

· 实验研究 ·

微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联对巩膜生物力学强度的增强作用及安全性

王红燕 肖博 楚艳华 韩泉洪

300020 天津医科大学眼科临床学院 天津市眼科医院 天津市眼科学与视觉科学重点实验室 天津市眼科研究所

通信作者:韩泉洪, Email: hanquanhong126@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.02.005

【摘要】 目的 研究微创核黄素-紫外线 A 行巩膜胶原交联后巩膜生物力学特性的改变及其安全性。**方法** 采用计算机取随机数法将 56 只清洁级新西兰大白兔随机分为非交联对照组和交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组,每组 8 只,其中 6 只用于巩膜生物力学性能检测,2 只分别用于组织病理学检查和细胞凋亡检测。各组兔均取右眼为实验眼,左眼为正常对照眼。兔实验眼以质量分数 0.1% 核黄素溶液(不含右旋糖酐)作为光敏感剂点眼,1 次/2 min,共 10 次,然后制作微创结膜切口,微创紫外线巩膜交联仪发光二极管(LED)端插入并贴近眼球后部巩膜照射 30 min,紫外线波长为 370 nm,辐照度为 3 mW/cm²。照射期间用医用体温计测量巩膜温度;按照分组时间点获取实验兔球壁组织,采用千分尺测定巩膜厚度;采用微材料力学性能测试系统对巩膜条带行预拉伸、拉伸破坏试验,测定巩膜的极限应力、极限应变和 8% 弹性模量;制备兔眼球组织切片并行苏木精-伊红染色,评估眼球组织病理学变化;采用 TUNEL 法检测视网膜细胞凋亡情况。**结果** 非交联对照组和交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组实验兔及其左右眼间巩膜厚度的总体比较差异均无统计学意义($F_{\text{眼别}}=0.02, P>0.05; F_{\text{组别}}=1.71, P>0.05$)。与非交联对照组比较,兔右眼交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组巩膜极限应力和 8% 弹性模量均明显增加,极限应变均明显下降,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。与交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月和 2 个月组比较,交联后 3 个月组实验眼极限应力、8% 弹性模量值均下降,极限应变均增加,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。与非交联的左眼比较,交联后各时间点右眼极限应力、8% 弹性模量值均增加,极限应变均下降,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。组织病理学检查显示,交联后实验兔眼角膜、巩膜、虹膜、睫状体和脉络膜组织均无明显病理学改变。细胞凋亡检测结果显示,非交联对照组和交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组实验兔视网膜细胞凋亡率分别为(11.00±0.33)%、(12.33±1.58)%、(12.02±0.45)%、(11.81±0.85)%、(12.15±0.61)%、(12.14±0.25)%和(11.74±0.63)%,组间总体比较差异无统计学意义($F=1.78, P=0.14$)。**结论** 微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术可有效增强兔巩膜的生物力学强度,且对眼球各组织无明显病理性损害。

【关键词】 微创;核黄素;紫外线 A;巩膜胶原交联;生物力学

基金项目: 天津市应用基础及前沿技术研究项目(15JCYBJC26500)

Enhancement of scleral biomechanics and safety following minimally invasive riboflavin-ultraviolet A collagen crosslinking in rabbits Wang Hongyan, Xiao Bo, Chu Yanhua, Han Quanhong

Clinical College of Ophthalmology, Tianjin Medical University, Tianjin Eye Hospital, Tianjin Key Lab of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin Eye Institute, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Han Quanhong, Email: hanquanhong126@126.com

[Abstract] Objective To evaluate the enhancing effects of scleral biomechanics and safety of collagen crosslinking by using minimally invasive riboflavin and ultraviolet A. **Methods** Fifty-six healthy New Zealand white rabbits were randomized into non-crosslinking group, post-crosslinking 1-day group, post-crosslinking 7-day group, post-crosslinking 15-day group, post-crosslinking 1-month group, post-crosslinking 2-month group and post-crosslinking 3-month group, eight for each group. Riboflavin solution at the concentration of 0.1% was dropped once per 2 minutes for 20 minutes, and then minimally invasive riboflavin and ultraviolet A was carried out in the right eyes by putting the lighting emitting diode (LED) probe end of microinvasive ultraviolet scleral crosslinking device to irradiate the

posterior sclera for 30 minutes with the wavelength of 370 nm and radiation energy of 3 mW/cm², and the left eyes served as the normal controls. The scleral temperature was measured using clinical thermometer during the crosslinking period. The rabbits were sacrificed according to the grouping and the eyeballs were obtained. The scleral thickness was measured by callipers, the pretension and tensile failure tests of sclera strips were tested by micromaterial mechanics performance test system to measure the extreme stress, extreme strain and 8% elastic modulus. Hematoxylin-eosin staining was employed to examine the morphology of eye tissues. Retinal cell apoptosis was detected by TUNEL assay.

