

水蛭及其提取液在眼科疾病中的应用和相关研究

黄慧¹, 郑燕林¹, 李园媛²

引用: 黄慧, 郑燕林, 李园媛. 水蛭及其提取液在眼科疾病中的应用和相关研究. 国际眼科杂志 2021;21(4):644-647

基金项目: 四川省国际科技创新合作/港澳台科技创新合作项目 (No.2019YFH0117)

作者单位:¹(610075) 中国四川省成都市, 成都中医药大学附属医院眼科;²(710021) 中国陕西省西安市中医医院眼科

作者简介: 黄慧, 成都中医药大学附属医院在读博士研究生, 研究方向: 中西医结合治疗眼底病。

通讯作者: 郑燕林, 毕业于重庆医科大学, 硕士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 享受国务院政府特殊津贴专家, 四川省学术和技术带头人, 全国中医、中西医眼科学会常务委员, 四川省老年医学会眼科专委会主任委员, 四川省中西医结合眼科学会主任委员, 四川省眼科学会副主任委员, 四川省女医师协会眼科专业委员会主任委员, 研究方向: 中西医结合治疗眼底病. zyl3327@163.com

收稿日期: 2020-09-06 修回日期: 2021-02-25

摘要

中药水蛭具有较强的活血化瘀作用, 为眼病破血逐瘀之要药。水蛭在眼科中常应用于年龄相关性黄斑变性、糖尿病性视网膜病变、白内障、视网膜静脉阻塞等疾病, 其作用机制可能与抗血管内皮生长因子、改善微循环以及抗细胞凋亡等有关。此外, 在基础研究方面还发现水蛭提取液具有使细胞转分化的功能, 对人视网膜母细胞瘤细胞有抑制作用, 具体分子机制尚待进一步验证。本文综述了水蛭及其提取液在眼科疾病中的应用和研究现状, 为水蛭及其提取液治疗眼病的进一步研究提供更多提示。

关键词: 水蛭; 年龄相关性黄斑变性; 糖尿病性视网膜病变; 白内障; 视网膜静脉阻塞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.4.15

Application and related study of Hirudo and extract thereof in ophthalmic diseases

Hui Huang¹, Yan-Lin Zheng¹, Yuan-Yuan Li²

Foundation item: Sichuan International Science and Technology Innovation Cooperation Project/Hong Kong, Macao and Taiwan Science and Technology Innovation Cooperation Project (No. 2019YFH0117)

¹Department of Ophthalmology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China; ²Department of Ophthalmology, Xi'an Traditional Chinese Medicine Hospital, Xi'an 710021, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Yan-Lin Zheng. Department of Ophthalmology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China. zyl3327@163.com
Received: 2020-09-06 Accepted: 2021-02-25

Abstract

• Hirudo is highly effective in promoting blood circulation and removing blood stasis, a vital medicine for breaking blood and removing blood stasis in ophthalmopathy. Presently, Hirudo is commonly used in ophthalmology for age-related macular degeneration, diabetic retinopathy, cataract, retinal vein occlusion and other ophthalmic diseases, with the mechanism thereof possibly being related to anti-VEGF, improvement of microcirculation and anti-apoptosis. Further, although new functions have been found in Hirudo extract, such as transdifferentiation and inhibition of WERI-RB-1, these studies remain in the basic exploratory stage, and the specific molecular mechanism requires further verification. This paper concisely describes the application and research status of Hirudo and the extract thereof in ophthalmic diseases, so as to provide a new direction for further research on the treatment of ophthalmopathy using Hirudo and the extract thereof.

• **KEYWORDS:** Hirudo; age-related macular disease; diabetic retinopathy; cataract; retinal vein occlusion

Citation: Huang H, Zheng YL, Li YY. Application and related study of Hirudo and extract thereof in ophthalmic diseases. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2021;21(4):644-647

