论著

文章编号:1000-5404(2007)04-0338-04

壳聚糖膜在兔眼巩膜瓣下的降解及对眼内压的影响

商旭敏[1],金中秋[1],周和政[1],周 雄[1],张文强[1],陈华新[1],王百川[1],高玉香[2] ([1]广州军区武汉总医院眼科,[2]武汉理工大学生物中心,武汉 430070)

提 要:目的 观察壳聚糖膜在兔眼巩膜瓣下的降解,眼组织病理学变化,眼刺激反应及眼内压变化,评价壳聚糖膜的生物相容性及降眼压效果。**方法** 新西兰大白兔16只32眼,随机分为2组,A、B组各16只眼;A组单纯行小梁切除术,作为手术对照;B组行小梁切除术联合壳聚糖膜巩膜瓣下植入。术后观察眼压、炎症反应等,并分别于7、14、28、56 d取标本行组织学检查。**结果** 观察兔眼角膜、虹膜无异常发现,结膜轻度充血水肿,眼刺激程度评价为无刺激性。病理学观察:术后7 d,局部组织可见炎症反应;术后14 d,壳聚糖膜部分降解,炎症反应减轻;术后56 d,壳聚糖膜降解为碎片状,炎症反应基本消失;B组植入材料周围有组织间隙和滤泡存在,无明显纤维组织增生,A组组织结构紊乱,瘢痕形成,未见明显组织间隙和滤泡。术前A组眼压为(18.22±2.56) mmHg,B组眼压为(18.40±2.48) mmHg;术后8周,A组眼压为(16.87±2.45) mmHg,B组眼压为(13.78±1.89) mmHg,B组与A组之间有显著性差异($P<0.01$)。**结论** 壳聚糖膜有良好的组织相容性,有一定抑制纤维组织增生的作用,能够有效维持滤过,降眼压效果满意。

关键词: 壳聚糖膜;降解;眼内压

中图法分类号: R318.08;R322.91;R770.426 **文献标识码:** A

Degradation of chitosan film under rabbit scleral flap and its effect on intraocular pressure

SHANG Xu-min[1], JIN Zhong-qiu[1], ZHOU He-zheng[1], ZHOU Xiong[1], ZHANG Wen-qiang[1], CHEN Hua-xin[1], WANG Bai-chuan[1], GAO Yu-xiang[2] ([1]Department of Ophthalmology, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Command, [2]Biomedical Materials and Engineer Center, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China)

Abstract: Objective To observe the degradation of chitosan film under rabbit scleral flap, eye irritation, and intraocular pressure and estimate biocompatibility of chitosan film and the effect of lessening intraocular pressure. **Methods** Chitosan film was extracted from shell of snow-crab. Sixteen rabbits (32 eyes) were divided randomly into 2 groups with 16 eyes in each group. Group A was treated with trabeculectomy as control and Group B treated with trabeculectomy and implantation of chitosan film under scleral flap. The intraocular pressure, inflammatory reaction, pathological change after operation were observed. **Results** There were no significant alterations regarding the cornea and iris. Inflammatory reaction was seen on day 7 after operation. Partial chitosan film degradation appeared and inflammatory reaction remitted on day 14 after operation. The chitosan film was degraded into fragment and the inflammatory reaction almost disappeared on day 56 after operation. There existed tissue space and follicles around the implanted materials in Group B; in Group A, however, instead of tissue space and follicles, histological structure disarrangement and cicatrisation were noticed. The intraocular tension varied significantly between the two groups at 8th week postoperatively ($P<0.01$). **Conclusion** Chitosan film has good histocompatibility and inhibitory effect on fibroplasia. It can effectively decline intraocular pressure.

