

## · 实验研究 ·

## 枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液冲洗对小鼠急性角膜化学伤眼表的保护作用

白军强 赵世红 秦海峰 顾操 孙伟峰

200433 上海,第二军医大学长海医院眼科

通信作者:赵世红,Email:zhaosh2001@sina.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.006

**【摘要】** 背景 角膜化学性烧伤后即刻进行眼部冲洗是防止化学性物质进一步损伤眼组织的关键步骤,而理想的冲洗液才能有效地中和化学物质,改善患眼的预后。目的 评价自制的枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液、枸橼酸-磷酸氢二钠-氯化钾缓冲液对小鼠急性角膜酸、碱烧伤的治疗效果。方法 配制 pH 值为 7.4 的枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液(缓冲液 1)和枸橼酸-磷酸氢二钠-氯化钾缓冲液(缓冲液 2)。采用计算机取随机数方法将 120 只 6~8 周龄清洁级雄性 C57 小鼠随机分为酸烧伤模型组和碱烧伤模型组,分别用 1 mol/L 硫酸和 0.15 mol/L 氢氧化钠滤纸贴附于中央角膜制备急性角膜酸、碱烧伤模型,造模后即刻按照亚分组分别用 40 ml 缓冲液 1、自来水、缓冲液 2 进行冲洗,未冲洗的模型鼠作为对照。分别于造模后和冲洗后 3、7、14 d 在裂隙灯显微镜下按照角膜混浊程度进行评分,并观察各组小鼠角膜上皮荧光素染色阳性率、角膜新生血管和角膜溃疡发生率。结果 角膜酸烧伤后 3、7 和 14 d,缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊评分为 1 分的眼数均明显多于不冲洗组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ );角膜酸烧伤后 3 d,缓冲液 1 冲洗组角膜混浊度为 1 分的眼数明显多于自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组,差异均有统计学意义( $\chi^2 = 11.000, P = 0.001$ ;  $\chi^2 = 4.000, P = 0.046$ );角膜酸烧伤后 7 d,缓冲液 1 冲洗组角膜混浊度为 1 分的眼数明显多于自来水冲洗组,差异具有统计学意义( $\chi^2 = 6.000, P = 0.014$ );角膜酸烧伤后 14 d,缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组不同角膜混浊评分的眼数差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。碱烧伤后 3、7、14 d,缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度评分为 1 分和 2 分的眼数均明显多于不冲洗组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。角膜酸烧伤后 7 d,缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜溃疡发生率分别为 7%、27% 和 13%,均明显低于不冲洗组的 73%,差异均有统计学意义( $P = 0.000, 0.027, 0.003$ );角膜碱烧伤后 3、7、14 d 角膜溃疡发生率比较,差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。角膜酸烧伤后 14 d,不冲洗组角膜新生血管发生率为 50%,而缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组小鼠未见角膜新生血管。角膜碱烧伤后各组小鼠在各时间点均未发现角膜新生血管。结论 pH 值为 7.4 的枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液对急性角膜酸、碱烧伤进行即刻冲洗均有较好的治疗效果,冲洗液中是否添加氯化钾对预后无明显影响。

**【关键词】** 眼烧伤/化学诱导; 化学烧伤/药物治疗; 角膜; 缓冲液; 急症治疗/方法; 枸橼酸-磷酸氢二钠; 氯化钾; C57 小鼠

基金项目: 国家科技重大专项基金项目(2011ZXJ09104-10C)

**Protective effects of citric acid-disodium hydrogen phosphate rinsing solution on ocular surface of mice with acute chemically induced corneal burns** Bai Junqiang, Zhao Shihong, Qin Haifeng, Gu Cao, Sun Weifeng

Department of Ophthalmology, Changhai Hospital, Secondary Military Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Zhao Shihong, Email: zhaosh2001@sina.com

**【Abstract】** **Background** Immediately ocular rinsing is a key step for the prevention of eye tissue damage after acute chemical burns. A good ophthalmic rinsing solution can neutralize chemical substance and improve the prognosis of patients. **Objective** This study attempted to evaluate the therapeutic effect of self-made citric acid-disodium hydrogen phosphate buffer and citric acid-disodium hydrogen phosphate-potassium chloride buffer on corneal chemical burns in mice. **Methods** Citric acid-disodium hydrogen phosphate buffer solution (solution 1) and citric acid-disodium hydrogen phosphate-potassium chloride buffer solution (solution 2) with the pH 7.4 were prepared. One hundred and twenty clean male C57 mice aged 6-8 weeks were randomized to two groups, and filter papers containing 1 mol/L  $H_2SO_4$  or 0.15 mol/L NaOH were attached to the central corneas of the right eyes to create the acid or alkali burning models. Then the eyes were immediately rinsed by 40 ml solution 1, tap water or solution 2 according to the grouping and the model eyes without rinsing served as the control group. The corneal opacity was examined by slit lamp microscope and scored in 3, 7 and 14 days after modeling. The percentages of corneal fluorescein staining,

