

猫外层视网膜和脉络膜的年龄相关变化

孙庆艳 罗 勋 朱再满 张长征 华田苗*

(安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000)

摘要:取老年猫(12龄, 2.5~3 kg)和青年猫(1~3龄, 2~2.5 kg)各4只的视网膜,经4%多聚甲醛处理后用H.E染色以显示视网膜和脉络膜的结构。光学显微镜下观察感光细胞层、玻璃膜(Bruch's membrane)结构的变化,计数色素上皮层(retinal pigment epithelium, RPE)细胞数、脉络膜毛细血管数,测量玻璃膜、脉络膜厚度,脉络膜毛细血管之间的距离。结果显示,与青年猫比较,老年猫视网膜感光细胞层结构杂乱;色素上皮细胞数显著下降,玻璃膜厚度无显著变化,出现较多碎片,脉络膜厚度明显变薄,脉络膜毛细血管数显著减小,脉络膜毛细血管之间的距离显著增大。推测老年猫脉络膜的退化可能是导致玻璃膜、色素上皮层的退化,进而导致感光细胞的功能衰退的重要原因。

关键词:猫;视网膜;年龄;脉络膜;玻璃膜;感光细胞;色素上皮细胞

中图分类号:Q954, Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)01-43-05

Age-related Changes in the Outer Retina and Choroid of Cat

SUN Qing-Yan LUO Xun ZHU Zai-Man ZHANG Chang-Zheng HUA Tian-Miao

(College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

Abstract: The retinæ of 4 old cats (12 years, 2.5–3 kg) and 4 young adult cats (1–3 years, 2–2.5 kg) were collected. After treatment with 4% polyformaldehyde, the retinæ were stained with H. E to visualize the structures of outer retina and choroid. Under light microscope, the structural changes of photoreceptor cell layer and Bruch's membrane were observed. The number of cells in retinal pigment epithelium and the number of choriocapillaries were counted, and the thickness of Bruch's membrane and choroid, as well as the distance between choriocapillaries were measured. Results showed that in old cats the structure of photoreceptor layer was disordered; the number of retinal pigment epithelium cells was significantly declined; the thickness of Bruch's membrane did not significantly change while more debris was built up; the thickness of choroid, the number of choriocapillaries decreased significantly; the distance between choriocapillaries increased significantly. We speculate that the degeneration in choroid of old cats might induce the degeneration in Bruch's membrane and retinal pigment epithelium, which may impair the function of photoreceptor layer.

Key words: Cat; Retina; Age; Choroid; Bruch's membrane; Photoreceptor cell; RPE cell

外层视网膜中感光细胞是接受光线刺激并将其转化为神经冲动的部位,脉络膜虽然不直接参与视网膜的感光功能,但供应外层视网膜营养,并将其代谢废物运走,同时吸收眼内的散射光线,以免影响视觉。所以外层视网膜和脉络膜的年龄相关变化可能会对机体的视觉功能造成影响。研究发现,伴随衰老,人类^[1-5]和一

基金项目 安徽省教育厅科研基金(No. 2003kj152, 2004kj177),安徽省重点实验室科研基金,安徽师范大学青年基金(No. 2004xqn09),安徽师范大学博士生启动经费;

* 通讯作者, E-mail: hmhua@mail.ustc.edu.cn;

第一作者介绍 孙庆艳,女,硕士,讲师,研究方向:神经生物学, E-mail: sunqingyan1975@126.com.

