

Neu-P11 对急性高眼压兔眼内压的影响

张 瑶¹, 吴 鹏^{2,3}, 尹卫东³, 贺鹏程³, 田期先³, 刘昌汶³, 刘峰涛³, Moshe Laudon⁴, 石金凤^{3*}

(1.常德市第一人民医院检验科,湖南 常德 415000;2.衡阳市妇幼保健院重症医学科;
3.南华大学心血管疾病研究所;4.以色列 Neurim Pharmaceuticals Ltd)

摘要: **目的** 研究吡罗美拉汀(Neu-P11)对急性高眼压兔眼内压的影响。**方法** 采用特伦德伦伯卧位法建立急性高眼压模型兔。建模后将 33 只急性高眼压新西兰大白兔分为局部给药组和全身给药组,给予生理盐水、褪黑素(Mel)和不同剂量的 Neu-P11 处理,局部给药通过眼角膜滴注固定体积(10 μ L)药物进行给药,全身给药通过灌胃固定体积(1 mL)药物进行给药,给药后平卧休息 2 h,然后再次置于卧位 45 min,平卧每小时测量一次眼内压,连续监测 6 h,重复实验一周。**结果** 新西兰大白兔经 Trendelenburg 卧位诱导后,眼内压约升高为正常组的 1.9 倍。局部给药组经 Neu-P11 和 Mel 治疗后眼内压明显降低($P<0.05$),且 Neu-P11 低浓度治疗组比高浓度组效果更佳。全身给药组 Neu-P11 和 Mel 均可明显降低眼内压,且 Neu-P11 对眼压的影响存在剂量依赖性,Neu-P11 浓度越高眼内压下降速度越快。**结论** Neu-P11 和褪黑素均具有降低急性高眼压兔眼内压的作用。

关键词: Neu-P11; 褪黑素; 眼内压

中图分类号: R775 **文献标识码:** A

Effects of Neu-P11 on Intraocular pressure in acute high Intraocular pressure Rabbits

ZHANG Yao, WU Peng, YIN Weidong, et al

(Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Changde, Changde 415000, Hunan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of piromelatine (Neu-P11) on intraocular pressure (IOP) in acute high IOP rabbits. **Methods** The experiment used the Trendelenburg position to establish acute high IOP rabbit model. 33 New Zealand white rabbits with IOP were divided into local treatment group and systemic treatment group. Local or systemic treatment group were treated with saline, melatonin (Mel) and different concentrations of Neu-P11. The fixed volume (10 μ L) was dropped into the cornea in local treatment. The systemic treatment was administered by filling the stomach with drug of fixed volume (1 mL). Rest 2 hours after treatment in the flat supine position, then rabbits were placed in the Trendelenburg position for 45 min. And then, put rabbits in normal position and measured IOP every hour for 6 hours. Repeat the experiment for a week. **Results** IOP could increase about 1.9 times in the Trendelenburg position of New Zealand white rabbit (vs Normal group). Namely acute high IOP model was successfully established. IOP on local treatment with 100/200 μ mol/L Neu-P11 or 100 μ mol/L Mel significantly declined and the effect of 100 μ mol/L Neu-P11 was better than 200 μ mol/L Neu-P11. Similarly, IOP on local treatment with Neu-P11 and Melatonin could also be reduced, and the treatment of Neu-P11 was dose dependent, the higher the concentration of Neu-P11 was, the faster IOP declined. **Conclusions** Neu-P11 and Melatonin could significantly reduce IOP of the acute high intraocular pressure rabbit.

Key words: Neu-P11; Melatonin; Intraocular pressure

收稿日期:2016-08-24;修回日期:2017-08-30

基金项目:湖南省卫生计生委基金(No C2015-19);南华大学“蒸湘学者计划”资助(Xiangyang Tang);南华大学“大学生研究性学习和创新性实验计划”(2017XJYZ051;2017XJXZ037)。

* 通讯作者, E-mail: 759843257@qq.com.

