

# 地塞米松对大鼠角膜酸烧伤疗效初探

何凯文<sup>1</sup>, 黄焱<sup>1</sup>, 王婷婷<sup>2</sup>, 张鹏<sup>1</sup>, 董芮甫<sup>1</sup>, 车荧霞<sup>1</sup>, 丁慧珍<sup>1</sup>

基金项目:2012年国家级大学生创新创业训练计划项目(No. 201210392025);福建省自然科学基金项目(No. 2011J01190)  
作者单位:<sup>1</sup>(350004)中国福建省福州市,福建医科大学;  
<sup>2</sup>(350004)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院眼科  
作者简介:何凯文,在读本科。  
通讯作者:黄焱,毕业于山东大学,眼科学博士,教授,研究方向:眼科学基础与临床。1396088823@139.com  
收稿日期:2013-11-12 修回日期:2014-01-26

## Preliminary study of dexamethasone's curative effect of acid burns on rat cornea

Kai-Wen He<sup>1</sup>, Yan Huang<sup>1</sup>, Ting-Ting Wang<sup>2</sup>, Peng Zhang<sup>1</sup>, Rui-Fu Dong<sup>1</sup>, Ying-Xia Che<sup>1</sup>, Hui-Zhen Ding<sup>1</sup>

**Foundation items:** 2012 National Training Programs of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates (No. 201210392025); Natural Science Foundation of Fujian Province, China (No. 2011J01190)

<sup>1</sup>Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China

**Correspondence to:** Yan Huang. Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China. 1396088823@139.com  
Received: 2013-11-12 Accepted: 2014-01-26

## Abstract

• **AIM:** To research the curative effect of dexamethasone on rat cornea acid burn at different periods.

• **METHODS:** The 40 corneal acid burned eyes of the 40 SD rats were divided into 4 groups with each group of 10 eyes randomly. I, II, III groups were treated with dexamethasone (1mg/mL) eye drops at three periods after the corneal burns (acute stage, 0-3d; early repair, 3-7d; late repair, 7-21d); the IV group is treated without dexamethasone. The injured eyes were photographed and dynamically observed with slit lamp microscope, and the histological changes were scrutinized with HE staining.

• **RESULTS:** Eventually, the cornea repairing situation from good to bad is: III, I, IV, II. After acid burned, corneal epithelial healing and angiogenesis area were different, the comparison between the experimental groups and control group was statistically significant ( $P < 0.01$ ).

• **CONCLUSION:** After acid burned, curative effects are different with using dexamethasone at different periods. Active effects were produced after using dexamethasone in the acute stage and the late stage. However, using

dexamethasone in the early stage may hinder the repairing of cornea, or even dissolve the cornea.

• **KEYWORDS:** cornea; acid burn; dexamethasone; curative effect

**Citation:** He KW, Huang Y, Wang TT, et al. Preliminary study of dexamethasone's curative effect of acid burns on rat cornea. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(3):416-418

## 摘要

**目的:**探讨不同时期使用地塞米松对大鼠角膜酸烧伤的疗效。

**方法:**40只SD大鼠的40只角膜酸烧伤眼按随机数字法分成4组,每组10只,其中I, II, III组为治疗组,分别于角膜烧伤后0~3, 3~7, 7~21d使用地塞米松滴眼;IV组为空白对照组。于烧伤后使用裂隙灯显微镜动态观察角膜上皮缺损直径、角膜新生血管及角膜基质混浊程度并照相,并取角膜行HE染色观察角膜各层组织的形态学变化。

**结果:**最终角膜修复优良情况依次为III组, I组, IV组, II组;酸烧伤后各组角膜上皮愈合速度和新生血管面积不同,不同时期的实验组与对照组间的比较有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**结论:**在酸烧伤后不同时期使用地塞米松,疗效存在差异。在急性期和修复晚期使用地塞米松能够促进角膜的修复,在修复早期使用地塞米松则会阻碍角膜的修复甚至可促使角膜溶解。