收稿日期 2005-06-20,修回日期 2005-11-15

些动物,如大鼠^[6]、鸽子^[7]等外层视网膜和脉络膜存在年龄相关变化,如感光细胞丢失及结构改变,RPE细胞密度下降,脉络膜最内层的玻璃膜厚度增加,碎片累积,脉络膜厚度下降,脉络膜毛细血管密度下降。对于视觉研究的模式动物猫,未见相关报道。本文研究了猫外层视网膜和脉络膜的年龄相关变化,并讨论了这些变化之间的相互关系。

1 材料与方法

1.1 材料 用眼底镜检查,选用无视觉缺陷的老年猫(12龄,2.5~3 kg)和青年猫(1~3龄,2~2.5 kg)各4只。盐酸氨氟酮(40 mg/kg)深麻醉后开胸,用0.9%的生理盐水从左心室灌流,至肝脏发白后灌注约500 ml的4%多聚甲醛进行预固定,接着摘除眼球解剖游离出视网膜,取视网膜中央区于4%多聚甲醛中固定20~24 h后,PBS冲洗,常规脱水、透明、石蜡包埋,连续切片厚6 μm ,裱片于经APES处理的载玻片上,备组织染色。

1.2 方法 每隔10张切片取一张,切片脱蜡至水,常规H.E染色。

1.3 观察与统计分析 染色后的切片在Olympus BX51型显微镜下观察拍照。每张切片在光镜

($\times 400$)下随机选取8个视野,使采集网格(130 $\mu\text{m} \times 130 \mu\text{m}$)的两平行边与视网膜的表面垂直,计数色素上皮层细胞数和脉络膜毛细血管数,并换算成线密度(/mm);测量采集网格内的玻璃膜厚度、脉络膜厚度、脉络膜毛细血管之间的距离。所有数据采用平均值 \pm 标准差表示,用*t*-test进行各指标的显著性检验。

2 结果

光镜下观察发现,青年猫(图版I:2,4)感光细胞层结构较完整,外段和内段均整齐排列,界限清晰。与青年猫相比,老年猫(图版I:1,3)视网膜感光细胞层结构杂乱,未见完整的外段和内段结构,界限不清。老年猫(图版I:5,7)与青年猫(图版I:6,8)相比,玻璃膜结构杂乱。与青年猫相比,老年猫色素上皮层细胞密度下降了43.5%,差异显著;玻璃膜厚度无显著变化;脉络膜厚度下降了28.3%,脉络膜毛细血管数下降了57.2%,均显著减小。由于光镜下测量脉络膜毛细血管的内径误差较大,所以我们选取脉络膜毛细血管之间的距离作为测量对象。毛细血管之间的距离增大了147.9%,差异显著(表1)。

表1 青年与老年猫外层视网膜和脉络膜相关参数 ($n=8$)

Table 1 Parameters about outer retinae and choroids in young and old cats

	青年猫 Young cat	老年猫 Old cat
色素上皮细胞数 Number of RPE cells (cells/mm)	1.117 \pm 0.149	0.631 \pm 0.123*
玻璃膜厚度 Thickness of Bruch's membrane (mm)	0.056 \pm 0.004	0.059 \pm 0.005**
脉络膜厚度 Thickness of choroid (mm)	0.191 \pm 0.011	0.137 \pm 0.008*
脉络膜毛细血管数 Number of choriocapillary vessel (/mm)	1.195 \pm 0.296	0.512 \pm 0.189*
脉络膜毛细血管间距 Distance between choriocapillary vessels (mm)	0.048 \pm 0.008	0.119 \pm 0.004*

* $P < 0.01$, ** $P > 0.05$ (*t*-test).

3 讨论

感光细胞是接受光线刺激并将其转化为神经冲动的部位。感光细胞的丢失导致视觉功能的衰退,这样的改变是人类衰老的正常进程之一^[1,2]。Fitzgerald等^[7]发现衰老鸽子的感光细

