

· 实验研究 ·

天麻钩藤饮对视神经损伤后视网膜神经节细胞的保护作用及其机制

李玉洁 马科 张海娟 王海燕

100005 北京,首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 北京市眼科研究所(李玉洁、马科、张海娟);100730 北京,首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 北京市眼科学与视觉科学重点实验室(王海燕)

通信作者:王海燕,Email:drwanghaiyan@126.com

DOI:10.3760/ema.j.issn.2095-0160.2018.02.004

【摘要】 目的 研究天麻钩藤饮对视神经夹伤模型大鼠 RGCs 的保护作用及其抗氧化作用机制。**方法** 按照随机数字表法将 50 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠分为单纯模型组 17 只、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组 16 只和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组 17 只,均取右眼制作视神经夹伤模型,1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠均于造模后 2 h 按剂量以灌胃方式给予天麻钩藤饮 10 ml/kg,共连续给药 28 d,单纯模型组大鼠以同样方法用等量蒸馏水灌胃。于造模后第 23 天,应用随机数字表法随机选取单纯模型组 8 只、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组 7 只和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组 8 只大鼠用微量注射器将质量分数 3% 荧光金 (FG) 注射到双侧上丘各 3 μ l 行 RGCs 逆行标记,于造模后第 28 天处死大鼠,然后采集眼球标本制作视网膜铺片并计数 RGCs。各组剩余 9 只大鼠采用化学比色法测定视网膜谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性。**结果** 单纯模型组及 1.2 g/ml 和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 RGCs 存活率分别为 (59.67 $\pm$ 9.85)%、(71.33 $\pm$ 9.14)% 和 (73.63 $\pm$ 8.33)%,组间总体比较差异有统计学意义 ($F=5.322, P=0.014$),其中 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 RGCs 存活率均明显高于单纯模型组,差异均有统计学意义 ($P=0.023, 0.006$)。单纯模型组及 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠视网膜 GSH-Px 比活性分别为 (222.20 $\pm$ 76.67)、(311.30 $\pm$ 46.93) 和 (473.65 $\pm$ 117.73) μ mol/(s $\cdot$ mg),组间总体比较差异有统计学意义 ($F=20.005, P<0.001$),其中 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组 GSH-Px 比活性均明显高于单纯模型组和 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组,差异均有统计学意义 ($P<0.001, P=0.001$)。**结论** 天麻钩藤饮能有效保护视神经损伤后的 RGCs,提高 RGCs 的存活率。视神经损伤后口服 2.4 g/ml 天麻钩藤饮可提高大鼠视网膜中 GSH-Px 活性,提示抗氧化可能是天麻钩藤饮发挥视神经细胞保护作用的机制之一。

【关键词】 视神经夹伤;神经保护;中草药;视网膜神经节细胞;谷胱甘肽过氧化物酶;疾病模型;Wistar 大鼠;天麻钩藤饮

基金项目:国家自然科学基金项目 (81102617)

Neuroprotective effects of tianmagouteng decoction on retinal ganglion cells in optic nerve crush model Li Yujie, Ma Ke, Zhang Haijuan, Wang Haiyan

Beijing Institute of Ophthalmology, Beijing Tongren Eye Center, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100005, China (Li YJ, Ma K, Zhang HJ); Beijing Tongren Eye Center, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing Ophthalmology & Visual Sciences Key Lab, Beijing 100730, China (Wang HY)

Corresponding author: Wang Haiyan, Email: drwanghaiyan@126.com

[Abstract] Objective To investigate the neuroprotective effect and antioxidation mechanism of tianmagouteng decoction on retinal ganglion cells (RGCs) in optic nerve crush model. **Methods** Optic nerve crush models were established using optic nerve clamping method in the right eyes of 50 SPF male Wistar rats. The rats were randomized into model group (17 rats), 1.2 g/ml tianmagouteng decoction group (16 rats) and 2.4 g/ml tianmagouteng decoction group (17 rats). Tianmagouteng decoction at the dose of 1.2 g/(ml $\cdot$ d) or 2.4 g/(ml $\cdot$ d) was intragastrically administered 2 hours after onset of optic nerve damage (10 ml/kg), respectively,

based on grouping for consecutive 28 days, and equal volume of distilled water was used in the same way in the model group. Fluoro-gold (FG, 3 μ l, 3%) was bilaterally injected into superior colliculus to retrogradely label RGCs 23 days following modeling. The rats were sacrificed at day 28 and retinal flatmounts were prepared to count RGCs. Retinal glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in rat retinas was detected by chemical colorimetric analysis. **Results**

