

· 实验研究 ·

纤维蛋白胶治疗兔大的不规则角膜穿通伤

徐力 李春艳 张海涛 马秀梅 徐晓燕 张晓云

010050 呼和浩特, 内蒙古医科大学附属医院眼科(徐力、李春艳、张海涛), 病理科(马秀梅、徐晓燕), 保健病房(张晓云)

通信作者: 张晓云, Email: xiaoyun-223@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.002

【摘要】 背景 缝线缝合是目前标准的角膜穿通伤治疗方法, 缝线缝合的缺点促使人们探索非缝合的手术方法, 组织黏合剂是一种有前景的非缝合替代手术方法。 **目的** 探讨用纤维蛋白胶治疗兔大的不规则角膜穿通伤的效果。 **方法** 18 只清洁级健康白色兔, 按照随机数字表法分成缝合组和黏合组, 用 15° 角膜穿刺刀在角膜非瞳孔区形成 V 字形、总长度为 6 mm 的角膜全层穿通伤, 缝合组和黏合组分别用 10-0 缝线对位间断缝合 3~5 针或用纤维蛋白胶联合临时缝线和治疗性绷带角膜接触镜治疗, 每只兔均以右眼为实验眼, 左眼为自身对照。比较 2 个组手术时间, 并对术后裂隙灯显微镜观察结果进行比较, 分别于术后 1、3、8 周行角膜组织病理切片评估 2 个组伤口的愈合修复情况。 **结果** 黏合组的平均手术时间为 (3.48 ± 0.48) min, 显著低于缝合组的 (7.77 ± 1.30) min, 差异有统计学意义 ($t=9.28, P<0.01$)。术后裂隙灯显微镜观察发现, 黏合组伤口愈合快且平整。角膜组织病理学检查发现, 黏合组伤口愈合规则, 炎症反应轻, 无新生血管形成; 而缝合组纤维排列不整齐, 缝线周围有大量炎性细胞及巨噬细胞浸润, 炎症反应较重, 术后 3 周发现有新生血管形成。 **结论** 与传统缝线相比, 采用纤维蛋白胶联合临时缝线和治疗性绷带角膜接触镜的方法治疗兔大的不规则角膜穿通伤具有操作简单、手术时间短、术后刺激小、炎症反应轻、愈合时间短、伤口愈合规则、无新生血管形成的优点。

【关键词】 纤维蛋白胶; 缝线; 全层角膜穿通伤; 动物模型; 治疗性绷带角膜接触镜**基金项目:** 内蒙古自治区高等学校科学研究项目 (NJZZ12141)**Treatment of large irregular rabbit corneal penetrating injury with fibrin glue** Xu Li, Li Chunyan, Zhang Haitao, Ma Xiumei, Xu Xiaoyan, Zhang Xiaoyun

Department of Ophthalmology (Xu L, Li CY, Zhang HT), Department of Pathology (Ma XM, Xu XY), Health Care Ward (Zhang XY), The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China

Corresponding author: Zhang Xiaoyun, Email: xiaoyun-223@163.com

【Abstract】 Background Suture stitching is currently the standard treatment for corneal penetrating injuries. The shortcomings of suture stitching have led to the exploration of non-sutured surgical methods. Tissue adhesive is a promising non-suture replacement procedure. **Objective** This study was to observe the effect of fibrin glue on large irregular rabbit corneal penetrating injury. **Methods** Eighteen pure white healthy rabbits were randomly divided into suture group and adhesive group. A total length of 6-mm non-self-sealing corneal penetrating injury in non-pupillary-area of the right eye formed with a 15° corneal puncture knife was repaired with fibrin glue plus temporary suture and therapeutic corneal contact lens (9 eyes) or with 3 to 5 interrupted 10-0 nylon sutures (9 eyes) with the fellow eyes acted as the internal controls respectively. Operative time was compared between the two groups. Clinic observation was performed with slit lamp microscope. Animals were humanely sacrificed for histologic examination at week 1, 3, and 8 to evaluate wound healing. **Results** The average operation time was (3.48 ± 0.48) minutes in the adhesive group, which was significantly lower than that in the suture group ($[7.77 \pm 1.30]$ minutes) ($t=9.28, P<0.01$). The postoperative slit lamp microscope observation indicated corneal wounds were quickly and regularly healed in the glued corneas compared with the stitched ones. The histologic examination revealed that glued corneas had regular healing, mild inflammation, and no corneal neovascularization, while sutured corneas showed irregular fibrin arrays, a large number of inflammatory cells and macrophages infiltration around the suture, heavy inflammatory response. Neovascularization was found at week 3 postoperatively. **Conclusions** Fibrin glue combined with temporary suture and therapeutic corneal contact lens is an effective treatment in sealing large irregular corneal wounds

