

【实验研究】

引文格式: 李翔,王桃,柯欣怡. 补精益视片对大鼠慢性高眼压模型视网膜损害的影响[J]. 眼科新进展, 2015, 35(10): 909-912. doi: 10.13389/j.cnki.rao.2015.0248

补精益视片对大鼠慢性高眼压模型视网膜损害的影响[△]

李翔 王桃 柯欣怡

作者简介: 李翔,女,1964年7月出生,四川西昌人,博士,主任医师、教授,硕士、博士研究生导师。联系电话: 13658080415; E-mail: jeannelxiang@126.com

About LI Xiang: Female, born in July, 1964. Doctor degree. Tel: 13658080415; E-mail: jeannelxiang@126.com

收稿日期: 2015-04-12
修回日期: 2015-06-20
本文编辑: 付中静

△基金项目: 国家自然科学基金资助(编号: 81373695/H2713); 成都中医药大学科技发展基金(编号: 030018024)

作者单位: 610072 四川省成都市, 成都中医药大学附属医院眼科

通讯作者: 王桃, E-mail: wtwang1986@163.com

Received date: Apr 12, 2015
Accepted date: Jun 20, 2015

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No: 81373695/H2713); Chengdu University of Traditional Chinese Medicine Science and Technology Development Fund(No: 030018024)

From the Department of Ophthalmology, the Teaching Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Responsible author: WANG Tao, E-mail: wtwang1986@163.com

Effects of Bujingyishi tablet on retinal damage in rat model of chronic elevated intraocular pressure

LI Xiang, WANG Tao, KE Xin-Yi

【Key words】 glaucoma; bujingyishi tablet; rat; model of chronic elevated intraocular pressure; optic nerve; retina

【Abstract】 Objective To observe the effects of bujingyishi tablet on the retinal damage in rat model of elevated intraocular pressure (EIOP), and preliminarily explore its mechanism. **Methods**

Thirty SD rats were randomly and equally divided into 3 groups: control group, model group and treatment group, 10 rats in each group. By unilaterally cauterizing three episcleral vessels, the rat model of chronic EIOP was established on model group and treatment group. The effects of bujingyishi tablet on intraocular pressure (IOP) and pathological changes of retina were observed.

Results Compared with pre-operation, IOP in treatment group and model group at models building until postoperative 8 weeks increased (all $P < 0.01$), indicated that the EIOP models were successfully established. There was obviously reduce in treatment group between postoperation 8 weeks and models building ($P < 0.01$), while model group was not statistically significant ($P > 0.05$). At postoperative 8 weeks, the number of retinal ganglion cells (RGCs) in treatment group (14.57 ± 1.97) and model group (10.76 ± 2.19) were lower than that in control group (17.47 ± 1.97) ($P < 0.05, P < 0.01$). The retinal thickness had statistically significant difference between control group ($219.72 \pm 32.24 \mu\text{m}$) and model group ($150.83 \pm 17.91 \mu\text{m}$) ($P < 0.01$), While there was not statistically significant between control group and treatment group ($215.51 \pm 51.23 \mu\text{m}$) ($P > 0.05$). The number of RGCs and retinal thickness in treatment group were better than those in model group (all $P < 0.01$). The improvement of RGCs ultrastructure in treatment group was better than that in model group. **Conclusion** Bujingyishi tablet can protect the visual function in the rat model of chronic EIOP, can decrease IOP, increase the number of RGCs and retinal thickness, improve the ultrastructure of RGCs.

