文章编号:1000-5404(2011)23-2541-03

经验交流

# 汉防己甲素滴眼液对兔滤过术模型术区滤过泡瘢痕形成的影响

李 岱[1,2],李青春[1],孙 明[1],杨 芳[1],林少春[2],吴开力[2]
(437100 湖北 咸宁,咸宁学院眼科教研室[1];510060 广州,中山大学中山眼科中心[2])

[关键词] 汉防己甲素;滴眼液;滤过术;滤过泡瘢痕
[中图法分类号] R775 [文献标志码] B

结膜下瘢痕组织增生是抗青光眼滤过术后失败的主要原因,其主要病理过程包括局部成纤维细胞增殖、胶原基质产生及血管新生[1]。一些抗瘢痕药物,如皮质类固醇、丝裂霉素C等已用于临床青光眼滤过性手术,对改善滤过泡、提高手术成功率起到一定的作用,但也有一些副作用及并发症,有些药物还具有严重的毒性作用。本实验旨在观察汉防己甲素(Tet)滴眼液对兔眼滤过模型术区滤过泡瘢痕形成的影响,进一步探讨其作为青光眼滤过术后辅助用药的可能性及作用机制,旨在为临床运用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

手术显微镜(苏州,SOM2000B),Tono-Pen眼压计(Model XL,mentor,Inc.美国),LKBV型超薄切片机(Leitz公司),Olympus双筒显微镜(日本Olympus公司),透射电子显微镜(日本日立H-600型),全自动图像分析系统(Kontron IBAS 2.0德国),彩色图像摄录输入仪(Axioplan2 imaging 德国)。Tet滴眼液(天津第一中心医院药学部配制,pH值:6.1、渗透压:294 mmol/L),丝裂霉素C(mitomycin C,MMC),手术用平衡盐注射液(BSS),复方妥布霉素滴眼液等眼药水及消毒液(中山眼科中心药剂室)。

### 1.2 实验动物及模型制作

1.2.1 实验动物及分组 纯种新西兰白兔20只,雌雄不拘,体质量2.0~2.5 kg,兔龄4个月,由中山大学北校区实验中心提供。实验前检查双眼眼前节、眼底及眼压均正常,排除眼和全身疾病。所有动物按随机数字表法分为4组,每组5只(10眼)。分别为单纯手术组、0.2 g/L MMC组、0.1% Tet组、赋形剂组。术前3 d用复方妥布霉素滴眼4次/d。术后观察时间内双眼滴药,每天4次。

1.2.2 模型制作 全部动物行标准统一的巩膜咬切术。手术均由作者和1位熟练掌握巩膜咬切手术方法的助手共同完成。

### 1.3 观察内容和指标

1.3.1 滤过泡[1] 术后1、3、7、14 d观察并记录滤过泡存留情况。据滤过泡高度及其环绕角巩缘的范围用数值表示滤过泡的大小。

1.3.2 术前术后各组动物眼压测量值 用Tono-Pen眼压计测量并记录术前以及术后1、3、7、14 d上述各组动物眼压情况。

1.3.3 常规光镜观察滤过区纤维增殖情况 术后14 d将上述4组兔处死后取出眼球用生理盐水冲洗,保留滤过泡,并在滤过泡相应的角巩膜缘处用缝线做好标记,拆除球结膜缝线,取术区滤过口附近角巩膜组织4 mm×8 mm,然后经滤过道将眼球前后对半剖切,浸泡于10%福尔马林中固定24 h以上,经滤过区矢状面取材、酒精脱水、石蜡包埋切片(平线于手术切口子午线切片,厚5 μm),HE染色后作光镜检查,观察滤过区瘢痕形成情况。

1.3.4 电镜标本制作 术后第7天分别取单纯手术组和0.1% Tet组兔1只,经耳缘静脉注入10 ml过滤空气处死,快速剪取滤过泡及其下巩膜组织,手术摘除1眼于2.5%戊二醛中固定2 h(4 ℃)后,1%四氧化锇固定1 h,乙醇系列脱水,EpOn812包埋,超薄切片机切片约50 μm,铅、铀染色,透射电镜观察拍照,另1眼用作组织切片。

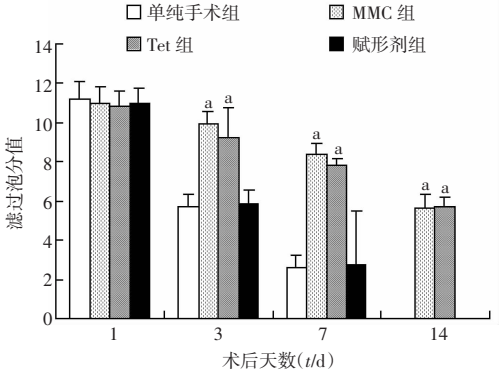
### 1.4 统计学处理

使用SPSS 11.0进行统计分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较用方差分析,2组间均数比较用 $t$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 滤过泡的外观及评分