Results The scleral thickness was insignificantly different among the non-crosslinking group, post-crosslinking 1-day group, post-crosslinking 7-day group, post-crosslinking 15-day group, post-crosslinking 1-month group, post-crosslinking 2-month group and post-crosslinking 3-month group and between right eyes and left controls ($F_{\text{eyes}} = 0.02, P > 0.05$; $F_{\text{group}} = 1.71, P > 0.05$). Compared with the non-crosslinking group, the extreme stress and 8% elastic modulus of the scleras were significantly increased, and the extreme strain of the scleras was significantly decreased in post-crosslinking 1-day group, post-crosslinking 7-day group, post-crosslinking 15-day group, post-crosslinking 1-month group, post-crosslinking 2-month group and post-crosslinking 3-month group (all at $P < 0.05$). Not any morphological abnormalities were found in corneas, scleras, irises, ciliary bodies and choroids in various groups. The apoptosis rates of retinal cells were $(11.00 \pm 0.33)\%$, $(12.33 \pm 1.58)\%$, $(12.02 \pm 0.45)\%$, $(11.81 \pm 0.85)\%$, $(12.15 \pm 0.61)\%$, $(12.14 \pm 0.25)\%$ and $(11.74 \pm 0.63)\%$ in the non-crosslinking group, post-crosslinking 1-day group, post-crosslinking 7-day group, post-crosslinking 15-day group, post-crosslinking 1-month group, post-crosslinking 2-month group and post-crosslinking 3-month group, respectively, with no significant difference among the three groups ($F = 1.78, P = 0.14$). **Conclusions** Rabbit sclera collagen crosslinking by using the minimally invasive riboflavin and ultraviolet A can effectively enhance the biomechanical strength of the sclera, and this procedure is safe.

[Key words] Minimally invasive; Riboflavin; Ultraviolet A; Sclera collagen crosslinking; Biomechanics

Fund program: Tianjin Research Program of Application Foundation and Advanced Technology (15JCYBJC26500)

病理性近视多存在巩膜、脉络膜和视网膜色素上皮的特征性变性、萎缩性改变,并伴有视力下降^[1],其病理改变主要有后巩膜葡萄肿、高度近视性黄斑病变、近视性脉络膜新生血管、视网膜脉络膜萎缩、漆裂纹以及周边视网膜变性等^[2-3]。病理性近视是视力下降和致盲的常见原因之一,给社会和家庭造成巨大的经济负担。人群流行病学调查显示,病理性近视在欧洲低视力和致盲的原因中占 7%^[4-5],在亚洲占 12%~27%^[6-8],目前尚无有效的治疗方法。近视的发病与遗传和环境因素有关,发病过程中巩膜发生主动性重塑,导致眼球各部,尤其是后极部巩膜胶原纤维束直径减小、纤维间隙扩大及纤维交织层减少,引起巩膜进行性变薄、扩张和眼轴的过度伸长,从而出现多种眼底并发症^[9-10]。已有实验研究表明,核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术可增强巩膜的生物力学强度^[11-12],但是手术操作创伤大,且无法暴露解剖上较为靠后极的巩膜区域。本研究旨在观察微创核黄素-紫外线 A 对兔巩膜胶原交联的有效性、安全性,从而为病理性近视的治疗提供可行的方案。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组

选用健康成年新西兰兔 56

只,雌雄各半,体质量 2.0~2.5 kg(天津医科大学动物实验部提供),排除眼部疾病。采用计算机取随机数法将 56 只新西兰兔随机分为非交联对照组、交联后 1 d 组、交联后 7 d 组、交联后 15 d 组、交联后 1 个月组、交联后 2 个月组和交联后 3 个月组,每组 8 只。每组中 6 只用于巩膜生物力学性能检测,2 只分别用于组织病理学检查和细胞凋亡检测。实验动物的使用和喂养严格遵循视觉与眼科研究协会关于眼科与视觉研究动物使用的声明。

