

灯盏细辛对兔高眼压视网膜神经节细胞活性的作用

项敏泓 钟一声 张兴儒

Effect of Erigeron Breviscapus (Vant.) Hand-Mazz on the activity of retinal ganglion cells in rabbits with elevated intraocular pressure

XIANG Min-Hong, ZHONG Yi-Sheng, ZHANG Xing-Ru

【Key words】 Erigeron Breviscapus (Vant.) Hand-Mazz; rabbit; chronic elevated intraocular pressure; activity of retinal ganglion cells; protective effect

【Abstract】 Objective To observe the protective effect of Erigeron Breviscapus (Vant.) Hand-Mazz (EBHM) on the activity of retinal ganglion cells (RGCs) in rabbits with elevated intraocular pressure (IOP). Methods Twenty healthy NZ rabbits with chronic elevated IOP induced by injection of 4% methylcellulose into anterior chamber in the experimental eye were randomly divided into two groups (EBHM treated group including normal IOP and elevated IOP, untreated group including simple normal IOP and elevated IOP) with 10 rabbits in each group. EBHM was irrigated into the stomachs of rabbits in treated group on the 7th day after formation of elevated IOP. The rabbit eyes were enucleated and made into eyeball samples after 60 days. The paraffin-embedded slides were stained with silver staining for nucleolar organizer region (AgNOR) to observe stained grains in RGCs nucleus. Results Stained grains in RGCs nucleus of the two ocular hypertension subgroups were decreased, compared with those of the two normal IOP subgroups, and the statistical significance was found ($P < 0.05$). But stained grains in RGCs nucleus of the ocular hypertension with EBHM treated subgroup were more than those of the simple ocular hypertension eyes ($P < 0.05$). Conclusion Injection of 40 g L^{-1} methylcellulose into anterior chamber to build chronic elevated IOP can result in the decrease of stained grains in RGCs nucleus. EBHM may have partial protective effect in RGCs activity of ocular hypertension.

[Rec Adv Ophthalmol 2005;25(5) :414-416]

【中图分类号】 R774.6 【文献标识码】 A

【文章编号】 1003-5141(2005)05-0414-03

【关键词】 灯盏细辛;兔;慢性高血压;视网膜神经节细胞活性;保护作用

【摘要】 目的 观察灯盏细辛对慢性高血压兔视网膜神经节细胞活性的保护作用。方法 对 20 只健康新西兰白兔右眼前房内注射 40 g L^{-1} 甲基纤维素,制成慢性高血压模型,左眼眼压均正常,随机分成灯盏细辛治疗组 ($n = 10$, 高血压 + 灯盏细辛治疗亚组和正常眼压 + 灯盏细辛治疗亚组) 和未治疗组 ($n = 10$, 单纯高血压亚组和单纯正常眼压亚组)。治疗组于高血压模型制作后第 7 d 开始行灯盏细辛悬浊液灌胃,60 d 后制作眼球标本。常规石蜡切片,AgNOR 染色观察 RGCs 细胞核内的银染颗粒。采用计算机图像分析系统对 RGCs 细胞核内的银染颗粒进行定量分析。结果 高血压 2 亚组较正常眼压 2 亚组的 RGCs 细胞核内银染颗粒明显减少,其差异有显著性意义 ($P < 0.05$);其中高血压 + 灯盏细辛治疗亚组较单纯高血压亚组银染颗粒多 ($P < 0.05$)。结论 40 g L^{-1} 甲基纤维素前房注射建立慢性高血压模型可导致 RGCs 细胞核内银染颗粒减少,灯盏细辛对高血压后 RGCs 活性有一定的保护作用。

[眼科新进展 2005;25(5) :414-416]

灯盏细辛是一种云南民间中草药,其有效成分为灯盏花酮类^[1],具有抗血栓、减少外周血管阻力、改善大脑及抗血小板凝集的作用^[2-4]。灯盏细辛对眼压已控制

的原发性晚期青光眼的保护作用的保护作用已经临床证实^[5,6]。为了探讨其可能的作用机制,我们对一组实验性高血压兔行灯盏细辛灌胃,通过银染核仁组成区 (silver st-

