

纤维蛋白粘合剂粘贴双层基质透镜行兔板层角膜移植术

纪佳月¹, 韦柳晴¹, Zacharia Ackbarkhan¹, 曾静²

引用: 纪佳月, 韦柳晴, Zacharia Ackbarkhan, 等. 纤维蛋白粘合剂粘贴双层基质透镜行兔板层角膜移植术. 国际眼科杂志 2022; 22(5): 775-779

基金项目: 广西科技计划项目 (No. 桂科 AB18221038)

作者单位: ¹(530021) 中国广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学; ²(530021) 中国广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学第一附属医院眼科

作者简介: 纪佳月, 硕士, 研究方向: 眼表疾病。

通讯作者: 曾静, 博士, 主任医师, 研究方向: 眼表疾病. nanzjfy@163.com

收稿日期: 2021-07-11 修回日期: 2022-04-06

摘要

目的: 研究纤维蛋白粘合剂 (FS) 粘贴的双层角膜基质透镜体内生物相容性, 探讨使用该种材料行角膜移植的可行性。

方法: 选取健康清洁级新西兰白兔 15 只, 采用自身对照, 以兔右眼为实验眼, 左眼为对照眼。实验眼使用 FS 粘贴的双层角膜基质透镜作为移植材料行板层角膜移植手术, 对照眼不进行人工干预。分别于术后 7、14、28d 使用手持裂隙灯观察双眼角膜情况, 并进行生物相容性评分, 同时取双眼角膜行 HE 染色进行组织病理学检测, 观察角膜恢复情况。

结果: 裂隙灯观察结果显示, 至角膜移植术后 28d, 实验眼角膜上皮生长情况良好, 角膜透明度基本恢复, 水肿程度减轻, 新生血管生长至角膜缘后未加重, 未见上皮、内皮排斥线等排斥反应; 对照眼角膜透明, 角膜上皮光滑。生物相容性评分结果显示, 角膜移植术后实验眼角膜植片水肿程度逐渐减轻, 透明度逐渐恢复, 排斥反应较小, 角膜植片的生物相容性较好; 至术后 28d, 实验眼和对照眼角膜透明度、水肿程度及新生血管生长程度均无差异 ($P>0.01$)。组织病理学检测结果显示, 至角膜移植术后 28d, 实验眼植片表面有 4~5 层角膜上皮细胞覆盖, 角膜胶原排列整齐、规则, 植片内未见明显炎性细胞浸润, 双片透镜间分界消失, 层间 FS 被机体完全吸收, 植片与植床融合, 未见明显分界。

结论: 使用 FS 粘贴的双层角膜基质透镜作为植片行板层角膜移植术后恢复较好, 排斥反应较小, 生物相容性较好, 可用于板层角膜移植。

关键词: 角膜基质透镜; 纤维蛋白粘合剂; 角膜移植材料; 兔板层角膜移植; 生物相容性

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2022.5.15

Experimental study on rabbit lamellar corneal transplantation with double-layer corneal stromal lens attached by fibrin sealant

Jia-Yue Ji¹, Liu-Qing Wei¹, Zacharia Ackbarkhan¹, Jing Zeng²

Foundation item: Science and Technology Planning Project of Guangxi Province of China (No. AB18221038)

¹Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Jing Zeng. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. nanzjfy@163.com

Received: 2021-07-11 Accepted: 2022-04-06

Abstract

• **AIM:** To study the biocompatibility of double-layer corneal stromal lens attached by fibrin sealant (FS) *in vivo*, and to explore the feasibility of using this material for corneal transplantation.

• **METHODS:** Fifteen healthy and clean New Zealand white rabbits were selected for a self-control study. The right eye of the rabbit was used as the experimental eye and the left eye was used as the control eye. The experimental eyes used FS adhesived double-layer corneal stromal lens as the material for lamellar keratoplasty, and the control eyes did not undergo manual intervention. At 7, 14, and 28d after surgery, a hand-held slit lamp was used to observe the cornea of the rabbits and then score the biocompatibility. The corneas of both eyes were taken for histopathological examination by HE staining to observe the corneal recovery at the same time.

