

동물실험에서 힐론과 히알 2000의 비교

최시환 · 길숙종 · 안승일 · 김기산*

= 요약 =

전안부 수술시 점탄물질로 광범위하게 사용되는 1% 히알우론산나트륨 중 힐론과 최근 국내에서 생산된 히알 2000을 비교하고자 한다. 생후 2개월 된 고양이 20마리를 대상으로 힐론과 히알 2000 0.2ml를 양안에 각각 전방주입 후 전방의 염증반응, 안압, 경면현미경검사를 시행하였고, 8주 후 안구를 적출하여 광학현미경과 주사전자현미경검사를 시행하였다. 토끼 10마리를 대상으로 힐론과 히알 2000 0.2ml를 각막내피세포에 도포하고 0.5mM H₂O₂가 포함된 GBR 용액을 관류한 후 각막부종률을 계산하였다. 전방의 염증반응은 힐론과 히알 2000 모두에서 전방주입 2일 후 소실되었고, 안압은 전방주입 6시간 후 힐론주입안에서 20.5mmHg, 히알 2000 주입안에서 19.45mmHg로 상승하였으나 24시간 후 14.00mmHg, 15.94mmHg로 정상화되었으며 힐론과 히알 2000 주입안 사이에 유의한 차이는 없었다. 각막내피세포수도 1일 후 힐론 주입안에서 4956cells/mm², 히알 2000 주입안에서 5021cells/mm²를 보였고 1주일 후 각각 4827cells/mm², 4810cells/mm²을 보여 차이가 없었다. 광학현미경 및 주사전자현미경소견에서도 힐론과 히알 2000에서 조직학적인 이상소견은 관찰되지 않았다. 각막부종률은 힐론을 도포한 경우에는 15.85μm/hr, 히알 2000을 도포한 경우에는 12.72μm/hr이었으며 대조군의 69.29μm/hr, 67.51μm/hr의 부종률에 비해 통계학적으로 의미있는 차이가 있었다. 힐론이나 히알 2000을 전방주입했을 때 임상양상은 차이가 없었고 조직학적으로도 정상소견을 보였다. 관류실험에서도 히알 2000이 힐론과 유사한 각막부종 억제효과가 있었다(한안지 39:2612~2621, 1998).

= Abstract =

Comparative Animal Study of Healon and Hyal 2000

<접수일 : 1998년 7월 2일, 심사통과일 : 1998년 8월 31일>

충남대학교 의과대학 안과학교실

Department of Ophthalmology, College of Medicine, Chungnam National University
#640 Taesa-dong, Jung-Ku, Taejon, 301-721, Korea
Fax : 82-42-255-3745, Tel : 82-42-220-7609

계명대학교 의과대학 안과학교실*

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea*

* 본 논문은 LG화학의 연구비 보조를 받았음.

* 본 논문의 요지는 1998년 제 80차 대한안과학회 춘계학술대회에서 구연 발표되었음.

Si-Hwan Choi, M.D., Sook-Jong Kil, M.D.,
Seung-Il Ahn, M.D., Ki-San Kim, M.D.*

We compared Healon® which is widely used as a viscoelastic with Hyal 2000®, recently produced in Korea. We evaluated anterior chamber reaction, intraocular pressure, and specular microscopy after injection of 0.2ml Healon and Hyal 2000, respectively, into anterior chamber of 20 cats, and performed light microscopy and scanning electron microscopy 8 weeks later. We calculated the corneal swelling rate after 0.2ml Healon and Hyal 2000 were coated on the corneal endothelium of 10 rabbits and GBR solution with 0.5mM H₂O₂ was perfused. Anterior chamber reaction disappeared after 2 days of injections, and intraocular pressure(IOP) increased after 6 hours of injection but normalized after 24 hours in both 2 groups. Corneal endothelial cell count was 4956cells/mm² in the Healon group and 5021cells/mm² in the Hyal 2000 group on the first post-injection day, and 4827cells/mm² and 4810cells/mm², 1 week later, without a statistical difference. The histologic abnormality was not detectable in light microscopy or scanning electron microscopy in both groups. The corneal swelling rate with Healon was 15.85 μm/hr and 12.72μm/hr with Hyal 2000, while it increased to 69.29μm/hr and 67.51μm/hr in controls($p<0.05$), respectively.

The clinical findings showed no difference and histologic findings appeared normal in both the Healon and the Hyal 2000 groups. The inhibitory effect on the corneal swelling was similar during in vitro perfusion in both groups(J Korean Ophthalmol Soc 39:2612~2621, 1998).