Key words: chitosan film; degradation; intraocular pressure

小梁切除术是Cairns(1968年)首倡,Watson(1969年)改良的一种抗青光眼显微手术。是目前国内外最常用的抗青光眼手术方式,广泛应用于各种类型的青光眼。青光眼滤过手术的成功率达70%~90%[1],手术失败的原因主要是滤过口纤维组织增生

作者简介:商旭敏(1977-),男,浙江省富阳市人,硕士研究生,主治医师,主要从事青光眼方面的研究。电话:13871567250, E-mail: shangdoctor@126.com

通讯作者:金中秋,电话:(027)68878552

收稿日期:2006-04-10;修回日期:2006-09-25

阻塞。我们通过动物实验，采用小梁切除术联合巩膜层间植入 1 片壳聚糖膜作为支撑物，维持业已建立起来的房水引流通道，以探讨一种安全有效的青光眼治疗方法。

1　材料与方法

1.1　材料

壳聚糖膜由武汉理工大学生物中心提供，源于雪蟹壳，pH 7.3，脱乙酰度 91.5%。壳聚糖膜为 3 mm×6 mm 的矩形，矩形四角剪圆，干燥状态下其厚度约 0.20 mm，质稍硬，复水厚度约 0.50 mm，质软。直线加速器辐射消毒灭菌备用。

1.2　仪器

①手术显微镜：日本产 TOPCON，OMS-300 型。②手术器械：苏州医疗器械厂产眼科显微器械。③光学显微镜：日本产 OLYMPUS，CH 型。④裂隙灯显微镜：苏州医疗器械厂产 YZ0-5CS2 型。⑤眼压计：苏州医疗器械厂产 YZ7A 型压陷式眼压计。

1.3　实验动物和分组

选用纯种健康成年新西兰大耳白兔 16 只、32 眼，雌雄兼用，体质量(2.7 ± 0.5) kg，本院实验动物中心提供，无眼部疾病，随机分为 A、B 2 组，每组各 16 只眼(限制每只兔子的 2 只眼不在同一组)，A 组单纯行小梁切除术，作为手术对照；B 组行小梁切除术联合壳聚糖膜巩膜瓣下植入。

1.4　方法

1.4.1　手术方法　①氯胺酮麻醉，按 50 mg/kg 肌肉注射全身麻醉。②正上方做以穹窿部为基底的结膜瓣，宽度约 8 mm。③做以角膜缘为基底的矩形表层巩膜瓣，约 4 mm×4 mm，1/2 巩膜厚度，达透明角膜内约 0.5 mm。④切除 1.5 mm×2 mm 的小梁组织。⑤常规行周边虹膜切除术。⑥将备用壳聚糖膜植于巩膜床(A 组不植入)，多余部分向后平铺于结膜与巩膜之间。⑦表层巩膜瓣复位，用 10-0 缝线两上角带壳聚糖膜各固定 1 针。⑧恢复结膜瓣，用 10-0 缝线缝合结膜瓣。⑨球旁注射硫酸庆大霉素 5 000 U，地塞米松磷酸钠 0.5 mg。

1.4.2　术后处理　术后点 0.25% 氯霉素眼液(每支加地塞米松磷酸钠 5 mg) 3 次/d，共 3 d。

1.5　术后观察

1.5.1　眼刺激反应评分　1、4、7、14、28、56 d 按表 1 内容进行评分，将每只家兔的眼角膜、虹膜和结膜的刺激反应的分值相加即是 1 只家兔眼刺激反应的总积分。把每只家兔眼刺激反应总积分相加再除以家兔数就是该受试物对家兔眼刺激性的最后分值。眼刺激性评价标准：0 ~ 3 分为无刺激性，4 ~ 8 分为轻度刺激性，9 ~ 12 分为中度刺激性，13 ~ 16 分为强度刺激性。

1.5.2　眼压测量　分别于 7、14、28、56 d 在全麻下(氯胺酮 50 mg/kg，肌肉注射)采用压陷式眼压计进行眼压测量，眼压测量由同一人完成。

1.5.3　病理学观察　分别于 7、14、28、56 d 在全麻下连同球结膜一起摘除眼球，用甲醛固定，石蜡包埋，切片，HE 染色，显微镜下行组织病理学观察[2]。

