

注射用消障素结膜下注射对豚鼠 d-半乳糖性白内障的防治作用

李宝瑗¹, 闵红波², 张富赓¹, 王士贤¹, 章萍¹, 冯文茹¹

(1. 天津市医药科学研究所, 天津 300070; 2. 中国人民解放军455医院眼科, 上海 200052)

摘要:目的: 探讨注射用消障素对豚鼠实验性d-半乳糖性白内障的防治作用。方法: 用0.4% d-半乳糖0.2mL/眼给豚鼠球后注射, 连续19d, 造成d-半乳糖性白内障模型。注射用消障素治疗起始于诱发模型当日, 高、低剂量实验组分别结膜下注射0.04mL(原液及1:1稀释液)/眼, 隔日1次, 共10次。于实验结束之日进行裂隙灯显微镜摄影, 对各组实验动物晶状体混浊度进行分析比较, 并测定其MDA含量及SOD活性。结果: 注射用消障素高、低2个剂量组均能显著抑制豚鼠d-半乳糖性白内障晶状体混浊度的进展, 作用与阳性对照药白内停组相仿; 并可显著降低其晶状体MDA的含量; 对SOD活性则无明显影响。结论: 注射用消障素结膜下注射, 可明显抑制豚鼠d-半乳糖性白内障的发生发展, 并对其晶状体脂质过氧化损伤具有一定的保护作用。

关键词: 注射用消障素; d-半乳糖性白内障; 乌骨鸡胆汁

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)02-0015-03

The Preventive and Therapeutic Effects of Subconjunctival Injection of Xiaozhangsu on Experimental D-Galactose Cataract of Guinea Pig

LI Bao-yuan¹, MIN Hong-bo², ZHANG Fu-geng¹, WANG Shi-xian¹, ZHANG Ping¹, FENG Wen-ru¹

(1. Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300070, China

2. Department of Ophthalmology, 455 Hospital of PLA, Shanghai 200052, China)

Abstract: To study on the preventive and therapeutic effect of Xiaozhangsu Injection (XZS) on cataract induced by D-galactose in guinea pigs, the D-galactose cataract model was made by means of retrobulbar injection of 0.4% D-galactose at the dose of 0.2ml/day in each eye to guinea pigs for continuous 19 days. The subconjunctival injection of 0.04 ml XZS with high dose and low dose was used at the same day of model induction and was done once every other day for 10 times. The lenses were photographed on the day or experimental end. The opacities of lenses were compared and analyzed. Simultaneously, the contents of MDA and the activities of SOD in lenses were assayed. The results showed XZS was able to inhibit the development of opacity and decreased significantly the content of MDA. But it has no obvious effect on the activity of SOD.

Key words: Xiaozhangsu Injection; D-galactose cataract; Gallus domesticus brisson bile

注射用消障素(Xiaozhangsu injection)系中国人民解放军113医院原眼科杜玉佩主任医师以《备急千金要方》卷六上·七宿窍病上“治目不明, 泪出, 乌鸡胆临卧敷之”为依据, 经多年临床实践, 运用现代科技手段将雉科动物(Phasianidae)乌骨鸡的新鲜胆汁(Gallus domesticus brisson bile)制成眼用冻干针剂。经患眼结膜下注射, 治疗早、中期老年性白内障, 获得了疗程短、疗效好的满意结果。

本实验采用d-半乳糖诱发豚鼠白内障模型, 从

宏观形态学及生化指标等方面观察了注射用消障素对糖性白内障损伤的保护作用。

1 材料

1.1 药品与试剂 注射用消障素(上海复明生物制品有限公司), 含牛磺鹅去氧胆酸钠(TCDCA-Na C₂₆H₄₄NO₆S•Na)5mg/安瓿, 使用前加0.6mL灭菌注射用水溶解视为原液; d-半乳糖(BR, 上海试剂二厂); 白内停眼药水(武汉制药厂); 1%阿托品滴眼液(天津医科大学附属医院), 供镜检前扩瞳用; 氯霉素眼药水(天津胜利制药厂); 0.9%氯化钠注射液(天津氨基酸公司); 丙二醛(MDA)及超氧化物歧化酶

(SOD) 配套试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 实验动物 选用三色豚鼠(色素膜为黑色), 35 只, 雌雄兼用, 体重 350~ 510g。由中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所实验动物室提供。常规饲料, 自由饮水。

