

文章编号:1671-7554(2002)04-0352-02

青光眼患者血清及房水一氧化氮浓度的测定及意义

申家泉^{1,2} 楚艳华² 康汝秀² 岳爱环² 刘真² 李琳² 王荣²

(¹ 山东大学医学院眼科教研室 ² 山东省立医院眼科)

【摘要】 目的 测定青光眼患者血清及房水一氧化氮(NO)浓度并探讨其在青光眼发病中的作用。方法 应用硝酸还原酶法测定各型青光眼患者(实验组)及白内障患者(对照组)血清及房水NO浓度。结果 两组患者血清NO浓度无统计学差异($P > 0.05$);实验组各青光眼类型之间血清NO浓度无差异($P > 0.05$);实验组房水NO浓度高于对照组($P < 0.01$),原发性开角型青光眼房水NO浓度低于对照组及其它类型青光眼组,闭角型青光眼房水NO浓度较对照组显著升高($P < 0.01$)。结论 开角型青光眼由于房角原生型一氧化氮合成酶(NOS)的减少引起房水NO浓度的降低,导致房水外流阻力增大,眼压升高可引起闭角型青光眼患者房水NO浓度升高,损伤小梁网及邻近的葡萄膜和视网膜组织。

【关键词】 青光眼;一氧化氮;血清;房水

【中图分类号】 R 775 **【文献标识码】** A

Detection of nitric oxide concentration in serum and aqueous humor of glaucoma patients

SHEN Jia-quan ,CHU Yan-hua ,KANG Ru-xiu , et al

(Dept. of Ophthalmology , School of Medicine , Shandong University)

ABSTRACT Objective : To measure the concentration of nitric oxide (NO) in serum and aqueous humor of the glaucoma patients and study its possible role in the pathogenesis of glaucoma. **Methods :** The NO concentration in serum and aqueous humor of glaucoma patient(test group) and cataract patient(control group) was detected by nitric acid reductase method. **Results :** No significant difference of NO concentration was found in serum between the two groups($P > 0.05$). The NO concentration in aqueous humor of primary open-angle glaucoma(POAG) was significantly lower than that of the control group($P < 0.01$) and the NO concentration of the angle-closure glaucoma(ACG) was significantly higher than that of the control group($P < 0.01$). **Conclusion :** For POAG , the decrease of NO concentration in aqueous humor may be caused by the decrease of constitutive nitric oxide synthase(NOS) in anterior chamber angle , which can cause higher outflow resistance of aqueous humor , this may account for one aspect of the pathogenesis of glaucoma. For ACG , the elevation of intraocular pressure can cause the increase of NO concentration in aqueous humor , and excessive NO can damage the trabecular meshwork , adjacent uvea and retina.

KEY WORDS Glaucoma ; Nitric oxide ; Serum ; Aqueous humor

一氧化氮合酶(nitric oxide synthase ,NOS)广泛分布于眼睫状肌、小梁网、Schlemm氏管、血管内皮及神经元中,内源性一氧化氮(nitric oxide ,NO)在青光眼的发病中起重要作用^[1]。我们用亚硝酸还原酶法测定了青光眼患者血清及房水中的NO浓度,并初步探讨NO在青光眼发病过程中的作用。

1 材料及方法

1.1 病例 实验组为1999年2月~2001年4月我院收治的青光眼患者59例(59只眼),男24例,女35例,34~65岁,均

行常规小梁切除术。其中原发性开角性青光眼(primary open angle glaucoma ,POAG)15例(18眼),原发性慢性闭角型青光眼(primary chronic angle-closure glaucoma ,PCACG)24例(32眼),原发性急性闭角型青光眼(primary acute angle-closure glaucoma ,PAACG)20例(24眼)。20例PAACG患者均有明确的大发作史,且来诊时虽经治疗眼压仍维持于50 mmHg以上超过12 h。