• **RESULTS:** Slit lamp observation results showed that by 28d after the operation, the corneal epithelium of the experimental eyes grew well, the degree of corneal transparency was basically restored, the degree of edema was reduced, the growth of neovascularization to the corneal edge was not aggravated, and no rejection reaction such as epithelial and endothelial rejection lines were seen; The control eyes had clear corneas and smooth corneal epithelium. The results of biocompatibility

score showed that the degree of corneal implant edema gradually decreased, the transparency gradually recovered, the rejection reaction was less, and the biocompatibility of corneal implants was better in the experimental eyes after corneal transplantation. There were no differences in the degree of corneal transparency, edema and neovascularization growth between the experimental and control eyes at 28d after surgery ($P > 0.01$). The results of histopathological examination showed that by 28d after corneal transplantation, there were 4-5 layers of corneal epithelial cells covering the surface of the implant in the experimental eyes, the corneal collagen was neatly and regularly arranged, no obvious inflammatory cell infiltration was seen in the implant, the boundary between the two lenses disappeared, the interlayer FS was completely absorbed by the organism, the implant was fused with the implant bed, and no obvious demarcation was seen.

• **CONCLUSION:** Using FS pasted double-layer corneal stroma lens as a graft for lamellar keratoplasty has better recovery, less rejection and better biocompatibility, and can be used for lamellar keratoplasty.

• **KEYWORDS:** corneal stromal lens; fibrin sealant; corneal transplant material; rabbit lamellar corneal transplantation; biocompatibility

Citation: Ji JY, Wei LQ, Z.A, *et al.* Experimental study on rabbit lamellar corneal transplantation with double-layer corneal stromal lens attached by fibrin sealant. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(5):775-779

0 引言

角膜病是我国第二大致盲眼病,也是除白内障之外唯一可通过手术治疗提高视力而脱离盲状态的眼病^[1],角膜移植手术是角膜病最重要的治疗手段,然而角膜供体来源匮乏,使得角膜移植手术开展受到限制。因此,寻找合适的角膜移植材料成为治疗角膜病的关键。全飞秒激光小切口微透镜摘除术 (small incision lentic extraction, SMILE) 来源的角膜基质透镜,透明度好,且完整保留了角膜基质原有的胶原纤维排列顺序,是一种理想的角膜替代物。但单层角膜基质透镜较薄,中央厚度仅约 60~150 μm ,周边更薄,无法应用于治疗较大较深角膜溃疡,而使用多层角膜基质透镜进行角膜移植虽然可行,但缝合时容易发生相对滑动,增加手术难度,因此考虑使用生物粘合剂粘贴多层角膜基质透镜来弥补以上不足。纤维蛋白粘合剂 (fibrin sealant, FS) 来源于人的血浆,由纤维蛋白原及凝血酶两部分组成,其工作原理是通过模拟血液凝固过程的最后一步,起到止血及组织粘合作用,具有良好的生物降解性^[2]。近年来,FS 被广泛应用于眼科手术中,包括眼科手术缝线的替代、翼状胬肉手术中进行自体结膜瓣的固定^[3-6],以及人工晶状体巩膜固定术、黄斑脱离相关视盘凹陷手术和视网膜手术^[7-11]等。因此考虑使用 FS 作为生物粘合剂粘贴双层角膜基质透镜作为角膜移植材料,但该种角膜移植材料生物相容性未知,可能会有增加排斥反应的风险,故需要检测其生物相容性。本课题组此前对 FS

的体外生物相容性进行实验研究,使用 FS 浸提液与角膜成纤维细胞共培养,从形态学、细胞生长及凋亡 3 个角度评估 FS 与角膜成纤维细胞的生物相容性,研究结果显示,FS 体外生物相容性良好,可应用于粘贴双层角膜基质透镜^[12]。因此,本研究应用 FS 粘贴的双层角膜基质透镜作为植片,对兔行板层角膜移植,通过观察兔板层角膜移植术后角膜恢复情况并进行组织病理学检测,评估该种角膜移植片的体内生物相容性,进而探讨使用其行板层角膜移植的可行性,为进一步临床应用提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 **实验动物** 健康清洁级新西兰白兔 15 只,雌雄不限,体质量约 2.0~2.5kg,由广西医科大学实验动物中心提供,本研究已通过广西医科大学动物伦理委员会审查。

