

糖尿病视网膜神经节细胞损伤的研究进展

李东洁, 吴迪, 张旭乡

作者单位: (100053) 中国北京市, 首都医科大学宣武医院眼科
作者简介: 李东洁, 女, 首都医科大学宣武医院在读硕士研究生。
通讯作者: 张旭乡, 女, 主任医师, 研究方向: 神经眼科。
zhangxuxiang@vip.163.com
收稿日期: 2015-12-25 修回日期: 2016-03-16

Research advance of diabetic retinal ganglion cell lesions

Dong-Jie Li, Di Wu, Xu-Xiang Zhang

Department of Ophthalmology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

Correspondence to: Xu - Xiang Zhang. Department of Ophthalmology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China. zhangxuxiang@vip.163.com

Received: 2015-12-25 Accepted: 2016-03-16

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the severe complications of diabetes, which could lead to severe visual impairment. Retinal ganglion cell (RGC) apoptosis has been confirmed both *in vivo* and *in vitro* prior to the definite micro-vascular damages. RGC impairment contributes to an early deterioration of vision. Hyperglycemia, oxidative stress, neuron growth factor deficiency and glutamate excitotoxicity were found to be involved in retinal ganglion cell apoptosis. Some neuron protective agents have been showed to prevent the apoptosis of RGC in experimental diabetic retinopathy. Clinical evidences about effectiveness and security also suggested potential treatments for the diabetic retinal neuron.

• KEYWORDS: diabetes; retinal ganglion cell; pathogenesis; treatment

Citation: Li DJ, Wu D, Zhang XX. Research advance of diabetic retinal ganglion cell lesions. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2016; 16(4):670-672

摘要

糖尿病性视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病严重并发症之一, 可对患者造成严重视功能损害。在视网膜出现微血管病变之前, 已经出现视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 的病变。神经细胞的病理改变是糖尿病早期视功能障碍的重要因素。RGC 的损伤机制可能与高血糖代谢紊乱、氧化应激损伤、神经营养因子缺乏以及谷氨酸兴奋毒性有关。许多实验研究发现神经保护药物能减少 RGC 凋亡, 一些关于有效性和安全性

的临床研究为临床治疗糖尿病视网膜神经细胞病变奠定重要基础。

关键词: 糖尿病; 视网膜神经节细胞; 损伤机制; 治疗
DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2016.4.20

引用: 李东洁, 吴迪, 张旭乡. 糖尿病视网膜神经节细胞损伤的研究进展. 国际眼科杂志 2016; 16(4):670-672

0 引言

糖尿病性视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病严重并发症之一, 可造成严重的视力损害。据统计, 2012 年全球约 9 300 万糖尿病视网膜病变的患者^[1]。DR 被看成是视网膜微血管的病理改变, 目前认为 DR 的发病机制与高血糖、多元醇代谢异常、蛋白质非酶糖基化、细胞凋亡、细胞因子及自由基作用等多种因素相关。越来越多的研究发现早在微血管病变之前, 已经出现视网膜神经病变。DR 主要是内层视网膜神经元——视网膜神经节细胞的病变, 视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 是视觉传导通路上的第二级神经元, 整合视网膜的视觉信息, 通过动作电位传到视觉中枢, 神经元的损害与早期糖尿病患者的视功能下降密切相关。早期发现 DR 神经元病变, 早期治疗, 有助于提高糖尿病患者的生活质量, 我们就糖尿病视网膜神经节细胞病变研究进展进行综述分析。

1 糖尿病视网膜神经节细胞及视神经病变

1962 年, Bloodworth^[2] 研究糖尿病患者尸眼发现视网膜神经节细胞呈现核破碎、核固缩等细胞凋亡的特征改变。1988 年, Barber 等^[3] 也发现, 在出现典型眼底微血管病变之前, 已经出现视网膜神经元退行性改变, 缺口末端标记法 (TUNEL) 染色阳性的细胞与内皮细胞标记物 von Willebrand 因子标记的位置不重叠, 凋亡的细胞并非血管内皮细胞。光学相干断层扫描发现, 糖尿病患者出现黄斑区神经节细胞层 (ganglion cell layer, GCL) 和视盘周围神经纤维层 (retinal nerve fiber layer, RNFL) 变薄, 且与糖尿病病程相关^[4-6]。多项研究发现, 在出现糖尿病视网膜微血管病变之前, 神经活动及稳定性已经出现变化, 提示内层神经视网膜病变^[7]。

