

姜黄素在兔眼玻璃体腔内的药代动力学研究

安建斌 马景学 翟英 刘丹岩 任进民 刘丽娅 李文娟

Pharmacokinetics of curcumin in vitreous of rabbit

An Jianbin, Ma Jingxue, Zhai Ying, Liu Danyan, Ren Jinmin, Liu Liya, Li Wenjuan. Department of Ophthalmology, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China

Abstract Objective Researches have showed that curcumin presents an antiproliferation, antitumor and antiinflammation effect. Our previous in vitro study also demonstrated that curcumin can induce the apoptosis of retinal pigment epithelial cells and further inhibit the proliferative vitreoretinopathy. This study was to observe the pharmacokinetical process and determine the clearance rate and halflife time of curcumin in the vitreous of rabbit. **Methods** Thirty-six healthy and mature New Zealand albino rabbits were randomly divided into standard and quality control group (3 rabbits, 6 eyes) and experimental group (33 rabbits, 66 eyes). Rabbits in experimental group were subdivided into 11 groups and 6 eyes of 3 animals for each. 0.1 mL curcumin (0.1 mg) was injected into the vitreous of experimental rabbits and drug did not be administrated in the standard and quality control group. The both eyes from experimental animals were enucleated at the 0, 1 hour, 3, 7, 12, 24, 36, 48, 72, 96 and 120 hours after injection of curcumin respectively. The vitreous specimens were collected immediately for the detection of curcumin concentration by high performance liquid chromatography (HPLC). The main parameters of pharmacokinetics were calculated through DAS pharmacokinetics software. **Results** The chromatographic peak of curcumin and endogenous substance were separated well with the lasting time 4.4 min. The extract recovery of curcumin was 90%, and the relative standard difference (RSD) of intra-day and inter-day was low. The calibration curve of curcumin presented linear through 0.01 μg/mL to 4 μg/mL with a regression formation as follow: $y = 143\,973x + 603.32$ ($r = 0.999\,1$). The total eliminated amount of curcumin was 1.06%, 4.02%, 9.44%, 19.77%, 23.90%, 35.44%, 57.54%, 70.63%, 84.65%, 91.76% and 96.34% at 0, 1 hour, 3, 7, 12, 24, 36, 48, 72, 96 and 120 hours after injection respectively, showing a halflife time of (26.68 ± 2.66) hours. **Conclusion** 0.1 mg curcumin has an effective mass concentration for a long-standing time after its intravitreal injection. The pharmacokinetical process is zero-order kinetics in the early stage and first-order kinetics 48 hours later.

Key words curcumin; pharmacokinetics; intravitreal injection; high-performance liquid chromatography

摘要 目的 研究姜黄素在兔眼玻璃体内的代谢过程。 **方法** 将36只新西兰白兔随机分为标准及质控组3只兔(6只眼)和实验组33只兔(66只眼)。实验组再随机分为11组,每组3只兔(6只眼)。标准及质控组动物无须手术操作,实验组动物穿刺抽取玻璃体0.1 mL后玻璃体腔内注入姜黄素0.1 mL(含0.1 mg)。注药后0、1、3、7、12、24、36、48、72、96及120 h分别摘除眼球并制备玻璃体待检样品。应用高效液相色谱技术(HPLC)检测玻璃体腔内药物质量浓度。用DAS软件计算主要的药代动力学参数。 **结果** 姜黄素与玻璃体内源性物质之间的色谱峰分离良好,姜黄素保留时间为4.4 min。提取回收率约90%,日内和日间变异较小。玻璃体内姜黄素质量浓度在0.01~4 μg/mL范围内呈线性关系,标准曲线为 $y = 143\,973x + 603.32$ ($r = 0.999\,1$)。在上述时间点测得的清除率分别为1.06%、4.02%、9.44%、19.77%、23.90%、35.44%、57.54%、70.63%、84.65%、91.76%及96.34%。半衰期 $t_{1/2} = (26.68 \pm 2.66)$ h。 **结论** HPLC法检测玻璃体内姜黄素质量浓度特异性好。姜黄素在玻璃体内半衰期较长,0.1 mg注射后整个代谢过程先为零级动力学代谢,48 h后为一级动力学代谢。

