

吉西他滨眼内应用抑制兔眼白内障术后 后囊膜混浊的实验研究

刘思伟 马 强

(西安交通大学医学院附属第一医院 710061)

摘要 目的: 研究眼内应用浓度为 5mg/ml 的吉西他滨(GEM)对于后囊膜混浊的抑制作用。方法: 12 只(24 眼)实验动物随机分为 A、B 二组, A 组为治疗组, B 组为对照组。所有的实验动物均进行晶状体囊外摘除+人工晶体植入术。A 组术中应用 5mg/ml 吉西他滨溶液作水分离; B 组术中应用平衡盐溶液作水分离。术后定期观察角膜水肿, 评价 PCO 及进行角膜内皮细胞分析。结果: 术后第 1 天, 第 3 天, 第 7 天两组角膜水肿的例数均无差异。术后第二周, 两组后囊膜发现不同程度混浊, 第四周后囊膜混浊程度分级, 对照组中央后囊明显混浊; 角膜内皮细胞分析显示两组的角膜内皮数量明显低于术前, 比较两组的角膜内皮数量减少量无统计学意义。结论: 实验显示眼内应用 5mg/ml 吉西他滨后囊膜混浊程度较对照组明显轻。尽管眼内应用有导致眼内组织毒性反应的可能性, 但通过用药方法的改进和保护措施的加强是可以有效避免或减轻的, 因此吉西他滨是一种有潜力的预防术后发性白内障的候选药物。

关键词: 后囊膜混浊; 吉西他滨

Experimental Study of Gemcitabine Intraocular Use in Inhibition of Posterior Capsule Opacification

LIU Si-wei, MA Qiang

Department of Ophthalmology, 1st Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi, China

ABSTRACT Objective: To investigate the inhibiting effect of Gemcitabine (GEM) (5 mg/ml) on posterior capsule opacification (PCO). **Methods:** 12 New Zealand rabbits (12 eyes) were randomly divided into treatment group and control group. All the rabbits were given extracapsular cataract extraction (ECCE) and intraocular lens (IOL) implantation. During operation, the treatment group was received hydrodissection by using a solution containing GEM; the control group was given irrigating solution for hydrodissection. In the four-week follow-up after operation, the PCO and the change of cornea and anterior chamber's exudation were observed and compared between the control group and the treatment group. **Results:** At 1st, 3rd, and 7th day after operation, there was no difference in corneal edema between the two groups. PCO appeared in both groups two weeks after operation. Four weeks after operation, the PCO in the eyes of treatment group was markedly lower than that of control group. **Conclusion:** In this study, it shows that using GEM (5 mg/ml), in ECCE and IOL implantation, can effectively reduce PCO, although the intraocular application of GEM could induce drug toxicity to intraocular tissues which can be avoid or relieved by improving medication and enhancing of protective measures. So it should be a safe and effective drug in the prevention of after-cataract.

Key words: Posterior capsule opacification (PCO); Gemcitabine (GEM)

晶状体后囊膜混浊 (posterior capsule opacification PCO) 是现代白内障术后导致视力再度下降的最常见原因之一。成人白内障术后随访 3~5 年, PCO 发生率有 9%~50%¹⁻³; 儿童 PCO 的发生率更高, 超过 95%; 尽管各家数据报道不尽相同, 但 PCO 的发生率随着随访时间延长, 呈上升趋势是一致的¹⁻⁵。目前 Nd:YAG 激光后囊切开术可以较方便地将混浊的后囊打开, 但它并非绝对安全; 术中可能损伤人工晶体, 术后可引起眼压升高、黄斑囊样水肿、视网膜脱离等并发症⁶⁻⁹。而且对于头部不能很好固定和配合的患者 (如幼儿) 则不能使用。研究资料表明, 残留的晶体上皮细胞增殖是形成后囊混浊的主要原因¹¹。对后囊混浊的预防目前尚无一种安全有效的方法, 尽管随着手术技巧和晶体的改进它的发生率已经有所下降, 但许多研究显示其发生率仍然很高。通过药物来抑制 PCO 的发生是很多学者正在研究的问题。本实验的目的在于通过动物实验, 研究晶状体摘除术中眼内应用浓度为 5mg/ml 的吉西他滨 (Gemcitabine GEM) 对于术后 PCO 的抑制作用, 初步评价 GEM 的有效性 & 眼内的应用的安全性。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

