

石决明对大鼠白内障晶状体中 SOD 和 GSH 及 GSH-PX 的影响

祁磊¹, 林媛², 徐国兴³, 郭健³

基金项目: 中国厦门市科学技术计划资助项目 (No. 3502Z20084020)

作者单位: ¹(350108) 中国福建省福州市, 福建中医药大学; ²(361001) 中国福建省厦门市, 厦门中医院眼科; ³(350005) 中国福建省福州市, 福建医科大学附属第一医院眼科

作者简介: 祁磊, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 林媛, 女, 博士, 副教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼底病. jnlyuan@yahoo. com. cn

收稿日期: 2011-09-05 修回日期: 2011-10-15

Effect of shijueming on SOD, GSH and GSH-PX in cataract lens of rats

Lei Qi¹, Yuan Lin², Guo-Xing Xu³, Jian Guo³

Foundation item: Scientific Research Foundation of Xiamen, China (No. 3502Z20084020)

¹Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, Fujian Province, China; ²Department of Ophthalmology, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361001, Fujian Province, China; ³Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Correspondence to: Yuan Lin. Department of Ophthalmology, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361001, Fujian Province, China. jnlyuan@yahoo. com. cn

Received: 2011-09-05 Accepted: 2011-10-15

Abstract

• **AIM:** To investigate the mechanism of shijueming prevention and cure on cataract

• **METHODS:** Eighty rats were randomly divided into 4 groups, with 20 in each group. Ten animals in group A were taken as health control, the other animals in group B, C and D were made as D-galactose cataract models. Group A and group B were dropped with saline eyedrops; Group C was dropped with pirenoxine sodium eyedrops; Group D was dropped with extract liquid from shijueming. Then, the animals' pupils were dilated and lens changes were observed under the slit-lamp and taken photograph at 5th, 10th, 15th day. At the 15th day all animals were killed, the content of SOD, GSH and GSH-PX from lens were measured.

• **RESULTS:** The content of SOD, GSH and GSH-PX was significantly higher in the group A than that in group B, C and D ($P < 0.01$); The content of SOD, GSH and GSH-PX was significantly higher in the group D than that in group B ($P < 0.05$). The degree of lens opacity in rats; compared

with group B, group D had significantly lighter lens opacities and slower development, also slightly better than group C.

• **CONCLUSION:** Shijueming can effectively improve the antioxidant capacity of the lens, and protect the lens against cataract development.

• **KEYWORDS:** shijueming; animal models; cataract

Qi L, Lin Y, Xu GX, et al. Effect of shijueming on SOD, GSH and GSH-PX in cataract lens of rats. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011; 11(12): 2085-2087

摘要

目的: 探讨石决明对白内障大鼠氧化损伤的保护机制, 为寻求有效的防治白内障药物提供可靠的实验依据。

方法: 将 80 只大鼠随机分为 4 组, 每组 20 只, 制作 D-半乳糖性白内障大鼠模型后, 空白组和模型组分别点生理盐水, 白内障组给白内障滴眼液点眼, 石决明组给石决明水提液。于实验开始后第 5, 10, 15d 散瞳, 在裂隙灯下观察晶状体的变化并摄影。之后处死大鼠, 取出晶状体, 测定超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)含量。

结果: 空白组 SOD, GSH 和 GSH-PX 含量明显高于其它三组 ($P < 0.01$); 石决明组 SOD, GSH 和 GSH-PX 含量高于模型组, 有明显差异 ($P < 0.05$); 石决明组与模型组比较, 石决明组大鼠晶状体混浊程度明显轻, 发展缓慢; 也略优于白内障组。

结论: 石决明中药水提液对白内障大鼠的晶状体有保护作用, 可延缓白内障的发展。

关键词: 石决明; 动物模型; 白内障

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 12. 008

祁磊, 林媛, 徐国兴, 等. 石决明对大鼠白内障晶状体中 SOD 和 GSH 及 GSH-PX 的影响. 国际眼科杂志 2011; 11(12): 2085-2087

0 引言

白内障是常见致盲眼病之一, 也是我国第一位的致盲眼病。现在手术仍是治疗白内障的主要方法, 但是手术费用高, 对机器和操作者都有较高要求。因此从祖国医药中找到有效防治且价廉的白内障药物实属重要。而白内障形成的机制尚不完全清楚。目前, 关于白内障形成的机制主要包括氧化应激(oxidative stress, OS)、渗透应激(osmotic stress)等。石决明自古以来即为清肝明目、退翳除障之要药。虽然它为中华民族防治白内障做出了重要贡献, 但在现代医学上还不清楚其防治白内障作用的具体机制。我们拟从氧化和抗氧化方面阐述石决明防治白内障的作用