视神经由 RGC 的轴突组成, 易受缺血缺氧及代谢紊乱损害, 糖尿病视神经病变与 DR 可能存在一定联系, 但两者并不完全平行。病程 1~5a 的糖尿病患者发病率约 5%, 6~10a 发病率约 8%。其临床表现较多样, 目前对其确切定义、诊断、分期及分型尚无统一标准^[8]。糖尿病患者 VEP 振幅下降和潜伏期延长。

目前糖尿病动物模型只能模拟人类早期 DR 病变和增殖期新生血管病变, 通过药物诱导模型和自发性糖尿病模型是常用的模型。遗传性模型易受环境或基因突变等影响, 发病程度不一。注射药物链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 可以选择性破坏胰岛 β 细胞, 制备糖尿病动物模型, 高血糖, 此模型可以表现 DR 的早期病理

改变,广泛应用于发病机制及药物试验。STZ 诱导的大鼠^[9]和小鼠糖尿病模型^[10]均出现不同程度内层视网膜改变,包括视网膜厚度变薄、RGC 凋亡,因实验方案不同,出现病变的程度及时间存在一定差异。自发糖尿病模型如 GK 大鼠、NOD 小鼠、db/db 小鼠及 Ins2 (Akita) 小鼠中也出现视网膜神经细胞凋亡, BB/W 大鼠 RGC 轴突萎缩^[11]。视神经出现脱髓鞘改变,胶质细胞增生,血管和结缔组织相对增加^[12]。不同模型各有优劣,探寻接近人类 DR 的理想动物模型极为关键,深入研究早期神经元损伤的机制,为临床治疗提供可靠依据。

2 视觉电生理和心理物理学的改变

视网膜电图 (electroretinography, ERG) 反映视网膜神经元电活动的变化,可能检测糖尿病早期神经元损害,很难特异的对某一神经元的病理变化作出判断。在糖尿病早期可出现暗适应 ERG 的振荡电位 (oscillatory potentials, OPs) 振幅下降,主要与内层视网膜循环障碍有关, OPs 波幅异常可作为预测非增殖性 DR 进展为增殖性 DR 的敏感指标^[13]。与正常同龄人比较,糖尿病患者图形视网膜电图 N95 波的波幅显著下降,出现 DR 患者与未出现视网膜病变患者比较也有显著差异^[13]。糖尿病患者视网膜电图的 b 波潜伏期延长,而且随病程进展有延长趋势^[14]。多焦视网膜电图 (multifocal electroretinography, mfERG) 可检测局部视网膜神经元功能的变化,潜伏期的改变可预测患者发生 DR 风险,对病变早期发现、治疗及随访具有良好的应用价值^[15]。视觉诱发电位反映视网膜受刺激后在枕叶视皮质产生电活动,是研究视神经病变的重要工具,在出现视网膜病变之前,糖尿病患者 VEP 振幅下降和潜伏期延长^[13]。另外,短波长视野计发现视野缺损、对比敏感度下降和色觉异常也提示着视网膜神经元的损伤^[16]。临床上应加强对糖尿病早期视网膜神经元功能的评估,发现隐匿的病变,及早采取措施防治。

3 视网膜神经元损伤机制及治疗

糖尿病视网膜神经元的损害是多因素相互协同、多途径和多阶段的过程,而且其损伤是代谢紊乱导致的原发性损伤还是继发于糖尿病视网膜微血管病变仍存在争议。目前许多药物在动物研究中证实能减少 RGC 凋亡,少数关于有效性和安全性的临床研究也为防治糖尿病视网膜神经细胞病变奠定重要基础。

3.1 高血糖及代谢紊乱 Meta 分析结果发现,密集胰岛素治疗和胰岛素泵治疗的 1 型糖尿病患者较每天多次胰岛素注射的患者, DR 进展速度减慢^[17]。动物研究发现,胰岛素控制血糖可以延缓糖尿病视网膜神经元的凋亡^[3]。但良好的血糖控制并不能保证不发生视网膜病变,胰岛素强化治疗早期可能导致视网膜病变恶化^[18]。

