

NEP1-40 对成年单眼剥夺弱视大鼠视皮层可塑性的再激活作用

罗瑜琳¹, 吴小影², 刘双珍², 陶利娟¹

作者单位:¹(410007) 中国湖南省长沙市, 湖南省儿童医院眼科; ²(410008) 中国湖南省长沙市, 中南大学湘雅医院眼科

作者简介: 罗瑜琳, 女, 博士, 医师, 研究方向: 斜弱视、屈光。

通讯作者: 吴小影, 女, 教授, 研究方向: 斜弱视、屈光。

wuxiaoyingxy@yahoo.cn

收稿日期: 2012-11-23 修回日期: 2013-01-24

Reactivation of visual cortical plasticity by NEP1-40 from monocular deprivation in adult rats

Yu-Lin Luo¹, Xiao-Ying Wu², Shuang-Zhen Liu², Li-Juan Tao¹

¹Department of Ophthalmology, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, Hunan Province, China; ²Department of Ophthalmology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China

Correspondence to: Xiao-Ying Wu, Department of Ophthalmology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China. wuxiaoyingxy@yahoo.cn

Received: 2012-11-23 Accepted: 2013-01-24

Abstract

• AIM: To explore the effect and significance of NEP1-40 on visual cortical plasticity of monocular deprivation in adult rats.

• METHODS: Totally 60 neonatal rats were randomly allocated into 6 groups: normal animals (Nor), normal animals treated with PBS (Nor+PBS) or NEP1-40 (Nor+NEP), MD animals without any treatment (MD), MD animals treated with PBS (MD + PBS) or NEP1-40 (MD + NEP). We subjected P21 rats to monocular deprivation model until P45. Then the deprived eyes of MD model rats were reopened and followed by NEP1-40 or PBS administration for 7 days. Ultrastructural modifications of synaptic junctions and objective visual function were examined at P52 to determine the therapeutic effects of NEP1-40.

• RESULTS: The objective visual function examined by F-VEP: At P45, F-VEP showed that compared with rats in Nor group, deprived eyes of rats in MD group, MD+PBS group and MD+NEP group displayed a longer latency ($P < 0.05$) and a smaller amplitude ($P < 0.05$); At P52, we could see that comparing with the MD group and MD + PBS group, the latencies of F-VEP in MD+NEP group were shortened and the amplitudes were increased ($P < 0.05$),

which were similar with that of in Nor group (Nor vs MD+NEP, $P > 0.05$). The structural modifications of synaptic junctions examined by electromicrographs: All of the structural parameters of the synaptic junction in visual cortex were altered by monocular deprivation in MD group compared with the Nor group, displaying an increased width of synaptic clefts, shortened synaptic active zone, decreased curvature of synaptic interface and decreased thickness of PSD. However, synaptic ultrastructural analysis showed that NEP1-40 treatment could recover the entire structural index in monocular deprivation rats (MD vs MD+PBS vs MD+NEP, $P < 0.05$) but not normal rats (Nor vs Nor+PBS vs Nor+NEP, $P > 0.05$). It was noteworthy that, although the width of synaptic clefts in MD+NEP group decreased remarkably in comparison with that of in MD group, it still had not reach the normal level (Nor vs MD+NEP, $P > 0.05$).

• CONCLUSION: NEP1-40 could recover the structural modifications of synaptic junctions of neurons in visual cortex contralateral to deprived eye, as well as the objective visual function of deprived eye, which indicated a new role for NEP1-40 in reactivation of visual cortical plasticity from monocular deprivation in adult rats and offered the theoretical foundation for curing adult patients with amblyopia in the clinic.

• KEYWORDS: NEP1-40; monocular deprivation; visual cortex; plasticity; F-VEP

Citation: Luo YL, Wu XY, Liu SZ, et al. Reactivation of visual cortical plasticity by NEP1-40 from monocular deprivation in adult rats. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(2):246-251

摘要

目的: 探讨 NEP1-40 对成年单眼剥夺弱视大鼠视皮层结构及功能可塑性的再激活作用及意义。

方法: 60 只新生 SD 大鼠随机分为 6 组: 正常对照组 (Nor)、正常+PBS 治疗组 (Nor+PBS)、正常+NEP1-40 治疗组 (Nor+NEP)、模型对照组 (MD)、模型+PBS 治疗组 (MD+PBS) 及模型+NEP1-40 治疗组 (MD+NEP)。模型组大鼠于出生后 21d 缝合右侧眼睑建立单眼剥夺弱视模型, 于 45 日龄时打开剥夺眼, 对各组大鼠行闪光视觉诱发电位 (F-VEP) 检测, 确定单眼剥夺模型建立成功后, 对需给药的各组大鼠按组别给予 NEP1-40 或 PBS 侧脑室注药治疗 7d。于 52 日龄时对各组大鼠再次行 F-VEP 检测后处死动物, 取左侧视皮层进行透射电镜观察突触超微结构变化。

