

# 槲皮苷通过增强 Nrf-2/HO-1 信号通路改善亚硒酸盐所致的大鼠白内障

黄国华<sup>1</sup>, 杜倩<sup>2</sup>, 韩道新<sup>1</sup>, 杨芳<sup>1</sup>, 张杨<sup>1</sup>(1.南阳南石医院眼科, 河南 南阳 473000; 2.南阳市中心医院眼科, 河南 南阳 473000)

**摘要:** 目的 探究槲皮苷对亚硒酸钠(selenite, Se)所致的大鼠白内障的治疗作用及其机制。方法 将 11 d 龄 SD 仔鼠随机分为对照组、模型组、低剂量槲皮苷组和高剂量槲皮苷组, 每组 10 只。造模后第 15 天, 检查各组大鼠的白内障形成情况。分离晶状体, 采用 HE 染色观察晶状体病理学表现; 采用试剂盒法测定晶状体中可溶和不可溶蛋白含量、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GSH-Rd)活性; 采用免疫荧光染色法和 Western blotting 检测晶状体中核因子 E2 相关因子 2(nuclear nuclear factor E2-related factor 2, Nrf-2)和血红素加氧酶 1(cytoplasmic heme oxygenase 1, HO-1)蛋白表达水平。结果 与对照组比较, 模型组晶状体形态发生明显改变, 晶状体的混浊积分、不溶性蛋白和 MDA 含量均明显增加( $P<0.01$ ), 而可溶性蛋白含量、SOD、GSH-Px 和 GSH-Rd 活性明显降低( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 槲皮苷组上述情况均得到明显改善( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 尤其在高剂量组( $P<0.01$ )。免疫荧光结果显示, 与对照组比较, 模型组晶状体中 Nrf-2 和 HO-1 蛋白表达水平均明显增加( $P<0.01$ ), 用槲皮苷处理后 Nrf-2 和 HO-1 蛋白表达水平进一步增加。Western blotting 检测显示, 与模型组比较, 槲皮苷组晶状体中 Nrf-2 核转位增多且总 Nrf-2 和 HO-1 蛋白水平均明显增加( $P<0.01$ )。结论 槲皮苷能抑制 Se 诱导的大鼠白内障生成和氧化应激反应, 且这些作用可能与其增强 Nrf-2/HO-1 信号活性有关。

**关键词:** 槲皮苷; 亚硒酸盐; 白内障; 氧化应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)03-0352-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.03.011

引用本文: 黄国华, 杜倩, 韩道新, 等. 槲皮苷通过增强 Nrf-2/HO-1 信号通路改善亚硒酸盐所致的大鼠白内障[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(3): 352-357.

## Quercitrin Alleviates Selenite-induced Cataract in Rats by Enhancing Nrf-2/HO-1 Signaling Pathway

HUANG Guohua<sup>1</sup>, DU Qian<sup>2</sup>, HAN Daoxin<sup>1</sup>, YANG Fang<sup>1</sup>, ZHANG Yang<sup>1</sup>(1.Department of Ophthalmology, Nanshi Hospital of Nanyang, Nanyang 473000, China; 2.Department of Ophthalmology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the therapeutic effect and mechanism of quercetin on selenite(Se)-induced cataract model in rats. **METHODS** SD rats aged 11 d were randomly divided into control group, model group, low-dose quercetin group and high-dose quercetin group with 10 rats in each group. On the 15th day after modeling, cataract formation in each group was examined. The lens was separated and the pathological manifestations of lens were observed by HE staining. The contents of soluble and insoluble protein, malondialdehyde(MDA), and the activities of superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) and glutathione reductase(GSH-Rd) in lens were determined by kits' methods. The expression levels of nuclear nuclear factor E2-related factor 2(Nrf-2) and cytoplasmic heme oxygenase 1(HO-1) in lens were detected by Western blotting. **RESULTS** Compared with control group, the morphology of lens in model group was significantly changed, and the score of lens opacification, contents of insoluble protein and MDA were significantly increased( $P<0.01$ ), while the contents of soluble protein, activities of SOD, GSH-Px and GSH-Rd were significantly decreased( $P<0.01$ ); compared with model group, the above conditions in quercetin groups were significantly improved( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), especially in the high-dose group( $P<0.01$ ). Immunofluorescence results showed that compared with the control group, the protein expression levels of Nrf-2 and HO-1 in the lens of model group were significantly increased( $P<0.01$ ) and the protein expression levels of Nrf-2 and HO-1 were further increased after treated with quercetin. Western blotting showed that compared with the model group, the nuclear translocation of Nrf-2 and the protein levels of total Nrf-2 and HO-1 were significantly increased in the quercetin groups( $P<0.01$ ). **CONCLUSION** Quercetin can inhibit the formation of cataract and oxidative stress response induced by Se in rats, and these effects may be related to the enhancement of Nrf-2/HO-1 signal activity.

