

# 蛴螬提取物对兔脉络膜新生血管中 Ang1 和 PEDF 表达的影响

邱晓星<sup>1,2</sup>, 彭清华<sup>3</sup>, 陈梅<sup>1,4</sup>, 彭俊<sup>1,5</sup>, 谭涵宇<sup>1</sup>, 李文娟<sup>1</sup>

基金项目: 国家中医药管理局重点学科建设项目; 湖南省教育厅科研基金资助项目(No. 09C729); 湖南省中医药科研基金资助项目(No. 2010012); 湖南省教育厅重点学科建设项目

作者单位:<sup>1</sup>(410007) 中国湖南省长沙市, 湖南中医药大学中医眼科学重点学科;<sup>2</sup>(411400) 中国湖南省湘乡市中医院眼科;<sup>3</sup>(410007) 中国湖南省长沙市, 湖南中医药大学第一附属医院眼科;<sup>4</sup>(448000) 中国湖北省荆门市第二人民医院眼科;<sup>5</sup>(421001) 中国湖南省衡阳市, 南华大学医学院

作者简介: 邱晓星, 女, 硕士, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 彭清华, 男, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 全国眼底病中医医疗中心主任, 中国中西医结合学会眼科专业委员会副主任委员, 研究方向: 青光眼、眼底病。pqh410007@126.com

收稿日期: 2012-06-04 修回日期: 2012-10-15

## Effect of holotrichia extractive on the expression of Ang1 and PEDF in choroidal neovascularization of rabbit

Xiao-Xing Qiu<sup>1,2</sup>, Qing-Hua Peng<sup>3</sup>, Mei Chen<sup>1,4</sup>, Jun Peng<sup>1,5</sup>, Han-Yu Tan<sup>1</sup>, Wen-Juan Li<sup>1</sup>

**Foundation items:** Key Subject of State Administration of Traditional Chinese Medicine of China; Project of Scientific Research Fund of Hunan Provincial Education Department, China (No. 09C729); Project of Traditional Chinese Medicine Scientific Research Fund of Hunan Province, China (No. 2010012); Key Subject of Hunan Provincial Education Department

<sup>1</sup>Key Discipline of Ophthalmology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Xiangxiang, Xiangxiang 411400, Hunan Province, China;

<sup>3</sup>Department of Ophthalmology, the First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China; <sup>4</sup>Department of Ophthalmology, Jing men No. 2 People's Hospital, Jingmen 448000, Hubei Province, China;

<sup>5</sup>Medical College of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

**Correspondence to:** Qing-Hua Peng. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China. pqh410007@126.com

Received: 2012-06-04 Accepted: 2012-10-15

## Abstract

• **AIM:** To study the influence of holotrichia extractive to angiogenin1 (Ang1) and pigment epithelium derivation factor (PEDF) expression and probe its inhibiting effect to the choroidal neovascularization (CNV) though

establishing CNV model of experimental colored rabbits.

• **METHODS:** Forty colored rabbits were selected and divided into 5 groups randomly, including blank group, model group, vitamin E group, zhujingwanjiajianfang group and the holotrichia extractive group. There were 8 rabbits in each group (16 eyes). CNV model was established through the method of argon laser photo-coagulation. Then optic fundus colored pictures were taken after 24 hours, 7, 14, 21 and 28 days, fluorescence fundus angiography (FFA) was performed after 7, 14, 21 and 28 days and optical coherence tomography (OCT) was performed after 14 and 28 days. Then the rabbits were divided into 2 parts each group randomly, and executed by aeroembolism after 14 and 28 days. Their eyes' posterior segment tissues were selected to carry on organized microtome section, hematoxylin and eosin staining and Ang1, PEDF immunohistochemistry staining to analyze depressant effect of holotrichia extractive to CNV.

• **RESULTS:** Determination of Ang1 content expression showed, blank group's content was the least in all groups ( $P < 0.05$ ), the content of holotrichia extractive group and zhujingwanjiajianfang group were less than others in experimental groups ( $P < 0.05$ ), holotrichia extractive group's content was less than zhujingwanjiajianfang group's content, but there was no significant difference, holotrichia extractive group's content between the 14 days and the 28 days has significant difference ( $P < 0.05$ ). Determination of PEDF content expression showed, blank group's content was the highest in all groups ( $P < 0.05$ ), the content of holotrichia extractive group and zhujingwanjiajianfang group were higher than others in experimental groups ( $P < 0.05$ ), holotrichia extractive group's content was higher than zhujingwanjiajianfang group's content, but there was no significant difference, holotrichia extractive group's content between the 14 days and the 28 days had significant difference ( $P < 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** The holotrichia extractive has active influence for the high experiment of Ang1 in CNV of the experimental colored rabbits, it can intervene reduction of PEDF and protects retinal tissue, and thus it has depressant effect to CNV.

