

• 实验研究 •

采用视觉电生理法研究氟西汀对成年大鼠视皮层眼优势可塑性的逆转作用及其机制

解来青 徐国旭 倪勇 魏晓红 娄慧

215004 苏州大学附属第二医院眼科

通信作者:徐国旭,Email:phacoxu@sohu.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.11.002

【摘要】 背景 氟西汀(Flx)为一种选择性血清素重吸收抑制剂,腹腔内注射可诱发成年大鼠海马区神经的再生和突触的发生,推测其对视皮层视觉可塑性产生促进作用,但口服 Flx 与成年大鼠视皮层可塑性的关系、其与双眼形觉剥夺(BFD)逆转成年大鼠视皮层可塑性作用的关系等研究鲜见报道。目的 采用图形视觉诱发电位(PVEP)的方法研究 Flx 给药时间与成年大鼠视皮层可塑性逆转的关系,比较 Flx 与 BFD 逆转成年大鼠视皮层可塑性的效果。方法 采用完全随机分组区组设计多水平实验设计方法将 70 日龄(P70)的成年 Wistar 大鼠 56 只随机分为对照组、Flx2 组、Flx4 组、Flx6 组、Flx8 组、BFD 组和 Flx+BFD 组,Flx 各组大鼠均给予 0.2 mg/ml Flx 溶液喂养大鼠分别至 PVEP 检查前 2、4、6、8 周,然后改为正常水饮用,于 PVEP 检查前 1 周行左眼上下睑缘缝合制备单眼形觉剥夺(MFD)模型;BFD 组大鼠在 PVEP 检查前 3 周行双眼缝合 2 周,同时给予正常饮水 3 周;Flx+BFD 组先用 0.2 mg/ml Flx 溶液喂养 4 周,在 Flx 溶液喂养 1 周后双眼缝合 2 周,再于 PVEP 记录前 1 周剪开右眼睑行 MFD。各组大鼠均行双眼 PVEP 记录,测量 N₇₅-P₁₀₀振幅,计算 FD 眼(左眼)/非 FD 眼(右眼)(C/I)值,并通过比较 FD 前后大鼠 PVEP 振幅值的变化评估眼优势的转移。结果 FD 1 周后,Flx4 组、Flx6 组、Flx8 组、BFD 组、Flx+BFD 组大鼠 PVEP C/I 值较 FD 前均明显下降,差异均有统计学意义($t=2.733, P<0.05$; $t=2.981, P<0.05$; $t=3.619, P<0.01$; $t=2.681, P<0.05$; $t=4.550, P<0.01$)。Flx4 组、Flx6 组和 Flx8 组大鼠 FD 后左眼 PVEP 振幅值较 FD 前明显降低[(17.71 ± 2.24) μV 比 (31.09 ± 4.13) μV; (18.93 ± 2.85) μV 比 (29.59 ± 4.07) μV; (17.94 ± 1.92) μV 比 (28.48 ± 3.09) μV],差异均有统计学意义($t=3.348$ 、 3.278 、 4.447 , 均 $P<0.01$),而 FD 前后右眼 PVEP 振幅的改变差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。FD 后 BFD 组和 Flx4+BFD 组大鼠左眼 PVEP 振幅值明显低于 FD 前,差异均有统计学意义($t=2.497, P<0.05$; $t=3.051, P<0.01$),BFD 组和 Flx+BFD 组大鼠 FD 后右眼 PVEP 振幅值明显高于 FD 前,差异均有统计学意义($t=-4.009, P<0.01$; $t=-4.352, P<0.01$)。结论 采用 0.2 mg/ml Flx 水溶液喂养成年大鼠 4 周以上及 BFD 2 周的方法均可有效激活成年大鼠视皮层可塑性,延长 Flx 喂养时间并不能显著提高视觉可塑性重塑的程度。Flx 对视觉可塑性重塑的主要作用机制是抑制 FD 眼反应,而 BFD 的作用机制是抑制 FD 眼反应的同时促进非 FD 眼反应来实现的。Flx 喂养与 BFD 法在逆转成年大鼠视皮层可塑性方面具有协同作用。

【关键词】 氟西汀; 视皮层可塑性; 形觉剥夺; 图形视觉诱发电位; Wistar 大鼠

基金项目: 苏州市科教兴卫课题项目 (KJXW2013016)

The effects of fluoxetine and its mechanism on the restores of visual cortex plasticity in the adult rats by visual electrophysiological research Xie Laiqing, Xu Guoxu, Ni Yong, Wei Xiaohong, Lou Hui

Department of Ophthalmology, Affiliated Second Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China