corneal neovascularization and corneal ulcer were analyzed. The study protocol was approved by Experimental Animal Ethic Commission of Second Military Medical University. **Results** In the corneal acid burning models, the number of eye with corneal opacity scored 1 in the solution 1 group, tap water group and solution 2 group was significantly more than that in the non-rinsing group in 3, 7 and 14 days after modeling (all at  $P < 0.01$ ); In 3 days after modeling, the numbers of eye scored 1 were more in the solution 1 group than those in the tap water group and solution 2 group ( $\chi^2 = 11.000, P = 0.001$ ;  $\chi^2 = 4.000, P = 0.046$ ). There were no differences in the eye number of different corneal opacity scores in 14 days after acid burning (all at  $P > 0.05$ ). In 3, 7 and 14 days after corneal alkali burning, the number of eyes with corneal opacity scored 1-2 was significantly increased in the solution 1 group, tap water group and solution 2 group compared with non-rinsing group (all at  $P < 0.01$ ). The percentage of corneal ulcer in the solution 1 group, tap water group and solution 2 group was 7%, 27% and 13%, respectively, which was significantly lower than 73% in the non-rinsing group ( $P = 0.000, 0.027, 0.003$ ), and no significant differences were seen in various time points after corneal alkali burning (all at  $P > 0.05$ ). Corneal neovascularization occurred in 50% mice in non-rinsing group in 14 days after acid burning. However, no neovascularization was seen in the mice of the solution 1 group, tap water group and solution 2 group in both acid and alkali burning mice. **Conclusions** Citric acid-disodium hydrogen phosphate buffer (pH 7.4) appears to be an effective emergency rinsing solution for corneal chemical burns and the rinsing solution with or without potassium chloride is not obviously affected to the prognosis of corneal chemical burns in the mice.

**[Key words]** Eye burns/chemically induced; Burns, chemical/drug therapy; Cornea; Buffer solution; Emergency treatment/methods; Citric acid and disodium hydrogen; Potassium chloride; Mice, inbred C57

**Fund program:** National Science and Technology Major Foundation Projects (2011ZXJ09104-10C)

眼部的碱烧伤比酸烧伤发病率高,治疗时间长。当眼部化学伤及热烧伤发生后,应即刻对烧伤眼进行急救冲洗,目前文献报道的有代表性的冲洗液有自来水、生理盐水、平衡盐溶液(balanced salt solution, BSS)、等渗磷酸盐平衡液、Diphoterine 缓冲液<sup>[1-4]</sup>。根据 2004 年美国标准化委员会(The American National Standards Institute, ANSI)的标准(Z358.1-2004),眼部烧伤后 10 s 内用 500 ~ 1 000 ml 的等渗生理盐水冲洗者,冲洗时间应 > 15 min,用 Diphoterine 缓冲液者可冲洗 3 min,自来水需要冲洗 15 min。研究表明, Diphoterine 缓冲液用于眼部碱烧伤预后较好<sup>[2-4]</sup>,但 Diphoterine 缓冲液由法国普利沃实验室研制,价格昂贵,而眼部化学烧伤患者较多时需要大量冲洗液。因此用于眼化学伤的眼部冲洗液的研制对于改善眼化学伤患者的预后具有重要的临床意义。枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液既可以中和碱性物质,也能够中和酸性物质。本研究拟研制枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液,观察其对小鼠化学伤模型眼的疗效。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康清洁级 6 ~ 8 周龄雄性 C57 小鼠 120 只,体重 17 ~ 20 g(购自第二军医大学动物实验中心),采用裂隙灯显微镜检查排除眼部病变。小鼠在动物实验中心用塑料笼饲养,在 12 h/12 h 昼夜的光线环境下以普通饲料喂养。本研究设计经第二军医大学实验动物伦理委员会批准。

### 1.2 方法

**1.2.1 缓冲液的配制** 缓冲液 1 即枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液,将 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液(908.5 ml)与 0.1 mol/L 枸橼酸溶液(91.5 ml)配制成 1 000 ml 的溶液,其 pH = 7.4,渗透压为 539 mOsm/L。缓冲液 2 即枸橼酸-磷酸氢二钠-氯化钾缓冲液,将 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液(900.9 ml)与 0.1 mol/L 枸橼酸溶液(90.8 ml)和质量分数 10% 氯化钾溶液(8.3 ml)配制成 1 000 ml 的溶液, pH = 7.4,渗透压为 557 mOsm/L。

