

临床前毒理学研究中恒河猴眼球一致性制片方法的建立

杨艳伟, 林志, 屈哲, 张頔, 李双星, 陈旭林, 高苏涛, 张勇, 柳风丽, 耿兴超, 霍桂桃*

中国食品药品检定研究院 国家药物安全评价监测中心, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176

摘要: **目的** 建立临床前毒理学研究中能充分涵盖正常恒河猴眼球解剖组织学结构和恒河猴眼球实施异种角膜内皮植片移植后包含角膜及异种角膜内皮植片的一致性组织制片方法。**方法** 成年恒河猴 10 只为对照组, 10 只为模型组, 模型组右眼实施异种角膜内皮植片移植手术。动物剖检时, 摘取眼球, 采用 Davidson's 液固定。左侧正常眼球: 在平行于颞侧睫状后长动脉及视神经上方 1 mm 处, 使用取材刀片沿视神经、黄斑 (中心凹) 与角膜作一切面, 切片经常规脱水、包埋、切片、染色后进行镜检。右侧眼球: 从睫状体后方切取角膜及虹膜, 摘除晶状体, 然后使角膜面向上, 间隔 2.5 mm 切取角膜及虹膜, 将切取的组织以切面向下按顺序放入分格包埋盒中, 剩余眼球组织再切 3 个横切面并放入包埋盒, 然后组织经脱水、包埋、切片和 HE 染色及 Masson 染色, 最后对正常眼球、角膜及异种角膜内皮植片的解剖及组织学结构特点进行确认。**结果** 所制备的正常眼球切片可清晰显示眼球所有组织结构, 染色鲜艳, 眼球形态真实。实施异种角膜内皮植片移植后, 眼角膜及异种角膜内皮植片结构清晰, 且能良好地展示异种角膜内皮植片与角膜的贴合状态。所制备的组织切片表面平整, 未见人工假象。**结论** 通过自主建立的制片方法, 可获得包含所有眼球组织结构特征的正常眼球切片, 以及包含完整角膜、异种角膜内皮植片及眼球其他组织的良好切片。所建立的眼球制片方法简单易行, 并且一致性较高, 可用于临床前毒理学研究中眼部用药及实施异种角膜内皮植片移植后眼部的病理学评价。

关键词: 恒河猴; 眼球; 一致性制片; 异种角膜内皮植片; 角膜; 临床前毒理学

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 09-2026-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.09.009

Establishment of consistent section preparation method in Rhesus monkey eyeball for preclinical toxicology research

YANG Yanwei, LIN Zhi, QU Zhe, ZHANG Di, LI Shuangxing, CHEN Xulin, GAO Suta, ZHANG Yong, LIU Fengli, GENG Xingchao, HUO Guitao

Beijing Key Laboratory for Safety Evaluation of Drugs, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China

Abstract: Objective To establish a consistent section preparation method that can fully cover anatomical and histological structures of normal eyes, and cornea and xeno-corneal endothelium grafts after implementing xeno-corneal grafts transplantation in Rhesus monkey for preclinical toxicology research. **Methods** There were ten adult rhesus monkeys in control group and ten adult rhesus monkeys in model group. Xenogenic corneal endothelial graft was performed on the right eye of the model group. Normal eyes and eyes that underwent xenograft transplantation of xeno-corneal endothelial grafts were sampled and fixed with Davidson's fluid. Normal eyes: Use a slicing blade to make a section along the optic nerve, the macula (fovea centralis), and the cornea at a distance of 1mm parallel to the temporal posterior long ciliary artery (LPCA) and above the optic nerve. The samples were routinely dehydrated, embedded, sectioned and stained before undergoing microscopic observation. Eyes that underwent xenograft transplantation of the xeno-corneal endothelial grafts: Cut the cornea and iris from behind the ciliary body, remove the lens, and then cut the corneal and iris with the corneal facing upwards at an interval of 2.5 mm. Sampling surface of the tissue were placed downward and sequentially into a grid embedding box. Three transverse plane sections of the remaining ocular tissues were cut and placed in an embedding box. After dehydration and embedding, the wax block was sectioned and stained with HE and Masson, respectively. Finally, the

收稿日期: 2024-03-13

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2018ZX09201-017)

