

冷冻联合羊膜移植治疗镰孢菌属真菌性角膜溃疡

谢琼,高明宏,禹海

作者单位:(110015)中国辽宁省沈阳市,沈阳军区总医院眼科
作者简介:谢琼,毕业于大连医科大学,在读硕士研究生,研究方向:角膜病。

通讯作者:高明宏,毕业于中国医科大学,博士研究生,主任医师,主任,研究方向:角膜病. songlixin@hotmail.com

收稿日期:2014-05-16 修回日期:2014-09-04

Clinical observation of cryotherapy and amniotic membrane transplantation in the management of Fusarium corneal ulcer

Qiong Xie, Ming-Hong Gao, Hai Yu

Department of Ophthalmology, the General Hospital of Shenyang Military Command, Shenyang 110015, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ming-Hong Gao. Department of Ophthalmology, the General Hospital of Shenyang Military Command, Shenyang 110015, Liaoning Province, China. songlixin@hotmail.com

Received: 2014-05-16 Accepted: 2014-09-04

Abstract

• AIM: To examine the efficacy and safety of cryotherapy in the management of Fusarium corneal ulcer.

• METHODS: Retrospective contract analysis of the clinical data of 41 patients (41 eyes) who infected with Fusarium corneal ulcer. All of them underwent focal lesion keratectomy combined with amniotic membrane transplantation between January 2010 and May 2013. The cryotherapy treatment group of 22 cases (22 eyes), non-cryotherapy group of 19 cases (19 eyes). All the cases were followed up for 3 ~ 12mo. We analyzed the healing of corneal ulcer, corneal neovascularization, postoperative visual acuity, complications and ulcer recurrences.

• RESULTS: There were no significant difference for the two groups at the cure rate and the recovery rate, the corneal neovascularization and postoperative visual acuity ($P > 0.05$). The total effective rate and corneal healing time in cryotherapy group was significantly higher than that in non-cryotherapy group ($P < 0.05$). The postoperative visual acuity of two group were higher than that of preoperatively ($P < 0.05$). There was no complication occurred in cryotherapy group while there was 1 patient of secondary glaucoma in non-cryotherapy group.

• CONCLUSION: Cryotherapy is an effective and safe method for the treatment of Fusarium corneal ulcer.

• KEYWORDS: Fusarium; fungal corneal ulcer; cryotherapy; surgical treatment; amniotic membrane transplantation

Citation: Xie Q, Gao MH, Yu H. Clinical observation of cryotherapy and amniotic membrane transplantation in the management of Fusarium corneal ulcer. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(10):1783-1785

摘要

目的:探讨冷冻治疗镰孢菌属真菌性角膜溃疡的安全性和有效性。

方法:回顾性系列病例研究。对2010-01/2013-05于我院手术治疗的经真菌培养阳性,并鉴定菌种为镰孢菌属的真菌性角膜溃疡住院患者41例41眼进行回顾性分析。所有患者均行病灶切除联合羊膜移植术,其中冷冻组22例22眼,无冷冻组19例19眼,术后随访时间3~12mo,分析对比术后疗效、角膜溃疡愈合时间、视力、角膜新生血管化程度、并发症及复发情况。

结果:冷冻组总有效率明显优于无冷冻组($P < 0.05$),但在治愈率及好转率上与无冷冻组差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组术后视力均较术前有所提高且差异有统计学意义($P < 0.05$),但两组术后视力对比差异无统计学意义($P > 0.05$),角膜病灶区遗留不同程度角膜瘢痕。冷冻组的角膜溃疡愈合时间比无冷冻组显著缩短($P < 0.05$)。冷冻组无并发症发生,无冷冻组1例发生继发性青光眼。

结论:冷冻治疗镰孢菌属真菌性角膜溃疡是安全有效的辅助方法。

关键词:镰孢菌;真菌性角膜溃疡;冷冻;手术治疗;羊膜移植

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.10.11

引用:谢琼,高明宏,禹海. 冷冻联合羊膜移植治疗镰孢菌属真菌性角膜溃疡. 国际眼科杂志 2014;14(10):1783-1785

0 引言

真菌性角膜炎致病菌因气候及地域的差异分布有所不同,我国主要是镰孢菌及曲霉菌,其中由镰孢菌属引起的真菌性角膜炎占首位^[1]。除眼部外伤(尤其是植物外伤史)引起外,近年来滥用抗生素、糖皮质激素类药物及隐形眼镜的佩戴也是造成真菌性角膜疾病上升的主要原因^[2-4]。尽管对该病的认识和诊断有所提高,但缺乏有效的抗真菌药物增加治疗的难度,最终需要手术替代治疗。本文探讨了冷冻治疗镰孢菌属真菌性角膜溃疡的临床效果,汇报如下。

