

# 兔眼滤过手术模型制作探析

杨 伟, 王少林, 景金霞, 哈少平

基金项目: 中国宁夏回族自治区自然科学基金资助项目 (No. NZ09154)

作者单位: (750021) 中国宁夏回族自治区银川市, 宁夏回族自治区人民医院眼科

作者简介: 杨伟, 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 青光眼。

通讯作者: 哈少平, 硕士, 副教授, 主任医师, 研究方向: 青光眼。  
hashaoping@163.com

收稿日期: 2011-10-28 修回日期: 2011-12-31

## Making and personal experience in glaucoma filtering operation model in rabbit

Wei Yang, Shao-Lin Wang, Jin-Xia Jing, Shao-Ping Ha

**Foundation item:** Natural Science Foundation of Ningxia Hui Autonomous Region, China (No. NZ09154)

Department of Ophthalmology, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750021, Ningxia Hui Autonomous Region, China

**Correspondence to:** Shao-Ping Ha. Department of Ophthalmology, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750021, Ningxia Hui Autonomous Region, China. hashaoping@163.com

Received: 2011-10-28 Accepted: 2011-12-31

### Abstract

• **AIM:** To create an effective operation model in glaucoma filtering operation in rabbit.

• **METHODS:** Trabeculectomy were performed on 36 eyes of 18 rabbits. The 18 eyes were treated with the amniotic transplantation under sclerotic flap, the other eyes were treated with the double amniotic transplantation between sclerotic and conjunctival flap. The postoperative examinations including the intraocular pressure (IOP), filtering bleb and complications were performed.

• **RESULTS:** Filtering bleb was scarcely enough to keep effective and permanent. In double amniotic membrane transplantation group, the filtering bleb was kept over 14 and 30 days partly, showing a longer period in comparison with amniotic membrane groups. The IOP remained steady at a level of less than baseline.

• **CONCLUSION:** The double amniotic membrane transplantation can improve success rate of model.

• **KEYWORDS:** glaucoma; filtering operation; model; amniotic membrane

Yang W, Wang SL, Jing JX, et al. Making and personal experience in glaucoma filtering operation model in rabbit. *Guji Yanke Zazhi* (Int Eye Sci) 2012;12(2):221-223

### 摘要

**目的:** 探讨建立长期有效的兔眼滤过手术模型。

**方法:** 对 18 只 36 眼家兔行青光眼滤过手术, 其中右眼植入单层生物羊膜, 左眼植入双层生物羊膜, 术后观察眼压、滤过泡形态。

**结果:** 家兔术后巩膜瓣修复快, 滤过通道难以长期有效维持, 易导致造模失败。术中植入双层羊膜, 可明显延长有效滤过通道的维持时间, 部分模型有效滤过可维持 14 ~ 30d。双层羊膜组眼压控制也较理想。

**结论:** 兔眼小梁切除术中植入双层羊膜, 可以提高滤过模型的成功率。

**关键词:** 青光眼; 滤过术; 模型; 羊膜

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2012.02.09

杨伟, 王少林, 景金霞, 等. 兔眼滤过手术模型制作探析. 国际眼科杂志 2012;12(2):221-223

### 0 引言

为寻找一种安全有效的抗滤过道纤维增殖方法, 我们将生物羊膜应用于兔眼小梁切除术中, 对其抗纤维增殖作用进行研究, 但在实验中我们发现, 家兔由于种属的特异性, 兔眼滤过手术后其有效滤过难以长期有效维持, 不能提供长期有效的滤过手术模型以供研究。实验中我们通过改变生物羊膜的植入方式, 有效提高兔眼滤过术后有效滤过泡的维持时间, 以期找到一种长期有效的滤过手术模型。我们就兔眼滤过手术模型制作中遇到的问题以及如何提高有效滤过维持时间进行研究。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康日本大耳兔 18 只, 由宁夏医科大学动物实验中心提供, 雌雄不限, 4 ~ 5 月龄, 体质量 2.5 ~ 3kg。每只大耳兔右眼行小梁切除术, 术中巩膜瓣下植入单层羊膜。其左眼行小梁切除术, 术中巩膜瓣下及结膜与巩膜之间植入双层羊膜。

