

## ·论著/角膜交联·

## 高辐照度快速经上皮角膜胶原交联术治疗原发性圆锥角膜

陈世豪 李旻旻 张佳 丁萍 王勤美

**【摘要】** 目的 采用最新超高紫外线强度超高紫外线能量经上皮快速角膜胶原交联(A-CXL)方法治疗原发性圆锥角膜,评价该方法的安全性和有效性。**方法** 自身前后对照研究。原发性圆锥角膜患者共 13 例(13 眼)。采用超高紫外线强度超高紫外线能量经上皮 A-CXL 法,紫外线辐射强度为 45 mW/cm<sup>2</sup>,照射时间为 2 min 40 s,总能量为 7.2 J/cm<sup>2</sup>。术前和术后 7 d、1 个月、3 个月、6 个月、12 个月随访检查包括眼科常规检查、UCVA、BCVA、屈光不正、角膜曲率、角膜前后表面高度(AE、PE)、角膜表面上下不对称性指数(IVA)、角膜最薄点厚度(CT)、补偿眼内压(IOP<sub>cc</sub>)、角膜内皮细胞密度(ECD)等。采用重复测量方差分析法分析各参数的变化情况。**结果** 术后 UCVA( $F=6.111, P<0.01$ )和 BCVA( $F=9.734, P<0.01$ )显著提高,球镜度减少( $F=5.871, P<0.05$ ),陡峭子午线曲率( $F=19.651, P<0.05$ )和最大角膜曲率( $F=3.253, P<0.05$ )显著下降,AE( $F=23.958, P<0.01$ )和 PE( $F=20.832, P<0.01$ )显著下降,IVA 减少( $F=4.068, P<0.05$ )。CT( $F=4.180, P>0.05$ )、ECD( $F=1.812, P>0.05$ )和 IOP<sub>cc</sub>( $F=0.332, P>0.05$ )改变无统计学意义。**结论** 超高紫外线强度超高紫外线能量经上皮 A-CXL 治疗原发性圆锥角膜是安全有效的。

**【关键词】** 角膜胶原交联术; 快速交联; 高能量; 圆锥角膜; 跨上皮方法; 治疗结果

**Pilot study of transepithelial, very high fluence accelerated corneal collagen cross-linking in primary keratoconus** Chen Shihao, Li Yini, Zhang Jia, Ding Ping, Wang Qinmei. Eye Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang Eye Hospital, Wenzhou 325027, China

Corresponding author: Wang Qinmei, Email: wqm@mail.eye.ac.cn

**【Abstract】** **Objective** Evaluate the safety and effectiveness of transepithelial, very high fluence accelerated corneal collagen cross-linking (A-CXL) in primary keratoconus. **Methods** Self-control study. Thirteen primary keratoconus eyes of 13 patients were treated with transepithelial, very high fluence A-CXL with a UVA intensity of 45 mW/cm<sup>2</sup>, an irradiation time of 2 min 40 s, and a total energy of 7.2 J/cm<sup>2</sup>. Routine ophthalmologic examination, UCVA, BCVA, refractive error, corneal keratometry, anterior and posterior elevation (AE and PE), index of vertical asymmetry (IVA), minimum corneal thickness (CT), compensated intraocular pressure (IOP<sub>cc</sub>), endothelial cell density (ECD) were evaluated pre-operatively and 7-day, 1-month, 3-month, 6-month, 12-month post-operatively. **Results** The UCVA ( $F=6.111, P<0.01$ ) and BCVA ( $F=9.734, P<0.01$ ) showed a statistically significant improvement by 12-month post-operatively. The decrease in spherical lens ( $F=5.871, P<0.05$ ), steeper K-value ( $F=19.651, P<0.05$ ), K<sub>max</sub> ( $F=3.253, P<0.05$ ), AE ( $F=23.958, P<0.01$ ), PE ( $F=20.832, P<0.01$ ) and IVA ( $F=4.068, P<0.05$ ) were statistically significant. CT ( $F=4.180, P>0.05$ ), ECD ( $F=1.812, P>0.05$ ) and IOP<sub>cc</sub> ( $F=0.332, P>0.05$ ) were without significant change. **Conclusion** Transepithelial, very high fluence A-CXL is safe and effective in treating primary keratoconus.