青光眼、白内障和黄斑变性是导致视力丧失的三个常见原因,是全球第二大不可逆转的致盲疾病^[1]。尽管引起青光眼的因素有很多,但眼压升高毫无疑问是最主要的原因^[2]。吲哚类神经内分泌激素褪黑素(Melatonin, Mel),具有抗氧化、抗炎和降低眼内压等广泛的生物学作用,可以作为黄斑变性、青光眼以及心血管疾病的一种辅助治疗药物^[3-4]。然而褪黑素药物化学合成提取相当困难复杂,且有半衰期短、个体差异大等不足。Neu-P11 (Piromelatine, N-(2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-4-oxo-4H-pyran-2-carboxamide),是能够克服以上缺陷的新型褪黑素非选择性受体激动剂,具有抗抑郁、抗氧化和降低正常新西兰大白兔眼内压等的作用^[5-7]。但Neu-P11是否能降低高眼压动物的眼内压目前尚未清楚。

1 材料与方法

1.1 动物和材料 健康新西兰大白兔 33 只(购自南华大学动物部,体重为 2~3 kg),喂以普通饲料,自由饮水与进食(通风,温度 18~25℃,湿度 40%,光照与黑暗时间各 12 h)。Tonopen XL 接触式眼压计购自美国 Reichert 公司,Neu-P11 和褪黑素由以色列 Neurim Pharmaceuticals Ltd 公司提供。

1.2 高眼压模型建立与分组 模型建立采用 Trendelenburg 卧位(头低脚高 80°位置)法,即每天上午固定时间(8:00~9:00 am),动物被置于 Trendelenburg 卧位并监测眼压(测量 20 min 内眼压值,每 5 min 测一次眼压,共测量 4 次,取最大值为高眼压值)^[4]。建模后将 33 只新西兰大白兔分为局部给药组和全身给药组,局部给药通过对眼角膜滴注固定体积(10 μL)药物或生理盐水进行局部滴眼给药治疗,分为正常组,高眼压组,100 μmol/L Mel 组,100 μmol/L Neu-P11 组和 200 μmol/L Neu-P11 组,每组 3 只^[4,8]。全身给药通过口服灌胃固定体积(1 mL)药物进行治疗,分为正常组,高眼压组,10 mg/kg 褪黑素组,10 mg/kg Neu-P11 组,20 mg/kg Neu-P11 组,30 mg/kg Neu-P11 组^[9]。每天建模后分别进行局部和全身给药,给药后休息 2 h 再次置于 Trendelenburg 卧位 45 min,置于平面连续监测 6 h 内眼内压值,每小时测量一次,重复以上实验一周。

1.3 统计分析 统计分析用 SPSS18.0 软件,数据结果采用均数±标准差表示。One-way ANOVA 比

较多组均数, q 检验比较两组均数, $P<0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 Trendelenburg 卧位建立新西兰大白兔高眼压模型 采用 Trendelenburg 卧位建立急性高眼压兔模型,结果如图 1 所示,经 Trendelenburg 卧位诱导后,模型组新西兰大白兔的眼内压约升高为正常组新西兰大白兔的 1.9 倍($P<0.01$),即成功建立新西兰大白兔急性高眼压模型。

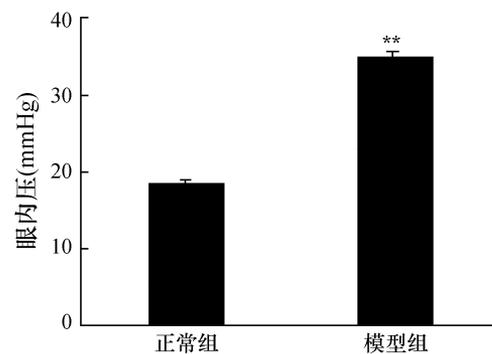


图 1 Trendelenburg 卧位对新西兰大白兔眼内压的影响与正常组比较, ** $P<0.01$

2.2 Neu-P11 局部用药对急性高眼压兔眼内压的影响 建模后分别用 100/200 μmol/L Neu-P11 和 100 μmol/L 褪黑素进行局部滴眼(10 μL)治疗,再次倒立置于平位连续测量 6 h 眼内压值(每小时测量一次),重复处理一周。结果如图 2 所示,与高眼压组相比,Neu-P11 和褪黑素治疗组急性高眼压兔眼内压明显下降($P<0.05$)。

