

# 羊膜移植对于减少碱烧伤后角膜新生血管的临床研究

## Clinical Study of the Effect of Amnion Membrane Transplantation on Diminishing Corneal Neovascularization Induced by Alkali Burn

尹 澜<sup>1</sup> 李德昊<sup>1</sup> 皮裕琍<sup>1,2</sup>

1.解放军总医院第一附属医院眼科,北京 100048

2.通讯作者

Lan Yin<sup>1</sup>, Dehao Li<sup>1</sup>, Yuli Pi<sup>1,2</sup>

1.Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of the General Hospital of PLA, Beijing 100048, China

2.Corresponding author

**目的:**观察羊膜移植手术对于减少碱烧伤后角膜新生血管的疗效。

**方法:**回顾性病例对照研究。2006–2010年期间该院收治的Ⅲ度角膜碱烧伤的患者19例23眼,其中行羊膜移植术(治疗组)11例13眼,未行羊膜移植术(对照组)8例10眼。该两组的年龄和手术外的处理基本匹配。伤后3d治疗组行羊膜移植术。分别在伤后14、60d测量各组角膜新生血管面积。应用SPSS12.0统计学软件将此两组的面积进行配对 $t$ 检验,以 $P<0.05$ 作为差异有统计学意义。

**结果:**在烧伤后14d治疗组新生血管面积 $(62.133\pm 8.571)\text{mm}^2$ ,明显低于对照组 $(89.561\pm 9.741)\text{mm}^2$ ,治疗组较对照组减低30.6%,两组差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。烧伤后60d治疗组新生血管面积 $(112.019\pm 17.362)\text{mm}^2$ ,明显低于对照组为 $(129.481\pm 13.534)\text{mm}^2$ ,治疗组较对照组减低13.5%,两组差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:**羊膜移植术能明显抑制碱烧伤所致角膜新生血管的生长。*眼科学报* 2010;25:70–71.

**关键词:**羊膜;移植;眼烧伤;角膜新生血管

**Purpose:** To study the curative effect of amnion membrane transplantation on decreasing corneal neovascularization (CNV) induced by alkali burn.

**Methods:** It was a non-randomized retrospective case-control study. Among 19 cases (23 eyes) of third-degree alkali burns from 2006 to 2010, 11 cases (13 eyes) were performed with amnion membrane transplantation operation, and others were not. Amnion membrane transplantation was performed at 3<sup>rd</sup> day after burn in the treatment group. Ages and treatments beyond surgery of double groups were matched. Areas of CNV in double groups were measured at the 14<sup>th</sup> day and 60<sup>th</sup> day after burn.

**Results:** Area of CNV in the treatment group was  $(62.133\pm 8.571)\text{mm}^2$  at the 14<sup>th</sup> day after burn, and was 30.6% lower than that in the control group. Area of CNV in the treatment group was  $(112.019\pm 17.362)\text{mm}^2$  at the 60<sup>th</sup> day after burn, and was 13.5% lower than that in the control group. There was statistical significance ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** Amnion membrane transplantation operation can inhibit the growth of corneal neovascularization induced by alkali burn. *Eye Science* 2010; 25: 70–71.

**Key words:** Amnion; Transplantation; Eye burn; Corneal neovascularization

**眼**表碱烧伤后常出现角膜上皮的缺失,在炎症趋化因子等的作用下,新生血管由角膜缘处向角膜方向生长,形成角膜新生血管。从而影响角膜的透明性,造成视力下降。而羊膜具有防止眼表上皮化、抑制纤维血管组织增收和新生血管形成等作用<sup>[1]</sup>,将羊膜移植应用于减少碱烧伤后的角膜新生血管已有较多认识,但多限于动物实验,临床研究较少。现将我院2006-2010期间的度角膜碱烧伤的患者19例23眼治疗情况报道如下。

