

引文格式:李铮,梁汇珉,李赵伟,刘学政.神经生长因子在糖尿病大鼠视网膜突触可塑性中的作用[J].

眼科新进展,2017,37(9):816-818,823. doi:10.13389/j.cnki.rao.2017.0206

【实验研究】

# 神经生长因子在糖尿病大鼠视网膜突触可塑性中的作用<sup>△</sup>

李铮 梁汇珉 李赵伟 刘学政

## Roles of nerve growth factor (NGF) in retinal synaptic plasticity in diabetic rats

LI Zheng, LIANG Hui-Min, LI Zhao-Wei, LIU Xue-Zheng

【Key words】 diabetic retinopathy; nerve growth factor; synaptic plasticity; oxidative stress

【Abstract】 Objective To investigate the effects of nerve growth factor (NGF) on retinal synaptic plasticity of diabetic mellitus rat and its underlying mechanisms.

**Methods** A total of 24 clean SD male rats were randomly divided into three groups ( $n=8$ ), and they were control group, diabetic group and treatment group. In the latter two groups, a model of diabetic rats was induced by streptozotocin, and then the rats of treatment group were injected intraperitoneally  $800\text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$  NGF once a day after the model was induced successfully. Both control group and diabetic group were given the same amount of normal saline. Twelve weeks later, MDA content and SOD activity were detected; meanwhile, the expression of retinal synaptophysin was detected by immunofluorescence, and the expressions of retina synaptophysin and Caspase-3 were detected by Western blot. **Results** The difference of MDA content in the three groups was statistically significant ( $F=85.46, P<0.01$ ); and the content of MDA in the diabetic group was significantly higher than that in the control group ( $P<0.01$ ), while its content in the treatment group was significantly lower than that in the diabetic group ( $P<0.01$ ). The difference of SOD activity in the three groups was statistically significant ( $F=17.76, P<0.01$ ); and the SOD activity in the diabetic group was significantly lower than that in the control group ( $P<0.01$ ), while its activity in the treatment group was significantly higher than that in the diabetic group ( $P<0.01$ ). The difference of immunofluorescence intensity of synaptophysin in the three groups was statistically significant ( $F=395.42, P<0.01$ ); immunofluorescence intensity of synaptophysin in the diabetic group was attenuated compared with the control group ( $P<0.01$ ), while the intensity in the treatment group was enhanced compared with the diabetic group ( $P<0.01$ ). The difference of the relative expression of synaptophysin in the three groups was statistically significant ( $F=17.27, P<0.01$ ); and the expression of synaptophysin in the diabetic group was significantly downregulated compared with the control group ( $P<0.01$ ), while its expression in the treatment group was upregulated compared with the diabetic group ( $P<0.01$ ). The difference of relative expression of Caspase 3 protein in the three groups was statistically significant ( $F=217.13, P<0.01$ ); and the expression level of Caspase 3 in the diabetic group was significantly higher than that in the control group ( $P<0.01$ ), while its level in the treatment group was significantly lower than that in the diabetic group ( $P<0.01$ ). **Conclusion** NGF can help to inhibit the apoptosis of retinal cell, restore the number of retina synapse by reducing the oxidative stress in diabetic retina, which suggests that NGF may be involved in the changes of synaptic plasticity in diabetic retina via oxidative stress pathway.

作者简介:李铮,男,1989年4月出生,辽宁朝阳人,在读硕士研究生。研究方向:糖尿病视网膜病变的发病机制及治疗。联系电话:13840688195; E-mail: 503329268@qq.com; ORCID: 0000-0002-4318-9849

**About LI Zheng:** Male, born in April, 1989. Postgraduate student. Tel: 13840688195; E-mail: 503329268@qq.com; ORCID: 0000-0002-4318-9849

收稿日期:2017-04-08  
修回日期:2017-05-23

本文编辑:董建军  
△基金项目:国家自然科学基金资助(编号:81571383)

作者单位:121001 辽宁省锦州市,锦州医科大学基础医学院解剖学教研室

通讯作者:刘学政, E-mail: liuxuezheng168@vip.sina.com; ORCID: 0000-0003-2235-4910

Received date: Apr 8, 2017  
Accepted date: May 23, 2017

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (No: 81571383)