术后第14天单纯手术组和赋形剂组滤过泡完全消失,而Tet组、MMC组滤过泡隆起但周围较明显局限化。各组术后滤过泡评分见图1。各组术后第1天滤过泡分值之间无统计学差异($P>0.05$)。术后第3、7、14天单纯手术组和赋形剂组滤过泡分值相比无统计学差异($P>0.05$),Tet、MMC组分值均明显高于上述2组($P<0.01$),而2组之间无统计学差异($P>0.05$)。




a:$P<0.01$,与单纯手术组和赋形剂组比较

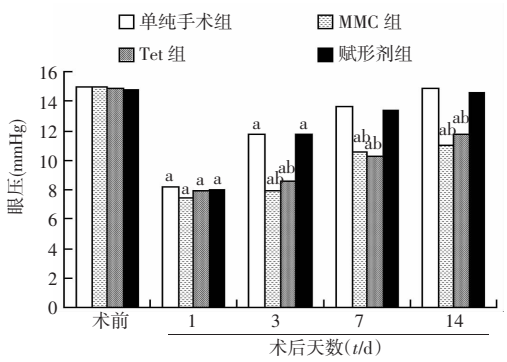
**图1 滤过术后不同时间各组滤过泡评分比较**

[基金项目] 湖北省卫生厅基金(QJX2008-37,JX2C40);湖北省咸宁学院基金(KY5071)

[通信作者] 吴开力,电话:(020)87333233,E-mail:klwu@gzsums.edu.cn

### 2.2 各组术前术后眼压比较

各组术前和术后第1天眼压之间无统计学差异($P>0.05$)。单纯手术组和赋形剂组术后第1、3天眼压和术前相比有统计学差异($P<0.01$),而术后第7、14天眼压和术前相比无统计学差异($P>0.05$),Tet组和MMC组术后观测的各个时间点眼压和术前相比均有统计学差异($P<0.01$)。各组间多重比较则显示术后第3、7、14天,Tet、MMC组和其他各组间眼压具有统计学差异($P<0.01$),Tet组和MMC组及其余不同组间眼压水平无统计学差异($P>0.05$,图2)。

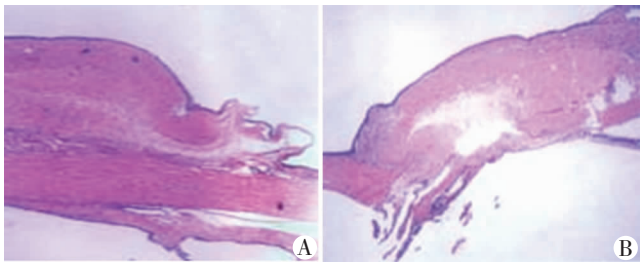



a:$P<0.01$,与术前比较;b:$P<0.01$,与单纯手术组和赋形剂组比较

**图2 各组滤过术后不同时间眼压比较**

### 2.3 术区组织病理学检查

正常兔眼结膜下间隙为均匀一致的结缔组织。单纯手术组和赋形剂组:术后14 d已被致密的纤维组织所填充,增生组织排列杂乱无章,滤过道全部闭塞(图3A)。Tet组:术后14 d结膜下仍可见较大疏松水肿结缔组织,周围见胶原纤维形成,小血管增生,结膜上皮基本正常(图3B)。MMC组:术后14 d结膜下仍为大片疏松水肿结缔组织,周围见胶原纤维形成,小血管增生,滤过区结膜上皮弥漫性萎缩变薄、甚至缺损,上皮下固有层见较多嗜酸性粒细胞、中性白细胞及单核细胞浸润,呈中度炎症反应。

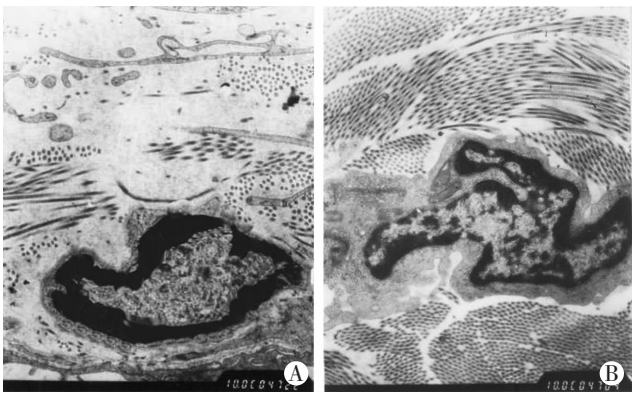



A:单纯手术组;B:Tet组

**图3 术后14 d滤过区组织病理学检查**(×100)

### 2.4 滤过区超微结构改变

正常眼球结膜下见成纤维细胞及较疏松的胶原纤维;Tet组成纤维细胞细胞质的细胞器明显减少,胞核染色质边聚,呈凋亡改变,细胞外胶原纤维少而排列紊乱(图4A);单纯手术组术后结膜下见成纤维细胞和密集的胶原纤维,成纤维细胞的细胞质大而细胞器多,核大,染色质分布均匀,表明细胞增生活跃(图4B)。




