

芪三酚对糖尿病白内障模型大鼠体质量和生化指标的影响

邢进, 胡水清

引用:邢进,胡水清. 芪三酚对糖尿病白内障模型大鼠体质量和生化指标的影响. 国际眼科杂志 2019;19(7):1110-1113

作者单位:(121000)中国辽宁省锦州市,锦州医科大学附属第三医院眼科

作者简介:邢进,毕业于锦州医科大学,本科,主任医师,研究方向:眼科诊疗相关。

通讯作者:邢进.gmtdp69@163.com

收稿日期:2018-11-14 修回日期:2019-06-10

摘要

目的:研究芪三酚对糖尿病白内障模型大鼠体质量和生化指标的影响。

方法:将30只大鼠分为空白组、模型组、治疗组各10只。空白组大鼠不做处理,模型组、治疗组大鼠进行建模,使用芪三酚对治疗组大鼠进行干预,并对各组大鼠晶状体混浊情况、体质量、身长及生化指标水平进行检测,对三组大鼠右眼眼球进行HE染色。

结果:空白组大鼠晶状体透明,无混浊现象;治疗组大鼠晶状体混浊程度和白内障整体评分均优于模型组($P < 0.05$);第3、5wk时,治疗组大鼠体质量、身长高于模型组,空腹血糖(FPG)和餐后2h血糖(2hPG)水平低于模型组($P < 0.05$);5wk后,相比模型组大鼠,治疗组各项生化指标水平均明显改善($P < 0.05$)。

结论:芪三酚能够改善糖尿病白内障大鼠晶状体混浊程度,减轻疾病对大鼠体质量的影响,调控大鼠血糖、生化指标水平,缓解白内障进展。

关键词:芪三酚;糖尿病白内障;体质量;血糖水平

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.7.05

Effect of resveratrol on body mass and biochemical indexes of diabetic cataract model rats

Jin Xing, Shui-Qing Hu

The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Jin Xing. The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China. gmtdp69@163.com

Received:2019-11-14 Accepted:2019-06-10

Abstract

• **AIM:** To study the effect of resveratrol on body mass and biochemical parameters of diabetic cataract model rats.

• **METHODS:** Thirty rats were divided into blank group, model group and treatment group with 10 rats for each. Rats in the blank group were not treated. Rats in the model group and the treatment group were modeled. Rats in the treatment group were intervened with astragalol. Lens opacity, body mass, body growth and biochemical indexes of rats in each group were detected. The right eyeballs of rats in the three groups were stained with HE.

• **RESULTS:** The rats in the blank group had transparent lens and no opacity; the degree of lens opacity and the overall score of cataract in the treatment group were better than those in the model group ($P < 0.05$); at 3rd and 5th weeks, the body weight and length of the rats in the treatment group were higher than those in the model group, and the levels of FPG and 2hPG were lower than those in the model group ($P < 0.05$); after 5wk, the biochemical indexes in the treatment group were significantly improved compared with those in the model group ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Astragalol can improve the degree of lens opacity in diabetic cataract rats, alleviate the effect of disease on the body weight of rats, regulate the level of blood sugar and biochemical indicators in rats, and alleviate the progress of cataract.

• **KEYWORDS:** resveratrol; diabetic cataract; body mass; blood sugar level

Citation: Xing J, Hu SQ. Effect of resveratrol on body mass and biochemical indexes of diabetic cataract model rats. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(7):1110-1113

0 引言

近年来随着生活水平的提高,人们越来越多的不良饮食结构、生活习惯和社会人口的老龄化致使糖尿病的发病率逐年升高,糖尿病最常见的并发症之一就是白内障^[1]。糖尿病白内障是我国排名第2位的致盲眼病,仅次于视网膜病变,每年白内障患者都在以几十万的数目累积增加,大部分白内障都是由于糖尿病而引起的,发病原因复杂,氧化性损伤和晶状体上皮细胞的凋亡在其中发挥了重要作用^[2]。芪三酚又被称为白藜芦醇,是一种非黄酮类的多酚化合物,具有强大的抗氧化、抗炎功能和清除自由基的功能^[3]。体质量和血糖水平是检测糖尿病的重要指标,糖尿病患者患病后体质量会下降,血糖升高^[4]。本研究通过使用芪三酚对糖尿病白内障模型大鼠进行干预,对大鼠体质量、血糖指标和肌酐、尿素氮、甘油三酯和总胆固醇进行观察,探究芪三酚对糖尿病白内障进展的抑制作用。

