

# 脱细胞真皮包裹 PHEMA 水凝胶义眼台的实验研究

孙金凤<sup>1</sup>, 尹东芳<sup>2</sup>, 何庆华<sup>2</sup>

基金项目: 全军十一五重点课题 (No. 06MA246); 解放军总医院科研基金 (No. 06MP32)

作者单位:<sup>1</sup>(264000) 中国山东省烟台市, 烟台山医院眼科;<sup>2</sup>(100853) 中国北京市, 解放军总医院眼科

作者简介: 孙金凤, 女, 硕士, 主治医师, 从事眼外伤及眼科整形治疗。

通讯作者: 孙金凤. sunjinfeng609@sohu.com

收稿日期: 2009-07-02 修回日期: 2009-07-14

## Experimental study of the hydrogel orbital implant with acellular dermal matrix wrapped

Jin-Feng Sun<sup>1</sup>, Dong-Fang Yin<sup>2</sup>, Qing-Hua He<sup>2</sup>

**Foundation items:** Key Program of Chinese PLA during the 11<sup>th</sup> Five-Year Plan Period (No. 06MA246); Scientific Research Foundation of General Hospital of Chinese PLA (No. 06MP32)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Hospital of Yantaishan, Yantai 264000, Shandong Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, the General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

**Correspondence to:** Jin-Feng Sun. Department of Ophthalmology, Hospital of Yantaishan, Yantai 264000, Shandong Province, China. sunjinfeng609@sohu.com

Received: 2009-07-02 Accepted: 2009-07-14

### Abstract

• **AIM:** To study the preparation method of hydrogel orbital implant wrapped with acellular dermal matrix and evaluation of its biological features.

• **METHODS:** The orbital implant was made of copolymerized 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) with ethyl methacrylate (MMA). The wrapped material was acellular dermal matrix. Several experiments were carried out to evaluate the properties of the implants such as light microscopy, SEM etc. There were two groups in the experiment, The first group was implanted with acellular dermal matrix wrapped hydrogel orbital implants into the right orbit, the second group with homologous sclera. Biopsies of implanted material were taken out on weeks 2, 4, 8 and 12 postoperation for histopathological and electron microscope examination. The results were compared between two groups.

• **RESULTS:** MMA denaturative HEMA had good extensibility with its volume expansive rate of 1.2. The through-hole structure and the size of aperture was about 450-520 μm. The hydrogel orbital implant wrapped with acellular dermal matrix didn't cause the occurrence of rejection. Fibrovascular tissue invaded the pores of the implant at 2 weeks and it went deeper from 4 to 8 weeks. Almost all implants were fully vascularized after 12 weeks. The speed of fibrovascular ingrowth in acellular dermal

matrix wrapped group was faster than that of homologous sclera.

• **CONCLUSION:** The hydrogel orbital implant and acellular dermal matrix wrapped material have steady quality, good histocompatibility and no reject reaction, they can be new materials instead of HA and homologous sclera.

• **KEYWORDS:** orbital implant; acellular dermal matrix; allogeneic sclera; vascularization

Sun JF, Yin DF, He QH. Experimental study of the hydrogel orbital implant with acellular dermal matrix wrapped. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2009;9(8):1472-1475

### 摘要

**目的:** 研究脱细胞真皮包裹的水凝胶义眼台复合物的制备方法, 评价其生物学性能。

**方法:** 材料制备: 用 MMA 和 HEMA 的聚合物单体加入 NaCl 成孔剂制备多孔水凝胶义眼台, 750mL/L 乙醇浸泡制备同种异体巩膜包裹物。动物实验: 新西兰白兔 32 只, 右眼球摘除术后, 16 只植入脱细胞真皮包裹的直径为 12mm 的水凝胶义眼台作为实验组, 16 只植入保存异体巩膜包裹的直径为 12mm 的水凝胶义眼台作为对照组, 术后在不同时间点 (2, 4, 8, 12wk) 取材作病理检查, 比较不同包裹材料对义眼台血管化程度和义眼台植入并发症发生率影响的差别。