【关键词】 青光眼; 补精益视片; 大鼠; 慢性高眼压模型; 视神经; 视网膜

【摘要】 目的 观察补精益视片对大鼠慢性高眼压 (elevated intraocular pressure, EIOP) 模型视网膜损害的干预作用, 探讨其作用机理。 **方法** 将 30 只 SD 大鼠随机分为 3 组: 对照组、给药组、模型组, 每组 10 只。采用烙闭上巩膜静脉法对给药组、模型组 SD 大鼠建立慢性 EIOP 模型, 观察补精益视片对慢性 EIOP 大鼠眼压和视网膜病理形态学变化的影响。

结果 给药组、模型组大鼠在造模后即刻直至造模后 8 周与造模前相比眼压均升高, 差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.01$), 说明 EIOP 模型造模成功。造模后 8 周眼压与造模后即刻相比, 给药组有降低趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 模型组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。造模后 8 周, 视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 数量给药组 (14.57 ± 1.97) 与模型组 (10.76 ± 2.19) 均明显低于对照组 (17.47 ± 1.97), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$); 视网膜厚度模型组为 ($150.83 \pm 17.91 \mu\text{m}$) 低于对照组的 ($219.72 \pm 32.24 \mu\text{m}$), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 给药组为 ($215.51 \pm 51.23 \mu\text{m}$), 与对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 给药组 RGCs 数量及视网膜厚度均优于模型组, 差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.01$)。RGCs 超微结构显示给药组较模型组明显改善。 **结论** 补精益视片能保护 SD 大鼠慢性 EIOP 模型视功能, 表现为降低眼压、提高 RGCs 数量、增加视网膜厚度、改善 RGCs 超微结构。

青光眼是一组以进行性视神经萎缩和视野缺损为特征的不可逆性致盲眼病, 长期以来一直受到人们的关注。其起病隐匿, 不易发现, 患者常因未及时救治而失明^[1], 已成为继白内障后第二大致盲眼病。本病病因、病机复杂, 迄今尚未明确, 病理性眼压增

高是其主要危险因素之一, 但部分患者眼压控制后视神经萎缩和视野缺损仍然进行性发展。因此探讨青光眼视功能损害机制与保护作用具有重要意义。本实验采用烙闭上巩膜静脉的造模方法^[2]诱导产生眼压维持稳定、持续时间较长的慢性高眼压 (elevat-

ed intraocular pressure, EIOP) 动物模型, 选取补精益视片作为干预药物, 通过对 EIOP 大鼠眼压、视网膜病理形态学的影响等客观指标观察补精益视片对慢性 EIOP 大鼠模型视网膜损害的干预作用, 探讨补精益视片视功能保护的作用机理, 为补精益视片在青光眼治疗中的临床应用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物与分组 1 级 SD 大鼠 30 只, 雌雄不拘, 8 ~ 12 周龄, 体质量 150 ~ 200 g, 全价饲料饲养, 大鼠及饲料均由成都中医药大学实验动物中心提供。饲养室温 20 ~ 25 °C, 空气流通, 相对湿度 55% ~ 75%, 12 h 光照维持, 昼夜循环。自由摄食饮水。纳入标准: (1) 无外眼疾病; (2) 双眼瞳孔直接对光反射和间接对光反射正常; (3) 无歪颈。SD 大鼠购回后, 适应性喂养 3 d, 进行眼压测量, 正常眼压区间估计, 取眼压 9 ~ 18 mmHg 者 (1 kPa = 7.5 mmHg), 以 SPSS 统计软件产生随机数字, 分为对照组、模型组、给药组, 每组各 10 只。

1.1.2 药品与试剂 补精益视片由成都中医药大学附属医院生产。体积分数 75% 消毒酒精由成都市蓉康医疗保健实业有限公司生产。戊巴比妥钠由上海化学试剂厂生产。2.5 g · L⁻¹ 氯霉素眼液由四川泰华堂制药有限公司生产。碘伏由杭州杨驰医疗用品有限公司生产。盐酸丙美卡因滴眼液由美国 Alcon 公司生产。0.5 g · L⁻¹ 盐酸金霉素眼膏由芜湖三亿信成制药有限公司生产。体积分数 3% 戊二醛组织固定液由四川大学华西医学院电镜室提供。FAA 固定液由成都中医药大学附属医院病理科提供。

