

· 实验研究 ·

Ⅱ型胶原酶构建在体角膜扩张动物模型的可行性研究

乔静 李海丽 宋文静 汤韵 荣蓓 杨松霖 吴元 晏晓明

100034 北京大学第一医院眼科 视觉损伤与修复教育部重点实验室

通信作者:晏晓明, Email: yanxiaoming7908@163. com

DOI:10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 11. 006

【摘要】 背景 圆锥角膜以角膜中央或旁中央进行性变薄膨出、高度散光或角膜瘢痕为临床特征,其发病机制和防治是研究热点,但目前尚无公认的圆锥角膜动物模型建立方法。圆锥角膜的解剖病理基础是角膜扩张,探讨角膜扩张的圆锥角膜动物模型的建立方法有助于对圆锥角膜的角膜生物力学变化进行研究。

目的 应用可视化角膜生物力学分析仪(Corvis ST)检测Ⅱ型胶原酶处理后角膜的生物力学性能,探讨利用Ⅱ型胶原酶构建在体角膜扩张模型的可行性。**方法** 选取健康新西兰白兔 10 只,刮除兔眼角膜上皮后,将直径为 8 mm 的角膜环钻置于右眼角膜中央,滴入 5 mg/ml Ⅱ型胶原酶(含质量分数 15% 右旋糖酐的 PBS 配制)溶液,浸泡角膜 30 min 制备角膜扩张模型,左眼以同样方法用含 15% 右旋糖酐的 PBS 浸泡角膜 30 min 作为对照。于造模前及造模后 14 d,采用手持电子角膜曲率计和手持角膜超声测厚仪分别测定角膜平均曲率(Km)及中央角膜厚度(CCT),造模后 14 d 采用 Corvis ST 行在体角膜生物力学参数测定,过量麻醉法处死实验兔并收集角膜组织行组织病理学及透射电子显微镜检查。**结果** 造模前,模型组和对照组兔 Km 值分别为(48.28±2.29)D 和(48.82±1.63)D, CCT 分别为(356.50±19.13)μm 和(356.20±21.66)μm,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。造模后 14 d,模型组兔眼 Km 增加至(48.87±2.27)D, CCT 减少至(340.40±19.84)μm,与对照组的(46.86±1.47)D 和(367.80±23.38)μm 比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。造模后 14 d,模型组兔角膜最大压陷深度平均值为(1.25±0.07)mm,明显大于对照组的(1.15±0.13)mm,差异有统计学意义($t=2.65, P<0.05$),2 个组间第 1/第 2 压平时间、第 1/第 2 压平角膜长度、第 1/第 2 压平速度、最大压陷曲率半径和最大压陷时两屈膝峰间距的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。角膜组织形态学和超微结构检查显示,与对照组比较,模型组兔角膜基质胶原纤维排列疏松、紊乱,纤维间隙增大。**结论** Ⅱ型胶原酶能降低角膜生物力学特性,可考虑用于建立动物角膜扩张模型。

【关键词】 生物力学;角膜/病理状态;Ⅱ型胶原酶;最大压陷深度;圆锥角膜;角膜扩张/化学诱导;兔;可视化角膜生物力学分析仪

基金项目: 国家自然科学基金项目(11372011);非线性力学国家重点实验室开放基金资助项目

Feasibility of constructing keratoconus animal model using collagenase type II Qiao Jing, Li Haili, Song Wenjing, Tang Yun, Rong Bei, Yang Songlin, Wu Yuan, Yan Xiaoming

Department of Ophthalmology, Peking University First Hospital, Key Laboratory of Vision Loss and Restoration, Ministry of Education, Beijing 100034, China

Corresponding author: Yan Xiaoming, Email: yanxiaoming7908@163. com

[Abstract] Background Keratoconus is a chronic and progressive non-inflammatory ectatic disorder characterized by corneal thinning and irregular corneal topography, and its pathogenesis is a hot topic. A suitable animal model of keratoconus is still lacking, which limits the progress of relevant research. Corneal ectasia is a main anatomical basis of keratoconus, so we assume that keratoconus model could be constructed by simulating corneal ectasia. **Objective** This study was to investigate the influence of collagenase type II on biomechanical responses detected by corneal visualization Scheimpflug technology (Corvis ST) and the feasibility of construction of rabbit model of corneal ectasia using collagenase type II. **Methods** This study protocol was approved by Ethic Committee of Peking University First Hospital and followed the Statement about experimental animal use and care from

Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO). Keratectasia models were established in 10 right eyes of 10 New Zealand white rabbits by soaking 8 mm-diameter central cornea using collagenase type II solution prepared by PBS solution containing 15% dextran (200 μ l of 5 mg/ml) for 30 minutes after epithelial debridement, and only 200 μ l PBS solution containing 15% dextran was used in the same way in the left eyes as controls. The average corneal curvature (Km) and central corneal thickness (CCT) were measured with hand-held electronic corneal curvature meter and corneal ultra-sonic pachymetry respectively before modeling and 14 days after modeling. Corneal biomechanical parameters and intraocular pressure were measured *in vivo* by using Corvis ST at day 14 after modeling. The rabbits were sacrificed at day 14 after modeling, and corneal sections were prepared for hematoxylin-eosin staining and transmission electron microscopic examination. **Results** There were no significant differences in Km and CCT between model group and control group before modeling (Km: $[48.28 \pm 2.29]^\circ$ D vs. $[48.82 \pm 1.63]^\circ$ D; CCT: $[356.50 \pm 19.13] \mu\text{m}$ vs. $[356.20 \pm 21.66] \mu\text{m}$; both at $P > 0.05$). The Km increased to $(48.87 \pm 2.27)^\circ$ D and CCT decreased to $(340.40 \pm 19.84) \mu\text{m}$ at day 14 after modeling, which were significantly different from $(46.86 \pm 1.47)^\circ$ D and $(367.80 \pm 23.38) \mu\text{m}$ (both at $P < 0.01$). The maximal deformation amplitude of model group and control group was $(1.25 \pm 0.07) \text{ mm}$ and $(1.15 \pm 0.13) \text{ mm}$, respectively, showing a considerable difference between them ($t = 2.65, P < 0.05$). No significant differences were found in applanation 1/2 time, applanation 1/2 length, applanation velocity, radius of curvature and peak distance between the two groups (all at $P > 0.05$). The morphology and ultrastructure examinations revealed that the arrangement of collagen fibers was loose and disorder and the interfiber space was enlarged in comparison with control group. **Conclusions** Collagenase type II can lower corneal biomechanical properties. Soaking of cornea with collagenase type II may be a potential way to establish a keratectasia animal model.

[Key words] Biomechanical properties; Cornea/pathology; Collagenase type II; Deformation amplitudes; Keratoconus; Keratectasia/chemical induced; Rabbits; Corneal visualization Scheimpflug technology

Fund program: National Natural Science Foundation of China (11372011); Non-Linear Mechanics National Key Laboratory Open Fund Funding Project

圆锥角膜是以角膜进行性变薄前凸并出现不规则散光和视力下降为临床特征的角膜扩张性疾病^[1],给患者造成严重的视力损害,是眼科研究的热点之一。圆锥角膜患者角膜变薄及角膜扩张可能与蛋白水解酶活性升高及其抑制成分下降所造成的角膜胶原降解过程异常有关^[2-3],这些异常的酶活性可引起角膜胶原纤维超微结构的改变^[4],进而导致角膜生物力学特性的改变,而生物力学强度的减弱是圆锥角膜发病的关键因素^[5-6]。圆锥角膜的动物模型是其发病机制及治疗方法研究的有用工具,建立可靠的圆锥角膜动物模型具有重要意义。研究证实,II型胶原酶具有非特异性胶原溶解作用^[7],可以水解I型、II型和III型胶原,而角膜基质主要由水和I型胶原组成。我们前期的研究发现,用II型胶原酶浸泡离体角膜可增加角膜曲率,可用于离体角膜扩张模型的制备^[8],而建立有效、合理的模型必须能够模拟圆锥角膜的角膜力学性能下降的特点,因此,进一步研究II型胶原酶对角膜生物力学特性的影响对于验证II型胶原酶构建角膜扩张模型的合理性是必要的。可视化角膜生物力学分析仪(Corvis ST)可在体测定角膜生物力学参数以动态量化评估角膜生物力学性能,目前已用于临床,其用于动物

实验有助于探讨圆锥角膜的病理机制和防治研究^[9]。本研究采用Corvis ST测量和比较II型胶原酶处理的角膜与正常角膜的生物力学改变,探讨II型胶原酶对兔角膜生物力学特征的影响,为建立在体角膜扩张模型提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 健康成年新西兰白兔10只,雌性,体质量3.0~3.5 kg,北京大学第一医院实验动物中心提供。所有实验动物眼部检查均未见异常。实验动物的使用和喂养遵循美国视觉与眼科学研究协会(Association for Research in Vision and Ophthalmology, ARVO)制定的实验动物使用规范。本实验获得北京大学第一医院伦理委员会批准(批文号:J201523)。

