

增生性 DR 玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水中 VEGF 和 PEDF 水平的变化

王云鹏 陈小红 陈梅珠

350025 福州, 南京军区福州总医院眼科(厦门大学附属东方医院、福建医科大学福总临床医学院、第二军医大学福总临床医学院)

通信作者: 陈梅珠, Email: jumychen@tom.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.01.012

【摘要】 **背景** 增生性糖尿病视网膜病变(PDR)导致患者视力下降的主要原因是眼内新生血管形成, 研究其病理机制有助于对 PDR 进行精准治疗, ranibizumab 玻璃体注射是目前治疗眼内新生血管的主要方法之一。 **目的** 研究 PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 对房水中新生血管形成相关因子(VEGF)和色素上皮衍生因子(PEDF)含量的影响, 探讨玻璃体腔注射 ranibizumab 治疗眼内新生血管的作用机制。 **方法** 采用自身对照系列病例观察研究方法, 于 2014 年 1 至 8 月在南京军区福州总医院眼科纳入 2 型糖尿病并发 PDR 患者 15 例 15 眼, 其中 1 例患者合并有新生血管性青光眼、虹膜新生血管。分别于患者行玻璃体腔注射 ranibizumab 前、玻璃体腔注射 ranibizumab 后 7 d 行玻璃体切割术时通过前房穿刺收集房水样本各 0.1 ml, 采用 ELISA 检测 PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水中 VEGF 和 PEDF 质量浓度的变化。 **结果** PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 前房水 VEGF 质量浓度为 (179.4 ± 136.5) pg/ml, 玻璃体腔注射 ranibizumab 后 7 d 为 (27.1 ± 23.5) pg/ml, 注射后房水 VEGF 质量浓度明显低于术前, 差异有统计学意义 ($t = 4.172, P = 0.001$)。玻璃体腔注射 ranibizumab 前 PDR 患者房水 PEDF 浓度为 (394.0 ± 237.2) pg/ml, 注射后 7 d 为 (267.7 ± 199.6) pg/ml, 注射后房水 PEDF 质量浓度明显低于术前, 差异有统计学意义 ($t = 5.443, P = 0.000$)。PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 后新生血管部分消退后行玻璃体切割术, 术中出血少。 **结论** PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 使房水中 VEGF 和 PEDF 质量浓度明显下降, 眼部新生血管消失, 避免了玻璃体切割术中的出血。

【关键词】 血管生成因子/房水; 血管生成抑制蛋白/房水; 糖尿病视网膜病变; 新生血管; 血管内皮生长因子/房水; 色素上皮衍生因子/房水; 酶联免疫吸附试验; Ranibizumab

基金项目: 福建省科技计划重点项目 (2012Y0055)

The changes of aqueous humor vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor levels before and after intravitreal injection of ranibizumab in proliferative diabetic retinopathy Wang Yunpeng, Chen Xiaohong, Chen Meizhu

Department of Ophthalmology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Dongfang Hospital

Affiliated to Xiamen University, Clinical Medical College of Fujian Medical University, Clinical Medical College of the Second Military Medical University, Fuzhou 350025, China

Corresponding author: Chen Meizhu, Email: jumychen@tom.com

[Abstract] **Background** Intraocular neovascularization is a primary cause of visual reduce in proliferative diabetic retinopathy (PDR), and intravitreal injection of ranibizumab is one of treating approachs. Researching the mechanism of intravitreal injection of ranibizumab for PDR is a new target for the prevention and management of PDR.