Corresponding author: Xu Guoxu, Email:phacoxu@sohu.com

[Abstract] **Background** Fluoxetine (Flx), a selective serotonin reuptake inhibitor, promotes neurogenesis and synaptogenesis in the adult hippocampus. So it is inferred that Flx plays a role in promoting visual plasticity of visual cortex. However, the associations of oral administration of Flx with remodeling of visual plasticity and its difference from binocular form deprivation (BFD) are unelucidated. **Objective** This study was to investigate the influence of Flx application time to visual plasticity and contrast the mechanism between Flx and BFD in the remodeling of visual cortex plasticity in adult rats by pattern visual evoked potential (PVEP). **Methods** Fifty-six 70-day-old clean Wistar rats were randomized into control group, Flx2 group, Flx4 group, Flx6 group, Flx8 group, BFD

group and Flx+BFD group. Flx was orally used at the dosage of 0.2 mg/ml once per day until 2, 4, 6 and 8 weeks before record of PVEP in the Flx2 group, Flx4 group, Flx6 group, Flx8 group respectively. The eyelids were binocularly sutured for 2 weeks and opened the right eyes 1 week before the record of PVEP to form the BFD and took the normal water in the rats of the BFD group, and the combination of Flx administration and BFD was performed in the Flx+BFD group. All the left eyes of the rats were sutured for 1 week to form the monocular form deprivation (MFD). No any intervene was conducted in the control group. PVEP was binocularly recorded in the rats to measure the amplitude from N₇₅ wave to P₁₀₀ wave, and amplitude ratio of left eyes and right eyes (C/I) was calculated. The results between before and after FD were compared to assess the shift of ocular dominance. The use and care of the animals followed ARVO Statement. **Results** The C/I of PVEP was significantly decreased 1 week after FD in comparison with before FD in the Flx4 group, Flx6 group, Flx8 group, BFD group and Flx+BFD group ($t=2.733, P<0.05$; $t=2.981, P<0.05$; $t=3.619, P<0.01$; $t=2.681, P<0.05$; $t=4.550, P<0.01$). The amplitudes of PVEP were significantly lower in the left eyes after FD than those before FD in the Flx4 group ([17.71±2.24] μV vs. [31.09±4.13] μV), the Flx6 group ([18.93±2.85] μV vs. [29.59±4.07] μV) and the Flx8 group ([17.94±1.92] μV vs. [28.48±3.09] μV) ($t=3.348, 3.278, 4.447$, all at $P<0.01$), while there were significant differences in the amplitudes of PVEP in the right eyes between before and after FD (all at $P>0.05$). The amplitudes of PVEP were reduced in the left eyes after FD in comparison with before FD in the BFD group and Flx4+BFD group ($t=2.497, P<0.05$; $t=3.051, P<0.01$), however, they were raised in the right eyes in both BFD group and Flx+BFD group ($t=-4.009, P<0.01$; $t=-4.352, P<0.01$). **Conclusions** Both 0.2 mg/ml Flx drinking for over 4 weeks and BFD for 2 weeks can restore visual cortex plasticity in the adult rats. Increasing the dosage time of Flx appears to be incapable to increase the remodeling degree of visual plasticity. Flx and BFD promote visual plasticity primarily by inhibiting the response of FD eyes and BFD can promote the response of non-FD eyes. Flx feeding and BFD play synergy effects in remodeling the visual cortex plasticity in adult rats.

[Key words] Fluoxetine; Visual cortex plasticity; Form deprivation; Visual evoked potential, pattern; Rats, Wistar

Fund program: Suzhou Science and Education and Health Projects (KJXW2013016)

弱视是与视觉发育相关的视功能疾患,发生于儿童发育的特定时期,称为视觉发育关键期。传统观点认为,视觉发育的关键期是无法逾越的,即视觉发育关键期之后,视皮层的功能可塑性下降是难以逆转的。但近年来随着研究的深入和治疗技术的进展,该观点逐渐受到新的挑战。研究已发现,视觉发育关键期并非是固定不变的,如动物在暗室进行饲养即可延长视觉发育关键期^[1]。研究表明,临幊上常用的慢性抗抑郁药氟西汀(fluoxetine, Flx)可提高细胞外间质5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)水平,上调5-HT₄介导的信号传导通路,逆转成年大鼠海马区固有的结构与功能,从而激活成年大鼠海马区神经元的可塑性^[2],成年大鼠腹腔内注射Flx可重新激活其视皮层的可塑性^[3],这些发现为成人弱视的治疗研究提供了新的思路。但目前人们关心的问题是采用口服用药的方式是否能够使Flx发挥逆转成年大鼠视觉可塑性的作用?如果可以则如何掌握给药时间?药物的治疗机制与传统的双眼形觉剥夺(binocular form deprivation, BFD)的治疗是否相似?二者在激活成年大鼠视皮层可塑性方面是否有协同作用?本研究中利用视觉电生理的方法对Flx逆转成年大鼠视觉可

