

犬氧化损伤诱发白内障模型及其评价标准的研究

王霞¹, 张禹², 夏楠¹, 李婧¹, 赵海焦¹, 吴国娟^{1*}, 张中文^{1*}

(1. 北京农学院, 北京 102206; 2. 北京勤邦生物技术有限公司, 北京 102206)

摘要: 犬白内障是常见的眼科疾病, 发病率高, 严重影响犬的视力。有研究表明氧化损伤是重要的发病机制之一, 目前对其疾病模型与发病机理研究较少。本研究旨在建立犬老年性白内障动物模型, 为其后续机理研究奠定基础。本试验选取健康成年犬 10 只, 随机选取 6 只为模型组, 4 只为对照组, 用 Fenton 液造模。裂隙灯观察晶状体的混浊情况, 光镜和透射电镜观察形态结构的变化, 测定晶状体生化指标的改变, 判定造模结果。与对照组相比, 模型组晶状体混浊度变化明显, 光镜和电镜下能观察到凋亡现象, T-SOD、GSH-Px 和 MDA 值差异显著 ($P < 0.05$)。本试验证明用 Fenton 液囊袋内注射即可成功建立犬老年性白内障疾病模型。

关键词: 犬老年性白内障模型; 氧化损伤; 评价标准

中图分类号: S857.6

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)07-1156-07

The Research of Cataract Model Induced by Oxidative Damage and Evaluation Standards on Dogs

WANG Xia¹, ZHANG Yu², XIA Nan¹, LI Jing¹, ZHAO Hai-jiao¹, WU Guo-juan^{1*},
ZHANG Zhong-wen^{1*}

(1. *Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China*; 2. *Beijing Kwinbon Biotechnology, inc., Beijing 102206, China*)

Abstract: Cataract, which severely affects the vision and has high incidence, is one of the common ophthalmic diseases on canine. Recent research showed that many pathogenesis gave rise to cataract formation, among which oxidative damage was an important factor. However, there was little research focused on the establishment of cataract models on canine. The aim of our study was to establish senile cataract models, which could lay a foundation for the further research. This research picked up 10 healthy dogs, randomly selected 6 dogs as model group and the rest as control group. We used Fenton solution to establish the model and judged it success or not from the following methods: checked the lens with slit lamp microscope, observed the structures of lens by light microscope and TEM, and determined the changes of biochemical indicators. Compared with the control group, the lens cloudy degree of model group changed remarkably, apoptosis phenomenon could be observed with light microscope and TEM in model group, the T-SOD, GSH-Px and MDA values in model group were significantly different ($P < 0.05$). The results proved that the senile model can be successfully built through intracystic injection with fenton solution.

Key words: senile cataract model on canine; oxidative damage; evaluation standards

在世界范围白内障是首位致盲眼科疾病, 尤其是在亚洲^[1], 各种动物均易发生, 但犬有更高的发病

收稿日期: 2011-12-26

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(5102014); 北京市教委项目资助(KM201010020008); 国家自然科学基金资助(3117236, 30972215); 北京市属高校人才强教计划资助(PHR)

作者简介: 王霞(1987-), 女, 四川巴中人, 硕士生, 主要从事兽医临床研究, E-mail: wangx-520@163.com; 张禹, 硕士, 并列第一作者

* 通讯作者: 张中文, E-mail: zwzhang9288@sina.com, Tel: 010-80799146; 吴国娟, E-mail: wgj9288@sina.com, Tel: 010-80796702

率^[2]。目前国内外对于白内障的发病机理仍处于研究阶段。引起白内障的病因很多,其中氧化损伤是重要的发病机制^[3]。临床对氧化损伤机理的研究基于完善的动物模型。常用的白内障模型主要有亚硒酸诱导白内障模型^[4]、OXYS 自发性白内障小鼠^[5]、基因敲除小鼠模型^[6]、茶性白内障大鼠模型^[7]等。但是关于犬老年性白内障动物模型的建立及评价体系报道较少^[8]。Fenton 反应能产生大量的强氧化自由基,能对组织产生氧化损伤。有研究表明利用 Fenton 溶液能在体外成功诱导白内障的发生^[9]。本试验尝试利用 Fenton 溶液建立犬老年性白内障的动物模型。

