

侯立亭, 郭洋, 胡红霞. VEGF 抑制剂对糖尿病性视网膜病变模型大鼠的干预效果及对 CRA 血流动力学的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(9): 84-89.

Hou LT, Guo Y, Hu HX. Intervention effect of VEGF inhibitor on diabetic retinopathy model rats and its influence on CRA hemodynamics [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(9): 84-89.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021. 09. 013

VEGF 抑制剂对糖尿病性视网膜病变模型大鼠的干预效果及对 CRA 血流动力学的影响

侯立亭, 郭洋, 胡红霞*

(开封市中心医院眼科, 河南 开封 475000)

【摘要】 目的 研究血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抑制剂对糖尿病性视网膜病变模型大鼠的干预效果及对视网膜中央动脉(central retinal artery, CRA)血流动力学的影响。方法 40只SPF级、健康雄性大鼠,随机选取10只为对照组,建模成功30只大鼠随机分为模型组(生理盐水)、无菌柠檬酸组(无菌柠檬酸)、VEGF抑制剂组(贝伐单抗)各10只。测定CRA血流舒张期最低流速(EDV)、收缩期峰值流速(PSV)、阻力指数(RI)、搏动指数(PI)及Ras、Raf-1及ERK表达。结果 与模型组相比,无菌柠檬酸组、VEGF抑制剂组 EDV($31.53 \pm 8.42/47.46 \pm 10.29/90.26 \pm 16.55$ mm/s, $F/P = 14.956/0.001$)、PSV($58.92 \pm 11.37/84.16 \pm 14.52/155.57 \pm 18.67$ mm/s, $F/P = 21.116/0.001$)、脂联素水平升高;RI($1.12 \pm 0.32/0.85 \pm 0.20/0.68 \pm 0.18$, $F/P = 7.046/0.001$)、PI($1.35 \pm 0.35/0.91 \pm 0.22/0.69 \pm 0.12$, $F/P = 8.861/0.001$)、血液流变学指标、空腹血糖、VEGF、ICAM-1、IL-1 β 水平,Ras、Raf-1及ERK表达量降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与无菌柠檬酸组相比,VEGF抑制剂组 EDV($47.46 \pm 10.29/90.26 \pm 16.55$ mm/s, $t/P = 6.945/0.001$)、PSV($84.16 \pm 14.52/155.57 \pm 18.67$ mm/s, $t/P = 9.548/0.001$)、脂联素水平升高;RI($0.85 \pm 0.20/0.68 \pm 0.10$, $t/P = 2.404/0.027$)、PI($0.91 \pm 0.22/0.69 \pm 0.12$, $t/P = 2.776/0.012$)、血液流变学指标、空腹血糖、VEGF、ICAM-1、IL-1 β 水平,Ras、Raf-1及ERK表达量降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 VEGF抑制剂可改善糖尿病性视网膜病变模型大鼠CRA血流动力学与血液流变学指标,降低VEGF、ICAM-1及IL-1 β 水平,抑制血管新生。

【关键词】 糖尿病性视网膜病变;血管内皮生长因子抑制剂;视网膜中央动脉;血液流变学

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 09-0084-06

Intervention effect of VEGF inhibitor on diabetic retinopathy model rats and its influence on CRA hemodynamics

HOU Liting, GUO Yang, HU Hongxia*

(Ophthalmology Department, Kaifeng Central Hospital, Kaifeng 475000, China)

【Abstract】 Objective To study the intervention effect of vascular endothelial growth factor (VEGF) inhibitors on diabetic retinopathy model rats and the hemodynamics of central retinal artery (CRA). **Methods** Of 40 specific-pathogen-free healthy male rats, 10 were randomly selected as the control group. The remaining 30 rats were successfully modeled and randomly divided into the model group (normal saline), sterile citric acid group (sterile citric acid) and VEGF

