

正常晶状体及年龄相关性白内障晶状体的超微结构观察

占志云,徐国兴

基金项目:国家自然科学基金课题(No. 81070715);中国卫生部科研基金课题(No. WKJ2008-2-61);福建省创新平台基金课题(No. 2010Y2003)

作者单位:(350005)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院眼科 福建省眼科研究所

作者简介:占志云,硕士,研究方向:晶状体病。

通讯作者:徐国兴,教授,博士研究生导师,研究方向:晶状体病、视网膜膜病。fjmuxuguoxing@hotmail.com

收稿日期:2012-06-04 **修回日期:**2012-09-14

Ultrastructural changes observation of the lens in the human age-related cataract

Zhi-Yun Zhan, Guo-Xing Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81070715); Ministry of Health Research Project, China (No. WKJ2008-2-61); Innovation Platform of Fujian Province, China (No. 2010Y2003)

Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Correspondence to:Guo-Xing Xu. Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. fjmuxuguoxing@hotmail.com

Received: 2012-06-04 Accepted: 2012-09-14

Abstract

• **AIM:** To observe the ultrastructural changes of the lens in the human age-related cataract.

• **METHODS:** The normal lens (3 cases), the lens epithelial cells (LECs) and nuclear of age-related cataract (5 cases) were observed by Philips-208 type transmission electron microscopy (TEM) and JSM-6380LV type scanning electron microscopy (SEM).

• **RESULTS:** TEM: Compared with the normal lens, in 5 cases of age-related cataract, LECs of anterior capsular had a large number of irregular shape nuclear, chromatin condensation, mitochondria and other organelles in cytoplasm swelled. In some fiber cells of the cataract lens, the cell boundary was not so obvious with dissolution and necrosis. SEM: Cataract cortex lost the smoothness, fiber cells of the nucleus surface were deformation and compression, connection between the fiber cell changes.

• **CONCLUSION:** The pathologic ultrastructural changes of the epithelial cells and fiber cells of the cortex and nucleus in lens may play a critical role in the pathogenesis of age-related cataract.

• **KEYWORDS:** age-related cataract; lens; ultrastructure

Citation: Zhan ZY, Xu GX. Ultrastructural changes observation of the lens in the human age-related cataract. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(10):1855-1858

摘要

目的:探讨正常晶状体和年龄相关性白内障晶状体的超微结构变化。

方法:采用飞利浦208型透射电镜及日本产JSM-6380LV扫描电镜对3例正常的透明晶状体及5例行白内障囊外摘出的囊膜及晶状体核进行超微结构观察,并进行比较。

结果:透射电镜下白内障上皮细胞与正常组晶状体上皮细胞相比出现大量的异性核,染色质凝集,线粒体肿胀,减少,呈现空泡化;白内障晶状体核区纤维细胞界限不明显,出现明显溶解、坏死改变。扫描电镜下白内障晶状体皮质纤维细胞失去光滑,晶状体核区纤维细胞表面因挤压而变形,细胞间的连接出现变化。

结论:白内障晶状体中上皮细胞及纤维细胞均发生了超微结构改变,这些变化可能是晶状体混浊的原因之一。

关键词:年龄相关性白内障;晶状体;超微结构

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.10.10

引用:占志云,徐国兴.正常晶状体及年龄相关性白内障晶状体的超微结构观察.国际眼科杂志2012;12(10):1855-1858

0 引言

年龄相关性白内障的病因及发病机制复杂,一直是眼科的研究热点,近来有研究认为年龄相关性白内障是蛋白质构象改变的疾病。本研究从超微结构方面对3例正常透明晶状体及5例年龄相关白内障患者晶状体的晶状体上皮细胞、皮质纤维及核区晶状体纤维进行观察,了解其发生的结构变化。

1 对象和方法

1.1 对象 3例正常透明晶状体标本来自我院法律许可的角膜移植供体正常眼球晶状体,5例白内障标本为随机取样的2011年我院诊断为核性年龄相关性白内障Ⅲ级并行白内障囊外摘除术的住院患者,术中取出晶状体囊膜及晶状体核。术前均行裂隙灯显微镜检查排除其它类型白内障。飞利浦208型透射电镜;日本产JSM-6380LV扫描电镜。

