五子衍宗丸对糖尿病性白内障模型小鼠氧化损伤影响的研究

李广远*, 朱向东, 吴红彦, 李雪燕, 楚惠媛
(甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] **目的**: 研究中药复方"五子衍宗丸"对糖尿病性白内障小鼠氧化损伤的影响。**方法**: 小鼠 60 只随机分为 5 组, 空白组(A 组), 模型组(B 组), 维生素 C 治疗组(C 组), 中药预防组(D 组), 中药治疗组(E 组)。B、C、D、E 4 组按 20 mL/kg 腹腔注射 10% D-半乳糖溶液 20 d 造模, 空白组注射相应剂量的生理盐水, D 组以 1.875 g/kg 五子衍宗丸水溶剂灌胃, 1 次/d。造模结束后, C 组以维生素 C 水溶液灌胃治疗, E 组用五子衍宗丸水溶剂灌胃治疗, 测定晶状体和血清中 MDA 含量, SOD 和 GSH-Px 的活性。**结果**: 五子衍宗丸可提高红细胞超氧化物歧化酶(SOD), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX) 的活性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 降低丙二醛(MDA) 的含量($P < 0.01$), 能保持小鼠透明晶状体的百分率达 40%。**结论**: 五子衍宗丸是通过对抗 D-半乳糖所致的氧化损伤, 延缓糖尿病性白内障病变发展的进程。

[关键词] 白内障; 糖尿病; 自由基; 五子衍宗丸
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)01-0062-03

五子衍宗丸出自明·王肯堂《证治准绳》。该方是防治眼科疾病的经典名方, 现代大量临床报道显示其防治糖尿病性白内障疗效独特。本实验旨在探讨五子衍宗丸抗糖尿病性白内障(DC) 的作用机制, 主要从检测小鼠血清及晶状体 MDA 含量、SOD、GSH-Px 活性及晶状体混浊度等方面阐明中药复方五子衍宗丸抗氧化损伤的机理, 为该方研发成防治 DC 的新型中药制剂提供理论依据。

1 材料

1.1 药品与试剂: D-半乳糖($C_6H_{12}O_6$), 分子量为 180(上海生化制剂厂), 批号: 20030805, 10% D-半乳糖溶液的配制方法: 准确称取 25g D-半乳糖粉末置于烧杯中, 用适量的蒸馏水溶解后转于 250 mL 容器中, 加蒸馏水至刻度, 静置后放入冰箱中贮藏备用; 五子衍宗丸(北京同仁堂股份有限公司) 批号: 2030142, 成人口服, 1 次 6 克, 1 日 2 次。动物用剂量按体表面积法折算。氯化钠注射液(甘肃扶止制药有限公司), 批号: 200010081-1; 维生素 C 片(西安利君精华药业有限责任公司) 批号: 20030604; 超氧化物歧化酶(SOD) 测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX) 测试盒、丙二醛(MDA) 测试盒, 均由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 动物 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 20±1 g。由卫生部兰州生物制品研究所提供(医动字: 14-005)。

1.3 仪器 电动仪器台(裂隙灯) 由苏州医疗器械厂制造。

2 方法

2.1 动物分组 将 50 只小鼠, 随机分为 5 组, 空白组(A 组), 模型组(B 组), 维生素 C 组(C 组), 五子衍宗丸预防组(D 组), 五子衍宗丸治疗组(E 组)。

2.2 造模方法[1] B、C、D、E 4 组以左手抓住小鼠, 使腹部向上, 碘伏消毒后下部, 右手将注射针头于左下腹部刺入, 使针头向前推进 0.5~1.0 cm, 再以 45 度角穿过腹肌固定针头, 缓缓注入 10% 半乳糖溶液 25mL·kg·d, 空白组以同样方法腹腔注射相应量生理盐水。造模时间 20 d。

