

早期衰老大鼠视网膜色素上皮-光感受器细胞复合体超微结构的变化

李臻¹, 李捷², 王蓉³, 李林³, 卢艳¹

基金项目:首都医科大学眼科学院重点学科开放课题;首都卫生发展科研专项项目(No. 2011-1001-02);北京市自然科学基金(No. 7132044)

作者单位:¹(100053)中国北京市,首都医科大学宣武医院眼科;²(100730)中国北京市,卫生部北京医院检验科;³(100053)中国北京市,首都医科大学宣武医院药物研究室 教育部神经变性病学重点实验室

作者简介:李臻,毕业于首都医科大学,博士,主治医师,研究方向:青光眼、视神经疾病。

通讯作者:卢艳,毕业于北京大学医学部,医学博士,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向:青光眼、视觉系统神经退行性病变. louiselu@163bj.com

收稿日期:2013-09-26 修回日期:2013-12-31

Ultrastructural changes of retinal pigment epithelium - photoreceptor complex in early aging rats

Zhen Li¹, Jie Li², Rong Wang³, Lin Li³, Yan Lu¹

Foundation items: Key Discipline of College of Optometry of China Medical University, China; Special Project of Beijing Health Development and Scientific Research, China (No. 2011-1001-02); Natural Science Foundation of Beijing, China (No. 7132044)

¹Department of Ophthalmology, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China; ²Department of Laboratory, Beijing Hospital, Beijing 100730, China; ³Research Department of Pharmacology, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China

Correspondence to: Yan Lu. Department of Ophthalmology, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China. louiselu@163bj.com

Received: 2013-09-26 Accepted: 2013-12-31

Abstract

• **AIM:** To observe the ultrastructural changes of retinal pigment epithelium (RPE) - photoreceptor complex in early aging rats.

• **METHODS:** Retinas of 3-month old and 12-month old rats were prepared into semi-thin sections and then observed under transmission electron microscope to evaluate the changes of RPE-photoreceptor complex.

• **RESULTS:** Apoptosis of RPE cells and degenerative changes of RPE-photoreceptor complex were found in retinas of 12-month old rats.

• **CONCLUSION:** RPE-photoreceptor complex degeneration is an early manifestation of the retinal aging.

• **KEYWORDS:** aging; retinal pigment epithelium cell; photoreceptor

Citation: Li Z, Li J, Wang R, *et al.* Ultrastructural changes of retinal pigment epithelium - photoreceptor complex in early aging rats. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(2):236-238

摘要

目的:观察早期衰老大鼠视网膜色素上皮-光感受器细胞复合体超微结构的变化。

方法:取3月龄及12月龄大鼠视网膜,制成半薄切片,透射电镜下观察视网膜色素上皮-光感受器细胞复合体超微结构的变化。

结果:12月龄大鼠视网膜中出现视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium, RPE)凋亡和RPE-光感受器细胞复合体的退行性改变。

结论:视网膜色素上皮-光感受器细胞复合体的退行性改变是视网膜衰老的早期表现。

关键词:衰老;视网膜色素上皮;光感受器细胞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.02.10

引用:李臻,李捷,王蓉,等.早期衰老大鼠视网膜色素上皮-光感受器细胞复合体超微结构的变化.国际眼科杂志2014;14(2):236-238

0 引言

随着社会人口老龄化的增长,由衰老所引发的老年性疾病越来越受到医学界的高度重视。衰老可以引起机体各组织器官产生形态和功能的变化,视网膜的形态和功能也会因衰老而发生改变。研究者们发现老年人在视力、色觉、对比敏感度等都有明显的减弱^[1-3]。其中,视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium, RPE)和视网膜光感受器细胞(retinal photoreceptors cell, RPC)与年龄相关性视网膜病变,如老年性低视力,老年性黄斑病变等密切相关。而老年性黄斑病变更成为发达国家老年人最主要的致盲性眼病^[4]。近年来,我国老年性黄斑病变的发病率也在逐年提高,具有明显的年龄相关性,常发生在55岁以上的老年人群,成为威胁我国老年人视觉治疗的主要疾病^[5]。RPE异常是老年性黄斑病变的早期特征性病理改变之一^[6]。本研究旨在观察早期衰老大鼠视网膜色素上皮-光感受器细胞复合体超微结构的改变,为年龄相关性临床视觉功能的下降寻找组织学依据。

