

小鼠视网膜紫外线光损伤中 MDA 与 SOD 的作用

张文华, 黄雪桃, 唐仁泓

作者单位:(410013) 中国湖南省长沙市, 中南大学湘雅三医院眼科

作者简介: 张文华, 男, 医学硕士, 医师。

通讯作者: 唐仁泓, 男, 医学博士, 主任医师. trh_1@126.com

收稿日期: 2010-04-21 修回日期: 2010-07-05

Effect of MDA and SOD on retinal ultra-violet light damage in mice

Wen-Hua Zhang, Xue-Tao Huang, Ren-Hong Tang

Department of Ophthalmology, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China

Correspondence to: Ren-Hong Tang. Department of Ophthalmology, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China. trh_1@126.com

Received: 2010-04-21 Accepted: 2010-07-05

Abstract

• **AIM:** To approach the effect of the MDA, SOD in the occurrence and development of retinal ultraviolet light damage.

• **METHODS:** Totally 30 Kunming mice were randomly divided into the normal control group and experimental group. The experimental group were divided into the ultraviolet ray illumination 1, 2, 3, 4 weeks groups respectively. All mice were raised in cyclic light environment for 7 days and then kept in darkness for 36 hours before experiment. The experimental group were exposed to $2\ 200 \pm 138$ Lux illuminations of ultraviolet rays for continuously 8 hours every day to establish the model of retinal ultraviolet light damage. The eyes were enucleated after exposed 1, 2, 3, 4 weeks separately the left eyes were examined the SOD activity and the MDA content change of the retinal refining.

• **RESULTS:** There was significant difference of the SOD activity and the MDA content between the control group and the experimental group ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Lipin peroxidation and free radical production have a relationship with the retinal ultra-violet light damage.

• **KEYWORDS:** retinal light damage; ultraviolet ray; MDA; SOD

Zhang WH, Huang XT, Tang RH. Effect of MDA and SOD on retinal ultraviolet light damage in mice. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(8):1490-1492

摘要

目的: 探讨视网膜紫外线光损伤中 MDA 与 SOD 的作用。

方法: 取健康成年昆明小鼠 30 只, 随机分成正常对照组和实验组, 实验组再分为光损伤后 1, 2, 3, 4wk 组, 每组 6 只, 各组小鼠均在 12h 明 ($30 \sim 50$ Lux) 12h 暗环境中饲养 7d, 然后暗适应 36h。正常对照组不予紫外线照射, 实验组小鼠采用 $2\ 200 \pm 138$ Lux 波长为 $300 \sim 400$ nm 的紫外线灯照射, 每日连续光照 8h。在模型制作完成后摘取眼球, 左眼行视网膜匀浆中 SOD 活力与 MDA 含量测定。

结果: 紫外线光照组光照后 SOD 活力、MDA 含量与正常对照组比较差别有统计学意义 ($P < 0.05$)。

结论: 慢性紫外线光损伤与脂质过氧化及自由基的产生有关。

关键词: 视网膜光损伤; 紫外线; MDA; SOD

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.08.012

张文华, 黄雪桃, 唐仁泓. 小鼠视网膜紫外线光损伤中 MDA 与 SOD 的作用. *国际眼科杂志* 2010;10(8):1490-1492

0 引言

视网膜是接受光能、形成视觉的重要组织器官, 但如果光线强度或光照时间等超过了视网膜的承受能力, 将会造成视网膜光损伤。光化学损伤是视网膜光损伤中最普遍的一种损伤, 长期光照能诱发自由基的产生和脂质过氧化物形成, 从而引起和加重各种眼科疾病。MDA 是脂质过氧化的主要产物, SOD 是视网膜组织主要的抗氧化剂。我们探讨 MDA 与 SOD 在视网膜紫外线光损伤中的作用, 以期揭示视网膜光损伤的发病机制, 希望为临床寻找有效的防治方法。