结果:45日龄时F-VEP检测示,MD组、MD+PBS组及MD+NEP组与Nor组比较,P波潜伏期延长,波幅降低($P<0.05$);52日龄时F-VEP检测示,MD+NEP组与MD组、MD+PBS组大鼠比较,右眼F-VEP的P波潜伏期及波幅差异有统计学意义($P<0.05$),而与Nor组比较差异无统计学意义($P>0.05$);MD+PBS组与MD组大鼠比较,右眼F-VEP的P波潜伏期及波幅差异无统计学意义($P>0.05$),而与Nor组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。透射电镜观察视皮层神经元突触界面结构参数:与Nor组比较,MD组大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触间隙增大,突触活性区长度缩短,突触界面曲率减小,突触后致密物厚度变薄($P<0.05$)。MD+NEP组大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触界面结构参数的各项指标均较MD组、MD+PBS组明显改善($P<0.05$),与Nor组相比除突触间隙外($P<0.05$),其余各项参数差异无统计学意义($P>0.05$)。MD+PBS组与MD组大鼠比较剥夺眼对侧视皮层神经元突触界面结构参数的各项指标差异均无统计学意义($P>0.05$),而与Nor组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论:NEP1-40可使成年单眼剥夺弱视大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元的突触界面结构参数得以恢复,F-VEP的P波潜伏期及波幅恢复至正常水平,重新“激活”被抑制的视皮层结构及功能可塑性,为成年弱视患者提供新的治疗途径奠定了理论基础。

关键词:NEP1-40;单眼剥夺;视皮层;可塑性;闪光视觉诱发电位

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.02.07

引用:罗瑜琳,吴小影,刘双珍,等.NEP1-40对成年单眼剥夺弱视大鼠视皮层可塑性的再激活作用.国际眼科杂志2013;13(2):246-251

0 引言

人类和哺乳动物出生以后,视觉系统能够根据外界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,称为视觉发育可塑性。发生这一改变最敏感的时期即为视觉发育关键期,在视觉发育关键期内,异常的视觉经验信号传入视皮层可导致弱视。据统计,弱视在全世界儿童中的发病率为2%~5%^[1],不仅矫正视力低于正常,且缺乏适应高科技发展所必须的高级视功能,严重危害自身的生活及社会的经济发展。目前治疗弱视主要还是采用传统的遮盖等物理治疗方法,其在视觉发育关键期内疗效好,但孩子因为年龄太小而往往不能较好地配合;但在7岁以后视皮层的可塑性基本被“抑制”,异常视觉环境造成的弱视将难以治疗,治愈率不足18%^[2]。因此,如何更有效地治疗弱视,寻找重新“激活”被抑制的视皮层可塑性的途径已成为生命科学领域急需解决的一项重大课题。

弱视的发病和治疗与视皮层可塑性密切相关,因此研究视皮层可塑性的机制,将为寻找防治弱视的有效药物、提高弱视治愈率提供重要的理论基础。近年来,研究者越来越关注突触重构机制在视皮层结构可塑性中的作用,使一类调控中枢神经系统的神经生长抑制因子成为可塑性研究的重点^[3]。目前已发现的髓鞘来源的抑制因子包括Nogo蛋白^[4]、髓磷脂相关糖蛋白(myelin-associated glycoprotein, MAG)^[5]和少突胶质细胞-髓磷脂糖蛋白

(oligodendrocyte-myelin glycoprotein, OMgp)^[6],他们作用于共同的Nogo受体(NgR)^[7],调节细胞骨架蛋白,发挥轴突再生抑制和突触可塑性调控作用^[8]。NEP1-40是针对Nogo-66氨基酸序列设计的NgR竞争性拮抗剂,能拮抗中枢神经抑制因子与NgR的结合,从而切断NgR信号系统及其下游分子的作用^[9]。本课题拟从结构及功能两个方面探讨NEP1-40对成年单眼剥夺弱视大鼠视皮层可塑性的再激活作用。

