

## 曲安奈德对家兔视网膜的病理组织学的影响

王 鹏<sup>1)</sup>, 张 勇<sup>2)</sup>, 徐湘婷<sup>1)</sup>

- (1) 昆明医学院云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650031;  
2) 邵阳医学院附属十堰市太和医院眼科, 湖北十堰 442000)

**[摘要]** **目的** 比较研究进口及国产不同剂量曲安奈德 (TA) 玻璃体内注射对家兔视网膜组织形态学的影响。**方法** 家兔 24 只, 分为 6 组: A 组; B 组; C 组; D 组; E 组和 F 组。除 A 组外所有动物行右眼玻璃体切除术注射曲安奈德 (IVTA) 1 次, 给药后观察 21d, 取眼球, 行病理学检查。**结果** 除 A 组外, 其它各组可见节细胞轻度水肿。E 组和 F 组部分动物见内或外颗粒层细胞增生, 细胞内空泡。E 组和 F 组各有 1 只动物见玻璃体腔内、视网膜与脉络膜之间大量红染纤维素样物质。E 组和 F 组病变重于 C 组和 D 组。**结论** IVTA 25 mg 引起家兔眼感光细胞增生, IVTA 10 mg 无明显改变。进口与国产的 TA 对家兔视网膜的影响无明显差别。

**[关键词]** 曲安奈德; 毒性; 视网膜

**[中图分类号]** R361+.2; R965.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2007) 06-0049-04

## Retinal Changes of Intravitreal Triamcinolone Acetonide: a Pathohistological Study

WANG Peng<sup>1)</sup>, ZHANG Yong<sup>2)</sup>, XU Xiang-ting<sup>1)</sup>

- (1) Yunnan Pharmacological Laboratories of Natural Products, Kunming Medical College, Kunming 650031; 2) Ophthalmology department, Taihe Hospital of Yunyang Medical college, Shiyang 442000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of triamcinolone acetonide (TA) with different dosage and place of production on retina. **Methods** Twenty-four rabbits were divided into 6 groups (A: untreated as a blank control; B: normal sodium; C: 10mg imported TA; D: 10 mg domestic-made TA; E: 25 mg imported TA; F: 25 mg domestic-made TA). Excepting group A every right eyeball underwent vitrectomy before intravitreal injection triamcinolone acetonide. All the eyeballs were extirpated on the 21st day after the intravitreal injection, and then pathological examinations were performed. **Results** Ganglion cell's light edemata had been seen in group B, C, D, E, F. Cell hyperplasia and vacuolar degeneration had been seen in the internal granular layer or external granular layer in some animals of group E, F. Two samples (1 in group E, 1 in group F) observed there were a great amount of fibrinoid materials in cavum vitreum and cavum between amphiblastoid membrane and choroid membrane. Pathological changes in group E, F were severer than in group C, D. **Conclusions** Intravitreal injection TA at 25 mg can cause photoreceptor cells hyperplasia in rabbits, while there are no toxic effects at 10 mg. No obvious difference is observed between the groups of imported TA and domestic-made TA.

**[Key words]** Triamcinolone acetonide; Toxicity; Retina

---

**[作者简介]** 王鹏 (1977~), 男, 云南昆明市人, 在读硕士, 讲师, 主要从事实验病理学研究工作。

玻璃体内注射曲安奈德 (intravitreal injection triamcinolone acetonide, IVTA) 临床上用于治疗多种原因引起的黄斑水肿、葡萄膜炎、白内障手术、旁中心凹型毛细血管扩张、增生性玻璃体视网膜病等<sup>[1,2]</sup>。近年来,玻璃体内注射 TA 的各种并发症和副作用,如眼压升高、视网膜毒性反应、白内障、假性前房积脓、眼内炎等报道也逐渐增多<sup>[3]</sup>。尽管 IVTA 的作用机制还不是十分清楚,但通过光学相干断层扫描已发现 IVTA 能明显地增加视网膜厚度及减小囊腔的空间<sup>[4]</sup>。但 IVTA 对眼组织的形态学影响报道不多。我们观察了进口及国产的不同剂量的曲安奈德 (triamcinolone acetonide, TA) 玻璃体内注射对兔视网膜组织形态学的影响,旨在为眼科临床治疗提供试验参考数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物及分组

