

吲哚青绿介导光动力防治后囊膜浑浊对兔角膜内皮细胞的影响

李静华¹⁾, 李 兰²⁾, 李云川²⁾, 张远平¹⁾

(2) 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 650011)

[摘要] **目的** 研究吲哚青绿介导光动力防治后囊膜浑浊对兔角膜内皮细胞的影响. **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皮质吸出术; 低、中、高剂量组皮质吸出后前房内分别注入 0.5 mL 浓度为 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL 的吲哚青绿 (ICG) 后用 810 nm 的半导体激光对囊膜进行低能量 (50 w/cm) 照射 2 min. 术后 3 月时观察角膜内皮细胞的数量和角膜的厚度. **结果** 术后 3 月, 低剂量组、中剂量组、高剂量组的角膜内皮细胞数量发生减少, 但是与对照组相比, 差异无统计学意义; 术后 3 月, 低剂量组、中剂量组、高剂量组的角膜厚度增加, 但是与对照组相比, 差异无统计学意义. **结论** 吲哚青绿介导光动力防治后囊膜浑浊对兔角膜内皮细胞没有影响.

[关键词] 吲哚青绿; 光动力作用; 角膜内皮

[中图分类号] R776 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2013) 01 - 0053 - 03

Effect of Indocyanine Green Guided Photodynamic Prevention of Posterior Capsular Opacification on Rabbit Corneal Endothelial Cells

LI Jing - hua¹⁾, LI Lan²⁾, LI Yun - chuan²⁾, ZHANG Yuan - ping¹⁾

(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 City, Kunming Yunnan 650011, China)

[Abstract] **Objective** To determine whether Photodynamic therapy (PDT) with Indocyanine green (ICG) has harmful effect on corneal endothelium in rabbit for prevention of posterior capsule opacification (PCO). **Methods** 32 rabbit's eyes were randomly divided in 4 groups: control group, low dose group, middle dose group and high dose group. Extracapsular lens extraction by phacoemulsification was performed on 32 eyes. 0.5 ml ICG (1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL) was injected in the capsular bag and the eye was illuminated with a diode laser (wavelength 810 nm) for 2min. 3 months after surgery, the number of corneal endothelia cells and the sickness of cornea were observed. **Results** 3 months after surgery, the number of corneal endothelia cells in low dose group, middle dose group and high dose group reduced, but had no statistically significant difference with control group. 3 months after surgery, the sickness of cornea in low dose group, middle dose group and high dose group increased, but had no statistically significant difference with control group. **Conclusion** Indocyanine green guided photodynamic prevention of posterior capsular opacification has no effect on rabbit corneal endothelial cells.

[Key words] Indole green; Light dynamic function; Corneal endothelia

后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO) 是指白内障摘除术后, 残留在囊袋内的晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 发生增殖、移行、及纤维化所引起的后囊膜浑浊. 后囊

[基金项目] 昆明市社会科学重点资助项目 (08S090207)

[作者简介] 李静华 (1978 ~), 女, 云南个旧市人, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事晶状体疾病和眼底疾病的研究工作.

[通讯作者] 张远平. E-mail: ynzyp@yahoo.cn

膜浑浊是目前白内障术后最主要的并发症, 如何防止后囊膜的浑浊的发生成为眼科界的一大难题和热点课题. 吲哚青绿 (indocyanine green, ICG) 一种安全的吲哚染料, 已广泛运用于视网膜和脉络膜造影^[1]. 本实验前期研究超声化手术中应用不同浓度 ICG 联合光动力疗法能有效防治兔眼后囊膜浑浊, 本文将进一步研究不同浓度的 ICG 介导的光动力对角膜内皮细胞的毒性作用. 为临床使用吲哚青绿介导光动力预防后囊膜混浊时角膜内皮细胞的变化提供了新思路.

1 实验动物

1.1 材料与方法

健康新西兰兔 32 只 (昆明医科大学动物中心提供), 体重 2.0 ~ 2.5 kg, 雌雄不限, 随机分组后编号, 分笼喂养, 试验前裂隙灯显微镜及眼底镜检查双眼角膜透明, 瞳孔等大等圆, 晶状体透明. 32 只随机分为对照组、低剂量 ICG 组、中剂量 ICG 组、高剂量 ICG 组, 每组 8 只兔, 每只兔均选取右眼为实验眼.

