

· 论著 ·

# 眼内灌注液对鼠视网膜神经上皮层细胞活力影响的体外实验研究

姚进 黎晓新 万有 薛冰 周慧芳

**【摘要】目的** 比较不同眼内灌注液对视网膜神经上皮层细胞活力及抗氧化作用的影响,以寻找理想的眼内灌注液。**方法** 原代培养新生大鼠视网膜神经上皮层细胞分为 A、B、C、D、E 组,其中 A 组为对照组,为含血清 DMEM/F12 培养液,其余 4 组分别用 BSS plus、BSS plus + 药物(妥布霉素 16 000 U/L、地塞米松 16 mg/L 和盐酸肾上腺素 1 mg/L)自制灌注液和乳酸林格液 + 药物 4 种眼内灌注液,分别孵育细胞 4、12、24、48 h 后,检测各组细胞线粒体琥珀酸脱氢酶活性、乳酸脱氢酶(LDH)释放率和细胞凋亡的阳性率。在不同灌注液中加入 30 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,诱导细胞氧化损伤 4 h 后检测各组细胞的脂质过氧化物分解产物丙二醛(MDA)的含量。**结果** 各灌注液组细胞线粒体琥珀酸脱氢酶活性随时间延长呈下降趋势,LDH 释放率和凋亡阳性率呈上升趋势( $P < 0.05$ )而同一时间点不同组对细胞活力影响由小到大为:B 组、C 组、D 组和 E 组,其中 C 组和 D 组差异无显著意义( $P > 0.05$ )。在抗氧化作用方面,B 组、C 组和 D 组的细胞内 MDA 含量明显少于 E 组( $P < 0.01$ ),且 3 组之间差异无显著意义( $P > 0.05$ )。**结论** 自制灌注液在乳酸林格液中添加了碳酸氢盐、葡萄糖、氧化型谷胱甘肽及药物妥布霉素、盐酸肾上腺素、地塞米松后,除具有与 BSS plus 液相似的抗氧化能力和缓冲能力外,还提供了更多的能量来源和抗感染、抗炎、扩瞳的作用,与加入了药物后的 BSS plus 液对细胞活力的影响作用基本相似,并且价格便宜,具有很好地开发应用前景。(中华眼科杂志,2004,40:453-458)

**【关键词】** 灌注; 局部; 等渗溶液; 视网膜; 神经元; 细胞培养; 细胞凋亡; 抗氧化剂

**In vitro experimental study of the effects of different introcular irrigating solutions on the viability of rat retinal neuron cells** YAO Jin\*, LI Xiao-xin, WAN You, XUE Bin, ZHOU Hui-fang. \* Department of Ophthalmology, People Hospital of Peking University, Beijing 100044, China  
Corresponding author: YAO Jin, Email: jsnjyao@sohu.com

**【Abstract】 Objective** To observe the effects of different introcular irrigating solutions on the viability of retinal neuron cells, their antioxidant ability, and to find the ideal introcular irrigating solution.  
**Methods** Retinal neuron cells from Sprague Dawley rats(postnatal 1-3 days) were cultured in the 4 different introcular irrigating solutions which were BSS plus, BSS plus + drugs(tobramycin 1.6 ten thousand unit/L, desamethasone 16 mg/L and adnephrin 1 mg/L), new irrigating solution and lactated Ringer's solution + drugs. Cell viability was determined by MTT[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay, LDH release was tested by LDH assay and apoptotic cell death was evaluated by the TUNEL(TdT-mediated dUTP nick-end labeling) assay after retinal neuron cells were cultured in the different introcular irrigating solutions for 4, 12, 24, 48 hours. MDA(malondialdehyde) production was tested after the cells exposed to 30 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 4 hours. All data was analyzed in Dunnett's ANOVA way.  
**Results** The cell viability was decreased and the rate of LDH released and cell apoptosis was increased. These effects were shown to be time-dependent for the same solution. At the same time point, the effects on cellular survive was variable in deferent introcular irrigating solutions, BSS plus is the lowest, BSS plus + drugs and modified irrigating solution are midst, and lactated Ringer's solution + drugs is the highest. The result of MDA assay showed that both BSS plus and modified irrigating solution can inhibit the oxidative damage induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.  
**Conclusion** Modified introcular irrigating solution may be an better introcular irrigating solution according to its little effect on cell viability, its antioxidant function and lower cost.( Chin