**【Key words】** Corneal collagen cross-linking; Accelerated cross-linking; High energy; Keratoconus; Transepithelial methods; Therapy outcome

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2015.03.006

基金项目:温州市重点科技创新团队项目(C20120009-02);温州市科技局资助项目(Y20130126);温州医科大学附属眼视光医院院内创新引导项目(YNCX201103)

作者单位:325027 温州医科大学附属眼视光医院 眼视光学院 浙江省眼科医院

通信作者:王勤美,Email: wqm@mail.eye.ac.cn

原发性圆锥角膜是一种病因不明的,以中央或旁中央角膜双侧性、非对称性、进行性变薄,角膜似锥状前凸为特征的角膜退行性病变。传统的治疗方法包括框架眼镜、RGPCl、角膜基质环植入等,但均无法阻止圆锥角膜进展。约 20% 患眼最终需要角膜移植。

角膜胶原交联术(corneal collagen cross-linking, CXL)通过增加角膜基质胶原纤维间的共价键,增加圆锥角膜的生物力学稳定性<sup>[1]</sup>,来延缓甚至阻止病变进展,从而延缓甚至避免了角膜移植手术。经典 CXL 紫外线辐照度低(3 mW/cm<sup>2</sup>),照射时间长,为了缩短治疗时间,近 2 年来出现了快速 CXL 法(accelerated CXL, A-CXL)<sup>[2]</sup>,即保持紫外线总剂量不变,加大辐照度,从而缩短照射时间,加快进程,提高患者治疗舒适度。Kanellopoulos 等<sup>[3]</sup>报道了地形图引导的经上皮 A-CXL 治疗 LASIK 术后高散光回退病例,该报道中使用了高紫外线辐照度(45 mW/cm<sup>2</sup>)、高紫外线能量(7 J/cm<sup>2</sup>)和高浓度核黄素(0.25%),患者术后角膜表面规则性改善。本研究旨在采用最新超高紫外线强度超高紫外线能量经上皮 A-CXL 方法,通过自身前后对照研究评价其在治疗原发性圆锥角膜中的安全性和有效性。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

入选标准:男、女性别不限;无种族限制;患有原发性圆锥角膜,并处于进展阶段(1 年内屈光状态增加  $\geq 1.00$  D,或角膜曲率增加  $\geq 1.00$  D);角膜最薄点厚度  $> 400$   $\mu\text{m}$ ;无法耐受或不愿接受接触镜;无其他影响视力的眼部疾病;患者愿意并能够坚持随访。

排除标准:独眼患者;圆锥角膜晚期患者,不能从 A-CXL 术中获益;术前 RGPCl 停戴时间  $\leq 4$  周,或软性角膜接触镜停戴时间  $\leq 2$  周;存在急性眼部感染或其他眼部活动性疾病;对术中用药或术后药物过敏者;伴未控制的全身性疾病(如糖尿病、高血压、心血管疾病);处于怀孕或哺乳期或准备怀孕的女性;在过去半年内或正在服用抗精神病和抗抑郁病药物的患者;无法理解或配合此研究程序者。

由于圆锥角膜是进行性的角膜退行性病变,无法自行缓解,同一患者双眼发病程度和进展速度不等,且不同患者发病程度和进展速度也不同,故本研究采用自身前后对照研究设计。本研究收集 2013 年 3-9 月于温州医科大学附属眼视光医院屈光手术中心就诊的原发性圆锥角膜行 A-CXL 治疗的患者。