1 材料和方法

1.1 材料 新生健康清洁级SD大鼠60只,常规检查双眼,排除眼部器质性疾病。动物饲养于中南大学医学院实验动物中心,饲养环境符合医学实验动物环境设施要求。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 按随机数字表法将大鼠分为6组:正常对照组(Nor)、正常+PBS治疗组(Nor+PBS)、正常+NEP1-40治疗组(Nor+NEP)、模型对照组(MD)、模型+PBS治疗组(MD+PBS)及模型+NEP1-40治疗组(MD+NEP),每组各10只。模型组大鼠于出生后21d缝合右侧眼睑建立单眼剥夺弱视模型,于45日龄时打开右侧剥夺眼,对各组大鼠行闪光视觉诱发电位(F-VEP)检测,确定单眼剥夺模型建立成功后,参照大鼠脑立体定位图谱^[10],对需给药的各组大鼠按组别给予NEP1-40或PBS侧脑室注药治疗,持续7d。于52日龄时对各组大鼠再次行F-VEP检测后处死动物,取左侧视皮层进行透射电镜观察突触超微结构变化。

1.2.2 大鼠单眼剥夺弱视模型的建立 采用Maffei等^[11]的眼睑缝合方法建立单眼剥夺弱视大鼠模型。取正常光线条件下饲养的21日龄大鼠,10%水合氯醛腹腔麻醉,备皮后用络合碘消毒右眼周围皮肤,分别剪除右侧上下眼睑宽约1.5mm睑缘组织,6-0可吸收缝线褥式缝合上下眼睑创缘,涂少许四环素眼膏。清醒后在正常光线饲养,每天早、晚仔细观察缝合眼,眼睑出现裂缝的动物不纳入实验。眼睑缝合至出生后第45d剪开睑缘,予以四环素眼膏点眼预防感染。

1.2.3 侧脑室注药定位及给药方法 将需要接受侧脑室注药的各组大鼠用10%水合氯醛腹腔麻醉后固定于立体定位仪上,备皮后络合碘消毒,切开皮肤充分暴露前囟,以此为原点寻找进针点,参照大鼠脑立体定位图谱,侧脑室坐标为AP 1.0mm, L 1.4mm, H 3.5mm,墨汁标记,小心用牙科钻自标记点处钻开颅骨至硬脑膜,出现一落空感时牙科钻停止工作。按预先标记的深度植入硬膜外麻醉置管的PE管,牙水泥固定,5-0慕丝线间断缝合皮肤切口,青霉素连续3d抗感染,单笼饲养。将NEP1-40溶解至0.01mol/L PBS中至终浓度为0.02mg/ μ L,分装后保存于4℃待用。注药前大鼠予以乙醚吸入麻醉,将微量注射器针头套入预先放置的侧脑室置管中,缓慢将10 μ L NEP1-40或等体积的0.01mol/L PBS溶液注射至侧脑室中,注射时间至少为15min,术毕观察大鼠的生命体征,醒后放回单笼喂养。每天早上10:00给药1次,连续7d。

1.2.4 闪光视觉诱发电位评估大鼠的客观视功能 于P45及P52分别对各组大鼠行闪光视觉诱发电位(F-VEP)检测,检查参照ISCEV标准,使用法国Metrovision电生理仪。将大鼠置于暗室内使其暗适应30min,同时保持相对恒定

表1 各组大鼠 P45 及 P52 右眼闪光视觉诱发电位比较

组别	n(眼)	P45		P52	
		潜伏期(ms)	波幅(μV)	潜伏期(ms)	波幅(μV)
Nor	10	72.27±5.67	13.12±1.37	71.26±5.72	14.22±1.43
Nor+PBS	10	69.58±4.79	14.28±1.48	72.75±5.21	13.78±1.52
Nor+NEP	10	71.57±5.32	14.93±1.57	74.03±5.57	13.68±1.42
MD	10	88.06±4.58 ^a	6.59±1.64 ^a	89.64±5.07 ^a	6.73±1.63 ^a
MD+PBS	10	87.52±4.46	7.32±1.43	86.89±4.92	6.89±1.70
MD+NEP	10	91.05±5.19 ^a	7.96±1.56 ^a	73.98±5.16 ^c	12.82±1.57 ^c

^aP<0.05 vs Nor 组; ^cP<0.05 vs MD 组。

的室温。10%水合氯醛腹腔注射麻醉实验鼠后,双眼结膜囊内点入美多丽滴眼液充分散瞳。分别在枕骨粗隆、两耳连线与正中中线交点及同侧耳处放置银针电极。用闪烁光作为刺激光,刺激频率1Hz,通频带宽0.5~85.0Hz,分析时间250ms,叠加60次,连续测量至少3次,记录P波振幅和潜伏期。

1.2.5 透射电镜检测视皮层神经元突触界面结构参数

1.2.5.1 大鼠视皮层组织准备 52日龄时对各组大鼠再次行F-VEP检测后处死动物,10%水合氯醛腹腔麻醉后,固定四肢,剪开胸腔暴露心脏,经左心室用0.01mol/L PBS溶液200mL快速冲净血液,然后用含4%多聚甲醛和3%戊二醛的磷酸盐缓冲液持续灌注固定约30min;断头取出脑组织,根据大鼠脑立体定位图谱切取左侧视皮层组织,将组织块修整为约1mm³大小。

