

NGF 联合甲钴胺对青光眼视神经的保护作用及对 MMP-2、TIMP-2 的影响

李 莉

作者单位:(065700)中国河北省廊坊市第四人民医院眼科
作者简介:李莉,毕业于河北北方学院,本科,主治医师,研究方向:眼科临床与基础研究。
通讯作者:李莉. bzlili1976@163.com
收稿日期:2018-07-13 修回日期:2018-11-06

Protective effect of nerve growth factor combined with mecobalamine on optic nerve and influence on MMP-2 and TIMP-2

Li Li

Department of Ophthalmology, Fourth People's Hospital of Langfang City, Langfang 065700, Hebei Province, China

Correspondence to: Li Li. Department of Ophthalmology, Fourth People's Hospital of Langfang City, Langfang 065700, Hebei Province, China. bzlili1976@163.com

Received:2018-07-13 Accepted:2018-11-06

Abstract

• AIM: To investigate the protective effect of nerve growth factor (NGF) combined with mecobalamine on optic nerve and the influence on matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2).

• METHODS: Totally 54 patients (73 eyes) with acute angle closure glaucoma undergoing trabeculectomy was included in the study, and the patients were divided into the control group (30 cases, 35 eyes) and combination group (24 cases, 38 eyes) according to the digital table method. The patients in the control group were treated with mecobalamine, and the patients in combination group were treated with NGF combined with mecobalamine. Visual acuity, intraocular pressure, mean light sensitivity (MS), visual field mean defect (MD), retinal nerve fibre layer (RNFL) thickness, the nipple cup/disc ratio, P100 wave incubation period and amplitude of P100 wave, neuron-specific enolase (NSE), nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), metalloproteinases tissue inhibiting factor-2 (TIMP-2) before and after treatment were observed in the two groups. The adverse reactions during medication were supervised.

• RESULTS: Compared with those before treatment, visual acuity, MS, and P100 wave amplitudes increased, MD and P100 wave latency decreased ($P < 0.05$) after

treatment, the change ranges in combination group were greater than those in control group ($P < 0.05$). There was no significant change in intraocular pressure, RNFL, the nipple cup/disc ratio before and after treatment in the two groups ($P > 0.05$). Compared with those before treatment, serum NO, NOS, MMP-2 levels in the two groups increased, and the levels of NSE, TIMP-2, TIMP-2/MMP-2 decreased ($P < 0.05$), but the change degrees in combination group were greater than those in control group ($P < 0.05$).

• CONCLUSION: NGF combined with mecobalamine can improve postoperative visual function of glaucoma, which has certain regulatory effects on MMP-2 and TIMP-2.

• KEYWORDS: nerve growth factor; mecobalamine; glaucoma; optic nerve; matrix metalloproteinase-2, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2

Citation: Li L. Protective effect of nerve growth factor combined with mecobalamine on optic nerve and influence on MMP-2 and TIMP-2. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018; 18 (12): 2195-2198

摘要

目的:探讨神经生长因子(nerve growth factor,NGF)联合甲钴胺对青光眼术后视神经的保护作用及对基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2,MMP-2)、金属蛋白酶组织抑制因子-2(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2,TIMP-2)的影响。

方法:选取行小梁切除术治疗的急性闭角型青光眼患者54例73眼。按照数字列表法随机分为对照组(30例35眼)与联合组(24例38眼)。对照组术后应用甲钴胺治疗,联合组术后应用NGF和甲钴胺联合治疗。观察两组患者术后用药前后视力、眼压、平均视敏度(mean light sensitivity,MS)、平均缺损(mean visual field defect,MD)、视神经纤维层(retinal nerve fibre layer,RNFL)厚度、视乳头杯/盘比、P100波潜伏期、P100波振幅、神经特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase,NSE)、一氧化氮(nitric oxide,NO)、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase,NOS)活性、MMP-2和TIMP-2的情况。监测用药期间不良反应。结果:与用药前比较,两组患者用药后视力、MS、P100波振幅明显提高,MD、P100波潜伏期明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),但联合组的变化幅度明显大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者用药前后眼压、RNFL、视乳头杯/盘比无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组患者用药后NO、NOS、MMP-2水平升高,NSE、TIMP-2、TIMP-2/MMP-2下降,差异有统计学意义

