DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.03.009

三七总皂甙及抗坏血酸对大鼠视网膜光化学损伤的防护作用*

谢伯林** 王正国 朱佩芳 严 密*** (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室) 重庆,400042

提 要 目的:评价三七总皂甙及抗坏血酸防护视网膜光化学损伤的效果。方法:本实验于光照前 24 h及光照前立即给大鼠腹腔注射三七总皂甙(100 mg/kg)及抗坏血酸(0.5 g/kg),进行光损伤的防护研究。以视网膜光镜形态、外核层厚度及丙二醛含量检测作为评判分析指标。结果:光照后 6 d及 14 d,两用药组的光镜下视网膜形态改变及外核层厚度改变均较对照组轻,用药组视网膜丙二醛含量于光照后 6 h及 6 d相同时间点显著低于对照组($P<0.05$),但两用药组间无统计学差别($P>0.05$)。结论:三七总皂甙具有类似抗坏血酸作用,表现出良好的防护效果。其作用机制是能显著减轻光化学损伤后视网膜脂质过氧化作用。

关键词 视网膜;光化学;防护;三七总皂甙;抗坏血酸
中图法分类号 R779.1

脂质过氧化在视网膜光损伤中的作用已得到证实[1-3],为积极寻找能有效改善视网膜损伤的治疗药物提供了途径。本研究应用形态学、形态计量学及视网膜丙二醛含量检测,对三七总皂甙及抗坏血酸防护视网膜光化学损伤的效果进行比较,来评价防护效果并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及光损伤条件

选用 120只 SD大鼠,采用 2 000 lux绿色荧光灯持续 24 h照射,造成视网膜光化学损伤动物模型。具体方法:采用自制光损伤照箱。用 2 mm厚透明有机玻璃粘接成 20 cm×15 cm×20 cm的光照箱,其两侧面板有 99个直径为 0.7 cm的通风孔。用细铁丝将光照箱固定于光照架中央,在光照架的 6个面分别放置 1根 40 W的绿色荧光灯管(波长 510~560 nm)。光照箱中心各方向实测平均照度为(1 900±106.9) lux,相当于大鼠正常活动时眼球水平的各箱壁的照度为 2 000 lux(ST-Ⅲ型光度计,北京师范大学光电仪器厂产)。动物房的室温控制在 21℃~24℃之间,所有实验用大鼠均在 12 h明(30~50 lux)及 12 h暗循环光环境适应 10 d,光照前暗适应 24 h,然后逐只进入光照箱,接受 24 h持续光照射。大鼠未经散瞳及麻醉,可在光照箱内自由活动,光照后送回暗环境中饲养,分别在光照前及光照后 6 h、6 d、14 d检测各项指标。

1.2 实验分组及用药方法

1.2.1 三七总皂甙组 光照前 24 h及光照前立即腹腔注射三七总皂甙 100 mg/kg(云南植物药厂产),共 2次。

1.2.2 抗坏血酸组 光照前 24 h及光照前立即腹腔注射抗坏血酸 0.5 g/kg(上海黄河制药厂产),共 2次。

1.2.3 对照组 光照前 24 h及光照前立即腹腔注射生理盐水 1 ml,共 2次。

1.3 视网膜形态光镜观察及外核层厚度测量

动物处死后摘除眼球,立即放入中性福尔马林溶液中固定 48 h,经逐级酒精脱水,常规石腊包埋,经视乳头颞侧旁开 1 mm纵向做 5μm厚的切片,在显微镜下观察摄片,采用 MIAS-1000图像分析系统测量外核层厚度。

1.4 视网膜丙二醛含量测定

采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法。

2 结果

2.1 视网膜形态光镜观察

光照后 6 h,对照组视网膜外核层细胞减少,内外节排列紊乱,分界不清,出现不规则淡染区。两用药组此期出现类似改变。但光照后 6 d,对照组外核层更薄,内节无淡染区,外节出现大空泡。两用药组损伤反应轻,外核层明显较对照组厚,外节无空泡形成。至光照后 14 d,对照组外核层较 6 d增厚,细胞间排列更致密,内节排列致密。两用药组的修复情况好于对照组,表现出外核层较对照组厚。

2.2 视网膜外核层(ONL)厚度变化

光照前 3组 ONL厚度相近($P>0.05$)。光照后 6 h 3组 ONL厚度变化无统计学差异($P>0.05$)。光照后 6 d,三七总皂甙组及抗坏血酸组的 ONL厚度分别减少 28.50%及 29.92%,ONL厚度减少程度显著较对照组(46.6%)轻($P<0.01$)。光照后 14 d仍是用药组 ONL厚度高于对照组($P<0.01$),用药组 ONL厚度各时间点差异不显著($P>0.05$),见表 1。