塑性的作用进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料

出生后70 d(P70)的成年清洁级Wistar大鼠[苏州大学药理学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(苏)2013-0003]56只,雌雄不限,动物的饲养环境通风良好,室温18~25℃,相对湿度40%~70%,12 h光照昼夜循环。实验动物的使用和喂养遵循ARVO声明。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 采用完全随机分组区组设计多水平实验设计方法将56只大鼠随机分为对照组、Flx2组、Flx4组、Flx6组、Flx8组、BFD组和Flx+BFD组,每组8只。参照文献[3]的方法,各Flx组大鼠用Flx溶液分别喂养至图形视觉诱发电位(pattern visual evoked potential, PVEP)检查前2、4、6和8周,然后均予正常饮水;BFD组大鼠行双眼缝合2周并同时给予正常饮水3周;Flx+BFD组用0.2 mg/ml Flx溶液喂养4周,在Flx溶液喂养1周后行BFD造模。

1.2.2 BFD模型的建立 大鼠按0.3 ml/100 g的剂

量腹腔内注射体积分数10%水合氯醛全身麻醉,剪除双睑缘周围的毛发,用碘伏消毒眼睑局部皮肤。于距上下睑缘各1.0 mm处剪去皮肤和睑板组织,用5-0丝线间断缝合双眼6~8针,然后用金霉素眼膏涂抹创面以预防感染。保暖并严密观察,待大鼠苏醒后置于正常环境下继续饲养,每日观察缝合处,于PVEP检查前1周剪开缝合的右眼。出现眼睑裂开或角膜损伤者剔除实验并取备用大鼠补充。

1.2.3 单眼形觉剥夺模型的建立 对照组、Flx2组、Flx4组、Flx6组和Flx8组大鼠于PVEP检查前1周行左眼上下睑缘缝合,缝合方法及注意事项同BFD模型建立方法,制作左眼单眼形觉剥夺(monocular form deprivation, MFD)大鼠模型,分别于造模前后记录双眼PVEP。

1.2.4 评价指标 应用GT-2000NV视觉电生理检查系统(重庆国特医疗设备有限公司)记录大鼠视皮层双眼细胞的优势眼。大鼠麻醉后用Narishige脑立体定位仪(日本陈茂生物仪器公司)固定大鼠,用电钻钻开颅骨直径约2 mm的圆孔,小心暴露硬脑膜,参照Wistar大鼠脑立体定位图谱将自制银丝针状记录电极垂直于视皮层表面插入视皮层II/III层,坐标为动作电位(action potential, AP)>-7 mm, R=4.0 mm, H=0.4 mm,参考电极刺于颊部皮下,地电极刺于尾部皮下。将大鼠放置于VEP记录仪刺激屏幕前,双眼交替检查,用金属环撑开待测眼眼睑,对侧眼用黑布遮盖。测量眼距离屏幕16 cm,角膜缘与屏幕表面平行,使瞳孔垂直于屏幕中央。PVEP刺激采用水平条栅,对比度为97%,空间频率8×6,通频带宽1~75 Hz,采样时间为250 ms,记录叠加50次,放大倍数为40 000,记录3次稳定波形,去除干扰较大的波形,取平均值。测量N₇₅-P₁₀₀振幅值,计算左眼/右眼比值,即C/I值,由于大鼠90%的视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)在视交叉处交叉到对侧,所以如果未发生优势眼的转移,左眼的VEP振幅应高于右眼,C/I约为2.5。实验重复3次。

1.3 统计学方法

采用SPSS 16.0统计学软件(序列号:9A657E90-E287-44DE-8929-05594816259,美国IBM公司)进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经W检验符合理正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用完全随机分组区组设计多水平实验设计,对照组、Flx2组、Flx4组、Flx6组和Flx8组大鼠在FD前后PVEP C/I值的总体差异比较和对照组、Flx4组、BFD组和Flx+BFD组大鼠FD前后PVEP振幅值的总体差异比较以及Flx和BFD基础上

FD前后大鼠PVEP C/I值的变化均采用区组设计两因素方差分析,多重比较采用LSD-t检验。采用双尾检测法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠FD前后大鼠PVEP改变

