

# 长时间光谱剥夺对豚鼠光感受器细胞超微结构的影响

胡敏 刘永松 钟华 刘睿 江春光 褚仁远 袁援生

## Effects of long-term spectral deprivation on ultrastructure of photoreceptors in guinea pig

Hu Min, Liu Yongsong, Zhong Hua, Liu Rui, Jiang Chunguang, Chu Renyuan, Yuan Yuansheng. Department of Ophthalmology, Second People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650021, China

**Abstract Objective** The aim of present paper was to investigate the changes of ultrastructure of photoreceptors under the long-time illumination of monochromatic light in guinea pig, and explore the plasticity of development of color vision. **Methods** Thirty 3-day-old guinea pigs were randomized into 3 groups and exposed to green light (530 nm), purple light (400 nm), white light for 8 weeks respectively. The changes of ultrastructure of photoreceptors in dorsal and ventral retina were observed under the transmission electron microscope. **Results** Compared with those in autologous ventral retina and dorsal retina in control group, the photoreceptors of dorsal retina in green light irradiation group presented with shorter outer segments, partially vacuolated membrane disc of outer segments and abundant chondriosomes in inner segments and bigger nucleus, and the photoreceptors in purple light irradiation group showed the same features under the transmission electron microscope. **Conclusion** The same changes of ultrastructure of photoreceptors can be seen in dorsal retina predominating green-sensitive cones and ventral retina predominating purple-sensitive cones. These results imply that this may be a kind of adaptive responses to long-term spectral deprivation.

**Key words** color vision; plasticity; photoreceptor; ultrastructure

**摘要 目的** 研究长时间光谱剥夺后豚鼠光感受器超微结构的变化,探讨色觉发育的可塑性。**方法** 将出生3d的30只豚鼠随机分为3组,分别置于与两种视锥细胞吸收光谱波峰值相适应的绿光(530 nm)、紫光(400 nm)及白色混合光下照射8周后,电镜观察各组背侧、腹侧视网膜光感受器的超微结构改变。**结果** 绿光照射组视网膜背侧与腹侧相比,与对照组背侧相比,紫光照射组视网膜腹侧与背侧相比,及与对照组腹侧相比,光感受器细胞体长度无明显变化( $P > 0.05$ );外节长度明显减少( $P < 0.01$ ),膜盘部分空泡化;内节长度增加( $P < 0.01$ ),线粒体变丰富;光感受器细胞核变大( $P < 0.01$ )。**结论** 绿光照射组背侧视网膜和紫光照射组腹侧视网膜光感受器超微结构变化一致,可能是光感受器细胞对光谱剥夺的一种适应性反应,这为色觉发育的可塑性提供了解剖学证据。

**关键词** 色觉; 可塑性; 光感受器; 超微结构

**分类号** R 778.1 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)03-0178-04

色觉作为视觉的重要组成部分在视觉认知方面有重要的作用,相比于形觉,其在辨别精细物体方面有更突出的功能<sup>[1]</sup>。同一物种的不同个体感知外界环境光谱信息的模式是相同的<sup>[2-3]</sup>,但在生存的不同时期,外界环境的光谱组成一直发生着变化,且眼球屈光间质对光谱的吸收也不是一成不变。面对不断变动的光

谱环境,光感受器将出现什么变化目前尚不清楚。本研究将豚鼠置于与两种视锥细胞吸收光谱波峰值相适应的单一色光照射环境中饲养,以观察光谱剥夺对光感受器超微结构的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物及分组

选用出生3~5d,体重为70~90g的健康三色豚鼠(昆明医学院动物中心提供)30只,应用随机数字表法将实验动物分为3组,分别为绿光照射组、紫光照射组、白色混合光照射组,每组各10只。

本课题为国家自然科学基金项目资助(30530770)

作者单位:650021 昆明,云南省第二人民医院眼科(胡敏、江春光);200031 上海,复旦大学附属耳鼻喉科医院眼科(刘睿、褚仁远);650051 昆明市延安医院眼科(刘永松);650032 昆明医学院第一附属医院眼科(袁援生、钟华)

通讯作者:袁援生 (Email: fudanhumintom.com)



### 1.2 动物房设置及动物饲养

各实验组单独建立饲养室,四面墙壁与饲养笼间距离 > 2.5 m,四周挂贴遮光布,房顶安置可调二极管发光系统,波峰值分别为 530 nm,400 nm,带宽 5 nm(上海瑞高祥光电科技有限公司),调整电压、灯管数量及照明距离,使地面水平光子数为 2.2 mmol/m<sup>2</sup>/s(光子量子仪 L1-188B)。安装空调及通风口,使室内温度保持在 22 ℃ 左右。专业饲养员定时饲养,每日 18:00 关灯,次日 6:00 开灯。前 2 周新生豚鼠与母鼠在一起饲养,2 周后分开。

