

复方血栓通胶囊对高海拔视网膜病变大鼠的保护作用

杨 义, 张文芳, 李玉婷, 赵 鑫, 张金红, 张冬梅, 李 志

引用: 杨义, 张文芳, 李玉婷, 等. 复方血栓通胶囊对高海拔视网膜病变大鼠的保护作用. 国际眼科杂志 2021; 21(2): 211-216

基金项目: 甘肃省中医药管理局科研课题 (No. GZK-2016-9)

作者单位: (730000) 中国甘肃省兰州市, 兰州大学第二医院眼科
作者简介: 杨义, 毕业于重庆医科大学, 眼科学博士, 副主任医师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 张文芳, 毕业于北京大学, 眼科学博士, 主任医师, 研究方向: 眼底病. zhangwf@lzu.edu.cn

收稿日期: 2019-12-25 修回日期: 2021-01-07

摘要

目的: 探讨复方血栓通胶囊对高海拔视网膜病变大鼠的保护作用及其作用机制。

方法: 雄性 SD 大鼠 24 只随机分为 6 组, 分别饲养于模拟高海拔 5000m 的高原舱内 2、4、6、10、24、72h, 观察各组大鼠视网膜组织形态, HIF-1 α 的表达和入舱前后大鼠视网膜电图中暗适应最大反应 b 波振幅的变化; 雄性 SD 大鼠 24 只随机分为 4 组, 分别予安慰剂, 大花红景天口服液, 肌苷片及复方血栓通胶囊灌胃喂药 7d 后, 饲养于模拟海拔为 5000m 模拟舱内 10h, 观察各组大鼠视网膜组织形态, HIF-1 α 的表达和入舱前后大鼠视网膜电图中暗适应最大反应 b 波振幅的变化。

结果: 高海拔视网膜病变 SD 大鼠模型中, 结果显示随着各实验时间的增加, 神经节细胞层细胞肿胀明显, HIF-1 α 在神经节细胞及内核层细胞胞浆表达增高, 均在 10h 时最为明显。各组 SD 大鼠进舱自身前后 F-ERG 暗适应最大反应 b 波振幅变化分析, 4、6、10、72h 组 F-ERG 暗适应最大反应 b 波振幅显著降低 ($P < 0.05$); 2h 组和 4h 组 ($P = 0.007$)、6h 组 ($P = 0.008$)、10h 组 ($P = 0.002$) 有差异, 24h 组和 4h 组 ($P = 0.035$)、6h 组 ($P = 0.040$)、10h 组 ($P = 0.012$) 有差异。复方血栓通对 SD 大鼠高海拔视网膜病变预防作用研究中, 结果显示与安慰剂组相比较, 复方血栓通组、红景天组及肌苷组的视网膜水肿均明显减轻, 但复方血栓通组与红景天组视网膜水肿程度明显低于肌苷组; 复方血栓通组及红景天组 HIF-1 α 在神经节细胞层及内核层表达明显下降; 各组 SD 大鼠进舱后 F-ERG 暗适应最大反应 b 波振幅比较显示, 安慰剂组与复方血栓通组 ($P = 0.032$), 红景天组 ($P = 0.001$) 均有差异。

结论: 在模拟高海拔环境下, 复方血栓通可能是通过抑制 HIF-1 α 的表达对大鼠高海拔视网膜病变有保护作用, 但是具体作用机制有待我们进一步研究。

关键词: 高海拔视网膜病变; HIF-1 α ; 闪光 ERG; 暗适应最大反应 b 波; 复方血栓通胶囊

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.2.04

Protective effect of complex thrombolysis capsule on high altitude retinopathy in rat models

Yi Yang, Wen-Fang Zhang, Yu-Ting Li, Xin Zhao, Jin-Hong Zhang, Dong-Mei Zhang, Zhi Li

Foundation item: Project of Administration of Traditional Chinese Medicine in Gansu Province (No. GZK-2016-9)

Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Wen - Fang Zhang. Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. zhangwf@lzu.edu.cn

Received: 2019-12-25 Accepted: 2021-01-07

Abstract

• **AIM:** To investigate the protective effect of complex thrombolysis capsule on high altitude retinopathy in rat models and its possible mechanism.

• **METHODS:** Twenty - four adult male SD rats were randomly divided into 6 groups and were put into plateau environment simulation experimental chamber at simulated altitude of 5 000m for 2, 4, 6, 10, 24, 72h respectively. Retinal pathology, HIF-1 α and the b wave amplitudes of Max-R of flash ERG were examined by HE, IHC and flash ERG. Twenty-four adult male SD rats were randomly divided into 4 groups and were given respectively placebo, rhodiolarosea, inosine tablet and compound xueshuantong capsule by gavage for 7d. They were put into plateau environment simulation experimental chamber at simulated altitude of 5000m for 10h. Retinal pathology, HIF-1 α and the b wave amplitudes of Max-R of flash ERG were examined by HE, IHC and flash ERG.

