

## 增强 MRI 评价抗青光眼药物对血-房水屏障的影响

陈辉, 毛晓春, 查云飞, 曹丰, 樊建中

**【摘要】** 目的:探讨增强 MRI 评估抗青光眼药物滴眼后对血-房水屏障影响的可行性。方法:将 12 只健康洁净新西兰白兔分为两组, A 组采用单眼滴注 1% 盐酸匹鲁卡品滴眼液, B 组采用单眼滴注 0.25% 噻吗心安滴眼液, 以对侧眼作为对照。静脉注射 Gd-DTPA 0.2 mL 后行 MR 动态增强扫描, 共扫描 10 次(1 h 内每间隔 10 min 行 1 次 MRI, 1 h 以后间隔 15 min 行 1 次 MRI)。测量各时间点前房、睫状体和后房的平均信号强度, 绘制时间-信号增强率曲线, 观察对比剂在眼内的分布情况。结果:在注射对比剂后 2 组中实验眼睫状体信号迅速增高, 15 min 后达到最高峰, 信号增强率为  $109.0\% \pm 5.8\%$ , 此后信号强度逐渐下降; 前房信号呈缓慢增高, 50~60 min 到达峰值, 信号增强率为  $98.0\% \pm 6.3\%$ , 高于对照眼 ( $59.0\% \pm 4.6\%$ ), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 双眼后房均未见信号增强, 始终为低信号。结论:血浆蛋白进入前房途径与房水分泌途径是分别独立的通道, 眼的前后房之间存在着屏障, 使用抗青光眼药物后并没有破坏血-房水屏障; 增强 MRI 可用于评估眼的房水循环情况。

**【关键词】** 磁共振成像; 钆喷酸葡胺; 青光眼; 血-房水屏障

**【中图分类号】** R445.2; R775.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2016)04-0355-04

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2016.04.017

**Feasibility of contrast-enhanced MRI for evaluating the effects of anti-glaucoma drugs on blood-ocular barrier** CHEN Hui, MAO Xiao-chun, ZHA Yun-fei, et al. Department of Radiology, the people's Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, P. R. China

**【Abstract】 Objective:** To investigate the Feasibility of contrast-enhanced MRI for evaluating the effects of anti-glaucoma drugs on blood-ocular barrier. **Methods:** Twelve purebred New Zealand white rabbits were divided into group A and group B. Rabbits from group A were given eye drips of 1% pilocarpine while rabbits from group B were treated with eye drips of 0.25% timolol in right eyes. The left eyes of all rabbits were left untreated for control. Gadolinium-diethylenetriaminepentaacetic acids (Gd-DTPA) enhanced MRI were performed to both eyes of these rabbits, once per 10min within the first hour and once per 15min post one hour after injection of Gd-DTPA with a dose of 0.2mL/kg (0.5mol/L) through the ear vein. The signal enhanced ratios (SER) of anterior chamber, ciliary body and the posterior chamber were measured as signal intensity of right eyes divided by signal intensity of corresponding areas of left eyes. The SER-to-time curves were drawn, in order to assess the permeability and distribution of the contrast agent. **Results:** The SER-to-time curves showed that SER in ciliary body increased dramatically and reached peaks at 15min after injection, The signal enhanced ratios (SER) was  $1.09 \pm 0.058$ , followed by a slow decline. The SER in anterior chamber rose up a bit slowly to peaks at about 50~60min after injection. The SER was  $0.98 \pm 0.063$  in the anterior chamber of the right eyes, The SER was  $0.59 \pm 0.046$  in the anterior chamber of the left eyes, Signal enhancement of the anterior chamber were obvious in the right eyes of all rabbits, but none signal enhancement were observed in posterior chamber. **Conclusion:** The path way of plasma protein entering into the anterior chamber is different from that of aqueous secretion. A barrier between the anterior and posterior chamber may exist and may be a component of blood-ocular barrier. Anti-glaucoma drugs will not damage this barrier.

