

本文引用:项宇,刘家琪,李萍,彭俊,刘晓清,汤杰,喻娟,龙达,彭清华.青光安颗粒剂对自发型青光眼小鼠眼压的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(1):17-20.

青光安颗粒剂对自发型青光眼小鼠眼压的影响

项宇,刘家琪,李萍,彭俊,刘晓清,汤杰,喻娟,龙达*,彭清华*
(湖南中医药大学第一附属医院中医眼科学重点学科,湖南长沙410007)

[摘要] **目的** 研究青光安颗粒剂在青光眼中对眼压的影响。**方法** 选用不同月龄共30只DBA/2J雌性小鼠,根据月龄采用随机数字表法分为3组,每组10只,20眼。分为正常对照组(3月龄)、模型对照组(9月龄)、青光安组(9月龄)。正常对照组与模型对照组每日以相同量蒸馏水灌胃;青光安组每日以青光安灌胃。3组均以常规饲料喂养。利用经前房注入/抽吸系统进行眼压测量,分别以2.5、5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速率继续进行灌注,计算房水流畅系数和房水流出阻力。**结果** 自6月龄开始,小鼠眼压轻微上升,随着月龄的增加而逐步上升,9月龄时显著升高;青光安颗粒剂灌胃后所得眼压较模型组均有不同程度降低($P<0.05$),房水流畅系数均明显增加($P<0.01$),房水流出阻力均降低($P<0.01$)。**结论** 青光安颗粒剂能通过影响房水动力学因素达到降低青光眼眼压的作用。

[关键词] 青光安;青光眼;眼压;房水动力学

[中图分类号]R775;R289.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.01.005

Effect of Qingguangan Granules on Intraocular Pressure of Spontaneous Glaucoma Mice

XIANG Yu, LIU Jiaqi, LI Ping, PENG Jun, LIU Xiaoping, TANG Jie, YU Juan, LONG Da*, PENG Qinghua*

(The Key Disciplines of Phthamology of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

[Abstract] **Objective** Effect of Qingguangan Granule on intraocular pressure in glaucoma. **Methods** Thirty female DBA/2J mice were selected. The mice were randomly divided into three groups, the normal control group (three months old), model control group (nine months old), Qingguangan group (nine months old), 10 rats with 20 eyes in each group. The control group and model group were given same distilled water by gavage, and Qingguangan group was given Qingguangan granules. The three groups were administrated with conventional feed with the rate of 2.5 and 5 $\mu\text{L}/\text{min}$. The intraocular pressure was measured by anterior chamber injection/suction system, and the coefficient of aqueous outflow and outflow resistance were measured. **Results** The intraocular pressure of mice at six months olds increased slightly, and gradually increased with the increase of the months old, and increased significantly at nine months old ($P<0.05$). The intraocular pressure decreased in different degree compared with the model group after intragastric administration of Qingguangan granules ($P<0.01$). The coefficient of aqueous humor increased significantly and outflow resistance decreased ($P<0.01$). **Conclusion** Qingguangan Granules can reduce glaucoma intraocular pressure through affecting aqueous humor dynamics.

[Keywords] Qingguangan granules; glaucoma; intraocular pressure; aqueous humor dynamics

[收稿日期]2017-06-15

[基金项目]国家自然科学基金资助项目(81403437,81603665);湖南省高层次卫生人才“225”工程培养项目资助;中国博士后基金面上资助项目(2015M570681);湖南省自然科学基金资助项目(2015JJ3097);湖南省教育厅科研基金优秀青年资助项目(14B137);湖南省研究生创新基金重点资助项目(CX2013A013);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。

[作者简介]项宇,男,在读硕士研究生,研究方向:青光眼、视网膜眼底病。

[通讯作者]*龙达,女,副主任医师,E-mail:cajcajlongda@yeah.net;*彭清华,男,主任医师,二级教授,博士生导师,E-mail:pqh410007@126.com。

