

巩膜交联在病理性近视和青光眼治疗中的应用进展

蔡紫妍¹ 综述 刘可¹ 段宣初² 审校

¹中南大学湘雅二医院眼科,长沙 410000;²长沙爱尔眼科医院 中南大学爱尔眼科学院,长沙 410000

通信作者:段宣初,Email:duanxchu@csu.edu.cn

【摘要】 近视是常见的眼部疾病之一,病理性近视主要由眼轴的异常增长引起,其中巩膜生物力学减弱是病理性近视的重要特征之一。近年来,通过加固后巩膜提高巩膜硬度来防止眼轴增长已成为治疗病理性近视的一个重要方法。通过巩膜交联来直接加强巩膜硬度是一种新的治疗方法,目前尚处于动物实验和体外研究阶段。主要的巩膜交联方式包括核黄素加紫外线 A 光照射交联法和化学交联剂交联法。通常情况下,近视,尤其是高度近视患者更易罹患原发性开角型青光眼。青光眼和近视早期临床表现相似,发病机制亦有相同之处,两者之间具有相互促进和相互影响的关系,而强化巩膜、改善巩膜的生物力学特性以减少眼轴增长和巩膜形变的机制在这 2 种疾病的治疗方面存在共同之处。此外,巩膜交联法是否在治疗青光眼、减少视网膜神经节细胞损伤方面有一定的作用已经成为新的研究热点。本文就巩膜交联在青光眼、近视治疗中的动物实验、体外研究进展以及存在的争议进行综述,并分析巩膜交联治疗未来的发展方向。

【关键词】 近视; 青光眼; 疗法; 巩膜交联; 生物力学; 后巩膜加固

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81670859、81970801); 湖南省自然科学基金项目 (2019JJ40001); 长沙市科技局重点项目 (kh1801229); 湖南省重点领域研发计划资助项目 (2020SK2133); 爱尔眼科医院集团科研基金项目 (AR1906D1、AM1906D2)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20191107-00485

Progress of scleral cross-linking in the treatment of pathological myopia and glaucoma

Cai Ziyang¹, Liu Ke¹, Duan Xuanchu²

¹Department of Ophthalmology, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410000, China; ²Changsha Aier Eye Hospital, Aier Eye Academy of Central South University, Changsha 410000, China

Corresponding author: Duan Xuanchu, Email: duanxchu@csu.edu.cn

【Abstract】 Myopia is a common eye disease, and pathological myopia is mainly caused by abnormal axial elongation. The weakening of scleral biomechanics is one of the important characteristics of pathological myopia. In recent years, preventing the growth of the eyeball through strengthening the posterior sclera and improving the scleral stiffness has become a primary method to treat pathological myopia. Direct enhancement of scleral stiffness by scleral cross-linking is a new treatment under study, and the main methods of it include scleral collagen crosslinking induced by the photosensitizer riboflavin and ultraviolet-A irradiation, and induced by chemical reagent. People with myopia, especially high myopia, are more likely to suffer from primary open angle glaucoma. Glaucoma and myopia in the early stage are similar in clinical manifestations as well as the pathogenesis, which can promote and influence each other. There are some similarities in strengthening sclera, improving the scleral biomechanical properties, reducing axial elongation and scleral deformation in the treatment of the two diseases. Whether scleral cross-linking can be used as a new treatment of glaucoma and to reduce retinal ganglion cells damage has become a new research hotspot. In this article, the research progress in scleral cross-linking for the treatment of myopia and glaucoma were summarized, and the existing disputes were discussed in order to analyze the future of scleral cross-linking therapy.

【Key words】 Myopia; Glaucoma; Therapeutics; Scleral cross-linking; Biomechanics; Posterior scleral reinforcement

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81670859, 81970801); Natural Science Foundation of Hunan Province (2019JJ40001); Science and Technology Foundation of Changsha (kh1801229); Key Research and Development Program of Hunan Province (2020SK2133); Technology Foundation of Aier Eye Hospital (AR1906D1, AM1906D2)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20191107-00485

近视是常见的眼部疾病之一,它影响世界上约 22% 的人口,亚洲人群近视发病率较高^[1-2]。高度近视(等效球镜度 ≥ -6.00 D)会引起眼部结构的病理变化,并可能引起多种并发症,如青光眼、后巩膜葡萄肿、视网膜脱离等。病理性近视主要由眼轴的异常增长引起,其中巩膜生物力学减弱是病理性近视的重要特征之一。近年来,通过加固后巩膜提高巩膜硬度来防止眼轴增长成为治疗病理性近视的一个重要方法,临床上使用的治疗方法包括聚合凝胶注射和后巩膜加固术等,以防止眼球过度伸展。这些手术在阻止近视发展方面取得了一定的成功,但其均为高度侵入性手术,并且后巩膜加固术中,人工植入的异体巩膜会随着时间的延长而退化,失去加固巩膜的作用^[3-4]。通过巩膜交联来直接加强巩膜硬度的治疗方法也在研究中,目前主要的巩膜交联方式包括核黄素加紫外线 A 光照射交联法和化学交联剂交联法。此外,近年来的动物实验及体外实验还发现,巩膜的生物力学特性对高眼压下筛板的变形程度、视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)受损程度具有重要影响,因此,关于巩膜交联法是否在治疗青光眼、减少 RGC 损伤方面有一定的作用也成为新的研究热点。本文就巩膜交联在青光眼、近视治疗中的动物实验、体外研究进展以及存在的争议进行综述,并分析巩膜交联治疗未来的发展方向。

