

氧化应激对小梁网的损伤

孙瑞竹 综述 张绍丹 梁远波 审校

325027 温州医科大学附属眼视光医院(孙瑞竹、梁远波);110031 沈阳市第四人民医院眼科
沈阳市眼科研究所 沈阳市重点实验室(张绍丹)

通信作者:梁远波,Email:yuanboliang@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.04.019

【摘要】 青光眼是一组以视网膜神经节细胞(RGCs)丢失和视野缺损为特征的神经退行性疾病,其病理机制尚不完全清楚,眼压升高被认为是青光眼发生和发展最主要的危险因素。小梁网及 Schlemm 管是房水引流系统的主要组成部分,其结构或功能异常可引起房水流出的受阻而引起眼压升高。越来越多的证据表明,氧化损伤可能在人小梁网细胞凋亡、功能障碍及其他退行性改变过程中发挥作用。氧化损伤是体内氧化和抗氧化失衡,从而引起脂质过氧化反应、蛋白质变性、DNA 损伤等一系列组织病理损伤的过程。既往研究发现青光眼患者房水中氧化应激标志物水平升高,且氧化应激可引起小梁网细胞 DNA 氧化损伤、细胞内线粒体氧化损伤和炎症反应。本文就氧化应激在小梁网功能损伤中发挥的作用及可能的机制进行综述。

【关键词】 氧化应激;小梁网;青光眼

Oxidative injury on trabecular meshwork Sun Ruizhu, Zhang Shaodan, Liang Yuanbo

School of Optometry and Ophthalmology and Eye Hospital, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China (Sun RZ, Liang YB); Department of Ophthalmology, The Forth People's Hospital of Shenyang, Shenyang Eye Research Institute, Shenyang Key Laboratory, Shenyang 110031, China (Zhang SD)

Corresponding author: Liang Yuanbo, Email: yuanboliang@126.com

【Abstract】 Glaucoma is a group of neurodegenerative disease characterized by progressive retinal ganglion cells (RGCs) death and visual field defect. Although its pathological mechanism is unclear, elevated intraocular pressure is considered to be the main contributing factor. As the main components of the aqueous humor drainage system, the structural abnormalities, dysfunction of trabecular meshwork and Schlemm canals may cause aqueous humor outflow obstruction and result in elevated intraocular pressure. Increasing evidences suggest that oxidative stress is the key factor leading to the apoptosis, dysfunction of the human trabecular meshwork cell, and other progression of degenerative changes. Oxidative damage is an imbalance between the oxidative stress and anti-oxidative system, which leads to lipid peroxidation, protein denaturation and DNA damage. Previous studies showed that the level of oxidative biomarker was elevated in the aqueous humor of glaucoma patients. In addition, oxidative stress is thought contributing to the pathogenesis of DNA damage, mitochondrial dysfunction and inflammation in human trabecular meshwork cells. This review considered the contribution of oxidative stress on human trabecular mesh work dysfunction and its possible mechanisms.

【Key words】 Oxidative stress; Trabecular meshwork; Glaucoma

青光眼是一组以视网膜神经节细胞进行性丢失以及由此引起的视野缺损为主要特征的神经退行性病变或综合征,是世界范围内首位不可逆致盲眼病^[1]。目前,青光眼的病理生理及发病机制仍存在许多问题有待进一步研究。高眼压被认为是青光眼发生和发展的最主要危险因素之一^[2-3]。眼压的维持有赖于房水产生与房水排出之间的动态平衡。小梁网是房水引流系统的主要组成部分,小梁网结构或功能异常将引起房水流出阻力的增加进而导致眼压升高^[4]。青光眼发病过程中,小梁

网是氧化损伤最敏感的部位^[5]。有研究证明,随着年龄的增加,小梁网内氧自由基生成增多,导致小梁网氧化损伤逐渐加重,产生小梁网细胞外基质(extracellular matrix, ECM)堆积、细胞骨架改变、小梁内皮细胞数量减少、细胞凋亡以及细胞内线粒体、溶酶体等细胞器结构和功能的变化等一系列组织结构的改变^[6]。这些年龄相关性的小梁网改变与青光眼患者小梁细胞的改变相一致,因此有学者提出氧化应激可能在青光眼小梁网损伤中起关键作用^[4,7]。