with considerable advantages over traditional sutures, including simplified operative technique, short surgery time, less postoperative irritation, mild inflammation, more regular wound healing, short healing time, and no corneal neovascularization.

[Key words] Fibrin glue; Suture; Full-thickness corneal penetrating injury; Disease model/animal; Corneal contact lens/therapeutic

Fund program: Scientific Research Project of Institution of Higher Education, Inner Mongolia (NJZZ12141)

角膜穿通伤是一种常见的眼科急症,需要立即对位闭合伤口,形成前房,促进伤口修复愈合;若处理不当将引起眼内炎,甚至失明等严重后果。缝线缝合可以有效地闭合伤口,是目前标准的角膜穿通伤治疗方法^[1]。然而,缝线的使用仍有其缺点和不足,促使人们探索非缝合的替代方法^[2]。组织黏合剂是一种非缝合的替代手术方法。目前用于临床的黏合剂有化学黏合剂(腈基丙烯酸盐)和生物黏合剂(纤维蛋白胶)2种,但是腈基丙烯酸盐聚合过快,不便于术者操作,并且聚合物不易降解,有组织毒性,患者有明显的异物感,影响了其临床应用。纤维蛋白胶又称纤维蛋白黏合剂,Tisseel 是首个被美国 FDA 批准用于眼科的生物黏合剂。纤维蛋白胶具有更好的生物相容性,无毒性作用,可完全降解,密封平滑,术后更舒适,并发症少,被视为一种理想的医用胶^[3-4]。已有动物实验和临床研究将其成功用于角膜溃疡穿孔的治疗^[5-6],但由于其对伤口黏合强度不足,治疗角膜伤口的长度局限在 3 mm 以内,其至今尚不能替代缝线成为角膜穿通伤的首选方法。我们设想在术中使用临时缝线以加强纤维蛋白胶的黏合强度,同时使用治疗性绷带角膜接触镜在角膜表面形成一个软性支架,有利于伤口平整地对位黏合。本研究中采用纤维蛋白胶联合术中临时缝线和治疗性绷带角膜接触镜用于治疗兔眼大的不规则角膜穿通伤,探索其治疗复杂性角膜穿通伤的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级成年健康白色獭兔 18 只(内蒙古医科大学动物饲养中心提供),体质量 2.0 ~ 2.5 kg,雌雄不限,排除眼部疾患,单笼饲养。实验动物的使用按照内蒙古医科大学实验动物伦理委员会(Animal Experimentation Ethic Committee, AEEC)的指导方针进行处理,研究方案得到 AEEC 批准。

1.1.2 主要试剂及仪器 Tisseel 纤维蛋白胶(澳大利亚百特公司)。15°角膜穿刺刀、10-0 尼龙缝线(美国 Alcon 公司);爱维纳治疗性绷带角膜接触镜(英国 Cooper Vision 公司);手术显微镜(德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 角膜穿通伤动物模型的制备 取 18 只实验兔编号后,按照随机数字表法分成缝合组和黏合组,均以右眼为实验眼,左眼为自身对照眼。采用质量分数 10% 水合氯醛灌肠(500 mg/kg)联合质量分数 20% 氯胺酮(2.5 ml/kg)及咪达唑仑(2.5 ml/kg)肌肉注射进行麻醉,盐酸奥布卡因滴眼液点眼行表面麻醉。碘伏消毒术眼周围,睑拉钩开睑,用 15°角膜穿刺刀在角膜非瞳孔区做夹角约 60°、总长度为 6 mm 的 V 字形角膜全层穿通伤,角膜荧光素染色 Seidel 实验(+)证实伤口为全层穿通。模型的制作均由同一医师在手术显微镜下完成。