Key Words : Corneal endothelial cell, Healon, Hyal 2000, Intraocular pressure

백내장수술, 전총각막이식술을 비롯한 안내수술 시 각막내피세포를 보호하기 위해 전방내에서 과도한 조작을 피하거나 점탄물질을 전방에 주입하여 각막내피세포의 손상을 줄일 수 있다. 1977년 히알우론산나트륨을 토끼에서 인공수정체삽입술 시 점탄물질로써 처음 사용한 이후 농도, 분자량, 점도, 가소성 등이 다른 여러 점탄물질들이 수술 중 전방깊이를 유지하고 인공수정체삽입을 용이하게 하며 각막내피세포를 보호할 목적으로 사용되고 있다^{1,2)}. 점탄물질로는 히알우론산나트륨, hydroxypropylmethylcellulose, chondroitin sulfate, polyacrylamide, collagen, cellulose 등이 사용되고 있다²⁾. 히알우론산나트륨 제제중에서 힐론(Pharmacia AB and Upjohn, Uppsala, Sweden)이 국내에서 가장 널리 사용되고 있으며 최근 국내 엘지화학에서 히알 2000

을 개발하여 시판하고 있다. 히알 2000은 힐론과 같이 1% 히알우론산나트륨 제제이지만 힐론이 닦벼슬에서 추출된 것과는 달리 히알 2000은 Streptococcus zooepidemicus를 배양하여 만들 어진다. 저자들은 힐론과 히알 2000을 고양이의 전방에 주입하고 염증반응 및 안압의 변화, 각막내피세포수의 변화, 광학현미경 및 주사전자현미경검사를 시행하여 조직학적 변화를 비교하고, 토끼의 각막내피에 힐론과 히알 2000을 도포한 후 관류실험³⁾을 시행하여 각막부종률을 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

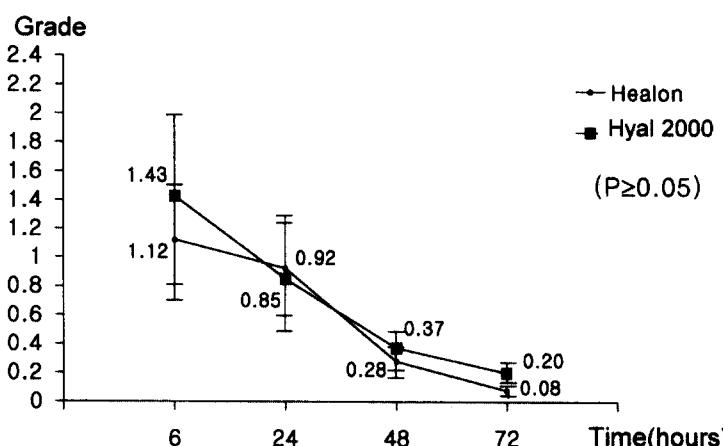
안질환이 없는 생후 2개월된 고양이 20마리를 ketamine hydrochloride(20mg/kg)와 xylazine

(4mg/kg)을 근육주사하여 마취하고 좌안에는 힐론 0.2ml를 우안에는 동량의 히알 2000을 전방천자 후 전방내에 주입하였다. 수술전에 경면현미경검사(Noncon ROBO-CA, Konan, Japan)를 시행하여 각막내피세포수를 측정하였으며 손가락으로 안검을 벌려 안구를 압박하지 않은 상태에서 tonopen(Tono-Pen XL, Mentor, U.S.A.)으로 안압을 측정하였다. 전방의 염증반응과 안압은 전방주입 후 6, 24, 48, 72시간에 측정하였고 염증반응 정도는 3mm 길이와 1mm 폭의 세극등현미경(Haag-Streit Bern, Swiss) 불빛으로 전방내세포수를 측정하여, 세포가 없는 경우 0, 5-10개인 경우 1+, 10-20은 2+, 20-50은 3+, 50개 이상인 경우는 4+로 결정하였고⁴⁾, 전방주입 후 1일과 7일에 경면현미경검사를 시행하여 각막내피세포수를 측정하였으며 paired t-test로 통계처리하였다. 전방주입 후 8주에 안구를 적출하여 10% formaldehyde로 고정한 후 광학현미경검사를 시행하였고 2.5% glutaraldehyde로 고정한 후 주사전자현미경으로 각막내피세포를 관찰하였다. 성숙한 토끼 10마리를 대상으로 실험적 경면현미경에 토끼의 각막을 고정하여 인공전방을 형성한 후 GBR(glutathione bicarbonate Ringer's) 용액으로 1시간 동안 각막내피세포를 관류하여 안정된 각막두께를 유지한 후에, 실험군에는 힐론 또는 히알 2000 0.2ml를 각막내피세포에 도포한 후 0.5mM H₂O₂가 포함된 GBR 용액으로 관류하였고 대조군에는 힐론이나 히알 2000을 도포하

