

[16] Bapna M, Chauhan LS. The ambidextrous cyclooxygenase;an enduring target[J]. Inflamm Allergy Drug Targets, 2015,13(6):387 – 392.

[17] Yan W, Yun Y, Ku T, et al. NO₂ inhalation promotes Alzheimer’s disease-like progression; cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 modulation and monoacylglycerol lipase inhibition-targeted medication[J]. Sci Rep, 2016,6:22429.

[18] Wang L, Jiang N, Lin QR, et al. Cyclooxygenase-2(COX-2) polymorphism rs689466 may contribute to the increased susceptibility to post-traumatic osteomyelitis in Chinese population[J]. Infect Dis (Lond), 2017,49(11 – 12):817 – 823.

[19] Tsai MH,Wu CH,Lin WN,et al. Infection with Staphylococcus aureus elicits COX-2/PGE2/IL-6/MMP-9-dependent aorta inflammation via the inhibition of intracellular ROS production[J]. Biomed Pharmacother, 2018,107:889 – 900.

[收稿日期 2022 – 05 – 27] [本文编辑 余 军 韦 颖]

本文引用格式
展巧稚,阎文军. Ghrelin 对围术期神经认知障碍小鼠术后海马氧化应激及炎症反应的影响[J]. 中国临床新医学,2022,15(12):1158 – 1163.

论著

活体共聚焦显微镜在评估 2 型糖尿病患者
角膜神经形态学变化中的临床应用

陈丽妃, 黄 慧, 沈朝兰, 陈 琦, 李 敏

基金项目: 广西科技计划项目(编号:桂科 AD19245193); 广西卫生健康委科研课题(编号:Z20170375;Z2016623)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院眼科(陈丽妃,黄 慧,沈朝兰,李 敏), 视光科(陈 琦)

作者简介: 陈丽妃,医学硕士,主治医师,研究方向:角膜疾病及眼底疾病的诊疗。E-mail:1456978397@qq.com

通信作者: 李 敏,医学硕士,主任医师,博士后联合培养导师,研究方向:白内障、角膜疾病、眼底疾病的诊疗。E-mail:limin00899@163.com

[摘要] 目的 探讨活体共聚焦显微镜(IVCM)在评估 2 型糖尿病患者角膜神经形态学变化中的临床应用价值。方法 选取 2017 年 12 月至 2019 年 12 月确诊的 2 型糖尿病患者 180 例,根据其是否合并糖尿病视网膜病变(DR)将其分为非糖尿病视网膜病变(NDR)组(90 例,90 眼)和 DR 组(90 例,90 眼)。另选择同期健康志愿者 90 名(90 眼)作为对照组。均行 IVCM 检查,比较三组角膜中央神经纤维密度(CNFD)、角膜神经分支密度(CNBD)、角膜神经纤维长度(CNFL)。结果 IVCM 检查见 NDR 组和 DR 组的角膜神经纤维的数量及分支较对照组减少,走行僵直。NDR 组和 DR 组的 CNFD、CNBD 和 CNFL 水平均显著低于对照组($P < 0.05$)。DR 组的 CNFD、CNBD 和 CNFL 水平显著低于 NDR 组($P < 0.05$)。结论 IVCM 检查能够快速、无创、精准地检测出糖尿病患者角膜神经纤维的早期改变,可为 DR 的预防、早诊断、早干预提供客观的科学依据。

[关键词] 活体共聚焦显微镜; 糖尿病; 角膜神经纤维

[中图分类号] R 770.41 [文献标识码] A [文章编号] 1674 – 3806(2022)12 – 1163 – 04
doi:10.3969/j.issn.1674 – 3806.2022.12.12

