

羊膜移植重建急性期严重烧伤眼表的临床研究

周世有 陈家祺 刘祖国 黄挺 陈龙山

【摘要】目的 探讨羊膜重建急性烧伤期眼表面的可行性,比较新鲜和保存羊膜的疗效差异,评价手术方法及其疗效。**方法** 全角膜 度以上烧伤且全周角膜缘坏死的临床连续病例分别接受羊膜移植(19 例 20 只眼)或全板层角膜移植手术(22 例 24 只眼)。19 例羊膜移植患者中 8 例 8 只眼接受新鲜羊膜移植,11 例 12 只眼接受保存羊膜移植。患者术后随访 12~26 个月,平均(15 ±2)个月。结果 羊膜移植后眼表迅速稳定。新鲜羊膜移植者眼表面迅即并维持上皮化。保存羊膜移植者第 2 或 3 周才完成上皮化,且 12 只眼中有 3 只眼不能完全上皮化,最后由于持续性上皮缺损而发生羊膜融解,其后接受了板层角膜移植。眼表上皮化的术眼随着时间的延长新生血管开始沿着羊膜从角膜周边长入,羊膜被逐渐吸收。新生血管多为表浅性。新鲜羊膜多数(7/8)在术后 2~8(4.3 ±0.8)个月、保存羊膜多数(10/12)在术后 1~3(2.0 ±0.3)个月基本被吸收或融解($t=4.22, P<0.01$)。羊膜移植重建的结膜眼表均获成功,仅 1 例发生影响眼球运动的中度睑球粘连。板层角膜移植组 22 例(24 只眼)均保全眼球,但在术后大多发生角膜植片上皮反复脱落,最终植片新生血管化,其中 4 只眼由于角膜植片融解而接受植片更换,7 只眼因植片上皮持续性缺损而行睑缘缝合术,5 只眼发生轻中度睑球粘连。在无合并青光眼和白内障的患者中,羊膜移植术后的视力基本保留了眼前手动,而板层角膜移植者则多见眼前指数。**结论** 羊膜尤其新鲜羊膜的移植可以减轻角膜急性烧伤期的炎症反应,阻止眼表的进行性溃烂和融解,加速眼表的稳定;同时减少角膜新生血管的形成,并在相当长的时间内将其局限在角膜周边部,从而为后续的角膜复明手术打下良好的基础。(中华眼科杂志, 2004, 40: 97-100)

【关键词】 羊膜; 移植; 修复外科手术; 眼烧伤

A clinical study of amniotic membrane transplantation for severe eye burns at the acute stage
ZHOU Shi-you, CHEN Jia-qi, LIU Zu-guo, HUANG Ting, CHEN Long-shan. Department of Cornea and External Eye Diseases, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China

Corresponding author: CHEN Jia-qi, Email: gdeyeb@gzsums.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the possibility of ocular surface reconstruction with amniotic membrane in the acute stage of burn injury, to compare the results using fresh and preserved amniotic membranes and to evaluate the surgical methods and their effects. **Methods** Consecutive patients of whole corneal burn above degree with complete destruction of the limbus were divided into two groups to receive amniotic membrane transplantation (8 eyes of 8 patients with fresh amnion, 12 eyes of 11 patients with preserved one) or lamellar keratoplasty (24 eyes of 22 patients). The follow-up period was 12 to 26 months with an average of (15 ±2) months. **Results** The ocular surface became stabilized after the transplantation of amniotic membrane. In eyes treated with fresh amniotic membrane, the corneal surface was epithelized immediately. In eyes treated with preserved amniotic membrane, the corneal surface was epithelized only after 2~3 weeks. Lamellar keratoplasty was performed in 3 of 12 eyes with preserved amnion transplantation because the amnion was dissolved due to persistent epithelial defects. Amnions were ab-

基金项目: 高校博士点专项科研基金资助项目(A03200116); 中山医科大学“211 工程”基金资助项目(A132001031)