眼压升高是大多数青光眼的主要病理因素,持续有效的降低眼压仍是目前阻止和延缓青光眼患者视功能进一步丧失的唯一有效措施^[1]。临床上降低眼压药物以抑制房水生成、增加巩膜通道流出、高渗剂为主,口服制剂品种局限且长期使用副作用大。彭清华团队认为青光安颗粒剂具有益气活血、利水明目之功效^[2]。自90年代始该药即用于我院眼科临床的青光眼辅助治疗,取得较好疗效,并已进行了系列的实验研究与临床研究^[3-5]。团队前期研究表明青光安颗粒剂能够有效的促进眼局部的微循环,尤其是在提高视网膜、视神经等眼内组织的抗损伤、耐缺氧能力方面^[6]。但通过怎样的途径来实现上述功能,其机制尚不明确。本研究通过最贴近青光眼病理过程的自发型青光眼小鼠模型,研究青光安颗粒剂通过改变眼部房水动力学因素达到降低眼压及改善局部微循环的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验对象

选用不同月龄 DBA/2J 雌性小鼠[南京模式动物研究所提供,SPF级,许可证:SCXK(苏)2013-0003;饲养于湖南中医药大学动物实验中心 SPF级实验室内,许可证编号:SCXK(湘)2013-0005]共30只,其中3月龄10只,9月龄20只,体质量30~35 g。以青光安颗粒剂(由枸杞子、灯盏细辛等补肾活血中药组成)进行干预。本实验设施的环境条件符合中国国家标准《实验动物环境及设施》(GB14925-2001)对普通动物实验设施的有关标准,动物饲养管理和动物实验操作符合《湖南省实验动物管理条例》等法规的要求。

1.2 分组及给药方法

大部分研究表明 DBA/2J 小鼠≤3月龄眼部情况正常,5月龄时少数小鼠眼压升高,7月龄多数眼压增高,9月龄眼压达到高峰,11月龄开始下降^[7-8],因此本实验30只 DBA/2J 小鼠,根据月龄采用随机数表法分为3组,每组10只,20眼。分为正常对照组(3月龄)、模型对照组(9月龄)、青光安组(9月龄)。根据体表面积计算法,计算出相当于成人等效治疗量,给药2.5 g/kg,2次/d,连续给药15 d。正常对照组与模型对照组每日以相同量蒸馏水灌胃;青光安组每

日以青光安灌胃。3组均以常规饲料喂养。

1.3 利用经前房注入/抽吸系统进行眼压测量

1.3.1 测量设备 整个测量系统包括压力传感器(MP150 Biopacsystems, USA)、放大器(DA 100 Biopacsystems, USA)、数字模拟转换器模块(UIM100 Biopacsystems, USA)、32 g 针头及所需的连接管道。使用时在传感器至三通管的管道内充满水,确保管道内无任何气泡或杂质(见图1,图2)。将32 g 针头连接于三通管,三通管的另两个开口分别连接充满BSS的输液袋和压力传感器。

