

巩膜的区域性力学性能研究

范雨田^{1,2}, 陈凌峰¹, 高志鹏¹, 郭红梅¹, 宋婕¹
(太原理工大学 1.生物医学工程学院; 2.机械与运载工程学院, 太原 030024)

摘要:目的 比较不同区域巩膜力学特性的差异。方法 以健康家猪眼为材料,将巩膜分为前部、赤道部和后部3个区域,对整体眼球巩膜的不同区域分别进行局部压痕;沿赤道方向对不同区域巩膜进行环切,制成条带状试件,采用 INSTRON 5544 材料试验机进行单轴拉伸。结果 正常生理载荷范围内,局部压痕法测得巩膜前部、赤道部、后部的刚度分别为(0.91±0.21)、(0.6±0.16)、(0.39±0.13) MPa;单轴拉伸测得巩膜前部、赤道部、后部的弹性模量分别为(1.28±0.37)、(0.95±0.31)、(0.72±0.28) MPa。结论 局部压痕法能够反映巩膜的区域性力学特性;巩膜前部相比赤道区域及后部具有更强的刚度。实验结果为进一步探讨近视等眼部疾病的发病机理提供参考。

关键词:压痕法; 巩膜; 刚度; 极限应力

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2020.02.008

Regional Mechanical Properties of the Sclera

FAN Yutian^{1,2}, CHEN Lingfeng¹, GAO Zhipeng¹, GUO Hongmei¹, SONG Jie¹

(1. College of Biomedical Engineering; 2. College of Mechanical and Vehicle Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

Abstract: Objective To investigate the differences in mechanical properties of the sclera in different regions. **Methods** The sclera of sus scrofa was divided into 3 regions, namely, anterior, equatorial and posterior area. Local indentation was performed on different areas of the whole sclera. Strip specimens of different regions were circumcised along the equatorial direction, and subjected to uniaxial stretching by INSTRON 5544. **Results** Within the normal physiological stress range, the stiffness at anterior, equatorial, and posterior area of the sclera measured by local indentation was (0.91±0.21), (0.6±0.16), (0.39±0.13) MPa, respectively. The elastic modulus at anterior, equatorial, and posterior area of the sclera measured by uniaxial stretching was (1.28±0.37), (0.95±0.31), (0.72±0.28) MPa, respectively. **Conclusions** The local indentation could reflect regional mechanical properties of the sclera. The anterior sclera performed a higher stiffness than the equatorial and posterior areas. The results provide references for further study on the pathogenesis of ocular diseases including myopia.

Key words: indentation; sclera; stiffness; ultimate stress

巩膜的力学特性与近视眼等眼部疾病的发生发展密切相关。病理性近视眼病程进展中最重要且最普遍的因素就是在生物力学因素作用下引起

的眼球增大和眼轴延伸。巩膜的主要成分为胶原纤维,占其净质量90%以上,这些胶原纤维与弹性纤维交织铺叠,呈板层排列。与正常人巩膜相比,

高度近视眼的巩膜胶原纤维直径变小,排列紊乱,巩膜力学特性降低^[1]。巩膜厚度以及力学特性的改变,使得巩膜强度降低,产生变形,进而导致眼轴增长,视力发生改变^[2]。

