

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.11.008  
文章编号: 1005-8982 (2024) 11-0051-08

实验研究·论著

## 鼻腔递送血管活性肠肽对弱视大鼠视皮层 脑源性神经营养因子的影响\*

谢娟<sup>1</sup>, 罗月含<sup>2</sup>, 魏凌君<sup>3</sup>, 陶杰<sup>1</sup>, 王英<sup>2</sup>, 邹云春<sup>1</sup>

[1. 川北医学院第二临床医学院(南充市中心医院)眼科, 四川南充 637000; 2. 川北医学院  
眼视光医学院, 四川南充 637000; 3. 周口市中心医院眼科, 河南周口 466000]

**摘要:** **目的** 探索血管活性肠肽(VIP)对形觉剥夺性弱视大鼠视皮层脑源性神经营养因子(BDNF)的影响, 探讨弱视治疗的神经保护作用机制。**方法** 选取3周龄健康SD大鼠36只, 随机分为对照组、模型组、治疗组, 各12只。采用前爪触地实验测定大鼠视敏度, 图形视觉诱发电位(PVEP)测定客观视觉功能; 采用Western blotting检测各组大鼠视皮层BDNF表达水平, 采用免疫荧光染色观察胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和VIP在视皮层中的表达水平和GFAP表达部位, 苏木精-伊红(HE)染色观察大鼠视皮层病理学改变。**结果** 与模型组比较, 治疗组视敏度和客观视觉功能均提高( $P < 0.05$ ), BDNF蛋白表达水平增加( $P < 0.05$ ), 但仍低于对照组( $P < 0.05$ )。免疫荧光检测结果显示: GFAP阳性细胞在正常组与弱视组中主要表达在视皮层I层和VI层, 且弱视组大鼠视皮层GFAP荧光强度明显低于对照组( $P < 0.05$ ), 治疗组视皮层VIP和GFAP的荧光强度均明显增加( $P < 0.05$ )。**结论** VIP对弱视大鼠有治疗作用, 可能与活化视皮层星形胶质细胞释放BDNF有关。这为弱视的治疗提供了新思路。

**关键词:** 弱视; 形觉剥夺; 血管活性肠肽; 星形胶质细胞; 脑源性神经营养因子

**中图分类号:** R777.44

**文献标识码:** A

## Effect of nasal administration of vasoactive intestinal peptide on brain-derived neurotrophic factor in the visual cortex of amblyopic rats\*

Xie Juan<sup>1</sup>, Luo Yue-han<sup>2</sup>, Wei Ling-jun<sup>3</sup>, Tao Jie<sup>1</sup>, Wang Ying<sup>2</sup>, Zou Yun-chun<sup>1</sup>

[1. Department of Ophthalmology, the Second Clinical College of North Sichuan Medical College  
(Nanchong Central Hospital), Nanchong, Sichuan 637000, China; 2. Department of Optometry,  
North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China; 3. Department of  
Ophthalmology, Zhoukou Central Hospital, Zhoukou, Henan 466000, China]

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of vasoactive intestinal peptide (VIP) on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the visual cortex of form-deprived amblyopia rats, and to explore the mechanism of neuroprotective effect of amblyopia treatment. **Method** Thirty-six three-week-old healthy SD rats were selected and randomly divided into control, model and treatment groups, 12 in each group. The visual acuity of rats was measured using the forepaw touchdown test, the objective visual function was measured by pattern visual evoked potentials (PVEP), and the expression level of BDNF in the visual cortex of rats in each group was detected using Western blotting, immunofluorescence staining was used to observe the expression levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP) and VIP in the visual cortex and the sites of GFAP expression, pathological changes in the rat visual

收稿日期: 2024-01-04

\* 基金项目: 四川省科技厅自然科学基金项目(No: 2022NSFSC0754); 南充市科技局课题(No: 22SXQT0350)

cortex observed by HE staining. **Result** Compared with the model group, visual acuity and the objective visual function of the treatment group was significantly improved ( $P < 0.05$ ), and the BDNF protein expression level was significantly increased ( $P < 0.05$ ), but still lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ). Immunofluorescence assay results showed: GFAP-positive cells in the normal and amblyopic groups were mainly expressed in layers I and VI of the visual cortex, and the fluorescence intensity of GFAP in the visual cortex of rats in the amblyopic group was significantly lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ), while the fluorescence intensities of VIP and GFAP in the visual cortex of the treated group were significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** VIP has a therapeutic effect on amblyopic rat, which may be related to the release of BDNF from astrocytes in the activated visual cortex, and this study provides new thoughts on the treatment of amblyopia.

