

红景天苷对近视豚鼠脉络膜厚度及 HIF-1 α 和多巴胺及其受体表达的影响

赵爽¹, 房祥杰², 张娟美², 赵军², 许莞菁³, 郑凌方⁴, 付艺璇⁵

引用: 赵爽, 房祥杰, 张娟美, 等. 红景天苷对近视豚鼠脉络膜厚度及 HIF-1 α 和多巴胺及其受体表达的影响. 国际眼科杂志 2023;23(8):1264-1268

基金项目: 临沂市人民医院研究生培养基金项目 (No. YJS2022051)

作者单位: ¹(250117) 中国山东省济南市, 山东第一医科大学; ²(276000) 中国山东省临沂市人民医院眼科; ³(266000) 中国山东省青岛市, 青岛大学; ⁴(261053) 中国山东省潍坊市, 潍坊医学院; ⁵(121001) 中国辽宁省锦州市, 锦州医科大学

作者简介: 赵爽, 在读硕士研究生, 研究方向: 白内障、玻璃体视网膜疾病。

通讯作者: 张娟美, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 白内障、玻璃体视网膜疾病. juanmeiforever@163.com

收稿日期: 2022-12-05 修回日期: 2023-07-04

摘要

目的: 探讨红景天苷(SA)对透镜诱导型近视(LIM)豚鼠脉络膜厚度及缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、多巴胺及其D1受体表达的影响。

方法: 将18只2周龄豚鼠随机分为正常对照(NC)组、LIM组和透镜诱导型近视+红景天苷(LIM+SA)组, 每组6只。NC组正常饲养, 给予2mL/d生理盐水灌胃; LIM组豚鼠右眼前配戴-5D透镜, 建立近视模型, 给予2mL/d生理盐水灌胃; LIM+SA组豚鼠右眼前配戴-5D透镜同时给予2mL/d红景天苷(100mg/kg)灌胃。造模4wk后测量各组豚鼠右眼屈光度、眼轴长度及脉络膜厚度, 通过实时荧光定量PCR(qPCR)和免疫组织化学(IHC)检测各组豚鼠右眼脉络膜视网膜HIF-1 α mRNA及蛋白表达量, 通过酶联免疫吸附实验(ELISA)和Western blot法检测多巴胺浓度及其D1受体表达量。

结果: 造模4wk后, 与NC组比较, LIM组和LIM+SA组豚鼠右眼屈光度均负向增加, 眼轴均延长, 脉络膜厚度均减小, 脉络膜视网膜HIF-1 α mRNA和蛋白表达量均增加, 多巴胺浓度及其D1受体表达量均降低; 与LIM组比较, LIM+SA组豚鼠右眼近视屈光度明显减小, 眼轴长度较短, 脉络膜厚度增加, 脉络膜视网膜HIF-1 α mRNA和蛋白表达量均降低, 多巴胺浓度及其D1受体表达量均增加。

结论: 红景天苷干预近视豚鼠可通过影响脉络膜厚度及HIF-1 α 、多巴胺及其D1受体的表达延缓近视进展。

关键词: 红景天苷; 透镜诱导型近视; 脉络膜; 缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α); 多巴胺

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.8.05

Effect of salidroside on choroidal thickness and expression of hypoxia-inducible factor-1 α , dopamine and its receptor in guinea pigs with myopia

Shuang Zhao¹, Xiang-Jie Fang², Juan-Mei Zhang², Jun Zhao², Wan-Jing Xu³, Ling-Fang Zheng⁴, Yi-Xuan Fu⁵

Foundation item: Graduate Training Fund Project of Linyi People's Hospital (No.YJS2022051)

¹Shandong First Medical University, Jinan 250117, Shandong Province, China; ²Department of Ophthalmology, Linyi People's Hospital, Linyi 276000, Shandong Province, China; ³Qingdao University, Qingdao 266000, Shandong Province, China; ⁴Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China; ⁵Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Juan - Mei Zhang, Department of Ophthalmology, Linyi People's Hospital, Linyi 276000, Shandong Province, China. juanmeiforever@163.com

Received:2022-12-05 Accepted:2023-07-04

Abstract

• **AIM:** To examine the effects of salidroside on choroidal thickness, hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), dopamine (DA) and its D1 receptor expression in guinea pigs with lens-induced myopia (LIM).