0 引言

2020版《中华人民共和国药典》一部中收录的水蛭为3种蛭的干燥全体, 这种药物性咸, 味道苦, 有少许毒性, 主破血通经、逐瘀消癥^[1]。水蛭属于虫类药, 这类药物被誉为“血肉有情之品”, 在临床中常用于活血化瘀、通络止痛、镇痉熄风等, 将虫类作为药物治疗的历史非常久远, 并且得到了广泛应用。其中在《本草纲目》中记载“咸走血, 苦胜血。水蛭之咸苦, 以除蓄血, 乃肝经血分药, 故能通肝经聚血”。随着科技的发展和进步, 经过不断地研究显示, 水蛭中含有17种氨基酸以及蛋白质, 其中包括8种人体必需氨基酸^[2], 另含有水蛭素、吻蛭素、组织胺以及肝素等; 在水蛭中还含有糖脂类、羧酸酯类以及蝶啶类等小分子; 此外也含有14种微量元素, 如锌、铁、锰、铜、硒、钴、铬、钼以及镍等^[3]。水蛭可以起到抗炎、镇痛、抗凝、抗纤维化、抗细胞凋亡、抗肿瘤等作用^[4-8], 在心脑血管疾病、肾脏疾病、整形外科中广泛应用。由于水蛭具有较强的活血化瘀作用, 破瘀不伤新血, 无损气分, 因此水蛭也可作为眼科破血逐瘀之要药, 并广泛应用于眼科多种疾病的治疗中。

1 水蛭在眼科疾病中的应用

1.1 年龄相关性黄斑变性 年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, ARMD) 是一种发病率与年龄

呈正相关的老年性疾病,双眼先后或同时发病,视力呈进行性损害。中医认为 ARMD 的产生和发展与肝脾肾存在密切关系,肝脾肾功能失调是本病主要的发病机制,湿性 ARMD 可诱发脉络膜新生血管(choroidal neovascularisation, CNV)形成, CNV 的发生是由于患者气血津液的失调导致眼底水液、痰湿、瘀血等病理产物的堆积,在发病的全过程中,痰湿、瘀血贯穿始终。全小林教授认为水蛭为破血药,主要应用于络脉瘀滞疾病^[9],所以水蛭治疗 ARMD 主要以化痰通络散瘀为主。孟文明^[10]通过观察活络散结汤(方药组含水蛭 15g)治疗 26 例痰瘀互结证湿性 ARMD 的临床疗效,以视力提高 1 行以上为有效,发现治疗组的有效率可达 77%。唐文婷^[11]采用自拟补益肝肾祛瘀汤(方剂含水蛭 6g)联合西药治疗 ARMD 患者 42 例,以治疗前后视力变化、黄斑区视网膜厚度以及视物模糊症状的改善情况进行疗效评定,结果显示治疗总有效率为 92.9%,高于对照组(单纯使用西药治疗)的 75.6%,两组不良反应发生率的比较差异无统计学意义($P>0.05$),提示自拟补益肝肾祛瘀汤的应用具有较高安全性,可长期服用。杨玉青等^[12]观察益气养阴散结通络汤(方剂含水蛭 3g)治疗气阴两虚,痰瘀阻络证型湿性 ARMD 的临床疗效,观察患者治疗前后视力、30°视野及黄斑区视网膜厚度的改善情况,治疗组总有效率 76.92%,高于对照组的 62.86%,差异有统计学意义($P<0.05$),提示此方能明显改善湿性 ARMD 患者的症状。

1.2 糖尿病性视网膜病变 糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)的基本病理过程主要为视网膜微血管的病变,是糖尿病微血管并发症之一。中医认为 DR 的发病机制在于消渴日久,耗气伤阴,以气阴两虚、阴阳两虚为本,以脉络瘀阻、痰浊凝滞为标,治疗常常予以益气养阴、活血化痰。由于 DR 归属络脉病变范畴,动物药的最大特点是动而不居,性善窜透,能深入体细道窄的络脉之中,以深搜剔络中伏邪^[13],因此水蛭常用于络脉病的治疗,作用机制可能在于改善微循环等。国内外研究也表明天然水蛭素可能通过阻断 PARS/p38/NF- κ B 等途径降低大鼠皮瓣炎症反应,具有改善微循环的潜能^[14-15]。临床使用含水蛭的中成药治疗非增殖期 DR 的疗效已取得了一定的进展,如芪明颗粒(成分:水蛭、黄芪、葛根、地黄、枸杞子、决明子、菟藟子、蒲黄)。一系列的临床试验发现芪明颗粒能够提升非增殖期 DR 患者的视力,改善黄斑水肿情况,使视网膜及脉络膜的血流加快,眼部血液循环得到改善,延缓 DR 的进展,且疗效安全,不良反应发生率^[16-19]。