1.3 仪器 Topcon SL-SD 型裂隙灯显微镜, 日本国制造; 721 分光光度计, 上海第三分析仪器厂制造。

2 实验方法

2.1 α 半乳糖诱发豚鼠实验性白内障模型的建立及治疗 经裂隙灯显微镜观察, 将双侧晶状体均无白内障的 35 只三色豚鼠按性别、体重分层随机分为 5 组(7 只动物/组, 14 只眼/组): 正常对照组、模型对照组、阳性药对照组和注射用消障素高、低剂量组。参照王淑秀等人的方法^[1], 除正常对照组外, 其他参试组动物均于无菌操作下每天固定单眼(右)球后注射 0.4% α 半乳糖, 0.2ml/d, 连续 19d, 复制成豚鼠 α 半乳糖性白内障模型。于诱发模型当日开始治疗, 模型对照组(0.9% 氯化钠注射液, 0.04ml/眼)、注射用消障素高、低剂量组(原液及 1:1 稀释液 0.04ml/眼)隔日双眼结膜下各注射 1 次, 共 10 次; 阳性对照药(白内停眼药水) 0.02ml/次, 2 次/d, 滴眼, 连续 20d。对诱发白内障的全部豚鼠均滴用氯霉素眼药水, 1 滴/d, 预防感染。

2.2 晶状体形态学观察 于末次给药翌日, 以 1% 阿托品扩瞳, 用裂隙灯显微镜对各组动物的晶状体逐一观察记录并同步拍摄正、侧位晶状体立体照片。将观察记录与摄影照片采取单盲法进行综合分析。按下列标准对晶状体混浊度进行分级^[2]:

“0 级”: 晶状体透明;

“+ 级”: 晶状体后囊点状混浊;

“++ 级”: 晶状体后囊条状混浊。

2.3 豚鼠晶状体生化指标的测定

2.3.1 豚鼠晶状体匀浆的制备^[3] 实验结束次日, 乙醚麻醉致死, 将摘除的眼球, 在冰浴下用生理盐水漂洗, 表面用滤纸吸干。在平皿内从后极部剖开眼球, 从赤道剪去后部眼球, 前部眼球角膜朝下, 将晶状体后极部残留玻璃体剪除, 剥离悬韧带, 用圈匙托起完整的晶状体, 用扭力天平称重后, 立即分别置于 3ml HEPES 缓冲液(PH7.4)中。冰浴中, 电动匀浆。4000r·min⁻¹ 高速离心, 10min, 取上清液, 用 721 分光光度计测定各项生化指标。

2.3.2 豚鼠晶状体匀浆上清丙二醛(MDA)的测定 过氧化脂质降解产物中的 MDA 可与硫代巴比妥

酸(TBA) 缩合形成红色产物, 532nm 处有最大吸收峰。用四乙氧基丙烷为标准品, 同时做标准管, 标准空白管和测定空白管。蒸馏水调零, 532nm 比色, 由各管的吸收度(A) 求出样品中 MDA 的含量。

2.3.3 豚鼠晶状体匀浆上清超氧化物歧化酶(SOD)的测定 SOD 对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用, 当发生白内障时, 该酶活力显著下降。检验原理: 通过黄嘌呤氧化酶反应产生超氧阴离子自由基, 后者氧化羟胺形成亚硝酸盐, 在显色剂作用下产生紫红色, 被检样品中含 SOD 时, 则对超氧阴离子有专一性抑制作用, 使形成的亚硝酸盐减少, 其测定样品中 SOD 值低于对照管 SOD 值, 通过计算求出 SOD 活力。依据酶的定义: 每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50% 时, 所反应的 SOD 量为 1 个亚硝酸盐单位^[4]。

2.3.4 统计学处理 对晶状体形态学观察结果实行秩和检验^[5]; 对晶状体 MDA 和 SOD 测定的实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异用 *t* 检验进行显著性分析。

3 实验结果

3.1 裂隙灯显微镜对豚鼠晶状体形态学的观察

本实验成功地建立了豚鼠 α 半乳糖性白内障的实验模型, 模型对照组豚鼠晶状体均发生了程度不等的混浊, 与正常对照组相比有显著性差异(秩和检验); 阳性对照药白内停组、注射用消障素高、低剂量组均有明显延缓 α 半乳糖性白内障发生、发展的作用, 与模型对照组比较差异显著。如表 1 所示。

3.2 注射用消障素对豚鼠 α 半乳糖性白内障晶状体生化指标的影响 结果列于表 2。MDA 是脂质过氧化的终末产物, α 半乳糖性白内障模型对照组晶状体内 MDA 含量比正常对照组显著增高; 注射用消障素高、低两个剂量组与模型对照组比较均有显著性差异, 但对 SOD 无明显影响。

表 1 对豚鼠 α 半乳糖性白内障晶状体混浊度的影响($\bar{x} \pm s; n=14$)

组别	晶状体混浊度分级		
	0 级	+ 级	++ 级
正常对照组	14	0	0**
模型对照组	0	4	10
白内停组	7	5	2*
注射用消障素高剂量组	4	9	1*
注射用消障素低剂量组	6	8	0**

注: 与模型对照组比较* *P* < 0.01, ** *P* < 0.001

表 2 对豚鼠 α 半乳糖性白内障晶状体 MDA 含量及 SOD 活性的影响($\bar{x} \pm s; n = 14$)

