

·团队之光·

本文引用:刘晓清,谭涵宇,彭俊,秦惠钰,田野,陈梅,吴权龙,彭清华.散血明目片防控增殖性玻璃体视网膜病变的机制研究[J].湖南中医药大学学报,2020,40(7): 777-783.

# 散血明目片防控增殖性玻璃体视网膜病变的机制研究

刘晓清<sup>1</sup>,谭涵宇<sup>1</sup>,彭俊<sup>2</sup>,秦惠钰<sup>1</sup>,田野<sup>1</sup>,陈梅<sup>3</sup>,吴权龙<sup>2\*</sup>,彭清华<sup>1\*</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208,2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007,  
3.达州市中心医院,四川达州 635000)

**[摘要]** **目的** 观察散血明目片对兔外伤性增殖性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)模型中增殖信号通路相关蛋白PI3K、Akt、P38MAPK、MEK表达的影响,探讨散血明目片对兔外伤性PVR的防治作用。**方法** 实验以42只新西兰大白兔为对象,采用巩膜穿通法联合向玻璃体腔注射富含血小板血浆形成PVR模型,随机分为7组,每组6只,分别为:A组空白组、B组模型组、C组散血明目片组、D组PD98059组、E组LY294002组、F组MK-2206组、G组抑制剂混合组。造模后30 min,D组、E组、F组、G组分别向玻璃体腔注射0.1 mL的PD98059、LY294002、MK-2206及3种混合抑制剂。B、C组则予以玻璃体腔内注射0.1 mL生理盐水。术后第1天C组予以散血明目片10 mg/kg溶液灌胃,除A组外其余组以生理盐水10 mL/kg灌胃,连续灌胃28 d。28 d后采用B超观察术眼玻璃体、眼底情况;取材后采用免疫组化法、RT-qPCR法对送检组织进行相关蛋白表达的测定。**结果** B超结果显示散血明目片能抑制兔PVR中视网膜的增殖,维持视网膜正常形态。免疫组化与RT-qPCR检测结果显示,散血明目片能有效降低兔视网膜及增殖膜中PI3K、Akt、MEK、P38MAPK的表达,其中以下调PI3K、Akt、P38MAPK的表达更显著。**结论** 散血明目片可抑制PVR的发生与发展,降低视网膜及增殖膜中相关增殖蛋白的表达,其防治PVR方面可能与MAPK、PI3K/Akt信号通路有关。

**[关键词]** 增殖性玻璃体视网膜病变;散血明目片;丝裂原活化蛋白激酶;磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B

**[中图分类号]** R276.7

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.07.001

## Study on Mechanism of Sanxue Mingmu Tablets in Preventing and Controlling Proliferative Vitreoretinopathy

LIU Xiaoqing<sup>1</sup>, TAN Hanyu<sup>1</sup>, PENG Jun<sup>2</sup>, QIN Huiyu<sup>1</sup>, TIAN Ye<sup>1</sup>, CHEN Mei<sup>3</sup>, WU Quanlong<sup>2\*</sup>, PENG Qinghua<sup>1\*</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 3. Dazhou Central Hospital of Sichuan Province, Dazhou, Sichuan 635000, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effects of Sanxue Mingmu Tablets on the expression of proliferation signal pathway related proteins PI3K, AKT, P38MAPK and MEK in a traumatic proliferative vitreoretinopathy (PVR) model of rabbits, and to explore the effects of Sanxue Mingmu Tablets in preventing and treating proliferative vitreoretinopathy. **Methods** For the experiment, 42 New Zealand white rabbits were used as subjects, and the scleral penetration method was combined with the injection of platelet-rich plasma into the vitreous cavity to establish a PVR model. They were randomly divided into 7 groups, with 6 rabbits in each group. They were group A: blank group; group B: model group; group C: Sanxue Mingmu Tablets group; group D: PD98059 group; group E: LY294002 group; group F: MK-2206 group; group G: inhibitor mixed group. In 30 minutes after modeling, 0.1 mL of PD98059, LY294002, MK-2206 and 3 kinds of mixed inhibitors were injected into the vitreous cavity to group D, group E, group F

**[收稿日期]** 2020-04-01

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(8180151970);中医药防治五官科疾病湖南省重点实验室建设项目(2017TP1018);湖南省中医药防治耳鼻喉疾病与视功能保护工程研究中心开放基金项目(2018YGC04);湖南省中药药管理局科研项目(201622);湖南省研究生科研创新项目(CX2018B499, CX2018B490);国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目(国家中医药[2009]30号)。