1 巩膜的胶原纤维组成和排列

巩膜约占人眼球外壳的 85%,是一种结构复杂且富有弹性的结缔组织,其主要作用包括维持眼球形态稳定,为眼内部易受损的结构,如视网膜、视盘等提供稳定的环境和保护,同时其不透明性可防止视轴外光传输影响视网膜成像^[5]。与其他结缔组织类似,巩膜主要由富含蛋白多糖和糖蛋白的水合基质及胶原纤维支架构成,其中 I 型胶原约占总胶原的 95%^[6]。胶原纤维成束状平行排列形成薄层或薄片状覆盖在眼球表面,单束胶原纤维的直径为 25~230 nm,不同于胶原原纤维直径相对均匀的角膜或筛板,巩膜的胶原原纤维直径在外巩膜、中巩膜和内巩膜之间有梯度递减^[5,7-8]。Jan 等^[9]使用偏振光显微镜观察绵羊眼的后巩膜,发现了交织形成篮式编织图案、沿着管道方向放射状和围绕管道环状排列的 3 种胶原排列方式。其中,视盘周围巩膜中的胶原主要为环状排列,有研究认为这种排列方式可以限制眼压引起的巩膜管扩张^[10-11]。关于篮式编织结构,有模型表明在胶原数量相同的情况下,具有篮式编织结构的巩膜硬度是无该结构巩膜的 2 倍^[5]。

2 巩膜生物学特性对近视、青光眼发生和发展的影响

通常情况下,近视多发生在学龄儿童中并且可发展至约 20 岁,后巩膜的伸长是青少年近视的主要特征^[5]。随着近视的不断进展,眼部结构随之发生变化,具体表现为眼轴伸长,同时伴有巩膜组织退变,巩膜变薄和巩膜胶原纤维基质的弱化^[12]。多项针对人类近视、实验性动物近视的研究均发现了近视中巩膜结构和组成的变化,如透明质酸和硫酸化糖胺聚糖水平降低、酶降解水平的上调、I 型胶原合成的下调和聚集蛋白聚糖的下调等。这种改变引起了巩膜胶原变细、巩膜变薄和生物力

学特性改变^[5]。Lin 等^[13]在透镜诱导的近视兔模型中观察到巩膜胶原原纤维直径显著变小。在人眼中,巩膜随着眼轴长度的增加而显著变薄^[14],在部分严重的高度近视中,有报道称巩膜厚度仅约为正常巩膜厚度的 31%^[5]。此外,有研究发现近视模型中巩膜蠕变增加,引起眼轴增长,近视发展。这些研究结果表明,巩膜重塑和随之而来的生物力学性质的改变是近视发展的主要特征。

青光眼的视力丧失是由于 RGC 轴突不可逆转的丢失所致,作用于视盘轴突、细胞和细胞外基质的生物力学因素参与了这一过程^[15]。筛板和视盘周围巩膜共同构成视盘的结缔组织,这是青光眼力学作用的重要区域,也是轴突损伤首先发生的位置^[5,15]。从机械的角度来看,视盘本质上是一个“薄弱点”,因为在由角巩膜形成完整的眼球壳中,它是一个结构不连续的点。眼压通过 2 种方式作用于筛板,一是眼压和眼球后神经组织之间的跨层压力差,二是通过视盘周围巩膜传导的环向应力^[7]。这 2 种应力结合起来产生形变,导致视盘神经胶质和结缔组织的改变以及 RGC 轴突的损伤^[16]。生物力学模型表明,巩膜的力学行为显著影响了筛板的应力和形变,并且可能是青光眼 RGC 轴突损伤的关键机械驱动因素^[17]。影响视盘生物力学的 5 个重要因素依次被确定为巩膜硬度、眼球体积、眼压、筛板硬度和巩膜厚度^[5]。Sigal 等^[18]研究发现,筛板应变程度对巩膜硬度较筛板硬度更敏感。在巩膜较柔软、顺应性好的情况下,眼压升高引起的巩膜变形较大,应力传递到巩膜管,导致较大的巩膜管扩张,拉动筛板绷紧。相反,硬度较大的巩膜在眼压的作用下变形很小,引起较小的巩膜管和筛板变形,但筛板也可能因此而向后弯曲^[5,19]。在大多数高血压眼中可观察到筛板的部分区域变薄和巩膜管扩张^[20]。筛板和视盘的变形影响从其中穿过的 RGC 轴突、星形胶质细胞、血管和结缔组织。压力升高引起 RGC 的顺向和逆向轴浆流中断、毛细血管营养功能障碍和神经胶质细胞的异常激活,并引起 RGC 的凋亡,最终导致青光眼的发生^[7,21-22]。与实验性青光眼小鼠、猴一样,具有显著 RGC 损伤的人类青光眼供体的巩膜明显较健康眼的巩膜硬,但是无视野损害的青光眼供体眼与有视野损害供体眼的巩膜硬度相差不大^[23]。关于这个结果,存在 2 种完全相反的观点:一种观点认为柔软的巩膜增加了青光眼的易感性,青光眼中巩膜的变硬是一种代偿和保护作用;另一种观点则认为巩膜的硬化是青光眼的易感因素,并且会随着疾病的发展而变得更加僵硬^[7]。