1 材料和方法

1.1 材料 选取 SD 健康大鼠 30 只,由广西医科大学实验动物中心提供。其中雌性大鼠 16 只,雄性大鼠 14 只,年龄 7~10(平均 8.4±0.3)周龄,体质量为 210~240(230.6±23.4)g,饲养温度为 22℃~25℃,室内湿度 35%~40%,饲养室定时进行紫外线照射消毒。统一喂给标准饲料,允许自由活动,饲养时间为 1wk,符合动物保护条例。本研究获得我院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 建模处理 将大鼠随机分成三组,每组各 10 只,分别为空白组、模型组和治疗组。空白组大鼠常规饲养,模型组和治疗组大鼠进行建模处理(糖尿病白内障模型),根据大鼠的体质量按照 50mg/kg 腹腔内注射经 0.1mol/L 柠檬酸盐缓冲液稀释后的链脲霉素溶液,在对大鼠注射 3d 后取大鼠尾部静脉血检查大鼠的空腹血糖值,当大鼠的空腹血糖值>14mmol/L 时则表示建模成功,空白组大鼠建模期间注射等体积生理盐水。从建模成功第 1d 开始,对治疗组大鼠按照 100mg/kg 给予芪三酚灌胃处理,每天 1 次^[5],空白组和模型组大鼠不做干预,5wk 后观察三组大鼠具体情况。

1.2.2 晶状体检查 在注射干预 5wk 后,分别将三组大鼠使用复方托吡卡胺滴眼液进行散瞳,10min 后手持裂隙灯显微镜下观察大鼠左眼晶状体混浊情况。晶状体透明没有混浊的为 0 级,记为 0 分;晶状体轻度混浊,周边有空泡,核分界明显的为 I 级,记为 1 分;晶状体呈现中度混浊,且周围的空泡向中间聚集的为 II 级,记为 2 分;晶状体高度混浊并且周围的空泡已经聚集到核区使核区呈现雾状混浊的为 III 级,记为 3 分;晶状体中核完全混浊没有界限的为 IV 级,记为 4 分,是成熟的白内障。根据各组大鼠白内障的评分情况乘以相应个数,得出各组白内障大鼠整体评分后进行统计比较。

1.2.3 体质量称重 分别于第 3、5wk 将三组大鼠注射麻醉药进行麻醉后,放置于电子秤上对大鼠进行称重,取平均值,单位为克(g)。将大鼠放置于桌面,使其身体呈伸直状态并背面向上,使用尺子从大鼠头部量至尾部根部,其长度为大鼠身长,单位为厘米(cm)。

1.2.4 血糖水平检测 分别于建模后第 3、5wk,在三组大鼠餐前空腹时和餐后 2h 在尾端用 75%酒精消毒后针刺取血,将待测血样加入肝素抗凝试管中,使用葡萄糖氧化酶法对三组大鼠空腹血糖(FPG)和餐后 2h 血糖(2hPG)进行检测,严格按照自动分析仪操作说明书进行。

1.2.5 酶联免疫吸附测定肌酐、尿素氮 取三组大鼠第 5wk 采集的血样,采用 50mmol/L 碳酸盐包被缓冲液将抗原进行溶解,浓度为 10~20μg/mL,在 96 孔酶标板中加入 100μL/孔,4℃过夜保存。第 2d 舍弃包被液,采用 PBST 洗涤 3 次,每孔中加入 150μL 1% BSA,在 37℃环境中封闭 1h。之后采用 PBST 洗涤 3 次,在每孔中加入 100μL 不同倍比稀释度的血清,加入对照样品,37℃孵育 2h。采用 PBST 洗涤 5 次,加入 100μL 稀释后的 HRP 标记的二抗,37℃孵育 1h。PBST 洗涤 5 次后,使用显色剂显色 20min 后,在酶标仪上读取 A₄₀₅ 吸收值,从而测定肌酐、尿素氮的表达水平。