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39170768
** 谢伯林,男,35岁,副教授,副主任医师,博士后,现在成都军区昆明总医院眼科工作 昆明市,650032
*** 华西医科大学第一临床医学院眼科 成都,610000
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 光照后视网膜外核层(ONL)厚度变化 ($\bar{x} \pm s$ μm, n= 5)

Tab 1 Changes in the thickness of the outer nucleus layer (ONL) of retina after light exposure($\bar{x} \pm s$ μm, n= 5)

	Before light exposure	After light exposure		
		6 h	6 d	14 d
Control	41.83± 0.93	31.83± 1.12*	22.33± 1.01*	24.06± 1.52*
Panax ootoginsenoside	40.57± 1.32	34.16± 1.31*	29.19± 1.41△	30.67± 1.96△
Ascortic acid	40.64± 1.28	32.98± 1.63*	24.48± 1.83△	31.47± 1.43△

*: P <0.01 *vs* before light exposure; △: P <0.01 *vs* control of same period

2.3 视网膜丙二醛(MDA)含量变化

对照组在光照后 6h视网膜 MDA含量明显升高,6 d达高峰,14 d回落接近光照前水平。两用药组在光照后,MDA含量出现与对照组类似变化趋势,但在 6 h及 6 d相同时间点均比对照组低(P <0.01),而两用药组间差异不显著(P > 0.05),见表 2

表 2 视网膜丙二醛(MDA)含量变化 (m_B /nmol· mg^{-1}, n= 5)

Tab 2 Changes in the contents of malondialdehyde (MDA) in retinol after light exposure (m_B /nmol· mg^{-1}, n= 5)

	Before light exposure	After light exposure		
		6 h	6 d	14 d
Control	128.81± 9.67	168.81± 11.24*	185.25± 16.51*	136.87± 10.42
Panax ootoginsenoside	129.21± 11.45	141.27± 13.57△	153.58± 16.23△	131.37± 12.56
Ascorbic acid	127.36± 12.19	147.53± 16.72△	157.17± 15.49△	134.56± 19.37

*: P <0.01 *vs* before light exposure, △: P <0.01 *vs* control of same period

3 讨论

一些学者和我们的研究都证实[1~3],脂质过氧化在视网膜光化学损伤中具有非常重要的作用,不少自由基清除剂及抗氧化剂对视网膜光化学损伤有良好的保护作用[3]。抗坏血酸是一种抗氧化剂,对视网膜光化学损伤有肯定的防护效果[4]。三七总皂甙是从中药材三七中提取有效药物成份,具有多方面作用,也具有抗氧化作用,且能通过血视网膜屏障[5]。但三七总皂甙对视网膜光化学损伤的防护作用尚未见文献报道。本研究以视网膜组织形态及形态计量为指标,以抗坏血酸为正对照,观察三七总皂甙在视网膜光化学损伤中的防护作用。

本实验发现光照后 6 h,出现内外节结构紊乱及有淡染区,由于光感受器细胞坏死致外核层细胞数减少,厚度减少。光照后 6 d,坏死细胞大部吸收致外核层进一步变薄。光照后 14 d,光感受器出现修复表现,外核层开始增厚,内节形态基本恢复,而外节再生分化尚未完全。

于光照前 24 h及光照前立即腹腔注射三七总皂甙及抗坏血酸,光照后 6 h,光镜形态改变与对照组基本一致。但光照后 6 d及 14 d,两用药组外核层厚度明显高于对照组(P <0.01),说明应用两种抗氧化剂后,细胞坏死减少。两用药组外节未见空泡形成,说明用药后外节水肿减轻,修复分化也更快完成。三七总皂甙组和抗坏血酸组之间,在实验各时间点,各项指标均无显著差异(P > 0.05)。以上结果提示,三七总皂甙对本实验条件下可见光造成的光化学损伤确有防护作用,与所用抗坏血酸剂量的防护能力类似。

现已证实,在本实验条件下,视网膜光化学损伤的主要发病机制是脂质过氧化作用[2]。实验结果证实,三七总皂甙组及抗坏血酸组的视网膜丙二醛含量,在各时间点的变化规律与对照组一致,即光照后 6 h升高,6 d达高峰,14 d下降接近正常。但是,两用药组在光照后 6 h及 6 d的丙二醛测定值均显著地低于对照组(P <0.05)。而这两用药组间差异不显著(P > 0.05)。这些结果说明,三七总皂甙及抗坏血酸于光照前对动物给药,能显著地抑制丙二醛的产生,证明用药组能显著地减轻光照所致的视网膜脂质过氧化作用。这也是本实验所见用药组光镜形态和形态计量指标的改变显著轻于对照组的原因。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参考文献

