

· 实验研究 ·

辛伐他汀和替米沙坦对大鼠视网膜衰老的延缓作用及其机制

王静 康前雁

710061 西安交通大学第一附属医院眼科

通信作者:康前雁, Email: kangqy@mail. xjtu. edu. cn

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 05. 007

【摘要】 **背景** 他汀类药物具有显著的降脂、抗氧化、抗炎及调节血管内皮细胞功能等作用,而沙坦类药物能促进细胞因子的表达和调控细胞的生长。鉴于他汀类和沙坦类作用机制和药效的多效性,推测其对预防视网膜衰老具有一定的作用。**目的** 研究辛伐他汀和替米沙坦对大鼠视网膜自然衰老的预防作用。**方法** 选择3月龄健康无眼疾SD大鼠66只,其中6只为青年组,其他大鼠常规饲养至9月龄后按随机数字表法将大鼠随机分为辛伐他汀组、替米沙坦组和对对照组,每组各20只。辛伐他汀组和替米沙坦组大鼠分别用5 mg/(kg·d)辛伐他汀和8 mg/(kg·d)替米沙坦灌胃,对照组大鼠用等容量生理盐水灌胃,3个组大鼠均饲养至17月龄,将存活的辛伐他汀组12只、替米沙坦组10只和对对照组8只大鼠经心脏灌注质量分数4%多聚甲醛溶液后摘取右侧眼球制备眼组织切片;青年组大鼠于3月龄时以同样方法获取眼组织切片。采用苏木精-伊红染色法检查各组大鼠视网膜厚度;采用免疫荧光染色技术检测视网膜神经节细胞(RGCs)标志物Thy-1、双极细胞标志物蛋白激酶C- α (PKC- α)、视锥细胞标志物opsin和视杆细胞标志物rhodopsin的表达,分别评估视网膜各级神经元的形态和视网膜各层的厚度。**结果** 视网膜病理组织学检查显示,青年组大鼠视网膜结构清晰,细胞排列整齐;辛伐他汀组和替米沙坦组大鼠RGCs排列紊乱,细胞形态不规则;对照组大鼠视网膜感光细胞层内节(IS)、外节(OS)结构及RGCs排列紊乱。与青年组相比,辛伐他汀组、替米沙坦组和对对照组大鼠视网膜总厚度及外核层(ONL)、外丛状层(OPL)、内核层(INL)、内丛状层(IPL)厚度均不同程度变薄,而感光细胞层厚度增加,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。Thy-1免疫荧光染色显示,与青年组相比,辛伐他汀组、替米沙坦组和对对照组大鼠RGCs数量均减少,但辛伐他汀组大鼠RGCs数量较对照组增多,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。PKC- α 荧光染色显示,辛伐他汀组、替米沙坦组和对对照组轴突终扣密度均较青年组减少,辛伐他汀组大鼠双极细胞密度高于青年组和对对照组,轴突终扣密度较对照组减少,差异均有统计学意义(均 $P = 0.000$)。Opsin和rhodopsin荧光染色显示,辛伐他汀组、替米沙坦组和对对照组大鼠视网膜OS厚度较青年组增加,替米沙坦组大鼠OS厚度较对照组下降,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。**结论** 随年龄增加,SD大鼠视网膜各层结构变薄,RGCs数量减少,双极细胞密度虽无明显变化,但突触联系减少,且视细胞OS层增厚。辛伐他汀可使RGCs数量和双极细胞密度增加,而替米沙坦可使增厚的视细胞OS层变薄,从而延缓视网膜的衰老。

【关键词】 衰老/生理; 视网膜/生理病理; 老龄; 眼蛋白/药物作用; 神经元/结构; 他汀类; 沙坦类; 大鼠

Anti-aging effect of simvastatin and telmisartan on retinas and its mechanism in rats Wang Jing, Kang Qianyan

Department of Ophthalmology, Affiliated First Hospital of Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Corresponding author: Kang Qianyan, Email: kangqy@mail. xjtu. edu. cn

【Abstract】 **Background** Statins has prominent roles in regulating lipids, anti-inflammation, autoxidation and protecting vascular endothelial cells. Sartans can promote cell growth and the expression of cytokines. Since the pleiotropic effects of statins and sartans on a variety of cell types, it is inferred that the two medicines can delay retinal aging. **Objective** This study was to explore the anti-aging effect of simvastatin and telmisartan on the physiological aging of retina. **Methods** Sixty-six three-month-old healthy SD rats were selected in this study, and 6 of them served as the youth group and the right eyeballs were immediately enucleated. The other rats were raised until