• **RESULTS:** In the SD rat model of high - altitude retinopathy, with the increase of experimental time, the ganglion cell layer of rat's retina showed obvious edema and HIF-1 α expression increased in the cytoplasm of ganglion cells and core cells. All of them were most obvious at 10h. Compared with the self-comparison of b wave amplitudes of Max-R of flash ERG in each group of SD rats before and after entering in plateau environment simulation experimental chamber, the b wave amplitudes of Max - R in 4h, 6h, 10h and 72h were dramatically decreased ($P < 0.05$). And the 2h, 4h ($P = 0.007$), 6h ($P = 0.008$), 10h ($P = 0.002$) were statistically significant differences, the 24h and 4h ($P = 0.035$), the 6h ($P = 0.040$) and 10h ($P = 0.012$) were also statistically significant differences. In the study of protective effect of complex

thrombolysis caps on high altitude retinopathy in rat models, the results showed that the rat retinal edema of rhodiolarosea group, inosine tablet group and compound thrombolysis capsule group and HIF-1 α expression in ganglion cell layer of compound thrombolysis group and rhodiolarosea group were significantly reduced comparing with the placebo group. Test for homogeneity of variance and one-way ANOVA were used to test the difference of b wave amplitudes of Max-R of flash ERG in four groups of SD rats after entering in the plateau environment simulation experimental chamber, the results showed the complex thrombolysis caps group ($P=0.032$) and rhodiolarosea group ($P=0.001$) was significantly lower than placebo group.

• CONCLUSION: Compound thrombolysis caps may have a protective effect on high altitude retinopathy in rats by inhibiting the expression of HIF-1 α , however, the specific mechanism needs to be further studied.

• KEYWORDS: high altitude retinopathy; HIF-1 α ; flash ERG; b wave amplitudes of Max-R; compound thrombolysis capsule

Citation: Yang Y, Zhang WF, Li YT, et al. Protective effect of complex thrombolysis capsule on high altitude retinopathy in rat models. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021;21(2):211-216

0 引言

高海拔视网膜病变是一种常见的高原疾病,临床上常常以视网膜血管的扭曲扩张,视网膜斑点状或火焰状出血,棉絮斑,玻璃体出血和视盘水肿为特征^[1]。近年随着高原地区经济的发展,高海拔视网膜病演变为影响高原旅游人群视功能损伤的主要原因,高海拔视网膜病变的发病率逐年增加^[2]。目前对高海拔视网膜病变的发病机制并不清楚,其预防及治疗仍在探索研究阶段。既往有研究指出黄芪、人参、红景天、藏麻等传统中药在高原疾病防治中有着重要的临床应用价值^[3],复方血栓通胶囊的主要成分为三七、黄芪、丹参和玄参,具有活血化瘀,益气养阴的功效。本文拟利用高原仓模拟高原缺氧环境,通过动物实验研究高海拔视网膜病变的发病机制,初步探讨复方血栓通胶囊在高海拔视网膜病变的预防作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康清洁级雄性 SD 大鼠 48 只,年龄 8~10 周龄,体质量 200 \pm 20g,来自于兰州大学动物实验中心[SCXK(甘)2013-0002],裂隙灯下见双眼角膜透明,前房清,晶状体透明,直接检眼镜下眼底未见明显异常。饲养于通风、安静、阴暗环境,室内温度 18 $^{\circ}$ C~26 $^{\circ}$ C,湿度 30%~60%,干燥、新鲜饲料喂养大鼠。实验动物及实验使用条件均参照国家《实验动物管理条例》的规定执行。本研究通过兰州大学第二医院伦理委员会批准(审批编号: D2017-098)。

1.1.2 主要试剂与仪器 主要试剂:戊巴比妥钠(北京普博斯生物有限公司),速眠新 II 注射液(吉林省敦化市圣达动物药品有限公司),复方托吡卡胺滴眼液(沈阳兴齐),卡波姆眼用凝胶,苏木素染液(北京, Solarbio life science),HIF-1 兔抗鼠抗体(北京博奥森生物技术有限公

司),DAB 显色试剂(北京博奥森生物技术有限公司),大花红景天口服液(国药准字 B20070002,西藏藏药集团股份有限公司),复方血栓通胶囊(国药准字 Z20030017,广东众生药业股份有限公司),肌昔片(国药准字 H44021166,广东恒健制药有限公司)。主要仪器设备:高原环境负压模拟舱(HA-6,潍坊华信氧业有限公司),罗兰视觉电生理仪(德国 ROLAND)。

1.2 方法

1.2.1 高海拔视网膜病变动物模型的建立 雄性 SD 大鼠 24 只随机分为 6 组,每组 4 只,速眠新 II 注射液和 1%戊巴比妥钠注射液腹腔麻醉后,散瞳,暗适应 3h,行电生理检查,再次标准喂养 1d,然后分别饲养于模拟高海拔舱内 2、4、6、10、24、72h。模拟舱的各参数设置为:海拔 5000m,气压:54.02kPa,氧分压:11.3kPa,温度:22 $^{\circ}$ C~26 $^{\circ}$ C,相对湿度:26%~30%,海拔上升速度:16m/s,控制器参数设置 SP1=0.304,SP2=0.307,自动调控系统维持舱内负压恒定。各组大鼠出舱后,立即腹腔注射麻醉药物麻醉大鼠后,再次行电生理检查,随后处死大鼠,将右眼球浸入固定液内固定,行苏木精-伊红(HE)染色观察大鼠视网膜组织形态及免疫组织化学(IHC)染色观察大鼠视网膜缺氧诱导因子(HIF)-1 α 的表达。