高血糖激活异常代谢途径,如多元醇代谢途径可产生山梨醇,山梨醇在胞内蓄积导致渗透压升高、细胞肿胀破裂,同时胞内葡萄糖水平升高可通过多元醇途径激活氧化应激,加重细胞损伤^[19]。醛糖还原酶是山梨醇通路的关键酶,醛糖还原酶抑制剂可减轻视网膜氧化应激损伤,减少 RGC 凋亡^[20]。

高血糖导致蛋白质非酶糖基化产生大量糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGE), AGE 可与细胞表面的 AGE 受体结合,诱导细胞凋亡^[21]。AGE 抑制剂能减少视网膜神经元凋亡^[22]。

3.2 氧化应激损伤 在糖尿病患者及动物模型中证实高

血糖可激活氧化应激反应,使视网膜氧自由基增加以及抗氧化清除降低导致细胞凋亡^[9, 23]。氧化应激升高后,自由基破坏线粒体脂质膜,能量代谢障碍,胞外的钙离子内流,自由基还可攻击细胞 DNA^[24],进而导致细胞凋亡。体内抗氧化清除系统包括酶类如超氧化物歧化酶和非酶类如维生素 C/E、GSH,能清除自由基,保护 RGC^[9]。

越来越多的实验研究发现,清除自由基或增加视网膜的抗氧化能力可以减少糖尿病 RGC 凋亡,抗氧化应激损伤有很好的应用前景。常见的抗氧化剂维生素 C 和 E 能保护脂质过氧化, II 期临床研究发现口服抗氧化剂对非增殖期糖尿病视网膜病变有保护作用^[25]。其他抗氧化剂如虾青素、白藜芦醇、黄酮类 (如灯盏花素) 等可通过清除氧自由基、增强抗氧化清除,从而对损伤的 RGC 起保护作用^[26-28]。

3.3 神经营养因子缺乏 糖尿病微循环障碍可能使神经纤维轴浆流运送神经生长因子受阻^[29],导致神经元发生退行性病变,补充神经营养因子可能有一定的预防和治疗作用。动物研究发现,补充脑源性神经生长因子 (BDNF)、神经生长因子 (NGF) 可减少 RGC 凋亡^[30-31]。注射促红细胞生成素 (EPO) 能有效减少糖尿病视网膜神经元凋亡^[32]。色素上皮衍生因子 (PEDF) 的缺乏,导致 RGC 凋亡^[33]。眼内注射 PEDF 或者多肽滴眼液对糖尿病动物模型的 RGC 起保护作用^[34-35]。神经生长因子种类多,补充外源性神经营养因子需要进一步临床研究证实其有效性和安全性。

3.4 谷氨酸兴奋毒性 实验研究发现,糖尿病时,视网膜缺血缺氧以及 Müller 细胞功能障碍导致细胞外谷氨酸升高, N-甲基-D 天门冬氨酸 (NMDA) 受体表达增加,钙离子内流进而激活一氧化氮合酶合成大量一氧化氮 (NO),诱导神经元凋亡^[36]。因此,降低谷氨酸水平或抑制 NMDA 受体可能减少视网膜神经元凋亡。美金刚是一种有效、副作用少的 NMDA 受体抑制剂,可以降低 NMDA 诱导的 NO 合成,减少视网膜谷氨酸介导的氧化应激损伤,减轻糖尿病模型的视网膜病变,减少 RGC 丢失^[36]。青光眼的 III 期临床试验并不证实美金刚的神经保护作用,其对糖尿病视网膜神经元的保护作用需要临床研究证明。

3.5 缺血预适应 缺血预适应 (ischemic preconditioning, IPC) 是对一个器官进行缺血预处理,使机体产生对缺血的保护,减少后续严重缺血事件引起的损伤。IPC 是多种作用机制共同作用的过程,对缺血后视网膜神经细胞损伤起保护作用^[37]。视网膜缺血预适应可减轻糖尿病视网膜大鼠 ERG 的 a 波、b 波、OP 振幅降低^[38],减轻视神经轴突损伤、髓鞘丢失和胶质细胞增生^[39];减轻视网膜的氧化应激损伤^[40]。Przyklen 等^[41]通过对一个器官实施短暂缺血而诱导对另一个器官的缺血耐受,称之为远隔器官缺血预适应 (remote ischemic preconditioning, RIPC)。而对缺血缺氧极其敏感的重要器官,如视网膜, RIPC 具有更重要的临床应用价值。肢体缺血适应可使 ERG 的 a 波、b 波振幅升高 14%^[42]。RIPC 对大鼠 RGC 缺血/再灌注损伤起保护作用,可能与抗氧化应激蛋白 Nr1、HO-1 的表达上调有关^[43]。RIPC 在动物实验中证实一定的效果,尚无临床应用的报道,其简单、无创的特点,可能成为糖尿病视网膜神经细胞的保护措施。