作者单位: 510060 广州, 中山大学中山眼科中心

通讯作者: 陈家祺, Email: gdeyeb@gzsums.edu.cn

sorbed with time and superficial neovascularization followed in the corneal surfaces. Seven of eight transplanted fresh amnions were absorbed within 2 to 8 months [mean time (4.3 ± 0.8) months], and 10 of 12 preserved amnions were absorbed within 1 to 3 months [mean time (2.0 ± 0.3) months]. The difference was statistically significant ($t = 4.22$, $P < 0.01$). The conjunctival surface was successfully reconstructed with amniotic membrane at the acute stage of burn injury. Moderate symblepharon occurred in one case only. Corneal dissolution never occurred in all patients who received lamellar keratoplasty, but recurrent erosion of corneal epithelium occurred in the grafts and corneal neovascularization developed eventually. Corneal graft had to be performed again on four eyes and symblepharonplasty had to be performed on seven eyes. Mild to medium symblepharon was observed in 5 of 24 eyes received lamellar keratoplasty. Visual acuity could be maintained at hand movement in eyes treated with amniotic membrane transplantation without secondary glaucoma and cataract. Visual acuity was figure counting in most cases with lamellar keratoplasty.

Conclusions Amniotic membrane transplantation (especially using a fresh membrane) can effectively reduce the inflammation of the cornea at the acute stage of burn injury, can prevent corneal ulcer and perforation and can make the stabilization process faster. It can also decrease corneal neovascularization as well as establish better conditions for successful keratoplasty. (*Chin J Ophthalmol*, 2004, 40: 97-100)

【Key words】 Amnion; Transplantation; Reconstructive surgical procedures; Eye burns

严重的急性期眼表烧伤往往导致角、结膜坏死、融解,甚至角膜穿破。急需行眼表面尤其是角膜表面的重建,以防止角膜穿破后眼内容物脱出而导致失明。治疗的策略主要有去除坏死的眼表组织、促进眼表上皮化、减轻炎症和阻止角、结膜的融解等。近期研究显示,羊膜具有促进上皮生长、减轻炎症和血管化、减少瘢痕增生等效果^[1-4]。但关于羊膜应用于眼表急性烧伤的报道较少。本文在前期研究证实了新鲜羊膜移植的可行性基础上^[5],再次通过临床对比研究探讨了羊膜应用于严重急性期眼表烧伤的手术方式及其效果,并比较新鲜羊膜和保存羊膜的疗效差异。

资料和方法

一、病例资料

1998 年 10 月至 2001 年 5 月,我们对 41 例(44 只眼)眼烧伤患者进行了治疗。男 36 例(38 只眼),女 5 例(6 只眼),年龄 6~45(37 ± 4)岁。随访 12~26(15 ± 2)个月。热烧伤 5 只眼、酸烧伤 8 只眼、碱性化学伤 31 只眼,均为全角膜 Ⅱ度以上烧伤且合并全角膜缘 Ⅱ度烧伤坏死(按 Roper-Hall 眼烧伤严重程度分级法),角膜进行性溃烂和变薄但尚存部分厚度,部分病例结膜存在一定面积的 Ⅱ度烧伤,皆不伴有严重的眼睑缺损。19 例(20 只眼)接受了羊膜移植手术(8 例 8 只眼接受新鲜羊膜移植,11 例 12 只眼接受保存羊膜移植);其中 1 例双眼眼表烧伤的患者同时存在角膜缘后约 5 mm 处的巩膜缺血和浅层巩膜坏死,曾在外院接受 2 次羊膜移植均以羊膜融解、巩膜暴露而转入我院,接受球筋膜囊成形联合保存羊膜移植术。22 例 24 只眼接受带健康角膜缘的

全板层角膜移植。施行手术的时机为烧伤后 2 周~2 个月,平均(5 ± 2)周。存在眼睑缺损、睑内外翻及倒睫等的患者也在治疗时,根据病情先后予以重建等修复措施。

二、手术材料

1. 新鲜和保存羊膜的取材和制备:采用文献[6]报道的方法。所有供体的产前乙肝表面抗原、艾滋病病毒、梅毒、巨细胞病毒、衣原体等检测结果均呈阴性,并且无其他传染性疾病和恶性肿瘤病史。