1.3 白内障 白内障(cataract)的发生机制较为复杂,任何影响眼内环境的因素都可以直接或间接破坏晶状体的组织结构,其中晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LECs)过度凋亡是年龄相关性白内障产生的原因之一^[20]。中医则认为白内障的发病机制在于年老肝肾亏虚,精血不足,或因脾胃虚弱,肝热上扰致晶珠逐渐混浊。目前与水蛭相关的药物治疗白内障多与 LECs 相关,由福建省第二人民医院研制的复方水蛭滴眼液(SZ)是以民间验方为基础,以水蛭为主要成分,目前已经获得专利权, SZ 可减缓实验大鼠半乳糖白内障,其作用机制在于减轻因紫外线照射引起的 LECs 损伤,提高 LECs 核内的 DNA 含量,从而起到防

护紫外线照射引起 LECs 凋亡的作用^[21]。在一项为期 6mo 的 SZ 治疗年龄相关性白内障 100 眼的临床观察中,以矫正视力和晶状体混浊程度为疗效观察指标,结果显示 SZ 组有效率(66%)明显高于对照组(2%)($P<0.01$),且只有少数患者出现了不良反应,说明了其用药的安全性^[22]。

1.4 视网膜静脉阻塞 视网膜静脉阻塞(retinal vein occlusion, RVO)的发病率仅次于 DR,是较为常见的视网膜血管疾病,黄斑水肿和视网膜新生血管出血是 RVO 眼视力丧失的两个主要原因。中医脏腑学说认为 RVO 多因痰热内生,气滞血瘀,或因脾胃虚弱,脾不统血引起的血溢脉外,或因阴虚阳亢、气血逆乱,血不循经而溢于目内;以经络学说来看,目络为络脉在眼部的延伸,具有渗灌气血、联系脏腑的作用,“以通为用”是目络重要的生理特点^[23],因此视网膜阻塞性血管疾病疗法主要以通为主,兼以益气养阴。水蛭善破血逐瘀,通络散结,因此中药水蛭对于视网膜缺氧缺血性的血管病变具有良好的活血通络作用,有助于眼底出血后的吸收、黄斑水肿的减轻以及预防新生血管的形成。在一项中医临床试验中,采取分期治疗 RVO,并对治疗效果进行观察显示,采用“化痰散结片(成都中医药大学附属医院眼科研制并以水蛭为主药)”配合“益视片”治疗 RVO 干血期或者死血期,试验组疗效优于对照组^[24]。另有研究显示应用眼络通方(由水蛭、地龙、葛根、川芎、三棱组成)治疗兔 RVO 模型,兔视网膜组织中各时间点血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)mRNA 及蛋白表达量均较模型对照组显著降低,推测其抑制新生血管形成的作用机制可能与下调 VEGF 和 PDGF 在视网膜组织中的高表达有关^[25]。

1.5 其他眼科疾病 研究发现化痰散结片(以水蛭为主药)可以促进玻璃体血吸收,对防治增生性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreous retinopathy, PVR)的发生发展有一定作用^[26-27]。化痰散结片也能运用在视网膜脱离术后的视功能恢复,治疗组服用化痰散结片治疗 1、3mo 后的视力疗效显效率分别为 51.61%和 58.06%,且治疗 3mo 后治疗组显效率明显高于对照组,说明化痰散结片能有效改善视网膜脱离术后患者的玻璃体混浊,加快视网膜下积液吸收,促进视网膜平伏,有利于视功能的恢复^[28]。

此外,由于虫类药物具有通经活血、化痰散结的作用,一些学者认为水蛭对甲状腺相关眼病也有着不错的疗效。陈如泉教授认为甲状腺相关眼病的发病机制在于肝气郁久化火,痰瘀互结,或因肝脾不和,脾虚水湿聚而成痰,日久循经上行于目,痰血瘀阻于眼眶,水蛭破血逐瘀,能软坚散结,配合其他活血通络类药物可共奏化痰散结之功效^[29]。但水蛭在甲状腺眼病的临床应用未进行确切的疗效评估,需要做进一步的临床试验来观察其疗效是否可靠。