1.1.2 主要试剂及仪器 TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒(瑞士 Roche 公司);核黄素磷酸钠注射液(北京双鹤药业股份有限公司);戊巴比妥钠粉剂(长春军事医学科学院兽医研究所);盐酸丙美卡因滴眼液(苏州天龙制药有限公司);生理盐水溶液(浙江济民制药股份有限公司);质量分数 5% 左氧氟沙星滴眼液(日本参天制药株式会社);红霉素眼膏(上海通用药业股份有限公司)。微创紫外线巩膜交联仪(苏州医学工程研究所与天津市眼科医院合作研制);微材料力学性能测试系统(上海大学制造,天津理工大学力学实验室提供);光学显微镜(日本 Olympus 公司);医用体温计(北京康视医疗器械有限公司);千分尺、机械游标卡尺(上海精密仪器仪表有限公司);手术显微器械(苏州六六视觉科技股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 微创核黄素-紫外线 A 巩膜交联术 各组实验兔右眼均行微创核黄素-紫外线 A 巩膜交联术,左眼作为正常对照。质量分数 3% 戊巴比妥钠溶液 1 ml/kg 兔腹腔内注射全身麻醉,盐酸丙美卡因滴眼液点眼行表面麻醉,沿角膜缘剪开鼻上方球结膜,分离结膜下组织,无菌棉签擦拭巩膜表面积血。将质量分数 0.1% 核黄素溶液滴加到巩膜表面,1 次/2 min,共 10 min。将微创紫外线巩膜交联仪发光二极管(light emitting diode, LED)端(形状为扁平矩形,棱角圆润,大小约为 1.0 cm×0.7 cm×0.2 cm)置于赤道部与后极部巩膜表面照射 30 min(图 1),照射参数:波长 370 nm,辐照度为 3 mW/cm²,总照射能量为 5.4 J/cm²。照射完毕后采用结膜下注水法使球结膜水肿以封闭结膜小切口,结膜囊内涂红霉素眼膏,每天 1 次,共 3 d。在照射过程中用医用体温计测定巩膜温度,1 次/2 min,取平均值。

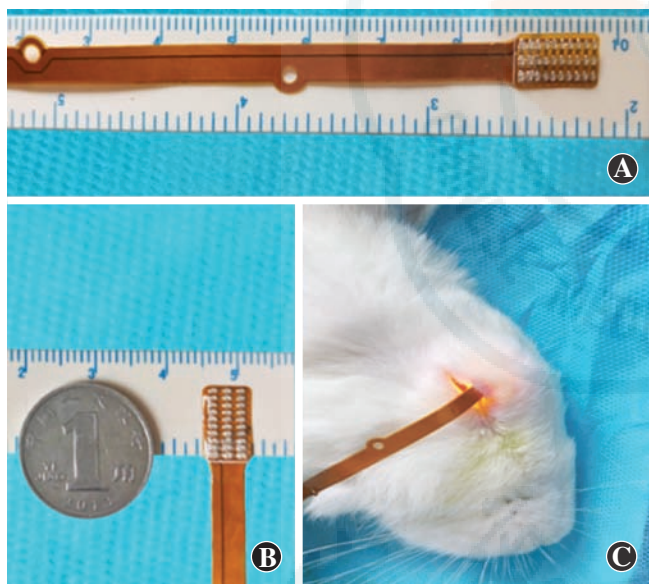


图 1 兔眼巩膜交联设备及方法 A:紫外线 A 巩膜交联仪特制 LED 端 B:紫外线 A 巩膜交联仪特制 LED 端的大小 C:兔眼巩膜交联过程中的照射方法

1.2.2 巩膜试件制备与生物力学检测 每组各选取 6 只实验兔,采用耳缘静脉注射空气法处死,摘取眼球,双眼均于鼻上象限赤道部及后极部各取 2 条 3.0 mm×10.0 mm 的巩膜条带,于 4℃ 湿房中保存。用微材料力学性能测试系统对巩膜条带进行预拉伸、拉伸破坏试验。将 2 个载玻片用专用夹具固定于测试系统上,用千分尺测量出两载玻片厚度,重复测量 5 次,取平均值;将巩膜条带置于两载玻片中央,用专用夹具夹持巩膜条带并固定于测试系统上,用千分尺测量其厚度,重复测量 5 次,取均值,取 2 个均值间的差

为巩膜试件厚度。将巩膜条带用专用夹具夹持并固定至测试系统上,条带的待拉伸部分长度为 4~6 mm,用生理盐水喷洒条带,1 次/2 min。首先进行预拉伸试验,循环 7 次,加载速度为 0.5 mm/min,终止条件为载荷大于 0.021 N。待测试系统的载荷位移曲线逐渐稳定后进行拉伸破坏试验,加载速度为 2 mm/min,拉伸至条带断裂。计算条带断裂时的极限应力、极限应变和应变为 8% 的弹性模量,其中应力=载荷/截面积,应变=位移/原长,弹性模量=应力/应变,截面积=宽度×厚度,巩膜条带长度和宽度用游标卡尺测量,厚度用千分尺测量,测试系统自动显示载荷与位移数据。