本研究通过温州医科大学附属眼视光医院伦理委员会批准,并遵循赫尔辛基宣言和中国关于临床试

验研究的伦理标准、规范、法规。参与本研究的患者,均于术前由本人或监护人签署知情同意书和告知书。

### 1.2 术前检查及准备

术前检查包括:眼科常规检查;采用标准对数视力表检查 UCVA 和 BCVA,以小数记录法记录,转换为 logMAR 视力统计;屈光状态、Pentacam 眼前节诊断分析仪测量角膜曲率、角膜前后表面高度、角膜形态参数等,眼前节分析仪测量矫正眼内压(corneal-compensated intraocular pressure, IOPcc),以及角膜厚度、角膜内皮。

患者术前 3 d 予 0.3% 妥布霉素滴眼液点眼,每天 4 次,0.5% 马来酸噻吗洛尔滴眼液点眼,每天 2 次。手术当天术眼予抗生素-生理盐水冲洗泪道、结膜囊,爱尔卡因滴眼液点眼 1 次,常规碘伏消毒,2% 硝酸毛果芸香碱滴眼液点眼缩瞳。

### 1.3 手术方法

患者平躺位,铺一次性灭菌眼科洞巾,爱尔卡因滴眼液点眼 1 次,开睑器开睑,平衡盐溶液冲洗结膜囊,放置角巩膜缘保护环,调整紫外线发射头位置,红色十字光标对准角膜中心。ParaCel 经上皮核黄素滴眼液(含 0.25% 核黄素,并含有羟丙基甲基纤维素和苯扎氯铵)(美国 Avedro 公司)点眼均匀涂布于角膜上,每 1.5 min 点眼 1 次,共 6.0 min。点眼结束后立即换用 VibeX Xtra 核黄素滴眼液(含 0.22% 核黄素的等渗盐溶液)(美国 Avedro 公司)均匀涂布于角膜上,每 1.5 min 点眼 1 次,共 8.0 min。生理盐水冲洗去除角膜表面的核黄素溶液,测量角膜厚度,确保最小厚度在 400  $\mu\text{m}$  以上。开始紫外线(美国 Avedro 公司)照射,波长为 365 nm,照射强度 45 mW/cm<sup>2</sup>,照射时间 2 min 40 s,照射形式均为(1 s 亮,1 s 暗)脉冲式照射,总能量均为 7.2 J/cm<sup>2</sup>。紫外线照射过程中予生理盐水点眼防止角膜表面出现干燥斑,必要时用爱尔卡因滴眼液点眼止痛。紫外线照射结束后予妥布霉素地塞米松滴眼液点眼,予绷带型角膜接触镜,戴透明眼罩。

### 1.4 术后用药及随访

术后术眼予妥布霉素地塞米松滴眼液点眼,每日 4 次;马来酸噻吗洛尔滴眼液点眼,每日 2 次;重组人表皮生长因子衍生物滴眼液点眼,首日每 2 h 1 次,之后每日 4 次;玻璃酸钠滴眼液酌情使用。术后次日随访,裂隙灯显微镜观察角膜上皮恢复情况,如恢复良好,去掉绷带型角膜接触镜,若角膜上皮恢复欠佳,局部反应较重,则延迟取镜。嘱患者术后 1 周、1 个月、3 个月、6 个月、12 个月随访,随访项目同术前,其中角膜内皮细胞密度仅于术前和术后 1 周测量。

### 1.5 统计学方法

自身对照研究。采用 SPSS 21.0 对数据进行统计学分析。所有参数用  $\bar{x} \pm s$  表示。各个参数术后与术前比较采用重复测量方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

本研究收集原发性圆锥角膜并行 A-CXL 治疗的患者共 13 例(13 眼),其中男 11 例,女 2 例,平均年龄为(20.6±5.1)岁(14~30 岁)。

术后患者均有不同程度的眼睛疼痛、酸胀、异物感等不适,多于术后 8~12 h 内减轻直至消失。术后随访,角膜上皮愈合良好的予摘除绷带型角膜接触镜。术后 1~2 d 内摘除镜片。所有术眼均未出现 haze、感染性或非感染性角膜炎等。