1988 年 NEI 组织哈佛医学院的 Chylack 等开发了晶状体混浊分类系统(Lens opacities classification system, LOCS),1989 年改进为 LOCS II^[10],1993 年更新为 LOCS III^[11]。LOCS III 具有标准的摄像对照系统和科学依据,被广泛应用于白内障的分级。

成功模型的建立依赖于完善的评价体系,本研究从以下几个方面评价老年性白内障动物模型。(1)临床症状:建立的病理模型与自然形成的病例临床表现相似,且具有模型诱发快,成模稳定等特点;(2)形态学观察:在光镜和电镜下,模型组较对照组应发生形态学的改变,包括上皮细胞、晶状体纤维等结构的改变;(3)生化指标的测定:模型组晶状体生化水平与对照组相比会发生变化。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与仪器 陆眠宁 II(盐酸赛拉嗪注射液)、鹿醒宁 II(尼可刹米注射液)、舒泰 50 干粉注射剂(Zoletil 50)、盐酸利多卡因注射液、复方托品酰胺、红霉素眼膏、30%过氧化氢(分析纯)、FeCl₃(分析纯)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)试剂盒,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒,丙二醛(MDA)试剂盒(南京生物建成)、BCA(BicinChonic Acid)蛋白定量试剂盒(上海嘉达);SLM-4 型眼科裂隙灯显微镜检查仪、非接触式眼压计、眼底造影检查仪、眼科成像仪、直接检眼镜和双目间接检眼镜、结膜镊、JEM-1230 透射电镜、石蜡切片机、分光光度计、酶标仪。

1.1.2 实验动物 2~3 岁健康京巴犬 10 只,雌雄各半,体质量 5~10 kg。

1.2 方法

1.2.1 全身及眼科检查 全身检查包括体温、呼吸、脉搏、食欲、饮欲等。眼科检查包括一般检查和

暗室检查。(1)一般检查,主要通过视诊和触诊检查眼眶情况,眼球大小,有无斜视,眼部是否疼痛,眨眼频率,是否羞明,眼球是否突出或者凹陷等;(2)暗室检查主要借助于裂隙灯显微镜、眼底造影检查仪、眼科成像仪、直接检眼镜和双目间接检眼镜主要是对第三眼睑、结膜、角膜、巩膜、眼前房、虹膜、瞳孔、晶状体、玻璃体、视网膜等的检查。对试验犬进行检查确定其全身及眼部无疾病之后,用于后续试验。

1.2.2 Fenton 溶液配制 将 30%的 H₂O₂ 溶液用双蒸水稀释 1 000 倍,加入 2 mg FeCl₃。现用现配。

1.2.3 建模 选择经全身及眼科检查后健康京巴犬 10 只,6 只为模型组,4 只为对照组。双眼滴入复方托品酰胺散瞳,1~2 滴·次⁻¹,1~2 次;肌肉注射 Zoletil 50:陆眠宁 II(1:5)将犬麻醉,用量为 0.10 mL·kg⁻¹,然后向双眼滴入盐酸利多卡因注射液,2 滴·次⁻¹,3 次,待犬深度麻醉后开始造模。

模型组:1 mL 注射器取配好后的 Fenton 溶液,沿角巩膜缘穿刺(或直接穿过角膜)进入前房后,经过瞳孔穿透晶状体前囊膜(针头不要划到角膜内皮和虹膜),再深入 1~2 mm,注射约 0.3 mL Fenton 溶液于囊袋内,边拔出针头边涂抹红霉素眼膏于术部。对照组用相同的办法注射等量的蒸馏水。3 d 后再注射 1 次,一般 1~2 次,8~10 d 后可出现症状。末次注射翌日观察、记录,并用裂隙灯照相。

1.2.4 晶状体混浊检查 使用眼科裂隙灯检查晶状体混浊度,具有灵敏度高、操作方便的优势。检查前 15~20 min,将试验犬双眼散瞳。待瞳孔散开后依次打开电源开关后调试好裂隙灯,助手保定犬使其眼平面与裂隙灯光束成 15°~165°进行观察。先运用弥散灯透过角膜观察晶状体的整体混浊情况,调节裂隙灯的角度和焦距,可以观察到晶体皮质和核的不同部位的变化。再转换为裂隙光源,观察某一切面晶状体的变化情况。每隔 1 d 观察 1 次,详细记录晶状体混浊情况,并按照国际标准的分级方法 LOCS III 对其进行分级。