1.2.3 球壁组织的病理学检查 每组各取 2 只实验兔,耳缘静脉注射空气处死后摘取眼球,置于质量分数 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h,取右眼交联区域和左眼相应区域的组织,于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,常规石蜡包埋。每例样本行 5 μm 厚连续切片,共取 10 张切片。每例样本任取 5 张切片行苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察球壁各层组织的病理学改变。

1.2.4 TUNEL 法检测细胞凋亡 样本获取及组织学切片制作同 1.2.3。采用 TUNEL 法检测细胞凋亡,每例样本各取 5 张石蜡切片,按 TUNEL 原位检测试剂盒操作说明书行细胞凋亡检测,以已知凋亡细胞的阳性片作为阳性对照,以已知正常细胞的阴性片为阴性对照。400 倍光学显微镜下观察切片的 5 个视野,计数各视野内的视网膜内核层、外核层细胞总数,以棕褐色染色细胞为阳性反应,计算每个视野的阳性细胞率,取 5 个视野阳性细胞率的平均值,阳性细胞率=阳性细胞数/细胞总数×100%。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件(美国 SPSS 公司)进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经 W 检验证实呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数经 Levene 检验证实方差齐。采用完全随机分组多水平研究设计,非交联对照组和交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组间及各组不同眼别间巩膜厚度、极限应力、极限应变和 8% 弹性模量总体差异比较均采用两因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-*t* 检验。非交联对照组、交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组间细胞凋亡率的总体差异比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组兔交联眼与非交联眼巩膜厚度变化

兔眼巩膜交联前后及随着交联时间延长巩膜厚度均无明显变化,巩膜交联与否对巩膜厚度无明显影响。实验兔交联前后不同时间组总体比较,差异无统计学意义($F_{\text{组别}} = 1.71, P > 0.05$);各组兔左右眼间巩膜厚度总体比较差异无统计学意义($F_{\text{眼别}} = 0.02, P > 0.05$) (表 1)。

表 1 交联后不同时间组兔左右眼间巩膜厚度比较($\bar{x} \pm s, \text{mm}$)

组别	眼数	不同眼别巩膜厚度	
		右眼	左眼
非交联对照组	6	0.30±0.04	0.29±0.02
交联后 1 d 组	6	0.28±0.06	0.28±0.06
交联后 7 d 组	6	0.28±0.03	0.27±0.03
交联后 15 d 组	6	0.31±0.02	0.28±0.04
交联后 1 个月组	6	0.31±0.04	0.32±0.03
交联后 2 个月组	6	0.30±0.04	0.28±0.04
交联后 3 个月组	6	0.30±0.04	0.29±0.03

注: $F_{\text{眼别}} = 0.02, P > 0.05$; $F_{\text{组别}} = 1.71, P > 0.05$ (两因素方差分析)

表 2 交联后不同时间组兔左右眼间极限应力的比较($\bar{x} \pm s, \text{MPa}$)

组别	眼数	不同眼别极限应力	
		右眼	左眼
非交联对照组	6	3.80±1.45	3.63±0.72
交联后 1 d 组	6	7.03±1.07 ^{ab}	3.63±1.22 ^c
交联后 7 d 组	6	6.50±1.37 ^{ab}	3.78±0.81 ^c
交联后 15 d 组	6	5.19±0.89 ^{ab}	2.93±0.68 ^c
交联后 1 个月组	6	5.27±1.16 ^{ab}	3.10±0.99 ^c
交联后 2 个月组	6	5.75±0.97 ^{ab}	3.14±1.09 ^c
交联后 3 个月组	6	5.48±0.81 ^a	3.45±0.74 ^c

注: $F_{\text{眼别}} = 166.59, P < 0.01$; $F_{\text{组别}} = 11.26, P < 0.01$ 。与非交联对照组比较,^a $P < 0.05$;与交联后 3 个月组比较,^b $P < 0.05$;与组内右眼值比较,^c $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

表 3 交联后不同时间兔左右眼间极限应变的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	眼数	不同眼别极限应变	
		右眼	左眼
非交联对照组	6	31.96±0.06	36.44±0.08
交联后 1 d 组	6	19.86±0.04 ^{ab}	36.78±0.11 ^c
交联后 7 d 组	6	22.11±0.05 ^{ab}	38.42±0.83 ^c
交联后 15 d 组	6	22.01±0.26 ^{ab}	35.45±0.07 ^c
交联后 1 个月组	6	16.18±0.03 ^{ab}	32.78±0.04 ^c
交联后 2 个月组	6	20.12±0.61 ^{ab}	32.92±0.12 ^c
交联后 3 个月组	6	22.76±5.62 ^a	33.76±0.16 ^c