**Keywords:** amblyopia; form-deprived; vasoactive intestinal peptide; astrocytes; brain-derived neurotrophic factor

在视觉发育期,由各种原因造成视觉细胞的有效刺激不足,即使矫正后其视力仍低于相应年龄的视力被称为弱视<sup>[1]</sup>。全球弱视的总患病率为 1.44%,亚洲为 1.09%<sup>[2]</sup>。我国弱视的发病率为 2.8%左右(约有 1 200 万患儿)<sup>[3]</sup>。弱视不仅影响着患者的工作和生活,还影响着身心健康<sup>[4-5]</sup>。视皮层是视觉神经系统的重要组成部分,携带物体形状、颜色、深度、空间及运动方位等详细的视觉信息在视皮层得到深度解码<sup>[6-7]</sup>。弱视的发生、发展中伴随着视皮层功能降低、突触可塑性下降等特征。因此,增强视皮层可塑性、提高视皮层功能可能是治疗弱视的关键。星形胶质细胞是哺乳动物脑内分布最广泛的一类细胞,参与维持中枢系统的稳态,具有支持、营养神经元的功能,已被证明在突触可塑性中发挥关键作用<sup>[8]</sup>。在中枢神经系统损伤的情况下,星形胶质细胞可通过增加脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达来修复<sup>[9]</sup>。血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)是由 28 个氨基酸组成的神经肽递质,具有神经保护和调控神经系统可塑性的作用<sup>[10-11]</sup>。VIP 广泛表达于眼内组织和视皮层中<sup>[12-13]</sup>。本研究前期研究结果显示,鼻腔递送 VIP 可提高弱视猫的视觉功能,增加外侧膝状体 BDNF 的表达,但未在视皮层进行深入研究,其改善视觉功能的作用机制尚不清楚<sup>[14]</sup>。据此推测 VIP 治疗弱视可能与活化星形胶质细胞、增加 BDNF 的表达以促进视皮层修复有关。本研究旨在观察 VIP 对形觉剥夺性弱视大鼠视皮层的作用,进一步探讨 VIP 对视皮层星形胶质细胞及 BDNF 的影响,为弱视的治疗寻求一种安全有效的药物治疗方法并为此提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物、主要试剂与仪器

3 周龄健康 SD 大鼠 37 只,雌雄不限,体重( $45 \pm 5$ )g,由川北医学院实验动物中心提供。实验动物生产许可证号:SCXK(川)2023-0018,实验动物使用许可证号:SYXK(川)2023-0076;实验动物伦理审查号:2023029。VIP(货号:HEK293,His)、 $\beta$ -actin 抗体(货号:HY-P80438)、BDNF 抗体(货号:HY-P80567)购自美国 MCE 公司,VIP 抗体[货号:(H-6):sc-25347]购自美国 Santa Cruz 公司,胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)抗体(货号:3670)购自美国 CST 公司,HE 染色试剂盒(货号:C0105S)购自上海碧云天科技有限公司,氧氟沙星眼膏(批号:220901)购自沈阳兴齐眼药股份有限公司,爱尔凯因盐酸丙美卡因滴眼液(批号:VE347B)购自美国 Alcon 公司,6-0 可吸收缝线(型号:W9100H)购自美国强生公司,眼科显微剪(货号:54050B)购自苏州六六医疗器械有限公司,动物电极针(型号:RL-1223000030-RC-D)和视觉电生理仪(型号:RETI port/scan 21)购自德国 Roland 公司,病理切片机(型号:RM 2235)和荧光显微镜(型号:DM2500)购自德国 Leica 公司。

### 1.2 模型复制及分组

**1.2.1 模型复制** 所有大鼠行眼底镜检查排除屈光介质混浊及眼底异常。随机选取 12 只大鼠为对照组,剩余 25 只大鼠参照文献[15]的方法复制单眼形觉剥夺经典弱视模型。将大鼠麻醉固定,对右眼进行表面麻醉,使用眼科显微剪剪去眼睑周围毛发,眼睑皮肤消毒后,剪去距睑缘约 1 mm 的皮肤,使用 6-0 可吸收缝线将上下眼睑对位缝合,术后涂氧

氟沙星眼膏预防感染, 每天检查大鼠眼睑创口愈合情况; 若出现脱线、眼内感染的大鼠, 将予以剔除, 不再纳入后续实验。对照组仅麻醉不缝合。6 周龄时, 剪开大鼠右侧眼睑, 参照 ISCEV 电生理检查标准, 对所有大鼠进行图形视觉诱发电位 (pattern visual evoked potentials, PVEP) 检测; 与对照组大鼠相比, 以 P100 波潜伏期与振幅有差异为模型复制成功的标准。经检测 24 只大鼠成功复制弱视模型。

**1.2.2 动物分组** 6 周龄时, 对照组保持不变, 将 24 只模型复制成功的大鼠随机分为模型组和治疗组, 各 12 只。模型复制结束第 1 天为干预治疗第 1 天, 对照组不给予任何干预措施; 治疗组每日鼻腔灌洗 1 mL VIP (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 1 次/d; 模型组鼻腔灌洗 1 mL 生理盐水, 1 次/d; 两组大鼠灌洗鼻腔均在每天同一时间段, 连续治疗 2 周; 8 周龄时对所有大鼠进行 PVEP 检测, 检测完毕立即取材。饲养期间自由喂养和饮水, 环境温度 ( $22 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度保持在 50%, 每日光照时间为 8:00 至 20:00。

### 1.3 前爪触地实验检测视敏度

3 组大鼠在 6 周龄和 8 周龄时均进行前爪触地实验。参考文献[16]的方法, 使用黑色不透明眼罩遮住大鼠左眼, 将大鼠在距离平台 20 cm 的位置缓慢放下, 若大鼠鼻子或胡须触地之前, 大鼠做出探爪动作, 则视为探爪成功, 每只大鼠重复测量 3 次, 记录成功率。

