

润燥明目汤对急性高眼压大鼠视网膜及其组织 Caspase-3、Bcl-2、Bax 表达的影响

万 宇, 李战梅, 黄 海, 黄学文, 何艺岚

(南充市中心医院眼科, 南充 637000)

[摘要] 目的 探讨润燥明目汤保护急性高眼压大鼠视神经膜细胞的可能机制。方法 将60只SD雄性大鼠随机分为6组, 根据处理方式的不同分为空白组、模型组、阳性药物组、润燥明目汤低剂量组、中剂量组及高剂量组。检测并记录各组大鼠眼压变化及视网膜组织中细胞凋亡相关因子的表达。结果 (1)造模后即刻, 空白组大鼠眼压无明显变化, 其他组大鼠眼压显著升高($P<0.05$)。用药后8周, 单纯模型组、低剂量组、中剂量组的眼压无明显差异($P>0.05$), 但高剂量组大鼠眼压明显低于阳性药物组($P<0.05$); (2)空白组大鼠的超氧化物歧化酶(SOD)水平最高, 丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、谷氨酸(Glu)、 Ca^{2+} 水平最低($P<0.05$)。与单纯模型组相比, 各给药剂量组及阳性药物组的相关指标差异均存在统计学意义($P<0.05$); 且与阳性药物组相比, 高剂量干预组大鼠视网膜组织中 NO、Glu 水平呈逐渐下降趋势($P<0.05$); (3)与单纯模型组相比, 各组大鼠视网膜神经节细胞中的 Bcl-2 平均积分吸光度逐渐升高($P<0.05$); 而 Bax、Caspase-3 的平均积分吸光度逐渐下降, 呈现出剂量依赖性($P<0.05$); (4)与单纯模型组相比, 各组大鼠视网膜神经节细胞中的 Bcl-2 mRNA 相对表达量逐渐升高, Bax mRNA、Caspase-3 mRNA 的相对表达量逐渐下降, 均呈现出剂量依赖性($P<0.05$); 高剂量干预组大鼠视神经组织中 Bcl-2 mRNA、Bax mRNA 表达均优于阳性药物组($P<0.05$)。结论 润燥明目汤对急性高眼压大鼠视神经有明显的保护作用, 其机制可能与抑制 Caspase-3/Bcl-2/Bax 信号通路活性有关。

[关键词] 润燥明目汤; 高眼压; Caspase-3; Bax; Bcl-2

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)01-0053-07

高眼压症是从原发性开角型青光眼的诊治过程中发现的一种特殊症状, 在临床实践中也发现, 绝大多数确诊的青光眼患者都具有眼压升高的共同特征^[1,2]。其发病机制尚未明确, 但降低眼压依然是治疗青光眼最主要的措施之一。目前, 青光眼的治疗包括谷氨酸拮抗剂、基因调控、钙离子阻滞剂等手段, 但在不同的患者中其疗效差别较大^[3,4]。近年来, 祖国医学通过中医针灸、中药干预等特色疗法在青光眼视神经保护

方面取得了重大进展^[5]。润燥明目汤对青光眼具有良好的效果, 但关于其对高眼压症的疗效研究报道较少。因此, 本研究将通过构建大鼠高眼压动物模型初步探讨润燥明目汤保护急性高眼压大鼠视神经的作用及可能机制, 旨在为临床治疗高眼压症提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量(230 ± 60) g, 购自第三军医大学第三附属医院野战外科研究所 [SCXK(渝)-2017-0005], 饲养于南充市中心医院

[收稿日期] 2019-08-19

[作者简介] 万 宇(1982-), 副主任医师。

E-mail: wwyu19@126.com

外科动物实验室[SYXK(渝)2017-0009]。动物实验经南充市中心医院动物伦理委员会审批(文号20180516089)。润燥明目汤由我院药剂科配置,方剂包括生地 12 g, 丹皮 10 g, 白芍 12 g, 麦冬 12 g, 石斛 20 g, 南沙参 12 g, 黄芪 15 g, 山茱萸 12 g, 淡竹叶 9 g, 置煎药壶中加水煎煮 30 min, 去渣取汁, 将汁浓缩为干膏, 其得膏率为 18.2%。按不同剂量以灌胃方式给药, 每日 1 次。