지 않고 0.5mM H₂O₂가 포함된 GBR 용액으로 관류하였다. 약 2시간에 걸쳐서 관류하는 동안 매 15분마다 각막두께를 측정하여 각막부종률을 계산하였다.

결 과

힐론과 히알 2000을 고양이의 전방에 주입한 6시간 후와 24시간 후에 경도의 염증반응이 있었지만 48시간 후에 전방의 염증반응은 거의 사라졌고 경과관찰기간 동안에 힐론과 히알 2000 사이에 차이가 없었다(Fig. 1). 안압변화는 전방주입 6시간 후 힐론 주입안에서 20.50mmHg, 히알 2000 주입 안에서 19.45mmHg로 상승하였으나 24시간 후 14.00mmHg, 15.94mmHg로 감소하여 정상화되었으며 양군간에 통계학적으로 의미있는 차이는 없었다(Fig. 2). 경면현미경으로 측정된 각막내피세포수는 주입전 힐론안에서 4991cells/mm², 히알 2000안에서 4984cells/mm²로 차이가 없었고, 전방주입 후 1일, 7일에 측정된 각막내피세포수도 힐론과 히알 2000 사이에 차이가 없었으며 점탄물질 주입전과도 의미있는 차이가 없었다(Fig. 3). 전방주입 8주 후에 시행된 광학현미경검사에서 힐론과 히알 2000안 모두에서 각막내피세포나 실질에 특별한 이상소견은 관찰되지 않았으며(Fig. 4), 주사전자현미경검사에서도 각막내피세포 크기나 형태에 이상소견은 관찰되지 않았고 힐론과 히알 2000 모두에서 정상 각막내피세포 소견을 보였다



(P≥0.05) Fig. 1. The grades of mean anterior chamber cell reaction after injection with Healon or Hyal 2000

— 최시환 외 : 힐론과 히알 2000의 비교 —

(Fig. 5). 관류실험에서 힐론을 도포하고 0.5mM H₂O₂가 포함된 GBR 용액으로 관류한 경우에 각막부종률은 15.85μm/hr, 히알 2000을 도포한 경우에는 12.72μm/hr를 보였으나, 힐론이나 히알 2000을 도포하지 않은 경우에 각막부종률은 69.29μm/hr와 67.51μm/hr를 보여 통계학적으로 의미있는 차이가 있었다(Fig. 6, 7).

고 찰

히알우론산나트륨은 모든 척추동물의 결합조직에 존재하는 뮤코다당류로 눈에서는 유리체와 섬유주의 결합조직에 다량 존재하고 방수에서도 소량 발견되며, 안과 영역에서 점탄물질로써 광범위

하게 사용되고 있다². 히알우론산나트륨 제제 중 힐론은 닭벼슬의 진피층에서 추출되고 히알 2000은 Streptococcus zooepidemicus를 발효시켜 제조되는 차이가 있지만, 두 점탄물질 모두 고도로 정제된 1% 히알우론산나트륨이며 분자량, 수소이온농도, 점도 등 물리화학적인 성질은 유사하다(Table 1). 그러나 유전공학적으로 제조된 히알 2000은 불순물만을 선택적으로 흡착시키는 침전공정으로 정제되어 정제기간이 짧으며 생산성이 높고 원가를 낮출 수 있는 장점이 있다.

성분과 물리화학적 특성에 따라 장·단점이 다른 모든 점탄물질은 임상에서 사용했을 경우 부작용을 일으킬 수 있다. 전방에 주입된 점탄물질은 경도의 염증반응 및 안압상승을 일으킬 수 있는데

