

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.09.012
文章编号: 1005-8982 (2018) 09-0065-05

新进展研究·论著

开角型青光眼患者结膜微血管结构的临床研究*

刘康成¹, 叶蕾¹, 骆仲舟², 钟菁², 容蓉¹, 刘荣强³,
朱佩文¹, 姜楠¹, 袁进², 邵毅¹

(1. 南昌大学第一附属医院 眼科, 江西 南昌 330006; 2. 中山大学中山眼科中心, 广东 广州 510060; 3. 中山大学医学院 研究生 1 院, 广东 广州 510060)

摘要:目的 应用功能裂隙灯活体显微镜(FSLB)探究开角型青光眼患者结膜微循环的血流动力学情况。**方法** 采用 FSLB 对 18 例开角型青光眼患者的结膜微血管血流动力学进行测量并将其分为两组, 右眼为 A 组, 左眼为 B 组。球结膜经数字相机进行较高清晰度的视野成像后, 形成非侵入性球结膜微循环血流灌注图(nMPMs), 同时以 60 帧/s 高成像速率和 ×210 高放大率对血流动力学成像。应用定制软件, 进一步对结膜 nMPMs 进行分形分析, 进行血管密度及血流动力学测定。**结果** 与 A 组比较, B 组结膜的微血管各方位密度、长度、直径、微动脉及微静脉血流速度均无改变, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); A、B 两组上、下侧微动脉和微静脉的血流速度 < 鼻、颞侧微动脉及静脉血流速度, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); A、B 两组内结膜的各方位微血管密度、长度、直径比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结膜微血管密度、长度、直径由大到小排列为: 颞侧/鼻侧 > 下方 > 上方。**结论** 功能性裂隙灯生物显微镜能用于检测开角型青光眼患者球结膜微循环血流动力学改变情况。

关键词: 开角型青光眼; 结膜; 血流动力学; 功能裂隙灯活体显微镜

中图分类号: R775; R77

文献标识码: A

Experimental study of conjunctival microvascular system in open-angle glaucoma patients*

Kang-cheng Liu¹, Lei Ye¹, Zhong-zhou Luo², Jing Zhong², Rong Rong¹,
Rong-qiang Liu³, Pei-wen Zhu¹, Nan Jiang¹, Jing Yuan², Yi Shao¹

(1. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China; 2. Department of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510060, China; 3. The Graduate College, Sun Yat-sen Medical University, Guangzhou, Guangdong 510060, China)

Abstract: Objective To investigate the application of functional slit lamp biomicroscopy (FSLB) in mapping hemodynamics conjunctiva microcirculation of open-angle glaucoma. **Methods** The hemodynamics of conjunctival micro-vessels in 18 patients with open angle glaucoma were recorded by FSLB and were divided into 2 groups: right eye group (group A) and left eye group (group B). The spherical conjunctiva was imaged by a high-resolution digital camera. The nMPMs were recorded at a high imaging rate of 60 frames per second and a high magnification of ×210 with images obtained. Vascular density and hemodynamics of conjunctival nMPMs were identified using customized software. **Results** No significant differences in the density, length, diameter, fretting and venous flow velocity of conjunctival micro-vessels were observed between group A and group B ($P > 0.05$). The velocity of micro-artery

收稿日期: 2017-04-14

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81400372, 81400424, 81660158); 江西省远航工程 (No: 2014022); 江西省自然科学基金重大项目 (No: 2016ACB21017); 江西省青年科学基金 (No: 20151BAB215016); 江西省科技支撑计划项目 (No: 20151BBG70223)

[通信作者] 邵毅, E-mail: freebee99@163.com; Tel: 13576955700

and veins in the upper and lower sides of 2 groups were significantly higher than those in nasal and temporal side ($P < 0.05$). Statistically significant differences in microvascular density, length and diameter were observed in both groups ($P < 0.05$). The rank of micro-vessel density is as listed from highest to lowest: temporal / nasal, lower, above.

Conclusions FSLB can effectively detect hemodynamics changes in conjunctival microcirculation in open angle glaucoma patients.