From the Department of Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

**Responsible author:** LIU Xue-Zheng, E-mail: liuxuezheng168@vip.sina.com; ORCID: 0000-0003-2235-4910

groups was statistically significant ( $F=217.13, P<0.01$ ); and the expression level of Caspase 3 in the diabetic group was significantly higher than that in the control group ( $P<0.01$ ), while its level in the treatment group was significantly lower than that in the diabetic group ( $P<0.01$ ). **Conclusion** NGF can help to inhibit the apoptosis of retinal cell, restore the number of retina synapse by reducing the oxidative stress in diabetic retina, which suggests that NGF may be involved in the changes of synaptic plasticity in diabetic retina via oxidative stress pathway.

【中图分类号】 R774.1

【关键词】 糖尿病视网膜病变;神经生长因子;突触可塑性;氧化应激

【摘要】 目的 探讨神经生长因子(nerve growth factors, NGF)在糖尿病大鼠视网膜突触可塑性中的作用。方法 取清洁级雄性SD大鼠24只,随机分为对照组、糖尿病组、治疗组,每组8只。后两组采用链脲佐菌素诱导糖尿病模型,模型诱导成功后,治疗组给予腹腔注射鼠NGF( $800\text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每天1次。对照组、糖尿病组给予等剂量生理盐水。12周后,检测丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性,免疫荧光技术检测视网膜突触素表达,Western blot检测视网膜突触素、Caspase-3的表达。结果 3组间MDA含量比较,总体差异有统计学意义( $F=85.46, P<0.01$ );糖尿病组MDA含量较对照组明显升高( $P<0.01$ ),治疗组较糖尿病组明显降低( $P<0.01$ )。3组间SOD活性比较,总体差异有统计学意义( $F=17.76, P<0.01$ );糖尿病组SOD活性较对照组明显降低( $P<0.01$ ),治疗组较糖尿病组明显升高( $P<0.01$ )。3组间突触素免疫荧光强度比较,总体差异有统计学意义( $F=395.42, P<0.01$ ),糖尿病组较对照组荧光强度明显下降( $P<0.01$ ),治疗组较糖尿病组荧光强度明显升高( $P<$

0.01)。3 组间突触素相对表达量比较,总体差异有统计学意义( $F=17.27, P<0.01$ )。糖尿病组较对照组突触素表达明显减少( $P<0.01$ ),治疗组较糖尿病组明显增多( $P<0.01$ )。Caspase-3 蛋白相对表达量 3 组间比较,总体差异有统计学意义( $F=217.13, P<0.01$ )。糖尿病组 Caspase-3 表达较对照组明显增多( $P<0.01$ ),治疗组较糖尿病组明显减少( $P<0.01$ )。结论 NGF 通过降低糖尿病视网膜氧化应激,抑制了细胞凋亡,恢复了视网膜突触数量。提示 NGF 可能通过氧化应激途径参与了糖尿病视网膜突触可塑性的变化。

糖尿病是一个全球性问题,据估计到 2030 年糖尿病患者人数将增加至 5 亿<sup>[1]</sup>。糖尿病视网膜病变是 20 岁及以上糖尿病患者最常见眼部并发症,其主要表现为微血管病变。近年来研究发现,神经病变亦参与糖尿病视网膜病变,其中突触可塑性与视觉信号传递关系密切<sup>[2]</sup>。神经生长因子在神经病变领域一直备受关注,与视网膜生长、修复、死亡密切相关<sup>[3]</sup>。现已证明神经生长因子可减少视网膜神经元凋亡、促进其生长发育<sup>[4]</sup>。此外,神经生长因子还可调节轴突生长和突触活动,但具体机制不清<sup>[5]</sup>。本研究通过腹腔注射神经生长因子,探讨神经生长因子对糖尿病大鼠视网膜突触可塑性的影响及机制,期望为糖尿病视网膜病变发病机制的研究提供新的证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物分组及模型制备** 取清洁级雄性 SD 大鼠 24 只,体质量 200~240 g(购自锦州医科大学实验动物中心)。随机分成对照组、糖尿病组、治疗组,每组 8 只。后两组大鼠正常饮食 3 d 后,隔夜禁食水,配制  $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  链脲佐菌素溶液,按  $55\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  体质量腹腔给药。给药后 3 d 采尾静脉血检测血糖,将血糖浓度大于  $16.7\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的大鼠定为糖尿病大鼠模型。模型诱导成功后,治疗组给予腹腔注射鼠神经生长因子( $800\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),每天 1 次。对照组、糖尿病组给予等剂量生理盐水。12 周后,进行各项指标检测,实验遵循国家《实验动物管理条例》。