1.1.2 主要试剂及仪器 II型胶原酶(美国Worthington公司);右旋糖酐(美国Adamas公司);OCT冷冻包埋剂(日本Sakura公司);苏木素、伊红、中性树胶(北京中杉金桥生物技术有限公司)。手持电子角膜曲率计(天津索维公司);手持角膜超声测厚仪(美国Accutome公司);Corvis ST可视化角膜生物力

学分析仪(德国 Oculus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 角膜扩张模型的建立 实验兔右眼作为模型组,左眼为对照组。用质量分数 5% 戊巴比妥钠行兔耳缘静脉注射,剂量为 0.6 ml/kg,用盐酸奥布卡因滴眼液点右眼行角膜表面麻醉,每 5 min 点 1 次,共 3 次。用角膜上皮铲去除右眼中央 8.5 mm 范围内的角膜上皮组织,但应避免损伤上皮下基底膜,用手持裂隙灯显微镜观察角膜上皮刮除程度。将 5 mg/ml II 型胶原酶溶液 200 μ l 滴于直径 8 mm 的角膜环钻内,在 20 $^{\circ}$ C 室温下将角膜环钻固定在以瞳孔为中心的角膜表面,使 II 型胶原酶浸泡角膜 30 min。随后以棉签吸干角膜环钻内溶液,PBS 冲洗干净。操作完成后右眼涂左氧氟沙星眼膏,每天 2 次,连续 7 d。实验动物左眼采用含质量分数 15% 右旋糖酐的 PBS 浸泡角膜 30 min,其他操作同模型组。

1.2.2 兔眼角膜曲率及厚度的测定 在兔清醒状态下将其固定于兔盒内,用盐酸奥布卡因滴眼液行角膜表面麻醉后进行检查。分别于造模前及造模后 14 d 用手持角膜曲率计测量兔眼角膜曲率 [$Km = 1/2(K1 + K2)$],每眼重复测定 8 次,取平均值;采用手持角膜超声测厚仪测量兔双眼中央角膜厚度(central corneal thickness, CCT),每眼重复测量 6 次,取平均值。

1.2.3 Corvis ST 对角膜生物力学参数的测定 于造模后 14 d 采用 1.2.1 描述的方法对兔进行全身和角膜表面麻醉,将兔头部置于 Corvis ST 机器下颌托上,开睑器开睑,使角膜平面对准仪器测量头,对焦后机器会自动喷出气流,记录角膜形变过程中第 1/第 2 压平时间、第 1/第 2 压平角膜长度、第 1/第 2 压平速度、最大压陷深度、最大压陷曲率半径和最大压陷时两屈膝峰间距。在脉冲气流造成角膜压陷形变后,Corvis ST 利用 Scheimpflug 高速相机(4 330 张/s)可记录下中央角膜横截面的整个形变过程,Corvis ST 的 1 次采集时间为 31 ms,共可记录角膜形变过程中的 140 张图像。此外,Corvis ST 还可提供角膜厚度和眼压。

1.2.4 角膜组织病理学检查 造模后 14 d 行 Corvis ST 检查后采用过量麻醉法处死实验动物,迅速摘取双眼眼球,剪取中央 8 mm 直径的角膜,模型组选取 5 只角膜置于质量分数 4% 多聚甲醛溶液中固定,石蜡包埋,行 8 μ m 厚切片,苏木素-伊红染色,光学显微镜下观察角膜组织的形态学变化;模型组另 5 只角膜置于质量分数 2% 戊二醛溶液中固定,透射电子显微镜下观察角膜组织的超微结构改变。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用实验兔双侧眼造模前后比较研究设计,模型组与对照组造模前后 Km 和 CCT 的总体差异比较采用重复测量两因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验;造模后 14 d,模型组与对照组间第 1/第 2 压平时间、第 1/第 2 压平长度、第 1/第 2 压平速度、最大压陷曲率和最大压陷屈膝峰间距、最大压陷深度和眼压的差异比较均采用配对 *t* 检验。采用双尾检测法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模前后各组兔 Km 和 CCT 变化

