

# 兔眼玻璃体切除联合非膨胀浓度 $C_3F_8$ 填充术后晶状体上皮细胞凋亡的研究

张 婷,何丽文,贾松柏,唐罗生

作者单位:(510060)中国广东省广州市,中山大学中山眼科中心  
作者简介:张婷,住院医师,研究方向:白内障、眼底病。  
通讯作者:张婷. zhangting19801114@sina.com  
收稿日期:2010-07-09 修回日期:2010-09-10

## Detection of lens epithelial cells apoptosis of rabbit lens after the operation of vitrectomy with nonexpansile perfluoropropane gas

Ting Zhang, Li-Wen He, Song-Bo Jia, Luo-Sheng Tang

Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China

Correspondence to: Ting Zhang. Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China. zhangting19801114@sina.com

Received:2010-07-09 Accepted: 2010-09-10

### Abstract

• AIM: To study the relativity between lens epithelial cells (LECs) apoptosis rate and perfluoropropane gas after the operation of vitrectomy with nonexpansile perfluoropropane gas.

• METHODS: Totally 50 new zealand health rabbits (100 eyes) were assigned randomly to three groups: the A group rabbits was normal group; the B group were control group, performed the operation of simple vitrectomy with BSS; the C group eyes were experimental group, performed the operation of vitrectomy with nonexpansile perfluoropropane gas. The intraocular pressures were measured with Schiottz indentation tonometer, and the lens shape were observed with slit lamp microscope on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup>, 35<sup>th</sup>, 45<sup>th</sup> day after operation. The apoptosis rate of lens epithelial cell was detected under light microscope after the treatment of TUNEL method.

• RESULTS: There was significant difference ( $P < 0.05$ ) on apoptosis rate of LECs between experimental group and the control group, normal group on the 35<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> day after operation; The apoptosis rate of LECs on the 35<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> day after operation is  $1.81 \pm 0.91\%$ ,  $3.20 \pm 1.25\%$ , and there was significant difference ( $P < 0.05$ ) between them.

• CONCLUSION: The perfluoropropane gas was one of the main reasons of the early cataract after the operation of vitrectomy with nonexpansile perfluoropropane gas.

LECs apoptosis can be induced by  $C_3F_8$ , and apoptosis rate of LECs was gradually increased as the after-operation time prolonged.

• KEYWORDS: vitrectomy; perfluoropropane gas; cataract; cell apoptosis

Zhang T, He LW, Jia SB, *et al.* Detection of lens epithelial cells apoptosis of rabbit lens after the operation of vitrectomy with nonexpansile perfluoropropane gas. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(10):1866-1868

### 摘要

目的:探讨兔眼玻璃体切除联合非膨胀浓度  $C_3F_8$  填充术后晶状体上皮细胞(LEC)凋亡与  $C_3F_8$  的相关性。

方法:将 50 只兔 100 眼随机分为 A、B、C 3 个组, A 组为正常组, B、C 组分别行单纯玻璃体切除 BSS 液填充术、玻璃体切除联合非膨胀浓度  $C_3F_8$  填充术。术后 1、3、8、35、45d 对 3 个组进行裂隙灯显微镜观察、眼压测量及 LEC 凋亡率的检测。

结果:实验组术后 35、45d LEC 凋亡率分别与正常组、对照组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 实验组术后 35、45d LEC 凋亡率分别为  $1.81 \pm 0.91\%$ ,  $3.20 \pm 1.25\%$ , 两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

结论: $C_3F_8$  是引起玻璃体切除联合非膨胀浓度  $C_3F_8$  填充术后早期一过性白内障发生的主要原因之一。 $C_3F_8$  可导致 LEC 凋亡,且随术后时间的延长, LEC 凋亡率升高。

关键词:玻璃体切除术;全氟丙烷;白内障;细胞凋亡

OI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.010.008

张婷,何丽文,贾松柏,等.兔眼玻璃体切除联合非膨胀浓度  $C_3F_8$  填充术后晶状体上皮细胞凋亡的研究.国际眼科杂志 2010;10(10):1866-1468

