

高能紫外线角膜胶原交联术治疗难治性大泡性角膜病变的短期疗效

吴护平 林志荣 罗顺荣 刘昭升 董诺 商旭敏

【摘要】 目的 探讨高能紫外线核黄素角膜胶原交联术对难治性大泡性角膜病变的疗效及意义。**方法** 回顾性研究。收集自 2011 年 3 月至 2013 年 3 月期间在厦门大学附属厦门眼科中心就诊的药物及羊膜移植手术治疗无效的难治性大泡性角膜病变患者, 予行高能紫外线核黄素角膜胶原交联术。手术前及术后 1 周、1 个月、3 个月时随访, 对患者行疼痛感评分、常规裂隙灯显微镜检查、IOP、视力、前节 OCT 角膜厚度测量及内皮数量和形态检查。使用方差分析对术前及术后参数差异进行比较。**结果** 13 例(13 眼)患者入选并顺利接受高能角膜胶原交联术。患者术前疼痛指数为 7.6 ± 1.2 , 术后 1 个月及 3 个月时均较术前明显下降, 分别为 5.3 ± 1.6 和 5.5 ± 1.7 , 差异均具统计学意义 ($F=8.593$, $P<0.01$); 术前角膜上皮缺损评分为 4.5 ± 0.5 , 术后 1 周及 1 个月时评分显著下降, 分别为 3.4 ± 0.6 和 2.8 ± 0.9 ($F=12.580$, $P<0.01$); 术前角膜透明度评分为 2.7 ± 0.5 , 术后 1 周及 1 个月时角膜透明度显著增加, 评分分别下降至 1.9 ± 0.5 和 2.2 ± 0.6 ($F=6.122$, $P<0.01$); 术前角膜厚度为 $(862.2 \pm 146.4) \mu\text{m}$, 术后 1 周及 1 个月时角膜厚度显著降低, 分别为 $(707.5 \pm 92.7) \mu\text{m}$ 和 $(718.8 \pm 47.2) \mu\text{m}$ ($F=5.859$, $P<0.01$)。但术后 3 个月时部分患者角膜上皮缺损增加、角膜透明度下降, 角膜厚度回升, 且与术前相比差异无统计学意义。**结论** 高能角膜胶原交联术能够在术后早期显著改善难治性大泡性角膜病变眼部症状, 增加角膜透明度, 降低角膜厚度; 但其疗效并不持久。

【关键词】 角膜胶原交联术; 大泡性角膜病变; 角膜内皮; 治疗结果

Accelerated corneal collagen cross-linking in eyes with incurable bullous keratopathy

Wu Huping, Lin Zhirong, Luo Shunrong, Liu Zhaosheng, Dong Nuo, Shang Xumin. Affiliated Xiamen Eye Center of Xiamen University, Xiamen 361003, China

Corresponding author: Wu Huping, Email: wuhuping123@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the efficacy of accelerated corneal collagen cross-linking (a-CXL) in patients with incurable bullous keratopathy. **Methods** This was a retrospective, nonrandomized study. Patients with incurable bullous keratopathy who were consecutively diagnosed at the hospital of the Affiliated Xiamen Eye Center of Xiamen University from March 2011 to March 2013 were included in the study. Patients received accelerated CXL surgery. The following parameters were accessed preoperatively and 1 week, 1 month and 3 months postoperatively: ocular pain index using the Numeric Rating Scale (NRS), visual acuity, noncontact tonometer measurement, slit-lamp examination for corneal epithelium defects and corneal opacity, and anterior-segment OCT for corneal thickness. Differences between groups were analyzed using one-way ANOVA. **Results** Thirteen eyes were chosen and underwent a-CXL. The ocular pain index was 7.6 ± 1.2 on average preoperatively and significantly decreased to 5.3 ± 1.6 at 1 month and to 5.5 ± 1.7 at 3 months postoperatively ($F=8.593$, $P<0.01$). The corneal epithelial staining score was 4.5 ± 0.5 preoperatively and was significantly reduced to 3.4 ± 0.6 at 1 week and to 2.8 ± 0.9 at 1 month ($F=12.580$, $P<0.01$) postoperatively. The corneal transparency score was 2.7 ± 0.5 preoperatively and improved significantly to 1.9 ± 0.5 at 1 week and 2.2 ± 0.6 at 1 month ($F=6.122$, $P<0.01$) postoperatively. Preoperative

