

质体是一类非病毒制剂,作为基因转移的载体具有低毒性、相对价廉和使用方便等优点,而且具有一定的转染效率。本研究所使用的 Lipofectamine 2000 是一种特制的阳离子脂质体试剂,其与靶 DNA 的磷酸骨架结合生成的复合物具有能轻易通过细胞膜,从而完成转染过程的特性^[7]。本研究结果表明转染 12 h 后, Müller 细胞中即可观察到 EGFP 的表达,表明 Lipofectamine 2000 包裹的 pEGFP-N1 质粒能通过细胞膜融合或受体介导的胞饮作用将 pEGFP-N1 质粒转入 Müller 细胞,进入细胞内的质粒利用 Müller 细胞中转录及翻译所需的酶表达 EGFP。随着进入 Müller 细胞内的 pEGFP-N1 质粒数量逐步增多,细胞内 EGFP 的表达逐渐增多,于转染后 24 h 出现 EGFP 表达高峰。转染后 48 ~ 72 h EGFP 表达并未明显减弱,这与 Müller 细胞生长缓慢,对 EGFP 表达的“稀释”作用弱有关。本研究比较了转染前后的活细胞率,结果表明 Lipofectamine 2000 对 Müller 细胞不存在明显的毒性作用。

综上所述, Lipofectamine 2000 可安全有效地介导 Müller 细胞的转染。本研究为进一步明确 Müller 细胞

的病理、生理功能及 Müller 细胞的靶向基因治疗提供了新的手段。

参考文献

- 1 Newman E, Reichenbach A. The Müller cell; a functional element of the retina[J]. Trends Neurosci, 1996, 19: 307 - 312
- 2 Bringmann A, Skatchkov SN, Pannicke T, et al. Müller glial cells in anuran retina[J]. Microsc Res Tech, 2000, 50: 384 - 393
- 3 Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, et al. Müller cells in the healthy and diseased retina[J]. Progress Retin Eye Res, 2006, 25: 397 - 424
- 4 黄敏丽, 陈维平, 何少健, 等. 大鼠视网膜 Müller 细胞的培养与鉴定[J]. 广西医科大学学报, 2007, 24: 223 - 224
- 5 荀琳, 张作明, 许汉鹏, 等. 恒温摇动法纯化培养大鼠视网膜 Müller 细胞的技术研究[J]. 眼科研究, 2002, 20: 411 - 413
- 6 de Smedt SC, Demeester J, Hennink WE. Cationic polymer based gene delivery systems[J]. Pharm Res, 2000, 17: 113 - 126
- 7 Ewert K, Ahmad A, Evans HM, et al. Cationic lipid DNA complexes for non-viral gene therapy: Relating supramolecular structures to cellular pathways[J]. Exp Opin Biol Ther, 2005, 5: 33 - 35

(收稿: 2008-04-23 修回: 2008-11-16)

(本文编辑: 刘 艳)

· 病例报告 ·

LASIK 术后双眼角膜感染一例

黄建忠 刘伟民 李志刚 林 泉 罗武强

患者,男,31岁,茶厂工人。因患近视20年拟行LASIK手术。术前泪膜破裂时间、眼压、角膜超声测厚、角膜地形图、Obscan眼前节分析系统检查均正常,给予0.3%氧氟沙星、0.1%玻璃酸钠滴眼液常规点眼5d。于2006年8月13日在我院行LASIK手术,术后第1d双眼裸眼视力1.0,双眼结膜无充血,角膜透明。给予妥布霉素地塞米松、氟米龙和羟丙甲纤维素滴眼液常规点眼。术后1周复查双眼无刺激症状,右眼裸眼视力1.0、左眼1.2。右眼6:00及8:30、左眼7:00方位角膜层间各见1个直径约1mm的灰白色浸润灶(图1,2)。停用妥布霉素地塞米松、氟米龙滴眼液,给予氧氟沙星滴眼液点眼,每2h1次,羟丙甲纤维素滴眼液点眼,每日4次。术后2周复查双眼无刺激症状,右眼裸眼视力0.8,左眼1.0,双眼角膜层间3个浸润点略有扩大,周围呈羽毛状(图3,4)。改用0.5%左氧氟沙星、0.3%妥布霉素滴眼液点眼每小时1次。术后3周右眼裸眼视力0.01,不能矫正,球结膜混合充血++,角膜原病灶前角