第一作者: 杨艳伟, 男, 硕士, 副主任技师, 研究方向为临床前药物安全性评价。E-mail: yangyanwei@nifdc.org.cn

*通信作者: 霍桂桃, 女, 博士, 主任药师, 研究方向为临床前药物安全性评价。E-mail: huoguitao@nifdc.org.cn

anatomical and histological characteristics of the normal eyes, the cornea, and the xeno-corneal endothelial grafts were confirmed. **Results** The prepared eyes sections can clearly display all tissue structures of the normal eyes, with bright staining and realistic morphology. After implementation of the xeno-corneal endothelial grafts transplantation, the structures of the cornea and the xeno-corneal endothelial grafts were clear, and the adhesion between the xeno-corneal endothelium and the cornea can be well displayed. The surface of the prepared tissue sections was flat and no artificial artifacts were observed. **Conclusion** By using a self-developed preparation method, we can obtain good eye section containing all structural features of the normal eye tissues, intact cornea and xeno-corneal endothelial grafts, and the other eye tissues. The method is easy, and has high consistency. It can be used for histopathological examination of ocular medication and pathological evaluation of the eyes after performing xeno-corneal endothelial grafts transplantation. We hoped that the section preparation method presented in this study will provide technical support for scientific assessment of the safety and efficacy of preclinical ophthalmic drugs/xeno-corneal endothelial grafts transplantation.

Key words: Rhesus monkey; eyeball; consistent section preparation method; xeno-corneal endothelial grafts; corneal; preclinical toxicology

恒河猴是临床前毒理学研究中常用的非人灵长类动物,其眼球在解剖学和生理学方面与人眼球最为相似,包括黄斑的存在。与其他物种相比,恒河猴与人类的序列同源性更高^[1],并且其眼球组织病理学评价是临床前毒理学研究的重要组成部分,也是进行眼部疾病发病机制研究,以及临床前异种角膜内皮植片安全性评价的首选物种。近年来,随着多种异种角膜移植技术的发展,如后弹力层剥除角膜内皮移植术(DSEK)及后弹力层撕除自动角膜板层刀技术(DSAEK)等,使得异种角膜内皮植片移植(主要是将猪角膜内皮植片异种移植至恒河猴眼球)的研究逐渐增多^[2]。恒河猴移植异种角膜内皮植片的眼球各组成部分的病理学改变,以及异种角膜内皮植片的状态对异种角膜内皮植片临床应用的安全性及有效性具有重要的参考意义。

恒河猴眼球的外观近似于球体,其表层的巩膜是一层坚韧致密的结缔组织,内层视网膜比较柔软,并且容易剥离。恒河猴眼球的腔内由较硬的晶体和透明胶样物质组成的玻璃体充填。由于构成眼球各层的成分不同,因而眼球各组成部分质地的软硬程度也不一样。基于以上特点,眼球在制片过程中极易产生变形、凹陷、视网膜剥离等人为改变,因此眼球切片标本的制作不同于常规组织病理标本的制作。目前,国内外尚未见有关于恒河猴在实施异种角膜内皮植片移植后眼球病理制片方法的文献报道,而且有关指导病理制片技术人员在实施角膜内皮植片移植后进行眼球制片的参考文献也少见。因此,制备一致性、高质量病理切片是进行恒河猴眼球角膜及异种角膜内皮植片,以及眼球其他组织病理学评价的前提。

为获得满足需求的高质量病理切片,本课题组通过不断摸索和反复尝试,从固定、取材、包埋、切片、染色等方面对恒河猴眼球制片的各个环节进行研究,总结出良好的包括所有眼球组织结构特征的正常眼球制片方法,以及包含异种角膜内皮植片的全角膜病理切片制备方法。本研究将为临床前毒理学研究中恒河猴眼球组织病理学评价提供技术支持,实现对大型实验动物眼球实施异种角膜内皮植片移植后的一致性制片,并促进毒性病理学家对实施异种角膜内皮移植后的眼球相关病理改变的诊断及评价。

1 材料和方法

1.1 实验动物

3~5岁普通级恒河猴,购自雅安普莱美生物科技有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(川)2019-027。本实验由本单位实验动物管理及使用委员会批准(IACUC-2019-034),动物的使用符合3R原则。