表 1　眼刺激反应评分

刺激反应	分值
角膜混浊(以最致密部位为准)	
无混浊	0
散在或弥漫性混浊，虹膜清晰可见	1
半透明区易分辨，虹膜模糊不清	2
出现灰白色半透明区，虹膜细节不清，瞳孔大小勉强看清	3
角膜不透明，虹膜无法辨认	4
虹膜	
正常	0
皱褶明显加深，充血，肿胀，周围有轻度充血，瞳孔对光反射存在	1
出血，肉眼可见坏死，瞳孔对光反射消失(或出现其中 1 种反应)	2
结膜	
充血	
血管正常	0
血管充血呈鲜红色	1
血管充血呈深红色，血管不易分辨	2
弥漫性充血呈紫红色	3
水肿	
无水肿	0
轻微水肿	1
明显水肿，伴有部分眼睑外翻	2
水肿至眼睑近半闭合	3
水肿至眼睑超过半闭合	4
分泌物	
无分泌物	0
少量分泌物	1
分泌物使眼睑和睫毛潮湿或黏着	2
分泌物使整个眼区潮湿或黏着	3

1.6　统计学处理

采用 SPSS 10.0 统计软件，实验数据眼刺激性评价为等级资料，眼压以 $\bar{x} \pm s$ 记录，用 t 检验。

2　结果

2.1　眼刺激反应评分

手术后第 1、4、7 天，32 眼的角膜、虹膜无异常发现，结膜有不同程度充血、水肿及少许分泌物，A、B 组眼刺激性评价标准均为无刺激性(评分 < 3)，考虑为手术刺激。14 d 后角膜、虹膜和结膜均未见异常，A、B 组眼刺激程度均为无刺激性。A、B 组间无显著差异($P > 0.05$)。壳聚糖膜对家兔无眼刺激性。眼刺激反应评分见表 2。

表 2　眼刺激性评分结果

时间(t/d)	A 组	B 组
1	1.5	2.0
4	1.3	1.2
7	0.7	0.5
14	0	0

2.2　眼内压检查

术前平均眼压 A、B 组无显著性差异($P > 0.05$)。术后各时间段，A、B 组眼压比术前均明显降低($P < 0.01$)；术后 7 d，A、B 组间眼压无显著性差异($P > 0.05$)；术后 14 d 以后，A、B 组间眼压有显著性差异($P < 0.05$)，且 B 组降眼压效果好于 A 组。眼压统计情况见表 3。

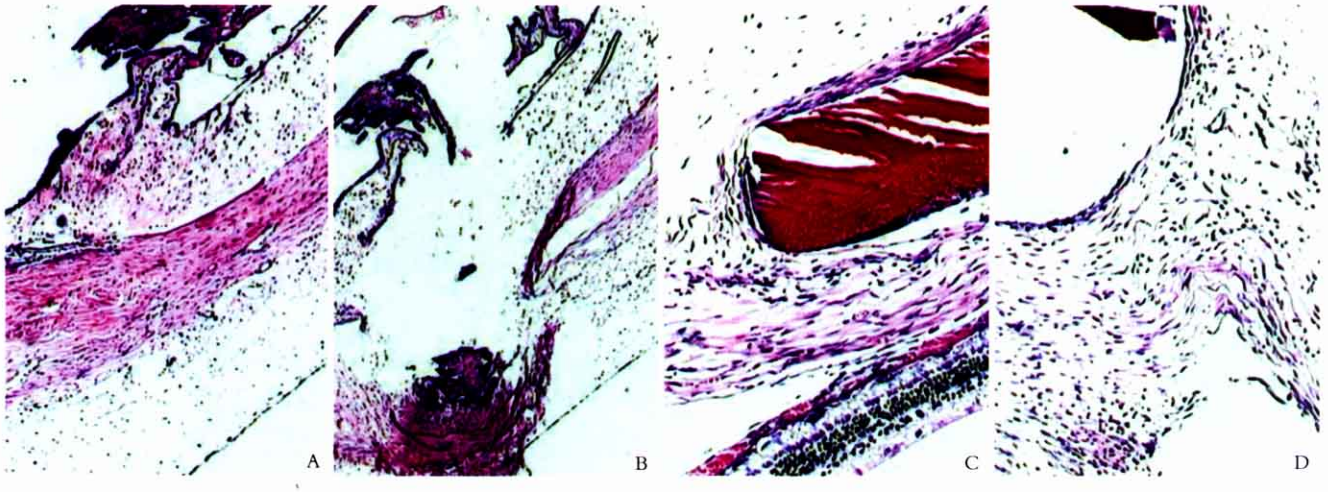
表3 眼内压情况(mmHg)