关键词 姜黄素; 药代动力学; 玻璃体注射; 高效液相色谱法

分类号 R 774.05 R 776 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)02-0132-05

本课题为河北省自然科学基金项目资助(303638)
 作者单位:050000 石家庄,河北医科大学第二医院眼科
 通讯作者:马景学 (Email:majingxue2003@yahoo.com.cn)

增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 是一种眼内细胞过度增生所致的难治性致盲性眼病,在其发生、发展过程中,视网膜

色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞起着非常重要的作用^[1]。近年来,通过药物抑制 RPE 细胞过度增生成为防治 PVR 研究的热点。姜黄素是从姜科姜黄属植物根茎中提取的一种中药单体成分,具有抗增生、抗肿瘤、抗炎症等多种药理作用^[2-4]。我们先前的研究还发现姜黄素可以诱导体外培养的兔眼 RPE 细胞凋亡,从而高效抑制其增生^[5],且玻璃体内注射不良反应非常小^[6]。本文进一步研究其在玻璃体内的代谢过程,以期为临床防治 PVR 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验药物 姜黄素(美国 ALEXIS 公司,纯度 $\geq 98.5\%$):以少量二甲基亚砜(DMSO)助溶(DMSO 终浓度 $\leq 0.1\%$,对细胞无不良反应),用生理盐水配制成 $0.1\text{ mg}/0.1\text{ mL}$ 的质量浓度,使 DMSO 终浓度为 0.05% 。药物用一次性滤器无菌过滤后小瓶分装, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用。

1.1.2 实验动物及分组 健康成年新西兰白兔 36 只(河北医科大学第二医院实验动物室提供),雌雄不限;体重 $2.0\sim 2.5\text{ kg}$ 。将 36 只实验兔随机分为标准及质控组 3 只(6 只眼),实验组 33 只(66 只眼)。实验组再随机分为 11 组,每组 3 只兔 6 只眼。标准及质控组动物无须手术操作。应用前正常饲养,观察 1 周,并进行裂隙灯显微镜、间接检眼镜等常规眼科检查。

1.1.3 主要仪器 Waters 515 高效液相色谱系统(美国 Waters 公司), Phenomenix 型色谱柱 ($250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm I.D.}, 5\text{ }\mu\text{m}$) (日本 GL Sciences 公司), 数控恒温水浴氮吹仪(北京康林科技有限公司), GL-20G-II 型冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 手术方法 实验组动物处理:复方托吡卡胺滴眼液充分散瞳, 0.5% 盐酸丙美卡因滴眼液点眼行眼表面麻醉,间接检眼镜下用 7 号针头于角膜缘后 4 mm 处穿刺抽取玻璃体 0.1 mL ,向玻璃体腔中部注入质量浓度为 $0.1\text{ mg}/0.1\text{ mL}$ 的姜黄素 0.1 mL (注入前以超声波清洗器震荡均匀),术后结膜囊涂氧氟沙星眼膏。

1.2.2 玻璃体样本的收集和制备 玻璃体腔注药后,在 $0、1、3、7、12、24、36、48、72、96$ 及 120 h 分别处理实验动物如下: 0.5% 盐酸丙美卡因滴眼液点眼行眼表面麻醉, 2% 利多卡因球后注射麻醉,摘除双眼眼球,立即投入液氮中冷冻后转入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中冷冻保存备用。标准及质控组动物以同样方法冻存双眼眼球。取冻存眼球,迅速取出玻璃体,置于冰水预冷的匀浆器中,

在冰冻条件下反复匀浆 10 min ,测量玻璃体的体积。每份玻璃体液取 0.2 mL ,加入 $0.1\text{ mmol/L HCl } 20\text{ }\mu\text{L}$,旋涡混合 1 min ,加入乙酸乙酯 2 mL ,旋涡混合 4 min , 4000 r/min 离心 5 min ,取上清液至 10 mL 玻璃试管, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干,加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 流动相复溶,超声溶解 30 s , 10000 r/min 离心 5 min ,取上清液 $20\text{ }\mu\text{L}$ 进行测定。

1.2.3 配制标准溶液 应用分析天平精密称取姜黄素对照品 1 mg ,置于 25 mL 量瓶中,甲醇定溶至刻度,即得质量浓度为 $40\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液,再精密吸取对照品储备液进行倍比稀释,配成质量浓度分别为 $40、10、5、2、0.5、0.1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液。