[基金项目] 开封市科技发展计划项目(1603020)。

[作者简介] 侯立亭(1972—),男,本科,副主任医师,研究方向:眼科、眼底病。E-mail: evze21@163.com

[通信作者] 胡红霞(1980—),女,本科,主治医师,研究方向:眼底病。E-mail: huhongxia1011@126.com

inhibitor group (bevacizumab) ($n = 10$). The minimum diastolic velocity (EDV) of the CRA was measured. **Results** Compared with the model group, the levels of EDV ($31.53 \pm 8.42/47.46 \pm 10.29/90.26 \pm 16.55$ mm/s, $F/P = 14.956/0.001$), peak systolic velocity (PSV; $58.92 \pm 11.37/84.16 \pm 14.52/155.57 \pm 18.67$ mm/s, $F/P = 21.116/0.001$) and adiponectin were increased in the aseptic citric acid and VEGF inhibitor groups. In addition, the resistivity index (RI; $1.12 \pm 0.32/0.85 \pm 0.20/0.68 \pm 0.18$, $F/P = 7.046/0.001$), pulsatility index (PI; $1.35 \pm 0.35/0.91 \pm 0.22/0.69 \pm 0.12$, $F/P = 8.861/0.001$), hemorheological indicators, fasting blood glucose, VEGF, intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), interleukin-1 (IL-1) and expression levels of Ras, Raf and extracellular signal-regulated kinase (ERK) were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the aseptic citric acid group, the levels of EDV ($47.46 \pm 10.29/90.26 \pm 16.55$ mm/s, $T/P = 6.945/0.001$), PSV ($84.16 \pm 14.52/155.57 \pm 18.67$ mm/s, $T/P = 9.548/0.001$) and adiponectin were increased in the VEGF inhibitor group. Furthermore, the RI ($0.85 \pm 0.20/0.68 \pm 0.10$, $T/P = 2.404/0.027$), PI ($0.91 \pm 0.22/0.69 \pm 0.12$, $T/P = 2.776/0.012$), hemorheological indicators, fasting blood glucose, VEGF, ICAM-1, IL-1 and expression of Ras, Raf-1, and ERK were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusions** VEGF inhibitors can improve the CRA hemodynamics and hemorheology indices of diabetic retinopathy model rats, reduce the levels of VEGF, ICAM-1 and IL-1 β and inhibit angiogenesis.

[Keywords] diabetic retinopathy; vascular endothelial growth factor inhibitors; central retinal artery; hemorheology

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是一种糖尿病微血管并发症,是一种特异性眼底病变,其主要的病理改变为视网膜微血管变化^[1]。DR 患者的发病率主要与糖尿病病程相关,患者常出现的临床症状主要有硬性渗出、IRMA、出血斑点、微动脉瘤等,缺血广泛可降低患者视力,致视网膜脱离,严重情况下可致盲^[2]。DR 的发生机制尚未完全明确,较为复杂,目前相关研究主要表明其与高血糖引起的代谢紊乱有关,包括蛋白质非酶糖基化终末产物的形成和己糖胺途径的激活。蛋白激酶 C 激活,造成血管功能紊乱及氧化应激炎症反应,导致血管闭塞、局部缺血及血管渗透性增强^[3-4]。VEGF 抑制剂可阻止脉络膜新生血管形成,解除视网膜水肿,防治血管成分渗漏,改善视力,贝伐单抗属于一种典型的 VEGF 抑制剂,在治疗多种晚期肿瘤中效果明显,目前已经有研究显示通过玻璃体注射贝伐单抗,能治疗眼部新生血管性疾病,但是患者会出现并发症,其作用机制也尚不明确^[5]。本文将研究 VEGF 抑制剂对糖尿病性视网膜病变模型大鼠的干预效果及对 CRA 血流动力学的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选取 40 只 SPF 级、健康雄性大鼠,4~6 周龄,平均年龄 (4.8 ± 0.9) 周,体重为 170~190 g,平均体重 (171.0 ± 9.5) g,由广东斯嘉景达生物科技有限公司提供[SCXK(粤)2020-0052],经开封市中心医院伦理委员会审批批准(IACUC-201805-K1)。实验开始前,所有大鼠在我院动物研究实验中心[SYXK