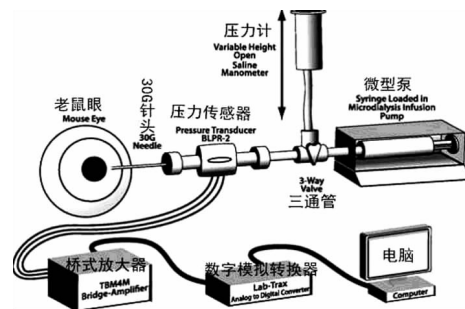


图1 眼压测量仪器简图

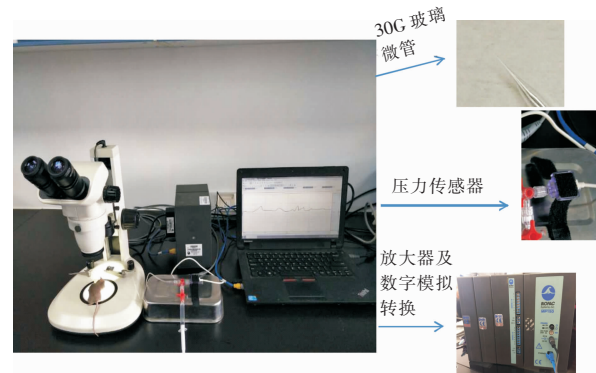


图2 眼压测量仪器实物图

1.3.2 眼压的测量 小鼠腹腔注射麻醉(氯胺酮100 mg/kg, 噻拉嗪9 mg/kg)后,置于显微镜下,固定四肢,暴露眼球,注意使颈部保持未受压状态。在待测眼滴50 μL生理盐水,保持角膜湿润及前房穿刺时视野清晰。将30 g 针头斜面朝上端,放置于角膜表面水滴下,待测量系统恢复至0点时将针尖端缓慢插入小鼠前房,立即从显示屏上读取眼压值。选取每30 s为1个记录单位,维持2 min后拔出针尖,拔出时必须使针尖端位于角膜表面水滴下,结束测量,此时显示屏上的数值应为0。采用同样方法迅速测量另一只眼。

1.3.3 房水灌注 房水灌注速率分别为:2.5、5 μL/min,灌注速率的切换应以每1次速率下的标记曲线达到

平台期为标准。采用 Goldmann 公式来计算房水流畅系数 C 值。 $C=\Delta I/\Delta IOP$ (C:房水流畅系数; ΔI :灌注速率变化值; ΔIOP :眼内压变化值); $\Delta I=(I_2-I_1)$, $\Delta IOP=(P_2-P_1)$;房水流出阻力 $R=1/C$ (R:房水流出阻力)。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 19.0 进行统计分析。本研究定量检测结果经 t 检验证实呈正态分布,经 Levene 方差齐性检验证实是有方差齐,各组间的整体比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey's 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠不同灌注速率下眼压值比较

同一灌注速率(2.5 或 5.0 $\mu\text{L}/\text{min}$)下,与正常对照组比较,模型对照组和青光安组眼压值均升高($P<0.05$);与模型对照组比较,青光安组眼压值升高($P<0.05$)。各组小鼠在 5.0 $\mu\text{L}/\text{min}$ 灌注速率下,眼压值较 2.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 高($P<0.05$)。见表 1、图 3。

表 1 各组小鼠不同灌注速率下眼压值比较 ($\bar{x}\pm s, \text{mmHg}$)

组别	眼数	不同灌注速率下眼压值	
		2.5 $\mu\text{L}/\text{min}$	5.0 $\mu\text{L}/\text{min}$
正常对照组(3 月龄)	10	9.17 \pm 0.88	10.645 \pm 1.07 [#]
模型对照组(9 月龄)	10	21.03 \pm 1.46 [△]	23.66 \pm 1.23 ^{△#}
青光安组(9 月龄)	10	13.35 \pm 1.11 ^{△▲}	14.95 \pm 1.93 ^{△▲#}
<i>F</i> 值		288.709	232.36
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05

注:与正常对照组比较,△ $P<0.05$;与模型对照组比较,▲ $P<0.05$;与 2.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 灌注速率比较,# $P<0.05$ 。

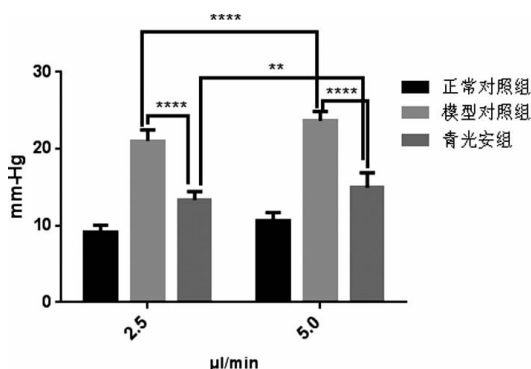


图 3 各组小鼠不同灌注速率下眼压值

2.2 各组小鼠房水流畅系数 C 值比较

与正常对照组比较,模型对照组和青光安组房水流畅系数均降低($P<0.01$);与模型对照组比较,青光安组房水流畅系数升高($P<0.01$)。见表 2、图 4。

表 2 各组小鼠房水流畅系数 C 值比较 ($\bar{x}\pm s, \text{mmHg}$)