*J Ophthalmol* , 2004 , 40 : 453-458 )

【Key words】 Perfusion , regional ; Isotonic solutions ; Retina ; Neurons ; Cell culture ; Apoptosis ; Antioxidants

以往灌注液对视网膜影响的研究多集中于在体视网膜电生理<sup>[1]</sup>、糖酵解速率改变<sup>[2]</sup>等的研究。由于视网膜神经上皮层细胞直接与灌注液接触,故对其活力的影响是观察灌注液的重要指标。随着玻璃体手术适应证的不断扩大,使得眼内灌注液中需添加抗生素、糖皮质激素等药物达到抗炎抗增生的作用,本研究的目的是研究眼内灌注液是否会影响视网膜神经上皮层的生物活性和功能。

本研究对目前国内临幊上常用的眼内灌注液——乳酸林格液进行了改良,并以此为实验处理对象,在离体培养的单一条件下,从细胞内琥珀酸脱氢酶和乳酸脱氢酶的改变、细胞凋亡及抗氧化作用几个方面,比较了自制灌注液与 BSS plus 和乳酸林格液对新生大鼠视网膜神经上皮层细胞的活力影响。

## 材料与方法

### 一、实验动物

出生 1~3 d 的标准实验用 Sprague-Dawley( SD ) 乳鼠,由北京医科大学动物中心提供,标准号为清洁级。

### 二、试剂和仪器

DMEM/F12 培养液( 美国 GIBCO 公司产品 ), BSS plus( 美国 Alcon 公司产品 ) 嘉唑蓝( MTT )( 美国 Sigma 公司产品 ) 与氧化型谷胱甘肽( GSSG )( 瑞士 Roche 公司产品 ), 乳酸脱氢酶( lactate dehydrogenase LDH ) 试剂盒( 首都医科大学附属宣武医院药理研究室提供 ), 丙二醛( malondialdehyde , MDA ) 试剂盒( 购自南京建成生物研究所 ), TUNEL 试剂盒( 北京大学医学部病理系提供 ), 752 紫外光栅分光光度计, BIO-RAO model 550 microplate reader 酶标仪, Leica DMIPB 图像分析系统。

### 三、大鼠视网膜神经上皮层细胞原代培养

出生 1~3 d 的 SD 乳鼠,浸泡于体积分数为 75% 的乙醇中处死,无菌状态下挖出眼球,去除角膜、晶状体和玻璃体,钝性分离出视网膜神经上皮层并去除血管层,把视网膜剪成小块, 0.125% 胰蛋白酶 37°C 消化 20 min, 再加入等量含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液终止消化, 1000 转/min 离心 5 min, 弃上清液, 加入含血清培养液吹打数次, 过

400 目筛网, 调整细胞密度为 10<sup>6</sup> 个/ml, 分别以每孔 2 × 10<sup>6</sup> 、 4 × 10<sup>5</sup> 和 10<sup>5</sup> 个/孔的密度接种于 6 孔、 24 孔( 内置用 12.5 μg/ml Poly-D-lysine 包被过夜的圆形玻璃片 ) 和 96 孔培养板内, 入 37°C 、体积分数为 5% 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。 24 h 后加入 10 μmol/L 的阿糖胞苷( Ara-c ) 以抑制非神经细胞的增殖, 作用 24 h 后换半量液, 其后 2 d 换液 1 次<sup>[3]</sup>。

### 四、分组方法

培养 7 d 后, 用 4 种不同灌注液替换含血清 DMEM/F12 培养液继续培养。共设 5 组, A 组为对照组( 为含血清 DMEM/F12 培养液 ), B 组为 BSS plus 液, C 组为 BSS Plus + 药物, D 组为自制灌注液, E 组为乳酸林格液 + 药物( 各组主要成分见表 1 ), 分别对各组作用后 4 、 12 、 24 及 48 h 进行检测。