模型组和对照组兔眼造模前后 Km 和 CCT 总体比较差异均有统计学意义(Km: $F_{\text{分组}} = 4.38, P = 0.04$; $F_{\text{时间}} = 2.36, P = 0.13$; $F_{\text{交互作用}} = 9.47, P = 0.00$; CCT: $F_{\text{分组}} = 4.310, P = 0.045$; $F_{\text{时间}} = 0.100, P = 0.750$; $F_{\text{交互作用}} = 4.500, P = 0.040$)。造模前,模型组与对照组间 Km 和 CCT 测量值的差异均无统计学意义($t = -1.65, P = 0.13$; $t = 0.05, P = 0.96$);模型组造模后 14 d 兔角膜 Km 值较造模前增加,CCT 值较造模前减少,对照组造模后 14 d 兔角膜 Km 值较造模前降低,CCT 值较造模前增加,差异均有统计学意义($P = 0.02, 0.00, 0.00, 0.02$);造模后 14 d,模型组与对照组间 Km 值和 CCT 值的差异均有统计学意义(均 $P = 0.00$)(表 1)。

表 1 2 个组兔造模前后 Km 值和 CCT 值的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	眼数	不同时间 Km(D)		不同时间 CCT(μ m)	
		造模前	造模后 14 d	造模前	造模后 14 d
模型组	10	48.28 $\pm$ 2.29	48.87 $\pm$ 2.27 ^{ac}	356.50 $\pm$ 19.13	340.40 $\pm$ 19.84 ^{bc}
对照组	10	48.82 $\pm$ 1.63	46.86 $\pm$ 1.47 ^b	356.20 $\pm$ 21.66	367.80 $\pm$ 23.38 ^a

注: Km: $F_{\text{分组}} = 4.38, P = 0.04$; $F_{\text{时间}} = 2.36, P = 0.13$; $F_{\text{交互作用}} = 9.47, P = 0.00$. CCT: $F_{\text{分组}} = 4.310, P = 0.045$; $F_{\text{时间}} = 0.100, P = 0.750$; $F_{\text{交互作用}} = 4.500, P = 0.040$. 与各自组内造模前比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与各自对照组比较, ^c $P < 0.01$ (重复测量两因素方差分析, LSD-*t* 检验) Km: 平均角膜曲率; CCT: 中央角膜厚度

2.2 造模后各组兔角膜生物力学参数的比较

造模后 14 d,模型组测定的角膜最大压陷深度值明显大于对照组,差异有统计学意义($t = 2.65, P = 0.02$),2 个组间第 1/第 2 压平时间、第 1/第 2 压平长度、第 1/第 2 压平速度、最大压陷曲率和最大压陷屈膝峰间距值均比较接近,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)(表 2)。造模后 14 d,模型组角膜眼压值为 9.5 ~ 18.5 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa),对照组为 7.0 ~ 18.0 mmHg,均未超过 21.0 mmHg,2 个组间平均眼压 pachy 值比较差异无统计学意义($P = 0.43$)(表 2)。

表 2 造模后 14 d 2 组兔角膜生物力学参数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	眼数	第 1 压平时间 (ms)	第 1 压平长度 (mm)	第 1 压平速度 (m/s)	第 2 压平时间 (ms)	第 2 压平长度 (mm)
模型组	10	7.20±1.03	1.69±0.10	0.17±0.03	21.45±0.98	1.57±0.50
对照组	10	7.00±0.26	1.66±0.14	0.16±0.03	21.53±0.45	1.52±0.38
<i>t</i> 值		-0.64	0.73	1.50	0.27	0.26
<i>P</i> 值		0.54	0.49	0.17	0.79	0.80
组别	眼数	第 2 压平速度 (m/s)	最大压陷曲率 (mm)	最大压陷屈膝峰间距 (mm)	最大压陷深度 (mm)	眼压 (mmHg)
模型组	10	0.43±0.08	3.86±0.35	3.74±1.16	1.25±0.07	12.63±3.29
对照组	10	0.40±0.12	3.70±0.55	3.78±1.29	1.15±0.13	11.24±3.79
<i>t</i> 值		0.92	-0.86	-0.08	2.65	0.83
<i>P</i> 值		0.38	0.41	0.94	0.02	0.43

(配对 *t* 检验)

2.3 各组兔角膜形态和超微结构改变

苏木素-伊红染色结果显示,造模后 14 d 模型组和对照组角膜各层组织结构完整,角膜各层细胞形态未发现异常,部分角膜组织因切片制作导致角膜内皮细胞缺失。兔角膜上皮为 5~6 层复层扁平上皮,提示刮除的角膜上皮恢复(图 1A)。与对照组相比,模型组兔角膜基质纤维排列疏松,胶原纤维间隙增大(图 1B)。透射电子显微镜下可见,与对照组相比,模型组兔角膜横切面基质纤维排列疏松,胶原纤维间隙增大,纵切面显示胶原纤维密度下降,纤维间隙增宽(图 2)。