Tono-pen II 眼压计购自美国 Medtronic SALON 公司, 光学显微镜、透射电子显微镜均购自日本日立株式会社, 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、谷氨酸(Glu)及 Ca^{2+} 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所科技有限公司, 酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 模型构建及分组

将 60 只 SD 大鼠随机分为 6 组, 根据处理方式的不同分为空白组、单纯模型组、阳性药物组(银杏叶片, 210 mg/kg)、润燥明目汤低剂量组、中等剂量组及高剂量组。空白组: 不做任何处理, 正常饲养, 采用生理盐水灌胃每日 1 次 3 mL。单纯模型组: 参考赵瑛等^[6]的方法建立大鼠急性高眼压模型, 质量分数 4% 水合氯醛腹腔注射麻醉后, 取仰卧位固定, 林可霉素冲洗眼部后行角膜表面麻醉。将生理盐水瓶悬置于液平面至大鼠角膜顶点垂直距离 136 cm 处(此高度可在大鼠眼内形成 100 mmHg 的眼内压^[2]), 将连接生理盐水瓶输液管的 5 号头皮针针尖沿角膜缘刺入前房, 为避免损伤虹膜和晶状体, 针头斜面向上, 针尖平行于瞳孔缘迅速推进, 切勿穿破角膜, 固定。轻轻打开输液器开关, 当输液瓶内的液体向眼内滴注时, 可见球结膜苍白, 虹膜迅速变白, 用检眼镜检查可发现视网膜苍白水腫, 说明视网膜中央动脉的供血已被完全阻断。持续 60 min 后, 缓慢拔除针头, 涂擦红霉素眼膏预防感染。分笼饲养, 自然饮食。阳性药物组、润燥明目汤低、中和高剂量组: 急性高血压模型构建方法同单纯模型组, 从造模第 2 日开始, 采用润燥明目汤每

日按 10 mL/kg、15 mL/kg 和 20 mL/kg 灌胃, 给药剂量换算为(按照临床 70 kg 成人用量和体表面积进行换算), 银杏叶片给药剂量参考相关文献。

1.3 大鼠眼压测量

在造模前、造模后即刻、用药后 8 周共 3 个时间点对大鼠眼压进行测量, 采用 Tono-pen AVIA 笔式眼压计进行。测量时, 先采用奥布卡因滴眼液进行表面麻醉, 计量器轻触角膜至少 10 次以上。记录眼压值。操作由 1 人完成, 至少操作 3 次取平均值, 测量过程中剔除显著异常值。

1.4 HE 染色

用药 8 周实验结束后采用过量麻醉法处死大鼠, 取下右眼眼球, 留取部分眼球后视神经组织, 质量分数 4% 多聚甲醛溶液固定视神经组织, 常规石蜡包埋, 切片, 烤片, 冷却后低温冻存。经二甲苯脱蜡, 乙醇溶液梯度水化。苏木精染色 30~60 s, 冲洗 5 min, 伊红染色 30 s, 冲洗 5 min; 乙醇溶液梯度脱水, 干燥, 二甲苯透明, 中性树胶封固, 晾干, 光学显微镜下观察。

1.5 视网膜组织中 SOD、MDA、NO、Glu、 Ca^{2+} 检测

取下视网膜组织, 摘除晶状体和玻璃体, 小心分离视网膜组织, 移入 EP 管, 吸进水分后称重, 加入冰生理盐水, 剪碎。用破碎仪制作视网膜组织匀浆, 在 200 r/min、室温下离心 8 min, 分别参照 SOD、MDA、NO、Glu、 Ca^{2+} 的说明书操作方法, 采用比色法对各指标进行检测。