**1.2.2 小鼠角膜酸、碱烧伤模型制作** 将 120 只 C57 小鼠按计算机数字随机分配法分为酸烧伤组和碱烧伤组,每组 60 只,各组小鼠给予质量分数 5% 水合氯醛 10  $\mu$ l/g 腹腔注射,用质量分数 1% 盐酸丁卡因滴眼液点右眼行表面麻醉,用干棉棒拭去结膜囊多余的液体。将直径 2 mm 的圆形滤纸置于右眼角膜中央,用移液枪分别吸取 1.5  $\mu$ l 1 mol/L 的硫酸和 0.15 mol/L 的氢氧化钠滴于滤纸上,30 s 后除去滤纸。将模型动物亚分为缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组、缓冲液 2 冲洗组和不冲洗组,冲洗时均用 40 ml 溶液。

**1.2.3 观察指标** 各组小鼠每天在裂隙灯显微镜下观察角膜、结膜、前房情况及是否有睑球粘连,分别于造模和眼部冲洗后第 3、7、14 天行全身麻醉,采用荧光素钠点眼染色,SLM-3 型眼前节照相裂隙灯显微镜(重庆科华科技有限公司)行右眼眼前节照相,参照文献[5]的方法对角膜混浊度进行评分。0 分:角膜透明无混浊;1 分:轻度基质混浊;2 分:中度基质混浊;3 分:重度角膜混浊,但虹膜可见;4 分:重度角膜混浊,虹膜

不可见。并计算角膜上皮荧光素钠染色阳性率和角膜新生血管的发生率。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件 (SPSS Inc., Chicago, USA) 进行统计分析, 本研究中各评价指标的数据资料以频数和百分数进行表达, 采用随机分组多水平研究设计, 角膜酸烧伤模型和碱烧伤模型中缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组、缓冲液 2 冲洗组和不冲洗组小鼠在不同角膜混浊度评分眼数分布的总体比较采用 Friedman 秩和检验; 角膜酸烧伤和碱烧伤模型中各组小鼠角膜溃疡发生率的差异比较采用 Fisher 精确概率法。检验水准为  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠不同角膜混浊度评分

#### 2.1.1 酸烧伤模型鼠不同角膜混浊度评分的眼数分布

酸烧伤模型冲洗后第 3 天, 缓冲液 1 和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度评分为 1 分和 2 分的眼数均明显多于不冲洗组, 差异均有统计学意义 (均  $\chi^2 = 15.000, P = 0.000$ ), 缓冲液 1 冲洗组角膜混浊度为 1 分的眼数明显多于自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 11.000, P = 0.001; \chi^2 = 4.000, P = 0.046$ ), 缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度为 1 分和 2 分的眼数明显多于自来水冲洗组, 且未见严重角膜混浊眼, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 11.000, P = 0.001$ ), 自来水冲洗组角膜混浊度低评分眼数多于不冲洗组, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.000, P = 0.046$ )。酸烧伤模型冲洗后第 7 天, 缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度为 1 分和 2 分的眼数均明显多于不冲洗组, 差异均有统计学意义 (均  $\chi^2 = 15.000, P = 0.000$ ),

缓冲液 1 冲洗组角膜混浊度低评分眼数明显多于自来水冲洗组, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.000, P = 0.014$ ), 缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度低评分眼数少于缓冲液 1 冲洗组, 但差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 2.000, P = 0.157$ ), 缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度低评分眼数多于自来水冲洗组, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.000, P = 0.046$ )。酸烧伤模型冲洗后第 14 天, 缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度低评分眼数均多于不冲洗组, 差异均有统计学意义 (均  $\chi^2 = 15.000, P = 0.000$ ), 但此 3 个组间差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ), 此 3 个组均未发现角膜混浊度评分为 3 分和 4 分者, 而不冲洗组角膜混浊度评分为 3 分和 4 分者均为 6 眼 (图 1, 表 1)。