• **METHODS:** A total of 18 two-week-old guinea pigs were randomly divided into the normal control (NC) group, the LIM group, and the LIM + salidroside (LIM+SA) group, with 6 guinea pigs in each group. The guinea pigs in the NC group were fed normally and intragastrically administered with 2 mL/d saline; those in the LIM group wore a -5D lens in front of their right eyes to establish a myopia model, then they were intragastrically administered with 2 mL/d saline. Finally, those in the LIM + SA group wore glasses along with intragastric administration of 2 mL/d salidroside at a dose of 100 mg/kg. The refraction, axial length, and choroidal thickness of guinea pigs in each group were measured 4wk following the establishment of the model. In addition, the relative mRNA expression and protein content of HIF-1 α in the choroid and retina of guinea pigs in each group were detected by real-time quantitative PCR (qPCR) and immunohistochemistry (IHC). Finally, the DA concentration and its D1 receptor expression were

detected by enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) and Western blot.

• **RESULTS:** At 4wk after model establishment, guinea pigs of LIM group and LIM+SA group exhibited increased negative refraction of the right eye, prolonged axial length, and decreased choroidal thickness compared to the NC group. The relative mRNA expression and protein content of HIF-1 α in the choroid and retina of the guinea pigs increased. The concentration of DA and the expression of its D1 receptor both decreased. Moreover, compared to the LIM group, the diopter of the right eye of guinea pigs in LIM+SA group significantly reduced, the axial length was shorter, the thickness of choroid increased, the relative mRNA expression and protein content of HIF-1 α in the choroid and retina decreased and the concentration of DA and the expression of its D1 receptor both increased.

• **CONCLUSION:** Salidroside can delay myopia progression in myopic guinea pigs by affecting choroidal thickness and the expression of HIF-1 α , DA and its D1 receptor.

• **KEYWORDS:** salidroside; lens - induced myopia; choroid; hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α); dopamine

Citation: Zhao S, Fang XJ, Zhang JM, *et al.* Effect of salidroside on choroidal thickness and expression of hypoxia-inducible factor-1 α , dopamine and its receptor in guinea pigs with myopia. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(8):1264-1268

0 引言

近视作为一种最常见的屈光不正,主要表现为远视力下降,近年来发病率不断上升,到2050年,Holden等^[1]预计全球将有47.58亿近视患者和9.38亿高度近视患者。基因和环境两大因素通过控制眼轴增长影响近视的形成和发展^[2]。目前研究显示,在近视发展过程中,巩膜组织缺氧引起缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor, HIF-1 α)等表达增加,促进巩膜重塑及眼轴增长,而多巴胺(dopamine, DA)及其受体在调节眼球屈光状态发育中也起到重要作用^[3-4]。因此,抗氧化应激药物和针对多巴胺及其受体的药物可能是未来控制近视进展的有效选择^[5]。红景天苷是一种从传统中药大株红景天中提取出的化合物,具有抗氧化应激及下调HIF-1 α 表达等作用^[6],主要应用于心血管系统、神经系统和肿瘤等疾病^[7-9]。目前,国内学者使用红景天苷对形觉剥夺型近视豚鼠模型进行干预,结果证明红景天苷可抑制近视模型豚鼠HIF-1 α 表达的上调,减缓实验性近视进展,而不影响豚鼠正常眼的生长^[10]。红景天苷对近视的具体作用机制尚不明确,需要进一步实验进行验证。本研究旨在探讨红景天苷对透镜诱导型近视豚鼠脉络膜厚度及HIF-1 α 、多巴胺及其D1受体表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 **实验动物** 选取2周龄雌性健康三色豚鼠18只,体质量120~150g,购自湖北中医药大学高等专科学校实验动物中心[许可证号:SCXK(鄂)2019-0017]。入组前实验动物进行双眼检查,排除角膜病变、白内障、眼底病变等。饲养条件:室温22 $^{\circ}$ C,空气相对湿度45%~50%,予12h光照,光照强度300lx,黑暗循环。实验期间所有豚鼠自由摄食、进水,并提供富含维生素的饲料及新鲜蔬菜等以补充维生素C。本研究动物使用经临沂市人民医院伦理委员会审批同意(伦审号:YX200468),实验中严格遵守视觉与眼科动物研究协会(the Statement of Animals Research in Vision and Ophthalmic, ARVO)关于动物的处理原则。