义($P<0.05$),但联合组的变化程度大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论:NGF联合甲钴胺能有效改善青光眼术后视功能,对MMP-2、TIMP-2有一定的调节作用。

关键词:神经生长因子;甲钴胺;青光眼;视神经;基质金属蛋白酶-2;金属蛋白酶组织抑制因子-2

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.12.17

引用:李莉. NGF联合甲钴胺对青光眼视神经的保护作用及对MMP-2、TIMP-2的影响. 国际眼科杂志 2018;18(12):2195-2198

0 引言

青光眼是以眼压增高为特征的眼科疾病,持续高血压可引起眼部组织和视功能的严重受损,如不及时实施有效治疗,常导致视野完全丧失,甚至失明。临床上常采用手术控制眼压,但难以达到术后视神经的远期保护效果^[1]。甲钴胺是一种内源性的辅酶B₁₂,参与同型半胱氨酸合成蛋氨酸的转甲基反应,在神经细胞内核酸和蛋白质合成过程中发挥重要作用^[2];而神经生长因子(nerve growth factor,NGF)是能刺激神经元分化和突触形成的重要生物活性蛋白分子,有利于神经系统损伤后的修复,是一种有前景的视神经保护药物^[3]。本研究拟评价NGF联合甲钴胺对青光眼术后视神经的保护作用及对基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2,MMP-2)、金属蛋白酶组织抑制因子-2(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2,TIMP-2)水平的影响。

1 对象和方法

1.1 对象 选取2015-10/2018-05在廊坊市第四人民医院眼科行小梁切除术治疗的急性闭角型青光眼患者54例73眼。使用2种以上抗青光眼药物后眼压仍超过40mmHg,发作时间<2h,均为首次发作。其中男20例26眼,女34例47眼;年龄39~76(平均56.8±21.3)岁。按照入院顺序和数字列表法随机分为对照组(术后应用甲钴胺治疗)和联合组(术后应用NGF和甲钴胺联合治疗)。其中对照组30例35眼,男13例16眼,女17例19眼,平均年龄55.9±20.6岁,术前眼压为43.5±2.6mmHg;联合组24例38眼,男10例13眼,女14例25眼,平均年龄57.3±22.8岁,术前眼压为44.1±3.5mmHg。两组在性别、患眼比例及平均年龄方面,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。排除标准:(1)此前做过眼部手术的患者;(2)术后眼压不稳定或出现严重并发症的患者;(3)依从性差、不能按时随访和治疗的患者的患者;(4)对甲钴胺、NGF等过敏或禁忌的患者。本研究经医院伦理委员会批准,经患者或其家属知情同意。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 两组患者降眼压治疗2d后行常规小梁切除术。对照组术后实施甲钴胺治疗:口服甲钴胺糖衣片0.5mg,3次/d,连续服用1mo。NGF组在对照组基础上加用注射用鼠神经生长因子(30μg/瓶)治疗:以2mL注射用生理盐水溶解后,臀大肌肌肉注射,30μg/次,1次/d,疗程为1mo。

1.2.2 观察指标

1.2.2.1 视神经功能相关指标 观察两组患者术后用药

前后视力、眼压、视野、视觉诱发电位(visual evoked potential,VEP)等指标。采用标准化LogMAR视力表检测患侧眼的裸眼视力。视野包括平均光敏度(mean light sensitivity,MS)与平均缺损(mean visual field defect,MD),采用Octopus101自动视野计定量检测。VEP包括P100波潜伏期和P100波振幅,采用M-800E视觉诱发电位仪检测。以光学相干断层成像(optical coherence tomography,OCT)检测视杯盘和视神经纤维层(retinal nerve fibre layer,RNFL)厚度。

1.2.2.2 血清NSE、NO、NOS、MMP-2和TIMP-2水平 术后用药前后分别抽取两组患者静脉血5mL,以3500r/min离心8min,分离血清置于-40℃低温冰箱待检。采用酶联免疫吸附测定法检测血清神经特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase,NSE)活性,检测试剂盒由瑞士Roche公司提供;应用硝酸还原酶法检测一氧化氮(nitric oxide,NO)血清含量及一氧化氮合酶(nitric oxide synthase,NOS)活性,检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。采用酶联免疫吸附法测定血清MMP-2和TIMP-2水平,检测试剂盒由美国R&D公司提供。

