

# D-半乳糖在实验性白内障模型中的应用研究

孔雪晴,沙咏怡,夷成龙,项敏泓

引用:孔雪晴,沙咏怡,夷成龙,等. D-半乳糖在实验性白内障模型中的应用研究. 国际眼科杂志, 2024,24(10):1558-1562.

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 82074495);上海市普陀区中心医院匠才计划项目(No. 2022-RCJC-06);上海市东方英才计划拔尖项目

作者单位:(200062)中国上海市,上海中医药大学附属普陀医院眼科

作者简介:孔雪晴,上海中医药大学在读硕士研究生,研究方向:眼表泪液学、白内障、青光眼。

通讯作者:项敏泓,博士,主任医师,副教授,硕士研究生导师,研究方向:眼表泪液学、白内障、青光眼. xiangminhong@sohu.com

收稿日期:2023-12-18 修回日期:2024-08-19

## 摘要

白内障是由于晶状体代谢紊乱引起的常见眼科疾病,可导致视力障碍或失明,其发生发展受多种因素影响,其中年龄是最主要的因素。目前药物治疗仅针对早期白内障有延缓作用,但对于发展到中晚期影响视力的白内障仍需手术治疗。因此建立实验性白内障模型,探索合适的药物预防和治疗白内障至关重要。D-半乳糖已广泛应用于衰老动物模型研究,常被用于糖尿病性白内障和年龄相关性白内障的模型。文章对D-半乳糖诱导白内障模型的发病机制、造模方法以及造模成功的评定标准进行阐述,以期指导白内障防治相关的实验性研究。

**关键词:**D-半乳糖;白内障模型;晶状体;发病机制;造模方法

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2024.10.07

## Application of D-galactose in experimental cataract models

Kong Xueqing, Sha Yongyi, Yi Chenglong, Xiang Minhong

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (No. 82074495); Shanghai Putuo District Central Hospital Craftsman Plan Project (No. 2022-RCJC-06); Shanghai Eastern Talent Plan Leading Project

Department of Ophthalmology, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

**Correspondence to:** Xiang Minhong. Department of Ophthalmology, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China. xiangminhong@sohu.com

Received:2023-12-18 Accepted:2024-08-19

## Abstract

• Cataract is a common eye disease caused by metabolic disorders of the lens, which can lead to visual impairment or blindness. Its occurrence and development are affected by various factors, among which age is the most important factor. At present, drug therapy only has a delaying effect on early cataracts, but surgical treatment is still needed for cataracts that affect vision in the middle and late stages. Therefore, it is crucial to establish an experimental cataract model and explore appropriate drugs for preventing and treating cataracts. D-galactose has been widely used in the study of aging animal models, and is often used in the models of diabetes cataract and age-related cataract. This article elaborates on the pathogenesis, modeling methods, and evaluation criteria for successful modeling of D-galactose-induced cataract models, in order to guide experimental researches related to cataract prevention and treatment.

• **KEYWORDS:** D-galactose; cataract model; lens; pathogenesis; modeling methods

**Citation:** Kong XQ, Sha YY, Yi CL, et al. Application of D-galactose in experimental cataract models. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2024,24(10):1558-1562.

## 0 引言

白内障是由于晶状体代谢紊乱引起的常见眼科疾病,以晶状体混浊、视力下降为主要特征,是导致失明的主要原因<sup>[1]</sup>。白内障的发病可能与衰老、营养不良、糖代谢异常、创伤、中毒、免疫、辐射等多种因素有关,其中年龄是最主要的因素<sup>[2]</sup>。目前,局部的滴眼液和口服的抗氧化类等药物仅针对早期白内障有延缓作用<sup>[3-5]</sup>,但当白内障发展到一定程度而影响视力时,仍需手术治疗<sup>[6]</sup>。因此,白内障的防治工作显得尤为重要。

半乳糖是一种天然的还原性单糖,多以D型结构存在于体内和多种食物中<sup>[7]</sup>。正常水平的摄入量可在体内代谢并排出体外,但处于高水平时,其在半乳糖氧化酶的催化下转化为醛糖和氢过氧化物,从而产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),引起氧化应激、炎症、线粒体功能障碍和细胞凋亡<sup>[8]</sup>。D-半乳糖可诱导多种组织和器官退行性变化,例如脑、心、肺、肝、肾、生殖系统、皮肤、肌肉骨骼和消化系统,并且它与阿尔兹海默症、白内障等年龄相关性疾病有关<sup>[9]</sup>。D-半乳糖已广泛应用于衰老的动物模型研究,与其他因素诱导的衰老模型相比,其诱导的衰老模型具有操作简单、周期短、成本低、生存率高等优点。此外,D-半乳糖性白内障常被用于糖尿病性白内障和年龄相关性白内障的模型研究<sup>[10]</sup>。

本文将从氧化应激、渗透应激、晶状体上皮细胞凋亡、自噬及线粒体功能障碍等方面阐述 D-半乳糖诱导白内障模型的发病机制,并总结已成功建立白内障模型的造模方法以及造模成功的评定标准,以期指导未来的相关实验研究。

