

# 青光眼小梁切除术后晶状体细胞抗氧化酶活性的变化

王建萍, 马 勇, 薛雨顺, 车选义, 张德秀, 朱 涛, 李 静, 石 蕊, 赵桂娥

基金项目: 陕西省科学技术研究发展计划项目(No. 2012K16-11-03)  
作者单位: (710068) 中国陕西省西安市, 陕西省人民医院眼科  
西安交通大学医学院第三临床医院  
作者简介: 王建萍, 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 青光眼。  
通讯作者: 王建萍. wangjianping9810@126.com  
收稿日期: 2013-05-15 修回日期: 2013-07-22

## Changes of enzyme activities in lens after glaucoma trabecular resection

Jian-Ping Wang, Yong Ma, Yu-Shun Xue, Xuan-Yi Che, De-Xiu Zhang, Tao Zhu, Jing Li, Rui Shi, Gui-E Zhao

**Foundation item:** Project of Shaanxi Provincial Science and Technology Research and Development, China (No. 2012K16-11-03)  
Department of Ophthalmology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi Province, China

**Correspondence to:** Jian-Ping Wang, Department of Ophthalmology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi Province, China. wangjianping9810@126.com  
Received: 2013-05-15 Accepted: 2013-07-22

### Abstract

• **AIM:** To observe the change of lens antioxidant enzyme activity after glaucoma trabecular resection.

• **METHODS:** Thirty-two eyes of sixteen New-Zealand rabbits (2.2-2.4kg) were divided into two groups. The left eyes of rabbits underwent standard glaucoma trabecular resection were treatment group, and the normal right eyes served as controls. Transparency of lenses was monitored by a slit-lamp biomicroscopy before and after glaucoma trabecular resection. The morphology of lens cells was observed under the light microscope. The activities of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ , catalase (CAT), glutathion peroxidase (GSH-px), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD) and content of malondialdehyde (MDA) in lenses were detected six months after trabecular resection.

• **RESULTS:** Lenses were clear in both treatment group and normal control group during the six months after operation. The morphology and structure of lens cells were normal under the light microscope in both operation group and normal group. The activity of lens cells antioxidant enzyme activity were significantly decreased in operation group compared with control group,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  declined by 20.97%, CAT declined by 16.36%, SOD declined by 4.46%, GR declined by 4.85%, GSH-px declined by 10.02%, and MDA increased by 16.31%.

• **CONCLUSION:** Glaucoma trabecular resection can

induce the change of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ , CAT, GSH-px, GR, SOD and MDA in lens of rabbit. Glaucoma filtration surgery for the occurrence of cataract development mechanism has important guiding significance.

• **KEYWORDS:** glaucoma trabecular resection; lens;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ; catalase; glutathion peroxidase; glutathione-reductase; superoxide dismutase; malondialdehyde

**Citation:** Wang JP, Ma Y, Xue YS, et al. Changes of enzyme activities in lens after glaucoma trabecular resection. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(8):1540-1542

### 摘要

**目的:** 观察青光眼小梁切除术后晶状体细胞抗氧化酶活性的变化, 探讨青光眼术后白内障的发病机制。

**方法:** 新西兰白兔 16 只 32 眼, 左眼行小梁切除术为治疗组, 右眼未手术作为正常对照组。术后定期观察晶状体混浊情况, 6mo 后取出晶状体行  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性以及脂质过氧化反应终产物丙二醛 (MDA) 的含量检测。

**结果:** 6mo 后, 治疗组晶状体在透明度和组织形态学上与正常对照组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 治疗组与正常对照组相比, 晶状体  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶、CAT、SOD、GR、GSH-Px 活性分别下降了 20.97%、16.36%、4.46%、4.85% 和 10.02%, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 与正常对照组相比, 治疗组的 MDA 含量升高了 16.31%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论:** 小梁切除术可使成年兔晶状体发生生物化学改变, 对研究青光眼滤过术后白内障的发生发展机制有重要的指导意义。

**关键词:** 青光眼小梁切除术; 晶状体;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶; 过氧化氢酶; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽还原酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 丙二醛

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.08.07

**引用:** 王建萍, 马勇, 薛雨顺, 等. 青光眼小梁切除术后晶状体细胞抗氧化酶活性的变化. 国际眼科杂志 2013;13(8):1540-1542

### 0 引言

小梁切除术是治疗青光眼的经典术式, 广泛应用于临床。1970 年 Sugar<sup>[1]</sup> 首先报道了青光眼滤过术后白内障的发生率增高, 此后相关文献陆续增多<sup>[2-5]</sup>。在晚期青光眼干预研究的开角型青光眼患者中, 小梁切除术使白内障形成的风险增加了 78%, 并且单纯的小梁切除术比单纯的激光小梁成形术更易诱发白内障<sup>[5]</sup>。因此在小梁切除术后, 患者需要再行白内障摘除术以期改善视力<sup>[6]</sup>。且青光眼滤过术后白内障存在一定手术难度, 滤过术后的眼前