据调查发现,有高度近视的人往往更容易患原发性开角型青光眼^[7]。首先,近视患眼的巩膜由于上文所述的结构和组成的变化,导致巩膜胶原变细,生物力学特性改变,使得巩膜,尤其是后巩膜变薄,在高眼压作用下更容易产生形变而导致巩膜管扩张^[5]。其次,由于高度近视巩膜结构改变,硬度降低,近视患者所测得的眼压往往要低于实际值^[24]。此外,有研究表明高度近视病理改变可导致跨筛板压力梯度的增加,跨筛板压力梯度的变化可能是青光眼视神经损害的一个危险因素^[25],而升高的眼压可进一步引起眼球扩大和眼轴增长。近年来有文献报道,某些青光眼和高度近视患者的病理改变存在相似之

处,包括筛板变薄、视盘周围巩膜变薄、视盘旁萎缩等^[25]。因此,青光眼和近视之间具有相互促进的关系,并且强化巩膜,改善巩膜的生物力学特性,减少眼轴增长和巩膜形变在治疗这 2 种疾病方面可能是通用的。

3 巩膜交联在青光眼和近视治疗中的应用

胶原交联是指通过诱导胶原纤维之间形成共价键,提高胶原交联的密度,增加胶原纤维的直径,降低胶原被降解位点的可及性。通过交联,巩膜对蛋白水解酶的耐受性提高,硬度增大,生物力学特性得到改善,这在防止近视眼巩膜重塑和生物力学减弱的进程中具有决定性作用,可以防止眼轴的病理性增长,阻止近视的发生和发展^[26]。此外,硬化的巩膜可以减轻高眼压下筛板的变形以及视神经损伤,从而对视神经起到保护作用^[7,15,20]。

目前,巩膜交联主要有物理交联法和化学交联法 2 种方法。物理交联法常用的是紫外线 A 联合核黄素照射法。核黄素作为光敏剂在波长 370 nm 的紫外线 A 作用下产生 II 型光化学反应,激发为三线态而产生活性氧簇,然后活性氧簇再与各种分子发生相互作用诱导巩膜胶原交联,提高了巩膜胶原纤维的生物力学强度,防止巩膜进一步扩张^[27]。此外,还有研究表明,紫外线 A 联合核黄素照射后,巩膜硬度能够提高,但是由于这种交联方法需要使巩膜暴露在紫外线下,而紫外线 A 能够穿过巩膜,因此有可能对视网膜产生不利影响^[28]。研究发现,用波长 370 nm 的紫外线 A 以 4.2 mW/cm² 的强度照射兔巩膜 30 min 后,光感受器和视网膜色素上皮细胞可出现明显损伤^[29]。化学交联法常用的化学交联剂包括核糖、甘油醛、戊二醛和京尼平等,其反应机制是使巩膜胶原纤维发生非酶促糖化反应,又称美拉德反应^[8,15,28],是蛋白质、脂质或核酸等大分子在没有酶参与的条件下,与葡萄糖或其他还原单糖自发反应所生成的稳定共价加成物^[30]。在该反应中,交联剂(还原糖类)中的游离羰基与氨基酸反应缩合成席夫碱,随后席夫碱发生阿马道里重排,形成相对稳定的 Amadori 产物。Amadori 产物再经过一系列反应,最终生成晚期糖基化终产物(advanced glycation end-products, AGEs)^[31]。AGEs 与相邻蛋白上游离的氨基以共价键结合,形成 AGEs 交联结构,由此产生的共价胶原交联增强了组织的硬度和抗酶降解能力^[8]。Krasselt 等^[32]研究表明,物理交联法和化学交联法均能有效增强兔巩膜组织对基质金属蛋白酶 1 降解的抵抗力。这 2 种交联方法均已在体外实验和动物实验中得到应用,并取得一定的疗效,但到目前为止,尚未见到相关人体试验的研究报道。

3.1 物理交联法

Dotan 等^[33]在测量 13 日龄的新西兰白兔眼轴长度后将其睑缘缝合,通过形觉剥夺构建近视模型,随后将右眼巩膜分成 4 个象限,每个象限设置 2 个面积为 0.2 cm² 的照射区域,分别位于赤道部和巩膜后部,将质量分数 0.1% 无葡聚糖的核黄素-5-磷酸盐滴加到照射区域 20 s,使用 57 mW/cm² (总紫外线 A 光剂量为 57 J/cm²) 波长为 370 nm 的紫外线 A 垂直照射,并在 200 s 的照射时间内每 20 s 重复滴加药物,在第 55 天去除睑缘

