

实验性近视眼巩膜整体与条带生物力学特性的对比研究

高铁瑛 王超英 陈维毅 王晓君 王虹霞

Biomechanical property comparison of in vivo eyeball with in vitro scleral bands in experimental myopia

Gao Tieying, Wang Chaoying, Chen Weiyi, Wang Xiaojun, Wang Hongxia. Department of Ophthalmology, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, China

Abstract Objective The etiology and pathogenesis of myopia are still under clear. Biomechanics is a way that to use biomechanical method and theory understand motion and deformation of life body quantitatively. This study was designed to evaluate the effect of two different mechanical indexes in guinea pigs with lens-induced myopia and discuss the pathogenic mechanism of myopia based on mechanical analysis. **Methods** Experimental myopia model was created in 10 lateral eyes of 10 two-week-old guinea pigs by stitching a -10.00 DS lenses on the skin of inner and outer canthus for 45 days, and the normal fellow eyes were as controls. The diopter and ocular axial length were examined with skiascope optometer and A sonography before and after operation. After 45 days, instron-5544 biomechanical machine was used to test biomechanical properties of the whole eyeball in vivo by measuring the ocular volume changes upon different pressure. The guinea pigs were sacrificed after experiment and 15 mm × 3.5 mm of posterior scleral bands were obtained and stored in -80 °C for the test of biomechanical properties, including stiffness coefficient, scleral band creep rate and elastic modulus. The use of experimental animals followed the Regulation for the Administration of Affair Concerning Experimental Animals by State Sciencd and Technology Commission.

Results The experimental myopia was successfully induced in the model eyes with the mean diopter of (-5.85 ± 0.75) D, showing a significant difference in comparison with before induce (+2.63 ± 0.43) D ($t = 41.61, P < 0.05$). The ocular axis was considerably elongated after induce of lens in comparison with before induce (7.39 ± 0.08 mm versus 9.29 ± 0.11 mm, $t = 28.33, P < 0.05$). The stiffness coefficient and elastic modulus were reduced in experimental eyes compared with control eyes ($t = 6.13, t = 8.89, P < 0.05$). The scleral band creep rate was significantly increased in experimental eyes compared with control eyes ($t = 5.25, P < 0.05$). **Conclusion** Concave lens can induce myopia in young experimental guinea pig's eye. The biomechanical change of in vivo whole eyeball is consistent to in vitro scleral band. This study result shows that myopia model eye of guinea pig has thinner sclera, stronger deformation force and less anti-deformability.

Key words myopia; guinea pig; lens-inducing; sclera; biomechanics

摘要 目的 豚鼠镜片诱导型近视眼分别进行在体眼球及离体后极部巩膜条带生物力学实验,对近视的发病机制进行探讨。**方法** 2周龄豚鼠10只镜片诱导的方法单眼制备近视模型,实验前后检测双眼屈光度、眼轴长度。造模45 d后,用Instron力学材料实验仪分别进行在体眼球及后极部巩膜条带的力学实验,对巩膜材料的生物力学特性进行研究。**结果** 45 d实验眼诱导相对近视(-5.85 ± 0.75) D,眼轴延长(1.90 ± 0.14) mm,诱导前后差异有统计学意义($P < 0.05$)。刚度系数实验眼为(2.49 ± 0.39) mmHg/μL,对照眼为(2.98 ± 0.40) mmHg/μL;巩膜条带的蠕变率实验眼为(28.96 ± 5.24)%,对照眼为(15.49 ± 6.17)%;弹性模量实验眼为(1.55 ± 0.25) Mpa,对照眼为(2.93 ± 0.36) Mpa,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 凹透镜诱导可引起豚鼠明显轴性近视;巩膜整体与条带的力学变化相一致。豚鼠实验性近视发生中巩膜力学指标发生了变化,抗变形能力变小、变形加大。