1.2.5 晶状体切片及匀浆液的制备、检测 待模型成功建立后取出晶状体,将其 1/2 制成光镜和电镜切片,观察形态学变化,另外 1/2 制成晶体匀浆并测定匀浆液中 T-SOD、GSH-Px 和 MDA 的水平。

1.2.5.1 光镜切片的制备:取材、固定、水洗、脱水、透明、浸蜡包埋、切片,HE 染色后观察。

1.2.5.2 电镜切片的制备:2.5%戊二醛固定、0.1 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液冲洗、1% 锇酸固定、0.1

mol · L⁻¹磷酸缓冲液冲洗、丙酮系列脱水(30%、50%、70%、80%、90%、100%)、环氧树脂 SUPER 包埋、聚合、LEICAUC6i 型切片机超薄切片、醋酸双氧铀、柠檬酸铅双染色、JEM-1230 透射电镜观察。

1.2.5.3 匀浆液的制备:取出组织样品迅速称重,按照 1:10 加入预冷的组织匀浆液(g · mL⁻¹),研磨充分(4℃),3 000 r · min⁻¹离心 20 min,取上清液利用 T-SOD、GSP-Px 和 MDA 试剂盒分别测定其值。利用 BCA 试剂盒测定晶体蛋白含量。

2 结果

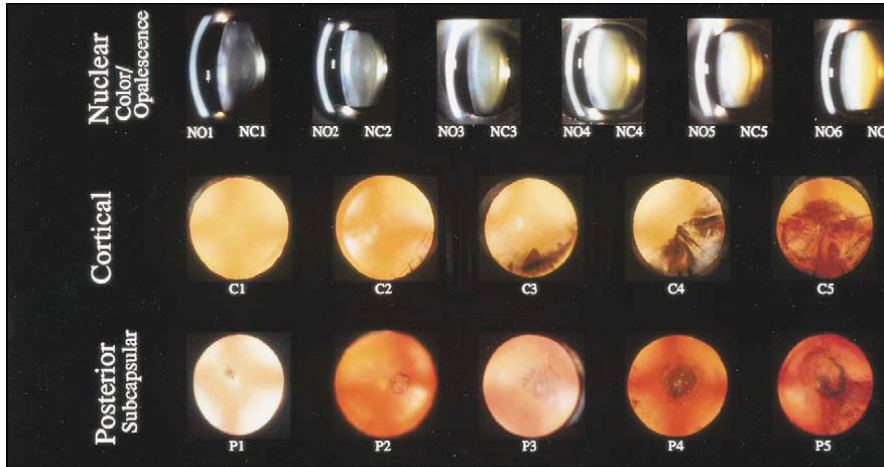
2.1 裂隙灯检查

本试验建立的模型均符合白内障的医学定义,即晶状体或晶状体囊出现不同程度的混浊。用裂隙灯观察其混浊度变化并根据国际通用的 LOCS III 分

级标准进行分级。

LOCS III 用 3 行照片评估白内障的特征,LOCS III 用第 1 行的 6 张晶状体断面彩色照片对晶状体核的颜色(NC)及混浊程度(NO)分级(NO1, NC1; NO2, NC2; NO3, NC3; NO4, NC4; NO5, NC5; NO6, NC6),第 2 行的 5 张 Neitz 后照明彩色照片对皮质性白内障进行分级(C1~C5)第 3 行对后囊下型白内障分级(P1~P5)(图 1)。

结果表明,对照组中 8 个晶状体均透明,未见有混浊。模型组试验犬中有 6 只眼注射 Fenton 液后第 8 天晶状体开始发生变化,4 只眼第 10 天开始出现变化,2 只眼虹膜发生粘连,角膜水肿发白无法观察其形成情况。到第 10 天,所有模型眼(10 只)都可以观察到小面积阴影。具体变化见表 1,临床症状见图 2。

