

N-乙酰半胱氨酸滴眼液防治大鼠糖尿病性白内障的实验研究[△]

张曙 严宏 柴飞燕 郭勇

Experimental study on prevention and cure of diabetic cataract by N-acetylcysteine drops in rats

ZHANG Shu, YAN Hong, CHAI Fei-Yan, GUO Yong

[Key words] N-acetylcysteine; streptozotocin; diabetic cataract

[Abstract] **Objective** To observe whether N-acetylcysteine drops can delay the diabetic cataract induced by streptozotocin (STZ) in rats. **Methods** Eighty-five SD rats were selected, 10 rats were set randomly as normal group A, and others were injected STZ (65 mg · kg⁻¹) to establish the diabetic model, the rats with blood glucose more than 14 mmol · L⁻¹ were assessed as diabetic rats. Then 56 diabetic rats were divided into three groups, 18 rats in group B, 19 rats in group C, 19 rats in group D; Group B and C set as diabetic treatment group and group D as diabetic control group. The rats in group A received no treated, group B and C received 0.1 g · L⁻¹ and 0.5 g · L⁻¹ N-acetylcysteine drops respectively, and group D received sodium phosphate balanced solution. The change of urine glucose and body weight were monitored and transparency of lens was observed by slit lamp biomicroscope weekly. The change of blood glucose was also monitored monthly. **Results** The random blood glucose in 59 rats was more than 14 mmol · L⁻¹ and the diabetic symptom appeared in these rats. Lens opacification progressed in a biphasic manner in diabetic rats, an initial slow increase in the first 6 weeks, then a steep increase in the next 7 weeks. N-acetylcysteine drops delayed the progression of diabetic cataract in the first 5 weeks and there was significant difference on the 4th week (P < 0.05). In the last stage of treatment, the degree of lens opacification in each diabetic group was aggravated, and there was no difference among these groups. **Conclusion** N-acetylcysteine drops can delay the progression of diabetic cataract at the early stage safely and effectively.

[Rec Adv Ophthalmol 2007; 27(3): 176-178]

[中图分类号] R776.1 **[文献标识码]** A

[文章编号] 1003-5141(2007)03-0176-03

[关键词] N-乙酰半胱氨酸; 链脲佐菌素; 糖尿病性白内障

[摘要] **目的** 观察N-乙酰半胱氨酸滴眼液是否能延缓链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的大鼠糖尿病性白内障。 **方法** 选择85只SD大鼠, 随机抽取10只为正常组, 其余75只大鼠采用一次性腹腔内注射STZ(65 mg · kg⁻¹)的方法建立大鼠糖尿病模型, 血糖值大于14 mmol · L⁻¹被判定为糖尿病大鼠, 并完全随机化分成3个组(B组18只, C组19只, D组19只)。A组为正常对照组, 未给予任何处理; B组和C组为糖尿病治疗组, 分别给予0.1 g · L⁻¹与0.5 g · L⁻¹的N-乙酰半胱氨酸溶液滴眼, 均为每日2~3次; D组为糖尿病对照组, 给予磷酸钠缓冲液滴眼。每周监测大鼠尿糖、体重的变化, 并在裂隙灯下观察大鼠晶状体混浊的进展; 每月监测大鼠的血糖变化。 **结果** 78% (59/75)大鼠达到成模标准, 随机血糖大于14 mmol · L⁻¹, 并出现糖尿病表现。糖尿病大鼠晶状体混浊呈2阶段发展, 前6周缓慢进展及后7周快速进展。N-乙酰半胱氨酸滴眼液在治疗的前5周可延缓糖尿病性白内障的发生发展, 其中第4周出现统计学差异(P < 0.05); 而在治疗的后期, 各糖尿病组的晶状体混浊程度明显加重, 并且各组之间进展程度没有明显差异。 **结论** N-乙酰半胱氨酸滴眼液能安全有效的延缓早期糖尿病性白内障的发生发展。

[眼科新进展 2007; 27(3): 176-178]

作者简介: 张曙, 女, 1981年出生。在读硕士研究生, 研究方向: 白内障的发病机制和药物治疗。联系电话: 029-81064907; E-mail: zsx1981@fmmu.edu.cn

About ZHANG Shu Female born in 1981 Master degree Tel + 86-29-81064907; E-mail: zsx1981@fmmu.edu.cn