**结果:** MMA 和 HEMA 的聚合物单体体积膨胀率为 1.2, 孔隙率为 72%, 孔径大小为 450 ~ 520 μm, 且多为通孔。不同材料包裹 PHEMA 多孔水凝胶义眼台植入兔眶腔术后, 所有 32 眼无肉芽肿发生及义眼台排出。光镜结果显示纤维血管组织 2wk 时从植入物外周长入, 4 ~ 8wk 时孔隙内胶原纤维逐渐致密, 12wk 时完成纤维血管化, 扫描电镜显示植入物孔隙内逐渐被纤维血管组织填充, 2wk 时纤维血管组织附着生长, 12wk 时孔隙内被纤维血管组织充满且孔间相连。对各组植入物纤维血管化程度进行测量, 结果进行多因素方差分析, 实验组较对照组血管化速度快 ( $P=0.01$ )。

**结论:** PHEMA 水凝胶义眼台和脱细胞真皮生物相容性好, 是一种安全可靠的眶内植入物, 符合临床应用的要求, 具有潜在的实际应用价值。

**关键词:** 眶内植入物; 脱细胞真皮; 异体巩膜; 血管化

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2009.08.014

孙金凤, 尹东芳, 何庆华. 脱细胞真皮包裹 PHEMA 水凝胶义眼台的实验研究. 国际眼科杂志 2009;9(8):1472-1475

### 0 引言

由于各种眼病而导致的眼球摘除或眼内容剜除术, 术后导致不同程度的眼窝畸形、眼睑内翻严重影响美观, 小



儿患者甚至会影响眼眶及颌面部发育<sup>[1]</sup>。因此需要以替代物充填眼球摘除术后的眶内体积缺失,不同材料的义眼台及其包裹物则应运而生。我们在本实验中采用一种新型软性水凝胶义眼台,脱细胞异体真皮基质取代巩膜作为其包裹物,通过建立兔的动物模型,应用组织病理学的方法,研究其组织相容性和纤维血管化进程,从而评价其作为新型眶内植入材料的可行性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验动物:新西兰白兔,体质量 2.0~2.5kg,雌雄各半,由解放军总医院动物实验中心提供。义眼台:将 HEMA 和 MMA 按配比为 7:3 采用本体粒子聚合法制备 PHEMA 水凝胶义眼台,直径 12mm,孔径 450~520 $\mu$ m,经<sup>60</sup>钴照射消毒备用。包裹材料:脱细胞异体真皮基质(由北京清源伟业生物组织工程科技有限公司提供),2~8 $^{\circ}$ C 冷藏备用;同种异体巩膜壳,使用前在 3g/L 庆大霉素生理盐水中覆水 30min 备用。仪器设备: Moller-Wedel 1000 眼科手术显微镜(德国 Moller-Wedel 公司),常规眼科手术器械(苏州医疗器械厂),DMLB 光学显微镜(德国 Leica 公司),MPS30 照相系统(德国 Leica 公司),RM2135 型石蜡切片机(德国 Leica 公司),S-4800 扫描电镜(日本东芝公司)。药品试剂:复发氯胺酮注射液(军事医学科学院毒物研究所),速眠新注射液(军事医学科学院军事兽医研究所)。