1.1.2 **主要试剂及仪器** 主要试剂:复方托吡卡胺滴眼液(沈阳兴齐眼药股份有限公司, H20055546), 0.5%盐酸丙美卡因滴眼液(比利时S.A. ALCON-COUVREUR N.V.公司, H20160133), 体积分数2.5%戊二醛溶液(国美集团化学试剂有限公司), HIF-1 α 抗体(Novus, NB100-134SS), 免疫显色试剂 iVisionTM Poly-HRP 羊抗鼠/兔二抗试剂(通灵生物, DD13), DAB显色试剂盒(Servicebio, G1212-200T), 多巴胺检测试剂盒(优尔生, CEA851Ge), 兔单抗DRD1(75kd)(Abcam, ab81296), 红景天苷(源叶, S25475)。主要仪器:眼科A/B型超声测量仪(天津迈达MD-2300), 带状光检影镜(苏州六六视觉科技股份有限公司), 镜片箱(丹阳医疗器械厂), 病理切片机(德国Leica公司RM2016), 生物组织摊烤片机(武汉俊杰JK-6), 抗原修复用电陶炉(SKG), 显微镜(奥林巴斯BX53), 包埋机(武汉俊杰JB-P5)。

1.2 方法

1.2.1 **模型建立及分组** 将18只2周龄健康三色雌性豚鼠随机分为正常对照(NC)组、透镜诱导型近视(LIM)组、红景天苷+透镜诱导型近视(LIM+SA)组3组,每组6只。适应性饲养1wk后开始豚鼠LIM模型的建立,剃除右眼眶周体毛,在右眼前粘贴-5D^[11-12]镜片,实验过程中每天检查镜片是否脱落及模糊,如果脱落则及时粘贴上并进行镜片清洗护理。NC组不做特殊干预,仅给予2mL/d生理盐水灌胃;LIM组在右眼前粘贴-5D透镜诱导,给予2mL/d生理盐水灌胃;LIM+SA组在右眼前粘贴-5D透镜诱导的同时给予2mL/d红景天苷药剂灌胃,剂量为100mg/kg。干预持续4wk,随后腹腔注射过量戊巴比妥钠实施安乐死,各组随机选取3只豚鼠取右眼眼球进行石蜡包埋切片,另外3只豚鼠取右眼眼球置于冰块上,沿角膜缘环形剪开眼球,去除眼前节组织、玻璃体及巩膜后,于-80 $^{\circ}$ C冰箱中保存。

1.2.2 **各组豚鼠屈光度及眼轴长度测量** 所有豚鼠在造模前,造模4wk后,使用复方托吡卡胺滴眼液充分散大右眼瞳孔,采用带状光检影镜在暗室条件下行检影验光,取水平和垂直两条主子午线检验的平均值作为屈光度,每只眼连续测量3次取平均值,记录每只豚鼠右眼的屈光度。以0.5%盐酸丙美卡因滴眼液进行双眼表面麻醉,使用眼科A型超声诊断仪测量右眼眼轴长度,仪器参数设置为前房传播速度1557m/s,玻璃体传播速度1540m/s,晶状体传播速度1723m/s,测量时探头对准瞳孔,垂直于角膜平面,不对角膜造成压迫,得到清晰稳定且晶状体后囊膜和视网膜双峰均高于基线的图像时记录确认,测量5次取平均值。

1.2.3 **各组豚鼠脉络膜厚度测量** 选取每组已经制作出的部分眼球石蜡包埋切片,依次行苏木素染液染色、返蓝和伊红染液染色,接着梯度乙醇脱水、二甲苯透明,风干后中性树脂封片固定,显微镜下观察切片染色情况。每张切片于光镜下,从后极部中央向两边连续取10个视野,在