收稿日期: 2006-09-11
修回日期: 2006-12-14
本文编辑: 董建军

[△] 基金项目: 英国国际合作研究项目基金资助(编号: 070667/Z/03)

作者单位: 710038 陕西省西安市, 第四军医大学唐都医院眼科
通讯作者: 严宏, E-mail: yhong@fmmu.edu.cn

Received date Sep 11, 2006
Accepted date Dec 14, 2006

Foundation item: International Development Research Award (No 070667/Z/03)

From the Department of Ophthalmology Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi Province, China

Responsible author: YAN Hong
E-mail: yhong@fmmu.edu.cn

白内障是全球首位致盲疾病, 有效方法, 但是昂贵的手术费用以及手术治疗是目前治疗白内障的唯一及术后各种并发症使得手术治疗白

内障并不完美。药物治疗可以在某个程度上阻止或延缓白内障的发生发展,从而减少手术费用,并且通过局部给药来减少全身给药的毒副作用^[1]。N-乙酰半胱氨酸与其他白内障药物的联合使用已在体外和动物实验研究中表现出抗白内障的作用^[2,3],本研究单独使用N-乙酰半胱氨酸,并且采用滴眼液方式给药,观察其是否能延缓链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的大鼠糖尿病性白内障。

1 材料与方法

1.1 实验对象和材料

国家二级 Sprague-Dawley 大鼠 (SD 大鼠) 共 85 只, 体重 90~160 g 雄性, 1 月龄, 由第四军医大学实验动物中心提供。STZ N-乙酰半胱氨酸、5-羟基糠醛 (5-HMF) 为美国 Sigma 公司产品。血糖试纸由罗氏诊断产品有限公司 (瑞士) 生产; HH-W 21 600 型电热恒温水箱, 天津市泰斯特仪器公司产品; BQ900 裂隙灯, 第四军医大学唐都医院眼科实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 糖尿病动物模型的建立及分组

85 只 SD 雄性大鼠, 体重 90~160 g 适应性喂养大鼠 5 d 后, 尿糖试纸检测大鼠尿糖均呈阴性。BQ900 裂隙灯检查大鼠晶状体及角膜未见异常。随机抽取 10 只为正常对照组 (A 组), 其余大鼠腹腔注射 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ STZ (链脲佐菌素 Sigma 公司) 枸橼酸溶液 (pH 7.4), STZ 枸橼酸溶液 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔过滤器过滤后, 以 $65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的注射量进行大鼠腹腔注射, 同时向正常组大鼠腹腔注射同量的枸橼酸溶液^[4]。72 h 后, 取鼠尾血测血糖。16 只大鼠血糖 $< 14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 被剔除。59 只大鼠血糖 $> 14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 被认定为糖尿病大鼠纳入实验, 并完全随机化分成 3 个组 (B、C、D 组)。B 组和 C 组为糖尿病治疗组, 分别给予 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 7.4) 与 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 7.1) 的 N-乙酰半胱氨酸溶液滴眼, 均为每日 2~3 次; D 组为糖尿病对照组, 给予磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 滴眼。

1.2.2 实验动物体重及血糖的监测

每日使用苏州产托盘天平为大鼠称重并记录, 同时记录大鼠每日的进食量和饮水量。每月大鼠尾端用体积分数为 95% 酒精消毒后针刺取血, 滴于血糖试纸上准确反应 5 s 使用罗氏血糖仪 (爱康全) 比色并记录。

1.2.3 晶状体混浊程度的监测

$10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 托品酰胺滴眼液滴大鼠双眼 1 次, 待大鼠散瞳后, 在助手的协助下使用 BQ900 裂隙灯观察大鼠, 裂隙宽度 0.2 mm , 光带射入角度为 35° , 放大倍数为 30 倍。使用裂隙灯自带数码相机照相。每周根据晶状体混浊情况分级。分级标准参考牛津大学眼科实验室晶状体分级方法^[5]: 0 透明; 1 一级核并且晶状体出现轻微缝隙; 2 二级核; 3 三级核; 4 三级核并且晶状体出现裂痕; 5 四级核并且晶状体出现裂痕; 6 四级核并且晶状体出现放射状混浊; 7 晶状体完全混浊, 已经