### 1.4 PVEP 检测客观视觉功能

3 组大鼠在 6 周龄和 8 周龄时均进行 PVEP 的检测。参考文献[17]的方法, 检测前将所有大鼠置于黑暗环境适应 30 min, 每只大鼠称重后按体重给予 1.25% 阿佛丁 (10 mL/kg) 麻醉后行 PVEP 检测, 将记录电极插入大鼠枕部皮下; 参考电极插入大鼠鼻骨处皮下, 接地电极插入大鼠尾部皮下。检测期间使用不透明黑色眼罩遮挡大鼠左眼, 分别进行阻抗测试, 使阻抗小于 10 k $\Omega$ 。采用棋盘翻转模式进行刺激, 刺激距离为 15 cm, 刺激模式设定为 0.04 周/度, 时间频率为 1 Hz, 对比度 97%, 采样时间 300 ms, 叠加 100 次, 记录数据。

### 1.5 Western blotting 检测 BDNF 蛋白表达

每组大鼠随机选取 6 只处死后快速取出脑组织, 冰上保存。按照《大鼠脑立体定位图谱》<sup>[18]</sup>分离取出左侧视皮层 (剥夺眼对侧), 使用配置好的裂解液

(RIPA:PMSF=100:1) 提取各样本组织蛋白。BCA 法测定蛋白浓度, 配置浓缩胶和分离胶, 各组取 20  $\mu\text{g}$  总蛋白依次加入 SDS-PAGE 胶样孔中 (80 V 恒压跑浓缩胶 30 min, 120 V 恒压跑分离胶 1 h); 将 PVDF 膜用甲醇激活后采用湿转法转膜, 使用 5% 脱脂奶粉封闭 (室温 2 h), 封闭完洗膜 3 次, 10 min/次, 一抗 (1:1 000) 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, 次日洗膜 3 次, 10 min/次, 加 HRP 标记的羊抗兔 IgG-HRP 二抗 (1:3 000) 室温孵育 1 h 后洗膜 3 次, 10 min/次, 加 ECL 超敏发光液进行显影, 采用 Image J 软件进行灰度值分析。以  $\beta$ -actin 为内参蛋白计算蛋白相对表达量。

### 1.6 免疫荧光检测 GFAP 和 VIP 表达

每组剩余的 6 只大鼠使用 0.9% 生理盐水和 4% 多聚甲醛灌注, 灌注后按照《大鼠脑立体定位图谱》<sup>[18]</sup>分离出左侧视皮层 (剥夺眼对侧), 使用 4% 多聚甲醛固定, 随后包埋。各组织块切片厚度为 4  $\mu\text{m}$ 。烤片 (60  $^{\circ}\text{C}/\text{h}$ ) 后取出玻片, 脱蜡至水, EDTA 修复 (高火 10 min, 低火 10 min), 冷却至室温, 随后 PBS 洗 3 次, 5 min/次, 山羊血清封闭 (37  $^{\circ}\text{C}/\text{h}$ ), 弃血清, 孵育一抗 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜, 弃一抗, PBS 洗 3 次, 5 min/次, 避光孵育二抗 (37  $^{\circ}\text{C}/\text{h}$ ), PBS 洗 3 次, 5 min/次, 加 DAPI 避光孵育 5 min, PBS 洗 3 次, 最后用抗荧光淬灭液封片, 荧光显微镜观察。每个组织制作 3 张切片, 每张切片选取 3 个随机视野采集图像, 用 Image J 软件进行荧光亮度分析。

### 1.7 苏木精-伊红染色观察组织病理学变化

各组织蜡块切片厚度设置为 4  $\mu\text{m}$ 。烤片 (60  $^{\circ}\text{C}/\text{h}$ ) 后取出玻片, 脱蜡至水, 苏木精染色 7 min, 自来水洗 2 min, 伊红染色 5 min, 自来水洗 2 min, 随后梯度酒精脱水, 中性树胶封片, 最后在光学显微镜下观察。

### 1.8 统计学方法

数据分析采用 SPSS 25.0 和 GraphPad Prism 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较采用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 两两比较用 LSD- $t$  检验。  $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3 组大鼠视敏度的比较

3 组大鼠 6 周龄和 8 周龄时前爪触地成功率的

比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点的前爪触地成功率比较,差异有统计学意义( $F=39.776, P=0.000$ );②3组前爪触地成功率比较,差异有统计学意义( $F=60.612, P=0.000$ );③3组的前爪触地成功率变化趋势比较,差异有统计学意义( $F=30.024, P=0.000$ ),8周龄时,治疗组前爪触地成功率提高,相对视敏度升高,但仍低于对照组( $P<0.05$ )。见表1。

### 2.2 3组大鼠PVEP的比较

3组大鼠6周龄和8周龄时PVEP的比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点的P100波振幅、P100波潜伏期比较,差异有统计学意义( $F=1039.432$ 和 $59.086$ ,均 $P=0.000$ );②3组的P100波振幅、P100波潜伏期比较,差异有统计学意义

表 1 各组大鼠不同时间前爪触地成功率的比较  
( $n=12, \bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 6周                         | 8周                         |
|-----|----------------------------|----------------------------|
| 对照组 | 91.50 ± 15.37 <sup>†</sup> | 94.33 ± 13.23 <sup>†</sup> |
| 模型组 | 24.75 ± 14.92              | 27.50 ± 19.05              |
| 治疗组 | 22.00 ± 21.49 <sup>†</sup> | 80.25 ± 22.54 <sup>†</sup> |

