

doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2017.06.01

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1000-4432.2017.06.01>

· 论著 ·

3种滴眼液对麻醉小鼠可逆性白内障的保护作用

王文聪¹, 李扬杵¹, 涂丽芳², 陈伟国¹, 黎韦华¹

(1. 眼科学国家重点实验室, 中山大学中山眼科中心眼科学实验动物中心, 广州 510060;

2. 广州市天河区石牌街社区卫生服务中心治疗室, 广州 510060)

[摘要] 目的: 探讨3种不同的滴眼液在麻醉小鼠晶状体浑浊中的保护作用。方法: 将20只6周龄C57BL/6j小鼠分为4组, A组为自然暴露组(对照组), B组为滴用透明质酸钠组, C组为滴用甲基纤维素滴眼液组, D组为滴用生理盐水组。分别于麻醉后10, 20, 30, 45和60 min观察小鼠晶状体浑浊情况。结果: 与A组相比, 3种滴眼液均不同程度地延长小鼠晶状体浑浊的时间; 30 min时, 4组小鼠浑浊发生率分别为90%, 50%, 50%和10%, 并延缓晶状体浑浊的进展; 60 min时, 4组小鼠3级浑浊的发生率为30%, 10%, 10%和0, 其中生理盐水的作用效果最优, 可以明显延迟晶状体变浑浊的时间。结论: 麻醉小鼠的晶状体浑浊程度可以被相关滴眼液延缓, 适用于短时间的眼科检查和处理, 又因其经济易得, 可广泛应用于小鼠活体的眼科检查中。

[关键词] 小鼠; 麻醉状态; 白内障

Effect of eye drops on the development of cataract in anesthetized mice

WANG Wencong¹, LI Yangchu¹, TU Lifang², CHEN Weiguo¹, LI Weihua¹

(1. Ophthalmic Animal Laboratory, State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, SunYat-sen University, Guangzhou 510060; 2. Therapeutic Room, Shipai Community Health Service Center, Tianhe District, Guangzhou 510060, China)

Abstract **Objective:** To study the effect of saline, carboxymethylcellulose sodium eye drops and sodium hyaluronate gel to stop the development of cataract in anesthetized mice. **Methods:** Twenty C57BL/6j mice, aged 6 weeks, were divided into four groups, group A was naturally exposed to air, group B was treated with sodium hyaluronate gel, group C was treated with carboxymethylcellulose sodium eye drops and group D was treated with saline. The lens opacity was observed at 10, 20, 30, 45 and 60 min after the start of the experiment. **Results:** Compared with group A, the eye drops delayed the development of lens opacity in varying degrees. At 30 min, the incidence rate of cataract in group A, B, C and D was 90%, 50%, 50% and 10%, respectively. At 60 min, the incidence rate of grade 3 cataract in group A, B, C and D was 30%, 10%, 10% and 0 respectively, saline did the best, which can significantly

收稿日期 (Date of reception): 2017-04-13

通信作者 (Corresponding author): 黎韦华, Email: wei-yu1106@163.com

基金项目 (Foundation item): 广东省科技计划项目 (2013B060300003)。This work was supported by Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (2013B060300003).

slow the process. **Conclusion:** Cataract development can be slowed by the protective eye drops. This finding is relevant for those experimental settings in which clear ocular media are required.

Keywords mice; anesthetized; cataract

小鼠是一种和人类基因型有着高度相似性的实验动物, 在医学研究中应用广泛, 在眼科学的基础研究中也广泛使用^[1]。随着科技的进步, 越来越多可精确测量的动物模型被建立, 如小鼠氧诱导视网膜病变模型、小鼠糖尿病性视网膜病变模型和视网膜退化模型等^[2]。研究表明^[2]: 透明的屈光介质意义重大, 主要是晶状体的透明度, 可以影响甚至决定测量的准确性, 最终影响实验结果。

早期研究^[3-5]发现: 在啮齿类动物中存在可逆性晶状体浑浊的情况。多种因素可以影响晶状体的透明程度, 如药物、麻醉剂、温度、氧供、钙离子浓度、pH值和脱水。

因此, 预防晶状体浑浊对于眼科动物活体实验中具有重要的意义。Gu等^[6]研究了不同浓度生理盐水对麻醉状态小鼠可逆性白内障的影响, 发现低渗生理盐水效果较高渗生理盐水好。但尚未见其他滴眼液在麻醉状态下小鼠可逆性白内障中的作用的研究。