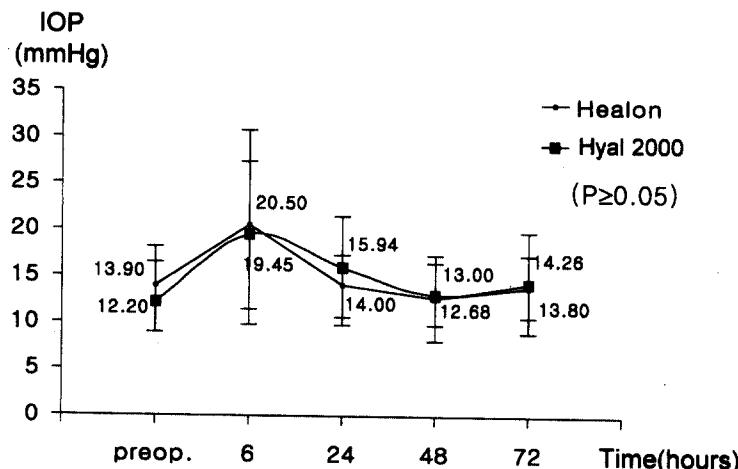


Fig. 2. Mean intraocular pressure after injection of Healon or Hyal 2000

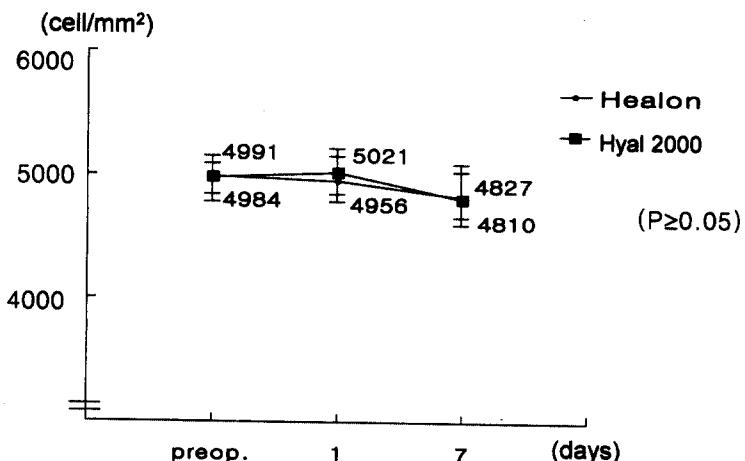


Fig. 3. Mean cell counts of corneal endothelium after injection with Healon or Hyal 2000

Glasser 등은 고양이실험에서 전방주입후 1일과 2일에 경도의 염증반응이 나타났고 염증반응은 정제의 불완전이나 항원성, 화학적 구성성분 등이 원인으로 생각되나 명확하지 않으며, 전방세척과 염증반응 사이에 상관관계가 없다고 보고하고 있다⁵⁾. 또한 전방의 염증반응은 각막내피세포의 폼프작용을 감소시키고 투과성을 증가시켜 경도의 각막부종을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다⁶⁾. 본 연

구에서도 힐론과 히알 2000을 고양이 전방에 주입한 후 경도의 염증반응이 24시간까지 나타났고 48시간 후에는 거의 사라져 과거의 보고와 유사하였으며 힐론과 히알 2000 사이에 차이가 없었다.

점탄물질 사용 후 안압상승은 널리 알려진 합병증으로 안압상승의 정도나 최고로 상승하는 시간 및 정상으로 될 때까지의 시간에 대해서는 다양한 결과들을 보고하고 있다⁷⁻¹¹⁾. 안구내에 주입된 점

Fig. 4. Light microscopic pictures of cornea exposed to either Healon or Hyal 2000. A indicates Healon injected cornea and B indicates Hyal 2000 injected one. The normal stromal and endothelial patterns are maintained ($\times 100$).

Table 1. Physicochemical properties of the Healon and Hyal 2000

	Healon	Hyal 2000
Content	1% sodium hyaluronate	1% sodium hyaluronate
Source	Rooster combs	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>
Method	extraction	fermentation
Molecular weight (kDalton)	3500-4500	3500-4500
pH	7.0-7.5	6.3-8.3
Intrinsic viscosity (dl/g)	30-55	30-55

Fig. 5. Scanning electron microscopic pictures of corneal endothelium exposed to either Healon or Hyal 2000. A indicates Healon injected cornea and B indicates Hyal 2000 injected one. Both corneal endothelium appear to be normal size and shape of cells($\times 1300$).