**KEYWORDS:** quercetin; selenite; cataract; oxidative stress

作者简介: 黄国华, 女, 主治医师 E-mail: huangguohuaws123@126.com

白内障是由衰老、眼外伤、射线和代谢异常等各种因素引起的晶状体混浊,其也是导致失明的首位原因<sup>[1]</sup>。在中国,随着老龄化进程的加快,白内障的发病率也呈急速增加趋势<sup>[2]</sup>。手术干预是目前治疗白内障的主要治疗方法,但与手术相关的并发症也不可避免地会导致继发性白内障或其他相关眼疾甚至可能导致失明<sup>[3]</sup>。因此,寻找非手术治疗策略对白内障患者具有重要意义。

白内障是与氧化应激相关的眼疾,补充抗氧化剂可预防白内障的形成和氧化损伤<sup>[4]</sup>。槲皮苷是蔬菜和水果中常见的黄酮类化合物<sup>[5-6]</sup>,其已被报道具有较强的抗氧化、抗炎、抗血管生成、保护神经和抗凋亡的作用<sup>[7]</sup>。已有文献报道,槲皮苷磷脂复合物可抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的视网膜色素上皮细胞 ARPE-19 的氧化损伤<sup>[8]</sup>。然而,槲皮苷在亚硒酸钠盐(sodium selenite, Se)所致的大鼠白内障中作用及其机制尚不清楚。因此,本研究通过构建 Se 所致的白内障大鼠模型,探究槲皮苷对白内障的治疗作用及其机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 试剂和仪器** Se(Sigma Aldrich 公司,货号: S5261); 槲皮苷(上海源叶生物科技有限公司,货号: B20526); Pierce BCA 蛋白定量试剂盒(Thermo Fisher Scientific 公司,货号: 23227); 丙二醛(malondialdehyde, MDA, 货号: S0131S)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD, 货号: S0103)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px, 货号: S0056)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GSH-Rd, 货号: S0055)检测试剂盒、RIPA 试剂(货号: P0013C)和细胞核蛋白与细胞浆蛋白提取试剂盒(货号: P0028)均购自上海碧云天生物技术有限公司; 核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf-2, 货号: ab31163)和血红素加氧酶 1(heme oxygenase 1, HO-1, 货号: ab68477)抗体均购自 Abcam 公司; Alexa Fluor 555 或 Alexa Fluor 488 山羊抗兔二抗(Cell Signaling Technology 公司,货号分别为 4413, 4412); ECL 发光底物(货号: AR1173)、DAPI 试剂(货号: AR1176)、 $\beta$ -actin 抗体(货号: BM0626)、Lamin B1 抗体(货号: BA1228)和 HRP 标记的羊抗兔或羊抗小鼠 IgG 二抗(货号分别为 BM2006, BA1075)均购自武汉博士德生物工程有限公司。

ELX800 酶标仪(Biotek); Avanti J-15R 离心机

(Beckman Coulter); JY600E+JY-CZ-B Western blotting 电泳系统(北京君意东方电泳设备有限公司); BX51WI-MACRO/FL 激光共聚焦显微镜(Olympus)。

**1.1.2 实验动物** 将无眼疾 SPF 级 11 d 龄 SD 仔鼠连同母鼠[购自河南省实验动物中心,动物生产许可证号: SCXK(豫)2017-0001]一同饲养在 SPF 级动物房(温度 23~25 °C,湿度 50%~60%,昼/夜 12 h 循环)的动物笼中,每个笼子里饲养 10 只仔鼠和 1 只母鼠。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物模型构建与处理** 将 11 d 龄 SD 仔鼠随机分为对照组、模型组、低剂量槲皮苷组和高剂量槲皮苷组,每组 10 只仔鼠。按照文献[9]的方法,模型组、低剂量槲皮苷组和高剂量槲皮苷组仔鼠通过一次性皮下注射 Se(2 mg·kg<sup>-1</sup>)构建白内障大鼠模型;其中低剂量和高剂量槲皮苷组分别于第 1 天 Se 注射前 2 h 和第 2~14 天分别腹腔注射 5 和 15 mg·kg<sup>-1</sup> 槲皮苷。对照组不进行造模,只给予等体积生理盐水注射。