1.2.2 手术治疗 缝合组用 10-0 缝线对位间断缝合 3 ~ 5 针,缝线深度为 2/3 角膜厚度,并埋线结,前房注入生理盐水加深形成前房,角膜荧光素染色 Seidel 实验(-)证实水密后用妥布霉素地塞米松滴眼液点眼。黏合组提前将冷冻的预装式 4 ml 纤维蛋白胶按照产品说明在室温 20 °C 下放置 60 min,自然解冻复温。先用缝线在伤口成角处 10-0 缝线缝合 1 针,黏弹剂加深前房,伤口周边用棉签拭干,用双联注射器同时向伤口基质层推注适量纤维蛋白原溶液和凝血酶溶液,约 10 s 后伤口凝聚,角膜荧光素染色 Seidel 实验(-)证实水密后约 1 min 拆除缝线,佩戴治疗性绷带角膜接触镜,点妥布霉素地塞米松滴眼液。手术操作均由同一医师在手术显微镜下完成。术后术眼常规点妥布霉素滴眼液,每日 1 次,连续用药 3 d 以预防感染。

1.2.3 手术治疗效果评价 记录手术时间。裂隙灯显微镜下观察术后 1 d、3 d、1 周、3 周和 8 周术眼前房以及伤口愈合情况,并观察实验动物生活情况。分别于术后 1、3、8 周采用空气栓塞法(耳缘静脉注入空气 20 ml)处死 2 个组实验兔各 3 只,完整摘取眼球,置于质量分数 10% 中性甲醛小瓶中固定保存,瓶体上做好标记。取角膜组织,包括完整伤口,行石蜡包埋,病理切片,常规苏木精-伊红染色,全自动数字切片显微镜(Motic BA600 Mot)下观察并数字照相,对比观察 2 个组伤口的愈合修复情况。所有评价工作由评价员完成,评价员不知晓手术分组情况。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件(美国 IBM 公司)进

行统计分析。2 个组手术时间经单个样本 K-S 检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 个组手术时间比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组手术时间比较

黏合组的平均手术时间为 (3.48 ± 0.48) min, 显著低于缝合组的 (7.77 ± 1.30) min, 差异有统计学意义 ($t = 9.28, P < 0.01$)。

2.2 两组术眼术后眼前节、伤口愈合情况

术后 1 d, 2 个组术眼伤口均闭合良好, 前房形成, 术眼均有轻度至中度前房炎症反应, 局部角膜水肿, 结膜充血, 缝合组兔眼有较明显的刺激症状, 动物不喜睁眼, 溢泪; 而黏合组兔眼没有明显刺激症状, 在兔舍中活动自如, 治疗性绷带角膜接触镜均意外脱失。术后 3 d, 2 个组局部角膜水肿均有所减轻; 缝合组兔眼仍有明显结膜充血, 但刺激症状较第 1 天明显减轻。术后 1 周, 两组术眼均无刺激症状, 活动自如。缝合组兔眼可见缝线在位, 伤口局部角膜混浊, 而黏合组兔眼角膜伤口可见线状混浊。术后 3 周, 缝合组兔眼可见缝线在位, 角膜恢复透明, 有新生血管长入伤口区; 黏合组兔眼角膜恢复透明, 可见灰白色线状瘢痕。术后 8 周, 缝合组兔眼有角膜新生血管纤维增生组织侵入角膜伤口处; 黏合组兔眼角膜透明, 仅见瘢痕。