1.2.6 化学发光分析法检测甘油三酯和总胆固醇表达水平 取三组大鼠第 5wk 采集的血样,待测标本加入化学发

光物质,与催化剂发生催化反应,与氧化剂发生氧化反应,形成处于激发状态的中间体,当中间体达到稳定时,会发射出光子,严格按照化学发光分析仪操作步骤,利用发光信号测量仪测量光子数值,对比分析甘油三酯、总胆固醇表达水平。

1.2.7 切片处理 三组大鼠在干预 5wk 后采用断头法处死,摘除右眼眼球,在平衡液下冲吸,取出完整晶状体,并尽量将周围虹膜、玻璃体和悬韧带等组织去除,制作石蜡切片。先置于 4%多聚甲醛中固定,然后取出用 PBS 缓冲液冲洗,放入缓冲液中浸泡洗涤,10h 后吸干周围水分,使用梯度酒精脱水处理后再用二甲苯透明处理 30min,最后浸蜡和常规石蜡包埋。

1.2.8 HE 染色处理 对三组大鼠切片样本进行染色处理,使用二甲苯进行常规脱蜡处理 2 次,每次 5min,然后在梯度酒精下水化处理 3min,自来水冲洗 1 次;使用苏木素染色 5min,自来水冲洗 1 次;使用 1%盐酸酒精分化处理 30s,在 0.2%氨水中返蓝处理 2min,自来水冲洗 1 次;0.5%伊红染色 10min,自来水冲洗 1 次;使用乙醇进行梯度脱水处理,最后用中性树胶进行封片,使用光学显微镜进行图像分析。

统计学分析:采用 SPSS19.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)描述,三组间比较采用单因素方差分析,不同时间点的比较采用配对样本 *t* 检验;计数资料采用例数和百分比进行描述。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组大鼠晶状体情况 空白组大鼠晶状体透明,未见混浊;模型组大鼠在散瞳后晶状体呈现白色混浊,皮质与核融为一体无界限;治疗组大鼠有部分晶状体的皮质呈现不规则乳白色的絮状混浊,晶状体核尚呈透明状(图 1)。

2.2 三组大鼠晶状体病理组织学观察 空白组大鼠晶状体上皮细胞分布均匀,形态规则,晶状体囊膜和相邻细胞结合紧密,晶状体纤维细胞没有异常表现;模型组大鼠晶状体上皮细胞形态不规则、分布不均匀,胞质疏松,细胞核缩小,核内染色质浓缩、不均匀;治疗组大鼠晶状体上皮细胞相比模型组大鼠上皮细胞排列较为紧密,胞质中空泡个数少于模型组大鼠(图 2)。

2.3 三组大鼠晶状体混浊程度比较 空白组大鼠晶状体透明,无混浊现象;治疗组大鼠晶状体混浊程度和白内障整体评分均显著优于模型组大鼠(表 1)。

2.4 三组大鼠体质量和身长的比较 空白组、治疗组大鼠第 5wk 的体质量显著高于第 3wk,模型组大鼠第 5wk 的体质量显著低于第 3wk,差异有统计学意义($t=26.71$ 、 17.28 、 17.01 ,均 $P<0.001$);三组大鼠第 5wk 的身长明显长于第 3wk 的身长,差异有统计学意义($t=7.79$ 、 2.94 、 5.67 ,均 $P<0.05$);治疗组大鼠治疗第 3、5wk 时的体质量与身长明显高于模型组大鼠,差异有统计学意义($P<0.05$,表 2)。

2.5 三组大鼠血糖水平的变化 模型组大鼠第 5wk 的 FPG、2hPG 水平显著高于第 3wk,差异有统计学意义($t=3.85$ 、 4.35 ,均 $P<0.001$);治疗组大鼠第 5wk 的 FPG、2hPG 水平显著低于第 3wk,差异有统计学意义($t=14.26$ 、 7.30 ,均 $P<0.001$);治疗组大鼠第 3、5wk 时的 FPG、2hPG 水平明显低于模型组大鼠,差异有统计学意义($P<0.05$,表 3)。