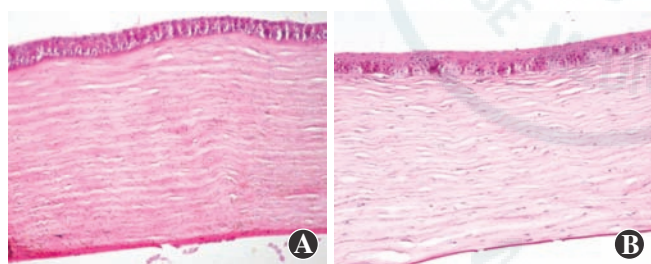


图 1 造模后 14 d 各组兔角膜形态学比较 (HE ×100) A: 对照组兔角膜上皮为 5~6 层复层扁平上皮,各层组织排列紧密,结构清晰 B: 模型组兔角膜上皮为 5~6 层复层扁平上皮,与对照组相比角膜基质胶原纤维排列疏松,胶原纤维间隙较宽

3 讨论

角膜是一种各向异性的非线性黏弹性生物组织,具有独特的生物力学特性,而胶原纤维、胶原纤维束及其空间结构是实现这种生物力学特性的组织学基础^[10],足够的生物力学强度有助于角膜抵抗眼压的波动以维持正常形态。因此在角膜组织的生理和病理变化过程中,生物力学因素起着非常重要的作用^[11-12],角膜的正常生理功能依赖于正常的生物力学作用来完成,而生物力学作用的改变往往会造成或加剧病理过程。

圆锥角膜是一种组织结构和/或组成成分异常造成的角膜扩张性疾病,其临床特征包括角膜基质变薄、

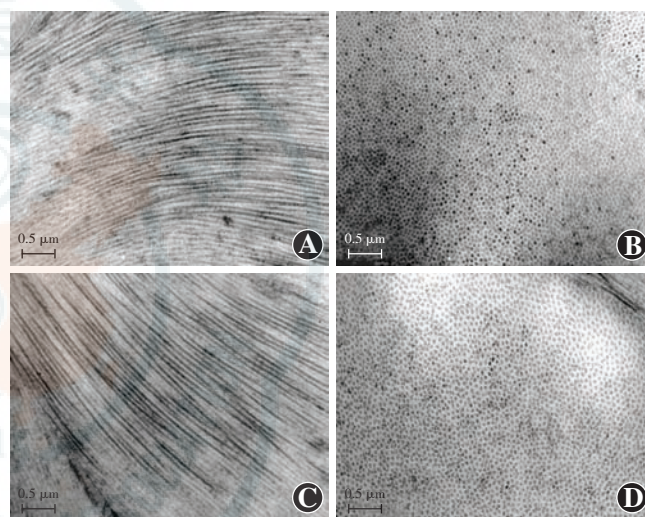


图 2 造模后 14 d 各组兔角膜基质透射电子显微镜下超微结构改变 (×40 000, 标尺=0.5 μm) A: 对照组兔角膜胶原纤维束横切面可见胶原纤维排列致密 B: 对照组兔角膜胶原纤维束纵切面可见胶原纤维密度较大 C: 模型组兔角膜胶原纤维束横切面可见胶原纤维较对照组排列疏松 D: 模型组兔角膜胶原纤维束纵切面可见胶原纤维密度较对照组低

角膜呈锥形扩张而引起不规则散光,严重影响患者视力^[13]。在圆锥角膜等角膜扩张性疾病中,角膜胶原结构发生改变,角膜纤维板层间发生滑脱,导致角膜生物力学特性下降^[5]。传统的评估角膜生物力学特性的参数主要包括应力-应变、弹性模量和滞后性等,我们前期的角膜离体实验发现,Ⅱ型胶原酶可增加离体兔眼 Km,同时角膜的应力-应变和弹性模量下降^[8]。为了在活体实验中验证上述结果,本研究对活体兔角膜进行研究发现经Ⅱ型胶原酶处理活体兔 Km 增加约 0.59 D, CCT 减少约 16.10 μm,这与圆锥角膜患者的临床特点相符。有文献指出,正常兔随着生长发育 Km 逐渐降低^[14-15],Angunawela 等^[16]发现 56 d 的研究周期中正常兔 Km 下降(1.9±1.0) D。本研究中发现对照组 Km 在兔生长 14 d 后下降了约 1.96 D,也就是说模型组 Km 在这 2 周中实际增加了约 2.50 D,证实