**1.2 方法** 将 32 只新西兰白兔,随机分为实验组和对照组,根据 ARVO 协议,每只动物仅选右眼手术。动物麻醉成功后,完整摘除眼球,迅速用温热盐水纱布填塞眶腔压迫止血。实验组:将脱细胞异体真皮基质紧密贴附包裹于直径 12mm 的多孔水凝胶义眼台上,不留空隙,剪除多余的成角部分,尖端处以 5-0 丝线缝合,缝合的尖端向后极部置入肌锥内,将相应位置开窗,6-0 可吸收缝线与直肌和其周围组织缝合。对照组:同种异体巩膜壳在 3:00,6:00,9:00,12:00 方位处分别剪出 1.5mm $\times$ 3mm 大小梭形孔,覆盖在 PHEMA 多孔水凝胶义眼台的前半部上,预先置于 3g/L 庆大霉素生理盐水中浸泡备用。置入肌锥内,6-0 可吸收缝线将相应位置与直肌和其周围组织缝合。8-0 可吸收缝线分层缝合筋膜囊和球结膜。术后处理及临床观察:术后 2.5g/L 氯霉素眼液滴眼,4 次/d,7d 后改为 1 次/wk。观察内容包括:裂隙灯检查术眼,结膜创口愈合情况,有无充血、水肿、糜烂、肉芽肿、分泌物;植入物有无暴露、脱出及暴露范围和转归。组织学检查:(1)取材:实验前预先随机标记动物,于 2,4,8,12wk 时每时间点处死 4 只兔,采用兔耳缘静脉注射空气,完整取出带包裹物的 PHEMA 水凝胶义眼台。切成鼻侧半和颞侧半,鼻侧半在显微镜下用标尺测量标本截面 3:00,6:00,9:00,12:00 方位纤维血管组织生长的长度,及纤维血管组织自植入物表面长入球内的距离,取 4 个数值的平均值进行分级及统计。(2)切片制备:将取出的义眼台在 40g/L 多聚甲醛中固定 24h,逐级乙醇脱水、二甲苯透明,浸蜡,石蜡包埋,冷冻,然后固定在切片机上切片,切片厚度为 5 $\mu$ m。(3)光镜检查:制备的切片行 HE 染色,封片后光镜下观察。(4)电镜检查:标本用 25g/L 戊二醛固定后制备扫描电镜标本。用 S-4800 型超高分辨率扫描电镜观察并拍摄照片。

统计学分析:本研究数据采用 SPSS 13.0 统计软件包,对不同时间点的数据采用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ ,认为有明显的统计学意义。