节改变,如滤过泡、浅前房、瞳孔变形僵硬、角膜内皮及晶状体悬韧带损伤、晶状体核硬化等常使白内障手术难度增加,影响手术效果<sup>[7]</sup>。因此其发生机制和有效的防治策略受到了眼科专家的重视。本研究通过对维持晶状体透明性有重要作用的酶活性的观察,探讨青光眼小梁切除术后白内障发生和发展的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

6月龄健康新西兰大白兔16只(西安交通大学医学院实验动物中心提供),雌雄不限,体质量2.2~2.4kg,全身及眼部检查均正常。考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒、超微量 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶测试盒、过氧化氢酶(catalase, CAT)测定试剂盒(可见光法)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GSH-Px)检测试剂盒、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)测定试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒、微量丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。Elisa试剂盒(RD公司);手术显微镜(苏州六六公司);裂隙灯照相显微镜(苏州六六公司);紫外可见分光光度计(DU640,美国Backman公司)。实验动物的使用符合国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 兔眼小梁切除术

术前1d给予3g/L氧氟沙星滴眼液点左眼,6次/d,双氯芬酸钠滴眼液点左眼,4次/d。用10g/L复方托吡卡胺滴眼液充分散大每只兔双眼瞳孔, BQ900裂隙灯观察并记录、照相。术前8h禁食、禁水。0.1mL/kg陆眠宁II先行兔子耳缘静脉注射,5min后行30g/L戊巴比妥钠30mg/kg耳缘静脉注射,麻醉后将兔子固定于手术台上,眼周碘伏消毒,新鲜配制的0.05g/L碘伏消毒液冲洗左眼结膜囊。手术铺巾,仅暴露左眼。沿上方角膜缘做以穹隆部为基底的结膜瓣,做2.5mm×2.5mm巩膜瓣,1/2巩膜厚度,在颞侧角膜缘行前房穿刺,在深层巩膜床的近角巩膜处做1.5mm×2.0mm的小梁切除区,用虹膜镊抓住虹膜根部,完成虹膜根切,瞳孔恢复正圆。用10-0缝线固定巩膜瓣的两个游离角,从颞侧穿刺口注入平衡盐液,观察前房形成,若巩膜瓣处湿润,可缝合结膜筋膜瓣。手术严格无菌操作,术中注意避免手术器械碰伤晶状体,术毕结膜下注射地塞米松注射液2mg,涂妥布霉素地塞米松眼膏(美国Alcon公司)。

#### 1.2.2 晶状体形态学观察

术后复方硫酸新霉素滴眼液(山东博士伦福瑞达制药有限公司)点左眼,6次/d,双氯芬酸钠滴眼液点左眼,4次/d,持续7d。术后定期用10g/L复方托吡卡胺滴眼液点双眼散大瞳孔, BQ900裂隙灯观察兔晶状体,裂隙宽度0.2mm,光带射入角度为35°,放大倍数为6倍,使用BQ900裂隙灯自带数码相机照相。

#### 1.2.3 晶状体组织病理学检测

小梁切除术后6mo,耳缘静脉空气栓塞处死16只兔,取其眼球,剔除肌肉、筋膜等组织,由后极部视神经孔处剪开巩膜,取出晶状体,每组将2枚晶状体放入甲醛固定液中固定24h,横断面切开,石蜡包埋,常规苏木精-伊红染色,树胶封片,光学显微镜下观察细胞形态、大小及细胞核染色情况并照相。

#### 1.2.4 测定 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶, CAT, SOD, GR, GSH-Px的活性及MDA的含量

每组取7枚晶状体,以1:9生理盐水在0℃冰水中研磨10min,制成10%组织匀浆。3000r/min

离心10min,取上清液行 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶, CAT, SOD, GR, GSH-Px活性测定并MDA含量检测,实验中严格按试剂盒说明的实验步骤进行操作。

统计学分析:所有数据均经SPSS 15.0统计学软件进行处理。晶状体中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶, CAT, SOD, GR, GSH-Px, MDA含量的测定数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对照组与手术组间各检测指标的比较采用配对t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 晶状体形态学和组织病理学观察

