

• 基础研究 •

异种脱细胞真皮修补巩膜缺损实验研究

何昭燕¹, 惠延年¹, 韩泉洪², 王静波¹, 秦向阳¹

[摘要] 目的 观察异种(猪)脱细胞真皮(Xen σ ADM)修补兔眼巩膜缺损的临床效果及病理组织学变化。方法 制作兔局部巩膜缺损模型,用 Xen σ ADM 进行修补,活体观察动物术后情况及移植物情况,并分别于第 2、4 周取移植交界处移植物光镜下观察炎症变化、血管化情况及融合情况。结果 大体观察未见明显炎症反应及眼球的变形溶解;光镜下 2 周时可见局部炎细胞浸润,Xen σ ADM 与自体巩膜形成局部融合,4 周时炎细胞明显减少,Xen σ ADM 与自体巩膜完全融合。结论 异种脱细胞真皮血管化快、免疫原性低,是一种良好的巩膜替代物。

[关键词] 脱细胞真皮;修补;巩膜缺损;兔

Experimental Study of Scleral Defect Repair with Acellular Xenogenic Dermal Matrix HE Zhao-yan, HUI Yan-nian, HAN Quan-hong, et al. The Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shaanxi, China

[Abstract] **Objective** To observe clinical results and histopathological changes of scleral defect repaired with acellular xenogenic dermal matrix (Xen σ ADM) in rabbits. **Methods** Model of rabbit sclera defect was established, and repaired with Xen σ ADM. The rabbits were clinically examined for inflammation and eyeball healing. The animals were sacrificed at 2nd and 4th week after operation, and implants were obtained and examined histopathologically and ultrastructurally with light microscopies respectively to evaluating changes of inflammation and vascularization. **Results** There were no obvious inflammation and eyeball deformation observed. 2 weeks after implantation, the partial inflammatory cell invasion was seen with the light microscopy, and there was an obvious borderline between the Xen σ ADM and the sclera. 4 weeks after implantation, the inflammatory cells were reduced noticeably, the Xen σ ADM and the sclera completely merged with each other. **Conclusion** The acellular xenogenic dermal matrix may be an ideal matrix with fast neovascularization and low immunity for replace of sclera implants.

[Key words] acellular dermal matrix; repair; scleral defect; rabbit

中图分类号:R772.3 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2006)02-0129-02

[本文著录格式] 何昭燕,惠延年,韩泉洪,等.异种脱细胞真皮修补巩膜缺损实验研究[J].中国康复理论与实践,2006,12(2):129-130.

严重眼球破裂伤、角膜葡萄肿、严重眼内炎等造成的巩膜穿孔常导致巩膜缺损。对于不规则的巩膜破裂伤,单纯缝合会造成眼球变形导致后期眼压升高等较严重的并发症,甚至失明。为挽救眼球,尽可能保存视功能,我们采用异种(猪)脱细胞真皮(acelluar xen σ -genic dermal matrix, Xen σ ADM)作为巩膜替代物进行兔眼巩膜缺损修补术,观察大体和组织学变化,探讨 Xen σ ADM 作为巩膜替代物用于巩膜缺损修补的可行性。

1 材料与方法

1.1 Xen σ ADM 制作 采用 25 kg 左右的健康小白猪制作 Xen σ ADM。将动物活杀,肥皂水洗刷和脱毛后剥取 20×20 cm 全层皮肤,剪去皮下脂肪后在 0.1 %

新洁尔灭液内浸泡 15 min,无菌生理盐水冲洗,取皮鼓反取约 0.4 mm 厚皮片,用 0.05 % 洗必泰溶液浸泡 3 次,用高渗盐溶液浸泡 24 h 后去除表皮,将真皮放入 0.2 % (w/v) 戊二醛水溶液交联 10~20 min,无菌蒸馏水和 PBS 依次反复浸洗 96 h。用胰蛋白酶、EDTA 和 Triton X-100 复合消化液去除表皮和真皮内所有细胞成分,经 Co⁶⁰ 照射后,4℃ 保存备用。使用前做 HE 染色检测。

1.2 动物 成年健康青紫兰兔 6 只,雌雄不限,体重 2~3 kg,由第四军医大学西京医院动物中心提供;动物级别:一级;外眼检查无异常。

1.3 方法 动物经肌注速眠新(0.2 ml/kg)麻醉后,固定在实验台上,常规消毒铺巾,置开睑器;在眼上直肌外侧距角膜缘 2 mm 处做以穹窿为基底的结膜瓣,4×4 mm 巩膜板层(2/3 巩膜厚度)切除;做比移植创面直径大 0.5 mm 的 Xen σ ADM 基质皮片,厚约 0.4 mm,将皮片覆盖于创面处用 8-0 可吸收线间断缝合,结膜瓣用 5-0 丝线间断缝合。结膜下注射 5000 U 庆大霉素,局部涂红霉素眼膏。所有手术由同一熟练术

基金项目:第四军医大学西京医院创新基金资助项目(XJGX03022 MI 4)。

作者单位:1. 第四军医大学西京医院眼科,陕西西安市 710033;2. 天津眼科医院,天津市 300162。作者简介:何昭燕(1976-),女,山东沂水县人,住院医师,硕士研究生,主要从事眼科临床工作。

者完成。术后每天点 0.25% 氯霉素药水, 每天 4 次, 连续 3 周。术后 7 d 拆结膜缝线。

1.4 活体观察与取材 观察术后兔外眼局部有无红肿、分泌物, 以及移植物颜色、移植处有无局部膨隆。于术后第 2、4 周用过量麻醉药心内注射安乐处死动物, 取移植交界处移植物在 10% 甲醛溶液中固定 24 h, 梯度脱水, 透明, 浸蜡, 包埋, 切片, 脱蜡, HE 染色, 行光学显微镜检查。