时间	A组(n)	B组(n)
术前	18.22±2.56(16)	18.40±2.48(16)
术后(d)		
7	11.69±2.71(16)[a]	11.29±2.53(16)[a]
14	14.37±2.96(14)[a]	13.38±2.57(14)[ab]
28	16.81±2.03(12)[a]	13.74±1.97(12)[ac]
56	16.87±2.45(10)[a]	13.78±1.89(10)[ac]

a: $P<0.01$,与术前比较;b: $P<0.05$, c: $P<0.01$,与A组比较

2.3 病理学观察

术后1周,局部炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主,A、B组均无组织细胞坏死表现;A组可见巩膜瓣下狭窄的组织间隙,周围炎性细胞浸润,结膜下微型囊壁型滤泡(图1A);B组巩膜瓣下壳聚糖膜周围可见明显的组织间隙,形成房水减压房。术后28 d,炎性细胞浸润减轻,A组结膜下、巩膜瓣下可见瘢痕形成,阻塞滤道(图1B);B组房水减压房结构保持良好,植入材料开始裂解,周围仅有2~3层纤维细胞(图1C)。术后56 d,B组壳聚糖膜裂解为碎片,部分吸收,周围散在炎性细胞,为淋巴细胞、单核粒细胞及异物巨细胞,周围仅有2~3层纤维细胞,结膜下及巩膜瓣下房水减压房结构保持良好(图1D)。组织切片显示,角膜内皮无水肿,晶状体透明,虹膜及睫状体无异常,视网膜层次清晰、形态结果正常。说明壳聚糖对组织无毒性损害。



A:单纯小梁切除术后7 d (HE×100); B: 单纯小梁切除术后28 d(HE×100);C:小梁切除术联合壳聚糖膜巩膜瓣下植入28 d (HE×200); D: 小梁切除术联合壳聚糖膜巩膜瓣下植入56 d (HE×200)

图1 滤过泡病理学观察

3 讨论

抗青光眼术后如何有效维持功能性滤过泡是一个重要问题[3]。近些年发展起来的非穿透小梁切除术联合植入胶联的玻璃酸钠凝胶中短期内解决了上述问题,但手术在适应证选择方面受到一定限制。目前,对占我国各类青光眼患病率首位(75%)的原发性闭角型青光眼[4],手术方式仍普遍采用传统的小梁切除术。

国内外已有大量的临床实验研究提示有滤泡出现者,绝大多数眼压控制在正常范围,而外观无滤过泡者,只有少数眼压被控制[5]。

壳聚糖是甲壳素脱乙酰基的衍生物,为线性高分子结构,为一种天然可降解的生物材料[6],无毒性、无抗原性、组织相容性好,兼有抗菌消炎作用[7],在国外有用于人工泪液的制备[8]或制成眼膏局部应用以延长药物在局部的作用时间[9]。壳聚糖成膜后在缓释药物和定向运送药物方面具有重要的研究和开发价值,常常被用作药物缓释的载体[10-12]。金中秋等[13]将载有曲安奈德的壳聚糖膜植入兔眼脉络膜上腔治疗穿通伤取得了肯定的疗效。