1.2.5.2 电镜样本制作 将组织块放入2.5%戊二醛溶液中固定2h,0.01mol/L PBS溶液漂洗3次后,置入1%锇酸后固定1h,然后用梯度丙酮逐级脱水,将样本放入Epen812环氧树脂包埋剂与100%丙酮中浸泡,2h后放入60℃烤箱烘烤1d;瑞典LKB公司11800型修块机修块、半薄片光学定位,再用8800型超薄切片机超薄切片(厚度约30~60nm),醋酸铀及枸橼酸铅双重染色;JEOL-1230型透射电镜观察神经元突触超微结构。

1.2.5.3 突触参数测量 透射电镜下观察各组大鼠左侧视皮层第II~III层椎体神经元突触,在放大100000倍条件下进行拍片,每只大鼠记录下10个突触,每组共记录100个突触进行图像分析。观察突触的主要指标有:突触间隙(width of synaptic cleft)、突触活性区长度(length of the active zones)、突触界面曲率(curvature of the synaptic interface)以及突触后致密物厚度(thickness of postsynaptic density, PSD)。突触界面曲率的测量参照Jones等^[12]的方法,活性区长度与突触后致密物厚度参考Guldner等^[13]方法测量,突触间隙宽度用多点平均法^[14]测定。

统计学分析:计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,应用SPSS 11.0统计软件包对数据进行统计处理。Nor组、Nor+PBS组及Nor+NEP组多组间比较采用单因素方差分析,MD组、MD+PBS组及MD+NEP组多组间比较采用单因素方差分析;各处理组与Nor组比较采用t检验,以P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 闪光视觉诱发电位(F-VEP)评估大鼠客观视功能

2.1.1 各组大鼠45日龄时F-VEP检测结果 各组大鼠P45时未行侧脑室注药前右眼接受F-VEP检测,P波的潜伏期及波幅结果(表1)显示:MD组、MD+PBS组及MD+NEP

组与Nor组比较,P波潜伏期延长,波幅降低(P<0.05);而Nor+PBS组及Nor+NEP组大鼠P波的潜伏期及波幅与Nor组比较差异均无统计学意义(P>0.05)。

2.1.2 各组大鼠52日龄时F-VEP检测结果 各组大鼠P52时右眼接受F-VEP检测,P波的潜伏期及波幅结果(表1,图1):MD组与Nor组比较大鼠右眼F-VEP的P波潜伏期延长,波幅降低(P<0.05)。Nor+PBS组及Nor+NEP组大鼠右眼F-VEP的P波潜伏期及波幅与Nor组比较差异均无统计学意义(P>0.05);MD+NEP组大鼠右眼F-VEP的P波潜伏期及波幅与MD组及MD+PBS组比较差异有统计学意义(P<0.05),而与Nor组比较差异无统计学意义(P>0.05);MD+PBS组与MD组大鼠比较,右眼F-VEP的P波潜伏期及波幅差异无统计学意义(P>0.05),而与Nor组比较差异有统计学意义(P<0.05)。

2.2 透射电镜定量观察视皮层神经元突触界面结构参数

指标 透射电镜下观察视皮层神经元突触形态(图2):Nor组显示一个平直型突触,突触前末梢中可见丰富的突触小泡,突触间隙小,突触后膜有浓密的致密物质,其厚度明显大于前膜。与Nor组比较,MD组大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触间隙增大,突触活性区长度缩短,突触界面曲率减小,突触后致密物厚度变薄(P<0.05)。Nor+PBS组及Nor+NEP组大鼠视皮层神经元突触界面结构参数的各项指标与Nor组比较差异均无统计学意义(P>0.05),提示侧脑室注射NEP1-40或PBS溶液对正常大鼠视皮层神经元突触界面结构参数无显著性影响;MD+NEP组大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触界面结构参数的各项指标均较MD组、MD+PBS组明显改善(P<0.05),与Nor组相比除突触间隙外(P<0.05),其余各项参数(突触活性区长度、突触界面曲率、突触后致密物厚度)差异均无统计学意义(P>0.05)。MD+PBS组与MD组大鼠比较剥夺眼对侧视皮层神经元突触界面结构参数的各项指标差异均无统计学意义(P>0.05),而与Nor组比较差异有统计学意义(P<0.05)。