2.3 两组角膜组织修复情况比较

正常角膜组织学观察见图 1A, B。术后 1 周时, 2 个组角膜上皮细胞迁移覆盖伤口表面, 并向伤口内填塞, 内皮细胞从伤口的后表面覆盖伤口, 基质层细胞转变为成纤维细胞, 延长填塞伤口缺损区 (图 1C); 与缝合组比较, 黏合组伤口有较轻的间质炎症反应, 伤口前后表面更平坦, 更规则 (图 1D)。2 个组角膜厚度均较正常对照组增厚。术后 3 周时, 2 个组伤口基质层有大量的瘢痕组织形成, 仍可见伤口对合线; 缝合组伤口处角膜增厚, 缝线深度变浅, 在缝线周围有大量炎性细胞及巨噬细胞浸润, 纤维瘢痕组织排列不整齐, 有新生血管形成 (图 1E); 而黏合组伤口处角膜厚度基本恢复正常, 伤口已经被纤维瘢痕组织愈合, 纤维排列规则整齐 (图 1F)。术后 8 周时, 2 个组伤口完全愈合, 基质层纤维平行排列。缝合组伤口前表面有增厚隆起, 周围缝线形成同心圆状排列的瘢痕组织, 可见大量基质炎性细胞和新生血管组织 (图 1G)。黏合组伤口被多层上皮细胞覆盖, 伤口表面稍凹陷但上皮层表面光滑, 角膜基质层厚度接近正常角膜厚度, 伤口已经完全由瘢痕组织和排列规则的纤维组织愈合 (图 1H)。

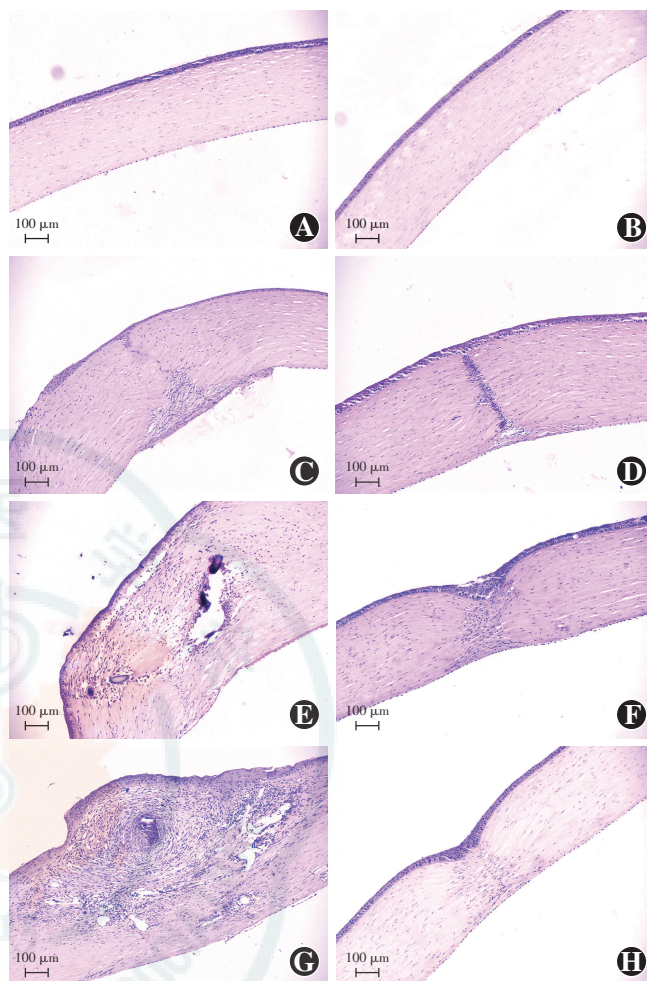


图 1 角膜伤口愈合组织学观察 ($\times 100$, 标尺 = $100 \mu\text{m}$) A: 缝合组正常对照角膜 (对侧眼) B: 黏合组正常对照角膜 (对侧眼) C: 缝合组术后 1 周 D: 黏合组术后 1 周 E: 缝合组术后 3 周 F: 黏合组术后 3 周 G: 缝合组术后 8 周 H: 黏合组术后 8 周