NIS-Elements图像分析系统下测量脉络膜厚度,每个视野测量10次取平均值。

1.2.4 qPCR 检测脉络膜视网膜 HIF-1 α mRNA 相对表达水平 从已冻存的每只眼的脉络膜视网膜组织中提取部分组织,采用 Trizol 法提取 RNA,逆转录得到 cDNA,通过实时荧光定量 PCR (qPCR) 技术检测 HIF-1 α mRNA 的相对表达量,选取 β -actin 为内参基因。引物序列: HIF-1 α 上游引物: 5'-CTGAATTGATGGGGTATG-3', 下游引物: 5'-CTGTTTGTGAAGGGAGA-3', 大小为 296bp; β -actin 上游引物: 5'-AAATACCCATTGAGCAGC-3', 下游引物: 5'-CCAGAGGCATACAGGGACAG-3', 大小为 236bp。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量,将 LIM+SA 组目的基因的相对表达量设置为 1。

1.2.5 IHC 检测脉络膜视网膜 HIF-1 α 蛋白表达 选取每组已经制作出的部分眼球石蜡包埋切片,抗原修复后行脉络膜视网膜 HIF-1 α 免疫组织化学 (IHC) 检测,一抗为 HIF-1 α (1:100),二抗为免疫显色试剂 iVision™ Poly- α -HRP 羊抗鼠/兔二抗试剂。使用相同来源的样品做不加抗体的空白对照,实验过程中控制染色时间一致,减少染色程度不同引起的差异。染色后的切片显微镜下观察拍照,使用 IPP 6.0 软件对 IHC 照片进行光密度分析,每张切片选取 4 张 400 倍照片分析光密度。

1.2.6 ELISA 检测脉络膜视网膜多巴胺浓度 从已冻存的每只眼的脉络膜视网膜组织中提取部分组织,用预冷的 0.01mol/L PBS (pH=7.4) 冲洗,称重后将组织剪碎,然后按 1:9 的重量体积比加入 PBS 到研磨器中,充分冰浴研磨。最后将匀浆液 3 000r/min 离心 10min,取上清检测。组织样本采用多巴胺检测试剂盒进行酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测,酶标仪测定吸光度 (OD 值),使用 cvxpt 32 软件进行拟合,制作标准曲线,按照标准曲线的公式结合检测结果,计算多巴胺表达水平。

1.2.7 Western blot 检测多巴胺 D1 受体蛋白相对表达水平 从已冻存的每只眼的脉络膜视网膜组织中提取部分组织,剪碎匀浆,加裂解液后于冰上裂解提取总蛋白,采用 BCA 试剂盒测定各样本蛋白浓度,将提取的蛋白上清按照 4:1 体积比与蛋白上样缓冲液混合,100 $^{\circ}$ C 沸水浴 10min 变性,变性完后冷却至室温再放入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存。使用 10% SDS 制备电泳胶电泳分离蛋白,先恒压 80V 电泳至溴酚蓝指示剂在浓缩胶与分离胶交界处成线状,再改为恒压 120V 直至溴酚蓝到凝胶底部,随后转移到 PVDF 膜上。用含 5% 脱脂奶粉的 TBST (封闭液) 浸泡 PVDF 膜,室温摇床封闭 2h。不同的目的蛋白条带用对应的一抗稀释液 (小鼠单抗 β -actin 以 1:4000 稀释,兔单抗 DRD1 以 1:1000 稀释) 中,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 稀释相应的 HRP 标

记二抗 (1:10000),室温摇床孵育 2h,洗去多余二抗后进行显影曝光,用 IPP 6.0 软件分析胶片灰度值。

统计学分析:应用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。符合正态分布且方差齐的计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,各组变量间的比较采用单因素方差分析 (ANOVA),不同组间两两比较采用 LSD- t 检验。当 $P < 0.05$ 时,认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组豚鼠屈光度和眼轴长度比较 造模前,NC 组、LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼屈光度进行比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);造模 4wk 后,与 NC 组比较,LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼近视屈光度均明显增加 (均 $P < 0.05$),且与 LIM 组比较,LIM+SA 组豚鼠右眼近视屈光度减小 ($P < 0.01$)。造模前,NC 组、LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼眼轴长度进行比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);造模 4wk 后,与 NC 组比较,LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼眼轴长度均延长,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.01$),且与 LIM 组比较,LIM+SA 组豚鼠右眼眼轴长度较短 ($P < 0.01$),见表 1。