Keywords: open-angle glaucoma; conjunctiva; microvascular; functional slit lamp biomicroscopy

以视神经损害为主要病理改变的原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma, POAG) 作为不可逆性致盲眼病常见病, 其发病率逐年升高, 致盲率已达到全世界致盲眼病的第 2 位^[1]。有文献显示^[2], 2020 年, 世界范围内青光眼人数可能达到 7960 万, 其中 74% 为 POAG, 而中国地区青光眼患者可能达到 600 万。而目前 POAG 的病因及发病机制尚不完全明晰, 全身系统疾病、遗传因素、近视及神经营养因子等都有可能引起视神经的损伤^[3], 眼压升高仅是导致视功能受损的其中 1 个因素^[4]。由于 POAG 早期不易检出, 寻找 POAG 某些指标的改变对于早期发现 POAG 有一定意义。功能裂隙灯活体显微镜 (functional slit lamp biomicroscopy, FSLB) 改进于传统的裂隙灯显微镜, 通过与数码相机连接, 借助其裁剪影像的功能, 极大改进裂隙灯光学系统的放大倍率, 从而获得较高的空间分辨率。同时可根据需要对放大倍率及录制速度进行设定, 在不损伤图像质量的前提下使得研究人员进行高速视频录制, 对球结膜上数百血管进行成像, 获得非侵入性球结膜微循环血流灌注图 (non-invasive bulbar conjunctival microvascular perfusion maps, nMPMs), 清晰得到现实微血管网络和微血管循环细节, 并通过各种软件对所得图像进行处理、分析, 从而对所需指标进行进一步测定, 评估血流形态学和血流动力学。JIANG 等人^[5]最近证明, FSLB 可以用于在正常人的球结膜上成像, 本研究通过 FSLB 对开角型青光眼患者进行检查, 测定相关血流指标, 观察其球结膜微循环血流动力学的改变。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取南昌大学第一附属医院和中山眼科中心确诊的开角型青光眼患者 18 例 (均为双眼起病)。其中, 男性 8 例, 女性 10 例; 年龄 24 ~ 45 岁, 平均 35 岁; 裸眼视力 0.4 ~ 1.0, 平均 0.6; 平均眼轴 22.78 mm。开角型青光眼患者分为两组: 右眼为 A 组; 左眼为 B 组。双眼结膜血流动力学测量指标包括结膜微血管的上侧、下侧、鼻侧、颞侧微血管密度、微血管长度、

微血管直径以及微血管血液流速。纳入标准: ①患者具有典型的视野缺损; ②经检查确定视盘改变; ③房角开放; ④眼压 >2.8 kPa。排除标准: ①具有其他眼部并发症 (如视网膜病变、眼部感染等); ②眼科疾病手术; ③各种血液系统疾病及心脑血管疾病等。本研究符合《赫尔辛基宣言》, 并通过两医院医学伦理委员会批准, 患者及家属均签署知情同意书。

1.2 检查方法

按照 JIANG 等^[5]人方法, 在双眼颞侧球结膜选定约为 $5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ 区域, 对所选区域的上侧、下侧、鼻侧及颞侧进行视频剪辑, 每次剪辑面积约 $2\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 。nMPM 需经拍摄所得的静止图像进行平均分形分析, 借助所得结果计算血管密度。测量双眼的微动脉及微静脉, 获得微动脉流速 (V_a)、微静脉流速 (V_s)、血管直径 (D) 及血流速度 (V) 值。

1.3 微血管血液流速测定方法

连接数字照相机, 快门速度 (SS) 设置为 $1/60\text{ s}$, 应用血流动力学定制软件^[6-7], 所获血流图像大小设置为 $0.94\text{ mm} \times 0.70\text{ mm}$ (每像素 $1.47\text{ }\mu\text{m}$, $\times 210$), 通过相机的电影裁减功能确定血管壁, 对血管中心线进行标记后创建时空图像, 勾勒出红细胞运动空间的条带, 对其斜率进行测量, 以获得 V (mm/s)。 D (μm) 通过对半全宽的测量进行计算, 最后测得 V_a (mm/s) 和 V_s (mm/s)。每个方位分别选取 4 个区域进行测量, 取平均值。