3 讨论

通常来说,成年哺乳动物中枢神经系统的细胞已不具备增殖和分裂能力,即不能再产生新的神经元,但原有的神经元却保持着修饰其微观结构及形成新的突触连接的能力,这种能力是中枢神经系统可塑性的基础,也可能是NEP1-40重新激活成年期视皮层可塑性的作用基础。突触是神经元之间高度局限性、特异性连接的位点,在此点神经递质由一个突触前神经元轴突末梢释放,激活突触后神经元上受体完成信息传递^[15]。突触界面结构参数是反映突触形态可塑性的重要指标,与突触功能状态及神经信

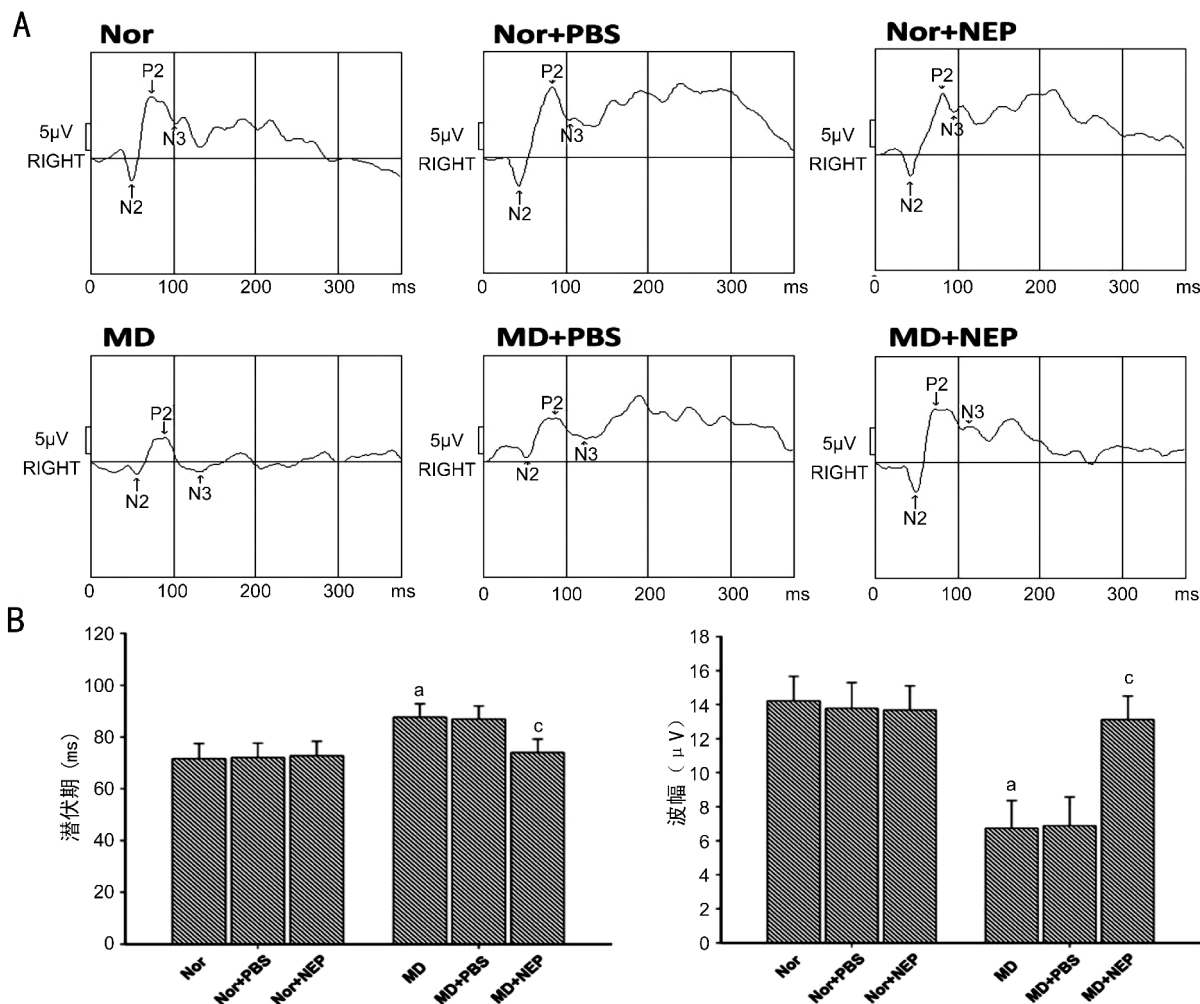


图1 P52 各组大鼠右眼 F-VEP 的 P 波潜伏期及波幅的比较 A: 各组大鼠 P52 时右眼 F-VEP 的波形图; B: 各组大鼠 F-VEP 的 P 波潜伏期及波幅比较的统计分析图 (^a $P < 0.05$ vs Nor 组, MD 组大鼠 P 波的潜伏期延长, 波幅降低, 差异具有统计学意义; ^c $P > 0.05$ vs Nor 组, MD+NEP 组大鼠 P 波的潜伏期及波幅差异没有统计学意义)。

