

小檗碱对甲状腺相关眼病眼眶脂肪组织形态学影响的研究

刘桂琴, 应方微, 周 凤, 欧阳明, 樊 宁

基金项目: 中国广东省中医药局科研课题资助项目 (No. 2008030)

作者单位: (518040) 中国广东省深圳市, 暨南大学第二临床医学院 深圳市眼科医院

作者简介: 刘桂琴, 博士, 主任医师, 亚太颅面整形学会常委, 中国康复医学会重建外科专业委员会颅颌面外科学组委员, 曾获广东省中医药局科研课题立项资助 1 项, 深圳市科技局科技计划项目资助 2 项, 研究方向: 眼眶病、眼肿瘤、眼整形。

通讯作者: 应方微, 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼科病理及基础研究. yingfangwei@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-09-26 修回日期: 2011-11-28

Effect of berberine on the morphology of orbital adipose tissue in thyroid associated ophthalmopathy

Gui-Qin Liu, Fang-Wei Ying, Feng Zhou, Ming Ouyang, Ning Fan

Foundation item: Administration of Traditional Chinese Medicine of Guangdong Province Research Program, China (No. 2008030) Shenzhen Eye Hospital, Second Clinic Medical College, Jinan University, Shenzhen 518040, Guangdong Province, China

Correspondence to: Fang-Wei Ying. Shenzhen Eye Hospital, Shenzhen 518040, Guangdong Province, China. yingfangwei@yahoo.com.cn

Received: 2011-09-26 Accepted: 2011-11-28

Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of berberine on the morphology of orbital adipose tissue in thyroid associated ophthalmopathy (TAO).

• **METHODS:** Forty-eight patients with TAO were randomly assigned to no berberine therapy (group 1, TAO control) or berberine therapy for 4 weeks (group 2), 8 weeks (group 3), and 12 weeks (group 4) before undergoing orbital decompression. The orbital adipose tissue was obtained from the surgery, and undergone frozen section and HE staining. The morphology of adipocyte was investigated.

• **RESULTS:** The mean deviation sectional area of orbital adipocytes in normal control were 5909.4625 ± 664.91 (pixel^2), in group 1, 2, 3 and 4 were 46077.5357 ± 11263.27 , 19634.100 ± 3512.43 , 17529.69 ± 4342.99 , 27980.1304 ± 6123.96 (pixel^2) respectively. There were significantly difference in mean deviation sectional area of orbital adipocytes between normal control and TAO control, normal control and group 1. There were

significantly difference in mean deviation sectional area of orbital adipocytes among TAO control and all experimental groups. The mean sectional area of orbital adipocytes in normal control were 13780.104 ± 7542.28 (pixel^2), in group 1, 2, 3 and 4 were 45210.250 ± 25854.40 , 45554.80 ± 15544.69 , 39163.94 ± 12696.71 , 27184.889 ± 10703.85 (pixel^2) respectively. There were significant differences in mean sectional area of orbital adipocytes between normal control and all experimental groups, between group 1 and group 4.

• **CONCLUSION:** The mean sectional area of orbital adipocytes in patients with TAO was larger than that of normal control. The difference in sectional area of orbital adipocytes in TAO patients was larger than that of normal control. Taking berberine can decrease the difference of orbital adipocytes size in patients with TAO, and reduce the size of enlarged adipocytes to some extent.

• **KEYWORDS:** thyroid associated ophthalmopathy; adipocyte; berberine

Liu GQ, Ying FW, Zhou F, *et al.* Effect of berberine on the morphology of orbital adipose tissue in thyroid associated ophthalmopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012; 12 (1): 122-124

摘要

目的: 了解小檗碱对甲状腺相关眼病眼眶脂肪组织形态学的影响。

方法: 将接受眼眶减压术的静止期甲状腺相关眼病 (thyroid associated ophthalmopathy, TAO) 患者 48 例随机分为 4 组, 每组 12 例, 第一至四组于接受眼眶减压术前口服小檗碱 0, 4, 8, 12wk, 行眼眶减压术时切除球后眼眶脂肪组织。将眼眶脂肪组织行冰冻切片、HE 染色, 分析脂肪细胞形态的变化。