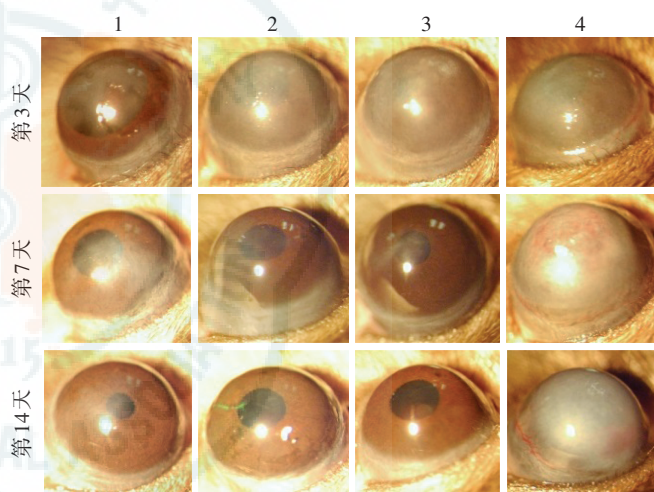


图 1 酸烧伤小鼠冲洗后各时间点裂隙灯显微镜下眼前节表现 可见缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组随着时间延长角膜逐渐透明, 而不冲洗组模型眼随着时间延长角膜混浊加重以及角结膜缘有新生血管朝角膜生长 1: 缓冲液 1 冲洗组; 2: 自来水冲洗组; 3: 缓冲液 2 冲洗组; 4: 不冲洗组

表 1 各组小鼠角膜酸烧伤冲洗后不同时间点各角膜混浊度评分眼数分布

组别	眼数	第 3 天不同评分眼数					第 7 天不同评分眼数					第 14 天不同评分眼数				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
缓冲液 1 冲洗组	15	0	13	2	0	0	0	13	2	0	0	0	12	3	0	0
自来水冲洗组	15	0	4	5	6	0	0	8	6	1	0	0	10	5	0	0
缓冲液 2 冲洗组	15	0	9	6	0	0	0	11	4	0	0	0	11	4	0	0
不冲洗组	15	0	0	9	6	0	0	0	7	7	1	0	0	3	6	6

#### 2.1.2 碱烧伤组模型鼠不同角膜混浊度评分的眼数分布

碱烧伤模型冲洗后第 3 天, 缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度评分为 1 分和 2 分的眼数明显均多于不冲洗组, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 15.000, P = 0.000; \chi^2 = 10.000, P = 0.002; \chi^2 =$

$15.000, P = 0.000$ ); 缓冲液 1 冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度评分为 1 分的眼数均多于自来水冲洗组, 但差异均无统计学意义 (均  $\chi^2 = 3.00, P = 0.083$ ); 缓冲液 1 冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度评分为 1 分的眼数相同。碱烧伤模型冲洗后第 7 天, 缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度

评分为 1 分的眼数均明显多于不冲洗组, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 13.000, P = 0.000; \chi^2 = 12.000, P = 0.001; \chi^2 = 13.000, P = 0.000$ ); 缓冲液 1 冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度低评分的眼数均多于自来水冲洗组, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 7.000, P = 0.008; \chi^2 = 10.000, P = 0.002$ ); 缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度低评分的眼数均多于缓冲液 1 冲洗组, 但差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 3.00, P = 0.083$ )。碱烧伤模型冲洗后第 14 天, 缓冲液 1 冲洗组和缓冲液 2 冲洗组角膜混浊度评分为 1 分的眼数分别为 8 眼和 10 眼, 而自来水冲洗组和不冲洗组所有眼的角膜混浊度评分均  $\geq 2$  分(图 2, 表 2)。

## 2.2 各组小鼠角膜溃疡发生率和新生血管发生率的比较

### 2.2.1 各组小鼠角膜上皮荧光素钠染色阳性率

酸烧伤和碱烧伤小鼠模型冲洗后第 3 天角膜上皮荧光素钠染色阳性率均为 100%, 第 7 天和第 14 天角膜上皮

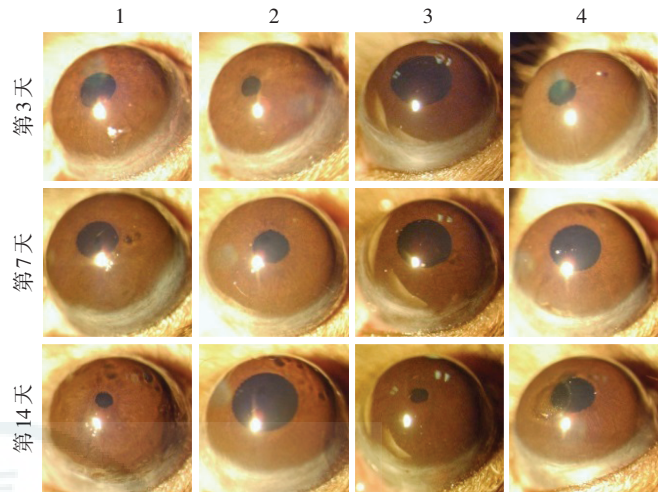


图 2 碱烧伤小鼠冲洗后各时间点裂隙灯显微镜下眼前节表现 可见缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组随着时间延长角膜逐渐透明, 而不冲洗组模型眼随着时间延长角膜混浊加重, 各组均未见角膜新生血管 1: 缓冲液 1 冲洗组; 2: 自来水冲洗组; 3: 缓冲液 2 冲洗组; 4: 不冲洗组