1 对象和方法

1.1 对象 收集2010-01/2013-05于我院手术治疗的经真菌培养阳性,并鉴定菌种为镰孢菌属的真菌性角膜溃疡住院患者共41例41眼。材料:羊膜为江西瑞济人体生物羊膜,主要结构为人类胎盘12的基底膜胶原组织,规格:厚度0.1~0.3mm;面积1.5cm×1.5cm~3cm×4cm多种规格。钴60辐照灭菌,在阴凉干燥处保存。使用时用无菌

生理盐水浸泡复水(浸泡温度 25℃ ~ 30℃)5min。冷冻:应用二氧化碳干冰冷凝器(HB-801B型,扬州康华电子科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 入选标准 经真菌培养阳性并鉴定为镰孢菌属真菌性角膜溃疡患者;经眼局部及全身药物治疗1wk以上无效;角膜溃疡面积 3mm×3mm ~ 6mm×6mm;裂隙灯下溃疡深达角膜实质层1/3 ~ 1/2 角膜厚度。排除标准:(1)角膜薄,有穿孔风险者;(2)混合感染者;(3)其他手术治疗方法者。所有患者均行病灶切除联合羊膜移植术,根据术中有无冷冻治疗,分为冷冻组及无冷冻组,其中冷冻组 22 例 22 眼,男 12 例 12 眼,女 10 例 10 眼,年龄 19 ~ 72(平均 46.29±10.66)岁,病程 20d ~ 3mo,平均 35.57±10.42d,12 例伴有前房积脓。无冷冻组 19 例 19 眼,男 11 例 11 眼,女 8 例 8 眼,年龄 20 ~ 70(平均 42.00±10.97)岁,病程 20d ~ 3mo,平均 35.68±12.53d,10 例伴有前房积脓。两组患者年龄、性别、溃疡面积及深度等基线资料比较均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。术后随访时间 3 ~ 12mo。

1.2.2 手术方法 (1)病灶切除:术眼常规碘伏消毒及球后神经阻滞,在手术显微镜下选择大小合适环钻沿溃疡边缘钻切病灶,至角膜实质层,以尖刀片沿溃疡边缘向深处剖切,尽量将角膜病灶切除干净。(2)冷冻:对清洁的角膜创面进行冷冻,依次为冷冻溃疡中央的基底及溃疡边缘,每次冷冻之间相连。每次冷冻时间为 8 ~ 10s;冷冻温度为:-70℃。(3)羊膜移植:2g/L 氟康唑注射液冲洗角膜创面及结膜囊后,取 15mm×15mm 生理盐水复水,按照溃疡缺损组织的形状和大小,将羊膜组织,折叠成四层,填塞于溃疡表面,10-0 缝线将羊膜组织间断缝合固定于角膜溃疡的边缘上。取单层羊膜组织(上皮面朝上),覆盖角膜及结膜表面,10-0 尼龙线缝线固定于角膜缘 4 点缝线固定,其余各象限以 10-0 缝线穿浅层巩膜后固定。单眼包扎 24h 后开放点眼。无冷冻组手术步骤同冷冻组手术步骤(1)和(3)。

1.2.3 术后处理 氟康唑滴眼液,1 次/h;那他霉素滴眼液,4 次/d;每日结膜下注射 2g/L 氟康唑注射液 0.3 ~ 0.5mL。氟康唑注射液 200mg 静滴,1 ~ 2 次/d。全身用药 1wk 后停药,复查肝、肾功能。炎症控制后眼局部用药逐渐减量,持续用药至溃疡愈合后 1mo。晚上抗生素眼膏涂眼。羊膜溶解后拆除固定缝线,定期检查肝、肾功能。

1.2.4 观察指标 观察术后两组角膜溃疡愈合时间。观察术后两组视力有无提高。观察术后两组有无并发症情况。

统计学分析:采用 SPSS 19.0 软件包对数据进行处理,两组患者性别、前房积脓情况、疗效判断、溃疡深度、菌种比较作 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法;两组患者年龄、病程长短、溃疡面积、愈合时间、术前术后两组组间视力比较采用成组设计 t 检验,术前术后两组组内视力比较采用配对 t 检验;角膜新生血管化程度比较采用非正态分布秩和检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 疗效判断 (1)治愈:疼痛消失,角膜溃疡愈合,荧光素染色阴性前房积脓消失。(2)好转:疼痛症状明显减轻,角膜溃疡面部分愈合,前房积脓减少或消失,荧光素染色(±)。(3)无效:疼痛无改善,角膜溃疡扩大或穿孔,前房积脓加重,分泌物涂片有真菌菌丝。

表 1 治疗后两组疗效对比

组别	<i>n</i>	治愈	好转	无效	总有效
冷冻组	22	12	6	4	18
无冷冻组	19	8	2	9	10
χ^2		0.637		4.001	4.001
<i>P</i>		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