The survival rate of RGCs was (59.67 $\pm$ 9.85)%, (71.33 $\pm$ 9.14)% and (73.63 $\pm$ 8.33)% in the model group, 1.2 g/ml *tianmagouteng decoction* group and 2.4 g/ml *tianmagouteng decoction* group, respectively, showing a significant difference among the three groups ($F=5.322$, $P=0.014$), and the survival rate of RGCs was evidently higher in the 1.2 g/ml *tianmagouteng decoction* group and 2.4 g/ml *tianmagouteng decoction* group than that in the model group ($P=0.023$, 0.006). The GSH-Px activity was (222.20 $\pm$ 76.67), (311.30 $\pm$ 46.93) and (473.65 $\pm$ 117.73) μ mol/(s $\cdot$ mg) in the model group, 1.2 g/ml *tianmagouteng decoction* group and 2.4 g/ml *tianmagouteng decoction* group, respectively, with a significant difference among the three groups ($F=20.005$, $P<0.001$), and the GSH-Px activity in the 2.4 g/ml *tianmagouteng decoction* group is considerably increased as compared to the model group and 1.2 g/ml *tianmagouteng decoction* group ($P<0.001$; $P=0.001$). **Conclusions** *Tianmagouteng decoction* plays a neuroprotective effect on RGCs after optic nerve damage in rat, which may be achieved by improving the activity of the GSH-Px in retina, suggesting that antioxidation probably be one of the neuroprotective mechanisms of *tianmagouteng decoction*.

[Key words] Injury, optic nerve; Neuroprotection; Chinese herbal medicine; Retinal ganglion cells; Glutathione peroxidase; Disease models; Rats, Wistar; *Tianmagouteng decoction*

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81102617)

视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 及其轴突的慢性进行性丢失是许多眼部疾病的共同病理基础,也是导致视功能损害的重要原因。组织学研究显示,RGCs 是一种长轴突细胞,其作用是将视网膜的视觉信号传递到外侧膝状体,进而经过中继神经元传递到视觉中枢巨状裂,形成完整的视觉信号传递系统。RGCs 是中枢神经系统结构的一部分,其轴突为无髓神经纤维,因此损伤或丢失后不能再生^[1]。RGCs 的丢失表现为慢性进行性过程,部分以继发性变性为特征^[2],为视神经保护措施的实施提供了一定的空间,视神经保护的概念即相对地保存 RGCs 的结构及功能^[3],是目前眼科研究的热点,相关的动物实验或临床试验对一些药物的视神经保护作用进行了探索,如酒石酸溴莫尼定、多巴胺受体阻滞剂美金刚和银杏叶提取物等^[4-7],然而,临床试验的结果并不尽如人意。天麻钩藤饮为传统中草药,主要用于帕金森病、阿尔茨海默病等中枢神经变性疾病的治疗^[8],具有抗氧化、抗中枢神经细胞凋亡的作用。本课题组前期研究表明,天麻钩藤饮灌胃给药可以抑制大鼠视神经夹伤模型中 RGCs 的凋亡^[9],但其作用机制尚不明确。研究表明,大鼠视神经夹伤后 7 d 与自由基损伤相关的基因表达即开始上调,并持续到 2 周以后,提示视神经损伤后数周 RGCs 凋亡在持续发生^[10],而谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活力的高低能直接反映机体清除自由基的能力^[11]。为了进一步研究该药物对 RGCs 的保护作用及其作用机制,本研

究拟观察天麻钩藤饮对 RGCs 的保护作用,探讨天麻钩藤饮抗 RGCs 凋亡的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 实验用 8~10 周龄 SPF 级健康雌性 Wistar 大鼠 50 只,体质量 190~210 g[购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证编号:SCXK(京)2012-0001]。采用随机数字表法将动物随机分为单纯模型组 17 只、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组 16 只和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组 17 只。实验动物的使用遵循 ARVO 声明,本研究方案经首都医科大学动物伦理委员会审核批准(批文号:AEEI-2016-047)。