1.2 方法

1.2.1 手术标本的取材处理 透明晶状体的处理:将角膜移植术后的新鲜正常眼球供体的晶状体取出,室温立即置于4℃预冷电镜固定液3%戊二醛-1.5%多聚甲醛中,再将晶状体放在置于冰面上的培养皿中,用锋利手术刀片沿晶状体前囊膜的垂直方向将晶状体掰成两半。一半置于固定液中制备扫描电镜样本;另一半晶状体将其前囊部、赤道部、晶状体核部分别切取大小约1mm×1mm×2mm,浸置于3个不同的EP管中固定,标明部位及方向,用于制备透射电镜样本。白内障晶状体囊膜及核的处理:将手术中

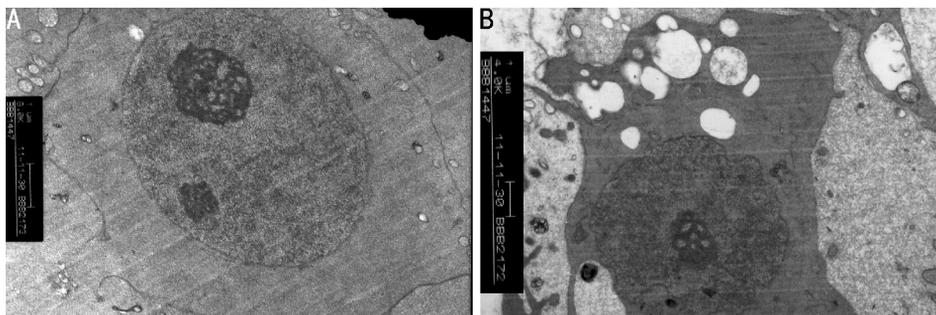


图1 透射电镜观察晶状体上皮细胞 A:正常晶状体上皮细胞(TEM×8000);B:核性白内障晶状体上皮细胞(TEM×4000)。

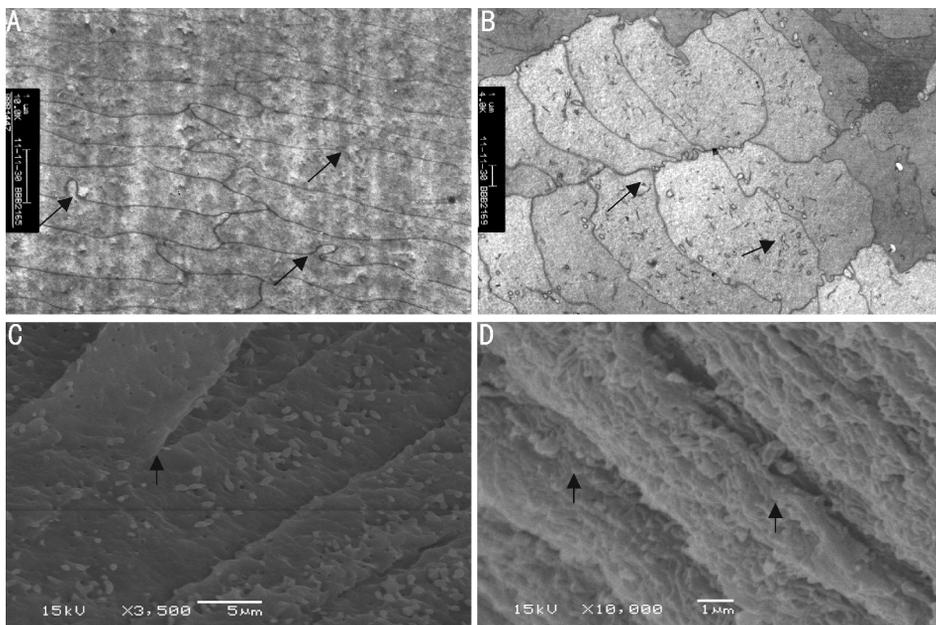


图2 晶状体皮质区纤维细胞的超微结构观察 A:正常晶状体皮质区纤维细胞(TEM×10000); B:核性年龄相关性白内障皮质区纤维细胞(TEM×4000);C:正常晶状体皮质纤维细胞(扫描电镜); D:核性年龄相关性白内障皮质区纤维细胞(扫描电镜)。