9-month-old in the same conditions and then randomly divided into the simvastatin group, telmisartan group and the control group with 20 rats for each group. The simvastatin of 5 mg/kg and telmisartan of 8 mg/kg were given by intragastric administration once a day in the simvastatin group and the telmisartan group until 17-month-old, and the equal amount of normal saline was used in the control group in the same way. The number of survival rats was 12 in the simvastatin group, 10 in the telmisartan group and 8 in the control group. The right eyes were enucleated after heart perfusion of 4% paraformaldehyde solution for the preparation of retinal paraffin sections. Retinal thickness was measured by pathological examination, and the expressions of the retinal neuron markers, including Thy-1, protein kinase C- α (PKC- α), opsin and rhodopsin, were detected by immunofluorescence technique to evaluate the morphology of retinal ganglion cells (RGCs), bipolar cells as well as the thickness of the outer segment of photoreceptors.

Results The retinal structure was clear in the rats of the youth group. However, the RGCs arrangement and inner segment (IS) and outer segment (OS) structure were abnormal in the simvastatin group, the telmisartan group and the control group. Compared with the rats of the youth group, the thickness of outer nuclear layer (ONL), outer plexiform layer (OPL), inner nuclear layer (INL), inner plexiform layer (IPL) and the total thickness of the aging rats were decreased, and the IS/OS thickness was increased in the simvastatin group and the telmisartan group (all at $P < 0.01$). Thy-1 stain showed that the number of RGCs was reduced in the simvastatin group, telmisartan group and the control group compared with the youth group, and that in the simvastatin group was increased in comparison with the control group (all at $P < 0.01$). PKC- α stain exhibited that the density of bipolar cells was increased but the axon terminal bouton was declined in the simvastatin group, telmisartan group and the control group compared with the youth group, and the axon terminal bouton was declined in the simvastatin group compared with the youth group and the control group (all at $P = 0.000$). Opsin and rhodopsin stains displayed that the OS thickness was increased in the simvastatin group, telmisartan group and the control group compared with the youth group, and that in the telmisartan group was reduced in comparison with the control group (all at $P < 0.01$).

Conclusions As SD rat aging, retinal thickness is gradually attenuated and the number of RGCs is gradually declined. Although the density of bipolar cells seem to be unchanged, their synaptic connections are decreased and the OS is thicken. Simvastatin and telmisartan can delay retinal senescence by protecting retinal neurons against aging and thinning thickened OS.

[Key words] Aging/physiology; Retina/physiopathology; Aged; Eye proteins/drug effect; Neurons/structure; Statins; Sartans; Animal, rats

衰老在眼部发生较早,主要表现为眼部组织的老化及视功能衰退。研究表明,衰老引起的视锐度、空间对比敏感度及动作辨识度等的减退不能简单归因于与屈光介质相关的光学因素的改变,其可能还与视网膜神经细胞及视路的改变相关^[1-3]。辛伐他汀和替米沙坦是心血管疾病老年患者的常用药物。辛伐他汀除降脂和降压作用外,还有抗氧化应激、延缓血管内皮细胞衰老、抗炎及提高动脉血管顺应性等作用;替米沙坦则可调控细胞生长和生长因子的表达,但这2种药物在视网膜衰老过程中的作用鲜见报道。本研究中观察视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)标志物 Thy-1、双极细胞标志物蛋白激酶 C- α (protein kinase C- α , PKC- α)、视锥细胞标志物 opsin 和视杆细胞标志物 rhodopsin 在衰老大鼠视网膜中的变化,并探讨辛伐他汀和替米沙坦对视网膜衰老的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 SPF 级 3 月龄健康 SD 大鼠

66 只,雌雄不限,体质量 200 ~ 250 g,均排除眼部疾患(西安交通大学医学院实验动物中心提供)。应用随机数字表法将大鼠随机分为辛伐他汀组、替米沙坦组、对照组各 20 只及青年组 6 只。实验动物的使用和喂养符合实验动物伦理规范并遵循中华人民共和国卫生部颁布的《医学实验动物管理实施细则》。