(粤)2021-0251]适应性饲养 1 周,自由饮水,12 h 昼夜节律,温度为 20~25℃,湿度为 40%~50%。

1.2 主要试剂与仪器

贝伐单抗(上海麦克林生化科技有限公司,货号:B873505-1);无菌柠檬酸(中国药品生物制品检定所,批号:2003-10);LBY-HJ 四通道血小板聚集仪(上海寰熙医疗器械有限公司,货号:79028);Laser Doppler Flowmetry 激光血流仪(瑞典 perimed,型号:P457);血糖仪(美国强生);双抗体夹心酶联免疫法试剂盒(上海西唐生物公司,货号:F26260)。

1.3 实验方法

1.3.1 糖尿病性视网膜病变大鼠模型建立

对照组大鼠 10 只给予标准饲料喂养,模型组、无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组各 10 只大鼠给予高脂饲料喂养。在 8 周后,对照组给予生理盐水,模型组、无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组大鼠给予腹腔注射 40 mg/kg 链脲佐菌素。3 d 后尿糖 3+,采集大鼠尾静脉血测血糖,血糖 ≥ 16.7 mmol/L,糖尿病大鼠造模成功。各组大鼠饮食情况如前,继续喂养 4 周后,行眼底血管荧光造影检查,确立大鼠出现糖尿病视网膜病变,建模成功。

1.3.2 干预

无菌柠檬酸组给予 0.05 mL 的无菌柠檬酸腹腔干预;VEGF 抑制剂组大鼠给予玻璃体腔内注入 0.05 mL 贝伐单抗干预;对照组、模型组给予等体积的生理盐水干预,四组均连续给药每天 1 次,各组均连续干预 2 周。

1.3.3 CRA 血流参数检测

应用飞利浦 IU22 型彩色多普勒检查,探头频

率:10 MHz。腹腔注射麻醉,在获取连续 5 个以上稳定心动周期时,检测干预 2 周后大鼠右眼 CRA 各项血流参数。根据多普勒超声血流指标测定峰值血流速度:EDV、PSV、RI 及 PI。重复上述操作 3 次,取各项指标的平均值。

1.3.4 血液流变学指标检测

采用激光血流仪检测大鼠干预 2 周后全血粘度。大鼠心腔采血 2.5 mL,血小板聚集率检测用四通道血小板聚集仪。大鼠心腔采血 1.5 mL,血小板黏附率检测用体外血栓形成、血小板黏附两用仪。

1.3.5 脂联素、空腹血糖(FBG)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、白介素-1 β (IL-1 β)水平检测

血糖测试前对动物禁食 12 h,使用血糖仪检测 FBG 水平。抽取大鼠尾部静脉血 2 mL,采用 PBS 缓冲液进行洗涤处理,转速为 2000 r/min 离心干预 10 min,摒弃上清液,采用双抗体夹心酶联免疫法试剂盒检测各组大鼠血浆中脂联素、ICAM-1、IL-1 β 水平。

1.3.6 病理学观察

采用 LDF 激光血流仪及眼球固定象限测定法检测干预 2 周后各组大鼠双眼血流。检查完成后将大鼠处死,摘取每只大鼠左侧眼球,10% 甲醛固定 24 h,经脱钙、脱水、透明以及包埋等处理制成石蜡块,保存待用。将组织进行切片,HE 染色,光镜下观察病理学变化。