无法看见放射状混浊。每周进行 1 次, 遵循双盲原则, 同一实验操作人员分级并记录。

1.3 统计学方法

所有数据经 SPSS 11.0 统计软件包处理。单因素方差分析 (One Way ANOVA), 两因素方差分析 (Two Way ANOVA), 两因素相关性检验 (Spearman 秩相关), 显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 实验过程中的大鼠一般情况观察

A 组大鼠在整个实验过程中饮水量、进食量及尿量都没有明显变化; B、C 和 D 组大鼠自 STZ 注射 1 周后出现典型的糖尿病症状, 饮食、饮水、尿量都明显增加, 饮水量约为正常对照组的 2~3 倍, 尿量约为正常对照组的 3~4 倍。给予 2 种浓度的 N-乙酰半胱氨酸滴眼液滴眼后, 治疗组大鼠未出现眼部刺激症状, 与正常组大鼠相比眼部的充血、红肿等刺激症状没有统计学差别。A 组的大鼠随时间体重增长迅速, B、C 和 D 组大鼠体重缓慢增长 (图 1), 并逐渐出现糖尿病并发症, 出现消瘦和多发感染。实验过程中 B 组 3 只、C 组 5 只、D 组 4 只大鼠因糖尿病严重并发症而死亡。B 和 C 组大鼠饮食、饮水、尿量及糖尿病并发症死亡率与 D 组无明显差别。STZ 注射前各组大鼠体重无明显差异 ($P > 0.05$), STZ 注射后 1 周 B、C 和 D 组大鼠体重明显低于 A 组 ($P < 0.05$)。B、C 组大鼠与 D 组比较无明显差异 ($P > 0.05$, 图 1)。

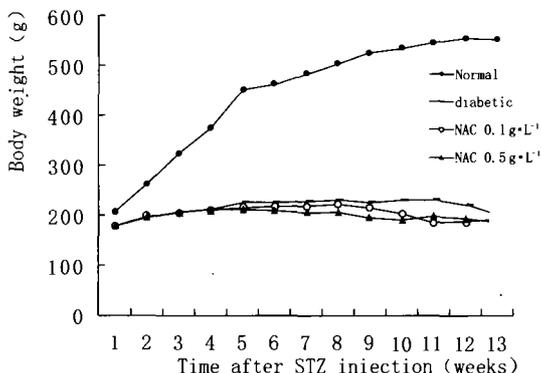


Figure 1 Observation of body weight of rats during the experiment
实验中大鼠体重的观察

2.2 大鼠血糖测量

在实验开始前, 除随机抽取的 10 只正常组大鼠未经任何处理外, 其他 75 只正常 SD 大鼠接受 STZ 注射, 在注射后 1 周内共有 59 只大鼠血糖大于 $14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 占总数的 79% (59/75)。实验过程中 B 组、C 组和 D 组大鼠血糖处于较高水平, 每组大鼠各时间点血糖比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。在第 2 周时 D 组大鼠有 2 只出现血糖回落, 血糖值降到 $14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下; 在第 8 周时 B 组大鼠有 1 只血糖回落, 占总数的 5.1% (3/59), 予以剔除。

2.3 晶状体混浊程度观察

在整个实验过程中, A

组的晶状体始终维持清澈透明; STZ注射后 3~ 7周, B、C、D组的晶状体混浊程度进展缓慢, 注射后 8~ 13周, 晶状体混浊程度显著增加, 并且各组间没有明显差别。B组和 C组在第 4周才部分的出现混浊; D组在第 3周已经部分的出现混浊。在第 4周时, B组和 C组大鼠的晶状体平均混浊程度分别为 0级和 1级, 而 D组大鼠基本上全部进展为 1级。B组和 C组大鼠晶状体混浊程度均明显低于 D组 ($P = 0.023$ $P = 0.037$)。B组大鼠 STZ注射后 1~ 6周大鼠晶状体混浊进展较 C组慢, 但无统计学意义 ($P > 0.05$), 2组在 7~ 13周晶状体混浊程度进展相当。

3 讨论

本研究首次采用了局部滴眼的方式使用 N-乙酰半胱氨酸滴眼液给药, 减少了药物的毒副作用, 在整个实验过程中, 大鼠未出现明显眼部刺激症状。滴眼液安全方便, 是白内障药物治疗的良好途径。

