

吲哚青绿介导光动力抑制兔眼后发性白内障的实验研究

查旭¹⁾, 李兰²⁾, 张远平¹⁾, 曹倩²⁾, 李云川²⁾, 赵学英¹⁾

(1) 昆明医科大学第二附属医院眼科, 云南昆明 650101; 2) 昆明市第一人民医院眼科, 云南昆明 650034)

[摘要] **目的** 研究吲哚青绿(indocyanine green, ICG)介导光动力对兔眼后发性白内障发生的抑制作用。**方法** 32只兔眼随机分为对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组, 分别行晶状体超声乳化及皮质吸出术, 低、中、高剂量组再皮质吸出后前房内注入0.5 mL浓度分别为1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL的ICG后用810 nm的半导体激光对囊膜进行低能量(50 mW/cm²)照射2 min。术后3个月时观察后囊膜的混浊程度及囊膜中晶状体上皮细胞增生细胞核抗原的表达。**结果** 中高剂量组晶状体后囊膜混浊程度EPCO值呈剂量依赖性的下降, 组间比较 $P < 0.01$, 差异有统计学意义; 囊膜的晶状体上皮细胞增殖核抗原增殖指数呈剂量依赖性的下降, 各组间比较 $P < 0.01$, 差异有统计学意义。**结论** ICG的光动力作用在兔眼可降低术后3个月时后囊膜混浊的程度, 其作用是通过术中ICG的光动力毒性清除了囊袋内的晶状体上皮细胞, 从而减少了晶状体上皮细胞的增殖程度。

[关键词] 吲哚青绿; 光动力作用; 后发性白内障

[中图分类号] R776.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2014) 05 - 0046 - 03

Inhibitory Effect of Photodynamic Therapy Mediated by Indocyanine Green on Posterior Capsule Opacification in Rabbits

ZHA Xu¹⁾, LI Lan²⁾, ZHANG Yuan-ping¹⁾, CAO Qian²⁾, LI Yun-chuan²⁾, ZHAO Xue-ying¹⁾

(1) Dept. of Ophthalmology, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101; 2) Dept. of Ophthalmology, The 1st People's Hospital of Kunming, Kunming Yunnan 650034, China)

[Abstract] **Objective** The purpose of this study was to research the inhibitory effect of photodynamic therapy (PDT) mediated by indocyanine green (ICG) on posterior capsule opacification (PCO). **Methods** Thirty-two eyes of rabbits were randomly divided in 4 groups: the control, low-, middle- and high-dose groups. Extracapsular lens extraction by phacoemulsification was performed on 32 eyes. 0.5 mL ICG of 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL and 5 mg/mL was injected into the capsular bag of the eyes in the low-, middle- and high-dose groups respectively, and the eyes were illuminated with a diode laser (wavelength 810 nm) for 2 min. At 3 months after surgery, the degrees of PCO and the expressions of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in lens epithelial cells were evaluated. **Results** After surgery with ICG-mediated PDT, the degrees of PCO have decreased in a dose-dependent manner in the middle- and high-dose groups. There were statistically significant differences among groups ($P < 0.01$). The proliferation indexes of PCNA in lens epithelial cells were reduced in a dose-dependent manner, with the significant differences among groups ($P < 0.01$). **Conclusion** ICG-mediated PDT could reduce the degree of PCO in the eyes of rabbits, which was due to the photodynamic toxicity of ICG by removing lens epithelial cells from the capsular

[基金项目] 昆明市科技局基金资助项目(08S090207); 云南省科技厅 - 昆明医科大学联合专项基金资助项目(2012FB056); 云南省教育厅科研基金资助项目(2012C016)

[作者简介] 查旭(1975~), 男, 云南师宗县人, 眼科学硕士, 讲师, 主要从事晶状体疾病临床工作。

[通讯作者] 赵学英. E-mail: 1695478826@qq.com

bag and reducing the cells proliferation.