2.3 给药方法 B、C、E 组造模时不给药。D 组在造模同时五子衍宗丸水煎剂灌胃预防, 剂量为 1.875 g·kg·d, 至造模结束。造模结束后, C 组以维生素 C 水煎剂灌胃治疗, 剂量 0.31 g·kg·d, E 组用五子衍宗丸水煎剂灌胃治疗, 剂量 1.875 g·kg·d。1 次/d, 连续 20 d。B、C、D、E 组在造模结束后用裂隙灯检查晶状体混浊度, 然后断头处死 B、D 组小鼠, 摘取晶状

[收稿日期] 2006-05-26
[通讯作者] * 李广远, Tel: (0931) 3989684; E-mail: liguangyuan@gszy.edu.cn

体并采血; A、C、E 3 组在治疗后用裂隙灯检查晶状体混浊度, 然后处死, 摘取晶状体并采血。

2.4 晶状体混浊程度分级[2] 共分 5 级: Ⅰ级, 无混浊(晶状体透明清亮); Ⅱ级, 较混浊(仅赤道部有空泡); Ⅲ级, 明显混浊(空泡扩展到中央); Ⅳ级, 核混浊(晶状体只在中央呈现核性白内障): Ⅴ级, 整个晶状体完全性白内障。

2.5 指标检测 晶状体加适量生理盐水, 在玻璃匀浆器内研磨 5 min, 冰水浴条件下, 制成 10% 组织匀浆。组织匀浆、血浆分别离心 10 min(3 000 r/min), 取组织匀浆、血浆上清液分别进行下述指标测定: ①超氧化物歧化酶(SOD) 活力测定, 采用黄嘌呤氧化酶法。②谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX) 的活力测定, 以催化还原型谷胱甘肽 GSH 的反应速度来表示。③丙二醛(MDA) 的含量测定, 采用硫代巴比妥酸TBA 法测定。

2.6 统计方法 晶状体混浊程度按分级以 Ridit 分析法检验, 计量资料用 SPSS 软件作单因素方差分析。

3 结果

3.1 五子衍宗丸对实验小鼠晶状体混浊程度的影响 结果见表 1。

表 1 五子衍宗丸对实验小鼠晶状体混浊程度的影响(n= 10)

组别	剂量 g•kg•d	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
空白组	—	10	0	0
模型组	—	0	4	6
五子衍宗丸预防组	1.875	6	2	2
维生素 C 组	0.31	4	5	1
五子衍宗丸治疗组	1.875	6	4	0

注: 由于小鼠瞳孔小, 无法区别 Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ故将 Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ组合为 Ⅲ 统计。

3.2 五子衍宗丸对实验性小鼠晶状体自由基代谢的影响 结果见表 2。

表 2 五子衍宗丸对实验性小鼠晶状体自由基代谢的影响(n= 10, $\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 (g•kg•d)	SOD (Nu/L)	GSH-Px (u/g hb)	MDA (nmol/L)
空白组	—	60.52 ±15.17[2)]	14.30 ±3.31[2)]	6.12 ±0.38[2)]
模型组	—	32.26 ±10.32	8.54 ±1.25	8.32 ±0.36
维生素 C 组	0.31	49.86 ±24.88	11.02 ±2.23	8.03 ±0.25
五子衍宗丸预防组	1.875	42.56 ±12.36	10.58 ±4.82	7.82 ±0.56
五子衍宗丸治疗组	1.875	50.42 ±17.32[1)]	11.89 ±1.25	6.72 ±0.58[1)]

注: 与模型组比较[1)] $P< 0.05$, [2)] $P< 0.01$(下同)