1 材料和方法

1.1 材料 采用清洁健康昆明小鼠(湖南省中医学院实验动物中心提供), 体质量 20 ± 3 g, 3~4 月龄, 雌雄兼用, 共 30 只, 随机分成正常对照组和实验组, 实验组再分为紫外线光照射 1, 2, 3, 4wk 四组, 每组 6 只。北京三源华辉电光源制造有限公司生产的紫外线灯, 光照强度用数字式光度计 (AR813 型) 测量。

1.2 方法 自制光损伤箱: 自制长、宽、高均为 1.0m 的光照箱, 在光照箱的 5 个面 (除底面) 分别装有两个 40W 的紫外线灯, 两只灯管平行排列, 光照箱的底面有 6 个直径为 1cm 的通风孔, 玻璃框放置在光照箱的底面中央, 箱内照度经数字式光度计 (ARCO 香港恒高电子集团) 测定为 $2\ 200 \pm 138$ Lux, 光照射箱的温度在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 为防止小鼠互相挤成一团阻挡光线进入眼球影响光损伤效果, 鼠笼中间再用玻璃板分隔成相等的空间, 一个小空间中只放一只小鼠, 从而使小鼠光照期间被有效分隔开。小鼠处于自由体位, 每次照射后 30min 轮换一次鼠盒位置, 以保证

表 1 小鼠视网膜组织匀浆 MDA 和 SOD 的变化($n=6, \bar{x} \pm s$)

分组	SOD 活力($\mu\text{kat/L}$)	MDA 含量($\mu\text{mol/g}$)
NC	904 \pm 4.34	14.7 \pm 1.3
1wk	736 \pm 2.63	20.0 \pm 1.7
2wk	593 \pm 2.09	29.1 \pm 1.9
3wk	543 \pm 1.66	37.3 \pm 2.6
4wk	568 \pm 2.06	35.5 \pm 2.2

光照射强度一致。所有的实验用小鼠(包括正常对照组)均在 12h 明(30~50Lux)12h 暗环境中饲养 7d, 然后暗适应 36h。正常对照组不予紫外线照射, 实验组小鼠采用 2 200Lux 波长为 300~400nm 的紫外线灯每日连续光照 8h 分别照射 1, 2, 3, 4wk, 每次光照完毕后送回暗环境中饲养, 所有小鼠均可在光照箱中自由活动, 可以自由饮水及进食。视网膜组织匀浆 SOD 活力测定: 参照南京建成生物工程公司 SOD 试剂盒说明书方法测定 SOD 活力表示。视网膜组织匀浆中 MDA 含量测定: 参照南京建成生物工程公司 MDA 试剂盒说明书方法, 测定丙二醛含量。

统计学分析: 采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学处理, 所有计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示各组之间比较采用单因素方差分析, 数据先进行正态性检验和方差齐性检验, 组间两两比较采用最小显著差法(LSD), 方差不齐者采用 Dunnett's 分析, $P < 0.05$ 差异有显著性。

2 结果

NC 与 1wk 组及 2wk 组与 3wk 组 SOD 活力总体均数有差异($P < 0.05$); 2wk 与 4wk 及 3wk 与 4wk 间 SOD 活力无差异($P = 0.876, 0.818$); 其余各组间比较 $P < 0.01$ 。说明视网膜组织在受到紫外线光照射后 SOD 活力逐渐降低, 在 3wk 时达最低, 4wk 时无明显变化, 提示视网膜组织抗氧化能力降低(表 1)。3wk 组与 4wk 组间 MDA 含量无差异($P = 0.112$), 余各组间 $P < 0.01$ 。说明视网膜组织在受到紫外线光照射后 MDA 含量逐渐降低, 在 3wk 时达最高, 4wk 时无明显变化, 提示视网膜组织受到紫外线光照射后脂质过氧化产物增加。

