

中药对青光眼致视网膜神经节细胞损害的保护研究

崔雅忠 张孟仁 李伏蓉

青光眼为常见的不可逆性致盲眼病,是一组由于绝对性或相对性眼压升高所导致的视神经损伤性疾病。根据 WHO 统计,因青光眼引起双眼失明者占全球盲人总数的 50%。我国青光眼发病率在 40 岁以上人群中超过 2%,而 65 岁以上者可达 4%~7%。中医认为青光眼属五风内障范畴。主要发病机制为经脉不利,玄府闭塞,珠内气血津液不行,神水瘀积。

青光眼所造成的视神经进行性损害是导致不可逆性视功能损害的根本原因。目前认为病理性高眼压和(或)视网膜缺血共同成为青光眼病变的始动原因,眼内压升高和(或)视网膜缺血,造成一系列链式反应,形成视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGCs)层内神经营养因子的减少、谷氨酸浓度升高、钙离子超载、一氧化氮和自由基的增加,这些都直接或间接地造成 RGCs 凋亡的发生。目前的西药如:右美沙芬、氟吡丁、美金刚等药物虽然疗效明确但具有神经毒性,引发运动障碍和空间学习能力下降,以及剂量依赖性意识抑制。到目前为止,尚无一种美国 FDA 认定的视神经保护药物。

祖国传统医学博大精深,随着科学技术的发展,现已发现许多中药对 RGCs 具有保护作用,其主要的机制包括:扩张微血管,改善微循环;降低眼压;清除自由基,降低谷氨酸浓度等。从治疗效果和减少不良反应等方面考虑,中药治疗视神经损伤具有较大的综合优势。本文就近年来在临床及实验研究中报道对视网膜神经节细胞具有保护作用的中药做一综述。

一、改善微循环

以往的研究表明,血液流变学改变是原发性开角型青光眼的重要发病因素。因此,从改善微循环角度探讨药物对视神经损害的保护作用,为青光眼的治疗

提供了新的途径。

1. 当归补血汤:当归补血汤主要成分为当归、黄芪。当归具有活血通经之功效,可以增加冠心病患者血超氧化物歧化酶(SOD),减少脂质过氧化物(MDA),减少血小板凝集指数^[1]。从而降低血液黏滞度,达到活血抗氧化作用。黄芪能减轻由于缺血引起的心肌细胞、心肌组织和红细胞内的钙积聚。并能保护红细胞膜钙泵功能,起到钙拮抗作用。还能增加心肌组织 SOD 活力,减少自由基损伤^[2]。故当归补血汤可能通过益气养血活血,降低血液黏滞度,改善视乳头血循环;减少自由基损伤及抗氧化等作用,达到对视网膜神经节细胞保护作用。李德姣等^[3]用前房注射的方法造成兔实验性高眼压模型,分为噻吗心安组、噻吗心安合当归补血汤组及高眼压未治疗组,与正常眼压对照组同时进行观察。给药 4、6、8 周,进行存活 RGCs 计数。各组在 4、6、8 周, RGCs 数均进行性减少,联合给药组 RGCs 减少程度轻于噻吗心安组,与高眼压未治疗组比较,联合给药组存活 RGCs 数明显增多。说明联合用药对 RGCs 保护作用优于单纯噻吗心安。

2. 青光安颗粒剂:青光安颗粒剂由黄芪、生地、茯苓、车前子、地龙、赤芍、红花等药组成,具有益气养阴、活血利水的作用,能改善血液流变性,提高血管内皮细胞活性,降低血小板活化功能,从而改善眼局部血液循环,提高视网膜、视神经等内眼组织的耐缺氧、抗损伤功能等^[4]。彭清华^[5]等采用细胞色素氧化酶(CO)组织化学法观察青光安颗粒剂对实验性高眼压大鼠 RGCs 代谢功能的影响。结果证实,青光安颗粒剂治疗后的高眼压模型眼视网膜 CO 活性节细胞和高 CO 活性节细胞密度与对照组高眼压模型眼比较明显升高。说明青光安颗粒剂具有保护和改善急性高眼压后大鼠视网膜 CO 活性节细胞作用。