氧化应激是指机体遭受各种有害刺激(如辐射、缺血、缺氧等)时体内产生过量高活性分子,如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS),体内氧化程度超出自身对氧化物的清除能力,氧化系统和抗氧化系统失衡,从而导致脂质过氧化反应、蛋白质变性、DNA 损伤等一系列组织病理损伤的过程^[8]。自由基的来源主要有 2 种:一种是由于物理因素,如可见光、紫外光照射或电离辐射产生;另一种在线粒体内经氧化磷酸化途径产生。氧化应激过程中的产物 ROS 包括超氧阴离子过氧化氢(H_2O_2)和羟自由基($\cdot OH$)等,RNS 包括一氧化氮(nitric oxide, NO)、过氧化亚硝酸盐等。

青光眼患者房水和小梁网内诱导型一氧化氮合酶(induced nitric oxide synthase, iNOS)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)、丙二醛等氧化应激标志物水平增加,维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽转移酶(glutathione transferase, GST)水平及总体抗氧化能力下降^[9-12],其中原发性开角型青光眼(primary open angle glaucoma, POAG)小梁网中 iNOS 表达水平及活性的增高与视野缺损程度呈正比^[13]。此外,青光眼患者小梁网细胞 DNA 氧化损伤水平与眼压增高水平、视野缺损程度之间也存在显著相关性^[14]。体外诱导小梁网细胞氧化应激反应可使其发生 ECM 堆积、细胞死亡、细胞骨架结构紊乱和炎症标志物释放等典型的 POAG 样改变^[15],而用抗氧化物(白藜芦醇、维生素 C 等)和降眼压物质(前列腺素类似物、 β 受体阻断剂和碳酸酐酶抑制剂等)预处理可明显减少小梁网细胞氧化损伤^[16-17],这些证据都提示氧化损伤可能是青光眼疾病发生和发展过程中的一个重要影响因素,通过应用抗氧化剂延缓青光眼疾病的发展进程在新型抗青光眼药物的研发上具有非常重要的意义。

1 前房氧化与抗氧化失衡

可见光和紫外线照射可引起眼前节内氧自由基和活性氧持续性增多,从而损伤小梁网和其他眼部组织,房水的抗氧化作用在此过程中起到了重要的屏障作用,这种氧化-抗氧化之间的平衡一旦被打破,小梁网等前房组织则可能受到不同程度的氧化损伤。Bagnis 等^[12]研究结果显示,POAG 患者房水中 iNOS 和谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)的含量分别较年龄相关性白内障对照组高 2.54 倍和 2.58 倍,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和 GST 含量分别下降 1/2 和 6/11。iNOS 的增高可以诱导机体产生过量的 NO,而 NO 可通过减少 Schlemm 管细胞体积影响小梁网房水的外流通道,增加房水流出量^[18]。此外, Schneemann 等^[19]发现,当眼内灌注压从 10 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)提高到 25 mmHg 时,NO 生成增加,iNOS 基因表达上调,因此小梁网内可能存在某种反馈机制用于调节眼压,在这个反馈调节系统中,眼压增高可引起 NO 生成增多,从而增加房水外流,使眼压趋于正常。然而,在氧化应激的微环境里,NO 可与 ROS,尤其是超氧阴离子反应,形成高细胞毒性的过氧亚硝基阴离子,从而加重小梁网内皮细胞的损伤,最终导致眼压升高^[12,20-21]。GS 催化谷氨酸合成谷氨酰