目前对巩膜力学特性的研究较多。Curtin^[3]研究发现,应力-应变曲线在正常人巩膜壁的不同部位具有差异性,压力相同时,眼球后部的巩膜发生较大变形,赤道部巩膜变形减小,前部巩膜变形最小。Philipsand等^[4]以鼯鼠为研究对象,对其进行单眼剥夺视力诱发近视,分别对近视眼和对照眼后极部巩膜进行单向拉伸实验,结果显示近视眼后极部巩膜破坏载荷比对照眼小18%。Romano等^[5]对高度近视眼巩膜进行单轴拉伸,比较正常眼与眼轴长度为24、31 mm的近视眼巩膜刚度,结果发现近视眼的巩膜刚度低于正常眼。Eilaghi等^[6]将人巩膜制作成方形样本,进行双轴拉伸测试,运用本构方程拟合发现,巩膜具有非线性、非均匀的力学性质。Cruz等^[7]使用高分辨率超声检测发现,猪巩膜在双轴载荷作用下呈非线性和各向异性。活体测量巩膜生物力学特性存在一定的困难,轴向拉伸容易控制,易于实现,故被广泛用于巩膜力学特性的测量。但轴向拉伸法存在一定的缺陷:首先,巩膜呈现类似球形构造,受力来自多个方向,并非简单的单轴或双轴拉力;单轴或双轴拉伸时,人为使巩膜拉平,破坏了巩膜固有的弯曲度。其次,轴向拉伸时机械固定方式会导致应力集中和样品滑动^[8]。此外,目前多数研究中考虑巩膜受到较大载荷(应力-应变为线性阶段)时的力学特性,这些载荷往往超出正常生理状态下的载荷范围。

压痕法是测量材料力学特性的常见方法,广泛用于骨、软骨、脑组织、角膜等组织生物力学性能的测试。与轴向拉伸实验相比,压痕实验可以不用改变材料的固有形状,保证组织结构的完整性,更接近生理状态。Niederauer等^[9]使用压痕法对人软骨的刚度进行测量,发现软骨厚度对刚度测量没有影响,且压痕探针的灵敏度很高,可检测不同程度的软骨变性。Qian等^[10]对猪大脑皮层进行压痕松弛实验,探讨脑组织的黏性。Moyer等^[11]采用压痕法分析人半月板不同区域的瞬时弹性模量。刘笑宇等^[12]使用探针对角膜进行压痕实验,发现角膜被压穿时的最大载荷为0.37 N。王晓君^[13]使用曲率与

巩膜相近的钢球压迫离体巩膜条带,采用球面致压法对巩膜力学性能进行测试,在一定程度上避免了破坏巩膜原有弯曲度对力学性能的影响,但需要对巩膜进行剪切,与在体条件存在差异。目前鲜有关于压痕法在整体巩膜区域性生物力学性能测试方面的系统报道。

本文以猪巩膜为研究对象,分别使用局部压痕法和单轴拉伸法对不同区域巩膜的力学特性进行测试,分析正常生理载荷及病理载荷下的巩膜力学特性,研究结果可为进一步探讨近视等眼部疾病的发病机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 巩膜材料获取

在本地屠宰场采集死亡1 h内的家猪(*sus scrofa domesticus*)眼球,置于4℃保鲜盒中运输至实验室。使用手术剪等外科手术工具去除附着组织。眼球浸没在PBS溶液中并保存于4℃冰箱,实验在2 h内进行完毕。

为了探讨巩膜不同区域力学性能的差异,将巩膜从角膜端至视神经端依次沿眼轴方向划分为前部、赤道部及后部3个区域(见图1)。

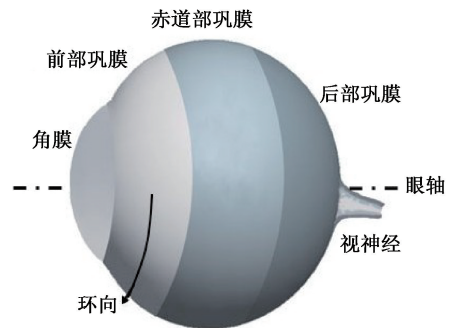


图1 巩膜分区示意图

Fig.1 Diagram of scleral partition

1.2 巩膜局部压痕实验

将眼球($n=12$)固定到试验机上[见图2(a)],并用注射针刺入眼球前房,向眼球中通入PBS缓冲液,使得眼球的眼压稳定在正常生理范围内(2.26 kPa);使用INSTRON 5544万能材料机加载直径为1 mm的平头探针,按照分区分别对猪眼球前部、赤道部、后部巩膜进行局部压痕实验,同时使用CCD相机进行实时录像。实验所选力传感器量