结果: 正常对照组眼眶脂肪细胞平均差异截面积为 5909.4625 ± 664.91 (pixel^2), TAO 患者术前使用小檗碱 0, 4, 8, 12wk 后脂肪细胞平均差异截面积分别为 46077.5357 ± 11263.27 , 19634.100 ± 3512.43 , 17529.69 ± 4342.99 , 27980.1304 ± 6123.96 (pixel^2), 正常对照组与 TAO 对照组及使用小檗碱 4wk 的实验组差异明显, TAO 对照组与各实验组间差异明显。正常对照组眼眶脂肪细胞平均截面积为 13780.104 ± 7542.28 (pixel^2), TAO 患者术前使用小檗碱 0, 4, 8, 12wk 后脂肪细胞平均截面积分别为 45210.250 ± 25854.40 , 45554.80 ± 15544.69 , 39163.94 ± 12696.71 , 27184.889 ± 10703.85 (pixel^2), 正常对照组与各实验组差异明显, TAO 对照组与术前使用 12wk 小檗碱的实验组间有明显差异。

结论:TAO 患者眼眶脂肪细胞较正常对照组平均截面积明显增大且截面积差异性增大,手术前使用小蘗碱一段时间后能够减少 TAO 患者眼眶脂肪细胞大小的差异性,使增大的脂肪细胞有一定程度的缩小。

关键词:甲状腺相关眼病;脂肪细胞;小蘗碱

DOI:10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2012. 01. 40

刘桂琴,应方微,周凤,等. 小蘗碱对甲状腺相关眼病眼眶脂肪组织形态学影响的研究. 国际眼科杂志 2012;12(1):122-124

0 引言

眼眶脂肪增生是引起甲状腺相关眼病(thyroid associated ophthalmopathy, TAO)患者眼球突出的重要原因之一^[1],但目前无有效治疗方法。临床实验和多种动物实验均证实小蘗碱具有降血脂的作用^[2,3],本研究对接受眼眶减压术的静止期甲状腺相关眼病患者于术前应用小蘗碱,观察小蘗碱对眼眶脂肪细胞形态学的影响,报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 TAO 患者眼眶脂肪组织 48 例为 2008-01/2011-01 在深圳市眼科医院接受眼眶减压术的静止期甲状腺相关眼病患者,其中男 26 例,女 22 例,年龄 14~62(平均 38 ± 12) 岁。正常对照组眼眶脂肪组织 8 例,为意外死亡者,其中男 7 例,女 1 例,年龄 24~43(平均 31 ± 4) 岁。实验组病例入选指标:同时满足以下条件:(1)甲状腺机能亢进史;(2)接受过抗甲状腺机能亢进史药物或¹³¹I 治疗,甲状腺功能已正常 6mo 以上;(3)曾有过程度及持续时间不等的 TAO 活动期,曾接受过糖皮质激素和/或眼眶适形放疗,眼病稳定 6mo 以上,目前眼病活动性分级均为 0;(4)眼眶 CT 显示单眼或双眼眼球突出,眼眶脂肪增生伴或不伴有数目不等的眼外肌肌腹肥大。

1.2 方法

1.2.1 实验组病例分组 将实验组病例随机分为 4 组,每组 12 例,第一组为 TAO 病例对照组,术前不服用小蘗碱,第二组接受眼眶减压术前口服小蘗碱 4wk,第三组接受眼眶减压术前口服小蘗碱 8wk,第四组接受眼眶减压术前口服小蘗碱 12wk,小蘗碱的服用方法为 0.5g/次,2 次/d。行眼眶减压术时切除球后眼眶脂肪送检。

1.2.2 冰冻切片 HE 染色 切除的脂肪组织以 40g/L 甲醛固定,保存于-20℃冰箱以备制作冰冻切片。-20℃下行冰冻切片,切片厚度为 8 μ m,以沾有明胶的玻片粘片。脂肪组织的冰冻切片浸入 harris 苏木素染色 20min, HCl 分化后流水冲洗返蓝,然后浸入伊红染液 2min,再以梯度乙醇脱水后,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.2.3 显微镜下观察脂肪细胞形态 各组脂肪组织中脂肪细胞的形态,并以显微镜自带 DP25 生物照相机照相,100 倍镜下每张片随机选取 3 个视野,对 F 视野中可以看到的全部完整脂肪细胞利用病理图像分析系统测量细胞的截面积。脂肪细胞差异截面积(pixel²) = 视野中脂肪细胞的截面积-该视野中脂肪细胞的平均截面积。