[Key words] Indocyanine green; Photodynamic therapy; Posterior capsule opacification

后发性白内障已成为影响白内障患者术后长期拥有良好的视力的主要因素^[1],其发生的主要原因是术中残留的晶体上皮细胞的增殖、移行及纤维化^[2]。因此,术中尽可能清除晶状体上皮细胞是防治后发性白内障的主要手段之一,Melendez的体外实验证实^[3],吲哚青绿(indocyanine green, ICG)对晶状体上皮细胞具有光动力毒性,并呈剂量依赖性。本研究拟利用 ICG 对晶状体上皮细胞的光动力毒性作用,探讨其对后发障的防治作用。

1 材料与方法

32只新西兰兔雌雄兼备,体重2~2.5 kg,随机分为对照组、低剂量 ICG 组、中剂量 ICG 组、高剂量 ICG 组,每组8只。分组后的新西兰兔,均选取右眼,充分散瞳、麻醉后行上方透明角膜切口,注入粘弹剂、环形撕囊、水分离晶状体后行晶状体超声乳化手术,彻底清除晶体核及晶体皮质,复方氯化钠形成前房,关闭切口,结膜下注射地塞米松 2.5 mg,妥布霉素地塞米松眼膏包封术眼。低剂量 ICG 组、中剂量 ICG 组、高剂量 ICG 组、行超声乳化吸出晶状体后,前房内注入 0.5 mL 浓度分别为 1.25 mg/mL(低剂量组), 2.5 mg/mL(中剂量组), 5 mg/mL(高剂量组)的 ICG 后分别注入气体,使气体泡与角膜内皮相接触,隔离 ICG 与角膜内皮的接触,用 810 nm 的半导体激光对囊膜进行低能量(50 mW/cm²)照射 2 min,完毕后,冲洗出 ICG,复方氯化钠形成前房,关闭切口结膜下注射地塞米松 2.5 mg,妥布霉素 2 万 U,妥布霉素地塞米松眼膏包封术眼。术后给予妥布霉素地塞米松眼液、复方托吡卡胺眼液滴眼,3次/d,共1周。术后观察结膜充血、角膜水肿、前房炎症、后囊膜增生情况。

术后3月,兔眼充分散瞳后裂隙灯下检查后囊增生,后照法拍摄后囊膜混浊的照片,并用后囊膜评价系统 EPCO2000 系统评价后囊膜混浊,累加计算出 EPCO 值。处死动物,取出眼球,囊膜材料用甲醛固定后行免疫组化法检测兔后囊膜中 LECs 增生细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达结果判定:PCNA 阳性表达为细胞核呈棕黄色。计数 50 个细胞中的阳性细胞数,计算增殖指数(PI):

$$PI = \frac{\text{PCNA 阳性细胞数}}{50} \times 100\%$$

每张切片随机选取 3 个高倍视野,求得均数和标准差为该样本 PI 值。统计资料经正态检验及方差齐性检验。采用单因素方差分析。两两比较用 *q* 检验。

2 结果

中、高剂量组晶状体后囊膜混浊程度 EPCO 值呈剂量依赖性的下降,组间比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

术后 3 月,囊膜的晶状体上皮细胞增殖核抗原增殖指数呈剂量依赖性的下降,各组间比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

表 1 术后第 3 月晶状体后囊膜混浊 EPCO 值比较 [$n=8, (\bar{x} \pm s)$]

Tab. 1 Comparison of EPCO value among groups in the 3rd month after surgery [$n=8, (\bar{x} \pm s)$]

组别	EPCO 值
对照组	2.71 ± 0.34
低剂量组	2.64 ± 0.20
中剂量组	1.35 ± 0.33** $\Delta\Delta$
高剂量组	0.78 ± 0.23** $\Delta\Delta\Delta\Delta$

与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与低剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与中剂量组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ 。

表 2 术后 3 月各组后囊膜增殖核抗原增殖指数(PI)比较 [$n=8, (\bar{x} \pm s)$]

Tab. 2 Comparison of the proliferation indexes of PCNA among groups in the 3rd month after surgery [$n=8, (\bar{x} \pm s)$]

组别	PI 值
对照组	0.97 ± 0.00 1
低剂量组	0.89 ± 0.00 4** $\Delta\Delta$
中剂量组	0.63 ± 0.00 7** $\Delta\Delta\Delta$
高剂量组	0.20 ± 0.00 3** $\Delta\Delta\Delta$

与对照组比较, ** $P < 0.01$; 各剂量组间两两比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