Clinical application of in-vivo confocal microscopy in evaluating the morphological changes of corneal nerves in type 2 diabetic patients CHEN Li-fei, HUANG Hui, SHEN Chao-lan, et al. Department of Ophthalmology, the People’s Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To explore the clinical application value of in-vivo confocal microscopy(IVCM) in evaluating the morphological changes of corneal nerves in patients with type 2 diabetes. **Methods** One hundred and eighty patients with type 2 diabetes diagnosed from December 2017 to December 2019 were selected, and divided into non-diabetic retinopathy(NDR) group(90 cases, 90 eyes) and diabetic retinopathy(DR) group(90 cases, 90 eyes) according to whether they were complicated with diabetic retinopathy. Ninety healthy volunteers(90 eyes) during the same period were selected as the control group. All the research subjects underwent IVCM examination, and the central corneal nerve fiber density(CNFD), corneal nerve branch density(CNBD) and corneal nerve fiber length(CNFL) were compared among

the three groups. **Results** The IVCM examination showed that the number and branches of corneal nerve fibers in the NDR group and the DR group were less than those in the control group, and the course of corneal nerve fibers was stiff. The levels of CNFD, CNBD and CNFL in the NDR group and the DR group were significantly lower than those in the control group($P<0.05$). The levels of CNFD, CNBD and CNFL in the DR group were significantly lower than those in the NDR group($P<0.05$). **Conclusion** IVCM examination can quickly, non-invasively and accurately detect the early changes of corneal nerve fibers in diabetic patients, and can provide objective scientific basis for the prevention, early diagnosis and early intervention of DR.

[**Key words**] In-vivo confocal microscopy (IVCM); Diabetes; Cornea nerve fiber

糖尿病是一种全身代谢性疾病,糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是最常见的眼部并发症,也是眼科医师关注的焦点。然而,糖尿病在角膜中亦会引起病变。据估计,在糖尿病这一终生疾病的整个过程中,47% ~ 64% 的糖尿病患者存在糖尿病角膜病变^[1]。糖尿病角膜病变的组织生理功能改变包括角膜上皮细胞伤口愈合不良、角膜神经纤维形态改变、内皮细胞损伤及泵功能改变。活体共聚焦显微镜(in-vivo confocal microscopy, IVCM)检查是20世纪90年代发展起来的一项具有划时代意义的技术,具有快速、无创、高分辨、实时的特点,可以实现对活体组织的超微结构进行无创性检查,精准地获取和分析角膜各层面的二维图像和整个角膜的三维图像。本研究运用IVCM评估2型糖尿病患者角膜神经形态学变化,探讨其与DR的关系,以期对糖尿病早期周围神经病变的诊断提供了一种新型、灵敏和非侵入性的检测手段。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取2017年12月至2019年12月确诊的2型糖尿病患者180例,于广西壮族自治区人民医院眼科行直接或间接眼底镜检查,根据其是否合并DR将其分为非糖尿病视网膜病变(non-diabetic retinopathy, NDR)组(90例,90眼)和DR组(90例,90眼)。纳入标准:(1)确诊2型糖尿病^[2];(2)角膜组织透明;(3)无眼部外伤及眼部手术史;(4)无角膜感染病变史;(5)无角膜接触镜佩戴史;(6)未服用过影响角膜代谢的药物;(7)无其他影响周围神经的全身非糖尿病病变。排除标准:(1)合并中枢或其他周围神经疾病;(2)合并恶性肿瘤;(3)合并结缔组织病;(4)营养不良;(5)合并慢性肝炎疾病;(6)合并甲状腺疾病等内分泌疾病;(7)合并精神心理疾病;(8)合并活动性眼病、青光眼、翼状胬肉、疱疹病毒角膜病变、其他角膜感染病变、角膜云翳、角膜斑翳、角膜白斑。另选择同期健康志愿者90名(90眼)作为对照组。三组年龄、性别差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表1。本研究获医院伦理委员会批

准(编号:KY-G2R-2019-053号),研究对象均知情同意参与。

表1 三组基线资料比较[($\bar{x} \pm s$), n]

组别	例数	性别		年龄 (岁)
		男	女	
NDR组	90	45	45	59.07 ± 9.38
DR组	90	45	45	56.04 ± 8.05
对照组	90	45	45	58.27 ± 10.68
F/χ^2	—	0.000		2.495
P	—	1.000		0.080