1.2 主要仪器与设备

光学显微镜 (德国 ZEISS 公司). 超声乳化仪器 (美国 AMO) 公司, 角膜内皮细胞计数仪.

1.3 动物模型的建立

新西兰兔经耳缘静脉注入 3% 戊巴比妥钠 (100 mg/kg) 全身麻醉后, 眼局部滴用爱尔卡因眼液. 1% 安尔碘消毒兔眼周皮肤, 氯霉素眼液消毒眼球, 复方托品酰胺散瞳, 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, 按照对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组前房内给药给药及激光照射后囊膜, 复方氯化钠溶液形成前房, 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. 如果在手术中不慎损伤后囊, 则去掉该动物的数据, 术后涂抗生素眼膏以防止角膜感染.

1.4 给药方法

分别在低剂量 ICG 组、中剂量 ICG 组、高剂量 ICG 组行超声乳化吸出晶状体后, 低剂量 ICG 组、中剂量 ICG 组、高剂量 ICG 组分别在前房内注入 0.5 mL 浓度分别为 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL 的 ICG, 在各组中前房分别注入气体, 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/cm) 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, 庆大霉素 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, 每日 3 次, 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.

1.5 观察指标

术后 3 月, 裂隙灯显微镜观察兔角膜形态, 内皮细胞测量仪测量兔眼角膜内皮的厚度, 计数角膜内皮细胞的数量.

1.6 统计学分析

所有数据均输入计算机, 用 SPSS 软件包进行统计学分析. 组间比较采用 *t* 检验, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示.

2 结果

2.1 裂隙灯观察结果

1 周时各组兔角膜清亮, 无水肿和浑浊发生. 3 月时各组兔眼角膜均透明, 无水肿.

2.2 角膜厚度测量结果

术后 3 月, 角膜厚度测量仪测量角膜厚度, 结果显示: 与对照组相比, 低剂量组、中剂量组、高剂量组的兔角膜内皮厚度增加, 但与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1.

表 1 手术后 3 月角膜中央厚度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of central corneal thickness 3 months after operation ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	手术后 3 月角膜中央厚度 (μm)
对照组	8	363.75 \pm 15.54
低剂量组	8	369.50 \pm 15.63
中剂量组	8	374.50 \pm 13.56
高剂量组	8	378.38 \pm 15.34

2.3 角膜内皮细胞数量观察

术后 3 月, 测量角膜内皮细胞数量, 结果显示: 与对照组相比, 低剂量组、中剂量组、高剂量组的兔角膜内皮厚度增加, 但与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2.

3 讨论

光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 是通过光敏剂进入体内受到适当波长光的激发产生

表 2 手术后 3 月角膜内皮细胞密度的比较 ($\bar{x} \pm s$)Tab. 2 Comparison of corneal endothelium cell density 3 months after operation ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	手术后 3 月角膜内皮细胞密度 (个/mm ²)
对照组	8	3 177.00 ± 106.04
低剂量组	8	3 182.88 ± 96.31
中剂量组	8	3 176.50 ± 115.69
高剂量组	8	3 164.13 ± 75.98

一系列光化学毒性效应, 生成中间活性物质, 与相应靶组织结合, 导致不可逆的组织损伤和细胞死亡的一种治疗方法^[2,3]. PDT 被广泛运用于年龄相关性黄斑变性, 中心性渗出性视网膜病变, 眼部肿瘤等眼部疾病. 光敏剂、光源及氧是其基本的三要素^[4].

吲哚青绿 (indocyaninegreen, ICG) 称靛青绿或福氏绿, 是一种较安全的吲哚染料, 在眼科已广泛被运用于视网膜和脉络膜造影. ICG 的最大吸收波长为 784 nm, 但其水溶液的最大吸收波长可以降到 600 ~ 700 nm, ICG 能增强组织对波长大于 600 nm 的光的吸收, 所以也可以作为光敏剂. Jousseaume 等曾报道 ICG 在 810 nm 二极管激光时可诱导培养的人 LEC 死亡^[5]. 谢青等人发现在 ECCE 术中采用 5 g/L ICG 水分离联合光照, 可致术后早期 LECs 大量减少^[6]. 笔者在前期试验中将 ICG 联合光照应用于兔超声乳化术后预防 PCO 的试验研究证实 ICG 的光动力作用在兔眼可降低术后 3 月时后囊膜混浊的程度.