### 0 引言

玻璃体切除联合  $C_3F_8$  气体填充术是治疗玻璃体视网膜疾病的常用手术方法之一,挽救了严重玻璃体视网膜疾病患者的视力。但是随着玻璃体切除联合惰性气体填充术的应用范围不断扩大,人们开始发现白内障是该术后最常见的并发症之一,也是影响视力预后的主要因素之一<sup>[1,2]</sup>。Li 等<sup>[3]</sup>研究认为,晶状体上皮细胞凋亡是除先天性白内障以外的所有类型白内障形成的细胞学基础,氧化损伤则是晶状体上皮细胞凋亡的重要诱发因素。我们通过建立玻璃体切除联合非膨胀浓度  $C_3F_8$  气体填充术的动物模型,通过末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)检测晶状体上皮细胞凋亡率,探讨晶状体上皮细胞凋亡与白内障形成的关系,为此种白内障的预防和治疗提供新的思路。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康成年新西兰白兔 50 只 100 眼,雌雄不限, 体重 2.1 ~ 2.5kg, 由中南大学湘雅附属第二医院提供。散瞳后裂隙灯检查均为健康眼。主要试剂和仪器: BSS 液(上海百特医疗用品有限公司生产);  $C_3F_8$  气体(美国 Solkatronic 公司生产); 细胞凋亡检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司生产); YZ20P 型眼科手术显微镜(苏州医疗器械厂生产); 眼科显微手术器械(苏州医疗器械厂生产); Storz 玻璃体切除器(美国生产); Olympus PM-10AK 光学显微镜(奥林巴斯光学公司生产)。

### 1.2 方法

**1.2.1 建立动物模型** 术前 5g/L 托吡卡胺及 50g/L 新福林滴眼液交替滴眼散瞳。实验动物用 30g/L 戊巴比妥钠注射液(1mL/kg) 静脉麻醉, 10g/L 丁卡因表面麻醉, 由同一术者在眼科手术显微镜下于扁平部行双眼标准方位的玻璃体切除术。玻璃体切除术结束后右眼直接关闭各个穿刺口; 左眼在凹镜帮助下行气液交换(25mmHg) 后关闭各个穿刺口, 并从颞侧角巩膜缘后 2.5 ~ 3.0mm 穿刺, 用进口 27G 1/2 穿刺针注入 15% ~ 20% 的  $C_3F_8$  约 0.4 ~ 0.6mL。

#### 1.2.2 眼前节的常规检查

**1.2.2.1 裂隙灯显微镜检查** 术后前 10d 每天观察一次, 10d 后 1 次/wk 直至气体完全消失后 7 ~ 10d。观察: (1) 气体残余量; (2) 气体与晶状体接触的关系; (3) 晶状体的混浊程度, 形态。术后晶状体混浊程度的判定以“晶状体混浊程度分级系统 III (LOCS III)” 为标准。

**1.2.2.2 眼压测量** 术后 1, 3, 8, 35, 45d 用 Schiotz 眼压计检测眼内压。

**1.2.3 TUNEL 染色** 取 3 组术后 1, 3, 8, 35, 45d 晶状体前囊铺片行 TUNEL 染色。从标记溶液中取出 50 $\mu$ L 作为阴性对照。常规脱水, 透明, 封片。光学显微镜下观察、计数凋亡率并照相。

统计学分析: 采用统计学软件 SPSS 13.0。采用 Kruskal-Wallis H, Nemenyi 法对各组不同时期 LEC 凋亡率进行检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组不同时期晶状体形态改变的结果** 正常组的晶状体透明。对照组术后 1, 3, 8, 35, 45d 的晶状体均未见明显混浊。实验组术后 1d 晶状体后囊下皮质开始出现不同程度的局部混浊, 呈灰白色蜂窝样或点状; 术后 3d 混浊最为明显, 整个后囊下皮质呈灰白色线性混浊; 术后 8d 气体已开始吸收, 晶状体后囊下皮质未与气体接触的部分混浊明显减轻或消失, 而与气体接触的部分仍有明显的混浊; 术后 35d 大部分晶状体混浊基本消失, 只有个别仍有局部轻微混浊; 术后 45d 的情况基本同术后 35d。