**1.1.2 试剂及仪器** 链脲佐菌素(美国 Sigma 公司),鼠神经生长因子(武汉海特生物制药有限公司),突触素、Caspase-3 抗体、 $\beta$ -actin(英国 Abcam 公司),丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒、荧光二抗及 Western blot 二抗(北京碧云天生物公司),血糖仪(美国强生公司),荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司),冰冻切片机(德国 SLEE 公司),水平电泳仪(美国 BIO-RAD 公司),超声粉碎机(美国 Sonics&Materials 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 视网膜冰冻切片制备** 注射 12 周后,各组取 4 只大鼠,乌拉坦麻醉大鼠,将灌流管自心尖插入主动脉根部并结扎。立即用磷酸盐缓冲液 300 mL 冲洗大鼠血液同时剪开右心耳,待右心耳液体清亮后,换成  $40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  多聚甲醛固定大鼠,先快后慢,大约持续 3 h。待灌注完毕取大鼠眼球置于  $40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

多聚甲醛中。随后放入  $300\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖中过夜。OCT 包埋,冷冻后进行切片,厚度为  $12\text{ }\mu\text{m}$ ,用于免疫荧光化学染色。

**1.2.2 视网膜 MDA 含量及 SOD 活性测定** 制备视网膜匀浆,  $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 25 min,留上清;MDA 含量检测采用硫代巴比妥酸法,SOD 活性检测应用氮蓝四唑光化还原法,均按试剂盒说明书的步骤进行;根据 OD 值计算视网膜的 MDA 含量及 SOD 活性。

### 1.2.3 免疫荧光技术检测大鼠视网膜突触素表达

磷酸盐缓冲液洗 3 次,每次 10 min;加  $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  山羊血清置室温 1 h;滴加兔抗大鼠突触素,稀释比例为 1:600,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  过夜;磷酸盐缓冲液洗 3 次,每次 10 min;滴加荧光二抗山羊抗兔 A594,室温避光 2 h;磷酸盐缓冲液洗 3 次,每次 10 min;抗荧光封片剂封片,倒置显微镜观察,利用荧光强度分析视网膜突触素表达。

### 1.2.4 Western blot 检测大鼠视网膜突触素、Caspase-3 表达

大鼠乌拉坦深度麻醉后,立即取眼球,解剖镜下分离出视网膜;高效蛋白裂解液裂解视网膜,  $15\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$   $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  离心 20 min,留上清;BCA 法测定蛋白浓度,电泳时加入  $15\text{ }\mu\text{L}$  样品;开始电泳,调整电压为 90 V,待电泳条带成一条直线时,调整电压为 120 V;将目的蛋白转移至 PVDF 膜上;取目的条带,加  $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  牛血清白蛋白室温封闭 2 h;加入一抗(兔抗大鼠突触素, 1:10 000;兔抗大鼠 Caspase-3, 1:20 000;小鼠抗大鼠  $\beta$ -actin, 1:5 000),  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜;TBST 洗 3 次,每次 10 min,加入 HRP 标记的二抗室温 2 h,孵育后 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min;ECL 试剂盒显影,Image J 软件分析灰度值。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS 18.0 统计学软件对数据进行单因素方差分析和 LSD 检验,所有数值以均数 $\pm$ 标准差表示, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 MDA 含量及 SOD 活性检测结果** MDA 含量、SOD 活性可间接反映氧化应激程度。3 组间 MDA 含量比较,总体差异有统计学意义( $F=85.46, P<0.01$ ,见表 1);糖尿病组 MDA 含量较对照组明显升高( $P<0.01$ ),治疗组较糖尿病组明显降低( $P<0.01$ )。3 组间 SOD 活性比较,总体差异有统计学意义( $F=17.76, P<0.01$ );糖尿病组 SOD 活性较对照组明显降低( $P<0.01$ ),治疗组较糖尿病组明显升高( $P<0.01$ )。