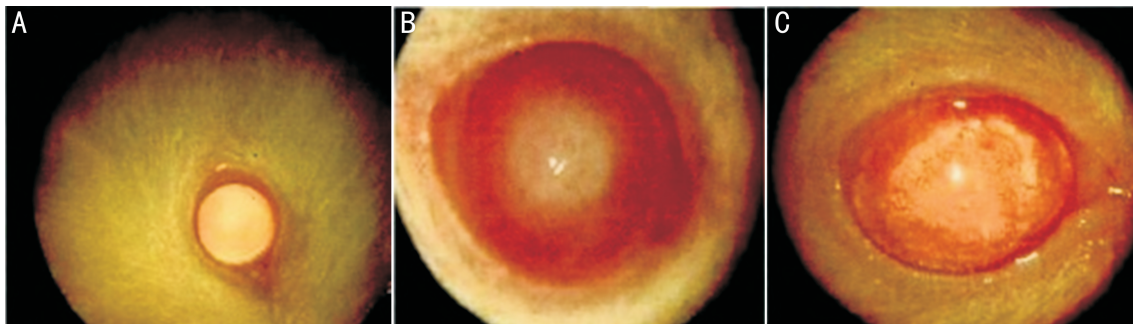


图1 三组大鼠晶状体情况 A:空白组;B:模型组;C:治疗组。

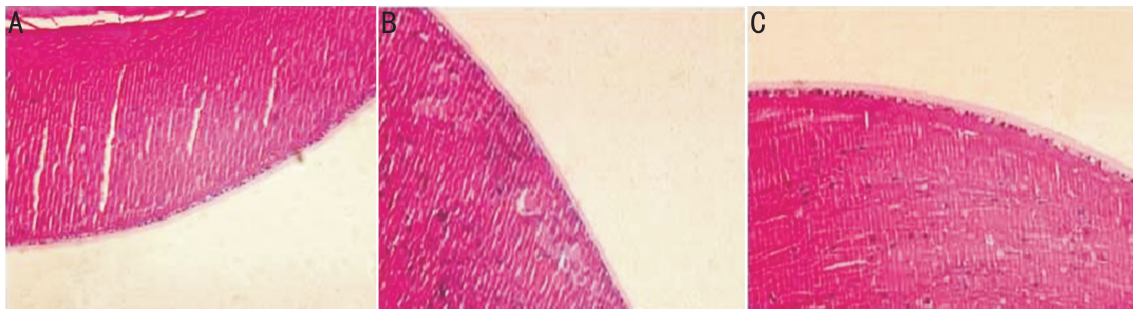


图2 三组大鼠晶状体病理组织学观察(HE×100) A:空白组;B:模型组;C:治疗组。

表1 三组大鼠处理5wk后晶状体混浊程度和整体评分比较

组别	眼数	晶状体混浊程度(眼)					整体评分(分)	
		0级	I级	II级	III级	IV级	总分	平均分数
空白组	10	10	0	0	0	0	0	0
模型组	10	0	0	1	1	8	37	3.7
治疗组	10	0	2	4	3	1	23	2.3

注:空白组:不做处理;模型组:进行糖尿病白内障模型处理;治疗组:糖尿病白内障模型+芪三酚处理。

表2 三组大鼠体质量和身长的变化

组别	只数	体质量(g)		身长(cm)	
		第3wk	第5wk	第3wk	第5wk
		空白组	10	200.14±15.23	312.48±25.54
模型组	10	184.74±14.66 ^a	122.74±21.19 ^a	10.05±0.94 ^a	11.71±1.52 ^a
治疗组	10	201.49±15.82 ^{a,c}	264.39±20.31 ^{a,c}	11.39±1.52 ^{a,c}	16.70±2.54 ^{a,c}
<i>F</i>		2.46	7.63	2.37	5.33
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:空白组:不做处理;模型组:进行糖尿病白内障模型处理;治疗组:糖尿病白内障模型+芪三酚处理。^a*P*<0.05 vs 空白组;^c*P*<0.05 vs 模型组。

表3 三组大鼠血糖水平的变化

组别	只数	FPG		2hPG	
		第3wk	第5wk	第3wk	第5wk
		空白组	10	3.72±0.48	3.43±0.76
模型组	10	15.46±1.12 ^a	20.27±3.79 ^a	24.37±2.14 ^a	29.58±3.12 ^a
治疗组	10	10.47±0.65 ^{a,c}	5.61±0.86 ^{a,c}	15.24±1.89 ^{a,c}	10.25±1.05 ^{a,c}
<i>F</i>		12.19	11.93	10.11	18.57
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:空白组:不做处理;模型组:进行糖尿病白内障模型处理;治疗组:糖尿病白内障模型+芪三酚处理。^a*P*<0.05 vs 空白组;^c*P*<0.05 vs 模型组。