注:好转率之比为 Fisher 精确概率法。

表 2 术后 3mo 两组角膜新生血管化程度比较

组别	无	1 个象限	2 个象限	3 个象限	4 个象限
冷冻组	0	4	12	6	0
无冷冻组	0	3	13	3	0

表 3 术后 3mo 两组 BCVA(logMAR) 比较

组别	术前	术后 3mo	<i>t</i>	<i>P</i>
冷冻组	1.3657±4.165	0.9286±0.298	-18.39	<0.01
无冷冻组	1.26±3.741	0.9320±0.243	-20.996	<0.01
<i>t</i>	1.158	-0.139		
<i>P</i>	0.252	0.890		

2.2 角膜新生血管 观察角膜新生血管化。分级:0 级:无新生血管;I 级:新生血管少于 1 个象限;II 级:新生血管 1 ~ 2 个象限,侵入角膜内侧<4mm;III 级:新生血管 2 ~ 3 个象限;IV 级:新生血管 3 ~ 4 个象限,覆盖整个角膜表面。

2.3 两组疗效比较 比较两组一次性手术治愈率、好转率及有效率。冷冻组的有效率 82%,明显优于无冷冻组 53%,差异具有统计学意义($P<0.05$)。而在治愈率及好转率上两组比较无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.4 两组角膜溃疡愈合时间比较 冷冻组愈合时间为 25.37±4.659d,无冷冻组愈合时间为 31.12±3.745d,冷冻组愈合时间较无冷冻组愈合时间明显缩短。经统计学分析两组平均愈合时间差异具有统计学意义($t=-4.212, P<0.01$)。

2.5 两组角膜新生血管化程度 两组病例均发生角膜生长新生血管现象,经秩和检验分析无统计学差异($P=0.823>0.05$,表 2)。

2.6 两组视力比较 术前两组最佳矫正视力(best corrected visual acuity, BCVA)以最小分辨角对数(logMAR)表示,经统计学检验差异无统计学意义($P>0.05$)。术后 3mo 两组视力均优于术前($P<0.01$),两组视力组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

3 讨论

真菌性角膜溃疡对药物治疗不敏感,病情迁延不愈。在真菌性角膜溃疡的进展期,炎症反应及真菌的生长繁殖是促进损害角膜的关键因素^[5,6]。冷冻主要利用了快速冷冻及复温的过程中胞内、胞外冰晶的形成,刺破细胞膜,从而达到治疗目的^[7]。本研究中,病情较重者给予冷冻治疗,而角膜薄,有穿孔风险者未施加冷冻治疗。

冷冻可清除部分抗原及免疫复合物,减少真菌毒素和蛋白溶解酶的释放,促进炎症产物的吸收^[8]。其次,局部的超低温环境可抑制真菌的生长、繁殖。对于溃疡较深的病灶,易发生病灶切除不净的可能,冷冻可起到类似扩创的作用,进一步杀灭真菌。此外,冷冻后产生的新抗原可刺激干扰素的生成,增强临近组织对病原的抵抗力,促进健康组织的生长^[8]。本研究中,冷冻组角膜溃疡愈合时间较无冷冻组明显缩短,冷冻能够刺激角膜上皮细胞和角膜

基质固定细胞的加速增生,缩短溃疡愈合时间^[9,10]。难治性真菌性角膜溃疡首选治疗为穿透性角膜移植术,在角膜植片匮乏的情况下,冷冻疗法保存了眼球的完整性,为下一步增视性手术提供良好条件。

本研究中两组在角膜新生血管化程度上无统计学意义,但在随访期间发现冷冻组在术后1mo内角膜新生血管速度快于无冷冻组,而在术后3mo两组角膜新生血管在例数及象限上无差别。我们考虑原因如下:(1)冷冻使局部血管痉挛,血流减慢,血液凝固,造成血流减少,导致微循环障碍,刺激新生血管的生成。(2)冷冻刺激促血管生成因子的表达。(3)冷冻组的快速愈合,新生血管的衰退。故两组的最终新生血管程度呈持平状态。另外,本术式与传统的结膜瓣遮盖术相比有明显优势。降低结膜瓣遮盖术中结膜取材对眼表的损伤,对周边组织无损害,术后视力影响较小。

本研究中,两组术后的视力都不同程度的有所提高。因本研究多为重症镰孢菌属真菌性角膜溃疡,且溃疡面积较大且深,故虽冷冻组平均视力优于无冷冻组,但两组视力整体差异并无统计学意义,此外,样本量小也是限制因素。冷冻疗法的另一优点即冷冻后遗留瘢痕菲薄,冷冻使组织蛋白变性,发生轻度退行性变,降低成纤维细胞组织变性,故遗留角膜瘢痕的形成减轻^[9]。施加冷冻的过程中要力度适中,切勿扭动,防止损伤角膜及穿孔的可能。