**2.2 各组不同时期眼压的比较** 用 Schiotz 眼压计分别测量正常组以及对照组、实验组术后 1, 3, 8, 35, 45d 的眼压, 用完全随机设计的方差分析, 结果显示: 三组术后各时间眼压比较差异无统计学意义。用 LSD-*t* 检验, 结果显示: 正常组、对照组及实验组各时间组间差异无统计学意义, 正常组、对照组与实验组组间差异也无统计学意义。

**2.3 各组不同时期 LEC 凋亡率与比较** 正常组、对照组、

表 1 各组不同时期 LEC 凋亡率 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

术后时间(d)	正常组	对照组	实验组
1	0.23 $\pm$ 0.27	0.30 $\pm$ 0.39	0.51 $\pm$ 0.41
3	0.21 $\pm$ 0.26	0.28 $\pm$ 0.22	0.74 $\pm$ 0.48
8	0.25 $\pm$ 0.38	0.23 $\pm$ 0.33	0.98 $\pm$ 0.53
35	0.12 $\pm$ 0.18	0.27 $\pm$ 0.30	1.81 $\pm$ 0.91
45	0.16 $\pm$ 0.28	0.31 $\pm$ 0.44	3.20 $\pm$ 1.25

实验组不同时期 LEC 凋亡率(表 1): 实验组术后 1, 3, 8, 35, 45d LEC 凋亡率随时间延长逐渐升高, 而正常组及对照组未见明显变化。用 Kruskal-Wallis H 检验分析 3 组数据, 结果显示: 三组 LEC 凋亡率术后 35, 45d 比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 术后 1, 3, 8d 差异无统计学意义。用 Nemenyi 法进行两两比较显示: 实验组术后 35, 45d LEC 凋亡率分别与正常组、对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 术后 1, 3, 8d 与正常组、对照组比较差异无统计学意义。正常组与对照组术后不同时期比较差异无统计学意义。实验组术后 35, 45d LEC 凋亡率分别为 1.81  $\pm$  0.91%, 3.20  $\pm$  1.25%, 两者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

国内外一些学者通过临床观察发现<sup>[4-6]</sup>, 曾行玻璃体腔气体填充的患者核性白内障与后囊下性白内障的发生时间、速度及加重的程度, 均要高于正常年龄组与单纯玻璃体切除的患者。有部分学者提出推测<sup>[4, 5]</sup>, 认为这种情况的发生与气体填充时对晶状体造成的影响有关, 这种影响可能来源于两方面: (1) 气体与晶状体后囊接触时影响晶状体的物质代谢。(2) 可能是气体膨胀, 眼内压增高对晶状体造成的影响。

本实验为排除气体膨胀这一影响因素, 我们选择了非膨胀浓度(15% ~ 20%) 的  $C_3F_8$  气体填充, 从而避免眼压增高对晶状体的影响。并根据气体的动力学改变特点选择了术后 1, 3, 8, 35, 45d, 也就是术后气体膨胀初期、气体体积膨胀最大、气体吸收一半、气体消失以及气体消失后 10d 左右的几个时间点作为观察时间, 重点观察在没有眼压影响的情况下  $C_3F_8$  对晶状体的影响。