1.4 微血管密度测定方法

以静止图像模式进行拍摄, 将数字相机 SS 设置为 $1/15\text{ s}$, 图像大小设定为 $5\ 184 \times 3\ 456$ 像素, 光学放大倍率设置为 $\times 22$, 在设置绿色滤光片后, 对颞侧结膜 $15.74\text{ mm} \times 10.50\text{ mm}$ 的视野区域进行捕捉。使用定制软件^[5]将所获得的图像进行分段, 使用软件 (Benoit™, Tru Soft Inc, St.Petersburg, FL, 美国) 对其进行分形分析, 获得血管密度情况, 评估 nMPM 的复杂性。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 并行 t 检验, $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者结膜微动脉血流速度比较

A、B两组间微动脉血流速度比较采用 t 检验,与A组比较,B组不同摄像方位结膜微动脉血流速度均无变化,差异均无统计学意义。两组上、下方微动脉血流速度<鼻、颞侧微动脉血流速度,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 两组患者结膜微静脉血流速度比较

A、B两组间微静脉血流速度比较采用 t 检验,与A组比较,B组不同摄像方位结膜微静脉血流速度均无变化,差异无统计学意义($P>0.05$)。两组上、下方微静脉血流速度<鼻、颞侧微静脉血流速度,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 两组患者结膜微血管密度、长度、直径比较

A、B两组间结膜微血管密度、长度、直径比较采用 t 检验,与A组比较,B组不同摄像方位结膜微血管密度、长度、直径均无改变,差异无统计学意义;

表1 开角型青光眼患者结膜不同部位微动脉血流流速的比较 ($n=18$, mm/s, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼻侧	颞侧	上方	下方
A组	$0.47\pm 0.16^{(1)2)}$	$0.47\pm 0.16^{(1)2)}$	$0.36\pm 0.14^{(3)4)}$	$0.36\pm 0.13^{(3)4)}$
B组	$0.47\pm 0.17^{(1)2)}$	$0.45\pm 0.17^{(1)2)}$	$0.35\pm 0.12^{(3)4)}$	$0.36\pm 0.11^{(3)4)}$
t 值	0.001	0.011	0.002	0.001
P 值	0.999	0.972	0.992	0.999

注:1)与上方比较, $P<0.05$;2)与下方比较, $P<0.05$;3)与鼻侧比较, $P<0.05$;4)与颞侧比较, $P<0.05$

表2 开角型青光眼患者结膜不同部位微静脉血流流速的比较 ($n=18$, mm/s, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼻侧	颞侧	上方	下方
A组	$0.35\pm 0.15^{(1)2)}$	$0.34\pm 0.13^{(1)2)}$	$0.26\pm 0.09^{(3)4)}$	$0.25\pm 0.09^{(3)4)}$
B组	$0.35\pm 0.14^{(1)2)}$	$0.34\pm 0.14^{(1)2)}$	$0.24\pm 0.11^{(3)4)}$	$0.26\pm 0.08^{(3)4)}$
t 值	0.001	0.001	0.016	0.012
P 值	0.999	0.999	0.956	0.971

注:1)与上方比较, $P<0.05$;2)与下方比较, $P<0.05$;3)与鼻侧比较, $P<0.05$;4)与颞侧比较, $P<0.05$

表3 开角型青光眼患者结膜微血管密度比较 ($n=18$, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼻侧	颞侧	上方	下方
A组	$1.61\pm 0.15^{(1)2)}$	$1.62\pm 0.16^{(1)2)}$	$1.43\pm 0.12^{(3)4)}$	$1.51\pm 0.16^{(3)4)}$
B组	$1.63\pm 0.16^{(1)2)}$	$1.63\pm 0.15^{(1)2)}$	$1.43\pm 0.08^{(3)4)}$	$1.53\pm 0.15^{(3)4)}$
t 值	0.001	0.001	0.001	0.009
P 值	0.993	0.994	0.999	0.984

