

补肾活血中药对大鼠慢性高眼压模型多焦视网膜电图的影响

李翔 毛欣 张富文

成都中医药大学附属医院眼科 (四川 成都 610072)

摘要: 目的: 观察补肾活血中药对大鼠慢性高眼压 (elevated intraocular pressure, EIOP) 模型视功能损害的干预作用。方法: 采用烙闭巩膜静脉的方法诱导产生慢性 EIOP 大鼠模型, 将 52 只 SD 大鼠随机分为补肾活血高、中、低剂量组、模型组、空白组。连续灌胃 8 周, 于 8 周末进行多焦视网膜电图 (multifocal electroretinogram, mfERG) 检测。结果: 通过对大鼠 mfERG-阶函数核 (first order kernel, FOK) 的观察发现, 补肾活血中药有助于总波及 1、2、3、4 环 P1 波反应密度、总波 P1 波峰潜时、2 环及 3 环 N1 波反应密度, 3 环、4 环 N1 波峰潜时的恢复。结论: 补肾活血中药可以改善大鼠慢性 EIOP 模型的视功能, 有助于 mfERG 反应密度和波峰潜时的恢复。

关键词: 补肾活血中药 慢性高眼压大鼠模型 多焦视网膜电图

中图分类号: R 285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3649 (2009) 08-0018-04

Influences of Traditional Chinese Medicine of BuShenHuoXue on the Multifocal Electroretinogram of A Rat Model of Chronic Intraocular Hypertension / Li Xiang Mao Xin Zhang Fuwen // The Teaching Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (Chengdu Sichuan 610072, China)

Abstract: Objective: To observe the effect of Traditional Chinese Medicine (TCM) of BushenHuoXue on the rat model of chronic, moderately elevated intraocular pressure. Methods: By unilaterally cauterizing 3 episcleral vessels, the rat model of chronic, moderately elevated intraocular pressure was gotten. 52 rats were divided into 5 groups randomly: model control group, treatment groups with high, middle, low dosage of BuShenHuoXue of TCM, and normal control group. After given drugs or normal saline for 8 weeks, to observe the effect by multifocal electroretinogram (mfERG). Results: To observe the mfERG first order kernel (FOK), BushenHuoXue of TCM can improve P1 wave's 1, 2, 3, 4 ring's amplitude density, P1 wave's peak time, N1 wave's 2, 3 ring's amplitude density and N1 wave's 2, 3 ring's peak time. Conclusion: BuShenHuoXue of TCM can protect the visual function from elevating intraocular pressure, by improving mfERG's amplitude density and peak time. So the mfERG can be a sensitivity method to evaluate its efficacy.

Keywords: TCM of BuShenHuoXue A rat model of chronic intraocular hypertension multifocal electroretinogram (mfERG)

青光眼^[1] (glaucoma) 是一类以特异性视神经萎缩和视野缺损为共同特征的多因素致病的严重的不可逆性致盲眼病, 病理性眼压 (intraocular pressure, IOP) 升高是其主要危险因素之一, 但并不是唯一因

可逆性致盲眼病, 病理性眼压 (intraocular pressure, IOP) 升高是其主要危险因素之一, 但并不是唯一因

降和躯体疲劳状态。尤其是表 4 的试验结果值得思考, 艾灸组力竭游泳时间较空白组明显延长, 说明艾灸不仅可以治疗躯体疲劳症状, 可能还可以明显提高试验动物的体力; 其中最长时间为 4338s, 最短时间为 1087s, 个体差异非常明显。

2003; 360

[3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 人民卫生出版社, 1994; 641~647

[4] Amario A, Gavaldà A, Martí J. Comparison of the behavioral and endocrine response to forced swimming stress in five inbred strains of rats [M]. Psychoneuroendocrinology, 1995; 879~890

[5] Borsini F, Meli A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity [M]. Psychopharmacology, 1988; 147~160

[6] Gold P W, Chrousos GP. The endocrinology of melancholic and atypical depression: relation to neurocircuitry and somatic consequences [M]. Proc. Assoc. Amer. Physicians, 1999; 22~34