胺,是机体清除细胞外液中谷氨酸的重要蛋白酶^[22]。GS 的表达增加还可能与 RGCs 损伤^[23]或者谷氨酸对睫状体信号分子的潜在调节作用有关^[24]。

GST 家族可催化还原型谷胱甘肽与大量毒性物质的亲电子中心发生结合反应,具有重要的解毒功能^[25]。还原型谷胱甘肽是体内主要的内源性抗氧化剂,谷胱甘肽不足时, H_2O_2 堆积并作为一种活性氧物质产生细胞毒作用,降低小梁网细胞与 ECM 蛋白之间的黏附性,从而破坏小梁网的结构^[26-28]。GST 水平降低将导致其介导的对抗亲电子物质氧化损伤的能力变弱,从而对小梁网细胞的活力和功能产生负面影响^[12]。SOD 是机体氧自由基代谢中关键的抗氧化酶,能够催化超氧阴离子通过歧化反应转化为 O_2 和 H_2O_2 ^[29]。 H_2O_2 可在体内过氧化氢酶或还原型谷胱甘肽的作用下进一步分解成 H_2O 和 O_2 。SOD 水平下降时,过多的超氧阴离子可直接损伤小梁内皮细胞,小梁网细胞成分的破坏则可直接影响 ECM 的生成和眼压的调节^[12]。但是 Goyal 等^[9]和 Ferreira 等^[10]的研究结果显示,青光眼患者房水中 SOD 和 GPX 水平较白内障组明显增高。GPX 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,可清除机体代谢产生的过多的 H_2O_2 。房水中 SOD 和 GPX 水平增高可能是由于机体在氧化应激时机体抗氧化能力的代偿性升高,以维持体内 $\cdot O_2^-$ 和活性氧浓度的稳定,从而减轻氧化应激对机体造成的损伤^[9]。此外, Nucci 等^[11]发现,POAG 患者房水中丙二醛(malonaldehyde, MDA)浓度比其年龄匹配的白内障患者显著升高,总抗氧化能力明显下降。MDA 是脂质过氧化反应的中间产物,MDA 水平增高提示体内氧化应激反应导致细胞膜出现了一定程度的脂质过氧化损伤。房水中这些氧化应激相关的酶类和生物标志物的改变证明,在青光眼发病过程中,氧化损伤在小梁网结构和功能损伤中起到了重要作用。

2 小梁网 DNA 氧化损伤及基因突变

氧化应激可从多个途径造成细胞 DNA 的损伤,包括 DNA 链的断裂、单核苷酸的氧化修饰、DNA 加合物的形成、不规则 DNA-DNA 和 DNA-蛋白质交联、脱嘌呤 DNA 的产生等,这些改变形成的碱基修饰产物都可能引起基因突变的产生^[30]。8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG)是羟自由基与脱氧鸟苷发生反应,引起其 C-8 位羟化生成的 DNA 氧化损伤修饰产物之一。8-OHdG 作为一种内源性致突变剂,可引起 G:C→T:A 突变。此外,氧化型 8-OHdG 可引起 G→T 和 G→C 突变^[30]。Saccá 等^[14]通过检测小梁网 8-OHdG 水平来评估 DNA 氧化损伤程度,结果表明 POAG 患者小梁网细胞 DNA 的氧化损伤程度明显高于对照组,进一步分析发现小梁网 8-OHdG 水平与视野缺损、眼压增高之间存在显著正相关。8-OHdG 是公认的 DNA 氧化损伤标志物,它作为一种代谢终产物,只能通过 DNA 氧化损伤途径形成,可在体内稳定存在,并且其在体液中的水平不受饮食等因素影响。机体通过碱基切除、核苷酸切除修复、错配修复及阻止结合等多种自我保护途径将其从 DNA 链上切除,并经肾脏随尿液排出体外,因此尿液中 8-OHdG 含量可很好地监测 DNA 的氧化损伤程度^[31-32]。

Yuki 等^[33]对 40 例正常眼压性青光眼患者进行 5 年的随访,观察体内氧化应激水平与视野缺损进展之间的关系,发现视野缺损进展组患者尿液中 8-OHdG 水平显著高于无视野缺损进展组患者。同时,多因素分析结果显示,尿液中 8-OHdG 水平较高是视野缺损进展的危险因素。