1.6 RT-PCR 检测细胞凋亡相关因子 Caspase-3

Bcl-2 和 Bax mRNA 表达

处死大鼠后, 解剖出视网膜组织。采用 Trace 试剂盒, 提取 DNA, 洗脱后, 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 DNA 完整性。95 °C 预变性 3 min, 95 °C 30 s, 退火温度 40 s, 72 °C 30 s, 40 个循环, 设置荧光反应在每个扩增周期后 80 °C 10 s 的条件下进行, 最后 72 °C 持续 5 min。引物模板见表 1。

1.7 统计学方法

采用 SPSS20.0 软件对数据进行统计分析。

表 1 CXCL12 及 CXCR4 引物模板

基 因	上 游	下 游
Caspase-3	TTCCATTTGTAGGCCAACGGGC	CTGTCCGCATGTCAGCATACGT
Bcl-2	GCCACGGTGGTGAAACAGTA	AGCCTTGGTTTCGAAACATCG
Bax	ATTCGGCGTACAGTTCATGGCAT	GTTCTGCACAGTATTGACGGTAC

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较的统计分析采用多因素方差分析检验, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间点眼压比较

造模前, 各组大鼠的眼压无明显差异($P > 0.05$)。造模后即刻, 空白组无明显变化, 其他组大鼠眼压显著升高($P < 0.05$)。用药后 8 周, 高剂量组大鼠眼压较模型组及低、中干预组显著降低($P < 0.05$), 与阳性药物组相比高剂量干预组其眼压变化没有统计学意义(表 2)。

2.2 各组大鼠视网膜形态

正常组视网膜结构中视网膜组织结构完整(图 1A)。单纯模型组大鼠, 视网膜组织明显水肿, 可见空泡变性(图 1B)。阳性药物组大鼠的神经纤维层、细胞层水肿明显较低, 空泡样变形较少, 结构较完整(图 1C)。润燥明目汤低剂量组及中剂量干预组大鼠的神经纤维层、细胞层水肿明显, 空泡样变性较多, 结构紊乱(图 1D、E), 而高剂量干预组的视网膜损伤程度明显减轻, 视网膜水肿位置较为局限, 外层组织水肿显著减