**[作者简介]** 刘晓清,女,在读博士研究生,研究方向:中西医结合防治眼底病研究。

**[通讯作者]** \*彭清华,男,二级教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:pqh410007@126.com;吴权龙,男,博士,副主任医师,E-mail:1697799138@qq.com。

and group G, respectively. In group B and C, 0.1 mL of normal saline was injected into the vitreous cavity. On the first day after operation, the group C was administered with 10 mg/kg solution of Sanxue Mingmu Tablets by gavage. The other groups were intragastrically administered with 10 mL/kg normal saline for 28 days. After 28 days, the vitreous and fundus conditions were observed with B-ultrasound; After the samples were taken, immunohistochemistry and RT-qPCR were used to determine the protein expression of the submitted tissues. **Results** B-ultrasound showed that Sanxue Mingmu Tablets could inhibit the retina proliferation in rabbit PVR and maintain normal retinal shape. Immunohistochemistry and RT-qPCR showed that Sanxue Mingmu Tablets could effectively reduce the expression of PI3K, AKT, MEK, P38MAPK in the retina and proliferating membrane of rabbits, but the down-regulation of PI3K, Akt, P38MAPK was more significant. **Conclusion** Sanxue Mingmu Tablets can inhibit the occurrence and development of PVR and reduce the expression of related proliferative proteins in the retina and proliferating membrane. The prevention and treatment of PVR may be related to the MAPK and PI3K/Akt signaling pathways.

[**Keywords**] proliferative vitreoretinopathy; Sanxue Mingmu Tablets; MAPK; PI3K/Akt

增殖性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 多由眼外伤、大面积视网膜脱离、较大裂孔、玻璃体积血等引起视网膜缺血、炎症、细胞增殖,造成玻璃体腔、视网膜前、下及表面形成纤维增生膜并易形成收缩,造成局部牵拉为特征的眼科疾病。PVR 为多种玻璃体视网膜疾病的病理基础和表现,具有病程长、易复发性。一旦形成,治疗上颇为棘手,往往需要多次手术且术后视力恢复较差,严重易成盲<sup>[1]</sup>。

中医药防治 PVR 具有一定的潜力,根据疾病特点可归属于“暴盲”“视瞻昏渺”范畴。由于外力损伤或气机阻滞或痰湿上犯所致,导致气血运行不通,形成瘀血、痰饮于眼内,日久成膜黏附于视衣及神膏之内,坚固难移,所谓“癥积”。散血明目片具有活血利水、散结明目功效,是用于防治玻璃体积血以及 PVR 的中医药复方。前期基础实验研究表明散血明目片能够有效维持视网膜正常形态,并有效减少炎症细胞、炎症细胞因子的表达,抑制增生组织及新生血管的形成<sup>[2-5]</sup>。

国内外实验研究表明丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinases, PI3K)/蛋白激酶 B (protein-serine-threonine kinase, Akt) 信号通路在 PVR 发生过程中有效被激活,参与了相关细胞的增殖、迁移与凋亡。本实验以外伤性 PVR 兔模型为研究对象,进一步探讨散血明目片对 PVR 中 MAPK、PI3K/Akt 信号通路的调节机制。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

新西兰大白兔 44 只 (湖南太平生物科技有限公司, 合格证号: 43608300000675), 体质量 1 500~2 000 g,

雌雄各半, 饲养于湖南中医药大学实验动物中心。所有实验动物行常规检查, 排除全身疾患, 均适应性饲养 1 周。饲养实验室温度维持在 18~26 °C, 湿度在 55% 左右, 每日常规饲料喂养。

### 1.2 药物

散血明目片: 由三七、酒大黄、泽泻、猪苓等药组成, 规格为 0.3 g/片, 100 片/瓶。购自湖南中医药大学第一附属医院, 药物为同一批次 (20171228)。实验员在规范无菌操作下对药片碾碎至粉末状, 并密封至干燥药罐内, 存于实验房消毒柜中。妥布霉素滴眼液 (批号: 18J02CA, 比利时 s.a. ALCON-COUVRUR)、典必殊眼膏 (批号: 9GBH1A, 比利时 s.a. ALCON-COUVRUR)、美多丽滴眼药 (批号: MP2080, 参天制药株式会社)、杰奇凝胶 (批号: 20180212, 湖北远大天天明制药有限公司)、生理盐水 (批号: B18020302d, 湖南康源制药有限公司) 等, 均购自湖南中医药大学第一附属医院, 所购药物为同一批次; 均放于实验动物中心消毒柜中保存。