对照组选取1999年1月~2000年12月收治的老年性白内障患者30例(32只眼),男18例,女12例,46~68岁,对照组患者眼压均低于21 mmHg。

1.2 试剂与仪器 应用 TGL-16G 型台式高速离心机离心血液标本。采用亚硝酸还原酶法测定 NO 浓度, NO 试剂盒购自南京巨力生物工程研究所, 试剂的组成与配制: ① KNO₃ 标准 1 支, 100 μmol/L, 1.0 ml; ② 试剂 1, 磷酸缓冲液 1 瓶, 6.6 ml; ③ 试剂 2, 冻干品两瓶, 20 °C 保存, 临用前每瓶加 1.7 ml 双蒸水复溶, 此液为硝酸还原酶悬浮液; ④ 试剂 3, 1 瓶, 30 ml; ⑤ 试剂 4, 1 瓶, 30 ml。分光光度仪为 MultiskanIII (MK3) 酶标仪。

1.3 方法步骤

1.3.1 测量眼压 POAG、PCACG 及对照组患者入院后, 用 Schiötz 眼压计测量治疗前的眼压。对 PAACG 组患者取大发作后 12 h 以内的眼压均值, 静脉滴注甘露醇后 0.5 h 测量眼压, 其余时间每 1 h 测眼压一次。

1.3.2 采集血清标本 取研究对象术前空腹肘静脉血 2 ml, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 置于 -20 °C 冰冻待用。

1.3.3 采集房水标本 实验组患者均取常规小梁切除术的房水, 术中按常规做板层巩膜瓣, 于瓣下基底部透明角膜处用尖刀片划穿透前房, 用直径 1.5 mm 的钝针头进入前房, 缓慢抽取房水 0.15 ml, 20 °C 冰冻待用。对照组患者均行常规白内障囊外摘除及人工晶体植入术, 术中做好板层巩膜瓣后用 7.5 号针头行前房穿刺缓慢抽取 0.15 ml 房水, -20 °C 冰冻待用。上述操作中术区止血尽量彻底。

1.4 标本 NO 浓度的测定 ① 添加试剂测定管: 样品 0.1 ml, 试剂 1 0.1 ml, 试剂 2 50 μl; 标准管: KNO₃ 0.1 ml, 试剂 1 0.1 ml, 试剂 2 50 μl; 空白管: 双蒸水 0.1 ml, 试剂 1 0.1 ml, 试剂 2 50 μl。轻轻混匀, 37 °C 水浴 1 h; ② 各管均加 0.5 ml 试剂 3 和试剂 4, 混匀, 室温下放置 10 min, 540 nm 波长, 0.5 cm 比色杯, 空白管调零, 分别读取测定管和标准管消光值; ③ 应用荧光计数法测定硝酸盐含量, 计算 NO 水平。NO (μmol/L) = 样品消光值/标准管消光值 × 100 μmol。正常人血清 NO 浓度参考值 (65.70 ± 15.80) μmol/L。

2 结果

不同类型青光眼和对照组眼压、房水及血清 NO 浓度, 见表 1。

表 1 不同类型青光眼和对照组眼压、房水及血清 NO 浓度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	眼压 (<i>p</i> / mmHg)	房水 NO 浓度 (<i>c</i> / μmol·L ⁻¹)	血清 NO 浓度 (<i>c</i> / μmol·L ⁻¹)
对照组	16.69 ± 1.54	28.53 ± 2.55	68.27 ± 4.54
POAG	30.69 ± 2.95**	22.54 ± 3.23**	67.82 ± 4.34*
PCACG	39.89 ± 4.25**	37.93 ± 3.92**	67.23 ± 4.21*
PAACG	65.22 ± 5.82**	58.12 ± 4.43**	68.40 ± 3.23*

* *P* < 0.05 ** *P* < 0.01 vs 对照组

3 讨论

内源性 NO 是一种特殊的小分子活性物质, 极易通过细胞膜。一方面, 它是体内重要的信使物质, 参与调节内皮、神经、平滑肌的功能; 另一方面, 它带有不成对电子, 与超氧自由基有高反应性, 生成过