息传递有重要联系。其中突触间隙、突触活性区长度、突触界面曲率以及突触后致密物厚度 (PSD) 等指标可反映突触传递效能的变化, 是中枢神经系统神经元可塑性改变的结构基础^[16]。突触间隙变窄、突触活性区长度增加、突触界面曲率增大、PSD 增厚被认为是突触传递功能增强的结构基础。突触间隙的变窄, 可能与突触后膜增厚或突触前终扣膨大有关, 可使突触传递功能增强, 相反突触间隙增大, 使递质到达突触后膜的时间延长, 增加了递质失活的机会, 从而使神经细胞兴奋性降低^[17]。突触活性区长度增加可使神经递质的释放随之增加, 并提高释放递质与突触后膜相应受体结合的效率; 突触界面曲率增大可扩大突触前、后膜之间的接触面积, 保证所释放的递质分子更多地到达靶部位, 减少向周围间隙的扩散, 有利于递质与受体的有效结合, 从而提高神经信息传递的效率^[18]; PSD 是突触后膜上的致密物质, 主要含有微管蛋白、肌动蛋白、神经丝蛋白及各种酶, 其厚度的改变能反映出突触后膜上受体与离子通道的变化, 从而在功能上影响突触的传递效率。

本研究中单眼剥夺模型大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触活性较正常大鼠的明显减弱, 表现为突触间隙变宽、突触活性区长度缩短、突触界面曲率减小、PSD 变薄。提示视觉发育关键期内的单眼剥夺可影响神经元之间的突触结构及递质功能传递, 是视功能损害的结构基础。

NEP1-40 可使成年期单眼剥夺模型大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触活性增强, 并恢复至接近正常组水平。推测其可能的机制为: 单眼剥夺模型大鼠由于出生早期接受外界视觉信号传入的缺失以及双眼不平衡状态, 导致剥夺眼对侧视皮层中 Nogo-A/NgR 信号分子蛋白表达减少, 其可能表现为一种抑制信号的削弱, 为视皮层可塑性的重新激活提供良好的平台。NEP1-40 作为 NgR 的竞争性拮抗肽, 与 NgR 结合后便可阻断下游的 Rho/Rock 信号系统, 进而通过坍塌反应调节蛋白影响细胞骨架的重排, 如微管及微丝的聚合和解聚, 而细胞骨架重排的结果则表现为树突棘密度的增加以及突触界面结构参数的变化。由此可以初步证实, NEP1-40 可重新激活成年单眼剥夺模型大鼠剥夺眼对侧视皮层结构的可塑性。

视觉诱发电位作为一种客观的检查手段, 可反映从视网膜神经节细胞至视皮层的视觉传导功能。本研究中我们利用 F-VEP 对大鼠的客观视功能进行评估, 为进一步明确 NEP1-40 对视皮层功能可塑性的影响提供有力的补充。F-VEP 图形呈现为典型的 N-P-N 波形, P 波起源于视觉中枢, 个体间变异较小, 常根据该波的潜伏期及波幅来判断视觉系统功能情况。从理论上讲, 潜伏期主要反映视觉传导功能, 而波幅则反映视敏度的变化。大多数学者认为: 视觉诱发电位的潜伏期延长可敏感地反映视觉通路的功能障碍, 波幅降低超过 50% ~ 55% 则可能导致不可