注:†与模型组比较, $P<0.05$ 。

( $F=3019.659$ 和 $507.149$ ,均 $P=0.000$ );③3组P100波振幅、P100波潜伏期变化趋势比较,差异有统计学意义( $F=104.752$ 和 $29.157$ ,均 $P=0.000$ )。8周龄时,治疗组较模型组P100波振幅提高,P100波潜伏期缩短,但仍与对照组有差异( $P<0.05$ )。见表2和图1。

表 2 各组大鼠不同时间PVEP的比较 ( $n=12, \bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 6周龄                       |                            | 8周龄                       |                           |
|-----|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
|     | P100波振幅/ $\mu V$          | P100波潜伏期/ms                | P100波振幅/ $\mu V$          | P100波潜伏期/ms               |
| 对照组 | 12.02 ± 0.54 <sup>†</sup> | 77.88 ± 2.69 <sup>†</sup>  | 14.28 ± 0.43 <sup>†</sup> | 78.35 ± 2.01 <sup>†</sup> |
| 模型组 | 3.97 ± 0.36               | 103.00 ± 3.41              | 6.01 ± 0.31               | 99.43 ± 2.54              |
| 治疗组 | 3.79 ± 0.31 <sup>†</sup>  | 102.28 ± 2.66 <sup>†</sup> | 8.94 ± 0.41 <sup>†</sup>  | 91.98 ± 1.83 <sup>†</sup> |

注:†与模型组比较, $P<0.05$ 。

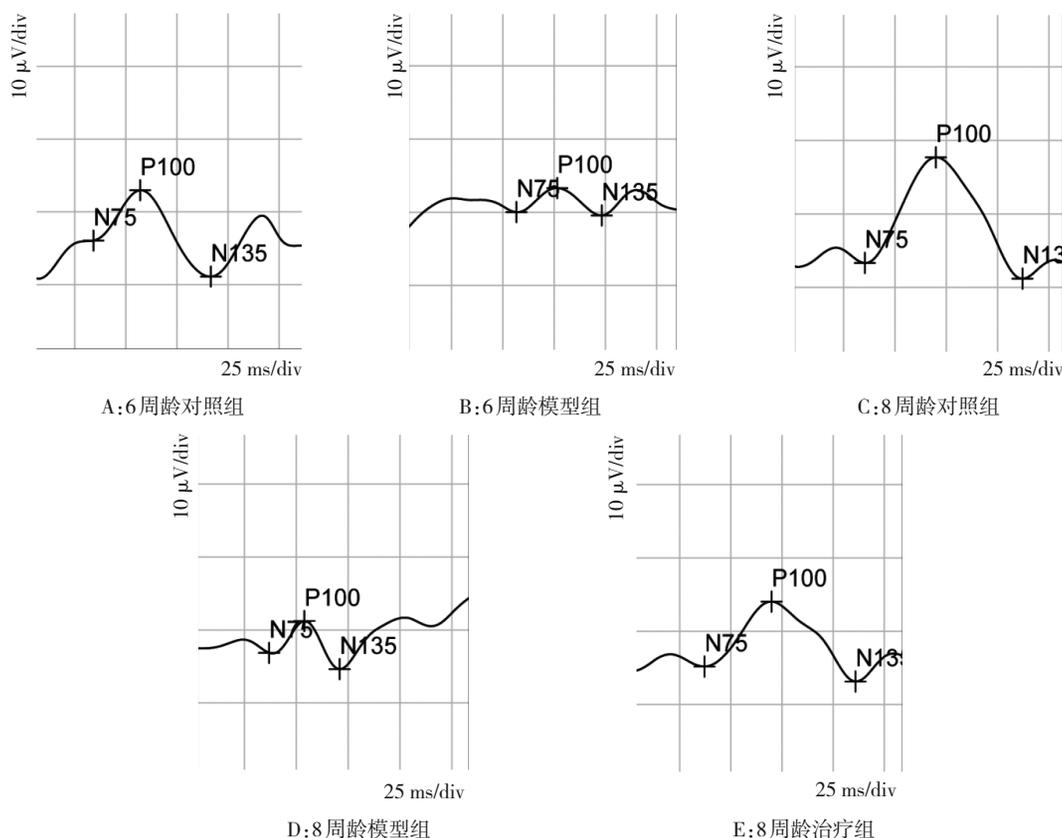


图 1 各组大鼠PVEP的波形图

### 2.3 3组大鼠视皮层BDNF蛋白相对表达量比较

对照组、模型组、治疗组大鼠视皮层 BDNF 蛋白相对表达量分别为  $(0.75 \pm 0.03)$ 、 $(0.36 \pm 0.03)$  和  $(0.62 \pm 0.05)$ , 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $F=87.914, P=0.000$ ); 模型组较对照组降低 ( $P<0.05$ ), 治疗组较模型组升高 ( $P<0.05$ )。见图 2。

### 2.4 3组大鼠视皮层GFAP、VIP 表达的比较

免疫荧光染色显示, 对照组和模型组的 GFAP 阳性细胞主要在视皮层 I 层和 VI 层表达, 治疗组的

GFAP 阳性细胞在视皮层全层均有表达; 3 组大鼠视皮层 GFAP 荧光强度比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 治疗组和模型组大鼠视皮层 GFAP 荧光强度明显低于对照组 ( $P<0.05$ ), 而治疗组荧光强度高于模型组 ( $P<0.05$ )。见表 4 和图 3。