FD前后记录的大鼠的典型PVEP波形见图1。对照组、Flx2组、Flx4组、Flx6组和Flx8组大鼠FD前PVEP的C/I值分别为 2.46 ± 0.17 、 2.56 ± 0.31 、 2.68 ± 0.23 、 2.54 ± 0.28 和 2.45 ± 0.36 ,FD后C/I值分别为 2.15 ± 0.15 、 1.89 ± 0.19 、 1.35 ± 0.21 、 1.30 ± 0.24 和 1.31 ± 0.27 ,其中对照组和Flx2组FD后值均低于FD前,但差异均无统计学意义($t=0.538$ 、 1.433 ,均 $P>0.05$),Flx4组、Flx6组和Flx8组大鼠FD后C/I值均明显低于FD前,差异均有统计学意义($t=2.733$, $P<0.05$; $t=2.981$, $P<0.05$; $t=3.619$, $P<0.01$)(图2)。

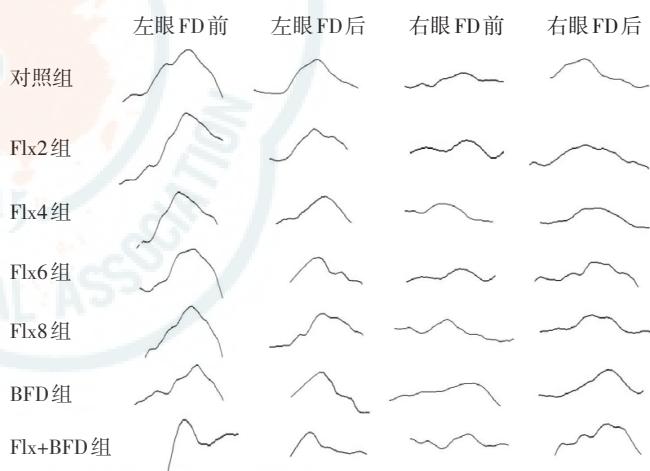


图1 成年大鼠FD前后PVEP波形变化 Flx:氟西汀;BFD:双眼形觉剥夺

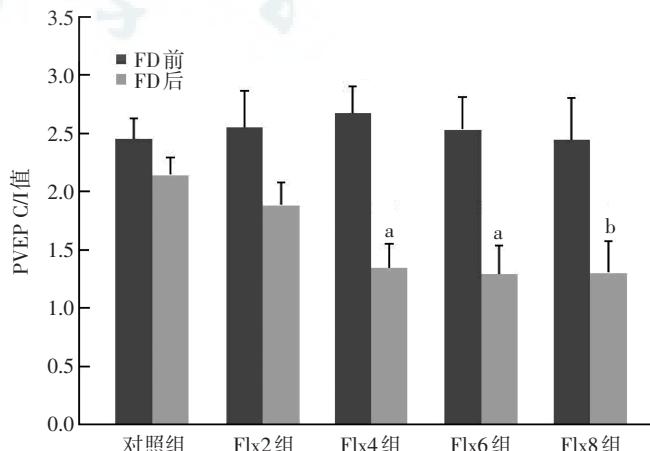


图2 FD前后Flx各组C/I值变化 与各自的FD前值比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$ (配对t检验,n=8) PVEP:图形视觉诱发电位;C/I:左眼/右眼振幅比值;FD:形觉剥夺;Flx:氟西汀

各组大鼠左眼 FD 前后 PVEP 振幅值的总体比较差异均有统计学意义 ($F_{\text{分组}} = 19.200, P < 0.05$; $F_{\text{FD 前后}} = 21.360, P < 0.01$); FD 后对照组与 Flx2 组间大鼠左眼 PVEP 振幅值比较差异无统计学意义 ($t = 0.170, P > 0.05$), Flx4 组大鼠左眼 PVEP 振幅值明显低于 Flx2 组, 差异有统计学意义 ($t = 8.190, P < 0.05$)。Flx 喂养后成年大鼠左眼再行 MFD 1 周可发生眼优势转移, FD 后 Flx4 组、Flx6 组和 Flx8 组左眼 PVEP 振幅均明显低于各自的 FD 前值, 差异均有统计学意义 ($t = 3.348, 3.278, 4.447$, 均 $P < 0.01$), 而右眼 PVEP 振幅的变化比较差异无统计学意义 ($t = -1.637, -2.118, -1.775$, 均 $P > 0.05$) (表 1)。

表 1 Flx 各组 FD 前后 PVEP 振幅值变化 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{V}$)

组别	样本量	左眼		右眼	
		FD 前	FD 后	FD 前	FD 后
对照组	8	30.50 ± 3.68	28.51 ± 3.42	12.39 ± 1.69	13.30 ± 1.45
Flx2 组	8	31.04 ± 3.83	26.83 ± 3.15	12.06 ± 2.19	14.30 ± 2.21
Flx4 组	8	31.09 ± 4.13	17.71 ± 2.24 ^a	11.59 ± 1.07	13.14 ± 1.69
Flx6 组	8	29.59 ± 4.07	18.93 ± 2.85 ^b	11.54 ± 1.86	14.20 ± 2.35
Flx8 组	8	28.48 ± 3.09	17.94 ± 1.92 ^b	11.59 ± 0.98	13.59 ± 2.99

