

# 补肾活血中药对慢性高眼压模型大鼠视功能损害的干预作用

毛欣<sup>1</sup>, 李翔<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(102300)中国北京市门头沟区中医医院眼科;<sup>2</sup>(610072)中国四川省成都市,成都中医药大学附属医院眼科  
作者简介:毛欣,女,毕业于中医药大学,硕士研究生,医师,研究方向:眼表疾病及青光眼。  
通讯作者:毛欣. maoxin\_2008@hotmail.com  
收稿日期:2009-11-24 修回日期:2009-01-14

## Effects of bushenhuoxue on protecting the visual function of rat with chronic intraocular hypertension

Xin Mao<sup>1</sup>, Xiang Li<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Mentougou District, Beijing 102300, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Chengdu Traditional Chinese Medicine University, Chengdu 610072, Sichuan Province, China  
Correspondence to: Xin Mao. Department of Ophthalmology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Mentougou District, Beijing 102300, China. maoxin\_2008@hotmail.com  
Received:2009-11-24 Accepted:2010-01-14

### Abstract

• AIM: To observe the effect of traditional Chinese medicine (TCM) of bushenhuoxue on the rat model of chronic, moderately elevated intraocular pressure (EIOP).  
• METHODS: By unilaterally cauterizing episcleral vessels, the rat model of chronic, moderately EIOP was gotten. 52 rats were divided into 5 groups randomly: model control group, treatment groups with high, middle, low dosage of bushenhuoxue of TCM, and normal control group. After given drugs or normal saline for 8 weeks, the rats were put to death and eyeballs were taken out. The effects were observed by intraocular pressure (IOP), multifocal electroretinogram (mfERG), and retinal ganglion cells (RGCs).  
• RESULTS: Elevated IOP was gotten and there was an approximately 3-fold increase in IOP for 8 weeks later comparing to pre-models building. Bushenhuoxue of TCM can lower IOP slightly; To observe the mfERG first order kernel (FOK), bushenhuoxue of TCM can improve P1 wave's 1, 2, 3, 4 ring's amplitude density, P1 wave's peak time, N1 wave's 2, 3 ring's amplitude density and N1 wave's 2, 3 ring's peak time.  
• CONCLUSION: Bushenhuoxue of TCM can protect the visual function from elevating IOP by improving mfERG's amplitude density and peak time. So the mfERG can be a sensitivity method to evaluate its efficacy.  
• KEYWORDS: bushenhuoxue; rat model of chronic

intraocular hypertension; multifocal electroretinogram; retinal ganglion cell

Mao X, Li X. Effects of bushenhuoxue on protecting the visual function of rat with chronic intraocular hypertension. *Int J Ophthalmol (Guji Yank e Zazhi)* 2010;10(2):238-240

### 摘要

目的:探讨补肾活血中药对大鼠慢性高眼压(elevated intraocular pressure, EIOP)模型视功能损害的干预作用和机制。  
方法:采用烙闭上巩膜静脉法,制作大鼠 EIOP 模型,随机分为5组:模型对照组,补肾活血高、中、低剂量组,空白对照组。连续灌胃8wk末处死大鼠,观察其对 EIOP 大鼠眼压(intraocular pressure, IOP),多焦视网膜电图(multifocal electroretinogram, mfERG)和视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)病理形态学变化的影响。  
结果:造模后大鼠 IOP 明显升高,在造模后8wk IOP 为造模前的3倍,补肾活血有轻度的降眼压的作用;对大鼠 mfERG 一阶函数核(first order kernel, FOK)的总波及1, 2, 3, 4环 P1 波反应密度、总波 P1 波峰潜时、2环及3环 N1 波反应密度、3环、4环 N1 波峰潜时有恢复。  
结论:补肾活血中药可改善大鼠慢性 EIOP 模型的视功能,有助于 mfERG 反应密度和波峰潜时的恢复。  
关键词:补肾活血中药;慢性高眼压大鼠模型;mfERG;视网膜神经节细胞  
DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.02.012

毛欣,李翔. 补肾活血中药对慢性高眼压模型大鼠视功能损害的干预作用. 国际眼科杂志 2010;10(2):238-240

### 0 引言

青光眼(glaucoma)是一类以特异性视神经萎缩和视野缺损为共同特征的眼病,病理性高眼压(intraocular pressure, IOP)升高是其主要危险因素之一。青光眼是一个多因素的不可逆性疾病,目前认为,青光眼的视功能损伤主要由于慢性高眼压(elevated intraocular pressure, EIOP)或低血流灌注压导致缺血、缺氧等,使视神经纤维轴浆流中断,从而引起青光眼视神经损害<sup>[1]</sup>。在眼部只要 IOP 与视乳头血供的平衡被打破,超出视网膜血液循环自动调节能力即能造成 RNFL 损害,表现出青光眼性视功能损害<sup>[2]</sup>。EIOP 是青光眼视功能损害的基本因素,但并不是唯一因素,即使药物和手术有效的控制 IOP,其视功能的损害仍会缓慢的发展。因此,除降低 IOP 以外,人们越来越关注改善视乳头血流灌注和加强视神经保护的治疗,为青光眼开辟一条新的治疗途径。且现代药理学研究证实,许多中药具有改善微循环,抗血栓,降低血液粘滞度,提高机体抗

