

单眼感染性角膜炎患者对侧未感染眼活体共聚焦显微镜下改变

刘馨甜 张红 金鑫 石妍 姜雪

哈尔滨医科大学附属第一医院眼科医院 150001

通信作者:张红, Email:13804505456@163.com

【摘要】 目的 评价患者单眼发生感染性角膜炎时,其对侧未感染眼角膜上皮细胞、角膜内皮细胞、树突状细胞及角膜神经的改变。**方法** 采用前瞻性系列病例观察研究设计,纳入 2018 年 1—8 月于哈尔滨医科大学附属第一医院眼科医院就诊的单眼感染性角膜炎患者 78 例,其中病毒性角膜炎患者 31 例,细菌性角膜炎患者 30 例,真菌性角膜炎患者 17 例,同期纳入年龄相关性白内障或翼状胬肉患者 50 例作为对照组。裂隙灯显微镜下观察患者眼前节结构。使用活体共聚焦显微镜(IVCM)观察患者未感染眼角膜上皮细胞、角膜内皮细胞、树突状细胞形态,并计算 3 种细胞以及角膜神经总干和分支的数量和密度。**结果** 3 个感染组患者对侧未感染眼前节均无明显改变。病毒性角膜炎组、细菌性角膜炎组和真菌性角膜炎组患者对侧未感染眼的角膜上皮细胞密度分别为 1 834(1 584, 2 107)、1 905(1 651, 2 332)和 1 859(1 477, 1 995)个/ mm^2 ,明显低于对照组的 3 479(3 080, 3 910)个/ mm^2 ,而病毒性角膜炎组和细菌性角膜炎组未感染眼树突状细胞密度分别为 175(139, 214)个/ mm^2 和 156(118, 190)个/ mm^2 ,均大于对照组的 69(57, 76)个/ mm^2 ,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);病毒性角膜炎组未感染眼的角膜内皮细胞密度为 1 107(945, 1 270)个/ mm^2 ,小于细菌性角膜炎组的 1 905(1 651, 2 332)个/ mm^2 和真菌性角膜炎组的 1 859(1 477, 1 995)个/ mm^2 ,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);病毒性角膜炎组未感染眼的角膜神经数量和总神经密度分别为 10(7, 11)条/ mm^2 和 $(1 822.85 \pm 622.34) \mu\text{m}/\text{mm}^2$,均小于细菌性角膜炎组的 11(9, 13)条/ mm^2 和 $(2 340.91 \pm 408.70) \mu\text{m}/\text{mm}^2$,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.0083$)。各角膜感染组角膜上皮细胞和角膜内皮细胞体积均较对照组增大;病毒性和细菌性角膜炎患者对侧眼树突状细胞形态变长,数目增多。**结论** 单眼发生感染性角膜炎时,其对侧未感染眼的角膜上皮细胞、角膜内皮细胞、树突状细胞及角膜神经密度也同时发生相应改变,证实角膜的免疫和神经系统在双眼之间存在紧密联系。

【关键词】 感染性角膜炎; 激光扫描共聚焦显微镜; 角膜上皮细胞; 树突状细胞; 角膜神经密度; 角膜内皮细胞

基金项目: 国家教育部博士点基金项目(20132307110027); 黑龙江省自然科学基金项目(LC2012C24、JC2016019); 黑龙江省教育厅长江后备基金项目(2014CJHB006)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.06.011

Clinical changes of contralateral unaffected eyes in patients with unilateral infectious keratitis under *in vivo* confocal microscopy

Liu Xintian, Zhang Hong, Jin Xin, Shi Yan, Jiang Xue

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

Corresponding author: Zhang Hong, Email:13804505456@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the clinical changes of corneal epithelial cells, dendritic cells, endothelial cells and corneal nerves in contralateral eyes of patients with unilateral infectious keratitis. **Methods** A prospective serial case observation study was conducted in patients with unilateral infectious keratitis from January to August 2018 in the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University. The corneal epithelial cells density, dendritic cells density, endothelial cells density, total nerve density, total number of nerves and branch nerve density were analyzed with *in vivo* confocal microscopy (IVCM), slit lamp microscopy was performed on all subjects to observe the conjunctiva, cornea and anterior chamber. Corneal branch nerve density and total nerve density were compared with the control group by homogeneity test of variance. This study was approved by the Ethics Committee of the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University (No. IRB-AF/SC-04/01.0). **Results** Slit lamp microscopy showed no significant changes in anterior segment of the contralateral uninfected eyes in the 3 groups. The corneal epithelial cells density of uninfected eyes in viral keratitis group, bacterial keratitis group and fungal keratitis group was 1 834 (1 584, 2 107), 1 905 (1 651, 2 332) and 1 859 (1 477, 1 995)/ mm^2 , respectively, which were significantly lower than 3 479(3 080, 3 910)/ mm^2 in the control group, the dendritic cells densities in viral keratitis group and bacterial keratitis group were 175(139, 214)/ mm^2 and 156(118, 190)/ mm^2 , which were higher than 69(57, 76)/ mm^2 in the control group, the differences were statistically significant (all at $P < 0.05$). The corneal