## 1 D-半乳糖诱导白内障模型的相关机制

**1.1 氧化应激** 健康的晶状体富含谷胱甘肽、游离氨基酸和抗氧化酶系统,是抵御氧化应激的重要防线<sup>[11]</sup>。但随着年龄增长,机体的自我保护和自我修复机制不能有效地抵抗氧化应激<sup>[12]</sup>。在 D-半乳糖诱导的白内障发病机制中氧化应激起关键作用,研究认为 D-半乳糖会增加晶状体上皮细胞中 ROS 的产生<sup>[13]</sup>。

晶状体中存在的各种抗氧化剂以谷胱甘肽含量最多,其在保持晶状体透明度方面起着至关重要的作用<sup>[14-15]</sup>。然而,经 D-半乳糖处理的大鼠晶状体中谷胱甘肽水平显著降低<sup>[15]</sup>。Nrf2-Keap1-ARE 信号通路是目前机体最主要的内源性抗氧化信号通路,其中核因子红系 2 相关因子(nuclear factor erythroid 2-related factor, Nrf2)是细胞氧化应激的关键转录因子;Kelch 样 ECH 关联蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)是调控 Nrf2 表达的关键蛋白,对信号通路起负调节作用<sup>[16]</sup>。ROS 的过量产生使 Nrf2 从细胞质转移到细胞核中,并在细胞核与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)结合启动下游血红素氧合酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)等抗氧化基因的表达<sup>[17]</sup>。Sun 等<sup>[18]</sup>发现 D-半乳糖组 Nrf2 和 HO-1 的 mRNA 及蛋白表达水平显著升高,而 Keap1 mRNA 水平显著降低。研究证明,抑制 Keap1 激活 Nrf2 通路,能够减轻糖尿病性白内障大鼠的氧化应激反应<sup>[19]</sup>。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽硫转移酶(glutathione-S-transferase, GST)及谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等抗氧化酶以及脂质氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)是检测氧化应激的重要指标<sup>[20]</sup>。在诸多由 D-半乳糖诱导的白内障模型研究中发现,晶状体中 SOD、CAT、GST、GSH-PX 活性降低,MDA 含量显著增加,提示 D-半乳糖通过氧化应激诱导白内障的发生<sup>[12, 21-22]</sup>。除此之外,D-半乳糖可上调诱导型一氧化氮合酶的表达,诱导大量一氧化氮和羟自由基的产生,一氧化氮和超氧阴离子反应生成过氧亚硝酸根,进一步造成氧化还原稳态失衡<sup>[23]</sup>。

**1.2 渗透应激** 渗透压的增高是 D-半乳糖诱发白内障的潜在机制。摄入高水平的 D-半乳糖经多元醇途径还原为半乳糖醇,半乳糖醇在晶状体内聚集,引起晶状体高渗膨胀,并改变晶状体蛋白结构,从而导致晶状体纤维细胞破裂和损伤,最终导致晶状体混浊<sup>[24]</sup>。此外,高渗状态还可破坏膜的完整性,游离氨基酸和谷胱甘肽泄漏导致晶状体氧化损伤<sup>[25]</sup>。

醛糖还原酶(aldose reductase, AR)是多元醇途径的限速酶,其活性在经 D-半乳糖诱导的白内障模型中显著升高<sup>[26-27]</sup>。Kim 等<sup>[28]</sup>取大鼠晶状体进行 AR 免疫荧光染色,结果发现与对照组相比,D-半乳糖组大鼠晶状体上皮细胞胞质中表现出强烈的免疫反应,并扩展到更深的皮质纤维中。AR 对还原型辅酶 II 的过度利用增加了 ROS 的

产生,引起氧化应激,导致细胞膜损伤和细胞凋亡<sup>[24]</sup>。除 AR 外, Ji 等<sup>[29]</sup>认为 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)和氯离子通道 3(chloride channel 3, Clcn3)也参与了这一病理机制。Clcn3 是体积敏感通道,主要参与细胞基础体积的调节;P-gp 作为跨膜转运体,不仅在等渗条件下负责多种药物排出,在高渗环境下还可以转换为 Clcn3 的调节剂<sup>[30]</sup>。将晶状体上皮细胞培养在梯度浓度的 D-半乳糖培养基中,P-gp、Clcn3 mRNA 和蛋白水平随着 D-半乳糖浓度的升高同步上调<sup>[29]</sup>。

研究表明,晶状体对渗透应激的反应导致晶状体内碱性成纤维细胞生长因子和转化生长因子- $\beta$  的产生增加,细胞毒性信号传导和细胞凋亡发生改变<sup>[31]</sup>。