1.2 方法

1.2.1 造模方法 模型组与给药组各 10 只在眼科显微镜下烙闭右眼上巩膜静脉进行造模处理^[2], 对照组暴露巩膜上静脉后未行上巩膜静脉热处理, 为假烙闭。模型组和给药组进行单眼 (右眼) 造模。方法如下: 大鼠称体质量、麻醉及固定后, 用 30 g · L⁻¹ 戊巴比妥钠按 1.5 mL · kg⁻¹ 行左下腹腔注射全身麻醉, 同时术眼予 5 g · L⁻¹ 盐酸丙美卡因滴眼液角膜表面麻醉, 于 10 点至 2 点钟位距角巩膜缘 1 ~ 2 mm 剪开上方球结膜, 分离筋膜, 暴露角巩膜缘后 3 ~ 4 mm 近赤道部 10 点、12 点和 1 点钟位处 3 支上巩膜静脉并以眼科手术止血器烙闭, 整复球结膜, 术眼涂金霉素眼膏, 待大鼠苏醒后放回笼内, 2.5 g · L⁻¹ 氯霉素眼液滴眼, 每天 2 次, 连续 6 d。对照组 10 眼 (右眼) 眼科手术止血器不开开关而不起烙闭作用, 其余操作相同。左眼不做处理。因灌胃致动物死亡 6 只 (每组各 2 只)。故实验结束时每组各 8 只。

1.2.2 给药方法 将各组大鼠连续灌胃 8 周, 方法

如下: 对照组、模型组每天予 3 mL 生理盐水灌胃, 给药组每天予 1.8 g · kg⁻¹ 体质量的补精益视片混悬液灌胃, 相当于 20 倍成人剂量。每组每天均于同一时间灌胃 1 次, 每 2 周称体质量 1 次, 调整给药量。

1.2.3 取材及标本处理 造模给药 8 周后, 以颈椎脱臼法处死大鼠, 沿角巩膜缘剪开球结膜, 分离筋膜, 剪断眼外肌, 靠近眼眶剪断视神经, 视神经保留长约 1 mm, 完整剥离眼球, 立即放入 FAA 液中固定 48 h, 蒸馏水中洗去 FAA 液, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明、浸蜡、包埋, 视网膜常规 4 μm 切片, 烘干备用。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 眼压测量 采用 TONO-PEN 笔式眼压计每日固定时间进行各组眼压测量。连续测定造模前 3 d 眼压, 取平均值为正常眼压; 造模后即刻、2 周、4 周、6 周、8 周各测一次眼压。

1.3.2 组织病理学观察

1.3.2.1 光学显微镜下病理形态学观察 视网膜组织切片行 HE 染色, 20 倍物镜显微镜下观察记录视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 数量, 每组皆测定 7 只大鼠的各 1 张视网膜切片 (每张取 10 个视野), 读取 RGCs 的数量, 取每张切片 10 个视野的均值为该切片的测量值; 20 倍物镜显微镜下用 Mias-2000 型图形图像分析仪测量视网膜的厚度, 每组皆测定 7 只大鼠, 每只大鼠制作 1 张视网膜切片, 每张视网膜切片均从视盘处开始, 向两侧各取 5 个视野, 每个视野测量 5 个视网膜厚度 (选取视野中相对最厚的测量), 取每张切片 10 个视野的均值为该切片的测量值。

1.3.2.2 电镜下 RGCs 超微结构 各组随机选定 1 只大鼠, 处死后立即剥离眼球, 使用体积分数 3% 戊二醛预固定, 72 h 后再用 10 g · L⁻¹ 四氧化锇固定, 丙酮逐级脱水, 环氧树脂 Epon812 包埋, 半薄切片光学定位后制成超薄切片, 醋酸铀和枸橼酸铅双重染色。日立 H-600IV 型透射电镜 (四川大学华西医学院第五教学楼病理电镜室提供) 下观察 RGCs 细胞形态、细胞核、细胞膜及细胞器等。

