

· 临床研究 ·

角膜移植手术前后眼库供体角膜内皮细胞形态和密度变化及其影响因素分析

姜晓月¹ 庄晓云¹ 杨彪² 高利² 高华² 史伟云² 李素霞²¹山东第二医科大学临床医学院眼科学教研室, 潍坊 261053; ²山东第一医科大学附属眼科研究所 山东第一医科大学附属眼科医院(山东省眼科医院) 山东省眼科学重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地 山东第一医科大学眼科学院, 济南 250021

通信作者: 李素霞, Email: lsuxiasusu@163.com

【摘要】 目的 分析角膜移植手术前后眼库供体角膜内皮细胞形态和密度的变化及其影响因素。**方法** 采用系列病例观察研究, 纳入 2020 年 7 月至 2021 年 6 月于山东省眼库获取的用于穿透角膜移植术(PKP)和内皮移植术(EK)的 118 枚供体角膜, 其中 99 枚(占 83.90%)用于 PKP, 19 枚(占 16.10%)用于 EK, 分析眼库捐献者基本信息及角膜质量检测结果, 与角膜移植术后 1 个月角膜内皮显微镜检测的内皮细胞密度(ECD)进行对比, 观察手术前后内皮细胞的形态变化, 分析导致角膜 ECD 和形态改变的因素。**结果** 在采用 PKP 的 99 枚供体角膜中, 不同年龄组术前眼库供体 ECD 和术后 1 个月植片 ECD 总体比较差异均有统计学意义($F=18.136, 5.936$, 均 $P<0.01$), 其中 31~60 岁组和 >60 岁组术前供体 ECD 和术后 1 个月植片 ECD 均低于 0~30 岁组, >60 岁组术前供体 ECD 和术后 1 个月植片 ECD 均低于 31~60 岁组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。不同供体死亡原因组术前眼库供体 ECD 总体比较差异有统计学意义($F=4.524, P<0.01$), 其中外伤意外组术前眼库供体 ECD 均高于心脑血管疾病组、慢性器官衰竭组和恶性肿瘤组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。死亡-取材时间 ≤ 6 h 组术前眼库供体 ECD 为 $(2\,577.66 \pm 284.63)$ 个/ mm^2 , 高于 >6 h 组的 $(2\,372.46 \pm 399.75)$ 个/ mm^2 , 差异有统计学意义($t=2.289, P<0.05$)。术后 1 个月, 不同保存-手术时间组 ECD 总体比较差异有统计学意义($F=6.201, P<0.01$), 其中 ≤ 3 d 组植片 ECD 均高于 >3~6 d 组和 >6 d 组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。EK 组术前供体角膜 ECD 明显高于 PKP 组, 差异有统计学意义($t=-2.660, P<0.01$)。术后 1 个月 PKP 组植片 ECD 明显高于 EK 组, 差异有统计学意义($t=4.286, P<0.01$)。PKP 组和 EK 组 ECD 下降率分别为 7.14% (0.01%, 17.69%) 和 31.07% (22.11%, 45.86%), 差异有统计学意义($Z=4.969, P<0.01$)。与无黑区组相比, 有黑区组 PKP 术前眼库供体 ECD 较低, 差异有统计学意义($t=6.789, P=0.011$); 术后 1 个月, 2 个组 ECD 比较差异无统计学意义($t=0.005, P=0.945$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, 保存-手术时间 >6 d、供体死亡原因为恶性肿瘤是影响供体角膜内皮出现黑区的危险因素($OR=9.038, P=0.030; OR=6.577, P=0.018$)。**结论** 捐献者年龄越大, ECD 越低; 供体组织保存-手术时间的延长(>6 d)是导致角膜移植术后 ECD 下降的主要因素, EK 术后早期 ECD 下降率明显高于 PKP。保存-手术时间 >6 d 及供体死亡原因为恶性肿瘤是影响供体角膜内皮出现黑区的主要危险因素, 生理性角膜黑区对术后 ECD 可能无显著影响。

【关键词】 角膜; 内皮细胞; 眼库; 角膜移植术; 穿透角膜移植术; 黑区**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目 (82271059); 泰山学者计划 (tsqn202211343)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20231123-00182

Changes of donor corneal endothelial cell morphology and density from eye bank before and after keratolasty and analysis of influencing factorsJiang Xiaoyue¹, Zhuang Xiaoyun¹, Yang Biao², Gao Li², Gao Hua², Shi Weiyun², Li Suxia²¹Department of Ophthalmology, School of Clinical Medicine, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, China; ²Eye Institute of Shandong First Medical University, Eye Hospital of Shandong First Medical University (Shandong Eye Hospital), State Key Laboratory Cultivation Base, Shandong Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, School of Ophthalmology, Shandong First Medical University, Jinan 250021, China

Corresponding author: Li Suxia, Email: lsuxiasusu@163.com

【Abstract】 Objective To analyze changes of donor corneal endothelial cell density (ECD) and morphology from eye bank before and after keratolasty and the influencing factors. **Methods** An observational case series study was performed. A total of 118 donor corneas, retrieved by the Shandong Province Eye Bank between July 2020 and June 2021 for penetrating keratoplasty (PKP) and endothelial keratoplasty (EK) were included. Among them, 99 corneas



(83.90%) were used for PKP, and 19 (16.10%) for EK. The basic information of donors and the results of corneal quality tests were analyzed and compared with ECD measured by endothelial microscopy one month after keratolasty. Morphological changes in endothelial cells before and after surgery were observed, and factors influencing corneal ECD and morphology were analyzed. This study adhered to the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Shandong Eye Hospital (No. SDSYKYY20170319). Written informed consent was obtained from each subject. **Results** Among the 99 donor corneas for PKP, there were statistically significant differences in preoperative donor corneal ECD and 1-month postoperative ECD of implant among different age groups ($F=18.136$, 5.936 ; both $P<0.01$), which were lower in the 31–60-year-old group and the >60-year-old group than in the 0–30-year-old group and higher in the 31–60-year-old group than in the >60-year-old group, with statistically significant differences (all $P<0.01$). There were statistically significant differences in the preoperative donor corneal ECD among different donor cause of death groups ($F=4.524$, $P<0.01$), which was higher in the traumatic accident group compared to the cardiovascular and cerebrovascular disease group, chronic organ failure group and malignant tumor group (all $P<0.01$). The preoperative donor ECD in the death-tissue retrieval time ≤ 6 hours group was $(2\,577.66 \pm 284.63)$ cells/mm², which was higher than $(2\,372.46 \pm 399.75)$ cells/mm² in the death-tissue retrieval time >6 hours group, with a statistically significant difference ($t=2.289$, $P<0.05$). There were statistically significant differences in 1-month postoperative ECD among the preservation-surgery time ≤ 3 days, 3–6 days, and >6 days groups ($F=6.201$, $P<0.01$), with higher ECD in preservation-surgery time ≤ 3 days groups than in 3–6 days and >6 days groups (both $P<0.01$). The preoperative donor corneal ECD applied to EK was significantly higher than that applied to PKP ($t=-2.660$, $P<0.01$). ECD at 1 month after surgery applied to PKP was significantly higher than that applied to EK ($t=4.286$, $P<0.01$). The ECD reduction rate was 7.14% (0.01%, 17.69%) and 31.07% (22.11%, 45.86%) in PKP group and EK group, respectively, with a statistically significant difference ($Z=4.969$, $P<0.01$). The ECD was lower in the group with dark area than in the non-dark area group before PKP, with a statistically significant difference ($t=6.789$, $P=0.011$). There was no significant difference in ECD at 1 month after keratoplasty between the two groups ($t=0.005$, $P=0.945$). Multivariate logistic regression model results showed that preservation-surgery time >6 days and the cause of donor death being malignant tumor were risk factors for the appearance of dark areas in donor corneal endothelium ($OR=9.038$, $P=0.030$; $OR=6.577$, $P=0.018$). **Conclusions** The older the donor, the lower the ECD. Prolonged preservation-surgery time (>6 days) is the main factor contributing to the decline in ECD after keratolasty. Compared to PKP, there is a higher endothelial cell loss after EK. The tissue preservation-surgery time >6 days and the cause of donor death being malignant tumor are the main risk factors affecting the appearance of dark areas in the donor corneal endothelium. But the presence of physiological dark areas does not significantly influence the ECD after surgery.