2.2 各组豚鼠脉络膜厚度比较 HE 染色结果显示,造模 4wk 后,NC 组、LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜厚度分别为 59.61 ± 6.85 、 35.96 ± 8.96 、 $55.59\pm 5.98\mu\text{m}$,差异有统计学意义 ($F = 8.848$, $P = 0.016$)。与 NC 组比较,LIM 组豚鼠右眼脉络膜厚度减小,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜厚度减小,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与 LIM 组比较,LIM+SA 组豚鼠脉络膜厚度增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1。

2.3 各组豚鼠脉络膜视网膜 HIF-1 α mRNA 相对表达量 qPCR 检测结果显示,造模 4wk 后,NC 组、LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜 HIF-1 α mRNA 相对表达量分别为 0.705 ± 0.064 、 1.754 ± 0.119 、 1.054 ± 0.075 ,差异有统计学意义 ($F = 107.507$, $P < 0.05$)。与 NC 组比较,LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜 HIF-1 α mRNA 相对表达水平均增加,差异有统计学意义 (均 $P < 0.01$);与 LIM 组比较,LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜 HIF-1 α mRNA 相对表达水平减少,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.4 各组豚鼠脉络膜视网膜 HIF-1 α 表达比较 IHC 染色结果显示,造模 4wk 后,NC 组、LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜 HIF-1 α 平均光密度值分别为 0.018 ± 0.009 、 0.046 ± 0.003 、 0.031 ± 0.008 ,差异有统计学意义 ($F = 12.071$, $P = 0.008$)。与 NC 组比较,LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜 HIF-1 α 表达均明显增加,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$);与 LIM 组比较,LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜 HIF-1 α 表达降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2。

表 1 各组豚鼠造模前后屈光度和眼轴长度比较

组别	造模前		造模 4wk 后		$\bar{x}\pm s$
	屈光度 (D)	眼轴长度 (mm)	屈光度 (D)	眼轴长度 (mm)	
NC 组	3.27 ± 0.08	7.43 ± 0.30	1.70 ± 0.09	8.27 ± 0.12	
LIM 组	3.22 ± 0.08	7.33 ± 0.15	-5.88 ± 0.13^a	8.90 ± 0.21^a	
LIM+SA 组	3.25 ± 0.10	7.38 ± 0.15	$-2.63\pm 0.08^{a,c}$	$8.57\pm 0.22^{a,c}$	
F	0.50	0.33	8058.00	17.15	
P	0.62	0.72	<0.01	<0.01	

注:^a $P < 0.05$ vs NC 组;^c $P < 0.05$ vs LIM 组。

2.5 各组豚鼠脉络膜视网膜多巴胺浓度比较 ELISA 检测结果显示,造模 4wk 后,NC 组、LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜多巴胺浓度分别为 104.677 ± 11.158 、 52.390 ± 9.554 、 83.563 ± 9.986 pg/L,差异有统计学意义 ($F=19.736$, $P=0.002$)。与 NC 组比较,LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜多巴胺浓度均明显降低,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$);与 LIM 组比较,LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜多巴胺浓度增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.6 各组豚鼠脉络膜视网膜多巴胺 D1 受体相对表达量

Western blot 检测结果显示,造模 4wk 后,NC 组、LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜多巴胺 D1 受体相对表达量分别为 0.617 ± 0.060 、 0.368 ± 0.018 、 0.540 ± 0.022 ,差异有统计学意义 ($F=33.232$, $P=0.001$),见图 3。与 NC 组比较,LIM 组和 LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜多巴胺 D1 受体表达均明显降低,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$);与 LIM 组比较,LIM+SA 组豚鼠右眼脉络膜视网膜多巴胺 D1 受体表达增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

由于豚鼠屈光状态及近视化机制与人类相似,出生时为远视眼,出生后前 3wk 眼轴增长迅速,直至 11wk 时屈光状态趋于稳定,因此常用于近视模型的制作,豚鼠 LIM 模型已在近视实验研究中得到广泛应用。目前研究认为,巩膜缺氧重塑、视网膜多巴胺含量和脉络膜血流及厚度在近视的进展中发挥重要作用^[13]。脉络膜是位于视网膜和巩膜间的血管化组织,除了为视网膜外层供应营养、调节眼压及眼部温度、分泌生长因子外,还可以通过厚度的改变