娩出的晶状体核,立即置于4℃预冷电镜固定液3%戊二醛-1.5%多聚甲醛中,一半用于制备扫描电镜样本;另一半将其赤道部及核区切成1mm×1mm×2mm大小,浸置于2个不同的EP管中固定,标明部位及方向,制备透射电镜样本。将手术中环形撕囊取得的囊膜,直径约6mm,室温下立即置于装有电镜固定液3%戊二醛-1.5%多聚甲醛的EP管中,用于制备透射电镜标本。

1.2.2 透射电镜样本的制备 取材后经3%戊二醛-1.5%多聚甲醛前固定24h(4℃),PBS漂洗,1%锇酸-1.5%亚铁氰化钾后固定1.5h,PBS漂洗;500mL/L乙醇10min,700mL/L乙醇饱和醋酸铀染液块染,乙醇-丙酮梯度脱水,环氧树脂618包埋剂包埋。超薄切片80nm,醋酸铀、柠檬酸铅各染色5min;在飞利浦EM 208型透射电镜下观察、摄影。

1.2.3 扫描电镜样本的制备 取材后经3%戊二醛-1.5%多聚甲醛前固定24h(4℃),PBS漂洗,1%锇酸后固定4h,蒸馏水清洗,乙醇逐级脱水,叔丁醇置换,冷冻干燥仪干燥,用刀片及镊子沿不同观察面将晶状体掰开,上台,离子溅射仪喷金;日本产JSM-6380LV扫描电镜观察、拍照。

2 结果

2.1 晶状体上皮细胞透射电镜观察结果 正常晶状体上皮细胞形态规则(图1A),呈立方形,核为椭圆形,核膜清晰,细胞膜结构清晰,相邻细胞之间及与晶状体囊膜之间

结合紧密,胞质较均匀,细胞器结构清晰可见。核性年龄相关性白内障晶状体上皮细胞形态不规则(图1B),且有些与囊膜分离,与相邻细胞结合也较疏松,部分晶状体上皮细胞水肿,细胞内线粒体等细胞器肿胀,细胞质内可见大小不等的空泡及高电子密度物质。部分晶状体上皮细胞核皱缩,失去椭圆形结构,染色质出现凝集。

2.2 晶状体皮质区纤维细胞的观察结果

2.2.1 透射电镜观察晶状体皮质区纤维细胞 正常晶状体皮质纤维细胞胞膜完整,相互之间连接紧密,相互嵌插,且有“球-凹”结构。细胞内电子较均匀一致,细胞核及大部分细胞器已经退化消失(图2A)。核性白内障皮质纤维细胞的透射电镜观察结果显示,细胞大小不等,边缘变得较圆钝,细胞之间不如正常晶状体皮质纤维嵌插紧密,细胞核及大部分细胞器已经退化消失,但是细胞内可见各种形状的电子密度高的颗粒样物质(图2B)。

2.2.2 扫描电镜观察晶状体皮质区纤维细胞 正常晶状体皮质纤维呈条带状平行排列,形态一致,表面有许多小突起形成,单个细胞胞膜完整,没有相互融合,可以做完整的板层撕开(图2C)。核性白内障晶状体皮质纤维亦呈条带状平行排列,但是纤维细胞表面粗糙多皱褶,失去正常纤维皮质细胞的弹性感,细胞之间的缝隙欠清晰,有些细胞轮廓不清(图2D)。