### 2.2 角膜形态

术前,术后 7 d、1 个月、3 个月、6 个月、12 个月角膜表面形态参数如表 1 所示。术后角膜平坦子午线曲率(K1)、陡峭子午线曲率(K2)、最大角膜曲率(Kmax)均呈先增高后下降的趋势。术后 12 个月,K1 减少(0.2±0.2)D,但差异无统计学意义,K2 减少(0.6±0.2)D,Kmax 减少(1.2±0.5)D,角膜前表面高度(anterior elevation,AE)减少(3±1)μm,角膜后表面高度(posterior elevation,PE)减少(10±2)μm,角膜表面垂直不对称性指数(index of vertical asymmetry,IVA)也显著下降,差异均有统计学意义。术后 12 个月,Kmax 减少 2 D 及 2 D 以上的有 2 眼(15%),减少 1 D 的有 4 眼(31%),不变的有 7 眼(54%),增加 1 D 及 1 D 以上的有 0 眼。

### 2.3 屈光状态

球镜度、柱镜度和 SE 变化如表 1 所示,术后 12 个月,球镜度减少(1.10±1.50)D,差异有统计学意义,柱镜度减少(0.38±0.73)D,但差异无统计学意义,SE 减少(1.29±1.58)D,差异有统计学意义。

### 2.4 视力

BCVA 变化如表 1 所示。术后 12 个月,UCVA(logMAR)从术前的 0.94±0.50 提高到 0.61±0.43( $P < 0.01$ ),BCVA 从术前的 0.29±0.19 提高到 0.18±0.15( $P < 0.01$ ),差异均有统计学意义。术后 12 个月,BCVA 提高 1 行的有 10 眼,BCVA 不变的有 3 眼,视力下降 1 行及 1 行以上的 0 眼。

### 2.5 角膜厚度、眼内压、角膜内皮细胞

角膜最薄点厚度、眼内压、角膜内皮细胞密度变化如表 1 所示。术后 7 d,角膜最薄点厚度显著增加,术后 1 个月回复至术前水平,直至术后 12 个月,角膜最薄点厚度与术前比差异无统计学意义。与术前相比,术后眼内压、角膜内皮细胞密度变化无统计学差异。

## 3 讨论

1997 年 Sporl 等<sup>[4]</sup>首次发表了核黄素联合紫外线提高角膜硬度 CXL,至今,CXL 已成为国际认可的治疗圆锥角膜的新方法。在角膜胶原交联过程中,角膜基质中的核黄素在紫外线的激活下释放活性氧自由基,这些活性氧自由基诱导角膜胶原纤维间形成新的共价键。核黄素在吸收紫外线诱导交联的同时也保护了角膜内皮、晶状体和视网膜免受紫外线伤害,并保持角膜表面湿润。

传统的 CXL 紫外线辐射能量小(3 mW/cm<sup>2</sup>),

表 1 术前,术后 7d、1 个月、3 个月、6 个月、12 个月角膜表面形态参数变化(13 眼,  $\bar{x} \pm s$ )