1.1.2 **角膜基质透镜组织** 角膜基质透镜为广西医科大学第一附属医院眼科 SMILE 手术患者捐献,捐献者年龄 18~27 岁,无供体捐献禁忌疾病。角膜透镜厚度 80~150 μm ,术中取出后展平贴于 1.5mL 灭菌离心管壁,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存待用。

1.1.3 **主要试剂与设备** 显微手术器械(苏州六六视觉有限公司);手术显微镜(德国 Zeiss 公司);手持裂隙灯(苏州六六视觉有限公司);外用冻干人纤维蛋白粘合剂(上海莱士血制品有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 **实验动物分组** 本实验采用自身对照,以兔右眼为实验眼,左眼为对照眼。实验眼以 FS 粘贴双层角膜基质透镜为移植材料,行兔板层角膜移植术;对照眼不采取任何干预措施。

1.2.2 **纤维蛋白粘合剂的配制** 按照产品说明,将装有纤维蛋白原粉末及灭菌注射用水的玻璃瓶置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴预热后,使用注射器吸取 2mL 灭菌注射用水注入高浓度纤维蛋白原瓶后继续水浴加热至粉末完全溶解;更换注射器,吸取 2mL 浓度为 40mmol/L CaCl_2 溶液注入装有凝血酶冻干粉的玻璃瓶中,配制浓度为 500IU/mL 的凝血酶溶液。

1.2.3 **角膜移植片的制备** 将两片角膜基质透镜从离心管中取出后置于 10mL 生理盐水中室温情况下复温复水 5min,复水结束后使用 4.25mm 环钻于角膜基质透镜中央钻切,留取透镜中央部分,使用 FS 粘贴双片后置于冰盒待用。

1.2.4 **兔板层角膜移植术** 手术由同一术者在相同实验环境下进行。术前 3d,实验眼滴左氧氟沙星滴眼液预防感染;术前使用体积分数为 1% 的戊巴比妥钠按 40mg/kg 耳缘静脉注射进行全身麻醉,麻醉满意后将兔用无菌手术铺单包裹置于手术台上,滴用丙美卡因滴眼液 2 次行局部表面麻醉,常规消毒、铺巾、开睑器开睑。使用直径 4.0mm 的角膜环钻于兔角膜中央垂直钻切植床,使用宝石刀进行板层剖切,深度约 250~300 μm ,将植床边缘及底部修至规整。将步骤 1.2.3 制备好的角膜植片覆盖至植床表面,使用 10-0 尼龙线间断缝合 6 针固定,线结隐蔽(图 1)。手术结束后,结膜下注射地塞米松,实验眼涂小牛血去蛋白提取物眼用凝胶及妥布霉素地塞米松眼膏。术后单笼饲养,左氧氟沙星滴眼液、小牛血去蛋白提取物眼用凝胶滴术眼,每日 3 次;妥布霉素地塞米松眼膏涂眼,每日 1 次;术后 2wk 改用妥布霉素地塞米松滴眼液滴眼,每日 3 次。

