

青光眼视神经损害研究进展

蓝育青¹ 葛 坚¹ 刘嫣芬²

(中山医科大学 1 中山眼科中心; 广州, 510060 2 孙逸仙纪念医院眼科)

摘 要 综述近年来青光眼视神经损害在分子生物学、细胞生物学、神经药理学等研究方面的进展, 探讨青光眼视神经保护的策略。

主题词 青光眼; 视神经

中图分类号 R 775.2

随着视觉基础研究与临床视功能检查方法的不断发展, 人们对青光眼的认识更加深入, 眼压不再成为青光眼诊断的必要因素, 而青光眼视神经损害的基础研究更从分子及细胞水平为青光眼的发病及治疗提供依据。本文扼要综述近年来青光眼视神经损害在分子生物学、细胞生物学、神经药理学等方面的进展。

1 青光眼视神经损害的传统理论^[1~3]

主要为机械学说和血管学说, 但二者均不能完全解释青光眼视神经损害的机制。以后提出的多因素学说, 认为糖尿病、周围神经病变、近视、黑人种、遗传等因素可能增加青光眼的发病。但是否眼压以外的其它因素增加了视神经对眼压损害的敏感性或是它们本身引起内源性的视神经损害还不能确定。

2 青光眼视神经损害的基础研究

2.1 兴奋性神经毒^[1, 4~7]

兴奋性神经毒可以兴奋神经递质, 但当其释放过量时, 即可诱发靶细胞产生毒性反应。类似于内源性门冬氨酸(Asp)及谷氨酸(Glu)外源性的实验药物NMDA(N-methyl-D-aspartate), 可与位于整个大脑及视网膜上的NMDA受体相结合。目前根据其下列物质, 即Asp/Glu类似的NMDA, 海仁酸(Kaniv acid), AMRA(*dl*- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolopionic acid)亲和力的不同分为3种NMDA受体。这些受体或通过递质作用于离子偶联通道或通过电压门控通道而促使细胞外钙离子及钠

离子内流, 尤其是前者相当于第二信使的作用来影响细胞的功能。当细胞缺血或于应激状态下持续的缺氧将导致细胞膜去极化, 从而引起突触释放谷氨酸的增加而减少对其的摄取, 结果导致细胞外谷氨酸的堆积。谷氨酸盐神经毒部分通过与钙离子偶联的NMDA受体相结合, 促使细胞内钙离子浓度增加, 结果不仅造成细胞的结构损害, 而且直接改变神经元的兴奋状态和神经递质的排放, 通过正反馈回路可进一步加剧谷氨酸的外排。现已证实神经节细胞拥有上述3种NMDA受体, 当兴奋性递质过量时, 将对其产生毒性作用。这些毒性作用具有相对特异性, 可或多或少地对大细胞或小细胞造成损害, 但于体外培养表现为大细胞对缺氧损伤造成的神经毒效应较小细胞敏感, 这一条件与青光眼视神经损害非常相似。尤其值得注意的是在人开角型青光眼患者的玻璃体标本中也具有高浓度的谷氨酸, 而没有其它氨基酸, 这也为上述学说提供依据。另一方面研究表明鸡胚神经节细胞于缺氧条件下的损伤可被兴奋性氨基酸拮抗剂 γ -*d*-glutamylglycine阻断。而在另一项动物实验中也表明, 由于眼压急性升高而造成的视网膜缺血, 应用NMDA受体阻滞剂右美沙芬(dextrometophan), 可使ERG-b波振幅恢复, 并减少其组织学损害。同样, MK-801也具有相似的神经营节细胞保护模式。这些结果为青光眼视神经损害发病机制的研究及青光眼治疗提供了令人欣慰的应用前景。

2.2 细胞内钙超载和钙通道阻断剂^[1, 4, 5, 8]

钙通道阻断剂(calcium channel blockers, CCBs)通过作用于血管平滑肌导致血管扩张或减少血管痉挛。根据这一原理人们利用CCBs提高视神经乳头的血液供应从而治疗青光眼。由于细胞内高浓度的钙离子可造成一系列的神经营节效应, 包括激活