1.2.2.3 用药不良反应 观察两组患者用药期间眼部不良反应情况。

统计学分析:采用SPSS19.0统计学软件对数据进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组内比较采用配对样本 t 检验,组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料的组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者用药前后视功能相关指标比较 两组患者用药前视力、眼压、MS、MD、P100波潜伏期和振幅差异无统计学意义($P>0.05$),用药后视力、MS、P100波振幅明显提高,MD、P100波潜伏期明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$),但联合组的改善情况优于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组患者用药前后眼压、RNFL、视乳头杯/盘比无明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$,表1)。

2.2 两组患者用药前后NSE、NO、NOS水平比较 两组患者用药前NSE、NO、NOS水平差异无统计学意义($P>0.05$),两组患者用药后NSE下降,NO和NOS升高,差异有统计学意义($P<0.05$),但联合组改善幅度高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$,表2)。

2.3 两组患者用药前后MMP-2、TIMP-2和TIMP-2/MMP-2的比较 两组患者用药前MMP-2、TIMP-2、TIMP-2/MMP-2差异无统计学意义($P>0.05$),两组患者用药后MMP-2水平明显升高,TIMP-2和TIMP-2/MMP-2明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$),但联合组的变化程度大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$,表3)。

2.4 NGF眼部用药的安全性 两组患者眼部用药后均未出现刺激症状、过敏等不良反应,眼前节和眼底检查均未见明显炎症改变。

3 讨论

原发性闭角型青光眼是一种常见的致盲性眼病,临床上多以降低眼压为主要治疗手段,对于临床早期和急性发作的患者多行激光周边虹膜切除术;而对于房角已大部分关闭伴广泛粘连、小梁网功能严重损害的患者,则应行小

表 1 两组患者用药前后视功能相关指标比较

 $\bar{x} \pm s$

组别	视力(LogMAR)		眼压(mmHg)		MS(dB)		MD(dB)	
	用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后
联合组	0.75±0.16	0.29±0.09 ^a	13.62±3.46	12.83±3.35	14.86±2.43	18.37±3.18 ^a	7.35±0.44	4.56±0.37 ^a
对照组	0.77±0.18	0.38±0.10	13.70±3.49	13.16±3.29	15.19±2.60	17.01±3.03	6.98±0.46	5.33±0.40
<i>t</i>	0.306	2.694	0.056	1.563	0.762	3.846	0.387	3.103
<i>P</i>	0.760	0.009	0.930	0.136	0.340	0.035	0.723	0.040

组别	RNFL(μm)		视乳头杯/盘比		P100波潜伏期(ms)		P100波振幅(μV)	
	用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后
联合组	85.3±8.1	81.3±6.7	0.41±0.06	0.45±0.07	119.35±12.69	82.63±9.15 ^a	5.84±1.08	7.97±1.45 ^a
对照组	84.9±7.7	76.2±7.0	0.42±0.05	0.44±0.05	116.83±12.07	95.50±10.43	5.90±1.22	6.44±1.39
<i>t</i>	0.362	3.637	0.237	0.209	0.414	3.564	0.310	2.908
<i>P</i>	0.739	0.057	0.820	0.862	0.560	0.039	0.796	0.041

注:对照组:术后应用甲钴胺治疗;联合组:术后应用 NGF 和甲钴胺联合治疗;^a*P*<0.05 vs 对照组用药后。

表 2 两组患者用药前后 NSE、NO、NOS 水平比较

 $\bar{x} \pm s$

组别	眼数	NSE(U/mL)		NO(μmol/L)		NOS(U/mL)	
		用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后
联合组	38	23.07±6.87	11.43±3.54 ^a	44.8±9.1	62.9±5.8 ^a	29.3±6.1	40.7±4.3 ^a
对照组	35	22.60±6.35	16.30±4.63	45.3±8.3	51.5±7.3	30.4±5.9	35.5±4.8
<i>t</i>		0.390	5.692	0.408	4.935	0.345	3.691
<i>P</i>		0.694	<0.001	0.670	0.001	0.771	0.036

