

# 晶状体摘除术中低分子肝素前房灌注对幼年新西兰白兔血-房水屏障的影响

贺永宁<sup>1</sup>, 庞秀琴<sup>2</sup>, 于洁<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(210001)中国江苏省南京市,南京爱尔眼科医院;  
<sup>2</sup>(100730)中国北京市,首都医科大学附属北京同仁医院眼科中心  
作者简介:贺永宁,毕业于首都医科大学北京同仁医院眼科中心,硕士,主治医师,研究方向:眼底病、白内障。  
通讯作者:于洁,博士,副主任医师,研究方向:眼外伤、眼底病。  
yujienuew@gmail.com  
收稿日期:2011-01-20 修回日期:2011-06-03

## Influence of low-molecule-weight heparin in anterior chamber infusion on blood-aqueous barrier during the surgery of extra-capsular lens extraction for infant New Zealand rabbits

Yong-Ning He<sup>1</sup>, Xiu-Qin Pang<sup>2</sup>, Jie Yu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nanjing Aier Eye Hospital, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>Eye Center of Beijing Tongren Hospital of Capital Medical University, Beijing 100730, China

Correspondence to: Jie Yu. Eye Center of Beijing Tongren Hospital of Capital Medical University, Beijing 100730, China. yujienuew@gmail.com

Received: 2011-01-20 Accepted: 2011-06-03

### Abstract

• AIM: To investigate the inhibition of LMWH (low-molecule-weight heparin) added in irrigating solution to fibrin exudation in anterior chamber after the surgery of ECCE (extra-capsular cataract extraction) for infant New Zealand rabbits, and the influence on the blood-aqueous barrier.

• METHODS: Twenty infant rabbits were randomly divided into trial group and control group. ECCE was performed on the right eyes of all rabbits in the two groups, and Linger solution was used as irrigating solution during the surgery. Differently, LMWH—Clexane was added into the irrigating solution in trial group, and the concentration was 6IU/mL, while in control group, only Linger solution was used. Fibrin exudation in anterior chamber, corneal edema and hemorrhage in anterior chamber were observed at the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day after surgery, and the fluorescence concentration in aqueous humor at above time spots was tested.

• RESULTS: At the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> day after surgery, fibrin exudation in trial group was obviously weaker than in control group, and the difference was significant ( $P = 0.001, 0.010$ ). At the 7<sup>th</sup> day after surgery, there was no

significant difference between the two groups, and no fibrin exudation was observed at the 14<sup>th</sup> day after surgery in both groups. Corneal edema was observed in both groups at the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> day, and the difference was not significant ( $P = 0.702$  and  $0.362$ ). Corneal edema disappeared on the 7<sup>th</sup> day in both groups. No hemorrhage was found in two groups at any time. The fluorescence concentration in aqueous humor at any time spot in both trial and control groups was not significantly different ( $P = 0.569, 0.152, 0.696$  and  $0.703$ ).

• CONCLUSION: Six IU/mL LMWH added into the intraocular irrigating solution can safely and effectively inhibit intraocular fibrin exudation and inflammation, and no side-effect was found. But it hasn't direct protection to blood-aqueous barrier of infant rabbit.

• KEYWORDS: low-molecule-weight heparin; blood-aqueous barrier; infant rabbit; protectivon

He YN, Pang XQ, Yu J. Influence of low-molecule-weight heparin in anterior chamber infusion on blood-aqueous barrier during the surgery of extra-capsular lens extraction for infant New Zealand rabbits.

*Guji Yanke Zazhi( Int J Ophthalmol)* 2011;11(7):1144-1146

### 摘要

目的:观察晶状体摘除术中灌注液中加入低分子肝素(LMWH)对幼年新西兰白兔术后早期前房纤维性渗出的抑制作用,了解LMWH对血-房水屏障的影响。

方法:幼年新西兰白兔20只,采用随机数字表法将其随机分成两组,即实验组和对照组,每组10只,实验组在Linger液中加入浓度6IU/mL的LMWH——Clexane(克赛),对照组采用单纯Linger液前房灌注,两组均行右眼透明晶状体囊外摘除,观察术后1,3,7,14d时两组兔前房纤维性渗出、角膜水肿和前房出血情况,并应用分子荧光标准曲线法测定上述时间点的房水荧光素含量。

结果:实验组术后1,3d时前房纤维性渗出明显少于对照组,两组相比差异有统计学意义( $P = 0.001, 0.010$ ),7d时两组前房纤维渗出相比较差异没有统计学意义( $P = 0.078$ ),14d时两组前房渗出均吸收;两组角膜水肿在术后1d和3d相比,差异无统计学意义( $P = 0.702, 0.362$ ),7d时角膜全部透明;术后各时间点两组兔均未观察到前房出血;实验组和对照组在术后各时间点房水荧光素含量差异均无统计学意义( $P = 0.569, 0.152, 0.696, 0.703$ )。