1.4 统计学方法 应用统计学软件 SPSS 17.0 进行数据分析, 实验结果的所有计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。符合正态分布的计量资料: 多组间比较采用单因素方差分析, 组内的前后比较采用配对样本 *t* 检验, 组间两两比较采用 SNK、LSD 方法。对不符合正态分布的计量资料采用非参数检验。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 眼压比较 各组大鼠造模前后及组间眼压比较见表 1。由表 1 可见, 三组造模前眼压比较差异无统计学意义 (均为 *P* > 0.05); 造模后即刻, 对照组眼压较造模前略有升高, 但差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 给药组、模型组造模后即刻眼压较造模前升

高明显,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.01$),且两组与对照组造模后即刻眼压相比,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.01$)。给药组及模型组造模后8周眼压与造模前相比,差异有统计学意义(均为 $P < 0.01$),以上结果说明大鼠 EIOP 模型成功。给药组造模后8周与造模后即刻相比,差异有统计学意义($P < 0.01$),模型组造模后8周与造模后即刻相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明给药组有一定的降眼压作用。

表1 各组大鼠各时间点眼压比较

Table 1 Comparison of IOP in each group at different time ($\bar{x} \pm s, P/\text{mmHg}$)

Group	Eyes	Pre-operation	Models building	8 weeks post-operation
Control	8	14.10 \pm 1.79	15.20 \pm 1.48	15.00 \pm 1.31
Model	8	14.30 \pm 1.89	25.89 \pm 1.90* #	25.50 \pm 1.41* #
Treatment	8	14.50 \pm 1.51	26.70 \pm 2.00* #	24.00 \pm 2.00* # Δ
F		0.13	124.89	100.33
P		0.876	0.000	0.000

Note: Comperd with pre-operation, * $P < 0.01$; Comperd with control group, # $P < 0.01$; Comperd with models building, $\Delta P < 0.01$

2.2 补精益视片对慢性 EIOP 大鼠 RGCs 数量及视网膜厚度的影响 各组大鼠 RGCs 数量及视网膜

厚度计数结果见表2、图1-3。RGCs 数量以对照组最高,给药组次之,模型组最低;给药组与模型组 RGCs 数量均明显低于对照组,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$);给药组的 RGCs 数量高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。给药组视网膜厚度稍低于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$),模型组的视网膜厚度明显低于给药组与对照组,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.01$)。说明慢性 EIOP 大鼠 RGCs 数目明显减少,视网膜厚度明显变薄,给予补精益视片后 RGCs 数目有所提高,视网膜变薄程度降低。

表2 各组大鼠 RGCs 数量及视网膜厚度比较

Table 2 Comparison of RGCs amount and retinal thickness in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Eyes	RGCs	Retinal thickness($l/\mu\text{m}$)
Control	8	17.47 \pm 1.97	219.72 \pm 32.24
Model	8	10.76 \pm 2.19* #	150.83 \pm 17.91* #
Treatment	8	14.57 \pm 1.97 Δ	215.51 \pm 51.23
F		19.02	7.86
P		0.000	0.004

Note: Comperd with control group, * $P < 0.01$, $\Delta P < 0.05$; Comperd with treatment group, # $P < 0.01$