**1.2.2 白内障形成评估** 第 15 天用水合氯醛麻醉仔鼠,用 0.5%的托吡卡胺和 2.5%的盐酸去氧肾上腺素混合滴眼液散瞳,根据文献[10]的方法对白内障的晶状体浑浊程度进行评分。

**1.2.3 晶状体形态分析** 腹腔注射过量戊巴比妥,将仔鼠深度麻醉后脱颈处死,分离晶状体。将晶状体用石蜡包埋后,对晶状体切片(6  $\mu$ m)用 HE 染色,在显微镜下观察。

**1.2.4 可溶性和不溶性蛋白质测定**按照文献[11]的方法,将晶状体在预冷的 PBS 中匀浆,并在 4 °C 下以 12 000  $\times$  g 离心 20 min,上清液用于可溶性蛋白测定;剩余的沉淀重新分散在 NaOH 溶液中并离心,再次获得的上清液用于不溶性蛋白测定。按照试剂盒说明书,用 Pierce BCA 蛋白质测定试剂盒对上述上清液中可溶性蛋白和不溶性蛋白进行含量测定。

**1.2.5 MDA 含量、SOD、GSH-Px 和 GSH-Rd 活性测定** 按照试剂盒说明书,分别对晶状体中 MDA 含量、SOD、GSH-Px 和 GSH-Rd 活性进行测定。

**1.2.6 免疫荧光检测 Nrf-2 和 HO-1 的蛋白表达** 将晶状体石蜡切片(6  $\mu$ m)脱蜡至水和抗原修复后,用 10%BSA 封闭 1 h,然后在 4 °C 下孵育 1:300 稀释的 Nrf-2 和 HO-1 一抗过夜,次日用 PBS 洗涤后,

分别室温避光孵育 Alexa Fluor 555-或 Alexa Fluor 488-山羊抗兔二抗 1 h, PBS 再次洗涤后, 孵育 DAPI 10 min, 最后在激光共聚焦显微镜下观察。

**1.2.7 Western blotting 检测 Nrf-2 和 HO-1 的蛋白表达** 将晶状体分别用 RIPA 试剂以及细胞核蛋白与细胞浆蛋白提取试剂裂解并提取总蛋白、核蛋白和浆蛋白后, 取等量蛋白依次进行电泳、电转和封闭。在 4 °C 下孵育 1 : 1 000 稀释的 Nrf-2 和 HO-1 以及 1 : 5 000 稀释的  $\beta$ -actin 和 Lamin B1 一抗过夜, 次日用 TBST 洗涤后, 分别室温避光孵育 HRP-羊抗兔或羊抗小鼠二抗 1 h, TBST 再次洗涤后, ECL 化学发光显影。以 Lamin B1 为核蛋白内参, 以  $\beta$ -actin 为浆蛋白和总蛋白内参, 使用 Image Lab 软件定量条带蛋白表达的光密度值。

### 1.3 统计学分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析。多组均数的比较采用单因素方差分析, 均数间两两比较采用事后 SNK-q 检验。以  $P < 0.05$  时, 认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 槲皮苷抑制 Se 所致的白内障形成

对照组仔鼠的晶状体均清晰; 模型组仔鼠的晶状体均出现中度至重度白内障, 等级为 4~6 级, 与对照组比较, 模型组的晶状体混浊积分明显增高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 槲皮苷组白内障的严重程度均明显减轻 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 尤其是高剂量槲皮苷组晶状体混浊积分明显降低 ( $P < 0.01$ ), 结果见图 1、表 1。

### 2.2 槲皮苷对 Se 所致的晶状体组织形态改变的影响

对照组晶状体的组织学切片显示正常; 模型的晶状体纤维表现变性、变形、肿胀和破裂现象, 且在晶状体后极附近出现大量空泡。槲皮苷组晶状体病理改变均明显减轻, 其中高剂量槲皮苷组晶状体仅表现出晶状体纤维轻微肿胀, 结果见图 2。

