

阿魏酸钠对大鼠慢性高眼压模型视网膜 MDA 和 SOD 的影响

曾 凤, 李 红

作者单位:(421001)中国湖南省衡阳市,南华大学附属第二医院眼科

作者简介:曾凤,女,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:青光眼视神经保护。

通讯作者:李红,女,主任医师,教授,硕士研究生导师. lihong5056@yahoo.com.cn

收稿日期:2009-06-15 修回日期:2009-08-10

Effect of ferulic acid sodium on MDA, SOD of retina in rat models with chronic ocular hypertension

Feng Zeng, Hong Li

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Hong Li. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. lihong5056@yahoo.com.cn

Received:2009-06-15 Accepted:2009-08-10

Abstract

• **AIM:** To study the inhibition of ferulic acid sodium on retina oxidative damage in chronic ocular hypertension models.

• **METHODS:** Forty SD rats were randomly divided into three groups: blank control group, saline group and erulic acid sodium 5mg/kg, 10mg/kg group. We made a chronic ocular hypertension model, measured the intraocular pressure every day, and tested the maleic dialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity of retinal tissue 1, 3 days and 1, 2, 4 weeks after operation.

• **RESULTS:** The MDA and SOD were improved obviously after operation. The MDA content of blank control group and saline group had no significant change in the observation period. Ferulic acid sodium decreased a week after operation and was closed to normal 4 weeks after operation. The SOD activity of blank control group and saline group decreased rapidly after a transient increase. Ferulic acid sodium group still declined significantly and maintained high level in the observation period.

• **CONCLUSION:** Ferulic acid sodium has protective effect on the oxidative stress in retina of chronic ocular hypertension models of rats. The protective effect can be achieved by eliminating oxygen free radical or protecting

SOD activity.

• **KEYWORDS:** chronic ocular hypertension models of rats; ferulic acid sodium; MDA; SOD; retina

Zeng F, Li H. Effect of ferulic acid sodium on MDA, SOD of retina in rat models with chronic ocular hypertension. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2009;9(9):1668-1670

摘要

目的:探讨阿魏酸钠(ferulic acid sodium)对大鼠慢性高眼压模型视网膜氧化损伤的抑制作用。

方法:SD大鼠40只随机分为空白对照组、生理盐水组和阿魏酸钠5和10mg/kg组并做慢性高眼压模型,每日测量眼压,并于术后1,3,7,14,28d检测视网膜组织中丙二醛(maleic dialdehyde,MDA)含量和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性。

结果:术后MDA和SOD均显著升高,观察期内空白对照组和生理盐水组MDA含量无显著变化,阿魏酸钠组于术后7d开始下降,28d时接近正常水平。空白对照组和生理盐水组SOD活性短暂升高后快速下降,阿魏酸钠组下降明显延续,观察期内维持于较高水平。

结论:阿魏酸钠通过清除氧自由基或保护SOD活性对持续性高眼压视网膜氧化应激具有保护作用。

关键词:大鼠慢性高眼压模型;阿魏酸钠;MDA;SOD;视网膜

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2009.09.009

曾凤,李红.阿魏酸钠对大鼠慢性高眼压模型视网膜MDA和SOD的影响.国际眼科杂志2009;9(9):1668-1670

0 引言

不断增长的证据表明氧自由基对开角性青光眼的发病起关键性作用。可促使小梁网组织DNA氧化,明显的增加青光眼发病。此外,氧化应激对于青光眼的视网膜细胞有明显的损伤作用并参与特征性开角性青光眼视网膜神经细胞死亡^[1]。因此,阻止氧自由基的生成及提高氧自由基的清除效率,阻止青光眼视网膜神经节细胞氧化应激引起的损害是青光眼视神经保护治疗的研究重点之一。许多中药成份对青光眼视网膜神经细胞有明显的保护作用^[2,3]。有些中药如银杏、川芎、藏红花等均有良好的抗氧化作用,我国学者已经进行了抗青光眼的实验性研究,取得了良好的防治效果^[4-6]。阿魏酸钠是中药阿魏酸(ferulic acid)的衍生物,研究表明阿魏酸毒性很低,在抗氧化、清除自由基、有效抑制血小板聚集和血栓形成等方面具有

确切的药理活性。我们将阿魏酸钠应用于大鼠慢性青光眼模型,检测其对视网膜中丙二醛(maleic dialdehyde, MDA)含量、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的影响,为临床青光眼视神经保护治疗开辟新途径。

1 材料和方法

1.1 材料 阿魏酸钠注射液购自河南省海尔森药业有限公司;丙二醛(maleic dialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。TACHI CF 16RX 低温离心机,UV-2000 型紫外可见分光光度计,恒温水浴锅, Tonope 眼压计。由南华大学动物部提供的健康 Sprague-Dawley 大鼠 40 只,雌雄不限,体质量 200 ~ 240g, 8 ~ 12 周龄,经检查无明显歪颈,角膜透明,虹膜血管清晰,瞳孔等大等圆,对光反射灵敏。适应性驯养 3d 后,连续测量 3d 眼压,剔除平均眼压高于或低于正常眼压区间 9 ~ 16mmHg 者。