关键词 近视; 豚鼠; 镜片诱导; 巩膜; 生物力学

分类号 R 778.1 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)09-0796-04

目前近视的病因和发病机制尚不十分清楚,且无有效的预防和治疗措施。生物力学是生命科学的重要组成部分,研究生命物质对力的反应。以往对近视的生物力学研究甚少,仅取巩膜条带试件进行力学实验^[1-3]。在生物力学方面,将巩膜按照壳模型模拟眼压进行分析,更接近活体眼球的生理状态^[4]。整体实验下对巩膜的生物力学特性的研究显得更为重要。本研究采用镜片诱导豚鼠近视模型,进行整体及条带的生物力学实验,对实验性近视巩膜的生物力学特性进行完善,为探索近视的病理因素及进一步防治寻找突破口。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 2 周龄已脱离母乳饲养的豚鼠 10 只,雌雄不限(河北医科大学实验动物养殖场提供)。每只动物均随机选择 1 只眼为实验眼,另 1 只眼为自身对照。实验前后检测双眼屈光度、眼轴长度。幼豚鼠于室内标准化喂养,自然昼夜节律,室温控制在 20℃ 左右。实验动物的使用遵循国家科委颁布的《实验动物管理条例》。

1.1.2 主要试剂及仪器 巩膜保存液(白求恩国际和平医院中心实验室提供);凹透镜片^[5](自行设计的聚甲基丙烯酸甲酯镜片,镜片直径 13.5 mm,光学直径 10.5 mm,基弧 9.61 mm,屈光度 -10.00 DS);Instron5544-C8024 型力学材料实验仪(美国英斯特朗公司,太原理工大学应用力学研究所提供);BME-210 眼科 A/B 型超声诊断仪(中国医学科学院);带状光检眼镜(苏州医疗器械厂)。

1.2 方法

1.2.1 豚鼠镜片诱导近视模型的建立 标记豚鼠编号,给予双眼结膜囊内点 1% 托吡卡胺滴眼液 3 次,间隔 10 min,带状光检影验光,盐酸氯胺酮麻醉后用 A 型超声测量双眼眼轴长度。测量以手动模式连续测量 10 次,计算平均值,精确到 0.01 mm。测量结束用随机数字表法随机选择 1 只眼为实验眼,全身麻醉无菌操作下将 -10.00 DS 的镜片 2 侧打孔后缝合于豚鼠内外眦皮肤。实验期间注意随时清洁镜片,尽量减少镜片污染造成的形觉剥夺效应。45 d 后摘除镜片,按前述方法再次行双眼睫状肌麻痹检影验光及 A 型超声测量。

1.2.2 在体整体眼压测量 Instron 主机设置参数:加载速率 300 mm/min,初始压力 200 mmH₂O (1 mmH₂O

= 9.8 × 10⁻⁶ kPa),加载高度 350 mmH₂O。将豚鼠麻醉满意后固定于实验台,与 Instron 实验仪相连标管末端针头穿刺入豚鼠玻璃体腔后打开开关。以自行设计的实验仪自动控制(图 1),通过 3 次渗漏 2 次循环的方法,以设定的压力变化对眼球缓慢施压,以标管内浮标的摄像跟踪测得进入眼球的水量,进而得知眼球的体积变化,并计算出眼内压力变化与眼球体积变化的关系(刚度系数, mmHg/μL)。