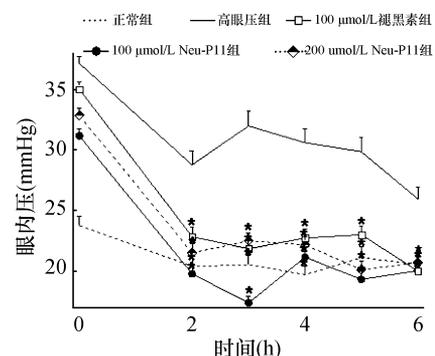


图 2 Neu-P11 局部用药对急性高眼压兔眼内压的影响与高眼压组比较, * $P<0.05$

2.3 Neu-P11 全身给药对急性高眼压兔眼内压的影响 建模后分别选用 10/20/30 mg/kg Neu-P11 和 10 mg/kg 褪黑素对高眼压兔进行灌胃治疗,再次倒立置于平位连续测量 6 h 眼内压值(每小时测量一次),重复实验一周。眼内压均值比较如图 3,与高眼压组相比,Neu-P11 和褪黑素治疗组眼内压值均显著降低($P<0.05$),且随着药物 Neu-P11 的浓度升高,降低眼压的作用越明显。

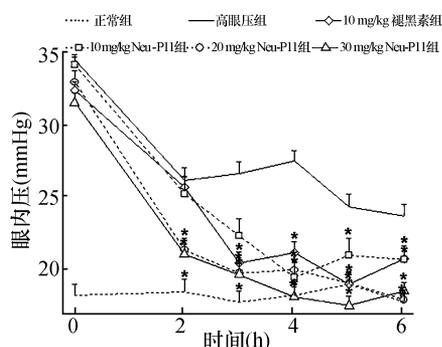


图 3 Neu-P11 全身给药对急性高眼压兔眼内压的影响与高眼压组比较, * $P<0.05$

3 讨 论

青光眼伴随着眼内压慢性升高,是不可逆转的失明的重要原因之一。眼压升高会导致神经节细胞凋亡,是青光眼最主要的危险因素^[10]。眼内压增加与青光眼的发展密切相关,大量研究主要关注降低青光眼眼压治疗。目前高血压模型的建立多采用前房灌注加压法^[11]。但这种建立模型的方法较为复杂,且对眼球的伤害较大。因此,许多研究人员正在努力开发一些新型的动物模型治疗青光眼。Martinez-Aguila^[4]研究显示,仰卧位即 Trendelenburg 卧位(头低脚高 80° 位置)可以构建高眼压模型,能克服以上方法的缺陷。本实验采用 Trendelenburg 卧位(头低脚高 80° 位置)构建高眼压模型,即动物被置于 Trendelenburg 卧位(高眼压状态)并监测眼压,每 5 分钟测一次眼压,取 20 分钟内眼压的最大值^[4]。在急性高眼压兔建模实验中,模型组兔眼内压约为正常组的 189.5% ($P<0.05$),即眼内压升高了约 0.9 倍,提示成功建立急性高眼压兔模型(图 1)。