[7] Gomez F, De Kloet E.R, Amario A. Glucocorticoid negative feedback on the HPA axis in five inbred rat strains [M]. Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., 1998; R420~R427

[8] Gomez F, Lahmame A, De Kloet E.R et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal response to chronic stress in five inbred rat strains: differential responses are mainly located at the adrenocortical level [M]. Neuroendocrinology, 1996; 327~337

艾灸五脏背俞穴可以改善模型大鼠的躯体疲劳和心理疲劳, 使之活动增多, 体力恢复, 兴趣提高, 从而说明灸法可以通过心身调节改善动物的疲劳状态, 为祖国传统医学治疗慢性疲劳综合征的临床应用提供了实验依据。

由于经费和时间的限制, 本研究中试验动物例数有限, 可能会对结果产生一定的影响, 但可以预见的是艾灸五脏背俞穴在临床治疗 CFS 中将发挥一定的作用。

参考文献

[1] 王天芳, 陈易新, 季绍良, 等. 慢性束缚致慢性疲劳动物模型的研制及其行为学观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 1999, 5 (5): 25~29

[2] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社,

素, 以往认为将 IOP 控制到安全水平 (靶眼压) 是青光眼临床治疗的唯一可信指标。然而, 通过长期的临床及实验研究发现, 青光眼 IOP 控制在正常范围后, 仍然有约三分之一的患者视功能继续受损, 最终导致视神经萎缩而失明^[2,3]。因此, 除降低 IOP 以外, 人们越来越关注改善视乳头血流灌注和加强视神经保护的治疗。多年来, 国内外许多学者对青光眼视功能损害进行了大量实验和应用性研究, 中医药界也积极致力于寻找青光眼视神经保护有效药物, 但治疗多局限于活血化瘀^[4,5], 补益肝肾者少见, 补肾活血同用者未见报道。因此, 本实验选取杞菊地黄丸和复方丹参片作为干预药物, 观察其对慢性 EIOP 大鼠模型 mfERG 的影响, 探讨补肾活血对青光眼视功能的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 60 只, 雌雄各半, 8~12 周龄, 体重约 160~200g。饲养室温 20~25℃, 空气流通, 相对湿度 55%~75%, 12 小时光照维持, 昼夜循环。自由摄食饮水。纳入标准: ①无外眼疾病; ②双眼瞳孔对光反射正常; ③无歪颈。

1.2 分组与给药方法 动物购回后, 适应性喂养 3 天, 连续测量 3 天 IOP, 进行正常 IOP 区间估计, 取平均 IOP 在 9~18mmHg 者, 以 SPSS 统计软件产生随机数字, 随机分为五组, 空白组不做处理, 其余四组采用烙闭上巩膜静脉法进行单眼 (右眼) 造模, 造模后成模动物随机分为模型组, 补肾活血高、中、低剂量组。因为灌胃等原因动物死亡 8 只。

补肾活血高、中、低剂量组分别予相当于 20 倍、10 倍、5 倍成人剂量的复方丹参片和杞菊地黄丸的混悬液, 模型组、空白组分别予生理盐水, 每天同一时间灌胃 1 次, 连续灌胃 8 周。每 2 周称体重 1 次, 调整给药量。

1.3 mfERG 检测方法 采用德国 Roland 公司产生的 RETIscan 3.15 多焦电生理系统。于造模后 8 周, 进行 mfERG 检测。SD 大鼠用 3% 戊巴比妥钠按 1.5ml/kg 体重行左下腹腔注射全身麻醉, 右眼予托吡卡胺滴眼液充分散瞳至 2~3mm, 同时予 0.5% 盐酸丙美卡因滴眼液角结膜表面麻醉。

1.3.1 刺激方法 参照 Ball 及 Nusinowitz 法^[6,7], 刺激采用图形同心圆排列的 61 个六角形, 用 21 寸显示器显示。61 个六角形由计算机产生二进制 m-序列的假随机序列交替出现亮帧和暗帧, 单位格的局部 ERG 反应由计算机自动处理记录。刺激采用 1:4 亮暗对比, 即 1 个亮帧之后有 4 个暗帧, 暗帧之后每个六角形按 m-序列随机出现亮暗帧, 反复进行, 47s 一个时段, 每次测试共记录 4 个时段。通频带 5Hz~100Hz。大鼠被放置于显示器前约 20cm 的固定架上。