2 水蛭提取液在眼科中的研究现状

目前水蛭提取液在眼科基础研究中常见有 3 种提取方式:(1)水蛭渗滤液^[30]:水蛭粗粉定量,加体积分数 75%乙醇 200mL,使均匀润湿,加盖,放置 2h,装入渗滤筒中,添加体积分数 75%乙醇高出药面 3cm,排除筒内空气。加盖放置 48h 后放出药液,流速 3mL/min,并从药面不断添

加体积分数75%乙醇5000mL,渗滤液回收乙醇至无醇味,定容至实验所需量,药液经⁶⁰Co照射灭菌,备用。(2)水蛭水提醇沉提取液^[31]:取水蛭定量,加水煮3次,每次加水8倍,煎煮1h,滤过,合并3次滤液,浓缩至200mL,加95%乙醇,使含醇量至75%,静置过夜,滤过,滤液回收乙醇至无醇味,定容,药液经⁶⁰Co照射灭菌,备用。(3)水蛭水提液^[32]:水蛭干粉直接溶于PBS中,按一定比例混合浸提30min,滤过后备用。对于以上3种水蛭提取物的浓度均是根据《中华人民共和国药典》中使用凝血酶测定水蛭提取液中水蛭素的浓度来计算。

2.1 水蛭渗滤液

2.1.1 对新生血管的调控作用 有研究显示,64g/L水蛭渗滤液会导致RF-6A血管内皮细胞跨膜受体VEGFR2的表达大幅降低,抑制了血管内皮细胞增殖,推测可能是因为水蛭渗滤液与VEGFR2有相互作用,竞争性抑制了VEGF与VEGFR2的结合^[33]。在之后的一项实验中发现凝血酶能够在2、4、6、8、10h诱导RF-6A细胞TNF- α 表达的增加,而64g/L水蛭渗滤液能够抑制凝血酶诱导下TNF- α 的表达,推测水蛭渗滤液通过阻断凝血酶从而对视网膜血管内皮细胞TNF- α 表达下调,减少新生血管的生成^[34]。研究发现基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)与新生血管的产生密切相关,其中研究最多的是MMP-2,64g/L水蛭渗滤液作用于RF-6A细胞,以MMP-2和IV型胶原为检测指标,结果显示64g/L水蛭渗滤液促进了体外凝血酶诱导下细胞微环境中IV型胶原的合成,抑制了MMP-2的分泌,改变了细胞生长的微环境,对新生血管的形成有抑制作用^[35]。也有研究发现天然水蛭素在低浓度时可促进血管生成,而在高浓度时可抑制血管生成^[33],提示水蛭渗滤液对血管内皮细胞的生成可能有着一定调控作用,主要在于减少VEGF和TNF- α 等促血管生成因子的表达,抑制MMPs等酶的分泌,改变细胞生长的微环境,从而抑制血管内皮细胞增殖,对新生血管的产生有着一定的影响。

2.1.2 抗增生作用 由于视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium, RPE)是参与PVR的主要细胞之一,RPE受到不同刺激,重新进入细胞周期,使RPE异常增殖造成PVR的发生。郑燕林等^[36]研究发现不同浓度凝血酶均有不同程度促进RPE增殖作用,128mg/mL水蛭渗滤液对凝血酶诱导的RPE增殖具有抑制作用。一系列的研究发现水蛭渗滤液对RPE抑制的作用机制可能与P38MAPK信号转导通路以及G蛋白信号通路等有关^[37-38]。Bastiaans等^[39]通过研究得出结论,天然水蛭素可以显著降低增生性玻璃体病变患者玻璃体内凝血酶活性,抑制RPE促炎和促纤维化途径。这与水蛭素发挥抗凝的功效基本一致,因此我们推测水蛭渗滤液发挥抗增生作用机制的有效成分之一为水蛭素。

2.1.3 转分化作用 本课题组前期实验发现64g/L水蛭渗滤液可在体外诱导RPE形态类似神经元样细胞改变,并表达神经元特异性蛋白NSETIN,提示水蛭有诱导体外RPE向神经元分化的趋势^[40],因此水蛭具有调节视网膜干细胞活性及定向分化作用,并将分化细胞进行视网膜下腔移植来治疗退行性视网膜病变等是具有研究前景的。但由于水蛭的成分十分复杂,水蛭渗滤液发挥转分化作用