作者简介:项敏泓,女,1977年12月出生,师从钟一声副教授,医学硕士。联系电话:021-62572723-3026

About XIANG Min-Hong: Female, born in December, 1977. Master degree. Tel: 021-62572723-3026

收稿日期:2004-05-09
修回日期:2004-08-05
本文编辑:董建军
作者单位:200062 上海市普陀区中心医院眼科(项敏泓,张兴儒);200025 上海市第二医科大学附属瑞金医院眼科(钟一声)
Received date: May 9, 2004
Accepted date: Aug 5, 2004
From the Department of Ophthalmology, the Central Hospital of Putuo District (XIANG Min-Hong, ZHANG Xing-Ru), Shanghai 200062, China; Department of Ophthalmology, Ruijin Hospital, Shanghai Second Medical University (ZHONG Yi-Sheng), Shanghai 200025, China

aining of nucleolar organizer, AgNOR) 染色^[7] 观察其对 RGCs 活性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 健康新西兰白兔20只, 体重 2.5~3.0 kg, 雌雄不限, 由中国预防医学科学院寄生虫病研究所提供, 实验前检查双眼前节、眼底及眼压均正常。湖南湘雅制药有限公司提供灯盏细辛中药粉剂。

1.2 方法

1.2.1 高血压模型制作 随机选择每只动物的右眼为模型眼, 左眼为对照眼。由专人配合固定白兔, 5 g L⁻¹ 地卡因滴眼 2~3 次, 用 Schiotz 眼压计测量基础眼压并记录。右眼于角巩膜缘前房穿刺, 抽取房水 0.1~0.2 mL, 换针管注入等量 40 g L⁻¹ 甲基纤维素。左眼用生理盐水代替 40 g L⁻¹ 甲基纤维素外, 其余步骤相同。30 min 后测眼压, 使右眼眼压 30 mmHg (1 kPa = 7.5 mmHg), 若眼压 < 30 mmHg 则补充注入上述甲基纤维素。每天观察兔双眼情况, 每周测量眼压 3 次, 若右眼眼压 < 30 mmHg, 则用上述方法调整。

1.2.2 动物分组 20只家兔随机分为灯盏细辛治疗组 ($n = 10$) 和未治疗组 ($n = 10$)。治疗组于高血压模型持续第 7 d 开始行灯盏细辛悬浊液灌胃, 剂量为 200 mg · kg⁻¹, 每日 1 次, 连续 60 d。右眼为高血压 + 灯盏细辛治疗亚组, 左眼为正常眼压 + 灯盏细辛治疗亚组。未治疗组整个实验过程不予灯盏细辛灌胃治疗, 右眼为单纯高血压亚组, 左眼为单纯正常眼压亚组, 实验时间与治疗组相同。

1.2.3 取材及标本制作 所有实验家兔于观察期满后, 空气栓塞致死。立即完整摘除眼球, 并在6点钟方位角膜缘缝线标记, 中性甲醛固定, 常规酒精梯度脱水, 平行于视神经纵行剖开眼球, 二甲苯透明、浸蜡、包埋。平行于眼球剖面通过视神经做 5 μm 常规石蜡连续切片 2 张, 按文献报道^[7] 的方法行 AgNOR 染色。

1.2.4 阅片与图像分析 切片标本由专人进行光镜组织学检查。选择视盘旁 3 mm 部位, 随机选择每个切片中的 3 个视野, 用 KS-400 图像分析系统进行分析。AgNOR 染色片计数银染颗粒 (计算 RGCs 细胞核内银染颗粒总数和 RGCs 个数, 并计算

出单个节细胞内银染颗粒平均个数), 求 3 个视野的平均值。

1.2.5 数据统计方法 本实验的所有数据均以数据库文件形式贮存于磁盘中, 采用 SAS 6.04 软件在计算机上进行统计处理, 统计方法为方差分析 (分别采用 Duncan 及 Dunnett 检验进行均数间两两比较)。

