

樟柳碱联合地塞米松治疗对大鼠视神经挫伤后 F-VEP 和 ERG 的影响

丁国鹏¹, 朱 骏¹, 雷 姝², 马斌超³, 毛治平¹, 单武强¹, 李瑞英¹

作者单位:¹(721000) 中国陕西省宝鸡市人民医院眼科 宝鸡市眼科中心;²(721000) 中国陕西省宝鸡市妇幼医院药剂科;³(100700) 中国北京市, 北京军区总医院西院眼科
作者简介: 丁国鹏, 硕士, 主治医师, 研究方向: 视网膜与视神经疾病。

通讯作者: 丁国鹏. dingyaayaa@ yahoo. cn

收稿日期: 2011-02-12 修回日期: 2011-05-03

Effect of anisodine combined with dexamethasone treatment on F-VEP and ERG of rats after the optic nerve contusion

Guo-Peng Ding¹, Jun Zhu¹, Shu Lei², Bin-Chao Ma³, Zhi-Ping Mao¹, Wu-Qiang Shan¹, Rui-Ying Li¹

¹Department of Ophthalmology, Baoji People's Hospital, Baoji 721000, Shaanxi Province, China; ²Department of Pharmacy, Women and Children Hospital of Baoji City, Baoji 721000, Shaanxi Province, China; ³Department of Ophthalmology, General Hospital of Beijing Military Region, Beijing 100700, China

Correspondence to: Guo-Peng Ding, Department of Ophthalmology, Baoji People's Hospital, Eye Center of Baoji City, Baoji 721000, Shaanxi Province, China. dingyaayaa@ yahoo. cn

Received: 2011-02-12 Accepted: 2011-05-03

Abstract

• **AIM:** To observe the impact of anisodine (AT3) combined with dexamethasone (Dex) treatment on the flash visual evoked potentials (F-VEP) and electroretinogram (ERG) of SD rats after optic nerve contusion

• **METHODS:** Thirty adult female SD rats, taken their left eyes as experimental eyes, were divided into A, B, C groups using random numbers, and gripped optic nerve 6 seconds with noninvasive pressure-constant reverse tweezers to establish optic nerve contusion models. Group A was given caudal vein injection of 0.25mL (0.5mg) Dex one day before setting up the model, as well as retrobulbar injection of 0.25mL AT3 in the left eye; Caudal veins of group B was injected the same amount of normal saline by retrobulbar injection; Group C was given both intravenous and retrobulbar injection of normal saline. P₁ wave of the F-VEP and b-wave amplitude and peak latency changes of ERG in 3 groups were recorded and compared before and 0.5, 1 day, 7, 14 days after modeling.

• **RESULTS:** In group C, 0.5 day after optic nerve injury, F-VEP amplitude decreased significantly when compared with the normal. Peak latency 1 day after modeling had

statistical significance when compared with the normal, and peak latency and amplitude decreased progressively during the observation time. In group B 7 days after modeling, the F-VEP amplitude was significantly higher than that in the control group ($P = 0.031$), peak latency shorter than the control group ($P = 0.012$). In group C 7 days after modeling, the F-VEP amplitude was significantly higher than that in the control group ($P = 0.042$), peak latency shorter than the control group ($P = 0.019$).

• **CONCLUSION:** Curative effect of AT3 combined with Dex on the recovery of nerve conduction after optic nerve contusion in rats is significantly higher than that of alone applications of Dex.

• **KEYWORDS:** optic nerve contusion; anisodine injection; dexamethasone injection; F-VEP; ERG

Ding GP, Zhu J, Lei S, *et al.* Effect of anisodine combined with dexamethasone treatment on F-VEP and ERG of rats after the optic nerve contusion. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011; 11 (6): 961-963

摘要

目的: 观察 SD 大鼠视神经挫伤后樟柳碱 (anisodine, AT3) 联合地塞米松 (dexamethasone, Dex) 治疗对闪光视觉诱发电位 (flash visual evoked potential, F-VEP) 和视网膜电图 (electroretinogram, ERG) 的影响。