1.2 IVCM检查方法及观察指标 由具有丰富IVCM操作及临床经验的眼科医师采用Heidelberg Engineering GmbH生产的IVCM(Heidelberg Retina Tomograph-III)进行检查。受试者取坐位,用0.5%盐酸丙美卡因滴眼液对受检眼进行表面麻醉,装置好一次性角膜接触帽,调整显微镜物镜位置,予开睑器打开双睑,受试者头部固定于显微镜物镜前,双眼按照指示灯方向注视正前方。检查者将显微镜物镜向前移动直到轻触角膜中央表面,逐渐推进镜头,逐层显示角膜各层组织。采集角膜上皮下神经丛图像8~10张存储,深度50~60 μm,每张图像观察的范围是400 μm × 400 μm。从存储的图像中选择6张清晰度好,能反映角膜中央部位神经纤维丛的图像通过仪器自带软件进行分析:(1)角膜神经纤维密度(corneal nerve fiber density, CNFD),每平方毫米内所有神经主干纤维数目;(2)角膜神经分支密度(corneal nerve branch density, CNBD),每平方毫米内主干神经发出分支的数目。采用Image J软件分析图像角膜神经纤维长度(corneal nerve fiber length, CNFL),每平方毫米所有神经纤维长度之和。整个过程大约需要5 min,过程中无受试者抱怨疼痛、不适或视觉障碍。

1.3 统计学方法 应用SPSS19.0统计软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,三组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD- t 检验。计数资料以例数(百分率)[$n(\%)$]表

示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

IVCM 检查见 NDR 组和 DR 组的角膜神经纤维的数量及分支较对照组减少,走行僵直。比较结果显示,NDR 组和 DR 组的 CNFD、CNBD 和 CNFL 水平均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。DR 组的 CNFD、CNBD 和 CNFL 水平均低于 NDR 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2,图 1。

表 2 三组 CNFD、CNBD 和 CNFL 比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	眼数	CNFD (n/mm ²)	CNBD (n/mm ²)	CNFL (mm/mm ²)
NDR 组	90	20.11 ± 5.14 ^{*#}	23.47 ± 8.54 ^{*#}	12.27 ± 4.46 ^{*#}
DR 组	90	15.69 ± 4.63 [*]	16.61 ± 9.81 [*]	9.92 ± 4.49 [*]
对照组	90	27.36 ± 9.84	27.93 ± 12.06	15.11 ± 4.31
<i>F</i>	—	64.783	27.905	31.105
<i>P</i>	—	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与 DR 组比较,[#] $P < 0.05$

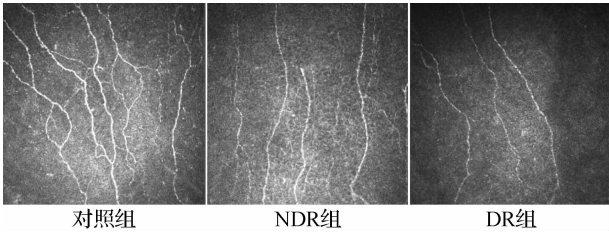


图 1 IVCM 检查角膜神经纤维所见

3 讨论

3.1 目前糖尿病已成为社会公共卫生问题,其发病率逐年增长。据国际糖尿病联合会推测,2035 年糖尿病患者人数将达到 5.92 亿人^[3]。糖尿病并发症累及全身,轻则影响患者生活质量,重则危害患者的生命安全。其中 DR、糖尿病肾病和糖尿病周围神经病变是公认的糖尿病微血管并发症^[4],对患者生活质量影响较大。早预防、早诊断可防止晚期并发症的发生^[5]。糖尿病周围神经病变的诊断方法包括神经症状/神经缺陷评分、定量感觉测定、神经传导速度测定、皮肤活检检测等^[6-7],其中神经传导速度检查曾经被认为是诊断糖尿病周围神经病变的“金标准”。但是神经传导速度检查对于早期改变较小的无髓鞘神经纤维的检测敏感性较差,难以对早期糖尿病周围神经病变作出诊断。皮肤活检能够检测出糖尿病周围神经病变的早期损害,但其是一种有创性检测手段,难以在临床推广^[8]。由于检测手段的局限,过去认为 DR 是最早的糖尿病微血管病变。然而,随着