2 结果

2.1 一般临床观察 右眼注射 40 g L⁻¹ 甲基纤维素后, 立即出现睫状充血、角膜水肿、瞳孔散大、房水混浊、眼球变硬等青光眼体征。实验过程中, 模型眼眼压始终维持在 30.39~42.12 mmHg, 平均 (35.28 ± 3.89) mmHg。

2.2 AgNOR 染色情况 光镜下可见细胞浆和细胞外组织被染成浅黄色, 细胞核染成棕黄色, 边界清楚, 核内可见分散的 1 个或多个 AgNOR 小黑点, 有时许多细小颗粒集合或融合成不规则团块状。

单纯正常眼压组及正常眼压 + 灯盏细辛治疗亚组的 RGCs 细胞核内银染颗粒分布均匀, 其数目 2 组间差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。单纯高血压亚组和高血压 + 灯盏细辛治疗亚组 RGCs 细胞核内银染颗粒明显减少, 稀疏, 与正常眼压 2 亚组相比, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$); 其中高血压 + 灯盏细辛治疗亚组 RGCs 细胞核内银染颗粒较单纯高血压亚组多 ($P < 0.05$, 见表 1, 图 1~4)。

表 1 各亚组实验后 60 d RGCs 细胞核内银染颗粒比较

Table 1 Comparison of stained grains in RGCs nucleus of each subgroup after 60 days experiment

Subgroup	n	Stained grains in RGCs nucleus(n)
Ocular hypertension with EBHM treated	10	2.06 ± 1.16 b
Normal IOP with EBHM treated	10	3.46 ± 0.97 a
Simple ocular hypertension	10	1.26 ± 0.73 c
Simple normal IOP	10	2.90 ± 0.69 a
F		17.72
P		0.000 1

Note: *** means $P < 0.05$ compared the ocular hypertension with EBHM treated subgroup by Dunnett test. The results of Duncan test use marking letter method, different letter means $P < 0.05$

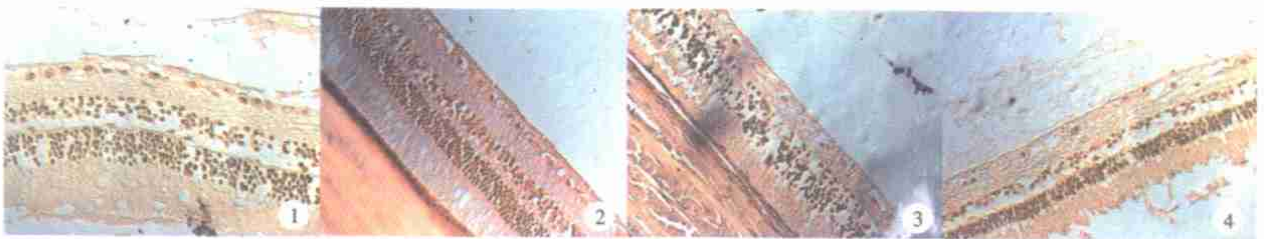


Figure 1 Retinal slice of the simple normal IOP subgroup (AgNOR stain, ×400). Stained grains were distributed in the RGCs nucleus uniformly. Figure 2 Retinal slice of the normal IOP with EBHM treated subgroup (AgNOR stain, ×400). Stained grains were distributed in the RGCs nucleus uniformly with no difference vs the simple normal IOP. Figure 3 Retinal slice of the simple ocular hypertension subgroup (AgNOR stain, ×400). Stained grains were obviously decreased in the RGCs nucleus. Figure 4 Retinal slice of the ocular hypertension with EBHM treated subgroup (AgNOR stain, ×400). Stained grains were decreased in the RGCs nucleus, which were more than the simple ocular hypertension subgroup. 图 1 单纯正常眼压亚组的视网膜切片 (AgNOR 染色, ×400)。银染颗粒均匀分布于 RGCs 核内。图 2 正常眼压 + 灯盏细辛治疗亚组的视网膜切片 (AgNOR 染色, ×400)。银染颗粒均匀分布于 RGCs 核内, 与单纯正常眼压亚组差异不大。图 3 单纯高血压亚组的视网膜切片 (AgNOR 染色, ×400)。RGCs 核银染颗粒明显减少、稀疏。图 4 高血压 + 灯盏细辛治疗亚组的视网膜切片 (AgNOR 染色, ×400)。RGCs 核银染颗粒减少, 但较单纯高血压亚组多

