

青光安有效组份对兔眼滤过术后滤过道瘢痕组织成纤维细胞和 I 型胶原蛋白的影响

刘 艳, 彭清华

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81273807);教育部博士点基金专项课题(No. 20124323110006);国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目;中国湖南省自然科学基金重点资助项目(No. 11JJ2050);中国湖南省教育厅科研基金重点资助项目(No. 06A052, No. 10A094);中国湖南省卫生厅科研基金项目(No. 204084);国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目;湖南省中医五官科学重点学科建设项目

作者单位:(410007)中国湖南省长沙市,湖南中医药大学第一附属医院眼科

作者简介:刘艳,硕士,医师,研究方向:眼底病。

通讯作者:彭清华,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:青光眼、眼底病。pqh410007@126.com

收稿日期:2013-01-27 修回日期:2013-04-26

Effects of effective components of Qing Guang An on inoblast and type I collagen of scarring tissue of filtration canal after glaucoma surgery

Yan Liu, Qing-Hua Peng

Foundation items: National Nature Science Foundation of China (No. 81273807); Ph. D Programs Foundation of Ministry of Education of China (No. 20124323110006); Key Project of Ophthalmology of Chinese Medicine of the State Administration of Traditional Chinese Medicine; Key Project of Hunan Provincial Natural Science Foundation, China (No. 11JJ2050); Research Foundation of Education Bureau of Hunan Province, China (No. 06A052, 10A094); Research Foundation of Health Department of Hunan Province, China (No. 204084); Key Project of Ophthalmology of Chinese Medicine of the State Administration of Traditional Chinese Medicine; Key Project of Otorhinolaryngology of Chinese Medicine of Department of Education of Hunan Province, China

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China

Correspondence to: Qing-Hua Peng. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China. pqh410007@126.com

Received:2013-01-27 Accepted:2013-04-26

Abstract

• **AIM:** To observe effects of four effective components of Qing Guang An on inoblast and type I collagen of scarring tissue of filtration canal after glaucoma surgery, and discuss their effect and function mechanism on preventing its formation.

• **METHODS:** Four effective components of Qing Guang An were used in rabbit eyes after glaucoma surgery (Group D, E, F, G), with the blank group (A), model group (B), MMC group comparison (C). Effects of four effective components of Qing Guang An on inoblast and type I collagen of scarring tissue of filtration canal after glaucoma surgery were observed.

• **RESULTS:** After surgery, MMC group (C), effective component 2 (E) groups of intraocular pressure rose slowly. At the fourth week, intraocular pressure remained minimum. The compare of these two groups of intraocular pressure and those of group A, B, D, F, G had significance on statistics. Comparing with the number of inoblast of each group, except group D and E, which result was $P > 0.05$ and had no obvious significance on statistics, others were significant. Comparing with the expression of type I collagen, except group C and E, B and G, F and G, result of others had obvious significance on statistics showing as $P < 0.05$.

• **CONCLUSION:** The scarring of filter canal after glaucoma surgery is main cause of the filtration surgery's failure assuming abnormal backup intraocular pressure. The effective component 2 of Qing Guang An and MMC can obviously inhibit the multiplication of inoblast and the expression of type I collagen, reduce the hyperplasia of scar tissue, which has obvious effect for preventing scarring of filtration canal.

• **KEYWORDS:** glaucoma; the scarring of filtration canal; effective components of Qing Guang An; inoblast; type I collagen

Citation: Liu Y, Peng QH. Effects of effective components of Qing Guang An on inoblast and type I collagen of scarring tissue of filtration canal after glaucoma surgery. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(5):845-849

摘要

目的: 观察青光安 4 种有效组份对青光眼术后滤过道瘢痕组织成纤维细胞和 I 型胶原蛋白的影响,探讨青光安有效组份抗青光眼术后滤过道瘢痕化的效果及作用机制。

方法: 将青光安有效组份作用于滤过性手术后兔眼(D, E, F, G 组),通过与空白组(A 组)、模型组(B 组)、MMC 组(C 组)的比较,观察青光安 4 种有效组份对青光眼术后滤过道瘢痕组织成纤维细胞和 I 型胶原蛋白的影响。