表 2 各组小鼠角膜碱烧伤冲洗后不同时间点各角膜混浊度评分眼数分布

组别	眼数	第 3 天不同评分眼数					第 7 天不同评分眼数					第 14 天不同评分眼数				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
缓冲液 1 冲洗组	15	0	14	1	0	0	0	9	6	0	0	0	8	7	0	0
自来水冲洗组	15	0	11	4	0	0	0	3	11	1	0	0	0	12	3	0
缓冲液 2 冲洗组	15	0	14	1	0	0	0	12	3	0	0	0	10	5	0	0
不冲洗组	15	0	2	12	1	0	0	0	5	10	0	0	0	3	8	4

荧光素钠染色阳性率与溃疡发生率一致(表 3, 4)。

### 2.2.2 各组小鼠角膜溃疡发生率

角膜酸烧伤第 3 天缓冲液 2 冲洗组角膜溃疡发生率显著低于不冲洗组, 差异有统计学意义 ( $P = 0.027$ )。模型冲洗后第 7 天缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组、缓冲液 2 冲洗组小鼠角膜溃疡发生率显著低于不冲洗组, 差异均有统计学意义 ( $P = 0.000, 0.027, 0.003$ )。模型冲洗后第 14 天各组间小鼠角膜溃疡发生率的差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ) (表 3)。角膜碱烧伤后第 3、7、14 天 4 个组小鼠角膜溃疡的发生率比较差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ) (表 4)。

表 3 酸烧伤模型各组小鼠冲洗后不同时间点角膜溃疡发生率 (n/%)

组别	总眼数	不同时间点角膜溃疡发生率		
		3 d	7 d	14 d
缓冲液 1 冲洗组	15	4/33	1/7 <sup>a</sup>	1/7
自来水冲洗组	15	11/73	4/27 <sup>a</sup>	1/7
缓冲液 2 冲洗组	15	5/27 <sup>b</sup>	2/13 <sup>a</sup>	1/7
不冲洗组	15	11/73	11/73	5/33

注: 与各自时间点不冲洗组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$  (Fisher 精确概率法)

表 4 碱烧伤模型各组小鼠冲洗后不同时间点角膜溃疡发生率 (n/%)

组别	总眼数	不同时间点角膜溃疡发生率		
		3 d	7 d	14 d
缓冲液 1 冲洗组	15	7/47	4/27	6/47
自来水冲洗组	15	8/53	5/33	7/53
缓冲液 2 冲洗组	15	5/33	3/20	4/33
不冲洗组	15	10/67	8/53	11/67

注: 两组间比较均  $P > 0.05$  (Fisher 精确概率法)

### 2.2.3 角膜新生血管发生率

角膜酸烧伤小鼠不冲洗组造模后第 14 天角膜新生血管发生率为 50%, 缓冲液 1 冲洗组、自来水冲洗组和缓冲液 2 冲洗组小鼠未见角膜新生血管。角膜碱烧伤小鼠各组在各时间点均未发现角膜新生血管。

## 3 讨论

严重的眼化学伤是眼科急性外伤病变之一, 可导致受伤眼视力的下降甚至盲, 及时、有效地处理眼化学伤显得尤为重要, 眼化学伤后即刻进行充分的冲洗是影响预后的关键步骤, 而研制有效的冲洗液并预防性地存放于工厂、学校、家庭等场所对及时治疗眼化学伤

有重要的临床意义。本研究小组发现小鼠角膜化学伤发生后即刻冲洗的预后明显好于不冲洗组,与文献报道一致<sup>[1-4,6-7]</sup>。研究表明,1 mol/L 硫酸可用于角膜酸烧伤模型的制备<sup>[8]</sup>,而 0.15 mol/L 氢氧化钠可造成角膜Ⅱ度碱烧伤<sup>[9]</sup>,这 2 种浓度的酸碱试剂造成的烧伤若不给予治疗时则无法自行改善,因此本研究中采用自行制备的缓冲液进行冲洗以检验缓冲液的效果。