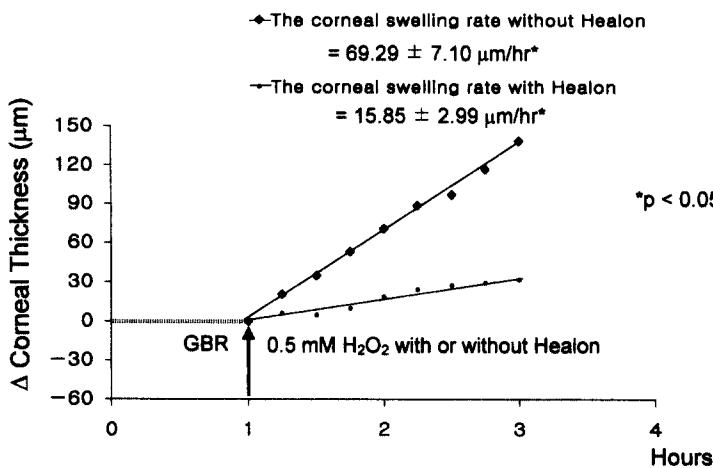
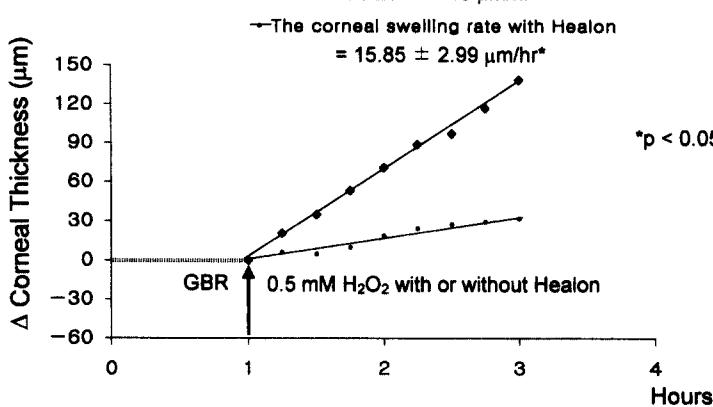


Fig. 6. Corneal thickness changes during perfusion with 0.5 mM H_2O_2 according to endothelial coating with Healon



탄물질은 변화되지 않은 상태로 섬유주를 통해 배출되며 점도, 분자량, chain의 길이, 경도, 이온화형태 등이 변수로 작용한다^{2,7)}. Berson 등은 사람적출안에 대한 연구에서 히알우론산나트륨이

방수유출률을 65% 감소시키며 전방세척으로 폐쇄를 정상화시킬 수 없다고 보고하였다⁷⁾. 토끼와 원숭이 실험에서 전방주입 후 4시간에서 7시간 사이에 안압이 최고로 상승하며 대부분 24시간에

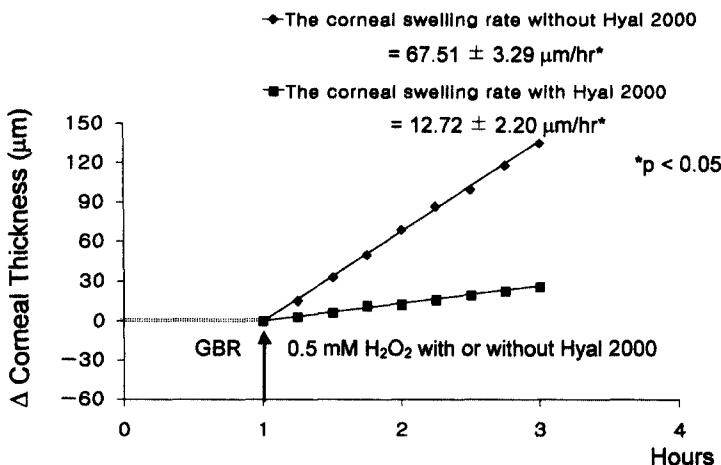


Fig. 7. Corneal thickness changes during perfusion with 0.5 mM H_2O_2 according to endothelial coating with Hyal 2000

정상화되는 것으로 발표하였고^{12,13)}, 성숙한 고양 이를 대상으로 한 실험에서는 전방주입 2시간 후에 최고로 상승하여 8시간에서 24시간 사이에 정상화되었다⁵⁾. 본 연구에서는 힐론과 히알 2000 모두에서 전방주입 6시간 후에 상승이 있었으며 24시간 후 수술전 상태로 정상화 되었으며 두 군간에 차이가 없었다. 결국 수술 후 초기에 일시적인 안압상승이 나타나므로 수술 후 4시간에서 7시간사이에 안압을 측정하는 것이 중요하며 필요하다면 적절한 치료로 안압상승으로 인한 후유증을 최소화할 수 있으리라 생각된다.