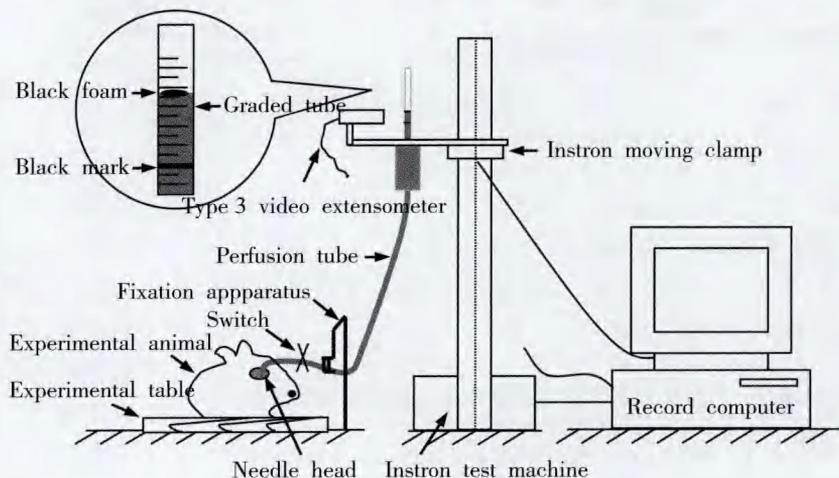


图 1 在体整体眼压和体积变化测量

Fig. 1 In vivo measurement of the ocular pressure and volume change

1.2.3 生物力学条带实验 整体实验完毕后,断颈法处死豚鼠,摘除双侧眼球,制作后极部巩膜条带试件 15 mm × 3.5 mm,置于巩膜保存液中 -80℃ 保存备用。实验时标本取出后置于 37 ~ 38℃ 水浴中快速复温,在 Instron 实验仪进行实验。预拉伸实验设置预循环载荷为 0.005 N,预循环速度为 0.5 mm/min,进行 10 次。蠕变实验蠕变载荷 0.07 N,蠕变时间 30 min。拉伸破坏实验以加载速度 5 mm/min 逐渐增加应力,直至试件被拉断。选取 200 ~ 350 mmH₂O 的数据计算弹性模量(图 2)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件对数据进行分析。各组数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,凹透镜片诱导前后豚鼠眼屈光度和眼轴长度变化的比较以及实验眼与对照眼间刚度系数、蠕变率、弹性模量的比较采用配对 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 镜片诱导结果

镜片诱导前,豚鼠实验眼及对照眼屈光度、眼轴长度的差异均无统计学意义 (*t* = 0.395, *P* = 0.702;

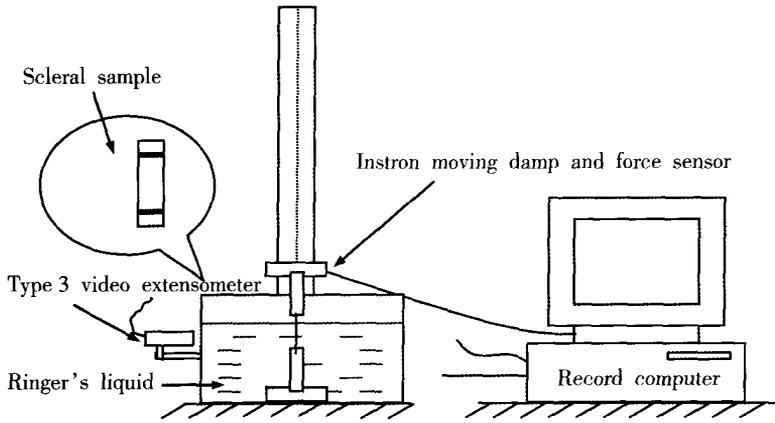


图2 条带单轴拉伸实验模式图
Fig.2 Diagram of uniaxial tension test setup

$t = 0.535, P = 0.606$)。经过 45 d 镜片诱导后,豚鼠实验眼诱导出 $(-8.48 \pm 0.95) D$ 的相对近视,眼轴延长了 $(1.90 \pm 0.14) mm$,实验前后比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 凹透镜片诱导前后豚鼠眼屈光度和眼轴长度的变化 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Diopter and axis changes of guinea pigs before and after monocular lens-induce ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Diopter (D)		Axis (mm)	
	Exp eyes	Control eyes	Exp eyes	Control eyes
Before induce	$+2.63 \pm 0.43$	$+2.75 \pm 0.75$	7.39 ± 0.08	7.40 ± 0.08
After induce	-5.85 ± 0.75	$+1.43 \pm 0.67$	9.29 ± 0.11	8.50 ± 0.16
<i>t</i>	41.61	24.98	28.33	14.46
<i>P</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

(Paired *t* test)

2.2 力学实验结果

豚鼠实验眼及对照眼刚度系数、巩膜条带的蠕变率、弹性模量比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 豚鼠实验眼与对照眼刚度系数、蠕变率、弹性模量的比较 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of stiffness coefficient, creep rate and elastic modulus in sclera between experimental and control eyes ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Stiffness coefficient (mmHg/ μL)	Scleral band creep rate (%)	Elastic modulus (Mpa)
Exp eyes	2.49 ± 0.39	28.96 ± 5.24	1.55 ± 0.25
Control eyes	2.98 ± 0.40	15.49 ± 6.17	2.93 ± 0.36
<i>t</i>	6.13	5.25	8.89
<i>P</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05

(Paired *t* test)