作者简介: 刘思伟, 男, (1968-), 主治医师, 医学硕士、在读博士。从事眼科工作。

(收稿日期: 2006-04-10 接受日期: 2006-04-28)

本实验选取出生 3 个月的新西兰白兔作为研究对象, 均为标准实验动物。体重 1.6~1.8kg, 共 12 只 (24 只眼), 随机数字表编号后, 按随机数字由小到大以 1~12 顺序编号, 单数者左眼为 A 组, 右眼为 B 组; 偶数者反之。取 A 组为空白对照组, B 组为药物治疗组。

1.2 实验方法

本实验由具有熟练手术技巧的同一术者完成二组实验动物的手术操作。术前用复方托品酰胺给予充分散瞳。各组动物均按 25mg/kg 氯胺酮联合 10mg/kg 氯丙嗪给予肌肉注射麻醉。按白内障囊外摘除人工晶体植入术手术步骤行结膜、角膜手术切口。环形撕囊时自行设计直径 6mm 撕囊标尺至于角膜中央, 保证撕囊大小的可比性; 实验组用 5mg/ml 吉西他滨 (法国 Lilly France S.A.) 对照组林格液, 总量均 0.1mL, 于环形撕囊后充分水分离, 作用 1 分钟后常规水分层, 娩核, 吸净残余皮质, 囊袋内植入人工晶体。置换前房残余粘弹剂及可能残余的药物, 间断缝合巩膜切口, 结膜下注射庆大霉素 2 万 U 地塞米松 2.5mg。术后典必舒眼水点眼, 第一周, 四次/日; 术后第二周, 三次/日, 后逐周递减。

1.3 术后检查

①裂隙灯检查: 术后第 1 周每日, 后隔日记录角膜水肿及前房渗出变化; 观察后囊膜混浊情况, 评价分级。②角膜内皮细胞分析: 术前 1 日、术后 4 周在表面麻醉下用日本 TOPCON 角膜内皮细胞分析仪对两组术眼行角膜内皮细胞计数分析。

1.4 分级标准

①角膜水肿程度分级: 0 级为角膜透明无水肿; 1 级为角

膜局限性的薄雾状水肿,角膜内皮面光滑,虹膜纹理尚清晰可见;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,虹膜纹理视不清;4级为角膜乳白色水肿,眼内结构视不清^[10]。

②PCO 评级标准:0级:为无混浊;1级:为少量混浊,晶状体后囊膜可见微皱褶或晶状体上皮细胞薄团,未累及中央3mm 光学区;2级:少量混浊,累及中央3mm 光学区范围,晶状体后囊膜可见微皱褶或晶状体上皮细胞薄团;3级:为轻度混浊,晶状体后囊膜可见蜂巢样混浊和较厚的晶状体上皮细胞团或纤维膜;4级:为中度混浊,可见典型的Elschnig 珍珠样小体或致密的纤维膜;5级:为重度混浊,可见致密的Elschnig 珍珠样小体,具有“遮光”效应^[11]。

1.5 统计学方法

采用Mann-Whitney U 校验及方差分析,P<0.05 有统计学意义。

2 结果

2.1 裂隙灯检查

术后一天,治疗组和对照组均有不同程度的角膜水肿,多为云雾状,虹膜纹理尚清晰;上方角膜明显,仅有1例虹膜纹理模糊。术后第3天角膜水肿渐消退;术后第7天,仅有1例术后角膜云雾状混浊,其余均恢复透明,结果记录如表1。Mann-Whitney U 校验,术后第1、3、7天两组间角膜水肿例数比较P均大于0.05,治疗组与对照组术后角膜水肿无统计学差异。