### 五、琥珀酸脱氢酶活性测定

吸出培养液, PBS 洗 1 次, 96 孔板中每孔加入 100 μl MTT 37°C 继续孵育 4~6 h, 再每孔加入助溶剂( 10% Triton-100 、 50% 异丙醇、 40% 蒸馏水 ) 100 μl, 37°C 过夜, 570 nm 处测定吸光度( A ) 值, 无细胞孔为空白对照。每组 6 孔, 每个时间段重复 3 次。

### 六、乳酸脱氢酶释放率的测定

对照组用无酚红不含血清的 DMEM/F12 培养液替换原培养液, 其余各组分别用相应的灌注液替换原培养液 100 μl/ 孔, 培养 4 、 12 、 24 和 48 h 后, 吸出培养上清液, 按操作程序进行细胞外 LDH 的测定, 弃培养板内培养液, 加入 100 μl/ 孔 0.1% 的 Triton 溶液孵育 30 min, 吸出上清液后进行细胞内 LDH 测定, 490 nm 波长处测定 A 值。 LDH 释放率为细胞外 LDH / 细胞总 LDH ( 细胞外 LDH + 细胞内 LDH ) 。每组 6 孔, 每个时间段重复 3 次。

### 七、细胞凋亡原位检测

吸出培养液, PBS 洗 2 次, 新鲜配制的 4% 多聚甲醛固定 10 min, PBS 室温下洗 3 次, 每次 5 min, 0.3% Triton X-100 室温 10 min, 其后按操作程序进行, 用带碱性磷酸酶的抗地高辛抗体标记, NBT-BCIP 染色, 蛋白甘油封片。各实验组每个时间点均制备 3 张细胞原位凋亡标本, 采用图像分析系统对每张玻片计数 500 个细胞, 得出其中染色阳性细胞数所占平均百分数。

### 八、细胞内 MDA 含量测定

表 1 各组不同眼内灌注液的组成成分

灌注液成分	A 组 Aqueous <sup>[4]</sup> ( μmol/ml )	B 组 BSS Plus ( μmol/ml )	C 组 BSS Plus + 药物 ( μmol/ml )	D 组 自制灌注液 ( μmol/ml )	E 组 乳酸林格液 + 药物 ( μmol/ml )
氯化钠	118.5	122.2	122.2	102	102
氯化钾	3.9	5.08	5.08	4.00	4.00
碳酸氢钠	28	25	25	13	
氯化钙	1.3	1.05	1.05	3.00	3.00
葡萄糖	2.9	5.11	5.11	22.2	
磷酸二氢钠	0.4	3	3		
六水氯化镁	0.8	0.98	0.98		
氧化型谷胱甘肽	0.0001	0.3	0.3	0.3	
乳酸钠	4.7			28	28
维生素 C	1.2				
肌酐	0.04				
蛋白质	2.1				
尿素	6.1				
pH 值	7.49	7.4	7.4	7.4	6.6
渗透压( mOsm )	301	305	305	305	259
药物					
盐酸肾上腺素( mg/L )			1	1	1
妥布霉素( 万单位/L )			1.6	1.6	1.6
地塞米松( mg/L )			16	16	16
pH 值		7.4	7.3	7.3	6.3

注 : 表内空项为不含此成分

不同灌注液孵育细胞 1 h 后 , 再加入 30 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用 4 h , 收集细胞 , PBS 洗涤 2 次 , 生理盐水调整细胞密度为 10<sup>7</sup> 个/ml , 反复冻融 3 次 , 硫酸巴比妥酸法测定 MDA 含量。 752 紫外光栅分光光度计 532 nm 波长测 A 值。