注: 左眼: $F_{\text{分组}} = 19.200, P < 0.05$; $F_{\text{FD 前后}} = 21.360, P < 0.01$ 。右眼: $F_{\text{分组}} = 0.976, P > 0.05$; $F_{\text{FD 前后}} = 2.446, P > 0.05$ 。与左眼 FD 后 Flx2 组比较, ^a $P < 0.05$; 与各自的 FD 前值比较, ^b $P < 0.05$ (区组设计两因素方差分析, LSD-t 检验) Flx: 氟西汀; FD: 形觉剥夺; PVEP: 图形视觉诱发电位

2.2 Flx 喂养与 BFD 眼 FD 前后大鼠 PVEP 的变化

大鼠 BFD 2 周及 0.2 mg/ml Flx 水溶液喂养 4 周后行 FD 1 周均造成 C/I 值下降, BFD 组和 Flx+BFD 组大鼠左眼 FD 后 PVEP 振幅值明显低于各自的 FD 前值, 差异均有统计学意义 ($t = 2.497, P < 0.05$; $t = 3.051, P < 0.01$), 而 BFD 组和 Flx+BFD 组大鼠右眼在 FD 后 PVEP 振幅较 FD 前明显增高, 差异均有统计学意义 ($t = -4.009, P < 0.01$; $t = -4.352, P < 0.01$) (表 2)。

表 2 不同干预方式 FD 前后 PVEP 振幅值变化 ($\bar{x} \pm s, \text{mV}$)

组别	样本量	左眼		右眼	
		FD 前	FD 后	FD 前	FD 后
对照组	8	30.50 ± 3.68	28.51 ± 3.42	12.39 ± 1.69	13.30 ± 1.45
Flx4 组	8	31.09 ± 4.13	17.71 ± 2.24 ^a	11.59 ± 1.07	13.14 ± 1.69
BFD 组	8	29.30 ± 3.57	22.31 ± 2.29 ^b	11.14 ± 1.98	16.30 ± 2.65 ^a
Flx+BFD 组	8	30.20 ± 3.45	17.51 ± 1.42 ^a	11.59 ± 0.98	18.30 ± 2.45 ^a

注: 左眼: $F_{\text{分组}} = 10.520, P < 0.05$; $F_{\text{FD 前后}} = 18.710, P < 0.01$ 。右眼: $F_{\text{分组}} = 4.817, P < 0.05$; $F_{\text{FD 前后}} = 6.502, P < 0.05$ 。与各自的 FD 前值比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$ (区组设计两因素方差分析, LSD-t 检验) FD: 形觉剥夺; PVEP: 图形视觉诱发电位; Flx: 氟西汀

2.3 Flx 和 BFD 基础上 FD 前后大鼠 PVEP C/I 值的变化

Flx 与 BFD 激活成年大鼠视皮层可塑性的效果存在一定的叠加效应, Flx+BFD 组成年大鼠视皮层可塑性可明显被激活, 其眼优势转移的效果优于 Flx4 组和 BFD 组大鼠, 即 FD 后 Flx4 组大鼠 C/I 值均明显低于对照组而高于 Flx+BFD 组, 差异均有统计学意义 ($t = 5.090, 4.990$, 均 $P < 0.05$), 但 Flx4 组与 BFD 组间比较差异无统计学意义 ($t = 0.100, P > 0.05$)。BFD 组和 Flx4+BFD 组大鼠左眼 FD 后 PVEP C/I 值均明显低于各自的 FD 前值, 差异均有统计学意义 ($t = 2.681, P < 0.05$; $t = 4.550, P < 0.01$) (表 3)。

表 3 各组大鼠左眼 FD 前后 PVEP C/I 值变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量	FD 前	FD 后
对照组	8	2.46 ± 0.17	2.15 ± 0.15 ^a
Flx4 组	8	2.68 ± 0.23	1.35 ± 0.21 ^b
BFD 组	8	2.63 ± 0.19	1.37 ± 0.15 ^b
Flx+BFD 组	8	2.61 ± 0.14	0.96 ± 0.09 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}} = 12.680, P < 0.01$; $F_{\text{FD 前后}} = 18.290, P < 0.01$ 。与 FD 后 Flx4 组值比较, ^a $P < 0.05$; 与各自组内的 FD 前值比较, ^b $P < 0.01$ (区组设计两因素方差分析, LSD-t 检验) FD: 形觉剥夺; PVEP: 图形视觉诱发电位; C/I: 左眼/右眼振幅比值; Flx: 氟西汀

