

【实验研究】

梁丽娜 李雪丽 许凯 陈强 张晶 梁洁 唐由之

【摘要】 目的 探讨补肾益精方对先天性视网膜色素变性 RCS 大鼠感光细胞凋亡的影响。方法 将先天性视网膜色素变性模型 RCS 大鼠 24 只随机分为补肾益精方组及蒸馏水组,分别给予补肾益精方药液及蒸馏水灌胃,12 只健康 SD 大鼠常规饲养

作为正常组。在给药 7 d 及 28 d 后 HE 染色观察各组大鼠视网膜组织病理学变化, TUNEL 法检测细胞凋亡情况, 实时荧光定量 PCR 检测视网膜中睫状神经营养因子、脑源性神经营养因子以及碱性成纤维细胞生长因子表达情况。结果 HE 染色切片光学显微镜下正常组 SD 大鼠视网膜结构清晰, 层次分明, 各层细胞排列整齐。蒸馏水组大鼠视网膜内核层及外核层均较正常组明显变薄, 细胞排列稀疏, 可见空泡样改变, 感光细胞数减少, 且随鼠龄增加减少日益显著。补肾益精方组大鼠视网膜内核层及外核层亦较正常组变薄, 但与蒸馏水组相比增厚, 感光细胞数较后者增多, 细胞排列也较为整齐。给药 7 d 及 28 d 时补肾益精方组每个高倍视野感光细胞数分别为 140 ± 9 和 80 ± 9 , 蒸馏水组分别为 113 ± 8 和 44 ± 6 , 补肾益精方组较蒸馏水组明显增多, 差异有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。TUNEL 检测结果显示给药 7 d 及 28 d 时补肾益精方组感光细胞凋亡率分别为 $31.67 \pm 5.39\%$ 及 $29.68 \pm 4.31\%$, 蒸馏水组分别为 $50.34 \pm 5.21\%$ 及 $44.02 \pm 7.17\%$, 补肾益精方组较蒸馏水组均明显降低, 差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。实时荧光定量 PCR 结果显示给药 7 d 及 28 d 补肾益精方组视网膜睫状神经营养因子表达均较蒸馏水组增加(均为 $P < 0.05$), 给药 7 d 时补肾益精方组视网膜脑源性神经营养因子表达较蒸馏水组明显增加($P < 0.05$), 28 d 时两组差异无统计学意义($P > 0.05$); 给药 7 d 及 28 d 两组碱性成纤维细胞生长因子的表达差异均无统计学意义(均为 $P > 0.05$)。结论 补肾益精方对 RCS 大鼠感光细胞凋亡有明显的抑制作用, 其作用机制可能与补肾益精方促进视网膜分泌神经营养因子有关。

【关键词】 补肾益精方; 视网膜色素变性; 感光细胞; 凋亡; 神经营养因子; RCS 大鼠

【中图分类号】 R774

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是严重的遗传性致盲眼病, 目前关于 RP 的防治除干细胞、基因治疗、神经保护外, 中医药治疗日益受到关注^[1-3]。补肾益精方是我们治疗 RP 的临床经验方, 前期动物实验研究显示其对先天性 RP 模型 RCS 大鼠具有一定的保护作用^[4], 为进一步明确其作用机制, 本研究以 RCS 大鼠作为研究对象, 观察补肾益精方对大鼠视网膜感光细胞凋亡的影响作用, 从而为临床中药治疗 RP 提供客观依据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 取健康 SD 大鼠 12 只, SPF 级, 3 周龄, 雄性(北京维通利华实验动物技术有限公司提供); 先天性 RP 模型 RCS 大鼠 24 只, SPF 级, 3 周龄, 雄性(中国医学科学院医学实验动物研究所提供)。采用随机数字表法将 24 只 RCS 大鼠随机分为补肾益精方组及蒸馏水组, 每组 12 只。补肾益精方组给予补肾益精方药液灌胃($8.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每天 1 次, 蒸馏水组给予同等量的蒸馏水灌胃, 给药 7 d 及 28 d 后每组按随机数字表法选取 6 只大鼠进行指标检测, 健康 SD 大鼠常规饲养作为正常组。实验遵循国家实验动物管理保护条例。