缝合,然后重复测量眼轴长度,结果发现术后 54 d,进行睑缘缝合+巩膜交联的交联眼较对侧空白对照眼的眼轴长度增长量变小,而仅接受了睑缘缝合术的非交联眼较对侧空白对照眼的眼轴长度明显增加,并且睑缘缝合+巩膜交联眼较仅接受睑缘缝合术者眼轴长度明显缩短。该实验表明,核黄素和紫外线 A 照射诱导的巩膜交联可有效防止兔模型中形觉剥夺诱导的眼轴长度增长。但是,该研究仅测量了实验前后眼轴的长度变化,而未检测屈光度或巩膜生物结构和生物力学特性的改变。Liu 等^[3]在豚鼠中的实验也得到了类似的结果。Rong 等^[34]采用了一种特殊的交联方法,该研究中未采用德国德累斯顿开发的初代胶原交联方案(365 nm, 3 mW/cm², 30 min),而是采用已经被证实有效的加速交联法(370 nm, 10 mW/cm², 9 min)^[35],同时辅以离子电渗疗法增加药物的跨巩膜渗透性,在不良反应较小的情况下运送高浓度的药物,并将这种方案应用于形觉剥夺近视新西兰白兔模型,对实验眼赤道部直径约 9 mm 的区域进行巩膜交联,分别于术后 1 d、10 d、1 个月和 3 个月进行数据采集。该研究结果显示,术后 1 个月采用离子电渗辅助加速巩膜核黄素/紫外线 A 交联(iontophoresis-assisted accelerated riboflavin/ultraviolet A scleral cross-linking, i-ASXL)治疗的实验眼眼轴长度明显短于未进行 i-ASXL 治疗的近视模型眼,差异有统计学意义,但 3 个月时差异无统计学意义。术后 1 d、10 d、1 个月和 3 个月,实验眼巩膜的极限应力、杨氏模量和生理杨氏模量均显著高于近视模型眼。电子显微镜下观察发现,术后 1 d 和 3 个月实验眼的巩膜胶原纤维直径大于仅接受形觉剥夺的非交联眼,实验眼和空白对照眼中还发现成纤维细胞代谢活跃,产生大量胶原;而仅接受形觉剥夺的非交联眼则相反,在其中发现了一定数量的静息成纤维细胞。此外,术后 10 d 和 1 个月,实验眼的 I 型胶原 A1 和 A2 基因的相对表达水平平均显著高于仅接受形觉剥夺的非交联眼,差异有统计学意义,但术后 3 个月时差异无统计学意义。以上结果表明,i-ASXL 治疗可有效改善巩膜的生物力学特性和抗变形能力,控制其扩张,限制眼轴的病理性增长,并且影响胶原代谢。该研究通过苏木精-伊红染色和 TUNEL 检测证明,4 个时间点实验眼的巩膜、脉络膜和视网膜均未见明显结构变化或退化性改变;除早期巩膜外层有凋亡阳性信号外,在脉络膜、视网膜均未见明显凋亡信号,表明这种改良的交联法未对眼部组织造成明显损伤。

3.2 化学交联法

关于化学交联法,近年来也有多个实验对其进行了研究。Lin 等^[8]构建了离焦性近视兔眼模型,采用 0.5 mol/L 甘油醛 0.15 ml 进行 Tenon 囊下注射来实现交联效果,结果发现交联组的眼轴长度明显短于非交联组,平均极限应力和杨氏模量较非交联组和空白对照组均显著提高。此外,在交联组的巩膜基质中还观察到了直径大于 240 nm 的胶原纤维,而这种大的胶原纤维在另外 2 个组的巩膜基质中均未被发现。这表明使用甘油醛进行巩膜交联可以有效阻断离焦性近视眼模型中兔眼的轴向伸长,并且改善巩膜的生物力学性能。此外,光学显微镜检查结果显示,在视网膜和脉络膜中均未观察到组织学损

伤,表明这种交联方法是安全、可靠的。Kim 等^[28]未采用戊二醛,而是采用核糖、蔗糖和糖原对新西兰白兔进行 Tenon 囊下注射,结果表明相同浓度下,拉曼光谱显示核糖处理组的胶原交联最强,蔗糖其次,糖原最低;原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)的观察结果与之类似,对照组的 AFM 图像表现为典型的正常巩膜,表面具有规则的、平行排列的胶原原纤维。0.4 mol/L 糖原和 0.4 mol/L 蔗糖处理的巩膜组织出现了胶原纤维的不规则排列,但胶原纤维直径与对照组相比差异无统计学意义。0.4 mol/L 核糖交联组的巩膜可见胶原纤维的明显不规则平行排列和纤维缠结,并且胶原纤维直径增加了 30%。Wang 等^[36]使用京尼平在豚鼠巩膜中诱导交联,也得到了相似的结果,他们发现胶原直径增加了约 20%。以上结果表明,非酶促糖化巩膜交联法改变了巩膜的组织结构,提高了巩膜的生物力学刚性。糖基化巩膜交联可能是抑制高度近视进展一种很有前途的方法。在核糖中交联效果尤为明显,这种差异被认为与糖的还原性有关。在非酶促糖化反应中,作为还原糖的核糖具有游离羰基,可以与蛋白质的氨基反应,而蔗糖和糖原是非还原性碳水化合物,必须先水解才能进行交联反应。El Hamdaoui 等^[37]研究发现,京尼平可以剂量依赖性地降低树鼯近视模型中眼屈光度和眼轴增长,并能够引起角膜和晶状体的增厚以及前房变浅。但是以上实验也存在一定的不足, Kim 等^[28]所用的拉曼光谱不能直接测量巩膜的硬度,也未通过组织学分析来评价视网膜和结膜是否受损;此外,以上实验用于分析的巩膜组织均为 Tenon 囊下注射部位的巩膜组织,而不是直接影响眼球轴向伸长的后巩膜组织。赵亚芳等^[38]的研究也表明,京尼平巩膜交联可以增强巩膜的生物力学强度,抑制兔眼形觉剥夺诱导的近视形成。但是京尼平巩膜交联不具备特异性,可能对巩膜周围的筋膜、肌肉组织,甚至视神经造成影响,因此其安全性有待进一步研究完善。