1.3.7 Western blot 检测 Ras、Raf-1 及 ERK 表达量检测

将所采集到的大鼠左侧眼球组织标本,进行研磨,然后加入蛋白缓冲液,常规蛋白提取,BCA 法定量分析。50 μ g 蛋白样品上样后 SDS-PAGE 电泳,

电转到 PVDF 膜,在 TBST 中将 5% 的脱脂奶粉避光封闭 1 h,洗涤后加入一抗稀释溶液(Ras、Raf-1 及 ERK 按照 1:1000 比例进行稀释),在 4 $^{\circ}$ C 的环境中保存过夜,洗涤后加入二抗稀释溶液(Ras、Raf-1 及 ERK 按照 1:5000 比例进行稀释),在温床中孵育 1 h 后再次洗涤,加入发光液 ECL,使软件分析蛋白条带灰度值,内参蛋白是 GAPDH。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)描述,多组间比较采用齐性方差检验,两组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 CRA 血流参数比较

如表 1 所示,与正常大鼠相比,模型组、无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组 EDV、PSV 水平降低,RI 及 PI 水平升高,具有显著性差异($P<0.05$);与模型组相比,无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组 EDV、PSV 水平升高,RI 及 PI 水平降低,具有显著性差异($P<0.05$);与无菌柠檬酸组相比,VEGF 抑制剂组 EDV、PSV 水平升高,RI 及 PI 水平降低,具有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 病理学观察

如图 1 所示,对照组大鼠细胞内外节形态规整,视网膜各层细胞排列整齐。模型组大鼠视网膜内血管扩张,视网膜各层细胞结构排列紊乱,细胞间水肿。无菌柠檬酸组大鼠周细胞轻度水肿,各层细胞结构排列紊乱。VEGF 抑制剂组视网膜各层细胞排列较完整。

表 1 各组大鼠 CRA 血流参数比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of CRA blood flow parameters of rats in each group

组别 Groups	舒张期最低流速(mm/s) EDV	收缩期峰值流速(mm/s) PSV	阻力指数 RI	搏动指数 PI
对照组 Control group	108.12 \pm 20.25	178.83 \pm 25.14	0.41 \pm 0.11	0.50 \pm 0.13
模型组 Model group	31.53 \pm 8.42 ^a	58.92 \pm 11.37 ^a	1.12 \pm 0.32 ^a	1.35 \pm 0.35 ^a
无菌柠檬酸组 Sterile citric acid group	47.46 \pm 10.29 ^{ab}	84.16 \pm 14.52 ^{ab}	0.85 \pm 0.20 ^{ab}	0.91 \pm 0.22 ^{ab}
VEGF 抑制剂组 VEGF inhibitor group	90.26 \pm 16.55 ^{abc}	155.57 \pm 18.67 ^{abc}	0.68 \pm 0.10 ^{abc}	0.69 \pm 0.12 ^{abc}
<i>F</i>	16.566	20.614	9.953	10.799
<i>P</i>	0.001	0.001	0.001	0.001

注:与对照组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$;与无菌柠檬酸组相比,^c $P<0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with the model group, ^b $P<0.05$. Compared with the sterile citric acid group, ^c $P<0.05$.

2.3 各组大鼠血液流变学指标比较

如表 2 所示,与正常大鼠相比,模型组、无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组全血粘度、血小板聚集率及血小板黏附率水平升高,具有显著性差异 ($P < 0.05$);与模型组相比,无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组全血粘度、血小板聚集率及血小板黏附率水平降低,具有显著性差异 ($P < 0.05$);与无菌柠檬酸组相比,VEGF 抑制剂组全血粘度、血小板聚集率及血小板黏附率水平降低,具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠脂联素、空腹血糖水平比较

如表 3 所示,与正常大鼠相比,模型组、无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组脂联素水平降低,FBG 水平升高,具有显著性差异 ($P < 0.05$);与模型组相比,无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组脂联素水平升高,FBG 水平降低,具有显著性差异 ($P < 0.05$);与无菌柠檬酸组相比,VEGF 抑制剂组脂联素水平升高,FBG 水平降低,具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.5 各组大鼠 VEGF、ICAM-1 及 IL-1 β 水平比较