研究证实,磷酸盐缓冲液作为角膜烧伤后的冲洗液可使角膜出现皂化反应,影响角膜的透明度,这可能与磷酸盐缓冲液中的离子构成与角膜基质不一致,以及角膜化学烧伤后局部因素的作用有关,这些因素包括由炎症反应、角膜基质暴露及细胞死亡引起的蛋白酶激活;而 10% 枸橼酸盐局部点眼和冲洗可减轻角膜混浊程度,防止角膜溃疡的发生<sup>[2,10-11]</sup>。本研究中发现在对角膜化学烧伤模型眼进行枸橼酸-磷酸二氢钠缓冲液冲洗时并未出现角膜上磷酸盐的皂化反应,认为可能与添加了枸橼酸有关。以往的研究证实,角膜碱烧伤后前房 pH 值升高<sup>[3-4,12]</sup>,如果冲洗的缓冲液渗透压低于角膜基质和房水渗透压(房水和角膜基质的渗透压分别为 304 mOsm/L 和 420 mOsm/L),冲洗眼表时冲洗液会使 OH<sup>-</sup>向角膜深层及前房渗透,进一步加重碱性物质对眼内的损伤。本实验配制的枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液的渗透压为 539 mOsm/L,枸橼酸-磷酸氢二钠-氯化钾缓冲液的渗透压为 557 mOsm/L,均高于角膜基质和房水的渗透压,从而可减少角膜碱烧伤后局部 OH<sup>-</sup>向角膜基质及前房内的渗透。枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液可发挥双向电离作用,既可结合酸性离子,也可结合碱性离子,因此对眼部的酸性和碱性化学伤均可应用。本研究中配制的枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液的 pH 值为 7.4,接近于眼表环境中及房水的 pH 值。曾有研究表明,将体外培养的角膜上皮细胞置于 10 mmol/L 的 K<sup>+</sup>培养液中可减少紫外线照射引起的细胞凋亡<sup>[13-14]</sup>。为进一步证实这一结论,本研究所制备的枸橼酸-磷酸氢二钠-氯化钾缓冲液中所含的 K<sup>+</sup>浓度为 10 mmol/L,与未加 K<sup>+</sup>枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液的效果进行比较,发现二者在冲洗小鼠化学烧伤角膜治疗方面差异无统计学意义,我们推测可能与本研究是在体的动物实验,实验过程中的影响因子较多而不同于体外细胞实验所致。但本研究的不足之处在于由于检测仪器的限制而未对模型小鼠的房水 pH 值进行监测,无法判断枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液对角膜碱烧伤后前房 pH 值的中和程度是否优于其他冲洗液。

角膜化学烧伤的即刻眼部冲洗后应进一步应用糖皮质激素、维生素 C 进行局部短期治疗,并同时局部

应用抗生素滴眼液以预防感染,必要时需行羊膜覆盖<sup>[1]</sup>,近年来的人工角膜和自体角膜缘干细胞移植疗法有望替代或恢复角膜的光学特性<sup>[15-16]</sup>,但人工角膜难获得长期较好的预后<sup>[16]</sup>。角膜碱烧伤后出现的高眼压以及白细胞介素-1 $\beta$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 等炎症因子表达可导致视网膜神经节细胞对损伤因子的敏感性升高,造成视网膜损伤<sup>[17-18]</sup>。因而眼部碱烧伤的治疗既要注重急救现场的冲洗、短期的药物及手术治疗,也要重视最终导致视力丧失的青光眼的治疗。而对于眼部的酸性烧伤者主要是应根据酸性物质的类型选择合适的冲洗液,注重现场冲洗及早期治疗。本研究中配制的枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液配置方便,成本低廉,性质稳定,易于保存;枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液是两性溶液,可以用于酸、碱 2 种类型的烧伤。