胞出现核固缩现象。我们研究发现老年猫感光细胞的结构紊乱,无完整的外段和内段。这必将严重影响老年猫的视觉功能。

RPE位于视网膜的最外层,与感光细胞的外段相邻。RPE的色素细胞对于感光细胞既是选择性的屏障,又是营养的调控者^[8]。RPE对

细胞结构和功能的维持起着很重要的作用。它通过特殊蛋白质的表达和活化,调控营养物质和代谢废物进出视网膜的运输。色素细胞内除一般的细胞器外,含有大量的黑色素颗粒。黑色素颗粒有吸收光线、保护外层视网膜免受高能光照以及光照产生的活性氧族的损伤作用。色素细胞通过摄取并降解感光细胞外段脱落的碎片有助于外段的更新。此外,色素细胞还能贮存维生素 A,参与视杆细胞视紫红质形成。Feeney-Burns 等^[1-3]发现在衰老过程中人视网膜中 RPE 有丢失现象。本文的研究发现老年猫的 RPE 细胞也存在丢失现象,这可能会对感光细胞造成重要影响。

玻璃膜是脉络膜的最内层,介于 RPE 与脉络膜毛细血管之间的一层半透明膜,故称之为玻璃膜。也有人将玻璃膜归为脉络膜的一部分。玻璃膜是脉络膜毛细血管和视网膜之间的一道比较坚固的机械屏障。当玻璃膜出现异常时,相应区域的暗适应的阈值增加^[9]。玻璃膜存在年龄相关的变化。研究发现,随年龄增长玻璃膜厚度增加,衰老个体玻璃膜充满碎片^[14-6]。我们发现老年猫玻璃膜厚度与青年猫相比无显著变化,但结构出现异常,有较多的碎片。推测玻璃膜的结构异常可能会损害物质进出视网膜的运输。

脉络膜位于视网膜后,是富有血管和色素细胞的疏松结缔组织。脉络膜的毛细血管供应外层视网膜(包括色素上皮层、感光细胞层、外界膜、外核层和外网状层)的营养,并运走它们的代谢废物。脉络膜色素细胞的功能是吸收眼内散射光线,以免影响视觉。在老年个体脉络膜厚度下降,脉络膜毛细血管密度降低^[14,7]。Fitzgerald 等^[7]发现伴随脉络膜毛细血管的退化,脉络膜的血流量显著下降。我们发现老年猫脉络膜毛细血管密度降低,间距增大。这暗示脉络膜毛细血管血流量的降低。此外,老年猫脉络膜厚度下降,这可能会引起脉络膜色素细胞的减少。

原则上,外层视网膜、玻璃膜和脉络膜年龄相关变化可能是独立的,但它们结构相邻,功能

密切相关。所以有理由相信外层视网膜、玻璃膜和脉络膜年龄相关变化的成分中至少有一些可能会促进其他成分的年龄相关变化。脉络膜的毛细血管供应外层视网膜和玻璃膜营养,所以当老年猫脉络膜出现血流下降时可能会导致玻璃膜的缺陷,这将损害物质进出视网膜的运输,同时也就影响了外层视网膜的结构和功能。Fitzgerald 等^[7]发现与鸽子年龄相关的脉络膜血管衰退先于视觉功能的衰退,而且脉络膜的功能和视觉功能之间存在正相关。老年猫脉络膜厚度下降可能使其色素细胞的含量下降,这会使 RPE 和感光细胞面临更大的光氧化压力。King 等^[10]认为光氧化压力导致 RPE 的死亡,以及伴随其后的感光细胞的死亡。Gao 等^[2]发现在任一年龄组赤道区感光细胞与 RPE 细胞的比值以及黄斑区视锥细胞与 RPE 细胞的比值没有显著不同。也就是说感光细胞和 RPE 细胞在衰老过程中显示平行的变化。现推测老年猫 RPE 细胞的丢失可能会造成以下影响(1)感光细胞缺乏营养物质,且代谢废物在细胞内堆积(2)黑色素的缺乏使感光细胞面临更大的光氧化压力,加速其衰退(3)影响感光细胞外段的更新以及视杆细胞视紫红质的形成。这导致视杆细胞更易受衰老的影响。这一点与 Cideciyan 等^[11,12]的视杆细胞先于视锥细胞丢失的结论一致。