Ⅱ型胶原酶处理可增加在体兔的角膜曲率,但Ⅱ型胶原酶对在体兔角膜生物力学的影响是值得关注的问题。

基于 Scheimpflug 高速成像技术的 Corvis ST 可以获得一系列生物力学参数,可动态观察角膜形变过程,近年来已应用于圆锥角膜患者角膜生物力学特性变化的临床观察^[17]。这种技术通过脉冲气流引起角膜压陷形变,同时使用 Scheimpflug 高速相机记录下中央角膜横截面的整个形变过程,具有动态观察角膜形变过程的优势^[18]。本研究中利用 Corvis ST 测定并比较了正常和实验性角膜扩张模型兔眼角膜的生物力学特性,以观察Ⅱ型胶原酶处理对角膜生物力学特性的影响,发现模型组角膜最大压陷深度值大于对照组,而 2 个组间其他角膜生物力学参数的差异无统计学意义。有相关研究也发现圆锥角膜组和正常角膜组间角膜的最大压陷深度差异有统计学意义,且受试者工作特征曲线下面积分析显示,在所有生物力学参数中最大压陷深度对于圆锥角膜的诊断效率最高^[19-21]。与正常角膜相比,在相同的气压下,由于圆锥角膜的角膜基质变薄和胶原结构改变以及纤维板层数量减少等导致胶原在板层间滑动增加,更容易发生形变,即表现为更大的压陷深度。研究认为最大压陷深度是直接反应角膜生物力学的参数^[14]。

既往研究发现,眼压对于 Corvis ST 检查中最大压陷深度的测量具有较大影响,在正常人群和圆锥角膜患者中角膜最大压陷深度与眼压均呈负相关^[22-23],提示 Corvis ST 检查中角膜最大压陷深度同时受自身角膜生物力学特性和眼压的影响。本研究中发现,虽然模型组与对照组兔的眼压无明显差异,但模型组的最大压陷深度却明显大于对照组,说明Ⅱ型胶原酶处理可能会降低角膜生物力学特性。目前,关于其他角膜生物力学参数对圆锥角膜的影响尚有争议,Ali 等^[17]对圆锥角膜眼和年龄匹配者的正常对照眼进行比较,发现 2 个组的第 1/第 2 压平长度、第 1 压平速度、最大压陷屈膝峰间距等参数差异均无统计学意义。Ye 等^[24]对 12 例圆锥角膜患者和 12 名正常人经过年龄校正后比较发现,2 个组患者的第 1/第 2 压平长度、第 1/第 2 压平速度和最大压陷曲率半径等参数的比较差异均无统计学意义。田磊等^[23]研究发现,圆锥角膜组与正常角膜组第 1 压平长度、最大压陷时间和最大压陷屈膝峰间距参数的差异无统计学意义,而其他生物力学参数的差异均有统计学意义,上述研究结果的差异可能与不同研究纳入的研究对象样本量不同、年龄范围不同、圆锥角膜严重程度不同以及某些参数,如第 2 压平时间等的测定重复性较差有关^[17,23]。

本研究结果与有关文献报道的圆锥角膜 Corvis ST 的检测结果不完全相同^[20-24],考虑其差异可能与研究的角膜材料存在物种差异有关。兔角膜和人角膜之间组织结构、生物力学特性等方面存在一定的差异^[13,25],这可能会对 Corvis ST 的检测结果造成影响。然而,角膜最大压陷深度可以直接反映角膜生物力学特性,提示我们Ⅱ型胶原酶处理可降低角膜生物力学特性,这可能与Ⅱ型胶原酶溶解胶原、造成胶原结构改变有关,而本研究中角膜的组织形态学检查及超微结构检查结果也证实模型组较对照组兔角膜基质胶原纤维排列疏松,纤维间隙增大。

综上所述,本研究采用 Corvis ST 对Ⅱ型胶原酶处理的兔角膜和正常角膜的生物力学参数进行了在体检测,发现Ⅱ型胶原酶处理可导致角膜最大压陷深度增加,角膜基质胶原纤维排列疏松,纤维间隙增大,结合我们前期的离体角膜生物力学的研究结果,推测Ⅱ型胶原酶可以降低角膜的生物力学特性,可用于建立角膜扩张动物模型。但目前关于 Corvis ST 用于兔角膜生物力学检测的研究较少,进一步进行较大样本量的长期研究将有助于对Ⅱ型胶原酶建立角膜扩张动物模型长期效果进行评价。