1.1.2 主要试剂 辛伐他汀(美国 Merck Sharp & Dohme 公司);替米沙坦(德国 Boehringer-Ingelheim 公司);兔抗大鼠 Thy-1 一抗(sc-9163)(1:10)(美国 Santa Cruz 公司);兔抗大鼠 PKC- α 一抗(ab32376)(1:100)(美国 Epitomics 公司);小鼠抗大鼠 opsin 一抗(O4886)(1:100)(美国 Sigma 公司);小鼠抗大鼠 rhodopsin 一抗(ab3267)(1:100)、山羊抗小鼠 FITC 标记荧光二抗(ab6656)(1:200)(英国 Abcam 公司);山羊抗兔 Cy3 标记荧光二抗(CW01595)(1:200)(北京康为世纪生物科技有限公司);DAPI 核荧光染料(瑞士 Roche 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物的分组处理 辛伐他汀组、替米沙坦

组、对照组大鼠常规饲养至 9 月龄。辛伐他汀组大鼠给予 5 mg/(kg·d) 辛伐他汀溶液灌胃, 替米沙坦组大鼠给予 8 mg/(kg·d) 替米沙坦溶液灌胃, 对照组给予等容量生理盐水灌胃, 大鼠在同样的正常环境下饲养至 17 月龄。存活的大鼠辛伐他汀组 12 只, 替米沙坦组 10 只, 对照组 8 只。

1.2.2 各组大鼠视网膜组织的常规组织病理学检查

青年组大鼠饲养至 3 月龄, 辛伐他汀组、替米沙坦组、对照组大鼠 17 月龄时腹腔内注射质量分数 10% 水合氯醛行全身麻醉, 剂量为 5 ml/kg。固定并暴露心脏, 用质量分数 4% 多聚甲醛溶液行心内灌注, 摘取右侧眼球, 多聚甲醛溶液固定 24 h, 梯度脱水, 透明, 浸蜡, 包埋, 制备约 5 μm 厚切片。切片脱蜡至水化, 苏木素浸染 5 min, 自来水冲洗 3 min, 盐酸乙醇分色 5~30 s, 自来水冲洗蓝化 30 min, 伊红浸染 5 min, 冲洗 10 min, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 光学显微镜下观察视网膜厚度。

1.2.3 免疫组织荧光染色技术检测 Thy-1、PKC-α、opsin 和 rhodopsin 的表达

切片脱蜡至水化, 高温修复抗原, 滴加山羊血清, 滴加相应一抗, 室温孵育 1 h, 4℃ 过夜, PBS 冲洗 3 次, 每次 5 min; 滴加二抗, 室温孵育 2 h, PBS 冲洗 3 次, 每次 5 min; DAPI 染核 10 min, PBS 冲洗 3 次, 每次 5 min; 甘油封片。阴性对照以 PBS 代替一抗。每组随机取 6 只大鼠, 每只大鼠任意选取 2 张切片, 切片以视神经为中心对称选取 6 个部位, 采用 Image-Pro Plus 6.0

图像分析软件采集视网膜图像, 计数每个视野下的阳性 RGCs 数目, 计算单位面积下双极细胞数和内丛状层的免疫阳性位点以及感光细胞层外节 (outer segment, OS) 厚度, 即视锥和视杆细胞层厚度。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用随机分组多水平实验设计, 青年组、对照组、辛伐他汀组和替米沙坦组大鼠视网膜厚度、RGCs 数量、

双极细胞密度和光感受器 OS 厚度的总体差异比较均采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 LSD-t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 RGCs 的常规组织病理学表现

青年组大鼠 RGCs 排列整齐, 细胞形态规则, 轮廓清晰, 大小较一致; 辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠 RGCs 排列紊乱, 细胞形态不一, 细胞数量减少 (图 1)。辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠视网膜总厚度及外核层 (outer nuclear layer, ONL)、外丛状层 (outer plexiform layer, OPL)、内核层 (inner nuclear layer, INL)、内丛状层 (inner plexiform layer, IPL) 厚度均不同程度变薄, 感光细胞层内节 (inner segment, IS) 和 OS 厚度增加, 差异均有统计学意义 (均 P=0.000)。与青年组相比, 对照组大鼠视网膜总厚度平均下降 14.64%, ONL、OPL、INL 和 IPL 视网膜厚度分别平均下降 34.78%、46.29%、47.25% 和 27.38%, 感光细胞层厚度平均增加 40.62%。与对照组相比, 辛伐他汀组大鼠 ONL、OPL、INL 和 IPL 厚度值明显增加, 差异均有统计学意义 (P=0.004、0.003、0.028、0.009); 替米沙坦组大鼠 OPL、INL 厚度值明显增加, IS/OS 厚度值明显下降, 差异均有统计学意义 (P=0.002、0.002、0.012)。辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠视网膜总厚度组间比较, 差异均无统计学意义 (P=0.667、0.231) (表 1)。