1.1.2 实验试剂及仪器 补肾益精方药组方主要包括何首乌、黄精、枸杞子等, 水提浓缩药液由中国中医科学院眼科医院药学部制备而成, 浓度 $880 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Trizol[®] Reagent RNA 提取试剂盒(美国 Life Technologies Corporation), 无水乙醇、异丙醇、氯仿均为分析纯(北京化学试剂公司), M-MLV Reverse Transcriptase cDNA 第一链合成试剂盒(美国 Invitrogen 公司), Real Master Mix(SYBR Green)(北京天根生化科技有限公司), Recombinant DNase I(日本 TAKARA 公司)。Life-Tech 7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司), Nanodrop 2000 微量紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher 公司), RM2245 轮转式切片机、DM2500 荧光显微镜(德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 HE 染色观察各组大鼠视网膜组织病理学变化 水合氯醛麻醉过量处死大鼠, 快速取出右眼眼球, $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛溶液固定, 脱水、透明、浸蜡后石蜡包埋, 垂直视网膜行 $4 \mu\text{m}$ 切片, 苏木素-伊红染色; 光学显微镜下观察视网膜各层结构变化并拍照, 计数视盘两侧各 $50 \mu\text{m}$ 长度外核层细胞核数, 进行统计学分析。

1.2.2 TUNEL 法检测细胞凋亡情况 水合氯醛麻醉过量处死大鼠, 快速取出右眼眼球, 制作石蜡切片。按照 TUNEL 试剂盒说明进行检测, DAPI 复染, 荧光显微镜下观察, 每组随机选取 6 张片子, 每张片子计数两个视野中发生凋亡感光细胞数及感光细胞总数, 计算细胞凋亡率 = 凋亡阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 检测视网膜中神经营养因子表达 水合氯醛过量麻醉处死大鼠, 快速取出左眼眼球, 分离新鲜视网膜, 采用 Trizol 试剂盒提取视网膜总 RNA, 紫外分光光度计测定浓度, -20°C 保存。应用逆转录试剂盒合成 cDNA, 紫外分光光度计测定其浓度, -20°C 保存。PCR 反应体系 $10 \mu\text{L}$: $1 \mu\text{L}$ cDNA、 $200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物和 Real Master Mix 混合物(BioRad); 反应条件: 95°C 预变性 5 min, 然后 95°C 15 s, 60°C 15 s 及 72°C 15 s, 进行 45 个循环。睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)上游引物: $5' \text{-TGACTGAGGCAGAGCG-3'}$, 下游引物: $5' \text{-AGGCAAAGGCAGAAAC-3'}$; 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)上游引物: $5' \text{-CGGCTGCTGGCTTCTA-3'}$, 下游引物: $5' \text{-TGCCCAGTTCGTTTCAG-3'}$; 脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)上游引物: $5' \text{-TGGATGAGGACCAGAAG-3'}$, 下游引物: $5' \text{-AAAGAGCAG AGGAGGC-3'}$ 。β 肌动蛋白基因作为内参照, 上游引物: $5' \text{-AATGAGGCTGGTGATAAA-3'}$, 下游引物: $5' \text{-GCAAGAGGGCAAGAA-3'}$ 。每个数据重复测量 3 次。

1.3 统计学方法 采用 GraphPad Prism 5(美国

GraphPad 公司)软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用独立样本 t 检验,多组间比较用单因素方差分析,显著性水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠视网膜组织病理学改变 光学显微镜观察,大鼠视网膜切片 HE 染色可见正常组 SD 大鼠视网膜结构清晰,层次分明,各层细胞排列整齐。蒸馏水组大鼠视网膜内核层及外核层均较正常组明显变薄,细胞排列稀疏,可见空泡样改变,感光细胞数减少,且随鼠龄增加减少日益显著。补肾益精方组大鼠视网膜内核层及外核层亦较正常组变薄,但与蒸馏水组相比增厚,感光细胞数较后者增多,细胞排列也较为整齐。统计学分析显示,给药 7 d 时正常组、补肾益精方组及蒸馏水组每个高倍视野感光细胞数总体差异有统计学意义($P<0.05$),两两比较正常组大鼠感光细胞数明显高于蒸馏水组($P<0.05$)及补肾益精方组($P<0.05$),补肾益精方组感光细胞数明显高于蒸馏水组,差异有统计学意义($P<0.05$)。给药 28 d 与给药 7 d 趋势相似,见表 1。