3 讨论

缝线缝合是目前角膜穿通伤的主要治疗方法, 但有其缺点和不足: (1) 缝合过程可对角膜组织造成损伤, 缝线本身对组织有切割作用; (2) 角膜缝合不仅需要较高的手术技能, 对于复杂的伤口, 如呈不规则星形、孔形, 破碎的伤口, 缝合关闭伤口很困难; (3) 由于缝线的张力不平衡, 引起不对称的愈合造成不规则散光; (4) 术后缝线需要拆除; (5) 缝线可能滋生微生物, 引起角膜感染; (6) 缝线的刺激可引起异物感, 加重局部炎症、角膜血管化和瘢痕形成^[2]。

为克服缝线缝合的缺点, 生物黏合剂作为非缝合的替代手术方法是一个有前景的发展方向。纤维蛋白胶是从人血浆中提取的生物制品, 是一种理想的医用胶, 主要由凝血酶和纤维蛋白原等组分组成。纤维蛋白胶模仿血液凝固的最后阶段, 即在凝血酶和钙离子的作用下, 纤维蛋白原分子被激活, 裂解出纤维蛋白肽

A 和 B, 形成纤维蛋白单体, 同时激活因子 VIII 参与纤维蛋白的交叉联结, 使纤维蛋白固化。20 世纪 90 年代, 制造商将纤维蛋白和抑肽酶结合, 延长了其降解时间。

与氰丙烯酸盐类胶相比, 纤维蛋白胶聚合较缓慢, 方便术者将伤口对齐, 准确地重建伤口, 同时可去除多余的凝胶, 避免形成具有刺激性的胶性硬皮。医师可以根据自己的手术要求, 用推注器将等量的凝血酶和纤维蛋白酶原同时推注到伤口表面, 或者先推注凝血酶, 再推注纤维蛋白酶原; 前者形成纤维凝块的时间约为 10 s, 而后者时间约为 60 s, 给术者更多自由掌握的时间^[7]。纤维蛋白胶的优点在于具有生物相容性, 可以完全生物降解, 允许更大面积的使用。

目前, 纤维蛋白胶在眼科用于治疗进行性角膜变薄和小的角膜穿孔^[5-6], 也被广泛用于多层羊膜移植治疗角膜穿孔^[8]。另外, 纤维蛋白胶也被用于眼表疾病手术, 包括翼状胬肉切除^[9]、穹窿结膜重建术的羊膜移植和无缝线的板层角膜移植^[10-11], 以及斜视手术后结膜的关闭和白内障手术^[12]。Siatiri 等^[13]用人纤维蛋白胶联合治疗性绷带角膜接触镜治疗 18 例直径为 3 mm 的角膜穿孔伤, 包括感染后穿孔 11 例, 非感染性角膜裂伤 7 例, 结果显示其对直径 2 mm 以下的伤口治疗效果良好, 但对 3 例直径大于 2 mm 的伤口治疗失败。纤维蛋白胶联合羊膜移植可增加直径在 3 mm 以内角膜穿孔的治愈率, Kim 等^[5]使用纤维蛋白胶黏合的多层羊膜移植治疗 10 例大的非感染性角膜穿孔 [伤口直径为 2 ~ 5 mm, 平均 (2.70 ± 0.95) mm]。目前, 单独使用纤维蛋白胶治疗大的角膜穿通伤的研究尚未见报道。

本研究中在现有的基础上改进术式, 在术中使用临时缝线, 将伤口的成角处拉紧, 使得大的不规则伤口化解成为小的规则伤口, 再使用纤维蛋白胶黏合伤口, 形成组织黏合后, 小心抽出缝线, 再用治疗性绷带角膜接触镜覆盖伤口, 从而发挥了黏合剂的治疗优势, 为治疗黏合剂无法治疗的大的不规则角膜穿通伤提供了新的方案。通过此种方法, 纤维蛋白胶可以治疗活体动物长度为 6 mm 的不规则角膜穿通伤。本研究中裂隙灯显微镜和组织病理学观察结果显示, 纤维蛋白黏合剂对角膜组织没有任何毒性反应, 与传统缝线相比具有明显的优势: (1) 黏合剂具有手术操作相对简单, 手术时间短的特点, 本研究中其手术时间较传统缝线组缩短了约 55.2%。(2) 与缝线组相比, 黏合组术后角膜伤口表面光滑, 术后刺激小, 炎症反应轻, 伤口愈合快且规则, 不产生角膜新生血管。这一结果与其他黏合剂治疗角膜穿通伤的结果一致^[14-16]。黏合组伤口