[Key words] Cornea; Endothelial cells; Eye bank; Keratolasty; Penetrating keratolasty; Dark areas

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82271059); Taishan Scholar Program (tsqn202211343)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20231123-00182

角膜移植手术是角膜盲患者唯一有效的复明方法^[1],眼库是为角膜盲患者提供角膜供体的机构,为临床提供充足、有可靠质量保障的角膜供体是眼库的使命^[2]。我国眼库发展起步较晚、各地眼库发展不平衡,随着眼库操作技术指南的颁布,眼库建设和管理不断规范^[3-5],我国眼库逐渐实现了对角膜供体从取材、保存及评估到合理分配的完善。供体角膜质量直接影响角膜移植手术后的效果和患者的视觉质量,因此对供体角膜,尤其是内皮细胞密度(endothelial cell density, ECD)和活性的检测,对临床选择角膜供体和评价角膜健康状况有重要的指导意义^[6],同时角膜内皮显微镜的广泛使用亦能提供更加客观准确的评估。目前,对供体角膜质量要求相对高的 2 种手术分别是内皮移植术(endothelial keratolasty, EK)和穿透角膜移植术(penetrating keratoplasty, PKP),供体角膜 ECD 可

以通过内皮显微镜进行检测,但内皮细胞活性通过现有方法无法获得准确的判断。在角膜移植术后早期,由于尚未发生免疫排斥反应、植片感染、慢性功能失代偿及角膜内皮功能病理性下降,供体角膜 ECD 主要受眼库供体状态和手术方式的影响,目前国内外缺乏对其主要影响因素的数据研究。本研究拟通过对比眼库内供体角膜与角膜移植术后早期角膜内皮细胞的指标参数,以期探究角膜移植手术前后角膜 ECD 及形态变化的影响因素,同时了解黑区结构的产生原因及其对角膜内皮细胞的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用系列病例观察研究,纳入 2020 年 7 月至 2021 年 6 月于山东省眼库获取的供体角膜 118 枚,其中 99

枚(占 83.90%)用于 PKP, 19 枚(占 16.10%)用于 EK;男 98 枚(占 83.10%),女 20 枚(占 16.90%);供体年龄 5~79 岁,死亡原因为心脑血管疾病、恶性肿瘤、外伤意外和慢性器官衰竭;遗体常温(占 94.07%)或冷藏(占 5.93%)保存。供体死亡到取材时间为 30 min~17 h 20 min,其中 89.83%的供体角膜于死亡后 6 h 内采集;所有供体在取材后立即保存于 Optisol-GS 保存液中。供体保存到手术时间均在 9 d 以内,其中 75 枚(占 63.56%)在保存 3 d 内手术。纳入标准:(1)术前眼库检测出供体内皮细胞指标;(2)捐献者资料完整,明确记录死因、死亡及取材等时间;(3)术后随访有裂隙灯显微镜及角膜内皮检查结果。排除标准:(1)有全身细菌性、病毒性败血症或脓毒血症、病毒性肝炎、获得性免疫缺陷综合征等绝对禁忌证者;(2)捐献者生前有眼外伤史或眼前节及眼内手术史者;(3)有眼部感染病史或其他任何可能影响角膜内皮的眼部或全身疾病者。本研究由山东第二医科大学临床医学院眼科和山东第一医科大学附属眼科医院联合实施,严格遵循《赫尔辛基宣言》,经山东省眼科医院伦理委员会审核批准(批文号:SDSYKYY20170319),所有供体角膜由捐赠者在世时或有捐赠意愿的死者家属签署捐赠同意书。

1.2 方法

1.2.1 供体信息采集 所有供体角膜由经过培训的专业眼库人员,采用原位角膜切除术^[7]获取。为保证供体角膜质量和保护受体安全性,取材过程中严格遵守无菌原则,取材后将角膜直接置于 4℃ 的中期保存液(Optisol-GS)中,运回眼库后保存在 4℃ 恒温冰箱,使角膜在较低的温度下保持低代谢状态,最大限度地减少对角膜的损伤。由眼库内专人负责记录取材和保存时间,将供体角膜进行编号,同时对捐献者的年龄、性别、死亡原因等信息进行整理。依据我国供体角膜采集的医学参考标准^[8],进行病毒检测,排除 HBV、HCV、HIV、梅毒螺旋体等感染。对冷冻保存液进行细菌、真菌微生物检测,保证材料无污染。

1.2.2 供体分组 将影响角膜内皮细胞形态和密度的因素分为捐献者因素、材料保存因素及手术因素,包括年龄、死亡原因、死亡到取材时间、保存到手术时间、手术方式。其中,依据年龄将供体分为 0~30 岁组、31~60 岁组、>60 岁组;依据死亡-取材时间分为≤6 h 组和>6 h 组;依据保存-手术时间分为≤3 d 组、>3~6 d 组、>6 d 组。

1.2.3 PKP 和 EK 手术 PKP 采用常规手术方法,根据病变大小判断钻切直径,使用角膜环钻钻切角膜

3/4 厚度,穿刺后前房内注射卡巴胆碱注射液缩瞳,注入黏弹剂,剪下病变角膜并清理前房内渗出、积脓等,分离房角。将直径大于植床 0.25 mm 的角膜供体植片置于植床,10-0 尼龙缝线固定,缝合后形成前房。对于 EK,应用飞秒激光制作供体角膜内皮植片备用。做角膜主切口和侧切口,钩除病变角膜内皮;应用角膜内皮推注器将制备好的角膜内皮推入前房内,缝合主切口,平衡盐溶液形成前房,调整内皮位置,最后在前房内注入无菌空气使内皮与角膜紧密结合。术后患者保持仰卧位 4 h。

1.2.4 评估指标 由眼库专业人员对供体角膜进行质量评估,大体观察保存液中的角膜状态,包括角膜透明度、上皮完整性、有无后弹力层皱褶等。将复温后的供体角膜装入角膜内皮反射显微镜(CellChek D,日本 Konan 公司)的固定槽中,将镜头调节至中央角膜,先后调整粗细准焦螺旋,使内皮细胞成像清晰,拍摄至少 3 张内皮细胞图,选择其中 50~100 个细胞,应用内皮反射显微镜供体材料成像系统分析软件对所拍摄的图片进行分析,对同一角膜重复测量 3 次,取平均值,分别记录角膜 ECD、变异系数和六边形细胞比例,同时在清晰且具有代表性的内皮图像中观察视野中是否有黑区存在。使用内皮反射显微镜观察供体角膜内皮细胞上的黑区图像类型(图 1),分析内皮图像中的黑区对角膜植片内皮状态是否有影响。