表 3 各组晶状体中 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 和 GSH-Rd 活性的统计结果 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab. 3 Statistical results of the contents of MDA and the activities of SOD, GSH-Px and GSH-Rd in lens in various groups ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白	GSH-Px/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白	GSH-Rd/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白
对照组	0.79 $\pm$ 0.11	85.14 $\pm$ 9.02	7.04 $\pm$ 0.92	0.11 $\pm$ 0.01
模型组	3.02 $\pm$ 0.46 <sup>1)</sup>	53.89 $\pm$ 6.73 <sup>1)</sup>	4.79 $\pm$ 0.46 <sup>1)</sup>	0.03 $\pm$ 0.01 <sup>1)</sup>
低剂量槲皮苷组	2.28 $\pm$ 0.33 <sup>2)</sup>	78.52 $\pm$ 9.78 <sup>3)</sup>	5.24 $\pm$ 0.33 <sup>2)</sup>	0.13 $\pm$ 0.02 <sup>3)</sup>
高剂量槲皮苷组	1.74 $\pm$ 0.25 <sup>3)</sup>	125.39 $\pm$ 16.78 <sup>3)</sup>	6.43 $\pm$ 0.81 <sup>3)</sup>	0.19 $\pm$ 0.02 <sup>3)</sup>

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ 。

表 1 各组仔鼠晶状体混浊积分的统计结果 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab. 1 Statistical results of the scores of lens opacification of the rat pups in various groups ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	晶状体混浊积分
对照组	0.00 $\pm$ 0.00
模型组	4.73 $\pm$ 0.58 <sup>1)</sup>
低剂量槲皮苷组	3.24 $\pm$ 0.73 <sup>2)</sup>
高剂量槲皮苷组	2.04 $\pm$ 0.45 <sup>3)</sup>

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ 。

### 2.3 槲皮苷对 Se 所致的白内障晶状体中可溶和不可溶蛋白含量的影响

与对照组比较, 模型组晶状体中可溶性蛋白水平明显降低 ( $P < 0.01$ ), 不溶性蛋白水平明显增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 槲皮苷组晶状体中可溶性蛋白水平明显增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 不溶性蛋白水平明显降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 其中高剂量槲皮苷组效果尤为显著 ( $P < 0.01$ ), 结果见表 2。

表 2 各组晶状体中可溶和不可溶蛋白含量的统计结果 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab. 2 Statistical results of the contents of soluble and insoluble proteins in lens in various groups ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	可溶蛋白	不可溶蛋白
对照组	375.26 $\pm$ 45.37	51.39 $\pm$ 7.62
模型组	202.24 $\pm$ 29.42 <sup>1)</sup>	162.15 $\pm$ 25.14 <sup>1)</sup>
低剂量槲皮苷组	258.61 $\pm$ 31.04 <sup>2)</sup>	124.38 $\pm$ 28.02 <sup>2)</sup>
高剂量槲皮苷组	285.86 $\pm$ 35.23 <sup>3)</sup>	90.35 $\pm$ 12.56 <sup>3)</sup>

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ 。

### 2.4 槲皮苷对 Se 所致的白内障晶状体中 MDA 含量、SOD、GSH-Px 和 GSH-Rd 活性的影响

与对照组比较, 模型组晶状体中 MDA 含量明显增加 ( $P < 0.01$ ), SOD、GSH-Px 和 GSH-Rd 活性明显降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 槲皮苷组晶状体中 MDA 含量明显降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), SOD、GSH-Px 和 GSH-Rd 活性明显增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 其中高剂量槲皮苷组效果尤为显著 ( $P < 0.01$ ), 结果见表 3。

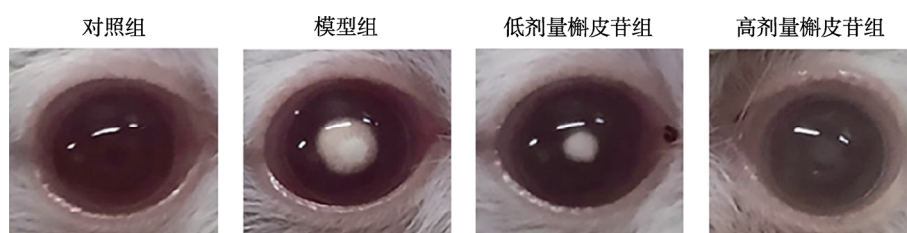


图1 各组眼的代表性照片  
Fig. 1 Representative photographs of eyes in various groups

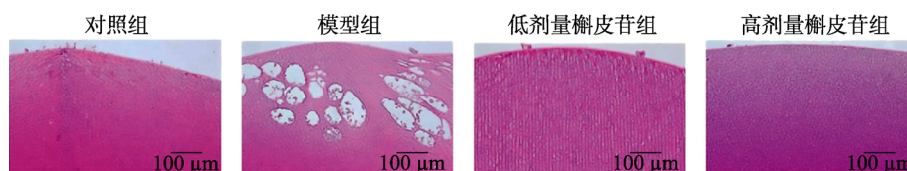


图2 各组晶状体的代表性 HE 染色图(40×)  
Fig. 2 Representative HE staining images of lenses in various groups(40×)