黏合后, 伤口对合整齐, 张力均匀, 没有异物刺激和排斥反应; 而缝线组伤口对合后前后表面对合不齐, 尤其是后表面伤口对合间隙较宽。愈合过程中缝线持续刺激引起缝线周围炎症反应, 导致角膜愈合不规则, 并在 3 周时诱导出角膜新生血管纤维膜, 术后 8 周时, 缝线周围仍有炎性细胞, 伤口处角膜厚度仍未恢复正常。

本研究仍有一定的不足: (1) 在本动物模型中, 治疗性绷带角膜接触镜仅保留不足 1 d 即发现脱落, 原因可能是人用治疗性绷带角膜接触镜与兔眼匹配度较差, 所以治疗作用有限; (2) 本研究中样本量较小, 术后观察时间最长只有 8 周; (3) 本研究中未测量术后闭合伤口的黏合强度。

综上所述, 与传统缝线相比, 本研究中采用纤维蛋白胶联合术中临时缝线和术后治疗性绷带角膜接触镜的方法治疗长度在 6 mm 的兔角膜穿通伤具有操作简单、手术时间短、术后刺激小、炎症反应轻、伤口愈合规则、愈合时间短、无新生血管形成的优点。

作者声明 本研究与所用生物蛋白胶生产厂家及销售商无经济等利益关系

参考文献

- [1] Noguera G, Lee WS, Castro-Combs J, et al. Novel laser-activated solder for sealing corneal wounds[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(3): 1038-1042. DOI: 10.1167/iovs.06-0488.
- [2] Degoricija L, Johnson CS, Wathier M, et al. Photo cross-linkable Biodendrimers as ophthalmic adhesives for central lacerations and penetrating keratoplasties[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(5): 2037-2042. DOI: 10.1167/iovs.06-0957.
- [3] Chew AC, Tan DT, Poh R, et al. Effect of intracameral injection of fibrin tissue sealant on the rabbit anterior segment[J]. Mol Vis, 2010, 16: 1087-1097.
- [4] Sharma A, Kaur R, Kumar S, et al. Fibrin glue versus N-butyl-2-cyanoacrylate in corneal perforations[J]. Ophthalmology, 2003, 110(2): 291-298. DOI: 10.1016/S0161-6420(02)01558-0.
- [5] Kim HK, Park HS. Fibrin glue-assisted augmented amniotic membrane transplantation for the treatment of large noninfectious corneal perforations[J]. Cornea, 2009, 28(2): 170-176. DOI: 10.1097/ICO.0b013e3181861c54.
- [6] Siatiri H, Moghimi S, Malihi M, et al. Use of sealant (HFG) in corneal perforations[J]. Cornea, 2008, 27(9): 988-991. DOI: 10.1097/ICO.0b013e31817780e6.
- [7] Panda A, Kumar S, Kumar A, et al. Fibrin glue in ophthalmology[J]. Indian J Ophthalmol, 2009, 57(5): 371-379. DOI: 10.4103/0301-4738.55079.
- [8] Grau AE, Durán JA. Treatment of a large corneal perforation with a multilayer of amniotic membrane and TachoSil[J]. Cornea, 2012, 31(1): 98-100. DOI: 10.1097/ICO.0b013e31821f28a2.
- [9] Toker E, Eraslan M. Recurrence after primary pterygium excision: amniotic membrane transplantation with fibrin glue versus conjunctival autograft with fibrin glue[J]. Curr Eye Res, 2016, 41(1): 1-8. DOI: 10.3109/02713683.2014.999947.
- [10] Por YM, Tan YL, Mehta JS, et al. Intracameral fibrin tissue sealant as an adjunct in tectonic lamellar keratoplasty for large corneal perforations[J]. Cornea, 2009, 28(4): 451-455. DOI: 10.1097/ICO.0b013e31818ad9d0.
- [11] Oberg TJ, Friday JW, Ursea R, et al. Is tisseel a viable option in posterior lamellar keratoplasty? [J]. Cornea, 2009, 28(6): 681-687. DOI: 10.1097/ICO.0b013e3181a2aa5c.
- [12] Kara N. A modified glued transscleral intraocular lens implantation: suture-assisted sutureless technique[J]. J Refract Surg, 2015, 31(7): 488-491. DOI: 10.3928/1081597X-20150623-08.
- [13] Siatiri H, Moghimi S, Malihi M, et al. Use of sealant (HFG) in corneal perforations[J]. Cornea, 2008, 27(9): 988-991. DOI: 10.1097/ICO.0b013e31817780e6.
- [14] Banitt M, Malta JB, Soong HK, et al. Wound integrity of clear corneal incisions closed with fibrin and N-butyl-2-cyanoacrylate adhesives[J].