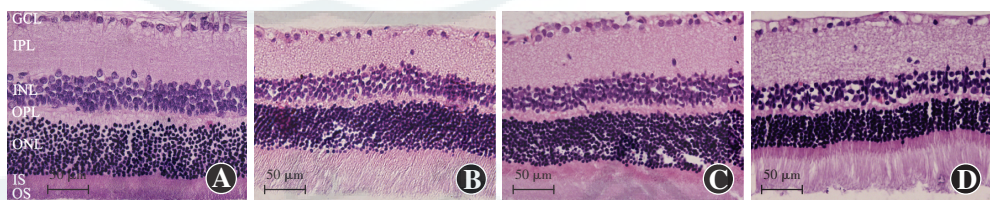


图 1 各组大鼠 RGCs 的常规病理组织学表现 (HE ×400, 标尺 = 50 μm) A: 青年组大鼠 RGCs 排列整齐, 细胞形态规则 B: 辛伐他汀组大鼠 RGCs 排列较青年组稍紊乱 C: 替米沙坦组大鼠 RGCs 排列紊乱, 细胞形态不规则 D: 对照组大鼠 RGCs 排列紊乱, 形态不一 GCL: 节细胞层; ONL: 外核层; OPL: 外丛状层; INL: 内核层; IPL: 内丛状层; IS: 内节; OS: 外节

表 1 各组大鼠视网膜总厚度及各层厚度比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$)

组别	样本量	总厚度	ONL	OPL	INL	IPL	IS/OS
青年组	6	202.814 ± 7.486	51.810 ± 1.877	14.976 ± 0.871	35.465 ± 0.883	55.806 ± 2.509	25.827 ± 1.466
对照组	6	173.129 ± 7.677 ^a	33.788 ± 0.985 ^a	8.044 ± 0.203 ^a	18.542 ± 0.527 ^a	40.528 ± 2.872 ^a	43.495 ± 1.587 ^a
辛伐他汀组	6	171.172 ± 11.148 ^a	41.674 ± 4.576 ^{ab}	9.750 ± 0.470 ^{ab}	20.457 ± 2.318 ^{ac}	36.547 ± 2.697 ^{ab}	40.617 ± 6.189 ^a
替米沙坦组	6	167.604 ± 0.996 ^a	35.931 ± 6.644 ^a	9.842 ± 1.412 ^{ab}	21.473 ± 1.180 ^{ab}	38.822 ± 1.102 ^a	37.232 ± 4.229 ^{ac}
F		26.384	22.394	71.538	184.233	79.596	23.661
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 与青年组比较, ^aP<0.01; 与对照组比较, ^bP<0.01, ^cP<0.05 (单因素方差分析, LSD-t 检验) ONL: 外核层; OPL: 外丛状层; INL: 内核层; IPL: 内丛状层; IS/OS: 内节/外节

2.2 各组大鼠视网膜中神经元标志物的表达

2.2.1 各组大鼠视网膜中 RGCs 标志物 Thy-1 的表达

Thy-1 主要表达于 RGCs 层,为细胞质的绿色荧光。青年组大鼠视网膜中 Thy-1 阳性表达细胞排列密集,细胞大小一致。辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠视网膜中 Thy-1 阳性细胞数量明显少于青年组,差异均有统计学意义 ($P=0.001, 0.000, 0.000$),辛伐他汀组大鼠视网膜中 Thy-1 阳性细胞数量较对照组明显增多,差异有统计学意义 ($P=0.000$),替米沙坦组与对照组大鼠视网膜中 Thy-1 阳性细胞数目的比较,差异无统计学意义 ($P=0.335$) (图 2,表 2)。

2.2.2 各组大鼠视网膜中双极细胞标志物 PKC- α 的表达

PKC- α 主要表达于视网膜 INL、IPL 及 RGCs 层。位于 INL 外侧的 PKC- α 阳性双极细胞呈锥形,细胞膜呈绿色荧光,可见长轴突伸向 IPL 内侧,其末端表现为椭圆形膨大结构,即轴突终扣,另可见有树突伸向 OPL。与青年组相比,辛伐他汀组大鼠 PKC- α 阳性双极细胞密度增加,差异有统计学意义 ($P=0.000$),而替米沙坦组和对照组大鼠 PKC- α 阳性双极细胞密度无明显变化;辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠轴突终扣密度均较青年组减小,差异均有统计学意义 (均 $P=0.000$)。与对照组比较,辛伐他汀组大鼠 PKC- α 阳性双极细胞密度增加,轴突终扣密度减小,差异均有统计学意义 (均 $P=0.000$),而替米沙坦组和对照组组间比较,差异均无统计学意义 ($P=0.848, 0.764$) (图 2,表 2)。