## 2.5 槲皮苷对 Se 所致的白内障晶状体中 Nrf-2 和 HO-1 蛋白表达的影响

免疫荧光显示, 与对照组比较, 模型组晶状体中 Nrf-2 和 HO-1 的蛋白表达水平均明显增加 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 槲皮苷组晶状体 Nrf-2 和 HO-1 的蛋白表达水平均进一步增加 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 其中高剂量槲皮苷组效果尤为显著 ( $P<0.01$ ), 结果见图 3、表 4。Western blotting 结果见图 4、表 5, 与对照组比较, 模型组晶状体中细胞核 Nrf-2、总 Nrf-2 和 HO-1 的相对蛋白表达水平均明显增加 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 细胞浆 Nrf-2 的蛋白表达水平有所降低 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 低、高剂量槲皮苷组晶状体细胞核 Nrf-2、总 Nrf-2 和

HO-1 的蛋白表达水平均进一步增加 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 细胞浆 Nrf-2 的蛋白表达水平有所降低 ( $P<0.05$ )。

表 4 各组晶状体中 Nrf-2 和 HO-1 蛋白表达水平的统计结果 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Tab. 4 Statistical results the expression levels of Nrf-2 and HO-1 proteins in lens in various groups ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	Nrf-2 阳性染色面积	HO-1 阳性染色面积
对照组	7.03±1.12	9.06±2.14
模型组	20.19±4.13 <sup>1)</sup>	31.25±5.08 <sup>1)</sup>
低剂量槲皮苷组	40.29±6.11 <sup>3)</sup>	48.41±7.13 <sup>2)</sup>
高剂量槲皮苷组	56.63±8.18 <sup>3)</sup>	72.56±10.79 <sup>3)</sup>

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ 。  
Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

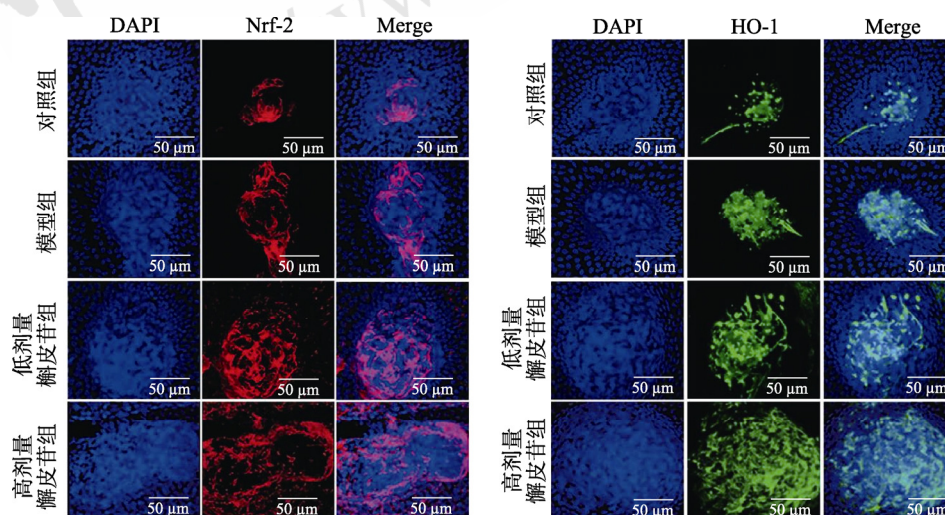


图3 各组晶状体中代表性的 Nrf-2 和 HO-1 免疫荧光染色图(200×)  
Fig. 3 Representative immunofluorescence staining images of Nrf-2 and HO-1 in crystalline lens in various groups(200×)