综上所述,糖尿病早期出现微血管并发症之前已经 RGC 凋亡,视网膜神经细胞的损伤机制错综复杂,近年来的基础研究结果为其损伤机制及治疗奠定了基础,深入认

识糖尿病 RGC 凋亡机制及发生的时间,寻找其中的关键靶点,是研究的重点和难点之一,这将有助于更好保护糖尿病患者视功能。

参考文献

1 Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, *et al*. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2012;35(3):556-564
2 Bloodworth JM. Diabetic retinopathy. *Diabetes* 1962;11(1):1-22
3 Barber AJ, Lieth E, Khin SA, *et al*. Neuronal apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest* 1998;102(4):783-791
4 Chen X, Nie C, Gong Y, *et al*. Peripapillary retinal nerve fiber layer changes in preclinical diabetic retinopathy: a meta-analysis. *PLoS One* 2015;10(5):e0125919
5 van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PH, *et al*. Decreased retinal ganglion cell layer thickness in patients with type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(7):3660-3665
6 Chhablani J, Sharma A, Goud A, *et al*. Neurodegeneration in Type 2 Diabetes: Evidence From Spectral - Domain Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(11):6333-6338
7 Fletcher EL, Phipps JA, Ward MM, *et al*. Neuronal and glial cell abnormality as predictors of progression of diabetic retinopathy. *Curr Pharm Des* 2007;13(26):2699-2712
8 丁小燕, 欧杰雄, 马红婕. 糖尿病性视神经病变的临床分析. 中国实用眼科杂志 2005;23(12):1269-1274
9 Li X, Zhang M, Zhou H. The morphological features and mitochondrial oxidative stress mechanism of the retinal neurons apoptosis in early diabetic rats. *J Diabetes Res* 2014;2014:678123
10 Yang Y, Mao D, Chen X, *et al*. Decrease in retinal neuronal cells in streptozotocin-induced diabetic mice. *Mol Vis* 2012;18:1411-1420
11 Lai AK, Lo AC. Animal models of diabetic retinopathy: summary and comparison. *J Diabetes Res* 2013;2013:106594
12 Fernandez DC, Pasquini LA, Dorfman D, *et al*. Early distal axonopathy of the visual pathway in experimental diabetes. *Am J Pathol* 2012;180(1):303-313
13 Pescosolido N, Barbato A, Stefanucci A, *et al*. Role of Electrophysiology in the Early Diagnosis and Follow - Up of Diabetic Retinopathy. *J Diabetes Res* 2015;2015:319692
14 Jansson RW, Raeder MB, Krohn J. Photopic full - field electroretinography and optical coherence tomography in type 1 diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2015;253(7):989-997
15 Bearse MA, Ozawa GY. Multifocal electroretinography in diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Curr Diab Rep* 2014;14(9):526
16 Jindal V. Neurodegeneration as a primary change and role of neuroprotection in diabetic retinopathy. *Mol Neurobiol* 2015; 51(3):878-884
17 Virk SA, Donaghue KC, Wong TY, *et al*. Interventions for Diabetic Retinopathy in Type 1 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Ophthalmol* 2015;160(5):1055-1064
18 Zhao C, Wang W, Xu D, *et al*. Insulin and risk of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus: data from a meta-analysis of seven cohort studies. *Diagn Pathol* 2014;9:130
19 Obrosova IG, Kador PF. Aldose reductase / polyol inhibitors for diabetic retinopathy. *Curr Pharm Biotechnol* 2011;12(3):373-385
20 Ding Y, Yuan S, Liu X, *et al*. Protective effects of astragaloside IV on db/db mice with diabetic retinopathy. *PLoS One* 2014; 9(11):e112207
21 Milne R, Brownstein S. Advanced glycation end products and diabetic retinopathy. *Amino Acids* 2013;44(6):1397-1407
22 Li G, Tang J, Du Y, *et al*. Beneficial effects of a novel RAGE inhibitor on early diabetic retinopathy and tactile allodynia. *Mol Vis* 2011;17:3156-3165
23 Negi G, Kumar A, Joshi RP, *et al*. Oxidative stress and Nrf2 in the pathophysiology of diabetic neuropathy: old perspective with a new angle.