表1 各组大鼠白内障晶状体的混浊程度的比较

组别	5d						10d						15d					
	0	I	II	III	IV	V	0	I	II	III	IV	V	0	I	II	III	IV	V
空白组	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
模型组	0	6	13	0	0	0	0	0	3	15	0	0	0	0	0	14	3	0
白内停组	6	7	6	0	0	0	0	4	6	8	0	0	0	1	2	13	0	0
石决明组	8	9	2	0	0	0	2	4	6	6	0	0	0	3	5	10	0	0

表2 各组大鼠白内障晶状体中 SOD 和 GSH 及 GSH-PX 含量的比较

组别	n(只)	SOD(U/mg)	GSH(μmol/L)	GSH-PX(μmol/g)
空白组	20	110.87 ± 6.79 ^b	0.9641 ± 0.078 ^b	0.6112 ± 0.054 ^b
模型组	17	32.32 ± 3.52 ^a	0.2786 ± 0.017 ^a	0.0893 ± 0.0072 ^a
白内停组	16	65.19 ± 5.38	0.4518 ± 0.038	0.3645 ± 0.0314
石决明组	18	62.72 ± 6.04	0.4721 ± 0.041	0.4101 ± 0.0385

^aP < 0.05 vs白内停组和石决明组; ^bP < 0.01 vs模型组、白内停组和石决明组。

机制,为从祖国医药宝库中寻求有效的防治白内障药物提供可靠的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠80只(厦门大学医学院动物实验中心提供),40天龄,体质量200 ± 10g,雌雄不拘,分笼饲养,自由摄取标准饲料及饮水,经散瞳裂隙灯观察晶状体无异常。石决明中药水提液由福建医科大学眼科研究院提供。YZ5FI裂隙灯显微镜(苏州六六视觉科技股份有限公司),500D照相机(Canon);微量电子天平(上海FA200X),恒温水浴锅(深圳HH-4);白内停(pirenoxine sodium eye drops)系武汉制药股份有限公司产品(批号:990708);D-半乳糖购自上海源聚生物科技有限公司;超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法 制作大鼠白内障模型:60只大鼠无菌操作ip 500g/L D-半乳糖灭菌溶液1次/d,剂量为10g/(kg·d),且自由饮用100g/L D-半乳糖溶液。80只大鼠分成4组:A模型组(D-半乳糖性白内障大鼠+生理盐水眼液),B石决明组(D-半乳糖性白内障大鼠+2.5g/L石决明水提液),C白内停组(D-半乳糖性白内障大鼠+白内停眼液),D空白组(正常大鼠+生理盐水眼液)。石决明、白内停和生理盐水滴眼均为1~2滴/次,3次/d,连续2wk。第15d散瞳于裂隙灯下,观察晶状体混浊程度并予以照相记录。之后处死大鼠,摘取眼球,分离出晶状体,用滤纸吸干,在微量电子天平上称质量,放入玻璃匀浆器内,按质量体积比1:9加入4℃磷酸缓冲液,于0℃~4℃冰浴下充分研磨成匀浆,高速离心(3500r/min)匀浆10min,取上清,采用化学比色法测定SOD,GSH和GSH-PX,比较4组大鼠晶状体混浊程度及SOD,GSH,GSH-PX的含量。

统计学分析:计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用SPSS 13.0统计软件,对各组多个数据进行单因素方差分析,P < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠白内障晶状体的混浊程度的变化 参照祁明信等^[1]分期标准,将晶状体混浊分为0~V期:0期:晶状体

透明;I期:晶状体周边皮质散在细小空泡;II期:晶状体周边皮质成环状密集中等空泡;III期:除晶状体四周皮质密集空泡外,部分皮质片状混浊;IV期:晶状体核及核周皮质混浊;V期:晶状体完全混浊。经观察,第15d散瞳后空白组大鼠无死亡,晶状体无变化,仍澄清透明;模型组大鼠死亡3只,14/17为III期,3/17为IV期;白内停组死亡4只,1/16为I期,2/16为II期,13/16为III期;石决明组死亡2只,3/18为I期,5/18为II期,10/18为III期(表1)。

2.2 大鼠白内障晶状体中 SOD 和 GSH 及 GSH-PX 含量的变化 空白组SOD,GSH和GSH-PX含量高于模型组,有统计学意义(P < 0.01),石决明组SOD,GSH和GSH-PX含量高于模型组(P < 0.05),白内停组与石决明组无明显统计学差异(P > 0.05,表2)。