**1.3 晶状体上皮细胞凋亡** 细胞周期进展和抑制之间的平衡对维持晶状体透明度很重要,在糖尿病性白内障患者中观察到细胞凋亡激活和晶状体上皮细胞密度降低<sup>[32]</sup>。近年来发现胱天蛋白酶 3(caspase-3)在细胞凋亡中起关键作用,Bax/Bcl-2 比例是决定细胞凋亡与否的关键指标<sup>[33-34]</sup>。Sadik 等<sup>[24]</sup>研究发现 D-半乳糖喂养组大鼠晶状体中 Bax/Bcl-2 比值显著升高,而且 DNA 片段化率比正常大鼠增加 13.2 倍;冯美莘等<sup>[35]</sup>发现在 D-半乳糖诱导的小鼠白内障模型中,Bcl-2 家族成员 Bcl-xl 蛋白表达明显减少,Bax、caspase-3 蛋白表达明显增加,证实 D-半乳糖促进晶状体上皮细胞凋亡从而诱导白内障发生。

P21 参与抑制细胞增殖,研究发现其表达随着 D-半乳糖诱导白内障的进展而增加<sup>[32]</sup>。P53 是诱导细胞凋亡的转录因子,Feng 等<sup>[12]</sup>发现 D-半乳糖组晶状体内 P53 蛋白表达显著升高。调控细胞周期和细胞凋亡的 Polo 样激酶 3(Polo-like kinase 3, Plk3)及其上游的毛细血管扩张性共济失调突变蛋白(ataxia telangiectasia mutated, Atm)参与 D-半乳糖诱导的白内障,Nagaya 等<sup>[36]</sup>发现抑制 Atm 可减轻 D-半乳糖诱导的晶状体混浊;而且 Plk3 可通过 P53 激活导致细胞凋亡<sup>[37]</sup>。Kanada 等<sup>[38]</sup>发现 Plk3 在 D-半乳糖诱导白内障模型的晶状体中上调,且晶状体混浊程度与 Plk3 表达呈正相关。

Dai 等<sup>[39]</sup>将人晶状体上皮细胞放入含 D-半乳糖的培养基中培养 48 h,采用 Hoechst 33342/PI 双染色技术及流式细胞仪检测,发现与正常对照组相比,D-半乳糖处理组的凋亡细胞比例明显增多。李秋霞等<sup>[40]</sup>采用 TUNEL 法,同样显示 D-半乳糖组大鼠晶状体上皮细胞凋亡率显著增加,表明 D-半乳糖促进晶状体上皮细胞凋亡。多元醇积累可激活细胞凋亡,应用醛糖还原酶抑制剂有助于抑制细胞凋亡,提示糖醇积累与细胞凋亡密切相关<sup>[32]</sup>。

**1.4 自噬** 自噬是一类细胞内物质降解的代谢过程,是机体的一种自我生存机制,它在维持细胞和机体稳态中起关键作用<sup>[41]</sup>。实验证明,自噬功能障碍与衰老及各种年龄相关性疾病有关,自噬的动态过程一般随着年龄的增长而下降<sup>[42]</sup>。微管相关蛋白轻链 3 II(microtubule-associated protein light chain 3 II, LC3 II)是自噬过程的特征蛋白,其升高代表自噬的启动。自噬通量是评价自噬活性的标准指标,正常情况下,由于自噬通量不受阻碍,P62 通过自噬降解<sup>[43]</sup>。Xu 等<sup>[13]</sup>发现经 D-半乳糖处理过的晶状体上皮细胞,P62 表达增加,LC3 II 积累,提示自噬通量受到抑制,证明 D-半乳糖可能通过激活晶状体上皮细胞自噬来诱导

白内障的发生。

**1.5 线粒体功能障碍** 线粒体是细胞内 ROS 的主要来源,也是 ROS 的靶点,这使线粒体更容易受各种内源性和外源性应激源的影响。此外,线粒体在细胞凋亡、衰老和自噬等代谢过程中也发挥重要作用<sup>[44-45]</sup>。

Xu 等<sup>[13]</sup>发现经 D-半乳糖处理后的晶状体上皮细胞内 ATP 和线粒体电位水平下降,证实线粒体功能障碍参与 D-半乳糖诱导白内障模型的形成。P38 MAPK 信号通路在对多种应激反应的细胞生长、增殖、死亡和分化中发挥重要作用<sup>[46]</sup>。Xu 等<sup>[13]</sup>证实 D-半乳糖以剂量依赖性的方式上调 P38、P53 的表达,进而激活 P38 MAPK/P53 通路损伤线粒体功能。此外,D-半乳糖可使晶状体上皮细胞中  $Ca^{2+}$  浓度明显升高、增加线粒体膜通透性转换孔的开放,上调  $Ca^{2+}$  运输通道表达,从而损害线粒体功能。

