

左旋多巴对豚鼠形觉剥夺性近视形成的影响

毛俊峰 刘双珍 秦文娟 李凤云 吴小影 谭 浅 夏朝华

The effects of levodopa on the development of form deprivation myopia in guinea pig

Mao Junfeng, Liu Shuangzhen, Qin Wenjuan, Li Fengyun, Wu Xiaoying, Tan Qian, Xia Zhaohua. Department of Ophthalmology, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China

Abstract Objective Some studies on myopia animal model showed that dopamine plays a regulative role in the pathogenesis and development of myopia, and its level in retina is obviously reduced in form deprived myopia and len-induced myopia eye. The present study was to investigate the effect of intraperitoneal levodopa (L-dopa) on ocular refractive state and retinal dopamine content in form deprivation myopia eye of guinea pig. **Methods** Form deprivation myopia in the right eyes of 50 guinea pigs was induced by translucent goggles. The guinea pigs were divided into 6 groups according to the different interfering way (10 rabbits for each group), including L-dopa group, saline group, deprivation group, deprivation plus L-dopa group, deprivation plus saline group, and 10 normal eyes worked as control. L-dopa (10 mg/kg) was injected into the abdominal cavity of guinea pig once per day. After 10 days of goggles occluding, the corneal radius of curvature, ocular refractive degree and axial length were measured by using keratometer, scotoscope and A-type sonogrape. The dopamine content in retina was detected by high performance liquid chromatography. **Results** After 10 days, the refractive statue showed the myopia and ocular axle was elongated in model eyes and the dopamine in retina was decreased in comparison with self-control eyes and normal control eyes ($P < 0.05$), but no significant change in corneal radius of curvature was found in model eyes. Repeated intraperitoneal injection of L-dopa could inhibit the myopic shift due to goggles occluding and compensate retinal dopamine ($P < 0.05$). After injection of L-dopa, the dopamine content in retina was (1.74 ± 0.55) ng in the unoccluding eyes, showing an insignificant increase in comparison with control eyes (1.62 ± 0.53) ng ($P > 0.05$). However, the dopamine level was significantly reduced in the model eyes compared with normal eyes ($P > 0.05$). The dopamine content in retina of form-deprived plus L-dopa injection group was significant higher than only form-deprived eyes ($P < 0.05$) but showed a decreasing tendency in comparison with normal control group ($P > 0.05$). **Conclusion** The intraperitoneal injection of L-dopa can effectively retard the myopic shift induced by form deprivation in guinea pigs through increasing retinal dopamine content.

Key words levodopa; form deprivation myopia; retina; dopamine

摘要 目的 研究腹腔注射左旋多巴(L-dopa)对豚鼠形觉剥夺性近视眼屈光状态及视网膜多巴胺含量的影响。**方法** 眼罩遮盖建立豚鼠形觉剥夺性近视眼模型,分为正常对照组、L-dopa组(10 mg/kg)、生理盐水组、遮盖组、遮盖+L-dopa组、遮盖+生理盐水组6个组。遮盖10 d后,测定角膜曲率半径、眼球屈光度和眼轴长度,高效液相色谱检测视网膜多巴胺含量。**结果** 眼罩遮盖10 d后,豚鼠遮盖眼眼轴延长、近视形成,视网膜多巴胺含量降低($P < 0.05$),但角膜曲率半径无明显变化。腹腔注射L-dopa引起遮盖眼视网膜多巴胺含量增加、近视程度减轻($P < 0.05$),但对正常豚鼠眼球的屈光发育无明显影响($P > 0.05$)。腹腔注射生理盐水后,豚鼠眼球屈光状态和视网膜多巴胺含量无明显变化($P > 0.05$)。**结论** 腹腔注射L-dopa能通过补充遮盖眼视网膜多巴胺含量,抑制豚鼠形觉剥夺性近视的形成。

关键词 左旋多巴;形觉剥夺性近视;视网膜;多巴胺

分类号 R 778.1¹ R 774.03 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)04-0257-04