1.2.2 复方血栓通对大鼠高原视网膜病变的预防作用

雄性 SD 大鼠 24 只随机分为 4 组,每组 6 只,腹腔麻醉后行电生理检查,标准饲养 1d 后,根据人体用药量换算成大鼠等效剂量作为大鼠给药量,分别在每日 13:00 给予安慰剂(生理盐水),大花红景天口服液(40mL/kg),肌昔片(240mg/kg)及复方血栓通胶囊(0.45g/kg)灌胃,连续 7d,7d 喂药结束后饲养于模拟海拔为 5000m 模拟舱内(具体参数如高海拔视网膜病变动物模型的建立)。10h 后出舱,腹腔麻醉后再次行电生理检查,然后处死大鼠摘取右眼球行 HE 染色观察大鼠视网膜组织形态及免疫组织化学染色观察大鼠视网膜 HIF-1 α 的表达。

1.2.3 电生理检查 根据大鼠视网膜电图和闪光视觉诱发电位记录标准化方案,每只大鼠出舱后,暗适应 3h 后,暗箱转移至暗室,弱红光照条件下行大鼠腹腔麻醉,散瞳,双眼角膜处放置角膜电极,尾部皮下刺入接地电极,双侧颊黏膜刺入参考电极后再次暗适应 5min 后进行 F-ERG 检查,记录双眼 F-ERG 的 b 波振幅。每只大鼠均统一选择右眼 F-ERG 数据进行统计学分析。

1.2.4 HE 染色观察大鼠视网膜组织形态 大鼠处死后,取右眼球将其浸入固定液内固定 48h,然后用眼科显微剪沿着角膜缘剪开眼球,小心去除角膜,晶状体后沿视神经剪开眼球,乙醇脱水,石蜡包埋,冷却切片,展片,烤片,脱腊后苏木精染色,0.5%盐酸乙醇分化,氨水返蓝,伊红染色,酒精脱水,最后滴入中性树脂封片,光学显微镜观察、采集图像。

1.2.5 IHC 染色观察大鼠视网膜 HIF-1 α 的表达 取出固定液内的眼球,去除角膜、晶状体,平行视轴切开眼球,脱水,包埋,切片后,切片常规脱腊至水,热修复抗原,切片冷却,PBS 漂洗,3% H₂O₂ 室温孵育,再次 PBS 漂洗,滴加 Ultra V Block 室温孵育后 PBS 液漂洗,加兔抗 HIF-1 α (1:300);0.1mol/L PBS 替代一抗作阴性对照。滴加生物素标记二抗,孵育后冲洗,滴加辣根酶标记链霉卵白素,孵育冲洗,DAB 显色,镜下观察染色效果,漂洗,苏木精复染,脱水、透明、封片,观察采图。

