

transporter subtype expression in astrocytes [J]. J Neurosci, 1997, 17(3):932-940
 16 Gundersen V, Danbolt NC, Ottersen OP, et al. Demonstration of glutamate/aspartate uptake activity in nerve endings by use of antibodies recognizing exogenous D-aspartate [J]. Neuroscience, 1993, 57(1):97-111
 17 Reisfeld S, Vardimon L. Cell to cell contacts control the transcription

activity of the glucocorticoid receptor [J]. Mol Endocrinol, 1994, 8(9):1224-1233

(收稿:2009-01-08 修回:2009-08-18)

(本文编辑:王莉红)

· 短篇论著 ·

前房穿刺术治疗兔角膜碱烧伤的研究

李艳颖 傅少颖 刘红玲 张 萍 吕冰洁

碱烧伤后早期合理的治疗可以减少远期并发症的发生,其中应用前房穿刺术的时机选择仍然存在很大争议。本研究制作兔角膜碱烧伤模型,观察前房穿刺术对角膜新生血管(CNV)及角膜溃疡等的影响,以探讨前房穿刺术在早期治疗角膜碱烧伤中的临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 动物模型与分组 健康成年哈白兔 24 只,体重 2.5 ~ 3.0 kg,雌雄兼用,兔龄 3 个月;选择单眼作为实验眼。诱导全身麻醉后,将直径 8 mm、浸入 1 mol/L NaOH 溶液中 1 min 的滤纸片贴附于实验兔角膜中央 2 min 后取出,立即用生理盐水冲洗角膜表面和结膜囊 1 min,形成角膜中央边界清楚的圆盘状白色碱性烧伤区。依据 Hughes 分度法确认为中度角膜碱烧伤模型^[1-2]。按照随机数字表法将 24 只实验动物随机分为 4 组,第 1 组为烧伤对照组未进行前房穿刺;第 2 组为 2 h 单次前房穿刺;第 3 组为 24 h 单次前房穿刺;第 4 组分别在 2、24、72、120 h 行前房多次穿刺。

1.2 前房穿刺方法 在倍诺喜表面麻醉下进行,选择角膜颞侧 5:00 位为穿刺点,利用 1 mL 注射器在角膜缘内 1 mm 处透明角膜进针,抽取 0.2 mL 房水^[3-4]。

1.3 观察指标 CNV 面积:烧伤后第 5 天开始记录长入角膜的新生血管长度并计算 CNV 面积,计算公式: $S = C/12 \times 3.1416 \times [r^2 - (r-l)^2]$,其中 S 为 CNV 生长面积, C 为 CNV 网的跨圆周钟点数, r 为角膜半径, l 为 CNV 长度^[5-6]。角膜水肿的评估参照 Holland 标准^[7]。角膜溃疡情况:21 d 时处死实验动物,取下完整角膜组织进行苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察。

1.4 统计学方法 数据采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析,各组的 CNV 面积比较和角膜水肿评分比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CNV 面积 烧伤后第 3 天角膜缘有新生血管芽生长,第 5 天以后新生血管呈毛刷状向烧伤区生长。第 1 组 CNV 生长较快、密集,充血明显;第 2 组、3 组 CNV 生长较第 1 组缓慢;第 4 组 CNV 较纤细,第 14 天达到高峰,第 21 天时,各组 CNV 均有不同程度的回退,以第 4 组明显(图 1~4)。14 d 时,4 组 CNV

面积比较差异有统计学意义 ($F = 9.396, P < 0.01$),第 2 组、3 组间比较差异无统计学意义,第 2 组、4 组比较及第 3 组、4 组间比较差异均有统计学意义 ($t_1 = 2.42, t_2 = 2.74, P < 0.05$) (表 1)。

表 1 各组 CNV 面积的比较 ($\bar{x} \pm s, \text{mm}^2$)

分组	CNV 面积		
	7 d	14 d	21 d
1	63.98 ± 15.30	130.75 ± 6.78	125.93 ± 7.09
2	53.73 ± 11.38	120.54 ± 9.34	113.89 ± 12.63
3	55.89 ± 6.42	115.69 ± 4.90	105.26 ± 4.08
4	24.51 ± 8.20	107.82 ± 8.82	85.97 ± 13.03
F		9.396	
P		<0.01	

