

改良 C₃F₈ 保存法中期保存兔角膜植片的实验研究

姚晓明 邓宏伟 袁风波 黎明

【摘要】 目的 采用改良的 C₃F₈ 保存法中期保存新西兰白兔的角膜植片。**方法** 将新西兰白兔眼的角膜植片采用 C₃F₈ 保存于无菌小房, 观察保存不同时间后角膜内皮细胞的数量、形态以及角膜厚度, 并用同一保存时间的新西兰白兔角膜植片进行同种异体的穿透性角膜移植手术, 观察术后第 5 天角膜植片中央部的角膜厚度以及内皮细胞密度。**结果** 经 C₃F₈ 中期保存 3、5 天后的角膜植片, 其内皮细胞数量、大小与 0 天相比无明显的统计学差异, 7、9 天后的角膜植片, 其内皮细胞数量减少, 内皮细胞面积增大, 而角膜厚度与 0 天相比有统计学差异。保存 5 天的角膜内皮细胞界限清晰, 上皮细胞微绒毛结构形态正常。保存 7、9 天的角膜内皮细胞的边界不清晰。将保存后第 3、5 天的角膜植片行同种异体角膜移植术, 术后第 5 天, 保存 3 天及 5 天移植组与保存 0 天角膜植片相比, 角膜内皮细胞计数及角膜厚度无显著性差异。**结论** 采用改良的 C₃F₈ 保存法中期保存角膜植片是可行的。

【关键词】 C₃F₈; 角膜保存; 角膜移植

An experimental study of preserving cornea with C₃F₈

YAO Xiaoming, DENG Hongwei, YUAN Fengbo, LI Ming Shenzhen Ophthalmic center, College of Jinan University, Shenzhen eye hospital, Shenzhen, 518001, China

【Abstract】 **Objective** To investigate a method of preserving cornea with perfluoropropane (C₃F₈). **Method** To observe endothelium quantity, form, density, and corneal thickness of preserved with C₃F₈ in different period of time. While as, to use the preserved in cornea to perform penetrating keratoplasty, and to research the thickness and the endothelial cell density of the donor cornea. **Result** In preserving 5 days, the cornea has stable number of endothelium, but after preserving 7 days, the endothelium has significantly decreased and the cornea thickness has increased. And the donor that only preserving less than 5 days can be successfully used for keratoplasty. The number of endothelium of the donor has not significantly decreased comparing with the donor before transplantation. **Conclusion** It's a good way to preserve the cornea with perfluoropropane.

【Keywords】 C₃F₈; Cornea preserving; Keratoplasty

穿透性角膜移植的角膜内皮活性保存方法有多种, 目前国内外较多采用湿房保存和角膜保存液对角膜供体进行中期保存。该方法可以使植片保存 7~10 天, 能够适当延长等待手术的时间, 便于合理选择角膜中央区和周边部病变的病例, 以更科学地利用角膜供体。但这种方法的缺点是价格昂贵, 且保存液直接接触角膜内皮细胞, 增加了保存液中营养成分对内皮细胞毒害的可能性以及污染的可能性。因

此, 研制一种新的中期保存方法以克服这一缺点, 是一个新的研究思路, 部分学者也进行了相应的研究^[1]。

我们设计了 C₃F₈ 湿房直接保存供体角膜植片的中期保存方法, 并进行了初步的动物实验研究, 现报道如下。

材料和方法

1. 材料: C₃F₈ 气体(天津晶明新技术开发有限公司), 健康新西兰白兔 25 只, 健康杂色家兔 8 只(均由第一军事医科大学动物中心提供, 粤检证字第 01A049 号), 雌雄兼用。

2. 方法

(1) 保存方法: 静脉注射气栓处死新西兰白兔 10

基金项目: 本课题受深圳市科技局医学科研基金资助(项目编号 200204222 及 200006024)

作者单位: 518001 深圳, 暨南大学医学院附属深圳眼科中心, 深圳市眼科医院

通讯作者: 姚晓明

只, 无菌条件下取角膜片, 将角膜片置于 10mL 的无菌小房内, 然后注入 C_3F_8 气体, 密封置于 $4^\circ C$ 下, 按保存, 3、5、7、9 天的天数不同分为 4 组, 每组 5 只眼。

(2) 保存不同时间后角膜内皮细胞数量的观测: 取不同时期保存的角膜片在角膜内皮分析系统下进行角膜厚度、内皮细胞形态及密度的观察, 并对角膜上皮细胞以及内皮细胞的形态行 HE 染色病理检查。