3 讨论

青光眼视神经损害的确切机制尚不十分清楚, 但其最终

结局是 RGCs 的凋亡或死亡^[8], 阻断或延缓神经节细胞原发性和 (或) 继发性损害的青光眼视神经保护治疗已越来越受到重视^[9]。灯盏细辛的主要成分没有直接促进 RGCs 生长的作

用^[10,11],实验方面证实灯盏细辛注射液具有提高鼠急性高眼压下 RGCs 细胞色素氧化酶及恢复轴浆运输的作用^[12,13],其可能使某些濒临死亡的 RGCs 轴索恢复轴浆运输,从脑内靶细胞传出的神经营养信号或靶组织分泌的神经营养因子能顺利到达 RGCs 胞体,从而避免部分 RGCs 的死亡。临床研究显示眼压控制的原发性晚期青光眼患者应用灯盏细辛 6 疗程后,视野进步率达 93.1%^[6]。

AgNOR 由核仁中嗜银性非组蛋白构成,可以用来反映核仁结构和功能改变。细胞增殖活跃导致许多细胞内核仁分解,AgNOR 颗粒分散于细胞核内,因此银染颗粒的多少可反映细胞的功能状态。AgNOR 染色原来主要用于肿瘤学,现在逐渐应用到眼组织染色上。本研究对视网膜切片进行 AgNOR 染色,发现组织结构染色清楚,能清晰地观察到 RGCs 细胞核内的银染颗粒,高眼压 2 亚组较正常眼压 2 亚组 RGCs 细胞核内银染颗粒明显减少、稀疏 ($P < 0.05$);其中高眼压 + 灯盏细辛治疗亚组 RGCs 细胞核内银染颗粒较单纯高眼压亚组多 ($P < 0.05$)。这表明高眼压导致 RGCs 的活性降低,而灯盏细辛在一定程度上可改善 RGCs 的活性,其具体作用机制尚待进一步研究。

参考文献

1 张人伟,张元玲,王杰生,林泳月,尚 斌. 灯盏花黄酮类成分的分

离鉴定[J]. 中草药 1988;19(5):7-9.

2 周曾同. 灯盏细辛研究概述[J]. 临床口腔医学杂志 2001;17(3):238-239.

3 李麟仙,周凤鸣,杨 良,李树清,张人伟,吴华欣. 灯盏素影响微循环障碍的实验研究[J]. 云南中医杂志 1986;5:5-9.

4 顾选文,王云霄,范华昌,陆增祥,朱美华,袁玉珍. 灯盏花治疗脑血栓形成 132 例临床疗效观察[J]. 云南中医杂志 1983;6:15-19.

5 蒋幼芹,吴振中,莫杏君,陈晓明,蒋瑶丽. 眼压已控制的晚期青光眼治疗的探讨[J]. 眼科研究 1991;9(4):229-232.

6 贾莉君,蒋幼芹,吴振中. 青光康片对眼压已控制的原发性晚期青光眼临床疗效观察[J]. 实用眼科杂志 1994;12(5):269-273.

7 钟一声,王康孙. 眼组织 AgNOR 染色及其意义[J]. 眼科新进展 Yanke Xinjinzhan 2000;20(3):181-183.

8 Nickells KW. Retinal ganglion cell death in glaucoma: the how, the why, and the maybe[J]. J Glaucoma 1996;5(5):345-356.

9 王 艳. 青光眼视神经保护治疗的实验研究[J]. 眼科新进展 Yanke Xinjinzhan 2002;22(3):16-18.

10 叶长华,蒋幼芹,江 冰. 灯盏细辛单体成分对混合培养鼠视网膜神经节细胞的影响[J]. 眼科研究 2002;20(3):222-224.

11 钟一声,蒋幼芹. 吡喃酮葡萄糖甙对培养大鼠视网膜神经细胞的影响[J]. 眼科新进展 Yanke Xinjinzhan 1992;19(1):5-8.