3 讨论

巩膜组织本身的结构决定其力学特性,当应力超过生理范围时,组织学表现为胶原纤维增粗、增多。由于应力的改变影响了胶原蛋白的合成与聚合,使胶原纤维的数量和直径发生变化,从而引起器官的力学性质发生相应的变化。Curtin^[6]发现正常人巩膜壁的不同部位其应力-应变曲线是不同的,在同样的压力下,眼球后部的巩膜发生变形的程度最大,赤道部巩膜次之,眼前部巩膜最小。Bell 等^[7]指出,巩膜厚度、胶原纤维的质量、胶原纤维之间联系的

程度、周围环境的温度 4 种因素决定个体巩膜的弹性模量,进而决定了巩膜是否延伸而发展成高度近视的后巩膜葡萄肿。冯元桢^[8]研究表明,活的软组织是非线性、黏弹性的,表现为松弛、蠕变和滞后的性质。它或许有明显的滞后环,但相当稳定,对应变率的变化也不敏感。巩膜作为一个承受着眼压的球壁,很小的应变就会引起很高的应力,刚性很强。在正常眼压的长期作用下,由于黏弹性特性、组织内部的新陈代谢及其功能适应性生长,可使巩膜的变形达到一个相对稳定的平衡状态,如果经过一段时间,眼压及巩膜自身的结构及力学特性发生变化,巩膜将产生变形并达到另一平衡状态,巩膜即会产生永久变形。Ku 等^[9]研究认为巩膜为非线性弹性或黏弹性材料,有一个弹性极限,超过此弹性极限将产生塑性变形。

巩膜在生理状态下为球形,与制成长方形的试件相比,将眼球作为一个整体进行研究更有临床意义。本实验将眼球作为一个整体进行研究,并且为了最大限度地模拟整体实验环境,采取在体实验的方法。本实验选用的反映实验性近视眼眼球整体力学情况的指标是受力与体积膨胀的关系。将外界压力设定为正常眼压承受范围,计算得到刚度系数。Friedenwald^[10]首先提出“眼刚度函数”,描述眼压变化随体积变化的关系。刚度为抵抗外界变形的能力,刚度小则变形大,刚度大则变形小。Friedenwald 关系通常用于眼压测量计,近视模型中该指标的应用未见报道。巩膜组织存在黏弹性的特性,所以采用外力作用并给组织内注入液体的模型来表征是适合的^[11],即本实验设计的受力与体积膨胀的关系可行。

准确地计算眼压与体积间的关系,首先要知道渗漏的影响,并解决实验中液体渗漏的问题。由于循环时进入豚鼠眼内的液体会有一部分漏到结膜囊下,造

成了循环实验的误差,不能准确得到眼球的体积变化。为解决液体渗漏,采取以下有效措施:在预实验中,将仪器调试稳定;准确计算麻醉剂量,保持麻醉效果,动物无抖动;行玻璃体腔穿刺时,找准穿刺位置,在巩膜间板层穿行尽量长并 1 次成功;在实验设计上,在正常眼压范围进行;增加渗漏率的修正。

在体与离体相比周围环境相对复杂,在体有周围眼组织的包绕并可能受到神经体液因素的调节。但由于实验是在全身麻醉状态下进行,设置的外界压力为眼球正常承受范围,而且整体实验时间不长,相应的调节机制尚未调动起来,可以认为这是反映整体眼球的力学指标。从眼球壁外、中、内 3 层的力学性能来看,外层巩膜最强,中层脉络膜次之,内层视网膜最弱。在同一应力水平下,三者的切线模量从视网膜到巩膜依次高出数量级^[12],说明巩膜在维持眼球形状方面起着关键作用。巩膜硬度分为瞬时硬度和时间依赖性硬度。瞬时硬度是指眼内容量的增加伴随着眼压的直接升高。时间依赖性硬度是指眼压维持在较高的水平,巩膜开始缓慢扩张,眼压逐渐下降。从力学的观点来看,瞬时硬度就是巩膜的弹性特征,而时间依赖性硬度则是巩膜的黏性特征,也可称为滞后现象。本实验讨论眼球的弹性性质,引入 1 个和瞬时硬度类似的概念——眼球刚度系数,即眼压增量与体积增量的比值。因此可以将该结果看作是反映整体巩膜的力学指标。本实验正常对照眼的刚度系数大于实验眼,差异有统计学意义,可以认为豚鼠实验性近视眼抵抗外界变形的能力小,变形大。