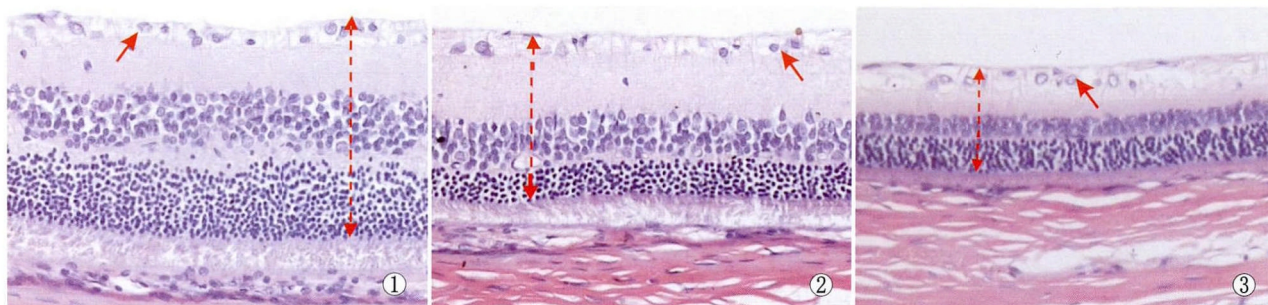


Figure 1 HE staining of retina in control group($\times 200$). Figure 2 HE staining of retina in treatment group($\times 200$). Figure 3 HE staining of retina in model group($\times 200$). Arrowhead showed RGCs, and dual arrowhead showed retinal thickness 图1 对照组视网膜 HE 染色($\times 200$)。箭头所示为 RGCs,双向箭头直线表示视网膜厚度。图2 给药组视网膜 HE 染色($\times 200$)。箭头所示为 RGCs,双向箭头直线表示视网膜厚度。图3 模型组视网膜 HE 染色($\times 200$)。箭头所示为 RGCs,双向箭头直线表示视网膜厚度

2.3 补精益视片对慢性 EIOP 大鼠 RGCs 超微结构的影响

正常大鼠 RGCs 细胞核呈圆形或卵圆形,核膜清晰,染色质均匀,细胞器丰富,线粒体内质网形态正常(图4)。造模后 RGCs 损伤明显,表现为细胞核呈圆形或卵圆形,轮廓极不规则,核膜清晰可见,核内染色质固缩,胞浆空泡化,核糖体明显减少,残存线粒体高度膨胀、破裂,部分内质网扩张,呈空泡状(图5)。而给予补精益视片后大鼠 RGCs 损伤较模型组轻,其部分细胞核呈圆形或卵圆形,形态欠规则,核膜清晰可见,核内染色质呈聚集趋势,线粒体轻度肿胀、变形,部分内质网扩张,胞浆中细胞器种类、数量均有减少,分布较稀疏(图6)。

3 讨论

青光眼视功能损害的病因、病机至今未明,目前多考虑与机械损伤、缺血及遗传、基因易感等相关。

但无论哪种因素,青光眼视功能损害中最核心的问题是视网膜视神经病变,最终都导致视神经损害,病理表现为视网膜变薄、RGCs 损伤变性凋亡、轴突断裂、神经纤维萎缩^[3]。高眼压是青光眼视神经病变产生和进展的危险因素^[4-5],降低眼压是治疗青光眼的主要方法。部分患者尽管眼压已降至正常,RGCs 的凋亡和视野缺损仍在继续,部分患者眼压正常却发生了典型青光眼性 RGCs 损害,称为正常眼压青光眼。由此可知,单纯降眼压可能并不能完全终止青光眼视神经进行性损害,视功能保护对青光眼预后也非常重要。因此,通过药物或其他干预方法,使未受损、轻度受损或处于毒性内环境中临近凋亡的 RGCs 得以存活或延长生存时间,从而最大程度上保留残存视力和视野是青光眼视功能保护的重要手段^[6-9]。