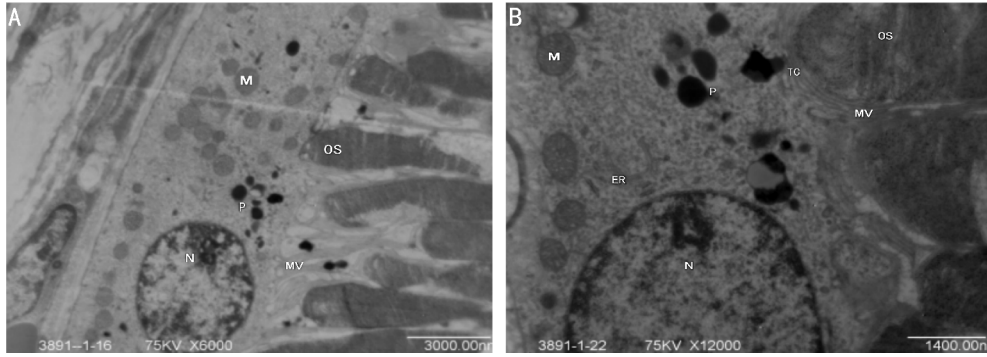


图1 3月龄大鼠视网膜扫描电镜超微结构 A:($\times 6000$);B:($\times 12000$)。

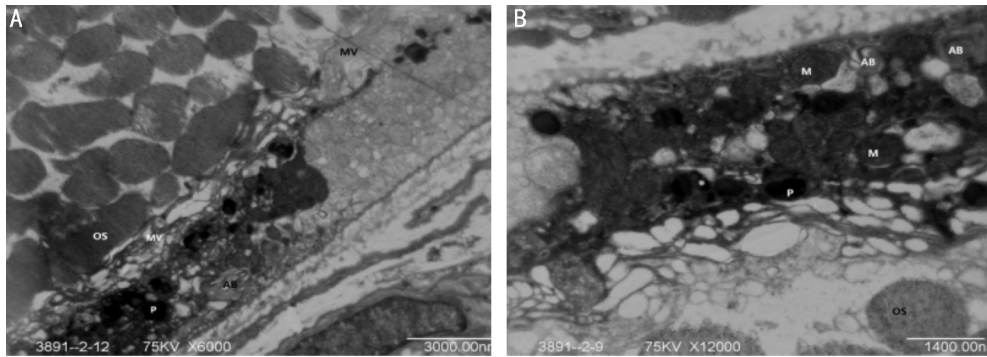


图2 12月龄大鼠视网膜扫描电镜超微结构图 A:($\times 6000$);B:($\times 12000$)。注:图中M:线粒体;ER:内质网;MV:微绒毛;P:色素颗粒;OS:光感受器外节;TC:紧密连接;AB:凋亡小体。

1 材料和方法

1.1 材料 3月龄及12月龄 Sprague Dawley (SD) 大鼠,雄性,每组5只,购自北京大学医学部实验动物科学部,动物分级为无特定病原体级 (specific pathogen free, SPF),合格证号: SCXK (京 200220001)。置于 SPF 环境即屏障系统中饲养。饲养地点:首都医科大学宣武医院动物实验室。

1.2 方法

1.2.1 组织标本提取 用4%多聚甲醛心脏灌注处死大鼠。取出眼球,角膜缘后0.5mm沿赤道将眼球前环形剪开,轻柔取出晶状体及玻璃体,以视神经为中心,取颞上及颞下视网膜组织,切成1.5mm \times 3.0mm长方形小片将含有视网膜的眼杯放入3%戊二醛固定液固定。

