

Die Wasserstoffionenkonzentration in der Vorderkammer des Kaninchenauges nach experimenteller Verätzung mit Calciumhydroxyd und deren Beeinflussung durch verschiedene Puffersubstanzen

K. FELLER und K. GRAUPNER

Abteilung für Klinische Pharmakologie (Leiter: Prof. Dr. K. FELLER)
des Pharmakologischen Institutes (Direktor: Prof. Dr. W. OELSSNER)
und Klinik für Augenkrankheiten (Direktor: Prof. Dr. F. MÜLLER)
der Medizinischen Akademie „Carl Gustav Carus“ Dresden

Eingegangen am 20. April 1967

Unter den chemischen Schädigungen der Augen haben die durch Laugen (Alkalien) wegen ihrer Häufigkeit besondere Bedeutung (THIEL 42,5% ; NEUMAN 54% ; WAHL 56% ; KRESS 57% und HOLLAND 71,4%).

In einer vorangegangenen Veröffentlichung zeigten wir die Zusammenhänge zwischen Konzentration und Einwirkungszeit bei experimenteller Verätzung mit Säure und Lauge an Hand der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration in der Vorderkammer des Kaninchenauges auf. Die Ergebnisse ließen den Schluß zu, daß bei Verätzungen mit konzentrierten Laugen (0,5—2,0 Val/l) trotz raschen Eingreifens mit schweren Schädigungen gerechnet werden muß.

Im Krankengut unserer Klinik waren in den Jahren 1955—1966 von 136 stationär behandelten Patienten mit Laugenverätzungen 93 (68%) solche, die Weißkalk, gelöschten Kalk oder Mörtel in die Augen bekommen hatten. Als schädigendes Agens ist in diesen Fällen $\text{Ca}(\text{OH})_2$ aufzufassen. Infolge seiner geringen Löslichkeit in Wasser von 0,121% bei 30° C (D'ANS u. LAX), das ist 0,033 Val/l kann $\text{Ca}(\text{OH})_2$ u. E. jedoch nicht als konzentrierte Lauge angesehen werden.

Wir untersuchten daher 1. die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration des Kammerwassers in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit frisch gefällten $\text{Ca}(\text{OH})_2$ und prüften 2. die Wirkung verschiedener Puffersubstanzen auf den pH-Wert in der Vorderkammer des Kaninchenauges nach erfolgter Verätzung.

Methodik

In Versuchen an 58 Kaninchen beiderlei Geschlechts von durchschnittlich 3,9 kg Gewicht, die mit 1,0 g/kg Körpergewicht Äthylurethan (25%ige Lösung) intraperitoneal narkotisiert waren, wurde ca. 1 ml einer $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Aufschwemmung bei geöffneten Lidern und angehobener Nickhaut so in den Bindehautsack instilliert, daß Cornea und Conjunctiva bulbi vollständig bedeckt waren. Die

Aufschwemmung bereiteten wir für jede der insgesamt 8 Versuchsreihen in der von GLASMACHER angegebenen Weise, verwendeten sie aber bereits nach Abkühlung auf 25° C. Von der Herstellung der Aufschwemmung bis zum letzten Versuch in einer der 8 Versuchsreihen vergingen nie mehr als 4 Std.

Nach einer für die jeweiligen Versuchsreihen vorgegebenen Einwirkungszeit erfolgte eine intensive Spülung des Bindehautsackes unter fließendem Wasser (30 sec) mit anschließender Unterspritzung der Bindehaut und Spülung mit isotonischer Kochsalz- bzw. der zu untersuchenden Pufferlösung nach gründlicher mechanischer Reinigung des Bindehautsackes. Die Behandlungsdauer wurde bestimmt durch den Zeitpunkt der Entnahme des Kammerwassers, die in den Versuchsreihen 1, 2,1 sowie 2,2 10 min und in der Versuchsreihe 2,3 20 min nach der Verätzung erfolgte. Nach Abtrocknen der Hornhautoberfläche im Bereich der Einstichstelle entnahmen wir mit einer Präzidenzspritze 0,2 ml Vorderkammerflüssigkeit und stellten innerhalb von 30 sec deren pH-Wert durch Doppelbestimmung mit Hilfe einer Mikro-Astrup-Apparatur (Radiometer, Kopenhagen) fest. Jedes Auge wurde nur einmal punktiert.