**1.6 其他** 可溶性晶状体蛋白的结构和功能的完整性对于保持晶状体的透明度至关重要,然而在 D-半乳糖诱导的白内障大鼠模型中,晶状体蛋白总量显著降低<sup>[21, 47]</sup>。Dai 等<sup>[22]</sup>研究发现与正常对照组相比,D-半乳糖组大鼠晶状体中  $\beta$ -晶体蛋白的表达降低了 49.4%。GRP 基因表达广泛用于未折叠蛋白反应的标记物,葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein 78 kD, GRP78) 是其家族成员之一,D-半乳糖组大鼠晶状体中 GRP78 蛋白表达显著增加,为对照组的 2.13 倍<sup>[22, 48]</sup>。研究认为 D-半乳糖诱导的白内障模型中,晶状体蛋白由于非酶糖基化形成晚期糖基化终末产物,易在晶状体中积累,致使硫醇基团氧化和结晶蛋白聚集,产生高分子不溶蛋白,导致晶状体混浊,并激活晶状体氧化应激,加速白内障发展<sup>[49]</sup>。

晶状体内调节离子进出细胞膜的转运机制在维持细胞功能以及可溶性蛋白的完整性和透明度方面起着关键作用<sup>[50]</sup>。 $Na^+-K^+-ATP$  酶的功能正常对于保持细胞内低  $Na^+$ , 避免细胞肿胀的渗透应激非常重要,Zhong 等<sup>[10]</sup>发现 D-半乳糖组晶状体上皮细胞的  $Na^+-K^+-ATP$  酶免疫反应较对照组增强,且白内障越严重, $Na^+-K^+-ATP$  酶阳性表达越强。D-半乳糖喂养大鼠的晶状体中  $Mg^{2+}$  减少、 $Ca^{2+}$  增加, $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  比率的上升会引起氧化应激,同时削弱 ATP 酶的功能引起渗透应激并激活钙蛋白酶加速晶状体蛋白水解<sup>[50-51]</sup>。

P16、 $\gamma$ H2AX 是衰老的特异性标记物,两者参与细胞周期阻滞和 DNA 损伤反应<sup>[52]</sup>。Wang 等<sup>[53]</sup>通过免疫组化检测这两种标记物在 D-半乳糖处理后的晶状体上皮细胞中的表达,观察到 P16 和  $\gamma$ H2AX 的表达上调,表明 D-半乳糖诱导晶状体上皮细胞衰老,从而引发白内障。

## 2 D-半乳糖诱导白内障模型的造模方法

D-半乳糖已广泛用于诱导白内障模型,但其给药方式、给药剂量、给药时间及给药对象有所不同,现对体内外白内障模型的造模方法予以总结。

### 2.1 体内实验

**2.1.1 D-半乳糖注射造模** Zhong 等<sup>[10]</sup>予 3 周龄雄性 Wistar 大鼠 50% D-半乳糖 15 g/kg 腹腔注射,2 次/日,连续 30 d。Feng 等<sup>[12]</sup>予 8 周龄 C57BL/6J 雄性小鼠 D-半乳糖 200 mg/(kg·d) 皮下注射,连续 8 wk。Dai 等<sup>[22]</sup>予 SD 大鼠 50% D-半乳糖溶液 10 g/kg 腹腔注射,1 次/日,连续 30 d。Fang 等<sup>[23]</sup>予 6 周龄 Wistar 大鼠 50% D-半乳糖

10 mL/kg 腹腔注射,2 次/日,并给予含 10% D-半乳糖的饮用水,连续 30 d。Dai 等<sup>[39]</sup>予 3-4 周龄雌雄不限的 SD 大鼠 0.08% D-半乳糖溶液 20 mg/kg 腹腔注射,2 次/日,连续 10 d,实验期间饲喂 10% D-半乳糖饲料,10 d 后实验组大鼠发展为白内障 I 期,30 d 后 25% 发展为 III 期成熟型白内障,75% 发展为 IV 期超成熟型白内障。Wang 等<sup>[53]</sup>予 3 周龄 SD 雄性大鼠 50% D-半乳糖溶液 10 mL/kg 腹腔注射,第 10 d 起用 10% D-半乳糖水代替饮用水,28 d 造模完成。

**2.1.2 D-半乳糖口服造模** Amanfo 等<sup>[15]</sup>予 3 周龄 SD 大鼠 3 000 mg/kg D-半乳糖口服,连续 6 wk。Kyei 等<sup>[21]</sup>予 3 周龄 SD 大鼠 1 500 mg/kg D-半乳糖口服,2 次/日,连续 4 wk。Dodda 等<sup>[49]</sup>予 Wistar 大鼠 20 mg/kg D-半乳糖口服,连续 3 wk。Rao 等<sup>[54]</sup>予 6 周龄 Wistar 白化大鼠 10 mg/kg D-半乳糖口服,连续 15 d。

