

板层角膜移植术联合快速角膜胶原交联治疗难治性真菌性角膜溃疡

黄金荣, 万春泓, 王雪林, 何良飞, 江宏冀

引用: 黄金荣, 万春泓, 王雪林, 等. 板层角膜移植术联合快速角膜胶原交联治疗难治性真菌性角膜溃疡. 国际眼科杂志 2019; 19(11): 1955-1958

基金项目: 江西省卫生计生委科技计划支撑项目 (No. 20185547)

作者单位: (334000) 中国江西省上饶市, 江西医学高等专科学校第一附属医院眼科

作者简介: 黄金荣, 在读博士研究生, 副主任医师, 眼科副主任, 研究方向: 角膜病、眼表疾病、屈光手术。

通讯作者: 黄金荣. 854070110@qq.com

收稿日期: 2019-05-13 修回日期: 2019-10-10

摘要

目的: 观察板层角膜移植术联合快速角膜胶原交联治疗难治性真菌性角膜溃疡的临床效果。

方法: 选取 2017-01/2018-11 在江西医专一附院眼科就诊收住院行板层角膜移植术联合快速角膜胶原交联术治疗的真菌性角膜溃疡的患者 18 例 18 眼, 对治疗效果进行回顾性分析。观察术后视力、角膜植片透明度的情况及真菌复发、移植片排斥、继发性青光眼、并发性白内障等并发症的发生概率和预后。

结果: 术后 18 例患者全部保全了眼球, 术后裸眼视力提高者 16 眼 (89%), 视力不变者 2 眼 (11%), 角膜移植片发生排斥反应 3 眼 (17%), 继发性青光眼 2 眼 (11%), 并发性白内障 3 眼 (17%)。植片透明的患者为 13 眼 (72%), 植片半透明 4 眼 (22%), 植片混浊 1 眼 (6%)。

结论: 板层角膜移植术联合快速角膜胶原交联治疗难治性真菌性角膜溃疡能提高真菌性角膜溃疡治愈率, 是一种切实可行的治疗方法。

关键词: 板层角膜移植; 快速角膜交联; 真菌性角膜溃疡

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.11.32

Clinical efficacy of lamellar keratoplasty combined with accelerated corneal collagen cross-linking on refractory fungal corneal ulcer

Jin - Rong Huang, Chun - Hong Wan, Xue - Lin Wang, Liang-Fei He, Hong-Ji Jiang

Foundation item: Science and Technology Plan Support Project of Jiangxi Provincial Health and Family Planning Commission (No. 20185547)

Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Jiangxi Medical College, Shangrao 334000, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Jin - Rong Huang. Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Jiangxi Medical College, Shangrao 334000, Jiangxi Province, China. 854070110@qq.com
Received: 2019-05-13 Accepted: 2019-10-10

Abstract

• **AIM:** To investigate the efficacy of lamellar keratoplasty (LKP) combined with accelerated (45mW/cm²) corneal cross-linking (A-CXL) on refractory fungal corneal ulcer.

• **METHODS:** Eighteen eyes of 18 patients with refractory fungal corneal ulcer were enrolled in the Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Jiangxi Medical College from January 2017 to November 2018. The postoperative visual acuity, corneal graft transparency, the incidence and prognosis of complications such as fungal recurrence, graft rejection, secondary glaucoma and complicated cataract were all recorded.

• **RESULTS:** All the patients succeeded in avoiding enucleation or evisceration. Postoperatively, 16 eyes (89%) gained one or more lines in uncorrected distance visual acuity 2 eyes (11%) had unchanged in uncorrected distance visual acuity. Three eyes (17%) had a graft rejection. Secondary glaucoma were detected in 2 eyes (11%), and concomitant cataract were found in 3 eyes (17%). Thirteen eyes (72%) had transparent grafts, 4 eyes (22%) had translucent transects, and the remaining one eye (6%) had a turbid graft.

• **CONCLUSION:** LK combined with A - CXL may be feasible for refractory fungal corneal ulcer treatment by improving the cure rate.