羊膜含有的碱性成纤维生长因子等多种生长因子,利于上皮细胞的分化、移行,促进角膜上皮细胞的生长^[11];含有的蛋白酶抑制剂,可降低基质炎症,促进溃疡愈合,故被广泛用于治疗多种眼表疾病。此外,羊膜可抑制新生血管长入角膜,减轻术后角膜瘢痕形成及新生血管化程度,促进炎症细胞的凋亡^[12];羊膜可吸收药物,起到药物缓释的作用^[13],维持局部的药物浓度延长药物的作用时间,促进病灶的愈合。

本研究中,茄病镰孢菌属21例,尖孢镰孢菌属9例,燕麦镰孢菌属7例,谷禾镰孢菌属4例,可知茄病镰孢菌属是导致镰孢菌属真菌性角膜溃疡的主要致病菌,这与国内文献报道结果一致^[14]。其中,明确植物外伤史者24例,表明植物外伤史是导致镰孢菌属真菌性角膜炎的主要致病原因,这也与国内文献报道结果一致^[15]。张军等^[16]建议病灶面积大于16mm、溃疡浸润深度达实质深层、前房积脓高于2mm的茄病镰孢菌属真菌性角膜炎患者应及早进行手术治疗。镰孢菌属为丝状真菌,菌丝平行于角膜板层生长^[17],病灶切除后施行冷冻治疗可起到扩大创面及抑制深层菌丝生长的作用,使病灶清除更加彻底,避免术后病情复发。角膜感染镰孢菌后,病情进展较快,尤其是茄病镰孢菌属真菌性角膜炎^[18],治疗不及时易发生角膜穿

孔。本研究中,冷冻组茄病镰孢菌属患者12例,术后感染控制9例,有效率为75%,无冷冻组茄病镰孢菌属患者9例,术后感染控制6例,有效率67%。两组经过对比可知,冷冻组在术后有效率、角膜溃疡愈合时间、复发率方面都明显优于无冷冻组。术前联合局部及全身用药,防止病情的发展。术后局部应用那他霉素联合氟康唑滴眼液,全身氟康唑注射液静滴,可巩固术后的疗效,促进术后角膜病灶的愈合。

参考文献

- 李慧,刘梦阳,郑红英,等.真菌性角膜炎的流行病学特征及病原学研究.山东医药2012;52(43):26-28
- Key LJ, Gower EW, Iovieno A, et al. Clinical and microbiological characteristics of fungal keratitis in the United States, 2001-2007: a multicenter study. *Ophthalmology* 2011; 118(5): 920-926
- Parmar P, Salman A, Kalavathy CM, et al. Microbial keratitis at extremes of age. *Cornea* 2006; 25(2): 153-158
- Ramakrishnan T, Constantinou M, Jhanji V, et al. Factors affecting treatment outcomes with voriconazole in cases with fungal keratitis. *Cornea* 2013;32(4): 445-449
- Vemuganti GK, Garg P, Gopinathan U, et al. Evaluation of agent and host factors in progression of mycotic keratitis: a histologic and microbiologic study of 167 corneal buttons. *Ophthalmology* 2002; 109(8): 1538-1546
- 徐玲娟,谢立信.真菌性角膜炎的分子机制研究进展.中华眼视光学与视觉科学杂志2010;12(3): 237-240
- Mazur P. Cryobiology: The freezing of biological systems. *Science* 1970; 168(3934): 939-949
- 乔志恒.物理治疗学全书.北京:科学技术文献出版社2001: 866-868
- 李凤鸣.眼科全书.第1版.北京:人民卫生出版社1997:918-920
- 武忠弼.病理学.第4版.北京:人民卫生出版社1996:37-41
- 杨卫民.新鲜羊膜移植治疗早期眼表烧伤的临床观察.眼外伤职业眼病杂志2010;32(9):674-675
- 孙金凤.羊膜移植在治疗眼表疾病的临床应用.国际眼科杂志2009;9(7): 1369-1370
- Nikejad H, Peirovi H, Jorjani M, et al. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cell Mater* 2008;29(15):88-99
- 张军,王丽娅,孙声桃,等.镰孢菌属真菌性角膜炎的临床及共焦显微镜特征分析.眼科研究2008;26(3):219-221
- 罗知卫,李健南,李曦.真菌性角膜炎流行病学分析.世界中西医结合杂志2010; 5(9):778-779
- 张军,王丽娅,孙声桃,等.真菌性角膜炎转归影响因素的相关分析.临床眼科杂志2011;19(1):74-76
- 刘敬,谢立信,史伟云.主要致病真菌在角膜内生长方式的研究.眼科研究2008;26(1): 26-29
- 贺懿,孙秉基,赵东卿,等.真菌性角膜炎的临床特征及疗效观察.中华眼科杂志2000;36(5):358-361