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2015.03.008

基金项目:福建省医学创新基金(2012-CXB-30);厦门市第四周期重点专科建设项目(厦卫科教中医[2012]285号);福建省自然科学基金(2013D005);引进国外技术管理人才项目(20133502009)

作者单位:361003 厦门大学附属厦门眼科中心

通信作者:吴护平, Email: wuhuping123@163.com

corneal thickness was $862.2 \pm 146.4 \mu\text{m}$ and decreased significantly to $707.5 \pm 92.7 \mu\text{m}$ at 1 week and $718.8 \pm 47.2 \mu\text{m}$ at 1 month ($F=5.859$, $P<0.01$) postoperatively. At 3 months postoperatively, the corneal epithelial staining score, corneal transparency score and corneal thickness were not significantly different from preoperative conditions. **Conclusion** Accelerated CXL significantly reduces ocular pain, improves corneal epithelium defects, corneal transparency and corneal thickness within a short period postoperatively. However, a-CXL do not seem to have long-lasting effects in patients with bullous keratopathy.

[Key words] Corneal collagen cross-linking; Bullous keratopathy; Corneal endothelium; Therapy outcome

大泡性角膜病变是各种原因导致角膜内皮功能失代偿而引起的继发性角膜基质水肿,上皮或上皮下大泡形成,其主要症状为眼部明显的刺痛、畏光和流泪、视力下降,角膜感染风险也较高。大泡性角膜病变的常用治疗方法包括激素等抗炎药物,高渗性脱水剂,配戴绷带镜,表层或基质层间羊膜移植术,烧烙术,穿透性角膜移植术或角膜内皮移植术等。但除角膜移植术外,其他的治疗方法均不能很好地控制病情。而临床上存在众多因供体材料不足而长期等待行角膜移植手术的大泡性角膜病变患者,这些患者往往病程较长,病情较重且反复,且已经接受过多种治疗方法。紫外线核黄素角膜胶原交联术(Ultraviolet A/riboflavin corneal collagen cross-linking, CXL)是近年国内外逐渐开展的一种增强角膜硬度、提高角膜基质生物力学稳定性的光化学疗法,其在眼表疾病中的应用日渐广泛,包括圆锥角膜、各种角膜扩张病等^[1-2]。角膜胶原交联术能够使胶原纤维连接更强,排列更紧密,理论上对大泡性角膜病变有效。本研究旨在探讨高能紫外线核黄素角膜胶原交联术对此类大泡性角膜病变的治疗意义。

1 对象与方法

1.1 对象

选取自 2011 年 3 月至 2013 年 3 月期间在厦门大学附属厦门眼科中心就诊的常规药物及羊膜移植手术治疗均无效的难治性大泡性角膜病变患者。此部分患者已拟择期行穿透性或深板层角膜内皮移植术,但因角膜材料缺乏等各种原因暂时无法手术。对此部分患者行高能紫外线核黄素角膜胶原交联术。本研究流程符合赫尔辛基宣言,并经厦门大学附属厦门眼科中心伦理委员会同意,所有入选患者均签署知情同意书。

共 13 例(13 眼)患者入选。患者平均年龄(58.8 ± 14.7)岁,其中男 5 例,女 8 例。患眼角膜仅有浅层瘢痕或无瘢痕形成。患者信息见表 1。

表 1 行角膜胶原交联术的难治性大泡性角膜病患者基本信息

序号	性别	年龄(岁)	原发疾病
1	男	49	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后
2	男	56	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后
3	女	69	白内障囊外摘除术后,无晶体眼状
4	男	65	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后
5	女	60	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后
6	男	45	房角后退性青光眼,抗青光眼术后,陈旧性眼钝挫伤
7	女	43	病毒性角膜内皮炎
8	女	43	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后
9	女	39	前房型 IOL 植入术后
10	女	82	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后
11	男	68	原发性急性闭角型青光眼绝对期,抗青光眼术后
12	女	84	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后
13	女	61	白内障超声乳化联合 IOL 植入术后