• **KEYWORDS:** choroidal neovascularization; holotrichia extractive; angiogenin1; pigment epithelium derivation factor

**Citation:** Qiu XX, Peng QH, Chen M, *et al.* Effect of holotrichia extractive on the expression of Ang1 and PEDF in choroidal neovascularization of rabbit. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2012; 12(11):2053-2058

## 摘要

**目的:**通过建立实验性有色兔脉络膜新生血管(CNV)的动物模型,研究蛭螬提取物对血管生成素1(Ang1)和色素上皮衍生因子(PEDF)表达的影响,从而探讨其对CNV的抑制作用。

**方法:**选取40只有色兔,随机分成5组,A组:健康空白组;B组:模型组;C组:维生素E组;D组:驻景丸加减方组;E组:蛭螬提取物组。每组8只16眼,通过氩激光光凝方式建立CNV模型。激光光凝后24h;7,14,21,28d行眼底彩色照相;7,14,21,28d行荧光素眼底血管造影(FFA);14,28d行光学相干断层扫描(OCT)。然后将每组家兔随机分成2批,分别于14,28d用空气栓塞法处死并摘取眼球后段组织行切片、HE染色,光镜下观察视网膜组织病理形态学改变,并行Ang1和PEDF免疫组织化学染色,以研究蛭螬提取物对CNV的抑制作用。

**结果:**Ang1含量表达测定显示,空白组较实验组低( $P<0.05$ ),实验组中驻景丸加减方组和蛭螬提取物组较其它三组有显著性差异( $P<0.05$ ),蛭螬提取物组较驻景丸加减方组低,但无显著性差异,蛭螬提取物组28d较14d有显著性差异( $P<0.05$ )。PEDF含量表达测定显示,空白组较实验组高( $P<0.05$ ),实验组中驻景丸加减方组和蛭螬提取物组较其它三组有显著性差异( $P<0.05$ ),蛭螬提取物组较驻景丸加减方组高,但无显著性差异,蛭螬提取物组28d较14d有显著性差异( $P<0.05$ )。

**结论:**蛭螬提取物对实验性有色兔CNV中Ang1的高表达存在良性影响,能有效干预PEDF的降低,保护视网膜组织,对CNV具有抑制作用。

**关键词:**脉络膜新生血管;蛭螬提取物;血管生成素1;色素上皮衍生因子

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.11.03

**引用:**邱晓星,彭清华,陈梅,等.蛭螬提取物对兔脉络膜新生血管中Ang1和PEDF表达的影响.国际眼科杂志2012;12(11):2053-2058

## 0 引言

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)又称老年性黄斑变性,分为萎缩性(干性)和渗出性(湿性)两种,其中渗出性AMD的特点为视网膜色素上皮层(RPE)下有新生血管膜存在,从而引起一系列渗出、出血、瘢痕改变。随着我国老龄化社会的到来,近年来本病的发病率有逐年增高的趋势,因此有必要通过建立脉络膜新生血管(CNV)的动物模型研究CNV形成和发展的规律,探讨能有效抑制CNV的药物或方法,为研究新的CNV治疗提供方向。本实验拟就中药蛭螬的提取物对实验性兔CNV及血管生成素1(Ang1)和色素上皮衍生因子(PEDF)表达的影响进行研究。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 成年有色家兔40只(由湖南中医药大学动物实验中心提供),雌雄不限,体质量2.0~2.5kg,实验前排除全身性病变,双眼前节和眼底检查均正常。200g/L荧光素钠注射液(广西梧州制药有限公司生产),Ang1和PEDF免疫组织化学试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司生产)。倍频Nd:YAG 532nm激光(法国光太),无散瞳眼底照相机(TRC-NW6S,日本Topcon),眼底荧光造

影仪(CF-60UD,日本Canon),光学相干断层扫描仪(Carl Zeiss,德国)。

## 1.2 方法

**1.2.1 蛭螬的提取** 参照阳长明等<sup>[1]</sup>的提取方法制取蛭螬提取物蛭螬1000g,清洗10遍,浸泡一晚后洗至无臭味。加蒸馏水5kg,加370mL/L HCl将pH值调至2。高压蒸汽锅(哈尔滨松花江医疗器械厂)蒸2h。纱布过滤,溶液中加入40g/L NaOH将pH值调至6.5~6.8。冷却,隔水加热,浓缩至1000mL(1mL溶液=1g生药)。装瓶,瓶盖,蒸汽高温灭菌,冷藏保存。

**1.2.2 实验分组** 将40只家兔随机分成A,B,C,D,E五组,A组:正常空白组(8只);B组:模型组(8只);C组:维生素E组(8只);D组:驻景丸加减方组(8只);E组:蛭螬提取物组(8只)。

**1.2.3 激光造模** B,C,D,E组家兔用美多丽(250g/L托吡卡胺+5g/L盐酸去氧肾上腺素)点眼散瞳,耳缘静脉注射100mL/L水合氯醛3mL/kg全身麻醉。在裂隙灯下通过三面镜用波长532nm的倍频Nd:YAG激光(光斑直径50 $\mu$ m,曝光时间0.1s,能量350~375mW)于双眼视乳头髓线下2~3PD处射击视网膜,每眼射击20~30点。光凝后有气泡产生为准,可伴有轻响或少量出血,表示已击破Bruch膜<sup>[2]</sup>。激光后14,28d各组随机取4只家兔于耳缘静脉注射空气处死,取眼球后段行组织切片HE染色和Ang1,PEDF免疫组织化学染色。