1.1.2 主要试剂及仪器 荧光金 (fluoro-gold, FG) (美国 Biotium 公司);荧光增强剂 (美国 Genmed Scientifics 公司)。手术显微镜 (OMS-85 型,日本拓朴康公司);微型视神经夹 (瑞士 S&T 公司);脑立体定位仪 (Model 900,美国 David Kopf 公司);手持式电动骨钻 (韩国 Saeshin Precision 公司);荧光显微镜 (AH-2,日本 OLYMPUS 公司);3-18K 离心机 (美国 Sigma 公司)。

1.2 方法

1.2.1 视神经夹伤模型的制备 均以大鼠右眼为实验眼,左眼不给于任何干预。参照文献[9,12]中描述的方法制备视神经夹伤模型。用质量分数 10% 水合氯醛 3 ml/kg 腹腔内注射麻醉大鼠,于手术显微镜下剪开外眦部皮肤约 10 mm,剔除部分眶脂肪组织。剪

开球结膜约 4 mm, 分离并剪断外直肌, 暴露视神经, 用玻片置于角膜前观察眼底血管情况, 确定眼底血管无改变后用夹持力 40 g 的微型视神经夹于球后 2 mm 处夹持视神经 60 s, 再次观察眼底血管变化, 剔除眼底血管闭塞或视网膜苍白缺血大鼠^[12]。缝合球结膜及外眦部皮肤伤口。

1.2.2 药物制备和给药方式 天麻钩藤饮含天麻、栀子、黄芩、杜仲、益母草、桑寄生、夜交藤、朱茯神各 9 g, 川牛膝 12 g, 钩藤 12 g, 生决明 18 g, 按既定工艺煎煮成汤药, 由中国中医科学院中药研究所代加工。参照成人用量 $114 \text{ g}/60 \text{ kg} = 1.9 \text{ g 生药}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 计算大鼠等效剂量为 $1.9 \times 6.3 \approx 12 \text{ g 生药}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ (参考现代医学实验动物学方法)。本研究设定大鼠等效剂量的 1 倍和 2 倍剂量分别作为实验的 2 个剂量组, 即生药 $12 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和 $24 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 终质量浓度分别为 1.2 g/ml 和 2.4 g/ml 。1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠于视神经夹伤后 2 h 及此后每天给予 $1.2 \text{ g}/(\text{ml} \cdot \text{d})$ 和 $2.4 \text{ g}/(\text{ml} \cdot \text{d})$ 天麻钩藤饮灌胃, 给药量均为每日 10 ml/kg , 单纯模型组大鼠于视神经夹伤后 2 h 及此后每天给予蒸馏水 10 ml/kg , 共给药 28 d。

1.2.3 RGCs 的 FG 逆行标记 造模后 23 d 取单纯模型组大鼠 8 只、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 7 只和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 8 只行 FG 逆行标记。用 10% 水合氯醛行大鼠腹腔内注射, 剂量为 3 ml/kg , 将大鼠固定在脑立体定位仪上, 用碘伏消毒大鼠头部皮肤, 自正中纵行切开皮肤, 逐渐分离皮下组织, 暴露颅骨。用电钻在颅骨上形成卵圆形骨孔, 用微量注射器将质量分数 3% FG 分别注射到前囟后 6.0 mm、旁开 1.4 mm 和深 4.0 mm 处, 每侧上丘注射 $3 \mu\text{l}$ 。造模后 28 d 将动物深度麻醉, 取出眼球, 固定于质量分数 4% 多聚甲醛溶液中 2 h, 过量麻醉法处死动物。取出固定好的眼球, 沿角膜缘后 0.5 mm 剪开大鼠眼球, 去除角膜和晶状体, 分离视网膜并置于载玻片上, 将视网膜放射状剪开并平铺在载玻片上, 待视网膜自然干燥后滴加抗荧光猝灭剂 (GMS12058.3, 美国 Genmed Scientifics 公司) 并加盖盖玻片, 无色指甲油封片, 用荧光显微镜进行观察, 选用 V 激发自动挡拍摄, 滤光镜为 UV/L435, 放大 125 倍。在距离视盘中心 2 mm 处拍摄上下左右各 1 张, 用联想 Mustek 扫描仪以 100 dpi 扫入计算机, 使用彩色颗粒分析软件计数 RGCs^[13-14], 累计 4 张照片的 RGCs, 转换成 RGCs 密度, $\text{RGCs 存活率}(\%) = \text{右眼 RGCs 密度}/\text{左眼 RGCs 密度} \times 100\%$ 。