结果: 术后 MMC 组及有效组份 2 组(E 组)眼压回升缓慢,第 4wk 时眼压仍为最小,该两组眼压值与其他组眼压值比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。成纤维细胞个数组间比较,除组份 1 组与组份 3 组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)外,其他各组间比较差异均有统计学意义($P <$

0.05)。I型胶原蛋白的表达除C组与E组、B组与G组、F组与G组间胶原表达差异无统计学意义($P>0.05$),其他组间两两比较结果,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论:青光眼术后滤过道瘢痕化,是导致术后眼压异常回升、滤过性手术失败的重要原因。青光安有效组份2和MMC都可通过抑制成纤维细胞增殖和I型胶原蛋白表达明显减少瘢痕组织增生,具有明显的抗青光眼术后滤过道瘢痕化的作用。

关键词:青光眼;滤过道瘢痕化;青光安有效组份;成纤维细胞;I型胶原蛋白

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.05.02

引用:刘艳,彭清华.青光安有效组份对兔眼滤过术后滤过道瘢痕组织成纤维细胞和I型胶原蛋白的影响.国际眼科杂志2013;13(5):845-849

0 引言

青光眼是一类致盲率高、治疗比较困难的眼科常见病。青光眼的治疗以降眼压为根本,手术是目前治疗药物不能控制眼压的青光眼的重要手段。自青光眼手术开展以来,滤过性手术一直是最主要手术方式。滤过性手术的方法虽然经过了多次改良,但其术后2a内失败率仍然高达15%~30%^[1],而难治性青光眼手术治疗的成功率更低,一般只有11%~52%^[2]。

青光安颗粒剂已在临床应用于青光眼滤过术后治疗17a,前期实验和临床研究表明,青光安颗粒剂口服能够有效稳定术后眼压,维持功能滤过泡的形态,减少手术区结膜下瘢痕面积,抑制成纤维细胞增殖。但青光安是中药复方药物,其疗效的物质基础还不清楚。本课题组前期研究已建立抗滤过道瘢痕化的高通量筛选体系,针对已有相当研究基础的青光安颗粒剂,进行抗滤过道瘢痕化的中药有效组份高通量筛选,寻找出了4种抗滤过道瘢痕化的有效组份。为找出最优的一种组份,我们通过动物实验探讨青光安有效组份抗青光眼术后滤过道瘢痕化的效果及作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取健康成年新西兰长耳白兔42只,远交系,SPF级,雌雄不拘,体质量1.8~2.2kg,实验前排除全身性病变,双眼部情况检查均正常。采用随机数字法分为7组,每组6只。分别为:A组:空白组;B组:模型组;C组:MMC对照组;D组:有效组份1组;E组:有效组份2组;F组:有效组份3组;G组:有效组份4组。将B、C、D、E、F、G六组实验动物兔眼左眼行常规小梁切除+虹膜根部切除术;C组在术中联合应用MMC;A组不做任何处理。各组在造模后第2d开始用药。

1.1.2 主要仪器设备和手术器材 压陷式眼压计,裂隙灯显微镜,手持式直接检眼镜,显微眼科手术器械,YZZOT眼科手术显微镜,石蜡切片机,Haier医用微波炉,S2-93型自动双重纯水蒸馏器,电热恒温培养箱,电热恒温干燥箱,双目显微镜,显微摄像机,Image Pro Plus 6.0计算机图像分析系统。

1.1.3 主要药品和试剂 丝裂霉素C,庆大霉素,地塞米松,氧氟沙星滴眼液,青光安最优有效化学组分(共4种),水合氯醛,I型胶原兔抗人单克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司生产),过氧化物酶标记链酶白卵素