**1.2.4 给药方法** A,B组每日以生理盐水2mL灌胃。C组每日以维生素E 0.1g/kg加入蒸馏水,以0.2mL/kg灌胃。D组每日以驻景丸加减方2mL/kg灌胃。E组每日以蛭螬提取物2mL/kg灌胃。A~E组激光光凝后1d开始给药,1次/d,直至实验结束。

**1.2.5 眼底彩色照相** 造模后24h;7,14,21,28d分别行眼底彩色照相。

**1.2.6 眼底荧光血管造影** 激光光凝后7,14,21,28d散瞳行FFA,将200g/L荧光素钠经耳缘静脉注射0.1mL/kg,即刻摄影约30min。记录荧光素渗漏率(荧光素渗漏率=荧光渗漏点数/观察的激光斑点数 $\times$ 100%)。在静脉晚期参照Takebana等<sup>[3]</sup>方法将荧光素渗漏程度分为无渗漏(0级)、轻度渗漏(1级)、中度渗漏(2级)和重度渗漏(3级)共4个级别。

**1.2.7 光学相干断层扫描** 激光光凝后14,28d分别行OCT检查。

**1.2.8 Ang1和PEDF免疫组织化学染色** 切组织后常规脱水、包埋、切片、脱蜡,5 $\mu$ m厚度切片行HE染色,2 $\mu$ m切片行免疫组化检测Ang1和PEDF表达,滴加一抗(兔IgG)、二抗(生物素化山羊抗兔IgG)、SABC,二氨基联苯氨(DAB)显色,0.1%核固红复染,400倍显微镜下观察,阳性表达为棕色颗粒状染色。每张切片随机选取4个视野,利用MIAS-1000图像分析系统分析,得出Ang1和PEDF的平均光密度值(OD)。

统计学分析:所有实验数据输入计算机,采用SPSS 14.0统计软件处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,先进行正态性分布及方差齐性检验,若呈正态分布,方差齐,作为完全随机设计,采用单因素方差分析(analysis of variance,ANOVA),总体比较有统计学意义后再采用最小显著性差异检验(least significant difference, LSD-t)两两比较各组均数。不满足正态性和方差齐性的资料采用近