3 讨论

前期的研究表明, 光照时, 感光细胞中视紫红质吸收可见光后可产生一系列活性氧自由基(ROS), 生理状态下, ROS 可被细胞内的保护性的还原酶类清除, 如谷胱甘肽过氧化物酶, 超氧化歧化酶。当 ROS 水平异常增高和 ROS 清除能力降低时, ROS 可使细胞处于氧化应激状态, 造成一系列损伤, 诱发细胞凋亡, 甚至生物膜溶解和细胞坏死。视网膜内外节是体内含长链不饱和脂肪酸最高的组织, 内节含有丰富的线粒体, 具有较高的氧张力, 易受自由基攻击。长期的光照能诱发自由基的产生和脂质过氧化物的形成和堆积, 导致感光细胞凋亡和视网膜变性, 严重者导致视力丧失。视网膜光损伤的发生与活性自由基使视网膜细胞处于氧化应激状态, 造成一系列损伤, 诱发凋亡、生物膜溶解和细胞坏死有关。活性氧是视细胞死亡的介质, 细胞内活跃的氧化还原反应发生在线粒体跨膜转运、核皱缩、DNA 断裂等一系列典型的凋亡变化之前, 在应用抗氧化剂后, 视细胞凋亡明显受到抑制, 在正常生理状态下, 机体内自由基的产生与清除处于动态平衡, 在遭

受外界因素的影响时, 平衡被破坏, 机体受损。视网膜各层均存在清除自由基的天然保护系统, 包括抗氧化酶和自然抗氧化剂, 他们可以通过各种化学反应而终止自由基链反应, 达到清除自由基, 防止组织破坏的目的。视网膜外节主要是盘膜结构, 内含丰富的长链多不饱和脂肪酸, 在受到光的作用后, 易从位于两个双键之间的亚甲基上脱去氢离子, 形成质子自由基, 然后发生双键和为配对电子位置的转移, 形成较稳定的共轭双键, 再与氧反应, 形成质子自由基和质子过氧化物。这些自由基再攻击其他不饱和脂肪酸, 引起连锁反应, 从而使盘膜以及线粒体和内质网膜的脂类受到损害, 氧自由基既可以直接损伤 DNA 而导致细胞凋亡, 也可以攻击蛋白质, 尤其是具有生物活性的蛋白质使之功能丧失, 从而诱导细胞凋亡, 它还可以作用于细胞膜, 诱发脂质过氧化, 从而影响细胞信号转导系统, 激发有关的基因调控, 导致细胞凋亡。正常情况下的色素上皮细胞和视杆、视锥细胞处于一个高张氧环境之中, 而且感光细胞外节盘膜中含有高水平的长链不饱和脂肪酸——二十二碳六烯酸(一种过氧化物很敏感的底物)。

适当频率的光子和氧分子在视网膜外层的结合可促发光动力反应, 产生单线态氧、过氧化氢及氧自由基等一系列自由基, 这些自由基除对蛋白质及核酸造成损伤外, 还能作用于感光细胞-色素上皮复合体的盘膜以及线粒体和内质网膜的多价不饱和脂肪酸, 使其发生过氧化反应, 从而导致感光细胞外段解体、内节线粒体肿胀、变性, 呼吸链生理功能也随之降低。此外, 脂质过氧化物中的醛类化合物也具有细胞毒性。光感受器外段富含多价不饱和脂肪酸, 易受自由基攻击, 内段有丰富的线粒体, 因而具有较高的氧张力。这都有可能使感受器被产生的自由基和脂质的过氧化所损伤。脂质过氧化(LPO)的产物主要是 MDA, 通过测定视网膜内 MDA 的量可以测定视网膜内脂质过氧化的水平。LPO 及其产物 MDA 至少有以下危害: (1)MDA 可与 DNA 分子中的鸟嘌呤等结合影响其功能; (2)MDA 通过酶调控间接影响 DNA 的合成、裂解及转录; (3)LPO 直接破坏膜结构如线粒体细胞膜等, 影响细胞功能; (4)MDA 可直接损伤生物膜, 并可使视网膜的脂类受到不可逆的损伤。视网膜光化学损伤与自由基及脂质过氧化有关。视网膜光化学损伤时自由基浓度增高, 自由基的增加加速脂质过氧化物的产生, 后者可影响细胞膜的功能使细胞内外的离子浓度发生改变, 同时也可造成蛋白质或酶的变性最终导致损失或死亡^[1,2] 在正常生理状态下, 视网膜各层细胞内存在清除自由基的天然保护系统, 包括抗氧化酶和自然抗氧化剂, 它们和机体内的自由基处于动态平衡, 当光损伤时这种平衡受到破坏, 使自由基生成增加, 组织内的自由基清除剂大量耗损。SOD 是体内主要的抗氧化酶, 它在视网膜光损伤过程中起防护作用, 它可以通过歧化反应清除超氧化物阴离子自由基(O_2^-)以减轻组织损害。外源性 SOD 作为一种抗氧化酶对视网膜的保护作用在以往大量实验中已得到证实 SOD 可清除 O_2^- , 其活性高低与体内过氧化物含量密切相关, 紫外线光照射后视网膜组织中 SOD 活力降低而 MDA 含量升高, 说明视网膜组织抗氧化酶 SOD 不足以阻止 MDA 的作用, 过量的 MDA 是导致视网膜光损伤的一个因素, 光照后小鼠视网膜组织确有自由基代谢紊乱, 与以往