程为 $-50 \sim 50$ N, 精度为 15 mN; 进针速率为 1 mm/min; 眼球被压穿时停止实验。

在整体眼球压痕实验中, 使用文献[14]报道的模型对实验结果进行分析:

$$K = \frac{F(1 - \nu^2)}{2a\delta} \quad (1)$$

式中: F 为载荷; K 为眼球的整体刚度; a 为探针半径; δ 为位移; ν 为泊松比。

1.3 单轴拉伸试验

从眼球上分离巩膜组织, 按照分区将不同区域的巩膜组织进行环切, 制作成 $3 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ 条带 ($n = 12$), 并使用厚度测量仪对巩膜条带的厚度进行测量。

将制备好的巩膜条带夹到 INSTRON 5544 万能材料试验机上[见图 2(b)], 先对试件进行准静态预循环加载, 预循环速率为 1 mm/min, 最大载荷为 50 mN, 循环 5 次。预循环完成后开始拉伸, 拉伸速率为 1 mm/min, 当试件被拉断时, 终止实验。实验全程用 CCD 相机进行实时录像。

用力学模型分析单轴拉伸下巩膜的应力-应变关系:

$$\varepsilon = \delta/l \quad (2)$$

$$\sigma = P/(th) \quad (3)$$

式中: P 为载荷; δ 表示夹头的位移; t 为条带宽度; h 为巩膜厚度; ε 为工程应变; l 为巩膜条带长度; σ 为在该处的工程应力。弹性模量 $E = \sigma/\varepsilon$ 通过 σ - δ 曲线进行线性拟合得出。

1.4 统计学分析

实验数据以均值 \pm 标准差表示, 用 SPSS 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

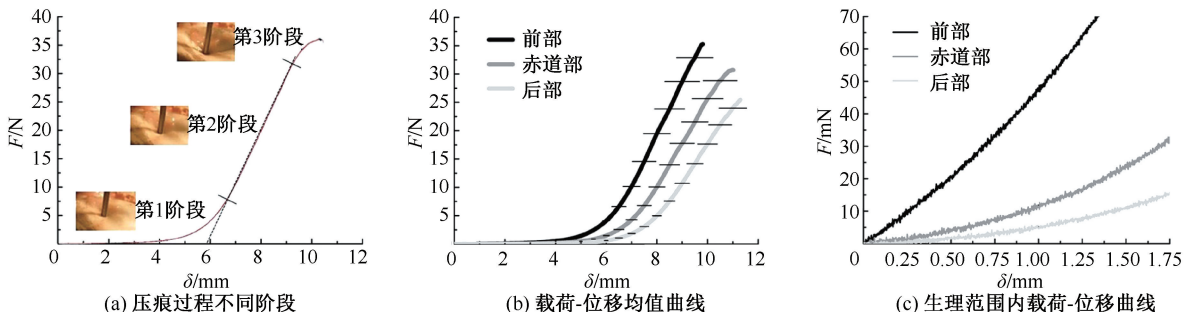


图3 巩膜局部压痕实验载荷-位移

Fig.3 Load-displacement of scleral by local indentation experiment (a) Different stages of indentation process, (b) Mean value of load-displacement, (c) Load-displacement curve in physiological range

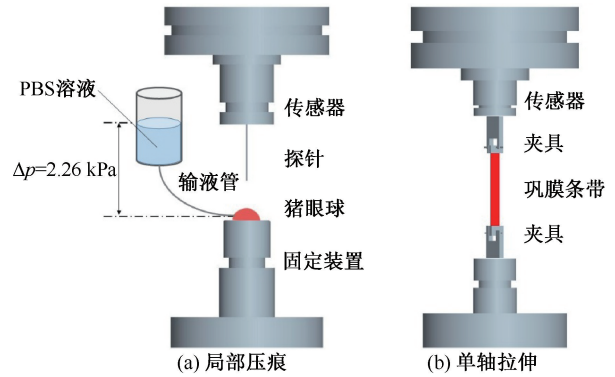


图2 试验装置示意图

Fig.2 Diagram of the experimental device (a) Local indentation, (b) Uniaxial stretching