表 1 各组大鼠 MDA 含量和 SOD 活性 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	MDA 含量/ $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$	SOD 活性/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$
对照组	$4.75 \pm 0.19$	$71.45 \pm 13.04$
糖尿病组	$12.30 \pm 1.68^a$	$45.50 \pm 1.64^a$
治疗组	$7.70 \pm 0.42^b$	$63.59 \pm 2.57^b$

注:同对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;同糖尿病组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

**2.2 免疫荧光技术检测结果** 将对照组突触素免疫荧光强度设定为 100.00%, 荧光强度分析结果显示:3 组间突触素免疫荧光强度比较, 总体差异有统计学意义( $F = 395.42, P < 0.01$ )。糖尿病组较对照组荧光强度明显下降( $P < 0.01$ ), 治疗组较

糖尿病组荧光强度明显升高( $P < 0.01$ , 见表 2, 图 1)。

表 2 各组大鼠视网膜突触素荧光强度、突触素及 Caspase-3 相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	突触素免疫 荧光强度/%	突触素相对 表达量/%	Caspase-3 相对 表达量/%
对照组	100.00	$35.94 \pm 1.04$	$17.93 \pm 1.64$
糖尿病组	$65.32 \pm 1.87^a$	$27.11 \pm 4.34^a$	$37.85 \pm 1.44^a$
治疗组	$84.87 \pm 3.20^b$	$32.07 \pm 0.74^b$	$24.94 \pm 1.92^b$

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与糖尿病组相比,<sup>b</sup> $P < 0.01$

图 1 免疫荧光技术检测突触素在视网膜中的表达(箭头),标尺为 50  $\mu\text{m}$ 。A:对照组;B:糖尿病组;C:治疗组。IPL:内丛状层;OPL:外丛状层

**2.3 Western blot 检测结果** 3 组间突触素相对表达量比较, 总体差异有统计学意义( $F = 17.27, P < 0.01$ )。糖尿病组较对照组突触素表达明显减少( $P < 0.01$ ), 治疗组较糖尿病组明显增多( $P < 0.01$ )。Caspase-3 蛋白相对表达量 3 组间比较, 总体差异有统计学意义( $F = 217.13, P < 0.01$ )。糖尿病组 Caspase-3 表达较对照组明显增多( $P < 0.01$ ), 治疗组较糖尿病组明显减少( $P < 0.01$ , 见表 2, 图 2)。

图 2 Western blot 检测突触素及 Caspase-3 蛋白相对表达量。  
A:对照组;B:糖尿病组;C:治疗组

3 讨论

全球糖尿病的日益流行导致了广泛的残疾,降低了预期寿命并造成健康成本巨增。糖尿病视网膜病变是糖尿病的常见并发症,亦为糖尿病患者失明的主要原因。根据世界卫生组织对 37 万糖尿病失明患者调查数据显示,糖尿病视网膜病变占 4.8%<sup>[6]</sup>。

神经生长因子于 1948 年被发现,可阻止原代培养的神经元凋亡,减少神经退行性疾病动物模型神经元变性<sup>[7]</sup>。最近研究发现,神经生长因子可潜在