注: $F_{\text{眼别}} = 87.78, P < 0.01$; $F_{\text{组别}} = 2.84, P < 0.05$ 。与非交联对照组比较,^a $P < 0.05$;与交联后 3 个月组比较,^b $P < 0.05$;与组内右眼比较,^c $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

表 4 交联后不同时间组兔左右眼间 8% 弹性模量的比较($\bar{x} \pm s, \text{MPa}$)

组别	眼数	不同眼别 8% 弹性模量	
		右眼	左眼
非交联对照组	6	13.23±2.99	13.85±3.25
交联后 1 d 组	6	34.07±7.69 ^{ab}	12.33±4.83 ^c
交联后 7 d 组	6	32.15±7.01 ^{ab}	11.14±7.55 ^c
交联后 15 d 组	6	27.10±4.30 ^{ab}	12.46±1.23 ^c
交联后 1 个月组	6	33.80±13.97 ^{ab}	11.39±4.64 ^c
交联后 2 个月组	6	33.65±11.55 ^{ab}	11.94±6.63 ^c
交联后 3 个月组	6	22.26±5.62 ^{ab}	11.58±3.74 ^c

注: $F_{\text{眼别}} = 178.48, P < 0.01$; $F_{\text{组别}} = 4.76, P < 0.01$ 。与非交联对照组比较,^a $P < 0.05$;与交联后 3 个月组比较,^b $P < 0.05$;与组内右眼比较,^c $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

2.3 交联过程中巩膜温度变化曲线

在微创核黄素-紫外线 A 兔巩膜交联胶原实验过程中,温度为 37.0~37.5℃,呈波动性变化(图 2)。

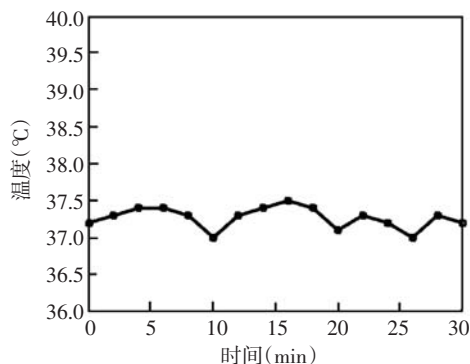


图 2 兔巩膜交联过程中巩膜温度变化曲线 巩膜交联期间温度为 37.0~37.5℃

2.2 兔交联与非交联眼各巩膜生物力学指标变化

各组兔眼极限应力、8% 弹性模量和极限应变总体比较,差异均有统计学意义($F_{\text{组别}} = 11.26, 4.76, 2.84$, 均 $P < 0.01$);不同眼别极限应力、8% 弹性模量和极限应变总体比较差异均有统计学意义($F_{\text{眼别}} = 166.59, 178.48, 87.78$, 均 $P < 0.01$)。交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组右眼极限应力和 8% 弹性模量均大于非交联对照组,极限应变均小于非交联对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),交联后 3 个月组右眼极限应力、8% 弹性模量均小于交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月和 2 个月组,极限应变均大于交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月和 2 个月组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);非交联对照组左右眼间各生物力学指标的差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组兔右眼巩膜极限应力和 8% 弹性模量值均明显高于左眼,右眼巩膜极限应变均明显低于左眼,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$) (表 2~4)。

2.4 兔眼巩膜交联后眼球组织病理学变化

苏木精-伊红染色结果显示,交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组兔眼角膜、巩膜、虹膜、睫状体和脉络膜等均未发生细胞坏死和水肿等异常形态学改变,视网膜各层形态和内外核层细胞数等无明显改变(图 3)。

2.5 各组右眼视网膜细胞凋亡率比较

TUNEL 染色结果显示,阴性对照片显示正常视网膜内核层、外核层细胞呈蓝色或深蓝色染色,未发现 TUNEL 阳性细胞,阳性对照片 TUNEL 阳性细胞为细胞质中可见棕黄色染色颗粒。非交联对照组兔眼视网膜可见极少数 TUNEL 阳性细胞,交联后兔眼视网膜可