表 4 各组大鼠视皮层 GFAP 和 VIP 表达的比较  
( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

| 组别  | GFAP                         | VIP                           |
|-----|------------------------------|-------------------------------|
| 对照组 | $4.95 \pm 0.49$              | $28.78 \pm 1.47$              |
| 模型组 | $1.30 \pm 0.42$ <sup>①</sup> | $11.97 \pm 0.99$ <sup>①</sup> |
| 治疗组 | $3.69 \pm 0.37$ <sup>②</sup> | $18.59 \pm 2.66$ <sup>②</sup> |
| F 值 | 334.182                      | 380.118                       |
| P 值 | 0.000                        | 0.000                         |

注: ①与对照组比较,  $P<0.05$ ; ②与模型组比较,  $P<0.05$ 。

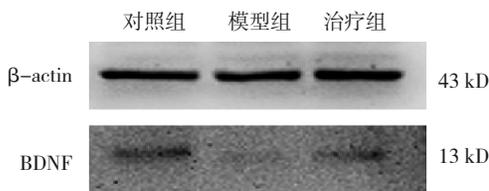
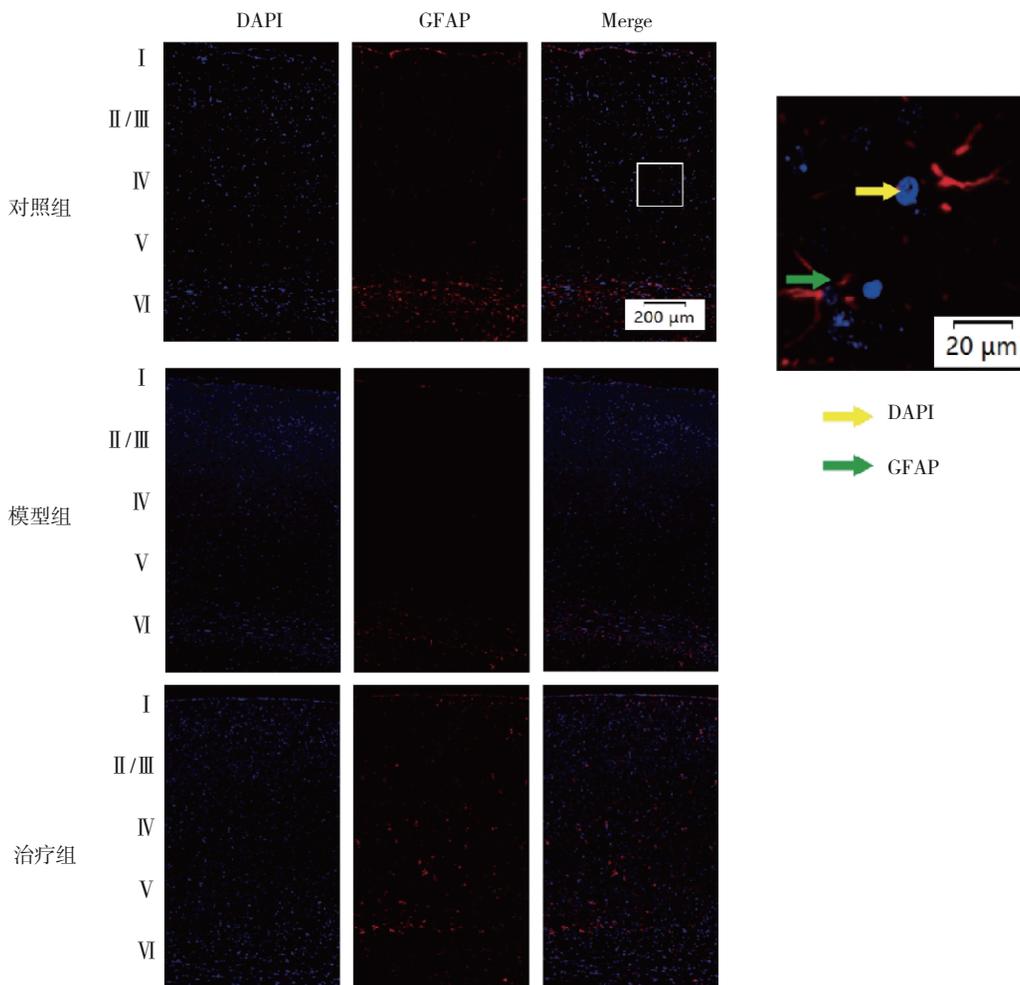