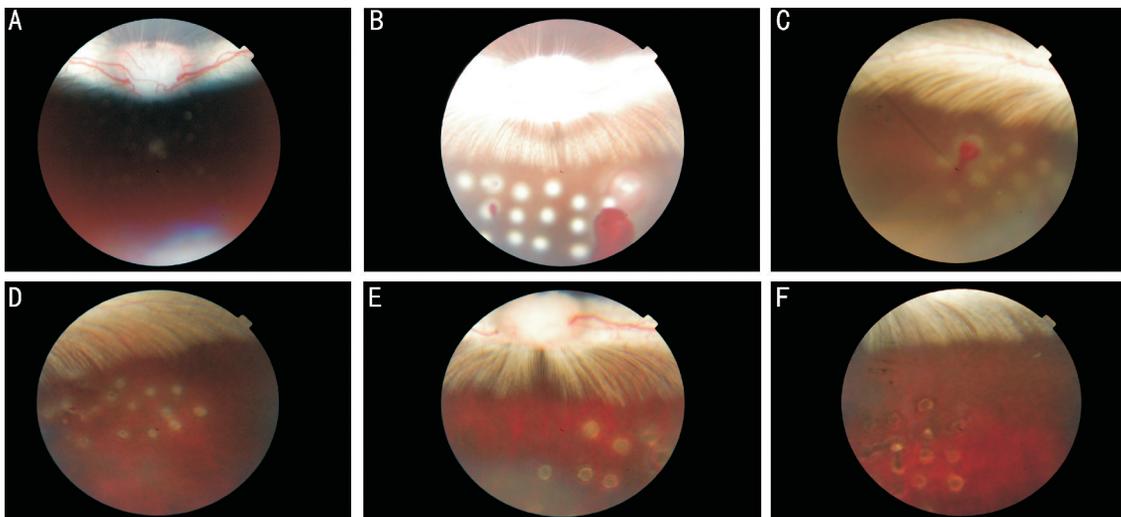


图1 各组家兔眼底照相 A:正常空白组;B:模型组光凝后24h;C:模型组光凝后7d;D:模型组光凝后14d;E:模型组光凝后21d;F:模型组光凝后28d。

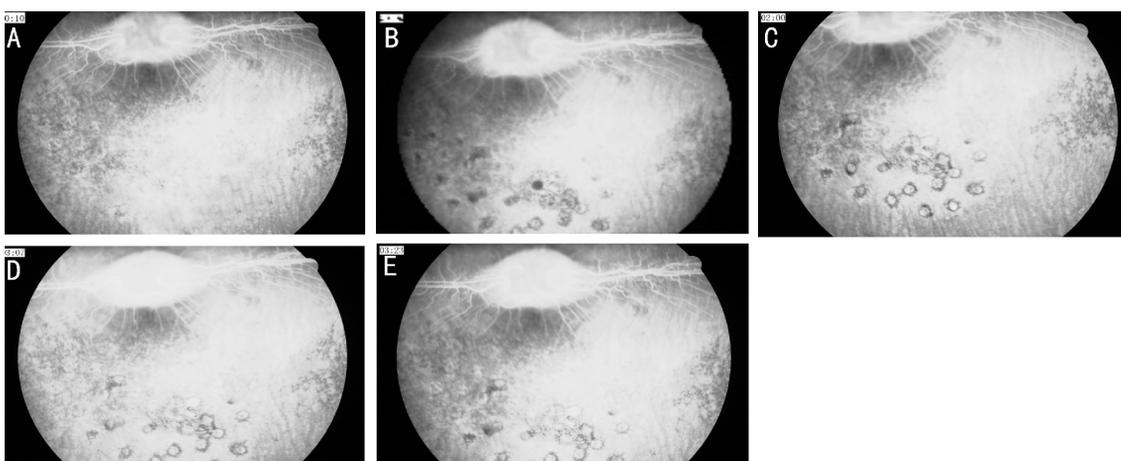


图2 各组家兔眼底 FFA 像 A:正常空白组;B:模型组光凝后7d;C:模型组光凝后14d;D:模型组光凝后21d;E:模型组光凝后28d。

表1 各组不同观察时段不同荧光素渗漏强度的光斑数

级别	7d				14d				21d				28d			
	B	C	D	E	B	C	D	E	B	C	D	E	B	C	D	E
0级	289	295	302	309	150	189	187	237	38	47	58	95	43	54	63	99
1级	37	29	28	23	47	39	43	42	36	34	32	27	37	33	31	26
2级	0	0	0	0	45	35	37	27	32	31	28	30	30	28	26	19
3级	0	0	0	0	84	61	63	26	57	50	47	24	53	47	45	22
合计	326	324	330	332	326	324	330	332	163	162	165	176	163	162	165	166

似检验(Dunnett's T3)。荧光素渗漏强度比较采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 眼底照相和 FFA 检查与 OCT 结果** 动物模型 64 眼中,经眼底照相证实均为一次性光凝成功,光凝过程中部分眼有少量出血,其中少数眼出血进入玻璃体腔。B 组光凝后 24h,眼底照相可见视网膜水肿,光凝点少量出血。光凝后 7d 视网膜轻度水肿,光凝点呈灰白色,出血部分吸收。光凝后 14d,光斑中央少量色素沉着,周围可见黄褐色渗出。光凝后 21d,视网膜血管走行紊乱,光斑中央色素增加。光凝后 28d,光斑表面形成褐色瘢痕,周围局限性隆起(图 1)。C、D、E 组出血、渗出情况均较 B 组恢复好。

光凝后 7d,出血处荧光遮蔽,部分视网膜出现动脉前期点状荧光渗漏,范围局限。光凝后 14d,光斑荧光渗漏

增多;B、C、D、E 组分别有 54.0%、41.7%、43.3% 和 28.6% 的光斑出现荧光渗漏,晚期呈现高荧光。光凝后 21d,荧光渗漏光斑数继续增加,达到高峰;B、C、D、E 组分别有 76.7%、71.0%、64.8% 和 48.8% 的光斑出现荧光渗漏,晚期扩大为边界清晰的高荧光区。光凝后 28d,荧光渗漏光斑数量和 21d 基本持平,无明显增加(图 2,表 1)。

光凝后 14d,B 组视网膜层间水肿,光凝区脉络膜反射增强,顶端可见不规则红色高反射区域,色素上皮部分萎缩,视网膜变薄;C、D、E 组视网膜均可见不同程度层间水肿和光凝区红色高反射区域。光凝后 28d,模型组出现典型 CNV 影像,RPE 断裂,神经上皮层下不规则红色高反射团块膨大(图 3)。C 组 CNV 部分闭塞,纤维组织明显增生。D、E 组大部分 CNV 闭塞,产生瘢痕化,纤维组织增生(表 2)。