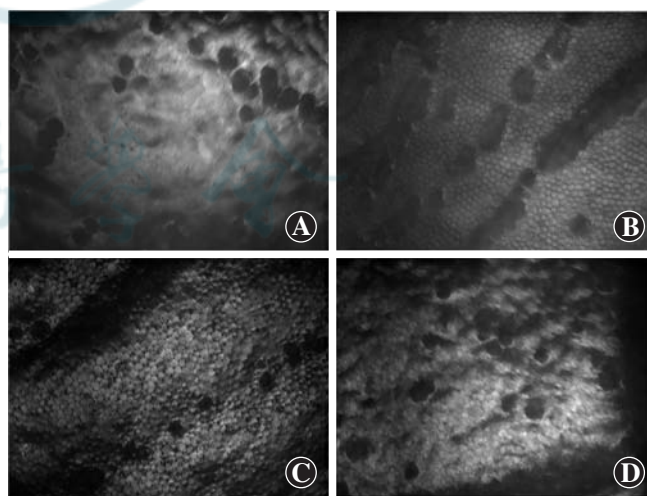


图 1 供体角膜不同类型的黑区图像 A:大量圆形黑区,内皮形态不规则,部分融合 B:多个平行排列的连续条带状黑区,内皮形态规则 C:少量圆形及条带状黑区 D:多个细胞形态规则的类圆形黑区

Figure 1 Images of different types of dark areas on donor corneas A: A large number of round dark areas with irregular endothelial morphology, partially fused B: Plenty of consecutive strips of parallel-arranged dark areas with regular endothelial morphology C: A small amount of round and strips of dark areas D: A large number of round-like dark areas with regular cell morphology

术后 1 个月检测角膜植片状态,由经验丰富的技术人员采用非接触式角膜内皮显微镜(NSP9900 II,日本 Konan 公司)对角膜内皮细胞进行拍摄,受检者取坐位后固定下颌及前额,注视仪器内的固定视标,选取中央区域的角膜内皮进行拍摄,同时使用“中心法”连续选取 75 个以上内皮细胞,仪器自动分析并记录角膜相关参数,观察拍摄的图像中是否有皱褶、黑区等。依据以下公式计算 ECD 下降率: ECD 下降率=(术前供体 ECD-术后植片 ECD)/术前供体 ECD×100%。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计学软件进行统计分析。计量资料数据采用 Shapiro-Wilk 检验或正态性曲线检验进行正态分布检验,符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 描述,2 个组各指标比较采用独立样本 *t* 检验;3 个组及以上各指标总体比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。呈偏态分布的数据以 $M(Q_1, Q_3)$ 描述,2 个组各指标比较采用 Mann-Whitney *U* 检验;3 个组及以上各指标比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验。计数资料以频数和百分比表示。采用多因素 Logistic 回归分析探讨眼库黑区产生的影响因素,以是否发生黑区为因变量(赋值:0 为未发生,1 为发生),自变量分别为保存-手术时间(赋值:0 为 ≤6 d,1 为 >6 d),供体死亡原因(赋值:0 为心脑血管疾病,1 为慢性器官衰竭,2 为恶性肿瘤,3 为外伤意外)。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 供体角膜内皮细胞相关指标

眼库内 118 枚供体角膜均透明,无角膜中央基质混浊,供体角膜 ECD 为 1 537.00~3 401.00 个/mm²,平均(2 582.86±307.33)个/mm²;六边形细胞比例为 38%~68%,平均(52.64±7.32)%;变异率为 28%~49%,平均(37.18±4.09)%;90 枚(占 76.27%)角膜未发现黑区,28 枚(占 23.73%)角膜检测到内皮面黑区结构,其中用于 PKP 的供体角膜有 25 枚存在内皮黑区。

2.2 不同影响因素组角膜 ECD 比较

2.2.1 不同年龄组供体角膜 ECD 比较 在用于 PKP 的 99 枚供体角膜中,不同年龄组术前眼库供体 ECD 和术后 1 个月植片 ECD 总体比较差异均有统计学意义(*F* = 18.136、5.936,均 *P* < 0.01),其中 31~60 岁组和 >60 岁组术前眼库供体 ECD 和术后 1 个月植片 ECD 均低于 0~30 岁组,>60 岁组均低于 31~60 岁组,差异均有统计学意义(均 *P* < 0.01)(表 1)。术后 1 个

月,0~30 岁组、31~60 岁组、>60 岁组 ECD 下降率分别为 10.27% (3.54%, 18.78%)、5.77% (0.00%, 16.58%) 和 10.29% (0.73%, 21.96%),总体比较差异无统计学意义(*H* = 2.343, *P* > 0.05)。

表 1 不同年龄组供体角膜 PKP 手术前后 ECD 比较
($\bar{x} \pm s$, 个/mm²)
Table 1 Comparison of corneal ECD before and after PKP surgery among different donor age groups
($\bar{x} \pm s$, cells/mm²)

组别	样本量	术前眼库供体	术后 1 个月植片
0~30 岁组	9	2 936.33±372.91	2 609.56±349.89
31~60 岁组	73	2 564.84±220.54 ^a	2 382.32±413.54 ^a
>60 岁组	17	2 285.94±364.05 ^{ab}	2 056.12±459.64 ^{ab}
<i>F</i> 值		18.136	5.936
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

注:与 0~30 岁组比较,^a*P* < 0.01;与 31~60 岁组比较,^b*P* < 0.01(单因素方差分析,LSD-*t* 检验) PKP:穿透角膜移植术;ECD:内皮细胞密度
Note:Compared with 0-30 years old group,^a*P* < 0.01;compared with 31-60 years old group,^b*P* < 0.01 (One-way ANOVA, LSD-*t* test) PKP:penetrating keratoplasty;ECD:endothelial cell density

2.2.2 不同供体死亡原因组角膜 ECD 比较 因心脑血管疾病、慢性器官衰竭、恶性肿瘤、外伤意外死亡者分别占 67.68% (67/99)、10.10% (10/99)、13.13% (13/99)、9.09% (9/99)。死亡原因为外伤意外的供体角膜 ECD 最高。不同死亡原因组术前眼库供体 ECD 总体比较差异有统计学意义(*F* = 4.524, *P* < 0.01),其中外伤意外组术前眼库供体 ECD 均高于心脑血管疾病组、慢性器官衰竭组和恶性肿瘤组,差异均有统计学意义(均 *P* < 0.01)。各组术后 1 个月植片 ECD 总体比较差异无统计学意义(*F* = 1.431, *P* > 0.05)(表 2)。死亡原因为心脑血管疾病、慢性器官衰竭、恶性肿瘤、外伤意外的 ECD 下降率分别 7.14% (0.00%, 18.08%)、3.68% (0.00%, 8.33%)、10.80% (1.03%, 21.88%)、9.53% (2.17%, 18.78%),总体比较差异无统计学意义(*H* = 2.952, *P* > 0.05)。