氧亚硝酸盐, 参与氧化损伤过程, 对组织细胞产生直接毒性作用^[2]。其作用的双重性与 NOS 亚型有关^[3,4]。一般将 NOS 分为结构型 NOS (constitutive nitric oxide synthase, cNOS) 及诱导型 NOS (induced nitric oxide synthase, iNOS)。

POAG 的主要病因是房角组织病变使房水外流阻力增加, 从而引起眼压升高, 进一步导致视神经损伤。生理情况下, cNOS 存在于小梁网、睫状肌、Schlemm 氏管, 由此产生的 NO 可以扩张小梁网, 松弛睫状肌, 减小房水外流阻力, 降低眼压。Nathanson 的研究表明, POAG 房角组织的 NOS 分布降低, 且大体结构均有显著性差异^[1]。本实验结果显示, POAG 房水 NO 浓度显著低于对照组, 与 Nathanson 的组织学研究结果相一致, 提示在 POAG 中, 可能由于房角组织 cNOS 的原发性减少, 使 NO 产生不足, 其减小房水外流阻力的作用下降, 从而促进青光眼高眼压的产生。

本实验结果表明, 原发性闭角型青光眼 (PACG) 房水 NO 浓度较对照组显著升高, 不同类型青光眼之间房水 NO 浓度及眼压水平亦不同, 且 NO 浓度有随眼压升高而增高的趋势。薛蔚等的研究亦表明, 在压力作用下, 培养的牛眼小梁细胞 iNOS mRNA 表达增加, 且增加呈压力依赖性^[5]。因此眼压可以作为刺激因素诱导 iNOS 的大量合成。PACG 的房角病变多是发生于高眼压、炎症、粘连后的继发性改变, 故可能不存在 cNOS 的原发性不足, 它在急性或慢性较高眼压状态下, 可诱导产生大量的 NO, 生成过氧亚硝酸盐产物, 损伤小梁网及邻近的葡萄膜及视网膜, 同时, 它还可以扩张虹膜及睫状体血管, 导致房水分泌增多, 形成恶性循环, 促进青光眼高眼压及视神经病变的发展^[5]。因此, 应用选择性 iNOS 抑制剂可能会降低眼压, 保护视神经。

Haefliger 等认为, 人眼在正常循环状态下, 可能由于 NO 的作用而保持血管的持续舒张状态^[6]。Neufeld 研究了有着进行性青光眼性视乳头损害病人的视乳头切片中 NOS 异构体的分布, 结果表明, cNOS 及 iNOS 均增多, 视乳头处于过多的 NO 作用下。血管内皮源性 NOS (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 为 cNOS 中的一种, 它的增高直接引起视网膜中央动静脉血管内 NO 含量增多, 从而扩张血管, 增加高眼压状态下的眼血流, 保护视神经^[3]。本实验测定了肘静脉血中 NO 浓度, 结果与对照组无统计学差异, 可能与视网膜血管内 NO 的升高未足以引起体循环 NO 浓度改变有关。

(下转第 355 页)

手术成功,手术成功率 58.8%。成功病例血管闭塞时间最长为 16 个月,平均 8.12 个月。其中 LAD 病变成功率 50%(3/6),LCX 病变成功率 71%(5/7),RCA 病变成功率 62.5%(5/8)。

2.2 术中及术后并发症 1 例冠状动脉旋磨术后造影显示远端血栓影,经反复球囊扩张后消失。3 例在旋磨过程中出现冠脉痉挛,经注射硝酸甘油后缓解。未成功病例中,2 例冠脉穿孔,6 例因导丝不能通过病变而失败,未引起严重并发症,无 1 例死亡。术后 2 例出现 CK-MB 升高,但未超过正常值的 2 倍,无 ST-T 改变,经抗凝抗栓治疗后 24 h 恢复正常。无急性心肌梗死发作及死亡病例。