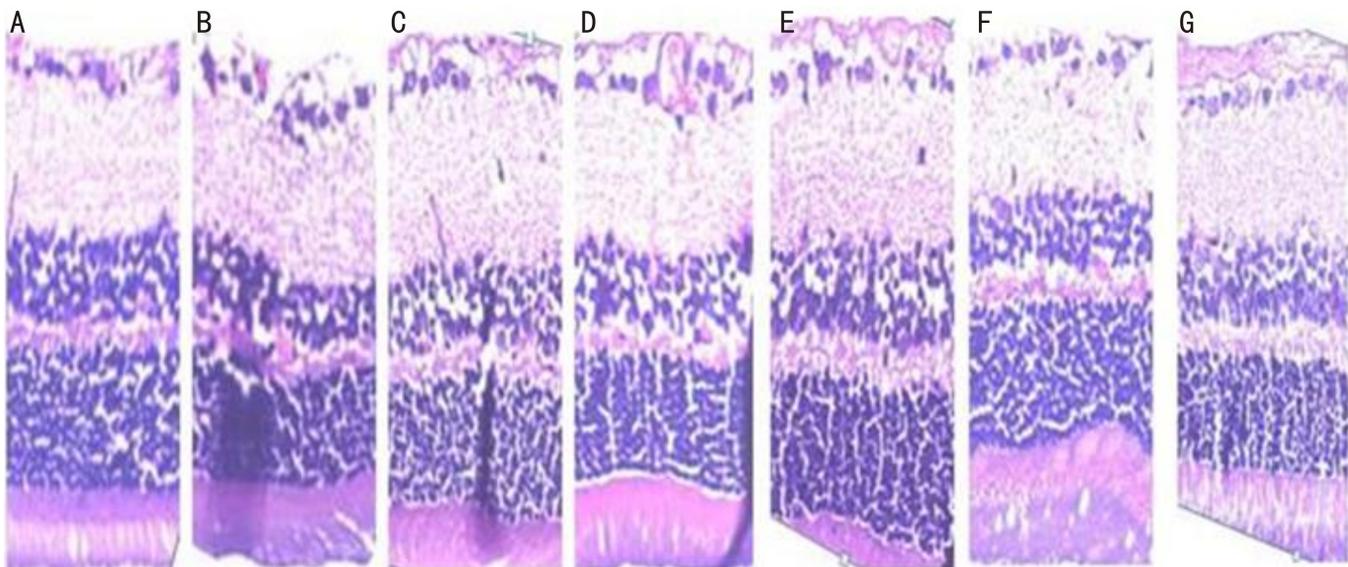


图1 5000m海拔高度 HE 染色显示的视网膜水肿状态(×200) A:0h;B:2h;C:4h;D:6h;E:10h;F:24h;G:72h。

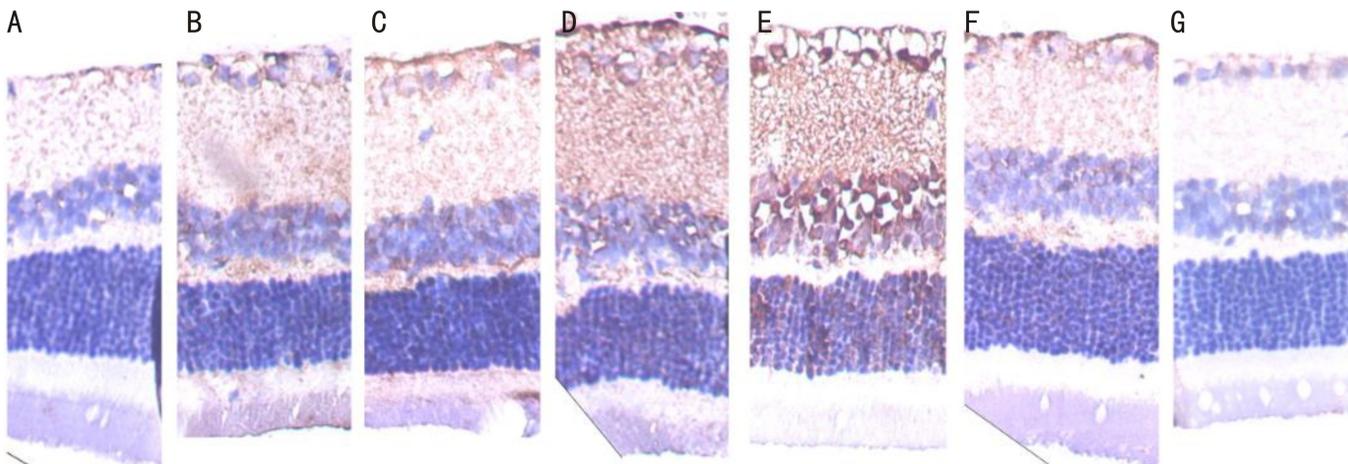


图2 5000m海拔高度各组 SD 大鼠视网膜组织 HIF-1α 免疫组化染色像(×200) A:0h;B:2h;C:4h;D:6h;E:10h;F:24h;G:72h。

统计学分析:本实验所得的数据均输入 SPSS 22.0 软件包进行统计学分析。每个时间组入舱前和入舱后的 SD 大鼠视网膜 F-ERG 自身前后对照比较采用配对样本 *t* 检验。每组大鼠相互之间进舱前后视网膜 F-ERG 变化比较采用单因素方差分析,如总体差异有统计学意义,再采用 LSD-*t* 检验进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高海拔视网膜病变 SD 大鼠模型的建立

2.1.1 5000m 海拔高度下不同时间 SD 大鼠视网膜 HE 染色 HE 结果显示模拟海拔 5000m 时,正常对照组(0h) SD 大鼠视网膜各层结构规整,细胞排列整齐,视网膜神经节细胞边缘清晰完整,分布均匀。在高海拔视网膜病变 SD 大鼠模型中,随着各实验时间的增加,神经节细胞层细胞肿胀明显,内核层细胞间水肿明显,外核层层距明显增加,外丛状层疏松;并且在 10h 达到高峰,随着时间的进一步推移,视网膜各层水肿仍存在,但逐渐减轻(图 1)。

2.1.2 5000m 海拔高度下不同时间 SD 大鼠视网膜免疫组化染色 免疫组化 HIF-1α 染色显示在正常对照组(0h) SD 大鼠视网膜组织中,HIF-1α 在神经节细胞层微量表达,在高海拔视网膜病变 SD 大鼠模型中,随着各实验时间的增加,大鼠视网膜组织中,HIF-1α 在神经节细

表 1 各组 SD 大鼠进入高原模拟舱前后 F-ERG 暗适应最大反应 b 波振幅 ($\bar{x} \pm s, \mu V$)

组别	进舱前	进舱后	<i>t</i>	<i>P</i>
2h 组	510.50±29.22	477.75±61.42	1.795	0.170
4h 组	479.50±45.05	340.50±38.54	3.650	0.035
6h 组	496.29±14.91	343.75±90.57	3.929	0.029
10h 组	527.75±21.00	318.25±77.79	5.358	0.013
24h 组	535.50±36.76	444.75±63.80	2.410	0.095
72h 组	516.75±11.12	398.25±21.78	8.248	0.004

胞及内核层细胞胞浆明显着色,表达增高,10h 时最为明显,随后 24h 及 72h HIF-1α 表达较 10h 降低(图 2)。

2.1.3 5000m 海拔高度下不同时间入舱前后 SD 大鼠视网膜 F-ERG

2.1.3.1 5000m 海拔高度下各时间组入舱前后 SD 大鼠视网膜 F-ERG 比较 模拟 5000m 海拔高度下,各组 SD 大鼠进舱前后 F-ERG 暗适应最大反应 b 波振幅检测结果见图 3,各组进舱前后自身对照比较,结果显示 2h 和 24h 组 F-ERG 暗适应最大反应 b 波振幅在进入高原模拟舱前后未见明显改变($P > 0.05$),4、6、10、72h 组 F-ERG 暗适应最大反应 b 波振幅在进入高原模拟舱前后有明显改变,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