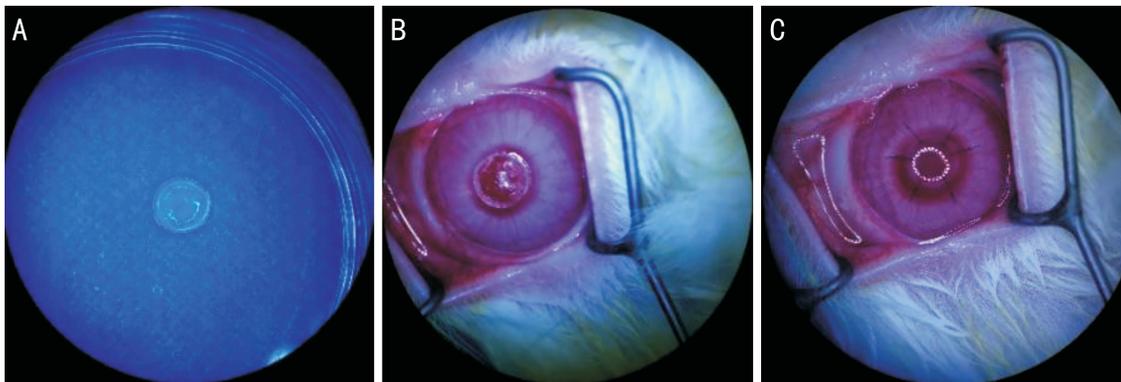


图1 兔板层角膜移植过程示意图 A:FS粘贴双层角膜基质透镜,制备角膜移植片;B:制备板层角膜移植植床;C:间断缝合6针固定植片。

1.2.5 术后观察指标

1.2.5.1 裂隙灯观察及生物相容性评分 术后7、14、28d使用裂隙灯观察双眼角膜透明度、角膜水肿程度、新生血管生长情况、角膜上皮生长情况及排斥反应发生情况并行眼前节照相记录;参照文献[13]的评分方式对前3项观察项目进行评分,评分标准见表1,并计算排斥指数(rejection index, RI), $RI = \text{植片透明度评分} + \text{植片水肿程度评分} + \text{新生血管生长情况评分}$,若角膜移植术后28d内 $RI < 6$ 分视为生物相容性良好^[14]。

1.2.5.2 组织病理学检测 角膜移植术后7、14、28d使用戊巴比妥钠行过量麻醉法各处死5只兔,取兔双眼角膜固定、包埋、制作石蜡切片、HE染色,对全层角膜恢复情况进行形态学观察。观察内容包括角膜上皮覆盖情况、角膜植片内胶原纤维排列情况、炎性细胞浸润情况、双片透镜间FS吸收情况、植片-植床的融合情况等。

统计学分析:采用SPSS 23.0统计学软件进行分析。非正态分布数据采用中位数(四分位间距)[$M(P_{25}, P_{75})$]进行统计描述,采用广义估计方程进行统计分析。 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裂隙灯观察角膜情况 移植术后7d,实验眼角膜轻度水肿,移植区角膜欠透明,有少许新生血管生长至角膜缘,但未达植片,移植区角膜上皮尚未覆盖移植片,移植区角膜荧光素染色着色;移植术后14d,实验眼角膜水肿程度减轻,移植区角膜透明度提高,有少许新生血管生长至角膜缘未达植片,移植区角膜上皮基本覆盖移植片,荧光素染色除缝线处外无着色;移植术后28d,实验眼新生血管生长至角膜缘后未加重,角膜透明度较好,角膜上皮生长情况良好,无上皮及内皮排斥线等排斥反应,荧光素染色少许点状着色。对照眼全程维持角膜透明,角膜上皮光滑(图2)。

2.2 生物相容性评分 生物相容性评分结果显示,使用FS粘贴的双层角膜基质透镜行板层角膜移植术后,实验眼角膜透明度逐渐恢复,角膜水肿程度逐渐减轻,新生血管生长至角膜缘后未加重,至角膜移植术后28d, $RI < 6$ 分,角膜植片的生物相容性较好;对照眼全程维持角膜透明。角膜移植术后7、14d,实验眼和对照眼角膜透明度、水肿程度、新生血管生长情况评分差异均有统计学意义($P < 0.01$);角膜移植术后28d,实验眼和对照眼角膜透明度、水肿程度及新生血管生长情况评分差异均无统计学意义($P > 0.01$),见表2。

2.3 组织病理学检测结果 实验眼角膜移植术后7d,角膜上皮尚未覆盖植片,角膜胶原纤维排列紊乱,植片内有少许中性粒细胞浸润,双片透镜间分界明显,层间FS尚未吸收,植片与受体角膜贴合良好(图3A);角膜移植术后14d,可见有1~2层扁平状角膜鳞状上皮细胞覆盖植片,角膜胶原纤维排列紊乱,植片内有少许中性粒细胞浸润,双层透镜大部分融合,层间FS大部分吸收,植片与受体角膜贴合(图3B);角膜移植术后28d,植片表面有4~5层角膜上皮细胞覆盖,其中表面1~3层为扁平状上皮细胞,基底细胞为柱状上皮细胞,角膜胶原排列整齐、规则,植片内未见中性粒细胞浸润,双片透镜间分界消失,层间FS完全吸收,植片与受体角膜融合,未见明显分界(图3C)。对照眼角膜形态正常,角膜表面可见多层角膜上皮细胞覆盖,角膜胶原纤维排列整齐,无炎性细胞浸润(图3D)。