(武汉博士德生物工程有限公司生产),3,3-二氨基联苯胺(3,3-diaminobenzidine, DAB)显色剂(武汉博士德生物工程有限公司生产)。

1.2 方法

1.2.1 青光眼滤过手术动物模型建立 水合氯醛配制成浓度100g/L的溶液,按3~4mL/kg耳缘静脉注射麻醉,压陷式眼压计测基础眼压并记录。生理盐水冲洗结膜囊,在手术显微镜下行左眼小梁切除+虹膜根部切除术;简易开睑器开睑,缝上直肌牵引线,上方角膜缘剪开球结膜和球筋膜约3个钟点范围,做以穹隆部为基底的结膜瓣,暴露准备做巩膜瓣的区域;沿测量标记做以角膜缘为基底的四边形巩膜瓣,大小约3mm×4mm,深度为1/2巩膜厚度,小心向前分离至透亮角膜内至少0.5mm处,做1mm×2mm大小的小梁组织切除并做虹膜根部切除;将巩膜瓣复位对合后,于其两游离角用10/0尼龙线缝合缝1针,做不可调节缝线;于结膜切口的两端角巩膜缘处各1针缝合结膜切口。手术完成后均于非手术区球结膜下注射庆大霉素加地塞米松0.5mL一次,滴氧氟沙星滴眼液抗感染1wk。

1.2.2 给药方法 空白组、模型组;两组于术后第2d开始给药,以生理盐水5mL/kg灌胃,每日1次,持续4wk;MMC对照组;参照目前MMC与滤过手术联合使用的常用方法,MMC对照组采用术中给药,即在做巩膜瓣之前,用1块大小4mm×4mm含MMC的棉片(MMC浓度0.2mg/mL)放入手术区结膜瓣下巩膜上,放置2min后取出,立即用100mL生理盐水充分冲洗干净术区,再完成之后的手术操作。于术后第2d开始以生理盐水5mL/kg灌胃,每日1次,持续4wk;有效组份1组~有效组份4组;各组于术后第2d开始给药,以相应的有效组份灌胃,例如有效组份1组以青光安有效组份1灌胃,按照成人体表面积法(人体重按60kg计)计算需要灌胃的药物剂量,再按药物组份提取收集率^[3],算得兔用药剂量,溶于生理盐水中,以5mL/kg灌胃,每日1次,持续4wk。

1.2.3 眼压的测量 用现配制的100g/L水合氯醛溶液作兔耳缘静脉注射麻醉,压陷式眼压计在校验台上校正后以750mL/L乙醇消毒3遍,待乙醇完全挥发干净后进行左眼眼压测量:将兔置于水平台面上,摆好头位使被测眼角膜平面与地平线平行,左手轻掰开眼睑,右手持眼压计手柄,刻度盘有刻度一面朝向检测者,将眼压计垂直放置于角膜正中央(眼压计砝码均用5.5g固定砝码),记录指针所指数值进行眼压换算,每次每眼测量3次,取其平均值。注意在操作过程中双手勿给眼球施加任何压力,以确保是砝码自身的重量压陷角膜。

1.2.4 手术区兔结膜下成纤维细胞增殖情况 术后常规饲养条件饲养及给药4wk后,空气注射处死动物,完整摘除左眼球。放入4%多聚甲醛固定2h后,用注射器从6:00方向角巩膜缘刺入眼球,向内注入少量4%多聚甲醛,再投入固定液中固定24h^[4]。将标本从固定液中取出,用锋利剪刀剪下眼球上手术区10mm×10mm范围内的全层眼球壁及周边组织。制作石蜡切片,取其中一部分HE染色后,高倍镜下滤过泡区域随机选取5个视野拍照,计算每个高倍视野下成纤维细胞数量(包括活动期和成熟期)并做统计学分析。

1.2.5 滤过泡区域内Tenon囊组织中I型胶原蛋白的表达 所制作的剩余部分石蜡切片经免疫组织化学处理后,高倍镜下滤过泡处随机选取5个视野拍照,用Image-

表1 各组动物眼压测量结果

($\bar{x} \pm s$, mmHg, $n=6$)

分组	术前	术后第2d	术后1wk	术后2wk	术后4wk
A组	17.02±1.11	16.53±1.79	16.09±1.56	16.00±1.91	16.08±1.38
B组	16.73±0.95	9.20±1.12 ^{a,c}	14.12±1.23 ^{a,c}	16.48±1.21	16.53±1.36
C组	16.83±0.89	8.98±0.96 ^{a,c}	9.22±1.39 ^{a,c}	10.93±1.17 ^{a,c}	10.38±1.31 ^{a,c}
D组	17.27±0.83	9.07±1.16 ^{a,c}	11.15±1.23 ^{a,c}	14.73±1.16 ^c	15.27±1.58 ^c
E组	16.91±0.69	8.78±1.00 ^{a,c}	10.57±0.98 ^{a,c}	13.10±0.97 ^{a,c}	13.37±0.98 ^{a,c}
F组	17.80±1.41	9.00±1.79 ^{a,c}	11.43±1.03 ^{a,c}	14.57±1.06 ^c	14.62±1.33 ^c
G组	17.05±1.01	9.00±0.93 ^{a,c}	11.65±0.68 ^{a,c}	15.35±0.93 ^c	16.35±1.17