近年来,有部分研究开始从基因水平揭示小梁网组织氧化-抗氧化失衡的原因,这些研究有可能为揭示小梁网组织氧化损伤提供新的思路。CYP1B1 (cytochrome P450 family 1 subfamily B polypeptide 1) 属于细胞色素 P450 家族,可催化多种外源性物质和内源性物质的单加氧化反应^[34]。基因连锁分析和基因多态性分析证明,Cyp1b1 是原发性先天性青光眼的致病基因,但其具体机制尚不清楚^[35-37]。Zhao 等^[38]研究发现,与 Cyp1b1^{+/+}小鼠的平均眼压[(10.4±2.9) mmHg]相比,Cyp1b1^{-/-}小鼠平均眼压[(11.45±0.20) mmHg]升高了 10%,电子显微镜下 Cyp1b1^{-/-}小鼠小梁横梁出现多处萎缩灶,胶原纤维呈明显碎片状和不规则排列。基底膜处小梁网细胞间失去连接从而表现出细胞形态的不规则,同时小梁网表现出不同程度的细胞肿胀、细胞质液泡化和细胞质中细胞器碎片的堆积。此外,Cyp1b1^{-/-}小鼠小梁网对 H₂O₂ 损伤的敏感性和小梁组织内脂质过氧化水平增加,在应激状态下细胞生存能力下降,死亡细胞数目增多,同时 ECM 蛋白中骨膜蛋白表达水平下降,小梁细胞对 ECM 蛋白黏附性增强。青光眼患者小梁网组织也表现出氧化应激水平增加和骨膜蛋白水平下降。骨膜蛋白缺乏的小鼠其小梁网组织的超微结构与 Cyp1b1^{-/-}小鼠小梁网组织超微结构相似。进一步研究发现,应用抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸恢复 Cyp1b1 基因的功能均可以改善和修复 Cyp1b1^{-/-}小鼠小梁网细胞应答反应及超微结构的改变。因此,Cyp1b1 基因可通过调控骨膜蛋白的表达来改变小梁网氧化应激水平及小梁网的结构与功能。另有研究证明,FOXCl 转录因子可通过调节氧化应激的相关基因来维持小梁网内氧化与抗氧化平衡。同时,FOXCl 转录因子具有抗凋亡的特性,人小梁网 HTM 细胞 FOXCl 基因敲除后细胞存活力显著下降。作为 FOXCl 转录因子调控的靶基因之一,HSPA6 基因在氧化应激条件下可被激活,其表达产物热休克蛋白 A6 对人小梁网细胞有潜在的保护作用。与正常对照组相比,FOXCl 基因敲除的人小梁网细胞在经过 2 次 H₂O₂ 处理后热休克蛋白 A6 的表达量明显增加,由此可见 FOXCl 基因敲除后细胞抗氧化能力显著下降,小梁网氧化应激水平增加。此外,在 H₂O₂ 诱导的氧化应激环境下,FOXCl 转化因子表达水平下降、活性降低。FOXCl ARS 基因突变、缺失或 FOXCl 转录因子功能下降均能影响小梁细胞抗氧化应激的能力^[39]。

3 小梁网线粒体氧化损伤

线粒体是细胞内有氧呼吸的重要场所,其主要功能是为细胞提供各种功能活动所需要的 ATP。在有氧呼吸的过程中,线粒体内有很多部位都参与 ROS 的产生,最活跃的部位是线粒体复合物-I 和复合物-III^[8]。线粒体功能障碍引起的 2 个最严重的后果是 ATP 合成减少和 ROS 生成增加。POAG 患者线粒体复合物-I 功能下降,导致其有氧呼吸频率降低和 ATP 合成

减少^[40]。He 等^[41]发现 POAG 患者小梁网细胞内 Ca²⁺ 浓度和线粒体内 Ca²⁺ 浓度增加、线粒体 Ca²⁺ 释放入细胞液、线粒体通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) 开放、线粒体膜电位 ($\Delta\Psi_m$) 降低。POAG 患者线粒体对 Ca²⁺ 应激的抵抗力下降,持续性 Ca²⁺ 负荷过重可引起 MPTP 开放、mCICR 和线粒体内更多的 ROS 释放入细胞质,进一步加剧线粒体功能的损伤。MPTP 开放引起线粒体肿胀,ROS 生成增多,线粒体膜去极化,膜电位降低,ATP 生成减少,严重时半胱天冬酶的级联反应被激活,引起细胞凋亡,导致小梁网功能退化^[41]。此外,与对照组相比,POAG 小梁网细胞内线粒体复合物-I 对抑制剂鱼藤酮更敏感,鱼藤酮可进一步增加 POAG 小梁细胞线粒体内 ROS 的生成,减少 ATP 合成,降低 $\Delta\Psi_m$,增加细胞色素 C 的释放^[42]。细胞色素 C 与细胞凋亡有关,从线粒体中释放的细胞色素 C 具有诱导细胞凋亡的作用^[43]。这一系列的改变最终引起小梁网细胞数目减少,功能减退。与此同时,线粒体复合物-II 和复合物-III 抑制剂则对细胞的影响较小。而抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸和维生素 E 可通过抑制 ROS 的产生和细胞色素 C 的释放来对抗鱼藤酮引起的细胞死亡^[42]。由于线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 离 ROS 产生的部位较近且缺乏组蛋白的保护,线粒体内 ROS 的堆积可导致 mtDNA 损伤。Abu-Amero 等^[44]发现,POAG 组线粒体 DNA 出现 27 处新的非同义替换,其中有 22 处突变可能是潜在的致病因素,同时在 27 例 POAG 患者中有 17 例患者 mtDNA 含量增加。Banerjee 等^[45]研究认为,POAG 患者线粒体内与质子泵机制相关的 ND5 基因突变可抑制氧化呼吸链复合物-I 的活性,从而引起细胞内氧化应激水平增加。此外,肌纤维蛋白 Pro370Leu 突变体也可引起细胞内 Ca²⁺ 浓度和线粒体内 Ca²⁺ 浓度水平升高, $\Delta\Psi_m$ 降低,内生型 ROS 增多,ATP 生成减少,导致线粒体功能损伤,从而引起小梁网细胞功能退化,甚至死亡^[46]。