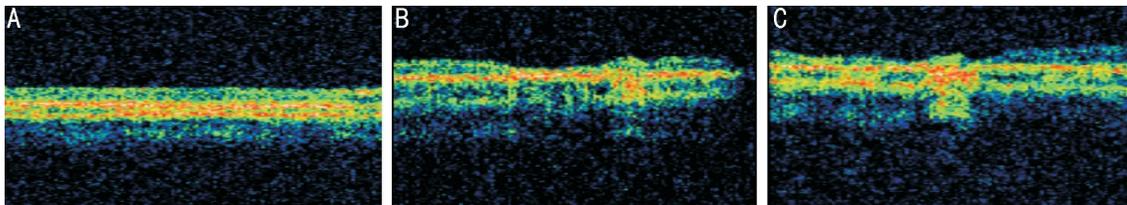


图3 各组家兔视网膜 OCT 像 A:正常空白组;B:模型组光凝后 14d;C:模型组光凝后 28d。

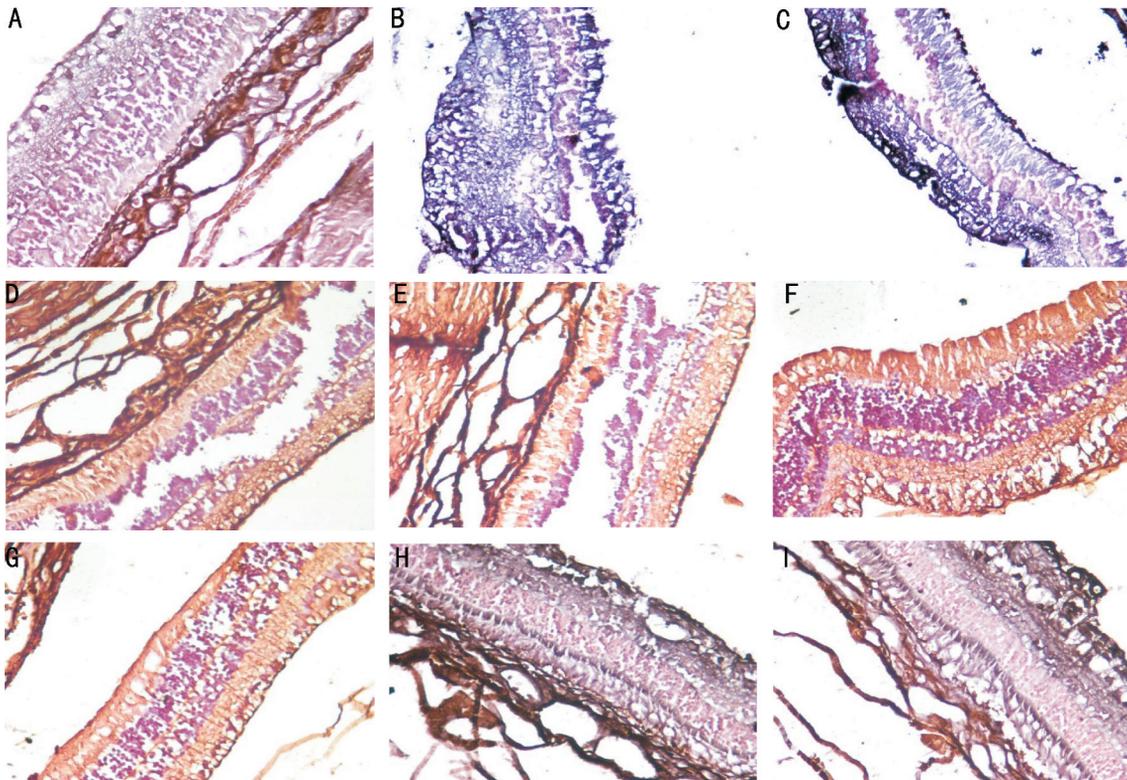


图4 各组家兔 HE 组织染色图片 A:正常空白组;B:模型组光凝后 14d;C:模型组光凝后 28d;D:维生素 E 组光凝后 14d;E:维生素 E 组光凝后 28d;F:驻鼠丸加减方组光凝后 14d;G:驻鼠丸加减方组光凝后 28d;H:蝎螯提取物组光凝后 14d;I:蝎螯提取物组光凝后 28d。

表2 各组 OCT 高反射层厚度 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$ )

分组	14d	28d
A 组	102.0138±6.742	102.4958±8.877
B 组	187.5084±15.675	245.4914±15.938
C 组	171.6921±12.614	180.6180±15.772
D 组	169.5465±23.496	178.2027±10.882
E 组	125.2483±10.263	132.3801±15.538

**2.2 组织形态学观察** 正常兔视网膜、脉络膜组织结构清楚、完整,细胞排列紧密、层次清晰。光凝后 14d, B 和 C 组视网膜轻度水肿,光凝区 RPE 和 Bruch 膜破裂,脉络膜毛细血管损伤。新生血管增多,视网膜神经上皮层厚度增加。D 和 E 组组织损伤程度和 RPE 细胞增生程度均较 B, C 组轻,新生血管生成明显较 B 和 C 组少,视网膜神经上皮层厚度稍增加。光凝后 28d, B 和 C 组 CNV 显著纤维血管增生,产生大量新生血管,管腔内可见红细胞,CNV 形态基本稳定。D 和 E 组可见少量新生血管(图4)。

**2.3 免疫组织化学染色** 空白组视网膜组织中未见明显 Ang1 阳性信号,各时段无变化。造模后第 14d,实验组所有视网膜组织中均可见棕色颗粒状染色,其中 B 组表达最强,D 和 E 组表达最弱,但较正常组强。C 组表达强度

居中。造模后 28d,实验组所有视网膜组织中可见明显棕色颗粒状染色,CNV 可见强染色。其中 B 组表达明显增强,尤其是 CNV 的 Ang1 表达。C 组呈现较强表达,但较 B 组弱。D 和 E 组表达均较 C 组弱,但较正常组强。实验组 Ang1 表达均较空白组有明显升高( $P < 0.05$ )。实验组之间比较,B 组表达最强( $P < 0.05$ ),C 组表达居中( $P < 0.05$ ),D 组表达较 E 组高,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。同时 E 组 14d 与 28d Ang1 表达的前后比较也有显著性差异( $P < 0.05$ ,图5,表3)。