1.3.2 记录方法 各电极均与针灸针相连, R⁺极针灸针刺入角膜下方边缘, R 极针灸针于两眼眶上缘连线中点刺入皮下, 针尖与骨膜相贴, 地电极置于尾根部皮下。经放大器放大 (×10, 000) 并滤过 (1Hz/1kHz)。

1.3.3 分析方法 所有 mfERG 反应曲线均以第一个大的正波和负波, 即 P1 波和 N1 波为分析对象。采用常规分析参数进行分析。数值以各波反应密度 (即单位面积的振幅 Nv/deg^2) 及各波峰潜时 (ms) 表示。

1.4 统计方法 用 SPSS 13.0 for windows 软件进行统计分析, 采用单因素方差分析。

2 结果

通过对大鼠 mfERG 一阶函数核 (first order kernel, FOK) 的观察发现, 补肾活血中药有助于总波及 1、2、3、4 环 P1 波反应密度、总波 P1 波峰潜时、2 环及 3 环 N1 波反应密度, 3 环、4 环 N1 波峰潜时的恢复。结果详见表 1, 图 1-5。

表 1 补肾活血中药对 EIOP 大鼠 mfERG 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	眼数	N1 波		P1 波		
		峰潜时 (ms)	反应密度 (nv/deg^2)	峰潜时 (ms)	反应密度 (nv/deg^2)	
总波	模型组	11	18.12±6.8136	5.19±3.1577	66.29±6.0784 [△]	15.73±10.0497
	高剂量组	9	17.75±7.2901	5.17±2.8653	57.43±9.2361 [△]	33.31±1.1719 [▲]
	中剂量组	10	18.10±6.8733	5.67±2.0095	51.99±3.1316 [▲]	16.81±3.8647 [△]
	低剂量组	11	15.15±5.9069	8.01±4.2541	58.04±8.5378 [△]	16.55±12.3757 [△]
	空白组	11	12.28±4.1237	11.24±2.8660	47.20±6.6449	37.48±3.8448 [▲]
一环	模型组	11	29.74±11.8565	12.40±6.8609	57.69±3.6286	30.66±15.0098
	高剂量组	9	26.81±10.8258	13.01±4.8484	53.14±17.1524	51.77±12.1619 [▲]
	中剂量组	10	25.09±7.2393	12.87±8.4135	50.20±7.0090	35.50±16.6471 [△]
	低剂量组	11	26.78±7.6253	12.67±8.9356	52.15±9.3761	34.13±28.3312 [△]
	空白组	11	24.96±4.8425	23.30±2.5889	55.43±3.1171	57.92±6.9341 [▲]
二环	模型组	11	18.05±9.1178	7.99±5.0856	58.51±6.9396	24.72±14.5591
	高剂量组	9	21.18±9.8857	11.98±4.1410 [▲]	60.90±8.9348	36.52±14.2752
	中剂量组	10	17.98±7.5344	9.93±2.6210 [△]	52.76±8.4003	36.31±16.3364
	低剂量组	11	18.06±9.0284	9.61±5.9260 [△]	54.98±8.1310	45.40±23.2794 [▲]
	空白组	11	10.99±3.5538	14.64±2.5403 [▲]	66.26±5.6750	42.82±3.1910 [▲]

(续表)