• **KEYWORDS:** lamellar keratoplasty; accelerated corneal cross-linking; fungal corneal ulcer

Citation: Huang JR, Wan CH, Wang XL, *et al.* Clinical efficacy of lamellar keratoplasty combined with accelerated corneal collagen cross-linking on refractory fungal corneal ulcer. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(11): 1955-1958

0 引言

随着角膜移植技术的不断提升, 板层角膜移植术 (lamellar keratoplasty, LKP) 成为真菌性角膜溃疡首选手术方式, LKP 具有众多优点, 主要包括供体材料来源相对广泛、手术安全性高、术后排斥反应发生率低及内皮功能衰竭等并发症少等^[1], 与传统穿透性角膜移植术 (penetrating keratoplasty, PKP) 相比具有显著优势, 但仍存在术中切除真菌病灶不彻底易导致复发的风险, 有研究证明核黄素紫外线角膜交联具有灭活微生物的效应, 机制在于紫外光照射核黄素产生的光化学反应及核黄

素本身非特异性光化学反应均可抑制 RNA 或 DNA 复制,使病原微生物的 RNA 失活^[2-3],同时核黄素与紫外光反应产生大量的活性氧可有效避免紫外光对角膜内皮、晶状体、视网膜造成损伤^[4]。王若馨^[5]研究证明紫外线 A 核黄素角膜胶原交联术 (corneal collagen crosslinking, CXL) 可减缓菌丝在活体角膜中的生长速度,降低侵入深度,对真菌性角膜炎组织中的 MMP-9 有明显抑制作用,从而减轻其对角膜基质胶原组织的溶解破坏。众多研究者在实验研究及临床应用方面证实经典核黄素角膜交联抗真菌取得较好效果^[6-9],但对快速角膜胶原交联 (accelerated corneal collagen crosslinking, A-CXL) 在抗真菌作用方面鲜见报道,本研究观察 LKP 术联合 A-CXL 治疗难治性真菌性角膜溃疡的临床效果,以便于为临床治疗提供指导。

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2017-01/2018-11 在江西医专一附院眼科就诊的手术治疗真菌性角膜溃疡患者 18 例 18 眼,纳入标准:患者经过共聚焦显微镜发现孢子或菌丝,角膜刮片检查镜下可见菌丝或培养证实真菌生长,患者经 1wk 左右抗真菌药物治疗效果不佳,病情未改善或继续扩大。其中男 12 例 12 眼,女 6 例 6 眼,年龄 25~65 (平均 32±5.4) 岁。病程 8~45 (平均 24.50±3.65) d。患者有植物性眼部外伤或眼部手术后长期使用抗生素史。手术前进行病灶真菌刮片及培养,结果为镰刀菌 8 眼,曲霉菌 7 眼,青霉菌 1 眼,链格霉孢菌 2 眼,病灶浸润深度情况: <200μm 5 眼,200~400μm 7 眼,401~500μm 6 眼。6 眼溃疡直径范围在 6~8mm 之间,12 眼直径范围 >8mm。13 眼前房积脓,深度为 1~3mm。药物治疗 1wk 后无效患者行板层角膜移植联合快速角膜交联术进行治疗。本研究经医院伦理委员会批准,符合《赫尔辛基宣言》及相关伦理标准,详细告知患者和家属并签署知情同意书。

1.2 方法 患者 2%利多卡因与 0.75%布比卡因等量混合液行球后阻滞麻醉,选择比溃疡面直径大 1.0mm 环钻进行植床制作,角膜剖切至 1/2 深度基质层,应用 0.1%核黄素溶液 (含 20%葡聚糖 T500 10mL、10mg 核黄素-5-磷酸盐) 覆盖角膜,每 90s 重复滴一次共浸润 10min。用 BSS 冲洗角膜。角膜及房水黄染满意后采用紫外线交联加固仪进行快速胶原交联治疗。照射参数:强度 45mW/cm²,光斑直径 9mm,脉冲照射模式 [脉冲照射间隔为 (1s 亮,1s 暗)],共照射 5min 20s,实际作用时间 160s,获得 7.2J/cm² 的总照射能量^[10]。照射过程中使用核黄素溶液使角膜面保持湿润,照射完毕后剖切植床至后部基质层,接近后弹力层,依据植床制作同种异体板层角膜植片,直径比植床大 0.5mm,厚度与植床相同,去除内皮与后弹力层,将板层角膜植片以 10-0 尼龙线对位间断缝合至角膜植床。对于有前房积脓者使用 0.05%伏立康唑冲洗前房,术后以抗真菌滴眼液那他霉素、两性霉素 B 或伏立康唑滴眼液滴眼。