中国医学认为青光眼类似于“五风内障”(绿风、

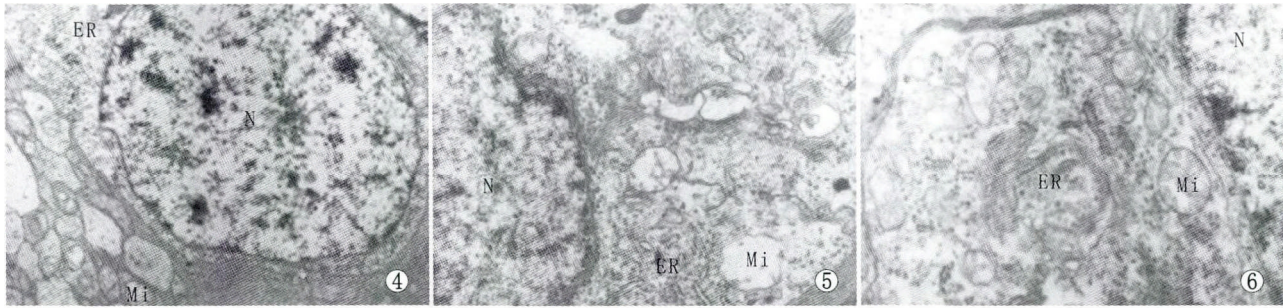


Figure 4 RGCs in control group(TEM, × 12 000) . Cell nuclei(N) were round or oval, nuclear membranes were clear, chromatin was uniform, organelles were rich, mitochondria(Mi) and endoplasmic reticulum(ER) were normal. **Figure 5** RGCs in treatment group(TEM, × 20 000) . Partial nuclei(N) were round or oval with mild irregular shape, nuclear membranes were clear, chromatin in the nucleus were clustered, mitochondrial(Mi) were mild swollen and deformed, partial endoplasmic reticulum(ER) expansion were observed, types and quantities of organelles in cytoplasm were decreased and the distribution was sparse. **Figure 6** RGCs in treatment group(TEM, × 20 000) . Nuclei(N) were round or oval with extremely irregular shape, nuclear membranes were clear. And nuclear chromatin condensation, cytoplasm cavitation and significantly reduced ribosome were observed. The remnant mitochondrial(Mi) were highly expansive and ruptured. Partial endoplasmic reticulum(ER) was dilated **图4** 透射电镜观察对照组 RGCs (× 12 000) 。细胞核(N) 呈圆形或卵圆形,核膜清晰,染色质均匀,细胞器丰富,线粒体(Mi) 、内质网(ER) 形态正常。**图5** 透射电镜观察模型组 RGCs(× 20 000) 。细胞核(N) 呈圆形或卵圆形,轮廓极不规则,核膜清晰可见,核内染色质固缩,胞浆空泡化,核糖体明显减少,残存线粒体(Mi) 高度膨胀、破裂,部分内质网(ER) 扩张,呈空泡状。**图6** 透射电镜观察给药组 RGCs(× 20 000) 。部分细胞核(N) 呈圆形或卵圆形,形态欠规则,核膜清晰可见,核内染色质呈聚集趋势,线粒体(Mi) 轻度肿胀、变形,部分内质网(ER) 扩张,胞浆中细胞器种类、数量均有减少,分布较稀疏

黑风、青风、乌风、黄风) 及“青盲”,与肝肾关系密切。“五风内障”基本病机为目中玄府闭阻,脉络不利,神水瘀滞^[10],日久则肝肾虚损、脉络瘀滞而成“青盲”(青光眼视神经病理改变)。补精益视片由枸杞子、菟丝子、五味子、丹参、三七、菟蔚子、楮实子、车前子、青皮、木瓜组成,具有滋养肝肾、活血通络的功效。正切合青光眼视神经病理改变是“肝肾虚损、脉络瘀滞”的主要病机。以往研究表明,补精益视片可抑制感光细胞凋亡,发挥保护视网膜功能、减轻光感受器损伤及防治视网膜变性的作用^[11];可在一定程度上促进视网膜脱离术后视功能的恢复^[12];具有稳定或改善高度近视视力及玻璃体混浊的作用^[13],由此可见补精益视片有较好的视功能保护及改善作用。