**【Key words】** Magnetic resonance imaging; Gadolinium-diethylenetriaminepentaacetic; Glaucoma; Blood-ocular barrier

近年来, MRI 对眼部药物代谢动力学、眼内结构、血-房水屏障及房水循环等的研究逐渐增多, 并且在眼病的发病机理、诊断及对治疗的评价等方面取得重大进展<sup>[1-4]</sup>。匹鲁卡品、噻吗心安等是抗青光眼的一线用药, 长期使用能引起房水闪辉等副作用, 房水闪辉是评

价血-房水屏障完整性和前房炎症的重要指标<sup>[4-5]</sup>, 其病理生理机制尚存争议, 本研究采用增强磁共振成像评价抗青光眼药物对兔眼血-房水屏障的影响。

## 材料与方法

### 1. 实验动物及分组

健康洁净新西兰白兔 12 只, 由武汉大学医学院动物实验中心提供, 体重 2.0~3.0 kg, 雌雄不限。实验动物新西兰白兔 12 只随机分为 A、B 两组, 每组 6 只。

作者单位: 430060 武汉, 武汉大学人民医院放射科(陈辉、查云飞); 441000 湖北, 襄阳市中心医院眼科(毛晓春), 放射科(曹丰、樊建中)

作者简介: 陈辉(1974-), 男, 湖北南漳人, 硕士, 副主任医师, 主要从事磁共振诊断工作。

通讯作者: 查云飞, E-mail: zhayunfei999@126.com

实验眼随机选择,对侧眼作为对照,A组实验眼用1%盐酸匹鲁卡品滴眼液标准滴量滴眼;B组实验眼用0.25%噻吗心安滴眼液标准滴量滴眼。给药方法:1次1滴(0.05mL),共滴眼3次,每次间隔5min,滴完后5min开始MRI扫描。

## 2. 影像设备及技术

MRI采用Siemens Verio 3.0T磁共振机、膝关节线圈扫描。增强扫描对比剂使用0.5 mol/L钆喷酸葡胺(Gd-DTPA,北京北陆药业股份有限公司)。扫描前采用氯胺酮30 mg/kg和氯丙嗪15 mg/kg肌肉注射进行实验动物全身麻醉,扫描过程中每30~40 min重复肌肉注射同等剂量的麻醉剂。

实验兔仰卧位固定在自制扫描架上,用1 mL注射器兔耳缘静脉进针,注射对比剂Gd-DTPA(0.5 mol/L),剂量0.2 mL/kg。MR平扫与增强扫描体位、序列及参数相同,采用SE T<sub>1</sub>WI(TR 480 ms, TE 14 ms)加脂肪抑制,横轴面及冠状面扫描,视野13 cm×13 cm,层厚2 mm,间隔0.2 mm,激励次数3,

像素256×256,扫描时间4'32"。1 h内每间隔10 min左右扫描1次,1 h以后间隔15 min左右扫描1次,共扫描10次。

## 3. 图像参数半定量分析

两名高年资MR诊断医师应用syngo acquisition workplace完成,软件版本syngo MR B19(2012年),分别测量三个感兴趣区(前房、睫状体、后房)的平均信号强度,前房、睫状体、后房分别选择100、15、5个像素,选择的像素均在解剖结构范围内,避开边缘区域以防止信号干扰。感兴趣区的信号增强率(E)由以下公式计算:

$$E = \frac{St - S0}{S0} \quad (1)$$

St是注射对比剂后某时间点感兴趣区的信号强度,S0是同一感兴趣区注射对比剂前的信号强度,时间-信号增强率曲线使用EXCEL软件绘制。

## 结果

MRI平扫显示正常兔眼各结构清晰,前房、后房

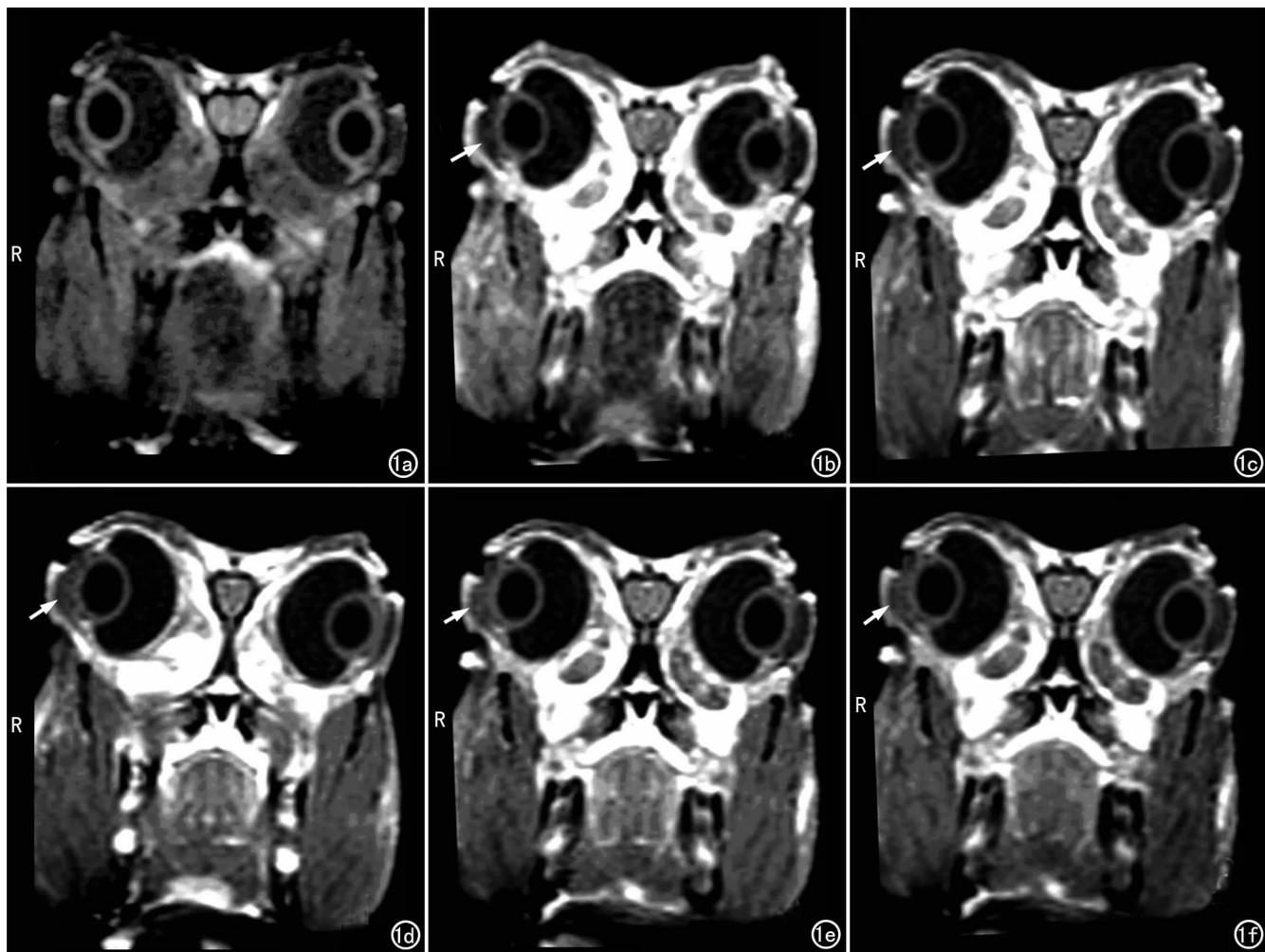


图1 匹鲁卡品滴眼后经兔耳缘静脉注射Gd-DTPA后各时间点MR图像,显示前房信号逐渐增加,在45~60min到达峰值,右眼(实验眼)前房(箭)的信号强度高于左眼(对照眼),双眼后房未见信号增强。a)注药前;b)注药后15min;c)注药后30min;d)注药后45min;e)注药后60min;f)注药后90min。