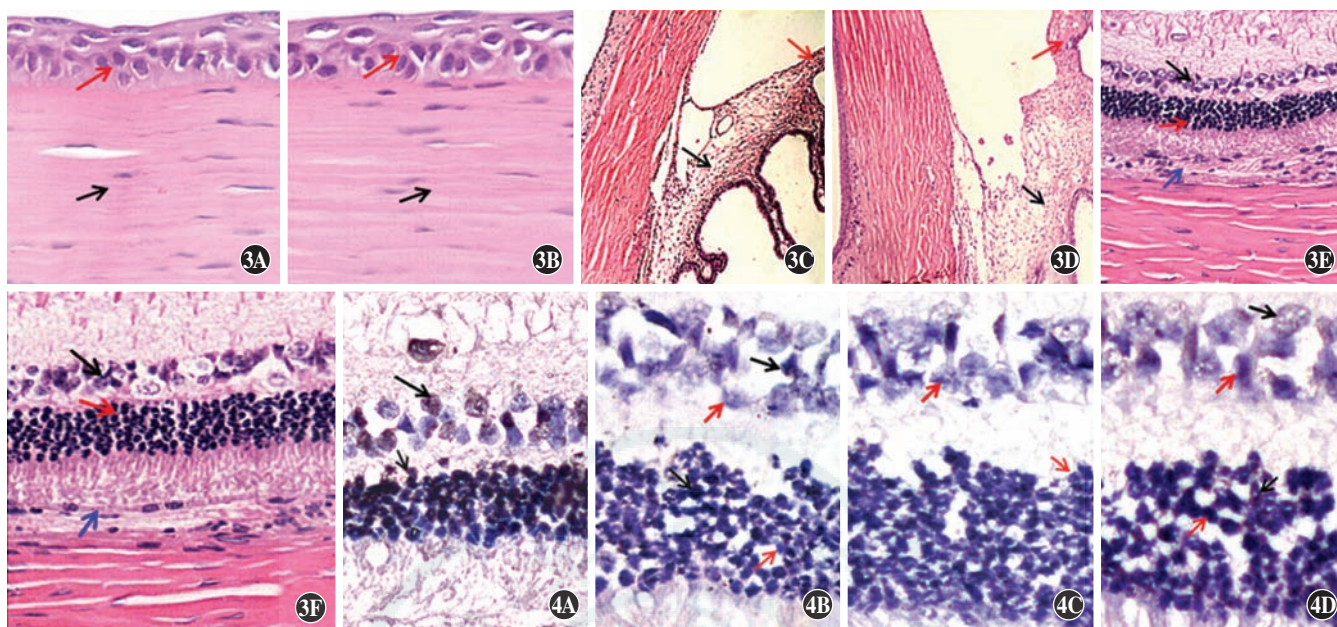


图 3 各组兔眼球组织病理学观察 A: 非交联对照组右眼角膜(红箭头)和巩膜(黑箭头)组织形态均正常(HE ×400) B: 交联后 1 d 右眼角膜(红箭头)和巩膜(黑箭头)组织形态均正常(HE ×400) C: 非交联对照组兔右眼虹膜(红箭头)和睫状体(黑箭头)形态结构正常(HE ×100) D: 交联后 1 d 右眼虹膜(红箭头)和睫状体(黑箭头)形态均未发生异常改变(HE ×100) E: 非交联对照组右眼脉络膜(蓝箭头)和视网膜外核细胞层(红箭头)、视网膜内核细胞层(黑箭头)组织结构形态学表现正常(HE ×200) F: 交联后 1 d 右眼脉络膜(蓝箭头)未发生细胞坏死、水肿, 视网膜外核细胞层(红箭头)、视网膜内核细胞层(黑箭头)细胞数均未减少(HE ×200) **图 4 各组右眼视网膜细胞凋亡 TUNEL 检测** (DAB ×400) A: 阳性对照片显示 TUNEL 阳性细胞呈棕色染色(黑箭头) B: 非交联对照组右眼可见少数 TUNEL 阳性细胞(黑箭头), TUNEL 阴性细胞呈蓝色染色(红箭头) C: 阴性对照片可见细胞均呈蓝色染色(红箭头) D: 交联后 1 d 右眼可见少数 TUNEL 阳性细胞(黑箭头), 多数细胞 TUNEL 检测呈阴性(红箭头)

见少数 TUNEL 阳性细胞(图 4)。非交联对照组及交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组细胞凋亡率无明显变化, 总体比较差异无统计学意义($F = 1.78, P = 0.14$)(表 5)。

表 5 各组兔右眼视网膜细胞凋亡率比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	眼数	视网膜细胞凋亡率
非交联对照组	5	11.00 ± 0.33
交联后 1 d 组	5	12.33 ± 1.58
交联后 7 d 组	5	12.02 ± 0.45
交联后 15 d 组	5	11.81 ± 0.85
交联后 1 个月组	5	12.15 ± 0.61
交联后 2 个月组	5	12.14 ± 0.25
交联后 3 个月组	5	11.74 ± 0.63
F 值		1.78
P 值		0.14