^a $P<0.05$ vs A组; ^c $P<0.05$ vs 术前。

表2 术后4wk 滤过泡成纤维细胞计数的结果

个

分组	标本1	标本2	标本3	标本4	标本5	标本6	$\bar{x} \pm s$
A组	11.2	10.6	11.6	11.0	10.4	11.4	11.03±0.463
B组	133.8	122.2	129.6	136.0	129.6	124.2	126.77±4.979
C组	36.8	34.2	36.4	35.0	33.2	36.4	35.33±1.440 ^a
D组	87.0	83.8	81.8	80.2	82.4	84.2	83.23±2.340 ^a
E组	70.0	71.0	72.2	72.0	70.8	72.4	71.40±0.947 ^a
F组	82.4	75.8	85.8	81.6	80.2	86.4	82.03±3.893 ^a
G组	113.2	113.6	108.8	109.2	115	105.6	110.90±3.599 ^a

^a $P<0.05$ vs B组。

Pro Plus 6.0 图像分析系统测量 I 型胶原蛋白平均光密度 AO(AO 为积分光密度 IOD 与图片中结膜上皮层和巩膜之间的空间总面积的比值)。

统计学分析:所有实验数据采用 SPSS 16.0 统计学软件处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,先进行正态性分布及方差齐性检验,若满足正态性和方差齐性,多组比较采用多样本均数多重比较方差分析(LSD- t 法及 Dunnet- t 法);不满足正态性和方差齐性时,则用秩和检验。计数资料采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为有统计学意义,以 $P<0.01$ 为有显著统计学意义。

2 结果

2.1 各组兔不同时间眼压测量结果 各组兔不同时间眼压测量结果见表1。术前各组眼压值比较差异无统计学意义($P>0.05$);术后第2d A组与其它各组眼压值比较,差异有显著统计学意义($P<0.01$),所有兔眼在青光眼术后第2d眼压都有明显下降;在术后第1wk, B组与其它各组眼压比较,差异均有统计学意义($P<0.05$), C组与E组眼压比较,差异无统计学意义($P>0.05$),但D, E, F, G组眼压值两两比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明在术后第1wk,该4组眼压值虽然较术后都有所增高,但D, F, G组眼压值与C组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),说明术后第1wk C组眼压增高最少, E组其次;术后第2wk, A组与B, D, F, G组眼压值两两比较,差异无明显统计学意义($P>0.05$),因为在术后2wk内, B, D, F, G组眼压值明显增高,基本达到术前水平。余B, C, D, E, F, G组之间两两比较中, B组与G组眼压比较,差异有统计学意义($P>0.05$); D, F, G组眼压值两两比较,差异有统计学意义($P>0.05$); E组与D, F组比较,差异有统计学意义($P>0.05$);其余两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。从实验数据可以看出, B组眼压值为升高最多的组,其次C组眼压升高值比D, E, F, G组眼压升高值要小, E组眼压比B和G组要小;术后第4wk, A, B, D, G组四组之间两两比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。F组与A, D, E组眼压值比较,差异也无统计学意义($P>0.05$),剩下的两两比