4 氧化应激诱发的炎症反应

氧化应激反应除了直接损伤小梁细胞外,还可能通过介导炎症反应,产生炎症因子,从而进一步导致小梁网细胞结构和功能的改变。将猪小梁网细胞暴露在 200 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 诱导的慢性氧化应激环境中(每 2 天换液 1 次,持续暴露 4 d),细胞内 $\Delta\Psi_m$ 明显降低,iROS 生成显著增加。慢性氧化损伤同时还激活猪小梁网细胞核转录因子- κB (nuclear transcription factor- κB , NF- κB)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 α 、IL-8 和内皮细胞白细胞黏附分子 1 (endothelial leukocyte-adhesion molecule, ELAM-1) 表达上调。利用碳酰氰-4-三氟甲氧基苯胺 [carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy) phenylhydrazone, Fccp] 抑制 iROS 的生成,结果发现 NF- κB 的活性降低,同时炎症因子 IL-1 α 、IL-6、IL-8 和 ELAM-1 的表达下调。据此推测,氧化应激环境下线粒体产生的内生性 ROS 是小梁网细胞内 NF- κB 活化和炎症介质上调的重要因素^[47]。与这项研究相一致,Saccá 等^[48]研究发现 POAG 患者房水中内皮细胞白细胞黏附分子-1 (endothelial leukocyte adhesion molecule-1, ELAM-1) 的表达也有升高。ELAM-1 的表达是由 IL-1 激活的,IL-1 通过 NF- κB 的自反馈机

制来调节 ELAM-1 的浓度,这是机体一个复杂的抗氧化保护机制。但同时,NF- κ B 可引起炎症因子表达上调,从而加重小梁网细胞损伤。此外,IL-1-NF- κ B 通路下游的靶基因,如 MMPs 基因可被激活,其表达的基质金属蛋白酶可分解 ECM,引起细胞黏附性下降。综合考虑,氧化应激诱导 IL-1-NF- κ B 通路的激活,可引起小梁网的炎症损伤,是青光眼发病的重要机制^[49]。

5 结语

氧化应激引起小梁网结构和功能损伤,导致前房角房水流出系统功能下降,房水流出障碍,眼压升高,继而参与青光眼的发生和发展。氧化应激引起小梁网损伤的机制仍未完全阐明,现有的研究主要从前房氧化损伤标志物的改变、DNA 氧化损伤和基因突变、细胞器的氧化损伤及氧化应激诱导的小梁网炎症反应等方面来解释这一病理过程。了解氧化应激对小梁网的损伤机制有利于寻找新型的保护青光眼靶组织的抗氧化剂,以延缓青光眼的发展进程。