### 九、统计学方法

所有数据以均值 ± 标准差形式表示 , 均经 SPSS 10.0 统计软件包进行统计学 Dunnett's T<sub>3</sub> 方差分析。

## 结 果

### 一、形态学观察

倒置相差显微镜观察 , 视网膜神经上皮层细胞 4 ~ 6 h 开始贴壁 , 24 h 基本完全贴壁 , 细胞呈圆形单层排列 , 部分聚集成团 , 少数细胞膜上伸出短小突起 , 72 h 后细胞突起增多并伸长 , 部分突起相互连接 , 细胞趋于聚集生长 ; 培养 1 周时 , 可见稍大扁平折光略低的神经胶质细胞紧贴在玻片上 , 而立体感强折光高的各种神经元细胞胞体明显 , 突起伸展 , 贴附在神经胶质细胞上或直接生长于玻片上 , 2 周后 , 细胞折光降低 , 细胞数减少 ( 图 1 ~ 4 ) 。培养 7 d 后改换不同灌注液继续培养 , 形态上各组间无明显差异。

### 二、线粒体琥珀酸脱氢酶活性的改变

各灌注液组 A 值随时间延长呈下降趋势 ; 同一时间点各灌注液组视网膜神经细胞在 570 nm 处的 A 值均较 A 组有明显下降 ( P < 0.05 ) , 吸光度由高到低依次为 B 组、C 组、D 组和 E 组 , 其中 C 组与 D 组之间差异无显著意义 ( P > 0.05 ) , 余均两两比较 , 差异有显著意义 ( P < 0.05 ) 。随作用时间延长 , 各灌注液组视网膜神经细胞活力呈下降趋势 , 除 DMEM/F12 组外 , 各组在不同时间段的细胞活力差异均有显著意义 ( P < 0.05 ) ( 表 2 )。

### 三、乳酸脱氢酶活性的改变

各灌注液组 LDH 释放率随时间延长呈上升趋势 , 同一时间点各组 LDH 释放率由低到高依次为 : A 、 B 、 C 、 D 和 E 组 , 其中 A 、 B 组间 , C 、 D 组间的差异无显著意义 ( P > 0.05 ) , 余两两比较 , 差异均有显著意义 ( P < 0.05 ) ( 表 3 )。

### 四、不同时间点各组细胞凋亡情况

各灌注液组细胞凋亡的阳性率随时间延长呈增高趋势 , 同一时间点不同灌注液组中视网膜神经细胞的凋亡阳性率均较 A 组高 ( P < 0.01 ) , 由高到低依次为 E 组、D 组、C 组和 B 组 , 其中 D 组和 C 组间的细胞凋亡阳性率差异无显著意义 ( P > 0.05 ) , 余均两两比较 , 差异均有显著意义 ( P < 0.01 ) ( 表 4 ; 图 5 6 )。

表 2 各组视网膜神经上皮层细胞 MTT 作用不同时间后 A 值比较(  $\bar{x} \pm s$  )

组别	4 h	12 h	24 h	48 h	F 值	P 值
A 组	0.1026 ± 0.0031	0.0983 ± 0.0021	0.0960 ± 0.0020	0.0933 ± 0.0015	9.394	>0.05
B 组	0.0896 ± 0.0021	0.0853 ± 0.0021	0.0787 ± 0.0015	0.0753 ± 0.0023	30.66	<0.05
C 组 *	0.0877 ± 0.0031	0.0740 ± 0.0017	0.0680 ± 0.0026	0.0580 ± 0.0026	70.09	<0.05
D 组 *	0.0873 ± 0.0035	0.0743 ± 0.0021	0.0690 ± 0.0031	0.0623 ± 0.0025	42.09	<0.05
E 组	0.0785 ± 0.0015	0.0600 ± 0.0010	0.0500 ± 0.0046	0.0453 ± 0.0015	102.25	<0.05
F 值	29.704	121.331	113.544	221.607		
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		

注 : \* 两组之间比较  $P > 0.05$

表 3 不同眼内灌注液组不同时间段视网膜神经细胞 LDH 释放率比较(  $\bar{x} \pm s$  , % )