2.2.3 不同供体死亡-取材时间组角膜 ECD 比较 死亡-取材时间 ≤6 h 者有 86 例(占 87.88%),>6 h 者共 13 例(占 12.12%),随着死亡-取材时间的延长,供体角膜 ECD 减少。≤6 h 组术前眼库供体 ECD 高于>6 h 组,差异有统计学意义(*t* = 2.289, *P* < 0.05);术后 1 个月,2 个组植片 ECD 比较差异无统计学意义(*t* = 1.367, *P* = 0.175)(表 3)。≤6 h 组和>6 h 组 ECD 下降率分别为 6.24% (0.00%, 17.06%) 和 11.66% (3.52%, 25.38%),差异无统计学意义(*Z* = -1.524, *P* > 0.05)。

表 2 不同死亡原因组供体角膜 PKP 手术前后 ECD 比较
($\bar{x} \pm s$, 个/ mm^2)

Table 2 Comparison of corneal ECD before and after PKP surgery among different donor cause of death groups

($\bar{x} \pm s$, cells/ mm^2)

组别	样本量	术前眼库供体	术后 1 个月植片
心脑血管疾病组	67	2 552.15±264.74 ^a	2 332.67±428.90
慢性器官衰竭组	10	2 492.40±234.07 ^a	2 479.00±255.30
恶性肿瘤组	13	2 385.54±397.70 ^a	2 197.69±593.88
外伤意外组	9	2 843.44±371.28	2 539.22±347.21
F 值		4.524	1.431
P 值		<0.01	>0.05

注:与外伤意外组比较,^a $P < 0.01$ (单因素方差分析, LSD- t 检验) PKP:穿透角膜移植术;ECD:内皮细胞密度

Note: Compared with the trauma accident group, ^a $P < 0.01$ (One-way ANOVA, LSD- t test) PKP: penetrating keratoplasty; ECD: endothelial cell density

表 3 不同供体死亡-取材时间组供体角膜 PKP 手术前后 ECD 比较($\bar{x} \pm s$, 个/ mm^2)

Table 3 Comparison of corneal ECD before and after PKP surgery among different donor death-to-tissue retrieval time groups ($\bar{x} \pm s$, cells/ mm^2)

组别	样本量	术前眼库供体	术后 1 个月植片
≤6 h 组	86	2 577.66±284.63	2 371.76±408.55
>6 h 组	13	2 372.46±399.75	2 194.69±591.14
t 值		2.289	1.367
P 值		0.024	0.175

注:(独立样本 t 检验) PKP:穿透角膜移植术;ECD:内皮细胞密度

Note: (Independent samples t -test) PKP: penetrating keratoplasty; ECD: endothelial cell density

2.2.4 不同保存-手术时间组角膜 ECD 比较 保存-手术时间≤3 d 组、>3~6 d 组、>6 d 组术前眼库供体 ECD 总体比较差异无统计学意义($F = 0.471$, $P = 0.626$)。术后 1 个月,3 个组植片 ECD 比较差异有统计学意义($F = 6.201$, $P < 0.01$),其中≤3 d 组植片 ECD 均高于>3~6 d 组和>6 d 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$) (表 4)。随着保存-手术时间的延长,角膜 ECD 明显降低,≤3 d 组、>3~6 d 组、>6 d 组 ECD 下降率分别为 5.04% (0.00%, 10.42%)、12.62% (0.36%, 21.87%) 和 21.54% (9.38%, 37.40%),呈上升趋势,总体比较差异有统计学意义($H = 8.201$, $P < 0.05$)。保存时间为 3、6 d 时植片周围亦出现不同程度的水肿(图 2)。

2.2.5 不同手术组 ECD 比较 EK 组术前供体角膜 ECD 明显高于 PKP 组,差异有统计学意义($t = -2.660$, $P < 0.01$)。术后 1 个月 PKP 组植片 ECD 明显高于 EK 组,差异有统计学意义($t = 4.286$, $P < 0.01$) (表 5)。PKP 组和 EK 组 ECD 下降率分别为 7.14% (0.01%, 17.69%) 和 31.07% (22.11%, 45.86%),差异有统计学意义($Z = 4.969$, $P < 0.01$)。

表 4 不同保存-手术时间组供体角膜 PKP 手术前后 ECD 比较($\bar{x} \pm s$, 个/ mm^2)

Table 4 Comparison of corneal ECD before and after PKP surgery among different donor cornea preservation-surgery time groups ($\bar{x} \pm s$, cells/ mm^2)

组别	样本量	术前眼库供体	术后 1 个月植片
≤3 d 组	58	2 575.93±317.38	2 462.79±349.84
>3~6 d 组	36	2 517.00±312.18	2 219.44±500.59 ^a
>6 d 组	5	2 501.00±95.73	1 952.00±459.62 ^a
F 值		0.471	6.201
P 值		0.626	<0.01

注:与≤3 d 组比较,^a $P < 0.01$ (单因素方差分析, LSD- t 检验) PKP:穿透角膜移植术;ECD:内皮细胞密度

Note: Compared with ≤3 days group, ^a $P < 0.01$ (One-way ANOVA, LSD- t test) PKP: penetrating keratoplasty; ECD: endothelial cell density

2.2.6 供体角膜上皮完整与否术后角膜 ECD 比较 用于 PKP 的 99 枚供体角膜中,有 91 例(占 91.92%)上皮完整,8 例(占 8.08%)存在不同程度的上皮缺损。有上皮缺损组和无上皮缺损组术后 1 个月 ECD 分别为 (2 362.33±413.02) 和 (2 191.25±672.65) 个/ mm^2 ,差异无统计学意义($t = 1.062$, $P = 0.291$)。

2.2.7 不同受体病因组术后角膜 ECD 比较 行 PKP 的 99 例患者中,感染性疾病 71 例(占 71.72%)、非感染性疾病 19 例(占 19.19%),二次角膜植片病变 9 例(占 9.09%),其术后 1 个月 ECD 分别为 (2 352.31±457.29)、(2 337.26±444.14) 和 (2 342.22±260.38) 个/ mm^2 ,总体比较差异无统计学意义($F = 0.010$, $P = 0.990$)。

2.2.8 有无角膜内皮黑区组角膜 ECD 比较 在用于 PKP 的供体角膜中,共 25 枚(占 25.25%)存在异常黑区;74 枚(占 74.75%)显像正常,无黑区。与无黑区组相比,有黑区组术前眼库供体 ECD 较低,差异有统计学意义($t = 6.789$, $P = 0.011$);术后 1 个月,2 个组植片 ECD 比较差异无统计学意义($t = 0.005$, $P = 0.945$) (表 6)。

2.3 PKP 手术前后植片黑区变化及影响因素分析

用于 PKP 的供体角膜中,术前 25 枚存在黑区结构,术后 7 枚(占 28.00%)仍可见角膜黑区,18 枚(占 72.00%)内皮镜下无明显黑区出现。4 枚角膜植片 PKP 术前存在圆形或类圆形融合黑区,术后黑区仍存在;5 枚术前有片形态不规则或条带状黑区,术后观察不到黑区(图 3)。