**2.1.3 低剂量 D-半乳糖日常饮食造模** Sun 等<sup>[18]</sup>予雄性 SD 大鼠 1-7 d 饲喂 12.5% D-半乳糖饲料,第 8-21 d 饲喂 10% D-半乳糖饲料。Sadik 等<sup>[24]</sup>予 4 周龄雄性 SD 大鼠含 50% D-半乳糖饲料喂养,连续 20 d。Ji 等<sup>[29]</sup>选用 21 日龄雄性 SD 大鼠,第 1-7 d 饮用 12.5% D-半乳糖溶液,第 8-18 d 饮用 10% D-半乳糖溶液。Kanada 等<sup>[38]</sup>予 6 周龄雄性 SD 大鼠 50% D-半乳糖饲料喂养 1 wk。Agarwal 等<sup>[50]</sup>予 25-30 日龄 SD 大鼠 30% D-半乳糖饲料,连续 21 d。Kim 等<sup>[28]</sup>予雄性 SD 大鼠 50% D-半乳糖饲料,连续 2 wk。Iezhita 等<sup>[51]</sup>予 SD 大鼠 25% D-半乳糖饲料,连续 28 d。Gupta 等<sup>[55]</sup>予新生雄性 Wistar 大鼠 50% D-半乳糖饲料,连续 20 d。Suresha 等<sup>[56]</sup>予 Wistar 大鼠 30% D-半乳糖饲料,连续 24 d。Shibata 等<sup>[57]</sup>予 7 周龄雌性 SD 大鼠 25% D-半乳糖饲料,连续 3 wk。

**2.2 体外实验** 体外实验是将晶状体上皮细胞或整个晶状体培养在含 D-半乳糖的培养基中,一般使用含 20% 胎牛血清、100  $\mu$ g/mL 链霉素和 100 IU/mL 青霉素的 DMEM 完全培养基,并在 5%  $CO_2$ 、37  $^{\circ}C$  的培养箱里培养。

**2.2.1 晶状体上皮细胞** Xu 等<sup>[13]</sup>采用人晶状体上皮细胞系,用 25-225 mmol/L 不同浓度的 D-半乳糖处理 12、24、48 h,发现 D-半乳糖以剂量和时间依赖性降低细胞活力。Ji 等<sup>[29]</sup>取比格犬晶状体前囊进行晶状体上皮细胞原代培养,培养至 3-8 代细胞进行实验,将细胞种在 6 孔板内,24 h 后分别加入 0、10、20、30、40、50 和 60 mmol/L D-半乳糖溶液,培养 48 h。Dai 等<sup>[39]</sup>用 250 mmol/L D-半乳糖处理人晶状体上皮细胞 48 h,细胞活力显著降低。

**2.2.2 晶状体** Fang 等<sup>[23]</sup>取 Wistar 大鼠晶状体,于完全培养基内培养 5 h,取透明晶状体进行实验。在培养基中加入 250 mmol/L D-半乳糖,24 h 时肉眼可见晶状体呈乳白色。Haroon 等<sup>[25]</sup>及 Wang 等<sup>[26]</sup>采用囊外摘除术从山羊眼球中取出晶状体,放入含 55 mmol/L D-半乳糖的培养基中培养 72 h。Nagaya 等<sup>[36]</sup>取 6 周龄雄性 SD 大鼠的晶状体,放入含 0.1% 牛血清白蛋白和 30 mmol/L D-半乳糖的 M199 培养基中,培养 2-4 d 晶状体变混浊。Kanada 等<sup>[38]</sup>取 6 周龄雄性 SD 大鼠的晶状体,在 30 mmol/L D-半乳糖的培养基中培养 4 d,发现晶状体不透明度以时间依赖性递增。Agarwal 等<sup>[50]</sup>取正常大鼠晶状体培养 2 h,未变混浊的晶状体放入添加了 30 mmol/L D-半乳糖的 DMEM 培

培养基中再培养 48 h 后见晶状体皮质混浊。Abdelkader 等<sup>[58]</sup>取新鲜猪眼晶状体,冲洗干净后放入含 30 mmol/L D-半乳糖的培养基中,每 24 h 更换一次培养基,连续 3 d,晶状体皮质出现明显褐变。

### 3 白内障造模成功的评定

**3.1 晶状体混浊程度观察** 体内 D-半乳糖造模完成后在裂隙灯下观察,并根据晶状体混浊程度将其分为 9 个等级<sup>[10, 53]</sup>,即 0 级:正常晶状体;1a 级:赤道部空泡形成;1b 级:空泡覆盖前皮质层范围不超过 1/3;1c 级:空泡覆盖前皮质层范围超过 1/3;2a 级:皮质层混浊,可见一些清晰区和空泡;2b 级:皮质层混浊,可见部分清晰区,无空泡;3 级:均匀乳白色;4 级:核不透明;5 级:整个晶状体成熟不透明。一般空泡覆盖前皮质层范围超过 1/3,说明白内障模型建立成功<sup>[39]</sup>。

离体羊眼晶状体经 D-半乳糖处理后,置于网格线上观察晶状体形态,根据透过晶状体的网格线的清晰度进行分级,0 级:晶状体形态和轮廓均未受影响,网格线可见;1 级:晶状体轻微肿胀,轮廓不受影响,网格线可见;2 级:晶状体肿胀,网格线隐约可见;3 级:晶状体形态和轮廓扭曲变形,遮挡网格线;4 级:晶状体形态和轮廓破裂,网格线不可见<sup>[25-26]</sup>。