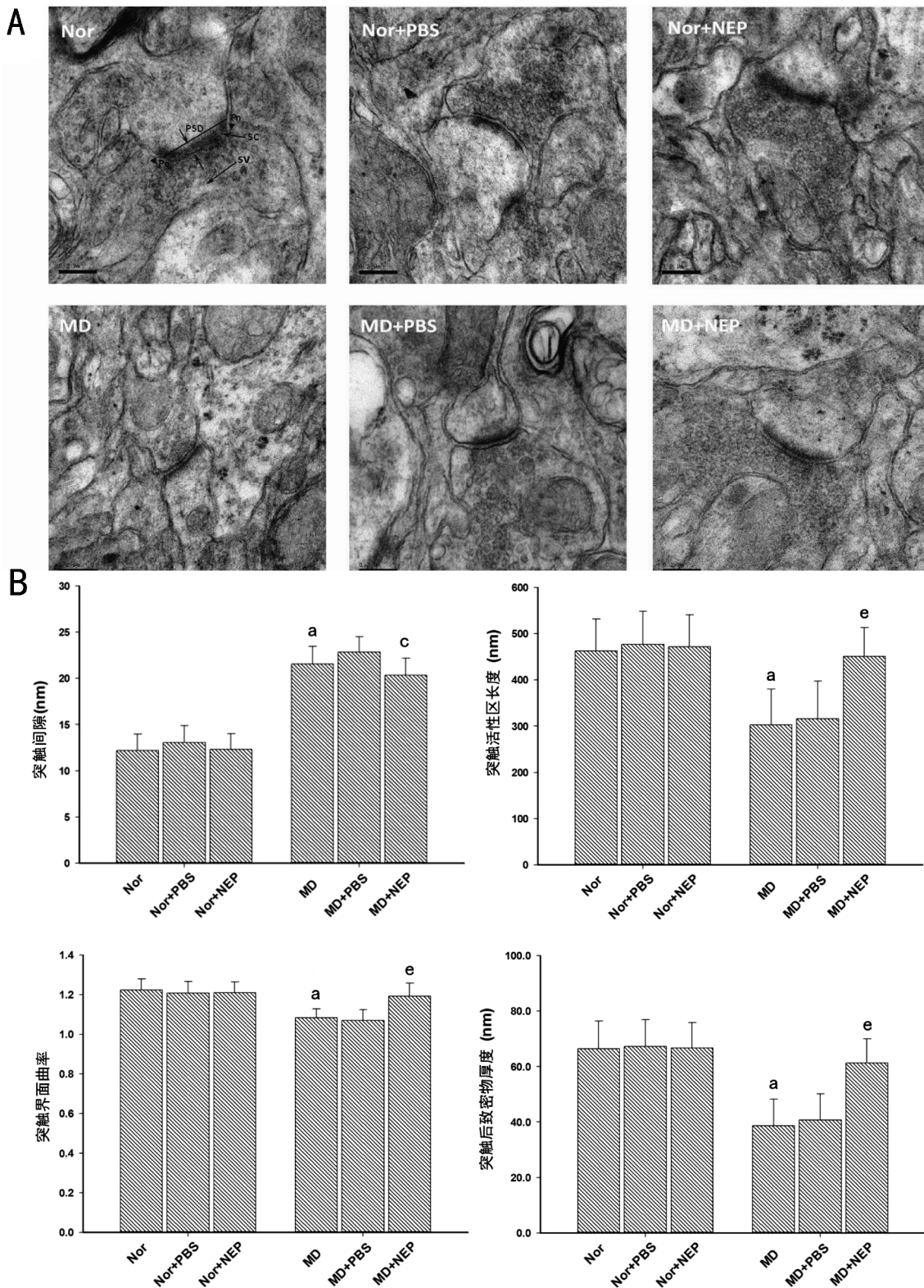


图2 透射电镜检测各组大鼠视皮层神经元突触界面结构参数指标 A:透射电镜下观察各组大鼠左侧视皮层第Ⅱ~Ⅲ层椎体神经元突触界面结构参数指标(标尺=0.2 μ m,Po和Pn为测量突触界面曲率时弦长的起始点;SC:突触间隙;SV:突触小泡;PSD:突触后致密物)。B:各组大鼠左侧视皮层神经元突触界面结构参数(突触间隙、突触活性区长度、突触界面曲率、突触后致密物厚度)比较的统计分析图(^a $P<0.05$ vs Nor组,MD组大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触界面结构参数各项指标差异具有统计学意义;^c $P<0.05$ vs Nor组,MD+NEP组大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触间隙差异具有统计学意义;^e $P>0.05$ vs Nor组,MD+NEP组大鼠剥夺眼对侧视皮层神经元突触活性区长度、突触界面曲率、突触后致密物厚度差异没有统计学意义)。

逆的功能障碍^[19]。本研究中检测出生后45日龄的各实验组大鼠右眼闪光视觉诱发电位,证实所有接受了眼睑缝合的单眼剥夺模型大鼠较正常大鼠P波潜伏期明显延长,

波幅降低,说明单眼剥夺性弱视大鼠模型建立成功。Kind等^[20]研究证实单眼剥夺导致视觉诱发电位改变的机制可能为:剥夺眼接受的视觉冲动减弱,使外侧膝状体-初级

视皮层第 IV 层及皮层内的神经元间突触连接部位发生树突数目的减少或形态萎缩,进一步引起突触传递电反应速度减慢,最终表现为 P 波潜伏期延长,波幅降低,与本研究的结果一致。行侧脑室注药治疗 7d 后,再次检测 52 日龄各实验组大鼠右眼闪光视觉诱发电位,结果显示 NEP1-40 能使成年单眼剥夺模型大鼠剥夺眼 F-VEP 的波形正常化,P 波的潜伏期及波幅均趋于正常组。推测可能的机制为:NEP1-40 通过与 NgR 的其他抑制性因子配体竞争结合性位点,阻断 NgR 及其下游的信号通路,使其对靶细胞的抑制性作用减弱,引起细胞骨架重排,激活神经元结构可塑性,从而改善神经传导功能。视觉诱发电位能在一定程度上客观地反映大鼠的视觉功能,由此可初步证实 NEP1-40 可重新激活成年单眼剥夺模型大鼠视皮层神经元功能的可塑性,改善视觉通路的神经传导,在一定程度上促进客观视功能的恢复。