endothelial cells density of uninfected eyes in viral keratitis group was $1\ 107(945, 1\ 270)/\text{mm}^2$, which was less than $1\ 905(1\ 651, 2\ 332)/\text{mm}^2$ in the bacterial keratitis group and $1\ 859(1\ 477, 1\ 995)/\text{mm}^2$ in the fungal keratitis group (both at $P < 0.05$). The corneal nerve number and total nerve density of uninfected eyes in viral keratitis group were $10(7, 11)/\text{mm}^2$ and $(1\ 822.85 \pm 622.34)\ \mu\text{m}/\text{mm}^2$, which were lower than $11(9, 13)/\text{mm}^2$ and $(2\ 340.91 \pm 408.70)\ \mu\text{m}/\text{mm}^2$ in the bacterial keratitis group, with significant differences between them ($P < 0.05, P < 0.0083$). The morphology of corneal epithelial cells and endothelial cells in each infectious keratitis group was larger than that in the control group, while the morphology and number of dendritic cells in the contralateral eye of patients with viral and bacterial keratitis increased.

Conclusions In unilateral uninfected eyes of infectious keratitis, the density of corneal epithelial cells, dendritic cells, endothelial cells and corneal nerves changes correspondingly. There may be a close relationship of corneal immunity and nervous system between the two eyes.

[Key words] Infectious keratitis; *In vivo* confocal microscopy; Corneal epithelial cells; Dendritic cells; Corneal nerve density; Corneal endothelial cells

Fund program: Doctoral Fund of Ministry of Education of China (20132307110027); Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (LC2012C24, JC2016019); Cheung Kong Reserve Scholars of Heilongjiang Education Department (2014CJHB006)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.06.011

感染性角膜炎是世界范围内主要的视觉损害及致盲疾病,常见病原体包括细菌、真菌、病毒及阿米巴原虫等^[1],临床上常为单眼发病,双眼发病的概率仅为1%~3%^[2]。当单眼发生感染性角膜炎时,对侧未感染眼也会受到影响。研究发现,当小鼠角膜去髓化的睫状神经以及三叉神经的分支减少时,会导致其对侧眼角膜中央神经密度减小^[3]。另一项临床研究发现,当患者单眼发生环形角膜损害时,可检测到其对侧神经生长因子表达水平上升,提示在单眼患病时双眼可出现角膜神经的对称性改变^[4]。此外,研究发现双眼先后接受角膜移植的患者先接受手术的术眼角膜神经发生损害,这种损害引起双眼角膜神经生长因子的改变,从而破坏了后接受手术的术眼角膜植片的免疫赦免现象,导致术眼更易发生角膜移植排斥^[5]。本研究中采用活体共聚焦显微镜(*in vivo* confocal microscopy, IVCM)对病毒、细菌、真菌所致的单眼感染性角膜炎患者未感染眼进行检测,观察对侧未感染眼是否会发生与神经纤维分布及免疫系统失调相关的对称性改变。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用前瞻性系列病例观察研究设计。选取2018年1—8月于哈尔滨医科大学附属第一医院眼科医院就诊的单眼发病感染性角膜炎患者,其中细菌性角膜炎30例,真菌性角膜炎17例,病毒性角膜炎31例,另选取同期年龄相关性白内障患者或单眼翼状胬肉患者50例作为对照组。各角膜炎组及对照组患者年龄、性别构成比差异均无统计学意义($P > 0.05$) (表1)。本研究符合赫尔辛基宣言,经哈尔滨医科大学附属第一医院伦理委员会审核批准(批文号:IRB-AF/SC-04/01.0),所有纳入患者均知晓试验目的并签署知情同意书。

表1 各组患者性别、年龄比较

组别	样本量	性别构成比 (男/女, n/n)*	年龄 (mean±SD, 岁)#
对照组	50	28/22	57.48±12.49
病毒性角膜炎组	31	16/15	55.68±16.41
细菌性角膜炎组	30	15/15	58.73±8.23
真菌性角膜炎组	17	8/9	51.76±6.40
χ^2/F 值		0.531	1.350
P值		0.912	0.261

(* : χ^2 检验; #:单因素方差分析)