表 2 各组大鼠不同时间点眼压比较 mmHg

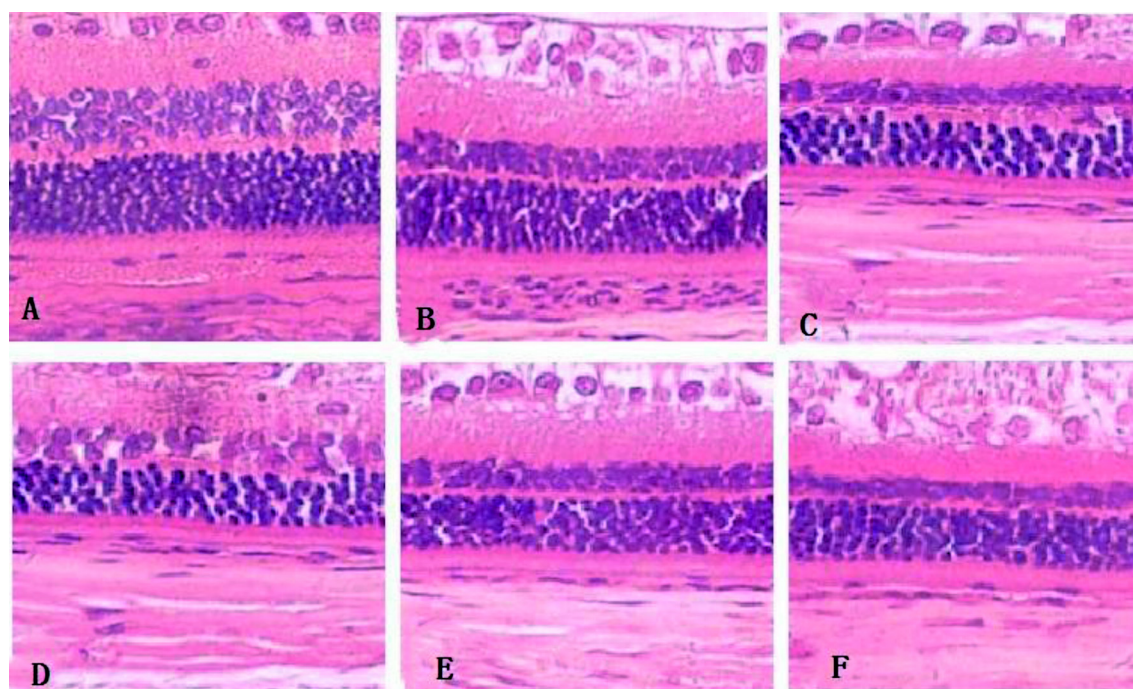
组别	造模前	造模后即刻	用药后 8 周
空白	12.63 ± 1.45	12.84 ± 1.69	12.96 ± 1.54
单纯模型	12.47 ± 1.48	33.54 ± 2.01 ^a	32.54 ± 1.84 ^a
阳性药物	12.39 ± 1.54	33.89 ± 1.81 ^a	30.46 ± 2.04 ^a
低剂量	12.36 ± 1.55	34.69 ± 1.25 ^a	33.74 ± 1.84 ^a
中剂量	12.58 ± 1.68	34.84 ± 1.44 ^a	33.87 ± 2.02 ^a
高剂量	12.46 ± 1.50	34.48 ± 1.25 ^a	29.98 ± 1.45 ^{ab}
<i>F</i> 值	0.048	388.3	270.5
<i>P</i> 值	0.995	0.000	0.000

注: 与空白组比较, ^a $P < 0.05$; 与单纯模型组比较, ^b $P < 0.05$; 与阳性药物组比较, ^c $P < 0.05$; $n = 10$; 下表同

轻, 大部分结构恢复(图 1F)。

2.3 各组大鼠视网膜组织中 SOD、MDA、NO、Glu、Ca²⁺ 比较

与空白组大鼠相比, 单纯模型组大鼠视神经组织中 SOD 活性显著降低, 而 MDA、NO、Glu、Ca²⁺ 水平明显升高($P < 0.05$)。与单纯模型组大鼠相比, 阳性药物组及各干预剂量组大鼠的相关指标均存在显著变化($P < 0.05$)。随着治疗剂量的升高, 与阳性药物组相比, 润燥明目汤高剂量干预组大鼠视网膜组织中 NO、Glu 水平呈显著下降($P < 0.05$)(表 3)。



A: 空白组; B: 单纯模型组; C: 阳性药物组; D: 低剂量组; E: 中剂量组; F: 高剂量组

图 1 各组大鼠视网膜 HE 染色(HE × 200)

表 3 各组大鼠视网膜组织中 SOD、MDA、NO、Glu、Ca²⁺ 比较 (每 mg 视网膜组织)