1.2 方法 实验大鼠随机分为空白对照组、生理盐水组和阿魏酸钠 5 和 10mg/kg 组,每组 10 只。各组戊巴比妥钠 30mg/kg ip 麻醉和 10g/L 地卡因表面麻醉,采用 Akira 法烙闭大鼠双眼 3 条上巩膜静脉,制作大鼠持续性高血压动物模型。空白对照组未做任何处理,其余各组术前开始腹腔内分别注射 1mL 的生理盐水、5、10mg/kg 阿魏酸钠,注射 1 次/d。Tonope 眼压计每日 08:00 检测眼压,测量 3 次,取平均值并记录,分别于术后 1、3、7、14、28d 处死大鼠取出视网膜,测定视网膜组织中 MDA 含量、SOD 活性。于 0℃ 生理盐水中分离视网膜,用滤纸吸干水分,称质量,取 0.5g 视网膜组织加 1mL 生理盐水,磨成均浆后再用超声粉碎 30s, 3000r/min 离心 20min,取上清液供检测。SOD 活性检测采用黄嘌呤氧化酶法,MDA 检测采用硫代巴比妥酸比色法。操作均按试剂盒说明书。

统计学分析:所有数据均在 WindowsXP 环境下运用 SPSS 13.0 统计软件处理。统计方法采用成组资料的多因素方差分析,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 眼压 术后 1d 眼压即升高,最高眼压可达 28mmHg,在实验期眼压一直持续维持。应用 SPSS 13.0 软件对术前及术后各时间点眼压进行多因素方差分析,术后各组不同时间点与术前比较都有明显变化($P < 0.01$),说明模型制作成功,生理盐水组与空白组各时间点比较均无显著性差异,在应用阿魏酸钠后的眼压有所下降,但与生理盐水组及空白对照组各组间比较并无显著性差异。每个时间点各组间比较也无显著性差异(表 1)。

2.2 各组视网膜组织 SOD 活性和 MDA 水平测定 造模后 1d 所有各组大鼠的视网膜 SOD 活性和 MDA 水平均显著升高($P < 0.01$),各组间并无显著性差异。空白对照组和生理盐水组 SOD 活性和 MDA 水平术后均无显著性差异,各时间点 5mg/kg 和 10mg/kg 阿魏酸钠组在术后 3d 以后与前两组比较有显著性差异($P < 0.01$),而阿魏酸钠两组在术后 7d 以后各时间点有显著性差异($P < 0.05$),随时间延长差值逐渐增大,28d 时已接近正常水平。术后各组 SOD 活性下降,组内比较有显著性差异($P < 0.05$),但阿魏酸钠组下降水平较空白对照组和生理盐水组明显减缓,空白对照组和生理盐水组 MDA 含量组内和时间点

表 1 大鼠持续性高血压动物模型眼压变化 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)

时间	空白对照	生理盐水	阿魏酸钠	
			5mg/kg	10mg/kg
术前	9.8 ± 0.9	10.2 ± 1.0	9.9 ± 0.9	10.3 ± 0.9
术后 1d	21.2 ± 2.9	20.7 ± 2.5	20.6 ± 2.8	19.9 ± 2.8
术后 3d	21.3 ± 3.0	20.2 ± 2.6	21.4 ± 2.9	20.0 ± 2.8
术后 7d	21.0 ± 2.4	21.1 ± 2.5	20.4 ± 2.4	19.8 ± 2.6
术后 14d	21.8 ± 2.0	21.6 ± 2.4	19.8 ± 2.9	21.0 ± 2.2
术后 28d	21.3 ± 2.2	19.8 ± 2.7	19.5 ± 2.3	19.8 ± 2.9

表 2 大鼠慢性高血压模型视网膜 SOD 活性检测结果

时间	空白对照	生理盐水	阿魏酸钠	
			5mg/kg	10mg/kg
术前	19.0 ± 2.4	19.0 ± 2.1	19.2 ± 2.2	19.1 ± 2.3
术后 1d	51.3 ± 2.2	51.3 ± 2.6	51.2 ± 2.5	50.6 ± 2.7
术后 3d	41.4 ± 2.6	41.3 ± 2.4	46.9 ± 2.7	47.0 ± 2.7
术后 7d	38.8 ± 2.8	38.6 ± 2.4	42.4 ± 2.9	45.1 ± 2.9
术后 14d	30.3 ± 2.4	31.6 ± 2.5	38.9 ± 2.8	42.7 ± 2.8
术后 28d	25.8 ± 2.6	25.0 ± 2.8	37.7 ± 2.6	41.6 ± 2.8

表 3 大鼠慢性高血压模型视网膜 MDA 检测结果

时间	空白对照	生理盐水	阿魏酸钠	
			5mg/kg	10mg/kg
术前	3.2 ± 0.9	4.0 ± 0.8	3.4 ± 0.8	3.3 ± 0.8
术后 1d	8.3 ± 0.7	8.1 ± 0.8	8.1 ± 0.7	8.3 ± 0.8
术后 3d	8.1 ± 0.8	8.0 ± 0.8	7.6 ± 0.8	7.0 ± 0.8
术后 7d	8.1 ± 0.9	8.0 ± 0.9	6.0 ± 0.7	5.2 ± 0.8
术后 14d	8.0 ± 0.8	8.2 ± 0.8	5.2 ± 0.8	4.6 ± 0.8
术后 28d	8.3 ± 0.9	8.2 ± 0.8	5.0 ± 0.8	4.1 ± 0.8