呈均匀低信号。兔耳缘静脉注射 0.5 mol/L Gd-DTPA(0.2 mL/kg)后不同时间段的 MR 增强图像(图 1),显示双眼睫状体在静脉注射对比剂后信号迅速增强,15 min 后睫状体的信号增强达到最高峰,此后睫状体信号强度逐渐下降;实验眼峰值信号强度为  $358.2 \pm 19.3$ 、信号增强率(E)为  $1.090 \pm 0.058$ ,对照眼峰值信号强度为  $361.5 \pm 20.6$ 、信号增强率(E)为  $1.100 \pm 0.072$ ,两组间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在注射对比剂后前房信号缓慢增加,50~60 min 时到达峰值,实验眼前房峰值信号强度为  $209.5 \pm 18.6$ ,信号增强率(E)为  $0.980 \pm 0.063$ ,对照眼前房平均信号强度为  $168.5 \pm 12.3$ ,信号增强率(E)为  $0.590 \pm 0.046$ ,两组间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),实验眼前房信号高于对照眼。双眼后房在注射对比剂后未见信号增强,始终为低信号(图 2~5)。

## 讨论

匹鲁卡品治疗青光眼的的作用机制是缩小瞳孔,使房角重新开放,同时扩张 schlemma 管及其周围小血管,促进房水的流出,从而降低眼压;而噻吗心安的作用机制是减少房水的分泌降低眼内压。临床上发现使用缩瞳药或抑制房水生成的药物会引起房水闪辉,房水闪辉是评价血-房水屏障完整性和前房炎症的重要指标<sup>[4-5]</sup>,传统观点认为是药物破坏了血-房水屏障<sup>[6-7]</sup>,但是一直缺乏直接的证据。有些学者认为抗青光眼药物引起房水闪辉是由于破坏了血-房水屏障的完整性,增加了睫状上皮的通透性,蛋白质从功能受损的睫状上皮及虹膜表面大量进入前房所致<sup>[3,4,8]</sup>。但是,有研究结果显示增强 MRI 证实房水中的血浆蛋白

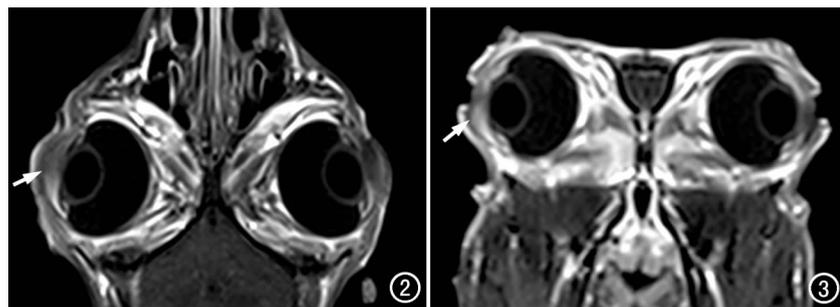


图 2 匹鲁卡品滴眼后经兔耳缘静脉注射 Gd-DTPA 后 52min 冠状面 MRI,显示右眼(实验眼)前房(箭)的信号高于左眼(对照眼)。图 3 噻吗心安滴眼后经兔耳缘静脉注射 Gd-DTPA 后 56min 横轴面 MRI,显示右眼(实验眼)前房(箭)的信号高于左眼(对照眼)。

经由睫状体基底部扩散至虹膜根部而进入前房,而未在后房检测到信号增强<sup>[9-10]</sup>。

本研究采用增强 MRI 活体、实时、直观地评价抗青光眼药物对兔眼血-房水屏障的影响,结果显示在注射对比剂后双眼后房未见信号增高,始终为低信号,前房信号缓慢增高,证明蛋白是首先进入前房,而不是后房,而蛋白质进入房水和房水的分泌是分开的通道。研究过程中发现稳定的前房高信号和持续的后房低信号,进一步证明了房水的流动是连续的、单向的,即由后房进入前房。前房和后房的房水成分不同,即证实了前房与后房之间存在屏障,并限制了前房内的蛋白质向后房扩散<sup>[7,11]</sup>。