A:Tet组;B:单纯手术组

**图4 术后滤过区电镜超微结构观察**(×10 000)

## 3 讨论

青光眼滤过术后术区瘢痕形成的原因主要是手术引起组织创伤,导致多种细胞因子的释放,刺激炎性反应和成纤维细胞的增殖和移行。由于大量纤维组织增生,致使滤过道瘢痕化和结膜下滤过泡空间被纤维组织填充,最终导致滤过手术失败[2]。而实验性滤过术抗瘢痕研究常以家兔为动物模型,因为它的伤口愈合反应比较活跃,与难治性青光眼术后反应相似[3]。本实验和既往的研究证实该模型愈合时间1~2周,在抗青光眼术后约14 d的时间内抑制成纤维细胞的增殖移行、新生血管形成和胶原的合成,是早期预防青光眼术后瘢痕形成的关键[4]。因此,本实验指标检测大都选定在这一区域时间范围。

形成具有良好性状和功能的滤过泡,眼压控制在理想范围之内是抗青光眼滤过术成功的关键[1],所以滤过泡的形态、大小和眼压的变化是相关实验的主要观察指标。本实验结果显示,在手术后局部滴用Tet的第2周,其滤过泡的大体形态仍是隆起、弥散,与MMC组滤过泡基本相似;而单纯手术组和赋形剂组的滤过泡第1周就局限、平坦、面积小,2周后已近消失,相对应的滤过泡分值明显低于Tet组。不同时期Tet组的眼压保持较低的水平,与术前比较有显著差异。由此可见,Tet可使滤过泡形成良好,并维持较长时间的低眼压,而瘢痕的形成与手术区成纤维细胞的增殖有关。术后滤过泡形成并维持,说明青光眼手术后房水流出通畅,手术区结膜下少有成纤维细胞增殖,未形成瘢痕,进而使眼压可控制在理想范围之内。进一步证实Tet抑制滤过术后瘢痕形成的功效。

汉防己甲素是中药来源的异哇琳类生物碱,既是天然的非选择性钙通道阻滞剂,又是钙调蛋白拮抗剂,药理活性广泛。我们和既往研究已证实:Tet可抑制人眼Tennon囊成纤维细胞和翼状胬肉的生长[5],0.1% Tet滴眼液对兔眼无明显的刺激性[6],因此依据预实验和以往研究,本实验用0.1% Tet滴眼液在体证实其对抗滤过术区纤维化的作用。本实验电镜观察发现,单纯手术组中成纤维细胞的细胞质内粗面内质网数量异常增多,细胞质内细胞器丰富,表明其合成胶原代谢活跃和分泌活动旺盛,而Tet组中成纤维细胞的细胞质内粗面内质网数量减少,具有功能减退的形态特征,使胶原合成受抑。通过以上形态学的变化,我们分析和推测其作用机制可能为:①Tet使成

纤维细胞钙离子内流减少,胞内钙离子浓度下降,依赖钙离子参与的DNA与蛋白合成受阻,细胞分裂、增殖受抑和诱导其凋亡,并进一步使胶原合成减少。②抑制钙调蛋白的运动,使细胞骨架蛋白变构致细胞变圆,从而使胶原酶合成增加,胶原分解代谢增强。③Tet通过影响细胞膜通透性而抑制肥大细胞组织胺的释放,而组织胺具有增强胶原合成的作用,也是赖氨酰氧化酶的竞争性抑制剂,此酶受抑可引起胶原异常联结。④通过对金属基质蛋白酶中其所含金属离子钙和锌含量的影响,降低该酶的活性和稳定性,从而使胶原酶合成增加,加速细胞外基质的降解。

总之,本实验从兔眼滤过术后术区组织的形态学改变方面证实了汉防己甲素具有抗纤维化作用,推测对创伤愈合反应的多个环节均有抑制效能,它将为预防和治疗青光眼滤过性手术后滤过道的纤维瘢痕化提供新的途径。

**参考文献:**

[1] Theelen T, Wesseling P, Keunen J E, *et al*. A pilot study on slit lamp-adapted optical coherence tomography imaging of trabeculectomy filtering blebs[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2007, 245(6): 877-882.