弱视的有效药物^[1-2]。动物模型研究发现,视网膜多巴胺在近视眼的发生、发展中起重要调控作用,形觉剥夺和光学离焦性近视眼视网膜多巴胺含量均下降^[3-4]。祁明信等^[5]报道中学生近视眼患者血清多巴胺含量也降低。因此,我们研究了腹腔注射 L-dopa 对豚鼠眼球屈光状态及视网膜多巴胺含量的影响,探索一种治疗近视眼的新方法。

1 材料与方法

1.1 豚鼠近视眼模型制作及实验分组

4 周龄三色豚鼠 60 只(中南大学动物部提供),体重 180~220 g。以右眼为实验眼,分为正常对照组、L-dopa 组、生理盐水组、遮盖组、遮盖 + L-dopa 组、遮盖 + 生理盐水组 6 个组,每组 10 只。近视眼模型的建立参见文献[6-7]。

1.2 方法

1.2.1 给药方法 L-dopa 购于美国 Sigma 公司,使用前新鲜配制,溶于生理盐水,质量浓度为 10 mg/mL。自遮盖第 1 d 起,分别向 L-dopa 组和遮盖 + L-dopa 组豚鼠腹腔注射 L-dopa 溶液(10 mg/kg)、向生理盐水组和遮盖 + 生理盐水组豚鼠每日 10:00 腹腔注射相应体积的生理盐水,每日 1 次,连续 10 d。

1.2.2 测定眼球屈光状态

遮盖 10 d 后 0.3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉,角膜曲率计测量角膜曲率半径,托吡卡胺散瞳检影验光测眼球屈光度, A 型超声测量眼轴长度(精确到 0.01 mm),测 3 次,取其平均值。

1.2.3 高效液相色谱 - 电化学法测定视网膜多巴胺含量

遮盖 10 d 后,腹腔注射过量戊巴比妥钠处死豚鼠,立即摘除眼球,冰上去除眼前节组织,分离出视网膜,称重,液氮冷冻保存,用于高效液相色谱测定。

测定条件: Hypersil ODS2 色谱柱(5 μm, 250 mm × 4.6 mm),流动相为 20 mmol/L 柠檬酸三钠(含 5 mmol/L 庚烷磺酸和 0.1 mmol/L EDTA, pH 3.7): 甲醇(90:7, 体积比),流速 1.0 mL/min,柱温箱温度 35 ℃,电化学检测器工作电压 750 mV,进样量 20 μL。计算每毫克视网膜内多巴胺的含量(ng)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 11.0 统计学软件进行处理,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组数据经 Levene 检验方差齐,不同组豚鼠角膜曲率半径、眼球屈光度、眼轴长度及视网膜多巴胺含量的比较均采用单因素方差分析,组间的多重比较采用 SNK-q 检验。左眼和右眼间的测试指标比较采用配对 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 豚鼠眼球屈光状态的变化

遮盖 10 d 后正常对照组豚鼠眼球处于轻度远视状态,右眼和左眼的角膜曲率半径、屈光度和眼轴长度比较,差异均无统计学意义(P > 0.05); L-dopa 组眼球的屈光状态无明显影响,其角膜曲率半径、屈光度和眼轴长度分别与正常对照组、生理盐水组比较,差异均无统计学意义(P > 0.05)(表 1)。遮盖组近视形成(-3.62 ± 0.98)D、眼轴延长,与自身对照眼(左眼)、正常对照组比较差异均有统计学意义(P < 0.05),角膜曲率半径差异无统计学意义(P > 0.05);遮盖 + L-dopa 组近视程度减轻,其屈光度和眼轴长度分别与自身对照眼(左眼)、正常对照组和遮盖组比较,差异均有统计学意义(P < 0.05);而遮盖 + 生理盐水组屈光状态无明显影响(表 1)。