1.2.4 GSH-Px 的检测 造模后 28 d, 取单纯模型组、

1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠各 9 只, 用 10% 水合氯醛过量麻醉大鼠, 剂量为 7 ml/kg , 摘除右侧眼球, 在冰面上分离视网膜, 用玻璃匀浆器冰水浴中加生理盐水进行匀浆, 离心半径 17.2 cm , 4000 r/min 离心 15 min, 制备视网膜组织匀浆液, 按下列公式检测 GSH-Px 的比活性:

$$\text{GSH-PX 酶活力} = \frac{\text{非酶管 A 值} - \text{酶管 A 值}}{\text{标准 A 值} - \text{空白 A 值}} \times \text{标准品浓度} \times \frac{\text{稀释倍数}}{\text{反应时间}} \div (\text{蛋白浓度} \times \text{取样量})。$$

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析。本研究各检测指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 进行描述, 经 Levene 检验证实方差齐。采用完全随机分组单因素干预三水平研究设计, 单纯模型组、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组间大鼠 RGCs 存活率和视网膜 GSH-Px 比活性的总体差异比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-t 检验。采用双尾检测法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 RGCs 存活率的比较

大鼠的正常对照眼 RGCs 排列致密且均匀; 单纯模型组大鼠 RGCs 减少, 排列稀疏, 细胞大小不均; 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 RGCs 排列较稀疏; 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 RGCs 大小均匀, 密度中等 (图 1)。单纯模型组、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠正常对照眼 RGCs 平均密度分别为 (1864.5 ± 141.8) 、 (1948.0 ± 274.0) 和 $(2038.5 \pm 211.5)/\text{mm}^2$, 组间总体比较差异无统计学意义 ($F = 0.893$, $P = 0.458$)。单纯模型组、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠实验眼 RGCs 存活率总体比较差异有统计学意义 ($F = 5.322$, $P = 0.014$), 其中 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 RGCs 存活率比单纯模型组分别提高 11.66% 和 13.96%, 差异均有统计学意义 ($P = 0.023$ 、 0.006), 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组与 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组间大鼠 RGCs 存活率比较差异无统计学意义 ($P = 0.631$) (表 1)。

2.2 各组大鼠视网膜 GSH-Px 比活性比较

单纯模型组、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组间大鼠视网膜 GSH-Px 比活性总体比较差异有统计学意义 ($F = 20.005$, $P < 0.001$), 其中

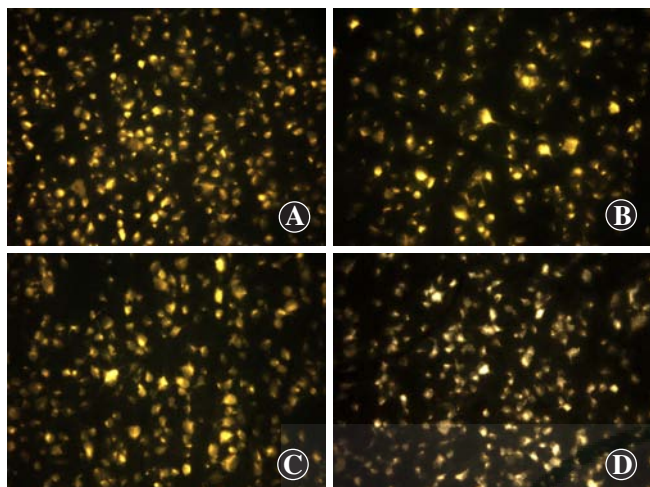


图 1 各组大鼠 RGCs 大小及密度比较 (FG ×400) A: 大鼠正常对照眼 RGCs 致密, 分布均匀 B: 单纯模型组 RGCs 密度较正常对照眼降低, 细胞大小不均 C: 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 RGCs 较稀疏 D: 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠 RGCs 大小均匀, 密度中等