试验所用家兔 24 只,雄性,购自昆明医学院试验动物中心,生产合格证号:SCXK(滇)2005~0008,体重约 2.0~2.5 kg。将家兔随机分为 6 组,即空白对照组(无处置组, A 组)、生理盐水对照组(B 组)、进口曲安奈德 10 mg 组(C 组)、国产曲安奈德 10 mg 组(D 组)、进口曲安奈德 25 mg 组(E 组)、国产曲安奈德 25 mg 组(F 组)。每组 6 只动物。

### 1.2 试剂

市售进口与国产曲安奈德注射液。

### 1.3 给药

除 A 组外所有动物右眼行玻璃体切除术, B 组玻璃体腔内注射生理盐水, C、D、E、F 组按剂量行 IVTA 1 次,注射容量均为 0.2 mL,差量用生理盐水补足。药物注射后观察 21 d。

### 1.4 病理切片

处死动物取出眼球,入 Bouin 氏液中固定。48 h 后,在兔眼一极,平行赤道面开一个口,再固定 48 h,每个眼球取赤道平面及高纬度平面各 1 块。入 70% 的酒精中脱去 Bouin 氏液的黄色,梯度酒精脱水,石蜡包埋。切片厚为 3  $\mu\text{m}$ , HE 染色。对眼内有渗出物的 2 个眼球行 PTAH 染色和 VG 染色。

### 1.5 统计学处理

用 SAS 8.5 软件包进行统计学处理。病变发生率行单向有序变量的交差积差 (cross product difference, CPD) 分析,如总体有差异 ( $P < 0.05$ ),再进行病变发生率与药物剂量的关系行秩相关分析和各给药组与对照组的两两比较(秩和检验)。

## 2 结果

本试验结果显示 IVTA 25 mg 进口或国产的曲安奈德对正常兔眼均有影响,其靶器官主要是视网膜,表现为内颗粒层或外颗粒层细胞增生,进口与国产的曲安奈德作用无明显差别。

### 2.1 视网膜改变

**2.1.1 节细胞层** 行玻璃体切除术的各组(B、C、D、E、F 组)多数动物均可见视网膜节细胞层轻度水肿,空白对照组(A 组)视网膜层次结构清晰,未见病理改变(见表 1、图 1)。B、C、D、E、F 组病变发生率与 A 组相比差异有统计学显著性 ( $P < 0.05$ ); C、D、E、F 组与 B 组相比无明显差异 ( $P > 0.05$ )。A、B、C、D、E、F 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者有相关性 ( $P < 0.05$ ), B、C、D、E、F 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者无相关性 ( $P > 0.05$ )。

**2.1.2 感光细胞层** 曲安奈德 25 mg 剂量组(E 组 3 例、F 组 4 例)视网膜局部可见视网膜感光细胞层(包括内、外颗粒层)细胞增生,细胞内出现大小不一的透明空泡,细胞层次成倍增加,使局部视网膜突向玻璃体腔(见表 1、图 2),其余各组均未观察到类似改变。F 组病变发生率与 B 组相比差异有统计学显著性 ( $P < 0.05$ ), E 组病变发生率与 B 组相比无明显差异 ( $P > 0.05$ ), E 组与 F 组相比无明显差异 ( $P > 0.05$ )。B、C、D、E、F 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者有相关性 ( $P < 0.05$ ), B、C、E 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者有相关性 ( $P < 0.05$ ), B、D、F 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者有相关性 ( $P < 0.05$ )。

**2.1.3 起始部** 进行玻璃体切除术的各组(B、C、D、E、F 组)均有少数动物近睫状体视网膜可见不同程度的视网膜变薄,细胞层次紊乱。有的

细胞层次减少, 有的细胞轻度增生, 有的各层细胞混杂, 层次不清. 近睫状体的视网膜起始部为手术入口<sup>[5]</sup> (见表1、图3). C、D、E、F组病变发生率与B组相比无明显差异 ( $P > 0.05$ ).