전안부 수술시 1% 히알우론산나트륨이 각막내피세포를 보호하는 효과에 대해서는 다양한 보고들이 있어 왔다^{1,10,11,14-30)}. Fechner와 Fechner는 독성이 없는 모든 점탄물질은 각막내피세포를 보호한다고 보고하였지만³¹⁾, Hoffer와 Bourne 등은 수정체유화술이나 수정체낭외적출술후 후방인 공수정체를 삽입했을 경우 힐론이 각막내피세포 손실을 줄인다는 명백한 증거는 밝힐 수 없다고 하였다^{32,33)}. Glasser 등은 1% 히알우론산나트륨 제제인 힐론과 AmVisc, 3% 히알우론산나트륨과 4% chondroitin sulfate로 구성된 Viscoat, 2% methylcellulose 0.2ml씩을 토끼의 각막내피세포에 도포한 후 인공수정체광학부로 각막내피세포를 문질러 손상을 유발한 경우 4가지 점탄물질 모두에서 각막내피세포를 보호하는 효과가 있다고 하였고, 4가지 점탄물질 0.4ml를 고양이 전방에

각각 주입한 경우 각막내피세포밀도 및 형태에 영향을 주지 않았다고 보고하였다⁵⁾. Gerding 등도 개의 전방에 히알우론산나트륨을 주입하여 같은 결과를 얻었다³⁴⁾. Bahn 등은 성숙한 고양이의 전방에 힐론을 주입한 후 30일 후 측정한 각막내피세포 수를 2535cells/mm²로 보고하면서 술전에 측정된 2425cells/mm²나 BSS(balanced salt solution)를 주입하고 30일 후에 측정된 2507cells/mm²와 차이가 없다고 하였다³⁵⁾. 또한 인공수정체에 힐론을 바르고 고양이의 각막내피에 인위적인 손상을 주었을 때, 4주 후 각막내피세포수가 10% 감소한데 비하여 힐론을 바르지 않은 경우에는 49%의 각막내피세포가 손상을 받아 유의한 차이가 있다고 하였다³⁵⁾. Alpar는 고양이 전방에 힐론을 주입한 후 초음파유화술 및 인공수정체삽입술을 시행했을 때 BSS를 사용한 경우보다 각막내피세포 손상이 50% 적게 나타났고 각막두께의 증가도 작았다고 보고하였고³⁶⁾, MacRae 등은 2배의 BSS와 희석한 1% 히알우론산나트륨, 0.4% methylcellulose, 10% chondroitin sulfate를 토끼각막에 관류했을 때 각막두께의 변화가 없었으며 전자현미경검사에서도 이상소견은 없었다고 보고하였다⁹⁾. 본 연구에서도 전방주입한 힐론과 히알 2000이 각막내피세포 수에 영향을 주지 않았으며 광학현미경이나 주사전자현미경 소견에서도 각막내피세포의 형태변화는 없었다. 또한 힐론과 히알 2000을 비교했을 때 차이점은 발견되지

않았다. 각막내피세포의 형태변화는 각막내피세포가 손상받았다는 명백한 지침이 되므로³⁷⁻³⁹⁾ 전방주입한 힐론과 히알 2000이 내피세포의 형태변화를 일으키지 않았다는 점은 두 점탄물질이 각막내피세포에 무해하다고 할 수 있겠다. 본 연구에서 고양이를 실험동물로 택한 이유는 각막내피세포 손상이 있는 경우에도 세포분열보다는 비후와 남아 있는 세포들이 미끄러지면서(sliding) 창상치유가 되므로, 힐론이나 히알 2000에 의한 각막내피세포 손상을 정확하게 관찰하기 위해서 였다^{40,41)}.

Artola 등은 힐론과 hydroxymethylcellulose를 토끼의 전방에 주입하고 세척한 후 강력한 유리기로 인해 빠른 각막부종을 유발할 수 있는 1mM, 10mM, 100mM H₂O₂를 주입하고 각막내피세포 손상을 관찰하였다. 점탄물질을 사용하지 않고 H₂O₂를 주입한 경우는 농도의 증가에 따른 각막내피세포의 심한 손상 및 부종이 나타났으나 점탄물질을 사용한 경우에는 통계학적으로 의미있게 각막내피세포 손상이 적게 나타나 힐론과 hydroxymethylcellulose가 유리기로부터 각막내피세포를 보호하는 효과가 있다고 보고하였다⁴²⁾. 저자들의 경우에도 힐론과 히알 2000을 각막내피세포에 도포하고 0.5mM H₂O₂가 포함된 GBR 용액으로 관류했을 때 각막부종 억제 효과가 있었다.