3 讨论

目前,对后发障的有效治疗是行激光后囊切开术或再次手术^[4],因此增加了视网膜脱离、黄斑囊样水肿、继发性青光眼及人工晶体激光损伤等

并发症的危险性。阻止后发性白内障的发生变得尤为重要，特别是对于儿童和较年轻的白内障患者^[5]。目前认为可行的两个途径是：术中应尽可能的清除晶状体上皮细胞和阻止残留上皮细胞的增殖^[6]、迁移。光动力治疗（photodynamic therapy, PDT）的基本原理是：利用光敏剂与目标组织和细胞具有亲和性和富集性的特点，用一定波长光激发滞留于组织、细胞内的光敏剂，使其产生单态氧，使细胞死亡。已有实验表明^[7]，利用细菌叶绿素 A 的光动力作用能有效的降低兔眼后发性白内障的程度及晶状体上皮细胞的增值。吡啶青染料是一种水溶性无毒的三碳菁燃料，广泛用于眼科脉络膜血管造影^[8]，1998 年，Heriguohi 应用 ICG 于白内障超声乳化术中晶体前囊膜染色，协助完成连续环形撕囊。已有实验证实，ICG 对角膜内皮细胞无毒性作用，且不增加白内障术后的眼内炎症反应。Cota 首先利用 ICG 作为光敏剂，对年龄相关性黄斑病变、高度近视患者的视网膜新生血管进行 PDT 治疗，获得良好疗效。Melendez 的体外实验证实^[9] ICG 对晶状体上皮细胞具有光动力毒性，并呈剂量依赖，0.5 g/L 时，25% 晶状体上皮细胞死亡，5 g/L 时，大于 95% 晶状体上皮细胞死亡。国内的体内实验表明^[9,10]，兔眼白内障术中采用 ICG 介导的 PDT，可导致 LEC 大量死亡。相关实验证实，前房内注入气泡，可避免 ICG 与角膜内皮细胞的接触，并且检测了各剂量组术后 3 个月时的角膜中央厚度与角膜内皮细胞密度，表明 ICG 介导的光动力作用对角膜内皮无毒性作用^[11]。笔者的实验表明，利用 ICG 的光动力作用在兔眼可降低术后 3 个月时后囊膜混浊的程度，其作用是通过术中 ICG 的光动力毒性清除了囊袋内的晶状体上皮细胞，从而减少了晶状体上皮细胞的增殖程度。术后 3 个月时后囊膜晶状体上皮细胞增殖核抗原增殖指数呈剂量依赖性下降

也说明了这一点。

[参考文献]

- [1] 魏捷,蒋华. 后发性白内障的防治新进展[J]. 国际眼科杂志,2008,8(10):2 090 - 2 093.
- [2] 卜文娟,徐国兴. 结缔组织生长因子与后发性白内障的研究进展[J]. 国际眼科杂志,2008,8(12):2 487 - 2 489.
- [3] 刘李平,罗英,宋徽. Nd:YAG激光在不同类型后发性白内障中的应用[J]. 国际眼科杂志,2010,10(3):538 - 539.
- [4] 顾铮. 后囊膜连续环形撕囊联合或不联合前部玻璃体切除对儿童后发性白内障影响的Meta分析[J]. 国际眼科杂志,2007,7(6):1 601 - 1 605.
- [5] 包煜芝,张海燕. EDTA与多聚赖氨酸的铰链物抑制兔后发性白内障的实验研究[J]. 国际眼科杂志,2012,12(3):397 - 399.
- [6] MELENDEZ R F, KUMARN, MASWADI S M, et al. Photodynamic actions of indocyanine green and trypan blue on human lens epithelial cells in vitro [J]. Am J Ophthalmol, 2005, 140 (1): 132 - 134.
- [7] VAN TENT EN Y, SCHUITMAKER H J, DE GROOT V, et al. A preliminary study on the prevention of posterior capsule opacification by photodynamic therapy with bacteriochlorin A in rabbits [J]. Ophthalmic Res, 2002, 34(3): 113 - 118.
- [8] 朱雪菲. 吡啶青绿在眼科的应用进展[J]. 眼科新进展 2003, 23(2): 142 - 144.
- [9] 谢青,唐罗生,张曼萍,等. 吡啶青绿联合光照对兔晶状体上皮细胞影响的实验研究 [J]. 眼科新进展, 2011, 31(8): 718 - 720, 724.
- [10] 谢青,唐罗生,王玲,等. 吡啶青绿光动力疗法对兔晶状体上皮细胞超微结构的影响 [J]. 眼科新进展, 2010, 30(4): 325 - 327.
- [11] 李静华,李兰,李云川,等. 吡啶青绿介导光动力防治后囊膜混浊对兔角膜内皮细胞的影响[J]. 昆明医科大学学报, 2013, 34(1): 53 - 55.

(2014 - 03 - 02 收稿)