表 1 豚鼠角膜曲率、眼球屈光度、眼轴长度和视网膜多巴胺含量的变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Change of corneal curvature, ocular refraction, axial length and retinal dopamine in guinea pig ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Group	Curvature radius (mm)		Refraction (D)		Axial length (mm)		Retinal dopamine (ng)	
	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left
Normal	3.58 ± 0.02	3.58 ± 0.03	+0.82 ± 0.26	+0.83 ± 0.25	8.27 ± 0.04	8.26 ± 0.03	1.62 ± 0.53	1.63 ± 0.60
L-dopa	3.57 ± 0.03	3.58 ± 0.03	+0.85 ± 0.21	+0.82 ± 0.30	8.25 ± 0.02	8.26 ± 0.03	1.74 ± 0.55	1.75 ± 0.58
Saline	3.59 ± 0.02	3.58 ± 0.04	+0.86 ± 0.29	+0.85 ± 0.20	8.25 ± 0.03	8.25 ± 0.04	1.65 ± 0.50	1.61 ± 0.49
Deprivation	3.59 ± 0.03	3.57 ± 0.02	-3.62 ± 0.98 ^{beh}	+0.84 ± 0.23	8.42 ± 0.06 ^{beh}	8.26 ± 0.03	0.65 ± 0.10 ^{beh}	1.55 ± 0.50
Deprivation + L-dopa	3.58 ± 0.04	3.58 ± 0.01	-1.50 ± 0.38 ^{bc}	+0.89 ± 0.20	8.33 ± 0.04 ^{bc}	8.24 ± 0.02	1.33 ± 0.23	1.63 ± 0.61
Deprivation + saline	3.57 ± 0.03	3.59 ± 0.03	-3.45 ± 0.95 ^{beh}	+0.87 ± 0.26	8.41 ± 0.05 ^{beh}	8.25 ± 0.03	0.64 ± 0.13 ^{beh}	1.56 ± 0.59
F	0.467	0.618	12.391	0.259	6.893	1.013	7.154	0.462
P	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	<0.01	>0.05	<0.01	>0.05

^bP < 0.05 vs left eye; ^{*}P < 0.05 vs normal control; ^bP < 0.05 vs deprivation + L-dopa group (ANOVA, SNK-q test, Paired t test)

2.2 豚鼠视网膜多巴胺含量的变化

正常对照组豚鼠右眼每毫克视网膜中多巴胺的含量是(1.62 ± 0.53) ng,与左眼比较差异无统计学意义(P > 0.05); L-dopa 组豚鼠视网膜多巴胺含量有轻微上升趋势,但与正常对照组、生理盐水组比较,差异均无统计学意义(P > 0.05)。遮盖组视网膜多巴胺含量降低,与自身对照眼(左眼)、正常对照组比较差异均

有统计学意义 ($P < 0.05$); 遮盖 + L-dopa 组视网膜多巴胺含量增加, 与遮盖组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与自身对照眼 (左眼)、正常对照组比较, 遮盖 + L-dopa 组遮盖眼视网膜多巴胺含量仍有降低趋势, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 遮盖 + 生理盐水组视网膜多巴胺含量无影响 (表 1)。

3 讨论

近视眼是目前世界上发病率最高的眼病之一, 其患病率还有不断上升趋势, 学龄儿童的发病率明显升高, 在我国尤为明显。2000 年我国近视眼患病率统计结果表明, 小学生为 30.04%, 初中生为 41.81%, 高中生为 60.28%^[8]。且高度近视眼随着眼轴的进行性延长, 视网膜及脉络膜发生退行性改变, 并由此引起一系列并发症, 如视网膜脱离、黄斑出血等, 严重时可致盲。因此, 基于近视眼发病机制的药物治疗, 成为目前眼科领域的研究热点。