方法: 成年雌性 SD 大鼠 30 只, 均以左眼为实验眼, 采用随机数字法分为 A, B, C 共 3 组, 利用压力恒定的无创反向镊夹持大鼠视神经 6s 建立视神经挫伤模型, A 组建立模型前 1d 开始每日给予尾静脉注射 0.25mL (0.5mg) Dex, 同时左眼球后注射 0.25mL AT-3; B 组尾静脉注射同 A 组, 但球后注射生理盐水; C 组静脉及球后均给予生理盐水。记录并比较 3 组大鼠建模前及建模后 0.5, 1, 7, 14 d 的 F-VEP 的 P₁ 波和 ERG 的 b 波振幅和峰潜时变化。

结果: C 组视神经损伤 0.5d 后, F-VEP 振幅值降低与正常相比有显著性差异, 峰潜时在 1d 后与正常相比有统计学意义, 并且在观察时间内随时间其峰潜时和波幅呈进行性下降。B 组在 7d 后 F-VEP 振幅值明显高于与对照组 ($P = 0.031$), 峰潜时短于对照组 ($P = 0.012$), C 组在 7d 后 F-VEP 振幅值明显高于对照组 ($P = 0.042$), 峰潜时短于对照组 ($P = 0.019$)。

结论: AT3 联合 Dex 对大鼠视神经挫伤后神经传导功能的恢复较单纯应用 Dex 明显。

关键词: 视神经挫伤; 樟柳碱注射液; 地塞米松注射液; F-VEP; ERG

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.06.007

丁国鹏,朱骏,雷姝,等. 樟柳碱联合地塞米松治疗对大鼠视神经挫伤后 F-VEP 和 ERG 的影响. 国际眼科杂志 2011;11(6):961-963

0 引言

视神经挫伤是眼科临床常见病,常由交通事故或器械失误等引起,重症者往往造成视力残疾,目前的治疗除手术移除或减轻视神经压迫外,主要还是应用大剂量地塞米松(dexamethasone, Dex)保守治疗,但其效果并不理想。樟柳碱(anisodine, AT3)是从茄科植物唐古特山莨菪分离出的一种生物碱,其化学结构和东莨菪碱相似,药理作用与阿托品类化合物相似,具有缓解平滑肌痉挛、散大瞳孔、调整自主神经、缓解眼血管痉挛和恢复血管舒缩的功能。目前已经应用于临床治疗眼部缺血性疾病,但其在视神经挫伤方面的研究目前还比较少,因此我们建立大鼠视神经挫伤模型,对比 AT3 联合 Dex 和单纯 Dex 治疗后大鼠闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential, F-VEP)和视网膜电图(electroretinogram, ERG)的改变情况,探讨 AT3 在单纯视神经挫伤的疗效情况。

1 材料和方法

1.1 材料 选取 2~3 月龄的成年 SD 大鼠 30 只,体质量 220~240g,雌性(军事医学科学院动物中心提供),采用随机数字法分为 A, B, C 组,每组 10 只,均以左眼为实验眼。利用压力恒定的无创反向镊夹持大鼠视神经 6s 建立视神经挫伤模型, A 组建立视神经挫伤模型前 1d 开始每日给予大鼠尾静脉注射 0.25mL(0.5mg) Dex 注射液,同时左眼球后注射 0.25mL AT3; B 组尾静脉注射同 A 组,但球后注射生理盐水; C 组眶缘及球后均给予生理盐水。记录并比较 3 组大鼠建模前及建模后 0.5, 1, 7, 14d 的 F-VEP 的 P₁波和 ERG 的 b 波振幅和峰潜时变化。记录仪器为国特 GT-2000NV 视觉诱发电位仪,显示系统为 GT-2000NV 视觉诱发电位仪自带的计算机辅助系统。

1.2 方法 根据大鼠视网膜血供的解剖学特点,以单纯挫伤视神经而不损伤视神经腹侧鞘膜内的视网膜动脉来建立大鼠的视神经挫伤模型,手术显微镜下操作,采用外眦部入路,视神经的暴露参考文献[1],反向镊于眼球后 1mm 处单纯钳夹视神经,6s 后松开反向镊子,缝合各层组织,确保伤口甲级愈合,继续喂养,术后进行 F-VEP 和 ERG 测定。0h 观察点 F-VEP 和 ERG 的测量在手术已经暴露视神经但还未钳夹前测量。观察前暗适应大鼠 30min,麻醉、固定、安放电极,记录电极、接地电极顺身体长轴分别置于大鼠双耳连线中点皮下及尾部,参考电极置于受检眼同侧颊部,对侧眼用黑色不透光材料遮盖,记录暗适应 F-VEP,采用全视野白色闪光刺激,闪光强度 3.0cd/(m²·s),持续时间 10ms。F-VEP 完成后,托吡卡胺滴眼液散瞳 20min,角膜表面滴加甲基纤维素,环形银-氯化银电极安放于角膜表面作为记录电极,参考及接地电极分别置于同侧颊部及尾部皮下,对侧眼遮盖。视杆细胞反应刺激强度为 3.0 × 10²cd/(m²·s),其它常规 ERG 刺激强度为 1.0 × 10²cd/(m²·s),通频带 Ops 为 100~300Hz,余为 1~200Hz,不同光强刺激之间间隔 1min,叠加 3 次。记录最大混合反应(max response, Mre)、视杆细胞反应(rod response, Rre)、振荡电位(oscillatory potentials, Ops)。