Objective This study was to determine the levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and pigment epithelium-derived factor (PEDF) in aqueous humor of PDR eyes before and after intravitreal injection of ranibizumab. **Methods** Self-controlled observational study was designed. Fifteen eyes of 15 PDR patients with type 2 diabetes mellitus were included in Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command from January to August 2014, and 1 eye combined with neovascular glaucoma and iris rubeosis. Aqueous samples of 0.1 ml at each time were collected before and 7 days after the injection of ranibizumab from all patients under the informed consent. The changes of aqueous VEGF and PEDF concentrations were detected and analyzed by enzyme-linked immunosorbent

assay. This study complied with Declaration of Helsinki and the protocol was approved by this hospital. **Results** The free VEGF concentrations before and 7 days after intravitreal injection were (179.4±136.5) pg/ml and (27.1±23.5) pg/ml, respectively, showing a significant reduce after intravitreal injection of ranibizumab ($t=4.172, P=0.001$). PEDF concentrations before and 7 days after intravitreal injection were (394.0±237.2) pg/ml and (267.7±199.6) pg/ml, respectively, showing a significant reduce after intravitreal injection of ranibizumab ($t=5.443, P=0.000$). Intraocular neovascularization vanished after intravitreal injection of ranibizumab and vitrectomy was carried out at the seventh day after intravitreal injection. **Conclusions** Free VEGF and PEDF levels in aqueous humor appear to be significantly decreased after intravitreal injection of ranibizumab, and ocular neovascularization disappears at same time, which avoids intraoperative bleeding during vitrectomy.

[Key words] Angiogenic factor/aqueous humor; Angiostatic proteins/aqueous humor; Diabetic retinopathy; Neovascularization; Vascular endothelial growth factor; Pigment epithelium-derived factor; Enzyme-linked immunosorbent assay; Ranibizumab

Fond program: Fujian Provincial Science and Technology Major Project (2012Y0055)

增生性糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 和糖尿病性黄斑水肿 (diabetic macular edema, DME) 是糖尿病患者严重的并发症。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是血管生成的主要促进因子, 因此抑制 VEGF 成为新生血管性眼病治疗热点^[1]。研究表明 PDR 患者血清和玻璃体 VEGF 含量明显升高, PDR 患者 VEGF 水平显著高于非糖尿病患者^[2-3]。色素上皮衍生因子 (pigment epithelium derived factor, PEDF) 最先在人类胎儿视网膜色素上皮细胞的条件培养液中纯化分离出来, 是细胞内新生血管抑制因子之一^[4-5]。Ranibizumab 是结合和抑制 VEGF-A 异构体及其活性降解产物的重组人源化抗 VEGF 单克隆抗体片段能阻止 VEGF 发挥其相应的生物相应, 抑制新生血管形成^[6]。研究表明抗 VEGF 药物能抑制眼内新生血管, 但 PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 前后眼内房水细胞因子变化的研究鲜见报道。本研究 PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水 VEGF 和 PEDF 质量浓度的变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 纳入患者的基线资料 采用自身前后对照的系列病例观察研究设计。纳入 2014 年 1 至 8 月就诊于南京军区福州总院的 PDR 患者 15 例 15 眼, 其中男 9 例 9 眼, 女 6 例 6 眼; 患者年龄 35 ~ 65 岁, 平均 (53.7±9.0) 岁; 患者术前基本情况见表 1。诊断标准: 糖尿病的诊断和分型参照 1997 年美国糖尿病协会及 WHO 的标准; PDR 的眼底检查及荧光素眼底血管造影标准参照 2002 年 DR 国际临床分级标准。既往 6 个月内玻璃体腔内注射曲安奈德、贝伐单抗、ranibizumab 者, 有玻璃体切除手术史者, 合并年龄相

关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD)、高度近视、视网膜血管炎、视网膜静脉阻塞等, 合并心血管、脑血管、肝脏、肾脏和造血系统等严重原发性疾病或精神疾病患者均不纳入本研究。本研究符合赫尔辛基宣言原则, 研究方案获南京军区福州总医院医学伦理委员会批准, 患者或家属在治疗前均了解治疗风险并签署知情同意书。