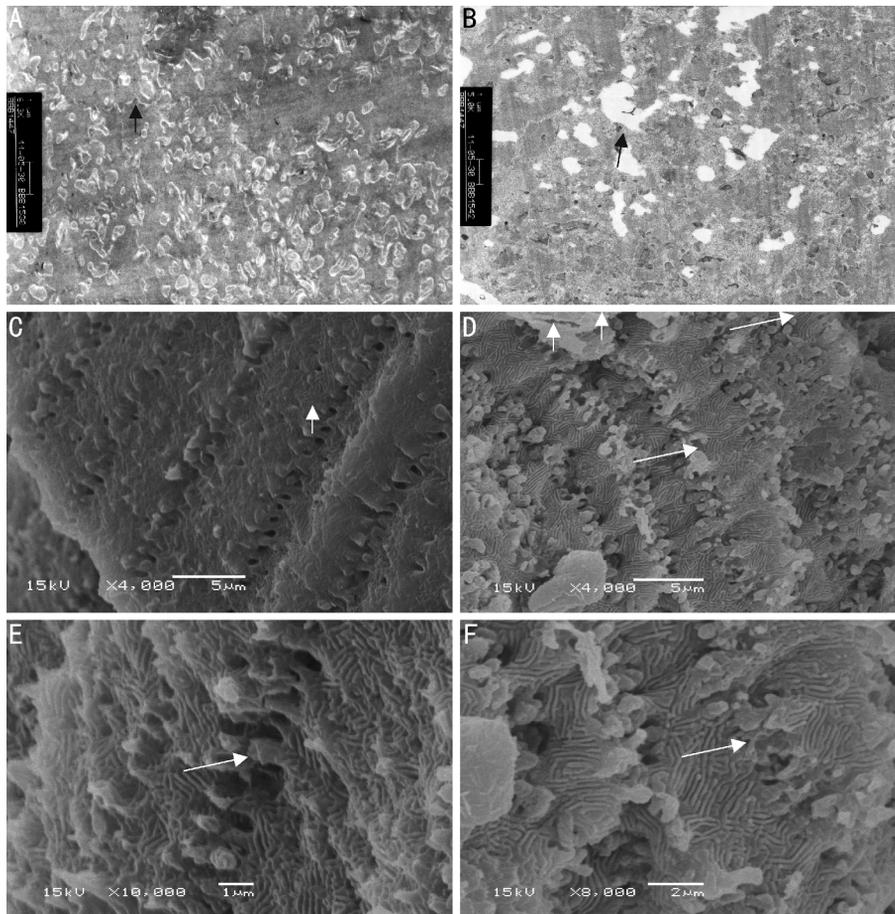


图3 晶状体核区纤维细胞的超微结构观察 A:正常晶状体核区纤维细胞(TEM×6300); B:核性年龄相关性白内障核区纤维细胞(TEM×5000); C:正常晶状体核区纤维细胞(扫描电镜×4000); D:核性年龄相关性白内障核区纤维细胞(扫描电镜×4000); E:正常晶状体核区纤维细胞(扫描电镜×10000); F:核性年龄相关性白内障核区纤维细胞(扫描电镜×8000)。

2.2.3 晶状体核区的改变 透射电镜结果显示:正常晶状体核区纤维细胞之间连接呈锯齿状,细胞之间连接紧密,细胞外间隙小(图3A)。相比之下,白内障晶状体核区纤维细胞的透射电镜观察显示(图3B),纤维细胞之间的界限不清晰,有些纤维细胞出现溶解、液化,细胞之间间隙变大。

扫描电镜结果显示:正常晶状体核区纤维细胞,细胞之间界限清晰,细胞之间的连接成锯齿状突起,相互穿插,但是每个细胞都具有完整的细胞膜,细胞表面平坦(图3C),这些连接的突起规则、独立,大小均匀(图3E),细胞排列有序。白内障晶状体核区纤维细胞,也呈锯齿样的花边外观,但是纤维细胞明显受挤压而出现皱褶、变形,有序性及一致性变差(图3D),细胞之间的锯齿状连接相互融合,有些形成大小不等的球状突起,相邻细胞膜之间也存在相互融合,细胞之间的界限不清(图3F)。

3 讨论

我们的研究发现,在核性年龄相关性白内障发生发展的过程中,从晶状体上皮细胞到晶状体皮质纤维细胞到晶状体核区成熟的晶状体纤维细胞均发生了不同程度的超微结构变化。这些结构上的变化是引起晶状体透明性改变的原因之一,而这些超微结构改变的确切启动机制有待进一步探索。