3 讨论

随着经济社会的不断进步, 视觉质量对患者的劳动效率、工作质量和安全产生很大影响, 弱视已成为一个严重的社会经济问题^[4]。视觉发育关键期是指人类和哺乳动物出生后视觉系统能够根据视觉环境的刺激调整和改变与生俱来的神经联系和突触结构的时期, 大鼠视觉发育关键期约为生后 28 d 以内, 相当于人类 8 岁。视觉发育关键期内视觉环境的异常可导致眼优势转移, 从而形成弱视。同时, 也只有在视觉发育关键期, 采用遮盖疗法治疗弱视眼是有效的。传统观点认为自然发育的关键期结束之后视觉皮层可塑性的下降是不可逆的。但近年来, 这样的观点逐渐受到质疑。He 等^[5]研究发现, 将成年大鼠放入完全黑暗的环境中饲养一段时间后大鼠视皮层的可塑性可被重新激活。细胞外基质 (extracellular material, ECM) 的主要成分是硫化软骨多糖, 其主要作用是形成屏障, 抑制轴突的发芽与再生^[6]。Pizzorusso 等^[7]将硫化软骨多糖的降解酶硫化软骨多糖酶 ABC 注入成年大鼠的一侧视皮层并缝合单眼, 结果该侧视皮层眼优势向未缝合眼转移。应用药物阻断 γ -氨基丁酸在视皮层的释放亦可使关键期结束的成年大鼠重新获得眼优势可塑

性^[8]。Nogo 受体是一种对皮层环路重塑起限制作用的受体,神经损伤后参与抑制神经系统过度发生的结构重排。McGee 等^[9]发现敲除 Nogo 受体基因的成年大鼠具有较高的眼优势可塑性。在临床研究方面,Levi^[10]发现成年弱视患者经过适当行为训练后视力改善,成年单眼弱视患者在健眼发生外伤性白内障后弱视眼视力提高,甚至接近正常。以上研究表明,视觉可塑关键期并非是固定不变的,而是可通过众多途径使成年动物恢复视觉可塑性,但暗室饲养、特定基因敲除或脑内注射均为有创治疗方法,且长时间的完全黑暗环境会诱发动物和人产生精神分裂^[11],因此研究一种可使成年动物可塑性恢复的新的、无创的方法成为从事视觉可塑性研究的目标。Liu 等^[12]将成年大鼠行 BFD 2 周,发现大鼠的眼优势可塑性可重新激活,且伴有硫化软骨多糖表达量的下降。与暗室饲养法相比,短期 BFD 与成人弱视治疗法接近,但患者仍难以接受,故该研究仍处于动物研究阶段。

血清素为中枢神经系统内一重要的神经调质,主要与认知、情感等大脑高级功能有关^[13]。Flx 为一种选择性 5-HT 再摄取抑制剂 (selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs),临幊上用于抑郁症的治疗。研究表明成年大鼠腹腔内注射 Flx 每日 15 mg/kg 连续 3 周可诱发海马区神经的再生^[14]。突触的长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 与长时程抑制 (long-term depression, LTD) 是视皮层眼优势可塑性的重要机制^[15],对猫的 LTP 与 LTD 诱导过程中发现,伴随着 LTP 与 LTD 诱导的成功,其视皮层 5-HT 的浓度升高^[16]。Flx 对成年大鼠视皮层 LTP 效应具有易化作用^[17],且对不同周齡大鼠的作用效果不同,其对 8~10 周齡的成年大鼠 LTP 的诱导具有易化作用,对 3~5 周齡处于视觉可塑关键期内大鼠 LTP 的诱导却表现为抑制作用,因此认为 5-HT 与 γ-氨基丁酸共同对视觉可塑关键期的启闭起到开关作用。Maya-Vetencourt 等^[18]通过腹腔内注射 Flx 的方法使成年大鼠视皮层可塑性重新激活,发现大鼠可塑性激活的同时伴有 NPAS4 基因表达的上调。5-HT_{1A} 受体拮抗剂 WAY-100635 及脑源性神经营养因子清除剂 trkB-IgG 可抑制 Flx 逆转成年大鼠视皮层可塑性的效应,说明 5-HT_{1A} 受体与脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 在 Flx 逆转视皮层可塑性过程中起到至关重要作用^[19]。如通过口服的方式给予 Flx,则成年弱视的治疗即从有创方式变为无创,具有很大的临床意义。本研究中发现,0.2 mg/ml Flx 溶液喂养大鼠 4 周可稳定激活成年大鼠视皮层的可塑性,

增加喂养时间并不能显著提高激活的程度;Flx 喂养和 BFD 2 种方法均可激活成年大鼠的视皮层可塑性,二者的作用方式不同,视觉可塑性被 Flx 激活的大鼠 FD 眼反应下降,而视皮层可塑性被 BFD 激活的大鼠既表现为 FD 眼反应的下降,亦表现为非 FD 眼反应的增高;Flx 与 BFD 对成年大鼠视皮层可塑性激活的作用存在一定的叠加效应。