多因素 Logistic 回归分析结果显示,保存-手术时间>6 d、供体死亡原因为恶性肿瘤是影响供体角膜内皮出现黑区的危险因素($OR = 9.038$, $P = 0.030$; $OR = 6.577$, $P = 0.018$) (表 7)。

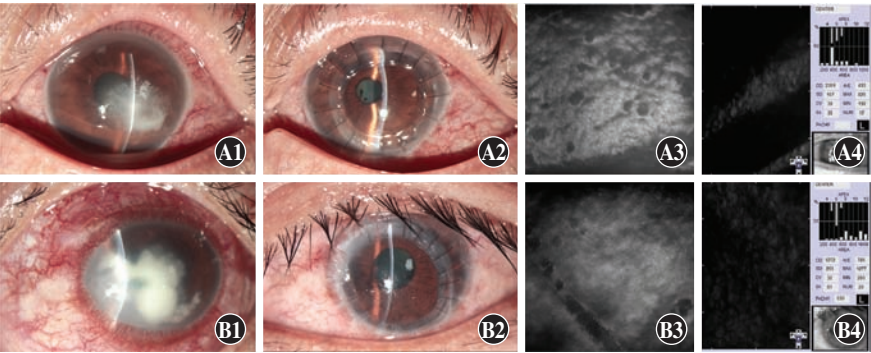


图 2 不同保存时间手术前后裂隙灯显微镜及内皮细胞图像对比 A1:1 例 36 岁真菌性角膜溃疡女性患者术前裂隙灯显微镜图像 A2:该患者使用保存-手术时间为 3 d 的供体角膜术后 1 个月裂隙灯显微镜图像 A3:保存-手术时间为 3 d 的角膜术前眼库供体内皮细胞图像 A4:该患者术后 1 个月植片内皮细胞图像 B1:1 例 40 岁真菌性角膜溃疡男性患者术前裂隙灯显微镜图像 B2:该患者使用保存-手术时间为 6 d 的供体角膜术后 1 个月裂隙灯显微镜图像 B3:保存-手术时间为 6 d 的角膜术前眼库供体内皮细胞图像 B4:该患者术后 1 个月植片内皮细胞图像

Figure 2 Pre- and post-operative slit-lamp microscopy and endothelial cell images of corneas with different storage time A1:Preoperative slit lamp microscopy image of a 36-year-old female patient with fungal corneal ulcer A2:1-month postoperative slit lamp microscopy image of the patient in A1 using a donor cornea with a preservation-surgery time of 3 days A3:Preoperative image of the donor corneal endothelial cells with a preservation-surgery time of 3 days from an eye bank A4:1-month postoperative image of endothelial cells implanted in A3 B1:Preoperative slit lamp microscopy image of a 40-year-old male patient with fungal corneal ulcer B2:1-month postoperative slit lamp microscopy image of the patient in B1 using a donor cornea with a preservation-surgery time of 6 days B3:Preoperative image of the donor corneal endothelial cells with a preservation-surgery time of 6 days from an eye bank B4:1-month postoperative image of endothelial cells implanted in B3

表 5 不同手术方式组手术前后 ECD 比较 ($\bar{x}\pm s$, 个/ mm^2)
Table 5 Comparison of preoperative and postoperative ECD between different surgical procedure groups ($\bar{x}\pm s$, cells/ mm^2)

组别	样本量	术前眼库供体	术后 1 个月植片
PKP 组	99	2 550.72 $\pm$ 307.72	2 348.51 $\pm$ 437.23
EK 组	19	2 750.37 $\pm$ 251.17	1 876.37 $\pm$ 453.64
<i>t</i> 值		-2.660	4.286
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

注:(独立样本 *t* 检验) ECD:内皮细胞密度;PKP:穿透角膜移植术;EK:内皮移植术
Note:(Independent samples *t*-test) ECD:endothelial cell density;PKP:penetrating keratoplasty;EK:endothelial keratolasty

表 6 供体角膜有无黑区组 PKP 手术前后 ECD 比较 ($\bar{x}\pm s$, 个/ mm^2)
Table 6 Comparison of corneal ECD before and after PKP surgery between donor cornea with and without dark areas groups ($\bar{x}\pm s$, cells/ mm^2)

组别	样本量	术前眼库供体	术后 1 个月植片
无黑区组	74	2 596.23 $\pm$ 303.17	2 346.72 $\pm$ 427.31
有黑区组	25	2 416.00 $\pm$ 285.99	2 353.80 $\pm$ 474.55
<i>t</i> 值		6.789	0.005
<i>P</i> 值		0.011	0.945

注:(独立样本 *t* 检验) PKP:穿透角膜移植术;ECD:内皮细胞密度
Note:(Independent samples *t*-test) PKP:penetrating keratoplasty;ECD:endothelial cell density

3 讨论

目前,我国因角膜疾病致盲的患者超过 400 万,且每年仍在以 20 万人的速度不断增加,但每年仅不足 1 万例患者可通过角膜移植手术复明^[3,9-10]。自 20 世纪 60 年代以来,角膜移植术的成功率有了很大提高,然而供体组织的缺乏仍然是一个主要问题,全球范围内的角膜供需比约为 1:70^[11-13]。由于角膜材料稀缺,我国复明性角膜移植手术受限,角膜供体不足成为制约我国角膜病发展的瓶颈问题^[2-3]。

近年来,我国角膜捐献者逐年增多,并且随着眼科显微手术技术的进步,角膜移植手术向着精细化、成分化方向发展^[9]。眼库的主要职责是为临床提供安全、优质的保存角膜,包括采集处理供体角膜、筛选评价角膜质量、合理分配角膜等^[2]。面对仍然紧缺的角膜供应,眼库应根据角膜

供体质量对其进行分级,为不同类型角膜移植手术提供相应质量的角膜供体,实现角膜资源的合理分配,提高角膜供体的利用率。

PKP 和 EK 的一个基本目标是转移活的角膜内皮细胞^[14],手术后角膜内皮细胞的下降率和存活率是值得关注的问题。移植的内皮细胞数量与供体状态有关,包括捐献者的年龄等。角膜 ECD 也受角膜取出时的处理方式、死亡-取材时间、储存介质的性质和角膜保存时间的影响。随后的细胞损失可能由手术操作、术后炎症或异物移植排斥反应等因素造成^[15]。

角膜内皮细胞活性是评价供体质量的重要指标,供体 ECD 对角膜移植术后植片存活有预测价值^[16]。评价角膜供体质量的方法可以通过肉眼大致观察其透明度、厚度,通过裂隙灯显微镜检查是否存在角膜水肿及后弹力层皱褶、上皮缺损程度和整体情况,以及内皮显微镜对内皮细胞相关指标进行检测。角膜内皮细胞不仅可以防止房水进入基质层,而且其具有的钠泵功能可将基质内的水泵到前房以维持角膜的透明性^[17-19]。当角膜内皮细胞发生炎症或损伤后,将导致角膜不同程度的水肿和透明度降低,因此角膜植片的透明度是衡量角膜移植手术成功与否的重要标志^[13,20]。