除了在近视方面有治疗作用外,近年来也有不少关于巩膜交联在青光眼防治方面的研究。Coudrillier 等^[15]通过实验评估了视盘周围巩膜交联对筛板变形的影响,该研究将浸有体积分数 1.25% 戊二醛的环形海绵置于猪眼的视盘周围巩膜表面 5 min,然后通过数字图像和数字体积相关技术测定不同眼压作用下巩膜和筛板的变形程度,结果显示经过戊二醛处理后的巩膜在不同眼压作用下的应变均较对照组明显降低,并且在较低压力下降低程度更大。同时,随着巩膜的硬化,筛板的变形程度也明显降低,在 15 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) 压力的作用下,巩膜相对硬度平均提高 37%,对应筛板变形度平均降低 47%,该研究认为视盘周围巩膜硬化会降低筛板内的生物力学应变,但其是否能在青光眼中起到保护作用仍有待进一步的研究证实。

4 巩膜交联治疗法存在的问题和思考

目前,角膜交联法已被应用于临床以治疗圆锥角膜和角膜扩张^[39-40],然而巩膜交联法仍然停留在动物实验和体外实验阶段。尽管多项研究证明巩膜交联法在预防近视发展方面有效,但这种治疗方法到目前为止仍存在许多问题。

首先,对于紫外线 A 联合核黄素照射交联法,如何将后巩膜暴露在紫外线下的同时避免眼球其他部位和视神经受到散射紫外线的照射损伤是一个需要解决的问题。同时,由于紫外线可以穿过巩膜,视网膜及其他眼内组织可能会受到紫外线导致的细胞毒性影响^[41]。尽管有多个实验结果表明,核黄素、紫外线 A 巩膜交联法未对猴的视网膜和脉络膜等组织以及眼部的各项生物学参数造成明显影响^[42-43],但是这些实验均局限于近期研究,未进行远期观察。Wollensak 等^[29]研究发现,采用波长 370 nm 的紫外线 A 以 4.2 mW/cm² 强度照射兔巩膜 30 min 后,光感受器和视网膜色素上皮层出现明显损伤。而 Rong 等^[34]采用波长 370 nm 紫外线 A 以 10 mW/cm² 强度照射 9 min,并辅以离子电渗疗法,结果未见明显的视网膜和脉络膜损伤。这表明紫外线 A 联合核黄素照射交联的方案可能影响眼部组织的受损程度,而如何设置一个合理的照射方案使得治疗有效的同时将不良反应减到最小仍有待进一步研究。Rong 等^[34]的实验还证实了紫外线 A 联合核黄素照射影响了胶原的代谢和相关基因的表达,这种改变在远期是否会引起眼部的损伤目前仍不清楚。

其次,对于化学交联剂交联法,目前的研究尚未发现脉络膜和视网膜在治疗后受到明显影响,但是这些观察均局限在短期内,而巩膜硬化对眼内部组织的影响可能是一个长期的过程。此外,不能忽视的是,美拉德反应引起的巩膜交联会导致 AGEs 的形成,这可能是青光眼发病的危险因素之一^[44-45]。吴元等^[46]开展的体外实验还表明,全眼球交联法和巩膜条带交联法对猪巩膜化学交联后的力学效果存在影响,巩膜条带交联法的效果优于全眼球交联法,因此,不同的交联方法也对实验结果存在影响。

尽管许多实验表明巩膜交联对近视和青光眼可能有治疗作用,但同时也有些实验得到了不同或者完全相反的结果。Chu 等^[47]采用形觉剥夺的方法建立了近视豚鼠模型,并使用甘油醛对巩膜进行交联处理,结果表明尽管交联后巩膜条带的极限应力和杨氏模量较对照组均明显增加,但并未延缓近视的发展,这可能与实验动物的不同有关。因此,在动物中得到的实验结果是否能够成功地复制在人体上仍不清楚。与 Coudrillier 等^[15]认为增加巩膜硬度可能是青光眼一种潜在的治疗方式这一结论相反, Kimball 等^[16]研究发现,实验性巩膜交联增加了青光眼小鼠模型中的 RGC 损伤。Kimball 等^[16]选用一种对轴突损伤敏感性更高的 CD1 小鼠,在 1 周内结膜下注射 0.5 mol/L 甘油醛 3 次进行巩膜交联,并在交联后 1 周通过前房微珠注射诱导高眼压,结果发现甘油醛治疗降低了巩膜通透性,引起巩膜硬度的增加和应变的减少,同时甘油醛交联组小鼠在微珠注射诱导的高眼压中 RGC 损失较未交联小鼠明显增加。有趣的是,在实验诱导的高眼压中具有胶原 8A2 突变小鼠(Aca23)的 RGC 未受损伤^[48],这种小鼠由于基因突变,巩膜较野生型小鼠更硬,在上述甘油醛处理的 CD1 小鼠中也是如此,但是在 Aca23 小鼠和甘油醛处理的 CD1 小鼠中所引起的 RGC 轴突损伤却完全不同。这提示我们,不仅是巩膜的基础硬度,巩膜对眼压升高的反应可能也会影响眼球对眼压升高的敏感性。此