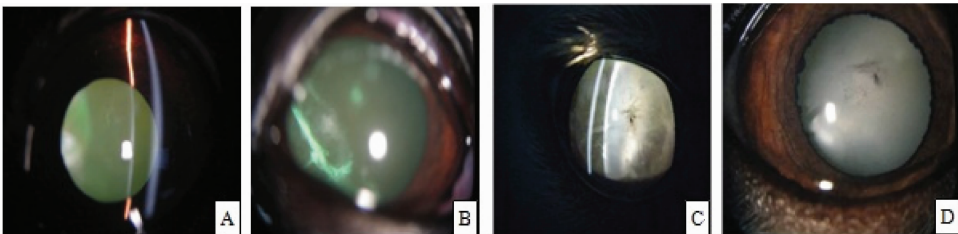


标准的 8.5 英寸×11 英寸的彩色透明图像。第 1 行代表晶状体核的颜色(NC)及混浊程度(NO)分级的标准。第 2 行代表皮质性白内障(C)分级的标准。第 3 行代表后囊下性白内障(P)的分级标准

The top row contains the standards for NO and NC. The second row contains the standards for grading C and the bottom row, for grading P

图 1 (戴维森)LOCS III 暗室环境中裂隙灯照片

Fig. 1 The LOCS III standard images (Davison) in an 8.5-inch ×11-inch color transparency as used in the office at the slitlamp



A 为对照组,B、C、D 为模型组;A C 为裂隙光源,B D 为弥散光源。A. 晶体透明,未混浊;B. 晶状体皮质下出现点状混浊;C. 晶状体混浊面积扩大;D. 晶状体完全混浊,眼底不可见

A represents control group; B, C, and D represent model groups; A and C presentation of slit light, B and D presentation of diffuse light; A. The lens is transparent; B. Pointlike opacities under lens cortex; C. Enlargement of lens cloudy area; D. Complete phacocotasmus and invisible fundus

图 2 裂隙灯下晶体混浊变化

Fig. 2 The changes of lens opacity observed by slit lamp microscope

2.2 光镜下各晶状体组织的形态学观察

HE 染色后观察,细胞浆呈粉红色,胞核为蓝紫色。对照组:HE 染色可以看到晶状体上皮细胞形态正常,核染色均匀,晶状体纤维排列紧密且有规则(图 3A)。模型组:晶状体上皮细胞间结构被破坏,核染色不均,大小不一,出现大量的空泡;纤维绝大部分失去规则结构,突起形状、分布不规则(图 3B)。

2.3 透射电镜下各晶状体组织的形态学观察

对照组:晶状体上皮细胞形态规则,细胞膜结构清晰,与邻近细胞及晶状体囊膜结合紧密;细胞质及染色质均匀无凝缩;晶状体纤维呈规则的六边形结

构(图 3C)。模型组:细胞皱缩变形,晶状体上皮细胞间结合疏松,胞浆浓缩;粗面内质网多见,呈短片状;线粒体肿胀、变空明显;核内染色质凝聚或边集,形成半月形、马蹄形、环形等分布于核膜下,核仁消失(图 3D、E、F)。

2.4 组织匀浆中 T-SOD、GSH-Px 和 MDA 水平测定

所测数据经 SPSS 处理后,其具体含量变化见表 2。可见模型组晶状体中 T-SOD、GSH-Px 水平明显低于对照组($P < 0.01$);模型组 MDA 水平明显高于对照组($P < 0.05$)。

表 1 Fenton 诱发晶状体混浊的演变过程和分级

Table 1 The development and classification of lenticular opacity induced by Fenton

造模时间/d Time	晶状体混浊程度(模型组) Opacity of lens (model group)	LOCSⅢ 分级 Grade of LOCSⅢ	眼数量/只 Eye number
8~10	散瞳后,可观察到皮质周围有少量小水泡,细毛刷样阴影	C1	第 10 天,10 只眼都观察到小面积阴影
12~15	散瞳后,在周边前或后皮质见到放射状楔形混浊,呈点状或片状,有少量空泡,不影响观察眼底	C2	10
21	不散瞳即可见到楔形混浊,混浊面积扩大,空泡量增多,通过混浊区眼底细节不清楚	C3	10
32	晶体皮质混浊区融合,可见到新月形投影或水裂,通过混浊区眼底细节不能见	C4	10
45	皮质乳白色全部混浊,眼底不能见	C5	10