2.2.3 各组大鼠视网膜中视锥细胞标志物 opsin 的表达

Opsin 主要表达于视网膜感光细胞层 OS,呈红色荧光颗粒,密集呈条状分布。与青年组比较,辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠视网膜中 opsin 阳性标记层厚度值较对照组明显下降,差异有统计学意义 ($P=0.001$);辛伐他汀组大鼠视网膜中 opsin 阳性标记层厚度值稍低于对照组,但差异无统计学意义 ($P=0.474$) (图 2,表 2)。

2.2.4 各组大鼠视网膜中

视杆细胞标志物 rhodopsin 的表达 Rhodopsin 主要表达于视网膜感光细胞层 OS,呈红色荧光颗粒,密集呈条状分布。与青年组比较,辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠视网膜中 rhodopsin 的阳性标记层厚度值增加,差异均有统计学意义 (均 $P=0.000$)。替米沙坦组大鼠 rhodopsin 的阳性标记层厚度值较对照组大鼠明显下降,差异有统计学意义 ($P=0.000$);辛伐他汀组大鼠 rhodopsin 的阳性标记层厚度值较对照组稍下降,但差异无统计学意义 ($P=0.052$) (图 2,表 2)。

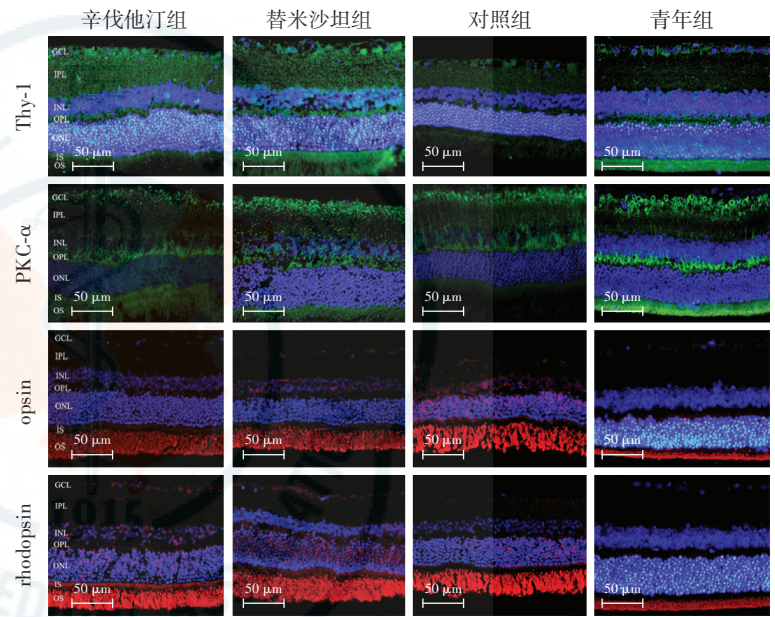


图 2 各组大鼠视网膜神经元标志物的表达 (×400, 标尺 = 50 μm) 大鼠视网膜中 RGCs 标志物 Thy-1 和双极细胞标志物 PKC- α 表达均呈绿色荧光 (Cy3), 分别表达于 GCL、INL 和 IPL, 而视锥细胞标志物 opsin 和视杆细胞标志物 rhodopsin 表达均呈红色荧光 (FITC), 主要表达于视细胞外段。细胞核为蓝色荧光 (DAPI)。青年组、辛伐他汀组、替米沙坦组大鼠视网膜中 Thy-1 和 PKC- α 表达均明显强于对照组, Thy-1 及 PKC- α 的绿色荧光染色显示, 辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠轴突终扣直径小于青年组, Thy-1 及 PKC- α 阳性细胞分布散乱。Opsin 和 rhodopsin 的红色荧光染色显示, 与青年组大鼠相比, 辛伐他汀组、替米沙坦组和对照组大鼠 OS 层明显增厚, 对照组大鼠 OS 层呈条絮状不规则分布 GCL: 节细胞层; ONL: 外核层; OPL: 外丛状层; INL: 内核层; IPL: 内丛状层; IS: 内节; OS: 外节; PKC: 蛋白激酶 C