二、降低眼压

1. 葛根主要含黄酮类物质:大豆素、葛根素、葛根醇等。其中葛根素可改善眼底微循环,对于视网膜

作者单位:100730 中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院中医科(崔雅忠、张孟仁);北京丰盛骨伤专科医院(李伏蓉)

通讯作者:张孟仁,电子信箱:xhzhmr425@sina.com

动、静脉阻塞,前部缺血性视神经病变,高度近视,有较好的疗效。吴正红等^[6]采用球结膜下注射地塞米松法制作慢性兔眼高压模型,然后,随机分组,给予不同浓度的葛根素滴眼液、噻吗洛尔滴眼液、生理盐水滴眼。多时间点监测眼压,实验结果表明葛根素滴眼液对家兔的降眼内压的作用强度与药物浓度之间有相关性。噻吗洛尔滴眼液相比,降眼内压作用趋势相似。结果葛根素滴眼液对家兔眼高压实验模型有降低眼内压的作用。

2. 优视胶囊具有通瘀开窍作用,其主要有效成分为多种黄酮类。张宗端等^[7]采用上巩膜静脉结扎法,获得兔急性高眼压动物模型,分组予不同剂量的优视胶囊灌胃。经免疫组织化学染色(FP法),进行视网膜神经节细胞计数,结果显示,优视胶囊有轻度的降低模型眼高眼压的作用,统计表明,各组实验兔正常视网膜神经节细胞数目相当,而造模 RGCs 数目显著降低,但高剂量组高于低剂量组,低剂量组高于模型组。以上结果提示,持续性较高水平的高眼压可造成神经节细胞坏死,引起神经节细胞数目减少;而优视胶囊则具有保护急性高眼压兔眼神经节细胞免受进一步损害的作用。

三、RGCs 的保护及促进神经细胞增生

1. 阿魏酸是源于当归和川芎等中药的一种水溶性单体成分,可抑制氧化诱导的细胞一氧化氮(NO)释放,促进细胞增生。李根林等^[8]以7个月人胚胎视网膜、新生小牛视网膜和4个月小鼠视网膜为研究对象,以细胞培养、MTT法和氘标记胸苷掺入法等为研究手段,检测阿魏酸、脑源性神经营养因子(BDNF)和葛根素作用72h后,视网膜神经细胞增生和DNA合成变化。结果显示,阿魏酸对3种视网膜神经细胞均具有促增生作用,细胞活性强度呈现剂量依赖性,葛根素未见明显促增生效应。

2. 刺蒺藜又名白蒺藜,为蒺藜科蒺藜属植物的果实,具有祛风、明目、下气行血之功效,其有效的单体成分为白蒺藜醇甙(tribulus fruit alcohol glycoside, TFAG)。叶长华等^[9]采用胰酶消化法将乳鼠视网膜制成细胞悬液进行 RGCs 培养,分为对照组和多种浓度梯度的 TFAG 实验组,进行细胞形态学及细胞免疫化学的检查。结果显示:TFAG 具有类似神经营养因子的作用,能促进混合培养 RGCs 在体外的存活。

3. 川芎嗪为川芎的主要成分,能够抑制血小板聚集,促进血小板解聚,降低血小板活性,具有良好的抗栓效应。对高黏血症、高凝血症、微循环障碍及体内

血栓形成等具有较好的治疗作用。宋宗明等^[10]采用前房注射甲基纤维素法建立慢性眼高压模型,随机分组予川芎嗪及生理盐水治疗28天,透射电镜观察 RGCs。结果显示生理盐水组模型眼 RGCs 核固缩或核溶解,线粒体肿胀,嵴消失,胞质空泡变性,其他细胞器结构不清楚。川芎嗪组模型眼 RGCs 胞质空泡化、胞核电子密度低或溶解吸收。提示川芎嗪对视网膜神经节细胞有保护作用。