患者纳入标准:(1)首次发现有典型角膜炎症状并行角膜刮片涂片检查及IVCM检查确诊为细菌性、真菌性角膜炎以及IVCM检查发现真菌菌丝的患者;(2)有典型角膜炎症状及眼部症状,如树突状或地图状浸润或溃疡、末端扩张、荧光素钠染色阳性、基质盘状水肿,角膜刮片涂片检查细菌和真菌阴性,IVCM检查真菌菌丝和阿米巴包囊阴性以及全身和局部抗病毒药物治疗后症状逐渐改善者;(3)单眼感染患者;(4)无感染性角膜炎病史者;(5)病程在3个月内者。排除标准:(1)眼部外伤及眼部手术史者;(2)3个月内佩戴角膜接触镜者;(3)有神经损伤变化的神经系统疾病患者;(4)糖尿病、高血压、风湿病等系统性疾病患者;(5)青光眼等损害角膜内皮细胞疾病患者;(6)其他眼表疾病患者。

1.2 方法

1.2.1 裂隙灯显微镜检查 SLM-8E型裂隙灯显微镜(重庆康华瑞明科技股份有限公司)观察患者结膜、角膜、虹膜和前房结构。如出现角膜溃疡病灶,则对患者进行荧光素染色观察分析。

1.2.2 IVCM检查 IVCM(德国海德堡公司)由海德堡视网膜激光断层扫描系统3代(HRT3)和Rostock角膜模块(RCM)组件组成。激光波长为670 nm,放大800倍,分辨率为1 μm 。使用质量分数0.5%盐酸奥

布卡因滴眼液点眼 3 次行表面麻醉,开睑器开睑,指导患者调整检查体位,将更昔洛韦眼用凝胶涂于 IVC 物镜表面,嘱患者注视前方,调整摄像头位置,调节镜头并关注计算机同步显示图像,病灶显影清晰时记录图像。所有检查均由同一医师完成。

1.2.3 角膜细胞密度检测 使用海德堡系统自带统计软件可量化出每 0.16 mm^2 的角膜上皮、角膜内皮和树突状细胞个数,即细胞密度,在不同角膜微米层次间选择 3 帧代表性的中央角膜图片,统计图片中的细胞密度,取其平均值^[6-8]。

1.2.4 角膜神经密度统计 选取 3 个上皮基底层的 ICVM 神经图像,部位分别为:(1)紧贴基底层的上皮层;(2)Bowman 层附近的上皮层后部($8 \sim 14 \mu\text{m}$);(3)紧贴基底层的上皮层和 Bowman 层之间的位置。使用 Image J 软件中的 Neuron J 插件测量在每帧图片中每 0.16 mm^2 的神经长度。总神经的数量包括总神经分支的数量与分支神经数量的总和,分支神经密度的测量方法同上所述^[6-7,9]。

1.3 统计学方法

采用 SAS 9.3 统计学软件进行统计分析。本研究中各分支神经密度和总神经密度数据经 W 检验符合正态分布,以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,采用单因素方差分析进行总体比较,组间多重比较采用 Bonferroni 法, $P \leq 0.05/6 = 0.0083$ 为差异有统计学意义。各组角膜内皮细胞密度、角膜上皮细胞密度、神经数量及树突状细胞密度经检验不符合正态分布,以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,采用 Kruskal-Wallis H 检验进行总体比较,多重比较采用 Dwass-Steel-

Critchlow-Fligner 法, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组双眼裂隙灯显微镜下表现

各感染性角膜炎组患者对侧眼前节均无明显改变(图 1)。

2.2 各组角膜上皮细胞密度变化

各组角膜上皮细胞密度总体比较,差异有统计学意义($H = 79.477, P < 0.001$),其中病毒性角膜炎组、细菌性角膜炎组和真菌性角膜炎组患者的角膜上皮细胞密度均小于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 2)。ICVM 下观察可见各角膜感染组角膜上皮细胞体积较对照组明显增大(图 2)。

2.3 各组角膜树突状细胞密度变化

各组角膜树突状细胞密度总体比较,差异有统计学意义($H = 78.081, P < 0.001$),其中病毒性角膜炎组与细菌性角膜炎组患者对侧未感染眼的树突状细胞密度均大于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 2)。ICVM 观察显示,在细菌性和病毒性角膜炎患者对侧眼角膜上皮层及前基质层的树突状细胞形态变长,树突状细胞数量增多(图 3)。

2.4 各组角膜内皮细胞密度变化

各组角膜内皮细胞密度总体比较,差异有统计学意义($H = 61.012, P < 0.05$),其中病毒性角膜炎组患者对侧未感染眼的角膜内皮细胞密度小于细菌性角膜炎组、真菌性角膜炎组及对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(图 4)。