参考文献

- [1] Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, et al. Global data on visual impairment in the year 2002 [J]. Bull World Health Organ, 2004, 82(11): 844-851. DOI: /S0042-96862004001100009.
- [2] Francis BA, Varma R, Vigen C, et al. Population and high-risk group screening for glaucoma: the Los Angeles Latino Eye Study [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(9): 6257-6264. DOI: 10.1167/iov.09-5126.
- [3] Garudadri C, Senthil S, Khanna RC, et al. Prevalence and risk factors for primary glaucomas in adult urban and rural populations in the Andhra Pradesh Eye Disease Study [J]. Ophthalmology, 2010, 117(7): 1352-1359. DOI: 10.1016/j.ophtha.2009.11.006.
- [4] Saccá SC, Izzotti A, Rossi P, et al. Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress [J]. Exp Eye Res, 2007, 84(3): 389-399. DOI: 10.1016/j.exer.2006.10.008.
- [5] Izzotti A, Longobardi M, Cartiglia C, et al. Proteome alterations in primary open angle glaucoma aqueous humor [J]. J Proteome Res, 2010, 9(9): 4831-4838. DOI: 10.1021/pr1005372.
- [6] Gabelt BT, Kaufman PL. Changes in aqueous humor dynamics with age and glaucoma [J]. Prog Retin Eye Res, 2005, 24(5): 612-637. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2004.10.003.
- [7] Izzotti A, Bagnis A, Saccá SC. The role of oxidative stress in glaucoma [J]. Mutat Res, 2006, 612(2): 105-114. DOI: 10.1016/j.mrrev.2005.11.001.
- [8] Chrysostomou V, Rezaian F, Trounce IA, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma [J]. Curr Opin Pharmacol, 2013, 13(1): 12-15. DOI: 10.1016/j.coph.2012.09.008.
- [9] Goyal A, Srivastava A, Sihota R, et al. Evaluation of oxidative stress markers in aqueous humor of primary open angle glaucoma and primary angle closure glaucoma patients [J]. Curr Eye Res, 2014, 39(8): 823-829. DOI: 10.3109/02713683.2011.556299.
- [10] Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, et al. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients [J]. Am J Ophthalmol, 2004, 137(1): 62-69. DOI: 10.1016/S0002-9394(03)00788-8.
- [11] Nucci C, Di PD, Varesi C, et al. Increased malondialdehyde concentration and reduced total antioxidant capacity in aqueous humor and blood samples from patients with glaucoma [J]. Mol Vis, 2013, 19: 1841-1846.
- [12] Bagnis A, Izzotti A, Centofanti M, et al. Aqueous humor oxidative stress proteomic levels in primary open angle glaucoma [J]. Exp Eye Res, 2012, 103: 55-62. DOI: 10.1016/j.exer.2012.07.011.
- [13] Fernández-Durango R, Fernández-Martínez A, García-Feijoo J, et al. Expression of nitrotyrosine and oxidative consequences in the trabecular meshwork of patients with primary open-angle glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(6): 2506-2511. DOI: 10.1167/iov.07-1363.
- [14] Saccá SC, Pascotto A, Camicione P, et al. Oxidative DNA damage in the human trabecular meshwork: clinical correlation in patients with primary open-angle glaucoma [J]. Arch Ophthalmol, 2005, 123(4): 458-463. DOI: 10.1001/archoph.123.4.458.
- [15] Zhou L, Li Y, Yue BY. Oxidative stress affects cytoskeletal structure and cell-matrix interactions in cells from an ocular tissue: the trabecular meshwork [J]. J Cell Physiol, 1999, 180(2): 182-189. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(199908)180:2<182::AID-JCP6>3.0.CO;2-X.
- [16] Luna C, Li G, Liton PB, et al. Resveratrol prevents the expression of glaucoma markers induced by chronic oxidative stress in trabecular meshwork cells [J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47(1): 198-204. DOI: 10.1016/j.fct.2008.10.029.
- [17] Ammar DA, Hamweyah KM, Kahook MY. Antioxidants protect trabecular meshwork cells from hydrogen peroxide-induced cell death [J/OL]. Transl Vis Sci Technol, 2012, 1(1): 4 [2015-08-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3763872/>. DOI: 10.1167/tvst.1.1.4.
- [18] Ellis DZ, Sharif NA, Dismuke WM. Endogenous regulation of human Schlemm's canal cell volume by nitric oxide signaling [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(11): 5817-5824. DOI: 10.1167/iov.09-5072.
- [19] Schneemann A, Leusink-Muis A, van den Berg T, et al. Elevation of nitric oxide production in human trabecular meshwork by increased pressure [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2003, 241(4): 321-326. DOI: 10.1007/s00417-003-0638-4.
- [20] Bratt JM, Williams K, Rabowsky MF, et al. Nitric oxide synthase enzymes in the airways of mice exposed to ovalbumin; NOS2 expression is NOS3 dependent [J/OL]. Mediators Inflamm, 2010, 2010: 321061 [2015-08-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2952819/>. DOI: 10.1155/2010/321061.
- [21] Yücel I, Akar Y, Yücel G, et al. Effect of hypercholesterolemia on inducible nitric oxide synthase expression in a rat model of elevated intraocular pressure [J]. Vis Res, 2005, 45(9): 1107-1114. DOI: 10.1016/j.visres.2004.11.018.
- [22] Shen F, Chen B, Danias J, et al. Glutamate-induced glutamine synthetase expression in retinal Müller cells after short-term ocular hypertension in the rat [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(9): 3107-3112. DOI: 10.1167/iov.03-0948.
- [23] Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, et al. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma [J]. Arch Ophthalmol, 1996, 114(3): 299-305. DOI: 10.1001/archoph.1996.01100130295012.
- [24] Coca-Prados M, Escribano J. New perspectives in aqueous humor secretion and in glaucoma: the ciliary body as a multifunctional neuroendocrine gland [J]. Prog Retin Eye Res, 2007, 26(3): 239-262. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2007.01.002.
- [25] Telorack M, Meyer M, Ingold I, et al. A glutathione-Nrf2-thioredoxin cross-talk ensures keratinocyte survival and efficient wound repair [J/OL]. PLoS Genet, 2016, 12(1): e1005800 [2016-01-29]. <http://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1005800>. DOI: 10.1371/journal.pgen.1005800.
- [26] Izzotti A, Saccá SC, Longobardi M, et al. Sensitivity of ocular anterior chamber tissues to oxidative damage and its relevance to the pathogenesis of glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(11): 5251-5258. DOI: 10.1167/iov.09-3871.
- [27] Jia Y, Chen J, Zhu H, et al. Aberrantly elevated redox sensing factor Nrf2 promotes cancer stem cell survival via enhanced transcriptional regulation of ABCG2 and Bcl-2/Bmi-1 genes [J]. Oncol Rep, 2015, 34(5): 2296-2304. DOI: 10.3892/or.2015.4214.