4. 灯盏细辛具有扩张血管、减少血管外周阻力、改善大脑微循环及抗血小板凝集的作用。朱益华等^[11]建立大鼠急性高眼压模型后,将大鼠分为治疗0、20、40天组,又将20、40天组分为治疗组(腹腔注射灯盏细辛注射液)和对照组(腹腔注射生理盐水),用透射电镜观察 RGCs。研究显示急性高眼压后,部分 RGCs 立即出现胞膜破裂,染色质及线粒体明显肿胀等表现,以后的改变则以变性为主,灯盏细辛治疗后, RGCs 形态及密度均保存较好。说明灯盏细辛具有明显保护高眼压所致大鼠 RGCs 的作用。江冰等^[12]建立大鼠单眼视神经部分压榨伤模型后,将大鼠分为灯盏细辛灌胃治疗组及对照组,并分别在第4、14、21天快蓝标记 RGCs 后,用荧光显微镜进行荧光拍照。结果显示:随观察时间的延长,对照组大鼠 RGCs 标识率逐渐降低。灯盏细辛治疗组大鼠 RGCs 标识率无明显改变。表明应用灯盏细辛可显著提高 RGCs 的存活率,灯盏细辛对 RGCs 的损伤具有防护和修复作用。

5. 丹参主要含有丹参酮、原儿茶醛、丹参素等,具有扩张外周血管,改善微循环及抗血小板聚集等作用。彭清华等^[13]采用兔眼前房反复多次注射1%甲基纤维素,制成兔眼慢性高眼压模型,造模后的家兔灌服丹参水煎液,给药4周后通过电子显微镜观察视网膜各层组织的超微结构变化。正常组 RGCs 及神经胶质细胞结构正常。模型组兔眼视网膜神经胶质细胞空泡样变, RGCs 胞质及胞核均空泡化。丹参治疗组视网膜的超微组织结构病变,比慢性高眼压模型组要保存得好。提示丹参对高眼压状态下 RGCs 的损伤具有保护作用。

6. 银杏是落叶乔木,其叶子有较高的药用价值。它的有效成分主要有黄酮类和二萜内酯两类。分别发挥抗氧化和扩张血管的作用^[14~16]。李月华等^[17]用前房穿刺灌注建立大鼠高眼压模型,分为正常对照、阴性对照组、阳性对照组及治疗组,灌胃28天。荧光标记视网膜神经节细胞。利用彩色颗粒分析软

件做节细胞计数,计算各组节细胞的存活率并做统计分析。结果在急性高血压缺血再灌注模型中,银杏叶提取物能有效地保护 RGCs。

7. 三七是五加科人参属植物,具有活血化瘀止血的功效。三七的主要有效成分是三七总皂苷 (total panax notoginseng saponins, tPNS),具有扩张血管、清除自由基、抗炎、抗氧化等药理作用。魏莉娜等^[18]用荧光素逆行示踪标记法和定量解剖学技术观察正常和经 tPNS 处理的金黄地鼠于视神经切断后不同时间内 RGCs 的密度。本实验结果表明玻璃体注射 tPNS 对视神经切断后 RGCs 的存活有保护作用。tPNS 对受损 RGCs 的保护作用呈现剂量依赖性,有最佳作用浓度。

四、清除自由基和谷氨酸

1. 金纳多为银杏叶提取物,含银杏黄酮和内酯成分,能够到达视网膜发挥作用。对抗视神经细胞凋亡等。李养军等^[19]用前房灌注生理盐水法制成急性高血压模型后,分为治疗组和对照组,用电化学荧光仪检测水杨酸盐的含量,来分析兔视网膜组织中的自由基的含量。结果证实银杏叶黄酮可清除高眼压状态下视网膜组织中产生的自由基的损害,对高眼压状态下视网膜组织具有重要的保护作用。

2. 青光安颗粒剂:赵海滨等^[20]把兔急性高血压模型随机分成青光安治疗组、模型对照组。给予青光安颗粒溶液连续灌胃处死后,采用一氧化氮酶法测定 NO 含量、邻苯二甲醛柱前衍生法,高效液相色谱仪与荧光光度检测器测定样品中的氨基酸。通过标准品的测定,采用外算法根据氨基酸的色谱峰面积检测视网膜中 NO 及谷氨酸的含量,并观察视网膜的病理组织学改变。证实了青光安颗粒可加速急性高血压状态后视网膜组织中 NO 及谷氨酸的清除,对视神经轴突、视网膜神经节细胞有保护作用。