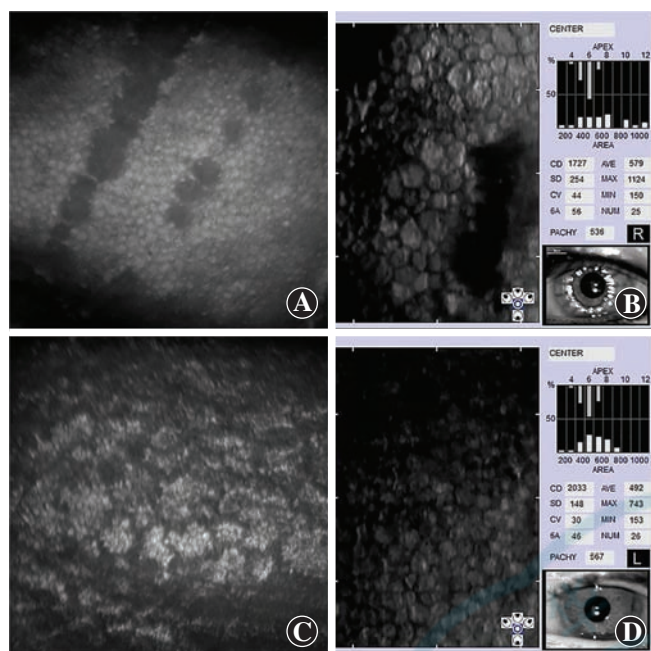


图3 PKP手术前后角膜内皮黑区图像对比 A:78岁男性供体角膜,内皮形态规则,ECD为2151个/mm² B:78岁男性供体植片术后仍可见较大圆形黑区,ECD为1727个/mm² C:28岁男性供体角膜,内皮边界欠清,形态欠规则,ECD为2279个/mm² D:28岁男性供体植片术后内皮细胞形态正常,未见黑区,ECD为2033个/mm²

Figure 3 Comparison of images of corneal endothelial dark areas before and after penetrating keratoplasty A: Cornea from a 78-year-old male donor with regular endothelial morphology and an ECD of 2151 cells/mm² B: Implant from the 78-year-old male donor with a large rounded black area still visible after surgery and an ECD of 1727 cells/mm² C: Cornea from a 28-year-old male donor with unclear endothelial borders and irregular endothelial morphology, and an ECD of 2279 cells/mm² D: Implant from the 28-year-old male donor with normal endothelial cell morphology, no dark area, and an ECD of 2033 cells/mm² after surgery

表7 眼库黑区产生的多因素 Logistic 回归分析
Table 7 Multivariate logistic regression analysis of the dark areas on a cornea from an eye bank

影响因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95% 可信区间
供体死亡原因(恶性肿瘤)	1.884	0.797	5.583	0.018	6.577	1.379-31.371
保存-手术时间(>6 d)	2.201	1.014	4.717	0.030	9.038	1.240-65.901

注:SE:标准误;OR:比值比

Note: SE: standard error; OR: odds ratio

角膜内皮细胞通常无法增殖和再生,缺失时只能由剩余细胞代偿性增大和迁移以维持功能的完整性^[15]。健康人的角膜 ECD 以每年约 0.6% 的平均速度下降^[1,21-23]。研究显示 PKP 术后存在 ECD 超生理性下降现象,且术后 3~6 个月 ECD 下降尤为明显^[7]。

关于角膜内皮细胞与供体年龄之间的关系,在国内外已基本形成一致观点,角膜 ECD 随着供体年龄的增加逐渐减少,较多的细胞损失主要发生在年龄较大

的供体中(66~75岁)^[24-26]。Musch等^[27]提出捐献者年龄越大、捐献者本身内皮细胞数量越多,则 PKP 术后内皮细胞减少幅度越大。而 Borderie 等^[28]认为高龄并不是捐献者的禁忌证,老年捐献者的年龄与角膜质量并无显著相关性。

本研究发现,眼库供体角膜 ECD 有明显的年龄差异,随年龄增长,ECD 降低,并且角膜移植术后仍可见年龄差异的影响。但本研究>60 岁的捐献者平均 ECD 仍可达到 2000 个/mm² 以上,因此仍然适合临床角膜移植使用;并且 3 个年龄段间术后 ECD 下降率并未出现明显差异,证明高龄供体仍然有比较高的临床应用价值。因此本研究认为年龄并不是限制因素,可对老年供体角膜进行内皮显微镜检查,角膜质量合格者可纳入眼库内使用。在临床上,当角膜遭受严重感染或损伤,行治疗性角膜移植手术时,可以适当放宽年龄范围,同时考虑临床上供体、受体年龄的相互配对;而对于增视性角膜移植,对术后视力要求较高者,仍应对供体年龄进行严格筛选。

供体角膜在中期保存液中存放时间延长是影响内皮细胞活性的重要因素。目前已有关于供体角膜 ECD 与保存时间等诸多因素关系的研究。一项对比实验证实,保存在 4℃ 环境中超过 7 d 是导致原发角膜植片功能衰竭的危险因素^[5]。有研究强调,缩短从死亡到取材以及保存的时间间隔可以提高角膜利用率^[24]。Armitage 等^[29]研究表明,供体年龄和组织保存时间是影响器官培养法保存的角膜 ECD 的主要因素,较大的供体年龄和较长的保存时间均会使供体角膜

ECD 降低。本研究发现,不同保存时间对术后早期植片 ECD 及下降率有明显影响,即供体材料保存到手术间隔的时间愈长,术后 ECD 越低,ECD 下降愈明显。因此及时安排手术,缩短供体保存时间,是提高术后供体角膜 ECD 的重要因素。同时也提示我们,眼库保存超过 6 d 的供体,

ECD 下降,可能不再适合 PKP 和 EK 术中使用。

供体死亡到取材时间也是影响角膜供体质量的重要因素^[5,30]。大多数研究者认为供体死亡后 12 h(夏季和无冷藏措施者应为 8 h)为角膜取材的临界值,6 h 内为最佳取材时间。因为供体死亡后生命活动停止,使得机体处于缺氧状态,房水停止生成,原本在前房里的房水氧含量随死亡时间延长而下降,最终导致角膜内皮细胞丢失^[18]。本研究中供体死亡到取材时间最

长者 17 h 20 min, 该供体术前 ECD 为 $2\,279$ 个/ mm^2 , 术后 ECD 为 $2\,045$ 个/ mm^2 , 内皮细胞下降率为 10.27%。由于超过 6 h 者仅有 13 例, 数量较少, 可能存在一定的偏倚, 因此本研究无法明确得出取材时间是影响供体角膜 ECD 下降的主要因素这一结论。同时, 本研究中仅有 5.93% 遗体死亡后冷藏保存, 94.07% 均常温保存后立即取材, 很大程度减少了供体死亡到取材过程中内皮细胞的丢失。

角膜移植手术操作是对角膜内皮细胞造成损伤的重要因素^[15]。由于手术过程中供体角膜不可避免地受到移动、环钻切割、手术器械的机械性损伤, 灌注液及黏弹剂的刺激, 角膜内皮面暴露于空气中, 以及术后房水中炎症产物的刺激和其他眼内并发症的影响, 这些因素综合作用可能造成对供眼角膜内皮细胞的重大损伤, 因而会出现角膜内皮细胞的明显丢失^[30]。与 PKP 相比, EK 是一种侵入性较小的手术, 没有缝线断裂、散光和伤口裂开等问题, 具有更快的视觉恢复、更好的视觉结果和更低的排斥风险^[31], 但其缺点是需要制备薄层内皮, 对手术医师有较高的操作和经验要求^[9, 32]。目前普遍认为, EK 术后早期内皮细胞丢失量明显高于 PKP, 且内皮细胞丢失主要发生在术后 6 个月内^[33]。美国眼科学会对历年 EK 相关文献的回顾分析显示, EK 术后 6 个月内内皮细胞丢失率为 25%~54%, 平均 37%^[34]。在本研究中, EK 术后 1 个月内内皮细胞丢失率明显高于 PKP 术后丢失率, 这充分说明不同手术方式引起角膜内皮损伤的程度不同。