(单因素方差分析)

3 讨论

核黄素-紫外线 A 胶原交联技术在角膜疾病治疗中的应用已进入了临床试验阶段^[13], 而其在巩膜疾病治疗中的研究进展缓慢, 主要受多种因素的影响, 其中紫外线 A 巩膜照射的操作不便是长期以来未能解决的问题, 主要原因是传统的核黄素-紫外线 A 巩膜胶

原交联术暴露后巩膜时需要大切口及牵拉肌肉, 创伤较大, 且即使如此也无法充分暴露后巩膜。本研究中对微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术进行研究, 采用头端为 3 行 × 10 列的 LED 冷光源阵列的照射器械伸入结膜下并放置于巩膜表面, 与赤道部及后极部巩膜紧密贴合。因此, 微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术的手术暴露面积小, 无需牵拉肌肉, 创伤较小。

巩膜是一种在外力的拉伸作用下产生弹性变形的黏弹性组织, 极限应力、极限应变和 8% 弹性模量是国际上评估黏弹性组织生物力学性能的常用指标^[14-15]。本研究中发现与非交联对照组比较, 交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月、2 个月和 3 个月组兔眼极限应变均减少, 而极限应力均增加, 8% 弹性模量均提高, 交联后 3 个月组右眼极限应力、8% 弹性模量均小于交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月和 2 个月组, 极限应变均大于交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月和 2 个月组, 差异均有统计学意义。Wollensak 等^[16]采用核黄素-紫外线 A 兔巩膜胶原交联实验结果表明, 交联后 3 d、4 个月和 8 个月交联眼与相应的非交联对照眼比较, 极限应变均变小, 极限应力均增加, 8% 弹性模量均提高。本实验结果表明, 微创核黄素-紫外线 A 巩膜交联术的交联效果明显, 随着术后时间的延长, 右眼交联效果并无明显差

异,交联后 3 个月较交联后 1 d、7 d、15 d、1 个月和 2 个月的效果有所减弱,但仍高于非交联对照组,对于更长时间交联有效性的变化有待进一步研究。

本实验在照射过程中兔巩膜温度波动范围为 37.0 ~ 37.5 °C,温度波动的最大值为 0.5 °C,低于 Wollensak 等^[15]研究中的实验温度波动(1.52 °C),可排除紫外线 A 照射引起的眼球组织热损伤效应。交联前后兔巩膜厚度检测结果发现,各组左右眼巩膜厚度差异均无统计学意义,这与 Wollensak 等^[15-17]的巩膜厚度检测结果一致,因此,微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术对局部巩膜的形态以及眼球的形状无明显影响。本研究中组织病理学检查显示,各交联组右眼球组织与非交联组比较无明显形态学改变;TUNEL 法细胞凋亡检测结果显示,交联组右眼与非交联组右眼的细胞凋亡率差异无统计学意义。Wang 等^[18]研究证实,传统的核黄素-紫外线 A 巩膜交联术是安全的。本研究结果显示,采用微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术对眼内各组织均未造成病理性损害。

综上所述,本研究结果表明微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术是安全、有效的,有望成为治疗病理性近视的新疗法。然而,微创核黄素-紫外线 A 巩膜胶原交联术作为一种新的治疗手段尚不完善,仍有待于大量的动物实验和长期观察以进一步验证其有效性和安全性。