如表 4 所示,与正常大鼠相比,模型组、无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组 VEGF、ICAM-1 及 IL-1 β 水平升高,具有显著性差异 ($P < 0.05$);与模型组相比,无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组 VEGF、ICAM-1 及 IL-1 β 水平降低,具有显著性差异 ($P < 0.05$);与无菌柠檬酸组相比,VEGF 抑制剂组 VEGF、ICAM-1 及 IL-1 β 水平降低,具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠血液流变学指标比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison of hemorheological indexes of rats in each group

组别 Groups	全血粘度 (mPa/s) Whole blood viscosity	血小板聚集 (%) Platelet aggregation rate	血小板黏附 (%) Platelet adhesion rate
对照组 Control group	1.13±40.22	58.65±13.92	26.31±5.20
模型组 Model group	1.96±0.63 ^a	85.24±19.76 ^a	48.73±12.82 ^a
无菌柠檬酸组 Sterile citric acid group	1.75±0.45 ^{ab}	76.31±17.53 ^{ab}	39.18±10.35 ^{ab}
VEGF 抑制剂组 VEGF inhibitor group	1.40±0.35 ^{abc}	62.18±15.10 ^{abc}	33.30±8.22 ^{abc}
<i>F</i>	3.109	4.902	4.178
<i>P</i>	0.001	0.001	0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$;与无菌柠檬酸组相比,^c $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$. Compared with the sterile citric acid group, ^c $P < 0.05$.

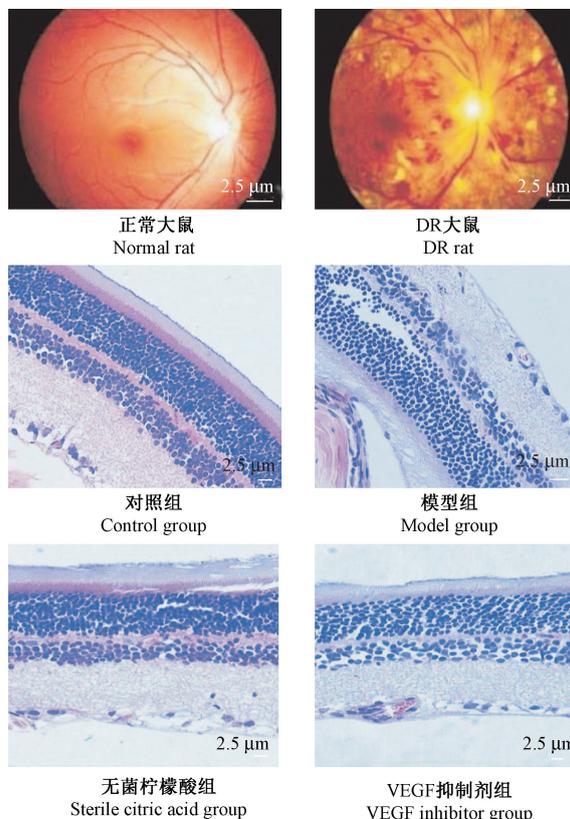


图 1 大鼠视网膜组织病理学观察 (HE 染色)

Figure 1 Histopathological observation of retina in rats (HE staining)

表 3 各组大鼠脂联素、FBG 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Comparison of adiponectin and FBG levels of rats in each group

组别 Groups	脂联素 (mg/L) Adiponectin	空腹血糖 (mmol/L) FBG
对照组 Control group	2.29±0.71	5.35±1.18
模型组 Model group	0.31±0.10 ^a	17.48±3.08 ^a
无菌柠檬酸组 Sterile citric acid group	0.58±0.25 ^{ab}	12.51±2.61 ^{ab}
VEGF 抑制剂组 VEGF inhibitor group	1.65±0.55 ^{abc}	8.91±1.70 ^{abc}
<i>F</i>	11.726	17.445
<i>P</i>	0.001	0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$;与无菌柠檬酸组相比,^c $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$. Compared with the sterile citric acid group, ^c $P < 0.05$.