组别	眼数	C 值
正常对照组(3 月龄)	20	2.77 \pm 2.16
模型对照组(9 月龄)	20	1.08 \pm 0.36 ^{△△}
青光安组(9 月龄)	20	2.35 \pm 1.34 ^{△△▲▲}
<i>F</i> 值		7.048
<i>P</i> 值		0.0018

注:与正常对照组比较,△△ $P<0.01$;与模型对照组比较,▲▲ $P<0.01$ 。

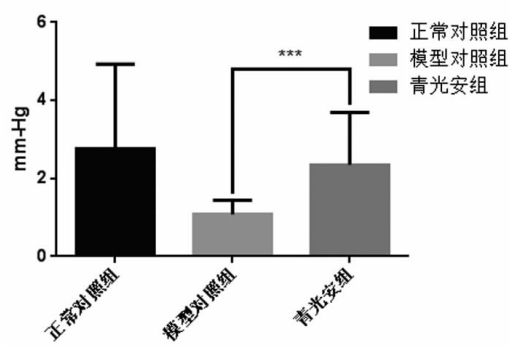


图 4 各组小鼠房水流畅系数 C 值比较

2.3 各组小鼠房水流出阻力 R 值比较

与正常对照组比较,模型对照组和青光安组房水流出阻力均升高($P<0.01$);与模型对照组比较,青光安组房水流出阻力降低($P<0.01$)。见表 3、图 5。

表 3 各组小鼠房水流出阻力 R 值比较 ($\bar{x}\pm s, \text{mmHg}$)

组别	眼数	R 值
正常对照组(3 月龄)	20	0.512 \pm 0.27
模型对照组(9 月龄)	20	1.05 \pm 0.47 ^{△△}
青光安组(9 月龄)	20	0.64 \pm 0.55 ^{△△▲▲}
<i>F</i> 值		7.948
<i>P</i> 值		0.0009

注:与正常对照组比较,△△ $P<0.01$;与模型对照组比较,▲▲ $P<0.01$ 。

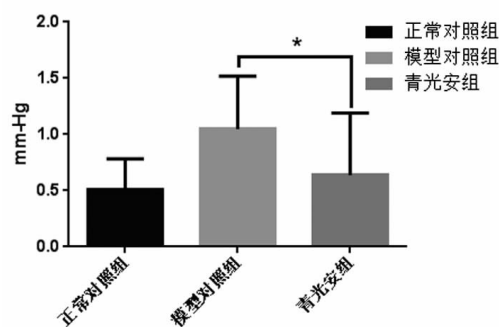


图 5 各组小鼠房水流出阻力 R 值比较

3 讨论

DBA/2J 小鼠为一种遗传性青光眼的动物模型,大多到 7~9 月龄时发生眼压增高,青光眼病程缓慢,与急性高血压模型相比,能更好地接近临床上青光

眼的发病特点^[8-9]。本研究针对不同月龄的小鼠进行眼压测量,结果显示自 6 月龄开始,小鼠眼压轻微上升,随着月龄的增加而逐步上升,9 月龄时显著升高。本结果与国内外已报道的实验结果相符^[8]。利用前房微管技术及灌注装置可对青光安颗粒剂干预前后的小鼠房水动力学进行直接测量^[10-12]。前房插管技术是目前测量小鼠眼压最准确的侵入性的方法,但是比其他非侵入性的方法复杂,测量时整个系统的管道必须保持畅通,任何细微生物(杂质、气泡)的堵塞都可能影响测量的准确性。因此熟练的操作技巧是避免眼部并发症,提高测量成功率的关键。