组别	4 h	12 h	24 h	48 h	F 值	P 值
A 组 *	1.83 ± 0.24	5.67 ± 0.43	7.50 ± 0.21	11.62 ± 0.28	181.635	<0.05
B 组 *	3.63 ± 0.32	7.37 ± 0.09	9.53 ± 0.38	12.54 ± 0.24	130.042	<0.05
C 组 **	7.63 ± 0.37	17.30 ± 0.55	29.00 ± 0.87	34.10 ± 1.40	167.913	<0.05
D 组 **	7.10 ± 0.32	18.30 ± 0.53	30.43 ± 0.49	32.47 ± 1.26	250.939	<0.05
E 组	13.33 ± 0.12	27.97 ± 0.76	37.63 ± 0.78	43.60 ± 0.97	265.754	<0.05
F 值	110.410	302.556	484.415	365.432		
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		

注 : \* 两组之间比较  $P > 0.05$  , \*\* 两组之间比较  $P > 0.05$  , \* 与 \*\* 之间比较  $P < 0.05$

表 4 不同眼内灌注液组视网膜神经细胞的凋亡率比较(  $\bar{x} \pm s$  , % )

组别	4 h	12 h	24 h	48 h	F 值	P 值
A 组	2.20 ± 0.40	3.67 ± 0.25	3.90 ± 0.66	4.83 ± 0.25	19.901	>0.05
B 组	4.27 ± 0.35	9.30 ± 0.36	11.90 ± 0.36	14.62 ± 0.45	398.430	<0.01
C 组 *	6.79 ± 0.28	14.27 ± 0.60	18.77 ± 0.40	24.81 ± 1.13	365.473	<0.01
D 组 *	7.17 ± 0.30	14.87 ± 0.67	18.50 ± 0.56	23.43 ± 0.57	440.866	<0.01
E 组	11.80 ± 0.60	24.03 ± 1.56	32.87 ± 1.43	37.23 ± 0.85	270.420	<0.01
F 值	236.664	247.617	550.473	810.388		
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注 : \* 两组之间比较  $P > 0.05$

## 五、30 $\mu\text{mol/L}$ $\text{H}_2\text{O}_2$ 作用 4 h 后各组细胞内 MDA 含量的改变

30  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  作用 4 h 后 ,A、B、C、D、E 组平均每个细胞内 MDA 含量分别为 ( 6.097 ± 0.395 )、( 3.303 ± 0.221 )、( 3.623 ± 0.182 )、( 3.477 ± 0.133 )、( 6.403 ± 0.175 ) fmol。B、C 和 D 组的细胞内 MDA 含量明显少于 A 组与 E 组 ( $P < 0.01$ ) ; 而 B、C 和 D 组之间差异无显著意义 ( $P > 0.05$ )。

## 讨 论

近年视网膜神经上皮层细胞体外培养成功 , 使得对其进行离体研究成为可能<sup>[5]</sup>。我们在未加用神经营养因子的情况下成功地培养了乳鼠视网膜神经上皮层细胞 2 周 , 为本研究创造了良好的条件。灌注液在眼内的循环更新时间约为 48 h , 故本研究选用灌注液作用后的第 4、12、24、48 h 进行研究。  
万方数据

## 一、眼内灌注液对细胞活力的影响

琥珀酸脱氢酶和乳酸脱氢酶均为生物体活细胞产生的参与机体新陈代谢各种化学反应所必须的酶。琥珀酸脱氢酶位于活细胞线粒体中 , 在一定细胞数范围内 , MTT 结晶物形成的量与活细胞数成正比<sup>[6]</sup> 乳酸脱氢酶位于胞质中 , 它的释放显示了胞膜完整性的破坏和细胞的损伤<sup>[7]</sup> , 它们是细胞功能障碍的非形态学早期监测指标 , 而 TUNEL 法则从形态学上反应了细胞的早期凋亡。三者结合很好地显示了灌注液对视网膜神经上皮层细胞活性的影响。

1. 眼内灌注液较 DMEM/F12 培养液对视网膜神经上皮层细胞有不同程度的损伤 , 且随时间延长损伤作用加大。可能原因为 ( 1 ) 成分不同 : DMEM/F12 合成培养基中主要含有氨基酸、维生素、糖类、无机离子等成分 , 为细胞提供了一个近似体内生存环境 , 加入的血清中除了提供细胞生长的营养成分