外,Clayson 等^[49]研究发现,在眼球内容物体积发生相同的微小变化时,角巩膜硬度的增加会导致眼压变化的峰值明显增大。眼内容物体积变化是眼压波动的基础,而包裹眼球的角巩膜的机械性质与眼压波动的特征相关。可以合理地推测,在相同的体积变化下,角巩膜顺应性较好的眼球可能比巩膜较硬眼球的眼压波动小。而眼压波动被认为是除高血压之外一个额外的青光眼危险因素,较大的眼压波动可能与较差的预后相关^[50]。这些结果提示我们可能要慎重权衡巩膜交联在青光眼治疗方面带来的正面和负面影响。

5 展望

巩膜交联作为一种新的治疗方法,其优点主要包括无需手术、创伤小、不良反应轻微、治疗效果明显等。但也存在许多需要解决的问题,包括对视网膜、脉络膜组织的长期影响尚未知,如何将交联局限在需要进行治疗的区域而尽可能减少对其他组织的影响,以及巩膜交联对青光眼治疗存在正面和负面的双重作用等。目前已有一些改良的交联方案,如 Rong 等^[34]采用的离子电渗药物导入辅助核黄素、紫外线 A 巩膜交联法,以及 Coudrillier 等^[15]提出的在使用巩膜交联法治疗青光眼时只对视盘周围巩膜而非全巩膜进行交联并采用浓度较低的交联剂。但是,巩膜交联治疗法的安全性和有效性仍有待进一步研究验证。此外,目前的实验均局限在动物实验或者体外实验,并且不同种类动物中得到的实验结果也不尽相同^[8,28-29,42-43,47],而这些实验结果是否能够成功地复制到人体目前尚未知。许多实验中使用的交联剂,如戊二醛,尽管有非常好的交联效果,但是由于生物相容性的问题无法在体内使用^[15]。因此,我们还需要寻找一种交联效果好且可以在体内使用的交联剂。巩膜交联是一种极具潜力的治疗病理性近视和青光眼及保护视神经的方法,在这个方向上,仍然有很大的研究空间。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, et al. Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050 [J]. *Ophthalmology*, 2016, 123(5): 1036-1042. DOI: 10.1016/j.ophtha.2016.01.006.
- [2] Dolgin E. The myopia boom [J]. *Nature*, 2015, 519(7543): 276-278. DOI: 10.1038/519276a.
- [3] Liu S, Li S, Wang B, et al. Scleral cross-linking using riboflavin UVA irradiation for the prevention of myopia progression in a guinea pig model: blocked axial extension and altered scleral microstructure [J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0165792 [2021-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5102452/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0165792.
- [4] Zhu SQ, Zheng LY, Pan AP, et al. The efficacy and safety of posterior scleral reinforcement using genipin cross-linked sclera for macular detachment and retinoschisis in highly myopic eyes [J]. *Br J Ophthalmol*, 2016, 100(11): 1470-1475. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2015-308087.
- [5] Boote C, Sigal IA, Grytz R, et al. Scleral structure and biomechanics [J/OL]. *Prog Retin Eye Res*, 2020, 74: 100773 [2021-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7187923/>. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2019.100773.
- [6] Thale A, Tillmann B. The collagen architecture of the sclera-SEM and immunohistochemical studies [J]. *Ann Anat*, 1993, 175(3): 215-220. DOI: 10.1016/s0940-9602(11)80004-x.
- [7] Quigley HA, Cone FE. Development of diagnostic and treatment strategies for glaucoma through understanding and modification of scleral and lamina cribrosa connective tissue [J]. *Cell Tissue Res*, 2013, 353(2): 231-244. DOI: 10.1007/s00441-013-1603-0.
- [8] Lin X, Naidu RK, Dai J, et al. Scleral cross-linking using glycerinaldehyde for the prevention of axial elongation in the rabbit: blocked axial elongation and altered scleral microstructure [J]. *Curr Eye Res*, 2019, 44(2): 162-171. DOI: 10.1080/02713683.2018.1522647.
- [9] Jan NJ, Lathrop K, Sigal IA. Collagen architecture of the posterior pole: high-resolution wide field of view visualization and analysis using polarized light microscopy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(2): 735-744. DOI: 10.1167/iovs.16-20772.