本研究在室温23℃下, 以4.3%水合氯醛腹腔注射(10 mL/kg)小鼠, 探讨3种常见滴眼液对预防晶状体浑浊的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF级C57BL/6J小鼠20只, 雄性, 6周龄, 购于南京大学-南京生物医药研究院, 生产许可证编号为SCXK(苏)2015-0001, 实验动物质量合格证号为32002100000869。饲养在中山大学中山眼

科中心眼科学实验动物中心[SYXK(粤)2015-0058]屏障区。所用滴眼液: 羟丙甲基纤维素滴眼液(10 mL:200 mg)购于中山大学附属眼科医院; 生理盐水(10 mL:0.09 g)购于中国大冢制药有限公司, 医用透明质酸钠凝胶(15 mg/mL)购于上海其胜生物制剂有限公司。

以4.3%水合氯醛腹腔注射(10 mL/kg)小鼠。麻醉前5 min以0.5%托吡卡胺/5%去氧肾上腺素混合滴眼液1滴点于受检眼。动物麻醉后, 置于动物保温平台, 调节恒定温度为23℃。

1.2 方法

首先使用裂隙灯观察20只小鼠的晶状体情况, 均为透明状态。将20只小鼠根据处理方式不同分为4组, 每组5只(10眼), 双眼实验。A组为自然暴露组(对照组), B组为滴用透明质酸钠组, C组为滴用甲基纤维素滴眼液组, D组为滴用生理盐水组。分别在实验开始后10, 20, 30, 45和60 min观察小鼠晶状体分级情况, 并记录。

1.3 观察指标

用裂隙灯(型号: SL-D7, 日本Topcon公司)观察晶状体透明程度。晶状体浑浊分级参考Bermudez等^[4]采用的标准, 分为4级: 0级, 透明, 无浑浊; 1级, 轻微浑浊; 2级, 中度浑浊; 3级严重浑浊。由两名经验丰富的技术人员进行浑浊分级评级, 如评级不一, 则采纳为浑浊更高级别(图1), 记录每组每个时间点发生不同级别浑浊的数量及百分比。

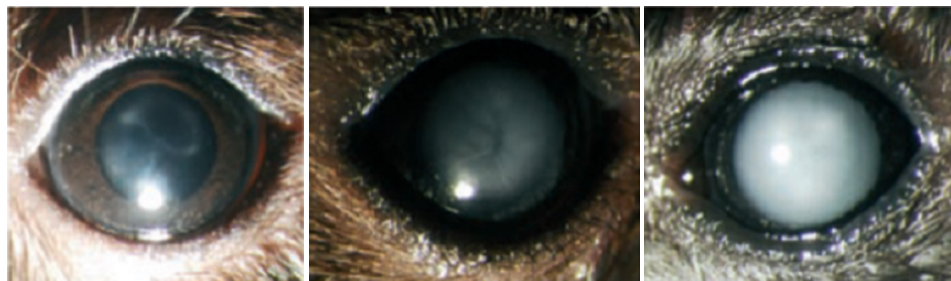


图1 晶状体浑浊分级标准

Figure 1 Examples of the three grades of lens opacification

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0进行Kruskal-Wallis检验。

2 结果

在滴用0.5%托吡卡胺/5%去氧肾上腺素混合滴眼液后,小鼠瞳孔迅速散大,小鼠晶状体情况记录如图2。30 min时示例如图3。

A组10 min时4眼(40%)为1级,1眼(10%)为2级;20 min时,只有1眼(10%)未浑浊,6眼(60%)浑浊程度为1级,3眼(30%)为2级;30 min时,1眼(10%)未见浑浊,4眼(40%)浑浊程度为1级,4眼(40%)浑浊程度为2级,1眼(10%)浑浊程度为3级;45 min和60 min时,1眼(10%)未见浑浊,2,3,4

级分别有3眼(30%)。

B组10 min时10眼(100%)均未见浑浊;20 min时,7眼(70%)保持透明状态,3眼(30%)浑浊程度为1级;30 min时,有5眼(50%)保持透明,4眼(40%)为浑浊1级状态,1眼(10%)为浑浊2级状态;45 min和60 min时,3眼(30%)未见浑浊,1级,2级状态各3眼(30%),1眼(10%)为3级状态。