3 讨论

本研究结果表明,石决明中药水提液可以延缓半乳糖性白内障的发展,这可能与它能保持SOD,GSH和GSH-PX含量,减少氧化有关。目前认为氧化损伤是其形成的最初因素^[2]。研究发现白内障晶状体中形成二硫化物、甲硫氨酸、磺基丙氨酸以及高分子量可还原的聚合物,细胞浆-细胞膜蛋白中存在可还原的键;白内障晶状体中GSH减少,氧化型谷胱甘肽(GSSG)与蛋白质结合的混合二硫化物增加^[3];细胞膜崩解、丙二醛形成,对氧化敏感的代谢活力降低,潜在性氧化物的浓度升高等^[4]。随着年龄的增加,晶状体的一系列改变,如晶状体变黄,提示有一些色素积聚;高分子量蛋白增加使晶状体透明度降低;蛋白的结构发生改变,某些活性基团的显露,这些改变更易受到氧化的损伤^[5]。也有实验表明,正常年轻人晶状体没有蛋白氧化,年老的正常人晶状体只有少量的蛋白氧化,并且这些蛋白仅局限在膜内或与膜有关的成分中^[6]。相反,在白内障晶状体中所有的蛋白均发生了相当程度的氧化^[7]。在绝大多数白内障晶状体中,50%以上的甲硫氨酸,75%~100%半胱氨酸均被氧化。氧化程度最严重的是在膜上^[8],在白内障晶状体中细胞质成分也发生了氧化^[7]。在正常晶状体中,大多数的硫醇基是被掩盖的,而在白内障中它们均被暴露,这表明蛋白质的构象发生了明显的改变^[9]。氧化

一个和几个易受影响的基因会使整个分子(多肽)的空间结构展开^[10]。然后,进一步的氧化会导致二硫键连接的蛋白的形成以及聚合物的形成,产生晶状体的混浊^[11]。总之,氧化先于混浊,二硫键聚合物主要是在混浊区域出现。无论白内障最初是从核开始,还是从皮质开始,透明区域或混浊区域均可发现广泛的氧化。Garner等(1982)将培养的牛眼晶状体加入浓度为1mmol/L过氧化氢,18h后就可以出现明显的表层皮质混浊,48h后更加明显。与健康对照组比较,糖尿病患者晶状体内脂质过氧化指标硫代巴比妥酸(TBARS)明显增高,抗氧化酶SOD,过氧化氢酶(CAT)、GSH-PX及抗氧化剂系统GSH,维生素A、维生素C、维生素E都明显减少^[12]。血糖上升可增加晶状体中的自由基,加速晶状体混浊^[13]。本次实验也证实:模型组的抗氧化酶SOD,GSH-PX和GSH均低于保护组和空白组。石决明组的晶状体混浊程度明显轻于模型组,抗氧化酶的含量也高于模型组。这也说明石决明能减轻晶状体的氧化损伤,从而延缓白内障的进展,有保护晶状体的作用。

参考文献

- 1 祁明信,黄秀榕,汪朝阳,等.复方SZ滴眼液对实验性半乳糖白内障的防治作用.中国病理生理杂志2002;18(10):1206-1208
- 2 Girao H, Mota C, Pereira P. Cholesterol may act as an antioxidant in lens membranes. *Curr Eye Res* 1999;18(6):448-454
- 3 Giblin FJ. Glutathione: a vital lens antioxidant. *J Ocul Pharmacol Ther* 2000;16(2):121-135

- 4 Pradhan AK, Shukla AK, Reddy MVR, et al. Assessment of oxidative stress and antioxidant status in age-related cataract in rural population. *Indian J Clin Biochem* 2004;19(1):83-87
- 5 李凤鸣.眼科全书.北京:人民卫生出版社1996:1554-1562
- 6 秦虹.白内障病人晶状体上皮细胞DNA损伤初探.眼科2001;10(4):239-242
- 7 Truscott RJ. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res* 2005;80(5):709-725
- 8 Freil CD, Gilliland KO, Mekeel HE, et al. Ultrastructural characterization and Fourier analysis of fiber cell cytoplasm in the hyperbaric oxygen treated guinea pig lens opacification model. *Exp Eye Res* 2003;76(4):405-415
- 9 Singh P, Jain A, Kaur G. Impact of hypoglycemia and diabetes on CNS: Correlation of mitochondrial oxidative stress with DNA damage. *Mol Cell Biochem* 2004;260(1-2):153-159
- 10 Barzilai A, Yamamoto KI. DNA damage responses to oxidative stress. *DNA Repair* 2004;3(8):1109-1115
- 11 Mark AB, Edoardo BC. Lipid peroxide and reactive oxygen species generating systems of the crystalline lens. *Biochim Biophys Acta* 1994;1225(3):326-337
- 12 Palanisamy P, Varatharaju C, Utharasamy SK. Evaluation of oxidative stress, enzymatic and non-enzymatic antioxidants and metabolic thyroid hormone status in patients with diabetes mellitus. *Diabetes&Meta Syndrome: Clin Res& Rev* 2009;3(3):160-165
- 13 Tongabay C, Durali M, Unal E. Aqueous humor and serum levels of chromium in cataract patients with and without diabetes mellitus. *Ophthalmologica* 2008;222(5):324-328