表 1 给药 7 d 及 28 d 时各组视网膜感光细胞数

组别	n	每个高倍视野感光细胞数/个	
		给药 7 d	给药 28 d
正常组	6	215 ± 17	187 ± 12
蒸馏水组	6	113 ± 8 [#]	44 ± 6 [#]
补肾益精方组	6	140 ± 9 ^{#*}	80 ± 9 ^{#*}

注:与正常组相比,[#] $P<0.05$;与蒸馏水组相比,^{*} $P<0.05$

2.2 TUNEL 法检测各组大鼠视网膜细胞凋亡情况

给药 7 d 及 14 d 后正常组大鼠视网膜均未见凋亡细胞,蒸馏水组及补肾益精方组大鼠视网膜感光细胞层出现明显的凋亡现象。给药 7 d 时蒸馏水组大鼠视网膜感光细胞层细胞凋亡率为 50.34% ± 5.21%,补肾益精方组为 31.67% ± 5.39%,补肾益精方组感光细胞凋亡率明显低于蒸馏水组,差异有统计学意义($P=0.00$)。给药 28 d 时,蒸馏水组大

鼠视网膜感光细胞层细胞凋亡率为 44.02% ± 7.17%,补肾益精方组为 29.68% ± 4.31%,补肾益精方组感光细胞凋亡率明显低于蒸馏水组,差异有统计学意义($P=0.01$)。见图 1。

2.3 实时荧光定量 PCR 检测视网膜组织中神经营养因子表达情况 CNTF 检测结果显示,在给药 7 d 及 28 d 时蒸馏水组及补肾益精方组大鼠视网膜 CNTF mRNA 表达水平均较正常组降低,差异均有统计学意义(均为 $P<0.05$);补肾益精方组表达较蒸馏水组均明显增加,差异均有统计学意义(均为 $P<0.05$),见图 2。

BDNF 检测结果显示,在给药 7 d 及 28 d 时蒸馏水组及补肾益精方组大鼠视网膜 BDNF mRNA 表达水平均较正常组降低,差异均有统计学意义(均为 $P<0.05$);在给药 7 d 时补肾益精方组与蒸馏水组相比,表达明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);但在给药 28 d 时,补肾益精方组与蒸馏水组相比,差异无统计学意义($P=0.25$),见图 3。

bFGF 检测结果显示,在 7 d 及 28 d 时蒸馏水组及补肾益精方组大鼠视网膜中 bFGF mRNA 表达均较正常组明显增加(均为 $P<0.05$),但前两组比较,给药 7 d 及 28 d 的差异均无统计学意义(均为 $P>0.05$),图 4。

图 1 给药 7 d 及 28 d 时各组大鼠视网膜感光细胞凋亡情况,凋亡阳性细胞呈红色(DAPI 复染细胞核呈蓝色,×400)

图 2 给药 7 d 及 28 d 各组视网膜 CNTF 相对表达量。与蒸馏水组相比,[#] $P<0.05$ 。图 3 给药 7 d 及 28 d 各组视网膜 BDNF 相对表达量。与蒸馏水组相比,[#] $P<0.05$,^{*} $P>0.05$ 。图 4 给药 7 d 及 28 d 各组视网膜 BDNF 相对表达量。与蒸馏水组相比,^{*} $P>0.05$

3 讨论

RCS 大鼠的视网膜色素上皮细胞受体酪氨酸酶

Mertk 基因发生隐性突变,第 409 碱基对缺失,致使视网膜色素上皮细胞内参与结合脱落视杆外节膜盘的蛋白合成发生改变,不能正常发挥其吞噬功能,脱

落膜盘大量堆积于视网膜下腔,继而导致感光细胞渐进性变性死亡及视觉功能障碍^[5]。RCS 大鼠生后2周表现正常,22 d时光感受器细胞开始减少,从后极部开始逐渐波及至周边视网膜,3个月时绝大部分光感受器细胞消失^[6]。由于 RCS 大鼠与人类 RP 在病因及病程进展等方面有较多相似之处,几十年来,被广泛用于 RP 视功能挽救和重建策略的研究中,本实验选择3周龄 RCS 大鼠作为实验动物模型进行观察。