Kolodny 等<sup>[12]</sup>首先使用 MR 增强扫描来观察兔眼的血-房水屏障,通过静脉注射对比剂后观察其在兔眼内的分布。结果显示,在注入对比剂后睫状体的信号迅速增强,前房的信号缓慢升高,而后房始终为低信号。有学者使用同样的方法来观察人眼,得出相同结论<sup>[2,5]</sup>。本课题组的前期研究成果亦显示,静脉注射对比剂后 MRI 显示睫状体信号迅速增强,前房的信号缓慢增强,而后房始终为低信号<sup>[13-16]</sup>。

Freddo 等<sup>[9]</sup>提出血-房水屏障存在蛋白旁路途径,房水的分泌和血浆蛋白进入房水的入口是半独立通路,蛋白质并不是先进入后房,而是首先进入前房,房水的分泌和蛋白质进入房水是分开的通道。本课题组前期的一项研究中,通过虹膜周边切除术来破坏兔眼前、后房屏障,使前、后房在虹膜周边切孔处沟通,观察后房的信号变化,结果显示手术眼的后房信号增强,而对照眼的后房信号未见增强;同时该研究中还发现,注入对比剂后前房角的信号先增强,继而前房中央信号增强,前房角的信号增强程度高于前房

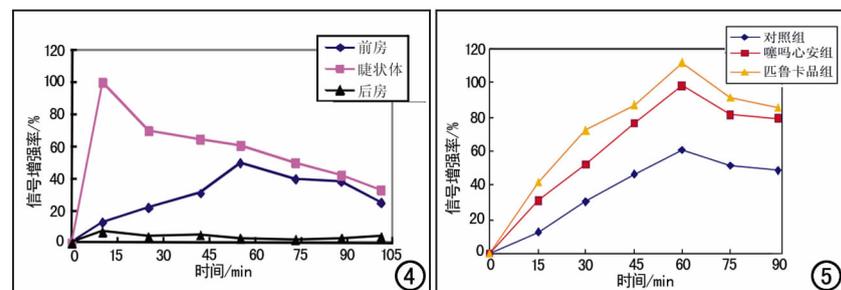


图 4 GD-DTPA 增强扫描对照眼的时间-信号增强率曲线,显示睫状体的信号在静脉注射对比剂后迅速增强,到达高峰后逐渐减弱;前房的信号在实验过程中缓慢增强;双眼后房始终未发现信号增强。图 5 不同药物滴眼后 GD-DTPA 增强扫描前房的时间-信号增强率曲线,显示 2 组实验眼的信号增强率均高于对照眼。

中央<sup>[3]</sup>。这一浓度梯度与血浆蛋白首先进入后房、再随房水流动进入前房的传统观点相矛盾,与血-房水屏障存在蛋白旁路途径的观点相同。

增强 MRI 应用于血-房水屏障研究可直接观察后房,更重要的是可以活体动态观察房水的流动。Gd-DTPA 的分子量远小于血浆蛋白且不与血浆蛋白结合,其通透性非常好,能通过血浆蛋白所不能进入的屏障。如果不能从房水中检测到 Gd-DTPA,可以认为房水中血浆蛋白的含量非常低。Freddo 等<sup>[5,9]</sup>以健康志愿者作为研究对象,以 3% 匹罗卡品滴眼液滴眼后,静脉注入对比剂连续进行 MRI 扫描,发现睫状体的信号迅速增强,前房的信号缓慢增高,而后房的信号始终为低信号,因此得出结论:使用缩瞳药匹鲁卡品后并没有破坏血-房水屏障。本研究使用两种不同抗青光眼药物滴眼后,均显示实验眼前房信号缓慢增强,后房始终未发现信号增强,亦证实了使用抗青光眼药物后前后房屏障并没有被破坏。实验眼前房信号增强高于对照眼,说明房水中蛋白质含量的改变引起前房蛋白浓度增加(房水闪烁),可能是因为房水流出的增加或分泌的减少,而血源性蛋白质持续进入前房,那么随着房水流出的增加或分泌的减少,用于稀释溶质的房水变少,导致蛋白质的浓度升高<sup>[3,9,11,17]</sup>。

本研究也存在一些不足之处:获得的数据只是感兴趣区的信号强度,并不能直接定量地检测出房水中蛋白质的浓度。而且,本研究中证实的蛋白旁路并不适用于所有的蛋白,前房内的蛋白与血浆蛋白的成分并不完全一致。