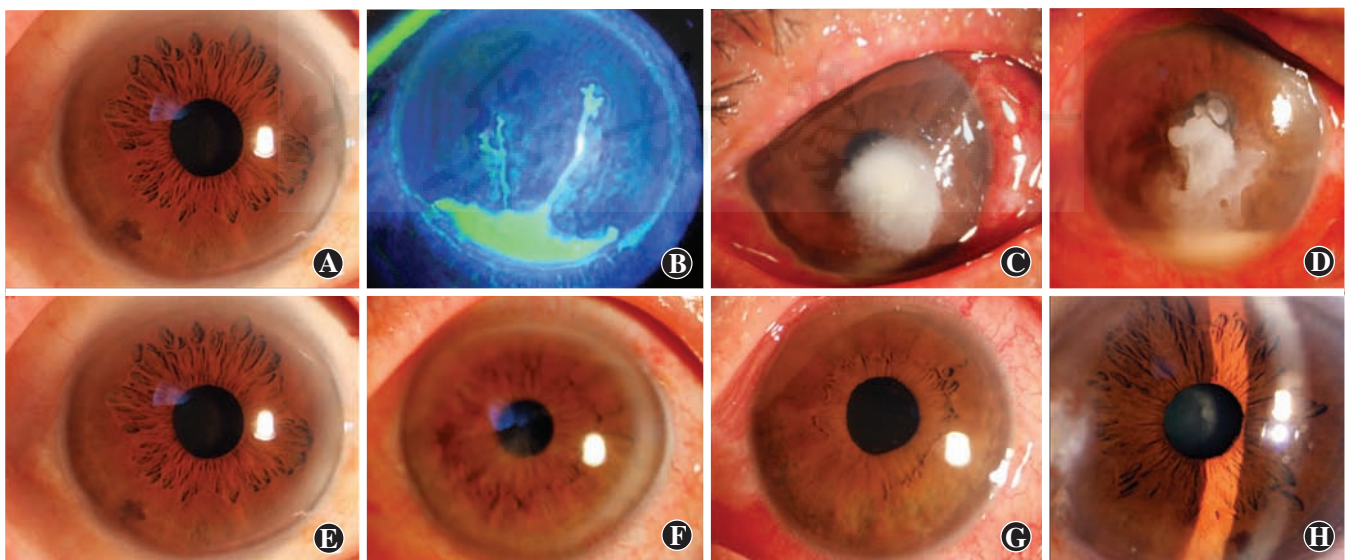


图 1 各组感染眼和对侧眼裂隙灯显微镜观察图片 病毒性角膜炎组患者患眼荧光素染色后可见树枝状溃疡;细菌性角膜炎组患者患眼中央瞳孔区角膜可见大小约 $4 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 白色病灶,周边角膜基质水肿;真菌性角膜炎组患者患眼中央瞳孔区可见 $3 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ 不规则瓷白色病灶,下方可见 $5 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ 角膜云翳,前房积脓约 2 mm ;3 个感染性角膜炎组患者对侧眼前节均无明显改变 A:对照组感染眼 B:病毒性角膜炎组感染眼 C:细菌性角膜炎组感染眼 D:真菌性角膜炎组感染眼 E:对照组对侧眼 F:病毒性角膜炎组对侧眼 G:细菌性角膜炎组对侧眼 H:真菌性角膜炎组对侧眼

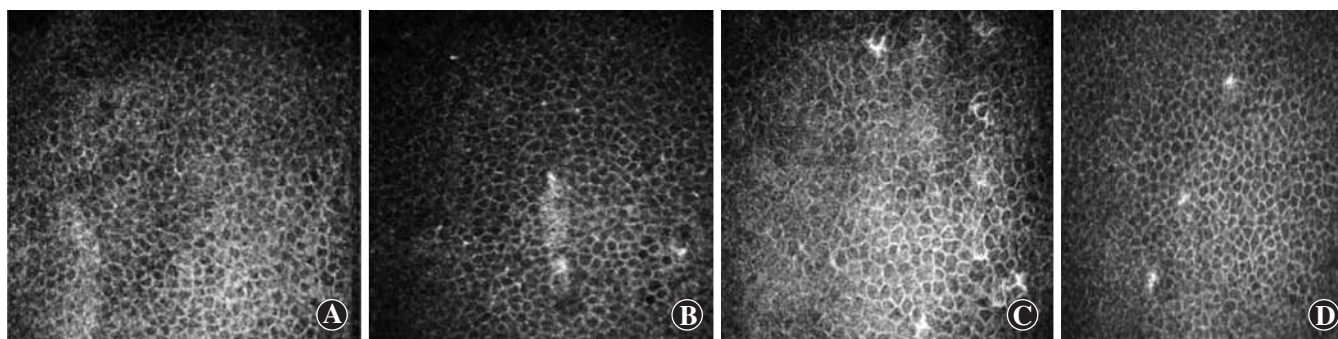


图 2 各组患者对侧眼角膜上皮细胞 ICVM 表现($\times 800$) 各感染性角膜炎组患者角膜上皮细胞密度较对照组明显降低,细胞体积明显变大
A:对照组 B:病毒性角膜炎组 C:细菌性角膜炎组 D:真菌性角膜炎组