参考文献

- [1] Rabinowitz YS. Keratoconus[J]. Surv Ophthalmol, 1998, 42(4): 297-319.
- [2] Sorkin N, Varssano D. Corneal collagen crosslinking: a systematic review[J]. Ophthalmologica, 2014, 232(1): 10-27. DOI: 10.1159/000357979.
- [3] Smith VA, Easty DL. Matrix metalloproteinase 2: involvement in keratoconus[J]. Eur J Ophthalmol, 2000, 10(3): 215-226.
- [4] Akhtar S, Almubrad T, Paladini I, et al. Keratoconus corneal architecture after riboflavin/ultraviolet A cross-linking: ultrastructural studies[J]. Mol Vis, 2013, 19: 1526-1537.
- [5] Ambekar R, Toussaint KC, Wagoner JA. The effect of keratoconus on the structural, mechanical, and optical properties of the cornea[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2011, 4(3): 223-236. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2010.09.014.
- [6] Johnson RD, Nguyen MT, Lee N, et al. Corneal biomechanical properties in normal, forme fruste keratoconus, and manifest keratoconus after statistical correction for potentially confounding factors[J]. Cornea, 2011, 30(5): 516-523. DOI: 10.1097/ICO.0b013e3181f0579e.
- [7] Barrett AJ, Knight CG, Brown MA, et al. A continuous fluorimetric assay for clostridial collagenase and Pz-peptidase activity[J]. Biochem J, 1989, 260(1): 259-263.
- [8] 乔静, 李海丽, 宋文静, 等. Ⅱ型胶原酶构建兔角膜离体扩张模型[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2016, 18(5): 275-279. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2016.05.005.
- [9] 陈开建, 阙秋霞, 白继, 等. Corvis 眼压测量及其与角膜生物力学特性的相关性[J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(2): 166-169. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.02.015.
- [10] Chen KJ, Kan QX, Bai J, et al. Corvis measurement of intraocular pressure and its relationship with corneal biomechanical properties[J].

- Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(2): 166-169. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 02. 015.
- [10] 宋文静, 晏晓明. 角膜基质结构与其力学特性的研究进展[J]. 国际眼科纵览, 2014, 38(6): 361-365. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-5803. 2014. 06. 001.
- Song WJ, Yan XM. Current advance in the research of structure and biomechanical properties of the corneal stroma [J]. Int Rev Ophthalmol, 2014, 38(6): 361-365. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-5803. 2014. 06. 001.
- [11] Müller LJ, Pels E, Schurmans LR, et al. A new three-dimensional model of the organization of proteoglycans and collagen fibrils in the human corneal stroma[J]. Exp Eye Res, 2004, 78(3): 493-501.
- [12] Bergmanson JP, Horne J, Doughty MJ, et al. Assessment of the number of lamellae in the central region of the normal human corneal stroma at the resolution of the transmission electron microscope[J]. Eye Contact Lens, 2005, 31(6): 281-287.
- [13] Chan CC, Squizzato V. Keratoconus and crosslinking: pharmacokinetic considerations[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2013, 9(12): 1613-1624. DOI: 10. 1517/17425255. 2013. 834886.
- [14] Kompa S, Ehlert E, Reim M, et al. Microbiopsy in healthy rabbit corneas. A long-term study[J]. Acta Ophthalmol Scand, 2000, 78(4): 411-415. DOI: 10. 1034/j. 1600-0420. 2000. 078004411. x.
- [15] Doughty MJ. The cornea and corneal endothelium in the aged rabbit [J]. Optom Vis Sci, 1994, 71(12): 809-818.
- [16] Angunawela RI, Riau AK, Chaurasia SS, et al. Refractive lenticule re-implantation after myopic ReLEx: a feasibility study of stromal restoration after refractive surgery in a rabbit model [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(8): 4975-4985. DOI: 10. 1167/iops. 12-10170.
- [17] Ali NQ, Patel DV, McGhee CN. Biomechanical responses of healthy and keratoconic corneas measured using a noncontact scheimpflug-based tonometer[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(6): 3651-3659. DOI: 10. 1167/iops. 13-13715.
- [18] 窦瑞, 王雁, 李华. 单纯近视患者 Corvis ST 测定的角膜形变参数与角膜形态学参数的相关性[J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(9): 829-836. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 09. 012.
- Dou R, Wang Y, Li H. Correlations between the deformation parameters measured by Corvis ST and corneal morphology parameters in myopic patients[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(9): 829-836. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 09. 012.
- [19] Hon Y, Lam AK. Corneal deformation measurement using Scheimpflug noncontact tonometry [J/OL]. Optom Vis Sci, 2013, 90(1): e1-8 [2016-11-01]. http://journals.lww.com/optvissci/fulltext/2013/01000/Corneal_Deformation_Measureme_Using_Scheimpflug. 17.aspx. DOI: 10. 1097/OPX. 0b013e318279eb87.
- [20] Leung CK, Ye C, Weinreb RN. An ultra-high-speed Scheimpflug camera for evaluation of corneal deformation response and its impact on IOP measurement [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(4): 2885-2892. DOI: 10. 1167/iops. 12-11563.
- [21] Wang LK, Tian L, Zheng YP. Determining *in vivo* elasticity and viscosity with dynamic Scheimpflug imaging analysis in keratoconic and healthy eyes[J]. J Biophotonics, 2016, 9(5): 454-463. DOI: 10. 1002/jbio. 201500245.
- [22] Huseynova T, Waring GO, Roberts C, et al. Corneal biomechanics as a function of intraocular pressure and pachymetry by dynamic infrared signal and Scheimpflug imaging analysis in normal eyes[J]. Am J Ophthalmol, 2014, 157(4): 885-893. DOI: 10. 1016/j. ajo. 2013. 12. 024.
- [23] 田磊, 王丽强, 孟晓丽, 等. 应用可视化角膜生物力学分析仪评估不同阶段圆锥角膜生物力学特征[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2014, 16(5): 268-273. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-845X. 2014. 05. 003.
- Tian L, Wang LQ, Meng XL, et al. Assessment of corneal biomechanical properties using corneal visualization Scheimpflug technology at different stages of keratoconus[J]. Chin J Optom Ophthalmol Vis Sci, 2014, 16(5): 268-273. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-845X. 2014. 05. 003.
- [24] Ye C, Yu M, Lai G, et al. Variability of corneal deformation response in normal and keratoconic eyes [J/OL]. Optom Vis Sci, 2015, 92(7): e149-153 [2016-10-28]. http://journals.lww.com/optvissci/fulltext/2015/07000/Variability_of_Corneal_Deformati_Response_in. 16.aspx. DOI: 10. 1097/OPX. 0000000000000628.
- [25] Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking [J]. J Cataract Refract Surg, 2003, 29(9): 1780-1785.

(收稿日期: 2016-11-19 修回日期: 2017-09-25)

(本文编辑: 尹卫靖 张荻)

消 息

《泪道病学》和《内窥镜泪道手术学》翻译出版

由中国武警总医院眼科泪器病中心陶海主任主译, 北京大学眼科中心马志中教授审阅的《泪道病学》, 及陶海主任和周希彬博士主译, 北京大学眼科中心马志中教授审阅的《内窥镜泪道手术学》近日由北京科学技术出版社正式出版, 全国新华书店有售。

《泪道病学》原版由国际著名泪道专家团队编写, 是目前国际上涵盖泪道病的最新基础理论研究和诊断及治疗方法的专著, 全书共分 21 章, 内容丰富, 较全面地反映了目前国际泪道病诊断和治疗的水平及趋势, 为临床医师提供了详细的泪道病诊疗方案。《内窥镜泪道手术学》原版由意大利著名泪道病专家及专家团队所编写, 是目前国外较新的关于内窥镜泪道手术的专著, 全书共分 10 章, 较全面的反映了目前国际内窥镜泪道手术的发展水平和趋势。2 本专著均具有较好的实用性、科学性及先进性, 可供眼科各级医师阅读参考, 也可供耳鼻喉科、整形科和放射科医师及研究生、进修生等学习参考。中国武警总医院眼科泪器病中心是于 2008 年成立的国内第一个泪器病诊治的专病中心, 近年来, 在泪器病诊治方面做了卓有成效的工作。他们在紧张繁忙的临床工作之余, 组织翻译了这 2 本专著。相信这 2 本译著的出版, 将有助于国内医师吸纳国外先进理论和新技术, 加快中国泪器病事业的发展。

联系人: 王菲, 中国武警总医院眼科泪器病中心 联系电话: 18310950672, Email: swangfeij@163.com

地址: 100039 北京市海淀区永定路 69 号, 中国武警总医院眼科泪器病中心

(王菲)