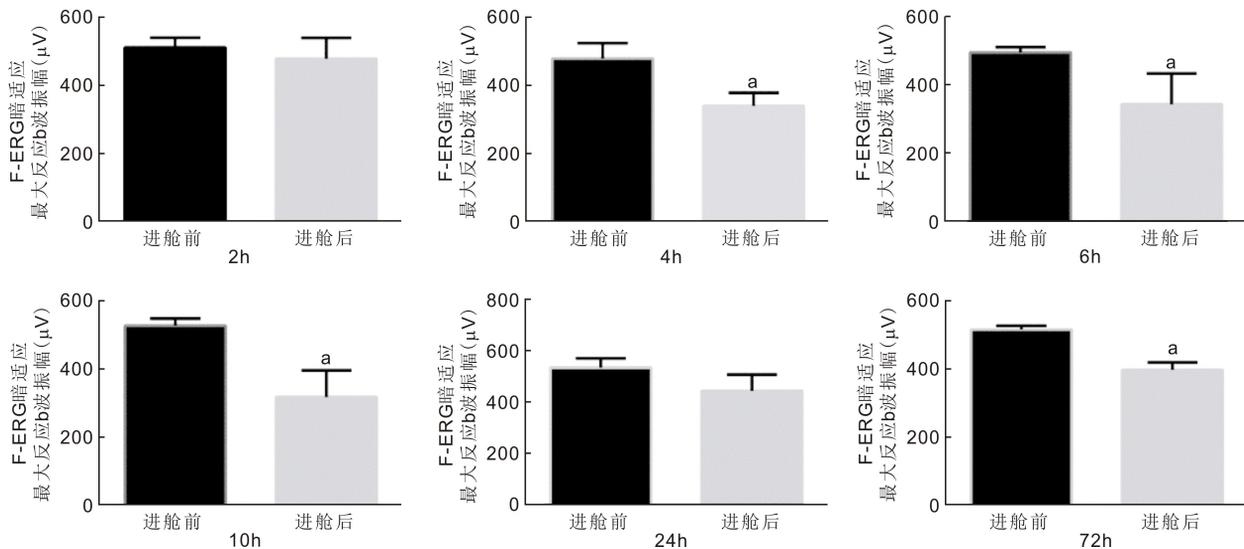


图3 各时间组SD大鼠进舱前和进舱后的视网膜F-ERG暗适应最大反应b波振幅 ^a $P < 0.05$ vs 进舱前。

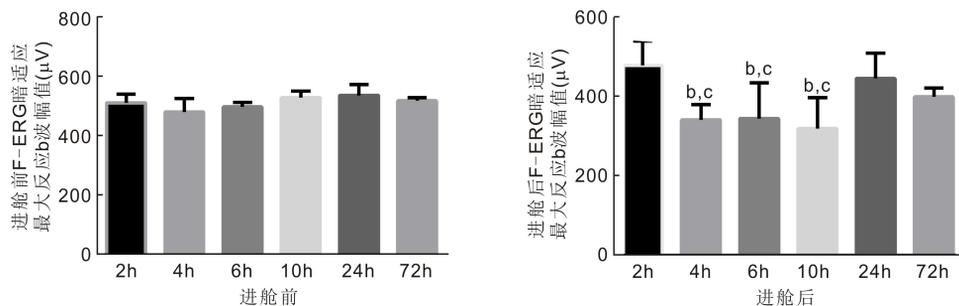


图4 各组SD大鼠进入高原模拟舱前后F-ERG暗适应最大反应b波振幅 ^b $P < 0.05$ vs 2h组; ^c $P < 0.05$ vs 24h组。

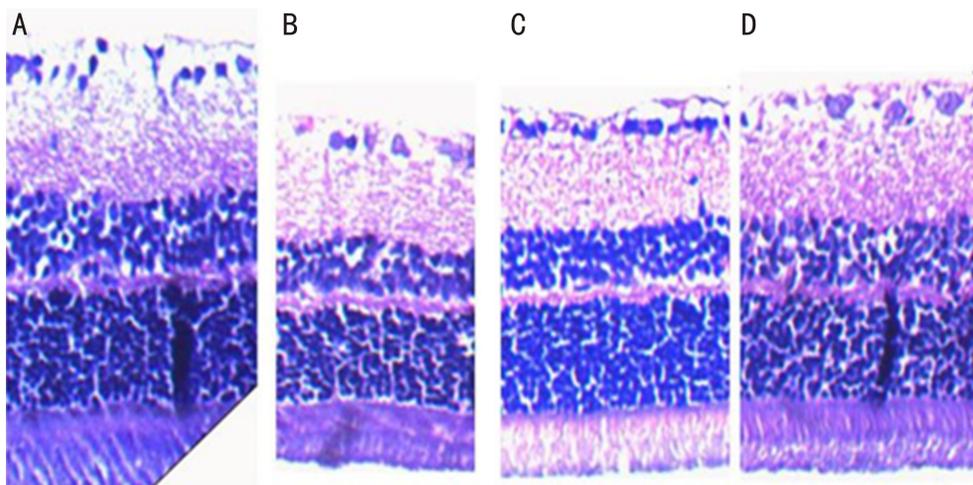


图5 5000m海拔高度各组SD大鼠视网膜HE染色结果($\times 200$) A:安慰剂组;B:复方血栓通组;C:红景天组;D:肌苷组。

2.1.3.2 5000m海拔高度下各时间组间入舱前后SD大鼠视网膜F-ERG比较 模拟5000m海拔高度下,各组SD大鼠进舱前和进舱后F-ERG暗适应最大反应b波振幅检测结果见图4。进舱前各组间b波幅值比较,差异无统计学意义($F = 1.471, P = 0.236$);进舱后各组间b波幅值比较,差异有统计学意义($F = 3.809, P = 0.010$)。进舱后各组间两两比较,2h组与4h组、6h组、10h组比较,差异有统计学意义($P = 0.007, 0.008, 0.002$);24h组与4h组、6h、10h组比较,差异有统计学意义($P = 0.035, 0.040, 0.012$),余各组两两比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 复方血栓通对SD大鼠高海拔视网膜病变预防作用
 2.2.1 各组SD大鼠视网膜HE染色结果 分别给予安慰剂(生理盐水)、复方血栓通、红景天及肌苷连续灌胃7d

后,将SD大鼠置于模拟海拔5000m高原舱内10h后,结果显示复方血栓通组、红景天组及肌苷组的视网膜水肿与安慰剂组相比较均明显减轻,且复方血栓通组与红景天组视网膜水肿程度明显低于肌苷组,其中复方血栓通组内核层细胞水肿程度最低,红景天组神经节细胞层水肿程度最低(图5)。

2.2.2 各组SD大鼠视网膜HIF-1 α 表达免疫组化染色 分别予安慰剂(生理盐水),复方血栓通,红景天及肌苷连续灌胃7d后,将SD大鼠置于模拟海拔5000m高原舱内10h后,结果显示HIF-1 α 在安慰剂组SD大鼠视网膜组织的神经节细胞层及内核层明显表达,复方血栓通组及红景天组HIF-1 α 在神经节细胞层及内核层表达较安慰剂组明显下降,尤其在红景天组HIF-1 α 在神经节细胞层及