结论:6IU/mL的LMWH前房灌注可以安全有效地抑制术后眼内纤维蛋白渗出和炎症反应,无明显毒副作用,但并不具有对血-房水屏障直接的保护作用。

关键词:低分子肝素;血-房水屏障;幼兔;保护作用

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.07.005

贺永宁, 庞秀琴, 于洁. 晶状体摘除术中低分子肝素前房灌注对幼年新西兰白兔血-房水屏障的影响. 国际眼科杂志 2011; 11(7): 1144-1146

## 0 引言

临床上, 儿童白内障及其他内眼术后前房炎症反应明显重于成人, 往往由于与之相关的纤维素性渗出导致虹膜粘连、角膜损伤、继发青光眼、硅油异位等诸多术后并发症。在不同年龄的新西兰白兔进行的预实验中, 也存在类似的情况。但以往用低分子肝素(LMWH)抑制白内障术后前房纤维素性渗出的研究基本局限于成年兔或人。本实验研究采用 1.5~2 月龄, 体质量 1.2~1.5kg 的幼年新西兰白兔进行晶状体摘除术中 LMWH 前房灌注, 以观察对术后前房纤维素性渗出及炎症反应的抑制作用, 并通过分子荧光标准曲线法定量测定技术观察 LMWH 对血-房水屏障通透性的影响, 此外, 还初步观察了其对角膜的影响和出血的风险性, 以期对减少临床上儿童白内障等内眼手术后并发症提供一定的实验依据和借鉴作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康幼年新西兰大白兔 20 只, 1.5~2 月龄, 体质量 1.2~1.5kg, 雌雄不拘, 均由中国药品生物制品鉴定检验所实验动物中心提供。经裂隙灯和间接检眼镜行双眼前后段检查, 除外眼部疾病。200g/L 荧光素钠注射液(广州白云山明兴制药有限公司生产), LMWH——克赛(法国赛诺菲公司生产), Linger 液(中国大冢制药有限公司生产)。LS55 荧光分子发光光度计, 裂隙灯显微镜。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验分组** 随机数字表法将 20 只幼年新西兰白兔随机分成两组, 每组 10 只, 对照组采用普通 Linger 液前房灌注, 实验组在 Linger 液中加入浓度 6IU/mL 的 LMWH——Clexane(克赛)。

**1.2.2 实验方法** 拔除 20 只幼年新西兰白兔耳缘少许毛发, 750mL/L 医用乙醇消毒, 用 25g/L 戊巴比妥钠, 按 1mL/kg 体质量自耳缘静脉缓慢注射进行麻醉。两组动物均行右眼常规晶状体囊外摘除术(均由手术技术娴熟的同一位副主任医师完成), 术中对照组采用普通 Linger 液前房灌注, 实验组在 Linger 液中加入浓度 6IU/mL 的 LMWH——Clexane(克赛)。两组灌注液中每 500mL 均常规加入妥布霉素 1mL(80mg)、肾上腺素 0.5mL(0.5mg)。分别于术后 1, 3, 7, 14d 自耳缘静脉按 0.15mL/kg 快速注射 200g/L 荧光素钠注射液。观察术后 1, 3, 7, 14d 时两组兔前房渗出、角膜水肿及眼内出血情况, 并采用分子荧光标准曲线法定测定上述时间点的房水荧光素浓度<sup>[1]</sup>。

### 1.2.3 分级标准

**1.2.3.1 纤维渗出分级标准<sup>[2]</sup>** 用裂隙灯观察术后前房纤维蛋白反应, 按渗出程度分为无、轻、中、重、极重度, 分别以 0, 1+, 2+, 3+ 和 4+ 代表。0: 无纤维蛋白渗出; 1+: 前房纤维蛋白渗出呈薄纱状, 或短纤维丝附着于虹膜和瞳孔, 但未形成横跨的桥状粘连; 2+: 纤维蛋白渗出形成中厚膜, 小于覆盖虹膜瞳孔表面的二分之一; 3+: 纤维蛋白渗出形成全厚膜, 或纤维凝块小于前房二分之一; 4+: 纤维凝块大于前房二分之一。

**1.2.3.2 角膜水肿分级标准<sup>[3]</sup>** 根据裂隙灯观察结果, 将术后角膜水肿情况分成 5 级: 0 级为角膜透明无水肿; 1 级为角膜局限性薄雾状水肿, 角膜内皮面光滑, 虹膜纹理尚

表 1 术后各时间点纤维蛋白渗出情况

时间点	组别	前房纤维蛋白渗出分级					P
		0	1+	2+	3+	4+	
术后 1d	实验组	4	4	1	1	0	0.001
	对照组	0	1	1	2	6	
术后 3d	实验组	7	1	1	1	0	0.010
	对照组	1	2	3	3	1	
术后 7d	实验组	8	1	1	0	0	0.078
	对照组	4	3	2	1	0	
术后 14d	实验组	10	0	0	0	0	
	对照组	10	0	0	0	0	