3 讨论

角膜移植是治疗角膜盲的关键手段,但现有角膜供体无法满足临床需求,而现有角膜供体替代物包括脱细胞猪角膜、羊膜及人工角膜等仍有许多缺点:(1)脱细胞猪角膜是异种角膜组织,存在异种免疫排斥反应及传播动物源性疾病的风险;(2)羊膜组织的承压能力较弱,对于溃疡已接近后弹力层或已出现后弹力层膨出的患者治疗无效;(3)人工角膜材料的研发技术尚未成熟,可应用的适应证较少,术后出现的并发症多。因此寻找合适的角膜替代物具有重要的临床意义。本研究以FS粘贴双层角膜基质透镜构建新型角膜移植材料,并应用于兔角膜进行板层角膜移植,评估其在体内的安全性、生物相容性及角膜移植术后的恢复情况。

本研究结果显示,使用该种移植片进行板层角膜移植术后,角膜移植片可以在眼内稳定存在,可以完全贴合于宿主原有角膜组织,即移植片对生物体产生的反应较小,具有良好的生物稳定性;实验眼角膜在术后14d后逐渐恢复透明,水肿程度逐渐减轻,新生血管生长至角膜缘后未加重,术眼未出现眼内感染即上皮、内皮排斥线等排斥反应;到实验期末,实验眼角膜透明度、水肿程度恢复情况与正常眼角膜差别不大,即该种角膜移植片在实验观察期间可被机体所耐受。组织病理检测结果显示,实验眼角膜于术后14d即可形成1~2层扁平状鳞状角膜上皮细胞覆盖角膜移植片,此后植片表面的上皮细胞继续增殖,形成正常角膜上皮的复层结构。此外,角膜移植术后14d,实验眼可见双层透镜间FS大部分被机体吸收,术后28d,双层透镜间FS完全被吸收,即FS可在角膜移植术后14~28d