机制的有效成分尚不明确,仍需做更深入的探索。

2.2 水蛭水提醇沉提取液 LECs与白内障的发生发展密切相关,LECs的过度凋亡或者异常增殖均可能引起不同类型的白内障发生。周春阳等^[31]通过观察体外培养LECs,模拟白内障囊外摘除术[extra capsular cataract extraction (cataract surgery), ECCE]术后后发性白内障的发生发展过程,发现水蛭水提醇沉提取液对体外培养的牛LECs有明显生长抑制作用,其24、72h ID₅₀分别为31.85、30.69mg/mL,经比较差异无显著性($P>0.05$),且经作用24h后,观察到水蛭水提醇沉提取液能抑制LECs的贴壁,这为水蛭用于防治后发性白内障提供了实验依据。重组水蛭素与天然水蛭素的结构、药理作用高度相似^[41],孙宇等^[42]研究发现重组水蛭素经眼部黏膜给药后可以使半乳糖性白内障大鼠的晶状体混浊度减轻,可能是由于提高了超氧化物歧化酶(SOD)的活性,降低了晶状体中过氧化产物一丙二醛(MDA)浓度,LECs细胞膜稳定性和抗脂质过氧化能力逐渐恢复,从而达到预防和治疗白内障的效果。重组水蛭素变异体III(rHV3)对半乳糖介导的LECs损伤均具有较好的保护作用,rHV3能够显著降低高糖环境下LECs的p53表达,其抗细胞凋亡作用的机制之一是通过p53抑制线粒体介导的凋亡途径来起到对LECs的保护作用^[43-44]。水蛭水提醇沉提取液具有抑制LECs生长的作用,而重组水蛭素以及其变异体具有抗LECs凋亡的作用,推测水蛭的不同提取方法可能影响其有效成分发挥不同的药理作用,但其中具体的作用机制尚待进一步证实。

2.3 水蛭水提液 由于水蛭素具有强大的抗凝血功能,故有利于药物进入组织杀灭肿瘤细胞。李园媛等^[32]使用水蛭素浓度为0.04、0.08U/mL的水蛭水提液体外作用于人视网膜母细胞瘤细胞(WERI-RB-1),对细胞的增殖、凋亡以及侵袭能力进行检测,研究结果表明水蛭水提液可以有效抑制WERI-RB-1细胞的增殖和侵袭,并能诱导细胞凋亡,有望能成为视网膜母细胞瘤的治疗药物,但其分子机制还需深入研究。

3 小结与展望

中药水蛭的功效多为破血通经、逐瘀消癥,因此水蛭目前在眼科疾病中多用于各种血症的治疗,其发挥作用的机理主要为抗VEGF、改善微循环障碍、抗细胞凋亡以及抗增生等,通过临床研究数据显示均取得了一定疗效。对水蛭提取液的研究也在不断深入与创新,如水蛭提取液可能诱导细胞分化、水蛭水提液可以有效抑制视网膜母细胞瘤细胞增殖等,这为中药发挥其多元化的特性治疗视力丧失性眼科疾病提供了更多方向。

然而,由于中药成分的复杂性,水蛭及其提取液的临床应用和基础研究依然存在许多问题:(1)水蛭入药治疗眼病以复方和中成药为主,中药复方等成分组成极其复杂,因此不能判定发挥作用机制的主要药物是否为水蛭,水蛭的有效成分组成至今未得到完全解释;(2)水蛭的提取方式有多种,前期的研究显示不同的提取方式可能使水蛭发挥不同的药理作用,但目前水蛭的提取方式尚缺乏标准的质量控制体系,因此不能确定水提取液的稳定性和绝对有效性;(3)水蛭古今医书均记载有毒,在《本经》中列为下品,虽据现代药理研究较为安全可靠,但在临床应用时其用量安全问题仍未得到完全解决。因此未来对于水