表 2 术后各时间点角膜水肿情况

时间点	组别	角膜水肿分级					P
		0 级	1 级	2 级	3 级	4 级	
术后 1d	实验组	3	6	1	0	0	0.702
	对照组	4	5	1	0	0	
术后 3d	实验组	4	4	2	0	0	0.362
	对照组	6	3	1	0	0	
术后 7d	实验组	10	0	0	0	0	
	对照组	10	0	0	0	0	
术后 14d	实验组	10	0	0	0	0	
	对照组	10	0	0	0	0	

表 3 应用不同灌注液术后各时间点房水荧光素含量

时间点	房水荧光素浓度( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )		t	P
	实验组	对照组		
术后 1d	1586.39 ± 359.81	1664.29 ± 225.54	0.580	0.569
3d	2477.23 ± 628.20	3070.05 ± 1083.22	1.497	0.152
7d	1496.267 ± 666.99	1393.13 ± 480.46	-0.397	0.696
14d	1004.18 ± 330.79	1057.72 ± 284.49	0.388	0.703

清晰可见; 2 级为角膜浅灰色水肿, 角膜内皮面粗糙, 虹膜纹理模糊; 3 级为角膜弥漫性灰白色水肿, 角膜内皮面呈龟裂状, 虹膜纹理不见; 4 级为角膜乳白色水肿, 眼内结构窥不清。

统计学分析: 应用 SPSS 12.0 统计软件对纤维蛋白渗出和角膜水肿情况进行分级后采用两独立样本的秩和检验; 对房水荧光素浓度采用两独立样本的 t 检验, 检验水准为  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

应用两种不同灌注液进行术中眼内灌注, 分别对术后各时间点前房纤维蛋白渗出进行分级。前房纤维素性渗出方面, 术后 1d 和 3d, 两组前房纤维蛋白渗出的差异均具有统计学意义( $P = 0.001$ ,  $P = 0.010$ ), 术后 7d 两组间的差异没有统计学意义( $P = 0.078$ ), 术后 14d 时两组前房纤维素性渗出均全部吸收(表 1)。角膜水肿情况而言, 术后 1d 和 3d 时实验组和对照组的角膜水肿差别没有统计学意义( $P = 0.702$ ,  $P = 0.362$ ), 术后 7d 时所有动物的角膜都恢复透明(表 2)。应用不同灌注液进行眼内灌注, 在术后 1, 3, 7 和 14d 各时间点的房水荧光素浓度分别进行两个独立样本的 t 检验, 结果在各个时间点二者之间的差异均无统计学意义(表 3)。且两组动物在术中和术后都未观察到前房出血。

### 3 讨论

儿童内眼术后前房炎症反应明显重于成人,导致术后病情恢复时间延长,而且由于纤维性渗出造成虹膜粘连、角膜损伤、继发青光眼、硅油异位等诸多并发症,在不同年龄的新西兰白兔进行的实验中,也存在类似的情况。以往的实验和临床研究多局限于成年兔或人,而且 LMWH 对血-房水屏障的影响只是通过裂隙灯等间接手段的观察,并未进行精确的定量研究,本实验不仅观察了灌注液中加入 LMWH 后对幼年兔内眼术后前房纤维渗出抑制的效果和局部反应,而且通过较为精确的方法定量测定 LMWH 对血-房水屏障通透性的影响。

国内外学者应用 LMWH 进行眼内灌注的浓度不尽一致,但多数都采用了 5~10IU/mL 的浓度,5IU/mL 和 10IU/mL 的疗效并没有明显差别,在此浓度范围内没有发现任何毒副作用,不增加眼内出血的危险性<sup>[4-6]</sup>,因此我们在实验中选择了偏低的浓度。采用 6IU/mL 的 LMWH/Linger 液灌注,在术后 3d 内,应用 LMWH 灌注后各时间点的前房纤维性渗出都有不同程度明显减少,差异具有显著的统计学意义( $P < 0.05$ )。术后 7d 时两组前房渗出差异已无统计学意义( $P = 0.078$ ),14d 时两组渗出均吸收,由此可见,LMWH 对术后早期的炎症反应能够起到很好的抑制作用,这对减少由于术后早期大量纤维性渗出带来的继发的血-房水屏障破坏起到了很重要的作用,从而间接地保护了屏障功能,对于减少与之相关的远期术后并发症有一定意义。LMWH 表现出的效应可能是多种机制综合的结果:(1)主要抑制凝血因子 Xa,在早期阶段阻断凝血链式反应的发展,从而使可溶性纤维蛋白原向不溶性纤维蛋白的转变大大减少<sup>[7]</sup>;(2)诱导外周血多形核白细胞的凋亡,抑制补体系统活性和淋巴细胞移行,抑制 L-选择蛋白和 P-选择蛋白,还能够抑制黏附分子活性,减少炎症过程中白细胞附壁,抑制单核细胞和粒细胞活化及其氧化性产物的生成,此外,还可以减少前列腺素 E<sub>2</sub> 的生成,降低细胞和色素颗粒的沉积,此即 LMWH 复杂的抗炎作用机制<sup>[4]</sup>;(3)与多种细胞因子如酸性和碱性成纤维细胞因子、内皮细胞生长因子、肝细胞生长因子等结合,降低这些因子对成纤维细胞生长和增殖的促进作用,此外,还可以抑制胶原的聚合与收缩<sup>[8]</sup>,这一机制在抑制术后纤维膜的形成中可能起到非常重要的作用。