手术患者术后 2h 打开术眼滴药,给予阿托品眼用凝胶散瞳,镰刀菌术后局部应用那他霉素滴眼液每日 4 次持续 1mo,曲霉菌、青霉菌或链格霉孢菌使用 0.25%两性霉素 B 滴眼液或 1%伏立康唑每日 4 次持续 1mo,术后 15d 开始在确定无明显真菌复发情况下常规使用妥布霉素地塞米松滴眼液每天 4 次,妥布霉素地塞米松眼膏每晚

1 次,抗排斥药物环孢素滴眼液每日 2 次,持续 1mo,对重度排斥反应使用他克莫司滴眼液每天 2 次,持续 1mo。视角膜愈合情况而定缝线拆除时间,一般 3~4mo,若出现新生血管、排斥反应或缝线松动等情况可尽早予以拆除。用共聚焦显微镜观察手术前后真菌菌丝及角膜各层的形态变化。术后随访 6~28mo,观察术后视力、角膜植片透明度的情况及真菌复发、移植片排斥、继发性青光眼、并发性白内障等并发症的发生概率和预后。

溃疡治愈标准:角膜植床及植片 2mo 内无溃疡复发,无前房积脓,角膜上皮愈合,植片逐渐透明或遗留少量瘢痕。

2 结果

2.1 溃疡控制情况 术后 3 眼出现反应性前房积脓,对积脓未行手术处理后自行吸收,通过一次手术治愈 18 眼,治愈率 100%。

2.2 视力恢复情况 术后裸眼视力较术前提高者 16 眼 (89%),较术前视力不变者 2 眼 (11%),其中裸眼视力在 0.02~0.05 者 4 眼,0.06~0.25 者 10 眼,0.3~0.4 者 3 眼,0.5~0.8 者 1 眼。矫正视力 <0.3 者 3 眼,≥0.3 者 15 眼。

2.3 术后并发症情况 所有患者术后 1mo 未见真菌复发,后期角膜移植片发生板层排斥反应 3 眼 (17%),给予他克莫司滴眼液及氯替泼诺滴眼液治疗后恢复,继发性青光眼 2 眼 (11%),给予降眼压药物治疗后未见眼压再升高,并发性白内障 3 眼 (17%),给予白内障摘除及人工晶状体植入手术。

2.4 手术前后对比及术后 6mo 角膜植片情况 术前 1d,右眼溃疡灶扩大,边界不清,出现前房积脓 (病变深及深基质层)。LKP 联合 A-CXL 术后 1d,患者眼睑红肿、结膜充血减轻,角膜植片轻度水肿。术后 1wk 所有患者角膜植片上皮愈合,角膜透明度增加,房水清,眼痛、流泪、畏光等症状消失,溃疡无复发。术后 6mo,13 眼 (72%) 患者角膜植片透明,植片半透明 4 眼 (22%),植片混浊 1 眼 (6%),视力不同程度提高,见图 1、2。1 眼患者因角膜瘢痕严重,植片混浊,后改行穿透性角膜移植术。

3 讨论

真菌性角膜溃疡是一种严重的可致盲性感染性角膜病,其发病机制尚不十分明确,临床也缺乏广谱、高效、低毒副作用的药物,治疗极为棘手,严重者需要摘除眼球。对药物治疗无效的真菌性角膜溃疡需要行角膜移植术,包括穿透性角膜移植 (PKP) 术、板层角膜移植 (LKP) 术,但 PKP 术需要新鲜角膜材料较为难得,手术风险大,复发后真菌易进入眼内等特点使得其应用受限,LKP 具有角膜材料相对易得,手术风险小,愈合后排斥反应发生率低等优点,该项术式无需进入前房,降低眼内组织术后感染的几率,是难治性真菌性角膜溃疡较好的治疗方法^[11-14],但仍存在术中切除真菌病灶不彻底易复发的风险导致移植失败进而需要 PKP。