图 2 3组大鼠视皮层 BDNF 蛋白的表达

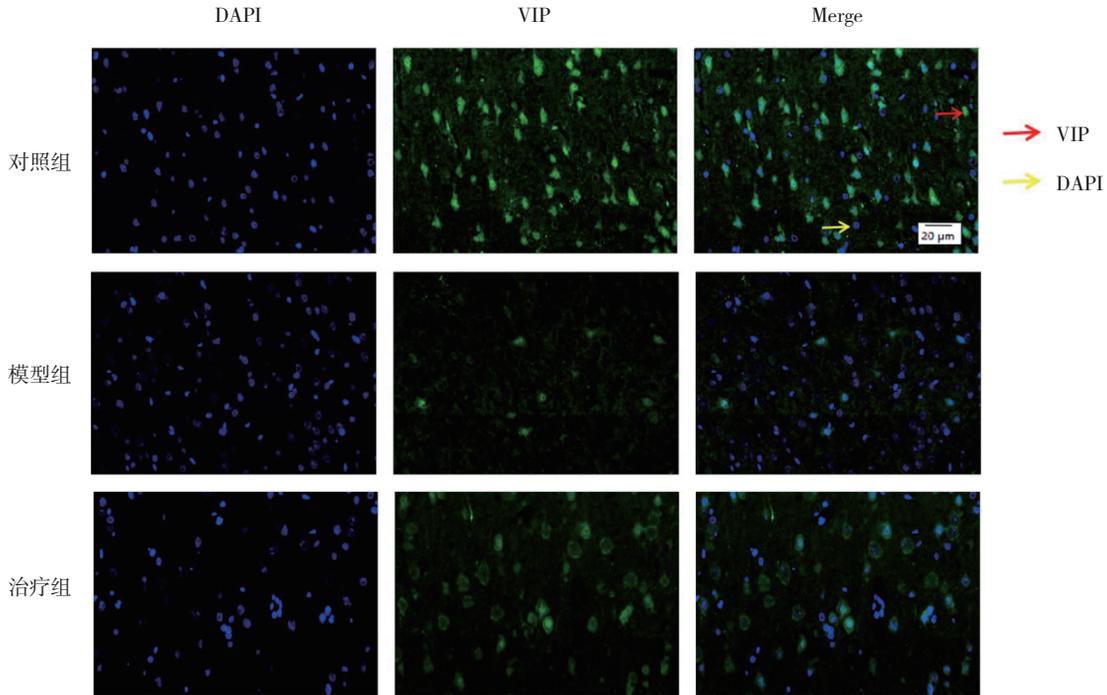


GFAP(红色); DAPI(蓝色, 细胞核); 比例尺:  $200 \mu\text{m}$ ; 右侧图片为白色边框选择的区域的高倍镜视图, 比例尺:  $20 \mu\text{m}$ 。

图 3 3组大鼠视皮层 I ~ VI 层 GFAP 阳性表达

3组大鼠视皮层VIP荧光强度比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );模型组大鼠视皮层VIP荧光强度较对照组降低( $P < 0.05$ ),治疗组大鼠视皮层VIP

光强度较模型组增加( $P < 0.05$ ),但仍低于对照组( $P < 0.05$ )。见表4和图4。



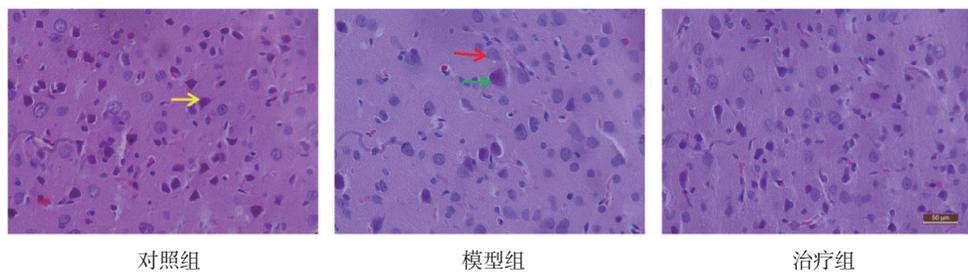
VIP(绿色); DAPI(蓝色,细胞核); 比例尺:20 μm。

图4 3组大鼠视皮层VIP阳性表达

### 2.5 3组大鼠视皮层病理改变

HE染色结果显示,对照组大鼠视皮层神经细胞数量较多,细胞轴突明显,可见少量胶质细胞。

模型组大鼠视皮层神经细胞肿大,可见细胞核出现固缩、溶解,大量胶质细胞增生。治疗组大鼠视皮层异常神经元的数量和形态明显减少。见图5。



黄色箭头:视皮层正常神经元;红色箭头:神经胶质细胞;绿色箭头:神经元细胞核固缩、溶解;比例尺:50 μm。

图5 3组大鼠视皮层病理图 (HE染色×400)

## 3 讨论

哺乳动物出生后,视觉神经系统的发育存在着一段短暂而关键的时期,在此期间,视觉系统能够敏感的根据环境视觉刺激做出相应调整,这个时期被称为视觉发育关键期<sup>[19]</sup>。关键期内,异常的视觉经验,如形觉剥夺、高度屈光不正、屈光参差、单眼

斜视等通常会导致弱视。

PVEP是一种客观的视功能检查方法,可检测从视网膜到视皮层的视觉神经传导功能,对弱视的研究具有重要的意义。大鼠的视觉发育关键期从睁眼开始,到出生后6周左右<sup>[20]</sup>。本研究采用单眼形觉剥夺性弱视大鼠模型,在大鼠视觉发育关键期