分解酶、磷酸脂酶、超氧化物或其它自由基、蛋白激酶以及通过正反馈途径加速谷氨酸的释放, 因此 CCBs 的作用表现为减少细胞内钙的水平, 改变靶细胞的代谢, 或作用于中枢神经系统受体。目前主要有两种钙通道: 即电压门控通道, 其作用依赖于膜的去极化; 受体操纵通道, 其作用需要特异的配体, 如 NMDA, 来与受体分子相结合。而电压调节通道又可分为 4 种类型: T 型、L 型、N 型、P 型, 神经节细胞主要拥有后面 3 型。一种 CCBs 氟桂嗪 (flunarizine) 已在海外投入使用。这种药物主要对神经元 T 通道具有高亲和力, 而对外周或血管部位亲和力较低, 与低压性青光眼相关的偏头痛用此药治疗后疗效满意。动物实验也证实它能保护神经组织免遭缺血的损害, 同时还能保护培养中的大脑细胞不受谷氨酸诱导的神经毒效应, 推测 CCBs 也可能作用于受体操纵通道, 直接或通过降低细胞内钙的水平来减少谷氨酸的释放。目前将 CCBs 用于慢性青光眼仍处于探索阶段。

2.3 一氧化氮^[1, 4, 5, 10~12]

一氧化氮(NO)为一种短效复合物, 目前已被证实存在于血管内皮, 并能促使血管扩张(为内皮来源的松弛因子)。虽然它被巨噬细胞认为是有菌的、致癌的, 但在大脑的许多部位却被认为是一种神经递质。已知 NO 是由 Glu 作用于 NMDA 受体, 促使钙离子进入突触后细胞, 并作用于钙调蛋白, 激活 NO 合成酶, 由 L-精氨酸产生的。其作用主要是通过和血红素亚基结合参与鸟嘌呤循环, 从而将 GTP 转变为细胞内第二信使 cGMP。之后, NO 通过被动运输被排除体外。这时 NO 有可能对邻近细胞产生毒性作用。这一毒性效应可能来源于 NO 自由基的特性, 也可能来源于 NO 介导的由谷氨酸受体诱导的毒性反应。众多的 NO 合成酶抑制剂(NOS)已被证实可使神经元免受 NO 的毒性作用。另一方面, 已经证实人在眼的视网膜光感受器、脉络膜神经元及一些神经节细胞胞体内含有的 NADPH 黄递酶 NDP 具有内源性 NOS 活性, 它们能选择性地抵抗兴奋性神经毒效应, 并且由于 NOS 的激活表现为血管扩张效应, 在某种程度上保护了这些细胞免受损伤。虽然 NO 在青光眼的作用还需探讨, 但可以看到这些细胞毒机制在青光眼视神经节细胞损害过程中必定具有重要作用。

2.4 自由基清除剂及抗氧化剂^{4, 9, 13}

由于自由基是某些原子外层轨道中含有的不

成对电子, 因而具有非常活跃化学性质, 它可以直接攻击细胞造成损害并产生更多自由基, 甚至引起链式反应。自由基对神经元的作用主要是通过其介导的兴奋性神经毒作用。神经细胞膜高浓度的不饱和脂质对自由基十分敏感。目前常见的氧自由基(oxygen free radicals, OFRs)(如超氧化离子及羟基过氧化自由基)主要通过缺血后再灌注过程中脂肪酸和核酸氧化的增加及打破蛋白质共价键而产生。OFRs 清除剂(如 VitE, *d*-甘露醇), 分解剂[如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(Catalase)]以及减少它们形成的物质(如非激素类抗炎药、皮质类固醇)都能保护细胞免受兴奋性神经毒作用及缺血损伤。在视网膜动脉栓塞短期缺血后再灌注动物模型的研究中发现, 组织损伤和大的跨膜离子内流(包括钙离子)由于自由基清除剂(SOD 和 EGB 761)的作用而清除。EGB 可保护 ERG -b 波在脂质过氧过程中不致熄灭。另外, 在兔视网膜实验性眼压升高造成短暂缺血后 Catalase 也可保护 ERG-b 波不改变。另一方面, OFRs 可通过干扰 NO 的自然特性(调节血管张力)而造成损害。在眼压升高诱导兔视网膜急性缺血模型中, 内源性 NO 的出现提示其作用为血管扩张剂而非毒性自由基, 并能阻止 ERG 的熄灭。OFRs 的损害作用不仅限于缺氧, 而且在神经变性疾病(如慢性青光眼)中也具有重要作用, 目前已应用内源性的自由基清除剂来阻止青光眼视神经损害并诱导内在抗氧化反应能力的产生, 但仍处于实验阶段, 疗效仍不确切。