VEP 是通过头皮电极记录的视皮层神经元的电反应,反映多神经元的群发电位,但其与单细胞细胞外记录具有相似的电生理反应特性^[20]。由于大鼠 90% 的 RGCs 在视交叉处交叉到对侧,故在视皮层双眼区记录的单侧眼 VEP 反应是以对侧眼的输入占优势^[21]。对侧眼 FD 导致眼优势转移后 VEP 表现为对侧眼振幅值降低伴或不伴同侧眼反应下降,故视觉电生理研究常以 C/I 值作为评价眼优势是否转移的定量指标。既往对大鼠 VEP 记录的刺激大多采用闪光刺激作为诱发手段,而 PVEP 虽然记录难度大,但波形较闪光 VEP 稳定,近年来用于大鼠眼优势可塑性方面的研究^[22]。C/I 值下降被认为是眼优势转移的标志,C/I 值下降可能源于对侧眼 (FD 眼) 反应的下降,亦可能源于同侧眼 (未 FD) 反应的上升。为了探求 Flx 与 BFD 对成年大鼠视皮层可塑性逆转作用的异同,本研究对双眼的 VEP 振幅值进行了横向比较,发现被 BFD 激活的大鼠视皮层可塑性既有 FD 眼反应的下降,亦有非 FD 眼反应的增高,与既往研究结果相符^[23~24],而视觉可塑性被 Flx 激活的大鼠仅表现为 FD 眼反应的下降。He 等^[5]研究发现,FD 致幼年鼠眼优势转移的主要形式为 FD 眼反应的下降,超长时间 FD 亦可导致成年鼠眼优势发生移动,但主要表现为未 FD 眼反应的增强,本研究中 Flx 的作用间接表明,Flx 可使成年大鼠眼优势可塑性恢复到真正意义上的幼年状态。

作为一种广泛应用的慢性抗抑郁药,Flx 的药物特性及不良反应已被熟知。若能够证明 Flx 对成年大鼠视皮层可塑性具有激活作用,或配合传统遮盖法等手段对成年大鼠弱视治疗取得成功,可为弱视治疗提供新的思路。本研究中还发现,Flx 与 BFD 具有协同效应,若将弱视患者短期置于 FD 的环境内,同时配合 Flx 口服,既可减少 Flx 的服药时间,又可大大缩短 FD 给患者带来的不便。但本研究的结论是基于动物模型的研究,尚需进一步的临床研究进行验证。