CXL 可刺激成纤维细胞增生并使角膜胶原增粗,抑制真菌生长和炎症反应,加速角膜修复。马小倩等^[15]对 8 例综合药物治疗无效或效果欠佳的真菌性角膜溃疡患者使用 CXL 法治疗结果显示:7 例病变深度在前中部基质层的患者术后溃疡灶愈合;所有患者未见手术相关并发症。郝兆芹等^[16]对 10 只新西兰白兔真菌性角膜溃疡动物模型进行治疗对照研究显示:CXL 治疗镰刀菌性角膜溃疡

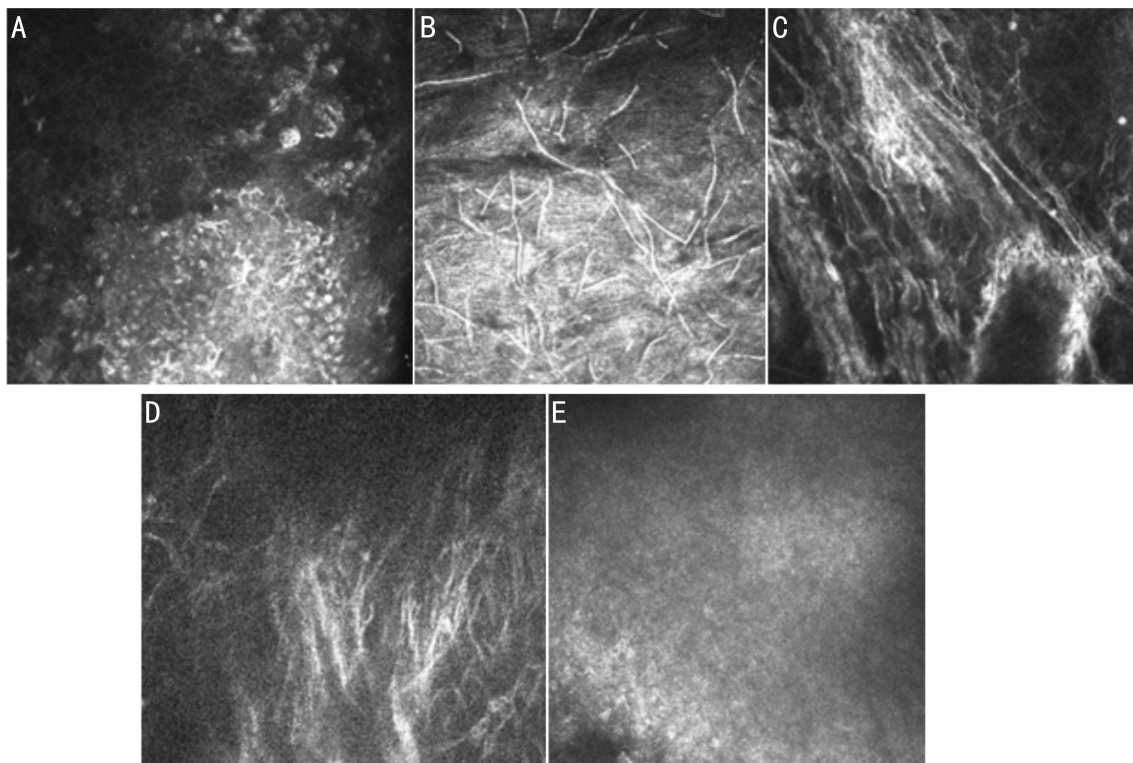


图1 共聚焦显微镜检查手术前后情况 A:术前角膜病灶区上皮组织缺损,大量炎症细胞浸润,大量团状强反射,上皮基底层可见大量 Langerhans 细胞浸润。B:术前中基质层可见丝状强反射(菌丝),基质细胞激化态表现,基质细胞层间断可见强反射无细胞区。C:术前深基质层未见真菌菌丝,可见大量炎症细胞浸润及部分高反光样沉积物。D:板层角膜移植联合快速角膜交联术治疗后 1mo,角膜浅层至中层基质层大片无细胞反射区,扫描未见明显菌丝结构,炎症细胞减少,瘢痕形成。E:板层角膜移植联合快速角膜交联术治疗后 6mo,内皮细胞规则,未见形态、排列异常,未见明显菌丝结构。