较,差异有统计学意义($P<0.05$),根据眼压数值及比较结果,说明在术后第4wk, C组与E组眼压值为最小。

术后不同时期各组的的眼压值与术前眼压值比较结果见表1。A组各时期眼压值比较,差异无统计学意义($P>0.05$); B组各时期眼压值两两比较结果:术前与术后2wk和4wk比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明B组眼压在术后2wk已再升高到术前水平; C组术后各时期眼压值与术前比较,均有统计学差异($P<0.05$)。术后各时期两两比较;因术后C组眼压为逐步缓慢回升不明显,术后第2d与术后1wk眼压值比较,差异无统计学意义($P>0.05$);第1wk与第4wk比较,第2wk与第4wk比较,差异无统计学意义($P>0.05$); D组、F组术后只有术后第2wk时与第4wk时眼压值比较,差异无统计学意义($P>0.05$);其余时期眼压值比较均有统计学意义($P<0.05$)。从眼压值具体数据可以看出术后D和F组眼压回升值及速度都介于B和C两组之间; E组组内比较情况和D, F组相同,说明E组术后眼压回升的速度规律与D, F组相同,但结合组间比较的结果可得出结论,其眼压回升值远小于这两组; G组眼压值两两比较,第2wk与第4wk比较,差异无统计学意义($P>0.05$);且术前与术后第4wk比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明G组在术后功能性滤过泡可维持一段时间,但最终不能维持足够的有效滤过,滤过道瘢痕化没有得到抑制。

2.2 各组兔手术区结膜下成纤维细胞增殖情况 术后第4wk手术区结膜下滤过泡区域内 Tenon 囊组织病理切片 HE 染色后,光镜×400 倍视野下观察滤过泡内成纤维细胞增殖情况见图1~7,表2。在术后第4wk,各组成纤维细胞数量都有不同程度的增加,实验数据满足正态性和方差齐性,用LSD- t 法及Dunnet- t 法进行统计学分析,结果显示D组与F组间比较,差异无明显统计学意义($P>0.05$)。其他各组间比较,差距有显著统计学意义($P<0.01$)。从实验结果可以看出,术后几种药物组份的使用对术后滤过道成纤维细胞的增殖均有一定的抑制作用,其中以MMC的作用最强,组份2的抑制作用也很显著。

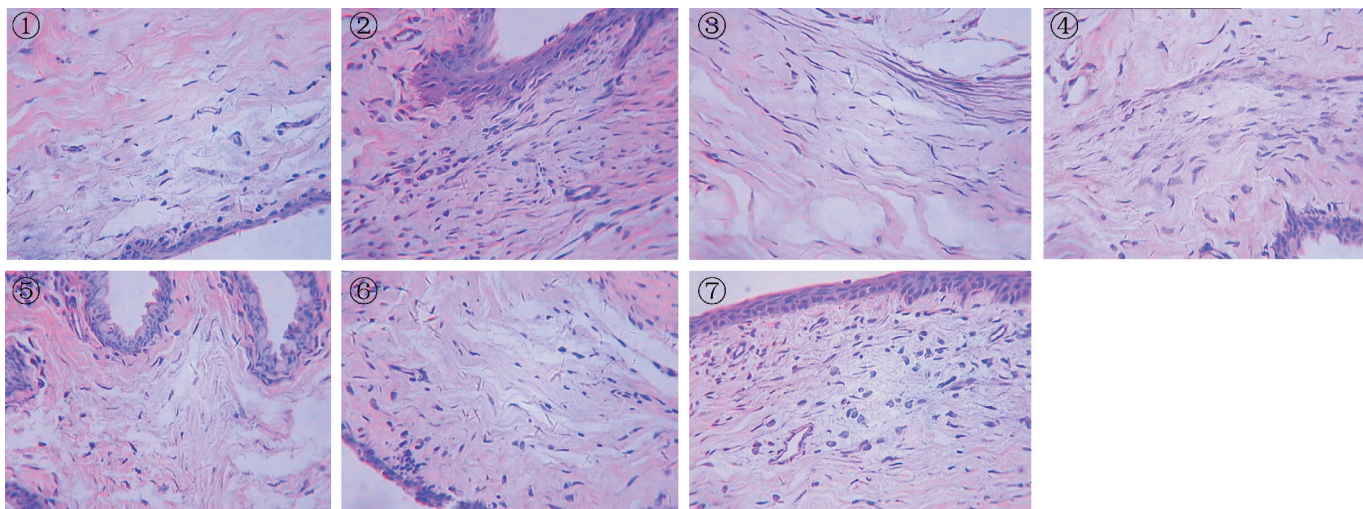


图1 A组成纤维细胞少,细胞形态规则,排列整齐(HE,×400)。
 图2 B组成纤维细胞大量增生,细胞形态不规则,排列紊乱(HE,×400)。
 图3 C组成纤维细胞增生较少,细胞排列整齐,形态规则(HE,×400)。
 图4 D组成纤维细胞增生较多,细胞形态尚规则(HE,×400)。
 图5 E组成纤维细胞增生较少,细胞形态规则,排列整齐(HE,×400)。
 图6 F组成纤维细胞增生较多,细胞形态不很规则(HE,×400)。
 图7 G组成纤维细胞大量增生,细胞增生排列紊乱(HE,×400)。