2.5 神经再生及生长因子^{14, 16]}

目前有关神经节细胞生长的研究表明, 通过中枢视觉通路的再生来恢复视觉已成为可能。这一论点的提出来源于鼠视神经切断后轴突有可能再生的实验。将外周游离的轴突神经移植到细胞体轴索位点将诱导神经节细胞再生, 后者甚至可通过与中枢神经系统(CNS)连接产生功能上的兴奋和抑制。可以预料外周神经的移植是通过特定生长因子的作用促使节细胞的再生。例如来源于脑的神经营养因子, 正如那些可促使切断后视神经再生的因子一样, 可加速培养液中节细胞的存活, 这一蛋白质仅是神经诱向(营养)因子中的一员。神经营养因子是一些对神经细胞的生长、分化、增殖、再生及功能特性的表达均有重要调节作用的多肽或蛋白质。自 1959 年 Leiv-Montalcini 等发现第一个神经营养因子-神经生长因子(NGF)以来, 至今相继发

现了脑源性神经生长因子(BDNF)、神经营养因子-3(NT-3)、睫状体神经营养因子(CNTF)、神经营养因子-4/5(NT-4/5)、胰岛素样生长因子(IGFS)、成纤维细胞生长因子(FGF)等。一般认为,神经营养因子主要影响神经元的生物合成,促使神经元制造更多的结构上的酶类、蛋白质与脂质、轴突生长的原料,从而起到类似递质的调节作用。生长因子的研究表明人们正在寻找一种保护青光眼变性轴索并促使其重建的方法。

2.6 细胞凋亡^[15,17]

最近,Quigley等研究兔和小鼠实验性青光眼及切断轴索后发现存在特征性的细胞凋亡过程,认为青光眼启动细胞凋亡是因为干扰了正常逆行性轴浆流动过程中神经营养因子的传递。这一发现为我们进一步认识青光眼视神经损害及治疗提供了极大的帮助。青光眼患者对视神经损害敏感性的不同可能与细胞凋亡机制被激活的敏感性不同有关。眼内应用神经营养因子可减少细胞凋亡的激活,而与细胞凋亡有关的基因产物表达水平的调控,是通过改变细胞的存活而实现的。例如,提高bcl-2或c-mA(抗细胞凋亡基因)的表达可延长神经营养源性神经元的存活。因此,可以通过视网膜细胞基因表达的调控来改变青光眼视神经损伤的过程。研究表明青光眼视神经节细胞死亡的通路不止细胞凋亡一条途径,上述细胞毒的释放也可引起细胞死亡,这说明根据局部组织环境、神经节细胞亚型的不同,青光眼致病因子可引起多种形式的细胞死亡。

3 青光眼视神经损害的新观点^[1~4]

根据上述基础研究的结果,目前认为青光眼视神经损害的机制主要为以下2方面:①视网膜神经节细胞的凋亡,当眼压升高时,通过视网膜神经节细胞轴索的轴浆流运输在筛板处受阻,造成视网膜神经节细胞营养不良,诱发了神经节细胞的凋亡,而细胞凋亡一旦启动,其过程往往是不可逆的。②青光眼视神经损害与兴奋性氨基酸、Ca²⁺及NO构成恶性循环有关:当缺血、低氧刺激产生的兴奋性氨基酸与神经节细胞的N-甲基-D-门冬氨酸(NMDA)受体结合后,使Ca²⁺通道持续开放,Ca²⁺内流并激活一氧化氮合酶,NO增多又可促进更多的兴奋性氨基酸释放,形成视神经不断损害的恶性循

环。

4 总结和展望

从上述基础研究,人们力图解答以下问题:青光眼视神经萎缩与缺血效应的相关性;急性缺血及缺血后损伤与青光眼慢性过程的关系;是否短暂局部的缺血反复发作(类似与IOP相关的昼夜眼压波动)可诱导细胞毒损害;神经毒对青光眼视神经萎缩的作用;短暂缺血及再氧化循环中自由基的产生是否会引IOP的升高;自由基清除剂、NOS、NMDA受体性通道、电压调节通道能否阻止青光眼的损害。青光眼患者神经节细胞凋亡的内在机制是什么。相信随着这些问题的不断研究,人们对青光眼视神经损害发病机制及视神经保护的认识将更加深入和完善。

参 考 文 献

- 1 Dreyer E B, Lipton S A. New perspectives on glaucoma. *JAMA*, 1999, 181(4): 306
- 2 Van Buskirk E M, Ciuffi G A. Glaucomatous optic neuropathy. *Am J Ophthalmol*, 1992, 113(4): 447
- 3 Drance S M. Bowman lecture. Glaucoma-changing concept. *Eye*, 1992, 6(4): 337
- 4 Schumer R A, Podos S M. The nerve of glaucoma. *Arch Ophthalmol*, 1994, 112(1): 37
- 5 姚志彬, 陈以慈. 脑研究前沿. 广州: 广东科技出版社, 1995. 204~235
- 6 Sucher N J, Lipton S A, Dreyer E B. Molecular basis of glutamate toxicity in retinal ganglion cells. *Vision Res*, 1997, 37(24): 3483
- 7 Stevens C F. NMDA receptors: on to molecular mechanisms. *Nature*, 1992, 358(6381): 18
- 8 Catterall W A, Striessnig J. Receptor sites for Ca²⁺ channel antagonist. *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13(6): 256
- 9 Nayak M S, Kita M, Mamor M F. Protection of rabbit retina from ischemic injury by superoxide dismutase and catalase. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1993, 34(6): 2018
- 10 Bredt D S, Hwang P M, Snyder S H. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature*, 1990, 347(6295): 768
- 11 Geyer O, Podos S M. Nitric oxide synthase: distribution and biochemical properties of the enzyme in the bovine eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1993, 34(suppl): 826