1.2.2 检测方法 电镜半薄切片制作3%戊二醛固定液固定2h,0.1mol/L磷酸缓冲溶液(pH7.2)冲洗3次,1%四氧化锇固定1~2h,0.1mol/L磷酸缓冲溶液冲洗3次,梯度乙醇依次脱水,1kg/L丙酮/混合包埋剂(1:1)浸透,Epon812包埋。将组织块标本切成1 μ m半薄切片,0.5%甲苯胺蓝溶液染色后光镜下定位。标本修块,超薄切片机切样品成40~60nm薄片,Formvar膜铜网捞片。醋酸铀染液染色15min,0.1mol/L磷酸缓冲溶液洗涤3次,柠檬酸铅染液染色10min,PBS洗涤3次,自然干燥后 PhilipsEM208s透射电镜下观察全层视网膜超微结构。

2 结果

如图1所示,3月龄SD大鼠视网膜RPE细胞胞核完整,染色质均匀分布,胞质内线粒体丰富,RPE表面微绒毛突起,伸入光感受器外节之间(图1A),RPE细胞核周有内质网分布,RPE细胞与视网膜光感受器外节膜盘见有紧密连接(图1B)。而12月龄SD大鼠视网膜RPE皱缩、

变形,细胞核裂解、消失,细胞内线粒体减少,细胞内可见凋亡小体,RPE细胞表面微绒毛消失,与之相连的光感受器细胞外节倒伏(图2A),RPE细胞与光感受器细胞外节膜盘之间的紧密连接消失(图2B)。

3 讨论

衰老伴随着多种视功能的减退。1993年,Spear^[7]在他的研究中较早阐述了老年人的视力及视功能的下降。此后,对老年人视网膜电图中发现,代表光感受器细胞反应的a波振幅下降,而代表光感受器后反应的b波的振幅下降,潜伏期延长^[8]。使用多焦视网膜电图对不同年龄组正常人群的研究表明:随年龄增长,总反应波的N1,P1波总反应密度下降、潜伏期延长^[9]。说明随年龄增长,视网膜光感受器细胞功能出现衰退。

目前已有不少研究显示衰老所致的视觉中枢结构变化,如神经元丢失,树突改变及突触密度的下降等,被认为是衰老所致的视功能衰退的神经基础。而视网膜作为接收视觉信息加工的初级结构,其结构和功能的老年性变化,同样可以引起视觉功能的衰退。在对大鼠^[10],小鼠^[11],猫^[12]和人^[13]的研究均发现,衰老可引起视网膜总厚度及各层厚度不同程度的变薄。我们以往的研究也证实:视网膜各层细胞数目均随年龄增长呈下降趋势,其中视网膜神经节细胞和外核层细胞数目随年龄增长逐渐减少^[14]。这些中枢及视网膜形态学改变是视觉衰退的组织学基础。同以往其他关于视网膜老化的研究一样,我们前期的研究没有关注视网膜色素上皮细胞的变化,只关注于视网膜光感受器细胞和视网膜神经节细胞数量的减少,而对光感受器细胞代谢起重要支持作用的RPE细胞少有报道。

视网膜色素上皮细胞是构成正常视网膜结构和功能

的关键细胞,具有维持血-视网膜屏障完整,转运营养物质,产生色素,清除光感受器细胞脱落盘膜等多种功能。RPE-光感受器复合体是视网膜重要的感光部位,RPE-光感受器复合体的形态和功能发生改变,会导致视网膜在视觉的形成与传导中的功能障碍。Panda-Jonas等^[15]曾报道了随年龄增长,光感受器细胞密度和视网膜色素上皮细胞的密度均降低,每年丢失0.2%~0.4%。