表 1 患者基本情况

序号	性别	年龄 (岁)	糖化血红蛋白 (%)	眼压 (mmHg)	NVG	NVI	注射后治疗
1	男	35	6.1	16	-	-	VH, PRP
2	男	45	6.3	14	-	-	VH, PRP
3	男	52	7.1	12	-	-	VH, PRP
4	男	56	7.1	15	-	-	VH, PRP
5	女	63	8.9	13	-	-	VH, PRP, 硅油填充
6	女	49	8.6	16	-	-	VH, PRP
7	男	54	8.9	14	-	-	VH, PRP
8	男	62	7.6	15	-	-	VH, PRP
9	男	65	7.3	25	+	+	VH, PRP
10	男	64	6.8	19	-	-	VH, PRP
11	女	47	7.3	17	-	-	VH, PRP
12	女	58	9.9	15	-	-	VH, PRP
13	男	64	6.8	11	-	-	VH, PRP
14	女	44	5.5	14	-	-	VH, PRP
15	女	48	7.6	16	-	-	VH, PRP

注: NVG: 新生血管性青光眼; NVI: 虹膜新生血管; VH: 玻璃体切割术; PRP: 全视网膜光凝术

1.1.2 主要试剂及仪器 Ranibizumab (商品名: Lucentis) (美国 Genentech 公司); 人 VEGF ELISA 检测试剂盒 (上海西唐生物科技公司); 人 PEDF ELISA 检测试剂盒 (上海西唐生物科技公司)。ELX808 酶标仪 (美国 BioTek 公司)。

1.2 方法

1.2.1 Ranibizumab 的玻璃体腔注射及术后处理 注

射前 3 d, 患者用左氧氟沙星滴眼液点眼, 每日 4 次。手术在无菌条件下进行, 术前以复方托吡卡胺滴眼液点眼扩瞳, 盐酸丙美卡因滴眼液点眼, 1 次/5 min, 连续 3 次。常规铺巾, 用一次性 1 ml 注射器由角膜缘小心穿刺进入前房, 以免触及晶状体、虹膜、角膜内皮, 取未稀释的房水 0.1 ml, 收集有房水的无菌管立即 -80°C 保存。用与 1 ml 无菌注射器相连的 18G 滤过针头抽取瓶内药物, 滤过针头替换为无菌 30G 针头, 排空注射器内空气, 直至注射器内芯尖端对准注射器上 0.05 ml 刻度线。注射针头在颞下方角膜缘后 4.0 mm 处对准眼球中心向玻璃体腔进针, 经瞳孔区确认针头位置, 缓慢注射 ranibizumab 0.05 ml (0.5 mg), 取出针头后用无齿镊闭合注射针口处, 无菌干棉球按压。术后常规用左氧氟沙星滴眼液点眼, 每日 4 次, 连续 7 d。

1.2.2 房水标本的收集 Ranibizumab 的玻璃体腔注射术前及注射后 7 d 行玻璃体切割术时用 1 ml 注射器由角膜缘穿刺进入前房取房水各 0.1 ml, 均由同一位有经验的医师完成房水收集在无菌管, 立即存放在 -80°C 容器中。

1.2.3 房水 VEGF 和 PEDF 的检测 分别采用人 VEGF 和 PEDF 夹心 ELISA 试剂盒检测房水中 VEGF、PEDF 浓度。按照试剂盒说明操作, 每个样本检测 2 孔, 参照文献[6]的方法将待测样品稀释 10 倍, 配制标准品、洗涤液。在试剂盒中每孔加样 100 μl 充分混匀, 37°C 反应 40 min; 反应板充分洗涤 6 次, 滤纸上阴干。加入一抗工作液 37°C 反应 20 min; 洗板; 加入酶标抗体工作液 100 μl , 37°C 反应 10 min; 洗板后加底物工作液 100 μl , 37°C 反应 15 min; 最后每孔加 100 μl 终止液混匀, 用酶标仪在波长 450 nm 处测吸光度 (A) 值。根据标准品绘制标准曲线。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经 K-S 经验呈正态分布, 以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用自身对照系列病例观察研究设计, PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水中 VEGF 和 PEDF 质量浓度的差异比较采用配对 t 检验。 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ranibizumab 的玻璃体腔注射前后 PDR 患者虹膜的变化