治疗视网膜神经病变,其与视网膜生长、修复、死亡密切相关<sup>[3]</sup>。现已证明神经生长因子能减少视网膜神经元凋亡,促进其生长发育<sup>[4]</sup>。氧化应激增强与糖尿病视网膜病变发病机制关系密切。氧化应激时体内自由基异常升高,氧化与抗氧化失衡,此时氧化作用突出,最终诱导组织细胞损伤<sup>[8]</sup>。MDA 是脂质过氧化代谢产物,SOD 是自由基清除剂。MDA 含量升高,SOD 活性下降,提示氧化应激程度增强<sup>[9]</sup>。Caspase-3 为细胞凋亡标志物,凋亡时表达升高。本研究发现,糖尿病状态下,MDA 含量增多,SOD 活性降低,Caspase-3 表达增强。由此我们推断,视网膜细胞凋亡的原因一方面可能为体内高血糖诱导的多种途径对视网膜细胞造成损伤,另一方面可能是氧化应激增强导致的视网膜细胞凋亡。而应用神经生长因子后,治疗组与糖尿病组相比,MDA 含量下降,SOD 活性升高,Caspase-3 表达降低,提示神经生长因子可通过降低糖尿病视网膜病变及视网膜氧化应激使视网膜细胞免受损伤。

突触素是一个完整的膜蛋白突触小泡。突触素在突触小泡形成和胞吐作用中提供多种功能,在神经递质传递中起重要作用。它被广泛应用作为突触功能标记之一,也被认为与神经组织发育过程中突触发生和突触可塑性密切相关<sup>[2]</sup>。突触素开始表达于大鼠出生后 4~12 d,呈点状分布于视网膜内丛状层和外丛状层。突触素表达与突触生长及视觉信号传递关系密切。糖尿病会导致突触早期损伤,突触素数量会急剧下降,但其具体机制有待进一步探讨<sup>[10]</sup>。氧化应激是破坏视网膜的主要因素,氧化应激增强

(下转第 823 页)

xygen-induced retinopathy; a suitable animal model for angiogenesis research[J]. *Doc Ophthalmol*, 1990, 74(3): 163-169.

[6] 忽俊,周晓东,龚红华,刘坤,万谨,余振珏,等. 提前光刺激与形觉剥夺诱导近视模型的形态及超微结构比较[J]. *中华眼科杂志*, 2005, 41(10): 896-899.

HU J, ZHOU XD, GONG HH, LIU K, WANG J, SHE ZY, *et al*. Comparison on morphology and ultrastructure of two kinds of myopic models[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2005, 41(10): 896-899.

[7] 忽俊,周晓东,龚红华,余振珏,肖虹蕾,周国民. 提前视觉刺激及高浓度氧对小鼠屈光状态的影响[J]. *眼视光学杂志*, 2005, 7(4): 242-244.

HU J, ZHOU XD, GONG HH, SHE ZY, XIAO HL, ZHOU GM. The effects of premature visual exposure and hyperoxia on the refraction of mice[J]. *Chin J Optometr Ophthalmol*, 2005, 7(4): 242-244.

[8] XU GZ, LI WW, TSO MO. Apoptosis in human retinal degenerations[J]. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 1996, 94(5): 430.

[9] 赵宏伟,梁静南,罗灵,聂闻,白风华,刘怡. 离焦诱导豚鼠近视眼视网膜超微结构及凋亡研究[J]. *国际眼科杂志*, 2014, 14(11): 1946-1949.

ZHAO HW, LIANG JN, LUO L, NIE C, BAI FH, LIU Y. Retinal apoptosis and ultrastructural features of defocus-induced myopia in guinea pigs[J]. *Int Eye Sci*, 2014, 14(11): 1946-1949.

[10] XIAO H, FAN ZY, TIAN XD, XU YC. Comparison of form-deprived myopia and lens-induced myopia in guinea pigs[J]. *Int J Ophthalmol*, 2014, 7(2): 245-250.

[11] MAZUMDER S, PLESCA D, ALMASANA. Caspase-3 activation is a critical determinant of genotoxic stress-induced apoptosis[J]. *Methods Mol Biol*, 2008, 414(1): 13-21.

[12] 毛俊峰,刘双珍,文丹,谭星平,付春燕. Caspase-3 在形觉剥夺性近视视网膜中的表达意义[J]. *国际眼科杂志*, 2005, 5(1): 66-69.

MAO JF, LIU SZ, WEN D, TAN XP, FU CY. Expression of retinal caspase-3 in form-deprivation myopia[J]. *Int Eye Sci*, 2005, 5(1): 66-69.