多巴胺属儿茶酚胺类, 是视网膜的主要神经递质之一, 由无长突细胞和网间细胞合成, 参与视觉系统的信号传递和调控过程。视网膜多巴胺的合成、释放具有光依赖性, 受光照强度、时间的影响。形觉剥夺和光学离焦均能诱导视网膜多巴胺合成减少、含量下降, 进而导致眼轴延长、近视眼形成^[3-4]。Weiss 等^[9]发现视网膜多巴胺含量有昼夜节律变化, 夜间降低, 形觉剥夺主要引起白天视网膜多巴胺含量下降 30% 左右。在眼球组织中, 视网膜多巴胺的含量最高, 玻璃体、脉络膜和巩膜多巴胺含量分别是视网膜的 1/10、1/3 和 1/20, 形觉剥夺能诱导视网膜、玻璃体多巴胺含量下降, 但对脉络膜、巩膜无影响^[10]。我们的前期研究发现视网膜 Müller 细胞是多巴胺的来源之一, 且其合成量受形觉剥夺的影响^[7]。视网膜多巴胺不但参与眼罩遮盖诱导的形觉剥夺性近视眼形成, 还参与去除遮盖对近视眼的抑制过程^[11]。肖林等^[12]报道形觉剥夺尚能诱导鸡眼视网膜多巴胺的 D_1 受体和 D_2 受体数量增多。玻璃体内注射多巴胺^[13] 或多巴胺受体激动剂^[14-15] 均能有效抑制形觉剥夺和光学离焦诱导的近视眼形成, 也是视网膜多巴胺系统参与近视眼形成的一个重要依据。祁明信等^[5] 用高效液相色谱检测发现中学生近视眼患者血清中多巴胺含量下降, 表明他们体内存在多巴胺代谢失衡, 可能与学习紧张、持续心理压力造成的恶性应激反应有关。因此, 本研究从补充多巴胺着手来寻找治疗近视眼的有效药物。

L-dopa 是多巴胺的前体物质, 经过脱羧反应后转化为多巴胺, 这种多巴胺能够刺激体内多巴胺的所有

亚型受体, 产生相应的生理功能。目前, L-dopa 在临床上应用广泛。以 L-dopa 为代表的多巴胺替代疗法是目前治疗帕金森病的主要手段^[1]。L-dopa 也已应用于小儿弱视的临床治疗, 弱视患者口服 L-dopa 能够提高视觉系统多巴胺的含量, 激活视觉通道细胞及其神经纤维, 减少神经中枢对弱视眼的抑制, 从而提高弱视的治疗效果^[2]。本实验发现, 眼罩遮盖 10 d 能有效诱导豚鼠近视眼形成, 主要是眼轴延长所致, 同时视网膜多巴胺含量降低。每日腹腔注射小剂量 L-dopa (10 mg/kg) 对遮盖诱导的豚鼠近视眼有明显抑制作用, 这与 L-dopa 能够转化为多巴胺, 进而补充遮盖眼视网膜多巴胺含量有关, 也说明视网膜多巴胺系统在豚鼠形觉剥夺性近视眼的发生、发展过程中起重要作用。但是腹腔注射 L-dopa 并不能完全抑制豚鼠近视眼形成, 表明豚鼠近视眼的形成是一个多因素、多因子参与的复杂过程, 视网膜多巴胺仅是其中的一个重要因子。正常豚鼠腹腔注射 L-dopa 后, 其眼球屈光度、眼轴长度和角膜曲率半径均无明显变化, 表明腹腔注射 L-dopa 不影响豚鼠眼球的正常屈光发育过程。

总之, 眼罩遮盖 10 d 能诱导豚鼠近视眼形成, 其视网膜多巴胺含量降低; 腹腔注射 L-dopa 能够通过增加遮盖眼视网膜多巴胺含量, 有效抑制豚鼠近视眼形成, 为近视眼的药物治疗提供一条新思路。