### 1.3 试剂

LY294002 (货号: S1105, 品牌: Selleck, PI3K 蛋白抑制剂)、PD98059 (货号: S1177, 品牌: Selleck, MEK 蛋白抑制剂)、MK-2206 抑制剂 (货号: S1078, 品牌: Selleck, Akt 抑制剂), RIPA 蛋白裂解液 (CW BIO, CW2334S), ECL 发光检测试剂盒 (货号: 35055, 品牌: Thermo Fisher), HRP 标记的羊抗鼠二抗 (货号: SA00001-1, 品牌: PROTEINTECH) HRP 标记的羊抗兔二抗 (货号: SA00001-2, 品牌: PROTEINTECH), 逆转录试剂盒 (货号: A3500, 品牌: Promega) 等。

### 1.4 器材

精密分析天平 (瑞士 Mettler 公司, AE240); 显微手术器械 (由湖南中医药大学五官科实验室提

供);眼部B超机(湖南中医药大学第一附属医院眼科提供);超微量分光光度计(德国IMPLEN公司);生物组织摊片机(金华市益迪医疗设备有限公司);电热恒温培养箱(由湖南中医药大学组织与胚胎实验室提供);KD-BM II 电脑生物组织包埋机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组

采用随机分组法将其中42只新西兰兔。分为7组,每组6只(雌雄各半),A组:空白组(正常组);B组:模型组;C组:散血明目片组;D组:PD98059组;E组:LY294002组;F组:MK-2206组;G组:抑制剂混合组。

### 2.2 富含血小板血浆制备

余2只新西兰大白兔,25%乌拉坦进行腹腔注射,剂量4 mL/kg。麻醉满意后,剔除腹部兔毛,常规消毒铺巾,切开腹部皮肤约10 cm左右,分离筋膜及肌肉,充分暴露腹腔。钝性分离兔腹主动脉后,用采血针头刺入主动脉另一头连接真空采血管。共抽取腹主动脉血50 mL,用TDZ4-WS台式低速离心机1 500 r/min离心5 min,吸出上层血清后中间即为富含血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP),收集后置于无菌恒温摇摆箱备用<sup>[6]</sup>。

### 2.3 模型建立及给药

参考实验与文献方法<sup>[6]</sup>,本次所有实验兔均采用右眼为实验眼,充分散瞳全麻后,进行常规消毒铺巾。开睑器充分暴露眼球,进行眼部局麻。从3点至9点方向分离球结膜和筋膜,用巩膜穿刺刀在角膜缘后3 mm处刺向玻璃体中心部,操作时勿刺伤屈光间质和视网膜,用显微巩膜剪将切口至两侧扩大,伤口达6 mm。轻压兔眼球,将脱出的玻璃体剪除,用8-0可吸收缝合线缝合切口后向玻璃体腔中央注入0.1 mL的PRP。造模后30 min,D-G组分别予以玻璃腔注射0.1 mL的PD98059、LY294002、MK-2206及3种混合抑制剂;B、C组则予以玻璃体腔

内注射0.1 mL 0.9%NaCl溶液。术后予以妥布霉素眼膏涂于结膜囊内。造模后1周内,予以妥布霉素滴眼液滴眼,3次/d,复方托吡卡胺滴眼液滴右眼,3次/d。术后第1天开始,C组予以散血明目片10 mg/kg溶液灌胃,其余组除A组外以生理盐水10 mL/kg灌胃,均灌胃4周。

### 2.4 指标检测

2.4.1 眼部B超检查 造模用药后第28天进行术眼的B超检查,观察玻璃体及眼底情况。

2.4.2 免疫组化法检测视网膜及增殖膜中PI3K、Akt、MEK、P38MAPK蛋白表达情况 将眼球标本固定、切片、脱蜡、水化后,按照SP法免疫组化检测系统进行操作。在玻片上作分组标记,防置高倍镜下观察视网膜增殖膜组织中蛋白PI3K、MEK、Akt的表达情况,并随机选取视野,用图像分析仪进行分析统计。

2.4.3 RT-qPCR法检测各组视网膜及增殖膜中PI3K、Akt、MEK、P38MAPK mRNA的表达 从标本中提取RNA后反转录得到cDNA,qPCR引物进行real-time PCR,检测组织中目的基因和内参基因的表达、超微量分光光度计检测RNA浓度与纯度、第一链cDNA合成、RT-qPCR检测最后进行数据分析。用于PCR实验的引物序列见表1。

### 2.5 统计学处理

采用SPSS 25.0系统软件进行实验数据分析,实验结果所有数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。多组比较,若满足正态性和方差齐性,采用方差分析,不满足则采用秩和检验。均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 造模并用药28 d后各组眼部B超结果