**1.2 方法** 实验中每只家兔在实验造模和取标本时共需麻醉两次, 手术前禁食水 8h。实验早期 3 只大耳兔采用氯胺酮 40mg/kg + 氯丙嗪 20mg/kg 肌注<sup>[1]</sup>, 余者均采用 200g/L 氨基甲酸乙酯 (乌拉坦) 5mL/kg 耳缘静脉麻醉<sup>[2]</sup>。全身麻醉待实验动物肌张力消失后, Schiotz 眼压计双法码对读测量眼压 3 次, 记录均值。眼部铺消毒洞巾, 生理盐水洗眼, 于鼻上象限做以角巩膜缘为基底的结膜瓣, 高度 6 ~ 7mm, 做以角巩膜缘为基底的 3mm × 3mm 矩形巩膜瓣, 深入角膜内 1mm, 切除小梁组织 1mm × 2mm 大小, 行虹膜周切, 虹膜周切范围大于小梁切除范围, 如植入单层羊膜将 5mm × 8mm 生物羊膜上皮面朝上平铺于巩膜瓣层间。如植入双层羊膜将 7mm × 8mm 生物羊膜折叠后包裹巩膜瓣, 其巩膜瓣下上皮面朝下结膜与巩膜瓣之间上皮面朝上双层植入。10-0 线缝合 4 针固定羊膜, 巩膜瓣 10-0 线两角固定缝合, 筋膜 10-0 线连续缝合, 结膜切口 8-0 线

表1 各实验组和对照组各时间点眼压比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mmHg,  $n = 18$ )

| 分组       | 术前           | 术后 3d       | 术后 7d       | 术后 14d       | 术后 30d       | 术后 60d       |
|----------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| 单层羊膜组    | 15.07 ± 1.84 | 7.06 ± 1.59 | 8.36 ± 1.56 | 10.27 ± 2.42 | 14.38 ± 1.77 | 15.43 ± 1.84 |
| 双层羊膜组    | 15.07 ± 2.02 | 6.22 ± 1.24 | 6.74 ± 1.16 | 7.97 ± 1.48  | 14.54 ± 2.22 | 14.90 ± 1.76 |
| <i>t</i> | -0.003       | 1.759       | 3.601       | 3.348        | -0.242       | 0.880        |
| <i>P</i> | 0.997        | 0.088       | 0.001       | 0.002        | 0.810        | 0.385        |

表2 各实验组术后功能性滤过泡与非功能性滤过泡所占比例 只(%)

| 类别      | 单层羊膜组   |        |        |        |         | 双层羊膜组   |        |        |        |         |
|---------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|
|         | 3d      | 7d     | 14d    | 30d    | 60d     | 3d      | 7d     | 14d    | 30d    | 60d     |
| 功能性滤过泡  | 18(100) | 17(94) | 12(67) | 5(28)  | 0       | 18(100) | 16(89) | 15(83) | 11(61) | 0       |
| 非功能性滤过泡 | 0       | 1(6)   | 6(33)  | 13(72) | 18(100) | 0       | 2(11)  | 3(17)  | 7(39)  | 18(100) |

连续缝合,术毕涂泰利必妥眼膏,术后每日妥布霉素地塞米松滴眼液点眼1次。数据采集方法:(1)眼压:分别于术前及术后3,5,7,14,30,60d用Schiotz眼压计测量眼压,每次测量3次,取均值记录。(2)滤过泡形态:裂隙灯下观察兔眼术后滤过泡形态并按kronfeld法分型记录。I型为微型囊状型;II型为弥漫扁平型;III型为缺如型;IV型为包裹型。I型和II型滤过泡为功能性滤过泡,III型和IV型滤过泡为非功能性滤过泡。