PDR 患者治疗前虹膜新生血管明显可见。玻璃体腔注射 ranibizumab 后 7 d PDR 患者虹膜新生血管退缩 (图 1)。

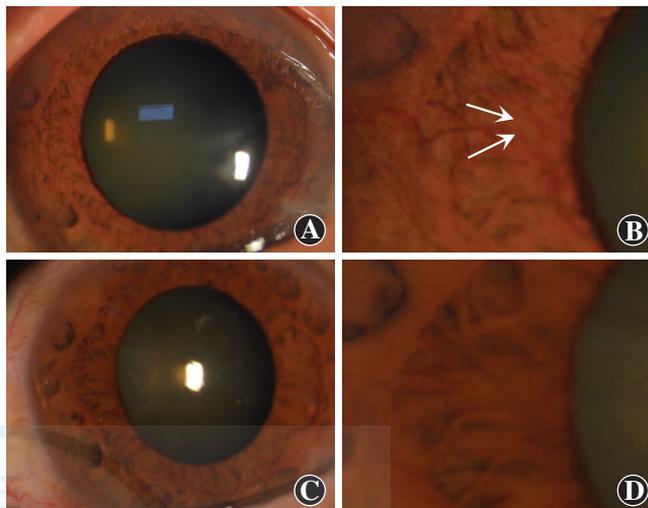


图 1 1 例男性 PDR 患者右眼玻璃体腔注射 ranibizumab 前后眼部变化 A: 注射前可见虹膜新生血管 B: 注射前虹膜新生血管 (箭头) C: 玻璃体腔注射 ranibizumab 后 7 d 虹膜新生血管消失 D: 玻璃体腔注射 ranibizumab 后虹膜新生血管消失

2.2 Ranibizumab 的玻璃体腔注射前后 PDR 患者房水中 VEGF 质量浓度的变化

玻璃体腔注射 ranibizumab 前房水 VEGF 质量浓度为 (179.4 ± 136.5) pg/ml, 注射后 7 d 房水 VEGF 质量浓度为 (27.1 ± 23.5) pg/ml, 明显低于玻璃体腔注射前, 差异有统计学意义 ($t=4.172, P=0.001$) (图 2)。

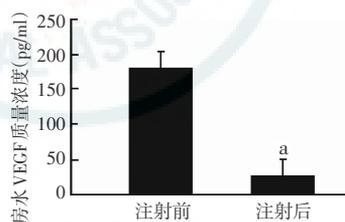


图 2 玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水中 VEGF 质量浓度的比较 与注射前比较, $^{\#}P<0.01$ (配对 t 检验, $n=15$) VEGF: 血管内皮生长因子

2.3 Ranibizumab 的玻璃体腔注射前后 PDR 患者房水中 PEDF 质量浓度的变化

玻璃体腔注射 ranibizumab 前房水 PEDF 质量浓度为 (394.0 ± 237.2) pg/ml, 注射后 7 d 房水 PEDF 质量浓度为 (267.7 ± 199.6) pg/ml, 注射后 PEDF 质量浓度明显低于注射前, 差异有统计学意义 ($t=5.443, P=0.000$) (图 3)。

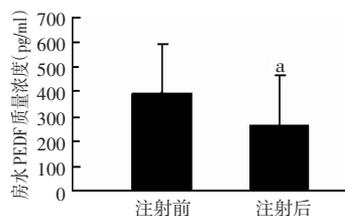


图 3 玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水中 PEDF 质量浓度的比较 与注射前比较, $^{\#}P<0.01$ (配对 t 检验, $n=15$) PEDF: 色素上皮衍生因子

3 讨论

PDR 患者因眼内新生血管而引起玻璃体积血及视网膜前增生而牵拉视网膜,最终引起视网膜脱离及新生血管性青光眼。研究证实,PDR 患者眼内 VEGF 和 PEDF 质量浓度的失衡是新生血管发生的关键因素。抗 VEGF 药物应用能有效阻断 DME 患者 VEGF 的生物学效应,有效减轻黄斑水肿,提高患者的视力^[7]。Ranibizumab 与 VEGF-110、VEGF-121、VEGF-165 有较高亲和力,因此能抑制 VEGF-A 与其受体 VEGFR-1 和 VEGFR-2 的结合,抑制新生血管的生成^[8]。Ranibizumab 治疗 DME 的 II 期随机双盲临床试验的 RESOLVE 研究和 III 期临床试验的 RISE、RIDE 研究都表明,Ranibizumab 在眼内有良好的耐药性,可抑制眼内新生血管,减少血管渗漏,改善黄斑水肿,提高患者视力^[9-10]。