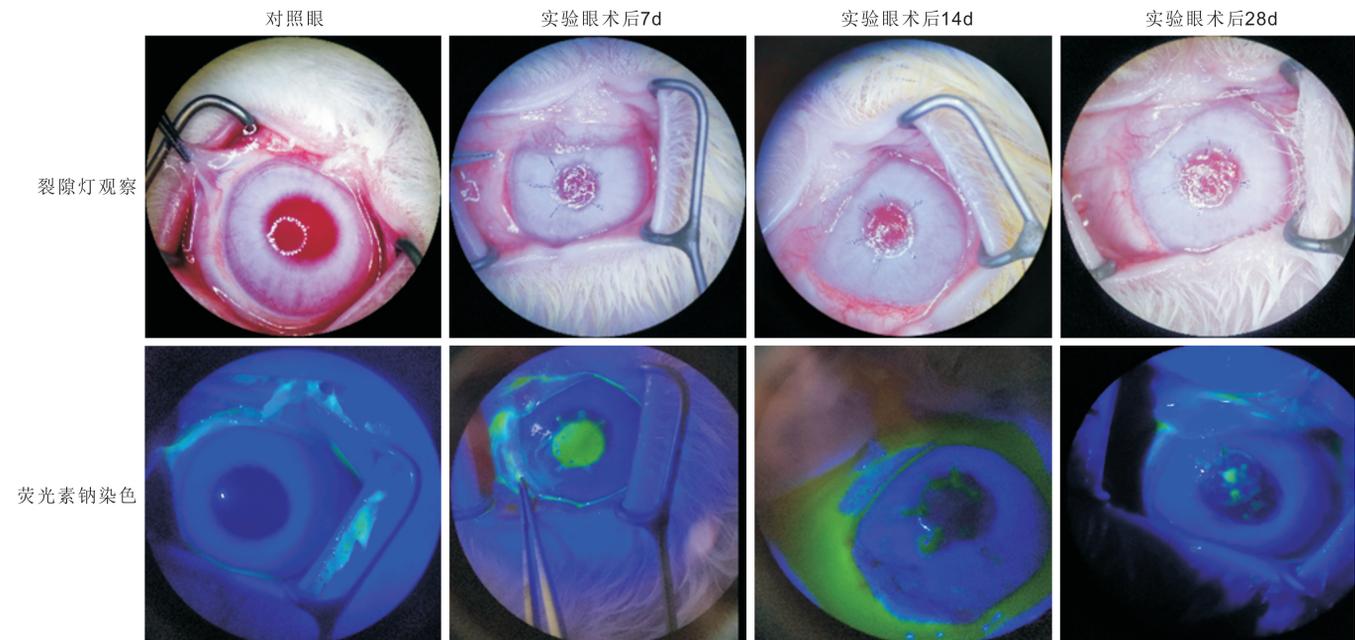


图2 裂隙灯下兔眼前节照相 实验眼角膜移植术后7d,结膜轻度充血,角膜植片欠透明,角膜植片中度水肿,角膜移植区上皮缺损,荧光素染色着色,有少许新生血管生长至角膜缘,但未达角膜移植片;实验眼角膜移植术后14d,结膜充血消退,角膜植片较前透明,角膜植片水肿减轻,角膜移植区上皮细胞基本覆盖移植材料,荧光素染色无着色,有少许新生血管生长,较前加重,新生血管生长至角膜缘,但未达角膜移植片;实验眼角膜移植术后28d,角膜植片基本恢复透明,角膜植片几乎无水腫,角膜上皮基本覆盖植片,新生血管未见加重。

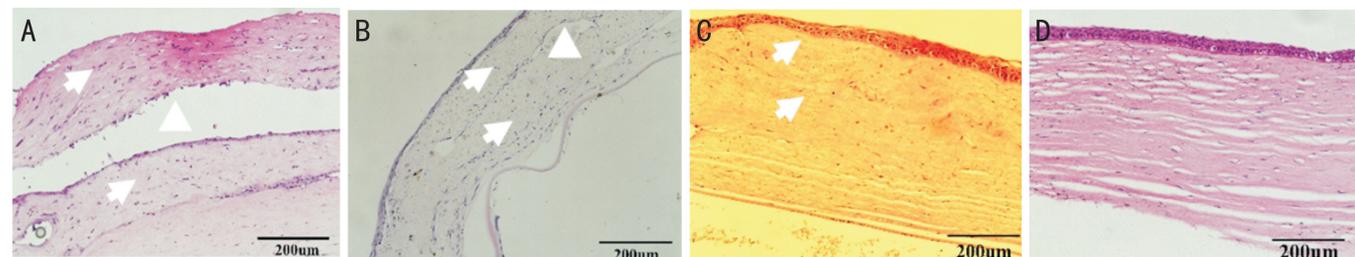


图3 兔角膜切片 HE 染色 A:实验眼角膜移植术后7d 全层角膜切片,角膜上皮未覆盖植片,角膜胶原纤维排列紊乱,植片内有少许中性粒细胞浸润,层间FS尚未吸收,植片与植床贴合良好;B:实验眼角膜移植术后14d 全层角膜切片,单层角膜上皮覆盖植片,角膜胶原纤维排列紊乱,植片内有少许中性粒细胞浸润,层间FS大部分吸收,植片与植床贴合;C:实验眼角膜移植术后28d 全层角膜切片,植片表面有2~3层角膜上皮细胞覆盖,角膜胶原排列整齐,规则,植片内未见中性粒细胞浸润,FS完全吸收,植片与植床融合;D:对照眼全层角膜切片。白色箭头示角膜基质透镜;白色三角示未被吸收的FS。

表1 生物相容性评分标准

| 评分 | 角膜透明度 | 角膜水肿程度 | 新生血管生长情况 |
|----|---------------|--------------------|-------------|
| 0分 | 完全透明 | 无水腫 | 角膜缘无新生血管 |
| 1分 | 轻度混浊,虹膜纹理清晰可见 | 轻度水肿,基质轻度增厚 | 新生血管长入角膜周边 |
| 2分 | 虹膜纹理模糊,但瞳孔可见 | 中度水肿,弥漫性基质水肿 | 新生血管长入植片边缘部 |
| 3分 | 混浊加重,瞳孔仍可识别 | 重度水肿,弥漫性基质水肿伴上皮小水泡 | 新生血管长入植片中周部 |
| 4分 | 完全混浊,前房看不清 | 大泡性角膜病变 | 新生血管长入植片中央 |