2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠视网膜 GSH-Px 比活性较单纯模型组和 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组均明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$; $P = 0.001$); 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组与模型组间大鼠视网膜 GSH-Px 比活性比较差异无统计学意义 ($P = 0.090$) (表 1)。

表 1 各组大鼠 RGCs 存活率和视网膜 GSH-Px 比活性的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量	RGCs 存活率 (%)	GSH-Px 比活性 [$\mu\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{mg})$]
单纯模型组	9	59.67 ± 9.85	222.20 ± 76.67
1.2 g/ml 天麻钩藤饮组	9	71.33 ± 9.14 ^a	311.30 ± 46.93
2.4 g/ml 天麻钩藤饮组	9	73.63 ± 8.33 ^b	473.65 ± 117.73 ^{bc}
F 值		5.322	20.005
P 值		0.014	<0.001

注: 与各自单纯模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与各自 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组比较, ^c $P < 0.01$ (单因素方差分析, SNK- q 检验) RGCs: 视网膜神经节细胞; GSH-Px: 谷胱甘肽过氧化物酶

3 讨论

大鼠视神经夹伤模型已广泛用于视神经保护性的实验研究^[15-16]。有研究显示, 不同大鼠个体之间 RGCs 的密度不同, 但同一大鼠的双眼间 RGCs 密度无明显差异。本研究中单纯模型组、1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组的正常对照眼 RGCs 密度进行比较, 平均密度为 1 865 ~ 2 039/mm², 组间 RGCs 密度比较差异无统计学意义, 证实 3 个组间 RGCs 密度具有可比性, 因此本研究中对 3 个组间模型眼 RGCs 存活率的差异进行比较, 发现单纯模型组大鼠 RGCs 存活率出现中等程度丢失, 比较适合药物有

效性研究。

本研究结果显示, 剂量为 1.2 g/ml 和 2.4 g/ml 的天麻钩藤饮对大鼠视神经夹伤后的 RGCs 均有一定的保护作用, 增加 RGCs 的存活率, 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠的 RGCs 存活率分别比单纯模型组提高了 11.66% 和 13.96%, 这 2 种剂量对视神经损伤的 RGCs 存活率的改善程度比较接近, 可能与中药的作用比较缓和有关。

本研究中各组 RGCs 存活率的比较显示, 天麻钩藤饮具有 RGCs 的保护作用, 但其作用机制可能是多途径的。由于 RGCs 的丢失与自由基损伤密切相关, 因此, 本研究中选择氧化损伤的主要指标之一 GSH-Px, 比较各组之间该氧化指标的大小, 结果显示 2.4 g/ml 天麻钩藤饮组视网膜 GSH-Px 比活性明显高于模型组, 说明用药后视网膜上抗自由基损伤的能力显著增强。GSH-Px 活力的高低直接反映了机体清除自由基的能力, 能够特异性催化 GSH 对 H₂O₂ 的还原反应, 在维持神经元结构和功能的完整性方面发挥重要作用, 特别是保护细胞膜的完整性, 因此天麻钩藤饮可能通过增加视网膜 GSH-Px 的活性来抑制 RGCs 的丢失。何建成等^[17]研究发现, 天麻钩藤饮对帕金森病模型大鼠多巴胺能神经元凋亡有明显抑制作用, 其作用机制可能是通过抗氧化应激、上调 bcl-2 表达和抑制 bax 的激活而实现的。蔡昌龙等^[18]研究表明, 天麻钩藤饮可增加高血压患者血浆超氧化物歧化酶活性, 从而发挥抗氧化作用。王文武等^[19]的研究也显示, 天麻钩藤饮可以提高机体抗氧化水平, 并能够清除氧自由基。天麻钩藤饮中具有天然的抗氧化成分, 视网膜血液供应丰富, 有利于中药成分到达视网膜并发挥作用。