- [28] Veach J. Functional dichotomy: glutathione and vitamin E in homeostasis relevant to primary open-angle glaucoma [J]. Br J Nutr, 2004, 91 (6) : 809-829. DOI: 10. 1079/BJN20041113.
- [29] Enghild JJ, Thogersen IB, Oury TD, et al. The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase is proteolytically processed intracellularly during biosynthesis [J]. J Biol Chem, 1999, 274 (21) : 14818-14822. DOI: 10. 1074/jbc. 274. 21. 14818.
- [30] Kawanishi S, Hiraku Y, Oikawa S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging [J]. Mutat Res, 2001, 488 (1) : 65-76. DOI: 10. 1016/S1383-5742 (00) 00059-4.
- [31] Loft S, Poulsen HE. Estimation of oxidative DNA damage in man from urinary excretion of repair products [J]. Acta Biochim Pol, 1998, 45 (1) : 133-144.
- [32] Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989, 86 (24) : 9697-9701.
- [33] Yuki K, Tsubota K. Increased urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)/creatinine level is associated with the progression of normal-tension glaucoma [J]. Curr Eye Res, 2013, 38 (9) : 983-988. DOI: 10. 3109/02713683. 2013. 800889.
- [34] Savas U, Bhattacharyya KK, Christou M, et al. Mouse cytochrome P-450EF, representative of a new 1B subfamily of cytochrome P-450s. Cloning, sequence determination, and tissue expression [J]. J Bio Chem, 1994, 269 : 14905-14911.
- [35] Soley GC, Bosse KA, Flikier D, et al. Primary congenital glaucoma: a novel single-nucleotide deletion and varying phenotypic expression for the 1, 546-1, 555dup mutation in the GLC3A (CYP1B1) gene in 2 families of different ethnic origin [J]. J Glaucoma, 2003, 12 (1) : 27-30.
- [36] Vincent AL, Billingsley G, Buys Y, et al. Digenic inheritance of early-onset glaucoma: CYP1B1, a potential modifier gene [J]. Am J Hum Genet, 2002, 70 (2) : 448-460. DOI: 10. 1086/338709.
- [37] Panicker SG, Reddy AB, Mandal AK, et al. Identification of novel mutations causing familial primary congenital glaucoma in Indian pedigrees [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43 (5) : 1358-1366.
- [38] Zhao Y, Wang S, Sorenson CM, et al. Cyp1b1 mediates periostin regulation of trabecular meshwork development by suppression of oxidative stress [J]. Mol Cell Biol, 2013, 33 (21) : 4225-4240. DOI: 10. 1128/MCB. 00856-13.
- [39] Ito YA, Goping IS, Berry F, et al. Dysfunction of the stress-responsive FOXO1 transcription factor contributes to the earlier-onset glaucoma observed in Axenfeld-Rieger syndrome patients [J/OL]. Cell Death Dis, 2014, 5 : e1069 [2015-09-24]. http://dx. doi. org/10. 1038/cddis. 2014. 8. DOI: 10. 1038/cddis. 2014. 8.
- [40] Lee S, Sheck L, Crowston JG, et al. Impaired complex-I-linked respiration and ATP synthesis in primary open-angle glaucoma patient lymphoblasts [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53 (4) : 2431-2437. DOI: 10. 1167/iovs. 12-9596.
- [41] He Y, Ge J, Tombran-Tink J. Mitochondrial defects and dysfunction in calcium regulation in glaucomatous trabecular meshwork cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49 (11) : 4912-4922. DOI: 10. 1167/iovs. 08-2192.
- [42] He Y, Leung KW, Zhang YH, et al. Mitochondrial complex I defect induces ROS release and degeneration in trabecular meshwork cells of POAG patients: protection by antioxidants [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49 (4) : 1447-1458. DOI: 10. 1167/iovs. 07-1361.
- [43] Chipuk JE, McStay GP, Bharti A, et al. Sphingolipid metabolism cooperates with BAK and BAX to promote the mitochondrial pathway of apoptosis [J]. Cell, 2012, 148 (5) : 988-1000. DOI: 10. 1016/j. cell. 2012. 01. 038.
- [44] Abu-Amero KK, Morales J, Bosley TM. Mitochondrial abnormalities in patients with primary open-angle glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47 (6) : 2533-2541. DOI: 10. 1167/iovs. 05-1639.
- [45] Banerjee D, Banerjee A, Mookherjee S, et al. Mitochondrial genome analysis of primary open angle glaucoma patients [J/OL]. PLoS One, 2013, 8 (8) : e70760 [2015-10-25]. http://dx. plos. org/10. 1371/journal. pone. 0070760. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0070760.
- [46] He Y, Leung KW, Zhuo YH, et al. Pro370Leu mutant myocilin impairs mitochondrial functions in human trabecular meshwork cells [J]. Mol Vis, 2009, 15 : 815-825.
- [47] Li G, Luna C, Liton PB, et al. Sustained stress response after oxidative stress in trabecular meshwork cells [J]. Mol Vis, 2007, 13 : 2282-2288.
- [48] Saccá SC, Centofanti M, Izzotti A. New proteins as vascular biomarkers in primary open angle glaucomatous aqueous humor [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53 (7) : 4242-4253. DOI: 10. 1167/iovs. 11-8902.
- [49] Wang N, Chintala SK, Fini ME, et al. Activation of a tissue-specific stress response in the aqueous outflow pathway of the eye defines the glaucoma disease phenotype [J]. Nat med, 2001, 7 (3) : 304-309. DOI: 10. 1038/85446.

