

川芎嗪对大鼠离体培养晶状体 SOD, CAT 和 MDA 的影响

朱月星, 邓新国, 高 杨, 朱宇广

基金项目: 中国广东省中医药管理局资助项目 (No. 2007095)
作者单位: (510060) 中国广东省广州市, 中山大学中山眼科中心
 中山大学眼科学国家重点实验室
作者简介: 朱月星, 男, 中山大学中山医学院临床医学八年制学生。
通讯作者: 邓新国, 博士, 副研究员, 研究方向: 干眼症和眼科药物作用机制研究. dengxg61@163. net
收稿日期: 2010-01-04 **修回日期:** 2010-02-05

Effect of tetramethylpyrazine on SOD, CAT and MDA of isolated rat lens

Yue-Xing Zhu, Xin-Guo Deng, Yang Gao, Yu-Guang Zhu

Foundation item: Supported by the Traditional Chinese Medicine Administration of Guangdong Grant (No. 2007095)
 State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China

Correspondence to: Xin-Guo Deng. State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China. dengxg61@163. net

Received: 2010-01-04 Accepted: 2010-02-05

Abstract

• **AIM:** To observe the effect of tetramethylpyrazine (TMP) on superoxide dismutase (SOD), malonaldehyde (MDA) and catalase (CAT) of isolated rat lens *in vitro*.

• **METHODS:** The rats were randomly divided into 7 groups and the lens in each group were isolated and cultured with RPMI-1640 culture fluid and different concentrations of TMP solution (0, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 and 4g/L). After cultured for 24 hours, the transparency of the lens was observed with wake eye and homogenated. The enzyme activation levels of SOD, CAT and the contents of MDA were measured by photometry respectively.

• **RESULTS:** Compared with normal group, 0.25, 0.5, 1 and 2g/L TMP could obviously increase the activity of SOD, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$ and $P < 0.05$ respectively, while 0.125 and 4g/L TMP had no significance effect. Compared with normal group, 0.5g/L TMP could improve the activity of CAT, $P < 0.01$ while other concentrations of TMP had no significance effect. Compared with normal group, 0.125, 0.25, 0.5, 1 and 2g/L TMP could obviously decrease the content of MDA, $P < 0.01$, while 4g/L TMP had no significance effect.

• **CONCLUSION:** TMP could increase enzyme activation of SOD and CAT, and decrease contents of MDA in isolated lens of rats.

• **KEYWORDS:** tetramethylpyrazine; rat; lens culture; anti-oxidation

Zhu YX, Deng XG, Gao Y, *et al*. Effect of tetramethylpyrazine on SOD, CAT and MDA of isolated rat lens. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(3):437-439

摘要

目的: 探索川芎嗪 (tetramethylpyrazine, TMP) 对大鼠离体培养晶状体抗氧化作用的 SOD, CAT 和 MDA 的影响。

方法: 取 SD 大鼠晶状体放入 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4g/L 的 TMP 溶液的培养液进行离体培养 24h 后, 观察晶状体形态变化, 并作组织匀浆后采用黄嘌呤氧化酶反应法测定 SOD 活性, 钼酸铵终止法测定 CAT 活性, 硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量。

结果: 与正常对照组比较, 0.25, 0.5, 1 和 2g/L 的 TMP 可明显提高大鼠晶状体中 SOD 的活性 ($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$), 而 0.125 和 4g/L 的 TMP 作用效果不明显。CAT 检测结果显示, 与正常对照组比较, 0.5g/L 的 TMP 可明显提高大鼠晶状体中 CAT 的活性 ($P < 0.01$), 而 0.125, 0.25, 1, 2 和 4g/L 的 TMP 作用效果不明显。与正常对照组比较, 0.125, 0.25, 0.5, 1 和 2g/L 的 TMP 可明显降低大鼠晶状体中 MDA 的含量 ($P < 0.01$), 4g/L 的 TMP 作用效果不明显。