综上所述,青光眼导致视功能不可逆性损害的重要机制为 RGCs 的损伤,通过上述中药所做的动物及临床实验,提示我们单味药和复方制剂都显示出了较好的 RGCs 保护作用,还具有多靶点、多途径、无明显的不良反应的优势,但对于中药保护视网膜神经节细胞的机制所做的深入研究较少,有待于进一步完善。另外目前所做的相关研究临床观察较少,尤其缺乏大样本、多中心的临床研究,阻碍了视神经保护中药的推广和应用。

参考文献

1 李自成,宋翠娥,曹茂银,等.当归注射液对冠心病患者血超氧化

物歧化酶活性和脂质过氧化物的影响.湖北医科大学学报,1997,18(2):132

- 2 顾娟红,沈惟堂,李自普,等.黄芪对缺血大鼠心肌钙及脂质过氧化物的影响.上海医科大学学报,1997,24(4):270-272
- 3 李德姣,蒋伯龄,朱元莉.当归补血汤对实验性高血压兔视网膜神经节细胞保护作用的研究.中国中医眼科杂志,2004,14(2):73-76
- 4 彭清华,罗萍,李传课,等.原发性闭角型青光眼患者血液流变学和血液中血栓素、前列腺素的改变.中国中医眼科杂志,1996,6(2):80
- 5 彭清华,罗萍,李波.青光安颗粒剂对实验性高血压大鼠视网膜节细胞代谢作用的研究.湖南中医学院学报,1997,17(2):53-56
- 6 吴正红,刘有潜,朱延勤.葛根素滴眼液对家兔眼内压的作用.中国医科大学学报,1998,29(5):387-389
- 7 张宗端,段俊国.优视胶囊对急性高血压家兔眼压及神经节细胞的影响.眼视光学杂志,2001,3(2):99-102
- 8 李根林,王津津,王景昭,等.阿魏酸对培养视网膜神经细胞增殖活性的影响.中华眼科杂志,2003,39(11):650-654
- 9 叶长华,蒋幼芹,江冰.白藜藜醇甙对混合培养鼠视网膜神经节细胞的作用.眼视光学杂志,2001,3(3):148-151
- 10 宋宗明,崔守信,张德秀.川芎嗪对兔眼高压下视网膜神经节细胞和双极细胞损伤的保护作用.第四军医大学学报,2001,22(6):514-517
- 11 朱益华,蒋幼芹,刘忠浩,等.灯盏细辛注射液对鼠实验性高血压视神经轴浆流运输的影响.中华眼科杂志,2000,36:123
- 12 江冰,蒋幼芹.灯盏细辛对大鼠视神经压榨伤后视网膜神经节细胞的保护作用.中华眼科杂志,2003,39(8):481-483
- 13 彭清华,罗萍,李波.青光安颗粒剂对慢性高血压兔视网膜超微组织结构的影响.湖南中医学院学报,1998,18(4):53-55
- 14 Tendi EA, Bosetti F, Dasgupta SF, et al. Ginkgo biloba extract-sEGb761 and bilobalide increase NADH dehydrogenase mRNA level and mitochondrial respiratory control ratio in PC12 cells. Neurochem Res,2002,27:319-323
- 15 Fital G, Wassilew G. The influence of hypoxia on the myocardium of experimentally diabetic rats with and without protection by Ginkgo biloba extract. III. Ultrastructural investigations of mitochondria. Exp Toxicol Pathol,2001,52:557-568
- 16 Janssens D, Delaive E, Ramacle J, et al. Protection by bilobalide of the ischaemia-induced alterations of the mitochondrial respiratory activity [J]. Fundam Clin Pharmacol,2000,14:193-201
- 17 李月华,徐亮,马科.银杏叶提取物对大鼠视网膜神经节细胞的保护作用.中国中医药信息杂志,2007,14(6):33-34
- 18 魏莉娜,朱永红,李海标.三七总皂苷对成年地鼠视网膜节细胞存活的影响.中山大学学报(医学科学版),2007,28(5):495-497
- 19 李养军,杨新光,高玫芯.银杏叶黄酮对兔实验性高血压后视网膜组织氢氧根自由基的影响.眼科研究,2003,21(1):29-31
- 20 赵海滨,彭清华,吴权龙,等.青光安颗粒对兔急性高血压视神经轴突的保护作用.国际眼科杂志,2009,9(12):2318-2321

(收稿:2010-03-25)