Als Pufferlösungen wurden geprüft:

1. Ascorbinsäure in handelsüblicher Ampullenlösung (Ascorvit forte, VEB Jenapharm; pH 6,20).

2. Dinatrium-äthylendiamintetraessigsäure (EDTA-Na₂) (Chelaplex, VEB Berlin-Chemie; pH-Wert der 4%igen Lösung 4,50).

3. Trishydroxymethylaminomethan-Ascorbinat (THAM-Ascorbinat). Zu einer 4%igen THAM-Lösung wurde von einer 6%igen Ascorbinsäurelösung unter ständigem Rühren so viel zugegeben, bis der pH-Wert des Gemisches bei $7,10 \pm 0,02$ lag.

Die statistische Bearbeitung der Ergebnisse erfolgte in der ersten Versuchsreihe (Tabelle 1) mit dem „neuen multiplen range-Test“ von DUNCAN und für die weiteren Versuchsreihen (Tabelle 2) mit einem von LINDER angegebenen Verfahren für die Auswertung von Versuchen in unvollständigen Blöcken.

Ergebnisse

Der Einfluß der Einwirkungszeit von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ auf die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration des Kammerwassers ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1. *pH-Wert der Vorderkammerflüssigkeit von Kaninchenaugen (n) nach Verätzung mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ in Abhängigkeit von der Dauer (t) der Einwirkung*

| | | t (min) | | | | | |
|----|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 0 | 1 | 2,5 | 5 | 10 | 20 |
| pH | \bar{x} | 7,46 | 7,64** | 8,17* | 8,48* | 8,82* | 9,14* |
| | $s_{\bar{x}}$ | $\pm 0,01$ | $\pm 0,09$ | $\pm 0,03$ | $\pm 0,11$ | $\pm 0,06$ | $\pm 0,03$ |
| n | | 5 | 6 | 13 | 3 | 11 | 2 |

Die Wirkung verschiedener Puffersubstanzen auf den pH-Wert der Vorderkammerflüssigkeit wurde nach 2,5 und nach 10 min Verätzung mit Behandlungszeiten von 10 und 20 min geprüft. Die Ergebnisse enthält Tabelle 2.

Tabelle 2. *pH-Werte der Vorderkammerflüssigkeit von Kaninchenaugen nach Verätzung mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$*

Tabelle 2.1

| Dauer der Verätzung (min) | Nach 10 min Behandlung (Unterspritzung und Spülung) mit | | | |
|---------------------------|---|---------------------|---------------|-----------------|
| | isotonischem NaCl | EDTA- Na_2 | Ascorbinsäure | THAM-Ascorbinat |
| 0 | 7,47 | 7,42 | — | 7,49 |
| 2,5 | 8,15* | 7,80 | — | 7,84 |
| 10 | 9,05* | 8,71* | — | 8,25* |

Tabelle 2.2

| Dauer der Verätzung (min) | Nach 10 min Spülung mit EDTA- Na_2 und Unterspritzung mit | | | |
|---------------------------|--|---------------------|---------------|-----------------|
| | isotonischem NaCl | EDTA- Na_2 | Ascorbinsäure | THAM-Ascorbinat |
| 10 | 8,68 | (8,71) | 8,53 | 8,56 |

Tabelle 2.3

| Dauer der Verätzung (min) | Nach 20 min Behandlung (Unterspritzung und Spülung) mit | | | |
|---------------------------|---|---------------------|---------------|-----------------|
| | isotonischem NaCl | EDTA- Na_2 | Ascorbinsäure | THAM-Ascorbinat |
| 2,5 | 8,23 | 7,03* | 8,09 | 7,46* |
| 10 | 8,65* | 7,27* | — | 7,84* |

Alle Zahlen in Tabelle 2 sind Mittelwerte von Versuchen an 4 Augen.

* $P < 0,01$ für alle Differenzen in dieser Zeile.