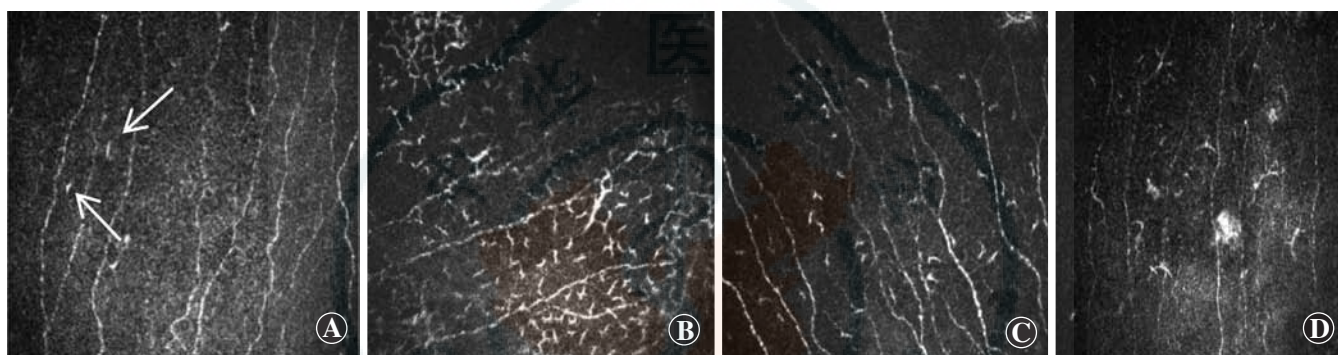


图 3 各组患者对侧眼角膜树突状细胞 ICVM 表现($\times 800$) 病毒性角膜炎组患者对侧眼树突状细胞密度明显高于其他组,箭头示树突状细胞
A:对照组 B:病毒性角膜炎组 C:细菌性角膜炎组 D:真菌性角膜炎组

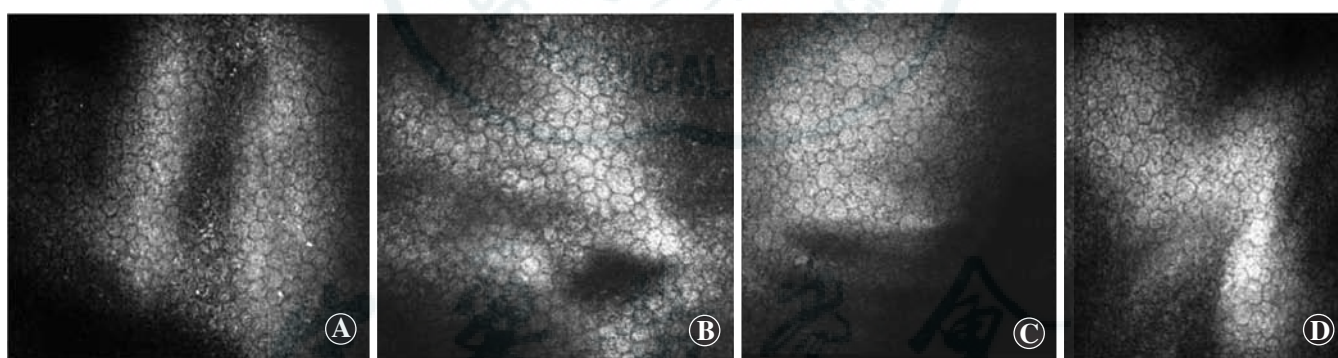


图 4 各组患者对侧眼角膜内皮细胞 ICVM 表现($\times 800$) 与对照组比较,各感染性角膜炎组患者角膜内皮细胞密度均降低,细胞体积增大
A:对照组 B:病毒性角膜炎组 C:细菌性角膜炎组 D:真菌性角膜炎组

2.5 各组角膜神经数量及密度变化

各组对侧眼角膜神经数量总体比较,差异有统计学意义($H=9.406, P<0.05$),其中病毒性角膜炎组患者对侧眼角膜神经数量较细菌性角膜炎组少,差异有统计学意义($P<0.05$)。各组患者对侧眼角膜总神经密度总体比较,差异有统计学意义($F=5.270, P=0.002$),其中病毒性角膜炎组患者对侧眼角膜总神经密度小于细菌性角膜炎组,差异有统计学意义($P<0.0083$)。各组患者对侧眼角膜分支神经密度总体比较,差异无统计学意义($F=0.210, P>0.05$)(图 5,表 2)。