1.2 手术方法

术前常规冲洗,消毒,表面麻醉。确定好瞳孔中心位置后,用直径 9 mm 的角膜环钻置于角膜表面,轻压后形成上皮压痕。用上皮刮刀轻柔刮除环钻压痕内残留的上皮,灭菌注射用水冲洗角膜及结膜囊,吸血海绵吸除角膜表面水分,擦除残留上皮。大泡性角膜病变者角膜明显水肿增厚,无须使用特殊方法增加角膜厚度。因此滴用 0.1% 的等渗核黄素右旋糖酐溶液(瑞士,IROC Innocross 公司),每分钟 1 次,每次 2~3 滴,确保溶液覆盖上皮刮除区,持续 15 min。手术显微镜下确认核黄素已经渗透入前房后,移开手术显微镜。打开角膜交联仪(UV-X 2000 型,瑞士 IROC Innocross 公司)进行照射。照射参数:波长为 365 nm,辐射度为 9 mW/cm²,总能量相当于 5.4 J/cm²,照射时间为 10 min,光束的直径为 9 mm(根据病灶面积大小决定)。照射过程中,每 2 min 滴 1~2 滴核黄素溶液。照射结束后,吸血海绵吸除残留核黄素,配戴角膜接触镜(博士伦 Pure Vision 纯视连续配戴型),涂妥布霉素地塞米松眼膏,包扎患眼。

1.3 术后处理

术后常规全身静脉滴注地塞米松 10 mg。次日给予妥布霉素地塞米松滴眼液及妥布霉素地塞米松眼膏抗炎治疗,并继续使用原发病的局部用药(如降眼压药)。

1.4 术后随访

术后1周、1个月和3个月时随访观察。行角膜疼痛评分,视力及非接触式眼压检查,在裂隙灯显微镜下行角膜透明度评估,角膜荧光素钠染色评分,前节 OCT 测量角膜厚度。鉴于患眼角膜均明显水肿,部分内皮层纤维或空泡化,角膜激光共聚焦显微镜或角膜内皮计均无法较好显示内皮细胞密度及形态,故未进行内皮细胞变化的评估。

1.4.1 角膜疼痛评分 使用国际通用的数字分级法(Numric Rating Scale, NRS)记录眼部疼痛程度。该法信度、效度及灵敏度均较高^[9]。指导患者在评估尺上用0至10之间的数字选出最能代表患者本人疼痛程度的数字,数字越大疼痛感越强,0分为无痛,1~4分为轻度疼痛,5~6分为中度疼痛,7~10分为重度疼痛。评估结果以数字表示。

1.4.2 角膜透明度及上皮缺损程度 记录患者 UCVA 及 BCVA。另外,裂隙灯显微镜下评估角膜透明度,评分标准如下:0分,完全透明;1分,角膜轻度混浊,但尚能看清虹膜纹理;2分,角膜中度混浊,看不清虹膜纹理,但仍能看到瞳孔;3分,角膜重度混浊,虹膜纹理及瞳孔均看不清。对角膜上皮缺损,使用荧光素钠染色进行评估,标准为:0分,无着染。1分,少量点状着染;2分,弥散点状着染;3分,片状着染面积小于或等于角膜面积 1/3;4分,片状着染面积大于角膜面积 1/3 但小于角膜面积 2/3;5分,片状着染面积大于角膜面积 2/3。

1.4.3 角膜厚度 利用前节 OCT(德国蔡司公司)测量角膜中央区厚度(central cornea thickness, CCT)。记录最厚处角膜的厚度。

1.4.4 角膜基质微观结构改变 利用共聚焦显微镜(HRT3-RCM,德国海德堡公司)扫描,记录术前及术后随访时浅层基质的微观结构改变,确认有无纤维交联改变。

1.5 统计学方法

回顾性研究。采用 SPSS 13.0 统计学软件进行分析。使用方差分析对术前及术后各时间点之间参数的差异进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床症状改变

与术前相比,患者疼痛感在术后均有所减轻(见表2)。在术后1周时部分患者仍有明显疼痛,疼痛指数较术前轻度下降,但差异无统计学意义;术后1个月时,大部分疼痛感进一步减轻($P < 0.01$);术后3个月时,部分患者疼痛感再度加重甚至接近术前,并要求予配戴治疗性角膜接触镜,但总体疼痛指数仍低于术前,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

表2 角膜胶原交联术治疗难治性大泡性角膜病变前后各临床指标的变化(13眼, $\bar{x} \pm s$)