2 结果

2.1 局部压痕实验

参考 Fung^[15] 对软组织单轴拉伸实验曲线的分析方法, 按载荷-位移曲线形态的变化将压痕过程分为 3 个阶段。第 1 阶段(含生理范围): 载荷较小, 呈指数增长, 巩膜组织的形变较小; 第 2 阶段: 载荷呈线性增长, 眼球被压区域凹陷, 巩膜自身产生较大变形; 第 3 阶段: 载荷变为非线性增长, 直至巩膜被压穿, 载荷失效[见图 3(a)]。

由载荷-位移曲线可得, 巩膜被压穿时, 不同区域所受的最大载荷有显著差异 ($P < 0.05$): 前部巩膜 [(35.26 ± 4.72) N] > 赤道部巩膜 [(30.71 ± 3.91) N] > 后部巩膜 [(26.14 ± 3.28) N], 见图 3(b)。

根据生理范围内 ($F < 0.07$ N)^[16] 压痕实验的载荷位移变化, 获得巩膜不同区域眼球的整体刚度。在巩膜正常生理受力范围内, 整体刚度前部巩膜区域 [(0.91 ± 0.21) MPa] > 赤道部巩膜 [(0.6 ± 0.16) MPa] > 后部巩膜 [(0.39 ± 0.13) MPa], 见图 4。

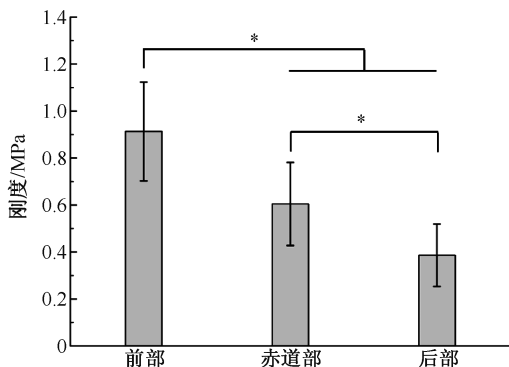
图4 正常生理受力范围内巩膜各区域刚度($P < 0.05$)

Fig.4 Stiffness of different sclera regions under normal physiological stress

2.2 单轴拉伸实验

巩膜条带前部、赤道部、后部厚度分别为 (1.27 ± 0.16) 、 (0.92 ± 0.09) 、 (1.33 ± 0.19) mm。与其他两个区域的厚度相比,赤道部巩膜的厚度

相对较薄,较前部及后部均有统计学差异($P < 0.05$)。

单轴拉伸时,巩膜随着拉伸发生形变,直至被拉断。与压痕实验类似,按照 Fung^[15]的分析方法,整个过程根据载荷-位移曲线的变化分为3个阶段。第1阶段:载荷较小且呈指数增长,在此过程中巩膜条带被缓缓拉长,并开始缓慢变窄;第2阶段:载荷呈线性增长,巩膜条带随之逐渐拉长。第3阶段:载荷变为非线性增长,巩膜条带长度继续随拉伸而增加,直至巩膜条带的中部区域出现颈缩而失效[见图5(a)]。

根据巩膜单轴拉伸时的应力-应变曲线[见图5(b)],巩膜被拉断时,不同区域的最大应力存在显著性差异($P < 0.05$):前部巩膜 [(1.50 ± 0.29) MPa] > 赤道部巩膜 [(1.17 ± 0.26) MPa] > 后部巩膜 [(0.84 ± 0.21) MPa]。