细胞凋亡 (apoptosis) 又名程序性细胞死亡 (programmed cell death, PCD), 是指有核细胞在生理或某些病理因子的刺激下, 通过启动其自身内部机制而发生的细胞自然死亡的过程, 具有明显的程序机制。TUNEL 是检测细胞凋亡的常用方法之一。我们的研究结果显示: 实验组术后 35, 45d LEC 凋亡率高于正常组、对照组; 实验组术后 45d LEC 凋亡率高于术后 35d; 实验组 LEC 凋亡率和术后时间呈显著正相关。由于本实验已排除眼压升高对晶状体的影响, 因此, 我们可以推测  $C_3F_8$  可导致 LEC 凋亡, 且 LEC 凋亡率随  $C_3F_8$  残留量及维持时间的延长逐渐升高。至于 LEC 凋亡是如何导致白内障形成的, 有关研究认为, 凋亡导致 LEC 密度降低, 影响了晶状体纤维生长及生长质量<sup>[7, 8]</sup>; 上皮细胞缺损区使其下的晶状体纤维的渗透压失衡, 从而使这部分晶状体纤维的透明性和完整性受到损害。进一步研究发现, LEC 凋亡或其他损害, 可使晶状体内外钙离子失衡, 钙离子流入晶状体内损伤上皮下的晶状体纤维后, 可激活其半胱氨酸蛋白酶系

统,后者可致细胞骨架及晶状体蛋白降解,最后导致晶状体蛋白聚集,伴随出现的水电平衡失调及其他一些病理改变,最终形成皮质性或核性白内障<sup>[9]</sup>。

由上可知:玻璃体切除联合非膨胀浓度 C<sub>3</sub>F<sub>8</sub> 气体填充术后白内障形成的细胞学基础是 LEC 凋亡,而 C<sub>3</sub>F<sub>8</sub> 是 LEC 凋亡的重要诱发因素。因此,有效避免可致 LEC 凋亡的因素,对延缓白内障的进展将有重要意义。

#### 参考文献

- 1 Brian G, Taylor H. Cataract blindness-challenges for the 21st century. *Bull World Health Organ* 2001;79(3):249-256
- 2 Javitt JC, Taylor HR. Cataract and latitude. *Doc Ophthalmol* 1994-1995;88(3-4):307-325
- 3 Li WC, Kuszak JR, Dunn K, et al. Lens epithelial cell apoptosis appears to be a common cellular basis for non-congenital cataract development in humans and animals. *J cell Biol* 1995; 130(1):169-181
- 4 Cheng L, Azen SP, El-Bradey MH, et al. Duration of vitrectomy and

- postoperative cataract in the vitrectomy for macular hole study. *Am J Ophthalmol* 2001;132(6):881-887
- 5 Lincoff HA, Coleman DJ, Kreissing, et al. The perfluorocarbon gases in the treatment of retinal detachment. *Ophthalmology* 1983;90(5):546-551
- 6 Blodi BA, Paluska SA. Cataract after vitrectomy in young patients. *Ophthalmology* 1997;104(7):1091-1095
- 7 Karim AKA, Jacob TJC, Thompson GM. The human anterior lens capsular cell density morphology and mitotic index in normal and cataractous lenses. *Exp Eye Res* 1987;45:865-874
- 8 Konofsky K, Naumann Go, Guggenmoos-Holzmann I. Cell density and sex chromatin in lens epithelium of human cataracts. *Ophthalmology* 1987;94(7):875-880
- 9 Iwasaki N, David LL, Shearer TR. Crystallin degradation and insolubilization in regions of young rat lens with calcium ionophore cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36(2):502-509

### · 短篇报道 ·

## LASIK 术后干眼症的临床浅析

王明磊,魏霞,贾娜

作者单位:(137000)中国吉林省白城市,中国人民解放军第321医院眼科

作者简介:王明磊,男,主治医师,研究方向:角膜病。

通讯作者:王明磊.321ykwml@163.com

收稿日期:2010-08-17 修回日期:2010-09-09

王明磊,魏霞,贾娜. LASIK 术后干眼症的临床浅析. 国际眼科杂志 2010;10(10):1868

### 0 引言

光原位角膜磨镶术(laser in situ keratomileusis, LASIK)手术因其效果稳定、恢复快、可预测性强、术后并发症少而成为治疗近视眼的主流术式,但手术都有程度不等的创伤,术后部分患者会出现眼睛干涩、烧灼感、异物感、视疲劳<sup>[1]</sup>,这在一定程度上影响了术后疗效及患者的满意度,这种现象已逐渐引起临床医生的重视,现将我院开展 LASIK 术 5a 来出现干眼症状的病例分析如下。