- [10] Gogola A, Jan NJ, Lathrop KL, et al. Radial and circumferential collagen fibers are a feature of the peripapillary sclera of human, monkey, pig, cow, goat, and sheep [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(12): 4763-4774. DOI: 10.1167/iovs.18-25025.
- [11] Grytz R, Meschke G, Jonas JB. The collagen fibril architecture in the lamina cribrosa and peripapillary sclera predicted by a computational remodeling approach [J]. *Biomech Model Mechanobiol*, 2011, 10(3): 371-382. DOI: 10.1007/s10237-010-0240-8.
- [12] Sergienko NM, Shargorogska I. The scleral rigidity of eyes with different refractions [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2012, 250(7): 1009-1012. DOI: 10.1007/s00417-012-1973-0.
- [13] Lin X, Wang BJ, Wang YC, et al. Scleral ultrastructure and biomechanical changes in rabbits after negative lens application [J]. *Int J Ophthalmol*, 2018, 11(3): 354-362. DOI: 10.18240/ijo.2018.03.02.
- [14] Shen L, You QS, Xu X, et al. Scleral thickness in Chinese eyes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(4): 2720-2727. DOI: 10.1167/iovs.14-15631.
- [15] Coudrillier B, Campbell IC, Read AT, et al. Effects of peripapillary scleral stiffening on the deformation of the lamina cribrosa [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(6): 2666-2677. DOI: 10.1167/iovs.15-18193.
- [16] Kimball EC, Nguyen C, Steinhart MR, et al. Experimental scleral cross-linking increases glaucoma damage in a mouse model [J]. *Exp Eye Res*, 2014, 128: 129-140. DOI: 10.1016/j.exer.2014.08.016.
- [17] Coudrillier B, Tian J, Alexander S, et al. Biomechanics of the human posterior sclera: age- and glaucoma-related changes measured using inflation testing [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(4): 1714-1728. DOI: 10.1167/iovs.11-8009.
- [18] Sigal IA, Flanagan JG, Tertinegg I, et al. Finite element modeling of optic nerve head biomechanics [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(12): 4378-4387. DOI: 10.1167/iovs.04-0133.
- [19] Yang H, Downs JC, Sigal IA, et al. Deformation of the normal monkey optic nerve head connective tissue after acute IOP elevation within 3-D histomorphometric reconstructions [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(12): 5785-5799. DOI: 10.1167/iovs.09-3410.
- [20] Strouthidis NG, Girard MJ. Altering the way the optic nerve head responds to intraocular pressure-a potential approach to glaucoma therapy [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13(1): 83-89. DOI: 10.1016/j.coph.2012.09.001.
- [21] Grieshaber MC, Mozaffarieh M, Flammer J. What is the link between vascular dysregulation and glaucoma? [J]. *Surv Ophthalmol*, 2007, 52 Suppl 2: S144-154. DOI: 10.1016/j.survophthal.2007.08.010.
- [22] Tezel G, Fourth ARVO/Pfizer Ophthalmics Research Institute Conference Working Group. The role of glia, mitochondria, and the immune system in glaucoma [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(3): 1001-1012. DOI: 10.1167/iovs.08-2717.
- [23] Coudrillier B, Pijanka JK, Jefferys JL, et al. Glaucoma-related changes in the mechanical properties and collagen micro-architecture of the