	模型组	11	17.52±7.9460	8.08±5.4151 [△]	59.01±6.0542	22.91±13.9710
三环	高剂量组	9	22.89±11.9836 [▲]	11.99±3.7645	57.04±13.5710	41.25±11.9290 [▲]
	中剂量组	10	16.25±7.6435	9.69±5.1596	53.29±7.8957	31.27±16.4683
	低剂量组	11	17.01±5.6920 [△]	6.76±5.2542	53.89±6.2691	20.96±19.7915
	空白组	11	8.68±3.2275 [▲]	13.38±2.4788	53.85±4.8190	41.36±6.8307 [▲]
四环	模型组	11	29.46±6.8916	5.66±3.6751	59.29±4.5272	15.85±9.4620
	高剂量组	9	13.59±5.4635 [▲]	5.44±3.1711	53.71±7.0766	33.34±9.1496 [▲]
	中剂量组	10	18.19±7.2946	7.05±3.6392	53.18±8.4059	27.80±13.4430 [▲]
	低剂量组	11	19.18±3.3663	8.40±4.6446	54.93±8.3356	18.06±16.5290
	空白组	11	13.63±2.5992 [▲]	9.57±3.1884	57.88±2.5622	34.26±8.5338 [▲]
五环	模型组	11	20.69±6.6994	4.56±1.8806	59.63±4.5650	15.49±6.8666 [△]
	高剂量组	9	22.41±11.7627	5.46±2.6472 [△]	53.14±7.4216	17.28±9.0362 [△]
	中剂量组	10	19.21±9.0545	3.84±1.5536 [△]	52.30±6.0835	19.21±10.4530 [△]
	低剂量组	11	16.41±8.4801	6.58±2.6872 [△]	50.80±7.9583	26.48±11.6034 [△]
	空白组	11	14.70±1.2817	11.52±3.0891 [▲]	50.88±2.5622	34.70±7.4430 [▲]