褪黑素是一类具有调节昼夜节律和强效抗氧化作用的吲哚类神经激素。大量实验研究已经证实眼

组织有褪黑素的存在,尤其是在眼内组织^[5]。褪黑素可以收集来自外界的光信号信息,再将信号传给体内相关组织与器官,以便使它们的功能活动能够适应外界环境的变化^[12]。MT1, MT2 和 MT3 是褪黑素主要的三种受体,MT1 受体的激活可抑制促心血管收缩相关激素分泌,MT2 受体主要与调节昼夜节律,调节视网膜多巴胺的释放相关,MT3 受体参与机体炎症反应和眼内压的调节。相关实验研究表明,褪黑素可以调节眼内压的平衡,其受体 MT2 和 MT3 参与眼内压的调控^[5]。褪黑素受体激动剂与褪黑素有类似功能,如以色列新开发的药物 Neu-P11。以往实验表明,Neu-P11 能够降低兔正常状态下的眼内压^[7]。本实验首次使用 Neu-P11 来降低兔高眼压状态下的眼内压,这为青光眼类疾病的防治提供了新的思路和实验依据。高眼压模型建立成功后,对高眼压实验兔给予为期一周的局部或全身给药 Neu-P11 和褪黑素治疗。结果显示,局部滴眼给药 100/200 $\mu\text{mol/L}$ Neu-P11 和褪黑素(100 $\mu\text{mol/L}$) 治疗后眼内压明显降低,且 100 $\mu\text{mol/L}$ Neu-P11 相较于 200 $\mu\text{mol/L}$ Neu-P11 疗效更佳(与高眼压组相比, $P<0.05$) (图 2)。口服灌胃 10/20/30 mg/kg Neu-P11 和 10 mg/kg 褪黑素治疗与局部滴眼给药结果类似,均可明显降低眼内压,且 Neu-P11 对眼压的影响存在剂量依赖性,Neu-P11 浓度越高,眼内压下降的速度越快(与高眼压组相比, $P<0.05$) (图 3)。上述实验结果表明 Neu-P11 和褪黑素治疗均可降低急性高眼压兔眼内压。

综上所述,Neu-P11 与褪黑素作用相似,可以降低高眼压状态下的眼内压,但还需对其具体机制进行研究。总之,Neu-P11 对青光眼的防治有广阔的发展前景。

参考文献:

- [1] Gui D, Li Y, Chen X, et al. HIF-1 signaling pathway involving iNOS, COX-2 and caspase-9 mediates the neuroprotection provided by erythropoietin in the retina of chronic ocular hypertension rats [J]. Mol Med Rep, 2015, 1(2): 1490-1496.
- [2] Dibas A, Yang MH, He S, et al. Changes in ocular aquaporin-4 (AQP4) expression following retinal injury [J]. Mol Vis, 2008, 14: 1770-1783.
- [3] Sanchez-Barcelo EJ, Mediavilla MD, Tan DX, et al. Clinical uses of melatonin: evaluation of human trials [J]. Curr Med Chem, 2010, 17(19): 2070-2095. (下转第 477 页)