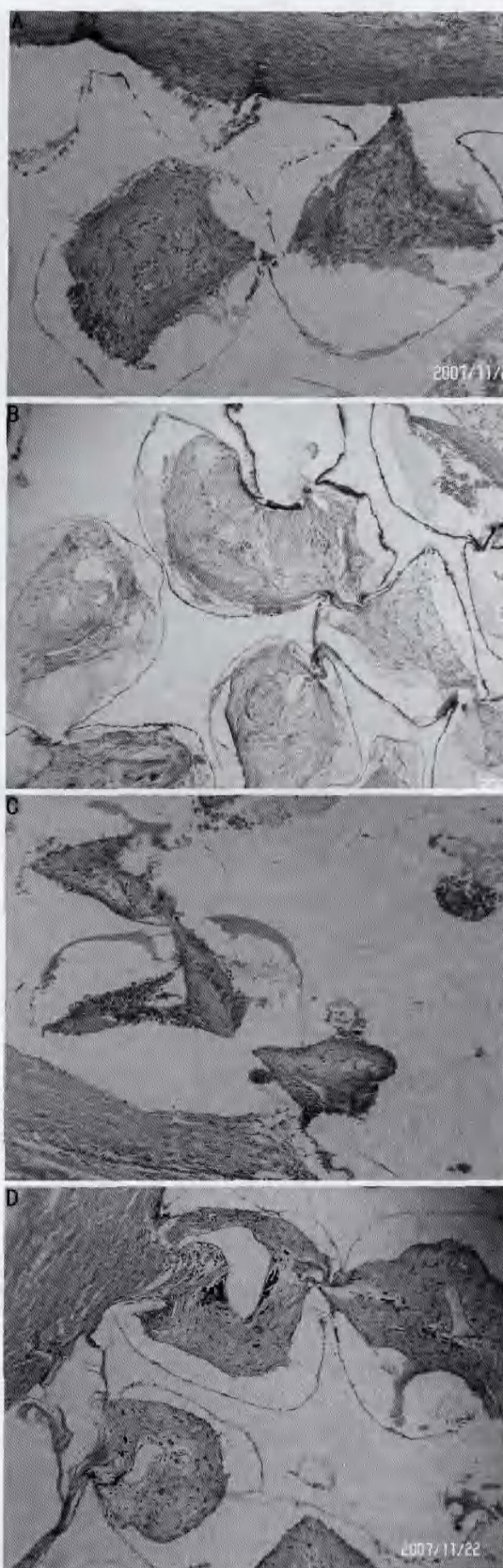


图 1 光镜检查(HE $\times$ 200) A:实验组术后 2wk;B:实验组术后 12wk;C:对照组 2wk;D:对照组 12wk

## 2 结果

**2.1 术后观察** 本实验 32 只兔均在术后 24h 内清醒,活动及饮食皆正常,无任何不良反应。实验组及对照组术后兔眼睑均有不同程度红肿,结膜充血水肿,伴少量白色分



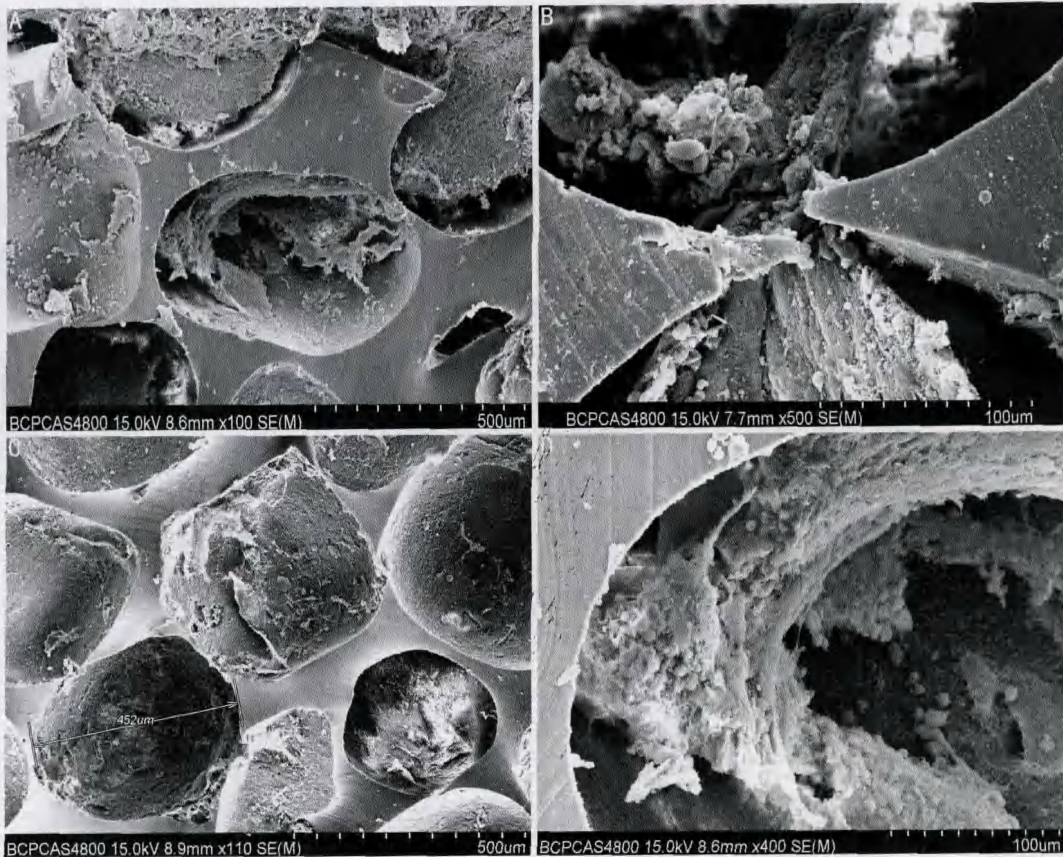


图2 扫描电镜检查 A:实验组 2wk;B:实验组 12wk;C:对照组 2wk;D:对照组 12wk

表1 两组植入兔眶腔术后不同时间点纤维血管化程度 (mm)

组别	2wk	4wk	8wk	12wk
实验组	1.06	2.46	3.58	6.00
对照组	0.85	2.25	3.30	5.87

泌物,平均6d后眼睑红肿开始消退,分泌物逐渐减少甚至消失,结膜充血水肿减轻。因使用可吸收缝线,两组均不拆线。各眼的切口愈合良好,无植入物的暴露、排出现象。裂隙灯下见巩膜血运良好。