参数	术前	术后 7 d	术后 1 个月	术后 3 个月	术后 6 个月	术后 12 个月	F	P
UCVA	0.94±0.50	0.85±0.44	0.78±0.44	0.75±0.42 <sup>a</sup>	0.66±0.42 <sup>a</sup>	0.61±0.43 <sup>b</sup>	6.111	<0.01
BCVA	0.29±0.19	0.33±0.18	0.29±0.16	0.27±0.17	0.21±0.17 <sup>a</sup>	0.18±0.15 <sup>b</sup>	9.734	<0.01
球镜(D)	-4.31±5.37	-4.12±5.02	-3.29±4.38 <sup>a</sup>	-3.21±4.34 <sup>a</sup>	-3.19±4.50 <sup>a</sup>	-3.21±4.43 <sup>a</sup>	5.871	<0.05
柱镜(D)	-4.94±2.61	-4.85±2.58	-5.00±2.75	-4.79±3.02	-4.71±2.97	-4.56±3.02	1.605	>0.05
等效球镜(D)	-6.78±6.12	-6.54±5.62	-5.79±5.19 <sup>a</sup>	-5.61±5.18 <sup>a</sup>	-5.55±5.37 <sup>a</sup>	-5.49±5.27 <sup>a</sup>	6.776	<0.05
平坦曲率(D)	49.8±5.5	50.5±5.5 <sup>a</sup>	50.6±5.8 <sup>a</sup>	50.0±5.9	49.6±5.8	49.6±5.7	13.712	>0.05
陡峭曲率(D)	55.2±6.0	55.8±5.6 <sup>a</sup>	55.7±5.8 <sup>a</sup>	55.3±5.8	54.5±5.7 <sup>a</sup>	54.6±5.7 <sup>a</sup>	19.651	<0.05
最大曲率(D)	63.2±8.3	63.5±6.6	63.5±7.2	63.1±7.9	62.0±8.2 <sup>a</sup>	62.0±8.9 <sup>a</sup>	3.253	<0.05
角膜前表面高度(μm)	37±16	40±16 <sup>a</sup>	41±16 <sup>a</sup>	39±17 <sup>a</sup>	34±16 <sup>a</sup>	34±16 <sup>b</sup>	23.958	<0.01
角膜后表面高度(μm)	80±35	78±36	78±34	77±33 <sup>a</sup>	70±32 <sup>a</sup>	70±31 <sup>b</sup>	20.832	<0.01
垂直不对称指数	0.86±0.36	0.88±0.37	0.87±0.37	0.86±0.36	0.82±0.35	0.82±0.36 <sup>a</sup>	4.068	<0.05
角膜最薄点厚度(μm)	449±51	455±54	449±52	450±52	447±51	445±53	4.180	>0.05
内皮细胞密度	2871±237	2813±223	-	-	-	-	1.812	>0.05
矫正眼内压(mmHg)	12.4±2.7	11.8±2.3	12.7±2.1	12.3±1.7	12.2±1.8	12.3±2.8	0.332	>0.05

注:与术前相比,<sup>a</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>b</sup>  $P < 0.01$ 。1 mmHg=0.133 kPa

照射时间长(30 min),治疗过程中患者舒适度差,不易配合,且术后反应较重。2008年 Rocha 等引入了“快速交联”的概念<sup>[5]</sup>,以猪眼为对象,使用聚乙烯吡咯烷酮代替核黄素,照射能量为 4.2 mW/cm<sup>2</sup>,时间 30 s,发现效果与传统 CXL 相当。目前临床上快速交联的优化条件仍不清楚,核黄素浓度和紫外线照射能量仍待优化。一些临床医生主张使用更高的 UVA 照射能量、更短的时间,以达到与经典交联相同的效果。Kanellopoulos 等<sup>[6]</sup>研究表明提高紫外线能量到 7 mW/cm<sup>2</sup>,缩短照射时间至 15 min,能使人眼角膜扩张稳定,其效果与经典的 CXL 相似。Cinar 等<sup>[7]</sup>采用去上皮快速交联的方法(紫外线辐射强度 18 mW/cm<sup>2</sup>,照射时间 5 min)治疗人眼随访至术后 6 个月,显示该方法能有效降低角膜曲率,提高患者视力,从而稳定圆锥角膜,控制进展。然而这些快速交联的研究均需要去除角膜上皮,患者术后疼痛严重,并存在角膜感染等风险。本研究采用经上皮 A-CXL 法治疗原发性圆锥角膜,治疗过程中患者舒适性较好,较容易配合,术后反应较轻,术后 1 年效果稳定。

角膜形态是衡量圆锥角膜进展程度的首要指标,包括角膜曲率、角膜前后表面高度和其他角膜形态参数等。CXL 的效果在角膜地形图上表现为角膜曲率的变化,包括 K1、K2、Kmax 等。临床研究表明经典 CXL 术后角膜曲率平均减少 2 D<sup>[8-9]</sup>。本研究中,A-CXL 术后 K1、K2、Kmax 均先增高后下降,K1 变化无显著差异,K2 减少从术后 6 个月开始有显著性,术后 12 个月,K1 平均减少(0.2±0.2)D,K2 平均减少(0.6±0.2)D,Kmax 平均减少(1.2±0.5)D,提示 A-CXL 能稳定角膜,延缓或阻止圆锥进展,且能一定程度降低角膜曲率。角膜前后表面高度是衡量圆锥角膜的另一重要指标,其数值大小提示病情的严重程度,本研究发现 A-CXL 能使角膜前后表面高度显著下降,且后表面高度下降较多,这可能是由于角膜中央区域经过交联加强变硬后限制了其前突的程度,在眼内压的作用下,压力向周边角膜扩散,从而产生后表面拉平的效果。