** $P < 0,05$ für die Differenz zu pH ($t = 0$).

Diskussion

Der pH-Wert des Kammerwassers unbehandelter Kaninchenaugen lag in unseren Versuchen bei $7,46 \pm 0,01$.

Die Temperatur der Hornhautoberfläche des Kaninchens fand MATTHÄUS zwischen $32,3$ und $33,6^\circ \text{C}$. Frisch gefälltes $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ist bei 25°C zu $0,129\%$ und bei 33°C zu $0,116\%$ in Wasser löslich. Damit muß die wirksame Konzentration des Ätzmittels zwischen $0,0348$ und $0,0314 \text{ Val/l}$ liegen.

Bereits bei einer Einwirkungszeit der $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Aufschwemmung von 1 min konnte eine signifikante pH-Änderung ($P < 0,05$) im Kammerwasser nachgewiesen werden. Auf Unterschiede der Änderung des pH-Wertes in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit zu anderen Laugen wird in einer späteren Veröffentlichung eingegangen werden.

Unter den verschiedensten für die Behandlung von Kalkverätzungen verwendeten bzw. empfohlenen Mitteln haben in den letzten Jahren Ascorbinsäure bzw. dessen Natriumsalz und das Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure mehr und mehr Bedeutung erlangt.

KRUEGER prüfte die Wirkung von 5%iger Ascorbinsäure am Kaninchenauge nach experimenteller Kalkverätzung der Hornhaut und konnte feststellen, daß die Neutralisation gemessen an der pH-Änderung in der Vorderkammer ebenso rasch eintrat wie vorher die Alkalisierung. Für die Therapie bei Kalkverätzungen menschlicher Augen verwendete er jedoch Redoxon forte®. STELLAMOR-PESKIR berichtete ebenfalls über die Behandlung von Laugenverätzungen mit Ascorbinsäure, führte sie jedoch auch mit „handelsüblicher (z. B. Redoxon®)“ aus. Da der pH-Wert einer 5%igen Ascorbinsäurelösung bei 2,4 liegt, der der handelsüblichen injizierbaren Lösungen jedoch bei 5,5 bzw. zwischen 5,0 und 6,5 (KERN) liegen soll, dürfte bei gleicher Permeationsgeschwindigkeit das Neutralisationsvermögen der handelsüblichen Lösungen bedeutend geringer als das der reinen Ascorbinsäure sein.

In Untersuchungen über die Verwendung von EDTA-Na₂ zur Behandlung von Kalkverätzungen der Hornhaut wurde seiner Eigenschaft, Ca⁺⁺ in einem wasserlöslichen Komplex zu binden, besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Darauf, daß EDTA-Na₂, dessen 4%ige Lösung einen pH-Wert von $4,53 \pm 0,04$ hatte, zur Neutralisation geeignet ist, haben OKSALA sowie HONEGGER bereits hingewiesen. OKSALA berichtete, daß bei Zugabe einer äquivalenten Menge EDTA-Na₂ zu einer gesättigten Ca(OH)₂-Lösung der pH-Wert von 12,5 auf 6,05 abfällt. THIEL konnte bei vergleichenden Untersuchungen an Kaninchenaugen, die mit NaOH (1 Val/l) verätzt worden waren, jedoch weder mit 1%iger Ascorbinsäure noch mit EDTA-Na₂ (Titriplex III) 1%ig einen befriedigenden Neutralisationseffekt nachweisen.

Das ausgezeichnete Permeationsvermögen von Trishydroxymethylaminomethan (THAM), das sich bei der Behandlung der experimentellen Säureverätzung bereits bewährt hatte (FELLER u. GRAUPNER) sowie das gute Neutralisationsvermögen von Ascorbinsäure veranlaßte uns, als dritte Pufferlösung ein auf einen pH-Wert von $7,10 \pm 0,02$ eingestelltes Gemisch beider zu untersuchen.