Ranibizumab 在兔房水和玻璃体中的半衰期分别是 2.84 d 和 2.88 d^[11];在猴房水和玻璃体中的半衰期分别是 2.54 d 和 2.63 d^[12-13],在人房水中半衰期为 7.19 d^[14]。玻璃体是视网膜的邻近组织,能够间接地反映视网膜中 VEGF 和 PEDF 含量,但玻璃体样本收集较困难,有并发视网膜脱离和/或玻璃体积血的风险。研究发现,房水中 VEGF 质量浓度和玻璃体 VEGF 质量浓度呈显著正相关^[15]。因此本研究中收集 PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水样本进行检测。有研究表明,DR 患者玻璃体腔注射 1.25 mg (0.05 ml) 贝伐单抗后 10 d 视网膜增生膜中 PEDF 的阳性表达率未见明显变化^[16]。Matsuyama 等^[4] 研究显示 PDR 患者玻璃体腔注射 1.25 mg (0.05 ml) 贝伐单抗后 7 d 房水 PEDF 质量浓度变化无统计学意义。PDR 患者玻璃体腔注射 1.25 mg (0.05 ml) 贝伐单抗 6 周,12 周其房水中 PEDF 质量浓度均呈上升趋势^[17]。Ahn 等^[6] 曾报道老年性黄斑变性患者玻璃体腔注射 0.5 mg (0.05 ml) ranibizumab 后 1 个月房水 PEDF 质量浓度下降。Matsuyama 等^[5] 发现 PDR 患者玻璃体腔注射 1.25 mg (0.05 ml) 贝伐单抗后 7 d 血清中 PEDF 质量浓度下降,目前发现相关的国内外研究结果间存在差异。本研究结果显示 PDR 患者玻璃体腔注射 ranibizumab 后 7 d 房水 VEGF 质量浓度明显降低,新生血管消退,同时房水中 PEDF 质量浓度亦下降。

本研究结果还显示,玻璃体腔注射 Ranibizumab 后 7 d 房水 PEDF 质量浓度较注射前明显下降,VEGF 和 PEDF 是体内新生血管生发的关键因子,PEDF 是体内新生血管抑制因子之一,同时有营养神经作用,在维

护正常的视网膜 VEGF 水平中发挥着重要作用。DR 动物实验研究表明,PEDF 能抑制 VEGF 转录因子在视网膜毛细血管内皮细胞 (retinal capillary endothelial cells, RCECs) 和 Müller 细胞中的表达,同时可以抑制 VEGF 与其受体的结合,从而抑制新生血管,但同时 VEGF 亦能下调 PEDF 在 RCECs 中的表达,但是此调节不作用于 Müller 细胞^[18]。此理论在动物实验中得到证实,假设在人体中亦成立,在 PDR 患者玻璃体注射后眼内 VEGF 含量降低的同时,能减弱 VEGF 对 PEDF 表达的下调作用,眼内 PEDF 含量应有所改变。但本研究中 VEGF 质量浓度在 PDR 患者注射 ranibizumab 后 7 d 显著下降,PEDF 质量浓度亦下降。实际上,机体细胞间的相互调节机制众多,可能存在多种机制同时发挥作用的情况,有待进一步研究。