**3.2 组织病理学观察** HE 染色见正常对照组的晶状体上皮细胞呈单层有序排列,细胞间连接紧密,形态规则一致,染色均一;而模型组晶状体上皮细胞排列紊乱,大小、形状各异。晶状体前皮质层缺失和空泡化改变,晶状体纤维肿胀明显,甚或纤维崩裂,染色不均<sup>[12, 24]</sup>。根据 HE 染色结果行组织病理学评分如下<sup>[50]</sup>,1 分:晶状体纤维肿胀,上皮清晰可见,细胞内可见含粉红色物质的空泡;2 分:上皮完整,晶状体纤维肿胀伴大面积空泡化,且邻近空泡合并形成弥漫性粉色区域;3 分:除空泡、弥漫性粉色区域和晶状体纤维肿胀外,还伴有上皮缺失;4 分:上皮完全缺失,但存在弥漫性粉色区域及少量肿胀的晶状体纤维。

**3.3 透射电镜观察** 透射电镜观察晶状体的显微结构,正常对照组中可看到晶状体纤维细胞排列规则紧密;而 D-半乳糖破坏其排列,且在细胞中发现有许多含嗜银板层小体的空泡,细胞核肿胀破裂<sup>[22]</sup>。正常对照组晶状体上皮细胞呈单层紧密排列,形态规则较一致,而模型组上皮细胞排列不规则,呈复层表现,形态、大小均不一致,部分晶状体上皮细胞伸长、变形、突破上皮层向晶状体纤维层中移行<sup>[12]</sup>。

### 4 小结

药物治疗是减轻白内障患者经济负担,改善其生活质量的有效方法。探索白内障形成的确切机制,有助于加快药物的研发。但白内障发病机制纷繁复杂,其中衰老是最主要的发病机制<sup>[2]</sup>。D-半乳糖可诱导实验性衰老模型,也被广泛应用于构建实验性白内障模型的研究。从该模型角度出发,研发出的药物可通过抗氧化、抗凋亡、增强细胞活力、减少晶状体蛋白聚集等机制有效改善晶状体混浊<sup>[3, 59-60]</sup>。然而,新药的作用机制和疗效尚未完全阐明,且给药剂量与给药方式有待完善。因此,通过 D-半乳糖性白内障模型进一步了解白内障的发病机制、造模方式、给药剂量以及评价药物治疗的有效性,可以为白内障的有效防治提供夯实的实验基础。

### 参考文献

- [1] Delbarre M, Froussart-Maille F. Signs, symptoms, and clinical forms of cataract in adults. *J Fr Ophtalmol*, 2020,43(7):653-659.
- [2] Asbell PA, Dualan I, Mindel J, et al. Age-related cataract. *Lancet*, 2005,365(9459):599-609.
- [3] Lee BJ, Afshari NA. Advances in drug therapy and delivery for cataract treatment. *Curr Opin Ophthalmol*, 2023,34(1):3-8.
- [4] Lu A, Duan P, Xie J, et al. Recent progress and research trend of anti-cataract pharmacology therapy: a bibliometric analysis and literature review. *Eur J Pharmacol*, 2022,934:175299.
- [5] Lim JC, Caballero Arredondo M, Braakhuis AJ, et al. Vitamin C and the lens: new insights into delaying the onset of cataract. *Nutrients*, 2020,12(10):3142.
- [6] Chen XY, Xu JJ, Chen XJ, et al. Cataract: Advances in surgery and whether surgery remains the only treatment in future. *Adv Ophthalmol Pract Res*, 2021,1(1):100008.
- [7] Coelho AI, Berry GT, Rubio-Gozalbo ME. Galactose metabolism and health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2015,18(4):422-427.
- [8] Wang SS, Zhang X, Ke ZZ, et al. D-galactose-induced cardiac ageing: a review of model establishment and potential interventions. *J Cell Mol Med*, 2022,26(21):5335-5359.
- [9] Azman KF, Zakaria R. D-Galactose-induced accelerated aging model: an overview. *Biogerontology*, 2019,20(6):763-782.
- [10] Zhong L, Wang T, Wang T, et al. Characterization of an i.p. D-galactose-induced cataract model in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2021,107:106891.
- [11] Hsueh YJ, Chen YN, Tsao YT, et al. The pathomechanism, antioxidant biomarkers, and treatment of oxidative stress-related eye diseases. *Int J Mol Sci*, 2022,23(3):1255.
- [12] Feng WJ, Yang XJ, Feng MP, et al. Alginate oligosaccharide prevents against D-galactose-mediated cataract in C57BL/6J mice via regulating oxidative stress and antioxidant system. *Curr Eye Res*, 2021,46(6):802-810.
- [13] Xu Y, Li Y, Ma LM, et al. D-galactose induces premature senescence of lens epithelial cells by disturbing autophagy flux and mitochondrial functions. *Toxicol Lett*, 2018,289:99-106.
- [14] Lim JC, Suzuki-Kerr H, Nguyen TX, et al. Redox homeostasis in ocular tissues: circadian regulation of glutathione in the lens? *Antioxidants*, 2022,11(8):1516.
- [15] Amanfo AF, Kyei S, Boakye YD, et al. The aqueous stem bark extract of *Alstonia boonei* exhibits anticataract activity in sprague dawley rat. *Scientifica*, 2023,2023:5524137.
- [16] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. *Cell Mol Life Sci*, 2016,73(17):3221-3247.
- [17] Cai ZY, Fu MD, Liu K, et al. Therapeutic effect of Keap1-Nrf2-ARE pathway-related drugs on age-related eye diseases through anti-oxidative stress. *Int J Ophthalmol*, 2021,14(8):1260-1273.
- [18] Sun JF, Wang B, Hao YJ, et al. Effects of calcium dobesilate on Nrf2, Keap1 and HO-1 in the lenses of D-galactose-induced cataracts in rats. *Exp Ther Med*, 2018,15(1):719-722.
- [19] 赵勇洁, 尚利晓, 李琰. 大黄素对白内障大鼠晶状体氧化应激和炎症影响的机制研究. *医学研究杂志*, 2021,50(7):72-76.
- [20] Lee B, Afshari NA, Shaw PX. Oxidative stress and antioxidants in cataract development. *Curr Opin Ophthalmol*, 2024,35(1):57-63.
- [21] Kyei S, Koffuor GA, Ramkissoon P, et al. Anti-cataract potential of *Heliotropium indicum* linn on galactose-induced cataract in sprague-dawley rats. *Curr Eye Res*, 2017,42(3):394-401.