3 讨论

感染性角膜炎为角膜盲的主要病因之一,当单眼发生感染性角膜炎时,对侧未感染眼也会发生病理生理改变。本研究对单眼发生细菌性、真菌性、病毒性角膜炎患者健侧眼进行 ICVM 检查发现,感染性角膜炎患者对侧未感染眼角膜神经密度较对照眼显著降低,与 Cruzat 等^[6]、Hamrah 等^[9]和 Yamaguchi 等^[10]的研究结果一致,其原因可能为单眼感染性角膜炎发生时,患侧眼神经纤维显著减少,并通过周围三叉神经纤

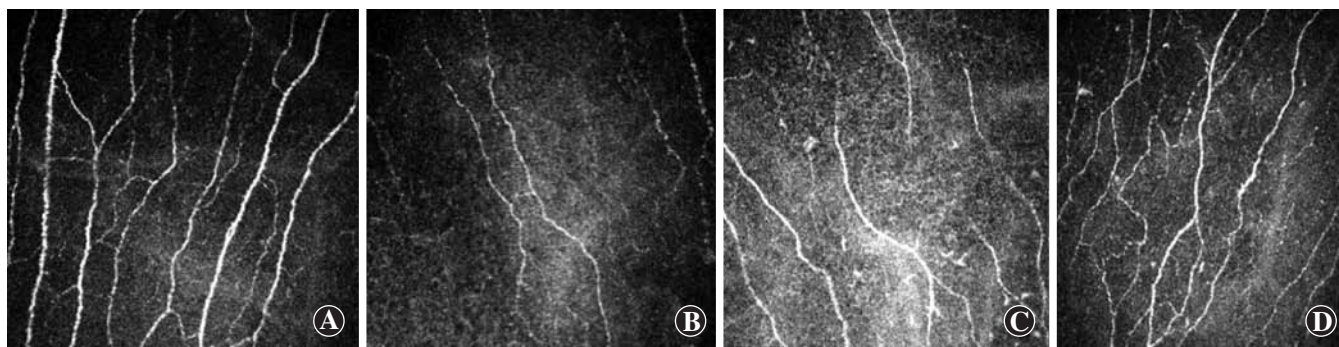


图 5 各组患者对侧眼角膜神经 ICVM 表现(×800) 病毒性角膜炎组对侧眼角膜神经密度较细菌性角膜炎组和真菌性角膜炎组明显减少 A:对照组 B:病毒性角膜炎组 C:细菌性角膜炎组 D:真菌性角膜炎组

表 2 各组患者对侧未感染眼 ICVM 各观察指标比较

组别	样本量	角膜上皮细胞密度 [M(Q ₁ , Q ₃), 个/mm ²]*	树突状细胞密度 [M(Q ₁ , Q ₃), 个/mm ²]*	角膜内皮细胞密度 [M(Q ₁ , Q ₃), 个/mm ²]*	神经数量 [M(Q ₁ , Q ₃), 条/mm ²]*	总神经密度 (mean±SD, μm/mm ²)#	分支神经密度 (mean±SD, μm/mm ²)#
对照组	50	3 479(3 080, 3 910)	69(57, 76)	1 995(1 871, 2 130)	10(9, 13)	2 173. 65±529. 25	209. 00±43. 97
病毒性角膜炎组	31	1 834(1 584, 2 107) ^a	175(139, 214) ^a	1 107(945, 1 270) ^a	10(7, 11)	1 822. 85±622. 34	204. 17±40. 13
细菌性角膜炎组	30	1 905(1 651, 2 332) ^a	156(118, 190) ^a	1 905(1 651, 2 332) ^b	11(9, 13) ^b	2 340. 91±408. 70 ^c	212. 20±43. 51
真菌性角膜炎组	17	1 859(1 477, 1 995) ^a	81(63, 119) ^b	1 859(1 477, 1 995) ^b	11(9, 12)	2 288. 98±668. 42	205. 85±36. 15
H/F 值		79. 477	78. 081	61. 012	9. 406	5. 270	0. 210
P 值		<0. 001	<0. 001	<0. 001	0. 020	0. 002	0. 890

注:与对照组比较,^aP<0. 05;与病毒性角膜炎组比较,^bP<0. 05,^cP<0. 008 3 (*:Kruskal-Wallis H 检验, Dwass-Steel-Critchlow-Fligner 法;#:单因素方差分析, Bonferroni 法) ICVM:活体共聚焦显微镜