结论: TMP 对培养大鼠离体晶状体有提高 SOD, CAT 活性和降低 MDA 含量的作用。

关键词: 川芎嗪; 大鼠; 晶状体培养; 抗氧化作用

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.03.011

朱月星, 邓新国, 高杨, 等. 川芎嗪对大鼠离体培养晶状体 SOD, CAT 和 MDA 的影响. *国际眼科杂志* 2010;10(3):437-439

0 引言

川芎嗪 (tetramethylpyrazine, TMP) 是从伞科植物川芎的根茎中提取的有效成分, 化学结构为四甲基吡嗪, 临床上多用于治疗心脑血管疾病。现代研究表明 TMP 具有扩张血管、抗血小板聚集、改善组织微循环、调节脂质代谢、抗脂质过氧化、抑制平滑肌细胞和成纤维细胞增生等药理作用^[1-5]。近年来, TMP 在眼科领域的应用研究引起了极大的关注, Yang 等^[6]研究发现, TMP 能对离体培养的视网膜细胞有明显的保护作用。TMP 在器官的离体培养与保存过程中有强大的保护作用, 陈刚等^[7]研究发现, 在 WMO-1 号器官保存液中加入 TMP 可减轻肾脏在保存中的损伤, 储利胜等^[8]在改良的 EC 心脏保存液中添加 TMP

保存大鼠心脏能提高保存后心脏的心功能等。我们采用不同浓度的TMP对晶状体离体培养进行干预,以初步探讨TMP对离体晶状体的抗氧化作用。

1 材料和方法

1.1 材料 5周龄SD大鼠购自中山大学动物实验中心,盐酸TMP(上海诺泰化工有限公司),RPMI 1640培养基(美国Hyclon公司)。考马斯亮兰蛋白含量试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒、丙二醛(MDA)含量试剂盒和微量钙试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。UV-1700分光光度计(日本岛津),电子分析天平(广州东南科创科技有限公司),数显恒温水浴锅(荣华仪器制造有限公司),电子天平(德国赛多利斯),组织粉碎机(瑞士JETPHARMA),台式低速自动平衡离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司),PB-10pH计(德国赛多利斯)。

1.2 方法 选取5周龄健康SD大鼠21只,雌雄不限,排除眼部疾病,随机分成7组,即正常对照组和不同浓度TMP处理组,分别采用RPMI1640培养液和用RPMI 1640培养液配制的0.125,0.25,0.5,1,2,和4g/L的TMP液处理。过量麻醉处死各组大鼠,取大鼠眼球,洗净眼球血迹,剔除肌肉等组织,暴露干净的巩膜。用含庆大霉素32U/L的生理盐水冲洗3次,每次10min。用注射器针头在眼球后极刺一小孔,用眼科手术剪沿小孔剪开视网膜,分离晶状体,将晶状体放入RPMI 1640培养基中培养3h,弃除混浊的晶状体,选取透明者进行实验。将上述不同组别的透明晶状体放入相应的培养基中,于37℃,5mL/LCO₂培养箱中培养24h后,小心取出各组晶状体,观察各组晶状体形态学变化、晶状体的混浊程度和培养液中的碎屑情况等。待观察晶状体形态学后,滤纸吸干后电子天平称量记录。按重量体积比1:9加入4℃生理盐水,冰浴下用组织粉碎机充分粉碎,制得100g/L的晶状体匀浆,3500r/min离心10min,取上清和根据南京生物建成研究所提供的试剂盒说明书中所述方法,采用考马斯亮兰显色法测定蛋白含量,黄嘌呤氧化酶反应法测定SOD活力,钼酸铵终止法测定CAT活力,硫代巴比妥酸法测定MDA含量。

统计学分析:应用SPSS 16.0统计软件进行统计分析,将测得实验数据用SNK-q法行组间多重比较统计学处理,其结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