Curr Eye Res, 2009, 34(8): 706-710.

[15] Berdahl JP, Johnson CS, Proia AD, et al. Comparison of sutures and dendritic polymer adhesives for corneal laceration repair in an *in vivo* chicken model [J]. Arch Ophthalmol, 2009, 127(4): 442-447. DOI: 10.1001/archophthalmol.2008.582.

[16] Cho SY, Kim MS, Oh SJ, et al. Comparison of synthetic glues and 10-0 nylon in rabbit lamellar keratoplasty [J]. Cornea, 2013, 32(9):

1265-1268. DOI:10.1097/ICO.0b013e31829a3760.

(收稿日期:2016-05-21)

(本文编辑:刘艳 张宇)

· 病例报告 ·

Meesmann 角膜营养不良一例

高瑞 许可 孙旭光 王智群 张阳

100005 首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 北京市眼科研究所 眼科学与视觉科学重点实验室

通信作者:孙旭光, Email:sunxg1955@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.003

患者,男,33岁,因双眼红、异物感、疼痛、流泪伴逐渐视力下降2个月,于2015年1月16日至北京同仁医院眼科就诊。患者曾因双眼红、疼痛3d在当地医院诊断为病毒性角膜炎,采用阿昔洛韦滴眼液、硫酸阿托品眼用凝胶和口服阿昔洛韦胶囊等疗法,治疗2个月病情无好转,眼痛加重,伴视力明显下降。患者既往身体健康,无风湿痛史,无遗传病史。患者全身检查未见明显异常,眼科检查:双眼刺激征(++),双眼视力0.08,矫正无提高。双眼结膜混合充血,角膜中央上皮层可见弥漫性混浊(图1A,B),荧光素染色可见角膜弥漫着色,左眼较重(图1C,D),角膜基质层和内皮层未见明显异常,前房深度中等,晶状体透明,眼底窥不清。耳前淋巴结无肿大。初步诊断:双眼病毒性角膜炎(上皮感染型)。局部应用更昔洛韦眼用凝胶,每天4次,复方托吡卡胺滴眼液点眼,每天2次,口服更昔洛韦胶囊0.5g,每天3次。1周后患者因症状加重再次就诊,裂隙灯显微镜下检查见双眼刺激征(+++),结膜混合充血及角膜上皮层混浊加重,片状角膜上皮剥脱。左眼泪液I型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus type 1, HSV-1)和HSV-2检查阴性。继续原有治疗,加用小牛血去蛋白眼用凝胶,每天4次。2周后复诊,患者自觉症状改善,裂隙灯显微镜下检查见双眼刺激征(+),结膜混合充血减轻,角膜上皮层混浊减轻,裂隙灯显微镜后照法可见角膜上皮细胞层间细小透明的圆形囊泡样混浊。行角膜激光扫描共焦激光显微镜检查,可见双眼角膜上皮细胞反光增强,上皮层间隐见囊泡样结构(图2)。诊断:双眼角膜上皮营养不良。建议行基因检测,并停用抗病毒药物,给予重组牛碱性成纤维细胞生长因子滴眼液点眼,每天4次,体积分数20%自体血清点眼,每天4次。结合患者病史及临床表现,北京市眼科研究所遗传室采集该患者静脉