C组10 min时10眼(100%)均为透明状态;20 min时,7眼(70%)保持透明状态,3眼(30%)浑浊程度为1级;30 min时,有5眼(50%)保持透明,4眼(40%)为浑浊1级状态,1眼(10%)为浑浊2级状态;45 min时,4眼(40%)保持透明,1级和2级分别有3眼(30%);60 min时,4眼(40%)保持透明,3眼(30%)为1级浑浊,2眼(20%)为2级浑浊,1眼(10%)为3级浑浊。

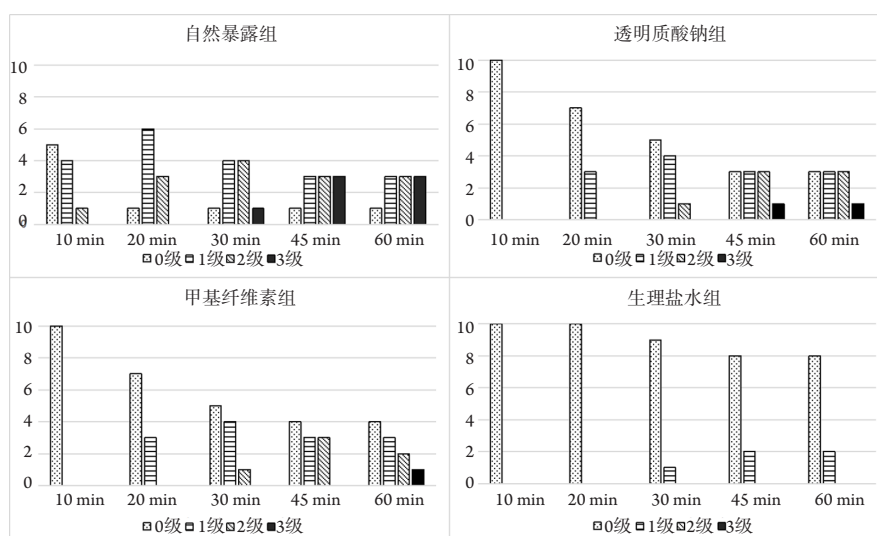


图2 晶状体透明程度

Figure 2 Lens opacity development of the four groups

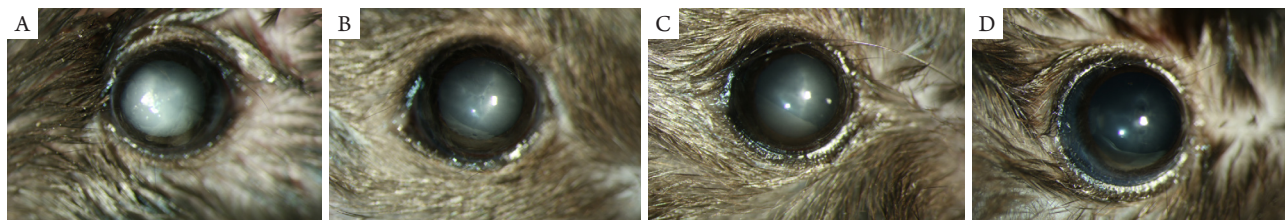


图3 30 min时示例图

Figure 3 Examples of the lens opacity at 30 min of the four groups

(A)自然暴露组(对照组);(B)滴用透明质酸钠组;(C)滴用甲基纤维素滴眼液组;(D)滴用生理盐水组。

(A) Naturally exposed to air group; (B) Sodium hyaluronate gel group; (C) Carboxymethylcellulose sodium eye drops group; (D) saline group.