1.2 主要试剂

Davidson's液:甲醛原液(37%~40%)、无水乙醇、冰醋酸、蒸馏水配制比例为0.2:3.5:1.0:5.3,HE染液(批号0213A23)及Masson三色染色液(批号0217A23)均购自于北京雷根生物技术有限公司;二甲苯(分析纯,批号20200107)、乙醇(分析纯,批号20200309)、甲醛(分析纯,批号20200221)、冰醋酸(分析纯,批号20200324),购自国药集团化学试剂有限公司;10%中性缓冲福尔马林固定液现配现用。

1.3 主要仪器

Tissue-Tek VIP6 全封闭组织脱水机、徕卡HistoCore Arcadia 全自动组织包埋机、徕卡

HistoCore 全自动轮转式切片机、樱花 Tissue-Tek Prisma Plus 全自动染色机、樱花 Tissue-Tek Film 全自动封片机、滨松 NanoZoomer S60 数字切片扫描仪、图片采集软件 NDP.view2.7.39。

2 方法

2.1 解剖、固定及取材

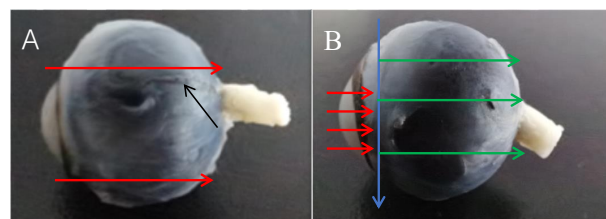
2.1.1 解剖及眼球摘取 恒河猴(10只为对照组,10只为模型组,模型组右眼进行实施异种角膜内皮植片移植手术)经静脉注射 $35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 硫喷妥钠进行麻醉,然后从其外侧股动脉放血处死。操作时用镊子夹住上眼睑,再用眼科剪沿眼球基部切开球结膜,贴近眼球并剪断双侧眼球的眼直肌,再剪断视神经(尽量留长)后取出眼球,剔除眼球上眼睑、泪腺、脂肪、眼外肌肉等组织。

2.1.2 固定 先使用记号笔在眼球12点方向标注位置以区分上下,随后从左侧及右侧眼球视神经后方分别切取约5 mm视神经并放入10%中性缓冲福尔马林固定液中固定。然后将左右眼球分别放入盛有Davidson's液的标本瓶中固定48 h,再分别将左侧及右侧眼球转入70%乙醇中继续固定24 h后进行取材^[3]。固定液总体积与眼球的体积比约为20:1。

2.1.3 取材 左侧眼球(正常眼球):以肉眼可见眼球睫状后长动脉(LPCA)做定位标志后对眼球进行取材。先旋转眼球,在平行于颞侧的LPCA及视神经上方1 mm处,使用取材刀片沿视神经、黄斑(中心凹)与角膜作一切面;同时在已切下的眼球壁顶端开一个小孔(目的是在使用石蜡包埋时将眼球内的空气完全排出),组织切面向下放入加厚包埋盒中。包埋的眼球组织包括角膜、虹膜、结膜、视网膜、脉络膜、黄斑(中心凹)、睫状体、晶状体、视神经(图1-A)。右侧眼球:从右侧眼球睫状体后方切取角膜及虹膜,摘除晶状体,使角膜面向上,间隔2.5 mm切取角膜及虹膜,切面向下按顺序放入分格包埋盒中。剩余眼球组织再做3个横切面,第一切面为眼球上1/3处,第2切面为平行于颞侧的LPCA及视神经上方1 mm处,沿视神经、黄斑(中心凹)与角膜作一切面,第3切面为眼球下1/3处(图1-B)。

2.2 组织处理、切片及染色

2.2.1 组织脱水、透明及包埋 取材后以常温流水冲洗30 min,然后按照本实验室常规脱水程序进行脱水、透明及浸蜡,即70%乙醇1.5 h 2次,80%乙醇1.5 h 2次,95%乙醇1.5 h 2次,100%乙醇1 h 2次,二甲苯0.5 h 2次,石蜡1 h 3次(温度 $56\sim 58\text{ }^{\circ}\text{C}$),然