결론적으로 힐론과 히알 2000을 고양이의 전방에 주입한 경우 경도의 염증반응이 있었지만 48시간 후에 거의 사라졌고, 6시간 후 안압의 상승이 있었으나 24시간 후에는 정상화 되었다. 또한 각막내피세포의 수나 조직학적 소견에서도 이상이 발견되지 않았으며, 힐론과 히알 2000 사이에도 특이한 차이점은 없었다. 토끼 각막으로 시행한 관류실험에서도 두 점탄물질이 유사한 각막부종 억제효과가 있었다.

REFERENCES

- 1) Miller D, O'Connor P, Williams J : Use of sodium hyaluronate during intraocular lens implantation in rabbits. *Ophthalmic Surg* 8: 58-61, 1977.
- 2) Liesegang TJ : Viscoelastic substances in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 34:268-293, 1990.
- 3) McCarey BE, Edelhauser HF, Van Horn DL : Functional and structural changes in the corneal endothelium during in vitro perfusion. *Invest Ophthalmol* 12:410-417, 1973.
- 4) Kimura SJ, Thygeson P, Hogan MJ : Signs and symptoms of uveitis. I. Anterior uveitis. *Am J Ophthalmol* 47:171-176, 1959.
- 5) Glasser DB, Matsuda M, Edelhauser HF : A comparison of the efficacy and toxicity of and intraocular pressure response to viscous solution in the anterior chamber. *Arch Ophthalmol* 104:1819-1824, 1986.
- 6) MacDonald JM, Geroski DH, Edelhauser HF : Pump site density of corneal endothelium during intraocular inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27(suppl):174, 1985.
- 7) Berson FG, Patterson MM, Epstein DL : Obstruction of aqueous outflow by sodium hyaluronate in enucleated human eyes. *Am J Ophthalmol* 95:668-672, 1983.
- 8) Alpar JJ, Alpar AJ, Baca J, Chapman D : Comparison of Healon and Viscoat in cataract extraction and intraocular lens implantation. *Ophthalmic Surg* 19:636-642, 1988.
- 9) MacRae SM, Edelhauser HF, Hyndiuk RA, Burd EM, Schultz RO : The effects of sodium hyaluronate, chondroitin sulfate, and methylcellulose on the corneal endothelium and intraocular pressure. *Am J Ophthalmol* 95: 332-341, 1983.
- 10) Roberts B, Peiffer RL Jr : Experimental evaluation of synthetic viscoelastic material on intraocular pressure and corneal endothelium. *J Cataract Refract Surg* 15:321-326, 1989.
- 11) Colin J, Renard G, Ullern M, Lablache CM, Richard C, Trinquand C : Comparative prospective study of effects of Biovisc and Healonid on endothelial cell loss and intraocular pressure in cataract surgery. *J Fr Ophthalmol* 18:356-363, 1995.
- 12) Glaue EL, Polack FM, Balazs EA : The protective effect of Na-hyaluronate to corneal endothelium. *Exp Eye Res* 31:119-127, 1980.
- 13) Schubert HD, Denlinger JL, Balazs EA : Exogenous Na-hyaluronate in the anterior chamber of the owl monkey and its effect on