屈光度参数包括球镜度、柱镜度和 SE 等。1 D 以上的屈光度改变具有临床意义,患者通常需要重新验配矫正屈光不正以获得舒适的视觉。本研究显示 A-CXL 术后球镜度、柱镜度均呈下降趋势,球镜度平均减少(1.10±1.50)D,差异有统计学意义,柱镜度平均减少(0.38±0.73)D,差异无统计学意义,SE 平均减少(1.29±1.58)D,差异有统计学意义。

视力是评价疾病严重程度的主观指标,包括

UCVA 和 BCVA。圆锥角膜往往伴有较高的不规则散光,造成视觉损害。目前,CXL 的目标并不是提高视力,但是角膜曲率的下降会间接性地提高视力,因此视力的保持甚至提高是评价治疗效果的间接指标。1 行以内的视力改变被认为是正常波动,2 行及 2 行以上的视力变化有临床意义,本研究中,BCVA 提高 1 行的有 10 眼,BCVA 不变的有 1 眼,视力下降 1 行及 1 行以上的 0 眼。提示本研究所采用的高能量经上皮 A-CXL 治疗原发性圆锥角膜是安全的。

本组术眼术后均有轻度的角膜水肿,术后 7 d 角膜厚度增加,之后的随访中角膜厚度又恢复到术前水平,在术后 1~7 d 内消失,术后 1~2 d 角膜上皮完全愈合,未出现基质 haze、角膜上皮愈合延迟、后弹力层皱褶、角膜溶解、无菌性角膜浸润、角膜感染等并发症。术前和术后眼内压、角膜内皮细胞密度等参数均无显著差异。术后 12 个月前房、虹膜、晶状体、玻璃体、眼底均未见异常改变。这些研究结果提示本研究所采用的 A-CXL 为安全的治疗方法。

#### 参考文献:

- [1] 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.
- [2] Celik HU, Alagoz N, Yildirim Y, et al. Accelerated corneal crosslinking concurrent with laser in situ keratomileusis[J]. *J Cataract Refract Surg*,2012,38(8):1424-1431.
- [3] Kanellopoulos AJ, Dupps WJ, Seven I, et al. Toric topographically customized transepithelial, pulsed, very high-fluence, higher energy and higher riboflavin concentration collagen cross-linking in keratoconus[J]. *Case Rep Ophthalmol*,2014,5(2):172-180.
- [4] Sporn E, Huhle M, Kasper M, et al. Increased rigidity of the cornea caused by intrastromal cross-linking [J]. *Ophthalmologe*, 1997,94(12):902-906.
- [5] Rocha KM, Ramos-Esteban JC, Qian Y, et al. Comparative study of riboflavin-UVA cross-linking and "flash-linking" using surface wave elastometry[J]. *J Refract Surg*,2008,24(7):S748-751.
- [6] Kanellopoulos AJ. Long term results of a prospective randomized bilateral eye comparison trial of higher fluence, shorter duration ultraviolet A radiation, and riboflavin collagen cross linking for progressive keratoconus[J]. *Clin Ophthalmol*,2012,6:97-101.
- [7] Cinar Y, Cingu AK, Turku FM, et al. Accelerated corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus[J]. *Cutan Ocul Toxicol*,2014,33(2):168-171.
- [8] Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus[J]. *Am J Ophthalmol*,2003,135(5):620-627.
- [9] Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, et al. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A rays induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study[J]. *J Cataract Refract Surg*,2006,32(5):837-845.

(收稿日期:2014-01-20)

(本文编辑:季魏红)