统计学分析:运用SPSS 13.0软件进行统计学处理,对满足参数统计条件的计量资料,以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用*t*检验。样本率的比较采用 $\chi^2$ 检验,以*P* < 0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 麻醉效果** 实验早期3只大耳兔采用氯胺酮40mg/kg+氯丙嗪20mg/kg肌注麻醉,麻醉安全有效,余者大耳兔采用耳缘静脉麻醉,200g/L氨基甲酸乙酯,5mL/kg,推注时间3~5min。实验中6只大耳兔推注200g/L氨基甲酸乙酯麻醉时呼吸心跳骤停,经心前区按压,5只恢复心跳呼吸,1只死亡,余者麻醉均安全有效。

**2.2 滤过模型制作结果** 实验过程中共3眼巩膜瓣制作破损,于颞上象限重新手术。滤过模型术后早期均能观察到有效滤过存在,术后1眼前房内满贯血,考虑手术过程中损伤睫状体所致,增补一动物重新造模。

**2.3 眼压比较** 双层羊膜组与单层羊膜组术前和术后3,30,60d眼压比较无明显差异;术后7,14d两组比较差异有显著意义(*P* < 0.01,表1),双层羊膜组眼压控制于较低水平。

**2.4 术后滤过泡情况** 术后各组功能性滤过泡均以II型为主。术后30d双层羊膜组功能性滤过形成率明显高于单层羊膜组,差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.050, P = 0.044$ ,表2)。

## 3 讨论

抗青光眼术后功能性滤过泡的维持是手术成功的重要因素之一,经典的小梁切除术自1966年问世以来,滤过道纤维瘢痕化是一个困扰人们的难题。为了解决滤过道的纤维瘢痕化,就要求我们首先建立一个可靠的滤过手术动物模型,在此基础上找到一种合理有效的抗滤过道纤维瘢痕化方式。由于家兔价格合理、兔眼与人眼结构类似、大小雷同,目前通常选择兔眼作为滤过手术模型。在实验中我们发现如下问题。

**3.1 麻醉安全性** 氯胺酮+氯丙嗪麻醉优点:(1)肌肉注射

操作方便易掌握;(2)麻醉后镇痛效果理想;(3)麻醉持续时间短,约1h,对全身影响小,麻醉安全性良好。缺点:(1)大量氯胺酮不易获得,成批购买时须到当地药监局审批;(2)麻醉持续时间过短,有时需再次加用麻醉。由于氯胺酮不易购买,后期采用氨基甲酸乙酯静脉推注麻醉优点:(1)可成批购买获得方便,其价格便宜。(2)麻醉持续时间长。缺点:(1)耳缘静脉麻醉时操作较肌注困难,渗漏到周围组织后易造成局部组织缺血坏死。(2)药物推注过快可致家兔心跳呼吸骤停。(3)其肌松作用良好,但镇痛效果较差。(4)麻醉苏醒时间长,6~10h,对家兔全身影响大。麻醉注意事项:(1)氨基甲酸乙酯静脉推注麻醉时,可用手术巾遮蔽家兔双眼,以缓解其恐惧躁动。(2)推注药物时应缓慢并密切注视家兔呼吸,药物推注时间3~5min为宜,早期推注可较快,后1~2min应缓慢,待家兔肌张力消失后,再推注药物1~2mL麻醉即完成。(3)氨基甲酸乙酯镇痛作用较差,行虹膜周切时家兔易躁动反抗,可加用盐酸丙美卡因表面麻醉。(4)氨基甲酸乙酯麻醉后苏醒期长,应加强苏醒期的护理,天气寒冷时应注意保暖。