(下转封3)

一氧化氮通过孤束核对羊胎心血管的调节作用

方群¹ Conrad R. Chao²

(1 中山医科大学附属第一医院妇产科; 广州, 510080 2 美国加州大学洛杉矶分校 Harbor 医学中心妇产科)

主题词 心率; 胎儿; 血压; 一氧化氮

中图分类号 R 714.51

胎儿心率变化是产科临床一项重要生理参数。然而, 目前对脑干以及减压反射在胎儿心血管的调节作用知道很少。现认为一氧化氮(NO)为一种中枢神经递质, 而位于脑干的孤束核与减压反射有关, 但 NO 与孤束核的关系及其对胎儿心血管系统的调节作用尚不清楚。

研究目的: 探讨 NO 通过脑干孤束核对胎儿心率、血压变化以及心率变异的调节作用。

方法与结果: 7 只妊娠 125~135 d 的母羊(足月妊娠为 145 d), 全麻下, 打开腹腔, 切开子宫, 将胎头、上肢、胸部暴露于子宫外, 行肱动脉插管以测量胎儿血压, 安置电极于胎儿头部、胸部、颈肌以便术后测定脑电图、心电图、肌电图。将一硬外麻管从枕骨大孔插入, 经第四脑室正中孔进入第四脑室孤束核附近, 向导管内注入硝酸甘油(Nitroglycerine, NTG), 若血压明显下降, 则证实插管位置正确, 固定导管。将羊胎送回子宫, 缝合切口, 关腹。母羊经过 3 d 复苏后开始实验。实验前先记录静息状态下胎儿血压、心率、心率变异范围的基线。将 NTG(NO 的供体)1.2 mmol 从第四脑室导

管注入第四脑室孤束核附近, 血压即从(63.4±2.8) mmHg 降至(54.8±2.3) mmHg, $P < 0.01$ 。心率从(176±4) min⁻¹ 降至(168±3) min⁻¹, $P < 0.01$ 。当注射 NO 合成酶抑制剂 N-硝基精氨酸甲酯(NG-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME) 40 mg 时, 血压从(58±4.4) mmHg 升至(69±4.1) mmHg, $P < 0.01$ 。注射 NTG 后, 心率的变异范围从注药前的(5.6±0.70) min⁻¹ 增至(22.6±3) min⁻¹, $P < 0.0001$; 而注入 L-NAME 后, 变异范围从(3.6±0.9) min⁻¹ 增至(16.7±3.8) min⁻¹, $P < 0.001$ 。在同一部位注射同样容量的生理盐水作为对照, 注射前后记录血压、心率及心率变异范围, 其变化无统计学差异。

结论: 在羊的胎儿期, 孤束核在速率、血压以及心率变异的调节中起重要作用, 而调节的通路及其临床特征有待进一步探讨。

(1999-07-16 收稿 1999-08-01 修回)

① 本课题在加州大学洛杉矶分校 Harbor 医学中心完成

(上接第 106 页)

12 Neufeld A H, Hernandez M R, Gonzalez M. Nitric oxide synthase in human glaucomatous optic nerve head. Arch Ophthalmol, 1997, 115(4): 497

13 Veniac S, Tissie G, Bonne C. Oxygen free radicals adversely affect the regulation of vascular tone by nitric oxide in the rabbit retina under high introcular pressure. Exp Eye Res, 1993, 56(1): 85

14 Kjømer L F. Nerve growth factor treatment after brain injury prevents neuronal death. Science, 1987, 235(4785): 214

15 冯建芳, 章静波. 程序性细胞死亡及细胞凋亡. 生理科

学进展, 1995, 26(4): 373

16 Quigley H A, Nickells R W, Kerrigan L A, et al. Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1995, 36(5): 774

17 Quigley H A. Neuronal death in glaucoma. Prog Retin Eye Res, 1999, 18(1): 39

(1999-06-28 收稿 1999-08-15 修回)