各组晶状体的形状没有变化,均有轻度的混浊现象,培养液中有极少量的碎屑,但各组间并无明显差异。与正常对照组比较,0.25,0.50,1和2g/L的TMP可明显提高大鼠晶状体中SOD的活性($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$),而0.125和4g/L的TMP作用效果不明显(表1)。与正常对照组比较,0.5g/L的TMP可明显提高大鼠晶状体中CAT的活性($P < 0.01$);而0.125,0.25,1,2和4g/L的TMP作用效果不明显(表1)。与正常对照组比较,0.125,0.25,0.50,1和2g/L的TMP可明显降低大鼠晶状体中MDA的含量($P < 0.01$),而4g/L的TMP作用效果不明显(表1)。

3 讨论

结果表明,TMP可明显增强大鼠晶状体的SOD和CAT酶活性,避免脂质类的氧化,达到防治晶状体混浊的作用。但是,高浓度的TMP(4g/L)可能具有一定的毒副作用,较低浓度的TMP(0.125g/L)可能达不到作用浓度,

表1 TMP对大鼠晶状体中SOD和CAT活性及MDA含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

TMP (g/L)	SOD ($\mu\text{kat/g}$)	MDA (nmol/g)	CAT ($\mu\text{kat/g}$)
正常	91 ± 11	629 ± 104	8.4 ± 0.9
0.125	102 ± 17	406 ± 3 ^b	9.0 ± 0.6
0.25	137 ± 11 ^b	315 ± 149 ^b	9.7 ± 1.2
0.50	171 ± 21 ^b	261 ± 80 ^b	10.8 ± 1.2 ^b
1	150 ± 1.17 ^b	271 ± 51 ^b	10.5 ± 2.0
2	125 ± 17 ^a	368 ± 34 ^b	9.5 ± 2.0
4	79 ± 3	715 ± 39	8.3 ± 0.3

^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ vs 正常。

对晶状体中SOD和CAT活性的作用不明显。在离体培养过程中,晶状体细胞处于缺血缺氧状态,活性氧簇,如过氧化氢、超氧阴离子、单态氧、氢氧根等氧自由基可加强脂质过氧化反应,损伤细胞膜,造成细胞死亡^[9]。而SOD是反映晶状体上皮细胞抗氧化活性的关键酶,其活性可反映晶状体上皮细胞的抗氧化活性和机体清除氧自由基的能力^[10],SOD和CAT等一系列酶组成了酶促抗氧化系统^[11],能保护眼组织免受活性氧类物质的氧化损伤,MDA为晶状体内脂质的过氧化产物^[12,13],可反映脂质过氧化损伤的程度。本实验研究结果显示,TMP能有效保护离体培养的晶状体,其机制可能与其增强SOD和CAT的酶活性,降低MDA含量有关。

氧自由基毒性学说也是导致移植器官功能不全的主要原因之一,是器官移植保存中比较热门的研究课题,目前对避免这种损伤,多采用抗氧化治疗,合适的抗氧化剂在器官移植中的应用可延长器官移植的存活率和存活时间。TMP为传统中药川芎中提取的单一化学成分药物,该药物具有明显的高效低毒特点,且具有强大的抗氧化作用与钙拮抗作用,合适浓度的TMP能有效预防组织的损伤,提高器官的存活率和存活时间^[7,8,14]。综上所述,TMP对早期氧化损伤所致晶状体混浊具有一定的延缓作用,其机制可能与大鼠晶状体中SOD,CAT活性提高和MDA含量降低有关。通过TMP对离体培养晶状体的抗氧化作用研究,提示TMP可用于离体器官的保存,延长器官移植的存活时间。由此表明,TMP在器官移植保存液和防治晶状体混浊具有广阔的应用前景。