(3) 保存后不同时间行同种异体角膜移植术及术后的观察: 取保存一定时间后角膜内皮细胞密度 2000 个/ mm^2 的角膜植片进行同种异体穿透性角膜移植术, 受体为健康的家兔, 每组 5 只。手术均由指定的角膜专科医生在显微镜下完成, 植床为

8mm, 植片 8.5mm, 由内皮面钻取植片, 10-0 进口尼龙线间断缝合 4 针, 连续缝合 24-26 针, 埋藏线结, 用 BSS 重建前房。术后局部应用抗生素眼液。裂隙灯常规检查角膜透明度、水肿度以及新生血管情况。应用角膜内皮细胞显微照相机观察各组术后第 5 天的角膜植片中央部角膜厚度以及内皮细胞密度。

结 果

1. 保存不同时间后角膜内皮细胞数量及角膜厚度的观测: 经 C_3F_8 保存后 3、5 天的角膜内皮细胞数量、大小及角膜厚度与 0 天相比差异无统计学意义, 7、9 天的角膜内皮细胞数量减少, 内皮细胞面积增大以及角膜厚度与 0 天相比差异有统计学意义 (表 1)。

表 1 C_3F_8 保存不同时间后角膜内皮细胞数量、大小及角膜厚度 ($\bar{x} \pm SD$)

	C_3F_8 保存				
	0 天	3 天	5 天	7 天	9 天
角膜内皮计数 (个/ mm^2)	2627 ± 141.9	2490 ± 135.2	2530 ± 141.9	$2010 \pm 185.2^*$	$1850 \pm 205.4^*$
角膜内皮细胞面积 (μm^2)	388.0 ± 13.64	418 ± 16.20	410.0 ± 24.15	$502.17 \pm 25.97^*$	$518.2 \pm 33.26^*$
角膜厚度 (μm)	442.3 ± 14.22	460.0 ± 23.14	448.5 ± 20.08	$506.5 \pm 36.45^*$	$490.6 \pm 26.45^*$

* 各组与 0 天相比 $P < 0.05$ 。

2. 茜素红染色观察: 保存 5 天的角膜内皮细胞界限清晰, 细胞大小均匀。保存 7、9 天的角膜内皮细胞明显水肿增大, 边界不清晰, 细胞大小不均匀 (图 1, 2)。



图 1 保存 5 天的角膜内皮细胞界限清晰, 细胞大小均匀

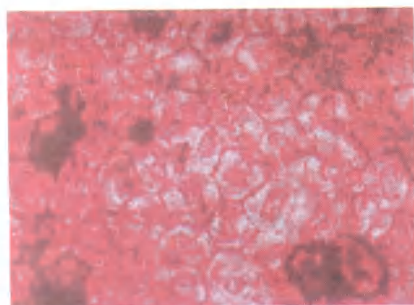


图 2 保存 7, 9 天的角膜内皮细胞界不清晰

术 (图 3, 显示保存 5 天的大体角膜), 两组植片一般术后第 5 天透明 (图 4, 显示移植到兔眼上的角膜), 角膜内皮细胞显微照相机观察角膜内皮计数及角膜厚度: 保存 3 天及 5 天移植组与保存 0 天角膜相比无显著性差异。



图 3 显示保存 5 天的大体角膜



图 4 显示移植到兔眼上的角膜

讨 论

3. 保存后行同种异体角膜移植术及术后的观察: 将保存后第 3、5 天的角膜行同种异体角膜移植

对供穿透性角膜移植的材料的要求是, 不但要

有完整的组织结构,更重要的还要具有活性和代谢功能,角膜内皮细胞的活性和功能是移植手术成功的关键。目前穿透移植的角膜材料的保存方法有多种,其目的是共同的,即方法要简易,价格要低廉,而且又要能够有效地尽可能长时间的保存活的内皮细胞。

目前中期保存角膜的方法主要是保存液保存法,保存液中提供角膜内皮生长所必需的营养成分,应用特殊的容器放置角膜片,以尽量避免运输过程中保存液震动所引起的角膜内皮的损伤。由于该方法应用的保存液价格昂贵,存放和运输存在损伤角膜内皮的隐患。因此,我们采用气体来代替保存液。已有研究证明无毒性 C_3F_8 惰性气体 $4^\circ C$ 保存全眼球对角膜内皮细胞无毒性作用^[2]。并且通过此保存方法保存角膜不易污染,在避免污染方面,似优于游离角膜片营养液保存法。而且由于为保护角膜捐献者外观不受损,多仅取其角膜,因此该方法保存角膜更具有实际应用价值。