本实验结果还显示, 尽管 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠视网膜 GSH-Px 活力稍高于模型组, 但 2 个组间差异无统计学意义, 表明 1.2 g/ml 天麻钩藤饮组大鼠视网膜中 GSH-Px 活性有一定提高, 可发挥抗氧化作用, 但天麻钩藤饮保护 RGCs 的作用并不局限于单纯的抗氧化作用, 可能存在其他的作用途径。

综上所述, 本研究结果表明 1.2 g/ml 和 2.4 g/ml 天麻钩藤饮均能有效保护大鼠视神经夹伤模型的 RGCs, 并且随着用药剂量的提高, 其保护作用有增强的趋势, 表明该药用于治疗视神经损伤是有效的。2.4 g/ml 天麻钩藤饮可以提高大鼠视网膜 GSH-Px 活性, 通过抗氧化损伤来保护 RGCs, 但其作用机制可能比较复杂, 有待进一步验证。

参考文献

- [1] Schmidt KG, Bergert H, Funk RH. Neurodegenerative diseases of the retina

- and potential for protection and recovery[J]. Curr Neuropharmacol, 2008, 6(2): 164-178. DOI: 10.2174/157015908784533851.
- [2] Li HY, Ruan YW, Ren CR, et al. Mechanisms of secondary degeneration after partial optic nerve transection [J]. Neural Regen Res, 2014, 9(6): 565-574. DOI: 10.4103/1673-5374.130093.
- [3] Casson RJ, Chidlow G, Ebner A, et al. Translational neuroprotection research in glaucoma: a review of definitions and principles [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2012, 40(4): 350-357. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2011.02563.x.
- [4] Krupin T, Liebmann JM, Greenfield DS, et al. A randomized trial of brimonidine versus timolol in preserving visual function: results from the Low-Pressure Glaucoma Treatment Study [J]. Am J Ophthalmol, 2011, 151(4): 671-681. DOI: 10.1016/j.ajo.2010.09.026.
- [5] Ma K, Xu L, Zhang H, et al. Effect of brimonidine on retinal ganglion cell survival in an optic nerve crush model [J]. Am J Ophthalmol, 2009, 147(2): 326-331. DOI: 10.1016/j.ajo.2008.08.005.
- [6] Gabelt BT, Rasmussen CA, Tektas OY, et al. Structure/function studies and the effects of memantine in monkeys with experimental glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(4): 2368-2376. DOI: 10.1167/iops.11-8475.
- [7] Ma K, Xu L, Zhan H, et al. Dosage dependence of the effect of Ginkgo biloba on the rat retinal ganglion cell survival after optic nerve crush [J]. Eye (Lond), 2009, 23(7): 1598-1604. DOI: 10.1038/eye.2008.286.
- [8] 张桂萍, 曹晓岚. 天麻钩藤饮的现代临床应用 [J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(4): 366-368. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6613.2012.04.034.
- [9] 李玉洁, 张海娟, 王海燕, 等. 天麻钩藤饮抗大鼠视神经夹伤模型视网膜神经节细胞凋亡作用的实验研究 [J]. 眼科, 2015, 24(3): 188-192. DOI: 10.13281/j.cnki.issn.1004-4469.2015.03.012.
- Li YJ, Zhang HJ, Wang HY, et al. Effect of Tianma Gouteng Decoction on retinal ganglion cells apoptosis in rat optic nerve crush model [J]. Ophthalmol CHN, 2015, 24(3): 188-192. DOI: 10.13281/j.cnki.issn.1004-4469.2015.03.012.
- [10] 黄厚斌, 马志中, 张卯年. 大鼠视神经部分损伤后基因表达谱的基因芯片研究 [J]. 中华眼底病杂志, 2005, 21(3): 163-166.
- Huang HB, Ma ZZ, Zhang MN. The expression spectrum of gene after partial injury of optic nerves [J]. Chin J Ocul Fund Dis, 2005, 21(3): 163-166.
- [11] Falkner KL, McCann SE, Trevisan M. Participant characteristics and quality of recall of physical activity in the distant past [J]. Am J Epidemiol, 2001, 154(9): 865-872.
- [12] 安晶, 殷浩, 张作明. 两种常用大鼠视神经钳夹伤模型造模效果的比较 [J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(4): 305-311. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.04.004.
- An J, Yin H, Zhang ZM. A comparative study of two common optic nerve crush models in rats [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(4): 305-311. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.04.004.
- [13] 马科, 徐亮, 吴立秋, 等. 使用彩色颗粒分析软件定量视网膜神经节细胞 [J]. 眼科, 2002, 11(6): 364-366.
- Ma K, Xu L, Wu LQ, et al. Quantitative analysis of retinal ganglion cells with colour pellet analysis system software [J]. Ophthalmol CHN, 2002, 11(6): 364-366.
- [14] Xia X, Wen R, Chou TH, et al. Protection of pattern electroretinogram and retinal ganglion cells by oncostatin M after optic nerve injury [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(9): e108524 [2016-04-10]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4171539/. DOI: 10.1371/journal.pone.0108524.
- [15] Wang X, Lin J, Arzeno A, et al. Intravitreal delivery of human NgR-Fc decoy protein regenerates axons after optic nerve crush and protects ganglion cells in glaucoma models [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(2): 1357-1366. DOI: 10.1167/iops.14-15472.
- [16] Huang SP, Fang KT, Chang CH, et al. Autocrine protective mechanisms of human granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on retinal ganglion cells after optic nerve crush [J]. Exp Eye Res, 2016, 143: 132-140. DOI: 10.1016/j.exer.2015.10.010.
- [17] 何建成, 王文武. 天麻钩藤饮对帕金森病模型大鼠多巴胺能神经元凋亡的影响 [J]. 中医杂志, 2010, 51(11): 1024-1027.
- He JC, Wang WW. Effect of tianma gouteng yin on apoptosis of dopaminergic neurons in parkinson's disease model rats [J]. J Tradit Chin Med, 2010, 51(11): 1024-1027.
- [18] 蔡昌龙, 李明月, 邢之华, 等. 天麻钩藤饮对肝阳上亢型高血压患者血浆 SOD、MDA 的影响 [J]. 实用医学杂志, 2005, 21(3): 321-322.
- [19] 王文武, 何建成, 丁宏娟. 天麻钩藤饮对帕金森病大鼠神经行为学及氧化应激反应的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(12): 1657-1659. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2010.12.017.
- Wang WW, He JC, Ding HJ. Effect of tianma gouteng drink on the behavioural and oxidation stress response of Parkinson's disease rat [J]. Chin J Gerontol, 2010, 30(12): 1657-1659. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2010.12.017.