组内比较无显著性差异,各时间点 5mg/kg 和 10mg/kg 阿魏酸钠组在术后 7d 以后与前两组比较有显著性差异($P < 0.01$),而且阿魏酸钠两组 7d 后各时间点有显著性差异($P < 0.05$),随时间延长差值逐渐增大(表 2,3)。

3 讨论

阿魏酸钠是从多种植物中提取的中药单体阿魏酸的衍生物,许多研究证实对活性氧 $\text{OH} \cdot$, O^{2-} 和 H_2O_2 有较强的清除能力,可以抑制脂质过氧化产物 MDA 的生成,清除机体内的过量活性氧^[7]。氧自由基对青光眼发病具有关键性作用,并且其 DNA 氧化可诱导视网膜神经细胞凋亡,有效的清除视网膜中氧自由基,就可以对视网膜神经节细胞起到保护的作用。已经证明阿魏酸对于眼部组织的氧化应激有很强的抑制作用并可通过调节 bcl-2 和 bax 凋亡相关基因抑制细胞凋亡^[8,9],而且有较强的促增殖作用,其作用强度优于脑源性神经营养因子(BDNF),成纤维细胞生长因子(FGF)等公认的促增殖细胞因子^[10]。我们将阿魏酸钠应用于清除视网膜中的氧自由基,检测其 SOD 活性和 MDA 含量变化,了解其抗视网膜

细胞 DNA 氧化能力,对临床有重要的指导意义。脂质过氧化是自由基攻击不饱和脂肪酸引起的。视网膜光感受器细胞外节膜盘中含有大量的多价不饱和脂肪酸,因而极易受到过氧化作用的损伤。MDA 是脂质过氧化的终末产物,可反映脂质过氧化损伤程度,SOD 是机体的重要自由基清除机制,通过烙闭大鼠双眼 3 条上巩膜静脉,其中的 MDA 含量就急剧升高,证实了不断增长的流出阻力使眼内过氧化氢处于高水平的结论^[1]。由于存在高浓度的活性氧致使具有保护作用的 SOD 活性反应性升高。但由于高眼压持续存在,使 SOD 的活性受到明显的抑制,应用了阿魏酸钠后,可以看到 MDA 的生成率明显的下降,SOD 活性一直维持于一较高的水平,说明阿魏酸钠可能通过清除视网膜氧自由基或提高 SOD 活性来发挥其抗氧化作用,我们的实验同样表明,在一定浓度范围内,其抗氧化活性具有剂量依赖性。总之,阿魏酸钠对持续性高眼压视网膜氧化应激具有保护作用,其保护作用可能通过清除氧自由基或保护 SOD 活性来起作用,且有剂量依赖性。可作为青光眼视神经保护候选药物之一,具有良好的临床应用前景。

参考文献

- 1 Izzotti A, Di Marco B, De Flora S, *et al*. Open angle glaucoma: epidemiology, pathogenesis and prevention. *Recent Prog Med* 2006;97(1): 37-45
- 2 廖明怡,黄丽娜,曾平,等. 中药刺蒺藜对兔视网膜神经细胞的作用. 国际眼科杂志 2009;9(2):282-283
- 3 李蓓,郑燕林,刘文舟. 中药复明片治疗原发性开角型青光眼视功能损害的疗效研究. 国际眼科杂志 2007;7(1):269-273
- 4 Mozaffarieh M, Grieshaber MC, Orgul S, *et al*. The potential value of natural antioxidative treatment in glaucoma. *Surv Ophthalmol* 2008;53(5): 479-505
- 5 施月欢,邹秀兰. 川芎嗪对大鼠缺血再灌注视网膜 SOD,MDA 和 NO 水平及细胞凋亡的影响. 中国实用眼科杂志 2002;20(1):25-27
- 6 王昌鹏,杨新,严宏,等. 藏红花提取液对慢性高血压兔视网膜电图的保护作用. 第四军医大学学报 2005;26(12):1130-1133
- 7 康旭珍. 阿魏酸抗氧化活性研究. 山西中医学院学报 2005;6(2): 50-52
- 8 黄秀榕,祁明信,叶蕪芝,等. 阿魏酸钠对实验性晶体氧化损伤的抑制作用. 中国药理学与毒理学杂志 2000;14(6):430-433
- 9 祁明信,黄秀榕,汪朝阳,等. 阿魏酸钠对大鼠晶状体上皮细胞凋亡相关基因 *bcl-2* 和 *bax* 的调控. 中国病理生理杂志 2002;18(11):1390-1393
- 10 李根林,王津津,王景昭,等. 阿魏酸对培养视网膜神经细胞增殖活性的影响. 中华眼科杂志 2003;39(11):650-654