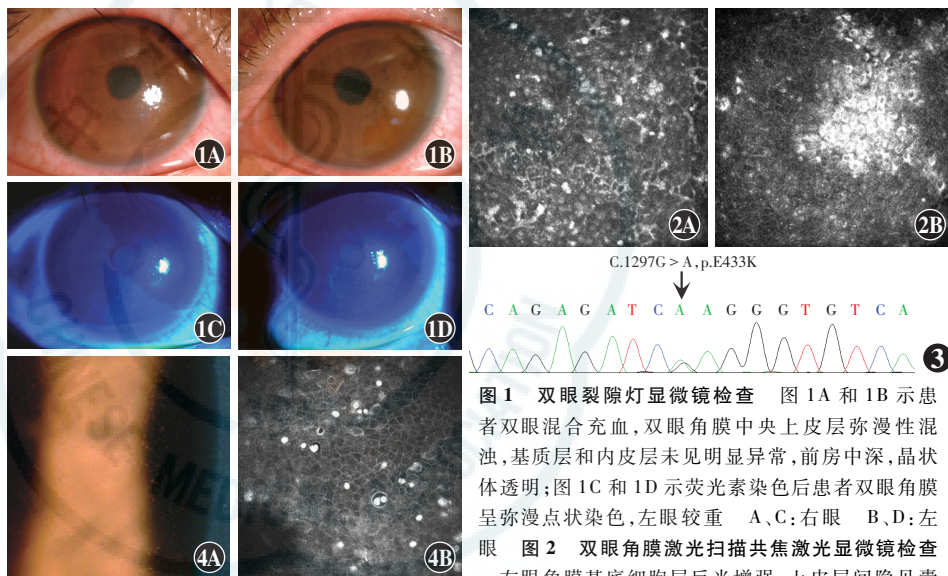


图1 双眼裂隙灯显微镜检查 图1A和1B示患者双眼混合充血,双眼角膜中央上皮层弥漫性混浊,基质层和内皮层未见明显异常,前房中深,晶状体透明;图1C和1D示荧光素染色后患者双眼角膜呈弥漫点状染色,左眼较重 A、C:右眼 B、D:左眼 图2 双眼角膜激光扫描共焦激光显微镜检查 左眼角膜基底细胞层反光增强,上皮层间隐见囊泡样病变($\times 800$) A:右眼 B:左眼 图3 患者 *KRT3* 基因 Exon-6 外显子测序峰图 存在 c.1297G>A, p.E433K 杂合突变 图4 角膜上皮间囊泡结构观察 A:裂隙灯显微镜下可见角膜上皮间典型囊泡结构 B:激光扫描共焦显微镜下可见角膜上皮细胞间含有高反光点的囊泡,基底细胞片状高反光($\times 800$)

血4ml进行Meesmann角膜上皮营养不良(meesmann corneal dystrophy, MCD)相关致病基因 *KRT3* (GenBank NM_057088)和 *KRT12* (GenBank NM_000223)基因突变检测,引物序列及退火温度见表1,测序结果为 *KRT3* 基因 c.1297G>A, p.E433K 杂合突变(图3),突变位于 *KRT3* 基因保守区,通过 PolyPhen、SIFT 软件检测这一位点致病性为高度可疑致病基因位点。根据患者双眼角膜上皮反复糜烂、裂隙灯显微镜下典型表现及基因检测结果,确诊为 MCD。1个月后患者第2次复诊,裂隙灯显微镜下检查可见双眼刺激征(-),结膜充血混合充血减轻,角膜上皮层混浊明显减轻,角膜上皮细胞层间仍见细小透明的圆形囊泡样病变(图4)。嘱患者继续原有治疗。

讨论:MCD为一种罕见的常染色体显性遗传病,多发病于青少年,又称为青少年遗传性角膜上皮营养不良,该病的特点是角膜上皮内出现大小、形状基本一致的小囊泡^[1]。角膜上皮间典型的囊泡结构及角膜上皮不平整是目前公认的 MCD 诊断标准。角膜浅层囊泡破裂后出现角膜上皮反复糜烂,伴流泪、