表 1 大鼠眼压和 mfERG 比较

分组	n	IOP(mmHg)			总波 P1 波	
		造模前	造模后即刻	用药后 8wk	峰潜时(ms)	反应密度(nv/deg <sup>2</sup> )
模型组	11	12.1 ± 1.3	34.4 ± 9.3 <sup>b</sup>	33.1 ± 11.9 <sup>b</sup>	66.3 ± 6.1 <sup>b</sup>	15.7 ± 10.0
高剂量组	9	12.6 ± 2.0	32.4 ± 4.5 <sup>b</sup>	25.8 ± 10.1	57.4 ± 9.2 <sup>b</sup>	33.3 ± 1.2 <sup>c</sup>
中剂量组	10	12.4 ± 2.0	32.5 ± 6.7 <sup>b</sup>	27.3 ± 11.8 <sup>b</sup>	52.0 ± 3.1 <sup>c</sup>	16.8 ± 3.9 <sup>b</sup>
低剂量组	11	12.7 ± 1.3	33.4 ± 6.6 <sup>b</sup>	28.8 ± 11.6 <sup>b</sup>	58.0 ± 8.5 <sup>b</sup>	16.6 ± 12.4 <sup>b</sup>
空白组	11	12.8 ± 1.7	12.4 ± 1.8	13.0 ± 2.0	47.2 ± 6.6	37.5 ± 3.8

<sup>b</sup>P < 0.01 vs 空白组; <sup>c</sup>P < 0.05 vs 模型组。

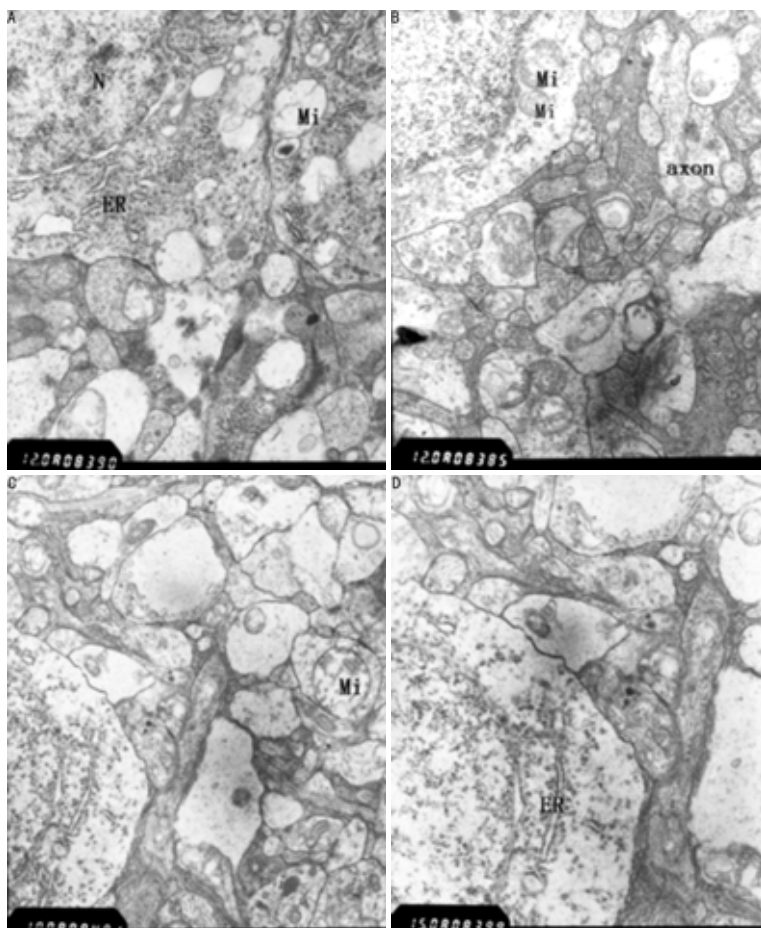


图 1 大鼠 RGC 超微结构 A: 模型组 (TEM × 12 000); B: 高剂量组 (TEM × 12 000); C: 中剂量组 (TEM × 10 000); D: 低剂量组 (TEM × 15 000)。