现代医学认为 RP 是基因突变导致的视网膜退行性疾病,在中医经典古籍中 RP 亦早有记载,被称为“高风雀目”,中医理论认为其主要病因为先天禀赋不足,这与现代眼科对 RP 的认识接近。目前 RP 的确切发病机制尚不完全清楚,但是大量研究已证实细胞凋亡是该病发生发展的重要分子机制,因此采用药物或其他方法阻止或延缓细胞凋亡的发生对 RP 具有防治作用^[7]。中医对 RP 的治疗以纠正亏虚为根本,补肾益精方是由我院唐由之研究员根据多年临床经验总结而得,方药组成包括制何首乌、黄精、枸杞子等,临床观察发现其对 RP 患者病情有一定的稳定作用。我们前期动物实验采用病理、眼电生理方法观察发现补肾益精方对 RCS 大鼠视网膜变性具有较好的保护作用^[4]。现代药理学研究显示何首乌对淀粉样 β 蛋白所致的脑内神经元细胞具有保护作用^[8];黄精中的有效成分黄精多糖可以抗缺氧性的神经细胞凋亡^[9];枸杞子提取液对单眼视觉剥夺性弱视大鼠视网膜细胞具有保护作用,亦对 RCS 大鼠早期视网膜变性具有保护作用^[10-11]。虽然上述研究中的细胞种类不同,但提示由上述中药组成的补肾益精方对神经细胞具有保护作用。本实验结果显示,补肾益精方组感光细胞的凋亡率明显低于蒸馏水组,同时 HE 染色病理结果发现补肾益精方组 RCS 大鼠视网膜保留较多的感光细胞,初步证实补肾益精方可以抑制 RCS 大鼠感光细胞的凋亡。

影响细胞凋亡的因素很多,近年来研究证实神经营养因子对神经细胞有重要的保护作用^[12]。因此,为进一步探讨补肾益精方对感光细胞凋亡的抑制作用,我们本次研究还观察了补肾益精方对神经营养因子家族中的 CNTF、BDNF 及 bFGF 在视网膜表达的影响,结果发现补肾益精方对上述神经营养因子表达有不同的促进作用,其中对 CNTF 的作用最强,在给药 7 d 及 28 d 补肾益精方组视网膜 CNTF 的表达均明显高于蒸馏水组,对 BDNF 作用次之,对 bFGF 作用不明显。CNTF 是细胞因子家族中被研究最多的成员,目前已在至少 13 种不同的动物模型中得到证实 CNTF 可以有效延缓 RP 进程^[13]。Lipinski 等^[14]研究表明,在 RP 鼠模型中由腺相关病毒介导的 CNTF 持续性分泌可以对感光细胞发挥保护作用。BDNF 是一种由脑组织合成并广泛分布于中枢神经系统的小分子碱性蛋白。研究发现,BDNF 对视

网膜神经节细胞、视网膜感光细胞和视网膜色素上皮细胞均有保护、营养及抗凋亡作用^[15]。玻璃体内注射 BDNF 可以改善 RP 小鼠的超微结构,从而延缓视网膜变性进程,其作用可能与视网膜上 c-jun 蛋白表达增加有关^[16]。因此,我们推测补肾益精方可能通过促进视网膜 CNTF 及 BDNF 的表达,抑制感光细胞凋亡,从而延缓 RCS 大鼠视网膜变性的发展。