2.6 各组大鼠 Ras、Raf-1 及 ERK 表达量比较

如表 5、图 2 所示,与正常大鼠相比,模型组、无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组 Ras、Raf-1 及 ERK 表达量升高,具有显著性差异($P < 0.05$);与模型组相比,无菌柠檬酸组、VEGF 抑制剂组 Ras、Raf-1 及 ERK 表达量降低,具有显著性差异($P < 0.05$);与无菌柠檬酸组相比,VEGF 抑制剂组 Ras、Raf-1 及 ERK 表达量降低,具有显著性差异($P < 0.05$)。

3 讨论

在我国 DR 的发病率逐年上升,其主要是由多种因素共同作用导致的,是目前国内外导致低视力及致盲的重要疾病,不及时的有效治疗会随着病情发展导致失明,寻找有效的治疗方法尤为重要^[6]。随着病程的不断进展,DR 促使其局部缺血缺氧,促使毛细血管通透性增加,促使新生血管生成等,新生血管会导致结缔组织增生及玻璃体出血等,进一步增加视力丧失及视网膜脱离风险^[7]。较多学者为临床治疗提高新的靶点,发现血管生成抑制因子与血管生成刺激因子之间的动态平衡在其发展与发生过程中具有重要作用^[8]。VEGF 其生物活性可以被抑制剂阻断,是最重要的眼内新生血管生长因子,达到抑制新生血管生成的目的^[9-10]。

视网膜 CRA 是供应视网膜内参的主要血管,属于终末动脉,是眼动脉的分支,在维持视觉功能方面起重要的作用。视网膜动脉参数可用来反映视网膜的血液供应状况,与视网膜微循环的状态^[11]。本文研究显示,VEGF 抑制剂能提高大鼠 EDV、PSV 水平升高,降低 RI 及 PI 水平,从而改善视网膜 CRA 血流动力学状况。机体长时间处于高血糖状态易造成血-视网膜屏障受损,血小板聚集性增强,同时视网膜毛细血管闭塞,视网膜血管弹性下降,促进新生血管形成,引起视网膜毛细血管增生与微血管瘤^[12-13]。本文结果指出,VEGF 抑制剂能降低大鼠全血粘度、血小板聚集率及血小板黏附率水平。脂联素是脂肪细胞特异性分泌的一种蛋白质,在糖尿病合并症的发展中具有重要的作用,其水平增高可引起微循环障碍^[14]。本文中,与无菌柠檬酸组相比,VEGF 抑制剂组脂联素水平升高,FBG 水平降低。

VEGF 是血管内皮细胞特异的促有丝分裂素,过度表达会增加血管的渗透性,促进血管的异常增

表 4 各组大鼠 VEGF、ICAM-1 及 IL-1 β 水平比较($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别 Groups	血管内皮生长因子 (pg/mL) VEGF	细胞间黏附分子-1 (ng/L) ICAM-1	白介素-1 β (pg/mL) IL-1 β
对照组 Control group	40.76 \pm 9.53	58.08 \pm 8.22	6.38 \pm 1.15
模型组 Model group	91.19 \pm 19.48 ^a	89.65 \pm 19.71 ^a	18.15 \pm 4.26 ^a
无菌柠檬酸组 Sterile citric acid group	75.81 \pm 16.32 ^{ab}	78.84 \pm 18.39 ^{ab}	12.02 \pm 3.01 ^{ab}
VEGF 抑制剂组 VEGF inhibitor group	53.15 \pm 13.70 ^{abc}	67.39 \pm 11.55 ^{abc}	8.10 \pm 2.12 ^{abc}
<i>F</i>	9.509	4.008	6.914
<i>P</i>	0.001	0.001	0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$;与无菌柠檬酸组相比,^c $P < 0.05$ 。

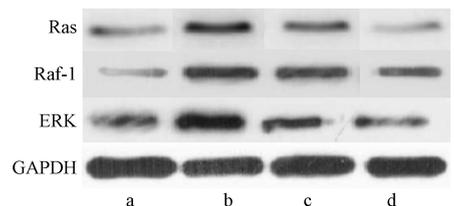
Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$. Compared with the sterile citric acid group, ^c $P < 0.05$.