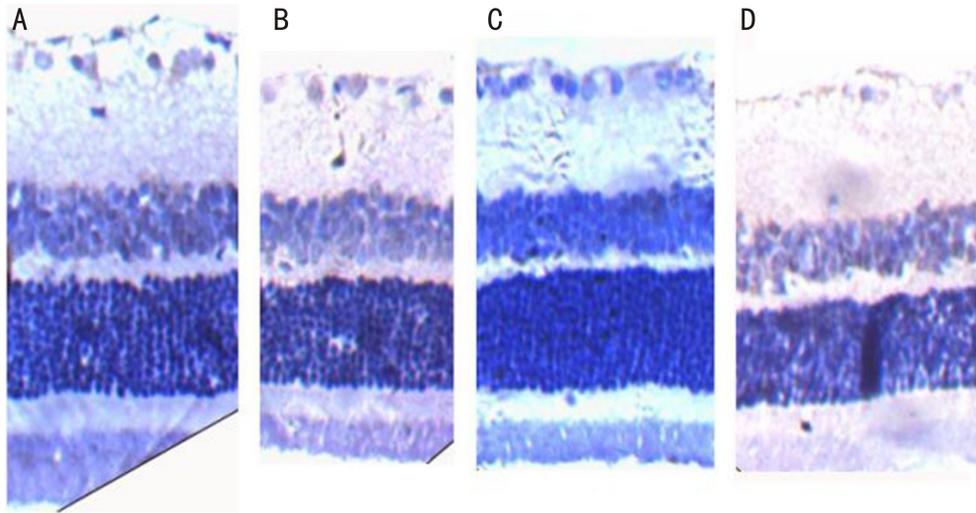


图6 5000m海拔高度各组SD大鼠视网膜HIF-1α表达免疫组化染色(×200) A:安慰剂组;B:复方血栓通组;C:红景天组;D:肌苷组。

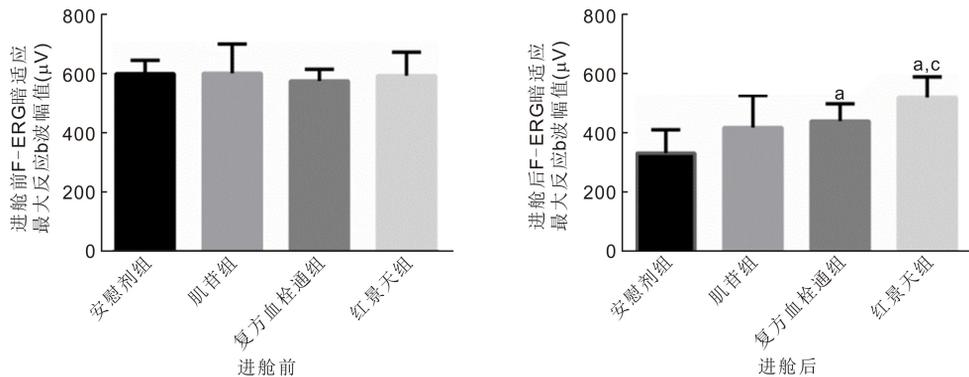


图7 各组SD大鼠进舱前后F-ERG暗适应最大反应b波振幅 ^a $P < 0.05$ vs 安慰剂组; ^c $P < 0.05$ vs 肌苷组。

内核层表达最少,但肌苷组同安慰剂组相比HIF-1α在神经节细胞层及内核层表达无明显差异(图6)。

2.2.3 各组SD大鼠进舱前后F-ERG暗适应最大反应b波振幅比较 分别予安慰剂(生理盐水)、肌苷、复方血栓通及红景天连续灌胃7d后,将SD大鼠置于模拟海拔5000m高原舱内10h,各组SD大鼠进舱前后F-ERG暗适应最大反应b波振幅检测结果见图7,进舱前各组总体上不存在差异($F = 0.177, P = 0.911$),进舱后各组总体上存在差异($F = 5.432, P = 0.007$)。进舱后各组间两两比较,安慰剂组与复方血栓通组($P = 0.032$),安慰剂组与红景天组($P = 0.001$),肌苷组与红景天组($P = 0.042$)比较,差异均有统计学意义;复方血栓通组及红景天组b波振幅进舱前后差值均远低于安慰剂组,可见复方血栓通及红景天对高海拔下大鼠视网膜功能均有保护作用。但肌苷组与安慰剂组、复方血栓通组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

近年交通业的迅速发展使进入高原地区旅游、建设、生活、训练的人群越来越多,对于初进入高原的人群,高海拔视网膜病变常是引起其视力下降的主要原因,也成为了制约高原地区旅游业和经济发展因素之一,因此高海拔视网膜病变的防治显得尤为重要。当前国内外对高海拔视网膜病变的研究主要集中在个案病例报告,临床观察及流行病学调查方面。Russo等^[4]报道了3例患者在完成海拔6000m以上地区探险返回后,视物出现暗点,视力下降。眼底检查发现多发性后极部出血,2mo后视力恢复眼底出

血完全消退。我们团队曾对青海省玛沁县40岁以上世居藏族人群视网膜血管性疾病相关因素的流行病学调查,显示高海拔是视网膜血管性疾病的高危因素^[5]。有研究指出高海拔视网膜病变的发病机制是由血视网膜屏障完整性破坏,神经节细胞损伤及炎症介质及细胞因子的异常释放等多种因素共同作用^[6-9],但是确切原因并未完全清楚。此外高海拔地区自然环境恶劣,多变也增加了研究难度,因此,建立有效稳定的高海拔视网膜病变动物模型,继续探索其发病机制及防治的实验研究仍然是十分必要的。

