

# 益气养阴活血利水中药复方对兔视网膜脱离后 视网膜组织中 ATP 含量的影响

彭清华<sup>1</sup>, 刘婷<sup>1,2</sup>, 彭俊<sup>1</sup>, 谭涵宇<sup>1</sup>, 李建超<sup>1</sup>, 朱志容<sup>1</sup>

(1.湖南中医药大学中医眼科学重点学科,湖南长沙 410007;2.湖南旺旺医院眼科中心,湖南长沙 410016)

**〔摘要〕** **目的** 研究益气养阴活血利水中药复方(复明片)对兔实验性视网膜脱离后视网膜组织中 ATP 含量的影响。**方法** 将 48 只有色家兔随机分为正常对照组(A组)、模型对照组(B组)、西药对照组(C组)、复明片组(D组),每组 12 只。B、C、D 组制作视网膜脱离模型。造模后第 1 天给药,A组、B组予温开水灌胃;C组予西药混合溶液灌胃,以上均 1 次/d;D组予复明片混悬液灌胃,1 次/d。并于造模后 7、21 d 分别观察各组视网膜复位情况,取材后观察视网膜组织中 ATP 含量。**结果** 模型对照组视网膜组织 ATP 含量与正常对照组比较明显减少( $P<0.01$ ),与模型对照组比较,西药对照组和复明片治疗组 ATP 含量明显升高( $P<0.01$ )。至术后第 3 周,复明片治疗组 ATP 含量已与正常对照组无明显差异( $P>0.05$ )。**结论** 益气养阴活血利水中药复方(复明片)能改善视网膜脱离后视网膜组织的能量代谢,有助于视功能的恢复。

**〔关键词〕** 益气养阴活血利水方;复明片;视网膜脱离模型;视网膜组织;ATP 含量

**〔中图分类号〕**R285.5;R774.1\*3

**〔文献标识码〕**A

**〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.07.006

## Effects of Yiqi Yangyin Huoxue Lishui Compound on ATP Contents in Retinal Tissue after Retinal Detachment of Rabbits

PENG Qinghua<sup>1</sup>, LIU Ping<sup>1,2</sup>, PENG Jun<sup>1</sup>, TAN Hanyu<sup>1</sup>, LI Jianchao<sup>1</sup>, ZHU Zhirong<sup>1</sup>

(1. Key Discipline of TCM Ophthalmology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Ophthalmology Department of Wangwang Hospital of Hunan, Changsha, Hunan 410016, China)

**〔Abstract〕 Objective** To study the effects of Yiqi Yangyin Huoxue Lishui Compound (Fuming tablet) on ATP contents in retinal tissue after retinal detachment of rabbits. **Methods** 48 rats were randomly divided into normal control group (group A), model control group (group B), Western medicine control group (group C), FuMing tablet group (group D), 12 rabbits in each group. The retinal detachment models were made in group B, C and D. After one day of modeling, the rabbits in group A and B were lavaged with warm water, the group C were lavaged with Western medicine solution, while group D were lavaged with Fuming tablet suspension, each group was lavaged once for one day, respectively. The retinal reattachment and ATP content of retinal tissue at 7th and 21st day were observed. **Results** Compared with the normal control group, the ATP content of retinal tissue in model group were decreased obviously ( $P<0.01$ ). Compared with model group, ATP content of Western medicine group and Fuming tablet group was significantly increased ( $P<0.01$ ). After three weeks of operation, the ATP content between normal group and Fuming tablet group has no significant difference ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Fuming Tablet could improve the energy metabolism of retina tissue after retinal detachment, and promote the recovery of visual function.