参考文献

- [1] Mower GD. The effect of dark rearing on the time course of the critical

- period in cat visual cortex [J]. *Dev Brain Res*, 1991, 58(2): 151–158.
- [2] Kobayashi K, Ikeda Y, Sakai A, et al. Reversal of hippocampal neuronal maturation by serotonergic antidepressants [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(18): 8434–8439. DOI: 10.1073/pnas.0912690107.
- [3] Maya-Vetencourt JF, Sale A, Viegi A, et al. The antidepressant fluoxetine restores plasticity in the adult visual cortex [J]. *Science*, 2008, 320(5874): 385–388. DOI: 10.1126/science.1150516.
- [4] 解来青, 赵堪兴. 弱视发病的神经突触机制的研究进展[J]. 中华眼科杂志, 2008, 44(11): 1045–1049.
Xie LQ, Zhao KX. Synapse remodelling from functional to structural: neural mechanisms underlying amblyopia [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2008, 44(11): 1045–1049.
- [5] He HY, Hodos W, Quinlan EM. Visual deprivation reactivates rapid ocular dominance plasticity in adult visual cortex [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(11): 2951–2955. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5554-05.2006.
- [6] Pizzorusso T, Medini P, Berardi N, et al. Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex [J]. *Science*, 2002, 298(5596): 1248–1251. DOI: 10.1126/science.1072699.
- [7] Pizzorusso T, Medini P, Landi S, et al. Structural and functional recovery from early monocular deprivation in adult rats [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(22): 8517–8522. DOI: 10.1073/pnas.0602657103.
- [8] Harauzov A, Spolidoro M, DiCristo G, et al. Reducing intracortical inhibition in the adult visual cortex promotes ocular dominance plasticity [J]. *J Neurosci*, 2011, 30(1): 361–371. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2233-09.
- [9] McGee AW, Yang Y, Fischer QS, et al. Experience-driven plasticity of visual cortex limited by myelin and Nogo receptor [J]. *Science*, 2005, 309(5744): 2222–2226. DOI: 10.1126/science.1114362.
- [10] Levi DM. Perceptual learning in adults with amblyopia: reevaluation of critical periods in human vision [J]. *Develop Psychobiol*, 2005, 46(3): 222–232. DOI: 10.1002/dev.20050.
- [11] Baroncelli L, Maffei L, Sale A. New perspectives in amblyopia therapy on adults: a critical role for the excitatory/inhibitory balance [J]. *Front Cell Neurosci*, 2011, 24: 5–25. DOI: 10.3389/fncel.2011.00025.
- [12] Liu H, Xu H, Yu T, et al. Expression of perineuronal nets, parvalbumin and protein tyrosine phosphatase σ in the rat visual cortex during development and after BFD [J]. *Curr Eye Res*, 2013, 38(10): 1083–1094. DOI: 10.3109/02713683.2013.803287.
- [13] Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function [J]. *Neuropharmacology*, 1999, 38: 1083–1152.
- [14] Ohira K, Takeuchi R, Shoji H, et al. Fluoxetine-induced cortical adult neurogenesis [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(6): 909–920. DOI: 10.1038/npp.2013.2.
- [15] Rittenhouse CD, Shouval HZ, Paradiso MA, et al. Monocular deprivation induces homosynaptic long-term depression in visual cortex [J]. *Nature*, 1999, 397(6717): 347–350. DOI: 10.1038/16922.
- [16] Kojic L, Dyck RH, Gu Q, et al. Columnar distribution of serotonin-dependent plasticity within kitten striate cortex [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(4): 1841–1844.
- [17] Park SW, Jang HJ, Cho KH, et al. Developmental switch of the serotonergic role in the induction of synaptic long-term potentiation in the rat visual cortex [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2012, 16(1): 65–70. DOI: 10.4196/kjpp.2012.16.1.65.
- [18] Maya-Vetencourt JF, Tiraboschi E, Greco D, et al. Experience-dependent expression of NPAS4 regulates plasticity in adult visual cortex [J]. *J Physiol*, 2012, 590(Pt 19): 4777–4787. DOI: 10.1113/jphysiol.2012.234237.
- [19] Maya-Vetencourt JF, Tiraboschi E, Spolidoro M, et al. Serotonin triggers a transient epigenetic mechanism that reinstates adult visual cortex plasticity in rats [J]. *Eur J Neurosci*, 2011, 33(1): 49–57. DOI: 10.1111/j.1460-9568.
- [20] Bobak P, Bodis-Wollner I, Guillory S. The effect of blur and contrast on VEP latency: comparison between check and sinusoidal grating patterns [J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1987, 68(4): 247–255.
- [21] Heynen AJ, Yoon BJ, Liu CH, et al. Molecular mechanism for loss of visual cortical responsiveness following brief monocular deprivation [J]. *Nat Neurosci*, 2003, 6(8): 854–862. DOI: 10.1038/nrn1100.
- [22] 刘瑶, 余涛, 阴正勤. 图形视觉诱发电位记录双眼形觉剥夺大鼠视皮层可塑性的研究[J]. 中华实验眼科杂志, 2011, 29(12): 1106–1110. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.12.012.
Liu Y, Yu T, Yin ZQ. The visual cortex plasticity of adult rat after binocular form deprivation by pattern visual evoked potential [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2011, 29(12): 1106–1110. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.12.012.
- [23] Frenkel MY, Bear MF. How monocular deprivation shifts ocular dominance in visual cortex of young mice [J]. *Neuron*, 2004, 44(6): 917–923. DOI: 10.1016/j.neuron.2004.12.003.
- [24] Sawtell NB, Frenkel MY, Philpot BD, et al. NMDA receptor-dependent ocular dominance plasticity in adult visual cortex [J]. *Neuron*, 2003, 38(6): 977–985.

(收稿日期: 2016-03-04)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

读者·作者·编者

本刊征稿启事

《中华实验眼科杂志》是由中国科学技术协会主管、中华医学学会主办、河南省眼科研究所 河南省立眼科医院承办的眼科专业学术期刊,月刊,每月10日出版。本刊的报道范围主要为眼科基础和临床研究领域领先的科研成果,主要栏目设有专家述评、实验研究、临床研究、调查研究、综述、病例报告等,学术内容涉及眼科疾病的基因学研究、基因诊断和基因靶向治疗、眼科遗传学研究、分子生物学研究、眼科微生物学研究、眼科药物学研究、眼科生物材料研究、眼科表观遗传研究、眼科疾病的动物模型、眼科疾病的流行病学研究、眼科疾病的多中心或单中心随机对照临床试验、循证医学临床实践及眼科疾病的临床研究等。本刊拟刊出海外学者的中文或英文原创性论文或评述类文章,欢迎国内外眼科研究人员踊跃投稿。

(本刊编辑部)