角膜内皮黑区也被称为角膜小滴, 是由于后弹力层上突入前房的赘疣把内皮细胞顶起形成滴状角膜, 在应用显微镜观察内皮细胞或摄像时, 这些赘疣与其他内皮不在同一平面, 造成赘疣处是一个光学黑区。内皮黑区分为生理性黑区和病理性黑区。生理性黑区是角膜内皮细胞随着年龄增大发生衰老死亡的征象, 表现为细胞界限消失后死亡脱落, 在内皮照片上常表现为一个无细胞结构的黑色曝光区, 多为单个内皮细胞区, 周围内皮细胞无异常表现, 如 Hassall-Henle 小体^[18]。而病理性黑区是滴状角膜变性改变, 可见到角膜后弹力层赘疣伴有细小点色素颗粒, 周围内皮细胞出现形态异常, 其表面和邻近的内皮细胞变形, 边界变得模糊不清, 如 Fuchs 内皮营养不良赘疣型。这类病理性黑区是由于不正常的角膜内皮异常分泌胶原和后弹力层增厚, 使后弹力层形成灶状赘疣突入前房, 内皮细胞发生退行性病变而遭到破坏, 屏障功能发生障碍, 内皮细胞膜上碳酸氢根离子泵功能失代偿^[32]。角膜移植手术前后内皮黑区的存在常发生变化。本研究用

于 PKP 的供体角膜中, 有 25 枚角膜存在黑区, 部分表现为圆形或类圆形融合黑区结构, 在角膜移植术后仍有 7 例可观察到细胞内黑色暗区及亮性结构, 且常伴随着应激细胞, 这可能是供体本身存在的病理性黑区。而剩余 18 枚可观察到大片形态不规则或条带状黑区, 术后黑区结构看不到, 这类术后消失的黑区多为生理性, 可能是由于单个或少量细胞死亡脱落引起, 细胞暂时性缺氧而出现水肿导致的, 与取材时间延长有关, 在前房炎症消失后或术后使用药物即可恢复正常^[25]。本研究发现, 黑区是否存在对供体角膜 ECD 并无明显影响, 大部分术前内皮存在黑区的供体, 在角膜移植术后平均 ECD 仍可达到 $2\,000$ 个/ mm^2 以上, 并未引起角膜 ECD 的明显下降。目前通过眼库内皮镜无法鉴别黑区的具体性质, 因此仍需进一步研究。

手术前后检测内皮细胞的设备不同, 两者的工作原理及分析方法不同, 也可导致所测量的数据之间存在差异。现有研究发现, 不同类型角膜内皮镜间测量值的差异存在统计学意义, 其造成误差的主要原因为操作员-软件交互的准确性、软件的精密度及内皮图像获取的通用性^[35]。目前尚无一种角膜内皮镜可同时检测眼库供体角膜和移植后的受体角膜内皮, 这也是本研究的局限性之一。在本研究中, 未使用不同仪器对同一内皮细胞进行测量, 因此无法评估 2 种仪器测量的一致性, 需待后续研究。

综上, 本研究结果显示多种因素均可影响供体角膜 ECD 及手术前后的内皮细胞丢失量, 其中捐献者年龄的增长主要影响 ECD, 但对手术前后内皮细胞的丢失未见显著影响; 保存-手术时间的延长可以明显降低术后角膜 ECD, 保存超过 6 d 的供体内皮细胞丢失明显增多; 手术方式不同, ECD 下降率差异也较大, 相比于 PKP, EK 在手术过程中对角膜内皮的损伤更重, 术后早期 ECD 下降更多。供体组织保存-手术时间的延长以及供体因恶性肿瘤去世, 均可导致供体角膜内皮黑区发生率的升高, 但生理性角膜黑区的存在对术后 ECD 未造成显著影响。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 姜晓月: 试验设计、数据整理、统计分析、论文撰写及修改; 庄晓云、杨彪、高利: 数据收集与分析; 高华、史伟云: 论文修改; 李素霞: 研究设计、文献查阅、论文修改及定稿

参考文献

- [1] Català P, Thuret G, Skottman H, et al. Approaches for corneal endothelium regenerative medicine[J/OL]. Prog Retin Eye Res, 2022, 87: 100987 [2025-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34237411/>. DOI:10.1016/j.preteyeres.2021.100987.
- [2] 李素霞, 谢立信. 我国眼库现状调查[J]. 中华眼科杂志, 2011, 47(9): 837-840. DOI:10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2011.09.