表 2 各组大鼠各级神经元参数的比较

组别	样本量	RGCs 数量 (/视野)	双极细胞密度 (/6 cm ²)	轴突终扣密度 (/6 cm ²)	视锥细胞外节厚度 (μm)	视杆细胞外节厚度 (μm)
青年组	6	27.170±5.231	40.000±2.191	131.670±8.238	13.107±1.385	12.927±2.854
对照组	6	1.000±0.632 ^a	40.170±7.278	62.670±7.737 ^a	33.857±4.545 ^c	31.275±2.948 ^c
辛伐他汀组	6	8.000±1.414 ^{ab}	62.170±8.727 ^{ac}	41.670±6.532 ^{ac}	32.696±2.124 ^a	26.821±3.033 ^c
替米沙坦组	6	1.790±0.749 ^a	41.000±9.359	64.000±7.746 ^a	27.283±1.819 ^{ac}	22.127±5.447 ^{ac}
F		117.658	12.866	159.560	71.673	26.565
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与青年组比较, ^a $P<0.01$;与对照组比较, ^b $P<0.05$, ^c $P<0.01$ (单因素方差分析, LSD-t 检验) RGCs: 视网膜神经节细胞

3 讨论

3.1 视网膜厚度和神经元数量的年龄相关性改变

研究表明,哺乳动物视网膜衰老的形态学变化主要表现在 RGCs、双极细胞突触体、光感受器细胞间连接、毛细血管数量减少以及组织蛋白含量下降和视网膜总厚度变薄^[4-6],本研究中也发现,老年大鼠视网膜各层厚度及其总厚度均较青年大鼠变薄,其中 OPL 是双极细胞、水平细胞与光感受器细胞发生突触联系的部位,OPL 厚度变薄证实衰老对中枢神经系统突触联系的影响较显著,可导致突触丢失和结构改变,该研究结果与 Shimada 等^[7]的研究结果相一致。

视觉信息在视网膜内形成的视觉神经冲动由视网膜中的三级神经元逐级传递。光感受器细胞接收的光刺激经中间神经元(水平细胞、双极细胞及无长突细胞)处理并转换为光化学信号,最终由 RGCs 传递至视皮质。以往研究表明神经系统神经元的丢失是正常衰老的特征^[8]。有研究发现神经元丢失与年龄的增长相关^[9-10],但 Kim 等^[11]采用视网膜平铺方法分别测定青年和衰老猕猴,发现 RGCs 平均数量、密度、总数量(分别以视网膜 4 个象限区域和以中心凹至周边视网膜划分为的 4 个同心圆区域计数)和胞体直径差异无统计学意义。Harman 等^[12]研究发现,老年大鼠与青年大鼠 RGCs 数量并无差异,但因老年大鼠视网膜面积增加,故 RGCs 密度相应降低。本研究中发现,老年大鼠 RGCs 数量较青年大鼠明显减少,双极细胞密度虽未见明显变化,但其轴突终扣密度明显减小。PKC- α 主要表达于 ON 型视杆双极细胞的树突、胞体及其与 RGCs 形成的突触前终末,此型双极细胞绝大多数并不与 RGCs 形成直接突触联系,而是与无长突细胞或 RGCs 形成二分体结构^[13]。因此,随着年龄的增长,与 RGCs 相连接的轴突终扣因 RGCs 的丢失而减少。

正常情况下,视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞发挥吞噬和消化脱落的视网膜光感受器细胞膜盘、维持眼内环境稳定的功能。随着哺乳动物年龄的增长,RPE 细胞吞噬功能减弱可导致视细胞 OS 脱落的膜盘聚集,加速脂褐素的生成。衰老可引起感光细胞密度的降低,其中以视杆细胞的减少更明显。本研究中老年大鼠视细胞 OS 厚度较青年组增加,考虑与 OS 脱落膜盘堆积有关。