D组10 min和20min时, 10眼(10%)均保持透明; 30 min时, 9眼(90%)保持透明, 1眼(10%)浑浊1级状态; 45 min和60 min时, 8眼(80%)保持透明, 2眼(20%)浑浊1级程度。

本研究对各组30 min时间点发生浑浊(1级及1级以上)的数量进行Kruskal-Wallis检验分析, 各組间差异无统计学意义($P=0.392$)。

3 讨论

本研究结果显示: 如不进行干预, 在自然暴露条件下, 小鼠晶状体均变浑浊, 并随着时间的推移而加重, 45~60 min后不再加重, 呈现稳定状态。因为样本数量较少, 统计学上未见显著差异。关于麻醉状态下, 小鼠晶状体出现可逆性浑浊的原因, 至今仍有争论, 较主流的观点为: 在麻醉状态下, 小鼠眼睛无法眨动, 泪膜蒸发, 角膜缺水导致晶状体循环出现障碍^[7-9], 钠离子和钾离子的转运出现障碍导致晶状体浑浊的发生和加重。

本研究所用3种点眼液均为眼科常用药物, 透明质酸钠在润滑角膜和置入人工晶状体时起保护和支撑作用, 甲基纤维素常用于三面镜、房角镜检查时保护角膜和黏附接触镜, 生理盐水用处更为常见广泛。本研究中3种滴眼液对角膜和晶状体均有保护作用, 可以不同程度地延缓晶状体浑浊的进程, 其中生理盐水效果最优, 其原理可能与钠离子和氯离子在晶状体中的转运以及渗透压的维持有关^[10-11], 适用于短时间的眼科检查和处理, 如小鼠裂隙灯照相、玻璃体腔注射等。60 min时, 小鼠晶状体浑浊的发生率和浑浊程度均较低; 而60 min后, 小鼠晶状体浑浊程度是否会加深, 本研究未作进一步观察, 因为常规眼科检查或其他时间较长的检查如ERG等, 在熟练的操作下不需要60 min。实验人员需确保实验动物在熟练技术人员进行操作检查时维持最佳状态。生理盐水便宜易

得, 能延缓麻醉状态下的小鼠晶状体浑浊, 为眼科试验动物提供了新的保护方法。屈光介质透明的情况下, 小鼠的眼科检查才能更精确, 减少其他因素的误差, 为动物实验的严谨性提供保障。

参考文献

1. Pardue MT, Stone RA, Iuvone PM. Investigating mechanisms of myopia in mice[J]. *Exp Eye Res*, 2013, 114: 96-105.
2. MacLaren RE, Pearson RA, MacNeil A, et al. Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors[J]. *Nature*, 2006, 444(7116): 203-207.
3. Vieira AC, Vicente AF, Perez R, et al. Chloral hydrate anesthesia and lens opacification in mice[J]. *Curr Eye Res*, 2009, 34(5): 355-359.
4. Bermudez MA, Vicente AF, Romero MC, et al. Time course of cold cataract development in anesthetized mice[J]. *Curr Eye Res*, 2011, 36(3): 278-284.
5. Calderone L, Grimes P, Shalev M. Acute reversible cataract induced by xylazine and by ketamine-xylazine anesthesia in rats and mice[J]. *Exp Eye Res*, 1986, 42(4): 331-337.
6. Gu Y, Xu B, Feng C, et al. Topical use of NaCl solution with different concentration affects lens transparency in anesthetized mice[J]. *Curr Eye Res*, 2016, 41(7): 943-950.
7. Mathias RT, Kistler J, Donaldson P. The lens circulation[J]. *J Membr Biol*, 2007, 216(1): 1-16.
8. Delamere NA, Tamiya S. Expression, regulation and function of Na,K-ATPase in the lens[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2004, 23(6): 593-615.
9. Weinstock M, Marshall AS. The influence of the sympathetic nervous system on the action of drugs on the lens[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1969, 166(1): 8-13.
10. Mark HH. Aqueous humor dynamics and the iris[J]. *Med Hypotheses*, 2003, 60(3): 305-308.
11. Donaldson PJ, Chee KS, Lim JC, et al. Regulation of lens volume: implications for lens transparency[J]. *Exp Eye Res*, 2009, 88(2): 144-150.

本文引用: 王文聪, 李扬杵, 涂丽芳, 陈伟国, 黎韦华. 3种滴眼液对麻醉小鼠可逆性白内障的保护作用[J]. *眼科学报*, 2017, 32(2): 60-63. doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2017.06.01

Cite this article as: WANG Wencong, LI Yangchu, TU Lifang, CHEN Weiguo, LI Weihua. Effect of eye drops on the development of cataract in anesthetized mice[J]. *Yan Ke Xue Bao*, 2017, 32(2): 60-63. doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2017.06.01