A-左侧眼球(正常眼球):切片刀平行于颞侧睫状后长动脉(LPCA)(黑色箭头)及视神经上方1 mm处(红色箭头),沿视神经、黄斑(中心凹)与角膜作一切面,在所切取的眼球壁顶端开一个小孔; B-右侧眼球(实施异种角膜内皮植片移植手术)完整角膜切片示意图:从虹膜后方切取角膜及虹膜(蓝色箭头),将含角膜部分的眼球组织面向上,然后每隔2.5 mm切取角膜及虹膜(红色箭头);切取眼球组织再做3个切面(绿色箭头)。

A-Left eye (normal eye): The slicing blade is parallel to the long posterior ciliary artery (LPCA) in the temporal side (black arrow) and 1 mm above the optic nerve (red arrow), along all sides of the optic nerve, macula (fovea) and cornea, and a small hole is cut in the top of the ophthalmic wall; B-Whole corneal section of the right eye (underwent xenograft transplantation of the xeno-corneal endothelial grafts): Cut the cornea and iris from behind the iris (blue arrow), turn the eye tissue containing the cornea upward, and cut the cornea and iris every 2.5 mm (red arrow); Cut the eyeball tissue and make 3 sections (green arrows).

图1 正常眼球及眼球全角膜切片示意图

Fig. 1 Schematic diagram of normal eyes and entire corneal section of eyes

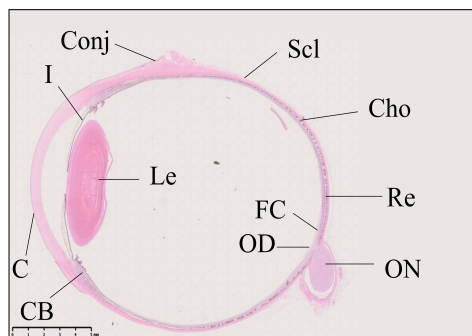
后进行包埋。

2.2.2 切片、展片及烤片 包埋好的组织经徕卡HistoCore全自动轮转式切片机切片。为制作一致性及高质量切片,切片时需先对组织进行粗修,在切到被包埋组织时,在 $150\sim 200\text{ }\mu\text{m}$ 的距离内取5~10张厚 $3\sim 5\text{ }\mu\text{m}$ 的连续切片。对于有黄斑(中心凹)、视盘的包埋块则粗修至肉眼可见黄斑(中心凹)及视盘处,切取3~5张厚约 $3\sim 5\text{ }\mu\text{m}$ 的连续切片。展片水温 $39\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$,烤片温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

染色:挑选2张无褶皱、气泡及刀痕的切片,其中1张进行常规HE染色,1张进行Masson染色。Masson三色染色方法如下:①将切好的石蜡切片以二甲苯浸泡3次,每次6 min;②无水乙醇浸泡5 min,95%、80%、70%乙醇分别浸泡2 min,蒸馏水冲洗1 min;③Weigert铁苏木素染色10 min,酸性乙醇分化液分化2~3 s后水洗;④Masson蓝化液返蓝5 min后蒸馏水冲洗1 min;⑤丽春红品红染色液染色8 min;⑥磷钼酸溶液清洗1 min;⑦苯胺蓝染色液染色2 min;⑧乙醇脱水二甲苯透明。樱花 Tissue-Tek Film 全自动封片机封片。