蛭的研究应该注重其成分分析,形成较为标准的中药质量控制体系,使水蛭发挥作用的机制得到更全面的阐释,提高水蛭应用的安全性和有效性。

参考文献

- 1 国家药典编委会. 中华人民共和国药典 2020 年版一部. 北京: 中国医药科技出版社 2020; 85-86
- 2 Xu L, Li X, Zhang E, et al. The effect of leech extracts on endothelial cell coagulation - related factors and endothelial dysfunction - related molecules. *Clin Exp Hypertens* 2019; 41(3): 220-230
- 3 李国强, 李韵仪, 李桃, 等. 水蛭的化学成分研究. 天津中医药 2018; 35(9): 703-705
- 4 Baranzini N, De Vito A, Orlandi VT, et al. Hirudo verbana Antimicrobial Role of RNASET2 Protein During Innate Immune Response in the Medicinal Leech. *Front Immunol* 2020; 11: 370
- 5 Lu J, Chen X, Xu X, et al. Active polypeptides from Hirudo inhibit endothelial cell inflammation and macrophage foam cell formation by regulating the LOX-1/LXR- α /ABCA1 pathway. *Biomed Pharmacother* 2019; 115: 108840
- 6 Stange R, Moser C, Hopfenmueller W, et al. Randomised controlled trial with medical leeches for osteoarthritis of the knee. *Complement Ther Med* 2012; 20: 1-7
- 7 Sig AK, Guney M, Uskudar Guclu A, et al. Medicinal leech therapy - an overall perspective. *Integr Med Res* 2017; 6: 337-343
- 8 季漪, 李柳, 吴勉华. 水蛭抗肿瘤作用机制研究进展. 中国中医药信息杂志 2015; 22(3): 131-133
- 9 顾成娟, 何莉莎, 王涵. 仝小林教授运用水蛭经验. 环球中医药 2017; 10(5): 579-580
- 10 孟文明. 活络散结汤治疗痰瘀互结证渗出性年龄相关性黄斑变性临床研究. 中医学报 2013; 28(3): 442-443
- 11 唐文婷. 自拟补益肝肾祛瘀汤治疗老年黄斑病变临床观察. 四川中医 2016; 34(2): 167-169
- 12 杨玉青, 王慧敏, 杨秀荣, 等. 益气养阴散结通络法治疗湿性年龄相关性黄斑变性临床研究. 新中医 2020; 52(1): 126-129
- 13 朱立, 赵进喜, 刘宁, 等. 水蛭虻虫, 活血可通络; 虻虫鳖甲, 化痰散结. 环球中医药 2019; 12(9): 1339-1341
- 14 Peng L, Pan X, Yin G. Natural Hirudin Increases Rat Flap Viability by Anti-Inflammation via PARs/p38/NF- κ B Pathway. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 597264
- 15 Fichter AM, Ritschl LM, Robitzky LK, et al. Impact of different antithrombotics on the microcirculation and viability of perforator-based ischaemic skin flaps in a small animal model. *Sci Rep* 2016; 6(1): 35833
- 16 张岩, 马军艳, 王翠. 芪明颗粒治疗非增殖期糖尿病视网膜病变的效果分析. 中国实用医药 2016; 11(12): 151-152
- 17 李春艳, 杨莉. 芪明颗粒治疗肝肾阴虚型非增殖期糖尿病视网膜病变患者的临床效果分析. 临床医学研究与实践 2017; 2(29): 37-38
- 18 李科军, 赵智华, 樊芳, 等. 芪明颗粒对糖尿病患者脉络膜循环的影响. 国际眼科杂志 2016; 16(3): 499-501
- 19 范艳萍, 李勇峰, 陈国亮, 等. 芪明颗粒对非增殖期糖尿病视网膜病变的疗效及安全性评价. 国际眼科杂志 2018; 18(12): 2260-2263
- 20 Tian F, Zhao J, Bu S, et al. KLF6 Induces Apoptosis in Human Lens Epithelial Cells Through the ATF4-ATF3-CHOP Axis. *Drug Des Devel Ther* 2020; 14: 1041-1055
- 21 严京, 祁明信, 黄秀榕. 复方水蛭滴眼液对紫外线诱导的人晶状体上皮细胞凋亡的保护作用. 世界中西医结合杂志 2010; 5(8): 669-671, 675
- 22 黄秀榕, 祁明信, 张松青, 等. 用晶体混浊分类系统 III 探讨复方