时间	疼痛指数	角膜上皮缺损	角膜透明度	角膜厚度(μm)
术前	7.6±1.2	4.5±0.5	2.7±0.5	862.2±146.4
术后1周	7.3±1.4	3.4±0.6 ^b	1.9±0.5 ^b	707.5±92.7 ^b
术后1个月	5.3±1.6 ^b	2.8±0.9 ^b	2.2±0.6 ^a	718.8±47.2 ^b
术后3个月	5.5±1.7 ^b	3.8±0.7	2.5±0.5	792.2±116.7
<i>F</i>	8.593	12.580	6.122	5.859
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与术前相比,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

2.2 角膜体征的改变

入选对象均为难治性患者,病程均较长,其术前视力均仅为眼前手动或光感。术后视力及眼压较术前无明显变化。

与术前相比,角膜透明度和角膜上皮缺损在术后1周及术后1个月时均有明显改善,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。但术后3个月时,二者再次回升接近术前水平,5例患者角膜再次出现上皮细小或巨大水泡,3例患者发生角膜瘢痕加重。总体而言,角膜透明度及上皮缺损程度的变化趋势基本一致(见表2)。

2.3 角膜厚度变化

术前角膜厚度均较高,3例患者在1000 μm 以上。但角膜厚度在术后1周及1个月时均明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。且术后1周与术后1个月相比,差异无统计学意义。术后3个月时,角膜厚度回升并接近术前水平,有3例患者甚至出现厚度高于术前的情况;此时尽管差异无统计学意义,但术后3个月时角膜厚度总体水平较术前低,且未出现厚度大于1000 μm 者(见表2)。

2.4 角膜基质微观结构改变

共聚焦显微镜检查显示术前角膜基质水肿,未见纤维间连接。交联术后1个月复查时,可见浅层基质内交联样改变,基质纤维粗大,纤维间连接数量增多。典型患者裂隙灯显微镜下表现及共聚焦显微镜下改变见图1。