内进行弱势模型复制,以确保形觉剥夺的影响。本研究检测大鼠前爪触地成功率,结果显示弱视模型大鼠触地成功率低于对照组;PVEP检测评估大鼠客观视觉功能,发现弱视模型大鼠P100波振幅降低,潜伏期延长;证实弱视大鼠模型已经复制成功,与既往文献研究一致<sup>[17,21]</sup>。弱视的发生发展过程一般伴随着许多神经递质与细胞因子的改变。VIP是一种参与视觉神经系统信息传递与调控过程的神经递质,已被发现参与正常与形觉剥夺性近视/弱视的屈光发育过程<sup>[14,22]</sup>。本研究结果显示,治疗组大鼠触地成功率提高,P100波振幅提高,潜伏期缩短,提示VIP治疗能改善视神经传导功能,促进弱视大鼠视觉功能的恢复,这也与本研究组此前基于形觉剥夺性弱视猫的研究具有一致性<sup>[14]</sup>。此外,本研究通过鼻腔灌注VIP的给药途径,确保VIP对视皮层的影响。相比于静脉给药,鼻腔给药能使VIP更完整的到达大脑皮层<sup>[23]</sup>。由于眼的视神经交叉投射,大鼠形觉剥夺后视皮层的改变主要来自对侧,本研究以右眼作为剥夺眼,因此取左侧视皮层进行研究。星形胶质细胞约占人脑体积的50%,有营养、支持神经元的作用<sup>[24]</sup>。GFAP是星形胶质细胞活化的标志,在星形胶质细胞中稳定而又唯一的表达,因此GFAP常作为星形胶质细胞的检测指标。BDNF是大脑皮层内广泛表达的神经营养因子,在神经元存活、成熟和活性方面具有多效性功能。近年来,也有越来越多的文献支持星形胶质细胞产生、结合、内化和释放BDNF<sup>[25-26]</sup>。在病理情况下,如脑缺血,星形胶质细胞可通过释放BDNF促进神经系统功能的恢复<sup>[27]</sup>。研究表明,VIP可作用于星形胶质细胞为神经元提供间接营养支持<sup>[28]</sup>。本研究结果显示,GFAP在正常和弱视大鼠视皮层中主要表达在I和VI层,VIP干预2周后,视皮层VIP和BDNF的表达增加,且视皮层全层可见GFAP表达增多,说明VIP可能通过活化星形胶质细胞增加BDNF的表达发挥其神经保护作用,进一步促进视皮层功能恢复。

VIP可通过减少细胞色素C从线粒体到细胞质的移位来抑制神经元的凋亡<sup>[29]</sup>。体外实验证明,VIP能增强星形胶质细胞摄取谷氨酸的能力发挥神经保护作用<sup>[30]</sup>,对抗谷氨酸诱导的细胞死亡。为观察视觉剥夺对大鼠视皮层神经细胞功能引起的形态学改变和VIP对视皮层形态学的影响,本研究对各

组大鼠视皮层进行了HE染色观察。结果表明,弱视可诱发大鼠视皮层神经细胞组织病理学损伤,表现为神经元数量减少,细胞体积增大,可见细胞核固缩、溶解,代以胶质细胞增生(类似于神经细胞早期凋亡)。VIP治疗组异常神经元的数量和形态明显减少,提示早期视觉剥夺后引起的神经形态学改变是可逆的,可能是一种类凋亡形式<sup>[31]</sup>,证实了视皮层形态学改变是弱视发病的结构基础,VIP能有效逆转视皮层神经细胞早期形态学改变。

本研究仍有不足之处,一是本研究VIP的干预周期较短,尚未观察到VIP的全部药理作用,导致VIP治疗组的P100潜伏期和波幅与对照组相比仍有差异。二是未设置VIP高低剂量组,没有观察到不同浓度的VIP对弱视治疗是否有更好的疗效。

综上所述,本研究证实鼻腔注射VIP对形觉剥夺性弱视大鼠有治疗作用,推测可能与活化视皮层星形胶质细胞,增加神经营养因子BDNF的表达有关,从而改善视神经传导功能,发挥对视皮层的神经保护作用,促进弱视大鼠视皮层功能恢复。本研究为深入探讨VIP对弱视大鼠的神经保护作用提供了参考,后续将进一步研究其对视皮层发挥保护功能的潜在机制。

#### 参 考 文 献 :

- [1] 中华医学会眼科学分会斜视与小儿眼科学组,中国医师协会眼科医师分会斜视与小儿眼科学组.中国儿童弱视防治专家共识(2021年)[J].中华眼科杂志,2021,57(5):336-340.
- [2] FU Z J, HONG H, SU Z C, et al. Global prevalence of amblyopia and disease burden projections through 2040: a systematic review and meta-analysis[J]. Br J Ophthalmol, 2020, 104(8): 1164-1170.
- [3] 刘家琦.李凤鸣[M].北京:人民卫生出版社,2000:690.
- [4] SYNTOSI A, FELIZZI F, BOUCHET C. A social media listening study to understand the unmet needs and quality of life in adult and pediatric amblyopia patients[J]. Ophthalmol Ther, 2022, 11(6): 2183-2196.
- [5] BOUNTZIOUKA V, CUMBERLAND P M, RAHI J S. Impact of persisting amblyopia on socioeconomic, health, and well-being outcomes in adult life: findings from the UK biobank[J]. Value Health, 2021, 24(11): 1603-1611.
- [6] GARG A K, LI P C, RASHID M S, et al. Color and orientation are jointly coded and spatially organized in primate primary visual cortex[J]. Science, 2019, 364(6447): 1275-1279.
- [7] JÖRGES B, HAGENFELD L, LÓPEZ-MOLINER J. The use of visual cues in gravity judgements on parabolic motion[J]. Vision Res, 2018, 149: 47-58.
- [8] ALLEN N J, LYONS D A. Glia as architects of central nervous