### 资料与方法

#### 一、一般资料

2006-2010年期间我院收治的度角膜碱烧伤(按我国眼外伤与职业性眼病协作小组的分度标准)的患者19例23眼。其中研究组(行羊膜移植术)11例13眼,男8例10眼,女3例3眼,平均年龄34.5岁,就诊时间最早2h,最迟24h。对照组(未行羊膜移植术)8例10眼,男6例7眼,女2例3眼,平均年龄37.1岁,就诊时间最早1.5h,最迟30h。对该两组患者均常规行生理盐水结膜囊冲洗,左氧氟沙星、金因舒眼液点眼4次/日,全身予抗菌素、营养支持等对症治疗。治疗组均在烧伤后3d行羊膜移植手术。对照组除羊膜移植手术外的医疗干预与治疗组相同。

#### 二、羊膜的制备

取自健康剖腹产新鲜胎盘,排除含有人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙肝病毒(HBV)、丙肝病毒及梅毒。无菌条件下将羊膜与绒毛膜分离、清洗,缝线标记上皮面,用1000 U/ml庆大霉素溶液反复冲洗。配置青霉素50 μg/ml、链霉素50 μg/ml、两性霉素B 2.5 μg/ml的生理盐水溶液,将羊膜浸泡其中15 min。取出后予生理盐水反复冲洗,置于无菌甘油光口瓶内,-80℃冷冻保存。使用时剪取适当大小,用无菌生理盐水反复冲洗,然后置于3000 U/ml的庆大霉素溶液中,复水30 min。所有羊膜制备超过1个月即予废弃。

#### 三、手术方法

手术在显微镜下进行。常规消毒铺单,爱尔凯因眼液点眼,2%利多卡因注射液结膜下浸润麻醉。刀片刮除角膜的坏死组织,同时清除角膜周围的坏死球结膜、结膜下组织及浅层巩膜组织。剪取适当大小的羊膜平铺于角膜上,上皮面向上,用10-00尼龙缝线将羊膜经过结膜间断缝合固定于

浅层巩膜。缝合位置:按时钟12个钟点方向,共计12针;距角膜缘2 mm。缝合后使羊膜植片与眼表紧密粘附。涂氧氟沙星眼膏后包眼。术后第1天给予妥布霉素眼液、金因舒眼液点眼,术后第3天始加用典必殊眼膏2次/日。

#### 四、观察指标

角膜烧伤后14 d及60 d行裂隙灯显微镜检查,测量新生血管长入角膜的长度及累及角膜圆周的钟点数,计算其面积。新生血管面积计算依据Robert公式<sup>[2]</sup>: $S=C/12 \times 3.1416 \times [r^2 - (r-L)^2]$ ,其中C代表新生血管累及角膜圆周的钟点数,L代表新生血管的长度(在显微镜下用游标卡尺测量,测量生长较长、弯曲度小、并与角膜缘切线垂直的新生血管),r代表角膜半径。

#### 五、统计学处理

采用SPSS12.0统计分析软件,将两组的新生血管面积进行配对t检验,以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

### 结 果

如表1所示,在烧伤后14 d治疗组新生血管面积为(62.133±8.571)mm<sup>2</sup>,对照组为(89.561±9.741)mm<sup>2</sup>,羊膜治疗组较对照组减低30.6%,两组差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。烧伤后60 d治疗组新生血管面积为(112.019±17.362)mm<sup>2</sup>,对照组为(129.481±13.534)mm<sup>2</sup>,羊膜治疗组较对照组减低13.5%,两组差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表1 羊膜移植组和非羊膜移植组角膜新生血管面积的比较(mm<sup>2</sup>,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	眼数	伤后14 d	伤后60 d
羊膜移植	13	62.133±8.571	112.019±17.362
非羊膜移植	10	89.561±9.741	129.481±13.534
t值		-7.180	-2.625
P值		0.0244	0.0158

### 讨 论

角膜度碱烧伤的主要表现为角膜缘的缺血,伴随而来的是大量炎性细胞及炎性介质的浸润。如果仅采用保守治疗,新生血管会大量长入角膜缘内。而羊膜具有减轻炎症反应,减轻血管化及减少瘢痕形成的临床效果。

自Davis(1910)首先利用羊膜作为生物敷料替代皮肤帮助烧伤创面修复以来,(下转第77页)

ma suspect and ocular hypertensive patients with the multifocal VEP technique [J]. J Glaucoma, 2006, 15(4): 321-327.