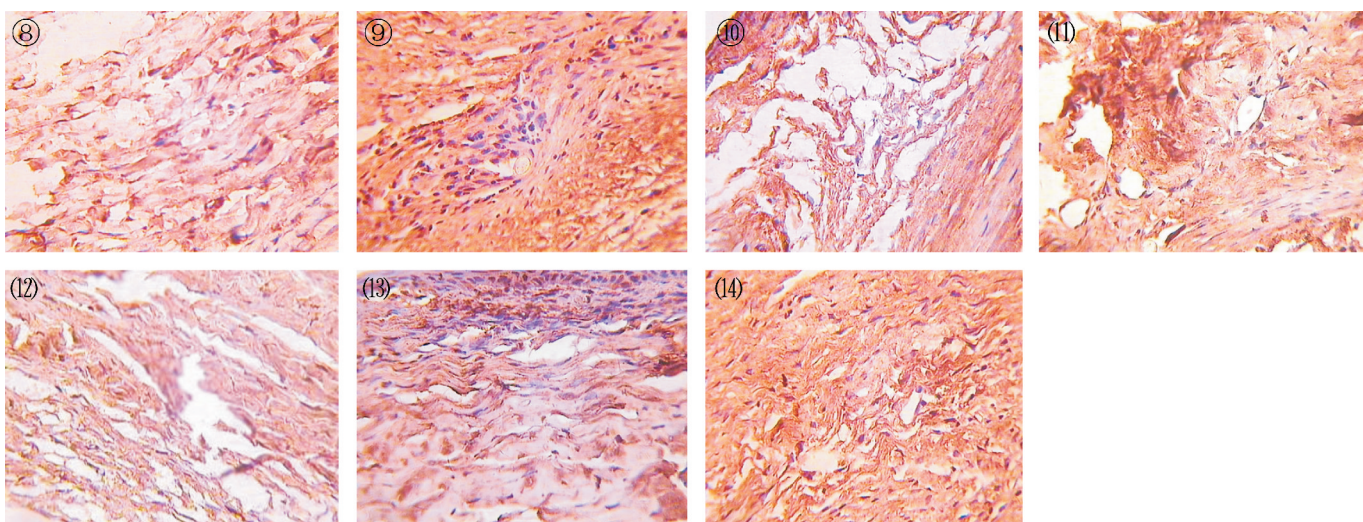


图8 A组正常结膜基质中胶原蛋白表达很少(HE,×400)。
 图9 B组胶原蛋白异常增高表达,胶原纤维致密(HE,×400)。
 图10 C组胶原蛋白表达比正常组增多,但胶原纤维稀疏,面积少(HE,×400)。
 图11 D组胶原蛋白表达较正常组明显增高,阳性面积率大(HE,×400)。
 图12 E组胶原蛋白表达较MMC组稍高,密度也大一些(HE,×400)。
 图13 F组胶原蛋白表达比B组少,基本同D组(HE,×400)。
 图14 G组胶原蛋白表达明显增高,基本达到B组水平(HE,×400)。

2.3 各组兔眼滤过泡区域内 Tenon 囊组织中 I 型胶原蛋白的表达 术后第4wk 手术区结膜下滤过泡区域内 Tenon 囊组织病理切片 HE 染色后,在光镜×400 倍视野下观察滤过泡内 I 型胶原蛋白的表达见图 8~14,具体情况见表 3。在术后第4wk,各组 I 型胶原蛋白量较正常 Tenon 囊组织都有不同程度的增加,多组数据采用多样本均数多重比较方差分析的结果示:除 B 组与 G 组,C 组与 E 组,F 组与 G 组间比较,胶原表达差异无统计学意义($P>0.05$); B 组与 F 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);其他组间两两比较,差异有明显统计学意义($P<0.01$)。可知,在青光眼滤过手术的过程中,结膜瓣下放置 MMC 棉片,可以使术后滤过道内瘢痕组织中 I 型胶原蛋白的合成极大的