1.2.4 液相色谱条件 色谱柱采用 Phenomenix 型色谱柱,流动相为甲醇-水(含 5% 醋酸)($80:20$),柱温 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$,流速 1.0 mL/min ,检测波长 420 nm ,灵敏度 0.01 AUFS ,进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。

1.2.5 制备标准曲线 精密量取 1.2.2 方法得到的空白玻璃体液 $180\text{ }\mu\text{L}$ 于 5 mL 具塞玻璃试管中,分别加入姜黄素对照品系列溶液 $20\text{ }\mu\text{L}$,并进行旋涡混匀,配制成相当于质量浓度分别为 $4、1、0.5、0.2、0.05、0.01\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的玻璃体系列对照品样品,按照 1.2.2 方法操作,得到标准样品进行测定,并记录色谱图。以标准质量浓度为横坐标,测得的峰下面积值为纵坐标,用最小二乘法进行回归运算,求得姜黄素的回归方程。

1.2.6 测定绝对回收率(提取回收率) 精密量取以 1.2.2 方法得到的空白玻璃体液 $100\text{ }\mu\text{L}$,按照 1.2.5 的方法分别制备低、中、高 3 个质量浓度 ($0.05、0.2、1.0\text{ }\mu\text{g/mL}$) 的标准生物标本,按上述方法测定峰面积。同时配制相同质量浓度的标准溶液,测定峰面积,求其比值,得到绝对回收率。每个质量浓度平行处理计算 6 个标本。

1.2.7 精密度测定 依据前述方法制备 $0.05、0.2、1.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 低、中、高 3 个水平标准生物标本,每个质量浓度 6 份,依法测定,于 1 d 内连续测定 5 次,并连续测定 3 d ,计算日内精密度和日间精密度。

1.2.8 玻璃体内药物质量浓度的测定 按照 1.2.5 的方法,依次对每个时间点姜黄素组动物的玻璃体待检样品,进行高效液相色谱 (high-performance liquid chromatography, HPLC) 测定,记录色谱图,得出峰下面积值,与标准曲线对照,并乘以稀释倍数,即得出每个玻璃体样品的检测质量浓度值。分别计算姜黄素在各个时间点检测质量浓度的均数和标准差,以注射药物的时间为横坐标,以药物检测质量浓度的均数为纵坐标建立药-时曲线,即为药物在玻璃体内的代谢过程。应用 DAS ver 2.1.1 药物代谢动力学统计学分析软件

进行房室拟合并计算各药物动力学参数。

2 结果

2.1 姜黄素的标准曲线

在空白玻璃体中分别精确加入姜黄素,配制成 4.0、1.0、0.5、0.2、0.05、0.01 $\mu\text{g/mL}$ 6 个标准质量浓度,以标准质量浓度为横坐标(x),测得的峰下面积值为纵坐标(y),建立标准曲线方程 $y = 143\,973x + 603.32$ ($r^2 = 0.998\,2, r = 0.999\,1$) (图 1)。玻璃体内姜黄素质量浓度在 0.01 ~ 4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈线性关系。

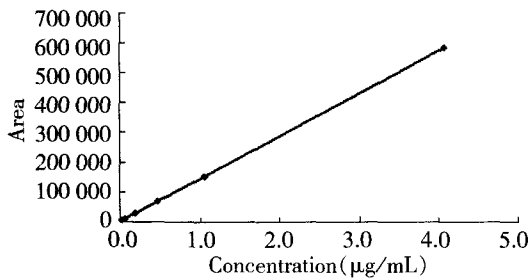


图 1 姜黄素的标准曲线

Fig. 1 The standard line of mass concentration of curcumin

2.2 检测方法的质量控制

2.2.1 色谱行为 在此色谱条件下,姜黄素与玻璃体内源性物质二者的色谱峰分离良好,在被检测的药物峰附近没有其他内源性物质和相应代谢物峰的干扰,姜黄素的保留时间为 4.4 min。用此种方法检测姜黄素在玻璃体内的质量浓度具有很好的特异性。姜黄素在玻璃体内稳定存在,没有检测到代谢峰(图 2,3)。