本实验中 ICG 作为光敏剂在前房内停留的时间为 2 min, 为防止 ICG 对角膜内皮的影响, 实验中前房内注入气泡, 避免 ICG 与角膜内皮细胞的接触. 目前有关 ICG 对角膜内皮细胞的影响的报道与 ICG 的浓度和作用时间等因素有关, Chang 等研究的 2.5 mg/mL 吲哚青绿在 5 min 内对体外培养的兔角膜内皮细胞无毒性反应^[7], 而与 5 mg/mL 吲哚青绿在 1 min 内对体外培养兔角膜内皮细胞超微结构有破坏. Glenn P 等试验研究人类和兔眼前房在 0.5% 的 ICG 3 min 作用下对角膜血管内皮功能、角膜超微结构没有影响^[8]. Yi-Sheng Chang 等在体外动物试验中证实了 0.25% ICG 1 min 作用下对角膜内皮细胞无毒性作用. 关于 ICG 介导的光动力对角膜内皮细胞的影响尚无报道^[9].

本研究表明国产 1.25%, 2.5%, 5% 的国产吲哚青绿溶液介导的光动力预防 PCO 术后 3 月时,

与对照组相比, 兔角膜厚度增加, 角膜内皮细胞数量减少, 但结果无统计学差异. 通过本实验研究, 国产 1.25%, 2.5%, 5% 的国产吲哚青绿介导光动力 2 min 预防 PCO 对兔角膜内皮细胞无毒性反应, 但是白内障手术中患者自身角膜内皮细胞数量减少如青光眼、葡萄膜炎等疾病和手术中超声乳化手术的技巧与手术时间均会对患者术后角膜内皮的数量和形态产生影响, 本实验中术者为经验丰富的超声乳化手术医师, 术后兔眼角膜无水肿, 建议患者术前需要经过严格的角膜内皮镜检查, 手术医师掌握熟练的手术技巧. 本研究仅观察了 ICG 介导的光动力对兔眼角膜内皮细胞的变化, 该方法对邻近的眼部组织也可能产生影响, 其安全性及作用时间有待深入研究.

[参考文献]

- [1] 龙儒桃, 贝宁, 黄秀榕. 雷公藤内酯醇对牛晶状体上皮细胞增殖的抑制及其胞浆内 cGMP 浓度的影响 [J]. 海南医学院学报, 2007, 13(5): 422 - 424.
- [2] HOPE R M, YANNUZZI L A, GRAGOU DES E S. Adverse reactions due to ICG [J]. Ophthalmology, 1994, 101(7): 529 - 533.
- [3] PLAETZER K, KIESSLICH T, KRAMMER B, et al. Characterization of the cell death modes and the associated changes in cellular energy supply in response to AIPeS 4 - PDT [J]. Photochem Photobiol Sci, 2002, 1(3): 172 - 177.
- [4] MOOR A C. Signaling pathways in cell death and survival after photodynamic therapy [J]. Photochem Photobiol, 2000, 57(1): 1 - 13.
- [5] ZHUTC, FINLAY J C. The role of photodynamic therapy (PDT) physics [J]. MedPhys, 2008, 35(7): 3 127 - 3 136.
- [6] 谢青, 陈惠, 邓洪, 等. ICG 联合光照对兔晶状体上皮细胞增殖的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(12): 1 771 - 1 773.
- [7] 莫浩元, 张昌卿, 冯凯涛, 等. 鼻咽癌组织中 p53 和 PCNA 表达与临床分期、VCA / IgA / EA / IgA、放射敏感性和预后的关系 [J]. 癌症, 2004, 23(11): 1 551 - 1 554.
- [8] GLENN P, HOLLEY, ABU ALAM, et al. Effect of indocyanine green intraocular stain on human and rabbit corneal endothelial structure and viability [J]. Cataract Refract Surg, 2002, 6(28): 1 027 - 1 032.
- [9] YI-SHENG CHANG. Comparison of dyes for cataract surgery. Part I: Cytotoxicity to corneal endothelial cells in a rabbit model [J]. Cataract Refract Surg, 2005, 31(8): 792 - 798.

(2012 - 10 - 17 收稿)