## 2.2 组织学检查

**2.2.1 大体检查** 植入物在术后4个不同时间点取出剖开,肉眼观察其与周围组织的连结紧密程度,显微镜下测量植入物纤维血管组织生长情况(表1),四组数据整理后采用单因素方差分析进行统计学处理,结果显示不论是实验组还是对照组4wk与2wk,8wk与4wk,12wk与8wk纤维血管生长的距离均有显著差异(实验组  $P_1 = 0.001$ ,  $P_2 = 0.000$ ,  $P_3 = 0.003$ ;对照组  $P_1 = 0.001$ ,  $P_2 = 0.001$ ,  $P_3 = 0.004$ ),两组在12wk时均已完成血管化进程。实验组与对照组在相同时间点进行比较,2,4,8wk时纤维血管生长的距离均有显著性差异( $P_1 = 0.01$ ,  $P_2 = 0.01$ ,  $P_3 = 0.04$ ),实验组要明显快于对照组。

**2.2.2 HE染色光镜检查** 术后2wk时移植植物中即可见纤维血管组织穿过静电纺丝聚氨酯薄膜从义眼台边缘开始向中心长入(图1A,B),4~8wk时新生组织进一步向中心生长,炎性细胞数目减少,HEMA水凝胶义眼台的孔隙内可见大量成纤维母细胞及新生血管,血管壁管径增粗。两组区别表现为在相同时间点实验组较对照组血管纤维填充的孔隙多,血管化进程快,但在12wk时两组

均完成血管化进程。12wk时两组均完成血管化进程(图1C,D)。

**2.2.3 扫描电镜检查** 实验组术后2wk时可见有新生毛细血管和纤维组织长入,以及炎性细胞浸润,与包裹膜交界的周边HEMA水凝胶义眼台孔隙内被血管及纤维组织充填,可见完整新生血管结构,12wk时HEMA水凝胶义眼台的多孔支架内完全被新生血管及胶原组织充满,未见炎性细胞,义眼台的多孔支架结构清晰可见。对照组2wk时巩膜纤维层间可见较多的炎性细胞和淋巴细胞浸润,HEMA水凝胶义眼台的孔隙内可见少量纤维组织附壁生长,未见新生血管组织,包裹的巩膜与义眼台之间空隙清楚,连结不紧密(图2A,B)。12wk时作为包裹物的巩膜已失去原有的多层纤维结构,被致密的自身结缔组织取代,新生的血管及胶原组织从周边至中心充满的孔隙且孔隙间组织相连(图2C,D)。不如实验组致密。

## 3 讨论

眼球摘除术或眼内容剜出术后,需植入眶内充填物。包括两部分:一部分是义眼台,另一部分是包裹义眼台的包裹物<sup>[2]</sup>。我们采用的是包裹式义眼台植入物,对HEMA水凝胶义眼台和不同的包裹物进行实验研究,比较其特点。羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)义眼台作为眶内植入物目前广泛应用,但术后易发生结膜瘘导致义眼台暴露<sup>[3]</sup>,我们使用的义眼台是改性HEMA水凝胶义眼台,是一种在医药领域被广泛应用的组织工程材料,已安全应用于人工角膜和人工晶状体的制作<sup>[4]</sup>,无排斥反应、血管化快、质量轻,直径12mm的改性HEMA水凝胶义眼台质量仅为0.3g,对下睑的压迫大为减轻,有效降低了术后发生下睑外翻及结膜囊狭窄的可能<sup>[5]</sup>。为了预防术后并发植入物暴露,目前临床上多采用带包裹物的义眼台植入