IVCM 的问世,学者们对早期糖尿病微血管病变又有了新的认识,即糖尿病性角膜神经病变早于 DR 发生^[9]。20 世纪 90 年代,Cavanagh 等^[10]首次将 IVCM 技术应用于猫、兔及人体的角膜检测,开启了 IVCM 在眼科疾病诊治中的应用时代。目前,IVCM 技术已发展得较为成熟,在眼科疾病诊断中的应用也越来越广泛^[11-14],可以实现对活体组织超微结构的无创性检查,在角膜的生理、病理及疾病诊断方面都具备以往检查方法、设备无可比拟的优势。

3.2 人角膜包含源自三叉神经的感觉神经纤维和源自颈上神经节的交感神经轴突。基质神经束在其周围进入角膜组成上皮神经丛,角膜神经在维持眼表功能和形态完整性方面具有关键作用,并起到保护和营养作用。在裂隙灯下,糖尿病患者的角膜看起来光滑且透明,但是在角膜内也可能存在亚临床变化。IVCM 是一种快速、无创的眼科成像技术,具有 800 倍的放大倍数及 1 μm 的分辨率,可对角膜的细胞水平进行定量分析。在 IVCM 操作过程中,角膜接触帽需接触被检者的角膜,操作者在检查前需先进行充分的表面麻醉,并且做好安抚工作,让被检者能够更好地配合检查。检查时操作者动作需轻柔,不能挤压角膜,角膜变形会影像图像质量,采集图像时动作要迅速,尽量减少操作时间。操作结束后予抗菌眼药水滴眼预防感染。

3.3 本研究结果显示,NDR 组的 CNFD、CNBD 和 CNFL 水平均较对照组降低,与国内外相关研究^[15-16]结果相似。提示在尚未发生 DR 之前,糖尿病患者的角膜神经纤维形态已有所改变,IVCM 检查可提供良好的证据。本研究结果还显示,DR 组的 CNFD、CNBD 和 CNFL 水平均显著低于 NDR 组,说明随着糖尿病病程的进展,角膜的神经纤维形态进一步受到损害。在健康和糖尿病性角膜中,IVCM 对基底层下神经丛的评估显示出良好的可重复性^[17]。

3.4 目前认为高血糖介导的炎症反应和氧化应激是糖尿病性角膜神经病变的发生机制。晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)是糖分子的非酶糖基化产生的反应性代谢产物,其是由高血糖症引起的^[18]。研究表明,AGEs 的积累可导致糖尿病性角膜神经病变^[19]。AGEs 及其受体引起氧自由基的形成和促炎性细胞因子的释放^[20]。在这种状态下,神经生长因子(nerve growth factor, NGF)和鞘脂的产生受到阻碍。角膜神经纤维受损后患者的角膜敏感性降低,瞬目减少,进而使角膜上皮干燥,容易出现上皮点状缺失、上皮持续糜烂等,导致异物感、畏

光、流泪、视物模糊等眼部症状的发生。当然,高血糖不仅损伤角膜神经纤维,还对角膜其余各层组织造成损害,如角膜上皮细胞密度降低、内皮细胞密度的降低和形态改变等^[9],引发一系列症状。

综上所述,IVCM 检测对评估 2 型糖尿病角膜神经纤维亚临床病理方面具有巨大潜力,在出现 DR 前就能够快速、无创、精准地检测出糖尿病角膜神经纤维的改变,为临床诊断与治疗提供依据。