1 李文松,方谦逊,罗成仁,等.光氧化损伤视网膜中的过氧化物歧化酶和过氧化脂质变化.眼底病, 1993, 9(1): 14
2 谢伯林,严　密,张军军,等.视网膜光化学损伤的主要组织化学改变实验研究.中华眼底病杂志, 1998, 14(1): 38
3 Tso MoM. Experiment on visual cells by nature and man: In search of treatment for photoreceptor degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1989, 30(12): 2430
4 Hiramitsu T, Armstrong D. Preventive effect of antioxidants on lipid peroxidation in the retina. Ophthalmol Res, 1991, 23(4): 196
5 郑光植,杨崇仁.三七生物学及其应用.北京: 科学出版社, 1994. 85~ 123

(收稿: 1998-06-23;修回: 1998-10-07)
(编辑　王　红)

Amelioration of retinal photochemical damage by panax ootoginsenoside and ascorbic acid*

Xie Bolin, Wang Zhengguo, Zhu Peifang, Yan Mi (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract Objective: To evaluate the protective effects of panax ootoginsenoside and ascorbic acid on retinal photochemical damages. Methods: Panax ootoginsenoside (100 mg/kg) and ascorbic acid (0.5 g/kg) were injected into the peritoneal cavity of the rats 24 h and immediately before light exposure. The histopathological changes of the retina were observed, concentration of malondialdehyde (MDA) in it measured and thickness of the outer nucleus layer determined. Results: On the 6th and 14th day after light exposure, the damage of the retina and changes in the thickness of the outer nucleus layer were slighter in two protected groups than in the control. Meanwhile, the concentration of MDA was significantly lower in the two protected groups than in the control ($P < 0.05$) at the 6th h and on the 6th day after light exposure. However, no significant difference was found between the two protected groups ($P > 0.05$). Conclusion: Panax ootoginsenoside plays the similar role to ascorbic acid in protection of retinal photochemical damage. The mechanism might be to inhibit lipid peroxidation in the retina after photochemical damage.

Key words retina; photochemistry; protection; panax ootoginsenoside; ascorbic acid

* This project was supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 39170768

(上接 168页)

3 讨论

有研究表明[1]: 感染根管牙本质深层细菌与冠部牙本质龋的深层相类似。存留在根部牙本质深层的细菌虽然在根管完全充填后大部分静止或死亡,但如根管充填不密合仍有可能引起根尖周区病变。当主根管感染时,其侧副根管和牙本质小管内仍有细菌存在,当药物渗透不到这些部位时,细菌仍可引起感染[2]。而尖周炎治疗成功的关键是彻底清除根管内感染源和控制根尖部和根管内残余感染[1]。因此,我们在行根管充填的同时,用 0.5% 甲硝唑液根尖注射,其浓度为 5 mg/ml(远高于此药对厌氧菌的最低抑制浓度)能够抑制或杀灭根管内及根尖周的厌氧菌,对根尖周组织无刺激作用,毒副作用小[3,4]。通过根尖区注射,药物直接作用于病变区,药液浓度远高于口服途径给药者。显效快,作用强,能缩短病程。因此,注射疗法优于服药法。

根尖区注射法操作简单、安全、疗程短,不仅适用于前牙,而且后磨牙亦可进行,因而扩大了保留患牙的范围。因无甲硝唑片的口感不适,红霉素的消化道反应,病人乐于接受。

根尖区注射疗法的主要弊端为轻微疼痛感,但由于注射液内加有普鲁卡因,加之使用口腔特制针头注射,使疼痛仅限于最初的进针部位。注射时,要求将药液注入骨膜下,推药时有压力感为宜。

关键词　0.5% 甲硝唑液;根尖注射;厌氧菌
中图法分类号　R781

参考文献

1 张举之,樊明文 主编.口腔内科学.第 3版.北京: 人民卫生出版社, 1997. 39　162~ 163
2 周卫兵.根尖切除根管逆行充填术的临床观察.现代口腔医学杂志, 1998, 12(3): 223
3 李德懿,叶秀琴,张文生,等.牙周炎和牙髓根尖周病甲硝唑控释药物的研制.上海第二医科大学学报, 1997, 17(1): 7
4 李德懿,叶秀琴,张　濑,等.根管甲硝唑药治疗根尖的实验研究和临床应用.牙体牙髓牙周病学杂志, 1998, 8(3): 176

(收稿: 1998-07-19;修回: 1998-12-05)
(编辑　仇玉福)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net