### 2.2 玻璃体腔内渗出

曲安奈德 25 mg 剂量组, 进口和国产均有 1 例肉眼见玻璃体混浊, 内有多少不等的絮状物. 晶状体表面变得凹凸不平, 有乳头样凸起物形成. 镜下见玻璃体腔内、视网膜与脉络膜之间大量红染细颗粒样物质, 偶见少量细胞成分, 虹膜内小血管增生. 这些红染细颗粒样物在 VG 染色为红色, PTAH 染色为蓝色, 证明为纤维素 (表1、图4). 两者病变相似, 程度上无明显差别. 其余各组均未观察到上述改变.

### 3 讨论

玻璃体内注射作为一种治疗方法应用于眼科



图1 视网膜节细胞改变

Fig.1 Changes of ganglion cells

A组: 节细胞基本正常; B、C、D、E和F组: 视网膜节细胞轻度水肿 (箭头所示).

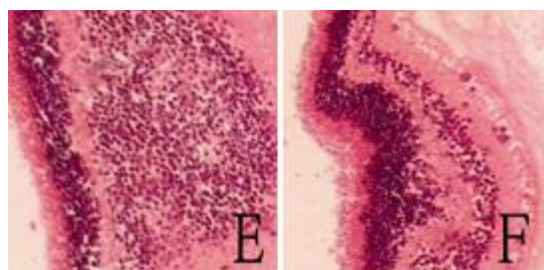


图2 视网膜感光细胞层细胞增生

Fig.2 Hyperplasia of photoreceptor cells

E组和F组: 视网膜局部内颗粒层细胞 (左) 或外颗粒层细胞 (右) 增生.

临床至今已有将近一个世纪的历史. 目前, 在发表的文章中, IVTA 最常见的并发症是短暂的眼内压升高, 且很少需要进行青光眼手术. 其他被报道的并发症有原发白内障加重和假性前房积脓<sup>[6]</sup>等. 近期国内的动物体内实验研究发现, 剂量  $\leq 25$  mg 的曲安奈德对视网膜的形态和功能无影响<sup>[7]</sup>. 在以往的研究中关于 25 mg 曲安奈德对家兔视网膜影响的报道说法不一<sup>[8,9]</sup>, 我们仔细地对比了国内的认为 25 mg 曲安奈德对家兔视网膜有影响的相关报道, 发现有高度的相似性, 只是在对病变的描述上存在分歧<sup>[10]</sup>.

本试验除空白对照组 (A组) 外, 其余进行

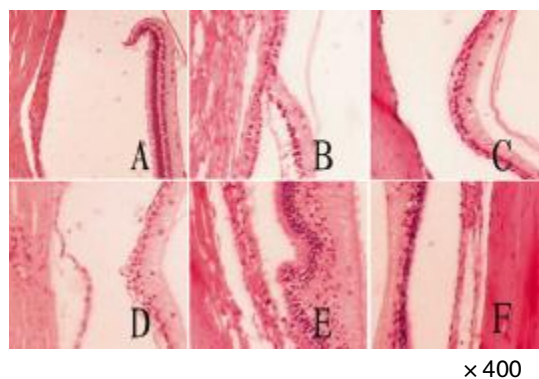


图3 视网膜起始部病理改变

Fig.3 Changes of the initial segment of retina

A组: 近锯齿缘的视网膜起始部基本正常; B、C、D、E和F组: 视网膜局部均不同程度的视网膜变薄, 细胞层次紊乱.

表1 视网膜病理组织学改变情况

Tab.1 The distribution of pathological changes in retina

组别	n	病理改变类型		
		节细胞水肿	内或外颗粒层细胞增生	起始部细胞层次紊乱
A组	6	0	0	0
B组	6	4*	0	3
C组	6	5*	0	2
D组	6	6*	0	2
E组	6	4*	3	3
F组	6	4*	4 <sup>▲</sup>	3

与空白对照组 (A组) 相比, \* $P < 0.05$ ; 与生理盐水对照组 (B组) 相比, <sup>▲</sup> $P < 0.05$ .