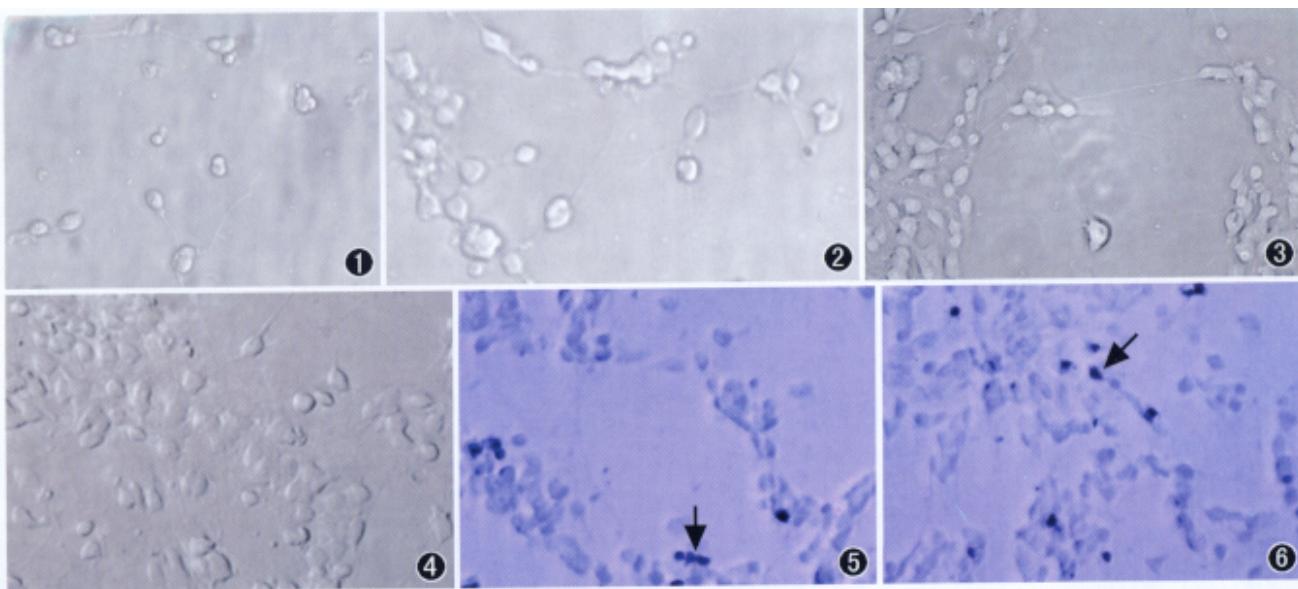


图 1 倒置相差显微镜观察 24 h 视网膜神经细胞基本完全贴壁, 呈圆形单层排列, 部分聚集成团, 少数细胞接种 24 h 后胞膜上伸出短小突起  $\times 400$  图 2 倒置相差显微镜观察 72 h 后, 细胞突起增多并伸长, 部分突起相互连接, 细胞趋于聚集生长, 有的呈串珠样排列  $\times 400$   
图 3 倒置相差显微镜观察, 培养 1 周后, 神经元胞体明显, 突起伸展, 有一个至多个, 粗细长短不等, 部分神经元的突起交织呈网状  $\times 400$   
图 4 倒置相差显微镜观察, 培养 2 周后, 细胞折光降低, 细胞数减少  $\times 400$  图 5 C 组孵育视网膜神经细胞 24 h, TUNEL 法检测细胞原位凋亡, 可见阳性细胞(箭头) LeicaDMIPB 图像分析系统  $\times 400$  图 6 D 组孵育视网膜神经细胞 24 h, TUNEL 法检测细胞原位凋亡, 可见阳性细胞(箭头) LeicaDMIPB 图像分析系统  $\times 400$