3.2 辛伐他汀对衰老视网膜的影响

他汀类药物是 3-羟基-3-甲基-戊二酰-辅酶 A 还原酶抑制剂,是一类经典的降血脂及预防心脏病和中风的药物。目前研究证实,他汀类药物在抗氧化应激、

延缓内皮细胞衰老、减少自由基形成、抗炎及提高动脉血管顺应性等方面发挥作用,并可降低胰腺炎、Barrett 食管、糖尿病肾病、食管癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌、胰腺癌等的发病风险或死亡率。眼科学方面,他汀类药物可在糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)微血管内皮细胞的糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGE)-RAGE 信号途径中发挥作用,抑制视网膜缺血缺氧性 RGCs 的丢失;其可能通过降血脂效应、维持血管供给、抗炎、抗氧化效应和抑制金属蛋白酶来阻止或延迟早期年龄相关性黄斑变性(aged-related macular degeneration, AMD)的发生和发展^[14];或在青光眼的发生或治疗中发挥作用^[15]。视网膜衰老的机制可能与氧化应激、凋亡、炎症反应及纤维化等有关,而辛伐他汀均可作用于上述反应过程。研究表明,辛伐他汀可通过阻断甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)通路使超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等抗氧化酶合成增多,进而阻断异戊二烯的合成而产生抗氧化作用;辛伐他汀可通过调控凋亡基因 *Bcl-2*、*Bax* 的表达而抑制细胞凋亡,从而在视网膜缺血-再灌注损伤中发挥保护作用^[16];辛伐他汀可能通过作用于核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路介导的炎性因子,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)等发挥抗炎作用;在 DR 等纤维化过程中,辛伐他汀可降低转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达^[17]。本研究中辛伐他汀组大鼠 RGCs 数量较对照组稍增多,推测辛伐他汀可作用于凋亡途径来阻止 RGCs 的丢失;同时,辛伐他汀组大鼠双极细胞密度较对照组增加,但轴突终扣密度减小,推测随着年龄的增大,RGCs 丢失增多,双极细胞转而寻求与无长突细胞等建立更多的水平联系,以此维持视觉信息的完整。

3.3 替米沙坦对衰老视网膜的影响

沙坦类药物是血管紧张素 II 受体 1(angiotensin II receptor type 1, AT1)拮抗剂,有降压、治疗心力衰竭、延缓糖尿病肾病发展等作用。Ang II 是肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的主要成分和效应因子,可在细胞增生、迁移、炎症反应、动脉粥样硬化、细胞外基质形成和血管细胞的扩散、转移及合成等方面发挥作用。视网膜中存在独立完整的 RAS^[18],受体分布以 AT1 为主。沙坦类药物选择性地与 AT1 受体结合,调整神经血管活动的自身调节和视网膜血管疾病的起始和严重程度^[19]。近年研究发现,替米沙坦

可作为选择性过氧化物酶体增生物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 激活剂在炎症、动脉粥样硬化、胰岛素抵抗与糖代谢、肿瘤、肥胖等方面发挥作用^[20]。PPAR γ 在视网膜主要表达于 RPE 层、光感受器 OS, 可下调编码炎性分子、炎性细胞因子、生长因子、蛋白水解酶类、黏附分子、趋化因子和致粥样硬化因子的基因转录。动物实验已证实替米沙坦的神经保护和抗炎效应。在本研究中, 替米沙坦可使增厚的老年大鼠感光细胞层 OS 变薄, 推测替米沙坦可增加 RPE 细胞对光感受器 OS 膜盘的吞噬能力及激活表达于光感受器 OS 的 PPAR γ , 从而延缓视网膜的衰老。