**〔Keywords〕** Yiqi Yangyin Huoxue Lishui compound; Fuming tablets; retinal detachment model; retinal tissue; ATP content

**〔收稿日期〕**2015-12-02

**〔基金项目〕**湖南省自然科学基金资助项目(06JJ50056);湖南省教育厅科研基金资助课题(98B078,06A052);湖南省高层次卫生人才“225”工程资助项目。

**〔作者简介〕**彭清华,男,二级教授,主任医师,博士研究生导师,主要从事中西医结合防治眼底病、青光眼和眼表疾病的研究, E-mail:pqh410007@126.com。

视网膜脱离(retinal detachment, RD)是指视网膜色素上皮与神经上皮之间的分离,发展较快,对视力损害严重,是严重的致盲眼病;在众多致盲因素中占第5位,14岁以下儿童占第4位<sup>[1]</sup>。前期研究发现,益气养阴活血利水法能促进患者RD术后视网膜的复位,提高其术后视功能<sup>[2]</sup>。为了进一步深入探讨其对RD作用机制,本实验通过用益气养阴活血利水中药复方(复明片)对兔实验性RD后进行干预,观察其视网膜组织中ATP含量的影响,报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 健康成年家兔48只,雌雄各半,体质量2.0~2.5 kg,由湖南中医药大学实验动物中心提供。动物合格证号:医动字第20-003号。

1.1.2 主要药物 益气养阴活血利水中药复方复明片<sup>[3]</sup>按现代制剂制备工艺由黄芪、茯苓、生地黄、车前子、地龙、赤芍、红花、白术等制成,0.3 g/片。药物由湖南中医药大学第一附属医院药剂科提供。使用时配制成浓度为10%混悬液。

三磷酸腺苷二钠片(ATP):20 mg/片,福建古田药业有限公司生产,批号:040327-1;维生素B<sub>1</sub>(VitB<sub>1</sub>):10 mg/片,湖北华中药业有限公司生产,批号:20040301;维脑路通:60 mg/片,山西晋新药业集团有限公司生产,批号:040311使用时研成粉末,温开水混合,配制成每升含VitB<sub>1</sub>276 mg、ATP 1 102 mg、维脑路通734 mg的溶液;1%透明质酸钠(Healen):由上海其胜生物工程有限公司配制。

### 1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 48只成年健康有色家兔随机抽取12只(12只眼)作为正常对照组(A组),其余36只(36只眼)造成RD动物模型,并随机分成模型对照组(B组),西药对照组(C组),复明片治疗组(D组),每组12只(12只眼)。各组又分为1、2两个小组,以做术后1周(网膜未复位)、术后3周(网膜复位早期)两个不同时间点的观察检测。

1.2.2 RD模型的建立 参照彭清华<sup>[3]</sup>等造模方法并加以改进。

(1)实验动物的准备 术前3 d用0.25%氯霉素眼药水和1%阿托品眼药水交替滴眼3次/日。手术当日用生理盐水冲洗结膜囊,术前滴1%的利多卡因眼药水2~3次。

(2)手术器械的改良 自制视网膜下腔注射针头:

将27 G Healon注射针前部的弯折扳直,并将圆头针尖磨成60°角,同时,针前部2 mm处稍弯。自制视网膜下腔微量注射器:以一静脉输液管连接两个1 mL注射器。

(3)手术操作 兔称质量,固定,按4 mL/kg耳缘静脉注入25%乌拉坦做全身麻醉。常规消毒铺巾,缝线开睑,下方筋膜下注入2%利多卡因0.2 mL形成泡状隆起,沿角巩缘剪开球结膜和筋膜并稍向下分离,暴露巩膜。在距角巩缘5 mm睫状体平坦部用25 GB-D针头垂直球壁刺穿巩膜,伸入27 G视网膜下腔注射针头,在眼底接触镜和显微镜直视下观察到伸入玻璃体内的针尖,小心地把针尖引向后极部,避开视网膜血管,在颞侧距视乳头1个视盘直径(PD)放射状网膜处刺穿视网膜,进入视网膜下腔,助手缓慢推动注射器,注入1%Healon 0.2 mL,可见视网膜被Healon分离,脱离的视网膜呈大片灰白色隆起。退出针头,无需缝合巩膜和球结膜,结膜囊涂0.5%四环素眼膏,肌肉注射庆大霉素4万U。