3.3 五子衍宗丸对实验型小鼠血浆自由基代谢的影响 结果见表 3。

表 3 五子衍宗丸对实验型小鼠血浆自由基代谢的影响(n= 10, $\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 (g•kg•d)	SOD (Nu/L)	GSH-Px (u/g hb)	MDA (nmol/L)
空白组	—	55.56 ±1.69[2)]	16.58 ±3.31[2)]	10.23 ±0.25[2)]
模型组	—	32.87 ±2.56	10.58 ±2.68	15.78 ±0.59
维生素 C 组	0.31	45.46 ±3.53[1)]	13.56 ±2.69[1)]	13.58 ±1.36[1)]
五子衍宗丸预防组	1.875	38.56 ±3.78	12.49 ±1.25	14.56 ±1.89
五子衍宗丸治疗组	1.875	48.56 ±2.48[1)]	14.05 ±3.36[2)]	13.89 ±2.58[1)]

4 讨论

糖尿病性白内障的发病机理主要有渗透压学说, 非酶糖基化学说以及氧化损伤学说, 其中晶状体的氧化损伤被认为是糖尿病性白内障的一个主要激发因素[3]。体内过氧化脂质水平的高低反映了机体脂质受自由基攻击损伤的程度, 而过氧化脂质的最终主要产物是丙二醛(MDA), 超氧化物歧化酶(SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX) 是公认的机体酶促类自由基防御系统[4], 它们对清除自由基、保护细胞组织起着重要作用。

实验研究表明腹腔注射 D-半乳糖溶液后, 晶状体和血清 SOD, GSH-PX 的活性明显降低($P< 0.01$), MDA 含量明显升高($P< 0.01$); 晶状体混浊度检查结果显示: 小鼠随着半乳糖注射量的积累, 在造模结束后, 模型组有 4 只眼睛晶状体出现轻度混浊, 6 只高度混浊; 维生素 C 组有 5 只眼睛晶状体轻度混浊, 5 只高度混浊; 说明晶状体和血清 SOD, GSH-PX 的活性明显降低, 产生大量的氧自由基不能清除而对晶状体造成氧化损伤, 导致过氧化脂质产物丙二醛(MDA) 的堆积是诱发糖尿病性白内障的主要原因之一。

经五子衍宗丸治疗后实验小鼠晶状体和血清 SOD, GSH-PX 活力与模型组比较明显升高($P< 0.05$ 或 $P< 0.01$), MDA 含量明显降低($P< 0.01$)。晶状体混浊度检查结果显示: 在治疗后, 中药治疗组有 6 只眼睛晶状体无混浊, 4 只轻度混浊, 有 6 只小鼠晶状体透明清亮, 占总数的 60%。说明五子衍宗丸是通过提高晶状体和血清 SOD, GSH-PX 活性, 清除过多的氧自由基而对抗 D-半乳糖所致的氧化损伤, 延缓糖尿病性白内障病变发展的进程。

中药预防组小鼠晶状体和血清 SOD, GSH-PX 测

(下转第 66 页)

(上接第 63 页)
定值均有一定程度改善。晶状体混浊度检查结果显示: 在造模结束后, 预防组有 6 只眼睛晶状体无混浊, 2 只轻度混浊, 2 只高度混浊, 保持晶状体透明百分率达 60%; 说明在糖尿病性白内障尚未发生之前即预防性给药, 可明显减轻或延缓糖尿病性白内障的发生、发展。中药复方五子衍宗丸对抗糖尿病性白内障小鼠氧化损伤确有疗效, 本研究为将其开发成防治糖尿病性白内障新药提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 杨涛, 梁康, 张昌颖, 等. 四种中草药对大鼠半乳糖性白内障防治效用的研究[J]. 北京医科大学学报, 1991, 23(2): 97.

[2] 方朝晖, 崔宜武. 茶色素对大鼠 D-半乳糖性白内障的影响[J]. 安徽中医学院报, 1997, 16(3): 53-55.

[3] 周水平, 金小林. 经通对糖尿病大鼠视网膜超微结构的影响[J]. 中医药学报, 2001, 29(2): 53-56.

[4] 崔巍, 高伟. 糖尿病视网膜病变患者血清超氧化物歧化酶检测与分析[J]. 中华眼病杂志, 1994, 10(2): 92-93.