本课题组认为慢性高眼压的产生机理为血脉瘀滞,玄府闭塞,神水瘀积,基于“气虚血瘀水停”的机制,提出了“益气活血利水”的治疗方法^[13-14]。青光安颗粒剂中黄芪甘温,补气健脾益肺,使其气旺促血行,瘀去络通,血行则水利;赤芍苦寒、红花辛温,寒温并用,二者配伍活血化瘀;地龙咸、寒,通经活络、力专善走,引诸药达病所;车前子甘、微寒,清肝明目,利水通淋;白术补气健脾、运化水湿,合茯苓既可彰健脾制水之效,又可奏输津四布之功,共奏益气活血、利水明目之法。DBA/2J 小鼠眼压升高的原理接近于人类的色素性青光眼,色素细胞沉积于房角区域,导致小梁网通道的房水流出受阻,眼压升高。本研究中以 9 月龄小鼠作为模型组,在不同的灌注压力下经前房穿刺直接测得眼压及房水流畅系数、房水流出阻力。青光安颗粒剂灌胃后所得眼压较模型组降低,房水流畅系数明显增加,房水流出阻力降低,提示青光安颗粒剂能通过影响房水动力学因素达到降低青光眼眼压的作用。但青光安是通过何种途径影响房水流出,课题组将结合组织学及细胞学水平进一步探讨其在小梁网及巩膜流出通道可能的作用机制。

参考文献:

- [1] SCHEETZ T E, FAGA B, ORTEGA L, et al. Glaucoma Risk Alleles in the Ocular Hypertension Treatment Study[J]. *Ophthalmology*, 2016, 123(12):2527-2536.
- [2] 周亚莎,徐 剑,彭 俊,等.青光安 II 号对慢性高眼压模型大鼠视网膜 GSK-3 β 及 β -catenin mRNA 表达影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2017, 37(10):1049-1051.
- [3] 谭涵宇,彭清华,李文娟,等.青光安颗粒剂有效组分对兔眼滤过术后滤过道瘢痕组织 TGF- β 1 和 Smad3 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(10):3977-3980.
- [4] 李苑碧,彭清华,黄学思,等.青光安对抗青光眼术后滤过道瘢痕组织中弹性纤维、MMP-7、TIMP-1 的实验研究[J]. *国际眼科杂志*, 2015, 15(1):20-25.
- [5] 曾红艳,彭清华,曾志成,等.青光安颗粒大鼠含药血清指纹图谱的研究[J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(7):1553-1555.
- [6] 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[J]. *湖南中医学院学报*, 1997, (2):53-56.
- [7] BHATTACHARYA S K, ANNANGUDI S P, SALOMON R G, et al. Cochlin deposits in the trabecular meshwork of the glaucomatous DBA12J mouse [J]. *Experimental Eye Research*, 2005, 80 (5):741-744.
- [8] 杨 帆,吴玲玲,郭秀娟,等.青光眼动物模型 DBA/2J 小鼠的眼部特征及组织学观察[J]. *中华实验眼科杂志*, 2010, 28(2):103-108.
- [9] LIBBY R T, ANDERSON M G, PANG I H, et al. Inherited glaucoma in DBA/2J mice: Pertinent disease features for studying the neurodegeneration[J]. *Visual Neuroscience*, 2005, 22(5):637.
- [10] 郭秀娟,李 颖,吴乐萌,等.前房插管技术测量小鼠眼压[J]. *中华实验眼科杂志*, 2008, 26(3):165-168.
- [11] SAVINOVA O V, SUGIYAMA F, MARTIN J E, et al. Intraocular pressure in genetically distinct mice: an update and strain survey[J]. *BMC Genetics*, 2001, 2(1):12.
- [12] 环梦佳,袁志兰,袁松涛,等.iCare 眼压计测量小鼠眼压值与真实眼压的相关性研究[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(16):3022-3024.
- [13] 彭清华.活血利水法降眼压作用的临床观察[J]. *中国中医眼科杂志*, 1995, 5(2):110-111.
- [14] 赵海滨,彭清华.青光安颗粒对兔急性高眼压视神经轴突的保护作用[J]. *国际眼科杂志*, 2009, 9(12):2318-2321.

(本文编辑 李 杰)