Biochem Biophys Res Commun 2011;408(1):1-5
24 Wakabayashi Y, Usui Y, Shibauchi Y, *et al*. Increased levels of 8 - hydroxydeoxyguanosine in the vitreous of patients with diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;89(3):e59-61
25 Rodriguez - Carrizalez AD, Castellanos - Gonzalez JA, Martinez - Romero EC, *et al*. The effect of ubiquinone and combined antioxidant therapy on oxidative stress markers in non - proliferative diabetic retinopathy: A phase IIa, randomized, double - blind, and placebo - controlled study. *Redox Rep* 2015; publish online
26 Dong LY, Jin J, Lu G, *et al*. Astaxanthin attenuates the apoptosis of retinal ganglion cells in db/db mice by inhibition of oxidative stress. *Mar Drugs* 2013;11(3):960-974
27 Kim YH, Kim YS, Kang SS, *et al*. Resveratrol inhibits neuronal apoptosis and elevated Ca²⁺/calmodulin - dependent protein kinase II activity in diabetic mouse retina. *Diabetes* 2010;59(7):1825-1835
28 Ola MS, Ahmed MM, Ahmad R, *et al*. Neuroprotective Effects of Rutin in Streptozotocin - Induced Diabetic Rat Retina. *J Mol Neurosci* 2015;56(2):440-448
29 Whitmire W, Al - Gayyar MM, Abdelsaid M, *et al*. Alteration of growth factors and neuronal death in diabetic retinopathy: what we have learned so far. *Mol Vis* 2011;17:300-308
30 Mantelli F, Lambiase A, Colafrancesco V, *et al*. NGF and VEGF effects on retinal ganglion cell fate: new evidence from an animal model of diabetes. *Eur J Ophthalmol* 2014;24(2):247-253
31 Bikbova G, Oshitari T, Baba T, *et al*. Neurotrophic factors for retinal ganglion cell neuropathy - with a special reference to diabetic neuropathy in the retina. *Curr Diabetes Rev* 2014;10(3):166-176
32 Wang Q, Gorbey S, Pfister F, *et al*. Long - term treatment with suberythropoietic Epo is vaso - and neuroprotective in experimental diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem* 2011;27(6):769-782
33 Unterlauff JD, Claudepierre T, Schmidt M, *et al*. Enhanced survival of retinal ganglion cells is mediated by Muller glial cell - derived PEDF. *Exp Eye Res* 2014;127:206-214
34 Yoshida Y, Yamagishi S, Matsui T, *et al*. Protective role of pigment epithelium - derived factor (PEDF) in early phase of experimental diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Res Rev* 2009;25(7):678-686
35 Liu Y, Leo LF, McGregor C, *et al*. Pigment epithelium - derived factor (PEDF) peptide eye drops reduce inflammation, cell death and vascular leakage in diabetic retinopathy in Ins2(Akita) mice. *Mol Med* 2012;18:1387-1401
36 Kusari J, Zhou S, Padillo E, *et al*. Effect of memantine on neuroretinal function and retinal vascular changes of streptozotocin - induced diabetic rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(11):5152-5159
37 Roth S, Li B, Rosenbaum PS, *et al*. Preconditioning provides complete protection against retinal ischemic injury in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(5):777-785
38 Fernandez DC, Sande PH, Chianelli MS, *et al*. Induction of ischemic tolerance protects the retina from diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 2011;178(5):2264-2274
39 Fernandez DC, Pasquini LA, Dorfman D, *et al*. Ischemic conditioning protects from axonal alterations of the optic pathway induced by experimental diabetes in rats. *PLoS One* 2012;7(12):e51966
40 Salido EM, Dorfman D, Bordone M, *et al*. Ischemic conditioning protects the rat retina in an experimental model of early type 2 diabetes. *Exp Neurol* 2013;240:1-8
41 Przyklen K, Bauer B, Ovize M, *et al*. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993;87(3):893-899
42 Brandli A, Stone J. Remote ischemia influences the responsiveness of the retina: observations in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(4):2088-2096
43 Zhang X, Jizhang Y, Xu X, *et al*. Protective effects of remote ischemic conditioning against ischemia/reperfusion - induced retinal injury in rats. *Vis Neurosci* 2014;31(3):245-252