图 4 玻璃体腔内渗出物

Fig.4 Exudate in cavum vitreum

E 组：动物玻璃体腔内、视网膜与脉络膜之间大量红染细颗粒样物质，VG 染色为红色，PTAH 染色为蓝色，为纤维素。

玻璃体切除术的各组（B、C、D、E、F 组）多数动物均可见轻度的视网膜神经节细胞层内节细胞水肿，B、C、D、E、F 组病变发生率与 A 组相比差异有显著性（ $P < 0.05$ ）；病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者有相关性（ $P < 0.05$ ），表明此种改变与手术操作相关。C、D、E、F 组与生理盐水对照组（B 组）相比无明显差异（ $P > 0.05$ ），表明此种改变与所给药物无关。

曲安奈德 25 mg 剂量组（进口曲安奈德 E 组、国产曲安奈德 F 组）可见视网膜感光细胞层（包括内、外颗粒层）细胞增生，空泡变性，细胞层次成倍增加，个别动物视网膜局部突向玻璃体腔。这些病理改变出现于曲安奈德 25 mg 剂量组，重于曲安奈德 10 mg 剂量组，表现出剂量效应关系，B、C、D、E、F 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者有相关性（ $P < 0.05$ ），此病理改变与药物相关。

E、F 组病理改变表现一致。尽管 F 组病变发生率与生理盐水对照组（B 组）相比差异有统计学显著性（ $P < 0.05$ ），E 组病变发生率与 B 组相比无明显差异（ $P > 0.05$ ），但 E 组病变实际发生率仅比 F 组少 1 例，B、C、E 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析显示两者有相关性（ $P < 0.05$ ），此结果和 B、D、F 组病变发生率与药物剂量的秩相关分析结果一致，E 组与 F 组病变发生率相比无明显差异（ $P > 0.05$ ），故认为进口与国产的曲安奈德作用无明显差别。

近睫状体的视网膜起始部是手术进针部位，进行手术的各组均有部分动物此处视网膜变薄，细胞层次紊乱，表明手术对此处视网膜的刺激并不是都能在 21 d 内恢复，进而要求手术更加注意

手术进路，严格手术操作。

E、F 组各有 1 例动物镜下见玻璃体腔内、视网膜与脉络膜之间大量红染细颗粒状物质，VG 染色为红色，PTAH 染色为蓝色，证明为纤维素。正常眼球的视网膜与脉络膜之间连接疏松，可由于制片过程中组织收缩系数不同致视网膜脱落，但视网膜与脉络膜之间不会出现其它物质。这 2 例动物无明显的炎症细胞浸润，无统计学上显著性差异，但以渗出为主的急性炎症早期可有大量的纤维素渗出而无明显细胞浸润，国外报道在 IVTA 后的前 6 周内眼内炎的发病率在 0.87%<sup>[10]</sup>，此病理改变只出现在高剂量组。此病理改变与药物关系尚难定论，需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] HABIB M S, CANNON P S, STEEL D H. The combination of intravitreal triamcinolone and phacoemulsification surgery in patients with diabeticfoveal oedema and cataract [J]. *BMC Ophthalmol*, 2005, 5: 15–18
- [2] BANDELLO F, POGNUZ D R, PIRRACCHIO A, et al. Intravitreal triamcinolone acetate for florid proliferative diabetic retinopathy [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2004, 42 (12): 1024–1027
- [3] 刘武, 王景昭. 玻璃体内注射曲安奈德的问题与并发症 [J]. *中华眼底病杂志*, 2005, 21 (4): 267–270
- [4] MICELLI FERRARI T, SBORGIA L, FURINO C, et al. Intravitreal triamcinolone acetate: valuation of retinal thickness changes measured by optical coherence tomography in diffuse diabetic macular edema [J]. *Eur J Ophthalmol*, 2004, 14 (4): 321–324
- [5] JAGER R D, AIELLO L P, PATEL S C, et al. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review [J]. *Retina*, 2004, 24 (5): 676–698
- [6] AMATO J E, LEE D H, SANTOS B A, et al. Steroid hypopyon following intravitreal triamcinolone acetate injection in a pseudophakic patient [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2005, 13 (3): 245–247
- [7] 王凯, 姜燕荣, 黎晓新. 曲安奈德玻璃体内注射对视网膜的影响 [J]. *中华眼底病杂志*, 2005, 21 (4): 229–232