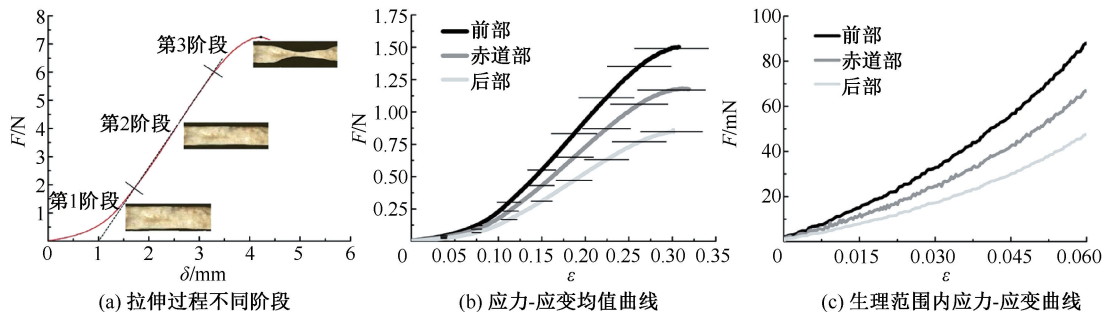


图5 巩膜条带单轴拉伸实验结果

Fig.5 Test results of scleral strip under uniaxial stretch (a) Different stages of stretch process, (b) Mean values of stress-strain, (c) Stress-strain curve in physiological range

由生理范围内 $(0.017 < \epsilon < 0.06)$ ^[5]单轴拉伸实验的应力-应变曲线,得出不同区域巩膜的弹性模量(见图6)。在正常生理应变范围内,前部巩膜的弹性模量 [(1.28 ± 0.37) MPa] 最大,赤道部巩膜的弹性模量 [(0.95 ± 0.31) MPa] 次之,后部巩膜的弹性模量 [(0.72 ± 0.28) MPa] 最小。

比较不同应变条件下不同区域巩膜的刚度(切线模量)可知,巩膜刚度随着应变的增加而增加。在正常生理应变范围内 $(0.017 < \epsilon < 0.06)$ 及病理条件下 $(\epsilon > 0.06)$,后部巩膜的刚度均低于赤道部及前部巩膜(见表1)。

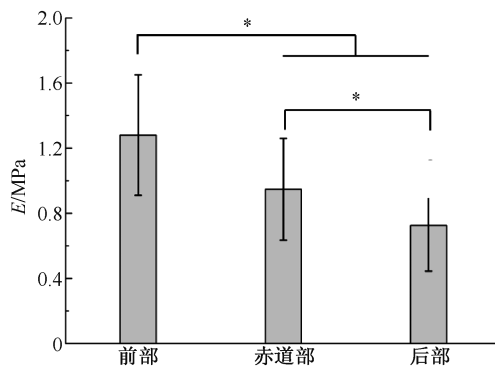


图6 正常生理应变范围内不同区域巩膜的弹性模量

Fig.6 Elastic modulus of the sclera in different regions under normal physiological strain

表1 不同应变范围内的巩膜刚度

Tab.1 Scleral stiffness in different strain ranges

MPa

巩膜	应变/%				
	≤6	8	10	12	14
前部	1.28±0.37	1.75±0.41	2.30±0.53	2.93±0.84	3.44±0.89
赤道部	0.95±0.31	1.34±0.36	1.77±0.47	2.28±0.59	2.69±0.65
后部	0.72±0.28	0.96±0.29	1.28±0.33	1.64±0.48	1.92±0.57

3 讨论

研究巩膜的力学特性对揭示近视等眼部疾病的发病机理具有重要意义。巩膜的力学性质为非线性且各向异性^[6-7]。单轴拉伸和双轴拉伸仅能反映巩膜等材料在一维、二维载荷下的力学特性,局部压痕法反映的材料力学特性更接近巩膜的生理状态。本文对整体眼球不同巩膜区域进行局部压痕实验,发现在正常生理范围内,前部巩膜区域的整体刚度最大,赤道部巩膜的整体刚度次之,后部巩膜的整体刚度最小,与单轴拉伸方法所得巩膜3个区域的弹性模量趋势一致。尽管单轴拉伸法操作简单,但巩膜受力呈各向异性,且拉伸时巩膜被人为拉平,致使巩膜外表面受到压缩,内表面受到扩张,单轴拉伸不能反映巩膜的真实受力情况;此外,单轴拉伸时夹头会造成巩膜损伤及应力集中,进而影响测量结果。局部压痕法加载方式保留了眼球的完整性,不改变巩膜的弯曲度,更加接近生理状态,能够反映在眼压作用下巩膜不同区域生物力学性能的变化。