注:对照组:术后应用甲钴胺治疗;联合组:术后应用 NGF 和甲钴胺联合治疗;^a*P*<0.05 vs 对照组用药后。

表 3 两组患者用药前后 MMP-2、TIMP-2 和 TIMP-2/MMP-2 比较

 $\bar{x} \pm s$

组别	眼数	MMP-2(μg/L)		TIMP-2(μg/L)		TIMP-2/MMP-2	
		用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后
联合组	38	326.73±46.62	387.50±39.37 ^a	241.20±44.65	205.31±46.53 ^a	0.74±0.09	0.53±0.06 ^a
对照组	35	323.48±46.83	345.19±33.56	246.15±43.40	229.30±48.01	0.76±0.08	0.66±0.06
<i>t</i>		0.194	3.684	0.203	2.009	0.789	3.956
<i>P</i>		0.861	0.037	0.837	0.048	0.331	0.033

注:对照组:术后应用甲钴胺治疗;联合组:术后应用 NGF 和甲钴胺联合治疗;^a*P*<0.05 vs 对照组用药后。

梁切除术^[4]。但文献显示,眼压已得到控制的患者也常会出现视神经萎缩、视野缺损等^[5]。因此,对于青光眼的治疗,降低眼压和保护视神经具有同等重要的地位。

有研究表明,小梁切除手术后实施有效的视神经保护可明显提高晚期青光眼的治疗效果^[6]。甲钴胺在脑神经胸腺嘧啶核苷的合成过程中发挥重要作用,能促进轴突运输功能和轴突再生;还可提高神经纤维的兴奋性,加速突触传递,使脑内乙酰胆碱水平得以恢复。而 NGF 能与效应细胞上的特异性受体结合,启动信号传导通路,参与效应细胞结构蛋白和稳定性的调节,诱导和增加结构蛋白及功能蛋白的合成,调控效应细胞蛋白质磷酸化和基质表达,从而促进轴突再生而起到保护和修复神经元的作用。基础研究^[7]显示 NGF 对因机械损伤、缺血或高血压引起的视神经损伤具有一定的治疗作用。目前已有研究证实,NGF 对于缺血性视神经病变具有确切的疗效^[8],而对于闭角型青光眼也疗效显著^[9-10]。本研究显示,青光眼术后 NGF 联合甲钴胺应用后,患者视力、MS、P100 波振幅明显提高,MD、P100 波潜伏期明显下降(*P*<0.05),改善幅度明显大于对照组(*P*<0.05)。这可能与 NGF 的以下机制有关:(1)促进轴突定向再生,促

进髓鞘形成,重建靶器官的功能环路;(2)加快神经细胞的新陈代谢,促进核酸和蛋白质的合成,为受损神经细胞的修复奠定物质基础;(3)增强神经细胞和神经胶质细胞对兴奋性氨基酸的摄取、释放和生成,缓冲其浓度异常引起的神经毒性等。

NSE 是糖酵解途径中的关键酶之一,广泛存在于神经组织中,当神经细胞受损后,细胞膜完整性破坏,NSE 释放入血,血清中浓度升高。本研究中联合组用药后水平显著低于对照组,这可能是由于 NGF 能与体内效应细胞受体结合,通过第二信使传导启动一系列级联反应,发挥对靶细胞的保护作用,从而使血清中 NSE 水平降低^[11]。NO 是内皮细胞分泌的一种神经递质,参与视神经血流灌注和视觉传导的调节,可致神经毒性受体失活,具有保护视网膜节细胞的作用^[12],而 NOS 具有增强体内 NO 循环机制作用,是调节 NO 生成的关键环节。本研究中联合组用药后 NO 和 NOS 水平明显升高,分析 NGF 对视神经的保护作用可能与青光眼患者 NO 和 NOS 的调节机制有关。青光眼眼压升高主要是由于前房角小梁网病变致房水通过阻力增大引起,小梁网内皮细胞外基质(ECM)异常堆积是导致房水流出阻力增加的重要因素。而 MMP-2 是蛋白