组别	MDA (nmol/mg Wt)	SOD(NU/mL)	MDA/SOD $\times 100$
正常对照组	1.46 \pm 0.67*	104.10 \pm 21.00	1.38 \pm 0.48*
模型对照组	2.09 \pm 0.80	98.30 \pm 18.20	2.15 \pm 0.89
白内停组	1.65 \pm 0.73	89.50 \pm 16.50	1.69 \pm 0.73
注射用消障素高剂量组	1.13 \pm 0.58**	97.80 \pm 18.70	1.19 \pm 0.63**
注射用消障素低剂量组	1.25 \pm 0.92**	101.6 \pm 19.7	1.74 \pm 0.74**

注:与模型对照组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$

4 讨论

裂隙灯显微镜检查是白内障临床常用的病理指征^[6]。本实验应用宏观裂隙灯显微镜摄影分级法,在豚鼠 α 半乳糖性白内障的防治中,对注射用消障素进行药效学评价。结果表明:注射用消障素高(原液)、低(1:1 稀释液)剂量(0.04mL/眼)结膜下注射及阳性对照药白内停眼药水滴眼给药对豚鼠 α 半乳糖性白内障的发生、发展均有明显的延缓作用。

目前已知 α 半乳糖性白内障形成的病理过程与糖尿病性或老年性白内障基本相同^[2]。该模型既稳定又具有代表性,便于从多方面考察药物对白内障的防治作用。该模型形成有两种解释:一是渗透应力学说;二是氧化学说。还原单糖在生理条件下可以自身氧化产生自由基如超氧阴离子、烷自由基等,这些自由基使晶状体细胞膜的脂质过氧化,破坏损伤晶状体纤维结构而形成白内障^[4]。许多研究表明,氧化损伤是白内障发生的关键所在。脂质过氧化物 MDA 是白内障病理变化的主要产物^[6],注射用消障素 2 个剂量组均能显著抑制其晶状体 MDA 的含量,显示其对晶状体脂质过氧化损伤具有一定的保护作用。

鸡胆,性味苦寒,功能清肝明目,兼能祛痰止咳。鸡胆汁中主要含结合胆汁酸——牛磺鹅去氧胆酸,并以钠盐的形式存在^[7]。本品在研制过程中曾与普通家鸡胆汁进行临床疗效对比观察,结果乌骨鸡胆汁的治疗效果明显优于普通家鸡的胆汁。近年来牛磺酸治疗实验性白内障的研究亦屡见报道^[8,9]。牛磺酸可以防止高浓度的糖引起的脂质过氧化,维持晶状体的透明状态;同时它也是理想的渗透压调节

剂。白内障发生的过程中晶状体内牛磺酸含量显著下降,提示牛磺酸含量的减少与白内障之间存在着一定的关系^[8]。亦为乌骨鸡胆汁治疗老年性白内障提供了现代科学的依据。

祖国医学认为:“五十岁,肝叶始薄,胆汁始减,目始不明。”肝木不平,内挟心火,乘热妄行,火炎不制,神水受伤,上为内障^[10]。注射用消障素正是根据上述病机,主选乌骨鸡胆之精,以达到清热平肝,明目退翳之功效,为老年性白内障患者带来了光明。

参考文献:

- [1] 王淑秀,王淑媛,刘海亮,等.每天一次半乳糖球后注射诱发豚鼠白内障形成[J].山西医药杂志,1980,9(2):4-5.
- [2] 俞昌喜,黄自强,翁绳美,等.麝珠明目散对豚鼠实验性白内障的作用[J].中国药理与临床,1994,(6):26-27.
- [3] Bhuyan KC, Bhuyan DK, Podos SM. Lipid peroxidation in cataract of the human [J]. Life Sci, 1986, 38(16): 1463.
- [4] 韩秀娟,陈集敏,王翔,等.探讨氧化应力与半乳糖诱导白内障之间的关系[J].眼科研究,1999,17(1):34-37.
- [5] 林求诚.实用医学统计[M].福州:福建科学技术出版社,1985.83-84.
- [6] 季晖,濮祖茂,龚国清,等.豚鼠 α 半乳糖性白内障的实验模型研究[J].眼科研究,1996,14(4):236-239.
- [7] 梅和珊,石朝周,王凯平,等.牛磺胆酸钠和牛磺鹅去氧胆酸钠的药效学比较研究[J].中国临床药理学杂志,1999,20(4):198-200.
- [8] 宋秀君,王仁杰,颜京霞,等.牛磺酸对实验性半乳糖性白内障的防治作用[J].眼科研究,1999,17(4):253-255.
- [9] 陈风华,陈翠真.牛磺酸抑制过氧化氢诱发牛晶状体上皮细胞凋亡的实验研究[J].中华眼科杂志,2000,36(4):272-274.
- [10] 汪昂.医方集解羊肝方条下引文[M].北京:共和书局,1994石印本.

致谢:本实验承蒙天津市眼科医院影像室金伯骥主任的大力协助,在此深表谢意。

注:注射用消障素是国家药品监督管理局 1999 年 8 月 7 日以前已批准进行临床研究的中药品种二类新药。