空白组视网膜的 RPE 细胞层中可见 PEDF 阳性信号,各时段无变化。造模后第 14d,实验组视网膜的 RPE 细胞层均可见棕色颗粒状染色,其中 B 组表达明显减弱,尤其是 CNV 的 PEDF 表达。D, E 组表达最强,但较正常组弱。C 组表达强度居中。造模后第 28d,实验组视网膜的 RPE 细胞层均可见棕色颗粒状染色,程度较 14d 减弱。其中 B 组呈微弱表达,C 组表达弱,但较 B 组强。D 和 E 组表达均较 C 组强,但较正常组弱。实验组 PEDF 表达均较空白组有明显降低( $P < 0.05$ )。B 组表达明显低于 C, D, E 组( $P < 0.05$ ),C 组表达居中( $P < 0.05$ ),D 组表达较 E 组低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。E 组在 14d 和 28d 的表达比较有统计学意义,但差异不明显(图6,表3)。

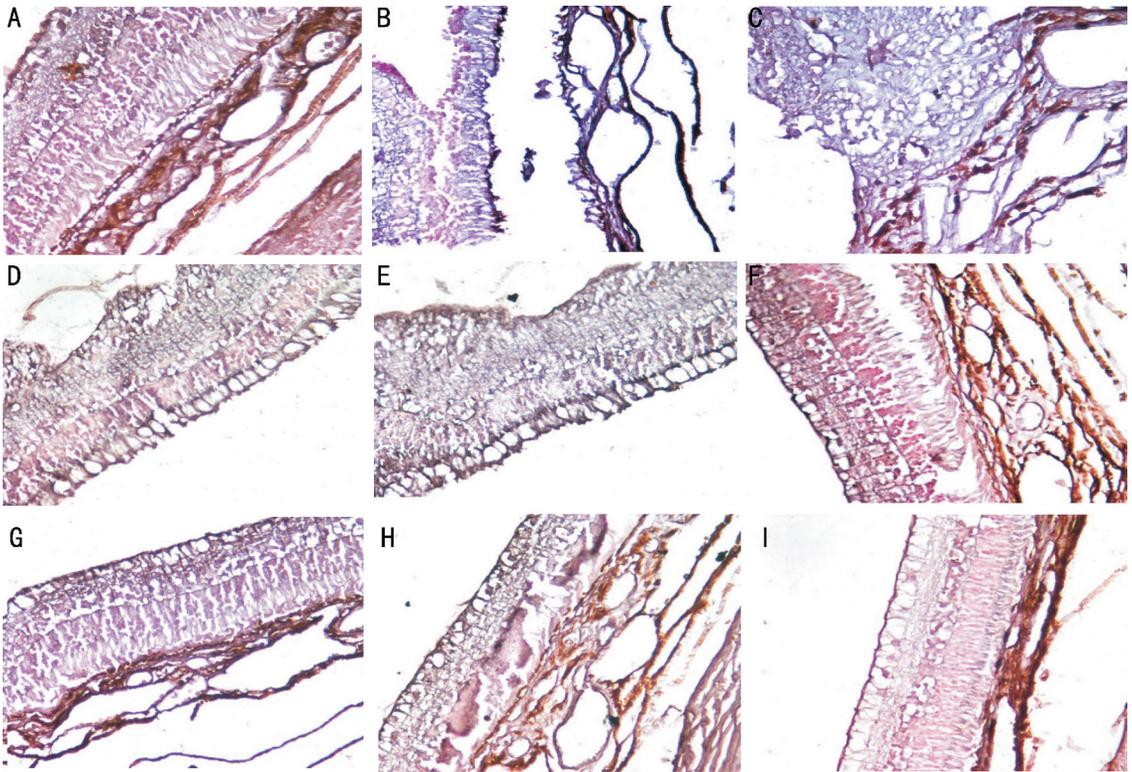


图5 各组家兔视网膜组织中 Ang1 的表达 A:正常空白组;B:模型组光凝后 14d;C:模型组光凝后 28d;D:维生素 E 组光凝后 14d;E:维生素 E 组光凝后 28d;F:驻景丸加减方组光凝后 14d;G:驻景丸加减方组光凝后 28d;H:蛭螭提取物组光凝后 14d;I:蛭螭提取物组光凝后 28d。