参考文献

- [1] Penn JS, Madan A, Caldwell RB, et al. Vascular endothelial growth factor in eye disease [J]. Prog Retin Eye Res, 2008, 27(4): 331-371. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2008.05.001.
- [2] Mohan N, Monickaraj F, Balasubramanyam M, et al. Imbalanced levels of angiogenic and angiostatic factors in vitreous, plasma and postmortem retinal tissue of patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. J Diabetes Complicat, 2012, 26(5): 435-441. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2012.05.005.
- [3] Zheng B, Li T, Chen H, et al. Correlation between ficolin-3 and vascular endothelial growth factor-to-pigment epithelium-derived factor ratio in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy [J]. Am J Ophthalmol, 2011, 152(6): 1039-1043. DOI: 10.1016/j.ajo.2011.05.022.
- [4] Matsuyama K, Ogata N, Jo N, et al. Levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor in eyes before and after intravitreal injection of bevacizumab [J]. Jpn J Ophthalmol, 2009, 53(3): 243-248. DOI: 10.1007/s10384-008-0645-4.
- [5] Matsuyama K, Ogata N, Matsuoka M, et al. Plasma levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor before and after intravitreal injection of bevacizumab [J]. Brit J Ophthalmol, 2010, 94(9): 1215-1218. DOI: 10.1136/bjo.2008.156810.
- [6] Ahn JK, Moon HJ. Changes in aqueous vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor after Ranibizumab alone or combined with verteporfin for exudative age-related macular degeneration [J]. Am J Ophthalmol, 2009, 148(5): 718-724.
- [7] Stewart MW. Anti-VEGF therapy for diabetic macular edema [J]. Curr Diab Rep, 2014, 14(8): 510. DOI: 10.1007/s11892-014-0510-4.
- [8] Ferraz DA, Vasquez LM, Preti RC, et al. A ranibizumab controlled trial of panretinal photocoagulation with and without intravitreal ranibizumab in treatment-naïve eyes with non-high-risk proliferative diabetic retinopathy [J]. Retina, 2015, 35(2): 280-287. DOI: 10.1097/IAE.0000000000000363.
- [9] Massin P, Bandello F, Garweg JG, et al. Safety and efficacy of ranibizumab in diabetic macular edema (RESOLVE Study): a 12-month, randomized, controlled, double-masked, multicenter phase II study [J]. Diabetes Care, 2010, 33(11): 2399-2405.
- [10] Brown DM, Nguyen QD, Marcus DM, et al. Long-term outcomes of ranibizumab therapy for diabetic macular edema: the 36-month results

from two phase III trials; RISE and RIDE[J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(10): 2013-2022.

[11] Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, et al. Pharmacokinetics of intravitreal Ranibizumab (Lucentis)[J]. *Ophthalmology*, 2007, 114(12): 2179-2182.

[12] Gaudreault J, Fei D, Beyer JC, et al. Pharmacokinetics and retinal distribution of ranibizumab, a humanized antibody fragment directed against VEGF-A, following intravitreal administration in rabbits[J]. *Retina*, 2007, 27(9): 1260-1266.

[13] Gaudreault J, Fei D, Rusit J, et al. Preclinical pharmacokinetics of Ranibizumab (rhuFabV2) after a single intravitreal administration[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(2): 726-733.

[14] Krohne TU, Liu Z, Holz FG, et al. Intraocular pharmacokinetics of ranibizumab following a single intravitreal injection in humans[J]. *Am J Ophthalmol*, 2012, 154(4): 682-686.

[15] Funatsu H, Yamashita H, Noma H, et al. Aqueous humor levels of cytokines are related to vitreous levels and progression of diabetic retinopathy in diabetic patients[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005, 243(1): 3-8.

[16] Hu BJ. Influence of intravitreal avastin on the expression of cell factors in retinal proliferative embranen proliferative diabetic retinopathy eye[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(1): 55-59.

[17] 许菲, 邢怡桥, 陈长征, 等. 增生性糖尿病视网膜病变患者玻璃体腔 avastin 后房水 VEGF 和 PEDF 的变化[J]. *眼科研究*, 2010, 28(3): 219-220. DOI:10.3969/j.issn.1003-0808.2010.03.008.

[18] Zhang SX, Wang JJ, Gao G, et al. Pigment epithelium-derived factor down-regulates vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and inhibits VEGF-VEGF receptor 2 binding in diabetic retinopathy[J]. *J Mol Endocrinol*, 2006, 37(1): 1-12.