表2 双眼角膜移植术后生物相容性评分比较

[$M(P_{25}, P_{75})$, 分]

| 眼别 | 角膜透明度 | | | 角膜水肿程度 | | |
|-----|------------------|------------------|------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 术后7d | 术后14d | 术后28d | 术后7d | 术后14d | 术后28d |
| 实验眼 | 2.00(1.00,2.00)* | 1.00(1.00,2.00)* | 2.00(1.00,2.00)* | 1.00(1.00,2.00) [▲] | 1.50(0.75,2.00) [▲] | 1.00(0.50,1.50) [▲] |
| 对照眼 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 眼别 | 新生血管生长情况 | | | RI | | |
| | 术后7d | 术后14d | 术后28d | 术后7d | 术后14d | 术后28d |
| 实验眼 | 1.00(1.00,1.00) | 1.00(1.00,1.00) | 1.00(1.00,1.00) | 4.00(3.00,5.00) [△] | 4.00(2.00,5.00) [△] | 4.00(2.50,4.50) [△] |
| 对照眼 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注: *:角膜透明度评分<2.5分,表明实验眼术后角膜透明度较好;▲:角膜水肿程度评分<2分,表明实验眼术后角膜轻至中度水肿,植片对邻近角膜组织刺激反应较小;△:RI<6分,表明实验眼植片生物相容性良好。

被机体自行吸收。由此可见,本研究构建的角膜移植片具有良好的生物相容性,免疫原性低,术后恢复情况良好。但作为可替代角膜供体的角膜移植材料,除具有良好的生物相容性外,还必须具有足够的生物力学强度,并可以支持细胞在材料表面粘附、增殖和迁移^[15]。本研究发现,角膜移植术后 28d,实验眼角膜未出现凸出等形态改变,说明构建的角膜植片可承受一定程度的眼内压,具有一定的生物力学强度。角膜移植术后 7d,实验眼尚无角膜上皮细胞覆盖角膜移植片;术后 14d,已形成 1~2 层扁平状角膜鳞状上皮细胞覆盖植片;术后 28d,植片表面有 4~5 层角膜上皮细胞覆盖,上皮细胞结构与正常角膜上皮相似,由此可见,角膜上皮细胞可以在此种角膜移植片表面增殖、生长及迁移良好。上述结果表明,本研究所构建的角膜移植片应用于体内的安全性良好,具有低免疫原性,生物相容性良好,所使用的 FS 可被机体完全吸收,具有足够的生物力学强度,并可以支持细胞在材料表面粘附、增殖和迁移,适用于角膜损伤的修复,理论上可以作为角膜供体的替代物应用于小直径角膜溃疡穿孔及角膜皮样瘤的治疗。

既往本课题组对 FS 粘贴双层角膜基质透镜构建的角膜移植材料的保存条件进行了研究,将构建的角膜移植材料分别置于无水甘油、玻璃酸钠、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 及湿房环境中保存,观察保存后角膜移植材料的状态,结果显示置于甘油和湿房环境内的角膜移植材料稳定性较好;随后对使用甘油保存的温度条件进行研究,发现置于-20℃ 环境中的角膜移植材料状态较好,无变黄及卷曲^[16]。而本研究中采用-20℃ 无介质冷冻法对取出的角膜基质透镜进行保存,在使用时对单层角膜基质透镜进行复温复水后再进行粘贴,既降低了双层角膜基质透镜在复温复水的环节发生开裂的风险,又较易实现、操作简单,更易于临床应用;而且角膜基质透镜仅由胶原纤维及少量角膜基质细胞构成,无上皮细胞及内皮细胞成分,在无保存介质的条件下进行冻存对角膜基质透镜成分活性影响不大。

然而,本研究仍存在一些问题需要进一步研究:(1) 本研究仅对使用角膜移植材料进行板层角膜移植后 1mo 内角膜的恢复情况进行了观察,观察时间较短,仅能排除该种角膜移植材料的短期排斥风险,而无法排除该种角膜移植材料的长期排斥风险。既往研究发现,使用单纯双层角膜基质透镜为角膜溃疡患者进行治疗性板层角膜移植手术,术后角膜基质透镜会发生溶解现象,但本研究中尚未观察到角膜基质透镜的溶解现象,考虑角膜基质透镜的溶解可能是由于角膜溃疡疾病过程中释放的基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP),尤其是 MMP-1、MMP-9,导致角膜基质胶原纤维溶解。(2) 本研究采用空白对照眼与该种角膜移植材料行板层角膜移植的实验眼进行对照,仅检测了该种角膜移植材料对宿主角膜组织的