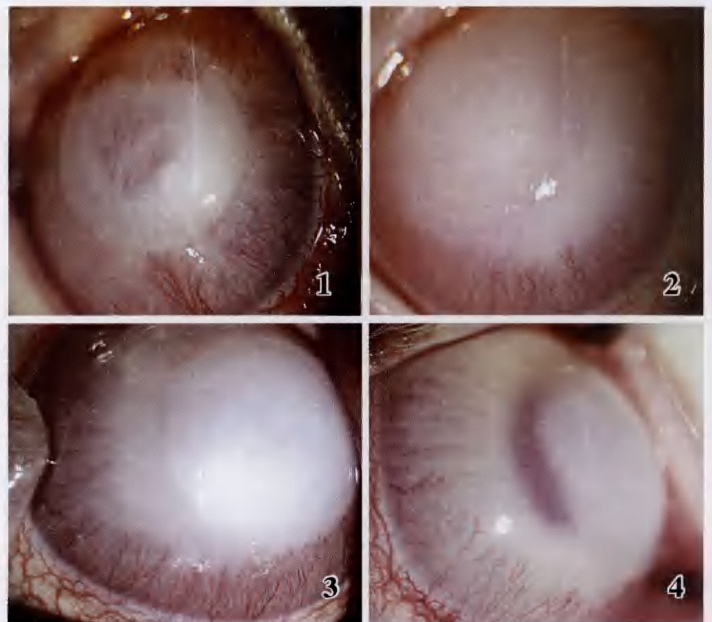


图 1 第 1 组烧伤后 14 d, CNV 密集, 上方长入烧伤区, 中央角膜溃疡明显, 角膜明显水肿 图 2 第 1 组烧伤后 14 d 全周 CNV 较密集, 血管较第 1 组细、短, 角膜水肿 图 3 第 3 组烧伤后 14 d, 角膜全周新生血管, 生长较密集未达烧伤区, 角膜水肿较第 1 组、2 组轻, 隐约见部分虹膜 图 4 第 4 组烧伤后 14 d, CNV 明显减少, 角膜上皮完整, 角膜水肿明显减轻, 可透见虹膜和瞳孔

2.2 角膜水肿评分结果 烧伤后角膜中央形成一直径 8 mm、乳白色且边界清楚的圆形混浊。7 d 时, 4 组比较差异有统计学意义 ($F = 11.26, P < 0.01$), 第 2、3、4 组间比较差异均无统计学

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院眼科
 通讯作者:傅少颖 (Email: fushaoying@126.com)

意义。10 d 时, 4 组比较差异有统计学意义 ($F = 4.97, P < 0.01$), 随着 CNV 的生长, 角膜透明度逐渐提高 (表 2)。

表 2 角膜水肿程度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	角膜水肿评分		
	5 d	7 d	10 d
1	2.83 ± 0.41	3.00 ± 0.63	2.83 ± 0.41
2	2.17 ± 0.41	2.33 ± 0.52	2.00 ± 0.00
3	2.00 ± 0.00	2.17 ± 0.41	2.00 ± 0.00
4	2.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00
F		11.26	4.97
P		<0.01	<0.01

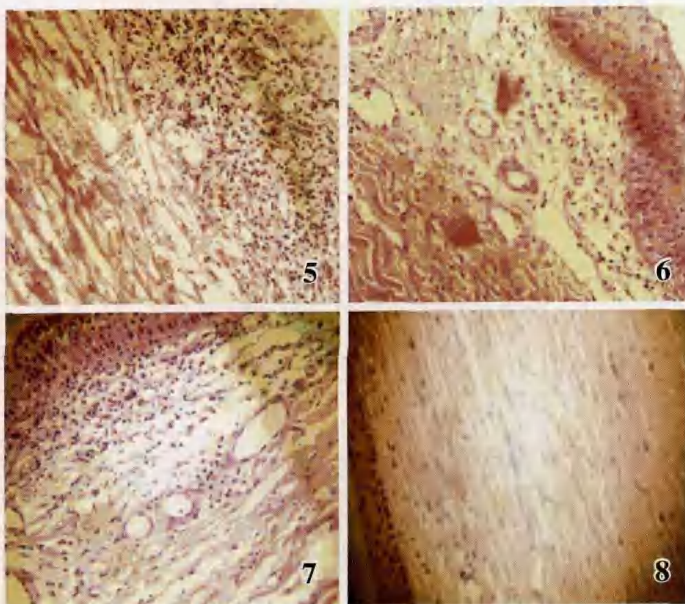


图 5 第 1 组烧伤后 21 d, 角膜上皮完整, 角膜基质水肿明显, 上皮及基质中可见大量炎性细胞以及淋巴细胞, 血管增生较多, 部分管腔内可见红细胞 图 6 第 2 组伤后 21 d, 角膜基质水肿明显, 上皮及基质浅层中可见炎性细胞以及淋巴细胞, 血管增生部分管腔内可见红细胞, 炎性细胞浸润较第 1 组轻 图 7 第 3 组烧伤后 21 d, 角膜基质水肿, 上皮及基质浅层中可见炎性细胞以及淋巴细胞, 血管增生, 部分管腔可见红细胞, 炎性细胞浸润较第 1 组轻 图 8 第 4 组烧伤后 21 d, 角膜上皮完整角膜基质水肿, 上皮见少量炎性细胞以及淋巴细胞, 少量血管增生

2.3 角膜溃疡情况 第 1 组烧伤后第 3 天开始出现上皮剥脱, 1 周左右呈圆形, 剥脱面积逐渐增大, 2 周时范围基本维持不变, 未超过烧伤区, 修复缓慢, 反复剥脱。第 2 组、3 组呈不规则条带状上皮剥脱, 14 d 以后逐渐修复。第 4 组角膜上皮粗糙、疏松、局部出现小片状剥脱, 10 d 左右逐渐修复。