通过透射电镜对晶状体上皮细胞的观察,我们发现部分白内障晶状体上皮细胞出现细胞内水肿、细胞间隙水肿、细胞内线粒体等细胞器肿胀、核皱缩变形等细胞死亡的变化。徐国兴等^[1]研究发现在晶状体前囊膜上皮细胞中存在凋亡小体,白内障晶状体上皮细胞中含有一定比例的凋亡细胞。郑广瑛等^[2]研究发现年龄相关性白内障晶状体上皮细胞存在凋亡、胀亡等多种细胞死亡方式,细胞凋亡与细胞胀亡的发生可能存在部分分子机制的重叠,其共同通路可能就是 Caspase 系统。近年来研究认为,氧化损伤、紫外线、电离辐射、钙离子透入等因素均与年龄相关性白内障的发生有密切关系^[3],这些因素恰能诱导细胞凋亡。细胞的胀亡与晶状体内的低氧环境密不可分^[2],细胞损伤时最常见的改变为线粒体肿大,线粒体是形成 ATP 主要场所。线粒体的肿胀可以由多种损伤因子引起,其中最常见的是缺氧。我们观察到,无论细胞是以何种方式死亡,年龄相关性白内障晶状体上皮细胞中线粒体均明显肿胀,我们推测,线粒体的功能下降与年龄相关性白内障的发生发展息息相关。

通过观察晶状体皮质纤维细胞及核区纤维细胞超微结构发生变化,我们发现这些纤维细胞的超微结构变化有一个共同点就是:细胞膜结构的改变和纤维排列有序性的改变。Costello 等^[4]发现细胞核区的纤维细胞膜损伤主要

发生在细胞之间锯齿状连接结构区的膜段丢失,有关白内障核区晶状体纤维细胞膜损害的具体报告包括:膜部分的缺损、膜之间细胞外空间的扩大、细胞外空间的异常物质堆积。在本研究中亦可以观察到细胞之间的锯齿状连接相互融合(图3F),有些形成大小不等的球状突起(图3D)及细胞中的电子密度增高和不均改变。Costello等^[5]的另一项研究发现,白内障晶状体中“多室球粒”(multilamellar bodies)结构要多于透明晶状体,这使得光的前散射大大增加,减少了黄斑区的光敏感度。这些证实晶状体纤维细胞的超微结构改变可以引起晶状体混浊。

老化或至少与老化相关的疾病是蛋白质翻译后修饰、蛋白质去折叠,最终蛋白质聚合,此种疾病的特征为蛋白质的错误折叠,称之为结构疾病。年龄相关性白内障纤维细胞超微结构的改变,可能也与蛋白质功能的异常有关。Wang等^[6]研究发现人 γ -C晶状体蛋白在低pH孵育形成的淀粉样纤维的过程可能是早期晶状体光散射形成的原因。Kumari等^[7]研究发现晶状体纤维细胞中的AQPO除了有水通道的功能以外,还发挥黏附分子的独特功能,能保持纤维细胞之间有序的连接,防止晶状体混浊。Varadaraj等^[8]研究发现小鼠纤维细胞中的AQPO蛋白功能改变可以影响晶状体皮质层及核区的透明度及纤维排列有序性。

综上所述,晶状体组织超微结构的改变是引起年龄相

关性白内障的原因之一,这些改变的启动机制还有待进一步探索。

参考文献

- 1 徐国兴,胡建章,林鸿,等.年龄相关性白内障晶状体上皮细胞的超微结构研究.国际眼科杂志 2004;4(4):631-632
- 2 郑广瑛,梁圆圆,王倩.年龄相关性白内障晶状体上皮细胞的Smac,casepase-3表达及死亡方式.眼科研究 2010;28(4):351-355
- 3 陈文婷,张劲松.年龄相关性白内障分子生物学机制的研究进展.国际眼科杂志 2008;8(5):982-984
- 4 Costello MJ, Johnsen S, Metlapally S, et al. Ultrastructural analysis of damage to nuclear fiber cell membranes in advanced age-related cataracts from India. *Exp Eye Res* 2008;87(2):147-158
- 5 Costello MJ, Johnsen S, Metlapally S, et al. Multilamellar spherical particles as potential sources of excessive light scattering in human age-related nuclear cataracts. *Exp Eye Res* 2010;91(6):881-889
- 6 Wang Y, Petty S, Trojanowski A, et al. Formation of amyloid fibrils *in vitro* from partially unfolded intermediates of human gammaC-crystallin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(2):672-678
- 7 Kumari SS, Eswaramoorthy S, Mathias RT. Unique and analogous functions of aquaporin 0 for fiber cell architecture and ocular lens transparency. *Biochim Biophys Acta* 2011;1812(9):1089-1097
- 8 Varadaraj K, Kumari SS, Patil R. Functional characterization of a human aquaporin 0 mutation that leads to a congenital dominant lens cataract. *Exp Eye Res* 2008;87(1):9-21