表 2 造模前后晶状体 T-SOD、GSH-Px 和 MDA 值的变化 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 The changes of T-SOD, GSH-Px and MDA values before and after model making ($\bar{x} \pm s, n=6$)

指标 Index	对照组 Control group	模型组 Model group
T-SOD/ $U \cdot mg^{-1}$	$32.107 \pm 1.828^{**}$	4.528 ± 0.059
GSH-Px/ $(mol \cdot mg^{-1})$	$4.591 \pm 0.184^{**}$	16.002 ± 0.368
MDA/ $(mol \cdot mg^{-1})$	$86.026 \pm 4.198^*$	13.615 ± 0.251

** 表示模型组和对照组差异极显著($P < 0.01$); * 表示模型组和对照组差异显著($P < 0.05$)

** stands for extremely significant difference between model group and control group ($P < 0.01$); * stands for significant difference between model and control groups ($P < 0.05$)

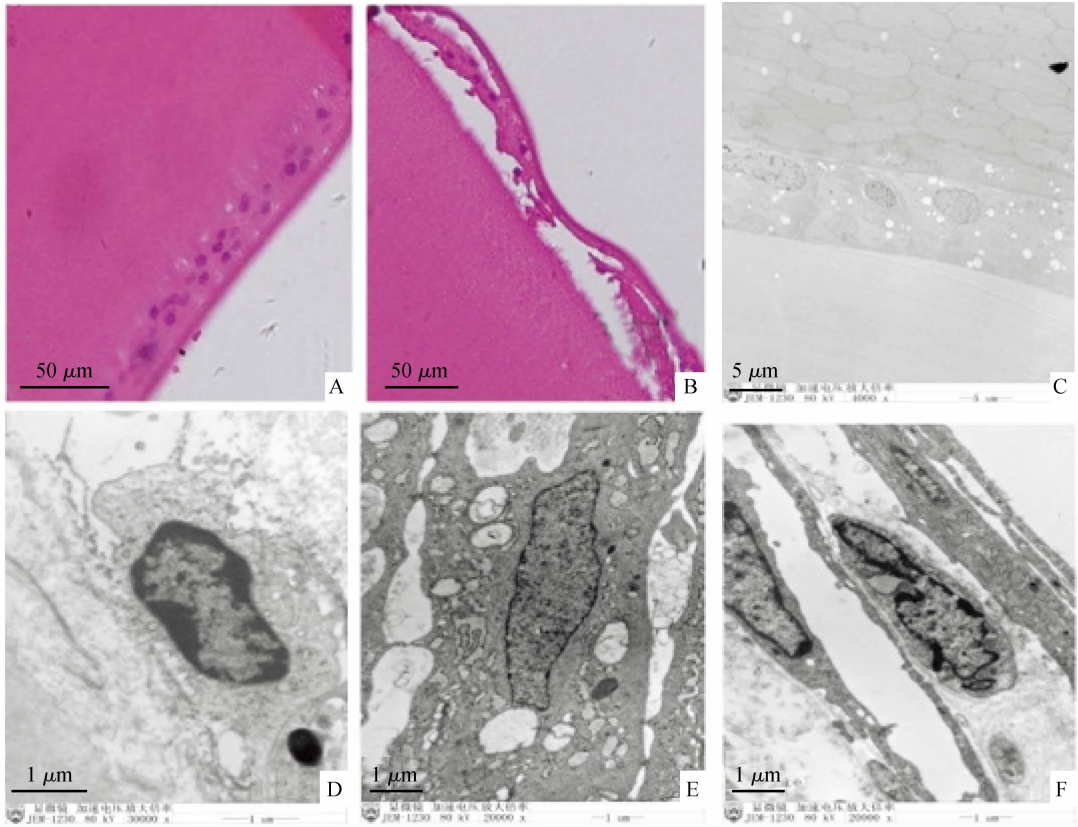
3 讨论

3.1 晶状体由晶状体囊和晶状体纤维组成。晶状体囊为一透明薄膜,囊下有一层上皮细胞,是晶状体内唯一具有生长活性的结构。当上皮细胞到达赤道部后,不断伸长、弯曲,移向晶状体内,成为晶状体纤