**3.2 手术中注意事项** 手术中应注意:(1)手术部位:家兔眼部正上方其上直肌附着点位于角巩膜缘处,手术时应避开此部位,手术时通常选取颞上或鼻上方角巩膜缘,手术时由于家兔第三眼睑的遮挡,手术部位不易暴露,牵引线可牵拉第三眼睑,暴露手术部位。(2)家兔结膜及结膜下血管少,剪开、分离结膜时不易出血,利于手术操作。(3)家兔巩膜较人巩膜薄(图1),平均0.3~0.5mm,其巩膜坚韧,胶原纤维互相缠绕,制作巩膜瓣时不易分离,易穿破巩膜,制作时应特别注意。(4)行虹膜周切时,虹膜面血管丰富易出血,周切前局部频点肾上腺素有利于减少出血。(5)家兔巩膜(图2)与家兔巩膜瓣(图3)和人眼巩膜(图4)比较,家兔巩膜胶原纤维排列相互间杂交错,胶原纤维之间致密空隙少。人眼胶原纤维排列平行,间杂交错不明显,胶原纤维之间空隙大,不紧密。兔眼巩膜瓣表面制作后不光滑、毛糙,术后巩膜瓣修复快,滤过泡难以长期维持。

**3.3 术后实验指标观测** (1)眼压:对眼压的评估,是青光眼滤过术后的一项重要指标,如何能准确、客观地测量家兔眼压就显得尤其重要。本实验眼压测量采用Schiotz眼压计,测量3次取平均值。由于兔眼角膜和巩膜厚度与人眼差异明显,较人眼薄。对于人眼适用于归零的眼压计,在应用于兔眼时受到上述因素影响,将导致实际眼压值与测量值之间产生误差。如家兔种系不纯,这种影响就更加明

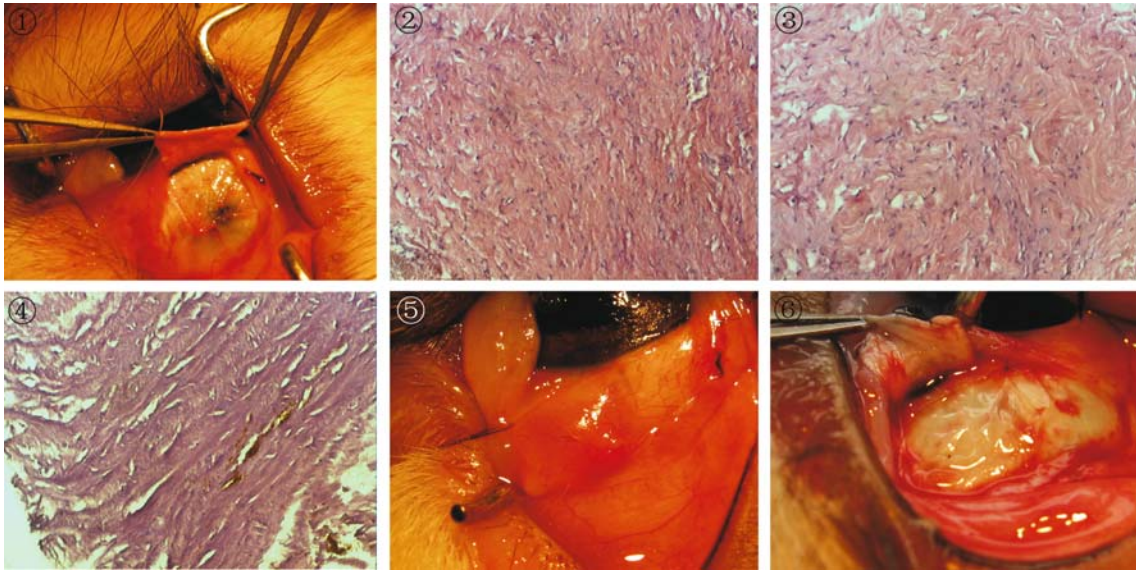


图1 兔眼巩膜瓣形态。 图2 兔眼巩膜(HE×100)。 图3 兔眼巩膜瓣(HE×100)。  
图4 人眼巩膜(HE×100)。 图5 兔眼术后7d滤过泡形态。 图6 兔眼巩膜瓣层间植入单层羊膜。