将术后角膜水肿情况进行分级,和对照组相比较,没有统计学差异,且在术后 7d 时,两组所有角膜都恢复透明,在时间上也是同步的,这说明 LMWH 对角膜内皮没有明显的损伤。但由于实验条件所限,未能进行两组之间角膜内皮细胞计数的定量比较,需要在后续的实验中进行补充。另外,在本研究中,实验组也未观察到前房出血,提示

LMWH 并不增加眼内出血的危险性<sup>[9]</sup>。可见,LMWH 可以安全而有效地抑制内眼术后前房纤维性渗出<sup>[10,11]</sup>,减轻术后炎症反应。

有学者曾认为,白内障手术灌注液中加入 LMWH 对血-房水屏障具有保护作用,可以减少屏障功能紊乱<sup>[12]</sup>。然而,本研究中对幼兔术中应用不同灌注液后的房水荧光素含量进行了对比测定,并分别进行统计学处理,结果显示,在术后早期的每个时间点,两组之间并无统计学差异,说明 LMWH 可能并不具备对屏障的保护作用。我们认为,这种所谓的“保护”实际上是由于 LMWH 抑制术后眼内炎症反应和纤维性渗出,从而减少术后炎症对屏障进一步破坏的结果,因此,是一种间接作用,而非其本身具有保护作用。

#### 参考文献

- 1 贺永宁,于洁,庞秀琴,等. 分子荧光标准曲线法对不同龄兔晶状体摘除术后血-房水屏障破坏的动态观测. *眼科* 2008;17(2):116-119
- 2 谢立信,姚瞻,黄钰森,等. 超声乳化白内障吸除术后角膜内皮细胞损伤和修复的研究. *中华眼科杂志* 2004;40(2):90-93
- 3 周朝晖,何守志,梁延杰. 外伤性白内障摘除及人工晶状体植入术后眼内纤维膜形成的实验研究. *实验研究* 1997;15(1):2-4
- 4 Bayramlar H, Totan Y, Borazan M. Heparin in the intraocular irrigating solution in pediatric cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2004;30(10):2163-2169
- 5 Rumelt S, Stolovich C, Segal ZI, et al. Intraoperative enoxaparin minimizes inflammatory reaction after pediatric cataract surgery. *Am J Ophthalmol* 2006;141(3):433-437
- 6 Zarei R, Azimi R, Moghimi S, et al. Inhibition of intraocular fibrin formation after infusion of low-molecular-weight heparin during combined phacoemulsification-trabeculectomy surgery. *J Cataract Refract Surg* 2006;32(11):1921-1925
- 7 赵杰,蔡可丽. 白内障手术对血-房水屏障的影响. *山东大学基础医学院学报* 2004;18(6):377-379
- 8 王方,宋正宇,陶晓峰. 替德肝素抑制冷冻后视网膜色素上皮细胞分泌肝细胞生长因子的研究. *中华眼科杂志* 2005;41(2):106-109
- 9 Ageno W, Cattaneo R, Manfredi E, et al. Parnaparin versus aspirin in the treatment of retinal vein occlusion. A randomized, double blind, controlled study. *Thromb Res* 2010;125(2):137-141
- 10 Dai YH, Xie LX, Wu XG, et al. Experimental study of low molecular weight heparin drug delivery system for prevention of posterior capsular opacification in rabbit eyes. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2009;45(11):1033-1038
- 11 Wilson ME Jr, Trivedi RH. Low molecular-weight heparin in the intraocular irrigating solution in pediatric cataract and intraocular lens surgery. *Am J Ophthalmol* 2006;141(3):537-538
- 12 Kruger A, Amon M, Abela-Formanek C, et al. Effect of heparin in the irrigation solution on postoperative inflammation and cellular reaction on the intraocular lens surface. *J Cataract Refract Surg* 2002;28(1):87-92