**关键词:**角膜;酸烧伤;地塞米松;疗效

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2014.03.09

**引用:**何凯文,黄焱,王婷婷,等.地塞米松对大鼠角膜酸烧伤疗效初探.国际眼科杂志2014;14(3):416-418

## 0 引言

角膜位于眼球最前部,呈透明状,无血管,是眼球屈光系统的主要组成部分,因此,角膜透明是保证正常视功能所必不可少的条件。引起角膜透明度下降的眼病很多,其中化学烧伤是临床常见原因之一。致眼损伤的化学物质大约有10余大类,主要分为酸和碱类化学物质,可导致持续性角膜上皮缺损、角膜溃疡甚至穿孔、内皮细胞失代偿以及晚期的角膜纤维血管膜等,是常见的致盲原因<sup>[1]</sup>。碱烧伤对眼组织的损伤目前研究较多,而酸烧伤对眼组织的损伤研究报道较少,对于酸烧伤后角膜的组织病理学变化及目前临床上常规治疗的最佳时机尚未见系统的研究。为此,本实验通过建立大鼠角膜酸烧伤模型,设置多组对照,于不同时期对其使用激素治疗,观察其修复的进展过程,并初步探讨最佳的用药时期及其机制。

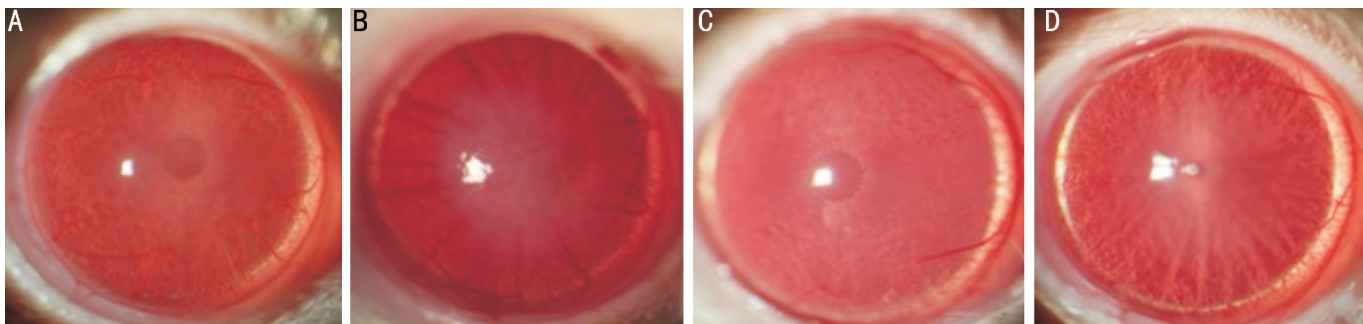


图1 裂隙灯显微镜第28d照相 A:I组;B:II组;C:III组;D:IV组。

## 1 材料和方法

**1.1 实验模型分组** SD大鼠40只,鼠龄10~12wk,体重220~250g,雌雄各半,共40只眼。固定大鼠于操作台后用水合氯醛(100g/0.3mL)腹腔注射麻醉,取直径为2mm的单层滤纸圆片,浸入到25%的硫酸中10s,于干燥滤纸上1s蘸去多余的酸液,均匀贴在右眼角膜中央表面,保持60s后,立即移开滤纸片,迅速用生理盐水连续冲洗5min,彻底清除结膜囊尤其是穹隆部及角膜表面的残留异物,然后于右眼使用阿托品散瞳,结膜囊内使用抗生素预防感染,以此建立角膜酸烧伤模型<sup>[2]</sup>。按随机数字法分为4组,每组10只眼,分别使用地塞米松滴眼液(1mg/mL)滴眼治疗:(1)I组:(急性期,0~3d)使用;(2)II组:(修复早期,3~7d)使用;(3)III组:(修复晚期,7~21d)使用;(4)IV组:不使用地塞米松滴眼液。滴药频率为:每只眼每天2次,每次1滴。

## 1.2 方法

**1.2.1 裂隙灯显微镜下活体观察** 分别于建模后立即、3、7、14、21、28d行裂隙灯显微镜观察角膜上皮缺损直径及角膜基质混浊程度并照相,并以荧光素钠眼科测试纸行角膜染色。

**1.2.2 计算机图像** 采用Image.Pro plus 6.0图像处理软件在每只眼球照片上随机选取1/4角膜扇形面,分别测定角膜扇形面积及其中新生血管的面积,然后计算新生血管面积与角膜面积的比例,各组每个时相点计算10只眼球,求其平均值。