综上所述,NEP1-40 可重新“激活”成年单眼剥夺模型大鼠视皮层的可塑性,使剥夺眼对侧视皮层神经元的结构及功能得以恢复,这一研究结果为成年弱视患者提供新的治疗途径奠定了理论基础。然而,侧脑室注药作为一种有创的治疗方法难以被临床所接受,并且 NEP1-40 对中枢神经系统是否存在远期毒副作用尚不明确,因此这些疑问还有待更进一步的研究来阐明。

参考文献

- 1 Sturm V. The lazy eye—contemporary strategies of amblyopia treatment. *Praxis* 2011;100(4):229-235
- 2 Hoyt CS. Amblyopia: a neuro-ophthalmic view. *J Neuroophthalmol* 2005;25(3):227-231
- 3 Lyckman AW, Horng S, Leamey CA, et al. Gene expression patterns in visual cortex during the critical period; synaptic stabilization and reversal by visual deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(27):9409-9414
- 4 Delekate A, Zagrebelsky M, Kramer S, et al. Nogo - A restricts synaptic plasticity in the adult hippocampus on a fast time scale. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(6):2569-2574
- 5 Lopez PH, Ahmad AS, Mehta NR, et al. Myelin - associated glycoprotein protects neurons from excitotoxicity. *J Neurochem* 2011;116

- (5):900-908
- 6 Raiker SJ, Lee H, Baldwin KT, et al. Oligodendrocyte - myelin glycoprotein and Nogo negatively regulate activity - dependent synaptic plasticity. *J Neurosci* 2010;30(37):12432-12445
- 7 Schnaar RL, Lopez PH. Myelin-associated glycoprotein and its axonal receptor. *J Neurosci Res* 2009;87(15):3267-3276
- 8 Llorens F, Gil V, del Rio JA. Emerging functions of myelin-associated proteins during development, neuronal plasticity, and neurodegeneration. *FASEB J* 2011;25(2):463-475
- 9 GrandPré T, Li S, Strittmatter SM. Nogo - 66 receptor antagonist peptide promotes axonal regeneration. *Nature* 2002;417(6888):547-551
- 10 Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Waltham, Massachusetts: Academic press 2007
- 11 Maffei A, Nelson SB, Turrigiano GG. Selective reconfiguration of layer 4 visual cortical circuitry by visual deprivation. *Nat Neurosci* 2004;7(12):1353-1359
- 12 Jones DG, Devon RM. An ultrastructural study into the effects of pentobarbition on synaptic organization. *Brain Res* 1978;147(1):47-63
- 13 Güldner FH, Lugham CA. Increase in postsynaptic density material in optic target neuron of the rat suprachiasmatic nucleus after bilateral enucleation. *Neurosci Lett* 1980;17(1-2):27-31
- 14 罗兰,陆汉新,吴馥梅,等. 突触界面结构参数的定量分析方法. *南京大学学报* 1990;26(4):689-694
- 15 Gibson DA, Ma L. Developmental regulation of axon branching in the vertebrate nervous system. *Development* 2011;138(2):183-195
- 16 赵小贞,王伟,康仲函,等. 血管性痴呆大鼠海马突触结构参数的变化. *解剖学杂志* 2002;25(1):30-34
- 17 龚石,冯慎远. 锌对大鼠学习记忆的影响及其海马 CA3 区和人脑皮质感觉运动区突触界面结构的相关性研究. *解剖学杂志* 2000;23(1):42-48
- 18 David C, Chen J. Involvement of caspase - 3 like protease in the mechanism of cell death following focally evoked limbic seizures. *J Neurochem* 2000;74(3):1215-1223
- 19 Akabane A, Saito K, Suzuke Y, et al. Monitoring visual evoked potentials during retraction of the canine optic nerve: protective effect of unroofing the optic canal. *J Neurosurg* 1995;82(2):284-287
- 20 Kind PC, Mitchell DE, Ahmed B, et al. Correlated binocular activity guides recovery from monocular deprivation. *Nature* 2002;416(6879):430-433