术后1mo内每周采用裂隙灯依次观察兔晶状体皮质、核及后囊,治疗组和对照组晶状体密度均匀一致,均保持透明,1mo后改为每月观察晶状体混浊变化。术后1~6mo治疗组晶状体与对照组晶状体均保持透明。6mo后苏木精-伊红染色见治疗组及对照组晶状体纤维细胞均排列整齐紧密,层次分明,大小均匀一致,核蓝染,胞浆红染。

### 2.2 晶状体相关酶活性检测

兔眼小梁切除术后6mo,治疗组晶状体的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性较正常对照组活性下降20.97%;治疗组晶状体的CAT活性较正常对照组活性下降16.36%;治疗组晶状体的SOD活性较正常对照组活性下降4.46%;治疗组晶状体的GR活性较正常对照组活性下降4.85%;治疗组晶状体的GSH-Px活性较正常对照组活性下降10.02%;治疗组晶状体的MDA含量较正常对照组含量增加16.31%(表1)。

## 3 讨论

小梁切除手术后白内障发展速度较快,主要发生机制为:(1)房水流向及成分的改变使晶状体营养代谢发生变化;(2)前、后房氧分压梯度改变,增加了晶状体氧暴露的时间;手术中对晶状体及悬韧带的机械性损伤;(3)术后眼前段的炎症;(4)术后浅前房;(5)持续性低眼压;(6)患者年龄以及内科疾病等。目前多数学者认为:晶状体混浊是一系列复杂过程的最后阶段,其中氧化损伤是白内障形成的最初因素<sup>[8]</sup>。

正常状态下晶状体抗氧化的重要防御屏障之一是抗氧化酶系统,其中主要的抗氧化酶是GSH-Px, GR, SOD和CAT,可清除体内产生的自由基,保护晶状体免遭氧化损伤。据报道,白内障患者晶状体中抗氧化酶的活性明显下降,且随白内障的发展进一步降低<sup>[9]</sup>。本研究通过检测小梁切除术后晶状体抗氧化酶的活性及氧化终产物的含量,来揭示晶状体氧化损伤的生物化学改变。结果显示尽管术后6mo裂隙灯显微镜下晶状体透明度无明显变化,病理组织检测未见明显异常,但与维持晶状体透明度相关的抗氧化酶发生了量的变化,治疗组与正常组对比,维持晶状体透明性的GSH-Px, GR, SOD和CAT活性普遍下降,MDA含量增加,显示晶状体清除自由基的能力下降。

SOD是晶状体内重要的抗氧化酶,是体内抗氧化反应的第一道防线,能清除氧化还原反应的第一个产物 $\text{O}_2^-$ ,当晶状体SOD活性下降时,无法及时清除活性氧自由基,造成其对晶状体的攻击,导致白内障的发生<sup>[10]</sup>。本研究中,治疗组晶状体SOD含量较对照组下降了4.46%,反应小梁切除术后晶状体的抗氧化能力在下降。

谷胱甘肽氧化还原循环是组织抗氧化损伤的重要内源性防御机制。小梁切除术后6mo,治疗组晶状体GR和GSH-Px活性较对照组分别下降了4.85%和10.02%,表明

表1 青光眼小梁切除术对兔眼晶状体相关活酶活性的影响

组别	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATP 酶活性 (U/g)	CAT 的活性 (U/mg)	SOD 的活性 (U/mg)	GR 的活性 (U/g)	GSH-P <sub>x</sub> 的活性 (U/mg)	MDA 的含量 (nmol/mg)	$\bar{x} \pm s$
治疗组	4.13±0.34	0.47±0.12	0.57±0.03	0.69±0.08	7.02±0.37	0.052±0.0028	
正常对照组	5.22±0.55	0.59±0.14	0.60±0.02	0.73±0.07	7.80±0.36	0.046±0.0026	
t	3.27	3.48	3.67	2.85	4.825	2.79	
P	0.007	0.005	0.004	0.016	0.001	0.014	

小梁切除术后晶状体周围微环境的改变破坏了晶状体谷胱甘肽氧化还原循环,引起GR活性的降低。

CAT 又称触媒,是一类以铁卟啉为辅基的结合酶,定位于线粒体,有极强的还原作用。在0℃条件下,每分子CAT 每秒钟至少可以分解42 000分子的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。CAT 与产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的需氧脱氢酶(氨基酸氧化酶等)同时存在,能及时有效清除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的有害影响。如H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生过多,CAT 不足,则可对组织造成损害。本研究中治疗组CAT 活性较对照组下降了16.36%,由此可见CAT 活性的降低会打破晶状体的正常氧化代谢循环,导致晶状体的损伤。