3 结果

左侧正常眼球切面(图2)可清晰显示所有眼球组织结构,即角膜、虹膜、结膜、视网膜、脉络膜、黄

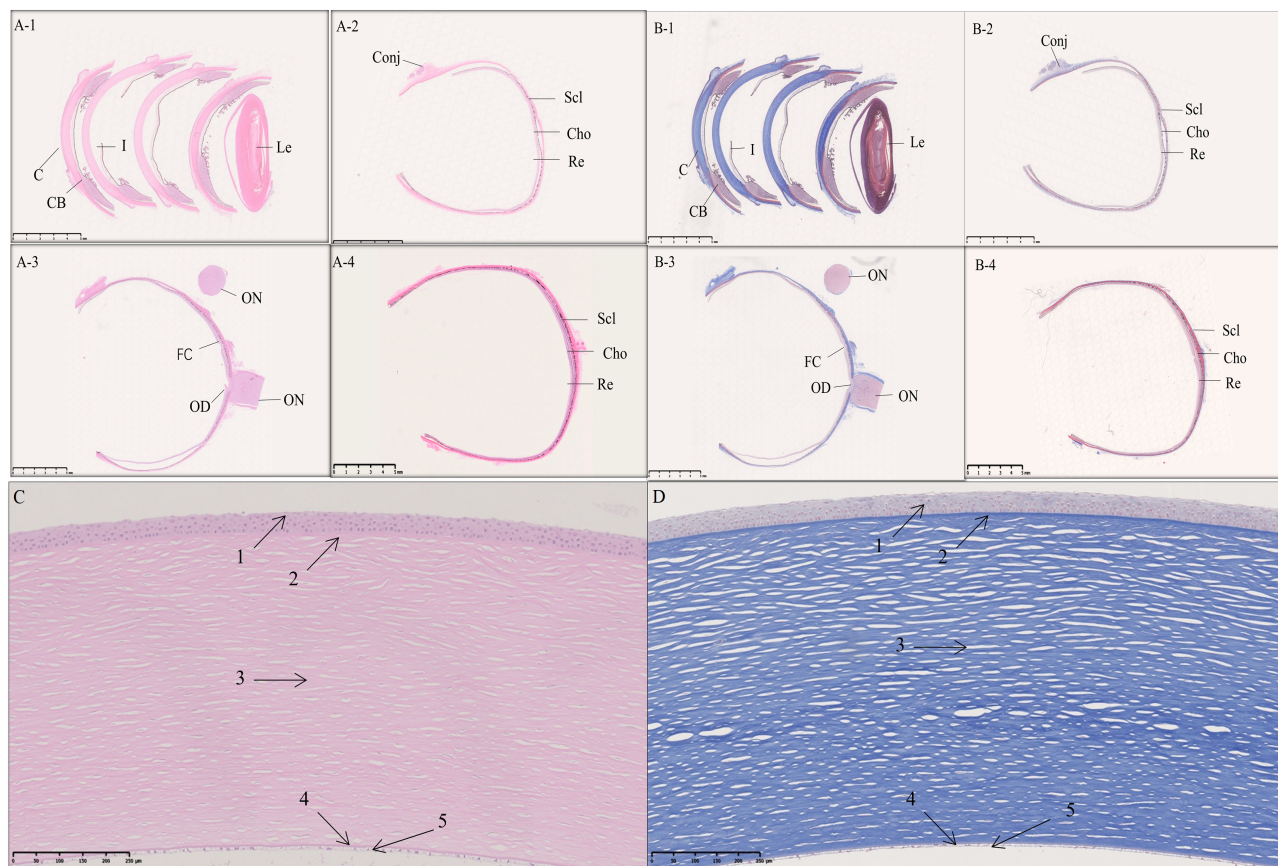


ON-视神经;Re-视网膜;Cho-脉络膜;Scl-巩膜;OD-视盘;FC-黄斑(中心凹);Conj-结膜;Le-晶状体;CB-睫状体;C-角膜;I-虹膜。
ON-optic nerve; Re-retina; Cho-choroid; Scl-sclera; OD-optic disc;
FC-macula (fovea centralis); Conj-uncitival conjunctiva; Le-lens;
CB-ciliary body; C-cornea; I-Iris.

图2 恒河猴正常眼球HE染色切片($\times 5$)

Fig. 2 HE staining section of normal eyes of rhesus monkey ($\times 5$)

斑(中心凹)、视盘、睫状体、晶状体、视神经。右侧正常眼球各切片图见图3、4,可清晰显示所有眼球组织结构和视盘及黄斑的10层组织结构,包括内界膜、神经纤维层、神经节细胞层、内丛状层、内核层、外丛状层、外核层、外界膜、视杆、视锥层、色素上皮层。黄斑(中心凹)处视网膜内层结构(内界膜、神经纤维层、神经节细胞层、内丛状层、内核层)缺如,仅含外层结构。图3-C、D展示了本研究中对照组恒河猴右侧眼角膜的正常结构(HE及Masson染色),包括上皮细胞层、前界层、角膜基质、后界层、内皮细胞层。如图5所示,实施异种角膜内皮植片移植后,角膜结构基本正常,异种角膜内皮植片(红色箭头区域)与角膜贴合较好,异种角膜植片的基质较角膜的致密,无新生血管、水肿及炎症细胞浸润。由此可见,本研究探索建立的制备正常眼球及