参 考 文 献

- [1] Feeney-Burns L, Burns R P, Gao C L. Age-related macular changes in humans over 90 years old. *Am J Ophthalmol*, 1990, **109**(3): 265 ~ 278.
- [2] Gao H, Hollyfield J G. Aging of the human retina. Differential loss of neurons and retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1992, **33**(1): 1 ~ 17.
- [3] Watzke R C, Soldevilla J D, Trune D R. Morphometric analysis of human retinal pigment epithelium: correlation with age and location. *Curr Eye Res*, 1993, **12**(2): 133 ~ 142.
- [4] Ramrattan R S, Van der Schaft T L, Mooy C M, et al. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1994, **35**(6): 2857 ~ 2864.
- [5] Okubo A, Rosa R H Jr, Bunce C V, et al. The relationships of

- age changes in retinal pigment epithelium and Bruch 's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* ,1999 ,**40**(2):443 ~ 449.
- [6] Fan W ,Lin N ,Sheedlo H J ,*et al.* Muller and RPE cell response to photoreceptor cell degeneration in aging Fischer rats. *Exp Eye Res* ,1996 ,**63**(1) 9 ~ 18.
- [7] Fitzgerald M E ,Tolley E ,Fraser S ,*et al.* Functional and morphological assessment of age-related changes in the choroid and outer retina in pigeons. *Vis Neurosci* ,2001 ,**18**(2) 299 ~ 317.
- [8] Boulton M ,Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium :topographical variation and ageing changes. *Eye* , 2001 ,**15**(3) 384 ~ 389.
- [9] Chen J C ,Fitzke F W ,Pauleikhoff D ,*et al.* Functional loss in age-related Bruch 's membrane change with choroidal perfusion defect. *Invest Ophthalmol Vis Sci* ,1992 ,**33**(2) 334 ~ 340.
- [10] King A ,Gottlieb E ,Brooks D G ,*et al.* Mitochondria-derived reactive oxygen species mediate blue light-induced death of retinal pigment epithelial cells. *Photochem Photobiol* ,2004 ,**79**(5) 470 ~ 475.
- [11] Cideciyan A V ,Hood D C ,Huang Y ,*et al.* Disease sequence from mutant rhodopsin allele to rod and cone photoreceptor degeneration in man. *Proc Natl Acad Sci USA* ,1998 ,**95**(12): 7 103 ~ 7 108.
- [12] Petters R M ,Alexander C A ,Wells K D ,*et al.* Genetically engineered large animal model for studying cone photoreceptor survival and degeneration in retinitis pigmentosa. *Nat Biotechnol* ,1997 ,**15**(10) 965 ~ 970.

图 版 说 明

1 3. 老年猫外层视网膜结构 图 1×200 图 3×400 ; 5 7. 老年猫脉络膜结构 脉络膜毛细血管(↑) 图 5×200 图 7×400 ; 2 4. 青年猫外层视网膜结构 图 2×200 图 4×400 ; 6 8. 青年猫脉络膜结构 脉络膜毛细血管(↑) 图 6×200 图 8×400。
RPE :色素上皮层 ; OS :外段 ; IS :内段 ; BM :玻璃膜 ; CH :脉络膜。