(收稿日期: 2015-11-25)

(本文编辑: 刘艳 张宇)

读者·作者·编者

本刊稿件处理流程

本刊实行以同行审稿为基础的三级审理制度(编辑初审、专家外审、编委会终审)稿件评审。编辑部在稿件审理过程中坚持客观、公平、公正的原则,郑重承诺审稿过程中尊重和保护审稿专家、作者及稿件的私密权。专家审理认为不宜刊用的稿件,编辑部将告知作者专家的审理意见,对稿件处理有不同看法的作者有权向编辑部申请复议,但请写出申请理由和意见。

稿件审理过程中作者可通过“中华医学会杂志社远程稿件管理系统”查询稿件的审理结果。作者如需要采用通知或退稿通知可与编辑部联系。编辑部发给作者修改再评的稿件,如 2 个月没有修回,视为作者自行撤稿。编辑部的各种通知将通过 Email 发出,投稿后和稿件审理期间请作者留意自己的电子信箱。作者自收到采用通知之日起,即视为双方建立合约关系,作者如撤稿必须向编辑部申诉理由并征得编辑部同意。一旦稿件进入编排阶段,作者不应提出自撤稿件,在此期间因一稿两投或强行撤稿而给本刊造成不良影响和/或经济损失者,编辑部有权给以公开曝光、通报并实施经济赔偿,作者自行承担一切责任和后果。

根据《中华人民共和国著作权法》的相关条文,本刊编辑可对待发表的来稿按照编辑规范和专业进行文字加工、修改和删减,修改后的稿件作者须认真校对核实,修改涉及文章的核心内容时双方应进行沟通并征得作者同意。除了编辑方面的技术加工以外,作者对已经发表论文的全部内容文责自负。稿件编辑流程中编辑退回作者修改的稿件逾期 2 个月不修回者,视作自行撤稿。

(本刊编辑部)