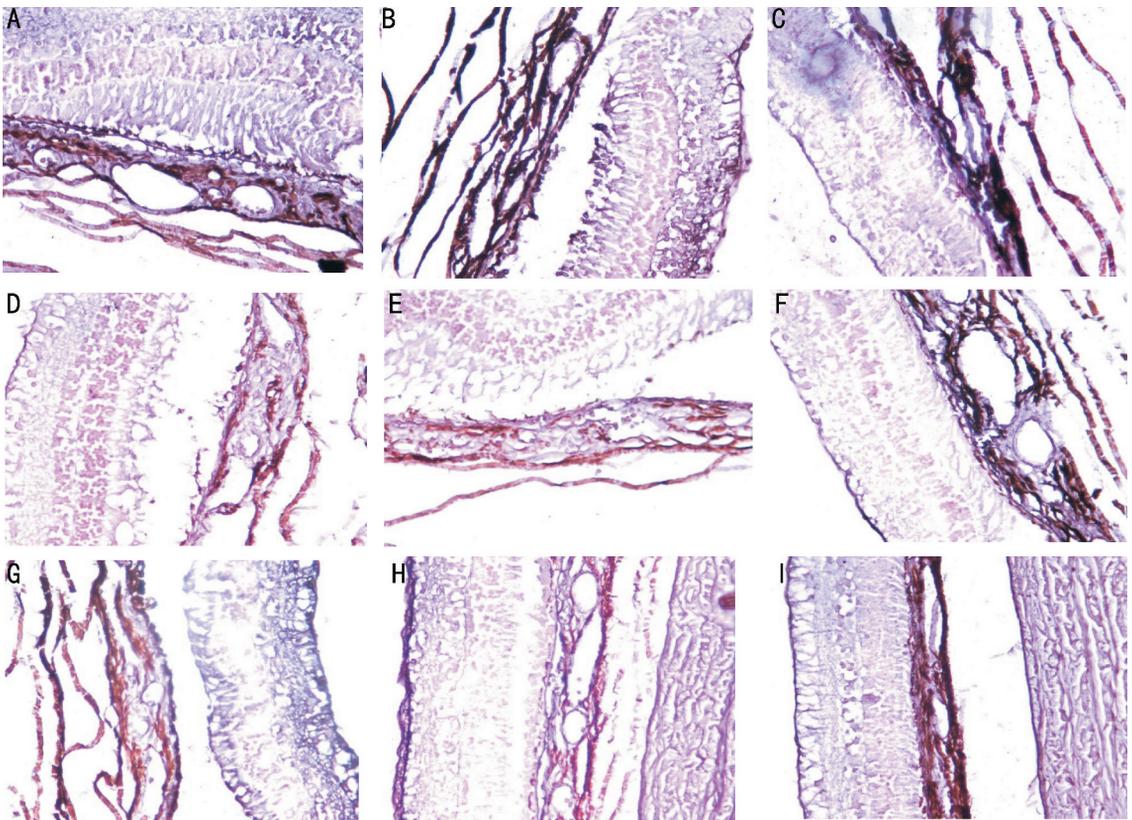


图6 各组家兔视网膜组织中 PEDF 的表达 A:正常空白组;B:模型组光凝后 14d;C:模型组光凝后 28d;D:维生素 E 组光凝后 14d;E:维生素 E 组光凝后 28d;F:驻景丸加减方组光凝后 14d;G:驻景丸加减方组光凝后 28d;H:蛭螭提取物组光凝后 14d;I:蛭螭提取物组光凝后 28d。

### 3 讨论

研究表明,氩激光诱导 CNV 的发生存在时间上的特点,大致可分为 3 个阶段:光凝 ~15d 为初发期,15d ~2mo 为活动期,2mo 以后为退化期<sup>[4]</sup>。采用氩激光光凝诱导出

的兔 CNV 模型基本再现了临床 CNV 的发展过程,CNV 形成的高峰期在 14 ~ 28d 左右。兔 CNV 模型具有稳定性好,成功率高的特点,是一种理想的实验性 CNV 动物模型。

表3 各组 Ang1 和 PEDF 阳性表达的平均光密度值 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

分组	Ang1		PEDF	
	14d	28d	14d	28d
A组	0.293±0.040	0.314±0.044	0.627±0.032	0.615±0.077
B组	0.678±0.090	0.754±0.383	0.282±0.030	0.277±0.040
C组	0.596±0.059	0.639±0.048	0.414±0.055	0.384±0.023
D组	0.429±0.029	0.535±0.079	0.522±0.085	0.485±0.050
E组	0.409±0.035	0.532±0.053	0.558±0.069	0.500±0.024

本实验中所用蛭螭是金龟子科昆虫朝鲜黑金龟子或其他近缘昆虫的干燥幼虫,属虫类药,味咸微温,有毒。有破血、行瘀、散结、通乳之功效,主治折损瘀痛、痛风、破伤风、喉痹、目翳、丹毒、痈疽、痔漏。张庆镐等<sup>[5]</sup>对蛭螭矿物元素和维生素含量分析的研究表明,蛭螭中Ca, Mg, Cr, Fe, Zn的含量高是其重要的营养特征。从蛭螭中维生素含量测定结果看, B族维生素含量较高, 维生素A和维生素E的含量也较丰富。维生素A有增强机体免疫功能的作用, 维生素B<sub>1</sub>和烟酸能促进血液循环, 维生素B<sub>2</sub>能缓解眼睛疲劳、预防白内障, 维生素E是抗氧化维生素。其中维生素A和维生素E对于CNV有较好的预防作用, Zn和维生素E类制剂临床也多用于AMD的治疗。阳长明等<sup>[1]</sup>对蛭螭的化学成分进行了测定, 指出其中含有多种氨基酸、多肽、生物碱等成分, 研究表明这些成分对实验性CNV具有一定的抑制作用。