2 结果

2.1 一般观察 术后脱细胞真皮为磁白色, 与正常巩膜有明显的界限, 局部略隆起, 移植处结膜充血水肿。所有兔眼未见脓性分泌物, 巩膜破裂及眼球变形, 平均 3~5 d 充血、水肿消失。第 2 周时, 脱细胞真皮颜色淡粉色, 与巩膜仍可区分; 第 4 周时, 所有可吸收线完全吸收, 脱细胞真皮表面色泽粉红(见封三图 3.1), 有光泽, 血运良好, 愈合好, 与巩膜完全融合, 移植处平整无隆起。

2.2 HE 染色检查 第 2 周时, 脱细胞真皮交界处有较多淋巴细胞浸润, 脱细胞真皮内有大量纤维母细胞进入, 未发现完整毛细血管结构, 胶原纤维略肿胀, 排列尚整齐, 与自体巩膜胶原纤维有明显的分界线(见封三图 3.2)。第 4 周时, 脱细胞真皮为少量淋巴细胞浸润的胶原组织, 炎细胞数目较前略少, 成纤维细胞变长, 核变小; 交界处见新生胶原组织与正常巩膜胶原相交叉, 排列较整齐, 内有大量成纤维细胞及新生血管(见封三图 3.3)。

3 讨论

临床上常见的巩膜破裂伤口多较短且规则, 可通过缝合伤口而痊愈。而严重巩膜撕裂伤常有组织缺损, 边缘不整齐, 单纯缝合会改变眼球正常形态, 后遗症较多, 故多采用巩膜修补术。文献报道的修补材料有自体/异体巩膜、阔筋膜、骨膜、硬脑膜、大动脉及胎儿巩膜等。但要及时得到这些异体巩膜材料, 对于无眼库设备的医院, 非常困难; 如取自身材料患者需要承受二次手术的痛苦, 不被大多数患者接受。因此, 寻找一种与巩膜效果接近的替代品非常必要。鉴于猪与人

有较高的组织同源性, 且具有取材方便、廉价、韧性大、可随意塑形和剪裁、无传播疾病的危险等优点^[1], 近年来, 人们把目光转向了猪真皮制作的异种脱细胞真皮。Xenor ADM 做为真皮支架在国内烧伤整形领域已得到广泛的应用, 且被证明术后无明显的免疫排斥反应^[2]。Xenor ADM 作为异种真皮, I、II 型细胞相容性抗原已被完全消除, 免疫活性很低, 不会诱发针对异体组织移植所产生的特异性细胞免疫反应(即排斥反应), 也不会诱发非特异性异物反应^[3]。Xenor ADM 保留了完整、连续的基底膜和真皮中的胶原束结构, 排列正常, 弹力纤维正常存在^[4], 与人巩膜有极大的相似性。如果猪的真皮通过脱细胞和交联处理后, 临床应用时不发生超急性排斥反应, 只发生与同种巩膜移植相似的排斥, 无疑是非常有意义的。

本次动物实验表明, Xenor ADM 作为修补材料进行板层巩膜修复, 与自体巩膜有较好的相容性, 未观察到超急性排斥反应; 2 周时移植物及受体表现为炎细胞浸润; 4 周时移植物与受体之间有紧密的粘连, 炎细胞较 2 周时明显减少, 并有新生胶原纤维生成, 提示猪的真皮经过脱细胞处理后, 可以避免发生异种抗体激活导致的超急性排斥反应^[3]。但是 Xenor ADM 移植后仍存在炎症免疫反应, 因此, Xenor ADM 要成为临床巩膜替代物仍需进一步的实验及临床研究。

[参考文献]

- [1] Ti SE, Tan DT. Tectonic corneal lamellar grafting for severe scleral melting after pterygium surgery[J]. Ophthalmology, 2003, 110(6): 1126—1136.
- [2] 姜笃银, 陈璧, 徐明达, 等. 异种脱细胞真皮基质的制作和临床应用观察[J]. 中华烧伤杂志, 2002, 18: 15—18.
- [3] 姜笃银, 陈璧, 贾赤宇, 等. 戊二醛交联的异种/异体脱细胞真皮基质的制作及临床应用观察[J]. 第四军医大学学报, 1999, 20(5): 371.
- [4] Jung HO, Jae CK. Repair of scleromalacia using preserved scleral graft with amniotic membrane transplantation[J]. J Cornea External Disease, 2003, 22(4): 288—293.

(收稿日期: 2005-07-14)



图2.10 中药加穴位离子导入组大鼠心肌透射电镜下观察(13000 \times)。A. 心肌横纹排列规则。B. 线粒体形态基本正常。C. 线粒体嵴清晰。



图3.1 兔眼巩膜缺损处植入异种脱细胞真皮。



图3.2 2周时异种脱细胞真皮植片。可见大量纤维母细胞进入。交界处较多淋巴细胞浸润。

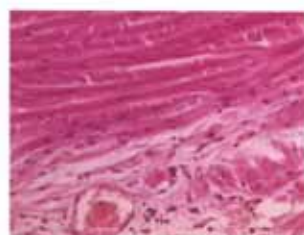


图3.3 巩膜与异种脱细胞真皮结合紧密。可见成纤维细胞及血管结构。

图1.1—图1.3 正文见P124

图2.1—图2.10 正文见P127

图3.1—图3.3 正文见P130