总之,本研究采用增强 MRI 证实了眼内前房和后房存在屏障,血-房水屏障存在蛋白旁路途径,房水的分泌和血浆蛋白进入房水的入口是半独立通路,使用抗青光眼药物并没有破坏血-房水屏障。

#### 参考文献:

[1] Li SK, Molokhia SA, Jeong EK. Assessment of subconjunctival delivery with model ionic permeants and magnetic resonance imaging[J]. *Pharm Res*, 2004, 21(12): 2175-2184.

[2] Bert RJ, Caruthers SD, Jara H, et al. Demonstration of an anterior diffusional pathway for solutes in the normal human eye with high spatial resolution contrast-enhanced dynamic MR imaging[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(12): 5153-5162.

[3] 毛晓春, 陈辉, 杜龙庭, 等. 对比增强磁共振在虹膜周边切除术后

兔眼前后房屏障研究中的应用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(7): 617-620.

[4] 毛晓春, 张虹. 磁共振成像技术在眼前节的应用[J]. *国际眼科纵览*, 2008, 32(4): 272-276.

[5] Freddo TF, Neville N, Gong HY. Pilocarpine-induced flare is physiological rather than pathological[J]. *Exp Eye Res*, 2013, 107(2): 37-43.

[6] Johnstone-McLean NS, Ward DA, Hendrix DV. The effect of a single dose of topical 0.005% latanoprost and 2% dorzolamide/0.5% timolol combination on the blood-aqueous barrier in dogs: a pilot study[J]. *Vet Ophthalmol*, 2008, 11(3): 158-161.

[7] Strenk SA, Strenk LM, Guo SQ. Magnetic resonance imaging of the anteroposterior position and thickness of the aging, accommodating, phakic, and pseudophakic ciliary muscle[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2010, 36(2): 235-241.

[8] Lee JY, Eun CK, Kim YW, et al. The steroid effect on the blood-ocular barrier change induced by triolein emulsion as seen on contrast-enhanced MR images[J]. *Korean J Radiol*, 2008, 9(3): 205-211.

[9] Freddo TF, Patz S, Arshanskiy Y. Pilocarpine's effects on the blood-aqueous barrier of the human eye as assessed by high-resolution, contrast magnetic resonance imaging[J]. *Exp Eye Res*, 2006, 82(3): 458-464.

[10] Kim SH, Csaky KG, Wang NS, et al. Drug elimination kinetics following subconjunctival injection using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging[J]. *Pharm Res*, 2008, 25(3): 512-520.

[11] Freddo TF. A contemporary concept of the blood-aqueous barrier[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2013, 32(1): 181-195.

[12] Kolodny NH, Freddo TF, Lawrence BA, et al. Contrast-enhanced magnetic resonance imaging confirmation of an anterior protein pathway in normal rabbit eyes[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1996, 37(8): 1602-1607.

[13] 王根国, 毛晓春, 李贵刚, 等. 使用 MRI 检测药物经静脉注射后在兔眼内的分布[J]. *国际眼科杂志*, 2009, 9(9): 1671-1673.

[14] 毛晓春, 李贵刚, 李彬, 等. 磁共振成像对活体兔结膜下药物注射后渗透性的评价作用[J]. *眼视光学杂志*, 2009, 11(6): 443-447.

[15] 王根国, 毛晓春, 李贵刚, 等. 磁共振技术检测透明质酸钠对钆喷酸葡胺角膜渗透性的影响[J]. *眼科研究*, 2010, 28(9): 801-804.

[16] Mao X, Zhang S, Chen H, et al. Corneal permeability assay of topical eye drop solutions in rabbits by MRI[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2010, 30(6): 804-808.

[17] 周洋, 景昕虹, 李效岩. 激光蛋白检测仪在葡萄膜炎中的应用价值[J]. *国际眼科杂志*, 2013, 13(9): 1775-1777.

(收稿日期: 2015-11-17 修回日期: 2016-02-15)