2.6 三组大鼠肌酐、尿素氮、甘油三酯和总胆固醇水平的变化 第5wk时,模型组和治疗组的尿素氮、甘油三酯和总胆固醇水平相比空白组都有明显上升,肌酐表达水平相

比空白组有明显下降,其中治疗组的尿素氮、甘油三酯和总胆固醇水平相比模型组有明显下降,肌酐水平相比模型组有明显上升,差异有统计学意义(*P*<0.05,表4)。

表4 三组大鼠肌酐、尿素氮、甘油三酯和总胆固醇水平的变化

 $\bar{x} \pm s$

组别	只数	肌酐($c/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	尿素氮($c/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	甘油三酯($c/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	总胆固醇($c/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
空白组	10	39.42±4.34	6.69±1.10	0.97±0.65	2.15±0.20
模型组	10	22.63±2.20 ^a	19.92±3.03 ^a	1.78±1.22 ^a	2.76±0.25 ^a
治疗组	10	30.79±3.75 ^{a,c}	17.39±1.18 ^{a,c}	1.02±1.09 ^{a,c}	2.34±0.20 ^{a,c}
<i>F</i>		5.94	2.48	1.47	4.15
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:空白组:不做处理;模型组:进行糖尿病白内障模型处理;治疗组:糖尿病白内障模型+芪三酚处理。^a $P<0.05$ vs 空白组;^c $P<0.05$ vs 模型组。

3 讨论

白内障是一种常见眼部并发症,主要由糖尿病引起,以老年患者为主^[6]。有研究表明,糖尿病白内障多是受醛糖还原酶影响,当细胞内山梨醇堆积后,就会引起渗透压的变化,眼内部的房水渗透压增高,从而使得晶状体内部的纤维水肿,进而产生断裂或崩裂现象,晶状体逐渐退化,最终晶状体混浊,从而形成糖尿病白内障^[7-8]。本研究选取健康SD大鼠进行糖尿病白内障模型的建造,然后对糖尿病白内障大鼠使用芪三酚进行干预,通过检测大鼠的各项指标,判断芪三酚用于糖尿病白内障治疗的效果。

芪三酚也称白藜芦醇,是一种能够产生自身抗逆性的非黄酮类多酚化合物,同时也是一种重要抗毒素,存在于多种植物中,具有调节血脂、抗肿瘤、抗低密度脂蛋白氧化、抗病毒等多种作用^[9-10]。同时芪三酚还具有强大的抗炎与清除活性氧自由基的能力,能够维持晶状体的氧化还原程度^[11]。糖尿病引起的白内障的晶状体上皮细胞密度会明显低于正常的白内障晶状体上皮细胞密度,并且前后囊膜混浊的程度也明显高于正常的白内障前后囊膜混浊程度^[12-13]。本研究发现,白内障大鼠晶状体给药治疗后有部分晶状体的皮质呈现不规则乳白色的絮状混浊,晶状体核尚呈透明状,并且发现其晶状体混浊程度多数在Ⅰ级或Ⅱ级、Ⅲ级,说明芪三酚对晶状体的混浊程度有着明显的改善作用,能够有效缓解白内障。与李青春等^[10]研究保持一致。芪三酚在降低血糖的同时促进机体营养素的吸收^[14],本研究结果显示,芪三酚灌注的大鼠体质量和身长增加,说明芪三酚能够改善大鼠体质量,促进其恢复。

糖尿病白内障不仅会使机体内的血糖水平产生异常,还可能会出现肝肾功能的损坏^[15]。本研究结果显示,糖尿病白内障大鼠FPG与2hPG检测水平明显上升,芪三酚干预后,FPG与2hPG水平显著降低,且随着时间的推移,下降趋势更加明显,说明芪三酚对于糖尿病性白内障确有降低血糖的作用。张剑等^[16]研究也指出,芪三酚能够改善大鼠血糖水平,本研究结果与其保持一致,说明芪三酚能够达到与其相同的治疗效果。肌酐和尿素氮是检测肾功能的重要指标,血清肌酐一般认为是人体肌肉代谢的产物^[17]。维持人体内基础物质的蛋白质会被葡萄糖燃烧掉,其他营养素被转化成为蛋白质之后又会被葡萄糖燃烧后排出体外,尿素氮是血浆中除了蛋白质之外的另一种含氮化合物,是人体蛋白质代谢的最终产物^[11]。甘油三酯和总胆固醇的升高说明血脂升高,甘油三酯可以促进肝脏糖原的合成,加重糖尿病^[18]。根据本研究,对大鼠进行芪三酚灌注治疗后,血清肌酐水平有所上升,尿素氮、甘油三酯和总胆固醇的表达水平有所下降,说明芪三酚可以使体内有关血糖和肾功能的指标恢复。