3 讨论

冠状动脉完全闭塞病变占冠状动脉病变的 25%左右,占介入治疗的 15%以上。对于完全闭塞病变实施介入治疗,我们遵循的原则是:通过辅助检查如超声心动图、运动负荷试验确定闭塞血管供血区域有存活心肌,与心绞痛症状有关,对提供侧支供应的血管行介入治疗,为减少并发症,提高成功率而对其先行治疗。随着经皮冠状动脉成形术装置的改进,其对闭塞性冠脉病变手术成功率越来越高,但其成功率受多种因素的影响^[3],特别受闭塞时间的影响,因为闭塞时间越长,斑块机化或钙化程度越重,球囊难以通过或通过后不易扩张,甚至导致球囊破裂。冠状动脉旋磨术成功的关键在于指引导丝通过闭塞病变,指引导丝跨过病变后,旋磨导管从病变近端开始旋磨,不需要跨过狭窄。旋磨导管前有一橄榄状带有小金刚石颗粒的钻头,在旋磨过程中,能将斑块磨成细小颗粒^[4],进入血液循环后,被吞噬细胞清除,真正扩大了管腔,改变了血管的顺应性,减少

弹性回缩,达到重建血运的目的。这一特殊的机理使其在治疗慢性闭塞性冠状动脉病变时具有一定的优势。Mark H Anderson 等^[5]对 13 例完全闭塞血管实施冠状动脉旋磨术,其中 1 例闭塞时间超过 24 个月,获得了较好效果。本文 13 例成功病例中,10 例闭塞时间 > 3 个月,8 例 TIMI I 级患者包括 6 例导丝通过而球囊不能通过或球囊通过因斑块钙化较重致使 PTCA 失败者,冠脉旋磨术均获得了成功,显示了其对慢性闭塞血管病变治疗的有效性。

在对病变进行旋磨过程中,由于对正常管壁的刺激,易致冠脉痉挛,术中可持续滴注硝酸甘油,以避免痉挛发作。本研究 2 例术后出现心肌酶升高,与一次旋磨时间较长、旋磨下来的颗粒较多、引起远端小血管栓塞有关。采取间断操作,可减少上述并发症的发生。

参 考 文 献

- 1 The TIMI study group. Special report; the thrombolysis in myocardial infarction trial [J]. N Engl J Med 1985 ;312 :932
- 2 Fajadet J ,Doucet S ,Caill J et al. Coronary rotational ablation in complex lesion [J]. Circulation 1992 ;86 :511
- 3 马业新 张敬群 曾和松 等. 闭塞性冠状动脉病变 PTCA 成功率及影响因素 [J]. 中国介入心脏病学杂志 ,1999 ;7 :49
- 4 Warth DC ,Leon MB ,Neill W et al. Rotational atherectomy multicenter registry :Acute results ,complications and 6-months angiographic follow-up in 709 patients [J]. J Am Coll Cardiol ,1994 ;24 :641
- 5 Mark H Anderson ,David E Ward. Early experience with low speed rotational angioplasty [J]. Br Heart J ,1991 ;66 :130

(收稿日期 2002-01-10)

(上接第 353 页)

参 考 文 献

- 1 Nathanson JA ,Mckee M. Alteration of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci ,1995 ;36(9) :1174
- 2 Moncada S ,Palmer RMJ ,Higgs EA. et al. Nitric oxide :Physiology ,pathophysiology and pharmacology [J]. Pharmacol Rev ,1991 ;43(2) :109
- 3 Neufeld-AH ,Rosario Hernandez ,Mirium Gonzalez. Nitric oxide synthase in the human glaucomatous optic nerve head [J]. Arch

Ophthalmol 1997 ;115 :497

- 4 Neufeld-AH ,Sawada A ,Becker B. Inhibition of nitric oxide synthase-2 by aminoguanidine provides neuroprotection of retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma [J]. Proc Natl Acad Sci USA ,1999 ;96 :17 ,9944
- 5 薛蔚 杜蜀华 李勇,等. 压力对牛眼小梁细胞诱导型一氧化氮合酶 mRNA 的表达及蛋白质合成的影响 [J]. 中华眼科杂志 ,2000 ;36 :295
- 6 Haefliger IO ,Flammer J ,Luscher TL. Nitric oxide and endothelin-1 are important regulators of human ophthalmic artery [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci ,1992 ;33 :2340

(收稿日期 2002-03-04)