- 水蛭滴眼液防治老年性白内障的临床研究. 中国临床药理学与治疗学 2004; 9(1): 63-66
- 23 张铭连, 庞午, 张越, 等. 基于经络理论探讨目络学说在眼科的应用. 中国中医眼科杂志 2018; 28(3): 187-188
- 24 郑燕林, 孙丽萍, 乔利峰. 中医分期治疗视网膜静脉阻塞疗效观察. 中国中医眼科杂志 2009; 19(1): 24-27
- 25 冯燕兵, 熊烈, 石彦波, 等. 眼络通方对兔视网膜静脉阻塞模型促血管新生因子 PDGF、VEGF 表达的影响. 浙江中医药大学学报 2020; 44(7): 605-612
- 26 王小莉, 雷晓琴. 化瘀散结片对兔眼外伤性增生性玻璃体视网膜病变血液流变学的影响. 国际眼科杂志 2005; 5(4): 663-665
- 27 黄映红, 曾洁萍, 王明芳, 等. 化瘀散结片对兔增生性玻璃体视网膜病变增生膜的形成及玻璃体内血小板源性生长因子浓度的影响. 中国中医眼科杂志 2007; 17(5): 270-273
- 28 郑燕林, 王菲, 王芳娟, 等. 化瘀散结片对视网膜脱离术后视功能恢复的影响. 新中医 2011; 43(2): 86-88
- 29 赵勇. 陈如泉教授虫类药治疗甲状腺相关眼病经验. 光明中医 2011; 26(12): 2411-2412
- 30 熊欣, 彭琦, 郑燕林. 水蛭提取物对血管内皮细胞 VEGF 受体-2 表达的影响. 国际眼科杂志 2009; 9(1): 41-43
- 31 周春阳, 郑燕林, 盛蓉, 等. 水蛭提取液对体外培养牛晶状体上皮细胞生长抑制的实验研究. 中国中医眼科杂志 2006; 16(3): 157-160
- 32 李园媛, 郑燕林, 刘晓莉, 等. 水蛭提取液对人视网膜母细胞瘤细胞的抑制作用. 国际眼科杂志 2020; 20(10): 1693-1698
- 33 储俐, 郑燕林, 李妍, 等. 水蛭渗滤液对猴 RF/6A 细胞表达 TNF- α 的影响. 中国中医眼科杂志 2015; 25(5): 314-317
- 34 郑燕林, 刘聪慧, 沙菽. 水蛭提取液对体外培养 RF/6A 的细胞液中 MMP-2、IV 型胶原含量的影响. 眼科新进展 2014; 34(1): 13-16
- 35 Lin G, Lin B, Zhu J, et al. Effect of natural hirudin on angiogenesis of human microvascular endothelial cells. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2018; 32(12): 1586-1591
- 36 郑燕林, 王明芳, 盛蓉, 等. 水蛭提取液对凝血酶诱导的视网膜色素上皮细胞增殖的影响. 中国中医眼科杂志 2005; 15(4): 199-201
- 37 王禹燕, 郑燕林, 刘嘉立, 等. 水蛭提取液体外对人视网膜色素上皮细胞 PAR-1 表达的影响. 国际眼科杂志 2009; 9(8): 1453-1455
- 38 郑燕林, 李妍, 陈晓玲, 等. 水蛭提取液对 p38 丝裂原活化蛋白激酶介导的人视网膜色素上皮细胞信号转导途径的影响. 眼科新进展 2009; 29(5): 321-324
- 39 Bastiaans J, van Meurs JC, Mulder VC, et al. The role of thrombin in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55(7): 4659-4666
- 40 郑燕林, 殷莉, 王宜燕, 等. 水蛭提取液诱导视网膜色素上皮细胞转分化的初步研究. 眼科研究 2007; 25(12): 926-927
- 41 Dong X, Meng Z, Jin J, et al. Development, validation, and clinical pharmacokinetic application of ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for simultaneously determining a novel recombinant hirudin derivative (Neorudin) and its active metabolite in human serum. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2017; 1063: 204-213
- 42 孙宇, 李运曼, 夏仁睿, 等. 重组水蛭素对实验性白内障的防治作用. 中国药科大学学报 2005; 36(3): 260-262
- 43 Ou Y, Liao GY, Wu WT. Potential use of hirudin in diabetic cataract: a study of galactose mediated human lens epithelial cells injury. *Chem Biol Interact* 2008; 173(2): 141-147
- 44 Ou Y, Liao G, Yuan Z, et al. Protective effect of recombinant hirudin variant III against galactose-mediated rat lens epithelial cell damage. *Curr Eye Res* 2012; 37(3): 187-194