参考文献

- 1 Sheu JR, Kan YC, Hung WC, et al. The antiplatelet activity of tetramethylpyrazine is mediated through activation of no synthase. *Life Sci* 2000; 67(8): 937-947
- 2 宋宗明,崔守信,德秀川. 芎嗪对兔眼高眼压下视网膜神经节细胞和双极细胞损伤的保护作用. 第四军医大学学报 2001; 22(6): 514-517
- 3 Liu CF, Lin CH, Chen CF, et al. Antioxidative effects of tetramethylpyrazine on acute ethanol-induced lipid peroxidation. *Am J Chin Med* 2005; 33(6): 981-988
- 4 方静,张学东,雷春涛,等. 川芎嗪、环丙沙星对体外培养的人结膜成纤维细胞增殖抑制作用的研究. *中国药房* 2004; 15(12): 723-725
- 5 邓新国,胡世兴,贾小芸,等. 川芎嗪对 rd 和 rds 小鼠视网膜光感受器细胞干预作用的光镜观察. *中草药* 2006; 37(6): 891-894
- 6 Yang ZK, Zhang QJ, Ge J, et al. Protective effects of tetramethylpyrazine on rat retinal cell cultures. *Neurochem Int* 2008; 52(6): 1176-1187
- 7 陈刚,张肖红,陈实,等. 川芎嗪对犬肾保存的影响. *中华器官移植杂志* 1998; 19(3): 162-163
- 8 储利胜,施雪筠,席时芳,等. 川芎嗪提高心脏保存效果的实验研究. *中药新药与临床药理* 2000; 11(2): 80-83

9 Carper DA, Sun JK, Iwata T, et al. Oxidative stress induces differential gene expression in human lens epithelial cell line. *Invest Ophthalmic Vis Sci* 2002;40:400-406

10 Bala K, Tripathy BC, Sharma D. Neuroprotective and antiageing effects of curcumin in aged rat brain regions. *Biogerontology* 2006;7(2): 81-89

11 Javadzadeh A, Ghorbanihaghjo A, Bonyadi S, et al. Preventive effect of onion juice on selenite-induced experimental cataract. *Indian J Ophthalmol*

2009;57:185-189

12 Fukuzawa K. Dynamics of lipid peroxidation and antioxidant of α -tocopherol in membranes. *J Nutr Sci Vitaminol* 2008;54(4):273-285

13 曾凤, 李红. 阿魏酸对大鼠慢性高血压模型视网膜 MDA 和 SOD 的影响. *国际眼科杂志* 2009;9(9):1668-1670

14 范连慧, 吴雄飞, 余荣杰, 等. 川芎嗪预处理对大鼠移植肾保护作用的实验研究. *第三军医大学学报* 2004;26(15):1364-1367

· 短篇报道 ·

翼状胬肉切除术中应用丝裂霉素 C 联合自体角膜缘干细胞移植的疗效分析

李 博¹, 梁利梅²

作者单位:¹(721004) 中国陕西省宝鸡市, 解放军第三医院眼科;²(725000) 中国陕西省安康市汉滨区第二医院眼科

作者简介: 李博, 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 青光眼、白内障。

通讯作者: 梁利梅, 女, 主治医师, 研究方向: 眼表疾病。

523432695@qq.com

收稿日期: 2009-12-07 修回日期: 2010-02-08

李博, 梁利梅. 翼状胬肉切除术中应用丝裂霉素 C 联合自体角膜缘干细胞移植的疗效分析. *国际眼科杂志* 2010;10(3):439

0 引言

翼状胬肉是眼科常见病, 尤其在医疗卫生条件相对落后的农村发病率较高, 此病系由于阳光、沙尘等外界刺激作用于结膜下组织的胶原纤维, 使纤维组织变性, 角膜前弹力层损伤, 继发上皮变性, 结缔组织增生入已变性的角膜中形成胬肉^[1]。影响患者的视力及眼部外观。目前对翼状胬肉的药物无理想效果, 近年出现多种手术方法, 但单纯切除复发率高达 30% ~ 75%^[2], 而羊膜移植由于经济及术后复发问题较难在基层推广。我们通过 2007-04/2009-11 共完成 40 例翼状胬肉切除术中应用丝裂霉素 C 联合自体角膜缘干细胞移植手术, 取得理想的效果, 现报告如下。