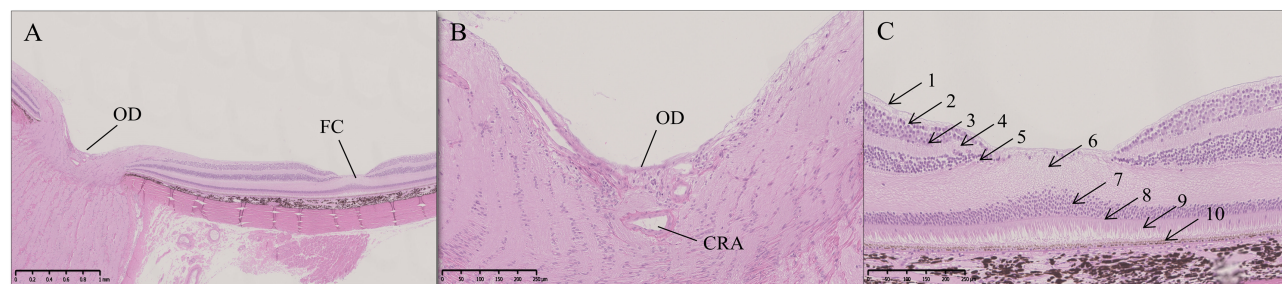


A-1-正常眼球全角膜切片结果(HE染色, $\times 5$);A-2~A-4:正常眼球(除角膜外)其余组织切片结果(HE染色, $\times 5$);B-1-全角膜切片Masson染色结果($\times 5$);B-2~B-4:正常眼球(除角膜外)其余组织切片Masson染色结果($\times 5$);C-角膜正常结构(HE染色, $\times 100$);D-角膜正常结构(Masson染色, $\times 100$);ON-视神经;Re-视网膜;Cho-脉络膜;Scl-巩膜;Conj-结膜;Le-晶状体;CB-睫状体;C-角膜;I-虹膜;OD-视盘;FC-视黄斑(中心凹);1-上皮细胞层;2-前界层;3-角膜基质;4-后界层;5-内皮细胞层。

A-1-results of whole cornea section of normal eyeball (HE staining, $\times 5$); A-2~A-4: results of normal eye (excluding cornea) tissue sections (HE staining, $\times 5$); B-1- Masson staining results of whole corneal sections ($\times 5$); B-2~B-4: Masson staining results of normal eyeball (excluding cornea) tissue sections ($\times 5$); C-normal corneal structure (HE staining, $\times 100$); D-normal corneal structure (Masson staining, $\times 100$); ON-optic nerve; Re-retina; Cho-choroid; Scl-sclera; Conj-uncitival conjunctiva; Le-lens; CB-ciliary body; C-cornea; I-Iris; OD-optic disc; FC-macula (fovea centralis); 1-epithelial cell layer; 2-front boundary layer; 3-corneal stroma; 4-rear boundary layer; 5-endothelial cell layer.

图3 恒河猴眼球全角膜及眼球组织切片图

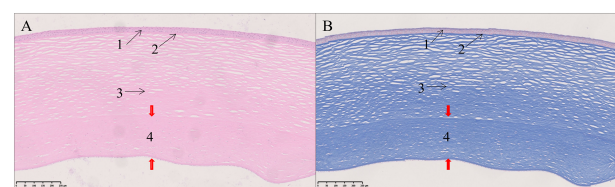
Fig. 3 Section images of entire cornea and eye tissue of of rhesus monkey



A-视盘(HE染色, 30×); B为A的放大图(HE染色, 150×); C-视黄斑(HE染色, 150×); OD-视盘; FC-视黄斑(中心凹); CRA-中央动脉; 1-内界膜; 2-神经纤维层; 3-神经节细胞层; 4-内丛状层; 5-内核层; 6-外丛状层; 7-外核层; 8-外界膜; 9-视杆及视锥层; 10-色素上皮层。
A-optic disc (HE staining, 30×); B is an enlarged view of A (stained with HE, 150×); C - Visual macula (HE staining, 150); OD-optic disc; FC-macula (fovea centralis); CRA-central artery; 1-inner boundary membrane; 2-nerve fiber layer; 3-layer of ganglion cells; 4-intrinsic layer; 5-kernel layer; 6-external plexiform layer; 7-outer nuclear layer; 8-external membrane; 9-rod and cone layer; 10- pigment epithelium layer.