本研究将壳聚糖膜植入行抗青光眼手术的兔眼巩膜瓣下,以寻找一种安全有效的抗青光眼治疗方法。结果显示,壳聚糖膜植入兔眼巩膜瓣下,眼刺激性评价标准为无刺激性;组织切片显示,角膜内皮无水肿,晶状体透明,虹膜及睫状体无异常,视网膜层次清晰,形态结果正常,说明壳聚糖对组织无毒性损害,具有良好的组织相容性。术后壳聚糖膜逐渐裂解为碎片,吸收。周围散在异物巨细胞,研究表明异物巨细胞是可降解材料诱导产生的组织非特异性反应[14],是可降解材料组织反应的显著特点。术后14 d,A、B组间眼压有显著性差异($P<0.05$),且B组降眼压效果好于A组,分析原因:术后病理切片可见对照组结膜下、巩膜瓣下瘢痕形成,滤道阻塞;实验组植入材料开始裂解,周围仅有2~3层纤维细胞,房水减压房结构保持良好。说明壳聚糖膜具有抗纤维增生作用,有助于滤过泡的维持。本实验与国内程进学[15]、韦萍等[16]的研究结果一致。

本研究中，实验组有 1 例术后出现浅前房，予阿托品散瞳及局部滴地塞米松眼液后恢复，考虑滤过过度所致。壳聚糖膜在起支撑、维持房水减压房的同时，亦有导致滤过过度的危险。改进壳聚糖膜的柔软度及采用调节缝线，或许可减少术后出现浅前房的机会。

壳聚糖膜是一种在青光眼手术领域潜在的，有价值的应用材料。其远期效果及临床应用尚需进一步的研究。

参考文献：

[1] 应　希，谢汉平，向　利. 房水引流物植入术对难治性青光眼的早期疗效观察[J]. 第三军医大学学报，2005，27(3)：274－276.

[2] 刘少章，于纯智，贺翔鸽. 628 例原发性闭角型青光眼的小梁病理改变及其临床意义[J]. 第三军医大学学报，2000，22(2)：163－165.

[3] 周文炳. 临床青光眼[M]. 第 2 版. 北京：人民卫生出版社，2000：405.

[4] 胡　铮，赵家良，董方田，等. 北京市顺义县青光眼流行病学调查[J]. 中华眼科杂志，1989，25(2)：115－119.

[5] 龚启荣，胡　楠. 现代青光眼手术学[M]. 北京：人民军医出版社，1999：10.

[6] 卢凤琦，曹宗顺，庄昭霞，等. 壳聚糖膜的降解与生物相容性研究[J]. 生物医学工程学杂志，1998，15(2)：183－185.

[7] Tasi G J, Su W H. Antibacterial activity of shrimp chitosan against Escherichia coli[J]. J Food Prot, 1999, 62(3): 239－243.

[8] Felt O, Carrel A, Baehni P, *et al*. Chitosan as tear substitute: a wetting agent endowed with antimicrobial efficacy[J]. J Ocul Pharmacol Ther, 2000, 16(3): 261－270.

[9] Felt O, Furrer P, Mayer J M, *et al*. Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention [J]. Int J Pharm, 1999, 180(2): 185－193.

[10] Kawashima Y, Lin S Y, Kasai A, *et al*. Preparation of a prolonged release tablet of aspirin with chitosan [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1985, 33(5): 2107－2113.

[11] Miyazaki S, Ishii K, Nadai T. The use of chitin and chitosan as drug carriers[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1981, 29(10): 3067－3069.

[12] 王　涛，艾国平，杜智勇，等. 轻度肠型放-烧复合伤救治的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2005，27(21)：2099－2102.