[13] 刘双珍,毛俊峰,文丹,谭星平,付春燕. Caspase 3 抑制剂 Ac-DEVD-CHO 对实验性近视眼视网膜细胞凋亡的治疗[J]. *中华眼科杂志*, 2005, 41(5): 428-433.

LIU SZ, MAO JF, WEN D, TAN XP, FU CY. The treatment of retinal apoptosis by caspase-3 inhibitor Ac-DEVD-CHO in experimental myopia[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2005, 41(5): 428-433.



(上接第 818 页)

会导致神经营养因子的表达下调,包括脑源性神经营养因子和神经生长因子<sup>[11]</sup>。此外,神经生长因子还可调节轴突生长和突触活动,但具体机制不清<sup>[5]</sup>。本研究发现糖尿病状态下,视网膜突触素表达明显降低,进而说明突触活动已受抑制,因而突触数量明显降低。应用神经生长因子治疗后,氧化应激程度降低,突触素表达上升。这提示神经生长因子可能通过抑制氧化应激提高了视网膜突触数量。

综上所述,本研究发现神经生长因子可通过降低糖尿病视网膜氧化应激,抑制视网膜细胞凋亡,恢复视网膜突触数量。提示神经生长因子可能通过氧化应激途径参与糖尿病视网膜突触可塑性的变化。这一发现对研究糖尿病视网膜病变的发病机制提供了新的方向。但因糖尿病视网膜病变发病机制复杂,神经生长因子对糖尿病视网膜病变的作用可能涉及众多途径,因此神经生长因子对糖尿病视网膜突触可塑性的影响及机制仍需进一步深入探讨。

参考文献

[1] WHITING DR, GUARIGUATA L, WEIL C, SHAW J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 94(3): 311-321.

[2] ILHA J, CUNHA NB, SOUZA DFD, JAEGER M, NASCIMENTO

PSD, KOLLING J, *et al*. The beneficial effects of treadmill step training on activity-dependent synaptic and cellular plasticity markers after complete spinal cord injury[J]. *Neurochem Res*, 2011, 36(6): 1046-1055.

[3] WANG R, YANG J, PENG L, ZHAO J, MU N, HUANG J, *et al*. Gardenamide A attenuated cell apoptosis induced by serum deprivation insult via the ERK1/2 and PI3K/AKT signaling pathways[J]. *Neuroscience*, 2014, 286: 242-250.

[4] LEBRUNJULIEN F, BERTRAND MJ, DE BO, STELLWAGEN D, MORALES CR, DI PA, *et al*. ProNGF induces TNFalpha-dependent death of retinal ganglion cells through a p75 NTR non-cell-autonomous signaling pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(8): 3817-3822.

[5] CUNHA C, BRAMBILLA R, THOMAS KL. A simple role for BDNF in learning and memory[J]? *Front Mol Neurosci*, 2010, 3(1): 1.

[6] RESNIKOFF S, PASCOLINI D, ETYA' ALE D, KOCUR I, PARARAJASEGARAM R, POKHAREL GP, *et al*. Global data on visual impairment in the year 2002[J]. *Bull World Health Organ*, 2004, 82(11): 844-851.

[7] SOFRONIEW MV, HOWE CL, MOBLEY WC. Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24(24): 1217.

[8] SIMONIAN NA, COYLE JT. Oxidative stress in neurodegenerative diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(6): 83-106.

[9] HOU S, SHEN PP, ZHAO MM, LIU XP, XIE HY, DENG F, *et al*. Mechanism of mitochondrial connexin43's protection of the neurovascular unit under acute cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): E679.

[10] D' CRUZ TS, WEIBLEY BN, KIMBALL SR, BARBER AJ. Post-translational processing of synaptophysin in the rat retina is disrupted by diabetes[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44711.

[11] OZAWA Y, SASAKI M, TAKAHASHI N, KAMOSHITA M, MIYAKE S, TSUBOTA K. Neuroprotective effects of lutein in the retina[J]. *Curr Pharm Design*, 2012, 18(1): 51.