晶状体上皮及纤维均有Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶的表达,其在上皮中的活性高于纤维中。大量的研究表明上皮中Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶介导的离子转运对调节整个晶状体的离子分布具有重要的意义。钠离子平衡对维持晶状体透明性具有至关重要的作用,而Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶是调节细胞内外离子平衡的关键酶<sup>[11]</sup>。氧化损伤可以损伤细胞膜的通透性,引起Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性降低<sup>[12]</sup>。本研究显示,小梁切除术后兔晶状体Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性明显降低,较对照组下降了20.97%,说明手术源性氧化损伤对晶状体酶活性的影响。

丙二醛(MDA)是脂质过氧化反应的重要产物,通过对晶状体内MDA 含量的测定,可估价其脂质过氧化的程度。Babizhaycal 报道,人白内障晶状体中的MDA 含量比同年龄组正常晶状体高20%~30%<sup>[13]</sup>。本研究中MDA 含量测定结果显示,治疗组较对照组增加16.31%,显示小梁切除术可使晶状体自由基的清除障碍,从而导致晶状体MDA 的增加,进一步表明氧化损伤是小梁切除术后晶状体酶活性降低的主要原因。揭示了小梁切除术后晶状体氧化受损的较早期改变。

晶状体和角膜的代谢建立了眼前段的氧分压梯度,从角膜至晶状体表面氧分压呈递减状态<sup>[14]</sup>。正常人晶状体蛋白质处于相对低氧状态,这是保持晶状体透明的重要因素<sup>[15]</sup>。玻璃体切割术、青光眼手术、白内障手术均可增加晶状体或人工晶状体周围氧分压<sup>[14]</sup>。小梁切除术破坏了虹膜的完整性,开辟了房水新的引流路径,改变了眼前段的氧分压梯度,使晶状体持续暴露于相对高氧的环境中。现代复合式小梁切除术中,眼内灌注液的推注是不可避免的,由于灌注液在生产和使用当中与空气饱和,其氧分压相对很高,所以灌注液与房水的置换,可改变晶状体的微

环境,引起晶状体内氧分压的升高。持续的氧化损伤与晶状体抗氧化酶活性的降低存在一定关联,这将影响晶状体的代谢,导致晶状体透明度的下降和白内障的形成。

本实验通过检测小梁切除术后晶状体酶活性的变化,说明非直接损伤的晶状体抗氧化酶活性降低和脂质过氧化产物的增加是术后白内障形成的较早期改变。

参考文献

- 1 Sugar HS. Postoperative cataract in successfully filtering glaucomatous eyes. *Am J Ophthalmol* 1970;69(5):740-746
- 2 Costa VP, Smith M, Spaeth GL. Loss of visual acuity after trabeculectomy. *Ophthalmology* 1993;100(5):599-612
- 3 Vesti E. Development of cataract after trabeculectomy. *Acta Ophthalmologica* 1993;71(6):777-781
- 4 The AIGS Investigators. The advanced glaucoma intervention study: risk of cataract formation after trabeculectomy. *Arch Ophthalmol* 2001;119(12):1771-1779
- 5 Lazaro C, Benitez - del - Castillo JM, Castillo A, et al. Lens fluorophotometry after trabeculectomy in primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 2002;109(1):76-79
- 6 王梅,方敏,卓业鸿.原发性闭角型青光眼小梁切除术后再行白内障超声乳化术的疗效观察. *中山大学学报(医学科学版)* 2010;36(6):740-743
- 7 姚克.复杂病例的白内障手术学.北京:科学技术出版社2004:89-93
- 8 李凤鸣.眼科全书.中册.第1版.北京:人民卫生出版社1996:1554-1564
- 9 Fecondo JV. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the human cataractous lens. *Exp Eye Res* 1983;36(1):15-24
- 10 温任杰,赵梅生,张铭,等.外伤性白内障眼内SOD 与LPO 研究. *眼科研究* 1994;12(1):20-22
- 11 Paterson CA, Delamere NA. ATPases and lens balance. *Exp Eye Res* 2004;78(3):699-703
- 12 Huang WH, Wang Y, Askari A. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase: inactivation and degradation induced by oxygen radicals. *Int J Biochem* 1992;24(4):B621-626
- 13 Fecondo JV, Augusteyn RC. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the human cataractous lens. *Exp Eye Res* 1983;36(1):15-23
- 14 Siegfried CJ, Shui YB, Holekamp NM, et al. Oxygen distribution in the human eye: relevance to the etiology of open-angle glaucoma after vitrectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(11):5731-5738
- 15 Shui YB, Beebe DC. Age-dependent control of lens growth by hypoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(3):1023-1029