## 参考文献

- [1] Dohlman CH, Cade F, Pfister R. Chemical burns to the eye; paradigm shifts in treatment [J]. *Cornea*, 2011, 30 (6) : 613-614. DOI: 10.1097/ICO.0b013e3182012a4f.
- [2] Rihawi S, Frentz M, Schrage NF. Emergency treatment of eye burns; which rinsing solution should we choose? [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, 244 (7) : 845-854. DOI: 10.1007/s00417-005-0034-3.
- [3] Kuckelkorn R, Schrage N, Keller G, et al. Emergency treatment of chemical and thermal eye burns [J]. *Acta Ophthalmol Scand*, 2002, 80 (1) : 4-10.
- [4] Schrage NF, Kompa S, Haller W, et al. Use of an amphoteric lavage solution for emergency treatment of eye burns. First animal type experimental clinical considerations [J]. *Burns*, 2002, 28 (8) : 782-786.
- [5] Yoon KC, Heo H, Kang IS, et al. Effect of topical cyclosporin A on herpetic stromal keratitis in a mouse model [J]. *Cornea*, 2008, 27 (4) : 454-460. DOI: 10.1097/ICO.0b013e318160602d.
- [6] Merle H, Donnio A, Ayeboou L, et al. Alkali ocular burns in Martinique (French West Indies) Evaluation of the use of an amphoteric solution as the rinsing product [J]. *Burns*, 2005, 31 (2) : 205-211. DOI: 10.1016/j.burns.2004.09.001.
- [7] Chau JP, Lee DT, Lo SH. A systematic review of methods of eye irrigation for adults and children with ocular chemical burns [J]. *Worldviews Evid Based Nurs*, 2012, 9 (3) : 129-138. DOI: 10.1111/j.1741-6787.2011.00220.x.
- [8] Wang H, Han-ping X, Yin XU, et al. Preliminary study of the correlation of neovascularization in cornea after cautery with acid and the epithelial defect, the infiltrating of leucocytes [J]. *Acta Acad Med Milit Tert*, 2005, 27 (8) : 764-766.
- [9] Bai JQ, Qin HF, Zhao SH. Research on mouse model of grade II corneal alkali burn [J]. *Int J Ophthalmol*, 2016, 9 (4) : 487-490. DOI: 10.18240/ijo.2016.04.02.
- [10] Brodovsky SC, McCarty CA, Snibson G, et al. Management of alkali burns; an 11-year retrospective review [J]. *Ophthalmology*, 2000, 107 (10) : 1829-1835.
- [11] Pfister RR, Haddox JL, Yuille-Barr D. The combined effect of citrate/ascorbate treatment in alkali-injured rabbit eyes [J]. *Cornea*, 1991, 10 (2) : 100-104.
- [12] Ikeda N, Hayasaka S, Hayasaka Y, et al. Alkali burns of the eye; effect of immediate copious irrigation with tap water on their severity [J]. *Ophthalmologica*, 2006, 220 (4) : 225-228. DOI: 10.1159/000093075.
- [13] Lu L. Stress-induced corneal epithelial apoptosis mediated by K<sup>+</sup> channel activation [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2006, 25 (6) : 515-538. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2006.07.004.
- [14] Schotanus MP, Koetje LR, van Dyken RE, et al. Stratified corneal limbal epithelial cells are protected from UVB-induced apoptosis by elevated extracellular K<sup>+</sup> [J]. *Exp Eye Res*, 2011, 93 (5) : 735-740. DOI: 10.1016/j.exer.2011.09.005.
- [15] Burcu A, Yalniz-Akkaya Z, Ozdemir MF, et al. Surgical rehabilitation following ocular chemical injury [J]. *Cutan Ocul Toxicol*, 2014, 33 (1) : 42-48. DOI: 10.3109/15569527.2013.796477.
- [16] Cade F, Grosskreutz CL, Tauber A, et al. Glaucoma in eyes with severe chemical burn, before and after keratoprosthesis [J]. *Cornea*, 2011,

30(12):1322-1327. DOI:10.1097/ICO.0b013e31821ead6.

[17] Miyamoto F, Sotozono C, Ikeda T, et al. Retinal cytokine response in mouse alkali-burned eye[J]. Ophthalmic Res, 1998, 30(3):168-171.

[18] Cade F, Paschalis EI, Regatieri CV, et al. Alkali burn to the eye:

protection using TNF- $\alpha$  inhibition[J]. Cornea, 2014, 33(4):382-389.

(收稿日期:2016-05-21)

(本文编辑:尹卫靖 张宇)

## · 病例报告 ·

## Ranibizumab 治疗湿性年龄相关性黄斑变性长期随访一例

杜新华 吴强

200233 上海交通大学附属第六人民医院眼科

通信作者:吴强, Email: wyan559@hotmail.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.007

患者,男,83岁,因左眼视力下降1.5个月于2013年6月在上海交通大学附属第六人民医院眼科就诊。患者1年前曾有右眼黄斑区出血史,未予治疗,视力逐渐下降,本次自觉左眼发病情况与右眼相似。眼部检查:视力右眼0.05,左眼0.15;眼压右眼13 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),左眼14 mmHg;双眼角膜透明,前房深,Tyn征(-),瞳孔圆,直径3 mm,对光反射(+),晶状体中度混浊,右眼黄斑区瘢痕灶,彩色眼底照相可见左眼黄斑区1/2视盘直径(papilla disc, PD)大小黄色病灶伴少量出血(图1)。荧光素眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)可见左眼静脉期黄斑区1/2 PD大小环形遮蔽荧光,其中间部位随着时间延长出现荧光素渗漏增多(图2)。OCT显示左眼黄斑区视网膜下高反射物质(subretinal hyperreflective material, SHRM)突破视网膜色素上皮(retinal pigmented epithelium, RPE)层,并伴有周围低反射腔隙(图3)。诊断:双眼湿性年龄相关性黄斑变性(wet age-related macular degeneration, wAMD)(右眼瘢痕期)。予以左眼玻璃体腔注射 ranibizumab 3+按需治疗(pro re nata, PRN)(起始3个月每月注射 ranibizumab 0.5 mg/0.05 ml,随访期按需进行注射)。在前3针负荷治疗后,左眼视力逐步提升至0.5,复查OCT显示黄斑区视网膜神经上皮层下积液逐渐吸收,黄斑区视网膜神经上皮层下 SHRM 体积减小,但未完全消失(图4)。PRN期间,依据 ProONTO 研究中再治疗标准<sup>[1]</sup>,予以玻璃体腔注射 ranibizumab 治疗。近3年的PRN期间,约每半年左眼视力显著下降伴黄斑中心凹视网膜神经上皮层下再次出现积液,重复注射1次,病情恢复稳定,视力维持在0.4~0.5。3次负荷治疗后,随访31个月,PRN治疗共6次。PRN期间第10个月患者因左眼白内障行晶状体超声乳化摘出+人工晶状体植入术,术前眼底情况已稳定5个月(图5),术后1个月黄斑区视网膜下积液再次复发伴视力下降(图6),重复治疗后积液吸收(图7)。