组 别	SOD/U	MDA/U	NO/U	Glu/ μ mol	Ca ²⁺ / μ mol
空白	50.96 $\pm$ 2.15	3.48 $\pm$ 1.57	0.25 $\pm$ 0.04	38.52 $\pm$ 9.47	0.033 $\pm$ 0.016
单纯模型	27.98 $\pm$ 2.95 ^a	6.82 $\pm$ 1.14 ^a	0.81 $\pm$ 0.05 ^a	140.05 $\pm$ 2.84 ^a	0.083 $\pm$ 0.024 ^a
阳性药物	44.08 $\pm$ 3.05 ^{ab}	4.10 $\pm$ 1.84 ^{ab}	0.46 $\pm$ 0.09 ^{ab}	119.48 $\pm$ 6.24 ^{ab}	0.042 $\pm$ 0.015 ^{ab}
低剂量	42.68 $\pm$ 3.58 ^{ab}	4.43 $\pm$ 1.78 ^b	0.48 $\pm$ 0.07 ^{ab}	133.25 $\pm$ 8.46 ^a	0.056 $\pm$ 0.013 ^{ab}
中剂量	43.96 $\pm$ 4.20 ^{ab}	4.25 $\pm$ 1.55 ^{ab}	0.46 $\pm$ 0.05 ^{ab}	128.65 $\pm$ 6.41 ^{ab}	0.050 $\pm$ 0.011 ^{ab}
高剂量	44.69 $\pm$ 4.12 ^{ab}	4.05 $\pm$ 2.02 ^{ab}	0.39 $\pm$ 0.05 ^{abc}	112.25 $\pm$ 6.12 ^{abc}	0.040 $\pm$ 0.010 ^{ab}
F 值	59.33	6.183	152.00	348.2	15.19
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 表中数据为每毫克蛋白中的含量

2.4 各组大鼠视网膜神经节细胞中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 平均积分吸光度

与空白组相比, 单纯模型组大鼠视网膜神经节细胞中的 Bcl-2 吸光度明显降低、Bax、Caspase-3 平均积分吸光度均显著升高($P < 0.05$); 与单纯模型组相比, 随着润燥明目汤剂量的增加, 各剂量干预组及阳性药物组大鼠的 Bcl-2 平均积分吸光度均显著增加, 其差异具有统计学意义($P < 0.05$), Bax、Caspase-3 平均积分吸光度均显著升高($P < 0.05$); 与阳性药物组相比, 而高剂量干预组大鼠 Bax、Caspase-3 的平均积分吸光度显著下降($P < 0.05$)(表 4)。

2.5 各组大鼠视网膜神经节细胞中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 mRNA 相对表达量

与空白组相比, 单纯模型组大鼠视网膜神经节细胞中 Bcl-2 mRNA 明显降低、Bax、Caspase-3 mRNA 均显著升高($P < 0.05$); 与单纯模型组相比, 随着给药剂量的升高及阳性药物的干预, 各组大鼠视网膜神经节细胞中的 Bcl-2 mRNA 相对表达量逐渐升高, Bax、Caspase-3 mRNA 的相对表达量逐渐下降, 均呈现出剂量依赖性($P < 0.05$); 与阳性药物组相比, 高剂量润燥明目汤干预组大鼠 Bcl-2 及 Bax mRNA 明显降低($P < 0.05$)(表 5)。

表 4 各组大鼠视网膜神经节细胞中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 平均积分吸光度

组 别	Bcl-2	Bax	Caspase-3
空白	0.084 $\pm$ 0.040	0.015 $\pm$ 0.009	0.013 $\pm$ 0.008
单纯模型	0.028 $\pm$ 0.065 ^a	0.133 $\pm$ 0.022 ^a	0.152 $\pm$ 0.041 ^a
阳性药物	0.58 $\pm$ 0.084 ^{ab}	0.079 $\pm$ 0.019 ^{ab}	0.071 $\pm$ 0.032 ^{ab}
低剂量	0.048 $\pm$ 0.015 ^{ab}	0.128 $\pm$ 0.017 ^a	0.136 $\pm$ 0.032 ^{ab}
中剂量	0.052 $\pm$ 0.027 ^{ab}	0.095 $\pm$ 0.018 ^{ab}	0.104 $\pm$ 0.024 ^{ab}
高剂量	0.061 $\pm$ 0.025 ^{ab}	0.068 $\pm$ 0.015 ^{abc}	0.056 $\pm$ 0.025 ^{abc}
F 值	2.818	83.77	41.61
P 值	0.036	0.000	0.000

表 5 各组大鼠视网膜神经节细胞中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 mRNA 相对表达量