外, 还含有细胞增殖所必需的生长因子, 而灌注液中缺乏氨基酸、维生素, 尤其是生长因子, 生长因子的剥夺激活了胞质中的 Caspase 家族, 导致了视网膜神经细胞活力下降及凋亡<sup>[8]</sup>。因此, 眼内灌注液对细胞活力的影响要大于 DMEM/F12 细胞培养液。(2)添加物的影响:C、D、E 组灌注液中加入了妥布霉素、地塞米松和肾上腺素等药物, 这些添加的药物成分中均含有防腐剂和抗氧化剂, 后者也对视网膜有潜在的毒性作用<sup>[9]</sup>。

2. 各组灌注液对视网膜神经上皮层细胞活力影响的程度不同, 其中 BSS plus 液最小, 其次是自制眼内灌注液, 乳酸林格液最大。主要原因与它们所含的成分、缓冲能力和 pH 值不同有关:葡萄糖是视网膜神经细胞的主要能量来源, 含 20 mmol/L 葡萄糖<sup>[10]</sup>的眼内灌注液可使视网膜电图的 b 波振幅显著上升, 缺乏则会严重影响视网膜神经细胞的活力。碳酸氢盐是人眼房水的缓冲成分, 具有良好的缓冲能力, 20~25 mmol/L 的碳酸氢盐对维持正常视网膜电图非常重要<sup>[11]</sup>, 而低于 10 mmol/L 则会造成角膜水肿<sup>[12]</sup>。细胞生长所需的 pH 值为 7.2~7.4, 低于 7.1 即可使视网膜电图中的 b 波振幅迅速下降, 细胞在 pH 值下降的酸性环境和缺乏能量(葡萄糖)来源的刺激条件下, 氧自由基生成大大增加, 细胞发

生凋亡<sup>[13]</sup>。

BSS plus 液是以碳酸氢盐为缓冲系统, pH 值 7.4, 含有 5 mmol/L 葡萄糖; 自制灌注液是在乳酸林格液基础上添加了碳酸氢盐和 22 mmol/L 葡萄糖, pH 值调整为 7.4; 而乳酸林格液则是以乳酸盐为缓冲系统, 缓冲能力弱, pH 值为 6.6, 无葡萄糖。在加入 pH 值较低的妥布霉素后, 由于 BSS plus 液和新灌注液中有较强缓冲能力的碳酸氢盐缓冲系统, 二者 pH 值的下降明显小于缺乏碳酸氢盐缓冲系统的乳酸林格液。

## 二、自制灌注液的抗氧化作用

有研究表明, 许多眼部疾患, 如视网膜光损伤、青光眼和视网膜缺血等均可产生氧自由基<sup>[14]</sup>, 包括 ROOH、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等。这些氧自由基的积累若超出机体自身清除能力, 则可引发脂质过氧化作用, 形成丙二醛等脂质过氧化物破坏细胞膜的完整性。谷胱甘肽氧化还原体系是细胞内重要的氧自由基清除体系, 可以保护细胞膜和酶蛋白分子的-SH 基团, 防止细胞的氧化损伤<sup>[15]</sup>。因此在灌注液中加入性质稳定可以穿透组织的氧化型谷胱甘肽(GSSG), 可以增加机体清除氧自由基能力。本研究在自制灌注液中添加了安全剂量<sup>[16]</sup>的 0.3 mmol/L GSSG, 使其具有一定的清除氧自由基能力, 减少了 30 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导

氧化损伤后 MDA 的生成,证实了其确实可以增强细胞的抗氧化能力。

上述研究结果表明,自制灌注液除具有与 BSS plus 液相似的较理想的成分、抗氧化能力和缓冲能力外,还较 BSS plus 液提供了更多的能量来源和抗感染、抗炎、扩瞳的作用,对细胞损伤小,而且价格便宜,是一种前景良好的眼内灌注液,下一步有待进行动物实验和临床前期验证。