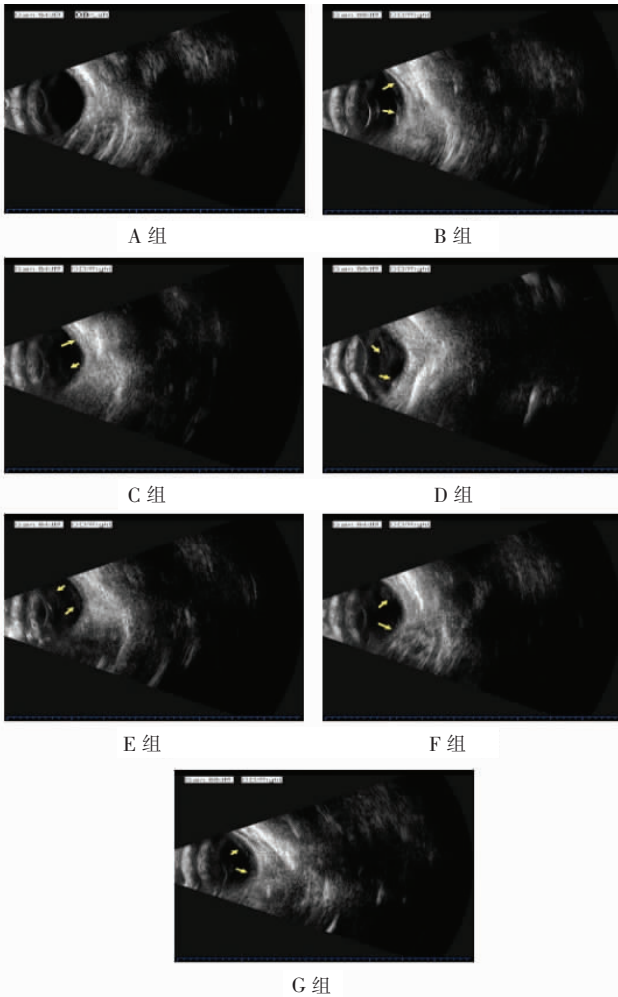
A组:兔眼球对称,大小正常;晶状体显示清晰,大小位置正常,回声好;球壁光滑,回声均匀。所有造模组中眼球大小正常,晶状体无异常,球壁回声均欠均匀,玻璃体腔内与视网膜组织中均可见不同程度的增殖迹象。B组:玻璃体腔内可见高回声光带与视网膜广泛粘连,光带厚度不均。C组:玻璃

表1 引物序列

引物名称	上游(5'-3')	下游(5'-3')	扩增片段长度/bp
PI3K	CCTGATCTTCCTCGTGCTGCTC	CCAAGCCAGTGGACAGTGTCC	93
P38MARK	GGCTCCTGAGATCATGCTGAACTG	AGTCAACAGCTCCGCCATTATGC	88
Akt	GTTCTCTGAGGACCGCACACG	ATGGTGGCTGCATCTGTGATCC	183
MEK	GCTAGCTGTGTAGCTGATCGTGC	GTCGTGATGCTGATCGATGCTAGCTA	124
$\beta$ -actin	ACGCCAACACACTGCTGTCTG	TGCTTGCTGATCCACATCTGCTG	199



体腔内有细小线状回声。D 组:玻璃体腔内小片膜状与视网膜部分粘连。E 组:玻璃体腔内有大片状膜状回声,部分与视网膜粘连。F 组:玻璃体腔内靠近视网膜可见小片状高回声膜状物与视网膜粘连。G 组:玻璃体腔稍见点状高回声,视网膜表面见细小膜状回声光带。见图 1。