影响近视的发生发展进程^[14]。本研究参考既往实验设计^[15]针对红景天苷剂量进行了预实验,分别应用 25、50、100mg/kg 不同剂量的红景天苷以灌胃方式给药,经摸索后发现 100mg/(kg·d) 浓度在具有较理想实验效果的同时无明显副作用。正式实验在近视诱导过程中给予 100mg/(kg·d) 红景天苷灌胃进行干预,结果显示,与 NC 组相比,LIM 组眼轴长度增加,屈光度负向增加,脉络膜厚度降低,这与既往研究^[7-9,16]结果一致,而 LIM+SA 组相较于 LIM 组眼轴长度和屈光度降低、脉络膜厚度增加,差异具有统计学意义,表明红景天苷可以通过延缓眼轴增长及增加脉络膜厚度影响近视的发生发展进程。

缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 是一种有转录活性的核蛋白,具有相当广泛的靶基因谱,包括与缺氧适应、炎症发展及肿瘤生长等相关的近 100 种靶基因^[17]。HIF-1 α 亚基作为 HIF-1 的活性亚基受缺氧信号的调控,并能调节 HIF-1 的活性。实验性近视能选择性地诱导 HIF-1 α 表达增加,而抗氧化应激药物可下调 HIF-1 α ,延缓近视进展,HIF-1 α 信号通路在超高度近视患者中显著富集,因此可以认为近视的发展是通过 HIF-1 α 信号通路的激活来启动的^[18]。多巴胺的含量与近视高度相关,其变化规律与近视转归程度高度一致。多巴胺 D1、D2 类受体具有相互拮抗、共同平衡调节眼球屈光状态发育的作用^[3]。在眼球发育过程中多巴胺信号发挥重要作用^[4,19],动物实验发现向玻璃体内注射多巴胺受体激动剂可以抑制近视进展^[20]。因此本研究选择 HIF-1 α 、多巴胺及其 D1 受体作为主要观察指标,结果显示,随近视程度进展,与 NC 组相比,LIM 组豚鼠右眼脉络膜视网膜 HIF-1 α mRNA 和蛋白