9. Grippo TM, Ezon I, Kanadani FN, et al. The effects of optic disc drusen on the latency of the pattern-reversal checkerboard and multifocal visual evoked potentials[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(9): 4199-4204.
10. Klistorner A, Arvind H, Nguyen T, et al. Multifocal VEP and OCT in optic neuritis: a topographical study of the structure-function relationship[J]. Doc Ophthalmol, 2009, 118(2): 129-137.

11. Klistorner A, Fraser C, Garrick R, et al. Correlation between full-field and multifocal VEPs in optic neuritis [J]. Doc Ophthalmol, 2008, 116(1): 19-27.
12. Yang EB, Hood DC, Rodarte C, et al. Improvement in conduction velocity after optic neuritis measured with the multifocal VEP [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(2): 692-698.
13. Semela L, Yang EB, Hedges TR, et al. Multifocal visual-evoked potential in unilateral compressive optic neuropathy [J]. Br J Ophthalmol, 2007, 91(4): 445-448.

(Receiving date: 2010-09-05; Editor: Jianhua Liu)

(上接第 71 页)

羊膜作为一种来源方便、取材容易和价格便宜等诸多优点的生物膜在临床上应用越来越广,如覆盖烧伤的创面、修补缺损等等。

有研究报道,羊膜培养基能显著减轻促进角膜新生血管生成的碱性成纤维细胞生长因子,其机制至少部分是在于羊膜所分泌或释放的高水平 TIMP2 蛋白,对血管内皮细胞的迁移和生长起到了抑制作用<sup>[3]</sup>。此外,羊膜中还含有层粘蛋白、纤维连接蛋白、Ⅰ型胶原纤维等,能刺激上皮的分化、增生,延长上皮细胞的生命,维持其克隆形成,增强上皮细胞的黏附性,是一种支持上皮生发、细胞生长的理想物质<sup>[4]</sup>。羊膜中含有各种蛋白酶,通过抑制相应的蛋白酶而发挥其清除炎症的作用<sup>[5,6]</sup>;同时羊膜能抑制转化因子的表达及信号传递,并能抑制正常成纤维细胞分化为肌成纤维细胞<sup>[7]</sup>,从而避免炎症细胞和细胞因子诱发的角膜基质和胶原纤维的过度增生。因此,在眼表重建时促进表面愈合而不留瘢痕。碱性物质因能与组织中的脂类及蛋白反应成为可溶性的蛋白化合物,能长期、稳定地存在于眼内。虽然进行了多次的结膜囊冲洗或是更直接的前房冲洗,眼内组织仍有可能受到碱性成分的伤害。而羊膜中的纤维母细胞层及海绵层复水后含有大量的粘液,能起到稀释、缓冲碱的作用,因此,也能直接减少碱性物质的化学损伤。本研究发现,无论在烧伤后 14 d 还是 60 d,治疗组的角膜新生血管面积均小于对照组;结果提

示,羊膜移植具有明显的抑制角膜新生血管的作用,是一种较理想的治疗早期重症眼碱烧伤的方法。

#### 参考文献

1. 刘祖国. 眼表疾病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 611-612.
2. Kato T, Kure T, Chang JH, et al. Diminished corneal angiogenesis in gelatinase A-deficient mice [J]. FEBS Lett, 2001, 508(2): 187-190.
3. Ma X, Li J. Corneal neovascularization suppressed by TIMP2 released from human amniotic membranes [J]. Yan Ke Xue Bao, 2005, 21(1): 56-61.
4. Koizumi N, Inatomi T, Quantock AJ, et al. Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits [J]. Cornea, 2000, 19(1): 65-71.
5. Hori J, Wang M, Kamiya K, et al. Immunological characteristics of amniotic epithelium [J]. Cornea, 2006, 25(10 Suppl 1): S53-58.
6. Jiang A, Li C, Gao Y, et al. In vivo and in vitro inhibitory effect of amniotic extraction on neovascularization [J]. Cornea, 2006, 25(10 Suppl 1): S36-40.
7. Jang IK, Ahn JI, Shin JS, et al. Transplantation of reconstructed corneal layer composed of corneal epithelium and fibroblasts on a lyophilized amniotic membrane to severely alkali-burned cornea [J]. Artif Organs, 2006, 30(6): 424-431.

(收稿日期: 2010-09-25; 编辑: 杨江瑜)