综上所述,通过本实验我们发现补肾益精方对 RCS 大鼠视网膜感光细胞的凋亡具有抑制作用,其作用机制可能与促进视网膜神经营养因子的表达有关。

参考文献

- [1] DIAS M F, JOO K, KEMP J A, FIALHO S L, DA SILVA CUNHA A J R, WOO S J, *et al.* Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspectives [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2017, 63: 107-131.
- [2] TANG Z, ZHANG Y, WANG Y, ZHANG D, SHEN B, LUO M, *et al.* Progress of stem/progenitor cell-based therapy for retinal degeneration [J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1): 99.
- [3] XU J, PENG Q. Retinitis pigmentosa treatment with western medicine and traditional chinese medicine therapies [J]. *J Ophthalmol*, 2015, 2015: 421269.
- [4] LI X L, TANG Y Z, FAN J P, XU K, LIANG J, LIANG L N. Study of Bushenyijing Decoction's protective effect on retinal degeneration in RCS rat [J]. *J Tradit Chin Ophthalmol*, 2016, 26(3): 144-149.
李雪丽,唐由之,范吉平,许凯,梁洁,梁丽娜. 补肾益精方对 RCS 大鼠视网膜变性损伤的保护作用研究 [J]. 中国中医眼科杂志, 2016, 26(3): 144-149.
- [5] D' CRUZ P M, YASUMURA D, WEIR J, MATTHES M T, ABDERRAHIM H, LAVAIL M M, *et al.* Mutation of the receptor tyrosine kinase gene (Mertk) in the retinal dystrophic RCS rat [J]. *Hum Mol Genet*, 2000, 9(4): 645-651.
- [6] LIU B, TANG J M, ZHU X A, TANG Y. Photoreceptor apoptosis in hereditary degenerative retina of RCS rats [J]. *Acta Anat Sin*, 1998, 29(4): 410-412.
刘斌,唐军民,朱秀安,唐岩. RCS 大鼠视网膜感光细胞的凋亡 [J]. 解剖学报, 1998, 29(4): 410-412.
- [7] GUADAGNI V, NOVELLI E, PIANO I, GARGINI C, STRETTOI E. Pharmacological approaches to retinitis pigmentosa: A laboratory perspective [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2015, 48: 62-81.
- [8] ZHOU L, YANG Q D, YUAN M S, MA Z J, HOU D R, TAN X L. Effect of tuber fleeceflower root on disorders of learning and memory and neuronal apoptosis in hippocampi induced by beta-amyloid [J]. *Chin J Tis Engineer Res*, 2005, 9(9): 131-134.
周琳,杨期东,袁梦石,马志健,侯德仁,谭兴林. 何首乌对淀粉样 β 蛋白致海马神经元的凋亡和学习记忆障碍的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2005, 9(9): 131-134.
- [9] WEN Z, XIAO Y S, TANG N, WU D F, ZHANG J, NIE R Q, *et al.* Effect of polygonum multiflorum on apoptosis and learning and memory impairment induced by amyloid beta protein in hippocampal neurons [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med*, 2006, 22(2): 29-31.
文珠,肖移生,唐宁,吴东风,张进,聂荣庆,等. 黄精多糖对神经细胞的毒性及抗缺氧性坏死和凋亡作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(2): 29-31.
- [10] WANG W H, LIU X H, CHI H F. Neuroprotective effects of Lycium barbarum on the retina of monocular visual deprived amblyopia in rats [J]. *Chin J Neuroanat*, 2010, 26(3): 268-272.
- [11] LIU X H, NI T S, CHI H F. Neuroprotective effects of lycium barbarum on the Hereditary retinal dystrophy of RCS rats [J]. *Chin J Neuroanat*, 2008, 24(6): 602-606.
- [12] KOLOMEYER A M, ZARBIN M A. Trophic factors in the pathogenesis and therapy for retinal degenerative diseases [J]. *Surv Ophthalmol*, 2014, 59(2): 134-165.
- [13] DUTT K, CAO Y, EZEONU I. Ciliary neurotrophic factor: a survival and differentiation inducer in human retinal progenitors [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2010, 46(7): 635-646.

引文格式:冯松福,陈晗,陆晓和. 聚乙烯醇(PVA)水凝胶填充兔玻璃体腔的安全性及有效性研究[J]. 眼科新进展, 2018,38(7):615-619. doi:10.13389/j.cnki.rao.2018.0145

【实验研究】

聚乙烯醇(PVA)水凝胶填充兔玻璃体腔的安全性及有效性研究[△]

冯松福 陈晗 陆晓和

作者简介:冯松福,男,1982年10月出生,广东人,博士,主治医师。主要研究方向:玻璃体视网膜疾病。联系电话:13570323495;E-mail:fsf516@163.com;ORCID:0000-0002-3494-4013

About FENG Song-Fu:Male,born in October,1982. Medical doctor. Tel:13570323495;E-mail:fsf516@163.com;ORCID:0000-0002-3494-4013

收稿日期:2018-01-19
修回日期:2018-05-21
本文编辑:方红玲

△基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(编号:81500722)
作者单位:510280 广东省广州市,南方医科大学珠江医院眼科
Received date:Jan 19,2018
Accepted date:May 21,2018
Foundation item: National Natural Science Fund Youth Fund Project of China (No:81500722)
From the Department of Ophthalmology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China

Safety and efficacy of filling the vitreous cavity with polyvinyl alcohol hydrogel in rabbits

FENG Song-Fu, CHEN Han, LU Xiao-He

[Abstract] Objective To evaluate the safety and efficacy of using 30 g · L⁻¹ polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel to fill in the vitreous cavity of rabbits in a long term.