显<sup>[3]</sup>。因此, Schiotz 眼压计必须用双砝码测量对读才能减少实验性研究误差。本实验测量眼压时,除第1次术前和处死时于全身麻醉状态下测量,其余测量均于表面麻醉下完成。而表面麻醉时家兔挣扎,眼压计有时不能完全与地面垂直,测量结果有一定误差。基于以上原因,在今后的类似实验中建议可采用回弹式眼压计,其应用方便,对受测方体位要求不高,测量结果较精确,能较好的排除巩膜厚度对眼压的影响<sup>[4]</sup>。(2)有效滤过泡:滤过泡形态(图5)可比较直观地反应滤过通道开放情况。本实验实际观测中,功能性滤过泡与眼压控制情况及浅前房发生率均有较好的关联性。因此认为根据滤过泡形态可判断其滤过通道的有效性。

**3.4 如何维持滤过长期有效** 有效滤过泡的存在关系到青光眼滤过模型的成败,也为术后各种数据的测量提供了基础,因此,如何长期有效地维持滤过是青光眼滤过模型制作的关键。家兔巩膜修复能力明显强于人类,如单纯地行青光眼滤过手术,术后有效滤过仅能维持3~7d。如何才能有效维持滤过泡存在呢?羊膜作为一种有效的机械屏障,可以有效地延长有效滤过维持时间<sup>[5]</sup>,且不增加原手术操作难度<sup>[6,7]</sup>。巩膜瓣下植入羊膜(图6)有效滤过可维持7~14d,如要长时间维持有效滤过的存在,可采用巩膜瓣下、结膜和巩膜瓣下植入双层羊膜,这样可有效地避免因结膜与巩膜、巩膜与巩膜之间粘连造成的纤维增殖粘连<sup>[8,9]</sup>,术后7d和14d双层羊膜组眼压较单层羊膜组眼压控制于更低水平,两组比较差异有统计学意义( $P <$

0.05)。双层羊膜组功能性滤过形成率在14d为83%,单层羊膜组为67%。在30d双层羊膜组为61%,单层羊膜组为28%,双层羊膜组功能性滤过形成率在14,30d明显高于单层羊膜组,经 $\chi^2$ 检验差异有统计学意义( $P <$  0.05)。因此巩膜瓣下、结膜和巩膜瓣下植入双层羊膜,进一步提高了兔眼青光眼滤过手术模型制作的成功率。

#### 参考文献

- 1 张秀兰,彭大伟,曾淑君,等. 干扰素 $\alpha$ -2b 实验性滤过性手术. 中国实用眼科杂志 2000;18(1):26-28
- 2 尹立,韩伟. 浅谈实验家兔的静脉麻醉. 卫生职业教育 2006;24(4):128
- 3 王强,魏厚仁,樊郑军. 家兔眼压测量的标定问题. 眼科研究 1994;12(4):224-226
- 4 甄毅,王涛,王文欣,等. 国产回弹式眼压计的临床评价. 眼科新进展 2010;30(6):555-559
- 5 Demir T, Turgut B, Akyol N. Effects of amniotic membrane transplantation and mitomycin C on wound healing in experimental glaucoma surgery. *Ophthalmologica* 2002;216(1):438-442
- 6 Dua HS, Gomes JA, King AJ. The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv Ophthalmology* 2004;49(1):51-77
- 7 Sippel KC, Ma JJ, Foster CS. Amniotic membrane surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12(4):269-281
- 8 陆炯,邢茜. “三明治”式羊膜移植治疗难治性青光眼疗效评价. 国际眼科杂志 2009;9(6):1087-1089
- 9 付金强,张吉,平小梁. 切除术联合干燥生物羊膜双瓣下反折植入治疗青光眼临床应用研究. 温州医学院学报 2009;32(3):215-217