综上所述, 衰老可以引起机体组织细胞形态和结构的变化, 如视网膜变薄、RGCs 丢失和双极细胞轴突终扣密度降低。辛伐他汀、替米沙坦可分别通过促进视网膜双极细胞建立新的突触联系及增强 RPE 对光感受器 OS 膜盘的吞噬能力来延缓视网膜衰老, 其具体机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Turner PL, Mainster MA. Circadian photoreception: ageing and the eye's important role in systemic health[J]. Br J Ophthalmol, 2008, 92(11): 1439-1444. DOI: 10.1136/bjo.2008.141747.
- [2] Samuel MA, Zhang Y, Meister M, et al. Age-related alterations in neurons of the mouse retina[J]. J Neurosci, 2011, 31(44): 16033-16044. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3580-11.2011.
- [3] Spear PD. Neural bases of visual deficits during aging[J]. Vision Res, 1993, 33(18): 2589-2609.
- [4] 孙庆艳, 梅斌, 王海涛, 等. 猫视网膜年龄相关的形态学变化[J]. 动物学研究, 2004, 25(6): 538-542. DOI: 10.3321/j.issn.0254-5853.2004.06.012.
Sun QY, Mei B, Wang HT, et al. Age-related morphological changes in the retina of cats[J]. Zoological Res, 2004, 25(6): 538-542. DOI: 10.3321/j.issn.0254-5853.2004.06.012.
- [5] Ortak H, Cayli S, Ocakli, et al. Age-related changes of aquaporin expression patterns in the postnatal rat retina[J]. Acta Histochem, 2013, 115(4): 382-388. DOI: 10.1016/j.acthis.2012.09.013.
- [6] Cavallotti C, Artico M, Pescosolido N, et al. Age-related changes in the human retina[J]. Can J Ophthalmol, 2004, 39(1): 61-68.
- [7] Shimada A, Keino H, Satoh M, et al. Age-related loss of synapses in the frontal cortex of SAMP10 mouse: a model of cerebral degeneration[J]. Synapse, 2003, 48(4): 198-204. DOI: 10.1002/syn.10209.
- [8] Terry RD, DeTeresa R, Hansen LA. Neocortical cell counts in normal human adult aging[J]. Ann Neurol, 1987, 21(6): 530-539. DOI: 10.1002/ana.410210603.
- [9] Gao H, Hollyfield JG. Aging of the human retina. Differential loss of neurons and retinal pigment epithelial cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1992, 33(1): 1-17.
- [10] Aggarwal P, Nag TC, Wadhwa S. Age-related decrease in rod bipolar cell density of the human retina: an immunohistochemical study[J]. J Biosci, 2007, 32(2): 293-298.
- [11] Kim CB, Tom BW, Spear PD. Effects of aging on the densities, numbers, and sizes of retinal ganglion cells in rhesus monkey[J]. Neurobiol Aging, 1996, 17(3): 431-438.
- [12] Harman A, Abrahams B, Moore S, et al. Neuronal density in the human retinal ganglion cell layer from 16-77 years[J]. Anat Rec, 2000, 260(2): 124-131.
- [13] Sharpe LT, Stockman A. Rod pathways: the importance of seeing nothing, by Lindsay T. Sharpe and Andrew Stockman, Vol. 22, pp. 497-504 [J/OL]. Trends Neurosci, 2000, 23(1): 39. http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016622369901509X.
- [14] Guymer RH, Chiu AW, Lim L, et al. HMG CoA reductase inhibitors (statins): do they have a role in age-related macular degeneration? [J]. Surv Ophthalmol, 2005, 50(2): 194-206. DOI: 10.1016/j.survophthal.2004.12.002.
- [15] Olson EA, Hainsworth DP, Davis G, et al. Eye on statins: a comprehensive review[J]. Mo Med, 2013, 110(4): 344-348.
- [16] 张玉, 颜华. 辛伐他汀对大鼠视网膜缺血再灌注损伤中 Bcl-2 和 BAX 表达及细胞凋亡的影响[J]. 中华眼科杂志, 2014, 50(11): 826-832. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2014.11.006.
Zhang Y, Yan H. Effect of simvastatin on retinal Bcl-2/Bax expression and cell apoptosis in rats with ischemia-reperfusion injury[J]. Chin J Ophthalmol, 2014, 50(11): 826-832. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2014.11.006.
- [17] 胡艳滨, 张静楷, 孙志勇, 等. 辛伐他汀对糖尿病大鼠玻璃体及视网膜结缔组织生长因子表达的影响[J]. 中华眼科杂志, 2012, 48(5): 444-449. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2012.05.016.
Hu YB, Zhang JK, Sun ZY, et al. Effects of simvastatin on expression of connective tissue growth factor in vitreous and retina of diabetic rats[J]. Chin J Ophthalmol, 2012, 48(5): 444-449. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2012.05.016.
- [18] Nagai N, Izumi-Nagai K, Oike Y, et al. Suppression of diabetes-induced retinal inflammation by blocking the angiotensin II type 1 receptor or its downstream nuclear factor-kappaB pathway[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(9): 4342-4350. DOI: 10.1167/iovs.06-1473.
- [19] Wilkinson-Berka JL. Angiotensin and diabetic retinopathy[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2006, 38(5-6): 752-765. DOI: 10.1016/j.biocel.2005.08.002.
- [20] Imayama I, Ichiki T, Inanaga K, et al. Telmisartan downregulates angiotensin II type 1 receptor through activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma[J]. Cardiovasc Res, 2006, 72(1): 184-190. DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.07.014.

(收稿日期: 2016-01-23)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

读者 · 作者 · 编者

部分眼科英文缩略语名词解释

SMILE: 小切口角膜微透镜取出术

FS-LASIK: 飞秒激光辅助的准分子激光角膜原位磨镶术

(本刊编辑部)