12 贾莉君,刘忠浩,罗学港,蒋幼芹,吴振中,刘 丹. 青光康注射液对急性实验性高眼压大鼠视网膜神经节细胞代谢的作用[J]. 中华眼科杂志 1995;31:129-132.

13 朱益华,蒋幼芹,刘忠浩,罗学港,吴振中. 灯盏细辛注射液对鼠实验性高眼压视神经轴浆运输的影响[J]. 中华眼科杂志 2000;36(4):289-294.

带虹膜人工晶状体植入治疗复杂性眼外伤 1 例

边阳甫 辛延峰 宋新华 冯小赛 张暹梅

【中图分类号】 R779.1 【文献标识码】 A
【文章编号】 1003-5141(2005)05-
【关键词】 带虹膜人工晶状体;复杂性眼外伤;后囊膜

1 临床资料

患者,男,29岁,因左眼铁块击伤后疼痛、视物不见 0.5 h 来院急诊。眼部检查:视力:右眼 1.0,左眼数指/20 cm。左眼混合性充血,角膜横贯穿通,长约 12 mm,大范围虹膜根部离断、脱出,晶状体溢出,少许玻璃体嵌顿创口,前房极浅,可见碎裂虹膜、混浊皮质及积血,瞳孔变形,眼底窥不清。右眼未见异常。治疗方法:(1)急诊行左眼白内障吸出+角膜清创缝合术。作巩膜隧道,吸出前房内残留的碎裂皮质、虹膜及凝血块,术后对症处理。术后 1 月眼检查:左眼视力 0.04, + 16.00DS=0.2,轻度充血,角膜闭合良好,缝线存在,瘢痕明显,前房深浅适中,可见散在的碎裂虹膜组织,瞳孔变形上移,眼底无法窥入,外观明显异于右眼。患者诉左眼畏光、目眩、复视;(2)行左眼带虹膜人工晶状体植入+后囊膜环形撕开+前段玻璃体切割术。术中发现后囊膜有条索状机化物形成,作后囊膜大小约 4 mm 的环形撕开和前段玻璃体切割,带虹膜人工晶状体放在睫状沟。术后全身静滴激素和局部典必殊眼液滴眼。术后 1 月复诊,患者未诉畏光及复视,双眼外观无明显差异,眼部检查:视力左眼 0.2,小孔镜下 0.4,电脑验光读不出结果,角膜无充血,有斑翳,愈合良好,前房可,带虹膜

人工晶状体位置正,瞳孔区清,直径约 4 mm,后囊环形撕开口清晰可见。

2 讨论

对于复杂性外伤性白内障伴大范围虹膜缺损患者,如何解决好术后视力恢复、畏光、眼外观异常以及年轻患者术后容易出现的后发性白内障、玻璃体机化等,是此类外伤眼手术的重点难点。植入带虹膜人工晶状体,不但提高了视力,起到美化外观的作用,同时人工虹膜遮挡了过多光线进入眼内,消除了患者畏光及复视眩目感,另一方面阻止了玻璃体突入前房,降低了视网膜剥离、黄斑囊样水肿的发生。年轻患者后囊膜上皮细胞活性强,有丝分裂旺盛^[1],生长代谢快,容易混浊和短期加重,而角膜白斑和带虹膜人工晶状体又增加了后发性白内障处理难度,故同时行后囊膜环形撕开^[2]和前段玻璃体切割术。对于这类白内障患者,带虹膜人工晶状体植入+后囊膜环形撕开+前段玻璃体切割术,是非常理想的手术方法。

参考文献

1 吴绍成,杨晓娥. 儿童白内障人工晶体植入术 36 例[J]. 眼科新进展 Yanke Xinjinzhan 1999;19(2):135.

2 李 兰,郭华兰. 儿童外伤性白内障后囊连续环形撕囊人工晶体植入术临床观察[J]. 重庆医科大学学报 2003;28:233-234.

收稿日期:2005-08-03 修回日期:2005-08-27 本文编辑:盛丽娜
作者单位:310015 浙江省杭州市第二人民医院眼科中心