**1.2.3 组织病理学观察** 分别于裂隙灯观察的各时相点,随机取大鼠用颈椎脱臼法处死老鼠,迅速摘除右眼球,放入10g/L福尔马林溶液中固定,1d后取出,常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片HE染色,光镜下观察角膜各层组织的形态学变化和白细胞渗出情况。每张切片在高倍镜下( $\times 400$ )随机选取角膜中央、旁中央(两侧)及角膜缘(两侧)共5个视野拍照。

统计学分析:对各组角膜上皮缺损直径和新生血管面积,采用SPSS 18.0统计软件独立样本 $t$ 检验的方法进行统计学分析,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 裂隙灯显微镜观察** 角膜酸烧伤后各组即见角膜中央出现一与滤纸片相同直径,边界清晰的灰白色混浊区,虹膜纹理窥不清;I组:第3d,角膜荧光染色可见上皮缺损面缩小,角膜缘见新生血管生长,角膜灰白色混浊。第7d,上皮愈合,角膜轻度水肿、混浊,新生血管稍多。第14d,角膜水肿消退,轻度混浊,虹膜可见,新生血管减少。第28d(图1A),新生血管消退,角膜光滑,混浊区虹膜可见。

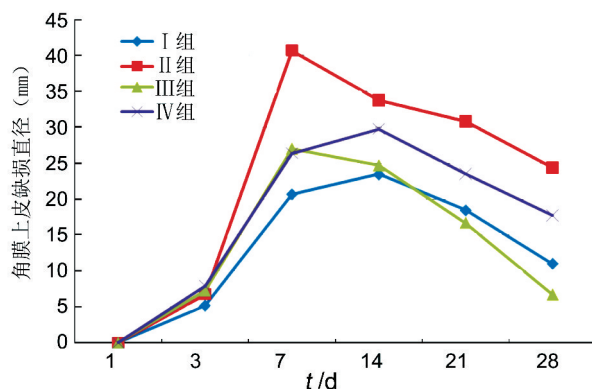


图2 角膜烧伤后上皮缺损直径。

II组:第3d,角膜荧光染色可见上皮缺损面缩小,角膜缘见较多新生血管,角膜灰白色混浊。第7d,荧光染色可见角膜面溃疡明显,约1/3角膜厚度,角膜明显水肿、混浊,可见大量新生血管。第14d,荧光染色角膜面可见点状溃疡。角膜轻度水肿,混浊,虹膜可见,新生血管减少。第28d(图1B),角膜光滑,混浊区可透见虹膜,纹理窥不清,新生血管稍少。III组:第3d,角膜荧光染色可见上皮缺损面缩小,角膜缘见较多新生血管,角膜灰白色混浊。第7d,上皮愈合,角膜轻度水肿、混浊,新生血管增多。第14d,角膜水肿消退,轻度混浊,虹膜纹理可见,新生血管较少。第28d(图1C),角膜光滑,混浊基本消失,虹膜纹理清晰可见。IV组:第3d,角膜上皮缺损面缩小,角膜缘见新生血管生长。第7d,溃疡面减小,角膜轻度水肿、混浊,新生血管继续向角膜中央生长。第14d,上皮愈合,角膜水肿消退,轻度混浊,虹膜可见,新生血管减少。第28d(图1D),混浊区虹膜可见,新生血管少量,纤细,不充血。

**2.2 角膜上皮缺损直径及新生血管面积与角膜面积比例的统计分析** 角膜上皮缺损直径统计数据(图2)独立样本 $t$ 检验分析显示:急性期I组与IV组间差异有统计学意义( $t = -10.752, P < 0.01$ );修复早期II组与IV组间差异有统计学意义( $t = 36.232, P < 0.01$ )。新生血管面积与角膜面积比例的统计数据(图3)独立样本 $t$ 检验分析显示:在急性期I组与IV组间的差异有统计学意义( $t = -4.557, P < 0.01$ );在修复早期II组与IV组间的差异有统计学意义( $t = 11.161, P < 0.01$ );在修复晚期III组与IV组间的差异有统计学意义( $t = -6.760, P < 0.01$ )。