图4 正常眼球视盘及黄斑中心凹切片图

Fig. 4 Section images of optic disc and fovea centralis of normal eyes



A-HE染色, ×100; B-Masson染色, ×100; 1-上皮细胞层; 2-前界层; 3-角膜基质; 4-异种角膜内皮植。
A-HE staining, ×100; B-Masson staining, ×100; 1-epithelial cell layer; 2-front boundary layer; 3-corneal stroma; 4-xenogenic corneal endothelial transplantation.

图5 异种角膜内皮植片移植后的组织形态学表现

Fig. 5 Morphological changes of cornea after performing xeno-corneal endothelial grafts transplantation

实施异种角膜内皮植片移植眼球的切片制片方法不但较易切出完整的全眼球切片,而且镜下观察眼球各层结构完整,未见眼球各组织卷折发生,视网膜各层细胞均排列整齐,染色鲜艳,眼球形态真实,而且眼球的结膜、角膜、虹膜、视网膜、脉络膜、黄斑(中心凹)、视盘、睫状体、晶状体、视神经等组织结构清晰,能完整展现异种角膜内皮植片,切片表面平整,并且染色对比鲜明。

4 讨论

临床上一般最先检查病人眼底的视盘和黄斑,二者的形态大小、边缘凹陷及隆起等特征颇受注意^[4],常见的病理改变包括:视盘水肿、视神经炎、视神经发育不良、视盘凹陷、视乳头炎、视盘缺血、肿瘤、黑色素细胞瘤等。黄斑(中心凹)的视锥细胞密度最高^[5],中心凹处视觉最敏感也最精确。然而视网膜中黄斑的结构和生理特点与视网膜其他部位又有所不同,因而是一些疾病特定的发病部位,如特发性黄斑前膜、黄斑裂孔、年龄相关性黄斑变性等^[4]。因此在评价人眼部用药的临床前研究中也会相应地关注实验动物眼球视盘及黄斑的变化。临

床前一般毒理学研究中较大型动物的眼球通常在固定后进行取材。对于非人灵长类动物,应将眼睛沿着水平面修剪^[2],以便对黄斑(中心凹)及视盘进行组织病理学检查。黄斑(中心凹)可以通过在视神经的颞(侧)睫状后长动脉及视盘进行定位,由于黄斑(中心凹)直径只有0.3~0.4 mm,因此取材时需要使用墨水标记以帮助识别解剖标志及眼球12点钟的位置。实施异种角膜内皮植片移植的恒河猴眼球需要尽可能多地评价角膜组织及视网膜,因为异种角膜内皮植片的直径一般为5~6 mm,并且存在错位或脱落等情况,因此取材全角膜最好间隔2.5 mm。对于进行异种角膜植片移植的恒河猴眼球因免疫排斥反应所产生的病变主要是异种角膜内皮组织植片新生血管形成、炎症细胞浸润及水肿。当免疫排斥反应较强时,可能引起眼球其他部位的形态学改变,如睫状体炎症细胞浸润、晶状体纤维变性、晶状体上皮细胞变性、角膜基质上皮细胞囊肿、角膜上皮变薄、角膜上皮细胞增生、脉络膜血管扩张、巩膜上皮细胞变性、角膜与虹膜粘连等其他病变,因此通常也需要多个切面来评估视网膜和视神经的组织病理学改变。

对于正常眼球或实施异种角膜内皮植片移植的眼球角膜,所切取的多段角膜组织最好采用定位包埋,即使用分格包埋盒将角膜按照取材先后顺序依次放入,包埋过程中要保证角膜组织切面向下。切片时粗切应避免切取到过厚的组织切片,尤其是包埋块中得组织含有黄斑(中心凹)区域。

推荐采用Davidson's液进行眼球固定,但是Davidson's液中的乙醇可致视神经形成空泡,导致人工假象,所以摘取眼球时,要先摘取一段视神经浸入10%中性缓冲福尔马林固定液中进行固定,然

后进行横截面取材制片^[6]。评估眼球的标准染色方法是HE染色。Masson染色是能够良好地显示角膜组织中纤维结构的主要方法之一,对于实施异种角膜内皮植片移植的眼球组织使用Masson染色可以更好地辅助检查及评价。天狼星红染色也通常用于组织病理学中胶原纤维的染色,其也能很好地用于眼球组织的辅助性检查及评价。天狼星红染料呈强酸性,易与胶原分子中的碱性基团结合。由于本单位使用Davidson's液固定眼球组织,其主要成分含冰醋酸,因此有可能造成天狼星红染色效果降低,故而采用Masson染色。