的结论一致^[3]。SOD活力降低是细胞抗氧化能力下降的表现之一。紫外线光照射可能一方面破坏细胞内的抗氧化系统,另一方面引起细胞内脂质过氧化反应,使细胞内产生大量的自由基,细胞内氧化与抗氧化系统失去平衡,从而诱发细胞凋亡。有实验观察视网膜光损伤电镜下超微结构的变化^[4],发现细胞外节盘膜层状结构模糊不清或溶解破坏,内节线粒体明显肿胀,空泡变性和嵴消失,这些组织形态学的变化可能是自由基参与的脂质过氧化损伤的结果。MDA可以直接损伤生物膜,并可使视网膜的脂类受到不可逆的损伤,从而使视网膜功能受损。虽然目前对于视网膜光损伤的发病机制仍不清楚,但氧化损伤至少是导致光性视网膜损伤的部分原因。

参考文献

- 1 金祥娜,万青. 视网膜光化学损伤后 MDA、SOD 及 NO 浓度变化的研究. 眼科研究 2005;23(3):301-303
- 2 Bazan NG. Survival signaling in retinal pigment epithelial cells in response to oxidative stress: significance in retinal degenerations. *Adv Exp Med Biol* 2006;572:531-540
- 3 Yilmaz T, Aydemir O, Ozercan IH, et al. Effects of vitamin E, pentoxifylline and aprotinin on light-induced retinal injury. *Ophthalmologica* 2007;221(3):159-166
- 4 Wang X, Hu SX, Li W, et al. Role of Caspase-3 in acute light damage to retina of rats. *Chin Med Sci* 2007;22(1):44-48