注:箭头所指为增殖部分

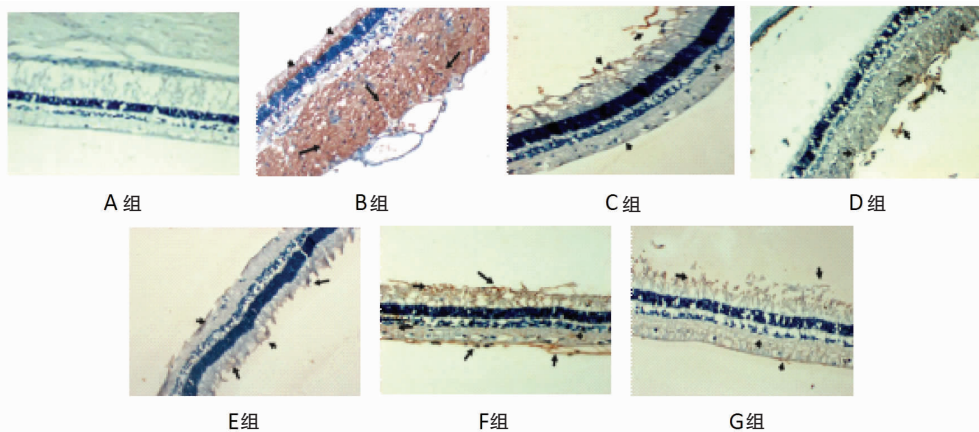
图 1 造模后用药 28 d 各组眼部 B 超情况

### 3.2 免疫组化法检测各组视网膜及增殖膜组织中 PI3K、Akt、MEK、P38MAPK 表达情况

与 A 组比较,B-G 组各蛋白表达量均升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与 B 组比较,C-G 组各蛋白表达量,除 Akt 蛋白表达中 D 组与 B 组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),余均有意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与 C 组比较,在 PI3K 蛋白表达上:D-F 组表达量均高于 C 组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),G 组表达量与 C 组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );Akt 蛋白表达上:D、E 组表达量均高于 C 组( $P < 0.01$ ),F、G 组表达量接近 C 组,比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );MEK 蛋白表达上:E、F 组表达量均高于 C 组( $P < 0.01$ ),D、G 组表达量均低于 C 组( $P < 0.05$ );P38MAPK 蛋白表达上:D-G 组表达量与 C 组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见图 2-5 和表 2。

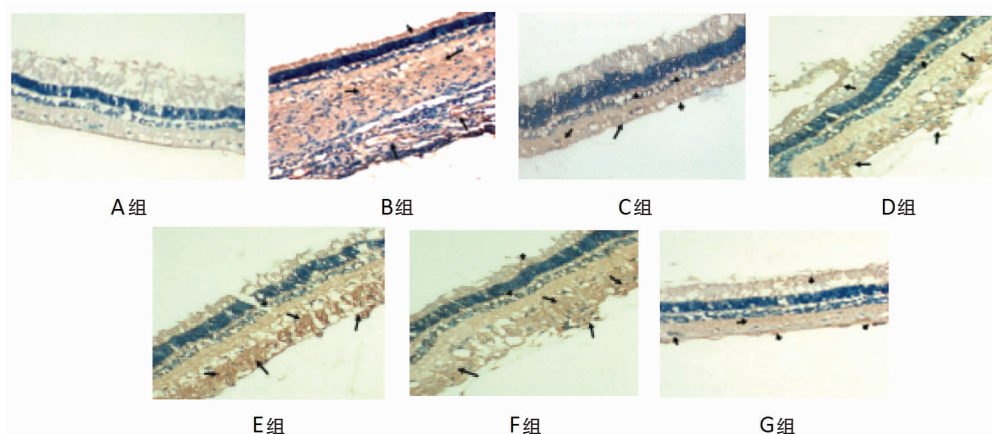
### 3.3 RT-qPCR 检测各组视网膜及增殖膜中 PI3K、Akt、MEK、P38MAPK mRNA 的表达情况

造模后,各蛋白均在组织中呈现不同程度的表达:与 A 组比较,B-G 组各蛋白表达量均升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),其中 PI3K 和 Akt 蛋白表达中 G 组与 A 组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与 B 组比较,C-G 组各蛋白表达量均降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与 C 组比较,PI3K 蛋白表达中:D-F 组表达量均高于 C 组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),G 组与 C 组表达量差异无统计学意义( $P > 0.05$ );Akt 蛋白表达中:D-F 组表达量均高于 C 组( $P < 0.01$ ),G 组与 C 组表达量差异无统计学意义( $P > 0.05$ );MEK 蛋白表达中:D、G 组表达量均低于 C 组( $P < 0.05$ ),E、F 组表达量高于 C 组( $P < 0.01$ );P38MAPK 蛋白表达中:D-G 组表达量均高于 C 组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 3。