Avetisov等^[17]将人巩膜分为前部、赤道部、后部3个区域,分别对其厚度及抗拉强度进行分析,发现近视眼的巩膜厚度比正常眼薄,中等和高度近视眼的巩膜厚度则更薄,成人巩膜厚度是儿童的2倍;单轴拉伸实验显示,巩膜前部和赤道区域巩膜的抗拉强度没有显著性差异,均高于巩膜后部区域的抗拉强度;幼儿巩膜不同区域的拉伸强度表现为:前部>赤道部>后部。王聪聪等^[18-19]对不同区域兔巩膜进行单轴拉伸,得到与幼儿巩膜类似的结果。本文对猪巩膜进行单轴拉伸和局部压痕实验,结果均显示,在生理受力范围内,前部巩膜具有更高的刚度,其次是赤道部巩膜,而后部巩膜的刚度最小,与文献报道的结果一致,表明不同区域的巩膜力学性能不同。胶原纤维的含量和排列方式与组织的生物力学特性密切相关^[20]。本文对后巩膜加固术后

胶原含量与力学性能之间的关系展开分析,发现术后加固区的胶原含量随术后恢复时间逐渐增加,弹性模量也随之上升^[16];对兔正常及高度近视眼巩膜中胶原分布的研究表明,前部巩膜中胶原的含量最高,赤道部次之,后部巩膜中胶原的含量最低,且后部巩膜胶原的排布比前部和赤道部疏松^[18-19];Alexandra等^[21]对人巩膜胶原的卷曲程度进行分析,发现前部巩膜及赤道部巩膜胶原的波纹程度、弯曲程度显著高于视神经区域。根据以上的研究结果推测,巩膜不同区域力学特性的差异与各区域胶原的含量、形态、排布等有关。

本文发现,在正常生理应变范围内(1.7%~6%)及病理应变范围内(>6%),后部巩膜的强度均低于赤道部巩膜以及前部巩膜,表明眼球在生理病理状态下,后部巩膜更容易产生变形。在青光眼等高眼压导致的疾病中,由于巩膜持续承受眼压负荷,其所受应力会影响巩膜的各个区域,导致眼球特别是后部巩膜区域的形状发生改变,使巩膜与视神经乳头结缔组织(筛板)相互挤压,引发一系列生理变化,最终使轴突功能障碍甚至死亡^[22]。此外,高度近视时巩膜会产生明显的向外突出(即葡萄肿),通常发生于后部巩膜。结合巩膜不同区域的力学特性差异,推测上述临床症状的产生与后部巩膜力学特性较低有密切的关系。