· 短篇报道 ·

外伤性前房出血 91 例

刘子彬, 刘海俊, 许凤山

作者单位:(510318)中国广东省广州市,中国人民解放军第421医院眼科

作者简介:刘子彬,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:眼表疾病、翼状胬肉、角膜新生血管。

通讯作者:刘子彬. 275166334@qq.com

收稿日期:2010-05-26 修回日期:2010-06-18

刘子彬,刘海俊,许凤山. 外伤性前房出血 91 例. 国际眼科杂志 2010;10(8):1492

0 引言

外伤致前房出血是眼科常见的眼部外伤疾病。2003-01/2010-02 我院共收治外伤性前房积血患者 91 例,现报道如下。

1 临床资料

本组外伤性前房积血患者 91 例 92 眼,男 64 例,女 27 例,年龄 12~50 岁。受伤至就诊时间 0.5h~3d。病变位于右眼 59 眼,左眼 33 眼;外伤主要为拳击伤和碰撞伤,根据前房积血量分为四级^[1]:I 级(积血量 \leq 1/4 前房)38 眼,II 级(1/4 前房<积血量 \leq 1/2 前房)29 眼,III 级(1/2 前房<积血量 \leq 3/4 前房)18 眼,IV 级(积血量 $>$ 3/4 前房)7 眼;伴外伤性瞳孔散大 21 眼,继发青光眼 5 眼,视力 $<$ 0.3 者 53 眼。前房积血一旦确诊,在排除晶状体脱位、玻璃体积血及眼球破裂等情况下,应根据积血量进行处理。对所有前房积血患者都给予 200mg/L 甘露醇 250mL,1 次/d,iv;强的松 30mg,早晨顿服;消炎痛 25mg,3 次/d,po;止血敏 500mg,2 次/d,im。其中 I 级行半卧位休息不包扎双眼,II 级前房积血治疗同 I 级但需行眼部包扎;对于 III 级、IV 级前房积血者行双眼包扎,取半卧位制动,待积血量减至 II 级以下时打开双眼,并静滴甘露醇 250mL 1 次/d iv 和地塞米松注射液 10mg 1 次/d iv 3~5d。经上述治疗 1wk 后,对积血未吸收或形成血块,或眼压 $>$ 30mmHg 超过 48h 者,行前房穿刺冲洗术。I 级和 II 级前房积血患者经保守治疗 1~5d,积血均吸收。III 级前房积血无再积血及继发性青光眼者治疗 3~7d,积血均吸收。IV 级前房积血患者中,再出血 4 眼治疗 10d 积血吸收,继发性青光眼 5 眼经前房穿刺行尿激酶冲洗和药物治

疗后眼压控制,前房积血块 1wk 以上 5 眼经前房穿刺冲洗 3d 积血吸收。治疗后,患者视力达 0.5 以上者 68 眼,0.3~0.5 者 21 眼,0.3 以下者 3 眼,未出现并发症。

2 讨论

外伤性前房出血较常见,多由于外伤撞击眼球引起球内出血所致,原发性前房积血多发生在受伤当时,这是由于受外力的影响,房角后退,虹膜动脉弓、睫状体动脉分支及睫状体与巩膜静脉间的静脉血管破裂,虹膜睫状体面撕裂所致;继发性前房积血多发生在伤后 2~5d,可能由于纤维蛋白溶解酶的作用,使血管断端的纤维蛋白和血凝块溶解所致。积血吸收首先通过前房角小梁网经 Schlemm 管排出,其次通过吞噬作用及虹膜面吸收。前房积血的处理原则是促进积血尽快吸收,预防和治疗并发症,恢复视功能。因前房积血轻微、无疼痛时多就诊不及时而易延误治疗,或因不恰当治疗,有时可加重前房积血。因此,我们对 II 级以下前房积血尽量不包扎患眼,以免影响积血吸收及病情观察;对 II 级以上前房积血则包扎患眼并制动,采取半卧位,以减少并发症发生。我们发现,出血停止 2d 后不包扎双眼和适当下床活动有利于积血吸收。另外,眼部组织结构较其他部位组织脆弱,对损伤产生的炎症反应强烈等特点,本组对无明显外伤性瞳孔散大者及虹膜根部脱离或有再出血倾向者均给予复方托品酰胺散瞳。散瞳既可收缩血管,使出血停止;又有利于眼休息,防止充血及虹膜后粘连;尤其对在早期散瞳可促进血液吸收,防止血液蓄积在瞳孔区。因外伤性前房积血多由于虹膜和睫状体损伤所致,有明显的炎症反应;故早期应用皮质类固醇能稳定溶酶体膜,抑制受伤细胞产生和释放致炎因子,减轻组织水肿,减少血液及纤维素渗出,巩固甘露醇的脱水作用;并可有效地降低前房再积血,减轻虹膜睫状体炎症反应,促进积血吸收。我们认为,对外伤性前房积血(除 II 级以下者)除及早散瞳外,及时应用甘露醇、皮质类固醇和凝血剂,绝大多数患者可取得较好疗效;对前房积血保守治疗 48h 而眼压仍 $>$ 60mmHg 者或眼压在 50mmHg 持续 5d 不降者,应及时行前房穿刺冲洗术,以减少或避免角膜感染和继发性青光眼发生;此外,应严格掌握手术适应证,对积血持久不吸收,眼压不能控制或继发青光眼的患者,可考虑手术治疗;对于出血量大伴有凝血块并伴高眼压者经治疗 48~72h 无效,可行尿激酶冲洗以促进血块溶解和吸收,挽救其视功能。

参考文献

- 1 葛坚. 眼科学. 北京:人民卫生出版社 2005:417-418