图2 LKP 联合 A-CXL 手术前后对比 A:术前 1d,溃疡灶扩大,边界不清,出现前房积脓(病变深及深基质层);B:术后 7d,角膜植片中度水肿,角膜溃疡灶无复发(病变深及深基质层);C:术后 6mo,角膜植片透明,水肿减退。

疗效显著,安全性好。但传统 CXL 存在照射深度有限、照射剂量低、照射时间长、患者术后刺激症状重、恢复时间长的缺点,对感染深及前中部基质层的角膜溃疡患者疗效良好,但对深及深基质层的角膜溃疡患者疗效欠佳,存在易复发的风险。

目前临床使用的快速角膜胶原交联术($45\text{mW}/\text{cm}^2$) (A-CXL)是一种新型的角膜交联术,与传统 CXL 相比,A-CXL采用高辐照脉冲式 UV 光,显著缩短了治疗时长,降低感染风险,减轻术后眼表炎症反应,从而减少术后并发症。其在延缓或阻止圆锥角膜的进展方面取得了较好的效果^[10,17-18]。因此应用快速角膜胶原交联联合板层角膜移植术对深层真菌性角膜溃疡的临床效果值得观察。

本研究中分析:(1)溃疡控制情况显示术后所有患者感染均得到了有效地控制,溃疡无复发,表明经过角膜交联后再角膜板层病灶切除,双重保证了角膜组织中菌丝的去。 (2)视力恢复情况:术后近 90%患者裸眼视力较术前提高,并获得了较好的矫正视力,但大部分患者裸眼

视力较差,分析原因有如下:1)角膜散光较大,最高者达 11D,与角膜植床与植片对合及缝线松紧程度相关,与致病菌种无关,部分未出现白内障患者术后屈光不正情况通过角膜松解切口、角膜激光手术或(和)TICL 晶状体植入得到有效解决,提示在以后的手术当中在积极控制感染的基础上更要注重手术源性角膜散光的控制;2)角膜植床与植片层间愈合反应导致瘢痕形成,影响植片透明度,手术后在明确没有真菌复发的情况下局部使用糖皮质激素眼药水有助于减轻瘢痕形成。(3)角膜植片情况:裂隙灯检查和共聚焦显微镜检查未见明显晶状体或内皮细胞受损,未见其他层间积液、植片上皮延迟愈合、后弹力层穿孔、后弹力层褶皱等手术相关并发症。由于角膜溃疡导致角膜水肿,除局部病灶溶解变薄以外其他部位角膜厚度明显增加,切除部分病灶后角膜厚度仍处于角膜交联的安全阈值($325\mu\text{m}$)以内^[15],术后未显示内皮细胞失代偿。所有植片未见真菌复发,后期角膜植片发生板层排斥反应 3眼(17%),程度较轻,给予糖皮质激素眼药水及免疫抑制

药物滴眼液治疗后恢复。(4)相关并发症:主要并发症为术后继发性青光眼及白内障,分析原因在于:1)严重的炎症反应使房水中炎症介质增加,眼压升高,加重晶状体混浊程度;2)术后在明确真菌无复发的情况下使用糖皮质激素抑制角膜移植术后炎症反应及排斥反应,长期使用易导致激素性青光眼及加重白内障发展。继发性青光眼给予降眼压药物治疗后未见眼压再升高。(5)共聚焦显微镜检查手术前后对比情况:术前可见角膜病灶区大量炎症细胞浸润及团状强反射,上皮基底层可见大量 Langerhans 细胞浸润,中基质层可见丝状强反射(菌丝),基质细胞活化表现,基质细胞层间断可见强反射无细胞区,深基质层可见大量炎症细胞浸润及部分高反光样沉积物。术后 1mo,角膜浅层至中层基质层大片无细胞反射区,扫描未见明显菌丝结构,炎性细胞减少,瘢痕形成。术后 6mo,内皮细胞规则,未见形态、排列异常,未见明显菌丝结构,显示了在组织结构上良好的效果。