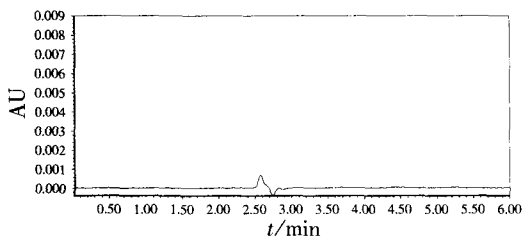


图 2 空白玻璃体色谱图

Fig. 2 Representative chromatograms of blank rabbit vitreous

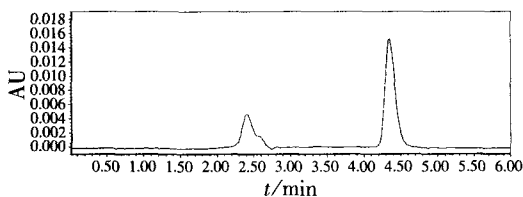


图 3 标准样品(含姜黄素 1.0 $\mu\text{g/mL}$)色谱图

Fig. 3 Representative chromatograms of rabbit vitreous containing 1.0 $\mu\text{g/mL}$ curcumin

2.2.2 绝对回收率 以下 3 个质量浓度姜黄素的绝对回收率均较高(表 1)。

表 1 姜黄素的绝对回收率

Table 1 Absolute recovery rate of curcumin in rabbit vitreous

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Absolute recovery rate (%)	RSD (%)
0.05	88.7	6.8
0.20	86.5	3.3
1.00	90.7	3.2

2.2.3 方法精密度 对以上 3 个质量浓度的姜黄素标准玻璃体液 1 d 内连续测定 5 次,连续测定 3 d,分析日内和日间的相对标准差(relative standard difference, RSD),显示该方法日内和日间变异较小,符合目前生物分析方法的有关国际规范^[7](表 2)。

表 2 方法精密度

Table 2 The precision of the method

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-day precision (RSD%)	Inter-day precision (RSD%)
0.05	5.7	3.9
0.20	3.6	2.4
1.00	4.1	3.9

2.3 姜黄素在兔眼玻璃体腔内的代谢过程

实验测得 36 只兔眼玻璃体平均体积为 (1.01 ± 0.18) mL。测定 0.1 mg 姜黄素注入玻璃体腔后各时间点的药物质量浓度,计算总体清除率(total clearance rate, TCR)。以注射时间为横坐标(x),各时间点的质量浓度为纵坐标(y),绘制质量浓度-时间曲线,反映药物在兔眼玻璃体内的代谢过程(表 3,图 4)。

表 3 姜黄素的质量浓度和 TCR

Table 3 The mass concentration and TCR of curcumin in rabbit vitreous at different time

Time (h)	Mass concentration ($\mu\text{g/mL}$)	TCR (%)
0	97.96 ± 1.09	1.06
1	95.03 ± 7.49	4.02
3	89.66 ± 15.29	9.44
7	79.44 ± 16.11	19.77
12	75.35 ± 13.72	23.90
24	63.92 ± 9.47	35.44
36	42.04 ± 7.07	57.54
48	29.08 ± 6.16	70.63
72	15.21 ± 3.04	84.65
96	8.16 ± 2.25	91.76
120	3.62 ± 0.85	96.34

2.4 姜黄素在兔眼玻璃体内的药代动力学模型拟合及半衰期

姜黄素注入玻璃体腔后其质量浓度呈一室模型,权重系数 $W = 1/\text{mL}$ 。姜黄素在玻璃体内的半衰期 $t_{1/2} = (26.68 \pm 2.66)$ h。

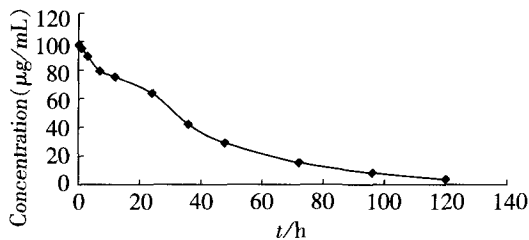


图 4 姜黄素在兔眼玻璃体腔内的代谢过程

Fig. 4 The pharmacokinetic profile of curcumin in the rabbit vitreous

3 讨论

目前,针对姜黄素的大多数研究是对体外培养细胞的作用,或口服、静脉注射等全身用药^[2-5,8],对其代谢过程的研究也仅限于全身水平。由于血-眼屏障的存在,即使全身大量用药也难以达到理想效果;而玻璃体腔内注药可以使药物直接作用于病变部位,即使微量也可产生高效,还可以避免全身用药的不良反应,因此是最佳给药方式。但玻璃体内无血管,需依靠房水循环来完成物质代谢,因此姜黄素玻璃体腔内注射后其代谢过程完全有别于全身用药。研究此种给药方式的代谢过程可为临床应用提供理论依据。