统计学分析:所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 16.0 软件包,采用单因素方差分析和 LSD-t 检

验进行比较,取 $\alpha = 0.05$ 为检验标准。

2 结果

2.1 F-VEP F-VEP 一般由 5~7 个波峰组成,前 3 个波为初发反应,以后的波为继发反应。初发反应是 F-VEP 的主要观察部分。我们以 F-VEP 常用的顺序命名法以 P₁波为观察指标,数值分析发现 A, B, C 3 组在视神经挫伤后的一段时间内均会出现 P₁波振幅降低、峰潜时延长。3 组间比较发现, C 组的视神经修复愈合最好, B 组次之, A 组表现出神经挫伤后自然的神经修复过程,遗留视神经残疾。组内 4 个时间点振幅均低于对照($P < 0.05$),而峰潜时只在 14d 时与对照比较具有统计学意义($P < 0.05$)。B 组内比较与 A 组相似(表 1)。

2.2 ERG ERG 是闪光刺激诱发的视网膜综合电位反应,实验主要观察 Mre, Rre 和 Ops 的 b 波振幅和峰潜时。在 0.5, 1, 7, 14d 四个时间点, AT3 联合应用组 Mre, Rre 和 Ops 的 b 波峰潜时低于 Dex 组($P < 0.05$),而振幅值高于 Dex 组($P < 0.05$, 表 2)。

3 讨论

视神经作为中枢神经系统的一部分是由视网膜神经节细胞(RGC)发出的轴束汇集而成,其损伤在眼科很常见,可导致 RGC 的渐进性死亡,影响患者视力。RGC 的不可再生性使得这类疾病的治疗一直以来缺乏良好的治疗效果。AT3 对缺血性眼病的治疗已为大量的临床实践及动物实验所证实,但在单纯视神经挫伤的基础研究方面,其研究并不多,而临床上此类病又很常见,因此我们采用单纯夹伤大鼠视神经的方法建立视神经挫伤模型,比较传统 Dex 治疗和 Dex 联合 AT3 球后注射治疗在视神经挫伤后的疗效,观察 AT3 在视神经挫伤治疗方面是否具有临床应用价值,同时希望为这类疾病的治疗提供一种较好的思路。1865 年瑞典科学家 Holmgren 采用灵敏的电流计首次观察到鱼眼在受到闪光刺激后产生的电流变化,最早发现了 ERG 这一眼电生理现象。ERG 无论是在清醒或是麻醉的动物或人类完整的眼上都能记录到,稳定性好,在各种不同的条件状态下均可进行定量观察研究。随后 VEP 的快速发展使视网膜到视皮层区整个视路的活动有了可能量化的工具。F-VEP 是视网膜受闪光刺激后,在枕叶视皮层产生的电活动,反映中心部视网膜功能,其峰潜时主要反映视神经传导机能,振幅反映黄斑部视网膜机能。ERG 是短暂闪光刺激诱发的视网膜综合电位反应,从视网膜细胞水平来评价视功能,主要由一个负相的 a 波和一个正相的 b 波组成,叠加在 b 波上的一组小波为 Ops。a 波起源于光感受器,是光刺激后发生的最初反应;b 波起源于内核层的双极细胞和 Müller 细胞;Ops 来源于无长突细胞,反映内丛状层到节细胞的功能,与近端视网膜反馈性突触环路活动有关,而此环路功能与供应视网膜内层的中央动静脉系统的血液循环功能状态有关,Ops 可以间接反映视网膜血液循环功能。我们的实验选择这两种检测手段,主要观察 F-VEP 的 P₁波及 ERG 的 Mre, Rre 和 Ops 的 b 波振幅和峰潜时,以验证两种治疗方法对同一疾病模型的治疗情况。