膜瓣局部融解,边缘略淡,但角膜瓣水肿加重,层间渗出范围扩大,KP(++),前房闪辉(-);左眼角膜病灶无明显变化。用0.5%左氧氟沙星滴眼液点眼,每2h1次,全身静脉滴注0.2%盐酸左氧氟沙星注射液100mL,每日2次。角膜刮片、结膜囊分泌物细菌及结核杆菌培养结果均阴性。此后病变逐渐好转。术后4周右眼角膜瓣透明,病灶处瓣局部穿孔,病灶颜色变淡,基质层水肿减轻,层间渗出明显吸收,KP(+),前房闪辉(-)。左眼角膜病灶略扩大。术后5周查右眼裸眼视力1.0,左眼1.2,右眼病灶处瓣略凹陷,浅灰色,角膜荧光素染色(-),层间不均匀混浊,KP(-);左眼角膜病灶变淡变小,其周围仍见不规则混浊。继续滴用0.5%左氧氟沙星、妥布霉素地塞米松、0.1%玻璃酸钠滴眼液。术后8周左眼复发,右眼裸眼视力1.0,角膜病灶如前,左眼1.5,球结膜混合充血++,角膜原病灶处水肿隆起,少许分泌物附着,角膜荧光素染色(+),周围层间混浊,渗出物较多,瓣缘翘起(图5,6)。立即给与盐酸左氧氟沙星、阿奇霉素静脉滴注,0.5%左氧氟沙星滴眼液点眼,右眼每日4次,左眼每小时1次。术后13周复查:右眼裸眼视力1.0,左眼1.2,双眼角膜病灶局限混浊,表面光滑,荧光素染色(-)。术后1年复查无复发。术后2年复查:右眼裸眼视力

本课题为广西卫生厅科研项目资助(桂卫 Z2006 164)
作者单位:530021 南宁,广西壮族自治区人民医院视光科
通讯作者:黄建忠 (Email:linquanamd@21cn.com)