玻璃体内药物质量浓度的检测方法主要有荧光偏振免疫法^[9]、双波长吸收紫外分光法^[10]、荧光分光光度计分析法^[11]、固相纤维蛋白分光光度计分析法^[12]和 HPLC^[13]等。HPLC 具有简便、灵敏度高、分析速度快、需要样本量少、结果准确可靠等特点,是在生物药物分析工作中最为常用的定量检测分析方法。本文即采用 HPLC,研究姜黄素在玻璃体内的药代动力学过程。研究表明姜黄素与内源性物质峰完全分离,出峰时间稳定、适宜,能取得较好的对称峰形和较高分离度,表明该方法专属性良好;绝对回收率达到 90% 的较高水平,表明该方法的准确度高;同时,日内和日间变异均小于 10%,说明该方法的精密度高。其准确度和精密度符合目前生物分析方法的有关国际规范^[7],因此 HPLC 非常适用于对玻璃体中姜黄素质量浓度的测定。

我们以往的研究结果表明兔眼玻璃体内注射 0.2 mg 以下剂量的姜黄素是安全的^[6],此次注射 0.1 mg。注射后 48 h, TCR 达到 70%, 0~48 h 阶段代谢过程曲线较陡,说明代谢速度相对较快,该过程为零级动力学代谢。48~120 h 阶段,剩余的 30% 尚未完全清除,此阶段代谢过程曲线平缓,说明代谢速度相对较慢,我们认为该过程为一级动力学代谢。分析这可能是因为姜黄素在玻璃体内以原型方式主要通过小梁网随房水循环代谢,在注药早期(48 h 内)玻璃体内药物

质量浓度较高,超过了最大代谢能力,所以只能以最大代谢能力定量清除;而在中晚期(48~120 h)药物质量浓度下降到一定程度时(约 30 µg/mL)呈定比方式清除。

PVR 的发生、发展是一个缓慢的动态过程,这就要求其防治药物在玻璃体内维持较长时间的有效质量浓度。我们研究发现,姜黄素在玻璃体内的半衰期约为 27 h,远高于道诺霉素(130~145 min)^[11]、去炎松(3 h)^[14]等抗增生药的眼内半衰期。姜黄素微溶于水,易溶于有机溶剂二甲基亚砜,以 0.1% 以下浓度助溶对细胞无不良反应^[6],姜黄素需要微量有机溶剂助溶的这种特性相当于为其构建了一个有机载体,从而延缓了其在玻璃体内的清除过程。72 h 时在玻璃体内检测到的姜黄素质量浓度为 15.21 µg/mL,稍高于此时体外作用于 RPE 细胞的半数抑制率(IC₅₀)质量浓度(13.24 µg/mL)^[5],96 h 时在玻璃体内检测到的姜黄素质量浓度为 8.16 µg/mL,接近于此时体外作用于 RPE 细胞的 IC₅₀质量浓度(10.99 µg/mL)^[5]。由此可见,姜黄素在玻璃体内可以较长时间维持有效的治疗质量浓度,为有效防治 PVR 提供了可靠保证。