本实验对巩膜这种生物软组织又进行了条带试件实验,选取后极部巩膜,条带试件为 15 mm × 3.5 mm,弹性模量的计算取的是正常眼压范围(200 ~ 350 mmH₂O)内的变化,这就保证了与整体实验的取值条件相一致。本实验蠕变率的蠕变时间是 30 min,与孙朝晖等^[3]蠕变实验的蠕变时间为 60 min 的蠕变率及 Phillips 等^[1]用 5 g 的力进行 20 min 的蠕变拉伸实

验的结论相一致。30 min 的实验从图形上已经能够说明蠕变特性,即软组织材料蠕变性能除开始阶段有显著变化外,之后随着时间的延长发生的变化很小,节省了实验时间。

本实验中离体条带试件的结论与王超英等^[2]、孙朝晖等^[3]近视条带试件的实验结论一致,并增加了豚鼠实验性近视眼的整体在体力学实验的方法及指标,对实验性近视眼巩膜的生物力学性能的探讨更进一步,并且整体在体的结果与以往的条带结果以及自身的条带对照结果一致。本研究表明,在实验性近视的发生中,巩膜的生物力学指标发生了变化,巩膜变薄,抗变形能力小,承载能力较低,更容易变形。

参考文献

- Phillips JR, Khalaj M, McBrien NA. Induced myopia associated with increased scleral creep in chick and tree shrew eyes [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000, 41(8): 2028 - 2034
- 王超英,陈维毅,郝岚,等. 高度近视眼巩膜生物力学特性初步研究 [J]. 眼科研究, 2003, 21(2): 113 - 115
- 孙朝晖,王超英,靳胜利,等. 实验性近视眼巩膜生物力学特征研究 [J]. 眼视光学杂志, 2006, 8(4): 209 - 213
- 靳韬,王超英. 不同应力水平对兔巩膜生物力学特性的影响 [J]. 眼科研究, 2007, 25(9): 641 - 643
- 欧阳朝枯,胡文政,褚仁远. 凹透镜对豚鼠眼生长及屈光发展的影响 [J]. 眼科研究, 2002, 20(5): 391 - 393
- Curtin BJ. Physiopathologic aspects of scleral stress-strain [J]. Trans Am Ophthalmol Soc, 1969, 67: 417 - 461
- Bell GR, Ed MS. Biomechanical considerations of high myopia: part I - physiological characteristics [J]. J Am Optom Assoc, 1993, 64(5): 332 - 338
- 冯元植. 生物力学 - 活组织的力学特性 [M]. 长沙: 湖南科技出版社, 1986: 233
- Ku DN, Green PR. Scleral creep in vitro resulting from cyclic pressure pulses: applications to myopia [J]. Am J Optom Physiol Opt, 1981, 58(7): 528 - 535
- Friedenwald JS. Contribution to the theory and practice of tonometry [J]. Am J Ophthalmol, 1937, 20(9): 985 - 1024
- Johnson M, Tarbell JM. A biphasic, anisotropic model of the aortic wall [J]. J Biomech Eng, 2001, 123(1): 52 - 57
- Wu W, Peters WH, 3rd, Hammer ME. Basic mechanical properties of retina in simple elongation [J]. Biomech Eng, 1987, 109(1): 65 - 67

(收稿: 2009-03-02 修回: 2009-06-22)

(本文编辑: 尹卫靖)

· 临床经验 ·

无晶状体和人工晶状体眼青光眼的联合手术治疗

邓卫东

无晶状体或人工晶状体植入眼继发青光眼的发病机制复杂,手术治疗成功率较低^[1]。常规滤过手术失败的确切原因尚

不清楚,可能与结膜下易形成瘢痕和玻璃体进入前房、玻璃体阻滞瞳孔、玻璃体阻塞滤过口及虹膜周边切除术等因素有关^[2]。本研究针对这些原因,采用玻璃体切割联合滤过手术及丝裂霉素 C (mitomycin C, MMC) 以及玻璃体腔注射曲安奈德,可调节缝线治疗无晶状体和人工晶状体眼继发青光眼,取得一

作者单位: 471002 洛阳市第一人民医院眼科

通讯作者: 邓卫东 (Email: dwd1000@sohu.com)