2.2 后囊膜混浊评价

充分散瞳后裂隙灯观察:治疗组和对照组在术后第2周,后囊膜发现点状、线状增殖纤维,纤细、色白;散在分布,稀疏,未侵及中央3mm 范围内光学区;术后第三周,对照组后囊膜中央3mm 范围内光学区发现星片状增殖团,起初色灰白,云雾状,增殖迅速,治疗组变化不明显;第四周时,对照组增殖团范围未见明显扩大,但结构致密,色瓷白,伴有周边条索样增殖纤维,质实,粗大,排列密集;治疗组,纤维样增殖纤维,散在分布,少有成簇样排列情况,增殖缓慢,未见细胞团样增殖。术后第四周,两组后囊膜混浊观察分级,Mann-Whitney U 校验,P<0.05,治疗组和对照组结果有统计学差异。

表1 术后角膜水肿例数

Table 1 Cornea edema cases postoperation

角膜水肿 分级	术后第1天		术后第3天		术后第7天	
	治疗组	对照组	治疗组	对照组	治疗组	对照组
0	5	6	9	10	11	12
1	6	6	2	2	1	0
2	1	0	1	0	0	0
Z	-0.588		0.572		-1.000	
P	0.556		0.568		0.317	

表2 术后4周后囊膜混浊分级

Table 2 4 weeks postoperative PCO degree

PCO 分级	治疗组	对照组	合计
0	0	0	0
1	8	2	10
2	4	4	8
3	0	6	6
合计	12	12	24

2.3 角膜内皮分析

术前1天,术后4周治疗组和对照组角膜内皮细胞计数,发现手术前后角膜内皮均有丢失结果如表3、4;选择方差齐性t 检验,统计结果显示:两组手术前后角膜内皮细胞的数量变化有显著性差异;治疗组与对照组角膜内皮丢失量间比较无

统计学差异(附图1~4)。

表3 手术前后角膜内皮细胞计数表($\bar{x} \pm s$ 个/ mm^2)

Table 3 The count of pre- and postoperation cornea endothelium ($\bar{x} \pm s$ cells/ mm^2)

	术前1天	后4周	t	P
治疗组	3247.58±206.05	2746.66±218.80	8.686	<0.01
对照组	3253.75±180.75	2768.98±133.19	9.631	<0.01

表4 手术前后角膜内皮细胞丢失量($\bar{x} \pm s$ 个/ mm^2)

Table 4 The loss of pre- and postoperation cornea endothelium ($\bar{x} \pm s$ cells/ mm^2)

	治疗组	对照组	t	P
丢失量	500.92±199.78	484.76±174.37	0.22	0.83

讨论

白内障囊外摘除(包括超声乳化摘除)术后或晶体外术后,残留的皮质或晶体上皮细胞增生,形成混浊,称为后发性白内障(after cataract),白内障术后发生的又称后囊膜混浊(posterior capsular opacification PCO)^[1]。晶状体上皮细胞是晶状体中保持增殖与分化能力的成分。白内障囊外摘除术客观上相当于一个创伤,一方面造成晶状体上皮细胞损伤;另一方面残留的晶状体上皮细胞在一些细胞因具有收缩性,引起后囊的皱缩混浊^[2]。其二为晶状体上皮细胞发生纤维化,形成纤维膜,纤维的收缩使后囊形成许多小的皱折,引起视力下降。因此残留的晶体上皮细胞增殖是形成后囊混浊的细胞学基础^[3]。因此术中如何彻底清除残余晶体上皮细胞或使其丧失活力已成为预防后发障的基本途径。应用抗代谢药物抑制PCO 的发生是很多学者正在研究的问题^[4]。抗代谢药物专门以增生活跃的细胞为靶细胞,它能够抑制这些细胞的有丝分裂,并导致细胞的凋亡,这些增生活跃的细胞包括白内障手术后残留的晶状体上皮细胞。