统计学分析:采用 SPSS 18.0 软件,按照单因素方差分析方法,评价术前口服小蘗碱对 TAO 患者眶脂肪细胞截面积大小的影响,两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 冰冻切片 HE 染色 病例对照组送检的眼眶脂肪组

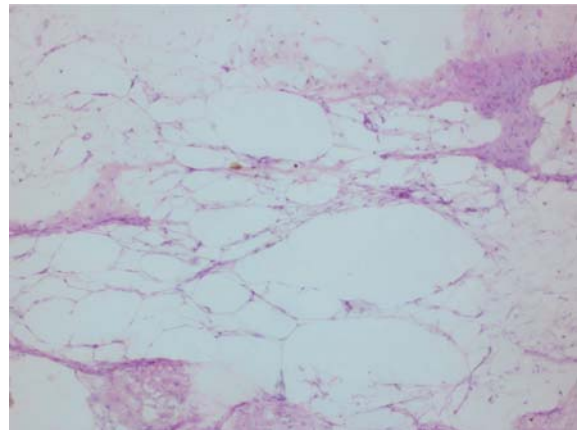


图 1 TAO 对照组眼眶脂肪组织(HE × 100)。

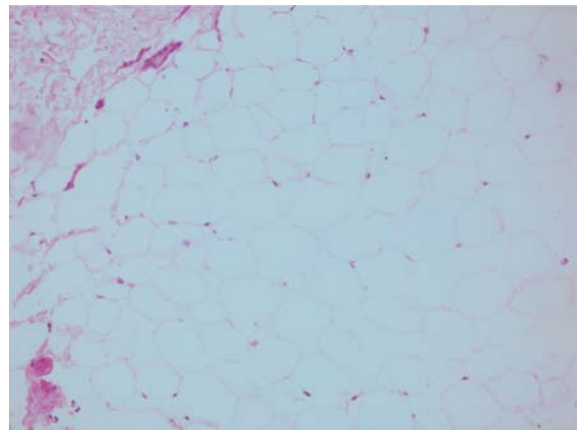


图 2 正常对照组眼眶脂肪组织(HE × 100)。

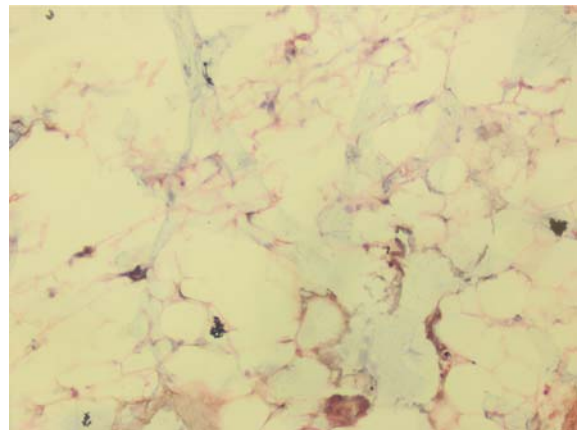


图 3 术前使用 12wk 小蘗碱的 TAO 实验组眼眶脂肪组织(HE × 100)。

织在镜下可见脂肪组织及纤维组织,组织间可见淋巴细胞等炎细胞的浸润,脂肪细胞有的较小,有的非常大(图 1),可见一些截面积非常大的脂肪细胞。正常对照组的脂肪细胞形态大小较一致(图 2),三组实验组的脂肪细胞大小不一,但较少看到非常大的脂肪细胞(图 3)。

2.2 正常对照组与实验组各组间脂肪细胞平均差异截面积的比较 正常对照组眼眶脂肪细胞平均差异截面积为 5909.4625 ± 664.91 (pixel²), TAO 患者术前用药 0, 4, 8, 12wk 后脂肪细胞平均差异截面积分别为 46077.5357 ± 11263.27 , 19634.100 ± 3512.43 , 17529.69 ± 4342.99 , 27980.1304 ± 6123.96 (pixel²), 按照单因素方差分析,方差齐性检验显示分组间方差不齐($P = 0.000$);方差分析显示各组间差异有显著性意义($F = 7.984, P = 0.000$);进