Methods Totally 12 New Zealand white rabbits were randomly divided into 2 groups: 6 in PVA hydrogel group (PVA group) and 6 in BSS group. The right eye of each rabbit in the two groups underwent a three-channel vitrectomy. After that, PVA hydrogel and BSS solution were filled respectively. After surgery, the eye was examined by the slit lamp, ophthalmoscope, ultrasound, and fundus photography. And the intraocular pressure was tested. On day 90 and day 180 after surgery, the electroretinogram (ERG) was performed. At the same time, the rabbit was sacrificed and the PVA hydrogel in the eye was collected for rheology examination. And the eyeball was sent for pathological examination.

Results By the end of observation, there was no obvious abnormalities in the cornea and anterior chamber in PVA group or BSS group. Two eyes were complicated with cataract in PVA group. One eye was complicated with cataract in BSS group. None of the eyes in the two groups had developed complications such as hemorrhage, opacity and proliferation of vitreous body, or detachment of retina or choroid. As for the intraocular pressure, there was no significant difference between the two groups at each time point, as before surgery and the 3rd, 7th, 14th, 30th, 60th, 90th and 180th day after surgery (all *P* > 0.05). ERG examination of the two groups showed that there were no significant differences of the post-operative peaks of wave a and wave b in SkotERG and PhotERG comparing with the pre-operative peaks (all *P* > 0.05). After fixation, sectioning and HE staining, the eyeball was examined by light microscope. All retinal lamina of the two groups were intact. The inner and outer plexiform laminae were continuous. The inner and outer nuclear laminae were arranged neatly. All retinal lamina showed no obvious changes like inflammation, degeneration, and necrosis and so on. Examination by electron microscope: On the 90th day after surgery, the mitochondria in retinal pigment epithelium were slightly swollen, with blurry structures and appended by polymeric PVA. On the 180th day after surgery, the mitochondria were more severely swollen, with blurrier structures. On the 90th day after surgery, the vitreous cavity was still full of PVA hydrogel, without obvious signs of degradation or changes of viscoelasticity. However, on the 180th day after surgery, the PVA hydrogel became watery in the vitreous body, with obvious degradation and decreased viscoelasticity.

Conclusion PVA hydrogel (30 g · L⁻¹) has a satisfactory biocompatibility and retinal supporting function *in vivo*, but can be degraded after filling for a long term.

[Key words] PVA hydrogel; vitreous substitutes; vitreous surgery

【摘要】 目的 评价 30 g · L⁻¹ 聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA) 水凝胶在兔玻璃体腔内长期填充的安全性与有效性。方法 将新西兰白兔 12 只随机分为 2 组: PVA 水凝胶组 (PVA 组) 6 只、BSS 组 6 只。2 组兔右眼行三通道玻璃体切割术, 切除玻璃体后分别填充 PVA 水凝胶和 BSS 溶液。术后行裂隙灯、眼底镜、眼压、B 超和眼底照相检查; 术后 90 d、180 d 行视网膜电图 (electroretinogram, ERG) 检查, 同时处死兔并摘出眼球, 收集眼内 PVA 水凝胶后行流变学检查, 眼球送病理学检查。**结果** 至观察终期 PVA 组与 BSS 组术眼的角膜、前房等均无明显异常; PVA 组有 2 眼并发白内障, BSS 组有 1 眼并发白内障, 2 组术眼均

[14] LIPINSKI D M, BARNARD A R, SINGH M S, MARTIN C, LEE E J, DAVIES W I L, et al. CNTF gene therapy confers lifelong neuroprotection in a mouse model of human retinitis pigmentosa [J]. *Mol Ther*, 2015, 23 (8): 1308-1319.

[15] YAN B J, LI G L. Current advances on the brain-derived neurotrophic factor in therapy of retinitis pigmentosa [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2017, 35 (3): 267-271.

闫博婧, 李根林. 脑源性神经营养因子治疗视网膜色素变性的研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35 (3): 267-271.

[16] CHEN R, YIN X B, PENG C X, LI G L. Effect of brain-derived neurotrophic factor on c-jun expression in the rd mouse retina [J]. *Int J Ophthalmol*, 2012, 5 (3): 266-271.