由于选取人眼作为研究对象在材料来源上存在着一定的困难,根据大鼠鼠龄相对于人年龄段的关系,我们选用12月龄大鼠作为研究对象,相当于选取40岁以上人群作为研究对象^[16]。这也是很多以人群为基础进行的年龄相关性疾病的流行病学调查所采用的入组年龄^[17]。我们以往虽然发现了视网膜各层细胞数目均随年龄增长呈现出下降的趋势,但细胞数目的减少只在视网膜神经节细胞层具有统计学差异,且该差异出现在24月龄组。本次研究发现在12月龄大鼠的视网膜中视网膜RPE-光感受器细胞复合体的退行性改变就已存在。12月龄大鼠视网膜RPE细胞出现了明显的凋亡表现,RPE细胞与光感受器细胞之间的紧密连接消失,与之相连的光感受器外节膜盘出现倒伏。当这些细胞损伤持续累积,便表现出临床上可被检测出的视网膜厚度变薄和细胞数目的减少,进而表现为视网膜功能的衰退。因此,我们有理由认为RPE-光感受器复合体是年龄相关性视网膜退行性改变较早发生的细胞结构。

上述结果提示我们,如果早期采取有效措施进行RPE-光感受器细胞的保护有可能阻断或延缓老年性黄斑病变及其他衰老所致的视功能衰退的发生。

参考文献

- 1 Weale RA. Senile changes in visual acuity. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1975;95(1):36-38
- 2 Ross JE, Clarke DD, Bron AJ. Effect of age on contrast sensitivity function: unioocular and binocular findings. *Br J Ophthalmol* 1985;69(1):51-56

- 3 Elliott D, Whitaker D, MacVeigh D. Neural contribution to spatiotemporal contrast sensitivity decline in healthy ageing eyes. *Vision Res* 1990;30(4):541-547
- 4 Leibowitz HM, Krueger DE, Maunder LR, et al. The Framingham Eye Study monograph: An ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975. *Surv Ophthalmol* 1980;24(Suppl):335-610
- 5 潘俊如,余其林,张述,等.老年性黄斑变性病因研究新进展. *国际眼科杂志* 2013;13(5):905-908
- 6 Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008;358(24):2606-2617
- 7 Spear PD. Neural bases of visual deficits during aging. *Vision Res* 1993;33(18):2589-2609
- 8 Freund PR, Watson J, Gilmour GS, et al. Differential changes in retina function with normal aging in humans. *Doc Ophthalmol* 2011;122(3):177-190
- 9 陈珊娜,艾育德,关航,等.多焦视网膜电图的年龄相关性. *眼科研究* 2000;18(3):270-272
- 10 孙兆霞,封利霞,张铭,等.衰老对大鼠视网膜全层及各层厚度影响的体视学研究. *解剖学报* 2007;38(2):187-191
- 11 Shoji M, Okada M, Ohta A, et al. A morphological and morphometrical study of the retina in aging SAM mice. *Ophthalmic Res* 1998;30(3):172-179
- 12 孙艳庆,梅斌,王海涛,等.猫视网膜年龄相关的形态学变化. *动物学研究* 2004;25(6):538-542
- 13 Cavallotti C, Artico M, Pescosolido N, et al. Age-related changes in the human retina. *Can J Ophthalmol* 2004;39(1):61-68
- 14 卢艳,赵可浩,李林,等.增龄大鼠视网膜老化过程中各层细胞数目变化. *眼科新进展* 2008;28(5):321-322,326
- 15 Panda-Jonas S, Jonas JB, Jakobczyk-Zmija M. Retinal pigment epithelial cell count, distribution, and correlations in normal human eyes. *Am J Ophthalmol* 1996;121(2):181-189
- 16 施新猷. *医用实验动物学*. 北京:人民军医出版社 1999:388
- 17 Liang Y, Friedman DS, Zhou Q, et al. Prevalence and characteristics of primary angle-closure diseases in a rural adult Chinese population; the Handan Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(12):8672-8679