- the intraocular pressure. *Exp Eye Res* 39:137-152, 1984.
- 14) Holmberg AS, Philipson BT : Sodium hyaluronate in cataract surgery: I. Report on the use of Healon in two different types of intracapsular cataract surgery. *Ophthalmology* 91:45-52, 1984.
- 15) Holmberg AS, Philipson BT : Sodium hyaluronate in cataract surgery: II. Report on the use of Healon in two different types of extracapsular cataract surgery using phacoemulsification. *Ophthalmology* 91:53-59, 1984.
- 16) Pape LG, Balazs EA : The use of sodium hyaluronate(Healon) in human anterior segment surgery. *Ophthalmology* 87:699-705, 1980.
- 17) Pape LG : Intracapsular and extracapsular technique of lens implantation with Healon. *J Am Intraocul Implant Soc* 6:342-343, 1980.
- 18) Miller D, Stegmann R : Use of sodium hyaluronate in human IOL implantation. *Ann Ophthalmol* 13:811-815, 1981.
- 19) Percival P : Protective role of Healon during lens implantation. *Trans Ophthalmol Soc UK* 101:77-78, 1981.
- 20) Perritt RA : The use of Healon in anterior chamber lens implantation. *J Am Intraocul Implant Soc* 8:55-58, 1982.
- 21) Choyce DP : Healon in anterior chamber lens implantation. *J Am Intraocul Implant Soc* 7: 138-139, 1981.
- 22) Lazenby GW, Broocker G : The use of sodium hyaluronate(Healon) in intracapsular cataract extraction with insertion of anterior chamber lenses. *Ophthalmic Surg* 12:646-649, 1981.
- 23) Miller D, Stegmann R : Secondary intraocular lens implantation using sodium hyaluronate. *Ann Ophthalmol* 14:621-623, 1982.
- 24) Stegmann R, Miller D : Extracapsular cataract extraction with sodium hyaluronate. *Ann Ophthalmol* 14:813-815, 1982.
- 25) Kerr Muir MG, Sherrard ES, Andrew V, Steele AD : Air, methylcellulose, sodium hyaluronate and corneal endothelium: endothelial protective agents. *Eye* 1:480-486, 1987.
- 26) Harich I, B ohnke M, Draeger J : Endothelium protective effect of the high viscosity substances hyaluronic acid and methylcellulose in mechanical damage. *Fortschr Ophthalmol* 87:475-478, 1990.
- 27) Glasser DB, Osborn DC, Nordeen JF, Min YI : Endothelial protection and viscoelastic retention during phacoemulsification and intraocular lens implantation. *Arch Ophthalmol* 109: 1438-1440, 1991.
- 28) Monson MC, Tamura M, Mamalis N, Olson RJ, Olson RJ : Protective effects of Healon and Occucoat against air bubble endothelial damage during ultrasonic agitation of the anterior chamber. *J Cataract Refract Surg* 17: 613-616, 1991.
- 29) Guthoff R, Wendl U, B ohnke M, Winter R : Endothelial cell protective effect of high viscosity substances in cataract surgery. *Ophthalmology* 89:310-312, 1992.
- 30) Miyauchi S, Horie K, Morita M, Nagahara M, Shimizu K : Protective efficacy of sodium hyaluronate on the corneal endothelium against the damage induced by sonication. *J Ocul Pharmacol Ther* 12:27-34, 1996.
- 31) Fechner PU, Fechner MU : Methylcellulose and lens implantation. *Br J Ophthalmol* 67: 259-263, 1983.
- 32) Hoffer KJ : Effects of extracapsular implant techniques on endothelial density. *Arch Ophthalmol* 100:791-792, 1982.
- 33) Bourne WM, Liesegang TJ, Waller RR : The effect of sodium hyaluronate on endothelial cell damage during extracapsular cataract extraction and posterior chamber lens implantation. *Am J Ophthalmol* 98:759-762, 1984.
- 34) Gerding PA, McLaughlin SA, Brightman AH, Essex-Sorlie D, Laing RA, Hirokawa K : Effects of intracameral injection of viscoelastic solutions on corneal endothelium in dogs. *Am J Vet Res* 51:1086-1088, 1990.
- 35) Bahn CF, Grosserode R, Musch DC, Feder J, Meyer RF, MacCallum DK, Lillie JH, Rich NM : Effect of 1% sodium hyaluronate (Healon) on a nonregenerating(Feline) corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 1485-1494, 1986.
- 36) Alpar JJ : Use of Healon in different cataract surgery technique: endothelial cell count study. *Ophthalmic Surg* 18:529-31, 1987.
- 37) Rao GN, Aquavella JV, Goldberg SH, Berk SL : Pseudophakic bullous keratopathy.

- Relationship to preoperative corneal endothelial status. *Ophthalmology* 91:1135-1140, 1984.
- 38) Schultz RO, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF, Schultz KJ : Corneal endothelial change in type I and type II diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol* 98:401-410, 1984.
- 39) Glasser DB, Matsuda M, Ellis JG, Edelhauser HF : Effects of intraocular irrigation solutions on the corneal endothelium after in vivo anterior chamber irrigation. *Am J Ophthalmol* 99:321-328, 1985.
- 40) Kaufman HE, Capella JA, Robbins JE : The human corneal endothelium. *Am J Ophthalmol* 61:835-841, 1966.
- 41) Van Horn DL, Sendele DD, Seidman S, Buco PJ : Regenerative capacity of the corneal endothelium in rabbit and cat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16:597-613, 1977.
- 42) Artola A, Alio JL, Bellot JL, Ruiz JM : Protective properties of viscoelastic substances(sodium hyaluronate and 2% hydroxymethylcellulose) against experimental free radical damage to the corneal endothelium. *Cornea* 12:109-114, 1993.