1.2.3 给药方法 造模后第2天开始给药,A组(正常对照组)与B组(模型对照组)均予温开水灌胃,5 mL/kg,每日1次。C组(西药对照组)予西药混合溶液灌胃,5 mL/kg,每日1次。D组(复明片治疗组)予复明片混悬液,剂量为3.3 mL/kg。

### 1.3 视网膜组织中ATP含量测定

在解剖显微镜下剥离视网膜,用滤纸吸其水分,电子天平称其湿重。用双蒸水按照湿重:体积=1:19配制成5%的视网膜匀浆液,用无机磷测定法测ATPase活性。按ATPase测定简便操作法的操作步骤,先在对照管和测定管中加入各种试剂或样本,混匀后37℃水浴反应10 min。然后再分别加入另外的试剂或样本混匀,3 000~4 000 r/min离心10 min。各取上清液100 μL定磷用。根据要求加入试剂,45℃水浴20 min,冷却至室温,在660 nm处,1 cm光径,蒸馏水调零,比色,测得标准管、测定管和对照管的OD值。按公式计算得到ATPase活性。

### 1.4 统计学方法

运用SPSS 13.0统计软件进行处理,以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料;组间先用方差分析,方差齐性,用完全随机 $t$ 检验;若方差不齐,用非参数检验。

## 2 结果与分析

益气养阴活血利水中药复方复明片对视网膜组织ATP含量的影响,从表中可以看出,模型对照组

视网膜组织 ATP 含量与正常对照组比较明显减少 ( $P<0.01$ ),与模型对照组比较,西药对照组和复明片治疗组 ATP 含量明显升高 ( $P<0.01$ )。至术后第 3 周,复明片治疗组 ATP 含量已与正常对照组无明显差异 ( $P>0.05$ )。表明复明片能改善视网膜组织细胞能量代谢。见表 1。

表 1 各组视网膜脱离后视网膜组织  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ 转运 ATP

组别	n	酶活性变化	
		第 1 周	第 3 周
正常对照组	6	3.340 0±0.099 2	3.277 5±0.101 8
模型对照组	6	1.059 5±0.103 2*	2.103 3±0.100 6*
西药对照组	6	1.944 9±0.156 2 <sup>##</sup>	2.874 0±0.115 0 <sup>##</sup>
复明片治疗组	6	2.098 9±0.109 2 <sup>##</sup> ▲	3.077 4±0.119 3 <sup>##</sup> ☆

注:与正常对照组比, $t_1=39.02, t_3=20.10, *P<0.01; t_1=18.47, t_3=6.21, \&P<0.01$ ;与模型对照组比, $t_1=11.58, t_3=15.64, \#P<0.01; t_1=16.95, t_3=15.29, \Delta P<0.01$ ;与西药对照组比, $t=1.98, \blacktriangle P>0.05; t=3.89, \star P<0.01$ 。

### 3 讨论

RD 古代中医文献对其缺乏相关认识,多归属于“暴盲”、“视瞻昏渺”、“云雾移睛”、“神光自现”等范畴。目前中医眼科对其病名规范化称为“视衣脱离”。近年来中医药采用益气利水<sup>[4]</sup>或滋补肝肾法<sup>[5]</sup>在治疗 RD 取得良好的疗效。本研究团队认为视衣脱离产生的原因,多为气虚不固致视衣脱落;RD 复位手术又可因伤致瘀,术中又不可避免伤及气血。因此 RD 复位术后患者的中医病机应为“气阴两虚、血瘀水停”。应当以“益气养阴、活血利水”进行治疗,拟方制剂复明片,药用黄芪、地龙、赤芍、红花、茯苓、车前子、泽泻、生地黄、女贞子、旱莲草,组成益气养阴活血利水中药复方,方中黄芪大补后天之本,令气血旺盛,推动有力,血络通畅则瘀祛新生;配以白术助其健脾益气之功;方中地龙、赤芍与红花相配,共奏活血化瘀,散结通络之功;生地黄、女贞子、旱莲草与车前子、茯苓配伍,有养有利,滋阴养血以利水。本方补气药与活血药相配,使气旺血行,滋阴药与利水药相配,滋而不膩,以养为利,故使水得利而不伤正。共奏益气养阴活血利水之功。