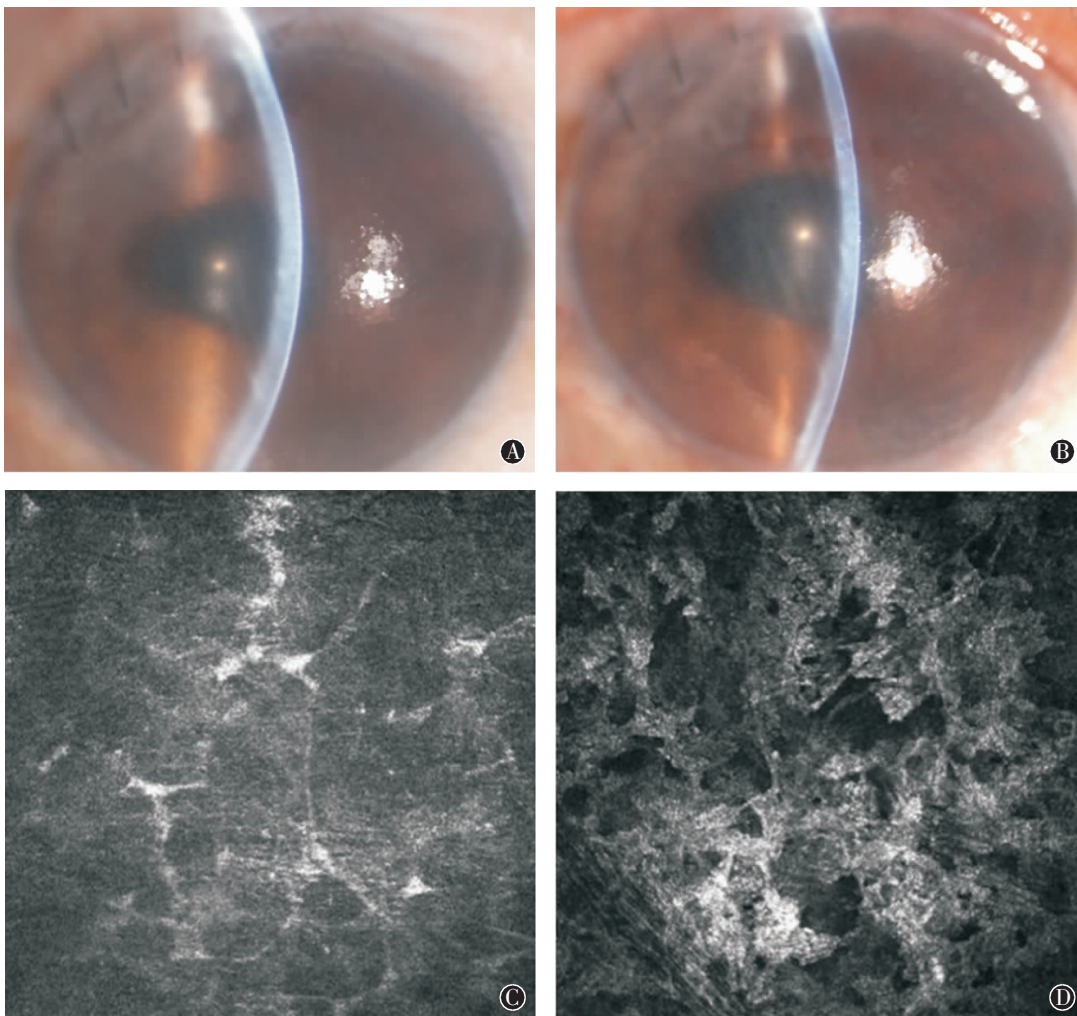
3 讨论

角膜胶原交联术是近年来逐渐广泛应用于治疗各类角膜扩张性疾病的有效手段。核黄素溶液滴于角膜表面逐渐渗透至基质内,在 370 nm 的紫外线照射下被激活,与纤维产生交联反应,增加反应区域内胶原间的化学键的密度,继而增加角膜生物力学强度^[1,4-5]。炎症、创伤等因素引起角膜内皮的泵功能受损,使得液体聚积在细胞外基质和角膜纤维之间,引起角膜水肿和透明度下降,发生上皮和上皮下水泡,即产生大泡性角膜病变。而角膜胶原交联术已被证实可显著增加角膜对水肿的抵抗力^[6-7],在理论上对大泡性角膜病变应当有效。交联后基质纤维连接增强,间距变小,排列更为规整,因而水分被限制,不易滞留于前部基质,上皮水泡减少,症状和体征减轻。但目前相关研究很少,使用角膜胶原交联术治疗白内障术后大泡性角膜病变有效但疗效持续时间不理想^[8-9]。

角膜移植术是根治大泡性角膜病变的最好方法,但在角膜材料来源受限或患者个人原因限制等

条件下,只能选择其他治疗方法。治疗方法虽多样但局限性大,疗效不理想。例如,角膜接触镜只能缓解症状不能防止大泡形成,且长期配戴感染风险大。角膜层间烧灼术可在角膜层间产生一薄层纤维结缔组织,阻挡水分向前基质渗漏,还因切断神经纤维而阻断刺激传导,缓解刺激症状^[10];但其为有创手术,且手术创伤较大,部分患者层间烧灼过度而形成难以吸收的瘢痕,反而丧失部分视力,近年逐渐减少使用。有开展此术式者多与羊膜移植联合使用,也显示了较好的疗效,能够在术后早期较好控制病情,但长期疗效仍不理想。因此,长期以来,眼科工作者仍在不断寻找新的治疗方法。

本研究结果显示,术后 1 个月及 3 个月时,眼部疼痛指数仍低于术前,提示角膜交联能够在较长时间内控制眼部疼痛感。这可能是由于交联后前部基质的纤维排列较致密,在一定程度上限制了水分进入,上皮水泡和神经暴露减少。此外,交联反应可造成术后神经纤维密度降低,敏感度下降^[11]。另一方面,疼痛指数的控制时长达术后 3 个月,而角膜透明度、角膜上皮缺损及角膜厚度的控制时长仅为术后



A, 术前角膜基质明显水肿增厚;B, 交联术后 1 个月复查, 基质水肿明显减轻, 透明度有所提高;C, 共聚焦显微镜下纤维水肿, 未见纤维间连接;D, 共聚焦显微镜下可见浅层基质内交联样改变, 表现为基质纤维粗大, 纤维间连接数量增多

图 1 典型患者裂隙灯显微镜及共聚焦显微镜下改变

1个月,这可能是交联所致的前基质纤维排列改变可在较长时间内持续存在的缘故。因此,对于仅希望暂时控制疼痛症状的患者,角膜交联是一种行之有效的办法。

角膜上皮缺损,上皮及上皮下水泡形成是患者眼部疼痛的关键因素。本研究结果显示,术后1周及1个月时,角膜交联术后角膜上皮缺损程度较术前明显下降,可能与纤维交联后限制水分进入有关,角膜交联术从原理上而言并无促进上皮修复的作用。上皮修复、水肿减轻后,上皮层相对平整,再加上角膜厚度有所下降,故而角膜透明度提高。这些临床参数之间具有内在关联性。本结果也提示,手术前后上皮缺损程度、角膜透明度及角膜厚度的变化趋势基本一致。