[13] 金中秋，张庆华，宋艳萍. 脉络膜上腔给药治疗兔眼穿通伤[J]. 国际眼科杂志，2003，3(2)：18－20.

[14] Santavirta S, Konttinen Y T, Saito T, *et al*. Immune response to polyglycolic acid implants[J]. J Bone Joint Surg Br, 1990, 72(4): 597－600.

[15] 程进学，胡　平，李晓陵，等. 壳聚糖膜在青光眼非穿透滤过手术中应用的动物实验[J]. 军医进修学院学报，2002，23(2)：139－141.

[16] 韦　萍，王爱勤，刘　斌，等. 改性壳聚糖膜在兔眼中的降解及组织病理学观察[J]. 中国生化药学杂志，2004，25(3)：133－135.

（编辑　龙　亮）

（上接 334 页）

4.3%～10.3%。常规普通心电图显示与否主要与快慢径不应期的分离程度、传导速度的差别、激动有否逆传、有无早搏诱发及迷走神经张力的高低等诸多因素有关，因心电图表现复杂多样容易误诊[1,2]。

此例患者 3 次住院，动态观察心电图变化，第 1 次入院，因病史短，获取患者资料少，由于 AVB 是病毒性心肌炎常见的心律失常，因此仅以此诊断为病毒性心肌炎，应用激素后心电图一度恢复正常。第 2 次入院误认为患者第 1 次治疗不彻底，因此延长了激素使用时间，表面上复查动态心电图显示无异常而出院。第 3 次入院，经过住院观察患者心电图反复变化，而 TEAP 显示：静推阿托品前出现房室传导障碍，但是应用阿托品后房室传导变为正常，且心房程控刺激，房室结明显出现跳跃性延长，呈现房室结内双径路传导。结合先后 3 次住院来看，由于对房室结双径路的心电图特征认识不足，把间歇性 P-R 间期不同误诊为Ⅰ度及Ⅱ度 AVB，又没有及时作电生理检查，给临床诊断错误提示。虽然有文献报道房室结双径路与心肌的炎症、缺血有关，但在缺乏心脏器质性改变的前提下，不应仅根据某个临床症状或心电图某项改变就牵强附会地作出诊断[3,4]。

要善于捕捉每帧心电图特征性改变，把握主要思路锲入。当心电图貌似Ⅰ度及Ⅱ度 AVB 图形时，首先应分析 P-R 间期不同都见于哪些情况，进一步抓住患者 P-R 间期呈非时相性改变且其增量＞60 ms 的特点，尽早作电生理检查以明确诊断并选择更为合理的治疗方案；及时进行回顾性分析，如分析病例特殊表现及共同点，如本例出现快径路文氏现象，注射阿托品后此现象消失。阿托品试验后文氏点 2∶1 阻滞点转为正常，心房程控刺激，房室结明显出现跳跃性延长，但是未诱发 AVNRT，故视为迷走神经张力过高及功能性房室结双径路，迷走神经张力过高所致的 AVB 多无血流动力学障碍及明显的临床症状，一般不易治疗，而功能性房室结双径路临床意义较小。如果此例患者有阵发性室上性心动过速发作，还可通过心脏导管射频消融介入治疗。

关键词：病毒性心肌炎；房室结双径路；迷走神经功能亢进

中图法分类号：R540.41　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] 段孝纨，李　方. 误诊为病毒性心肌炎的房室结双径路传导 2 例[J]. 医师进修杂志，2000，23(7)：62－63.

[2] 王晓清，陈　兰. 房室结双径路不典型文氏现象[J]. 心电学杂志，2005，24(2)：95－96.

[3] 费　萍，顾法森，那　燕，等. 房性早搏及二度Ⅰ型房室传导阻滞揭示房室结双径路[J]. 实用心电学杂志，2003，12(6)：451.

[4] 林毓群. 心肌炎致房室结双径路传导 1 例报告[J]. 中国现代医学杂志，2004，14(22)：160.

（编辑　陈聪连）