注:1)与上方比较, $P<0.05$;2)与下方比较, $P<0.05$;3)与鼻侧比较, $P<0.05$;4)与颞侧比较, $P<0.05$

表4 开角型青光眼患者结膜微血管长度比较 ($n=18$, μm , $\bar{x}\pm s$)

组别	鼻侧	颞侧	上方	下方
A组	$186.24\pm 22.25^{(1)2)}$	$184.65\pm 22.57^{(1)2)}$	$157.67\pm 15.96^{(3)4)}$	$168.65\pm 16.43^{(3)4)}$
B组	$186.62\pm 22.19^{(1)2)}$	$186.67\pm 22.54^{(1)2)}$	$155.74\pm 16.67^{(3)4)}$	$167.58\pm 17.54^{(3)4)}$
t 值	0.007	0.001	0.018	0.011
P 值	0.982	0.993	0.941	0.974

注:1)与上方比较, $P<0.05$;2)与下方比较, $P<0.05$;3)与鼻侧比较, $P<0.05$;4)与颞侧比较, $P<0.05$

表 5 开角型青光眼患者结膜微血管直径比较 ($n=18$, μm , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼻侧	颞侧	上方	下方
A 组	17.99 ± 2.76 ⁽¹⁾²⁾	17.76 ± 2.37 ⁽¹⁾²⁾	14.37 ± 1.58 ⁽³⁾⁴⁾	15.89 ± 2.72 ⁽³⁾⁴⁾
B 组	18.04 ± 2.66 ⁽¹⁾²⁾	18.86 ± 2.66 ⁽¹⁾²⁾	14.46 ± 2.07 ⁽³⁾⁴⁾	15.92 ± 2.92 ⁽³⁾⁴⁾
<i>t</i> 值	0.009	0.016	0.014	0.011
<i>P</i> 值	0.973	0.944	0.952	0.971

注: 1) 与上方比较, $P < 0.05$; 2) 与下方比较, $P < 0.05$; 3) 与鼻侧比较, $P < 0.05$; 4) 与颞侧比较, $P < 0.05$

A、B 两组内结膜各方位微血管的密度、长度、直径比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结膜微血管密度、长度、直径由大到小排列为颞侧 / 鼻侧 > 下方 > 上方。见表 3~5。

3 讨论

POAG 作为眼科常见的预后较差的致盲眼病, 发病率高, 且其目前在国内呈上升趋势^[8]。自 1985 年, KLAVER 等^[9]人首次发现。相比于正常人, 原发性开角型青光眼患者血液黏度增高, 血流率下降可引起视神经损害, 越来越多的学者开始从血流动力学等方面开始对开角型青光眼进行研究。有研究发现, POAG 患者视网膜中央动脉处于高阻力状态, 血液流速低, 视盘及视网膜供血减少; 眼动脉在舒张期流速速度也有一定降低; 睫状后动脉收缩期和舒张期阻力增加, 血流供应减少, 导致脉络膜血液供应降低^[10-15]。因此, 对开角型青光眼患者进行血流测定的相关指标的研究势在必行。另外, 相关指标出现改变时, 对其进行评估和干预, 可作为疾病诊断、治疗等方面的重要依据, 也可作为治疗后改善程度的参考指标。

目前, 共焦显微镜能在活体条件下对角膜各种细胞的形态结构和动态变化进行实时观察^[16], 但对于球结膜微血管系统血流动力学相关参数的检测仍有许多问题需要解决。虽然其中某些参数可以在疾病的晚期阶段检测到, 但在疾病早期难以对异常血管征象和细微的生物图像标志进行检测^[17-19]。功能裂隙灯生物显微镜则可以通过连接数码相机, 自由设置所需参数, 利用高速视频记录的方式, 获得高分辨率、高放大倍率的非侵入性图像, 在一定程度上具有在疾病早期检测球结膜微血管某些细小和特异性变化的能力, 对球结膜微血管形态进行定量分析, 提供更多的信息用于疾病病因、病情进展和患者护理。值得一提的是, FSLB 通过数字缩放, 仅仅增加了像素的尺寸来实现远摄, 保留图像质量, 使得微血管网络的成像范围更