Aus den in Tabelle 2 dargestellten Ergebnissen ist zu schließen, daß THAM-Ascorbinat ebenso wenig wie EDTA-Na₂ den pH-Wert des Kammerwassers am nicht geschädigten Auge zu beeinflussen vermag. Ob dabei THAM-Ascorbinat in gleicher Weise wie EDTA-Na₂ das Hornhautepithel nicht durchdringen kann (GRANT, OOSTERHUIS), war mit unserer Versuchsanordnung nicht zu entscheiden.

Nach 2,5 min Verätzung ist bei 10 min Behandlungsdauer zwar ein signifikanter Abfall des pH-Wertes in der Vorderkammer nachweisbar,

es besteht jedoch kein Unterschied zwischen THAM-Ascorbinat und EDTA-Na₂. Nach 20 min Behandlung dagegen liegt die Wasserstoffionenkonzentration des Kammerwassers jener Augen, an denen THAM-Ascorbinat angewendet wurde, im physiologischen Bereich, während EDTA-Na₂ eine Verschiebung über den physiologischen Bereich hinaus zum sauren bedingte.

In den Versuchen mit 10 min Verätzungsdauer ist dieser Unterschied zwischen beiden Pufferlösungen ebenfalls zu sehen. Darüber hinaus fällt auf, daß bei der kürzeren Behandlungsdauer der Effekt von THAM-Ascorbinat signifikant größer als der von EDTA-Na₂ ist. Es kann daher angenommen werden, daß THAM-Ascorbinat schneller als EDTA-Na₂ diffundiert. Trotz 20 min dauernder Behandlung mit einer injizierbaren handelsüblichen Ascorbinsäurelösung ist der pH-Wert der Vorderkammerflüssigkeit nicht wesentlich verschieden von dem des Kontrollversuchs. Das ungenügende Neutralisationsvermögen dieser Ascorbinsäurelösung in der Vorderkammer könnte sowohl durch geringes Permeationsvermögen als auch durch schlechtere Puffereigenschaften bedingt sein.

Da EDTA-Na₂-Lösungen nicht zur Unterspritzung der Bindehaut geeignet sind, jedoch zur Spülung des Auges nach Kalkverätzungen am häufigsten angewendet werden, prüften wir, ob die Unterspritzung mit injizierbaren Ascorbinsäurelösungen einen Einfluß auf den EDTA-Na₂-Effekt hat. Aus Tabelle 2.2 ist zu ersehen, daß die Wirkung der EDTA-Na₂-Spülung durch subconjunctivale Injektion von Ascorbinsäurelösungen und auch von EDTA-Na₂ selbst (Wert aus Tabelle 2.1 in der Klammer) nicht verbessert wird. Dagegen konnte bei der Kombination von Spülung und subconjunctivaler Injektion mit THAM-Ascorbinat der pH-Wert in der Vorderkammer dem physiologischen am besten angenähert werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß THAM-Ascorbinat bei der experimentellen Kalkverätzung des Auges sowohl handelsüblicher injizierbarer Ascorbinsäure als auch EDTA-Na₂ bezüglich der Normalisierung des pH-Wertes in der Vorderkammer überlegen ist, da

1. seine Wirkung im Kammerwasser am raschesten nachweisbar war,
2. ein Absinken des pH-Wertes des Kammerwassers in den sauren Bereich nicht beobachtet werden konnte und
3. es bei subconjunctivaler Injektion reaktionslos vertragen wurde.

Zusammenfassung

Ergänzend zu einer früheren Veröffentlichung wurden die Einwirkungszeit-Beziehungen bei Verätzung mit einer Ca(OH)₂-Aufschwemmung untersucht. Bereits nach 1 min konnte eine signifikante Änderung

des pH-Wertes in der Vorderkammer des Kaninchenauges festgestellt werden.

Von den geprüften Puffersubstanzen Dinatrium-äthylen-diamintetraessigsäure, handelsübliche injizierbare Ascorbinsäure und das ascorbinsaure Salz von Trishydroxymethylaminomethan erwies sich die letztere als für die Wiederherstellung der physiologischen Wasserstoffionenkonzentration in der Vorderkammer am geeignetsten.

Summary

Supplemental to a former publication the consequence was investigated of the time of action from a saturated $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -solution. Within 1 min we determined a significant change of the pH in the anterior chamber of the eye.