研究发现, AT3 在视神经挫伤治疗上的联合应用明显地提高了单纯应用 Dex 治疗所带来的疗效。在 7, 14d 两个观察时间点, AT3 联合应用组 F-VEP 的 P₁波峰潜时明显低于 Dex 组,而振幅值高于 Dex 组, ERG 的观察结果也

表1 大鼠 F-VEP 的 P₁ 波峰潜时和振幅

分组	$\bar{x} \pm s$				
	Con	0.5d	1d	7d	14d
A 峰潜时(ms)	60.2 ± 3.1	64.2 ± 6.8	68.0 ± 2.6	63.6 ± 3.5	65.0 ± 1.7
振幅(μV)	21.7 ± 4.9	11.6 ± 2.8	11.8 ± 3.7	9.2 ± 2.4	9.3 ± 1.5
B 峰潜时(ms)	58.3 ± 5.7	62.2 ± 4.8 ^a	63.0 ± 7.3 ^b	61.5 ± 2.0 ^a	61.0 ± 4.6 ^a
振幅(μV)	22.4 ± 5.1	14.2 ± 5.9 ^b	15.2 ± 9.4 ^b	17.3 ± 4.3 ^b	16.8 ± 2.2 ^b
C 峰潜时(ms)	60.2 ± 4.5	65.8 ± 3.8 ^b	62.3 ± 6.3 ^b	59.7 ± 2.2 ^{b,c}	57.8 ± 4.3 ^{b,d}
振幅(μV)	19.4 ± 3.2	16.9 ± 5.6 ^b	17.4 ± 7.1 ^b	18.8 ± 3.4 ^{b,c}	19.0 ± 5.1 ^{b,c}

^aP < 0.05, ^bP < 0.01 vsA 组; ^cP < 0.05, ^dP < 0.01 vsB 组。

表2 大鼠 ERG Mre b 波和 Rre b 波及 Ops

分组	指标	$\bar{x} \pm s$				
		Con	0.5d	1d	7d	14d
A Mre	潜伏期(ms)	38.4 ± 3.0	48.1 ± 2.1	46.1 ± 1.5	45.6 ± 2.6	46.9 ± 2.8
	振幅(μV)	286.9 ± 9.9	245.5 ± 18.6	229.9 ± 15.6	215.9 ± 8.9	253.0 ± 15.2
Rre	潜伏期(ms)	78.7 ± 2.6	81.1 ± 4.5	82.6 ± 6.3	89.5 ± 4.6	82.4 ± 4.4
	振幅(μV)	16.3 ± 2.2	12.3 ± 3.1	13.5 ± 5.6	14.5 ± 3.9	15.1 ± 1.4
Ops	潜伏期(ms)	28.9 ± 2.6	34.5 ± 1.1	37.4 ± 3.3	32.5 ± 1.3	33.2 ± 1.6
	振幅(μV)	16.1 ± 1.9	22.0 ± 1.5	24.1 ± 7.0	24.4 ± 3.6	20.6 ± 4.7
B Mre	潜伏期(ms)	39.1 ± 2.2	46.5 ± 4.7 ^a	44.4 ± 4.5	44.8 ± 1.8 ^a	45.6 ± 1.4 ^a
	振幅(μV)	283.4 ± 8.7	239.4 ± 10.6 ^a	241.6 ± 13.7 ^a	245.9 ± 9.6 ^a	264.1 ± 18.3 ^a
Rre	潜伏期(ms)	76.5 ± 3.0	80.6 ± 6.7	82.3 ± 4.6	86.6 ± 3.5 ^a	82.9 ± 3.7
	振幅(μV)	15.8 ± 2.1	13.9 ± 2.9 ^a	14.8 ± 4.8 ^a	15.4 ± 2.8 ^a	16.5 ± 2.6 ^a
Ops	潜伏期(ms)	29.4 ± 2.0	31.8 ± 3.8	36.5 ± 4.8	31.8 ± 3.2	31.9 ± 3.3
	振幅(μV)	16.8 ± 2.2	24.5 ± 1.7 ^a	26.6 ± 4.6 ^a	24.7 ± 3.4	23.5 ± 5.5 ^a
C Mre	潜伏期(ms)	38.3 ± 3.0	46.8 ± 2.1 ^a	44.1 ± 1.5 ^a	43.6 ± 1.6 ^a	40.4 ± 2.4 ^{b,d}
	振幅(μV)	287.4 ± 9.4	244.6 ± 18.6 ^a	259.4 ± 11.6 ^{b,c}	262.3 ± 9.7 ^{b,c}	269.4 ± 17.6 ^{b,c}
Rre	潜伏期(ms)	75.8 ± 2.6	81.4 ± 4.5	82.4 ± 6.3	84.5 ± 2.5 ^{a,c}	78.9 ± 3.9 ^{a,c}
	振幅(μV)	16.9 ± 2.2	13.6 ± 1.1 ^a	15.5 ± 2.4 ^a	15.0 ± 2.6 ^a	16.5 ± 2.2 ^a
Ops	潜伏期(ms)	27.4 ± 2.6	33.5 ± 1.3	36.4 ± 2.7	29.5 ± 2.1 ^{b,c}	28.9 ± 4.2 ^{b,c}
	振幅(μV)	17.6 ± 1.9	23.6 ± 2.3	27.1 ± 4.8 ^b	27.4 ± 2.9 ^{b,d}	27.8 ± 5.3 ^{b,d}