2.4 组织病理学检查结果 第 1 组角膜上皮完整, 角膜基质水肿明显, 上皮及基质中可见大量炎性细胞, 血管增生较多, 部分管腔内可见红细胞 (图 5)。第 2 组、3 组角膜上皮完整, 基质水肿较轻, 上皮及基质浅层可见炎性细胞, 血管增生较第 1 组减少 (图 6, 7)。第 4 组角膜基质水肿不明显, 角膜上皮完整, 上皮可见少量炎性细胞和淋巴细胞, 血管增生较少 (图 8)。

3 讨论

角膜碱烧伤后的早期治疗十分关键, 可以减少晚期并发症

的发生, 尽可能的挽救视功能。前房穿刺术是众多早期辅助治疗方法之一, 选择前房穿刺的时机多遵循以往经验, 即在烧伤后 1~2 h 内进行, 以减少碱性物质对眼前节组织的直接损害, 有学者提出 1 d 以上再进行前房穿刺已无必要^[8]。这些经验只是考虑房水中碱性物质对眼组织的直接损害, 而忽略了房水成分的改变对组织的进一步损害。本研究结果表明在 2 h 或在 24 h 穿刺, 无论是在 CNV 面积还是角膜溃疡愈合方面都无明显差异, 角膜水肿评分明显低于对照组。从结果中可以看出, 经过多次穿刺的第 4 组 CNV 的生长明显受到抑制, 角膜溃疡修复较快, 10 d 左右逐渐修复。组织病理学检查结果显示, 穿刺组炎性细胞浸润较不穿刺组轻, 其中多次穿刺组炎性细胞和新生血管明显减少。

有研究表明, 在角膜碱烧伤早期, 房水中 TNF- α 和 IL-1 的含量显著增高, 4 h 急剧升高, 24 h 即达到高峰, 48 h 后维持在较高水平。陈剑等^[9]发现在烧伤后房水内中分子物质 (MMS) 明显增多, 在碱性角膜烧伤后 24 h, 3~7 d 房水内 MMS 明显高于烧伤前, 因此提出严重眼前段碱烧伤早期前房穿刺治疗具有积极意义。碱烧伤眼的急性期, 大量多形核白细胞产生高毒性自由基, 造成细胞脂质过氧化, 进而损伤胶原、细胞膜脂质和蛋白质, 产生角膜溃疡, 破坏的蛋白质降解为肽类即 MMS, 反过来又促使超氧阴离子自由基的增加, 造成恶性循环。由于房水中炎症因子的剧增, 以及 MMS 的堆积, 造成对眼前节组织的进一步损害, 而且这种损害的程度远远超出了碱性物质的直接损伤。本实验所选择的穿刺时间点也是上述有害物质释放的高峰期, 不仅可以排除大量有害物质, 降低细胞因子的浓度, 还可以加速房水的更新, 促进新陈代谢, 从而达到抑制角膜溃疡和 CNV 化 2 种基本病理改变。

本实验结果表明, 无论是在 24 h 前还是 24 h 后进行前房穿刺均有意义, 而且多次穿刺结果明显优于单次穿刺组。但以上结果均是在动物模型中产生, 广泛应用于临床前还应进行临床的对照研究。

参考文献

- 1 黄伟奇, 陈毓东, 林翔. 角膜碱烧伤房水炎性细胞因子变化的实验研究[J]. 眼外伤职业眼病杂志, 2003, 25(10): 654-655
- 2 徐锦堂. 眼烧伤 - 基础理论与临床[M]. 广州: 暨南大学出版社, 2007: 39
- 3 黄靖妍, 姜立超. 前房穿刺技术在眼科临床中的应用[J]. 国际眼科杂志, 2007, 7(3): 784-787
- 4 李绍珍. 眼科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 528-529
- 5 程蕾, 张明昌. 非洛贝特对大鼠角膜新生血管的影响[J]. 眼视光学杂志, 2007, 9(2): 83-86
- 6 Zhao W, Jiang AH, Li CY, et al. Pericytes are correlated with the permeability of rat corneal neovascular vessels induced by alkali burn[J]. Chin Med J, 2007, 120(4): 274-279
- 7 袁进, 陈家祺, 刘祖国, 等. L-Ira 治疗角膜碱烧伤的兔免疫学机制研究[J]. 眼科研究, 2007, 25(1): 5-9
- 8 徐锦堂. 眼烧伤 - 基础理论与临床[M]. 广州暨南大学出版社, 2007: 87-88
- 9 陈剑, 徐锦堂. 眼前段碱烧伤后房水内中分子物质含量变化及其临床意义[J]. 眼外伤职业眼病杂志, 1996, 18(3): 183

(收稿: 2009-02-06)

(本文编辑: 王莉红)