表 5 各组大鼠 Ras、Raf-1 及 ERK 表达量比较($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别 Groups	Ras	Raf-1	ERK
对照组 Control group	1.34 \pm 0.41	1.45 \pm 0.23	0.73 \pm 0.14
模型组 Model group	5.82 \pm 1.64 ^a	3.91 \pm 0.92 ^a	2.42 \pm 0.78 ^a
无菌柠檬酸组 Sterile citric acid group	3.67 \pm 1.13 ^{ab}	2.53 \pm 0.75 ^{ab}	1.59 \pm 0.40 ^{ab}
VEGF 抑制剂组 VEGF inhibitor group	1.98 \pm 0.62 ^{abc}	1.90 \pm 0.51 ^{abc}	1.05 \pm 0.21 ^{abc}
<i>F</i>	12.010	5.885	9.242
<i>P</i>	0.001	0.001	0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$;与无菌柠檬酸组相比,^c $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$. Compared with the sterile citric acid group, ^c $P < 0.05$.



注:a:对照组;b:模型组;c:无菌柠檬酸组;d:VEGF 抑制剂组。

图 2 Ras、Raf-1 及 ERK 蛋白表达 Western blot 图

Note. a, Control group. b, Model group. c, Sterile citric acid group. d, VEGF inhibitor group.

Figure 2 Western blot of Ras, Raf-1 and ERK protein expression

殖,其与组织中新生血管数量具有密切联系,能特异性的作用于视网膜血管内皮细胞^[15]。炎性细胞黏附与血管内皮细胞是由 ICAM-1 介导的,损害局部血管,导致活化氧自由基、炎症递质等,引起血管通透性增加,加重视网膜的损伤^[16-17]。IL-1 β 在 DR 中加重视网膜病变,诱导 ICAM-1 等黏附因子,起关键作用的一种致炎因子^[18]。本文指出,VEGF 抑制剂通过能降低糖尿病性视网膜病变模型大鼠 VEGF、ICAM-1 及 IL-1 β 水平,在抑制糖尿病性视网膜病变模型大鼠炎症方面作用显著。Ras/Raf-1/ERK 通路是调控细胞增殖、凋亡与分化的重要途径,是一个蛋白激酶级联反应,在 VEGF 介导的血管生成信号通路上起促进 VEGF 表达的作用^[19]。VEGF 抑制剂相对分子量小,能够穿透视网膜,与血管内皮生长因子特异性结合,加快缓解水肿,防治视网膜新生血管发生渗漏,阻止血管新生、再生,减轻炎症反应,改善视网膜功能^[20]。本文研究结果显示,VEGF 抑制剂对糖尿病性视网膜病变模型大鼠 Ras、Raf-1 及 ERK 蛋白表达有一定的调控作用,为其作用机制提供研究方向。本文研究的局限性主要体现在,本文研究实验仅做了一个时间点的视网膜病变的观察,在抑制糖尿病性视网膜病变发展这一结论研究方面,数据不充分,仍需要后续多试验点加以证实。

综上所述,VEGF 抑制剂可改善糖尿病性视网膜病变模型大鼠 CRA 血流动力学与血液流变学指标,降低 VEGF、ICAM-1 及 IL-1 β 水平,抑制血管新生。

参考文献:

[1] Diallo JW, Dolo M, Sanou J, et al. What do we know about diabetic retinopathy at the Sourô Sanou university medical center in Bobo-Dioulasso (CHUSS)? [J]. J Fr Ophthalmol, 2019, 42(4): 361-367.