参考文献

- [1] Morgan IG, Ohno-Matsui K, Saw SM. Myopia [J]. Lancet, 2012, 379(9827): 1739-1748. DOI:10.1016/S0140-6736(12)60272-4.
- [2] Ohno-Matsui K, Lai TY, Lai CC, et al. Updates of pathologic myopia [J]. Prog Retin Eye Res, 2016, 52: 156-187. DOI:10.1016/j.preteyeres.2015.12.001.
- [3] Saw SM, Gazzard G, Shih-Yen EC, et al. Myopia and associated pathological complications[J]. Ophthalmic Physiol Opt, 2005, 25(5): 381-391. DOI:10.1111/j.1475-1313.2005.00298.x.
- [4] Cedrone C, Nucci C, Scuderi G, et al. Prevalence of blindness and low vision in an Italian population: a comparison with other European studies[J]. Eye (Lond), 2006, 20(6): 661-667. DOI:10.1038/sj.eye.6701934.
- [5] Klaver CC, Wolfs RC, Vingerling JR, et al. Age-specific prevalence and causes of blindness and visual impairment in an older population: the Rotterdam Study[J]. Arch Ophthalmol, 1998, 116(5): 653-658.
- [6] Iwase A, Araie M, Tomidokoro A, et al. Prevalence and causes of low vision and blindness in a Japanese adult population: the Tajimi Study [J]. Ophthalmology, 2006, 113(8): 1354-1362. DOI:10.1016/j.ophtha.2006.04.022.
- [7] Xu L, Wang Y, Li Y, et al. Causes of blindness and visual impairment in urban and rural areas in Beijing: the Beijing Eye Study [J/OL]. Ophthalmology, 2006, 113(7): 1134. e1-11 [2017-04-26]. www.aaojournal.org/article/S0161-6420(06)00114-X/fulltext. DOI:10.1016/j.ophtha.2006.01.035.
- [8] Yamada M, Hiratsuka Y, Roberts CB, et al. Prevalence of visual impairment in the adult Japanese population by cause and severity and future projections[J]. Ophthalmic Epidemiol, 2010, 17(1): 50-57. DOI:10.3109/09286580903450346.
- [9] Rada JA, Shelton S, Norton TT. The sclera and myopia[J]. Exp Eye Res, 2006, 82(2): 185-200. DOI:10.1016/j.exer.2005.08.009.
- [10] McBrien NA, Gentle A. Role of the sclera in the development and pathological complications of myopia[J]. Prog Retin Eye Res, 2003, 22(3): 307-338.
- [11] Zhang Y, Li Z, Liu L, et al. Comparison of riboflavin/ultraviolet-A cross-linking in porcine, rabbit, and human sclera[J/OL]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 194204 [2017-03-10]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3910020/. DOI:10.1155/2014/194204.
- [12] Wang M, Zhang F, Qian X, et al. Regional biomechanical properties of human sclera after cross-linking by riboflavin/ultraviolet A [J]. J Refract Surg, 2012, 28(10): 723-728. DOI:10.3928/1081597X-20120921-08.
- [13] 潘红卫, 陈建苏. 紫外光核黄素交联治疗圆锥角膜的研究进展[J]. 眼科研究, 2008, 26(5): 397-400.
- [14] Pan HW, Chen JS. Current advance in treatment of keratoconus by UVA-Riboflavin Cross-Linking [J]. Chin Ophthalm Res, 2008, 26(5): 397-400.
- [15] Wollensak G, Spoerl E. Collagen crosslinking of human and porcine sclera[J]. J Cataract Refract Surg, 2004, 30(3): 689-695. DOI:10.1016/j.jcrs.2003.11.032.
- [16] Wollensak G, Iomdina E, Dittert DD, et al. Cross-linking of scleral collagen in the rabbit using riboflavin and UVA [J]. Acta Ophthalmol Scand, 2005, 83(4): 477-482. DOI:10.1111/j.1600-0420.2005.00447.x.
- [17] Wollensak G, Iomdina E. Long-term biomechanical properties of rabbit sclera after collagen crosslinking using riboflavin and ultraviolet A (UVA) [J]. Acta Ophthalmol, 2009, 87(2): 193-198. DOI:10.1111/j.1755-3768.2008.01229.x.
- [18] Wollensak G, Iomdina E. Long-term biomechanical properties after collagen crosslinking of sclera using glycerolaldehyde [J]. Acta Ophthalmol, 2008, 86(8): 887-893. DOI:10.1111/j.1755-3768.2007.01156.x.
- [19] Wang M, Zhang F, Liu K, et al. Safety evaluation of rabbit eyes on scleral collagen cross-linking by riboflavin and ultraviolet A [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2015, 43(2): 156-163. DOI:10.1111/ceo.12392.

(收稿日期:2017-06-18 修回日期:2017-12-25)

(本文编辑:尹卫靖 刘艳)

广告目次

- 拓普康 OCT(全能真彩扫频源 OCT) 北京拓普康医疗器械有限公司……封二
- 同息通(曲安奈德注射液) 广东省医药进出口公司珠海公司……前插页
- 普诺特(预装式非球面人工晶状体) 爱博诺德(北京)医疗科技有限公司……前插页
- 千寿眼科系列产品 千寿制药株式会社……前插页
- 博士伦博视康(叶黄素片) 山东博士伦福瑞达制药有限公司……前插页
- 沃丽汀(卵磷脂络合碘片) 广东泰恩康医药股份有限公司……前插页
- 阿玛仕(准分子激光角膜屈光治疗机) 高视医疗……前插页
- 见康(拉坦前列素滴眼液) 华润紫竹药业有限公司……前插页
- 灵光(复方樟柳碱注射液) 华润紫竹药业有限公司……前插页
- 氟美童(氟米龙滴眼液) 参天制药(中国)有限公司……封三
- 迈达科技 天津迈达科技股份有限公司……封底