我们的结果显示角膜交联术对大泡性角膜病变的疗效持续时间仅为3个月左右,明显短于多数国外学者报道的6~8个月的有效时间^[12]。原因可能在于本研究入选的患者均为对药物、羊膜移植等治疗方法不敏感的难治性患者,总体病情较重,而上述文献中研究对象为未经治疗的大泡性角膜病变患者,病情相对较轻的缘故。术前角膜的情况是影响手术效果的重要因素。例如对于合并基质溃疡的大泡性角膜病变者,角膜交联的有效时间可短至2个月^[13]。但交联无法改变已经衰竭的内皮细胞,故在术后中远期,由内皮功能失代偿引起的角膜改变仍将出现并继续加重。

综上所述,紫外线核黄素角膜胶原交联术是治疗大泡性角膜病变的有效方法。它在一定时间和程度上减轻了患者症状,延长并争取了等待角膜移植手术的时间。此外,由于改善了角膜透明度,降低了后期角膜内皮移植手术的难度。目前单纯行角膜胶原交联手术尚无法达到长期持久的效果,而角膜胶原交联联合羊膜移植术是否更加有效等问题还有待研究,但这类治疗方法在角膜移植材料极其匮乏的当今仍具有重要意义。

参考文献:

- [1] Koli S, Aslanides IM. Safety and efficacy of collagen crosslinking for the treatment of keratoconus[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2010, 9(6):949-957.
- [2] Schnitzler E, Sporl E, Seiler T. Irradiation of cornea with ultraviolet light and riboflavin administration as a new treatment for erosive corneal processes, preliminary results in four patients [J]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2000, 217(3):190-193.
- [3] Hjermstad MJ, Fayers PM, Haugen DF, et al. Studies comparing Numerical Rating Scales, Verbal Rating Scales, and Visual Analogue Scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review[J]. *J Pain Symptom Manage*, 2011, 41(6):1073-1093.
- [4] Kymionis GD, Grentzelos MA, Liakopoulos DA, et al. Long-term follow-up of corneal collagen cross-linking for keratoconus—the Cretan study[J]. *Cornea*, 2014, 33(10):1071-1079.
- [5] Iseli HP, Thiel MA, Hafezi F, et al. Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts[J]. *Cornea*, 2008, 27(5):590-594.
- [6] Sondergaard AP, Ivarsen A, Hjortdal J. Reduction of stromal swelling pressure after UVA-riboflavin cross-linking[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(3):1625-1634.
- [7] Bottos KM, Hoffling-Lima AL, Barbosa MC, et al. Effect of collagen cross-linking in stromal fibril organization in edematous human corneas[J]. *Cornea*, 2010, 29(7):789-793.
- [8] Ghanem RC, Santhiago MR, Berti TB, et al. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A in eyes with pseudophakic bullous keratopathy[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2010, 36(2):273-276.
- [9] Arora R, Manudhane A, Saran RK, et al. Role of corneal collagen cross-linking in pseudophakic bullous keratopathy: a clinicopathological study[J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(12):2413-2418.
- [10] 李冰,李晋春,王效武. 角膜层间灼烙术联合羊膜移植治疗大泡性角膜病变[J]. *中国实用眼科杂志*, 2003, 21(2):153.
- [11] Ozgurhan EB, Celik U, Bozkurt E, et al. Evaluation of Subbasal Nerve Morphology and Corneal sensation after accelerated corneal collagen cross-linking treatment on keratoconus[J]. *Curr Eye Res*, 2014, 30:1-6.
- [12] Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, et al. Potential use of riboflavin/UVA cross-linking in bullous keratopathy[J]. *Ophthalmic Res*, 2009, 41(2):114-117.
- [13] Kozobolis V, Labiris G, Gkika M, et al. UV-A collagen cross-linking treatment of bullous keratopathy combined with corneal ulcer[J]. *Cornea*, 2010, 29(2):235-238.

(收稿日期:2015-01-28)

(本文编辑:毛文明)