减少,而术后口服青光安有效组份可以在不同程度上抑制 I 型胶原蛋白的合成,其中以有效组份 2 的效果最好。

3 讨论

现代眼科显微手术使得青光眼滤过性手术成功率大大提升,然而某些难治性青光眼,手术成功率仍很低^[5]。经过大量的青光眼术后临床病例的观察,探讨其失败的原因,发现主要是手术本身引起的组织创伤和术后修复达不到滤过手术后对术口不完全愈合的要求,滤过道瘢痕化,导致患者术后眼压回升、手术失败。

创伤后正常修复过程一般可分为早期局部炎症反应期、中期增殖期、后期重塑型期三个阶段。创伤修复的早期,基本持续 1wk 左右,因局部组织血管的损伤,血浆蛋白

表3 术后4wk滤过泡区域内I型胶原蛋白平均光密度结果

分组	标本1	标本2	标本3	标本4	标本5	标本6	$\bar{x} \pm s$
A组	0.051	0.007	0.048	0.034	0.012	0.027	0.030±0.018 ^a
B组	0.424	0.422	0.463	0.438	0.378	0.418	0.441±0.025
C组	0.170	0.166	0.241	0.162	0.148	0.098	0.164±0.046 ^a
D组	0.334	0.345	0.267	0.308	0.362	0.316	0.322±0.033 ^a
E组	0.204	0.205	0.162	0.238	0.178	0.227	0.202±0.029 ^a
F组	0.341	0.359	0.388	0.353	0.384	0.416	0.374±0.028 ^a
G组	0.412	0.397	0.430	0.440	0.429	0.352	0.410±0.032

^a $P < 0.05$ vs B组。

和血液流出,机体的凝血机制启动,血小板释放,血管的通透性增加,大量的炎性细胞迁移、增殖和内流,尤其是巨嗜细胞的出现,释放细胞因子,促进炎症反应过程和纤维形成。在增殖期阶段中,最主要的是周围组织中静止的成纤维细胞,在各种化学趋化因子、机体凝血系统及巨噬细胞释放的因子刺激下被活化,迁移到创伤处增殖,合成分泌结缔组织的基质成分,比如胶原蛋白、黏连蛋白和黏多糖等。在移行增殖的过程中,成纤维细胞最活跃的时期是手术后3~5d,之后逐渐下降,到第2wk左右恢复到正常水平。在第三个阶段重塑型期,成纤维细胞释放包括具有溶蛋白活性的酶类,反过来调节细胞外基质的降解及重新合成,溶解细胞外基质,使胶原纤维发生重塑型。之后成纤维细胞收缩,胶原蛋白脱水凝聚成胶原纤维,成纤维细胞逐渐发生凋亡,增生血管减少,最后形成成熟瘢痕组织。创伤后修复过程成纤维细胞增生和胶原合成在4wk内达到相对稳定的状态,但收缩和重塑型阶段可以持续1a以上^[6]。在创伤修复的过程中,若受到病理因素的影响,在眼部滤过性手术之后主要为炎性渗出和房水屏障破坏,导致成纤维细胞形态功能非正常转化,发生过度增生,就会形成病理性瘢痕增生。青光眼滤过性手术后滤过道瘢痕化的形成是一个相当复杂的生理病理过程,其中最活跃的细胞是成纤维细胞,目前普遍认为成纤维细胞在瘢痕化形成过程中扮演重要角色。

青光安是根据青光眼术后的气阴两虚、血瘀水停的病理特点,以益气养阴、活血利水为治疗原则,选用黄芪、生地益气养阴,地龙、红花、赤芍通络活血,茯苓、白术、车前子利水祛湿,所制成的治疗青光眼术后的复方制剂。青光安颗粒剂前期动物实验研究表明,该药具有保护和改善急性高眼压后大鼠视网膜细胞色素氧化酶活性节细胞的作用^[7];用于慢性高眼压兔眼滤过性手术后模型上,发现青光安颗粒剂能明显减少术后结膜下瘢痕的形成,维持滤过泡的基本形态和滤过功能,预防术后眼压异常回升,减少眼压对视神经的压迫损害,明显地提高青光眼术后视力和视野的恢复^[8,9]。临床研究观察也证实,青光眼患者在术后口服青光安颗粒剂,能更好地维持滤过泡的滤过功能和低眼压状态,还可通过其改善眼底微循环和保护视网膜视神经节细胞的作用,促进患者术后视功能的恢复。为进一步探讨青光安作用于青光眼术后提高手术成功率的物质基础和作用机制,我们从药物有效组份的筛选和抗青光眼术后滤过道瘢痕化方面入手,寻找出其有效组份,试图进一步开发出提高青光眼滤过性手术成功率的创新药物。高通量筛选体系目前已逐渐成为药物筛选的主要方法。本课题前期研究实验已经将抗滤过道瘢痕化的高通量药物筛选体系应用于青光安,从青光安颗粒剂中分离出了五十余种组份,建立了青光安中药组份库,然后采用24孔培养板进行Tenon囊成纤维细胞培养,应用倒置荧光显微镜