注：与空白组比较，[△]P<0.05；与模型组比较，[▲]P<0.05

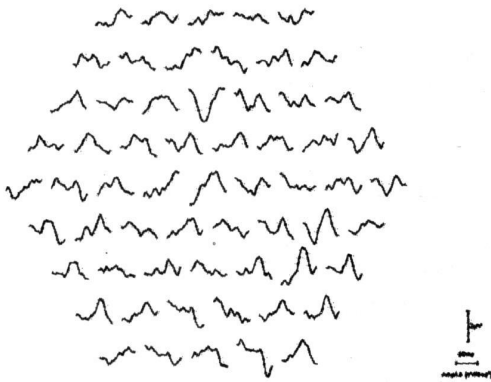


图1 模型组 EIOP 大鼠 mfERG 波形图

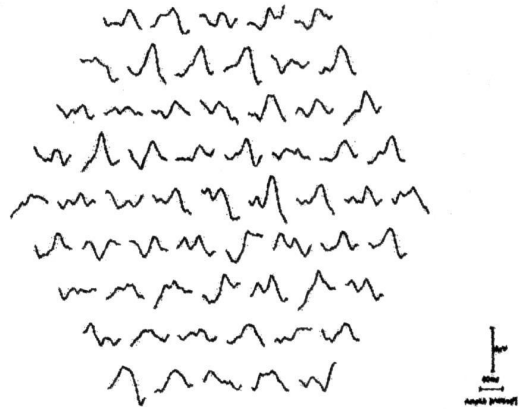


图4 低剂量组 EIOP 大鼠 mfERG 波形图

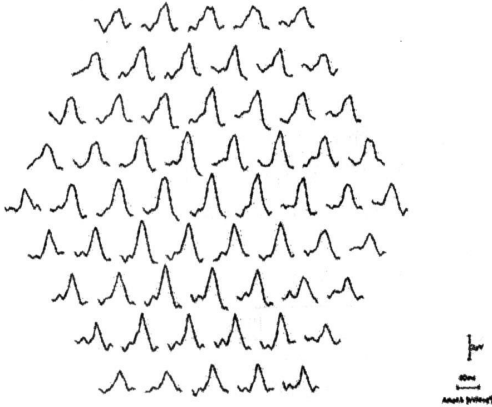


图2 高剂量组 EIOP 大鼠 mfERG 波形图

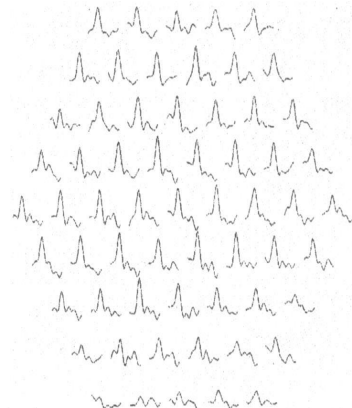


图5 空白组 SD 大鼠 mfERG 波形图

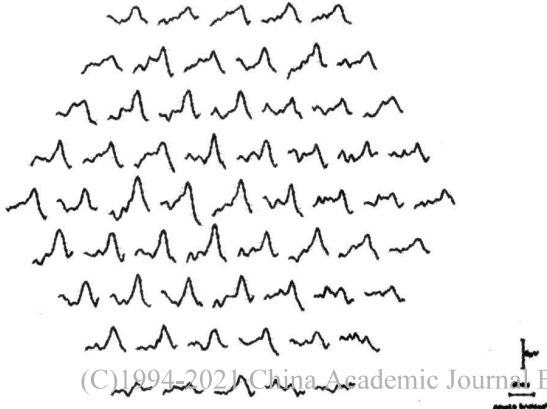


图3 中剂量组 EIOP 大鼠 mfERG 波形图

3 讨论

青光眼是一个多因素疾病。目前认为，青光眼的视功能损伤主要由于 EIOP 或低血流灌注压导致缺血、缺氧等，使视神经纤维轴浆流中断，从而引起青光眼视神经损害^[8]。目前治疗青光眼的方法主要是降低 IOP，以期减缓视神经损害的进展，这对于压力依赖性青光眼其病变发展能被阻止，甚至有逆转的可能；但对于非压力依赖性青光眼，即使药物和手术有效的控制 IOP，其病变仍会缓慢的发展。因此，除降低 IOP 以外，人们越来越关注视神经保护

的研究。

青光眼是一类以特异性视神经损害和视野缺损为共同特征的眼病,类似中医“五风内障”及“青盲”,属瞳神疾病,在五轮学说中,瞳神属水轮,内应于肾,近代名家陈达夫教授“内眼结构与六经相属学说”认为,视神经、视网膜属足厥阴肝经,肝肾同源,故本病与肝肾关系密切。“五风内障”多由风、火、痰、虚、郁等上犯目窍,导致气血失和,经络不利,气滞血瘀,目中玄府闭塞,神水瘀积为病,病久则肝肾两亏,神光衰微甚至泯灭、不睹三光而成“青盲”,故肝肾虚损、瘀血内停是青光眼视神经病理改变的主要病机,滋养肝肾,活血化瘀为防治青光眼视神经损害的基本方法。现代药理研究也显示:许多补益肝肾、活血化瘀的中药在改善微循环,降低血液粘稠度,提高机体抗氧化能力、改善青光眼视神经轴浆流、视盘微循环状况等方面有明显优势。且临床在青光眼视神经保护方面也或补益肝肾,或活血化瘀,但补益肝肾、活血化瘀同用者罕见,系统研究更少,故本实验选取杞菊地黄丸和复方丹参片合用共奏滋补肝肾、活血化瘀之功。杞菊地黄丸为经典古方(由枸杞、菊花、熟地、山茱萸、山药、泽泻、牡丹皮、茯苓组成),为滋补肝肾明目的代表方剂,复方丹参片(由丹参、三七、冰片组成)活血化瘀,两者均为《中国药典》载入药品、非处方用药,价廉物美,服用方便。杞菊地黄丸和复方丹参片中,多味中药^[9~24]的现代药理研究证明均具有改善微循环,增加眼血流量,改善轴浆流,增强视网膜血管、神经的耐缺氧能力,抗氧化,清除自由基,免疫调节,双向调节神经细胞内钙离子浓度等作用。

mfERG是从多道输入的ERG视野地形图衍生而来的一种视觉电生理检查法,可以在数分钟内同时记录视网膜不同部位的电反应,分别提取波形,反映视网膜不同层次细胞功能变化,mfERG可以敏感的反映视网膜节细胞的功能,FOK振幅与神经纤维轴突丢失数量呈负相关^[25]。本实验结果显示:补肾活血高、中剂量组有助于总波及1、2、3、4环P1波反应密度、总波P1波峰潜时、2环及3环N1波反应密度,3环、4环N1波峰潜时的恢复。提示补肾活血中药高、中剂量组可以部分改善慢性EIOF大鼠的mfERG,为补肾活血中药应用于青光眼视功能保护提供了一定的依据。