维。由于晶状体纤维细胞没有胞内细胞器,所以纤维细胞比上皮细胞更容易受到氧化损伤的影响,具有更低的修复能力和更弱的抗氧化能力^[12]。如果活性氧和脂质过氧化产生的次级氧化产物不能被机体的抗氧化系统及时移除而进入纤维细胞,则容易导致氧化产物的聚集,损伤晶状体纤维细胞,从而导致

白内障的形成^[13]。·OH是仅次于氟的强氧化剂,可以由 H_2O_2 与 Fe^{3+} 通过Fenton反应由 $O_2 \cdot^-$ 直接生成的,也即是只要有过渡金属离子 $O_2 \cdot^-$ 就能通过歧化反应和Fenton反应衍生·OH,而 Fe^{3+}

是体内较多的过渡金属离子。本试验就是采用Fenton反应产生·OH,囊袋内注射造成晶状体皮质氧化损伤。

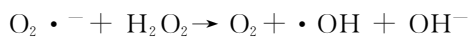
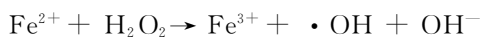


A. 对照组晶状体上皮细胞排列整齐,细胞核染色均匀;B. 晶状体上皮细胞排列紊乱,细胞核染色不均匀;C. 对照组晶状体上皮细胞形态正常,晶状体纤维呈规则的六边形结构;D. 模型组晶状体上皮细胞皱缩,细胞核变形;E. 线粒体空泡化;F. 染色质浓缩、边集; A,B为HE染色,标尺为 $50 \mu m$;C,D,E,F为透射电镜,C的标尺为 $5 \mu m$,D,E,F的标尺为 $1 \mu m$

A. Lens epithelial cells arranged in perfect order and nuclear dyed uniformly in control group; B. Lens epithelial cells derangement and nuclear pigmenting uneven; C. Lens epithelial cells maintained normal form, and regular hexagon structure of lens fibers can be observed in control group; D. Lens epithelial cells shrunk nuclear deformation; E. The mitochondria vacuolate; F. chromatin condensed and marginalized. Fig. 3 A, B represent HE stain, scale bar = $50 \mu m$; Fig. 3 C, D, E, F represent TEM; C scale bar = $5 \mu m$, D, E, F scale bar = $1 \mu m$

图3 晶状体光镜和电镜图

Fig. 3 Photos of lens observed by HE stain and TME



3.2 白内障的发病机制较为复杂,是机体内多种因素对晶状体长期综合作用的结果。其众多因素中自由基损伤是各种致白内障因素作用的共同途径,由自由基引起的晶状体氧化损伤及生化改变是对晶状体产生损伤的主要机制^[14]。机体在维持细胞正常功能过程中不停地制造自由基,同时有一定数量

的抗氧化物质保护其免受氧化损伤,生理状态下二者处于动态平衡。但在体内外其它因素的影响下,平衡状态会被破坏,导致晶状体自由基产生过多,局部浓度过高,从而产生对晶状体的损伤作用^[15]。主要表现在对脂质、蛋白质、DNA等的损伤:(1)晶状体细胞内的生物膜由脂质组成,含多价不饱和脂肪酸,极易受到自由基的攻击而产生过氧化反应,生成大量的过氧化产物。膜脂质的过氧化作用,可导致膜的流动性发生改变,通透性升高,细胞内外离子分

布异常。(2)蛋白质是晶状体的重要组成成分,自由基和 MDA 可处理氨基酸残基,可引起蛋白质结构和空间构象变化,导致蛋白质的交联、聚合和肽链的断裂,亦可使蛋白质和脂质结合形成聚合物,从而使蛋白质功能丧失,晶状体浑浊。(3)自由基可通过多条途径作用于 DNA,包括与碱基发生加成反应而造成对核苷、糖苷的氧化改变;从核酸戊糖中夺取氢离子而引起 DNA 的氢键断裂、碱基降解和主链解旋。这些损伤可引起细胞的生物学活性改变,导致基因突变,细胞凋亡、死亡。