### 1 临床资料

选取 5a 来在我院行 LASIK 术后眼部干涩、异物感的患者 90 例 180 眼,其中男 40 例 80 眼,女 50 例 100 眼,年龄 19~45(平均 22.5)岁。术前均行准分子激光常规检查,无手术禁忌证。术后泪液学检查:(1)泪膜破裂时间(BUT)测定:患者取坐位,玻璃棒蘸取少许荧光素钠滴入结膜囊内,眨眼数次后,嘱患者睁眼,通过裂隙灯显微镜的钴蓝片记录一次瞬目到泪膜出现第 1 个干斑所需的时间,共记录 3 次取平均值, BUT < 10s 为泪膜不稳定。(2)泪液分泌量(Schirmer 试验)测定:患者坐位,注视上方,将 5mm × 35mm 的泪液滤纸前端 5mm 处置于下睑中外 1/3 睑结膜面上,其余部分返折下垂,自然闭眼,5min 后取下滤纸,读出蓝线刻度即为泪液分泌量,如数值 < 10mm 为泪液分泌减少。干眼症的诊断标准:(1)眼部干涩、异物

感、烧灼感、视疲劳等不适症状。(2)泪膜破裂时间(BUT) < 10s。(3)泪液分泌量 < 10mm/5min。术后 1wk; 1,3,6,12mo 定时复查,术后常规用氟美瞳、泰利必妥、爱丽等滴眼液点眼。按干眼症的诊断标准术后 1wk 符合诊断标准的为 115 眼(63.9%),术后 1mo 符合诊断标准的为 83 眼(46.1%),术后 3mo 符合诊断标准的为 48 眼(26.7%),术后 6mo 符合诊断标准的为 20 眼(11.1%),术后 12mo 符合诊断标准的为 5 眼(2.9%)。

### 2 讨论

LASIK 术后干眼症的原因:(1) LASIK 术造成角膜眼表组织的损伤:手术中角膜瓣的制作损伤了角膜神经丛,制作角膜瓣时机械性摩擦导致部分角膜上皮缺损,负压环压迫角膜边缘的球结膜在一定程度上也破坏了部分结膜杯状细胞,这些因素使泪液黍液层分泌减少,泪膜稳定性下降,角膜瓣的不对称愈合也造成了泪膜的不稳定性。(2) LASIK 术后角膜知觉减退:LASIK 手术时在制作角膜瓣或激光切削角膜基质层时均不同程度的损伤了角膜神经丛,角膜的感觉神经来自三叉神经眼支,约 70%~80% 的放射状分支从角膜基质的中层进入角膜,故角膜知觉的减退程度与角膜蒂的位置、瓣的厚度及切削深度有关。(3) LASIK 术后的用眼卫生:LASIK 术后长时间、无节制的近距离用药也可能是干眼症的一个重要原因。术后激素的应用也部分影响到泪液的分泌。干眼症的预防及处理:(1) LASIK 术前进行严格筛查,把干眼症及疑似干眼症的患者排除在外,术前完善告知制度,术前要把术后可能出现干眼症的情况向患者及家属交待清楚,取得理解后方可手术。(2) LASIK 术中尽量把角膜瓣的蒂部留在鼻侧,有关资料表明鼻侧角膜的神经丛较其余地方丰富,蒂位于鼻侧可以减少干眼症的发生。还有术中尽量缩短负压时间以减少对结膜的损伤。(3) 术后常规给予不含防腐剂的泪液替代品点眼,以改善眼部不适症状,提高视觉质量和手术满意度。

### 参考文献

- 1 朱志忠.实用眼表病学.北京:京科学技术出版社 2004:127-142