水解酶家族的重要成员,具有降解 ECM 的能力,能够分解细胞外基质引起小梁网晒孔样改变^[13]。TIMP-2 是 MMP-2 的天然组织抑制物,能够拮抗 TIMP-2 对 ECM 的降解作用,MMP-2 水平升高及 TIMP-2/MMP-2 系统失衡与青光眼的发生发展有一定的关系^[14]。近年已有研究将 MMP-2 及 TIMP-2/MMP-2 系统用于青光眼的治疗效果评价。有研究通过应用脑蛋白水解物降低原发性青光眼患者 TIMP-2 水平来改善视神经功能^[15];另有研究结果显示,青光眼小梁切除术后 3d 患者滤过区 MMP-2 水平开始增高,术后 28d 仍显著高于对照组^[16]。本研究中两组患者用药后 MMP-2 水平明显升高, TIMP-2、TIMP-2/MMP-2 明显下降 ($P < 0.05$),但联合组的变化程度大于对照组 ($P < 0.05$),提示调控 TIMP-2/MMP-2 系统失衡可能是 NGF 联合甲钴胺对青光眼术后视神经的保护机制之一。本研究中,NGF 和甲钴胺对 NSE、NO、NOS、MMP-2、TIMP-2 等作用的可能机制:通过抑制毒性氨基酸的释放、钙离子超载、氧自由基的释放以及细胞凋亡等机制对视神经进行保护,减轻或防止继发性病理损害的发生。

综上所述,NGF 联合甲钴胺能有效改善青光眼术后视功能,对 MMP-2、TIMP-2 有一定的调节作用。本研究未发现用药前后眼压、RNFL、视乳头杯/盘比等指标的明显变化,可能与本研究基于安全性考虑,用药时间较短有关。

参考文献

- 1 胡瑛,庄曾渊,张丽霞,等. 青光眼视神经保护的研究进展. 中国医药导报 2011;8(29):8-9
- 2 朱敏,李国培,赵刚平,等. 小梁切除术联合甲钴胺药物治疗晚期青光眼. 广东医学 2010;31(2):219-220
- 3 单明华,王云松. 注射用鼠神经生长因子治疗视神经挫伤的疗效观察. 广州医学院学报 2013;41(1):29-30

- 4 苗森,乔春艳. 先天性青光眼的手术治疗进展. 中华眼科杂志 2014;50(8):626-629
- 5 Spinnler K, Frohlich T, Arnold GJ, et al. Human tryptase cleaves pro-nerve growth factor (pro-NGF): hints of local, mast cell-dependent regulation of NGF/pro-NGF action. *J Biol Chem* 2011;286(36):31707-31713
- 6 鲁铭,高媛,罗艳,等. 川芎嗪联合甲钴胺对晚期青光眼术后视功能的影响. 武汉大学学报(医学版) 2009;30(3):362-364
- 7 Tirassa P. The nerve growth factor administered as eye drops activates mature and precursor cells in subventricular zone of adult rats. *Arch Ital Biol* 2011;149(2):205-213
- 8 罗丽华,王艳玲. 神经生长因子联合传统用药对前部缺血性视神经病变的疗效. 国际眼科杂志 2013;13(9):1842-1844
- 9 孙路建. 鼠神经生长因子联合长春西汀治疗急性闭角型青光眼视神经损伤. 现代中西医结合杂志 2010;19(30):3283-3284
- 10 蒋艳华. 神经生长因子对青光眼的保护作用与机制探讨. 医学综述 2015;21(21):4020-4022
- 11 孙小单,李羽佳. 神经生长因子促神经再生作用的研究进展. 辽宁医学院学报 2010;31(4):377-380
- 12 陈莲,石晶明. 青光眼患者视网膜神经节细胞凋亡机制的研究进展. 眼科新进展 2013;33(4):384-388
- 13 Ashworth Briggs EL, Toh T, Eri R, et al. TIMP1, TIMP2, and TIMP4 are increased in aqueous humor from primary open angle glaucoma patients. *Mol Vis* 2015;13(21):1162-1172
- 14 俞建雄,袁静,周炼红. 角膜基质细胞基质金属蛋白酶 1,2 活性与组织因子途径抑制物 2 的效应. 中国组织工程研究 2014;18(2):251-258
- 15 杨育彬. 脑蛋白水解物注射剂对原发性青光眼患者血清金属蛋白酶 2 组织抑制因子和视神经功能的影响. 中国医院用药评价与分析 2016;16(2):174-176
- 16 刘梦迎,王玲,王大博,等. 基质金属蛋白酶 2 及其抑制剂在大鼠青光眼滤过术后滤过泡组织中的动态表达. 中华实验眼科杂志 2016;34(4):324-329