Explanation of Plate

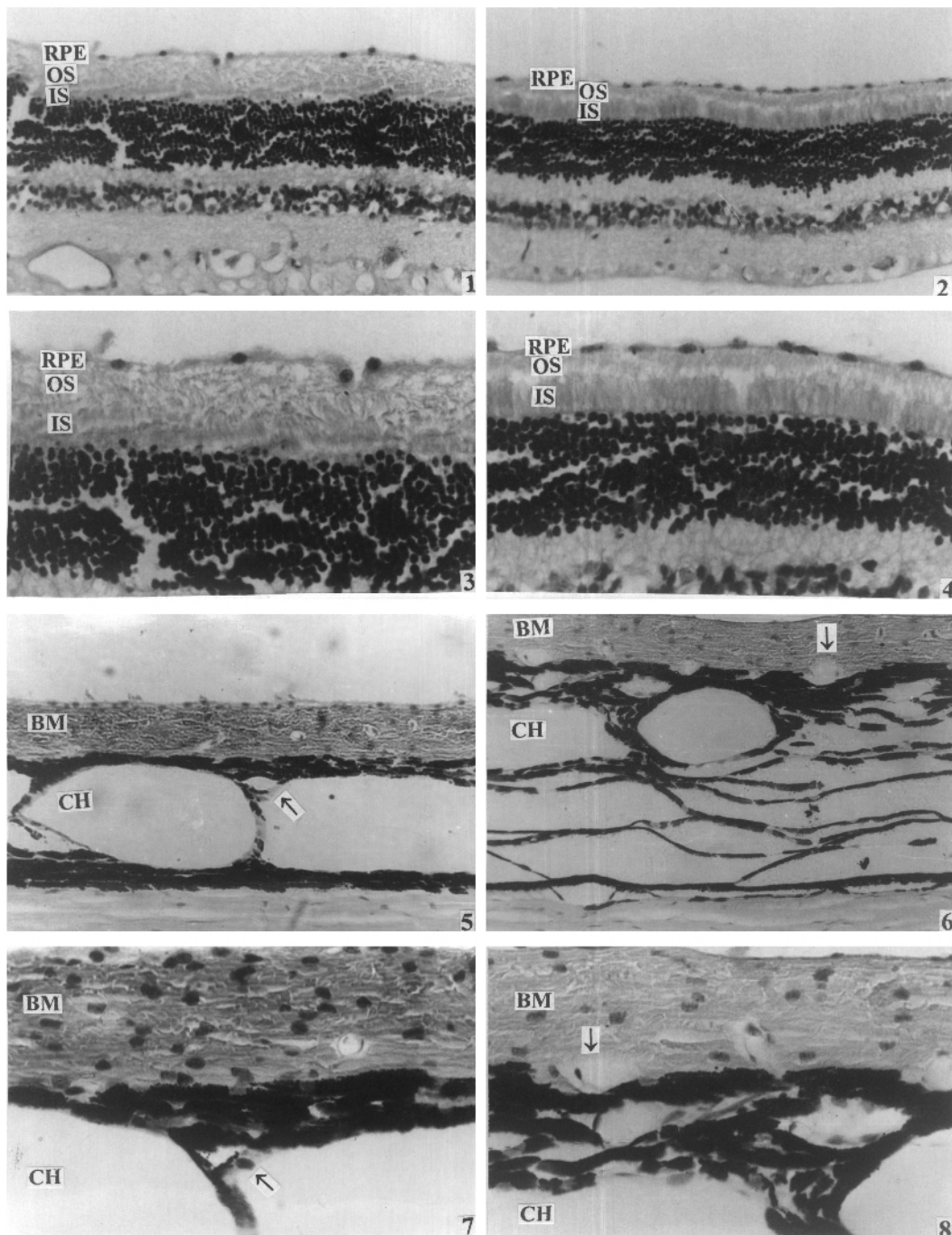
1 3. The structure of the outer retina in old cats , Fig. 1×200 , Fig. 3 ×400 ; 5 7. The structure of the choroid in old cats ,choriocapillary(↑) , Fig. 5×200 , Fig. 7×400 ; 2 4. The structure of the outer retina in young cats , Fig. 2 ×200 , Fig. 4 ×400 ; 6 8. The structure of the choroid in young cats ,choriocapillary(↑) , Fig. 6 ×200 , Fig. 8 ×400.
RPE :Retinal pigment epithelium ; OS :Outer segment ; IS :Inner segment ; BM :Bruch 's membrane ; CH :Choroid.

孙庆艳等 猫外层视网膜和脉络膜的年龄相关变化

图版 I

SUN Qing-Yan *et al.*: Age-related Changes in the Outer Retina and Choroid of Cat

Plate I



图版说明见文后