本实验以实验性青光眼大鼠为研究对象,通过观察慢性 EIOF 大鼠眼压、视网膜病理学改变,探讨补精益视片对青光眼视功能保护的作用机理。结果显示,慢性 EIOF 大鼠 RGCs 数目明显减少,视网膜厚度明显变薄,给予补精益视片后 RGCs 数目有所提高,视网膜变薄程度有所降低。表明补精益视片可能挽救 RGCs 的死亡,使残存的 RGCs 增多,同时保护残存 RGCs 的结构和功能,使其尽量发挥生理功能。电镜下的超微结构观察也发现,慢性 EIOF 大鼠 RGCs 超微结构损伤明显,细胞核呈圆形或卵圆形,轮廓极不规则,核膜清晰可见,核内染色质固缩,胞浆空泡化,核糖体明显减少,残存线粒体高度膨胀、破裂,部分内质网扩张,呈空泡状。而给予补精益视片后,RGCs 细胞核形态、核内染色质聚集、胞浆中细胞器种类和数量减少、线粒体肿胀或变形、内质网扩张等程度明显减轻,说明补精益视片能保护 RGCs 超微结构。

补精益视片(原名益视片,全方由枸杞子、菟丝

子、五味子、丹参、三七、菟蔚子、楮实子、车前子、青皮、木瓜组成,具有滋养肝肾、活血通络的功效) 是根据中医眼科名家陈达夫教授经验制成的成都中医药大学附属医院院内制剂,应用已达数十年,价廉物美,服用方便。本研究结果表明,补精益视片具有青光眼视神经保护作用,值得进一步研究。

参考文献

- 1 刘兵,马晓华. 青光眼视神经保护治疗的研究进展 [J]. 国际眼科杂志,2010,10(11):2137-2140.
- 2 Akira S,Neufeld AH. Confirmation of the rat model of chronic, moderately elevated intraocular pressure [J]. *Exp Eye Res*,1999,69(5):525-531.
- 3 葛坚. 眼科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社,2005: 246.
- 4 Heijl A,Leske MC,Bengtsson B,Hyman L,Bengtsson B,Hussein M. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the early manifest glaucoma trail [J]. *Arch Ophthalmol*,2002,120(10):1268-1279.
- 5 Musch DC, Gillespie BW, Niziol LM, Janz NK, Wren PA, Rockwood EJ, et al. Cataract extraction in the collaborative initial glaucoma treatment study: incidence, risk factors, and the effect of cataract progression and extraction on clinical and quality-of-life outcomes [J]. *Arch Ophthalmol*,2006,124(12):1694-1700.
- 6 Yang J,Tezel G,Patil RV,Romano C,Wax MB. Serum autoantibody against glutathione S-transferase in patients with glaucoma [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*,2001,42(6):1273-1276.
- 7 Wax B,Tezel G,Eduard PD. Clinical and ocular histopathological findings in a patient with normal-pressure glaucoma [J]. *Arch Ophthalmol*,1998,116(8):993-1001.
- 8 路雪婧,段俊国,廖品正,张富文. 持续高血压对大鼠视网膜神经节细胞的损伤 [J]. 基础医学与临床,2005,25(9):798-801.
- 9 曾洁萍,段俊国. 灯盏花提取成分对体外高压培养视网膜神经节细胞凋亡基因表达的影响 [J]. 中华现代眼耳鼻喉杂志,2006,3(5):388-390.
- 10 廖品正. 中医眼科学 [M]. 北京: 中国中医药出版社,2000: 164-171.
- 11 马鹏飞. 补精益视片调控 MNU 诱导的大鼠感光细胞凋亡信号转导通路的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学临床医学院,2012: 58-60.
- 12 汪辉,汪涓,张玲. 补精益视片对孔源性视网膜脱离复位术后视功能的影响 [J]. 成都中医药大学学报,2011,34(2):23-24.
- 13 李翔,谢钊,张敏. 补肾活血法治疗高度近视 120 例 [J]. 陕西中医,2009,30(7):842-843.