- [22] Dai J, Zhou J, Liu HM, et al. Selenite and ebselen supplementation attenuates D-galactose-induced oxidative stress and increases expression of SELR and SEP15 in rat lens. *J Biol Inorg Chem*, 2016,21(8):1037-1046.
- [23] Fang H, Hu XH, Wang ML, et al. Anti-osmotic and antioxidant activities of gigantol from *Dendrobium aurantiacum* var. *denneanum* against cataractogenesis in galactosemic rats. *J Ethnopharmacol*, 2015, 172:238-246.
- [24] Sadik NAH, El-Boghdady NA, Omar NN, et al. Esculetin and idebenone ameliorate galactose-induced cataract in a rat model. *J Food Biochem*, 2020,44(7):e13230.
- [25] Haroon HB, Perumalsamy V, Nair G, et al. Repression of polyol pathway activity by *Hemidesmus indicus* var. *pubescens* R.Br. linn root extract, an aldose reductase inhibitor; an in silico and Ex vivo study. *Nat Prod Bioprospect*, 2021,11(3):315-324.
- [26] Wang N, Singh D, Wu Q. Astragaloside attenuates diabetic cataracts via inhibiting aldose reductase activity in rats. *Int J Ophthalmol*, 2023,16(8):1186-1195.
- [27] Ji L, Cheng L, Yang Z. Diosgenin, a novel aldose reductase inhibitor, attenuates the galactosemic cataract in rats. *J Diabetes Res*, 2017,2017:7309816.
- [28] Kim CS, Kim J, Lee YM, et al. Esculetin, a coumarin derivative, inhibits aldose reductase activity in vitro and cataractogenesis in galactose-fed rats. *Biomol Ther*, 2016,24(2):178-183.
- [29] Ji LX, Cheng LX, Yang ZH. Upregulations of Clcn3 and P-gp provoked by lens osmotic expansion in rat galactosemic cataract. *J Diabetes Res*, 2017,2017:3472735.
- [30] Chen Q, Liu X, Luo Z, et al. Chloride channel-3 mediates multidrug resistance of cancer by upregulating P-glycoprotein expression. *J Cell Physiol*, 2019,234(5):6611-6623.
- [31] Zhang P, Xing KY, Randazzo J, et al. Osmotic stress, not aldose reductase activity, directly induces growth factors and MAPK signaling changes during sugar cataract formation. *Exp Eye Res*, 2012, 101: 36-43.
- [32] Nagaya M, Yamaoka R, Kanada F, et al. Histone acetyltransferase inhibition reverses opacity in rat galactose-induced cataract. *PLoS One*, 2022,17(11):e0273868.
- [33] Peña-Blanco A, García-Súez AJ. Bax, Bak and beyond - mitochondrial performance in apoptosis. *FEBS J*, 2018, 285(3): 416-431.
- [34] Eskandari E, Eaves CJ. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. *J Cell Biol*, 2022,221(6):e202201159.
- [35] 冯美苹, 冯文静, 胡松, 等. 褐藻胶寡糖对D-半乳糖诱导小鼠白内障的影响. *青岛大学学报(医学版)*, 2020,56(3):256-260.
- [36] Nagaya M, Kanada F, Takashima M, et al. Atm inhibition decreases lens opacity in a rat model of galactose-induced cataract. *PLoS One*, 2022,17(9):e0274735.
- [37] Xie S, Wu H, Wang Q, et al. Plk3 functionally links DNA damage to cell cycle arrest and apoptosis at least in part via the p53 pathway. *J Biol Chem*, 2001,276(46):43305-43312.
- [38] Kanada F, Takamura Y, Miyake S, et al. Histone acetyltransferase and Polo-like kinase 3 inhibitors prevent rat galactose-induced cataract. *Sci Rep*, 2019,9(1):20085.
- [39] Dai GZ, Zhang P, Ye P, et al. The chemopreventive peptide lunasin inhibits d-galactose-induced experimental cataract in rats. *Protein Pept Lett*, 2016,23(7):619-625.
- [40] 李秋霞, 王广谋, 陈健, 等. 橙皮素调节 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路对D-半乳糖诱导的白内障大鼠氧化应激损伤的影响. *河北医学*, 2023,29(2):195-200.