(收稿日期: 2017-04-12 修回日期: 2017-11-02)

(本文编辑: 尹卫靖 刘艳)

读者·作者·编者

本刊对医学研究中知情同意和医学伦理学描述的要求

根据国际医学期刊编辑委员会提供的“生物医学期刊投稿统一要求”的表述, 本刊对作者撰写稿件时关于“知情同意”和“医学伦理学”的描述提出如下要求:

(1) 知情同意 在未事先获得知情同意的情况下, 患者有隐私不被侵犯的权力。患者的身份信息, 包括姓名、来源、住院号等均不应该以文字、图片或家系信息的方式在出版物上公开, 除非这些信息对于本研究是必需的, 如需在出版物上显示, 应征得患者 (或者父母、监护人) 签署的书面同意书。

发表的文章中应该省略不必要的患者个人信息, 但难以做到完全匿名时 (如在照片中掩盖患者的眼部, 不足以保护患者的隐私权), 应提供知情同意的信息。如果用改变患者的身份特征 (如遗传家系等) 以保护患者隐私权的方法, 作者应该确保这些改变不影响研究的科学性, 并且编辑应在文中对此予以说明。

(2) 医学伦理学 以人体为实验对象的研究, 作者应该提及试验步骤是否符合相应的负责机构、国家委员会或 1975 年赫尔辛基宣言 (2005 年修订) 的医学伦理学标准。如果研究过程对是否符合赫尔辛基宣言有疑问或存在一定的问题, 作者应当做出客观说明并解释研究的合理性, 提交已通过审查机构的批准情况。以动物为实验对象的研究, 作者应当说明是否遵循当地的相关机构、学会 (国内或国外) 及国家实验动物保护和利用指南。

(本刊编辑部)