2. 新鲜角膜:供体眼的获取和处理按标准 4 眼球湿房保存法,24 h 内使用。

三、手术方法

1. 羊膜移植术:用显微剪剪除眼球表面坏死的全周近角膜缘处的球结膜和浅层巩膜直至血循环征象出现,然后用刀片切削、清除角膜表面的坏死组织,彻底止血后用同形同大的羊膜覆盖于角结膜创面上(上皮面向上),用 8-0 可吸收缝线将羊膜植片全周边缘与患眼球结膜创缘缝合固定,缝线必须经过浅层巩膜组织。于角膜缘 3、6、9 及 12 点钟处用 10-0 尼龙线将羊膜固定于浅层巩膜。手术中力求将全角膜表面的坏死组织尽量切除干净,使羊膜移植在健康的角膜基质上。

2. 全板层角膜移植:按照常规程序^[7]。所有病例均采用常规的药物疗法,手术后连续包扎双眼 2 d 后首次换药,其后隔天换药。伴有轻度眼睑缺损和闭合不全者,术后频繁使用人工泪液和凡士林油纱遮盖眼睑创面、封闭睑裂或者施行睑缘缝合术。移植术后还应用了抗排斥药物(如 0.5% FK-506 滴眼液)。

四、统计学处理

应用 SPSS10.0 软件进行统计学处理。新鲜和保存羊膜融解时间($\bar{x} \pm s$)的比较采用 t 检验。

结 果

一、羊膜移植组情况

羊膜移植在角膜表面后均存活,眼表迅速稳定,炎症开始趋向静止。所有的角膜眼表均得以避免融解和穿孔。新鲜羊膜移植术后前 3~5 d 透明,之后逐渐变成灰白色、半透明状,羊膜表面一直呈荧光素染色阴性。保存羊膜移植后初期轻度水肿,以后变成灰白色,水肿消退,荧光素染色呈阳性,直到 2~3 周荧光素染色才转为阴性,12 只眼中有 3 只眼因为持续性上皮缺损而发生羊膜融解,最后施行板层角膜移植。羊膜移植后均随着时间的延长,新生血管开始沿着羊膜从角膜周边侵入,羊膜随之被吸收,新生血管多在角膜表层和浅前基质层(图 1~4)。新鲜羊膜多数(7/8)在术后 2~8(4.3 ± 0.8)个月、保存羊膜多数(10/12)在术后 1~3(2.0 ± 0.3)个月基本被吸收或融解($t = 4.22, P < 0.01$)。3 只眼(新鲜羊膜 1 只眼和保存羊膜 2 只眼)因为倒睫刺破植片或缝线松脱而在术后 1 周即开始融解,再过 2 周后基本融解,其后行板层角膜移植。未合并青光眼的患者术后基本保留了眼前手动视力。

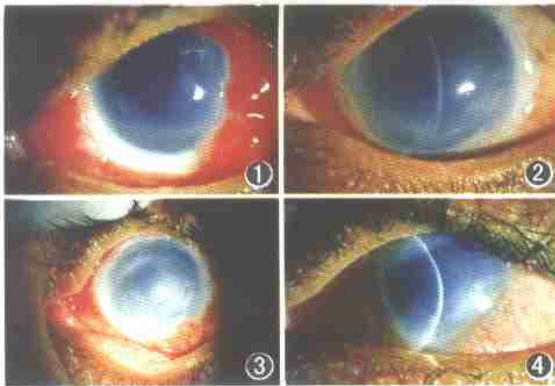


图 1 患者左眼碱性化学伤(烧碱)烧伤后 5 周,角膜变薄,角膜周围球结膜增生,全周角膜缘缺血坏死,5~8 点钟位近角膜缘 2~3 mm 宽的巩膜坏死(图 1~4 为该患者的连续观察) 图 2 新鲜羊膜移植术后 2 个月,羊膜存在,植片荧光素染色阴性,无新生血管侵入 图 3 术后 3 个月,羊膜尚存,荧光素染色阴性,仅 5 点钟位可见少许新生血管侵入 1~2 mm 图 4 术后 8 个月羊膜模糊存在,鼻上和颞下方的新生血管侵入角膜范围稍微扩大,但角膜表面荧光素染色仍阴性,中央隐约透见虹膜组织