**2.3 组织病理学观察** 第28d角膜组织病理学观察:I组:角膜上皮细胞5~6层,偶见角膜上皮损伤(图4A)基质层成纤维细胞数量较少,未见白细胞,胶原排列整齐、致密。II组:角膜上皮轻度水肿(图4B),角膜基质层可见较



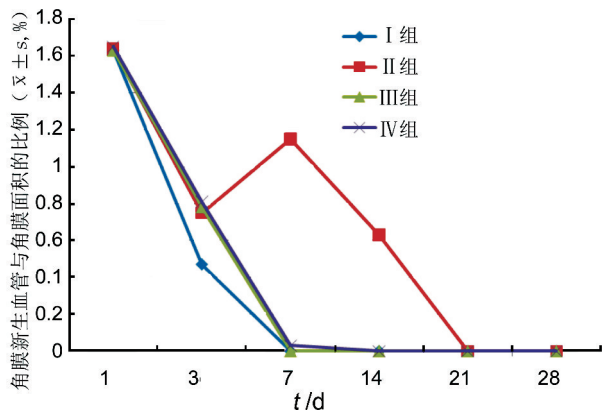


图3 新生血管面积与角膜面积的比例。

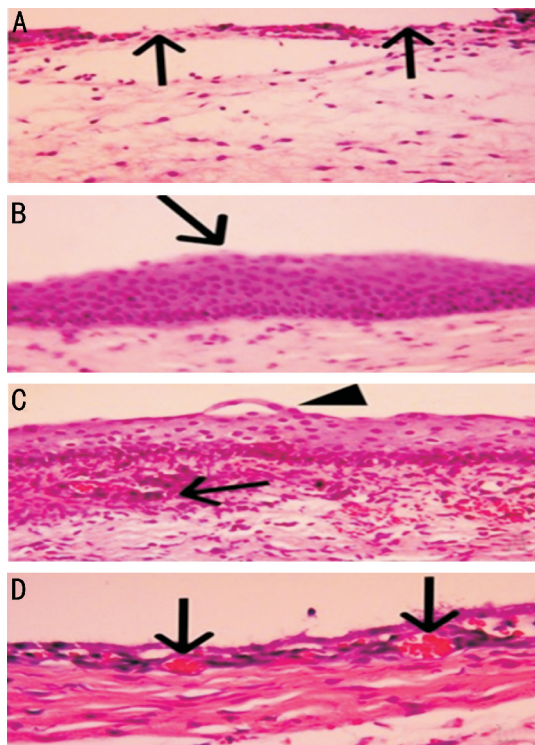


图4 第28d角膜组织病理学观察 A:I组角膜上皮损伤(箭); B:II组角膜上皮水肿(箭); C:II组角膜基质层白细胞浸润(箭),角膜上皮水肿,形成上皮大泡(箭头); D:II组角膜新生血管(箭)。

多成纤维细胞和少量白细胞(图4C),少量新生血管(图4D),基质胶原结构排列趋于整齐。III组:角膜上皮细胞5~6层,基质层成纤维细胞数量减少,未见白细胞,胶原排列整齐、致密。IV组:角膜上皮细胞5~6层,基质层成纤维细胞数量少,胶原排列整齐、致密,白细胞、新生血管偶见。

### 3 讨论

由于化学烧伤对眼组织损伤严重,临床疗效往往不尽如人意,因此角膜化学烧伤的损伤机制及修复研究已成为眼表基础和临床研究的重点和难点。角膜的化学伤主要包括碱烧伤和酸烧伤,酸溶于水,不溶于脂肪,高浓度的酸性物质与眼表组织接触可使组织中蛋白质凝固、变性,造成眼表基质层腐蚀性损伤,高浓度酸烧伤可破坏全层眼表组织导致眼球毁灭性损伤。本实验采用角膜低浓度酸烧伤模型<sup>[2]</sup>,低浓度的酸性物质与眼表接触不易破坏眼表上皮的脂溶性屏障而造成深层损伤,在去除酸性致害物质后,组织的直接损伤不再扩展,损伤深度较易控制,本实验