STZ诱导的大鼠糖尿病性白内障是比较成熟的白内障动物模型, 在整个实验过程中, 大鼠的血糖一直维持在成模标准水平上 ($14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 大鼠也表现出糖尿病典型的三多一少症状。在实验药物 N-乙酰半胱氨酸作用期间, 各治疗组的血糖与糖尿病对照组没有统计学差别, N-乙酰半胱氨酸在实验过程中对大鼠血糖没有影响。

实验药物 N-乙酰半胱氨酸为谷胱甘肽的前体物质。正常透明晶状体内含有较高水平的还原型谷胱甘肽, 约 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 主要分布于上皮和皮质层内^[6], 其主要作用是: 含游离巯基, 复活并保护参加代谢的多种酶系统, 调节和维持机体及眼组织, 尤其是晶状体稳定的内环境; 作为还原剂, 保护晶状体蛋白巯基成分免受氧化作用, 维持晶状体蛋白构象稳定及一些酶活性所需; 在晶状体氨基酸与离子转运

方面起重要作用; 使氧化型维生素 C 转化成还原型维生素 C^[7]。

在实验前期, 尤其是第 4周左右的时间, 裂隙灯检查显示了 N-乙酰半胱氨酸有较好的抑制晶状体混浊的作用; 但在实验后期, 各糖尿病组间晶状体混浊程度几乎没有明显的差别。这些说明 N-乙酰半胱氨酸滴眼液能延缓早期糖尿病性白内障的进展, 但在中晚期, 由于晶状体中游离氨基酸的含量随年龄增长白内障发展而降低, 如谷氨酸、甘氨酸明显减少, 所以晶状体中谷胱甘肽的水平也显著降低^[8], 补充的谷胱甘肽前体物质弥补不了损失的谷胱甘肽含量, 因此 N-乙酰半胱氨酸滴眼液主要的作用是预防和延缓早期白内障的发生发展。

参考文献

- 1 严宏, Harding J, 李明勇. 白内障药物治疗的研究现状 [J]. 国外医学眼科学分册 2002 26(3): 151-156
- 2 Neal R, Cooper K, Gurer H, Erca N. Effects of N-acetylcysteine and 2,3-dimercaptosuccinic acid on lead induced oxidative stress in rat lenses [J]. *Toxicology* 1998; 130(2-3): 167-174
- 3 Zhao C, Shichi H. Prevention of acetaminophen-induced cataract by a combination of diallyl disulfide and N-acetylcysteine [J]. *J Ocul Pharmacol Ther* 1998; 14(4): 345-355.
- 4 Miyamoto K, Khosrof S, Bursell SE. Prevention of leukostasis and vascular leakage in streptozotocin-induced diabetic retinopathy via intercellular adhesion molecule-1 inhibition [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10836-10841.
- 5 Blakytyn R, Harding JJ. Prevention of cataract in diabetic rats by aspirin, paracetamol (acetaminophen) and ibuprofen [J]. *Exp Eye Res* 1992; 54(4): 509-518
- 6 Lou MF. Redox regulation in the lens [J]. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22: 657-682.
- 7 Benrahmoune M, Therond P, Abedinzadeh Z. The reaction of superoxide radical with N-acetylcysteine [J]. *Free Radic Biol Med* 2000 29(8): 775-782
- 8 Ganea E, Harding JJ. Glutathione-related enzymes and the eye [J]. *Curr Eye Res* 2006 31(1): 1-11.

DC 2007广州国际眼科医学大会

DC 2007 广州国际眼科医学大会由广东省医学装备学会主办, 定于 2007年 3月 28~ 30日在广州花城会展中心召开。会议五大主题是:

- 1 激光技术在眼科临床的应用与发展;
 - 2 数字化技术在眼科临床的应用与发展;
 - 3 现代白内障手术与人工晶状体技术的发展应用;
 - 4 角膜病/眼表疾病/角膜屈光手术诊疗新技术;
 - 5 青光眼的预防与治疗。
- 会议邀请香港中文大学、中山大学眼科中心、广东省人民

医院、广州军区总医院、北京协和眼科中心等权威眼科专家出席并演讲, 专业人士免费参加, 可获得医学继续教育学分! 同期举办眼科产品展。

会议得到了广州军区总医院、广东省人民医院、南方医院、中山大学附属医院、广州医学院附属医院等近 200家医学装备学会会员单位的大力支持。

大会查询: 电话: 020-82520548 网址: <http://www.DC365.com>