用羊膜重建的结膜部分均得到存活,植片贴附良好。1 只眼发生中度、3 只眼发生轻度的睑球粘

连,未见粘连面积达 1/2 结膜穹隆部者;其中 1 只眼中度睑球粘连者是因为倒睫刺破颞侧结膜面和角膜面上的保存羊膜而发生下睑外侧和角膜相粘,然后随着羊膜的吸收,粘连组织逐渐覆盖了大部分角膜(图 5,6)。羊膜植片一般在术后 2~3 个月时与结膜外观差别不大。



图 5 烟花烧伤后 3 周患者眼睑肥厚、内翻、睫毛乱生,结膜坏死和角膜溶解变薄 图 6 图 5 患者行保存羊膜移植术后 4 个月,因倒睫刺破颞侧角膜面和结膜面的羊膜而发生外侧的睑球粘连,粘连组织覆盖颞侧 1/4 的角膜表面,10 个月后覆盖 4/5 表面,之后静止,手术 2 周后羊膜植片表面荧光素染色呈阴性

二、板层角膜移植组情况

所有病例均保全眼球。但在术后大多发生角膜植片上皮的反复脱落,其中 7 只眼又行睑缘缝合;4 只眼终因角膜无菌性溃疡被迫更换植片。移植后板层植片与植床间长满新生血管,深层血管多且粗大,角膜表面也有大量的纤维血管膜侵入。5 只眼出现轻中度的睑球粘连。未合并青光眼的患者术后均保留了眼前指数视力。

讨 论

一、羊膜移植重建严重急性期烧伤眼表的效果和评价

严重急性期眼表化学伤或热烧伤时角结膜广泛坏死、融解,药物治疗基本无效。在本研究中,所有的羊膜移植眼或板层角膜移植眼均保全眼球,眼表面迅速稳定,角膜不再继续融解和发生穿破,且很少发生睑球粘连,表明在急性期严重烧伤眼表应用羊膜不仅能与含基底膜的基质胶原和板层角膜植片一样有效防止角、结膜融解及角膜穿孔,还能有效防止睑球粘连,促进眼表面的稳定。羊膜替代严重炎症性甚至坏死的结膜组织后可以促进结膜上皮的生长和分化,从而加速结膜表面的上皮化,形成光滑的结膜表面;其含有 IL-10 等抗炎成分^[8]可使眼表面瘢痕组织形成减少。

另外,羊膜移植组眼角膜表面形成的新生血管较全板层角膜移植组明显减少,而且新生血管一般

仅侵犯羊膜植片,很少发生深层的新生血管。新鲜羊膜组的角膜新生血管比较局限于角膜的周边部。相对而言,上述结果可以为后期的复明手术创造更加有利的条件。

二、羊膜重建急性期眼表面的疗效和可能的作用机制

随着时间的推移,移植后羊膜将发生吸收或融解。新鲜羊膜移植后的融解时间明显比保存羊膜推迟,从而获得更长的眼表稳定时间。此机制可能与新鲜羊膜表面含有活性的上皮有关。本研究表明,新鲜羊膜移植后其表面迅速发生上皮化,而保存羊膜则需 2~3 周,且部分眼可能发生持续性上皮缺损。眼表上皮缺损后基质暴露将会导致融解发生。有研究^[9,10]表明:羊膜中抑制蛋白水解酶活性的 IL-10 等细胞因子和基质金属蛋白酶抑制剂等主要在其上皮中表达。但是新鲜羊膜在取材或保存方面相对不方便。

