography) | TAO: 甲状腺相关眼病 (thyroid-associated ophthalmopathy) |
| LECs: 晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells) | TGF: 转化生长因子 (transforming growth factor) |
| miRNA: 微小 RNA (microRNA) | TNF: 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor) |
| MMP: 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase) | UBM: 超声生物显微镜 (ultrasound biomicroscope) |
| mTOR: 哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin) | VEGF: 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor) |
| | VEP: 视觉诱发电位 (visual evoked potential) |

本刊对稿件组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)