一般认为气体对角膜内皮无直接损害^[2]。但角膜内皮长期存放于气体中,缺乏营养会导致角膜内

皮的损伤。因此,我们采用 $4^\circ C$ 湿房,减少角膜内皮的新陈代谢活动,维持角膜内皮细胞的功能。依据实验,此法保存角膜内皮活性限定的时间为 5 天,临床上应在 5 天内移植,此法保存时间虽短于 Optisol 液,但已能满足移植前的病人准备及供眼运往外地使用。

此保存方法简便易行,所需材料简单、经济,不易污染,在一般实验室可以操作,可省去游离角膜保存法所采用的价格高的商品性的 M-K 液、K 液、Optisol 保存液,为眼库提供了一种新的角膜保存法。

参考文献

- 1 陈家祺,冯春茂,陈龙山,等. 抽空房水 C_3F_8 充填前房全眼球保存角膜在穿透角膜移植中的应用. 中国实用眼科杂志, 1997, 15(10): 590-592.
- 2 Lee DA, Wilson MR, Yoshizumi MO, et al. The ocular effects of gases when injected into the anterior chamber of rabbit eyes. Arch Ophthalmol, 1991, 109:571-5.

(收稿时间 2007-02)

· 病例报告 ·

蚂蟥寄生结膜囊一例

康良才 甸自林

最近我科诊治眼结膜囊内蚂蟥寄生 1 例, 现报告如下。

普×男 12 岁 彝族 住校学生。因左眼发痒半月余, 逐日加重, 于 2007 年 4 月 6 日前来我院门诊眼科就诊。

查体: 神志清楚, 发育正常, 视力: 右 1.0、左 1.0。双眼睑皮肤正常, 睑裂大小对称, 无睑内外翻及倒睫。推左上睑至眉弓部固定, 嘱患者往下转动眼球固视, 发现左眼球上部球结膜面上有一黑褐色软体动物, 两头各有一吸盘, 大吸盘紧紧吸附在眼球结膜上(图 1), 另外一头随意伸缩爬行运动。



作者单位: 云南省新平彝族傣族自治县人民医院眼耳鼻喉科主治医师(康良才); 云南省新平彝族傣族自治县疾病预防控制中心副主任医师(甸自林)

通讯作者: 康良才

处理: 患眼滴 0.4% 倍诺喜表麻 3 次, 约每分钟 1 次, 用显微结膜镊钳住蚂蟥体部, 助手用备好的生理盐水冲注蚂蟥吸盘吸附处, 使其自然放松脱离, 顺利取出眼球结膜面上的蚂蟥。随后进一步在裂隙灯下检查双眼, 除患眼球结膜面上有两个约 0.3cm 大小的出血点外, 无眼球结膜撕脱、裂伤, 角膜光滑透明。同时检查双鼻腔、咽喉部, 未见蚂蟥寄生。给典必殊眼液滴眼, 1 周后复查, 患者无眼痒, 视力同术前, 结膜面上出血点消失, 眼、鼻、咽喉检查未见有蚂蟥及其他异常, 半月后再次复查, 同前。

讨论 蚂蟥属于水蛭软体动物, 分布广, 我国南北方均有, 常年滋生在山管、沟河、池塘、田中, 活动敏捷, 其前后各有吸盘, 后吸盘大, 并有腭齿, 可吸食人血液、牲畜血液, 遇人俯卧直接口对山管、沟河饮用水时, 蚂蟥经口食入后, 吸附在口腔、鼻咽、鼻腔, 鼻腔蚂蟥寄生时有发现, 眼结膜囊内蚂蟥寄生实属少见。

患者是住校五年级学生, 半月前步行回家, 途中直接口对山管饮水一次, 蚂蟥可能经口, 经过咽部、鼻腔、鼻泪管的生理通道, 逆行到眼结膜囊内寄生。蚂蟥叮咬部位容易出血, 感染发炎, 防止蚂蟥在人体眼、鼻、咽喉部寄生, 应对在校的中小学校学生和农村村民经常做饮水卫生知识宣传, 不喝生水, 更不能口对山管、沟河水直接饮用。

(收稿时间 2007-05)