3.3 根据临床结果表明,造模后第 2 周晶状体就能出现症状且混浊面积随时间的延长逐渐增加,2 个月内到达完全混浊,模型成模较快,且能够保持稳定。对照组晶状体未出现空泡化等混浊情况。用裂隙灯检查晶状体的混浊度,并依据国际标准分级,这一方法能够直接反映模型建立的成功与否。用裂隙灯观察发现早期前囊下白内障的空泡状形态与以往报道的自然发病的年龄相关性白内障相似^[16]。

3.4 电镜超微结构的观察是诊断细胞凋亡最可靠的指标^[17]。早在 1972 年 Kerr 等^[18]首先报道了动物组织细胞凋亡的形态学特点,即细胞首先变圆,随即与邻近细胞脱离,失去微绒毛;胞浆浓缩,内质网扩张呈泡状并与细胞膜融合;线粒体无明显变化;核染色质密度增高,呈半月形,并凝聚在核膜周围;核仁裂解,核固缩;进而细胞膜内陷将细胞自行分割为多个内涵物包裹在膜组织中不外泄的细胞凋亡小体。本试验通过 TME 观察对照组上皮细胞形态正常,相邻细胞及晶状体囊紧密相连,晶状体纤维形态规则,呈六边形,与光镜观察结果一致。模型组晶状体中可观察到晶状体上皮细胞固缩变形,线粒体肿胀,细胞内有大量的空泡,染色质凝聚边缘化,呈马蹄状。这与 Kerr 等的报道一致,可定性的判断晶状体上皮细胞发生凋亡。通过电镜观察结果可以证明氧化损伤在细胞凋亡中发挥重要的作用,与 Yao 等^[19]报道一致。

3.5 T-SOD 和 GSH-Px 是晶状体中最主要的抗氧化酶,在晶状体中起到清除自由基并参与其他各种代谢活动^[20]。T-SOD 属金属蛋白酶,主要位于晶状体上皮中,能特异性地清除氧化还原反应的第一个产物超氧自由基($O_2 \cdot^-$),保护细胞免受损伤。GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的催化 H_2O_2 分解的酶,它特异地催化还原型谷胱甘肽对 H_2O_2 的还原反应,可以起到保护细胞膜结构和功

能完整的。已有文献表明在年龄相关性白内障房水中 GSH-Px、T-SOD 的水平明显降低^[21]。本研究结果表明,模型组中晶状体 T-SOD 为 4.528 ± 0.059 ,较对照组 32.107 ± 1.828 显著降低($P < 0.01$);模型组 GSH-Px 为 16.002 ± 0.368 ,较对照组 86.026 ± 4.198 有显著降低($P < 0.01$),与房水中含量变化趋势一致。脂质过氧化是反映氧化损伤的重要依据,晶状体膜不饱和脂肪酸支链的过氧化反应是白内障发生的重要机制之一^[22],MDA 则是反应脂质过氧化水平的主要指标。MDA 是自由基攻击生物膜多不饱和脂肪酸而引发的脂质过氧化反应的终产物,丙二醛二烯扼合物可与晶状体蛋白上的氨基酸活性基团形成具有荧光性的 Schiff 碱基交联和分子凝聚蛋白质,导致晶状体混浊。本试验结果表明:模型组晶状体的 MDA 水平 13.615 ± 0.251 ,较对照组 4.591 ± 0.184 显著升高($P < 0.05$)。这与 T-SOD 和 GSH-Px 的降低水平一致。通过上述 3 个指标的测定表明注射 Fenton 溶液能降低晶体的抗氧化能力,导致氧化产物的积聚,从而诱发白内障的形成。

3.6 本试验根据白内障发病机理之一氧化损伤学说而造模,本模型评价体系的建立,依赖于临床症状、形态学特征和晶状体生化指标测定。本试验测定晶状体的 SOD、GSH-Px 和 MDA 这 3 个指标,很好的说明了氧化损伤能够引起白内障的发生,对模型评价具有说服力。

综上所述,本试验用 Fenton 液成功建立犬老年性白内障疾病模型,且模型具有诱发快、成模时间短、成模稳定的特点,适宜临床与基础研究。用裂隙灯观测晶状体的浑浊度能直观反映白内障模型建立成功与否。SOD、GSH-Px 和 MDA 这 3 个指标可反映出犬老年性白内障模型氧化损伤的程度。本试验从临床症状的表现、组织学观察、生化指标的测定三个方面,成功制定出一套该模型的评价体系^[22]。但是对于犬老年性白内障的发病机理还有待于做出更深入的研究。

参考文献:

- [1] FOSTER A, GILBERT C, JOHNSON G. Changing patterns in global blindness: 1988-2008[J]. *Community Eye Health*, 2008, 21(67): 37-39.
- [2] PARK S A, YI N Y, JEONG M B, et al. Clinical manifestations of cataracts in small breed dogs[J].