一步多重比较显示,正常对照组与TAO对照组差异明显($P=0.00$),与术前使用小蘗碱4wk的实验组差异明显($P=0.006$),TAO对照组与各实验组间差异明显($P_{4wk}=0.004, P_{8wk}=0.001, P_{12wk}=0.04$)。TAO患者眼眶脂肪细胞大小不等,截面积差异性较正常眼眶脂肪明显增加,眼眶减压术前使用小蘗碱能够减少眼眶脂肪细胞大小的差异性,术前使用8wk及12wk,眼眶脂肪细胞的截面积差异性与正常眼眶脂肪无明显差别。

2.3 正常对照组与实验组各组间眼眶脂肪细胞平均截面积的比较 正常对照组眼眶脂肪细胞平均截面积为 13780.104 ± 7542.28 (pixel²),TAO患者术前使用小蘗碱0,4,8,12wk后脂肪细胞平均截面积分别为 $45210.250 \pm 25854.40, 45554.80 \pm 15544.69, 39163.94 \pm 12696.71, 27184.889 \pm 10703.85$ (pixel²),按照单因素方差分析,方差齐性检验显示分组间方差不齐($P=0.000$);方差分析显示各组间差异有显著性意义($F=4.120, P=0.004$);进一步多重比较显示,正常组与各组差异明显($P_{0wk}=0.001, P_{4wk}=0.004, P_{8wk}=0.028, P_{12wk}=0.009$),TAO病例对照组与术前使用12wk小蘗碱的实验组间有明显差异($P=0.046$)。TAO患者不论是否使用小蘗碱,眼眶脂肪细胞较正常对照组明显增大,术前使用小蘗碱12wk后可以使得眼眶脂肪细胞大小有所减少,但仍然较正常对照组脂肪细胞大。

3 讨论

TAO的症状和体征都可以用眼眶内容物体积增加和炎症反应来解释,而眼眶脂肪容积增加和眼外肌肥大是引起眶内容增加的主要原因。研究表明,TAO患者中伴有眶脂肪增加者占52%。脂肪生成是一个复杂的过程,眼眶脂肪容积增加的原因可能是脂肪细胞分化导致脂肪细胞本身的体积和数量增加,以及眼眶脂肪结缔组织内炎症细胞浸润、沉积大量糖胺多糖吸收水分所致^[1]。现有的抗炎、免疫抑制和放射疗法对眼外肌和脂肪结缔组织的炎症

及水肿有一定的治疗作用,而对眼眶脂肪增生除手术切除眼眶脂肪外,无其他有效的治疗方法。如果在TAO发病初期使用某种药物抑制眼眶脂肪细胞数量的增多和脂肪细胞体积的增大,即能避免进行手术及手术并发症的发生,并且达到持久的治疗眼球突出的效果。因此,开发抑制眼眶脂肪增生的药物有重要的临床意义。

小蘗碱是从黄连、黄柏、三棵针等数十种中药中提取的一种生物碱。临床实验和多种动物实验均证实小蘗碱具有降血脂的作用^[2,3]。小蘗碱能够降低高胆固醇血症患者和高脂肪饮食喂养动物的胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白,通过转录后机制增加肝细胞低密度脂蛋白受体mRNA和蛋白的表达。近来有研究表明小蘗碱抑制地塞米松介导的3T3-L1前脂肪细胞的分化,以时间和剂量依赖的方式抑制3T3-L1前脂肪细胞克隆增殖^[4]。

本研究显示眼眶减压术前使用小蘗碱8wk即可以减少眼眶脂肪细胞的大小差异性,使用12wk可以减少眼眶脂肪细胞的大小,可能是通过抑制眼眶前脂肪细胞的分化、克隆增殖等功能,使脂肪细胞内的脂肪生成减少。但仍需要对小蘗碱对TAO患者眶脂肪细胞的分子生物学方面的作用机制进一步深入研究,从而为联合眼眶减压手术治疗TAO患者突眼的良好后续效果提供理论基础。

参考文献

- 1 Garrity JA, Bahn RS. Pathogenesis of Graves Ophthalmopathy: Implications for Prediction, Prevention, and Treatment. *Am J Ophthalmol* 2006;142(1):147-153
- 2 张茜,肖新华,王彤,等. 黄连素降糖调脂机制的研究. *中国实验动物学报* 2011; 19(1):29-33,93
- 3 王昭琴,王华君,孙家果,等. 黄连素与辛伐他汀治疗高脂血症的对照研究. *心肺血管病杂志* 2008;27(3):173-174
- 4 Huang C, Zhang Y, Gong Z, et al. Berberine inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation through the PPARgamma pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;348(2):571-578