AMD的特征性病理包括Bruch膜不均匀增厚, 有较大及较多玻璃膜疣形成; 脉络膜毛细血管层硬化, 管壁发生透明变性; 视网膜色素上皮有CNV长入, 由此引起一系列渗出性改变, 晚期机化为结缔组织膜。其中CNV在AMD的病程发展中具有关键性作用<sup>[6]</sup>。目前CNV的发生机制尚未完全清楚, 普遍认为氧化、炎症、Bruch膜老年性改变等引起的局部血管新生刺激因子与抑制因子的失衡起着关键作用<sup>[7]</sup>。

Ang1在实验性兔CNV组织中出现高表达, PEDF表达程度降低, 说明Ang1和PEDF在CNV的形成中具有拮抗作用。Ang1在血管生成中的具体作用有拮抗血管内皮细胞凋亡, 增加管状结构的稳定性; 维持内皮细胞的静息状态和血管的完整; 吸引周细胞等血管周围细胞包围、支持内皮细胞; 抵制血管渗漏<sup>[8]</sup>。Ang1可能通过稳定视网膜新生血管网并促进其成熟、加强内皮细胞间连接、减少渗漏, 募集壁细胞抑制新生血管出芽, 这为脉络膜视网膜新生血管性疾病的治疗提供了崭新思路<sup>[9]</sup>。PEDF具有神经营养、抑制新生血管、抗肿瘤等多种功能, 其抗新生血管的功能尤为重要, 在糖尿病视网膜病变、AMD、缺血缺氧引起的眼部新生血管疾病中扮演着重要的角色。PEDF的减少创造了一个允许血管生成和神经病变的环境, 这可能有助于眼部新生血管和神经变性疾病的发展<sup>[10]</sup>。

在对兔CNV模型免疫组织化学染色的观察中我们发现, 蛭螭提取物组的视网膜组织切片中Ang1阳性信号表达较其他药物组弱, PEDF在蛭螭提取物组视网膜组织切片中的降低程度在所有药物组中最低, 表明Ang1在CNV的发生和发展中起着重要的作用, 而PEDF含量的降低可能引起CNV的发生。

目前治疗CNV的方法主要有激光光凝、光动力学治疗(PDT)、放射治疗、经瞳孔温热疗法(TTT)、手术治疗、基因治疗和生物药物治疗等, 其中生物药物中的Macugen, Lucentis和Avastin等已用于临床治疗新生血管性AMD, 并取得了其它方法难以达到的视力改善效果, 但通过玻璃体注射给药的方法带来的不便和可能产生的并发症也是大范围临床使用所要面临的问题<sup>[11]</sup>。

本实验通过对眼底照相、FFA和OCT检查结果的分析发现, 蛭螭提取物组实验兔CNV的生成率明显低于模型组。HE染色光镜观察结果显示, 蛭螭提取物组视网膜组织损伤程度, 出血、水肿等病理改变均较模型组明显减轻, 说明蛭螭提取物活血化瘀、改善血液循环、促进出血、水肿吸收的功能对于减轻视网膜损伤程度和促进组织修复方面有较好作用。

综上所述, 蛭螭提取物对实验性有色兔CNV中Ang1的高表达存在良性影响, 并能有效干预PEDF的降低, 从而起到抑制CNV形成、改善AMD眼底状态、保护视网膜组织的作用。但目前对蛭螭的研究尚处于初期阶段, 其作用于CNV的具体有效成分及抑制CNV生成的机制等都不明确, 还有待进一步的研究。

参考文献

- 1 阳长明, 侯世祥. 蛭螭滴眼液中氨基酸成分的测定. 湖南中医杂志 2001; 17(1): 57-59
- 2 Itagakai T, Ohkuma H, Katoh N, et al. Studies on experimental subretinal neovascularization. *Acta Soc Ophthalmol Jpn* 1985; 85(4): 600-610
- 3 Takehana Y, Kurokawa T, Kitamura T, et al. Suppression of laser-induced choroidal neovascularization by oral tranilast in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(2): 459-466
- 4 白建伟, 惠延年. 实验性视网膜下新生血管的荧光造影与眼底病理改变的相关性及意义. 第四军医大学学报 2000; 21(3): 388
- 5 张庆镐, 朴奎善, 李基俊, 等. 蛭螭矿物元素和维生素含量分析. 微量元素与健康研究 2002; 19(1): 30-31
- 6 彭清华, 李传课. 视网膜色素变性虚中夹瘀研究小结. 中国医药学报 1993; 8(6): 7-10
- 7 Ohno-Matsui K. Molecular mechanism for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi* 2003; 107(11): 657-673
- 8 Joussen AM. Vascular plasticity - The role of the angiopoietins in modulating ocular angiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239: 972-975
- 9 王应利, 惠延年. 血管生成素1对视网膜新生血管形成的作用及其机制. 中华眼底病杂志 2007; 23(2): 149-152
- 10 王绍飞, 任兵, 高晓唯. PEDF的研究进展. 国际眼科杂志 2007; 7(4): 1116-1118
- 11 李贞, 倪卫杰. 视网膜新生血管生物药物治疗研究进展. 国际眼科杂志 2007; 7(4): 1119-1123