- Pathol, 21: 871-883, 1997.
- [2] Schieda N, Mcinnes M D, Cao L. Diagnostic accuracy of segmental enhancement inversion for diagnosis of renal oncocytoma at biphasic contrast enhanced CT: systematic review [J]. Eur Radiol, 2014, 24(6): 1421-1429.
- [3] Miki Haifler, Laurian Copel, Judith Sandbank, et al. Renal oncocytoma-are there sufficient grounds to consider surveillance following pre-nephrectomy histologic diagnosis [J]. Urologic Oncology: Seminars and Investigations, 2012, 30(4): 362-368.
- [4] 梁华滨, 马云彪, 吕永章. 肾嗜酸细胞腺瘤的 MSCT 的诊断 [J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2014, 12(4): 42-44.
- [5] Peter A. Humphrey. Oncocytoma of the Kidney [J]. The Journal of Urology, 2012, 187(5): 1854-1855.
- [6] 满术千, 张学勇, 李旭丹, 等. 肾脏嗜酸细胞腺瘤影像学分析 [J]. 医学影像学杂志, 2015, 25(2): 289-291.
- [7] 唐朝朋, 易晓明, 魏武, 等. 肾脏嗜酸细胞瘤 35 例诊治报告 [J]. 临床泌尿外科杂志, 2016, 31(6): 62-64.
- [8] Rutkowska J, Bandurska-Stankiewicz E, Kuglarz E, et al. Adrenocortical oncocytoma-a case report [J]. Endokrynol Pol, 2012, 63(4): 308-311.
- [9] 马晓军, 白人驹, 孙浩然, 等. 肾癌常见病理亚型的多层螺旋 CT 表现及诊断 [J]. 天津医科大学学报, 2011, (1): 88-92.
- [10] Ruppert-Kohlmayr AJ, Uggowitzer M, Meissnitzer T, et al. Differentiation of renal clear cell carcinoma and renal papillary carcinoma using quantitative CT enhancement parameters [J]. Am J Roentgenol, 2004, 183(5): 1387-1391.
- [11] 金涵弢, 陈克敏. 肾嫌色细胞癌的影像学诊断 [J]. 放射学实践, 2009, 24(6): 646-650.
- [12] 何为, 刘剑羽. 肾嗜酸细胞瘤与透明细胞瘤的多期螺旋 CT 增强特征对比研究 [J]. 中华放射学杂志, 2011, 45(12): 1203-1206.
- [13] 陈文新, 朱庆强, 孙骏, 等. 肾透明细胞癌与嫌色细胞瘤、嗜酸细胞腺瘤 CT 表现 [J]. 医学影像学杂志, 2014, 24(11): 2037-2041.
- [14] 夏燕娜, 郭华, 谭红娜, 等. 肾脏嫌色细胞瘤的 MSCT 特征与病理对照分析 [J]. 实用放射学杂志, 2014, 30(5): 826-829.
- [15] 郝金刚, 张宏江, 尚芸芸, 等. 肾嫌色细胞瘤 MRI 表现及文献复习 [J]. 实用放射学杂志, 2014, 30(11): 1845-1847.
- [16] 杨海鹏, 吴晓华, 张淑红, 等. 动态增强 CT 扫描对肾嫌色细胞瘤的诊断价值 [J]. 中国医学影像学杂志, 2012, 20(9): 649-652.

(本文编辑: 秦旭平)

(上接第 473 页)

- [4] Martínez guila A, Fonseca B, Bergua A, et al. Melatonin analogue agomelatine reduces rabbit's intraocular pressure in normotensive and hypertensive conditions [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 701(1-3): 213-217.
- [5] He P, Ouyang X, Zhou S, et al. A novel melatonin agonist Neu-P11 facilitates memory performance and improves cognitive impairment in a rat model of Alzheimer's disease [J]. Horm Behav, 2013, 64(1): 1-7.
- [6] Wang PP, She MH, He PP, et al. Piromelatine decreases triglyceride accumulation in insulin resistant 3T3-L1 adipocytes: role of ATGL and HSL [J]. Biochimie, 2013, 95(8): 1650-1654.
- [7] 席守民, 杨五彪, 马灵筠, 等. 褪黑素受体激动剂 Neu-P11 对兔眼组织 AQP1 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(9): 1329-1330.
- [8] 张瑶, 张星慧, 李美香, 等. Neu-P11 对急性高血压大鼠眼压及视网膜组织胶原纤维酸性蛋白表达的影响 [J]. 眼科新进展, 2017, 37(5): 415-418.
- [9] 石金凤, 张星慧, 李美香, 等. Neu-P11 通过抑制氧化应激降低急性高血压大鼠眼内压 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(5): 637-641.
- [10] Yang H, He L, Gardiner SK, et al. Age-related differences in longitudinal structural change by spectral-domain optical coherence tomography in early experimental glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(10): 6409-6420.
- [11] Stockslager MA, Samuels BC, Allingham RR, et al. System for rapid, precise modulation of intraocular pressure, toward minimally-invasive in vivo measurement of intracranial pressure [J]. PLoS One, 2016, 11(1): e0147020.
- [12] He Y, Ge J, Tombran-Tink J. Mitochondrial defects and dysfunction in calcium regulation in glaucomatous trabecular meshwork cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(11): 4912-4922.

(本文编辑: 蒋湘莲)