综上所述,芪三酚能够改善糖尿病白内障大鼠晶状体的混浊程度,减轻疾病对大鼠体质量的影响,控制大鼠血糖水平以及肌酐、尿素氮、甘油三酯、总胆固醇等生化指标水平,从而缓解白内障的进展程度,为临床中糖尿病白内障的治疗提供了重要的理论依据。

参考文献

- 1 沈盛县, 严宏. 糖尿病性白内障与视网膜病变联合治疗的时机和策略. 眼科新进展 2015;35(8):791-794
- 2 袁媛, 邱霞. 糖尿病性白内障发病机制及治疗研究进展. 转化医学杂志 2014;3(4):244-245, 256
- 3 张剑, 齐艳秀, 姜伟, 等. 白藜芦醇对糖尿病白内障大鼠正沉默信息调节因子2相关酶1基因表达的影响. 中国现代医学杂志 2016;26(14):1-6
- 4 Zeng K, Feng QG, Lin BT. Effects of microRNA-211 on proliferation and apoptosis of lens epithelial cells by targeting SIRT1 gene in diabetic cataract mice. *Biosci Rep* 2017; 37(4): BSR20170695
- 5 刘洁薇, 聂磊, 赵塔娜, 等. 白藜芦醇抗纤维化作用的研究进展. 山东医药 2018; 58(40):103-105
- 6 云佩佩, 史丽萍, 李秋云, 等. 糖尿病危险因素的研究进展. 中国综合临床 2014; 27(21):140-142
- 7 罗荣莹. 糖尿病性角膜病变研究进展. 中华实验眼科杂志 2018; 36(6):472-476
- 8 王晔, 周庆军, 谢立信, 等. 糖尿病角膜病变发病机制的研究进展. 中华眼科杂志 2014; 50(1):69-72
- 9 曾凯宏, 王元, 邓波, 等. 白藜芦醇对糖尿病大鼠视网膜Muller细胞凋亡的防护作用及分子机制研究. 重庆医学 2019; 48(2):202-206
- 10 李青春, 邢怡桥, 李岱, 等. 白藜芦醇对大鼠糖尿病性白内障的治疗作用. 中华糖尿病杂志 2015; 7(9):576-580
- 11 李青春, 李岱. 白藜芦醇对眼部疾病防治机制的研究进展. 实用医学杂志 2014; 30(24):4044-4046
- 12 刘俊辉, 李春江, 李玉涛. 白藜芦醇对糖尿病大鼠视网膜病变的影响. 河北医科大学学报 2017; 38(11):1310-1314
- 13 罗洁, 刘拥征. 手法小切口白内障手术对糖尿病白内障患者角膜变化的影响. 中国现代医学杂志 2017; 27(13):99-103
- 14 李晔, 李丽萍, 赖玉清, 等. 白藜芦醇在年龄相关性眼病中的研究进展. 国际眼科杂志 2017; 17(11):2050-2054
- 15 Stunf Pukl S, Vidovic Valentincic N, Urbancic M, et al. Visual Acuity, Retinal Sensitivity, and Macular Thickness Changes in Diabetic Patients without Diabetic Retinopathy after Cataract Surgery. *J Diabetes Res* 2017;2017:3459156
- 16 张剑, 齐艳秀, 姜伟, 等. 白藜芦醇对糖尿病性白内障大鼠MDA、SOD和GSH-Px的影响. 哈尔滨医科大学学报 2016; 50(6):497-500
- 17 吴雪怡, 李航, 文煜冰, 等. 2型糖尿病肾病患者肾脏病理改变与预后的临床队列研究. 中华肾脏病杂志 2014; 30(9):650-655
- 18 万贝贝, 高永杰, 徐军. 1型糖尿病患者视网膜病变与肾功能的关系. 国际眼科杂志 2019; 19(2):272-274