## 参 考 文 献

- 1 Honda Y. The importance of electrophysiological study as a basis of vitreous surgery. *Ophthalmology*, 1978, 20: 541-550.
- 2 Winkler BS. Buffer dependence of retinal glycolysis and ERG potentials. *Exp Eye Res*, 1986, 42: 585-593.
- 3 杨智宽,葛坚,刘海泉等. 大鼠雪旺细胞对视网膜神经细胞成活及突起生长的影响. 中山医科大学学报 2000, 21: 64-67.
- 4 Tedd R, Kimberly A, Robin S, et al. Intraocular irrigating solutions A randomized clinical trial of Balanced Salt Solution Plus and Dextrose Bicarbonate Lactated Ringer's Solution. *Ophthalmology*, 1995, 102: 291-296.
- 5 Araki M, Iida Y, Taketani S, et al. Characterization of photoreceptor cell differentiation in the rat retinal cell culture. *Dev Biol*, 1987, 124: 239-247.
- 6 鄂征. 组织培养和分子细胞学技术. 北京:北京出版社, 1995. 111.
- 7 Decker T, Lohmann-Matthes ML. A quick and simple method for the

quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. *J Immunol Meth*, 1998, 15: 61-69.

- 8 Ronald HF, Cynthia G. Apoptosis, neuroprotection, and retinal ganglion cell death: an overview. *Int Ophthalmol Clin*, 2001, 41: 111-130.
- 9 Mark L, Henry F, Howard M, et al. Ophthalmic irrigants: a current review and update. *Ophthalmic Surgery*, 1988, 19: 724-733.
- 10 Kim SY, Nao-i N, Honda Y. Effects of glucose and fructose added to the intraocular irrigating solutions on the rabbit ERG in vitro. *Metab Pediatr Syst Ophthalmol*, 1987, 10: 14-17.
- 11 Moorehead LC, Redburn DA, Merritt J, et al. The effects of intravitreal irrigation during vitrectomy on the electroretinogram. *Am J Ophthalmol*, 1979, 88: 239.
- 12 Hodson S. Evidence for a bicarbonate-dependent sodium pump in corneal endothelium. *Exp Eye Res*, 1971, 11: 20.
- 13 Barry SW, Michael TT. The pH of antibiotic vitreous infusion combinations: a potential cause of retinal toxicity. *Ophthalmol Surgery*, 1992, 23: 622-627.
- 14 Yan X, Yuhay T, Gerald W, et al. Protective effect of XY99-5038 on hydrogen peroxide induced cell death in cultured retinal neurons. *Life Sci*, 2001, 69: 289-299.
- 15 莫简. 医用自由基生物学导论. 北京:人民卫生出版社, 1989. 34-36.
- 16 Marcos MA, Cordero Y, Gomez E, et al. Inhibition of lipid peroxidation in retinal tissue during vitrectomy. Effect of intraocular irrigating solution BSS plus. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 2001, 76: 605-612.

(收稿日期 2003-08-12)

(本文编辑 郭维涛)

## · 读 者 · 作 者 · 编 者 ·

### 本刊对文稿中参考文献书写格式的要求

参考文献请按 GB 7714-87《文后参考文献著录规则》采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。尽量避免引用摘要作为参考文献。确需引用个人通讯时,可将通讯者姓名和通讯时间写在括号内插入正文相应处。参考文献中的作者,1~3 名全部列出,3 名以上只列前 3 名,后加“等”或其他与之相应的文字。外文期刊名称用缩写,以《Index Medicus》中的格式为准;中文期刊用全名。每条参考文献均须著录起止页。参考文献必须由作者与其原文核对无误。将参考文献按引用先后顺序(用阿拉伯数字标出)排列于文末。举例:

- 1 王宁利,周文炳,叶天才等.原发性闭角型青光眼的临床研究.中华眼科杂志,1995,31:133-136.
- 2 Schultz G, Jumblatt M, Woost P, et al. Growth factors and corneal endothelial cells: III. stimulation of adult human corneal endothelial cell mitosis invitro by defined miogenic agents. *Cornea*, 1992, 11: 20-27.
- 3 Martorina M. 应用多普勒声像检查法研究青光眼. 刘嫣芬,译. 国外医学眼科学分册,1988,12: 241-242.
- 4 汪敏刚. 支气管哮喘. 见 戴自英,主编. 实用内科学. 第 8 版. 北京:人民卫生出版社,1991. 833-840.
- 5 Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic physiology mechanisms of disease*. 8th ed. Philadelphia: Saunders, 1974. 457-472.

本刊编辑部