参考文献

[1] 杨新光主编·疑难青光眼的诊断与治疗[M]·北京:人民军医出版社,2005,1
[2] Monrison JC, Nylander KB, Lauer AK, Cepurna WO, Johnson E. Glaucoma drops control intraocular pressure and protect optic nerves in rat

model of glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998; 39 (3): 526~531
[3] 刘东敬, 鲍捷, 陈晓明, 等·灯盏细辛对眼压已控制青光眼视网膜微循环的影响[J]·国际眼科杂志, 2006, 6 (1): 107~109
[4] 李淑敏, 姜冬, 黄孝宇, 等·益脉康治疗视野缺损的疗效[J]·实用诊断与治疗杂志, 2006, 20 (3): 215~220
[5] 齐翠英·益精活血通窍汤治疗视神经萎缩临床观察[J]·中国中医药信息杂志, 2004, 11 (10): 914
[6] Ball S L, Petry H M. Noninvasive assessment of retinal function in rats using multifocal electroretinography [J]. Invest Ophthalmol Vis Sic, 2000; 41: 610~617
[7] Nusinowitz S, Heckenlively J. R. Rod multifocal electroretinograms in mice [M]. Invest Ophthalmol Vis Sic, 1999; 40: 2848~2858
[8] 葛坚·青光眼的研究进展与发展趋势[J]·中华眼科杂志, 2000, 36 (3): 194
[9] 周燕霞, 李元波·复方丹参研究概况[J]·江苏中医药, 2007, 39 (7): 65~67
[10] 杨士长·复方丹参注射液对眼血流量影响的观察[J]·中国中医眼科杂志, 1993, 3 (2): 901
[11] 祝枚东·复方丹参注射液对慢性高血压兔视神经轴浆流影响的研究[J]·中华眼科杂志, 1991, 27 (3): 1741
[12] 秦大军·复方丹参液对晚期青光眼术后增视作用的临床研究[J]·中西医结合眼科杂志, 1998, 16 (2): 741
[13] 郭文忠·复方丹参液治疗低眼压青光眼[J]·中西医结合眼科杂志, 1996, 14 (3): 1641
[14] 刘刚, 刘育辰·三七药理作用的研究进展[J]·人参研究, 2005, 3: 12~15
[15] 刘洋, 张伯礼·冰片的药理实验研究概况[J]·天津中医药, 2003, 20 (4): 85~87
[16] 唐由之主编·眼科全书[M]·人民卫生出版社, 1996: 713
[17] 王春霞·菊花的药理和临床应用研究[J]·广东医学, 2005, 26 (12): 1740~1741
[18] 蔡晶·地黄的药理作用实验研究进展[J]·国际中医中药杂志, 2005, 26 (12): 1740~1741
[19] Li DQ, Li Y, et al. Catalpol prevents the loss of CA1 hippocampal neurons and reduces working errors in gerbils after ischemia-reperfusion injury [J]. Toxicol, 2005, 46 (8): 845~851
[20] 赵彦青, 王爱凤·山药的药理研究进展[J]·中医研究·2000, 13 (5): 49~50
[21] 沈映君主编·中药药理学[M]·上海:上海科学技术出版社, 1997: 185
[22] 徐晖·泽泻药理作用研究进展[J]·湖南中医杂志, 2004, 20 (3): 77
[23] 龙世林, 陈雅·牡丹皮药理作用及临床研究进展[J]·中国药业, 2007, 16 (3): 63~64
[24] 张秀明·茯苓药理作用研究概况[J]·中药材·2001, 24 (6): 446~449

[25] 吴乐正主编·临床多焦视觉电生理学[M]·北京:北京科学技术出版社·2004: 127~128