参考文献

- [1] Schultz RO, Van Horn DL, Peters MA, et al. Diabetic keratopathy [J]. Trans Am Ophthalmol Soc, 1981,79:180-199.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中华糖尿病杂志,2014,22(8):2-24.
- [3] Yan S, Hong X, Yu H, et al. Prevalence of diabetes and health-related quality of life among rural-to-urban Nong Zhuan Fei Migrants in an urban area of Northern China, 2013[J]. Public Health Rep, 2016,131(1):167-176.
- [4] Gubitosi-Klug RA, DCCT/EDIC Research Group. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: summary and future directions[J]. Diabetes Care, 2014,37(1):44-49.
- [5] Broe R. Early risk stratification in pediatric type 1 diabetes[J]. Acta Ophthalmol, 2015,93:1-19.
- [6] Ponirakis G, Odriozola MN, Odriozola S, et al. NerveCheck for the detection of sensory loss and neuropathic pain in diabetes[J]. Diabetes Technol Ther, 2016,18(12):800-805.
- [7] 徐国玲,颜晓东,玉颜庆. 经皮氧分压和踝肱指数测定对糖尿病足下肢动脉病变诊断的意义[J]. 中国临床新医学,2017,10(8):743-747.
- [8] Smith AG, Russell J, Feldman EL, et al. Lifestyle intervention for pre-diabetic neuropathy[J]. Diabetes Care, 2006,29(6):1294-1299.
- [9] 郑丽,李敏,罗浩轩. 角膜激光共焦显微镜在糖尿病视网膜病变中的应用[J]. 眼科新进展,2018,38(5):475-477,481.
- [10] Cavanagh HD, Jester JV, Essepian J, et al. Confocal microscopy of the living eye[J]. CLAO J, 1990,16(1):65-73.
- [11] Niederer RL, McGhee CN. Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease[J]. Prog Retin Eye Res, 2010,29(1):30-58.
- [12] 张逸璇,刘小璇,樊东升. 角膜共聚焦显微镜在小纤维神经病变评估中的研究进展[J]. 北京医学,2020,42(5):435-438,443.
- [13] 王乐滢,韦振宇,曹凯,等. 角膜缘干细胞缺乏的活体共聚焦显微镜影像学特征分析[J]. 中华眼科杂志,2020,56(6):447-455.
- [14] Maher NG, Collgros H, Uribe P, et al. In vivo confocal microscopy for the oral cavity: current state of the field and future potential[J]. Oral Oncol, 2016,54:28-35.
- [15] 贾晓凡,李明顺,许菲,等. 2 型糖尿病患者角膜神经形态与糖尿病微血管并发症关系研究[J]. 中华保健医学杂志,2016,18(3):189-192.
- [16] Ishibashi F, Kojima R, Taniguchi M, et al. The expanded bead size of corneal c-nerve fibers visualized by corneal confocal microscopy is associated with slow conduction velocity of the peripheral nerves in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. J Diabetes Res, 2016,2016:3653459.
- [17] Barsegian A, Lee J, Salifu MO, et al. Corneal neuropathy: an under-rated manifestation of diabetes mellitus[J]. J Clin Endocrinol Diabetes,2018,2(1):JCED-111.
- [18] Madonna R, Balistreri CR, Geng YJ, et al. Diabetic microangiopathy: pathogenetic insights and novel therapeutic approaches[J]. Vascuol Pharmacol, 2017,90:1-7.
- [19] Bikbova G, Oshitari T, Baba T, et al. Mechanisms of neuronal cell death in age-exposed retinas—research and literature review[J]. Curr Diabetes Rev, 2017,13(3):280-288.
- [20] Kim J, Kim CS, Sohn E, et al. Involvement of advanced glycation end products, oxidative stress and nuclear factor-kappa B in the development of diabetic keratopathy[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2011,249(4):529-536.

[收稿日期 2020-10-09][本文编辑 余军 韦颖]

本文引用格式

陈丽妃,黄慧,沈朝兰,等. 活体共聚焦显微镜在评估 2 型糖尿病患者角膜神经形态学变化中的临床应用[J]. 中国临床新医学,2022,15(12):1163-1166.