本研究中 LKP 术联合 A-CXL 疗效显著,它为综合药物治疗无效的真菌性角膜溃疡患者提供了一种新的治疗方案,患者在药物治疗无效导致病灶扩大后及时手术,大大缩短了病程,减轻了患者痛苦,避免了病情进一步恶化导致眼球摘除的严重后果,临床效果显著,安全性高。该项术式具有材料来源广、适应范围广、不易发生排斥等优点,可有效控制感染进展,降低板层角膜移植术后真菌复发率,提高患者的视力,改善患者预后。

参考文献

- 1 Chang HY, Chodosh J. Diagnostic and therapeutic considerations in fungal keratitis. *Int Ophthalmol Clin* 2011;51(4):33-42
- 2 吴护平,罗顺荣,董诺,等.角膜胶原交联联合药物治疗感染性角膜疾病的临床研究. *中华眼科杂志* 2013;49(10):890-895
- 3 Cardo LJ, Rentas FJ, Ketchum L, et al. Pathogen inactivation of

- Leishmania donovani infantum in plasma and platelet concentrates using riboflavin and ultraviolet light. *Vox Sang* 2006;90(2):85-91
- 4 崔长霞,朱伟,张春晓,等.核黄素/UVA 诱导的角膜交联术治疗真菌性角膜溃疡. *山东大学耳鼻喉眼学报* 2013;27(5):68-70
- 5 王若馨.紫外线 A 核黄素角膜胶原交联术治疗兔真菌性角膜炎的实验研究. *江西:南昌大学* 2014
- 6 孙冰.核黄素紫外线角膜胶原交联治疗真菌性角膜炎的实验研究. *山东大学* 2014
- 7 张翠英.核黄素联合 360nm UVA 或 440nm 蓝光角膜胶原交联治疗兔真菌性角膜炎的实验研究. *山东大学* 2017
- 8 李奇,付玲玲.角膜交联疗法治疗真菌性角膜疾病的研究进展. *国际眼科杂志* 2017;17(7):1258-1260
- 9 王素娟.角膜胶原交联对小鼠真菌性角膜炎的治疗作用. *郑州大学* 2016
- 10 张辰星,胡春明,熊洁,等.快速角膜胶原交联治疗进展期圆锥角膜的临床研究. *国际眼科杂志* 2017;17(10):1928-1931
- 11 付彦江.深板层角膜移植术治疗真菌性角膜溃疡临床研究. *临床医药文献电子杂志* 2018;5(8):44
- 12 廖福红,余自忠,胡斌.使用猪角膜脱细胞基质的人板层角膜移植治疗真菌性角膜炎的临床观察. *国际眼科杂志* 2017;17(9):1750-1752
- 13 孙进峰.板层角膜移植术治疗真菌性角膜溃疡 50 例临床分析. *中国继续医学教育* 2016;8(13):96-97
- 14 赵莉莉.角膜移植治疗真菌性角膜溃疡的预后分析. *吉林大学* 2007
- 15 马小倩,刘苏冰,聂晓丽,等.紫外光-核黄素胶原交联疗法治疗真菌性角膜溃疡临床观察. *眼科新进展* 2015;35(10):965-967,974
- 16 郝兆芹,宋金鑫,吴洁,等.角膜交联对真菌性角膜溃疡的治疗作用. *中华实验眼科杂志* 2014;32(9):802-806
- 17 马小倩.核黄素-紫外光 A 快速角膜胶原交联术治疗进展性圆锥角膜的临床研究. *郑州大学* 2016
- 18 吴莹.快速紫外线/核黄素角膜胶原交联治疗圆锥角膜和细菌性角膜炎的基础和临床研究. *南开大学* 2015