参考文献

- 1 Hooymans JM, de Lavalette VW, Oey AC. Formation of proliferative vitreoretinopathy in primary rhegmatogenous retinal detachment [J]. *Doc Ophthalmol*, 2000, 100: 39-42
- 2 胡艳红, 祁明信, 黄秀榕, 等. 姜黄素对晶状体上皮细胞增生的抑制作用 [J]. *眼科研究*, 2006, 24: 122-124
- 3 Adams BK, Cai J, Armstrong J, et al. EF24, a novel synthetic curcumin analog, induces apoptosis in cancer cells via a redox-dependent mechanism [J]. *Anticancer Drugs*, 2005, 16: 263-275
- 4 Yan C, Jamaluddin MS, Aggarwal B, et al. Gene expression profiling identifies activating transcription factor 3 as a novel contributor to the proapoptotic effect of curcumin [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4: 233-241
- 5 安建斌, 马景学, 高彦军, 等. 姜黄素和苏拉明抑制兔 RPE 细胞增生的对比研究 [J]. *眼科研究*, 2008, 26: 490-493
- 6 安建斌, 马景学, 刘丹岩, 等. 姜黄素兔眼玻璃体内注射后眼内毒副作用研究 [J]. *眼视光学杂志*, 2008, 10: 277-280
- 7 Vinod PS, Kamol KM, Shrikant D, et al. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence, and pharmacokinetic studies [J]. *J Pharmaceut Sci*, 1992, 81: 309-312
- 8 仲明远, 全山从, 胡晋红. 姜黄素制剂学研究进展 [J]. *中成药*, 2007, 29: 255-258
- 9 曾水清, 吕源淑, 胡出椿, 等. 丁胶卡那霉素在兔眼玻璃体内的药代动力学研究 [J]. *中华眼底病杂志*, 1995, 11: 28-30
- 10 朱晓波, 唐仕波, 李加青, 等. 苏拉明在兔眼玻璃体内的药物代谢过程研究 [J]. *眼科研究*, 2005, 23: 600-603
- 11 梁厚成, 惠延年, 蔡用舒. 道诺霉素脂质体玻璃体内代谢及视网膜的毒性 [J]. *眼科研究*, 1993, 11(2): 87-89
- 12 Jaffe GJ, Green GD, Mckay BS, et al. Intravitreal clearance of tissue plasminogen activator in the rabbit [J]. *Ophthalmology*, 1988, 106: 969-972
- 13 Hassan TS, Hartzer MK, Cheng M, et al. Anti-angiogenic effects, ocular toxicity and vitreous clearance of suramin in vivo [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1994, 35: 1374-1381

14 Tano Y, Sugita G, Abrams G, et al. Inhibition of intraocular proliferations with intravitreal corticosteroids [J]. Am J Ophthalmol, 1980, 89: 131 - 136

(收稿:2008-10-12 修回:2008-12-20)

(本文编辑:高红)

· 临床经验 ·

新鲜羊膜移植治疗眼部化学伤临床观察

陈振超 谭茂清

眼化学伤是一种常见的致盲性眼病,其中以碱化学伤为最严重,发病率占眼外伤的7%~10%,新鲜羊膜移植治疗有助于重建眼表^[1]。我院从2001年起采用新鲜羊膜移植治疗眼化学烧伤,效果满意,报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 收集2001年以来于我院诊治的眼化学伤患者,共13例15眼,其中男9例,女4例。烧伤分度参照全国眼外伤职业眼病通过的分度标准^[2],13例中Ⅱ度烧伤5例,Ⅲ度烧伤6例,Ⅳ度烧伤2例。致伤原因:致伤物为电镀液者5眼,氢氧化钠者2眼,硫酸者3眼,金属者2眼,石灰者1眼;年龄12~58岁(平均35岁),病程1d~2个月。本组患者视力为手动~0.1,所有患眼结膜和角膜均有不同程度损伤,结膜充血水肿,瘢痕形成。全角膜肿胀混浊2眼,半透明5眼,角膜面<1/2混浊者4眼,<1/3者1眼。角膜缘缺血<1/4象限者7眼,角膜新生血管者3眼,2例2眼部分眼球粘连。

1.2 羊膜的制备 羊膜取材经医院伦理委员会批准并经家属知情同意。所有羊膜材料在分娩前进行血清学检查,排除乙肝病毒、HIV、丙肝病毒、梅毒、巨细胞病毒感染。在无茵条件下将胎盘用稀释的妥布霉素和二性霉素B生理盐水冲洗干净血污及异物,并将羊膜从绒毛膜上钝性分离,再于稀释液中浸泡30min,备用。