参考文献

- 1 The Parkinson Study Group. Levodopa and the progression of Parkinson's disease [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351: 2498 - 2508
- 2 吴小影, 刘双珍, 徐和平. 左旋多巴联合卡比多巴治疗儿童弱视远期疗效 [J]. *中国实用眼科杂志*, 2000, 18(6): 374 - 376
- 3 Stone RA, Pendrak K, Sugimoto R, et al. Local patterns of image degradation differentially affect refraction and eye shape in chick [J]. *Curr Eye Res*, 2006, 31(1): 91 - 105
- 4 Guo SS, Sivak JG, Callender MG, et al. Retinal dopamine and lens-induced refractive errors in chicks [J]. *Curr Eye Res*, 1995, 14(5): 385 - 389
- 5 祁明信, 陈胜, 黄秀榕, 等. 近视眼患者血清多巴胺含量测定 [J]. *眼科研究*, 2003, 21(3): 316 - 317
- 6 毛俊峰, 刘双珍, 秦文娟, 等. 视网膜 Müller 细胞调控豚鼠形觉剥夺性近视形成的研究 [J]. *眼科研究*, 2008, 26(12): 881 - 884
- 7 毛俊峰, 刘双珍, 秦文娟, 等. 豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞中 $TGF\beta_2$ 、VIP、DA 的表达 [J]. *眼科研究*, 2008, 26(11): 801 - 804
- 8 汪芳润. 近视眼研究的现状与问题 [J]. *中华眼科杂志*, 2003, 39(6): 381 - 384
- 9 Weiss S, Schaeffel F. Diurnal growth rhythms in the chicken eye: relation to myopia development and retinal dopamine levels [J]. *J Comp Physiol*, 1993, 172(3): 263 - 270
- 10 Ohngemach S, Hagel G, Schaeffel F. Concentrations of biogenic amines in fundal layers in chickens with normal visual experience, deprivation, and after reserpine application [J]. *Vis Neurosci*, 1997, 14(3): 493 - 505
- 11 McCarthy CS, Megaw P, Devadas M, et al. Dopaminergic agents affect the ability of brief periods of normal vision to prevent form-deprivation myopia [J]. *Exp Eye Res*, 2007, 84: 100 - 107
- 12 肖林, 刘鼎新, 陈瑞英, 等. 近视与视网膜多巴胺受体放射自显影研究 [J]. *眼视光学杂志*, 1999, 1(2): 80 - 82

13 Gao Q, Liu Q, Ma P, et al. Effects of direct intravitreal dopamine injections on the development of lid-suture induced myopia in rabbits [J]. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol, 2006, 244(10): 1329 - 1335

14 Ashby R, McCarthy CS, Maleszka R, et al. A muscarinic cholinergic antagonist and a dopamine agonist rapidly increase ZENK mRNA expression in the form-deprived chicken retina [J]. Exp Eye Res, 2007, 85(1): 15 - 22

15 Schmid KL, Wildsoet CF. Inhibitory effects of apomorphine and atropine

and their combination on myopia in chicks [J]. Optom Vis Sci, 2004, 81(2): 137 - 147

(收稿: 2008-11-05 修回: 2009-02-18)

(本文编辑: 王莉红)

· 临床经验 ·

19 例角膜皮样瘤的临床分析

刘水中 姚 毅 周欢粉

角膜皮样瘤是胚胎状态时胚裂闭合过程中表皮及其附件嵌入组织所形成的先天性眼病^[1]。对本院 2001 ~ 2007 年收治的 19 例(19 眼)角膜皮样瘤患者进行回顾性分析, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 角膜皮样瘤患者 19 例(19 眼), 其中男 9 例, 女 10 例; 年龄 1 ~ 32 岁, 平均 11.6 岁; ≤6 岁者 10 例, >6 岁者 9 例; 右眼 7 例, 左眼 12 例。患者均于出生后被发现眼球颞下方球形或卵圆形肿物, 呈黄白色或粉红色, 边缘清楚, 2/3 位于角膜缘内, 1/3 在巩膜上。肿物 <4 mm 者 9 例, 4 ~ 8 mm 者 10 例。8 例肿瘤伴毛发生长, 6 例有新生血管长入。

1.2 治疗方法 19 例患者均进行显微手术。12 例采用全身麻醉, 7 例局部浸润麻醉。9 例单纯行皮样瘤切除术; 1 例行皮样瘤切除 + 结膜遮盖术; 1 例行皮样瘤切除 + 羊膜移植术; 8 例行皮样瘤切除 + 角膜板层移植术。1 例植片为甘油保存的尸体角膜, 余为新鲜的异体角膜, 缝合固定于手术剖切的植床, 移植的角膜缘与受体结膜创缘共同缝合固定于巩膜。术后局部使用糖皮质激素抗生素滴眼液及人工泪液点眼, 金霉素眼膏睡前涂入结膜囊, 全身应用广谱抗生素预防感染。