组 别	Bcl-2	Bax	Caspase-3
空白	1.128 $\pm$ 0.080	0.498 $\pm$ 0.010	0.569 $\pm$ 0.041
单纯模型	0.534 $\pm$ 0.201 ^a	1.364 $\pm$ 0.248 ^a	1.521 $\pm$ 0.036 ^a
阳性药物	0.804 $\pm$ 0.225 ^a	0.956 $\pm$ 0.402 ^a	1.022 $\pm$ 0.058 ^a
低剂量	1.024 $\pm$ 0.224 ^a	1.254 $\pm$ 0.341 ^a	1.436 $\pm$ 0.085 ^a
中剂量	0.945 $\pm$ 0.197 ^a	1.035 $\pm$ 0.252 ^a	1.235 $\pm$ 0.065 ^a
高剂量	0.736 $\pm$ 0.154 ^{abc}	0.864 $\pm$ 0.302 ^{abc}	1.025 $\pm$ 0.076 ^{ab}
F 值	17.77	17.62	358.6
P 值	0.000	0.000	0.000

3 讨论

绝大多数青光眼患者因眼压升高导致不可逆转致盲性眼病。研究^[7]报道,细胞凋亡参与青光眼神经节细胞丢失。其中视网膜神经节细胞损伤及小梁细胞凋亡在青光眼发病过程中所发挥的作用引起研究者的关注。在高眼压作用下视网膜神经节细胞染色体明显浓缩、靠边,胞质中有多个比核小而浓缩的小体(即凋亡小体),并有膜包绕。这种形态异常表明青光眼中视网膜神经节细胞发生凋亡。小梁网通常被认为在眼内压调节中起着关键作用,高眼压状态下,小梁细胞凋亡被激活,启动凋亡程序,通过多种途径打破 bcl2 家族的平衡,使 bax mRNA 表达量增加, bcl-2 mRNA 表达量减少,导致细胞凋亡发生率明显增加。

由于缺乏警惕性,导致早期青光眼的隐匿性高,许多患者初次确诊时就已难以根治、无法逆转^[8]。而在祖国医学中,将青光眼归于五风内障范畴,病因病机与机械性损伤、缺血性损伤及免疫损伤等相似,但关于其具体发病机制也无明确共识。

本研究中,我们初步探讨润燥明目汤对诱导大鼠高眼压模型的保护机制。动态监测眼压后发现,在造模后即刻,大鼠眼压显著升高,表明模型构造成功。用药后 8 周,单纯模型组、低剂量组、中剂量组眼压无明显差异,但高剂量组大鼠眼压显著降低,表明高剂量的润燥明目汤对缓解眼高压有一定的作用。经 HE 染色后观察视网膜形态发现,与空白组相比,单纯模型组大鼠的视网膜明显水肿,各层结构完整,可见空泡变性;润燥明目汤低剂量干预组及中剂量干预组大鼠的神经纤维层、细胞层水肿明显,结构紊乱;高剂量干预组的视网膜损伤程度明显减轻,视网膜水肿位置较为局限,外层组织水肿显著减轻,大部分结构已恢复。这表明,高剂量的润燥明目汤对受损的视网膜结构有一定的改善功能,可部分恢复视神经组织形态,这一结论与刘蓓等^[9]研究结果相一致。

SOD 是生物体内存在的一种抗氧化金属酶,它能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢,在机体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用^[10]。MDA 是氧自由基与脂质过氧化反应的终产物,其表达水平的高低可直接反映细胞氧

化损伤的程度^[11]。NO 则可通过产生神经毒作用诱导细胞凋亡^[12]。研究^[6]表明,银杏提取物抗氧化应激、清除自由基、保护线粒体等多种生物功能,还能有效保护高眼压模型的视神经细胞的凋亡。目前,银杏叶片已经作为临床用药。在本研究中,将银杏叶片作为阳性药物组,通过比色法检测后发现,与单纯模型组相比,各给药剂量组及阳性药物组的相关指标均存在显著差异,且与阳性药物组相比,高剂量干预组大鼠视网膜组织中 NO、Glu 水平呈显著下降($P<0.05$)。这一结果表明,一定剂量的润燥明目汤可有效抑制自由基氧化作用的同时,其中对 NO、Ca²⁺ 抑制作用强于银杏叶片组,该结论与胡瑾等^[13]研究结果相似。