- Vet Ophthalmol*, 2009, 12(4): 205-210.
- [3] YAO K, ZHANG L, YE P P, et al. Protective effect of magnolol against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in human lens epithelial cells[J]. *Am J Chin Med*, 2009, 37(4): 785-796.
- [4] 尹沂, 阴正勤. Long Evans 和 Wistar 大鼠亚硒酸钠诱导白内障模型的比较[J]. 西南国防医药, 2009, (6): 573-575.
- [5] KOLOSOVA N G, LEBEDEV P A, AIDAGULOVA S V, et al. OXYS rats as a model of senile cataract[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2003, 136(4): 415-419.
- [6] 廖允军, 王成友, 张阳德, 等. 丝裂原调控子 CDC20 在 EGR1 基因敲出鼠模型中诱导表达的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2004, (5): 19-23.
- [7] 陈燕. 茶性白内障的氧化机制及液体纯牛奶对其作用研究[D]. 上海: 复旦大学, 2010.
- [8] 夏楠, 姚华, 王雪乔, 等. 超声乳化术对白内障模型犬的治疗研究[J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(12): 1629-1635.
- [9] 黄秀榕, 祁明信, 汪朝阳, 等. 四种归肝经明目中药防护晶状体氧化损伤和上皮细胞凋亡的研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, (4): 411-416.
- [10] CHYLACK L J, LESKE M C, MCCARTHY D, et al. Lens opacities classification system II (LOCS II) [J]. *Arch Ophthalmol*, 1989, 107(7): 991-997.
- [11] KARBASSI M, KHU P M, SINGER D M, et al. Evaluation of lens opacities classification system III applied at the slitlamp[J]. *Optom Vis Sci*, 1993, 70(11): 923-928.
- [12] BASSNETT S. On the mechanism of organelle degradation in the vertebrate lens[J]. *Exp Eye Res*, 2009, 88(2): 133-139.
- [13] HUANG L, ESTRADA R, YAPPERT M C, et al. Oxidation-induced changes in human lens epithelial cells. 1. Phospholipids[J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 41(9): 1425-1432.
- [14] 吴箬漪, 栾洁. 白内障与氧化损伤[J]. 现代医学, 2010, (3): 306-310.
- [15] 胡建章. 自由基与白内障的关系研究进展[J]. 国外医学(眼科学分册), 2003, (1): 45-49.
- [16] SIDDIQUE M A, TIWARY B K, PAUL S B. Phospholipid and protein contents of lens proteolipids in human senile cataract[J]. *Eye (Lond)*, 2010, 24(4): 720-727.
- [17] 庞辰久. 老年性白内障晶状体上皮细胞超微结构的观察[J]. 中国实用眼科杂志, 2002, (9): 663-666.
- [18] KERR J F, WYLLIE A H, CURRIE A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. *Br J Cancer*, 1972, 26(4): 239-257.
- [19] YAO K, YE P, ZHANG L, et al. Epigallocatechin gallate protects against oxidative stress-induced mitochondria-dependent apoptosis in human lens epithelial cells[J]. *Mol Vis*, 2008, 14: 217-223.
- [20] VIRGOLICI B, STOIAN I, MUSCUREL C, et al. Systemic redox modifications in senile cataract[J]. *Rom J Intern Med*, 2009, 47(3): 279-287.
- [21] 陈星, 刘黎明. 老年性白内障患者房水中氧化应激物质含量的测定[J]. 眼科新进展, 2011, (4): 341-344.
- [22] GARTAGANIS S P, GEORGAKOPOULOS C D, PATSOUKIS N E, et al. Glutathione and lipid peroxide changes in pseudoexfoliation syndrome [J]. *Curr Eye Res*, 2005, 30(8): 647-651.

(编辑 白永平)