**讨论:** wAMD 是一种慢性、进展性黄斑区病变。玻璃体腔注射抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物是目前治疗 wAMD 的有效手段,它可以阻止脉络膜新生血管的生长和血管渗漏,但不能作用于 VEGF 水平过表达以及黄斑区活动性病灶<sup>[2]</sup>。Ranibizumab 在国外应用较早,但其应用于中国 wAMD 患者时间较短,治疗效果及随访情况还有待观察。

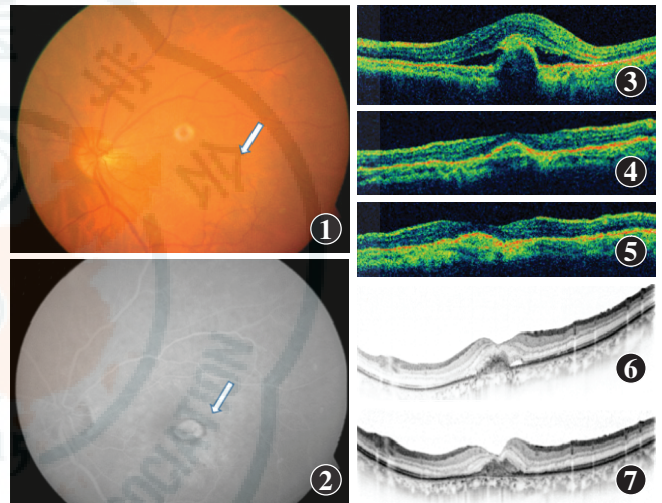


图1 初诊时彩色眼底照相左眼黄斑区可见1/2 PD大小黄色病灶伴少量出血 图2 FFA见左眼静脉期黄斑区1/2 PD大小环形遮蔽荧光,其中间部位为高荧光 图3 OCT显示左眼黄斑区视网膜神经上皮层下高反射团块突破RPE层,并伴有周围低反射腔隙 图4 3针负荷治疗后,OCT检查可见黄斑区视网膜神经上皮层下积液吸收,视网膜神经上皮层下SHRM体积减小,但未完全消失 图5 白内障术前,距离末次玻璃体腔注射 ranibizumab 5个月,OCT检查可见黄斑区病情稳定,视网膜神经上皮层下无积液,SHRM情况与图4较相似 图6 白内障术后1个月,OCT检查可见黄斑区视网膜神经上皮层下出现低反射腔隙,提示积液再次出现 图7 随访第31个月,OCT检查可见黄斑区视网膜神经上皮层下SHRM,其周围未见明显低反射腔隙

Ranibizumab 是一种人源化的抗 VEGF-A 单克隆抗体片段, VEGF-A 是调控眼部血管生成和血管通透性增加的一个关键性细胞因子,其关乎一系列眼底疾病,如 wAMD、糖尿病性黄斑水肿、增生期糖尿病视网膜病变等<sup>[3]</sup>。既往4项Ⅲ期临床试验观察了超过5000眼患眼,证实了 ranibizumab 在治疗各亚型 wAMD 的有效性和安全性<sup>[4-7]</sup>,因此在2006年6月、2007年1月和2007年3月相继通过了美国食品和药品监督管理局、欧洲药物管理局和澳大利亚治疗委员会。

ANCHOR 和 MARINA 试验表明,每月玻璃体腔注射1次 ranibizumab 治疗 wAMD 能帮助患者维持和提高视力<sup>[4-5]</sup>。在 PIER 研究中,每季度玻璃体腔注射 ranibizumab 的治疗效果优于假注射组,但不能维持视力的提高<sup>[6]</sup>。EXCITE 研究中患者接受连续3个月负荷治疗后,每季度注射1次,结果显示视力有明显提升,但并不能达到每月注射1次的治疗效果<sup>[6]</sup>。为了