氧化能力,清除自由基,减轻缺血再灌注损伤等多方面的药理作用。因此,从中医药中发掘青光眼视功能保护的药 物将越来越受到医学界的重视。我们采用烙闭上巩膜静 脉法诱导产生 IOP 维持稳定、持续时间较长的慢性 EIOP 动物模型,选取杞菊地黄丸和复方丹参片作为干预药物, 通过 IOP, mfERG 及 RGSs 超微结构的改变等客观指标观 察补肾活血法对慢性 EIOP 大鼠模型视功能损害的干预 作用,探讨补肾活血法对青光眼视功能的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 60 只,雌雄各 半,8 ~ 12 周龄,体质量 160 ~ 200g。饲养室温 20℃ ~ 25℃,空气流通,相对湿度 55% ~ 75%,12h 光照维持,昼 夜循环。自由摄食饮水。纳入标准:无外眼疾病;双眼瞳 孔对光反射正常;无歪颈。

1.2 方法 动物购回后,适应性喂养 3d,连续测量 3d IOP, 进行正常 IOP 区间估计,取平均 IOP 在 9 ~ 18mmHg 者,以

SPSS 统计软件产生随机数字,随机分为 5 组,空白组不做 处理,其余 4 组采用烙闭上巩膜静脉法进行单眼 (右眼) 造模,造模后成模动物随机分为模型组,补肾活血高、中、 低剂量 (相当于 20 倍、10 倍、5 倍成人剂量的复方丹参片 和杞菊地黄丸的混悬液) 组。因为灌胃等原因动物死亡 8 只。模型组、空白组分别予生理盐水,每天同一时间灌胃 1 次,连续灌胃 8wk。每 2wk 称体 1 次,调整给药量。选用 tono-pen 笔式眼压计测量 IOP,在每天的同一时间进行,连 续测量术前 3d IOP,取平均值作为正常 IOP;术后即刻、术 后 3d、术后每 7d 各测 1 次 IOP,共 8wk。mfERG 检测采用 德国 Roland 公司生产的 RETIscan 3.15 多焦电生理系统。 于造模后 8wk,进行 mfERG 检测。刺激方法参照 Ball 及 Nusinowitz 法<sup>[3,4]</sup>,所有 mfERG 反应曲线均以第 1 个大的 正波和负波为分析对象。采用常规分析参数进行分析。 数值以各波反应密度 (即单位面积的振幅 nv/deg<sup>2</sup>) 及各 波峰潜时 (ms) 表示。各组随机选取 1 眼,透射电镜下观

察 RGCs 形态、胞膜、核、细胞器等。

统计学分析:用 SPSS 13.0 for Windows 软件进行统计分析,计量资料均采用单因素方差分析,两两比较采用 Newman-Keuls 法  $q$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大鼠 IOP** 造模前各组大鼠 IOP 经统计学处理均无统计学意义;造模后即刻用药前,模型组及各用药组 IOP 与空白组比较及造模前比较有统计学意义( $P < 0.01$ );模型组与各用药组间比较无统计学意义;用药后 8wk,模型组与各用药组间 IOP 比较无统计学意义;模型组 IOP 与造模后、用药前比较无统计学意义;用药后 8wk,各用药组间 IOP 比较无统计学意义;用药后 8wk,空白组与高剂量组 IOP 比较无统计学意义;空白组与中剂量组及低剂量组眼压比较有统计学意义( $P < 0.01$ )。表明烙闭上巩膜静脉法可以建立 IOP 维持稳定、持续时间较长的慢性 EIOP 动物模型,补肾活血中药有轻度的降 IOP 的作用(表 1)。

**2.2 大鼠 mfERG** 补肾活血可以部分改善大鼠慢性 EIOP 模型的视功能。通过对大鼠 mfERG 一阶函数核(first order kernel, FOK)的观察发现,补肾活血中药有助于总波及 1,2,3,4 环 P1 波反应密度、总波 P1 波峰潜时、2 环及 3 环 N1 波反应密度,3 环、4 环 N1 波峰潜时的恢复。