术<sup>[6,7]</sup>。使用较多的包裹材料有自体或异体巩膜,需经过严格的病原学检测,排除肝炎、艾滋病、梅毒等传染源,保存麻烦,需设眼库,这对于大多数基层医院难以实现,限制了临床使用<sup>[8]</sup>。我们采用的包裹物为脱细胞真皮基质,是片状组织,经脱细胞处理后,有效去除了引起免疫排斥反应的细胞表面抗原,植入体内后生物相容性好,目前在烧伤整复<sup>[9]</sup>以及鼻中隔缺损的重建<sup>[10]</sup>、鼓膜穿孔的修复<sup>[11]</sup>、修补硬脑膜<sup>[12]</sup>及膀胱或尿道修补<sup>[13]</sup>眼睑重建<sup>[14-16]</sup>等整形手术中效果满意。我们对比脱细胞真皮基质和同种异体巩膜两组光镜和电镜的表现。早期2wk时,两组均为淋巴细胞、炎性细胞及少量巨噬细胞的浸润,这些细胞可以分泌生长因子促进新生血管和纤维组织的长入。两组包裹物均结构清晰,层间有空隙,义眼台多孔结构内新生组织附壁生长,中期4~8wk时,两组均表现为炎性细胞由多到少的过程,以及新生血管、胶原组织由外周向中心生长的过程。实验组的血管化进程要明显快于对照组。晚期8~12wk两组均见大量胶原纤维组织及粗大血管充填义眼台的空隙,浸润细胞数目明显减少,至12wk时均已完成血管化。实验组新生胶原明显较对照组致密成熟。

总之,脱细胞真皮基质包裹 PHEMA 义眼台具有免疫原性低、组织相容性好、易血管化及不良反应少等优点,可考虑取代巩膜包裹 HA 义眼台应用于临床。

#### 参考文献

- 1 Potter PD, Shields CL, Shields JA, *et al*. Use of the hydroxyapatite ocular implant in the pediatric population. *Arch Ophthalmol* 1994;112(2):208-212
- 2 Hicks, Celia R. Orbital implants: potential new directions. *Expert Rev Med Devices* 2006;3(6):805-815
- 3 黄丹平,刘金陵. 羟基磷灰石植入后义眼台暴露的处理. 中国实用

- 眼科杂志 2000;18(11):720-721
- 4 尹东芳,杨红莲,黄一飞,等. 保留角膜的巩膜在 MMA 改性 PHEMA 水凝胶义眼台中的应用. 国际眼科杂志 2005;5(5):967-969
- 5 尹东芳,黄一飞,何庆华. 甲基丙烯酸改性甲基丙烯酸 β 羟乙酯水凝胶义眼台的实验研究. 中华眼科杂志 2005;41(3):252-256
- 6 Remulla HD, Rubin PA, Shore JW, *et al*. Comparison of porous spherical orbital implants. *Ophthalmology* 1995;102(4):580-693
- 7 Viswanathan P, Sago MS, Olver JM. UK national survey of enucleation, evisceration and orbital implant trend. *Br J Ophthalmol* 2007;91(5):616-619
- 8 Jordan DR, Ells A, Brownstein S, *et al*. Vecryl-mesh wrap for the implantation of hydroxyapatite orbital implant: an animal model. *Can J Ophthalmol* 1995;30(5):241-246
- 9 潘圣鑫,朱小平,潘银根,等. 异种(猪)脱细胞真皮基质与头皮薄片复合移植. 中华整形外科杂志 2002;18(5):273-275
- 10 Rohrich RJ, Reagan BJ, Adams WP Jr, *et al*. Early results of vermilion lip augmentation using acellular allogeneic dermis: an adjunct in facial rejuvenation. *Plast Reconstr Surg* 2000;105(1):409-416
- 11 Mcfeely WJ Jr, Bojrab DI, Kartush JM. Tympanic membrane perforation repair using AlloDerm. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;123(1):17-21
- 12 Warren WL, Medary MB, Dureza CD, *et al*. Dural repair using acellular human dermis: experience with 200 cases; technique assessment. *Neurosurgery* 2000;46(6):1391-1396
- 13 Kaefel M, Yerkes E, Jhonson TC, *et al*. Augmentation cystoplasty-with acellular dermis. *FASEBJ* 2004;18(4-5):479
- 14 Shorr N, Perry JD, Goldberg RA, *et al*. The safety and applications of acellular human dermal allograft in ophthalmic plastic and reconstructive surgery. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2000;16(3):223-230
- 15 顾建军,陈家祺,彭鸿钧,等. 用脱细胞真皮治疗重度瘢痕性睑内翻. 眼外伤职业眼病杂志 2005;27(1):16-18
- 16 田旭,赵颖. 脱细胞异体真皮基质植入治疗眼睑、眼周凹陷. 中华眼科杂志 2005;14(4):231