本研究运用动物高原环境模拟实验舱构建高海拔视网膜病变动物模型。在模拟海拔5000m的高海拔视网膜病变大鼠模型中,组织形态上通过病理组织切片观察到随着入舱时间的增加,大鼠视网膜水肿明显,其中神经节细胞层细胞肿胀明显,内核层细胞间水肿明显,外核层层明显增加,外丛状层疏松;并且在10h达到高峰,随着时间的进一步推移,视网膜各层水肿仍存在,但逐渐减轻。分子水平上通过免疫组织化学染色观察到,随着各入舱时间的增加,大鼠视网膜组织中,HIF-1α在神经节细胞及内核层细胞胞浆明显着色,表达增高,10h时最为明显,随后24、72h HIF-1α表达较10h降低。视网膜功能上通过F-ERG检查,发现随着时间的延长,ERG暗视视锥-视杆细胞反应b波振幅逐渐下降,在10h下降最为明显;随后机体逐渐适应并开始恢复即耐受,b波振幅下降趋势逐渐变缓慢。因此我们推测在模拟高海拔环境下,缺氧使得HIF-1α表达增高,HIF-1α通过激活血管内皮生长因子等的表达,导致血视网膜屏障功能受损,视网膜组织水肿,神

经节细胞的肿胀、变性甚至凋亡,造成视网膜的形态及功能受损。

缺氧是引起高海拔视网膜病变发生发展的主要因素,以红景天、人参、当归等中药制剂及肌昔片,苯丙胺等西药制剂为代表的抗缺氧药物的应用成了预防高海拔视网膜病变的研究热点。红景天是世居西藏高原的藏族人民防治高原病的经验用药,尽管具体药物机制不详,但越来越多的研究指出红景天可以降低氧耗速度又可以增加供氧作用,显著提高机体的抗氧能力。郗涛等^[10]研究认为红景天提取物红景天苷可以改善心肌的缺血缺氧,减少心肌的细胞损伤,周林甫等^[11]发现红景天苷可通过提高脑组织内的抗氧化酶的活性,清除自由基,上调抗凋亡蛋白的表达而对神经细胞起保护作用。肌昔在体内转化后参与细胞的能量代谢和蛋白质合成,可提高辅酶 A 等活性,保护细胞在缺氧状态仍继续进行代谢^[12]。然而,现有的中西药物还不能满足有效预防和治疗缺氧的需求。寻找与发现安全有效的抗缺氧药物,对积极防治高海拔视网膜病变仍然具有重要意义。复方血栓通胶囊为复方药,其主要成分为三七、黄芪、丹参和玄参,研究表明三七可通过对抗氧自由基损伤、抗脂质过氧化、抑制钙通道防止钙超载等途径减轻细胞损伤^[13]。黄芪被证实具有增强免疫、抗疲劳、耐缺氧以及抗菌、降压、改善缺血再灌注损伤等多种药理作用^[14]。丹参和玄参具有保护血管内皮细胞、改善微循环、抑制和解除血小板聚集,提高机体耐缺氧能力,抑制胶原纤维的产生和促进纤维蛋白的降解、抗炎、抗脂质过氧化和清除自由基的功效^[15-16]。