^aP < 0.05, ^bP < 0.01 vsA 组; ^cP < 0.05, ^dP < 0.01 vsB 组。

与此类似。虽然我们的实验并未直接地损伤视网膜血管,但是由于视神经的损伤继发局部微循环的障碍仍然可产生由于血供不足所带来的损害。例如血管的痉挛及异常舒缩反应,致视细胞缺血缺氧,组织自溶合并坏死。还可能是由于局部组织肿胀,内部压力增高,局部组织坏死,进一步加重轴浆运输障碍。使用大量的 Dex,可以减轻视神经管内视神经损伤后的局部水肿,抑制炎症介质的合成与释放,提高视神经的应激能力^[2,3],但是对于神经损伤后的微循环障碍,以及血管内部的一些消极因素,还需要辅以其它相应药物。Ops 反映视网膜血液循环功能,AT3 联合应用组 ERG 的 Ops 波峰潜时和振幅值表现明显优于单纯 Dex 组。这也证实 AT3 可以通过调节缺血区血管活性物质保持正常水平,缓解血管痉挛^[4],稳定和保护区血管内皮细胞,抑制损伤区域微血管内皮素的异常表达和释放,维持血管正常紧张度及血流量,从而改善血液微循环,促进侧支循环,增加血流量,缓解局部水肿,减轻循环障碍^[5],增加对神经的供血供氧作用,改善神经组织所处的外环境,营养神经细胞,加速有害物质的循环与代谢,促进其功能恢复。球后注射的 AT3 通过局部神经末梢调整脉络膜血管反应,改善脉络膜血流,降低 cAMP,从而减少肾上腺素合成,减轻血管痉挛,调整眼血管运动功能,改善

眼组织供血,降低神经挫伤带来的继发性微循环障碍,同时其还可以调整大脑皮层功能,调整眼神经、血管功能来改善视功能。

虽然,目前 AT3 在眼科临床中主要还是应用在视网膜缺血性疾病的治疗方面,其对缓解视网膜血管痉挛,改善血流量,以及缺血性眼病的治疗取得了较好的疗效^[4],但在视神经挫伤后神经保护的具体机制目前还不清楚,而这种神经保护机制的进一步研究可能会对此类疾病的治疗提供一种新的思路和方法,这还需要更多的分子和组织生物学方面的实验。

参考文献

- 1 丁国鹏,燕振国,何涛,等. 大鼠急性视网膜缺血节细胞死亡时脑红蛋白的表达. 中华眼科杂志 2010;46(7):590-596
- 2 李昆,刘宣,海欧. 复方樟柳碱联合神经生长因子治疗视神经视网膜挫伤 26 例. 国际眼科杂志 2005;5(2):393-394
- 3 陈君平,曹应华. 视神经挫伤药物治疗临床分析. 眼外伤职业眼病杂志 2003;25(3):198-199
- 4 郝照莲. 复方樟柳碱治疗缺血性视神经病变. 眼科新进展 2004;24(5):368
- 5 滕学龙. 复方樟柳碱治疗前部缺血性视神经病变的临床观察. 国际眼科杂志 2004;4(4):778