1 临床资料

收集 2007-04/2009-11 收治的 40 例患者, 其中 38 例为原发性翼状胬肉, 2 例为复发性。患者年龄 34 ~ 68 岁, 男 12 例, 女 28 例, 术前给予科恒滴眼液(复方地塞米松新霉素, 山东正大福瑞达生产)、双氯酚酸钠滴眼液(非甾体类, 沈阳兴齐生产), 各 4 次/d, 用药 1wk。术前向患者、家属告知手术适应证和手术方案, 并获得知情同意书签字。爱尔卡因滴眼(美国爱尔康公司), 常规消毒铺巾暴露术

眼, 20g/L 利多卡因注射液结膜下麻醉, 手术在显微镜下操作, 距角膜缘 2mm 处, 剪开结膜分离结膜和胬肉组织至泪阜前 1mm, 用宝石刀分离长入角膜的部分, 钝性分离至前弹力层, 剪除胬肉组织, 盐酸肾上腺素棉片止血, 烧灼巩膜面出血点, 将 0.2g/L 丝裂霉素 C 棉片 5mm × 3mm 放置于结膜下 3 ~ 5min, 根据患者的年龄而定, 年轻患者可放置时间稍长, 年龄大者可放置时间稍短, 用 10mL 9g/L 氯化钠注射液冲洗 10 次, 充分去除丝裂霉素 C, 在同侧眼颞上侧角膜缘, 取带有角膜干细胞的结膜植片, 大小视胬肉切除情况而定, 10-0 尼龙缝线连续缝合, 结膜下注射抗菌消炎药, 结膜囊内涂抗生素眼膏, 加压包扎 2d, 术后科恒、双氯芬酸钠滴眼液点眼, 4 次/d × 7d, 然后 3 次/d × 14d, 2 次/d × 14d。术后 2wk 拆线。术后 2, 4d; 1, 2wk; 1, 2, 3, 6mo; 1a 复诊, 检查视力、裂隙灯检查眼前节前段、测眼压, 了解复发情况及其它并发症(如巩膜溶解坏死、角膜炎、虹膜炎)等情况。在 40 例患眼于术后 2wk 角膜愈合, 结膜移片成活, 3 ~ 6mo 移植片完全愈合, 角膜部分恢复透明, 眼球运动自如, 无 1 例复发及并发症。

2 讨论

丝裂霉素 C 是一种抗代谢药物, 能够抑制纤维母细胞的增殖, 从而抑制胬肉术后的复发^[3]。术中用 0.2g/L 的丝裂霉素 C, 能有效的降低复发率, 术后不再使用可防止患者术后自用时的不安全因素, 减少其带来的并发症^[4]。自体角膜缘干细胞移植术恢复了角膜缘的正常结构^[5], 对阻止胬肉的复发和眼表的重建具有极其重要的作用。通过本次临床观察认为, 翼状胬肉切除术中应用丝裂霉素 C 联合自体角膜缘干细胞移植术是一种复发率低、安全性强的术式, 适合在基层医院推广应用。

参考文献

- 1 刘家琦, 李凤鸣. 实用眼科学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社 1999: 308
- 2 彭广华, 李辰, 李志杰. 现代眼科治疗学. 广州: 广东科学技术出版社 2001: 139-141
- 3 谢青, 莫杏君, 蒋幼勤. 术中应用丝裂霉素 C 预防翼状胬肉术后复发的疗效观察. *湖南医科大学学报* 2001;26(4):347-349
- 4 姜方义, 徐永根. 翼状胬肉术中丝裂霉素 C 的应用. *中国实用眼科杂志* 2009;27(1):34-35
- 5 石一宁, 李颖, 杨华. 翼状胬肉复发机制与手术方式选择的临床探讨. *西安医药* 2002;4:1-3