广, 细节更为清晰。

本研究利用 FSLB 对开角型青光眼患者球结膜微血管系统进行检测, 其结果可以发现所测开角型青光眼患者 A 组和 B 组同方位各项血流动力学指标均无差异。但就单眼而言, 上侧和下侧微动脉血流速度 < 鼻颞侧微动脉血流速度, 结膜微血管的密度、长度、直径由大到小均为颞侧 / 鼻侧 > 下方 > 上方。曾有报道, 正常人球结膜血流速度范围 0.2 ~ 2.0 mm/s^[5, 20-23], 而本研究所测开角型青光眼患者血流速度有差异, 其原因可能是由于开角型青光眼患者因眼压升高等病理改变所引起^[24]。有研究认为, 开角型青光眼患者眼压升高可导致血液黏度升高, 可引起组织缺血、缺氧, 并通过正反馈方式而使情况加重, 最终导致眼部血流动力学变化。生理状态下, 微循环的主要影响因素是血管管径和灌注压的改变, 血液黏度对其无较大的影响。但血液黏度可以随作用力而发生改变, 血流和血管管径与切变率成反比。切变率升高, 红细胞分散, 红细胞为适应血流的最理想状态变形; 切变率降低, 红细胞聚集, 血液黏度增加。此外, 血流量与血管直径成正比, 与血液黏度成反比, 如果眼压阻止血管扩张时, 血流量将减少。在视网膜微循环受到切变率减少的影响时, 红细胞压积、红细胞聚集性、红细胞刚性的增加就足以使局部血液黏度增加。因此, 眼压升高导致的血液黏度的改变可能对结膜微血管的密度、长度和直径产生影响。

其次, 选择性 FP 前列腺素受体激动剂对血管周围和壁内感觉神经造成一定的刺激, 导致内皮细胞释放 NO, 在降低眼部血压的同时, 导致眼部充血, 血管舒张, 结膜过度红化, 且血管周围和壁内感觉神经一定程度上受到刺激, 也可能导致血流速度一短时间内的增加。本研究所选受试者并不是首次确诊的患者, 其经过各种药物治疗后均有可能引起其血流动力学的改变。其次, 密度等指标下方 > 上方, 可能是因为如苏为坦等抗青光眼药物由于重力作用积于下结膜囊。

许多研究均表明, 血流动力学在开角型青光眼发

病机制方面是1个重要方面。但是,目前开角型青光眼患者球结膜微血管相关血流动力学参数并无明确的指标,而使用FSLB可以较简便地测量人类球结膜的微血管网络的分形和血液动力学,从而获得相关血流动力学指标,对开角型青光眼的早期诊断、干预提供一定的依据。

参 考 文 献:

- [1] 邵毅,李云燕,余瑶,等. Transpalpebral diaton 眼压计在闭角性青光眼患者的应用研究[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(36): 43-48.
- [2] 汪俊,崔巍. 我国原发性青光眼流行病学研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2012, 12(4): 667-670.
- [3] 黄春玲. 青光眼视神经损伤发病机制的研究进展[J]. 右江医学学报, 2014, 1(1): 97-99.
- [4] HOSKINS H, KASS M A. Diagnosis and therapy of the glaucoma. 6th ed. St. Louis [J]. Mosby, 1989(57/58): 178-186.
- [5] JIANG H, ZHONG J, DEBUC D C, et al. Functional slit lamp biomicroscopy for imaging bulbar conjunctival microvasculature in contact lens wearers [J]. Microvasc Res, 2014, 92 (3): 62-71.
- [6] SHAHIDI M, WANEK J, GAYNES B, et al. Quantitative assessment of conjunctival microvascular circulation of the human eye [J]. Microvasc Res, 2010, 79 (2): 109-113.
- [7] DENEUX T, TAKERKART S, GRINVALD A, et al. A processing work-flow for measuring erythrocytes velocity in extended vascular networks from wide field high-resolution optical imaging data [J]. Neuroimage, 2012, 59 (3): 2569-2588.
- [8] 谭钢,邵毅,刘二华. 开角型青光眼药物对患者身心健康的影响[J]. 国际眼科杂志, 2013, 13(1): 149-152.
- [9] KLAVEV JHJ, GREVE E L, GOSLINGA H, et al. Blood and plasma viscosity measurements in patients with glaucoma[J]. Br J Ophthalmol, 1985, 69(10): 765.
- [10] 王守境,康维强. 二维超声和脉冲波多普勒测定正常人眼球后动脉血流速度[J]. 眼科新进展, 1992, 12(1): 9-11.
- [11] YAMAZAKI Y, HAYAMIZU F. Analysis of ophthalmic arterial flow by color doppler imaging in glaucomatous eyes[J]. Nippon Ganka Gakkai Zasshi, 1994, 98(1): 1115-1120.
- [12] MICHELSON C, GROH M J, GROH M E, et al. Advanced primary open-angle glaucoma is associated with decreased ophthalmic artery blood-flow velocity[J]. Ger J Ophthalmol, 1995, 4(1): 21-24.
- [13] RANKIN S A, WALMAN B E, BUCKLEY A R, et al. Various glaucomatous optic nerve appearances[J]. Ophthalmology, 1996, 103(10): 1670-1679.
- [14] CELLINI M, POSSATI G I, CARAMAZZA N, et al. Color doppler analysis of the choroidal circulation in chronic open-angle glaucoma[J]. Ophthalmologica, 1996, 210(4): 200-202.
- [15] KAISER H J, SCHOETZAU A, STUMPFIG D, et al. Blood-flow velocities of the extraocular vessels in patients with high-tension and normal-tension primary open-angle glaucoma[J]. Am J Ophthalmol, 1997, 123(3): 320-327.
- [16] 邵毅,裴重刚,王乐,等. 不同切口超声乳化术对糖尿病合并白内障患者角膜神经和泪液蛋白的影响研究[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(31): 52-57.
- [17] CHEUNG A T, PEREZ R V, CHEN P C. Improvements in diabetic microangiopathy after successful simultaneous pancreas-kidney transplantation: a computer-assisted intravital microscopy study on the conjunctival microcirculation[J]. Transplantation, 1999, 68(7): 927-932.
- [18] CHEUNG A T, RAMANUJAM S, GREER D A, et al. Microvascular abnormalities in the bulbar conjunctiva of patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Endocr Pract, 2001, 7(5): 358-363.
- [19] WANEK J, GAYNES B, LIM J I, et al. Human bulbar conjunctival hemodynamics in hemoglobin SS and SC disease[J]. Am J Hematol, 2013, 88(8): 661-664.
- [20] CHEUNG A T, HARMATZ P, WUN T, et al. Correlation of abnormal intracranial vessel velocity, measured by transcranial doppler ultrasonography, with abnormal conjunctival vessel velocity, measured by computer-assisted intravital microscopy, in sickle cell disease[J]. Blood, 2001, 97(11): 3401-3404.
- [21] DUENCH S, SIMPSON T, JONES L W, et al. Assessment of variation in bulbar conjunctival redness, temperature, and blood flow[J]. Optom Vis Sci, 2007, 84(6): 511-516.
- [22] KOUTSIARIS A G, TACHMITZI S V, BATIS N, et al. Volume flow and wall shear stress quantification in the human conjunctival capillaries and post-capillary venules in vivo[J]. Biorheology, 2007, 44(5-6): 375-386.
- [23] SHAHIDI M, WANEK J, GAYNES B, et al. Quantitative assessment of conjunctival microvascular circulation of the human eye[J]. Microvasc Res, 2010, 79(2): 109-113.
- [24] 肖文星. 苏为坦滴眼液治疗开角型青光眼[J]. 中外医疗, 2010, 29(3): 94-94.

(唐勇 编辑)