1.3 手术方法 患眼充分结膜囊冲洗,除去结膜囊内残留的异物及坏死组织,对伤后时间少于1周者进行前房穿刺冲洗。所有手术均在手术显微镜下操作。用2%利多卡因和0.75%布比卡因混合液行球周和结膜下浸润麻醉。开睑后刮除残留角膜上皮。剪除坏死眼表组织,直到局部血液循环征象出现。若有睑球粘连,先分离粘连部分,将已备好的新鲜羊膜平铺于角膜结膜创面上,上皮面向上,根据创面大小剪除多余的羊膜,羊膜下无积液和积血残留,使羊膜与其下组织紧密贴附。用10-0尼龙缝线将羊膜固定于巩膜及角膜浅层,球结膜下注射庆大霉素20000U+地塞米松2mg。红霉素眼膏点眼,加压包扎,48h后开放用滴眼液点眼。术后抗生素治疗7d。

2 结果

2.1 视力 术后1~3d视力有不同程度下降,3~5d后逐渐提高。1~2周随访1次,3个月后视力恢复稳定,15眼中13眼脱盲,视力>0.1者13眼,1眼视力0.08。

2.2 羊膜情况 15眼中羊膜与角膜结膜愈合,2周后羊膜逐渐变薄吸收,1~2个月后表面为上皮覆盖,表面光滑,荧光染色阴性。

2.3 角膜透明度及新生血管情况 术后7~12d,9眼角膜水肿消退,且见透明,2眼全角膜混浊,3眼形成角膜白斑,1眼失访。15眼中无新生血管者11眼,新生血管<1/4象限者3眼,<1/4者1眼。

2.4 睑球粘连 2眼术后未发生睑球粘连。

3 讨论

眼化学烧伤易造成角膜、结膜水肿和新生血管形成,甚至角膜穿孔,治疗十分困难。McCulley将化学烧伤的临床过程分为烧伤期、急性期(0~7d)、修复早期(1~3周)和修复晚期(3周以上)^[3],烧伤24h内最突出的病理改变是组织缺血水肿和广泛坏死,结膜、角膜缘、虹膜及睫状体等眼前段组织本身活细胞成分全部或大部分消失,代之以大量多形梭细胞的浸润,急性期后伴随缓慢的上皮再生。在伤后7~21d即修复早期,角膜上皮细胞、结膜上皮细胞及基质角膜细胞不断增生,修复损伤的眼球表面组织和角膜基质。严重烧伤的患者,其上皮化的过程极其缓慢,且此期为胶原酶合成高峰,可发生基质溃疡和穿孔。本组病例中恢复透明的9眼均为伤后10d内行羊膜移植术者。伤后2周后手术者3眼形成角膜白斑,提示我们应早期行羊膜移植术,最好不超过伤后2周。如在进入修复期后再行羊膜移植术,血管新生和结缔组织增生,可出现睑球粘连、角膜血管化等并发症。移植羊膜基质可通过抑制蛋白酶促进炎症细胞快速凋亡而缓解炎症反应,同时延长角膜上皮细胞生发寿命,增强基质细胞的黏附,促进上皮细胞分化,防止结膜下纤维组织增生,减少睑球粘连。

羊膜移植虽然在治疗眼化学伤方面疗效显著,但也有一定的局限性。本组患者治疗结果中,有2眼全角膜混浊,说明单纯的羊膜移植对角膜内皮功能受损较轻的Ⅲ度烧伤效果较好,对角膜缘干细胞完全缺乏的重度烧伤效果欠佳。

总之,新鲜羊膜取材十分方便,不需特殊保存设备和技术,有利于临床医师使用。早期羊膜移植治疗严重眼化学烧伤对于重建眼表、保护眼球、减少伤后并发症有积极疗效,但早期羊膜移植术中是否需要同时联合角膜干细胞移植,有待进一步研究。

参考文献

1 Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns [J]. Ophthalmology, 1997, 104: 2068 - 2076
2 全国眼外伤职业眼病学组. 眼部烧伤分度标准[J]. 眼外伤职业眼病杂志, 1983, 5: 63
3 张效房. 眼外伤学[M]. 郑州:河南医科大学出版社, 1997: 594 - 596

(收稿:2008-11-04)

(本文编辑:尹卫靖)

作者单位:518105 深圳市宝安区松岗人民医院眼科
通讯作者:陈振超 (Email: chenzc1999@163.com)