- [41] Klionsky DJ, Petroni G, Amaravadi RK, et al. Autophagy in major human diseases. *EMBO J*, 2021,40(19):e108863.
- [42] Aman Y, Schmauck-Medina T, Hansen M, et al. Autophagy in healthy aging and disease. *Nat Aging*, 2021,1:634-650.
- [43] Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition) 1. Autophagy, 2021,17(1):1-382.
- [44] Angelova PR, Abramov AY. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Lett*, 2018,592(5): 692-702.
- [45] Luo Y, Ma J, Lu W. The significance of mitochondrial dysfunction in cancer. *Int J Mol Sci*, 2020,21(16):E5598.
- [46] Li XY, Ma X, Chen Y, et al. Coinhibition of activated p38 MAPK $\alpha$  and mTORC1 potentiates stemness maintenance of HSCs from SR1-expanded human cord blood CD34+ cells via inhibition of senescence. *Stem Cells Transl Med*, 2020,9(12):1604-1616.
- [47] Frema Amanfo A, Kyei S, Duah Boakye Y, et al. Anticataract effect of the aqueous extract of the flowers of *Aspilia africana* in murine model of diabetic and age-related cataracts. *Adv Pharmacol Pharm Sci*, 2023,2023:7867497.
- [48] Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elfiky AA. GRP78: a cell's response to stress. *Life Sci*, 2019,226:156-163.
- [49] Dodda D, Rama Rao A, Veeresham C. In vitro and in vivo evaluation of pterostilbene for the management of diabetic complications. *J Ayurveda Integr Med*, 2020,11(4):369-375.
- [50] Agarwal R, Iezhita I, Awaludin NA, et al. Effects of magnesium taurate on the onset and progression of galactose-induced experimental cataract: *in vivo* and *in vitro* evaluation. *Exp Eye Res*, 2013,110:35-43.
- [51] Iezhita I, Agarwal R, Saad SD, et al. Mechanism of the anticataract effect of liposomal MgT in galactose-fed rats. *Mol Vis*, 2016,22:734-747.
- [52] Hernandez-Segura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of cellular senescence. *Trends Cell Biol*, 2018,28(6):436-453.
- [53] Wang YH, Tseng Y, Chen KY, et al. Reduction in lens epithelial cell senescence burden through dasatinib plus quercetin or rapamycin alleviates D-galactose-induced cataract progression. *J Funct Biomater*, 2022,14(1):6.
- [54] Rao AR, Veeresham C, Asres K. *In vitro* and *in vivo* inhibitory activities of four Indian medicinal plant extracts and their major components on rat aldose reductase and generation of advanced glycation endproducts. *Phytother Res*, 2013,27(5):753-760.
- [55] Gupta K, Juneja S, Bajwa GS, et al. Role of cytochrome modulators in altering the occurrence of cataract in rats. *J Clin Diagn Res*, 2015,9(7):FF05-FF07.
- [56] Suresha BS, Srinivasan K. Antioxidant potential of fungal metabolite nigerloxin during eye lens abnormalities in galactose-fed rats. *Curr Eye Res*, 2013,38(10):1064-1071.
- [57] Shibata T, Shibata S, Shibata N, et al. Propolis, a constituent of honey, inhibits the development of sugar cataracts and high-glucose-induced reactive oxygen species in rat lenses. *J Ophthalmol*, 2016, 2016:1917093.
- [58] Abdelkader H, Longman M, Alany RG, et al. On the anticataractogenic effects of L-carnosine: is it best described as an antioxidant, metal-chelating agent or glycation inhibitor? *Oxid Med Cell Longev*, 2016,2016:3240261.
- [59] 熊亚妮, 孟永, 钱仪敏, 等. 白内障动物模型及药物治疗研究进展. *药物评价研究*, 2022,45(12):2611-2616.
- [60] Xu J, Fu Q, Chen X, et al. Advances in pharmacotherapy of cataracts. *Ann Transl Med*, 2020,8(22):1552.