吉西他滨(gemcitabine, GEM), 2, 2'- 双氟胞嘧啶核苷(2, 2'- difluorodeoxycytidine, dFdC)是一个新型的脱氧胞苷类似物和核苷还原酶抑制剂,属嘧啶类抗代谢肿瘤药物^[5]。为核苷同系物,属细胞周期特异性抗肿瘤药。主要杀伤处于S 期(DNA 合成)的细胞,同时也阻断细胞增殖由G1 向S 期过渡的进程。本品在细胞内由核苷激酶代谢成有活性的二磷酸核苷(dFdCDP)和三磷酸核苷(dFdCTP)。其细胞毒活性就来源于这两种核苷抑制DNA 合成的联合作用。二磷酸吉西他滨可抑制核糖核苷酸还原酶,而该酶催化DNA 合成过程中生成三磷酸脱氧核苷的化学反应。从而导致脱氧核苷酸(包括dCTP)的浓度降低,三磷酸吉西他滨可与dCTP 竞争性结合到DNA 上,而细胞中dCTP 浓度的降低(由其二磷酸盐的作用而产生)可促进三磷酸吉西他滨与DNA 的结合,结果一个核苷酸掺入到合成过程中的DNA 链上,从而阻止DNA 的进一步合成。另外,DNA 聚合酶 ϵ 并不能够清除吉西他滨核苷酸和修复合成过程中的该DNA 链。它的结构、性质和代谢途径与阿糖胞苷相似。

与阿糖胞苷等已在临床应用的嘧啶类抗代谢肿瘤药物相比,吉西他滨抗肿瘤活性强,抗癌谱广;具有更高的膜穿透力和酶亲和力;吉西他滨给药后,在细胞内脱氧胞苷激酶的作用下变成活性的吉西他滨三磷酸盐而发挥抗增殖作用,具有单次给药局部作用强而残余药物眼内组织延迟损害轻的特点。

抑制PCO 的理想药物不仅能清除和有效抑制残余晶体上皮细胞的增殖,还应有较低的眼内毒性,以减少眼内组织的损害。所以选择一种既对LECs 特异性杀伤作用,又能减少眼内毒副作用药物是PCO 药物防治中的发展方向。抗代谢药物是一类已被多学科证明了的成熟的抗细胞增殖药物,用作抗LECs 增殖药物,前期基础研究完善;选择安全合理的给药途径,成为评价临床应用可行性的关键因素。目前,一次性给药方式由于其操作的便利性,已广泛用于临床及动物实验中,选择术中给药,可通过清除晶体残余皮质后,直接或混合粘弹剂后注射于囊袋内、直接前房注射,亦有结膜下注射的报道,但

由于药物对眼内其他组织产生毒性,限制它们应用于临床^[14]。因此通过局部给药的方式,使药物仅作用于晶体上皮细胞部位,是解决这一矛盾的有效途径。这不仅可以减少药物总剂量,减轻对眼内组织的损伤,并可提高局部药物的有效浓度,更大的发挥抗晶体细胞增殖的作用。因此实验设计中选择晶体囊袋内给药方式,控制吉西他滨总量在0.1ml以内作用1min,术毕吸除残余粘弹剂后,再行前房灌注,清除可能残余药物,从而降低了损害眼内组织的机会。

本实验首次应用GEM于兔晶状体囊外摘术中水分离时注入囊袋内观察对PCO形成的影响;在PCO分级标准上,在Selman11 5级分级标准基础上,根据中央3光学区是否累及,建立6级分级标准。结果表明,GEM有效抑制术后兔晶状体上皮细胞的增殖,晶体后囊膜混浊程度低于对照组;角膜内皮丢失量,治疗组与对照组无显著差异。初步判定,5mg/ml吉西他滨作用于眼内抑制后发障是安全有效的。但在术中操作时一定要注意:①充分地水分离;只有水分离充分,晶体周边皮质与囊膜彻底分开,才能确保药物作用于囊袋内全部晶体上皮细胞;②严格控制水分离药物容量及作用时间,药量过多会溢出囊袋,导致前房组织损伤;作用有时间依赖性,作用时间过短,达不到治疗作用,时间过长,增加了眼内毒性作用的可能性;③术毕,充分前房灌注,清除残余在囊袋内的药物,防止药物在眼内继发性损害。