维直接投射到脑干核的双侧区延髓尾端,在中枢神经系统介导的神经体液调节下,导致健侧眼神经纤维减少^[11]。Hirata 等^[12]通过观察活体大鼠角膜内神经分布情况后,发现高渗性泪液能改变角膜神经的结构及密度。其原因是高渗状态下可诱导发生神经毒性机制,从而导致角膜神经细胞死亡^[13]。另有研究对单眼感染性角膜炎患者的双眼进行泪液渗透压检测发现,健侧眼泪液渗透压升高^[14]。研究表明在机体发生病原体感染时,外周神经系统可通过激素与神经通路产生适应性免疫反应,称为神经体液免疫反应^[6-7, 15]。因此当单眼发生感染性角膜炎时,其对侧未感染眼的神经密度减少,可能会刺激神经肽等物质的产生或上调,从而导致适应性预防免疫应答,最终导致未感染眼树突状细胞增加,使其进入免疫阶段。本研究中也发现病毒性角膜炎与细菌性角膜炎患者对侧未感染眼树突状细胞密度较对照组明显增加。同时因为角膜神经密度与树突状细胞密度呈负相关^[6],由于单纯疱疹病毒的神经易嗜性,使得病毒性角膜炎患者的角膜神经减少较细菌性角膜炎组和真菌性角膜炎组明显,进而导致病毒性角膜炎患者角膜中树突状细胞密度增加较其他 2 个组明显。Müller 等^[16]研究发现,角膜内皮细胞密度与角膜上皮神经密度呈正相关,其可能原因

为对侧未感染眼角膜神经密度减少后导致与内皮细胞凋亡相关的角膜神经营养因子,例如血管活性肽、降钙素基因相关肽、α-黑素细胞刺激因子激素、神经生长因子、脑源性神经营养因子等上调,进而加速角膜内皮细胞凋亡,最终使得对侧未感染眼的角膜内皮细胞密度减小,与本研究结果相符^[4, 17]。本研究结果表明,各感染性角膜炎组患者对侧眼角膜上皮细胞密度较对照组明显降低,推测其可能也与角膜神经密度呈正相关,但是目前尚未有相关文献支持,需要进一步研究。

综上所述,在单眼发生感染性角膜炎时其对侧未感染眼角膜上皮细胞、树突状细胞、角膜内皮细胞及角膜神经密度等均会发生相应改变,这与角膜的神经系统及免疫系统之间的通信联系有关。双眼通过共享众多分子识别途径,彼此直接通信,从而起到保护作用。此研究结果也提示在研究时应谨慎使用对侧未感染眼作为对照。此外,双眼树突状细胞数量增加表明双眼均出现炎症或免疫激活,因此单眼发病患者的对侧健眼也有罹患眼表疾病的风险。然而,目前单眼感染对于对侧健眼交感神经免疫应答的长期影响仍不明确。因此,未来还需对对侧未感染眼进行纵向研究来评估这些变化特征及其在感染性角膜炎中的特异性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hsia YC, Moe CA, Lietman TM, et al. Expert practice patterns and opinions on corneal cross-linking for infectious keratitis [J/OL]. *BMJ Open Ophthalmol*, 2018, 3 (1) : e000112 [2018-10-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29657977>. DOI:10.1136/bmjophth-2017-000112.
- [2] Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Shivakumar C, et al. Etiology and antibacterial susceptibility pattern of community-acquired bacterial ocular infections in a tertiary eye care hospital in south India [J]. *Indian J Ophthalmol*, 2010, 58 (6) : 497-507. DOI:10.4103/0301-4738.71678.
- [3] Yamaguchi T, Turhan A, Harris DL, et al. Bilateral nerve alterations in a unilateral experimental neurotrophic keratopathy model: a lateral conjunctival approach for trigeminal axotomy [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8 (8) : e70908 [2018-10-21]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23967133>. DOI:10.1371/journal.pone.0070908.
- [4] Paunicka KJ, Mellon J, Robertson D, et al. Severing corneal nerves in one eye induces sympathetic loss of immune privilege and promotes rejection of future corneal allografts placed in either eye [J]. *Am J Transplant*, 2015, 15 (6) : 1490-1501. DOI:10.1111/ajt.13240.
- [5] Coster DJ, Williams KA. The impact of corneal allograft rejection on the long-term outcome of corneal transplantation [J]. *Am J Ophthalmol*, 2005, 140 (6) : 1112-1122. DOI:10.1016/j.ajo.2005.07.024.
- [6] Cruzat A, Schrems WA, Schrems-Hoesl LM, et al. Contralateral clinically unaffected eyes of patients with unilateral infectious keratitis demonstrate a sympathetic immune response [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56 (11) : 6612-6620. DOI:10.1167/iops.15-16560.
- [7] Cruzat A, Witkin D, Baniyasi N, et al. Inflammation and the nervous system: the connection in the cornea in patients with infectious keratitis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (8) : 5136-5143. DOI:10.1167/iops.10-7048.
- [8] Chidambaram JD, Prajna NV, Palepu S, et al. *In vivo* confocal microscopy cellular features of host and organism in bacterial, fungal, and *Acanthamoeba* keratitis [J]. *Am J Ophthalmol*, 2018, 190 : 24-33. DOI:10.1016/j.ajo.2018.03.010.
- [9] Hamrah P, Cruzat A, Dastjerdi MH, et al. Corneal sensation and subbasal nerve alterations in patients with herpes simplex keratitis: an *in vivo* confocal microscopy study [J]. *Ophthalmology*, 2010, 117 (10) : 1930-1936. DOI:10.1016/j.ophtha.2010.07.010.
- [10] Yamaguchi T, Calvacanti BM, Cruzat A, et al. Correlation between human tear cytokine levels and cellular corneal changes in patients with bacterial keratitis by *in vivo* confocal microscopy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55 (11) : 7457-7466. DOI:10.1167/iops.14-15411.
- [11] Vannas A, Ahonen R, Mäkitie J. Corneal endothelium in herpetic keratouveitis [J]. *Arch Ophthalmol*, 1983, 101 (6) : 913-915.
- [12] Hirata H, Mizerska K, Marfurt CF, et al. Hyperosmolar tears induce functional and structural alterations of corneal nerves: electrophysiological and anatomical evidence toward neurotoxicity [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56 (13) : 8125-8140. DOI:10.1167/iops.15-18383.
- [13] Pecze L, Blum W, Schwaller B. Mechanism of capsaicin receptor TRPV1-mediated toxicity in pain-sensing neurons focusing on the effects of Na (+)/Ca (2+) fluxes and the Ca (2+)-binding protein calretinin [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833 (7) : 1680-1691. DOI:10.1016/j.bbamer.2012.08.018.
- [14] Ma X, Lu Y. Bilateral tear film alterations in patients with unilateral quiescent herpes simplex keratitis [J]. *Acta Ophthalmol*, 2017, 95 (6) : 629-633. DOI:10.1111/aos.13329.
- [15] Pahuja NK, Shetty R, Nuijts RM, et al. An *in vivo* confocal microscopic study of corneal nerve morphology in unilateral keratoconus [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016 : 5067853 [2018-10-29]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26904679>. DOI:10.1155/2016/5067853.
- [16] Müller RT, Pourmirzaie R, Pavan-Langston D, et al. *In vivo* confocal microscopy demonstrates bilateral loss of endothelial cells in unilateral herpes simplex keratitis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56 (8) : 4899-4906. DOI:10.1167/iops.15-16527.
- [17] Koh SW, Gloria D, Molloy J. Corneal endothelial autocrine VIP enhances its integrity in stored human donor corneoscleral explant [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (8) : 5632-5640. DOI:10.1167/iops.10-5983.