在眼毒性研究中,特定的眼科毒性研究可能需要不同的制片方法,这取决于不同种属动物、给药途径、受试物性质(水溶液、黏性植入剂、缓释胶囊、干细胞、视网膜下医疗器械)等^[7]。有时还需要评估眼球以及周围结构,包括上眼睑和下眼睑、神经膜、泪腺、视神经,以及邻近脂肪组织及肌肉等。

本研究所建立的眼球切片方法也有一定的局限性。首先部分眼球由于手术原因造成眼球凹陷,凹陷的眼球很难在LPCA上侧沿视神经、黄斑(中心凹)与角膜作一切面。对实施异种角膜内皮植片移植后的眼球取材时需要将晶状体单独取出,也容易造成虹膜与睫状体的人工假象,这要求实验人员具有较高的技术水平,需要通过反复练习达到制备高质量、一致性眼球切片。

眼球的一致性、高质量切片是临床前毒理学研究中对视觉系统进行组织病理学评估的前提和基础,良好的制片方法决定了组织病理学诊断的准确性和可靠性。通过建立的眼球制片方法所制备的眼球全切片及全角膜切片,不仅能完整涵盖眼球所有解剖结构特征,而且可以充分评价角膜及异种角膜内皮植片部位的病变,这为临床前药物安全性评价中异种角膜内皮植片移植后的科学、可靠的组织病理学评估提供了有力支持。非临床毒理学研究中受试物所产生的不良反应或风险评价数据中大约75%的数据来自病理学检查(包括临床病理学、大体病理学和组织病理学)^[8-9],而组织病理学检查是判断受试物毒性或不良反应的“金标准”,因而病理学检查结果和病理学报告的解释对非临床安全性评价至关重要。希望建立的正常眼球及实施异

种角膜内皮植片移植后眼球全角膜制片方法能为进一步促进眼部病理学评估的规范化和标准化、眼部用药毒性研究、角膜移植及异种角膜内皮植片移植眼球的科学评价提供充分有力的组织学证据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Short B. Safety evaluation of ocular drug delivery formulations: techniques and practical considerations [J]. J Toxicol Pathol, 2008, 36(1): 49-62.
- [2] Durrani A F, Faith S C, Jhanji V. Ultrathin Descemet stripping automated endothelial keratoplasty [J]. Curr Opin Ophthalmol, 2019, 30 (4): 264-270.
- [3] Latendresse J R, Warbritton A R, Jonassen H, et al. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: Comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid [J]. Toxicol Pathol, 2002, 30(4): 524-533.
- [4] 刘祖国, 颜建华. 眼科临床解剖学(第二版) [M]. 山东科学技术出版社, 2020.
Liu Z G, Yan J H. *Clinical anatomy of ophthalmology (2nd Edition)* [M]. Shangdong Science and Technology Press, 2020.
- [5] Colman K, Andrews R N, Atkins H, et al. Non-proliferative and proliferative lesions of the non-human primate (*M. fascicularis*) [J]. J Toxicol Pathol, 2021, 34 (3): 111-112.
- [6] Bolon B, Garman R H, Pardo I D, et al. STP position paper: Recommended practices for sampling and processing the nervous system (brain, spinal cord, nerve, and eye) during nonclinical general toxicity studies [J]. J Toxicol Pathol, 2013, 41(7): 1028-1048.
- [7] Ramos M F, Baker J, Atzpodi EA, et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the Rat and mouse special sense organs (ocular [eye and glands], olfactory and otic) [J]. J Toxicol Pathol, 2018, 31 (3 Suppl): 97S-214S.
- [8] Kerlin R, Burkhardt B, Burkhardt J, et al. Recommended ("Best") practices for determining, communicating, and using adverse effect data from nonclinical studies [J]. J Toxicol Pathol, 2016, 44(2): 147-162.
- [9] Ramaiah L, Tomlinson L, Tripathi N K, et al. Principles for assessing adversity in toxicologic clinical pathology [J]. J Toxicol Pathol, 2017, 45(2): 260-266.

[责任编辑 兰新新]