正常情况下能够清除视网膜内自由基的重要清除剂之一就是 SOD,可使超氧自由基歧化为  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,并生成无毒的  $\text{H}_2\text{O}$ <sup>[6]</sup>。RD 后,视网膜外层组织缺血缺氧,产生大量的氧自由基,SOD 不足以消除过量的氧自由基,而视网膜对缺血缺氧非常敏感,因此氧化损伤更容易导致视网膜的损伤。代谢产物丙二醛

(Malondialdehyde, MDA) 可以损伤  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ ,从而影响视网膜的功能,引起视网膜变性疾病<sup>[7]</sup>。ATP 不仅能为视网膜感光细胞核神经节细胞提供营养,ATP 的水平在一定程度上也反应线粒体的功能水平,ATP 含量的下降也反应了线粒体功能的受损或下降。RD 发生后,视网膜组织缺血缺氧,手术复位是 RD 的有效疗法,但 RD 复位术后,视网膜组织的缺血缺氧状态难以完全恢复,视功能仍有不同程度的受损,视功能的恢复也不尽如人意<sup>[8-9]</sup>。因此,RD 复位后仍需进一步改善视网膜组织缺血缺氧的状态,提供更多的血氧供应,以便视网膜组织以细胞增生、疤痕形成的方式进行修复,并有利于视网膜功能的恢复。

本研究前期实验表明,益气养阴活血利水中药复方复明片能降低 MDA 含量,增强清除氧自由基的能力,能提高 RD 术后视网膜组织 SOD 活性,减轻脂质过氧化反应及其毒性代谢产物对视网膜组织的损伤。本次实验表明,复明片能提高 RD 术后视网膜组织中 ATP 的含量,改善 RD 后视网膜组织的能量代谢以及线粒体的功能,增强其抗氧化的能力,一定程度上缓解缺血缺氧造成的损害,从而有助于 RD 术后患者视网膜功能的恢复。

### 参考文献:

- [1] 孙为荣.眼科病理学[M].北京:人民卫生出版社,1997:357.
- [2] 彭清华,范艳华,段国平,等.益气养阴活血利水法治疗视网膜脱离术后的临床研究[J].湖南中医药大学学报,2009,29(1):47-49.
- [3] 彭清华,刘 婷,彭 俊.益气活血利水法对兔视网膜脱离后视网膜复位的影响[J].中国中医眼科杂志,2009,19(6):316-320.
- [4] 刘 瑜,柯发勇,郑志广.自拟益气利水汤治疗单纯视网膜脱离术后视网膜下积液[J].甘肃医药,2013,32(4):256-257.
- [5] 韩 芸,杨朝丽.孔源性视网膜脱离的中医药治疗探讨[J].当代医学,2013,19(28):154-155.
- [6] 陈丽娜,原慧萍.原发性开角型青光眼血液流变学指标及脂质过氧化的测定[J].中国血液流变学杂志,2000,10(2):104-107.
- [7] 陈 梅,彭清华.脉络膜黑色素瘤伴视网膜脱离 1 例[J].湖南中医药大学学报,2013,33(9):95-96.
- [8] Khanduja S, Sinha S, Gogia V. Modified subretinal dye extrusion technique (MDRE-DETECH): subretinal diluted trypan blue for defecting occur retinal breaks in retinal detachment after endotamponade removal [J]. Int Ophthalmol, 2013, 33 (6): 729-732.
- [9] Noma H, FunaLsul H, Mimura T, et al. Visual function and serous retinal detachmeW in patients with branch retinal vein occlusion and macular edema: a case series [J]. BMC Ophthalmology, 2011, 11(1): 29.

(本文编辑 李 杰)