- human sclera[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(7) : e0131396 [2021-05-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26161963/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0131396.
- [24] 杜非凡, 吴志鸿. 高度近视与原发性开角型青光眼相关机制研究进展[J]. *中国实用眼科杂志*, 2017, 35(4) : 368-371. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2017.04.004.
- [25] 曹奕雯, 杨迪亚, 王宁利. 高度近视与青光眼相互影响机制的探讨[J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(3) : 275-278. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.03.018.
Cao YW, Yang DY, Wang NL. Discussion of possible interaction mechanisms between high myopia and glaucoma[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(3) : 275-278. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.03.018.
- [26] Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion[J]. *Curr Eye Res*, 2004, 29(1) : 35-40. DOI: 10.1080/02713680490513182.
- [27] Schumacher S, Mrochen M, Wernli J, et al. Optimization model for UV-riboflavin corneal cross-linking[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(2) : 762-769. DOI: 10.1167/iovs.11-8059.
- [28] Kim TG, Kim W, Choi S, et al. Effects of scleral collagen crosslinking with different carbohydrate on chemical bond and ultrastructure of rabbit sclera: future treatment for myopia progression[J/OL]. *PLoS One*, 2019, 14(5) : e0216425 [2021-05-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6513270/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0216425.
- [29] 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.
- [30] Frimat M, Daroux M, Litke R, et al. Kidney, heart and brain: three organs targeted by ageing and glycation[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2017, 131(11) : 1069-1092. DOI: 10.1042/CS20160823.
- [31] 刘翼翔, 景浩. 体内美拉德反应及其产物的病理作用研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2010, 29(2) : 161-166.
Liu YX, Jing H. Advances in pathological effects of Maillard reaction products *in vivo*[J]. *J Food Sci Biotech*, 2010, 29(2) : 161-166.
- [32] Krasselt K, Frommelt C, Brunner R, et al. Various cross-linking methods inhibit the collagenase I degradation of rabbit scleral tissue[J/OL]. *BMC Ophthalmol*, 2020, 20(1) : 488 [2021-05-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33317477/>. DOI: 10.1186/s12886-020-01751-z.
- [33] Dotan A, Kremer I, Gal-Or O, et al. Scleral cross-linking using riboflavin and ultraviolet-a radiation for prevention of axial myopia in a rabbit model[J/OL]. *J Vis Exp*, 2016, (110) : e53201 [2021-05-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841336/>. DOI: 10.3791/53201.
- [34] Rong S, Wang C, Han B, et al. Iontophoresis-assisted accelerated riboflavin/ultraviolet A scleral cross-linking: a potential treatment for pathologic myopia[J]. *Exp Eye Res*, 2017, 162 : 37-47. DOI: 10.1016/j.exer.2017.07.002.
- [35] Shetty R, Pahuja NK, Nuijts RM, et al. Current protocols of corneal collagen cross-linking: visual, refractive, and tomographic outcomes[J]. *Am J Ophthalmol*, 2015, 160(2) : 243-249. DOI: 10.1016/j.ajo.2015.05.019.
- [36] Wang M, Corpuz CC. Effects of scleral cross-linking using genipin on the process of form-deprivation myopia in the guinea pig: a randomized controlled experimental study[J/OL]. *BMC Ophthalmol*, 2015, 15 : 89 [2021-05-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26220299/>. DOI: 10.1186/s12886-015-0086-z.
- [37] El Hamdaoui M, Levy AM, Gaonkar M, et al. Effect of scleral crosslinking using multiple doses of genipin on experimental progressive myopia in tree shrews[J/OL]. *Transl Vis Sci Technol*, 2021, 10(5) : 1 [2021-05-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34003978/>. DOI: 10.1167/tvst.10.5.1.
- [38] 赵亚芳, 许寅聪, 王超英, 等. 京尼平巩膜交联对兔形觉剥夺性近视形成的抑制作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37(12) : 962-966. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.12.005.
Zhao YF, Xu YC, Wang CY, et al. Inhibitory effect of scleral crosslinking using genipin on form-deprivation myopia in rabbits[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37(12) : 962-966. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.12.005.
- [39] Han D, He MN, Zhu Y, et al. Protective effects of riboflavin-UVA-mediated posterior sclera collagen cross-linking in a guinea pig model of form-deprived myopia[J]. *Int J Ophthalmol*, 2021, 14(3) : 333-340. DOI: 10.18240/ijo.2021.03.01.
- [40] Zhang F, Lai L. Advanced research in scleral cross-linking to prevent from progressive myopia[J]. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*, 2021, 10(2) : 161-166. DOI: 10.1097/APO.0000000000000340.
- [41] 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.
- [42] Ou-Yang BW, Sun MS, Wang MM, et al. Early changes of ocular biological parameters in rhesus monkeys after scleral cross-linking with riboflavin/ultraviolet-A[J]. *J Refract Surg*, 2019, 35(5) : 333-339. DOI: 10.3928/1081597X-20190410-03.
- [43] Sun M, Zhang F, Ouyang B, et al. Study of retina and choroid biological parameters of rhesus monkeys eyes on scleral collagen cross-linking by riboflavin and ultraviolet A[J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(2) : e0192718 [2021-05-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5805357/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0192718.
- [44] Bejarano E, Taylor A. Too sweet: problems of protein glycation in the eye[J]. *Exp Eye Res*, 2019, 178 : 255-262. DOI: 10.1016/j.exer.2018.08.017.
- [45] Schweitzer C, Coughard-Gregoire A, Rigalleau V, et al. Autofluorescence of skin advanced glycation end products as a risk factor for open angle glaucoma: the ALIENOR Study[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(1) : 75-84. DOI: 10.1167/iovs.17-22316.
- [46] 吴元, 杨松霖, 李海丽, 等. 不同交联方法对离体猪巩膜交联效果的比较[J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(2) : 168-171. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.02.015.
Wu Y, Yang SL, Li HL, et al. Effect of collagen crosslinking on porcine sclera with different methods[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(2) : 168-171. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.02.015.
- [47] Chu Y, Cheng Z, Liu J, et al. The effects of scleral collagen cross-linking using glyceraldehyde on the progression of form-deprived myopia in guinea pigs[J/OL]. *J Ophthalmol*, 2016, 2016 : 3526153 [2021-05-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4967684/>. DOI: 10.1155/2016/3526153.
- [48] Steinhart MR, Cone FE, Nguyen C, et al. Mice with an induced mutation in collagen 8A2 develop larger eyes and are resistant to retinal ganglion cell damage in an experimental glaucoma model[J]. *Mol Vis*, 2012, 18 : 1093-1106.
- [49] Clayson K, Pan X, Pavlatos E, et al. Corneoscleral stiffening increases IOP spike magnitudes during rapid microvolumetric change in the eye[J]. *Exp Eye Res*, 2017, 165 : 29-34. DOI: 10.1016/j.exer.2017.08.015.
- [50] Srinivasan S, Choudhari NS, Baskaran M, et al. Diurnal intraocular pressure fluctuation and its risk factors in angle-closure and open-angle glaucoma[J]. *Eye (Lond)*, 2016, 30(3) : 362-368. DOI: 10.1038/eye.2015.231.

(收稿日期:2021-05-25 修回日期:2021-09-21)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)