本研究通过构建高海拔视网膜病变大鼠模型,以中药红景天,西药肌昔片及安慰剂生理水为对照,运用 HE 染色、免疫组化及电生理观察复方血栓通胶囊对模拟的高海拔缺氧条件下大鼠视网膜形态及功能的影响,以期高原眼病的防治提供新的依据。鉴于高海拔视网膜病变大鼠造模阶段发现,模拟海拔 5000m 入舱 10h,大鼠视网膜 HE 染色显示视网膜水肿最为明显,其中以神经节细胞层细胞肿胀及内核细胞层间水肿为甚,故我们选择在模拟海拔 5000m 入舱 10h,观察复方血栓通胶囊,红景天及肌昔片对高海拔视网膜病变有无保护作用。研究发现,入舱前连续给药 7d 后,复方血栓通、红景天及肌昔均可减轻视网膜水肿,其中复方血栓通减轻内核层细胞水肿程度最低,红景天减轻神经节细胞层水肿程度最低。红景天和复方血栓通均可使大鼠神经节细胞层及内核层 HIF-1 α 表达明显下降,尤以红景天更为明显,而肌昔同安慰剂组相比,HIF-1 α 在神经节细胞层及内核层表达无明显差异,提示红景天和复方血栓通均可抑制高海拔环境下 HIF-1 α 的

表达,改善视网膜缺血状态。F-ERG 检测显示,预防给予复方血栓通及红景天进入高原舱后,b 波入舱前后振幅差值均远远低于预防给予生理盐水,提示复方血栓通及红景天对高海拔下大鼠视网膜功能均有保护作用。

我们的研究证实在模拟高海拔环境下,复方血栓通及红景天可能是通过抑制 HIF-1 α 的表达对大鼠高海拔视网膜病变有保护作用,但是具体作用机制有待我们进一步研究。

参考文献

- 1 Mukhtar A, Khan MS, Habib A, et al. Visual outcome of retinal vein occlusion in patients residing at high altitude. *J Pak Med Assoc* 2017;67(5):735-738
- 2 Xin X, Dang H, Zhao X, et al. Effects of Hypobaric Hypoxia on Rat Retina and Protective Response of Resveratrol to the Stress. *Int J Med Sci* 2017;14(10):943-950
- 3 黄海香, 张文芳, 律鹏. 高海拔视网膜病变及中药应用的研究进展. *国际眼科杂志* 2014;14(11):1999-2002
- 4 Russo A, Agard E, Blein JP, et al. High altitude retinopathy: report of 3 cases. *J Fr Ophthalmol* 2014;37(8):629-634
- 5 吴鹏程, 张文芳, 律鹏, 等. 青海省玛沁县 40 岁以上世居藏族人群视网膜血管性疾病相关因素的流行病学调查. *国际眼科杂志* 2014;14(7):1288-1291
- 6 Li Y, Zhang Y, Zhang Y. Research advances in pathogenesis and prophylactic measures of acute high altitude illness. *Respir Med* 2018;145:145-152
- 7 Grimm C, Willmann G. Hypoxia in the eye: a two-sided coin. *High Alt Med Biol* 2012;13(3):169-175
- 8 Kurihara T, Westenskow PD, Friedlander M. Hypoxia-inducible factor (HIF)/vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in the retina. *Adv Exp Med Biol* 2014;801:275-281
- 9 赵鑫, 杨义, 张文芳. 高海拔视网膜病变发病机制的研究进展. *国际眼科杂志* 2018;18(3):461-465
- 10 郗涛, 徐鹏, 张丙信, 等. 红景天苷对力竭大鼠心肌细胞凋亡通路的影响. *中国应用生理学杂志* 2019;35(4):376-380
- 11 周林甫, 石亚军, 焦亚楠, 等. 红景天苷对大鼠脑缺血再灌注氧化应激损伤的保护作用. *神经解剖学杂志* 2018;34(5):561-566
- 12 田朗, 旷寿金, 黑明燕, 等. 肌昔对缺氧缺血性脑损伤后血管内皮生长因子表达的影响. *中国医师杂志* 2007;9(12):1616-1618
- 13 丁实, 赵学荣, 李宝群, 等. 三七总皂苷对局部脑缺血大鼠的神经保护作用研究. *中国临床药理学杂志* 2020;36(9):1104-1106
- 14 潘星, 张文芳, 刘勤, 等. 黄芪注射液对模拟高海拔缺氧大鼠视网膜的影响. *国际眼科杂志* 2018;18(3):434-437
- 15 万新焕, 王瑜亮, 周长征, 等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展. *中草药* 2020;51(3):788-798
- 16 卢芳, 于卉, 张宁, 等. 玄参保护心血管系统的药理作用研究进展. *中国药房* 2016;27(22):3148-3150