[2] Ghamdi AHA. Clinical predictors of diabetic retinopathy progression; A systematic review [J]. Curr Diabetes Rev, 2020, 16(3): 242-247.

[3] 郭丹, 杜宇. 白皮杉醇对糖尿病视网膜病变模型大鼠的治疗效果及作用机制 [J]. 国际眼科杂志, 2019, 19(12): 2026-2030.

[4] Selvaraj K, Gowthamarajan K, Karri VV, et al. Current treatment strategies and nanocarrier based approaches for the treatment and management of diabetic retinopathy [J]. J Drug Target, 2017, 25(5): 386-405.

[5] 董冠中, 魏立, 务森, 等. 血管内皮生长因子抑制剂对小鼠

左肺全切手术后肺功能的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(11): 2061-2064.

[6] Zhang D, Lv FL, Wang GH. Effects of HIF-1 α on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(16): 5071-5076.

[7] Zhu DD, Wang YZ, Zou C, et al. The role of uric acid in the pathogenesis of diabetic retinopathy based on Notch pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(2): 921-929.

[8] Sun Y, Liu YX. LncRNA HOTTIP improves diabetic retinopathy by regulating the p38-MAPK pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(10): 2941-2948.

[9] 符超君, 赵永旺, 凌艳君, 等. 双丹明目胶囊对糖尿病视网膜病变大鼠视网膜 Spred-1 和 VEGF 表达的影响 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(23): 2893-2898.

[10] Chen B, He T, Xing Y, et al. Effects of quercetin on the expression of MCP-1, MMP-9 and VEGF in rats with diabetic retinopathy [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(6): 6022-6026.

[11] 金梅, 李晓凤. 糖尿病视网膜病变患者血清中细胞因子及视网膜中央动脉血流动力学的变化 [J]. 眼科新进展, 2019, 39(5): 453-455, 460.

[12] 古爱平, 吴艺, 杨兵花. 大株红景天对糖尿病视网膜病变大鼠眼血流影响的实验研究 [J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(5): 791-795.

[13] 刘学梅, 靳春杰, 周伟. 三七对糖尿病大鼠视网膜血流动力学影响的实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(10): 2183-2186.

[14] 刘颖, 张军, 戴金颖, 等. 益气养阴活血方对 2 型糖尿病大鼠脂肪组织及瘦素、脂联素的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(23): 2509-2513, 2520.

[15] D'Amico AG, Maugeri G, Bucolo C, et al. Nap interferes with hypoxia-Inducible factors and VEGF expression in retina of diabetic rats [J]. J Mol Neurosci, 2017, 61(2): 256-266.

[16] 王皎皎, 胡燃燃, 张丹, 等. 人参皂苷 Rg3 对糖尿病视网膜病变大鼠 PI3 K-Akt/PKB 通路和血管内皮生长因子、细胞间黏附分子-1 表达的影响 [J]. 眼科新进展, 2020, 40(1): 20-25.

[17] 李甜甜, 吕霄, 李伟. AM251 对糖尿病视网膜病变大鼠 ICAM-1 及 VEGF 表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(14): 3816-3818.

[18] 周玮琰, 王洪亚, 杜秀娟, 等. 甘糖酯对糖尿病大鼠视网膜病变中炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2016, 16(8): 1444-1448.

[19] 符超君, 凌艳君, 颜家朝, 等. 双丹明目胶囊对糖尿病视网膜病变大鼠视网膜 Ras-Raf-1-MEK-ERK 通路的调控作用 [J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(7): 728-731.

[20] 刘德林, 梁红云, 陈文浩, 等. VEGF 抑制剂(贝伐单抗)治疗早产鼠视网膜病变的实验研究 [J]. 中国医师杂志, 2015, 17(6): 854-857, 861.