4 结语

本文用局部压痕法测试整体眼球离体状态下巩膜的区域性力学特性,结果与巩膜区域性单轴拉伸试验结果趋势一致。巩膜的力学特性呈非线性,在整体眼球多向载荷状态下后部巩膜为薄弱区域,抵抗变形能力最差。本文验证了巩膜在维持眼球整体结构及保护眼球内容物的作用,为进一步揭示高度近视、青光眼等眼病的发生发展提供了依据,但本文不能区分眼球内容物在响应整体眼球受力时的作用,这方面还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] LIN X, WANG BJ, WANG YC, *et al.* Scleral ultrastructure and biomechanical changes in rabbits after negative lens application [J]. *Int J Ophthalmol*, 2018, 11(3): 354-362.
- [2] HE M, WANG W, DING H, *et al.* Corneal biomechanical properties in high myopia measured by dynamic scheimpflug imaging technology [J]. *Optom Vis Sci*, 2017, 94(12): 1074-1082.
- [3] CURTIN BJ. Physiopathologic aspects of scleral stress-strain [J]. *T Am Math Soc*, 1969, 67(2): 417-425.
- [4] 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.
- [5] ROMANO MR, ROMANO V, PANDOLFI A, *et al.* On the use of uniaxial tests on the sclera to understand the difference between emmetropic and highly myopic eyes [J]. *Meccanica*, 2017, 52(3): 603-612.
- [6] EILAGHI A, FLANAGAN JG, TERTINEGG I, *et al.* Biaxial mechanical testing of human sclera [J]. *J Biomech*, 2010, 43(9): 1696-1701.
- [7] CRUZ PB, TANG J, MORRIS HJ, *et al.* Biaxial mechanical testing of posterior sclera using high-resolution ultrasound speckle tracking for strain measurements [J]. *J Biomech*, 2014, 47(5): 1151-1156.
- [8] 包芳军, 邓曼丽, 王勤美. 角巩膜生物力学性能测量技术的研究进展[J]. *中华眼科杂志*, 2015, 51(11): 875-878.
- [9] NIEDERAUER GG, NIEDERAUER GM, CULLEN LC, *et al.* Correlation of cartilage stiffness to thickness and level of degeneration using a handheld indentation probe [J]. *Ann Biomed Eng*, 2004, 32(3): 352-359.
- [10] QIAN L, ZHAO H, GUO Y, *et al.* Influence of strain rate on indentation response of porcine brain [J]. *J Mech Behav Biomed*, 2018, 82(3): 210-217
- [11] MOYER JT, PRIEST R, BOUMAN T, *et al.* Indentation properties and glycosaminoglycan content of human menisci in the deep zone [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(5): 6624-6629.
- [12] 轩新想, 杨洋, 王哲, 等. 缝针刺入角膜组织的力学模型 [J]. *高技术通讯*, 2009, 19(9): 951-956.
- [13] 陈维毅, 孙秀珍. 眼耳鼻咽喉生物力学[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2017.
- [14] SNEDDON IN. The relation between load and penetration in the axisymmetric boussinesq problem for a punch of arbitrary profile [J]. *Int J Eng Sci*, 1965, 3(1): 47-57.
- [15] FUNG YC. *Biomechanics: Circulation* [M]. New York: Springer, 1997.
- [16] CHEN WY, WANG X, WANG C, *et al.* An experimental study on collagen content and biomechanical properties of sclera after posterior sclera reinforcement [J]. *Clin Biomech*, 2008, 23(S1): S17-S20.
- [17] AVETISOV ES, SAVITSKAYA NF, VINETSAYA MI, *et al.* A study of biochemical and biomechanical qualities of normal and myopic eye sclera in humans of different age groups [J]. *Metab Pediatr Syst Ophthalmol*, 1983, 7(4): 183-188.
- [18] 王聪聪, 谢永芳, 王国辉. 实验性高度近视眼巩膜胶原及弹性模量的变化[J]. *医用生物力学*, 2018, 33(2): 157-162.
- WANG CC, XIE YF, WANG GH. Changes in the scleral collagen and elastic modulus in experimental high myopia [J]. *J Med Biomech*, 2018, 33(2): 157-162.
- [19] WANG C, XIE Y, WANG G. The elastic modulus and collagen of sclera increase during the early growth process [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2018, 77(1): 566-571.
- [20] 陈凌峰, 柳柏梅, 李芬, 等. 猪降主动脉环向力学性质的实验研究[J]. *医用生物力学*, 2018, 33(6): 544-550.
- CHEN LF, LIU BM, LI F, *et al.* An experimental study on circumferential mechanical properties of porcine descending thoracic aorta [J]. *J Med Biomech*, 2018, 33(6): 544-550.
- [21] ALEXANDRA G, NING-JIUN J, BRYN B, *et al.* Spatial patterns and age-related changes of the collagen crimp in the human cornea and sclera [J]. *Invest Ophth Vis Sci*, 2018, 59(7): 2987-2996.
- [22] 陈维毅, 李晓娜, 高志鹏. 眼力学研究进展[J]. *医用生物力学*, 2016, 31(4): 340-334.
- CHEN WY, LI XN, GAO ZP. Advances in ocular biomechanics [J]. *J Med Biomech*, 2016, 31(4): 340-334.