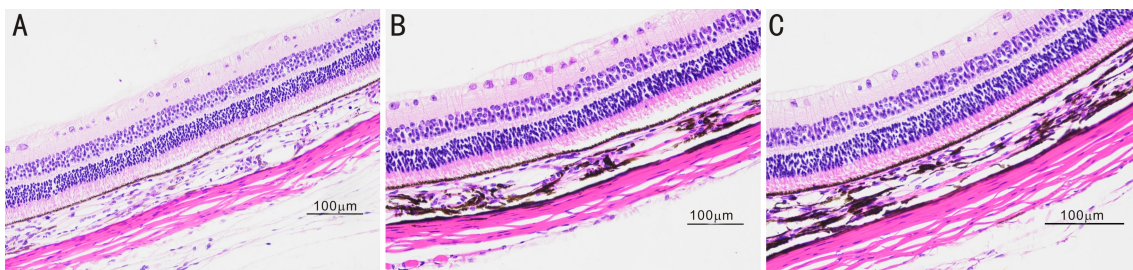


图 1 光学显微镜下观察各组豚鼠脉络膜厚度 A: NC 组; B: LIM 组; C: LIM+SA 组。

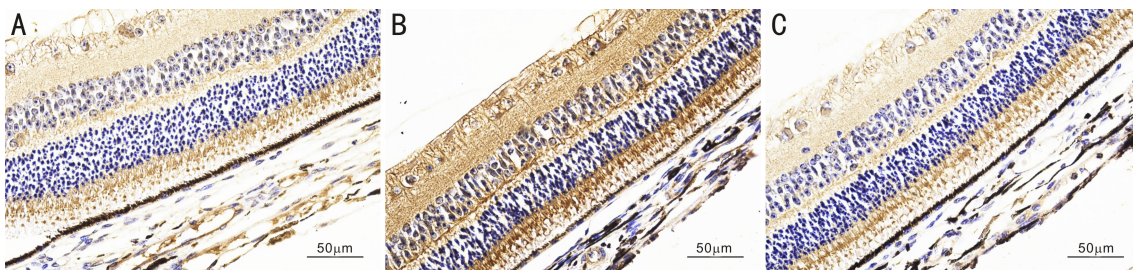


图 2 各组豚鼠脉络膜视网膜 HIF-1 α 表达 A: NC 组; B: LIM 组; C: LIM+SA 组。蓝色为细胞核; 棕黄色或棕褐色为目标蛋白 HIF-1 α 阳性表达。

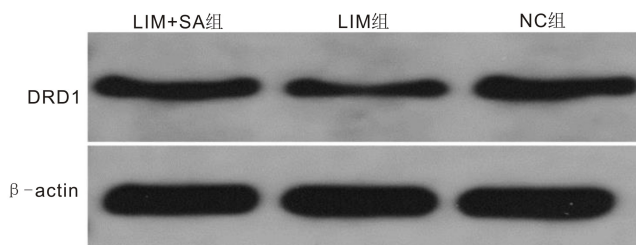


图 3 Western blot 检测多巴胺 D1 受体蛋白相对表达量。

表达水平明显增高,多巴胺浓度及其 D1 受体蛋白表达水平降低。

目前,近视的控制手段多样,户外活动能有效减缓近视的发生,更有效的方法还有角膜塑形术、配戴软性双焦点角膜接触镜和使用抗胆碱药物阿托品等。然而,迄今为止,尚无具有足够的安全性和临床可接受性的方法能有效预防和控制近视。红景天苷具有抗氧化应激、抗炎及抑制凋亡等药理活性,临床研究主要集中于阿尔茨海默病、帕金森病等神经系统疾病及肺动脉高压等呼吸系统疾病^[6-8],在护肝、抗肿瘤、抗病毒等方面也有应用。红景天苷抗氧化应激机制主要作用于 PI3K/Akt/NF- κ B^[21]通路。临床上应用红景天复方制剂多血康治疗高原红细胞增多症的疗效确切,其有效性在大鼠模型中也得到了证实,可能与下调促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、HIF-1 α 表达有关。关于阿尔茨海默病的研究显示,红景天苷通过降低 HIF-1 蛋白水平减少淀粉样前体蛋白的异常加工^[9]。帕金森病是一种中枢神经系统退行性疾病,在疾病进展过程中,神经细胞氧化与抗氧化平衡被打破,大量活性氧生成,进而诱导细胞凋亡^[22],主要特点为脑黑质致密部的多巴胺能神经元功能下降,红景天苷除了减轻细胞内氧化反应、抑制细胞凋亡外,还能刺激间充质干细胞分化为多巴胺能神经元,对帕金森病进程起改善作用。国内学者通过在豚鼠眼周注射红景天苷,观察到高剂量的红景天苷可显著抑制眼轴和玻璃体腔的延长,抑制近视模型组 HIF-1 α 表达上调,减缓实验性近视进展,而不影响正常眼的生长,故认为红景天苷可通过抗氧化应激机制抑制近视进展^[10]。本研究中红景天苷采用灌胃方式,在近视造模过程中连续给药 4wk,研究红景天苷的抗缺氧机制,同时进一步对造模后各组豚鼠脉络膜视网膜中多巴胺含量进行比较。红景天苷对近视作用的具体机制尚不明确,需要进一步实验进行验证,推测红景天苷可通过抗氧化应激机制控制近视进展,也可通过提高多巴胺及其 D1 受体表达对眼球屈光状态发育起调节作用。此外,本研究结果证实红景天苷可减缓近视过程中脉络膜厚度的下降,下调脉络膜视网膜 HIF-1 α mRNA 和蛋白表达水平,增加多巴胺浓度及其 D1 受体的表达,从而延缓近视的发展进程。然而,红景天苷干预改善缺氧的具体机制尚未明确,脉络膜和视网膜各组织中 HIF-1 α 及多巴胺相关因子的差异性表达尚不明确,对多巴胺及其受体的作用通路仍需进一步探索。关于红景天苷对豚鼠近视模型作用的研究可能为近视的预防和控制提供新的思路与方法。