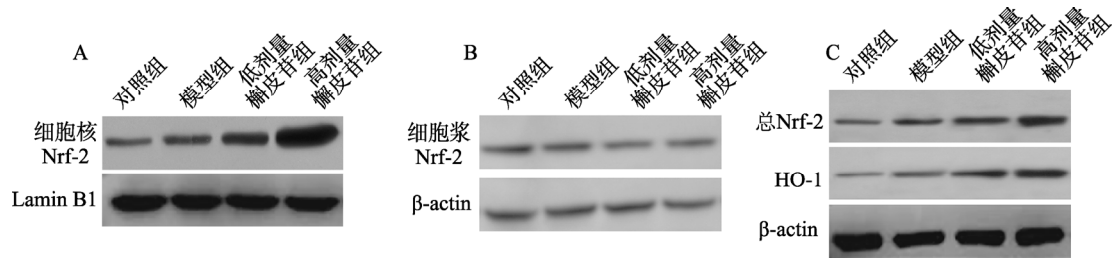


图4 各组晶状体中细胞核 Nrf-2(A)、细胞浆 Nrf-2(B)以及总 Nrf-2 和 HO-1(C)蛋白表达的代表性 Western blotting 条带图  
**Fig. 4** Representative Western blotting images of cell nuclear Nrf-2(A), cell cytoplasmic Nrf-2(B), and total Nrf-2 and HO-1(C) proteins expression in lens in various groups

表5 各组晶状体中细胞核 Nrf-2、细胞浆 Nrf-2 以及总 Nrf-2 和 HO-1 相对表达水平的统计结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

**Tab. 5** Statistical results the relative expression levels of nuclear Nrf-2, cytoplasmic Nrf-2, total Nrf-2, and HO-1 proteins in lens in various groups( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

组别	细胞核 Nrf-2 相对表达量	细胞浆 Nrf-2 相对表达量	总 Nrf-2 相对表达量	HO-1 相对表达量
对照组	1.03±0.12	1.04±0.05	1.02±0.12	1.06±0.14
模型组	1.71±0.23 <sup>2)</sup>	0.91±0.07 <sup>1)</sup>	1.64±0.19 <sup>1)</sup>	1.56±0.17 <sup>1)</sup>
低剂量槲皮苷组	3.29±0.41 <sup>4)</sup>	0.76±0.08 <sup>3)</sup>	3.24±0.43 <sup>4)</sup>	2.26±0.38 <sup>3)</sup>
高剂量槲皮苷组	4.63±0.68 <sup>4)</sup>	0.72±0.11 <sup>3)</sup>	4.43±0.61 <sup>4)</sup>	3.62±0.49 <sup>4)</sup>

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>3)</sup> $P<0.05$ , <sup>4)</sup> $P<0.01$ 。

Note: compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>3)</sup> $P<0.05$ , <sup>4)</sup> $P<0.01$ .

### 3 讨论

新生大鼠对 Se 诱发的白内障与人类老年核性白内障特征相似, 因此, 本研究选用 Se 诱导的大鼠白内障模型来探讨槲皮苷对白内障的治疗作用。Se 诱导的白内障的主要特征包含如囊泡形成、晶状体透明性丧失、不溶性蛋白增多和可溶性蛋白减少等<sup>[9-11]</sup>。本研究结果显示, 槲皮苷能明显改善 Se 诱导的大鼠白内障症状, 包含槲皮苷能降低晶状体混浊积分、增加可溶性蛋白和降低不溶性蛋白含量和改善白内障晶状体组织形态学。这些结果说明, 槲皮苷具有预防和延缓老年核性白内障的潜力。

晶状体是由晶状体囊、晶状体上皮和晶状体纤维组成。晶状体上皮由单层的晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LEC)组成。LEC 可迁移到晶状体的赤道部分, 转变为晶状体纤维。LEC 和晶状体纤维均对氧化应激敏感。一方面, 氧化应激可促进 LEC 迁移并转化为晶状体纤维, 另一方面氧化应激可加速晶状体纤维蛋白集聚, 形成团块, 并随着年龄的增长而丧失透明性, 导致白内障形成<sup>[12-13]</sup>。本研究结果显示, 槲皮苷能抑制 Se 诱导的晶状体中脂质过氧化物 MDA 含量的增加、抗氧化酶 SOD 活性的降低以及 GSH 的消耗, 说明槲皮苷在 Se 诱导的白内障中具有减弱氧化应激反应的作用。