(收稿日期:2018-10-29 修回日期:2019-04-25)

(本文编辑:张宇)

读者·作者·编者

本刊对统计学方法的要求

研究论文如有量化测试指标时须有统计学分析的内容,分析并在方法部分提供统计学方法的描述,反应变量为单变量时请提供测量指标数据资料的性质(如定量数据资料及定性数据资料的表达方式)、多个样本定量数据资料正态分布检验的名称及方差齐性检验的名称、实(试)验设计方法及与之相匹配的统计学设计方法(如配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等)、与统计设计相应的统计方法名称(如 t 检验、方差分析)以及检验标准。选择方差分析统计设计时,应根据单因素或多因素设计选择正确的方法,不宜简单套用单因素方差分析。反应变量为双变量时,应根据实(试)验设计正确选择简单直线相关分析、回归分析或其他方法,不宜简单套用直线相关分析。统计学的检验标准请提供为双侧检验或单侧性检验。论文结果部分的统计学分析内容可用相应的图表表达。

统计学符号的著录执行 GB/T 3358.1—2009/ISO 3534-1:2006《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体,如样本量用 n ; 样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} ; 中位数用英文大写 M , 标准差用英文小写 s , 样本均数的标准误差用英文小写 $\sigma_{\bar{x}}$, t 检验用英文小写 t , F 检验用英文大写 F , 卡方检验用希腊文小写 χ^2 , 相关系数用英文小写 r , 确定系数用 R^2 , 自由度用希腊文小写 ν ; 概率用英文大写 P ; 检验水准用 α 。

统计结果的解释和表达采用对比组或比较对象之间差异有统计学意义的描述方法,而不用对比组之间具有显著性(或非常显著性)差异的描述。论文的统计学分析结果提倡提供统计学量值和 P 值的具体数据,如不能提供 P 值的具体数据时,必须提供统计学量值如 χ^2 值、 t 值、 F 值等。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,请给出 95% 可信区间(CI)。

(本刊编辑部)