参考文献

- 1 Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, et al. Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology* 2016;123(5):1036-1042
- 2 Pardue MT, Stone RA, Iuvone PM. Investigating mechanisms of myopia in mice. *Exp Eye Res* 2013;114:96-105
- 3 邓宇, 瞿迎新, 秦亚丽, 等. 多巴胺及其受体对形觉剥夺近视发展的影响. *国际眼科杂志* 2020;20(2):279-281

- 4 Landis EG, Chrenek MA, Chakraborty R, et al. Increased endogenous dopamine prevents myopia in mice. *Exp Eye Res* 2020;193:10795
- 5 Wang WY, Chen C, Chang J, et al. Pharmacotherapeutic candidates for myopia: a review. *Biomed Pharmacother* 2021;133:111092
- 6 Zhong XY, Lin RH, Li ZF, et al. Effects of Salidroside on cobalt chloride-induced hypoxia damage and mTOR signaling repression in PC12 cells. *Biol Pharm Bull* 2014;37(7):1199-1206
- 7 Xu MC, Shi HM, Wang H, et al. Salidroside protects against hydrogen peroxide-induced injury in HUVECs via the regulation of REDD1 and mTOR activation. *Mol Med Rep* 2013;8(1):147-153
- 8 Zhang JP, Liu AH, Hou RR, et al. Salidroside protects cardiomyocyte against hypoxia-induced death: a HIF-1 α -activated and VEGF-mediated pathway. *Eur J Pharmacol* 2009;607(1-3):6-14
- 9 Li QY, Wang HM, Wang ZQ, et al. Salidroside attenuates hypoxia-induced abnormal processing of amyloid precursor protein by decreasing BACE1 expression in SH-SY₅Y cells. *Neurosci Lett* 2010;481(3):154-158
- 10 Wu H, Chen W, Zhao F, et al. Scleral hypoxia is a target for myopia control. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018;115(30):E7091-E7100
- 11 McFadden SA, Tse DY, Bowrey HE, et al. Integration of defocus by dual power Fresnel lenses inhibits myopia in the mammalian eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(2):908-917
- 12 Yu MR, Liu WY, Wang BJ, et al. Short wavelength (blue) light is protective for lens-induced myopia in Guinea pigs potentially through a retinoic acid-related mechanism. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(1):21
- 13 瞿佳, 李瑾. 近视眼发生和发展机制研究的新进展. *中华眼科杂志* 2021;57(4):311-314
- 14 韩聪, 杨义, 张文芳. 近视与脉络膜厚度的相关性. *国际眼科杂志* 2022;22(3):407-411
- 15 郑涛. 红景天苷改善胰岛素抵抗的作用及其机制. 华中科技大学 2015
- 16 Zhang Y, Wildsoet CF. RPE and choroid mechanisms underlying ocular growth and myopia. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2015;134:221-240
- 17 Gladek I, Ferdin J, Horvat S, et al. HIF1A gene polymorphisms and human diseases: graphical review of 97 association studies. *Genes Chromosomes Cancer* 2017;56(6):439-452
- 18 Zhao F, Zhang DK, Zhou QY, et al. Scleral HIF-1 α is a prominent regulatory candidate for genetic and environmental interactions in human myopia pathogenesis. *EBioMedicine* 2020;57:102878
- 19 Landis EG, Park HN, Chrenek M, et al. Ambient light regulates retinal dopamine signaling and myopia susceptibility. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(1):28
- 20 Huang FR, Wang QS, Yan TT, et al. The role of the dopamine D2 receptor in form-deprivation myopia in mice: studies with full and partial D2 receptor agonists and knockouts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61(6):47
- 21 Wu Y, Ma Y, Li J, et al. The bioinformatics and metabolomics research on anti-hypoxic molecular mechanisms of Salidroside via regulating the PTEN mediated PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway. *Chin J Nat Med* 2021;19(6):442-453
- 22 Checa J, Aran JM. Reactive oxygen species: drivers of physiological and pathological processes. *J Inflamm Res* 2020;13:1057-1073