大鼠烧伤在裂隙灯下观察,均为Hughes分度法的II~III级<sup>[3]</sup>:角膜透明度下降,基质混浊,虹膜纹理隐约可见。

角膜化学烧伤后的病理变化可分为三期:急性期、修复早期和修复晚期<sup>[3]</sup>。研究表明,化学烧伤后角膜基质中多形核白细胞的浸润会影响角膜的修复,尽管炎性细胞浸润可起到清除和灭活有毒物质的作用,是机体自身保护的重要环节,对角膜创伤的愈合有利,但炎性细胞产物往往会特异性地造成组织的破坏,多形核白细胞能释放胶原酶,溶解胶原纤维,使溃疡进一步恶化,故大量白细胞的浸润是导致无菌性溃疡及穿孔的主要原因之一<sup>[4]</sup>。地塞米松的抗炎作用之一就是抑制多形核白细胞的浸润,从而减少胶原酶的释放,阻止角膜溃疡及穿孔的发生。因此在急性期使用地塞米松治疗,可以减轻炎症渗出及多形核白细胞浸润,减少眼组织损伤,故本实验中I组大鼠的角膜修复后遗留的瘢痕面积较小。

无论是在黏附分子变化方面还是在角膜蛋白甚至基因合成方面,角膜酸烧伤均轻于碱烧伤,溃疡发生率低,炎性介质和各种蛋白酶分泌少<sup>[5]</sup>,临床上角膜酸烧伤的早期治疗提倡1wk内局部或全身应用激素<sup>[6]</sup>,主要有阻止溃疡发展,促进基质胶原合成及上皮再生,减少新生血管生长等作用。但是具体的给药时间和药量,临床还颇具争议,本实验通过制作低浓度角膜酸烧伤模型,设计不同时期使用激素组相比较的方法,观察在角膜酸烧伤后不同时期使用激素对其疗效的影响。本实验结果显示,I组和III组的小鼠角膜修复的效果比II组的好,提示:在急性期和在修复晚期使用激素对角膜修复起促进作用,在修复早期使用激素对角膜的修复起抑制作用甚至加重角膜组织的损伤。在修复早期,角膜组织中胶原酶合成处于高峰期,基质溃疡和穿孔发生的可能性极大,加之地塞米松有激活胶原酶的作用,因此,此时应用激素会增加角膜胶原纤维的破坏,增加角膜穿孔的危险性。故II组大鼠的角膜在修复早期溃疡明显,修复后遗留的瘢痕和混浊程度都较其他组明显。所以此期应该停止使用地塞米松治疗。当达到修复晚期后,此时胶原酶活动高峰已进入低峰值,使用激素则无损伤作用,且根据糖皮质激素的药理作用,此时局部使用糖皮质激素治疗,可以促进角膜组织的修复,减轻瘢痕组织的形成程度,抑制角膜新生血管的形成,减少眼球粘连等并发症的发生,故III组大鼠角膜的修复效果最好。

综上所述,在不同时期使用地塞米松对角膜酸烧伤的修复过程及其预后有明显差异。在急性期和修复晚期使用激素能够降低炎症对角膜的损伤,促进组织的修复,减少瘢痕的形成。修复早期是角膜溶解的高峰期,激素能加速角膜的溶解,故此期应停止使用激素治疗。

### 参考文献

- 1 Jahovic N, Guzel E, Arbak S, et al. The healing-promoting effect of saliva on skin burn is mediated by epidermal growth factor (EGF): role of the neutrophils. *Burns* 2007;30(6):531-538
- 2 王红,谢汉平,殷旭,等.角膜酸烧伤后新生血管形成与上皮缺损和白细胞渗出关系的初步研究. *第三军医大学学报* 2005;27(8):764-766
- 3 葛坚. *眼科学*. 第2版. 北京:人民卫生出版社 2011:443-444
- 4 房城伯,陈逊,杨永坚,等.准分子激光术后角膜、房水中SOD、MDA的变化. *眼科研究* 2003;21(4):341-344
- 5 李雪,徐锦堂,崔浩,等.大鼠角膜碱、酸、热烧伤后房水中TGF- $\beta$ 2的变化研究. *国际眼科杂志* 2008;8(9):1819-1822
- 6 崔浩,王宁利. *眼科学*. 北京:北京大学医学出版社 2009:188