本实验研究表明,5mg/ml吉西他滨作用于眼内,能有效抑制PCO的发生,严格控制药物作用时间及给药方式可以减少眼部组织的毒副作用,具有良好临床应用前景。

参考文献

- [1] Apple DJ, et al. Posterior capsule opacification. Surv Ophthalmol. 2000; Vol 45, S100—S130
- [2] Nishi O. Posterior capsule opacification. Part I: experimental investiga-

tions. J Cataract Refract Surg. 1999; 25: 106—117

- [3] Tetz MR, Ningsen C. Posterior capsule opacification. Part 2: clinical findings. J Cataract Refract Surg. 1999; 25: 1662—1674
- [4] Nishi O. Incidence of posterior capsule opacification in eyes with and without posterior chamber intraocular lenses. J Cataract Refract Surg. 1986; 2: 519—522
- [5] Schaumberg DA, Dana MR, Christen WG et al. A systematic overview of the incidence of posterior capsule opacification. Ophthalmology. 1998; 105: 1213—1221
- [6] Holveger R R, Marefat B. Intraocular pressure change after neodymium: YAG capsulotomy. J Cataract Refract Surg. 1997; 23: 115—121
- [7] Hu CY, Wong LC, Wang MC. Change in the area of laser posterior capsulotomy: 3 months follow-up. J Cataract Refract Surg. 2001; 27: 537—42
- [8] Albert DW, Wade EC, Parish RK 2d, et al. A prospective study of angiographic cystoid macular edema one year after Nd: YAG posterior capsulotomy. Ann ophthalmol. 1990; 22: 139—143
- [9] Koch D, Liu J, Gill P et al. Axial myopia increases the risk of retinal complications after neodymium—YAG laser posterior capsulotomy. Arch Ophthalmol. 1989; 107: 986—990
- [10] 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
- [11] 葛坚,赵家良.眼科学.北京:人民卫生出版社,2005:P223
- [12] Hak S, Chung Seung J, Lim, et al. Effect of mitomycin—C on posterior capsule opacification in rabbit eyes. J Cataract Refract Surg. 2000; 26: 1537—1542
- [13] 张彩霞,林能明.吉西他滨药代动力学研究进展.肿瘤学杂志,2004,10(4):271—274
- [14] 王洪涛,施玉瑛.丝裂霉素—C眼内应用抑制后囊膜混浊的实验研究.中国实用眼科杂志,2004,22(5):382—386
- [15] Selman T R et al. Effect of a plano—convex posterior chamber lens on capsular opacification from Elschnig pearl formation. J Cataract Refract Surg. 1998; 14: 68—72

附图

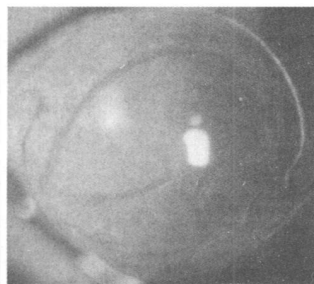


图-1 对照组术后4周:PCO 3级
后囊膜条索样增殖纤维,排列密集、粗大。

Fig 1 Control group postoperative 4 weeks: PCO III, posterior capsul fibro—proliferative.

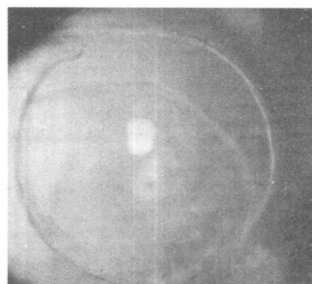


图-2 对照组术后4周:PCO 3级
后囊膜散在片状增殖细胞团,聚集成簇。

Fig 2 Control group postoperative 4 weeks: PCO III, show posterior capsul proliferative cell mass.

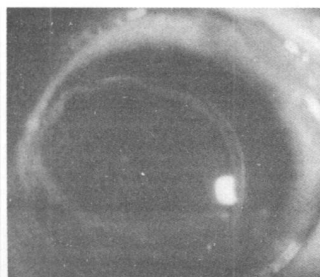


图-3 治疗组术后4周:PCO 2级
中央光学区出现局限性纤维样增殖周边区清亮。

Fig 3 Experimental group postoperation 4 weeks: PCO II, only optic center can see local fibro—proliferation, peripheral area clear.

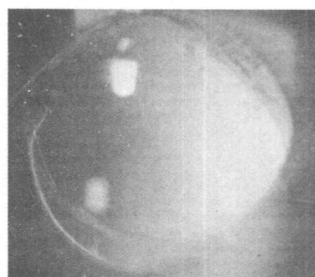


图-4 治疗组术后4周:PCO1级
IOL周边散在分布纤细增殖纤维,中央区清亮。

Fig 4 Experimental group postoperation 4 weeks: PCOI. Around IOL diffused fibro—proliferation, optic center clear.