[2] Haefliger I O, von-Arx G, Pimentel A R. Pathophysiology of intraocular pressure increase and glaucoma prevalence in thyroid eye disease: a mini-review[J]. Klin Monbl Augenheilkd, 2010, 227(4): 292-293.

[3] How A, Chua J L, Charlton A, *et al*. Combined treatment with bevacizumab and 5-fluorouracil attenuates the postoperative scarring response after experimental glaucoma filtration surgery[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(2): 928-932.

[4] Luke J, Luke M, Grisanti S. Antiangiogenic treatment for neovascular glaucoma and after filtering surgery[J]. Ophthalmologe, 2009, 106(5): 407-412.

[5] 李岱, 杨柳, 林少春, 等. 汉防己甲素诱导人眼Tenon囊成纤维细胞的凋亡效应[J]. 眼科研究, 2010, 28(1): 1-4.

[6] 李岱, 徐彦贵, 林少春, 等. 汉防己甲素滴眼液对家兔眼刺激性实验研究[J]. 咸宁学院学报:医学版, 2010, 24(5): 374-376.

(**收稿**:2011-05-14;**修回**:2011-07-05)

(编辑 张 维)

**文章编号**:1000-5404(2011)23-2543-02

**经验交流**

# 前导后冲法静脉输注加温20%甘露醇预防静脉炎的临床研究

何春渝[1],周海英[2] (610083 成都,成都医学院护理学院护理教研室[1];610500 成都,成都医学院第一附属医院神经内科[2])

[**关键词**] 20%甘露醇;静脉炎;预防

[**中图法分类号**] R472.9 [**文献标志码**] B

20%甘露醇以其高渗溶液静脉快速滴注,以达到脱水及利尿的效果,被广泛应用于临床,是治疗脑水肿、降低颅内压安全有效的首选药物。但在静脉输注时,由于药物的高渗性和微粒等因素,可使局部静脉出现疼痛、管壁变硬、弹性消失、管腔闭塞、不充盈等现象,甚至导致无菌性静脉炎,不仅增加了患者的痛苦,同时也影响了治疗。为减轻此不良反应,护理学者们主要从穿刺针型号的选择、血管的选择、穿刺频率、加温(药液加温、肢体加温)、湿敷等方面进行了大量的临床研究。我们在动物实验的基础上自2010年11月至2011年4月对成都医学院第一附属医院神经内科60例患者经知情同意后在静脉输注20%甘露醇时采用生理盐水前导后冲法[1],即在静脉输注20%甘露醇前,用生理盐水引针穿刺,穿刺成功后连接甘露醇,甘露醇输注完毕后,再用生理盐水快速静脉输注约5 min,以达到冲洗血管的目的。该方法不仅保证药物完全进入人体,而且稀释冲去滞留在静脉内的甘露醇,减少对血管的刺激。联合加温甘露醇,进行临床观察,取得满意效果,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

住院患者120例,其中男性66例,女性54例,年龄(58.00±9.65)岁,包括脑梗死、脑出血、蛛网膜下腔出血、脑干出血、小脑出血,患者均有颅内压增高,需甘露醇治疗,快速静脉滴注20%甘露醇,每日2次。穿刺部位为健侧上肢静脉100例,下肢静脉20例。患者使用甘露醇治疗时间为8~12 d。

### 1.2 材料

无结晶、杂质、混浊、变质、过期的20%甘露醇250 ml/瓶(山东华鲁制药有限公司);带7号头皮针的一次性输液器(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司),TDA8002型恒温水浴锅(河北黄骅市后天仪器厂)。

### 1.3 方法

1.3.1 分组 将120例患者分为观察组和对照组,观察组60例,男性36例,女性24例,其中脑出血24例,脑梗死22例,蛛网膜下腔出血12例,脑干出血2例;对照组60例,男性40例,女性20例,其中脑出血30例,脑梗死18例,蛛网膜下腔出血11例,小脑出血1例。选择科室护理工作2年以上,静脉穿刺技术熟练的责任护士2名,进行试验前培训,严格按照静脉输液操作规程进行操作,避免因未严格进行无菌操作而发生的静脉炎。2组均选择相对较粗,较直,弹性良好,无红、肿、痛、硬结且无损伤的上肢静脉为穿刺点,左右肢交替使用,同一处静脉不得连续使用2次或2次以上。2组在性别、年龄、穿刺部位、疾病、用药等方面无统计学差异($P>0.05$),具有可比性。

1.3.2 治疗方法 病室温度在(14±5)℃下进行,无结晶20%甘露醇250 ml,30 min内输完,设定160滴/min,每日2次。观察组用前导后冲法静脉滴注经恒温水浴锅加温至35 ℃ 20%

[**通信作者**] 何春渝,E-mail:1125662859@qq.com