(下转第 57 页)

## 氧自由基在血管紧张素 II 诱导 ECV304 细胞增殖中的作用

李 雄<sup>1)</sup>, 张 旋<sup>2)</sup>, 王殿华<sup>2)</sup>

(1) 77206 部队 60 分队卫生所, 云南昆明 650202; 2) 昆明医学院云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650031)

**[摘要]** **目的** 探讨氧自由基在血管紧张素 II 诱导 ECV304 细胞增殖中的作用. **方法** 体外培养人脐静脉内皮细胞株 (ECV304), 实验分为 Ang II 处理组、NAC 干预组和正常对照组. 采用改良 MTT 法、Fenton 反应和硝酸酶还原法分别观察 Ang II 处理组、NAC 干预组和正常对照组的 ECV304 细胞的增殖率和细胞产生氧自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 的量. **结果** 一定浓度的 Ang II (0.03125 ~ 1  $\mu\text{mol/L}$ ) 作用 12 h 时 ECV304 细胞增殖率增加, 明显高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ); Ang II 可诱导 ECV304 细胞产生氧自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ), 氧自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 的含量与 ECV304 细胞增殖率呈显著负相关; 10 mmol/L NAC 可抑制 1  $\mu\text{mol/L}$  Ang II 对 ECV304 细胞的增殖作用, 与正常对照组相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ ). **结论** Ang II 可诱导 ECV304 细胞产生氧自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ), 氧自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 含量与 Ang II 呈时间和剂量依赖性; NAC 可抑制 Ang II 对 ECV304 细胞的增殖作用, 这可能与减少氧自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 的含量有关; 氧自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 可能是 Ang II 诱导 ECV304 细胞增殖的主要信号转导分子之一.

**[关键词]** N-乙酰半胱氨酸; 血管紧张素 II; 氧自由基 ECV304 细胞; 增殖

**[中图分类号]** R363 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2007) 06-0053-06

## Role of Oxygen Free Radical in the Proliferation of ECV304 Induced by Ang II

LI Xiong<sup>1)</sup>, ZHANG Xuan<sup>2)</sup>, WANG Dian-hua<sup>2)</sup>

(1) The Hospital of 77206 Army, Kunming 650202; 2) Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical College, Kunming 650031, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the role of oxygen free radicals in the proliferation of ECV304 induced by Ang II. **Methods** The lines of human umbilical vein endothelial cell (ECV304) cultured in vivo were divided into three groups which were treated by Ang II, Ang II +N-acetyl-L-cysteine (NAC), and normal culture medium. First we observed the proliferous effect of ECV304 induced by Ang II at different concentration with improved MTT and microscope. Then the contents of oxygen free radicals ( $\cdot\text{OH}$ ) in three groups were detected by spectrophotometer. **Results** ECV304 incubated with Ang II (0.03125 ~ 1  $\mu\text{mol/L}$ ) for 12 hours increased the proliferation rate ( $P < 0.05$  vs. control group); It was significant that the negative correlation between proliferation rate and the content of oxygen free radicals; NAC (10mmol/L) inhibited the proliferation of ECV304 induced by Ang II ( $P > 0.05$  vs. control group). **Conclusions** ECV304 induced by Ang II can produce oxygen free radicals ( $\cdot\text{OH}$ ), and the contents of oxygen free radicals ( $\cdot\text{OH}$ ) increase with the prolongation of time and the enlargement of dose; Antioxidant NAC can inhibit the proliferation of ECV304 induced by Ang II, this effect may be related with reducing the content of oxygen free radicals ( $\cdot\text{OH}$ ); oxygen free radicals ( $\cdot\text{OH}$ ) may be one of the major molecules which play an important role in the signal transduction of ECV304 proliferation.

**[作者简介]** 李雄 (1961 ~), 男, 云南南华县人, 医学学士, 主治医师, 主要从事急诊急救研究及临床工作.