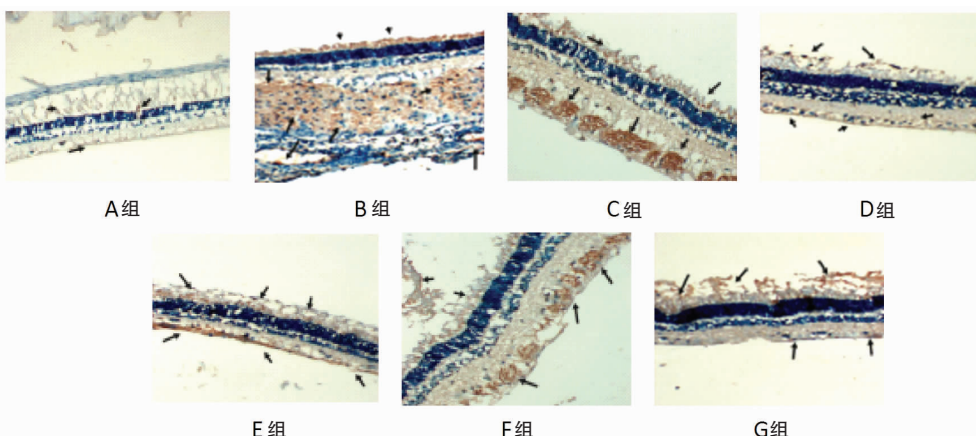
注:箭头所指范围为蛋白阳性表达

图 2 各组视网膜及增殖膜中 PI3K 蛋白表达( $\times 200$ )



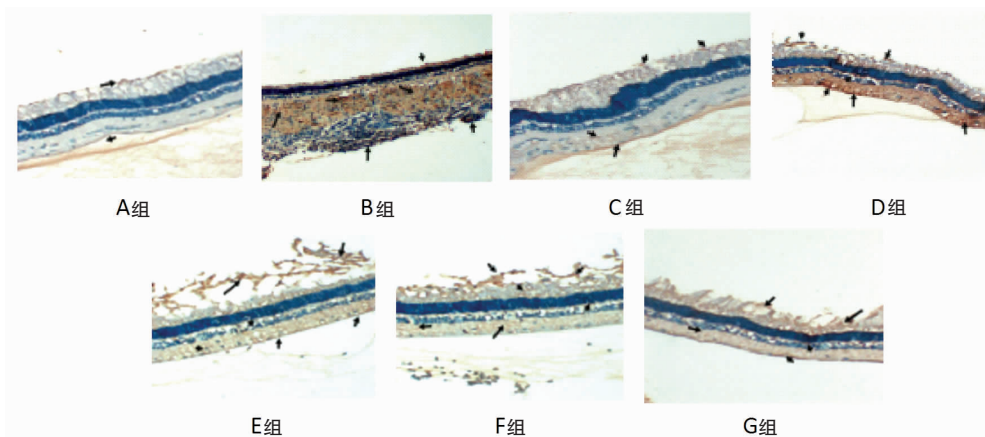
注:箭头所指范围为蛋白阳性表达

图 3 各组视网膜及增殖膜中 Akt 蛋白表达(×200)



注:箭头所指范围为蛋白阳性表达

图 4 各组视网膜及增殖膜中 MEK 蛋白表达(×200)



注:箭头所指范围为蛋白阳性表达

图 5 各组视网膜及增殖膜中 P38MAPK 蛋白表达(×200)

表 2 各组视网膜及增殖膜中 PI3K、Akt、MEK、P38MAPK 蛋白表达比较( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	PI3K	Akt	MEK	P38MAPK
A 组	0.853±0.019	0.938±0.019	0.980±0.019	0.912±0.033
B 组	1.068±0.036**	1.135±0.013**	1.912±0.040**	1.170±0.027**
C 组	0.885±0.012*▲▲	0.962±0.014*▲▲	1.247±0.068***▲▲	0.952±0.038*▲▲
D 组	0.948±0.021**▲▲△	1.117±0.024**▲△	1.142±0.081***▲▲△	0.996±0.022***▲▲△
E 组	0.911±0.013**▲▲△	1.065±0.033**▲▲△	1.790±0.113***▲▲△	1.061±0.034***▲▲△
F 组	0.936±0.020**▲▲△	0.971±0.015***▲▲	1.796±0.106***▲▲△	1.064±0.040***▲▲△
G 组	0.887±0.013**▲▲	0.964±0.012*▲▲	1.139±0.371***▲▲△	0.993±0.026***▲▲△

注:与 A 组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与 B 组比较,▲ $P<0.05$ ,▲▲ $P<0.01$ ;与 C 组比较,△ $P<0.05$ ,△△ $P<0.01$