三、羊膜移植的手术技术和注意事项

在临床实践的过程中,我们发现羊膜移植片的存活与移植床的微环境有关。当烧伤后马上行羊膜移植且植床为糜烂组织时,羊膜植片将较快发生融解。羊膜植片缝合固定不良,随后发生植片松脱是植片融解的因素之一。本研究中有 1 只眼是因为缝线的松脱而触发羊膜的融解。所以,羊膜移植手术中的植床剖切和羊膜固定非常重要。手术时应将植床表面的坏死组织和坏死的球结膜清除干净,在坏死的巩膜表面平铺上一薄层的球筋囊并将羊膜植片固定在角膜缘和角膜缘后数毫米的浅层巩膜上。

羊膜移植术后的观察和护理也非常关键。因为羊膜植片终将被吸收,或持续性上皮缺损而发生眼表组织的融解。而且,严重眼表烧伤者常伴有眼睑缺损、泪液排出受阻、眼睫毛倒生和乱生等,这些因素都将使泪膜受到破坏,或羊膜直接受到损害。故手术时或术后应尽可能地修复眼睑,并频繁地使用人工泪液。否则,羊膜植片很容易因为睑裂闭合不全和(或)干眼症而发生融解现象。本研究中 2 只眼因为倒睫和闭合不全而发生早期羊膜融解。

四、羊膜移植重建急性期烧伤眼表面的手术时机

根据本组病例的研究结果,我们认为对于眼表面的急性烧伤,应该早期根据病情积极使用消炎药

物、胶原酶抑制剂,同时,不失时机地根据角膜缘的受毁情况选择行羊膜移植或羊膜遮盖。如果全周角膜缘确实坏死且角膜融解应采用羊膜移植术;羊膜移植重建角膜表面宜在先应用一段时间的药物(最好能达 2~3 周以上)后再施行,手术时尽量去除眼表面的坏死组织使植床保持健康,移植的羊膜最好用新鲜羊膜。如果能提供活性角膜缘,则应考虑采用羊膜移植联合角膜缘移植。因为从羊膜植片的观察结果和眼表的最终状态表明,羊膜移植并不会解决角膜缘干细胞缺乏的问题。

由于羊膜取材方便、手术简单、费用低廉,且羊膜移植可反复施行,所以,在严重的全角膜烧伤坏死、但角膜有一定厚度的情况下,应先考虑羊膜移植,待眼表炎症相对稳定并眼睑功能恢复时,再行板层角膜移植和中央穿透性角膜移植。我们认为这种三阶段处理严重眼表烧伤的模式比先板层后穿透性角膜移植的两阶段模式预后更好,容易在我国广大基层医院开展。

参 考 文 献

- 1 Kim JC, Tseng SCG. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea*, 1995, 14:473-484.
- 2 Meller D, Tseng SCG. In vitro conjunctival epithelial differentiation on preserved human amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1998, 39(suppl):42.
- 3 Tseng SCG, Li DQ, Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF- β receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol*, 1999, 179:324-325.
- 4 Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology*, 1997, 104:2068-2076.
- 5 陈家祺,周世有,黄挺,等. 新鲜羊膜移植重建严重瘢痕期和炎症期眼表的临床研究. *中华眼科杂志*, 2000, 36:13-17.
- 6 Zhou SY, Chen JQ, Feng JF. The effect of amniotic membrane on polymorphonuclear cells. *Chin Med J*, 2003, 116:788-790.
- 7 陈家祺,赵敏. 角膜移植治疗角膜重度热烧伤的临床研究. *中国实用眼科杂志*, 1997, 30:39-56.
- 8 Hao YK, David HK, Hwang DG, et al. Identification of antiangiogenic and antiinflammation proteins in human amniotic membrane. *Cornea*, 2000, 19:348-352.
- 9 Roizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ, et al. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Cur Eye Res*, 2000, 220:173-177.
- 10 Sato H, Shimazaki J, Shinozaki K, et al. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1998, 39:90.

(收稿日期:2003-08-01)

(本文编辑:韩钊)