Caspases 家族成员是存在于胞质溶胶中的半胱氨酸蛋白酶,可以选择性地对多种信号转导途径中的蛋白质进行高效切割,参与调节多种生物过程,如程序性细胞死亡,炎症,细胞分化、增殖和运动^[14]。BCL-2 蛋白位于细胞内膜如内质网和线粒体,一些家族成员在细胞死亡的刺激下从细胞质移位到线粒体^[15],参与调节细胞凋亡。在本研究中,通过 RT-PCR 检测发现,随着润燥明目汤干预剂量的升高,各组大鼠视网膜神经节细胞中的 Bcl-2 mRNA 相对表达量显著升高, Bax mRNA、Caspase-3 mRNA 的相对表达量明显下降,均呈现出剂量依赖性。而 Caspases 与细胞程序性死亡密切相关,当出现高眼压后,急性的缺血再灌注损伤会诱导大量视网膜神经元凋亡,作为细胞凋亡胞内信号的主要传递者, Caspases 表达量会明显上调。在本研究中,各干预组 Caspase-3 mRNA 及 Bax mRNA 的表达量明显下调,表明润燥明目汤可通过调节 Caspase-3/Bcl-2/Bax 信号通路活化发挥降低高眼压、保护视神经作用。

综上所述,润燥明目汤干预急性高眼压大鼠,对视神经有明显的保护作用,这可能与抑制 Caspase-3/Bcl-2/Bax 信号通路活性有关,为临床上治疗高眼压患者的视神经损伤提供实验依据,但具体的分子学机制有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Dang YL, Cen YJ, Hong Y, et al. Safety and efficiency of trabectome-mediated trabecular meshwork ablation for

- Chinese glaucoma patients: a two-year, retrospective, multicentre study[J]. *Chinese Med J (Engl)*, 2018, 131(4): 420-425.
- [2] Wu Y, Yu R J, Chen D, et al. Glaucoma in patients with eyes close to areas affected by port-wine stain has lateral and gender predilection[J]. *Chinese Med J (Engl)*, 2017, 130(24):2922-2926.
- [3] Liu S, Hong J, Lu X, et al. Joint Optic disc segmentation in fundus images using adversarial training[J]. *Comput Biol Med*, 2019, 13(2):375-381.
- [4] Oltulu P, Oltulu R. The association of cataract and lens epithelial cell apoptosis in patients with pseudoexfoliation syndrome[J]. *Curr Eye Res*, 2017, 43(5):1-4.
- [5] 曹旭, 赵静如, 许家骏, 等. 2016年美国眼科学会原发性闭角型青光眼临床指南的中西医治疗探索[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(8):456-459.
- [6] 赵璘, 刘立夏, 黄燕, 等. 枸杞多糖对高眼压大鼠视网膜神经节细胞的影响[J]. *中医眼耳鼻喉杂志*, 2012, 2(1): 24-26.
- [7] 云丽娜, 崔巍. 细胞凋亡与原发性青光眼[J]. *内蒙古医学杂志*, 2006, 38(3):248-250.
- [8] Cordeiro MF, Normando EM, Cardoso MJ, et al. Real-time imaging of single neuronal cell apoptosis in patients with glaucoma[J]. *Brain*, 2017, 140(6):1757-1767.
- [9] 刘蓓, 吕伯昌, 朱忠桥, 等. 葛根素对慢性高眼压模型大鼠视神经的保护作用[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2018, 32(6):104-109.
- [10] Canizales L, Rodriguez L, Rivera C, et al. Low-level expression of SOD1 in peripheral blood samples of patients diagnosed with primary open-angle glaucoma[J]. *Biomar Med*, 2016, 10(12):1218-1223.
- [11] Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, et al. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients [J]. *Am J Ophthalmol*, 2004, 137(1):62-69.
- [12] Rezkallah A, Kodjikian L, Malcl s A, et al. DEX implant intravitreal injection, sustained intraocular hypertension, and steroid-induced glaucoma in patients with no risk factors[J]. *Graefe Arch Clin Exp*, 2017, 256(1):219-220.
- [13] 胡瑾, 杨静, 张开云, 等. 枸杞多糖对大鼠视神经损伤的保护作用[J]. *宁夏医科大学学报*, 2017, 39(1):30-33.
- [14] Alqathama A, Gibbons S, Prieto JM. Differential modulation of Bax/Bcl-2 ratio and onset of caspase-3/7 activation induced by derivatives of Justicidin B in human melanoma cells A375[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(56):95999-96012.
- [15] Wan L, Zhang D, Zhang J, et al. TT-1, an analog of melittin, triggers apoptosis in human thyroid cancer TT cells via regulating caspase, Bcl-2 and Bax[J]. *Oncol Lett*, 2017, 15(1): 1271-1278.