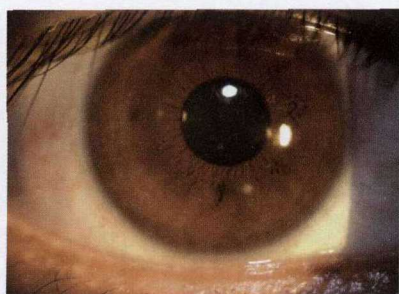


图 1 术后 7 d 右眼角膜表现



图 2 术后 7 d 左眼角膜表现



图 3 术后 2 周右眼角膜表现



图 4 术后 2 周左眼角膜表现



图 5 术后 8 周右眼角膜表现

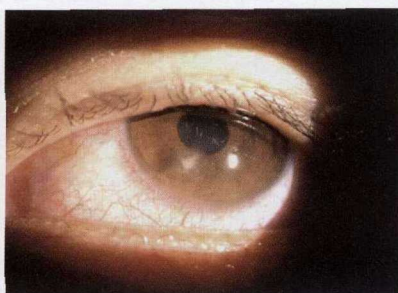


图 6 术后 8 周左眼角膜表现

1.2, 左眼 1.5, 角膜病灶处混浊, 略凹陷, 其他部位角膜透明。

讨论: LASIK 术后感染是一种少见的严重并发症, 1997 年 Perez-Santonya 等^[1]首次报道以来, 国内也有个例报道^[2-4], 发生率为 0.02% ~ 0.1%。武樱等^[5]报道发生率为 1.33% (20/1 504)。我们从 2002 年至今已行 LASIK 手术 8 127 例 (15 881 眼), 仅此例发生双眼术后感染。LASIK 术后感染的原因主要有: 医源性如手术室环境、手术器械、敷料及操作; 患者自身因素如结膜囊细菌感染、邻近器官炎性病灶、抵抗力及免疫力低下和外界环境如术后接触污染的环境。致病菌以革兰阳性菌最常见, 其次为非典型分枝杆菌^[1,6], 后者近年有上升趋势。武樱等^[5]报道 LASIK 术后感染 20 眼中有 19 眼为非结核分枝杆菌感染。分枝杆菌为嗜酸杆菌, 属于条件致病菌, 广泛存在于周围环境中, 也可以在健康人群的体表和体液如唾液、胃液等检出, 对角膜的感染机制目前尚不清楚。LASIK 术后角膜分枝杆菌感染的特点为: (1)慢性及隐匿性病程; (2)起病晚 (术后 2 ~ 8 周); (3)对抗生素治疗不敏感。其特异性角膜病变特征有: 浸润边缘不规则、羽毛状外观; 雪花状或碎玻璃样白斑; 卫星灶。诊断依据包括: (1)病史特征, 起病时间为术后

10 d 至 6 周; (2)典型角膜形态学改变和病理过程; (3)实验室检查, 刮片行 Ziehl-Neelsen 抗酸染色, 用 Lowenstein-Jensen, Ogawa agar 培养基培养结果。治疗方法为: (1)全身及眼部应用抗分枝杆菌药物, 眼部每 10 min ~ 1 h 点眼 1 次, 眼浴每日 2 次; (2)酌情决定行角膜瓣下冲洗、刮除病灶 (涂片和培养); (3)感染难以控制则去除角膜瓣; (4)避免使用糖皮质激素药物; (5)必要时行穿透角膜移植。预防措施包括: (1)术前常规应用抗生素滴眼液 3 ~ 5 d, 清洁结膜囊; 彻底治疗眼睑、结膜或附属器感染性病变; (2)术中用加有抗生素的平衡盐溶液冲洗结膜囊; 手术器械严格消毒; 75% 乙醇消毒眼睑皮肤, 铺无菌孔巾, 手术贴粘贴睫毛; 严格无菌操作, 一个患者一把刀片; 角膜瓣下适度冲洗, 避免冲洗液反流瓣下; (3)术后预防性使用抗生素滴眼液。

我科 2006 年 8 月 13 日共行 LASIK 手术 39 例 (74 眼), 仅 1 例感染患者。本例患者严格遵循手术规程, 不存在术中交叉感染情况, 可能与自身因素有关。我们认为, 虽然刮片及培养未能找到病菌, 但从病史、病灶特征、临床演变及治疗效果等, 可考虑为 LASIK 术后分枝杆菌感染。本病例观察细致、治疗及时、措施得当、效果满意。综上分析: (1)LASIK 术后感染发生率虽然极低, 但一旦发生就会造成严重后果, 一定要严格按照手术规程, 严格无菌操作; (2)分枝杆菌刮片和培养检出率较低, 不要等待实验室检查结果, 疑似病例应及早应用抗分枝杆菌药物; (3)掀瓣冲洗、病灶烧灼或去除角膜瓣要根据病情酌情采用, 不能一概而论, 有时保守治疗更为稳妥。

参考文献

- 1 Perez-Santonya JJ, Sakla HF, Abad JL, et al. Nocardial keratitis after lasik in situ keratomileusis [J]. J Refract Surg, 1997, 13: 314 - 317
- 2 余晴, 陈蒙, 吕清华. Lasik 术后感染 1 例 [J]. 美国际眼科杂志, 2002, 2(4): 44
- 3 梁庆丰, 李莹. 准分子激光原位角膜磨镶术后非结核分枝杆菌性角膜炎一例 [J]. 中华眼科杂志, 2005, 4(2): 186 - 187
- 4 刘三元. 准分子激光原位角膜磨镶术后感染性角膜炎 2 例 [J]. 眼视光学杂志, 2007, 9(5): 360
- 5 武樱, 武超. 15 例 20 眼准分子激光原位角膜磨镶术后感染及处理 [J]. 中国实用眼科杂志, 2007, 25(12): 1300
- 6 陈跃国. 准分子激光角膜屈光手术专家释疑 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 118 - 125

(收稿: 2008 - 08 - 13)

(本文编辑: 尹卫靖)