016.
Li SX, Xie LX. Investigation of eye bank status quo in China[J]. Chin J Ophthalmol, 2011, 47(9): 837-840. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2011. 09. 016.
- [3] 史伟云, 谢立信. 我国角膜病领域的学术发展方向[J]. 中华眼科杂志, 2014, 50(9): 641-645. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2014. 09. 001.
Shi WY, Xie LX. The status quo and expectation of corneal research in China[J]. Chin J Ophthalmol, 2014, 50(9): 641-645. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2014. 09. 001.
- [4] 中华医学会眼科学分会角膜病学. 眼库准入标准(征求意见稿)[J]. 中华眼科杂志, 2006, 42(8): 693-693.
- [5] 刘涛, 潘志强. 眼库角膜质量控制及研究进展[J]. 国外医学眼科学分册, 2005, 29(5): 326-329.
- [6] Sakowska J, Glasner P, Zieliński M, et al. Corneal allografts: factors for and against acceptance[J/OL]. J Immunol Res, 2021, 2021: 5372090 [2025-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34642632/>. DOI: 10. 1155/2021/5372090.
- [7] Li SX, Wang FH, Wang T, et al. In situ cornea harvesting through the Red Cross Organization: a new approach to relieving severe cornea donor shortage in Chinese eye banks[J]. Int J Ophthalmol, 2017, 10(10): 1611-1613. DOI: 10. 18240/ijo. 2017. 10. 20.
- [8] 中华人民共和国卫生行业标准. 眼库管理[J]. 中华眼科杂志, 2013, 49(2): 181-184. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2013. 02. 021.
- [9] 潘志强, 梁庆丰. 重视角膜移植手术的供体材料问题[J]. 中华眼科杂志, 2016, 52(9): 641-643. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2016. 09. 001.
Pan ZQ, Liang QF. Pay attention to the donor material supply for corneal transplantation[J]. Chin J Ophthalmol, 2016, 52(9): 641-643. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2016. 09. 001.
- [10] Gao H, Huang T, Pan Z, et al. Survey report on keratoplasty in China: a 5-year review from 2014 to 2018[J/OL]. PLoS One, 2020, 15(10): e0239939 [2025-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33057425/>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0239939.
- [11] Zhang J, Patel DV, McGhee C. The rapid transformation of transplantation for corneal endothelial diseases: an evolution from penetrating to lamellar to cellular transplants[J]. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2019, 8(6): 441-447. DOI: 10. 1097/APO. 0000000000000265.
- [12] Gain P, Jullienne R, He Z, et al. Global survey of corneal transplantation and eye banking[J]. JAMA Ophthalmol, 2016, 134(2): 167-173. DOI: 10. 1001/jamaophthalmol. 2015. 4776.
- [13] 任志超, 李宗义, 谢立信. 人角膜内皮细胞再生的研究进展[J]. 中华眼科杂志, 2022, 58(10): 821-830. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112142-20220109-00007.
Ren ZC, Li ZY, Xie LX. Research advances in human corneal endothelial cell regeneration[J]. Chin J Ophthalmol, 2022, 58(10): 821-830. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112142-20220109-00007.
- [14] Tuft SJ, Coster DJ. The corneal endothelium[J]. Eye (Lond), 1990, 4(Pt 3): 389-424. DOI: 10. 1038/eye. 1990. 53.
- [15] 王霜宁, 李霞. 角膜内皮功能紊乱的易患因素[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(7): 669-672. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 07. 020.
Wang SN, Li X. Risk factors for corneal endothelium dysfunction[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(7): 669-672. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 07. 020.
- [16] Lang SJ, Freysoldt A, Böhringer D, et al. Connection of histological corneal endothelial cell count with endothelial cell density before penetrating keratoplasty[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2016, 254(10): 1993-1997. DOI: 10. 1007/s00417-016-3457-0.
- [17] Gupta PK, Berdahl JP, Chan CC, et al. The corneal endothelium: clinical review of endothelial cell health and function[J]. J Cataract Refract Surg, 2021, 47(9): 1218-1226. DOI: 10. 1097/j. jcrs. 0000000000000650.
- [18] 陈丽, 陆佳骏, 盛敏杰, 等. 角膜保存方法现状及进展[J]. 国际眼科杂志, 2017, 17(6): 1060-1062. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2017. 6. 12.
Chen L, Lu JJ, Sheng MJ, et al. Current status and progress of corneal preservation method[J]. Int Eye Sci, 2017, 17(6): 1060-1062. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2017. 6. 12.
- [19] Sie NM, Yam GH, Soh YQ, et al. Regenerative capacity of the corneal transition zone for endothelial cell therapy[J/OL]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 523 [2025-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33276809/>. DOI: 10. 1186/s13287-020-02046-2.
- [20] 曲利军, 赵靖, 史伟云, 等. 穿透性角膜移植术后角膜植片内皮慢性失功的临床分析[J]. 眼科, 2009, 18(3): 169-174.
Qu LJ, Zhao J, Shi WY, et al. The analysis of chronic corneal allograft endothelial dysfunction after penetrating keratoplasty[J]. Ophthalmol CHN, 2009, 18(3): 169-174.
- [21] Kwon JW, Cho KJ, Kim HK, et al. Analyses of factors affecting endothelial cell density in an eye bank corneal donor database[J]. Cornea, 2016, 35(9): 1206-1210. DOI: 10. 1097/ICO. 0000000000000921.
- [22] Vaiciulienė R, Rylskytė N, Baguzytė G, et al. Risk factors for fluctuations in corneal endothelial cell density (Review)[J/OL]. Exp Ther Med, 2022, 23(2): 129 [2025-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34970352/>. DOI: 10. 3892/etm. 2021. 11052.
- [23] Joyce NC. Proliferative capacity of corneal endothelial cells[J]. Exp Eye Res, 2012, 95(1): 16-23. DOI: 10. 1016/j. exer. 2011. 08. 014.
- [24] Sampaio TL, Rodrigues IP, Cresta M, et al. Factors influencing endothelial cell density of corneas for transplantation[J]. Cell Tissue Bank, 2021, 22(2): 263-275. DOI: 10. 1007/s10561-020-09875-8.
- [25] 庄晓云, 高利, 李素霞, 等. 影响供体角膜内皮细胞质量的相关因素分析[J]. 中华眼科杂志, 2023, 59(10): 814-823. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112142-20221108-00578.
Zhuang XY, Gao L, Li SX, et al. Analysis of factors affecting the quality of donor corneal endothelial cells[J]. Chin J Ophthalmol, 2023, 59(10): 814-823. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112142-20221108-00578.
- [26] Lass JH, Beck RW, Benetz BA, et al. Baseline factors related to endothelial cell loss following penetrating keratoplasty[J]. Arch Ophthalmol, 2011, 129(9): 1149-1154. DOI: 10. 1001/archophth. 2011. 102.
- [27] Musch DC, Meyer RF, Sugar A. Predictive factors for endothelial cell loss after penetrating keratoplasty[J]. Arch Ophthalmol, 1993, 111(1): 80-83. DOI: 10. 1001/archophth. 1993. 01090010084031.
- [28] Borderie VM, Scheer S, Touzeau O, et al. Donor organ cultured corneal tissue selection before penetrating keratoplasty[J]. Br J Ophthalmol, 1998, 82(4): 382-388. DOI: 10. 1136/bjo. 82. 4. 382.
- [29] Armitage WJ, Jones MN, Zambrano I, et al. The suitability of corneas stored by organ culture for penetrating keratoplasty and influence of donor and recipient factors on 5-year graft survival[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(2): 784-791. DOI: 10. 1167/iovs. 13-13386.
- [30] 东玥言, 张弘. 角膜内皮移植术不同时期并发症的成因及处理[J]. 中华实验眼科杂志, 2022, 40(2): 178-182. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200107-00009.
Dong YY, Zhang H. The causes and management of complications in different periods of corneal endothelial keratoplasty[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2022, 40(2): 178-182. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200107-00009.
- [31] Price MO, Bidros M, Gorovoy M, et al. Effect of incision width on graft survival and endothelial cell loss after Descemet stripping automated endothelial keratoplasty[J]. Cornea, 2010, 29(5): 523-527. DOI: 10. 1097/ICO. 0b013e3181e11e5d.
- [32] Rose L, Kelliher C, Jun AS. Endothelial keratoplasty: historical perspectives, current techniques, future directions[J]. Can J Ophthalmol, 2009, 44(4): 401-405. DOI: 10. 3129/i09-090.
- [33] 孙彬佳, 洪晶. 角膜内皮移植术后内皮细胞密度变化及影响因素的研究进展[J]. 中华眼科杂志, 2018, 54(12): 954-960. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2018. 12. 017.
Sun BJ, Hong J. The changes and influencing factors of corneal endothelial cell density after endothelial keratoplasty[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2018, 54(12): 954-960. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2018. 12. 017.
- [34] Lee WB, Jacobs DS, Musch DC, et al. Descemet's stripping endothelial keratoplasty: safety and outcomes: a report by the American Academy of Ophthalmology[J]. Ophthalmology, 2009, 116(9): 1818-1830. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2009. 06. 021.
- [35] Abib FC, Holzchuh R, Schaefer A, et al. The endothelial sample size analysis in corneal specular microscopy clinical examinations[J]. Cornea, 2012, 31(5): 546-550. DOI: 10. 1097/ICO. 0b013e3181cc7961.

(收稿日期: 2025-02-20 修回日期: 2025-06-20)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