表3 各组视网膜及增殖膜中 PI3K、Akt、MEK、P38MAPK mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	PI3K	Akt	MEK	P38MAPK
A组	1.142±0.098	1.041±0.044	1.045±0.062	1.023±0.074
B组	8.077±0.619**	3.497±0.752**	4.320±0.280**	4.623±0.475**
C组	1.820±0.285***▲▲	1.582±0.153***▲▲	2.282±0.472***▲▲	1.606±0.155***▲▲
D组	7.378±0.552***▲▲△	2.963±0.337***▲▲△	1.672±0.329***▲▲△	4.133±0.267***▲▲△
E组	2.415±0.111***▲▲△	2.763±0.465***▲▲△	3.667±0.677***▲▲△	2.282±0.208***▲▲△
F组	2.651±0.521***▲▲△	2.508±0.306***▲▲△	3.645±0.529***▲▲△	4.087±0.759***▲▲△
G组	1.610±0.332▲▲	1.413±0.170▲▲	1.628±0.381***▲▲△	2.175±0.114***▲▲△

注:与A组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与B组比较,▲ $P<0.05$ ,▲▲ $P<0.01$ ;与C组比较,△ $P<0.05$ ,△△ $P<0.01$

#### 4 讨论

目前,PVR的临床治疗主要以手术为主,但术后复发率高以及视力的提升率低成为了治疗瓶颈。研究显示从最初的症状到增殖膜形成造成视网膜脱离的时间需要1~2月,因此,开发有效的药物阻止和治疗PVR前期药物的工作紧迫<sup>[1]</sup>。研究发现,PVR是细胞高增殖与低凋亡的病理过程,抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡成为攻破该疾病的一大入口<sup>[7]</sup>。MAPK作为信号传导酶在多种细胞功能中起着关键作用,包括诱导细胞增殖、趋化因子表达和上皮间充质转化。而P38MAPK则是其中的关键部分,与PVR的发生关系密切,调控了细胞的增殖与迁移<sup>[8-10]</sup>。Saika等<sup>[11]</sup>利用P38MAPK抑制剂和dominant negative(DN)p38MAPK研究了TGF- $\beta$ 38MAPK通路对RPE细胞的调节作用,结果也表明TGF- $\beta$ 38MAPK通路与RPE细胞迁移密切相关,证明MAPK通路参与了EGF刺激下的RPE细胞迁移和增生。MAPK通路有三级的信号传递过程:MAPK、MAPK激酶(MEK或MKK)以及MAPK激酶的激酶(MEKK或MKKK)。最具特征的MAPK信号通路是RAS-RAF-MEK-ERK信号通路,受体酪氨酸激酶、G蛋白偶联的受体和部分细胞因子受体均可激活该信号通路,但外界刺激RAS被激活是信号联级的第一步,RAS介导激活RAF后会反过来激活双功能激酶MEK,可以使丝/苏氨酸和酪氨酸发生磷酸化,最终高度选择性地激活ERK1和ERK2<sup>[12]</sup>。国外学者研究发现,凝血酶激活PAR-1可通过RAS激活RAF-MEK-ERK1/2信号通路而诱导RPE细胞的增殖<sup>[13]</sup>。

PI3K是由P85调节亚基与P110催化亚基组成,在细胞存活途径、基因表达和细胞代谢调控、细胞骨架重排等方面发挥了重要作用。而Akt则是

PI3K信号产生的重要靶点,Akt磷酸化多个参与细胞周期控制的蛋白质,最终刺激细胞的生长<sup>[14]</sup>。CAI N等<sup>[15]</sup>通过收集PVR患者视网膜进行检测,发现PI3K/Akt/mTOR信号通路在PVR视网膜色素上皮中高度激活。通过信号通路抑制剂RAPA和LY294002可通过降低mTOR信号元件的磷酸化水平而抑制细胞增殖、细胞周期的进程并促进了细胞的凋亡,从而阻滞了PVR的发展。陈海婷等发现白藜芦醇能够通过P38MAPK和PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导RPE细胞周期阻滞和凋亡,对PVR的防控起到了一定的作用<sup>[16]</sup>。

散血明目片是在中医眼科活血利水法理论指导下的治疗PVR临床经验方,由三七、酒大黄、蒲黄、益母草、防己、地龙、白茅根、猪苓、泽泻、山楂等中药组成。纵观全方,以功效为止血化瘀的三七和蒲黄为君药,使眼部血症得以控制以及消散停于神膏内、视衣上的“瘀血”,两药均归属肝经。以利水渗湿药猪苓与泽泻为臣药,利水渗湿而化浊,将眼珠内“痰饮”及时排出,两药归属肾、膀胱经。方中酒大黄,上清上焦血分热毒,以消双目之血瘀水结之症;蒲黄,性甘、平,止血化瘀,利水通淋;益母草,活血清热,利水消肿,均为佐药,归属肝经。白茅根、地龙、防己性寒,凉血止血而利尿,均归属肺、膀胱经,亦为佐药。山楂性温,行气散瘀而化浊为使药,归脾、胃、肝经,调和寒性药物而不伤胃,加强行气散瘀之功。全方共奏活血通脉、利水散结之功,使瘀血去、痰饮消,行气通脉而使双目明。