2 结果

术后无葡萄肿形成, 18 例患者临床治愈。8 例行板层角膜移植术患者中 6 例移植的异体角膜及角膜缘贴附良好, 透明, 2 例出现新生血管, 植片水肿, 经抗排斥反应治疗后痊愈, 所有患者恢复正常眼表及外观。术前视力的平均值为 4.49 ± 0.28, 术后随访时视力平均值为 4.53 ± 0.24, 术前、术后视力比较差异无统计学意义 ($t = 1.99, P > 0.05$)。所有患者随访 6 个月 ~ 5 年。1 例术后 7 个月复发, 行二次手术彻底切除肿瘤 + 板层角膜移植术, 随访 6 年无复发。

3 讨论

角膜皮样瘤是先天性跨角膜缘部的纤维脂肪瘤, 是早期发育异常而引起视神经环与体表外胚层间的中胚叶组织变形转化的结果, 多数病例有遗传性。病理学特点为肿瘤由增厚的皮样组织构成, 其内含毛发、皮脂腺、汗腺、脂肪、血管及肌纤维等成分^[2]。瘤体环绕角膜缘 1 周者称环形皮样瘤。

约 30% 的角膜皮样瘤患者伴其他的先天异常。角膜皮样瘤合并耳前附件、耳屏前瘻管以及脊柱异常和半侧面部萎缩, 称为 Goldenhar 综合征, 是一种少见的多发畸形, 也称为眼、耳、脊柱发育不良。其病因不明确, 可能为常染色体显性遗传^[3]。本组有 1 例 Goldenhar 综合征, 伴左侧小附耳。双侧角膜缘皮样瘤或皮样脂肪瘤伴双侧性耳前瘻管或有耳赘及脊柱发育畸形的儿童患者称 Treacher-Collin 综合征 (TCS), 是一种累及颅面部发育的常染色体显性遗传病, 又称下颌面骨发育不全^[4]。多处颅面发育畸形的患者, 首诊时要考虑到 TCS 的可能。角膜缘皮样瘤和/或皮样脂肪瘤伴有带状皮肤痣及中枢神经发育不全、功能失调及咽部狭小, 全身淋巴结肿大, 滤泡性结膜炎和身体、心理发育受阻等称 Dermoid and neurocutaneous 综合征。

手术方式取决于角膜受累程度: 边缘部或角膜浅层受累行单纯切除; 角膜基质大部分受累应用联合板层角膜移植术; 眼表和虹膜色素上皮间所有组织受累行穿透角膜移植术^[5]。术后主要观察视力、散光度、美容效果及并发症。本组患者手术前后患眼视力改善差异无统计学意义, 与之前的研究结果不同。可能由于病灶绝大部分未遮盖瞳孔区, 未影响视力发育。

1 例 31 岁患者瘤体积 6.5 mm 复发, 角膜表面大量新生血管, 肿瘤角膜侧有变性区, 术中发现瘤体与角膜交界处有大量血管组织, 缝合植片为甘油保存的尸体角膜。具体复发原因有待进一步研究。

参考文献

1 Sharma A, Sukhija J, Das A, et al. Large pedunculated congenital corneal dermoid in association with eyelid coloboma [J]. J Pediatr Ophthalmol Strabismus, 2004, 41(1): 53 - 55

2 李恩江, 林锦镛. 实用眼科病理学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997: 159

3 D' Hermies F, Saragoussi J, Meyer A, et al. Limbal dermoid and Goldenhar syndrome. Report of an anatomoclinical study [J]. J Fr Ophthalmol, 2001, 24(8): 893 - 896

4 Mukhopadhyay P, Mukherjee P, Adhikary M. Problems in the anesthetic management of Pierre Robin and Treacher Collin Syndromes [J]. Indian Pediatr, 1992, 29: 1170 - 1172

5 Shen YD, Chen WL, Wang IJ, et al. Full-thickness central corneal grafts in lamellar keratoscleroplasty to treat limbal dermoids [J]. Ophthalmology, 2005, 112(11): 1955 - 1959

作者单位: 100853 北京, 解放军总医院眼科 (刘水中, 进修医师, 现在齐齐哈尔医学院第二附属医院眼科 161006)
 通讯作者: 姚毅 (Email: yaoyi301@yahoo.com.cn)

(收稿: 2008-10-31)

(本文编辑: 王莉红)