反应及宿主角膜组织对角膜移植材料的反应,即角膜移植材料的生物相容性,未与使用其他角膜移植材料进行板层角膜移植手术后的情况进行对比。(3) 本研究中构建的角膜移植材料成分仅为角膜基质,对于伴有双眼角膜缘干细胞缺乏的角膜病患者,自身角膜缘干细胞无法满足移植或体外扩增的需求,即使使用双层角膜基质透镜进行角膜移植也未必成功。我们将在下一步的实验研究中,对上述问题进行后续研究。

参考文献

- 1 高华, 陈秀念, 史伟云. 我国盲的患病率及主要致盲性疾病状况分析. 中华眼科杂志 2019; 55(8): 625-628
- 2 Annabi N, Yue K, Tamayol A, et al. Elastic sealants for surgical applications. *Eur J Pharm Biopharm* 2015; 95(Pt A): 27-39
- 3 Biedner B, Rosenthal G. Conjunctival closure in strabismus surgery: Vicryl versus fibrin glue. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996; 27(11): 967
- 4 Duarte MCB, Kim T. Sutureless lamellar keratoplasty: a modified approach for fibrin glue application. *Cornea* 2007; 26(9): 1127-1128
- 5 Jiang J, Yang YH, Zhang M, et al. Comparison of fibrin sealant and sutures for conjunctival autograft fixation in pterygium surgery: one-year follow-up. *Ophthalmologica* 2008; 222(2): 105-111
- 6 Katzin HM. Aqueous fibrin fixation of corneal transplants in the rabbit. *Arch Ophthalmol* 1946; 35: 415-420
- 7 Al Sabti K, Kumar N, Chow DR, et al. Management of optic disk pit-associated macular detachment with tisseel fibrin sealant. *Retin Cases Brief Rep* 2008; 2(4): 274-277
- 8 Balakrishnan D, Mukundaprasad V, Jalali S, et al. A comparative study on surgical outcomes of glued intraocular lens and sutured scleral fixated intraocular lens implantation. *Semin Ophthalmol* 2018; 33(4): 576-580
- 9 Blumenkranz MS, Ohana E, Shaikh S, et al. Adjuvant methods in macular hole surgery: intraoperative plasma - thrombin mixture and postoperative fluid-gas exchange. *Ophthalmic Surg Lasers* 2001; 32(3): 198-207
- 10 Tyagi M, Basu S. Glue-assisted retinopexy for rhegmatogenous retinal detachments (GuARD): a novel surgical technique for closing retinal breaks. *Indian J Ophthalmol* 2019; 67(5): 677-680
- 11 Wang Q, Zhao J, Xu Q, et al. Intraocular application of fibrin glue as an adjunct to pars Plana vitrectomy for rhegmatogenous retinal detachment. *Retina* 2020; 40(4): 718-724
- 12 叶青, 蒋林志, 陈文琳, 等. 纤维蛋白粘合剂与人角膜成纤维细胞的生物相容性. 中华实验眼科杂志 2021; 39(2): 113-118
- 13 Holland EJ, Chan CC, Wetzig RP, et al. Clinical and immunohistologic studies of corneal rejection in the rat penetrating keratoplasty model. *Cornea* 1991; 10(5): 374-380
- 14 韩倩倩, 李青, 王宝全, 等. 角膜修复材料有效性评价动物模型的建立和验证. 中国组织工程研究 2017; 21(34): 5499-5505
- 15 Ruberti JW, Zieske JD. Prelude to corneal tissue engineering - Gaining control of collagen organization. *Prog Retin Eye Res* 2008; 27(5): 549-577
- 16 叶青, Ackbarkhan Zacharia, 纪佳月, 等. Smile 来源的角膜基质透镜构建组织工程角膜基质支架的实验研究. 国际眼科杂志 2020; 20(4): 594-598