(收稿日期:2015-11-04)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)

· 临床经验 ·

飞秒激光辅助的大气泡法深板层角膜移植治疗圆锥角膜早期观察

陆燕 余婷 段娴艺 曹茜 杨丽萍 陈祥菲 王春红 黄振平

210002 南京军区南京总医院眼科

通信作者:黄振平, Email: huangzhenping1963@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.01.013

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81270979);江苏省自然科学基金面上项目(BK2012777);南京军区总医院管课题(2012040)

圆锥角膜是角膜中央或旁中央变薄且呈锥形向前凸起,造成高度近视和不规则散光的角膜病变。以往穿透性角膜移植(penetrating keratoplasty, PKP)是治疗圆锥角膜的主要术式,但可导致散光、角膜内皮细胞丢失及内皮型排斥反应,最终导致植片失代偿^[1]。深板层角膜移植术治疗圆锥角膜(deep anterior lamellar keratoplasty, DALK)可避免上述缺点。DALK是用供体的角膜板层代替病变角膜整个基质层(Descemet DALK)或75%以上的基质层(pre-Descemet DALK)^[2],大气泡技术则是分离角膜基质层与后弹力层的主要方法之一。本研究中采用VisuMax飞秒激光系统开展飞秒激光辅助的大气泡法Descemet DALK治疗圆锥角膜患者,观察其临床效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对2013年5至7月在南京军区南京总医院眼科确诊为圆锥角膜患者5例5眼进行飞秒激光辅助的大气泡法Descemet DALK治疗,患者均为男性,年龄20~29岁,平均(24.6±2.36)岁,除圆锥角膜外无其他眼部异常。供体角膜来自意外死亡的健康青壮年的新鲜尸眼,眼球摘除后冰块内保存,24h内用于手术。所有术眼随访5个月。所有患者术前均签署手术知情同意书。本研究严格遵守赫尔辛基宣言关于使用人体试验材料的基本原则。

1.2 术前检查 患者术前裸眼视力为数指~0.02,最佳矫正视力为数指~0.1;角膜曲率为48.56~73.38D,平均为(66.09±10.14)D;角膜地形图仪(美国EyeSys公司)测量术前平均角膜散

光为3.68~12.38D,平均为(8.97±4.21)D。OCT(德国蔡司公司)测量供体角膜厚度均>300μm。

1.3 手术方法及术后处理 术前供体眼球行常规消毒,置眼球固定器,角膜缘使用一次性负压吸引环,按预设的直径及厚度进行飞秒激光切割。供体角膜切割直径为7.4~7.7mm,平均为(7.54±0.11)mm,选择穿透角膜移植模式行周边垂直穿透切割。VisuMax飞秒激光的参数为:角膜周边切割能量为300nJ,切割方向为90°,飞秒激光扫描线距为1.5μm,飞秒激光光斑点距为1.5μm。患者常规手术消毒,术眼用盐酸布比卡因滴眼液点眼3次行表面麻醉,角膜缘使用一次性负压吸引环固定眼球,按照预先设置的参数进行飞秒切割,受体角膜切割直径为7.2~7.5mm,平均为(7.38±0.13)mm。VisuMax飞秒激光的参数设置同供体角膜。然后将患者转至内眼手术室,利多卡因与布比卡因等容积混合共5ml给予球后麻醉。将供体角膜在角膜剪及镊子辅助下进行分离,撕下后弹力层及内皮层,剩余板层角膜湿房保存备用。显微镜下通过已进行飞秒激光垂直边切的术眼角膜插入注气针头,在基质层及后弹力层之间注入气泡,然后用15°刀周边前房穿刺减低眼内压,在巩膜隧道刀及角膜剪辅助下逐层分离角膜,直至暴露清晰的后弹力层,将已备好的去除后弹力层及内皮层的供体角膜置于植床上,10-0尼龙线间断16针缝合。所有操作均由同一经验丰富的医师完成。术后每日静脉滴注地塞米松5mg和头孢呋辛1.5g,连续静脉滴注3d。可乐必妥滴眼液点眼,每日4次,连续点眼2周