在本次实验研究中,B超结果显示造模后28d各造模组在视网膜及玻璃体出现不同程度的增殖,在散血明目片组中未见有大片的膜状高回声,有效地抑制了增殖膜的形成,从而避免引起局部收缩形成瘢痕皱缩造成视网膜脱离的严重并发症。免疫组化法检测视网膜组织PI3K、Akt、MEK、P38MAPK



蛋白表达中,各蛋白表达量均有所下降,以及蛋白表达多在视神经纤维层以及节细胞层。RT-qPCR检测增殖膜上各蛋白表达情况显示:散血明目片均可减少 PI3K、Akt、MEK、P38MAPK 蛋白在增殖膜上的表达,其中以下调 PI3K、Akt、P38MAPK 蛋白显著,对 MEK 蛋白调控不显著。

本研究提示 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路至少部分参与了兔 PVR 生成的可能性,可能进一步揭示散血明目片防控 PVR 的机制,并为临床治疗提供新的靶点。

### 参考文献

- [1] CHARTERIS D G. Proliferative vitreoretinopathy: Revised concepts of pathogenesis and adjunctive treatment[J]. *Eye*, 2020, 34(2): 241-245.
- [2] 陈吉,彭清华,邢雁飞,等.活血利水法对外伤性增生性玻璃体视网膜病变兔眼玻璃体 TGF- $\beta$ 1 表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2010,30(5):12-15.
- [3] 邢雁飞,彭清华,付美林,等.活血利水法对外伤性增生性玻璃体视网膜病变模型兔眼 IGF-1 表达的影响[J].中华中医药学刊,2010,28(4):782-785.
- [4] 彭清华,魏为,李建超.活血利水法对外伤性实验性 PVR 模型兔眼玻璃体中生长因子浓度影响的研究[J].湖南中医学院学报,2004,24(6):34-37.
- [5] 付美林,彭清华,陈吉,等.活血利水法对兔外伤性 PVR 增殖膜上 EGFmRNA 表达的影响[J].国际眼科杂志,2012,12(1):25-29.
- [6] 姜彩辉,张卯年.实验性外伤增生性玻璃体视网膜病变动物模型的改进[J].眼科研究,2003,21(6):579-581.
- [7] 余丰,张来林,潘金花,等.增殖性玻璃体视网膜病变的发病机制研究概况[J].中医耳鼻咽喉杂志,2018(2):114-117.
- [8] SUI X B, KONG N, YE L, et al. P38 and JNK MAPK pathways control the balance of apoptosis and autophagy in response to chemotherapeutic agents[J]. *Cancer Letters*, 2014, 344(2): 174-179.
- [9] 刘晓清,谭涵宇,项宇,等.丝裂原活蛋白激酶信号通路 with 增殖性玻璃体视网膜病变相关性的研究进展[J].中国中医眼科杂志,2019,29(5):416-419.
- [10] LIN C C, SHYR M H, CHIEN C S, et al. Thrombin-stimulated cell proliferation mediated through activation of Ras/Raf/MEK/MAPK pathway in canine cultured tracheal smooth muscle cells[J]. *Cellular Signalling*, 2002, 14(3): 265-275.
- [11] SAIKA S, YAMANAKA O, IKEDA K, et al. Inhibition of p38MAP kinase suppress fibrotic reaction of retinalpigmentepithelialcells. Laboratory nvestigation[J]. *Laboratory Investigation: Advancing the understanding of human and experimental disease*, 2005,85(7):838-850.
- [12] ROUX P P, BLENIS J. ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: A family of protein kinases with diverse biological functions[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2004, 68(2): 320-344.
- [13] PALMA-NICOLAS J P, LÓPEZ E, LÓPEZ-COLOMÉ A M. PKC isoenzymes differentially modulate the effect of thrombin on MAPK-dependent RPE proliferation[J]. *Bioscience Reports*, 2008, 28(6): 307-317.
- [14] LEWIS C CANTLEY. The Phosphoinositide 3-kinase Pathway[J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1655-1657.
- [15] CAI N, DAI S D, LIU N N, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway inhibitors in proliferation of retinal pigment epithelial cells[J]. *International Journal of Ophthalmology*, 2012, 5(6): 675-680.
- [16] CHEN H T, WANG H F, AN J B, et al. Plumbagin induces RPE cell cycle arrest and apoptosis via p38 MARK and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in PVR[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 18(1): 1-10.

(本文编辑 匡静之)