- system formation and function[J]. *Science*, 2018, 362(6411): 181-185.
- [9] ALBINI M, KRAWCZUN-RYGMACZEWSKA A, CESCO F. Astrocytes and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) [J]. *Neurosci Res*, 2023, 197: 42-51.
- [10] van VERSENDAAL D, LEVELT C N. Inhibitory interneurons in visual cortical plasticity[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(19): 3677-3691.
- [11] KORKMAZ O T, TUNÇEL N. Advantages of vasoactive intestinal peptide for the future treatment of Parkinson's disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(39): 4693-4701.
- [12] ELBADRI A A, SHAW C, JOHNSTON C F, et al. The distribution of neuropeptides in the ocular tissues of several mammals: a comparative study[J]. *Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol Toxicol*, 1991, 100(3): 625-627.
- [13] MCDONALD J K, PARNAVELAS J G, KARAMANLIDIS A N, et al. The morphology and distribution of peptide-containing neurons in the adult and developing visual cortex of the rat. II. Vasoactive intestinal polypeptide[J]. *J Neurocytol*, 1982, 11(5): 825-837.
- [14] LI B, ZOU Y C, LI L W, et al. Therapeutic effect of vasoactive intestinal peptide on form-deprived amblyopic kittens[J]. *BMC Ophthalmol*, 2019, 19(1): 190.
- [15] CASTAÑO-CASTAÑO S, FEIJOO-CUARESMA M, PAREDES-PACHECO J, et al. tDCS recovers depth perception in adult amblyopic rats and reorganizes visual cortex activity[J]. *Behav Brain Res*, 2019, 370: 111941.
- [16] 罗瑜琳, 罗诗诗, 刘政海, 等. IGF-1介导的丰富环境对成年弱视小鼠视皮层可塑性的影响[J]. *国际眼科杂志*, 2020, 20(2): 224-229.
- [17] 孙娅玲, 严兴科, 刘安国. 基于RNA-seq技术的单眼形觉剥夺模型大鼠视皮层差异基因筛选、鉴定及功能分析[J]. *中华实验眼科杂志*, 2022, 40(3): 210-215.
- [18] PAXINOS G, WATSON C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. 6th ed. Amsterdam: Academic Press, 2007.
- [19] WIESEL T N, HUBEL D H. Comparison of the effects of unilateral and bilateral eye closure on cortical unit responses in kittens[J]. *J Neurophysiol*, 1965, 28(6): 1029-1040.
- [20] STAFFORD C A. Critical period plasticity for visual function: definition in monocularly deprived rats using visually evoked potentials[J]. *Ophthalmic Physiol Opt*, 1984, 4(1): 95-100.
- [21] 刘瑶, 余涛, 阴正勤. 图形视觉诱发电位记录双眼形觉剥夺成年大鼠视皮层可塑性的研究[J]. *中华实验眼科杂志*, 2011, 29(12): 1106-1110.
- [22] ÇAKMAK A I, BASMAK H, GURSOY H, et al. Vasoactive intestinal peptide, a promising agent for myopia? [J]. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(2): 211-216.
- [23] DUFES C, OLIVIER J C, GAILLARD F, et al. Brain delivery of vasoactive intestinal peptide (VIP) following nasal administration to rats[J]. *Int J Pharm*, 2003, 255(1/2): 87-97.
- [24] MASMOUDI-KOUKI O, GANDOLFO P, CASTEL H, et al. Role of PACAP and VIP in astroglial functions[J]. *Peptides*, 2007, 28(9): 1753-1760.
- [25] ZAFRA F, LINDHOLM D, CASTRÉN E, et al. Regulation of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor mRNA in primary cultures of hippocampal neurons and astrocytes[J]. *J Neurosci*, 1992, 12(12): 4793-4799.
- [26] de PINS B, CIFUENTES-DÍAZ C, FARAH A T, et al. Conditional BDNF delivery from astrocytes rescues memory deficits, spine density, and synaptic properties in the 5xFAD mouse model of Alzheimer disease[J]. *J Neurosci*, 2019, 39(13): 2441-2458.
- [27] LU Y J, SAREDDY G R, WANG J, et al. Neuron-derived estrogen is critical for astrocyte activation and neuroprotection of the ischemic brain[J]. *J Neurosci*, 2020, 40(38): 7355-7374.
- [28] BRENNEMAN D E, NEALE E A, FOSTER G A, et al. Nonneuronal cells mediate neurotrophic action of vasoactive intestinal peptide[J]. *J Cell Biol*, 1987, 104(6): 1603-1610.
- [29] ANTONAWICH F J, SAID S I. Vasoactive intestinal peptide attenuates cytochrome c translocation, and apoptosis, in rat hippocampal stem cells[J]. *Neurosci Lett*, 2002, 325(3): 151-154.
- [30] ONOUE S, ENDO K, YAJIMA T, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and vasoactive intestinal peptide attenuate glutamate-induced nNOS activation and cytotoxicity[J]. *Regul Pept*, 2002, 107(1-3): 43-47.
- [31] ASHER E, PAYNE C M, BERNSTEIN C. Evaluation of cell death in EBV-transformed lymphocytes using agarose gel electrophoresis, light microscopy and electron microscopy. II. Induction of non-classic apoptosis ("para-apoptosis") by tritiated thymidine[J]. *Leuk Lymphoma*, 1995, 19(1-2): 107-119.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 谢娟, 罗月含, 魏凌君, 等. 鼻腔递送血管活性肠肽对弱视大鼠视皮层脑源性神经营养因子的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(11): 51-58.

Cite this article as: XIE J, LUO Y H, WEI L J, et al. Effect of nasal administration of vasoactive intestinal peptide on brain-derived neurotrophic factor in the visual cortex of amblyopic rats[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(11): 51-58.