Nrf-2/HO-1 信号通路是细胞主要的抗氧化应激的防御系统之一。在正常或不受压力的晶状体中, Nrf-2 通过与细胞质中的 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 结合而保持失活。在受到氧化刺激时, Nrf-2 从 Keap1 解离, 然后易位到核中, 并与抗氧化剂反应元件(antioxidant response element, ARE)结合而激活<sup>[14]</sup>。Nrf-2 可调节许多抗氧化剂基因(包括 *HO-1*、*SOD* 和 *GSH-Rd*)并增加 GSH 的合成<sup>[15]</sup>。HO-1 具有抗氧化和抗炎作用, 在细胞保护中起着重要作用<sup>[15]</sup>。本研究结果显示, 在白内障大鼠中, 槲皮苷能促进 Nrf-2 的核转位, 且能上调总 Nrf-2 和 HO-1 的表达, 这一结果表明, 槲皮苷在白内障大鼠中具有增强 Nrf-2/HO-1 信号活性的作用。

综上所述, 本研究证实了槲皮苷在 Se 诱导的大鼠白内障形成和氧化应激中发挥抑制作用, 且这一作用与其增强 Nrf-2/HO-1 信号活性相关。本研究结果还提示, 槲皮苷可能是预防或延缓老年核性白内障潜在药物。

### REFERENCES

- [1] LEE C M, AFSHARI N A. The global state of cataract blindness[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2017, 28(1): 98-103.
- [2] CHEN J H, TANG Y T, JIANG Y X, et al. Epidemiologic studies of age-related cataract[J]. *Int Rev Ophthalmol*(国际眼科纵览), 2019, 43(3): 189-193.

- [3] CHEN X H, WU Z D. Comparative analysis of postoperative complications between age-related cataract in patients with and without diabetes[J]. *Chin Gen Pract(中国全科医学)*, 2021, 24(5): 592-596.
- [4] ENGWA G A, ENNWEKEGWA F N, NKEH-CHUNGAG B N. Free radicals, oxidative stress-related diseases and antioxidant supplementation[J]. *Altern Ther Health Med*, 2020: AT6236.
- [5] CHEN Z J, YU H L, MAO J H, et al. Simultaneous determination of six flavonoids in cyclocarya paliurus by UPLC-MS/MS[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2021, 38(2): 201-206.
- [6] GUO H B, DONG F Y, LI W S, et al. Determination of six flavonoids in extract of diospyros kaki thunb.leaves by QAMS[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2021, 38(7): 831-835.
- [7] XU D, HU M J, WANG Y Q, et al. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application[J]. *Molecules*, 2019, 24(6): E1123. Doi: 10.3390/molecules24061123.
- [8] XU X R, YU H T, YANG Y, et al. Quercetin phospholipid complex significantly protects against oxidative injury in ARPE-19 cells associated with activation of Nrf2 pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016(770): 1-8. Doi: 10.1016/j.ejphar.2015.11.050.
- [9] ORHAN H, MAROL S, HEPŞEN I F, et al. Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats[J]. *Toxicology*, 1999, 139(3): 219-232.
- [10] HIRAOKA T, CLARK J I, LI X Y, et al. Effect of selected anti-cataract agents on opacification in the selenite cataract model[J]. *Exp Eye Res*, 1996, 62(1): 11-19.
- [11] KIM J, CHOUNG S Y. *Pinus densiflora* bark extract prevents selenite-induced cataract formation in the lens of Sprague Dawley rat pups[J]. *Mol Vis*, 2017(23): 638-648.
- [12] SONG M S, SIM H J, KANG S, et al. Pharmacological inhibition of Kv3 on oxidative stress-induced cataract progression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 533(4): 1255-1261.
- [13] PETERSEN A, ZETTERBERG M. The immunoproteasome in human lens epithelial cells during oxidative stress[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(11): 5038-5045.
- [14] YANG L L, YANG F, TENG L T, et al. 6-shogaol protects human melanocytes against oxidative stress through activation of the Nrf2-antioxidant response element signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): E3537. Doi: 10.3390/ijms21103537.
- [15] MOHAMMED E T, HASHEM K S, AHMED A E, et al. Ginger extract ameliorates bisphenol A (BPA)-induced disruption in thyroid hormones synthesis and metabolism: Involvement of Nrf-2/HO-1 pathway[J]. *Sci Total Environ*, 2020(703): 134664. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134664.

收稿日期: 2021-05-08

(本文责编: 陈怡心)