并流式细胞仪检测方法,观察各个组份对体外培养的成纤维细胞中TGF- β 表达的影响,进行反复筛选后,最终筛选出了结果最优的4种青光安有效组份,证实了该4种组份能有效地抑制离体培养的成纤维细胞的增殖。

本实验通过成功建立滤过手术动物模型,将4种组份应用于术后动物模型上,并通过与空白组、手术模型组、MMC药物组比较,发现组份2组及MMC组术后4wk内眼压回升缓慢,第4wk时的眼压仍明显地小于术前眼压;成纤维细胞计数数量与正常手术组及其它3个组分组比较,差异有显著统计学意义($P < 0.01$),说明这两组的药物能较大幅度地抑制兔眼滤过性手术后滤过道瘢痕组织内成纤维细胞的增殖,使术后眼压稳定在低眼压状态;免疫组织化学方法检测滤过泡区域I型胶原蛋白的表达,该两组胶原蛋白光密度值与正常手术组比较,差异也有显著统计学意义($P < 0.01$),该两组中I型胶原蛋白的合成明显减少。根据本动物实验研究中眼压及成纤维细胞及I型胶原蛋白指标的结果,我们认为青光安有效组份2抗青光眼术后滤过术后滤过道瘢痕化的作用机制可能是:(1)减少滤过道处成纤维细胞的迁徙;(2)成纤维细胞分泌合成I型胶原的功能得到抑制,从而降低滤过道内胶原纤维的密度;(3)由于I型胶原等细胞外基质的密度降低,其交联黏附力度不够,反过来又抑制了成纤维细胞的增殖。以上几个原因循环交互,最终使得滤过道瘢痕组织增生较少,保持了滤过道的通畅。

通过本动物实验的研究证实,青光安有效组份有抗青光眼术后滤过道瘢痕化的作用,青光安有效组份2可能成为抗青光眼术后滤过道瘢痕化,提高手术成功率的一个全新安全药物。

参考文献

- 李宏. 干扰素 α - 2β 在青光眼滤过性手术后的应用. 中国局解手术学杂志 1999;8(3):212
- 孙兴怀. 青光眼手术治疗的进展及其选择. 继续医学教育 2006;20(21):40-48
- 姚新生. 中药天然药物活性成分的研究方法. 药学服务与研究 2003;3(4):205-209
- 付霞,刘金华,梁秀就. 大鼠眼球标本石蜡切片的改良制作方法. 眼科新进展 2007;6:417-419
- Wimmer I, Grehn F. Control of wound healing after glaucoma surgery. Effect and inhibit ion of the growth factor TGF- β . *Ophthalmologie* 2002;99(9):678-682
- 徐冬冬,李若梅,连琏,等. 晶状体和玻璃体提取物及地塞米松影响Tenon囊成纤维细胞增殖和胶原合成的实验研究. 中华眼科杂志 2005;41(5):443-448
- 彭清华,罗萍,李波. 青光安颗粒剂对实验性高眼压大鼠视网膜节细胞代谢作用的研究. 湖南中医学院学报 1997;17(2):53-56
- 罗萍,彭清华,李波. 青光安颗粒剂对慢性高眼压兔眼滤过性手术后作用的实验研究. 中国中西医结合杂志 2000;1(S1):121-122
- 罗萍,彭清华,李波,等. 青光安对高眼压兔眼滤过性手术后作用的研究. 辽宁中医杂志 2000;5(9):428-429