**2.3 大鼠 RGC 超微结构** 透射电镜下,空白组轴突(axon)排列均匀、紧密,微丝、微管和线粒体(Mi)等成分可见。神经节细胞核(N)呈圆形或卵圆形,双层核膜清晰可见,核内充满均匀、色浅淡的常染色质,其间有少许靠近核膜、色稍深的异染色质,胞质中细胞器丰富,线粒体及其脊、内质网(ER)等形态正常,清晰可见。模型组轴突稀疏,有较多空白区域。神经节细胞核内染色质变成细小颗粒,胞质空泡化,仅存有少量线粒体高度膨胀,破裂,脊消失,内质网扩张呈空泡状。高剂量组轴突轻度水肿,排列较均匀,结构稍疏松。部分神经节细胞核内染色质轻度聚集,胞质中细胞器略减少,线粒体轻度肿胀,部分内质网扩张。中剂量组轴突水肿,排列疏松,微丝、微管和线粒体等成分减少。神经节细胞核内染色质聚集,胞质中细胞器减少,部分线粒体肿胀,部分脊消失。低剂量组轴突数量减少,部分空泡化,大部分神经节细胞核内染色质聚集较明显,核膜不清,胞质中细胞器减少,大部分线粒体肿胀明显,大部分脊消失,内质网明显扩张(图 1A~D)。

## 3 讨论

目前,关于青光眼视神经损害的确切机制尚不十分清楚,可能有多种机制参与青光眼性视神经损伤,无论何种机制,其最终的结局均是视网膜神经节细胞的凋亡<sup>[5]</sup>。视网膜神经节细胞是视觉器官的第 3 神经元,其树突在内丛状层,轴突进入 RNFL,构成视神经,与外侧膝状体核的神经元形成突触联系,将视觉信息传入中枢神经系统。青光

眼导致视功能损害的病理基础主要是 RGC 坏死和视神经纤维(optic nerve fibre, ONF)丧失。青光眼类似中医“五风内障”及“青盲”,属瞳神疾病,在五轮学说中,瞳神属水轮,内应于肾,近代名家陈达夫教授“内眼结构与六经相属学说”认为,视神经、视网膜属足厥阴肝经,肝肾同源,故本病与肝肾关系密切。“五风内障”多由风、火、痰、虚、郁等上犯目窍,导致气血失和,经络不利,气滞血瘀,目中玄府闭塞,神水瘀积为病,病久则肝肾两亏,神光衰微甚至泯灭、不睹三光而成“青盲”,故肝肾虚损、瘀血内停是青光眼视神经病理改变的主要病机,滋养肝肾,活血化瘀为防治青光眼视神经损害的基本方法。我们方选杞菊地黄丸和复方丹参片作为研究药物,滋补肝肾、活血化瘀。杞菊地黄丸为经典古方,为滋补肝肾明目的代表方剂,复方丹参片活血化瘀,两者均为《中国药典》载入药品、非处方用药,经济实用,服用方便。杞菊地黄丸和复方丹参片中,多味中药的现代药理研究证明均具有改善微循环,增加眼血流量,改善轴浆流,增强视网膜血管、神经的耐缺氧能力,抗氧化,清除自由基,免疫调节,双向调节神经细胞内钙离子浓度等作用。

青光眼视功能损害是不可逆的,因此对活体视功能损害的评价,明确其病变过程,早期诊断,早期药物治疗或其他干预就显的尤为重要。mfERG 是从多道输入的 ERG 视野地形图衍生而来的一种视觉电生理检查法,可以在数分钟内同时记录视网膜不同部位的电反应,分别提取波形,反映视网膜不同层次细胞功能变化。mfERG 可以敏感的反映视网膜节细胞的功能,FOK 振幅与神经纤维轴突丢失数量呈负相关。本结果显示,补肾活血高、中剂量组有助于总波及 1,2,3,4 环 P1 波反应密度、总波 P1 波峰潜时、2 环及 3 环 N1 波反应密度,3 环、4 环 N1 波峰潜时的恢复。提示补肾活血中药高、中剂量组可以部分改善慢性 EIOP 大鼠的 mfERG。通过对 mfERG 和 RGCs 超微结构的观察发现,补肾活血具有有效的保护视功能免受高眼压损害的作用,其作用机制可能为:补肾活血可以改善局部微循环,增加眼血流量,改善轴浆流,增强视网膜血管、神经的耐缺氧能力,激活视细胞,复苏视纤维有关。

### 参考文献

- 1 葛坚. 青光眼的研究进展与发展趋势. 中华眼科杂志 2000; 36(3):194
- 2 Maumenes AE. Cause of optic nerve damage in glaucoma. *Ophthalmology* 1983 ;90 :7
- 3 Ball SL, Petry HM. Noninvasive assessment of retinal function in rats using multifocal electroretinography. *Invest Ophthalmol Vis Sic* 2000;41(12):610-617
- 4 Nusinowitz S, Heckenlively JR. Rod multifocal electroretinograms in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sic* 1999;40(12):2848-2858
- 5 Nickells RW. Retinal ganglion cell death in glaucoma: the how, the why, and the maybe. *J Glaucoma* 1996;5(5):345-356