Effect of Runzao Mingmu Decoction on Expression of Caspase-3, Bcl-2 and Bax in Retina and Its Tissue of Rats with Acute High Intraocular Pressure

WAN Yu, LI Zhanmei, HUANG Hai, HUANG Xuewen, HE Yilan

(Ophthalmology Department, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the possible mechanism of Runzao Mingmu Decoction in protecting optic nerve membrane cells in rats with acute high intraocular pressure. **Methods** Sixty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 6 groups. According to different treatment methods, they were divided into blank group, model group, positive drug group, Runzao Mingmu Decoction low dose group, medium dose group and high dose group. The changes of intraocular pressure and the expression of apoptosis-related factors in retinal tissue were detected and recorded in each group. **Results** (1) Immediately after modeling, there was no significant change in the blank group, and the intraocular pressure of the other groups was significantly increased ($P<0.05$). There was no significant difference in intraocular pressure between the model group, the low-dose group and the middle-dose group at 8 weeks after treatment ($P>0.05$), but the intraocular pressure of the high-dose group was significantly lower than that of the positive drug group ($P<0.05$). (2) The superoxide dismutase (SOD) level was the highest in the blank group, and the levels of malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), glutamic acid (Glu) and Ca^{2+} were the lowest ($P<0.05$). Compared with the simple model group, there were significant differences between the drug-administered dose group and the positive drug group ($P<0.05$). Compared with the positive drug group, the levels of NO and Glu in the retinal tissue of the high-dose intervention group were Gradually decreasing trend, the difference was statistically significant ($P<0.05$). (3) The average integral optical density of Bcl-2 in rat retinal ganglion cells increased gradually with the increase of treatment dose, but there was no significant difference ($P>0.05$), while the average integral optical density of Bax and Caspase-3 decreased gradually, showing a dose-dependent ($P<0.05$). (4) Compared with the simple model group, the relative expression of Bcl-2 mRNA in the retinal ganglion cells of each group increased gradually, and the relative expression of Bax mRNA and Caspase-3 mRNA decreased gradually, all of which showed a dose-dependent difference. Statistically significant ($P<0.05$); the expression of Bcl-2 mRNA and Bax mRNA in the optic nerve tissue of the high dose intervention group was better than that of the positive drug group ($P<0.05$). **Conclusion** Runzao Mingmu Decoction has obvious protective effect on optic nerve in rats with acute high intraocular pressure. The mechanism may be related to the inhibition of Caspase-3/Bcl-2/Bax signaling pathway activity.

[Key words] Runzao Mingmu Decoction; High intraocular pressure; Caspase-3; Bax; Bcl-2