About the tested buffering substances dinatrium-ethylen-diamin-tetraacetic acid, an usual in trade solution of ascorbic acid, and the salt from the ascorbic acid with trishydroxymethylaminomethan the latter was the best in restoring the normal hydrogenionconcentration in the anterior chamber of the rabbit.

Frau H. GERICKE sind wir für wertvolle technische Assistenz bei der Durchführung der Versuche zu besonderem Dank verpflichtet.

Literatur

- D'ANS, J., u. E. LAX: Taschenbuch für Chemiker und Physiker. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1949.
- DUNCAN, D. B.: Multiple range and multiple-F-tests. *Biometrics* **11**, 1—42 (1955).
- FELLER, K., u. K. GRAUPNER: Über die Eignung von THAM zur Behandlung der experimentellen Säureverätzung am Kaninchenaug. *Med. Pharmacol. exp.* **14**, 125—128 (1966).
- — Die Wasserstoffionenkonzentration in der Vorderkammer des Kaninchenauges nach experimenteller Verätzung mit Säure und Lauge. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalm.* **170**, 373—376 (1966).
- GLASMACHER, H.: Experimentelle Untersuchungen zur Kalkverätzung der Hornhaut und ihrer Therapie. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalm.* **162**, 493—499 (1960).
- GRANT, W. M.: New treatment for calcific corneal opacities. *Arch. Ophthalm.* **48**, 681—685 (1952).
- HOLLAND, G.: Analyse von 2309 Verletzungen der Augen und Lider. *Klin. Mbl. Augenheilk.* **145**, 915—927 (1964).
- HONEGGER, H.: Experimentelle Untersuchungen zur Spülungsbehandlung frischer Kalkverätzungen mit komplexbildenden Lösungen. *Klin. Mbl. Augenheilk.* **135**, 347—352 (1959).
- KERN, W.: Herstellungsverfahren injizierbarer Ascorbinsäurelösungen. In: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, zweiter Ergänzungsband II, S. 1231. Berlin-Göttigen-Heidelberg: Springer 1958.
- KRESSE, H.: Analyse klinisch behandelter Verätzungen und Verbrennungen der Augen. *Med. Diss. Dresden* 1967.

- KRUEGER, R.: Experimentelle und klinische Beobachtungen zur Behandlung der Alkaliverätzung mit Ascorbinsäure. Ber. dtsh. ophthal. Ges. **62**, 255—258 (1959).
- LINDER, A.: Planen und Auswerten von Versuchen, 2. Aufl. Basel: Birkhäuser 1959.
- MATTHÄUS, W.: Experimentelle Untersuchungen über intraoculare thermische Effekte bei der Kryochirurgie der Netzhaut. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **171**, 162—168 (1966).
- NEUMAN, J.: Die frühzeitige operative Behandlung von Augenverätzungen und ihre experimentellen sowie pathologisch-anatomischen Grundlagen. Klin. oczna **13**, 292—320 (1935).
- OKSALA, A.: Äthylendiamintetraessigsäure in der Behandlung von Verletzungen des Auges durch Kalk. Klin. Mbl. Augenheilk. **125**, 99—102 (1954).
- OOSTERHUIS, J. A.: Treatment of calcium deposits in the cornea by irrigation and by application of EDTA. Ophthalmologica (Basel) **145**, 161—174 (1963).
- STELLAMOER-PESKIR, HELGA: Über die Behandlung der Laugenverätzungen mit Ascorbinsäure. Öst. Ophthal. Ges. Linz 1960, Bd. 5.
- THIEL, H.-L.: Experimentelle und klinische Untersuchungen über Verätzungen der Augen. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **164**, 362—373 (1962).
- WAHL, H.: Erfahrungen mit der konservativen Therapie bei frischen Verätzungen des Auges. Z. ärztl. Fortbild. **50**, 674—677 (1956).

Prof. Dr. med. habil. K. FELLER

Dr. med. K. GRAUPNER

Medizinische Akademie „Carl Gustav Carus“

x 8019 Dresden, Fetscherstr. 74