### 1.3 电镜观察

实验干预 8 周后,各组随机取 3 只豚鼠,眼球上方巩膜缝线标记后麻醉下摘除眼球,迅速去除眼前节,浸泡于 3.5% 戊二醛和 1% 锇酸中双固定,按标记分为背侧(距视盘上 2~4 mm,左右 2 mm 以内)、腹侧(距视盘下 2~4 mm,左右 2 mm 以内)两部分,丙酮酸逐级脱水(30%~100%),环氧树脂 618 渗透、包埋,醋酸铀、柠檬酸铅双染色,半薄片切片选块,超薄切片(LKB-V),JEM-1011 透射电镜观察,摄片。每个标本随机选择 10 张切片,Image-Pro Plus v 5.1(专业图像分析软件 Media Cybernetics, USA)分析图片,按其软件标准操作规程中 count/size(自动计算和尺寸测量)功能测量光感受器体长度(光感受器细胞核与视网膜色素上皮细胞核之间距离)、外节长度(视网膜色素上皮细胞核与膜盘至点之间距离)、外节膜盘、内节长度(膜盘至点与光感受器细胞核之间距离,忽略连接部);计算内节线粒体数量和光感受器细胞核的大小。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 11.0 统计学软件对数据进行统计学分析。计量资料所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,同一视网膜腹侧、背侧间的各项数据的比较采用配对 *t* 检验,对照眼与实验眼间各项数据的比较采用单因素方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 光感受器细胞体及内外节长度

绿光照射组视网膜背侧与腹侧相比,及与对照组背侧相比;紫光照射组视网膜腹侧与背侧相比,及与对照组腹侧相比,光感受器细胞体长度无明显变化( $t = 1.445, F = 3.61; t = 1.124, F = 2.22, P > 0.05$ );外节长度明显减少( $t = -6.11, F = 69.40; t = -3.62, F = 58.37, P < 0.01$ );内节长度增加( $t = -3.63, F = 23.46; t = -3.82, F = 28.44, P < 0.01$ )(表 1,图 1~4)。

表 1 各组视网膜背侧、腹侧光感受器细胞体、内节、外节的长度( $\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$ )  
Table 1 The length of cell body, inner or outer segment of photoreceptor in different groups( $\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$ )

Group	Denote cell body		Denote outer segment		Denote inner segment	
	Dorsal	Ventral	Dorsal	Ventral	Dorsal	Ventral
Green light	15.35 ± 0.33	15.22 ± 0.30 <sup>a</sup>	7.54 ± 0.27 <sup>cf</sup>	10.10 ± 0.32	7.25 ± 0.28 <sup>cf</sup>	5.00 ± 0.29
Purple light	15.69 ± 0.35	15.49 ± 0.29	10.00 ± 0.24	5.70 ± 0.24 <sup>if</sup>	5.84 ± 0.26	8.17 ± 0.29 <sup>if</sup>
Control	15.38 ± 0.26	15.41 ± 0.30	9.89 ± 0.27	10.06 ± 0.26	5.53 ± 0.22	5.37 ± 0.21
<i>F</i>	3.61	2.22	69.40	58.37	23.46	28.44
<i>P</i>	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

<sup>a</sup>*P* < 0.01 vs respective ventral value, <sup>c</sup>*P* < 0.01 vs respective control value, <sup>i</sup>*P* < 0.01 vs respective dorsal value (One-way ANOVA, Paired *t* test)

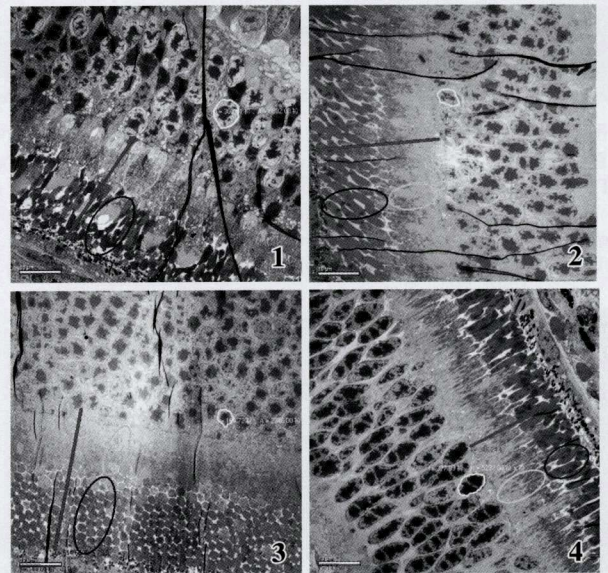


图 1 绿光照射组背侧视网膜电镜图(×2000) 图 2 绿光照射组腹侧视网膜电镜图(×2000) 图 3 紫光照射组背侧视网膜电镜图(×2000) 图 4 紫光照射组腹侧视网膜电镜图(×2000) 红色细线代表刻度尺;红色粗线表示光感受器内外节长度;蓝色椭圆区域为外节膜盘;绿色椭圆区域为内节线粒体;黄色不规则圆形区代表细胞核的大小

Fig.1 Ultrastructure of dorsal retina in green light group under the transmission electron microscope In the photograph, the red thin line represents the scale, and red thick line represents the length of cell body. Blue cycle represents the membrane discs of outer segment, and the green cycle denotes mitochondrions of inner segment; yellow cycle represents the nucleus of photoreceptors (×2000) Fig.2 Photograph of electron microscope of ultrastructure of ventral retina in green group (×2000) Fig.3 Ultrastructure of dorsal retina in purple light group shows the similar feature to green light group(×2000) Fig.4 Ultrastructure of ventral retina in purple light group presents the similar feature to green light group(×2000)

### 2.2 外节膜盘结构

绿光照射组视网膜背侧与腹侧相比,紫光照射组视网膜腹侧与背侧相比,膜盘部分空泡化(图 5~8)。

### 2.3 内节线粒体数量

绿光照射组视网膜背侧与腹侧相比,紫光照射组视



网膜腹侧与背侧相比,线粒体明显变丰富(图9~12)。

### 2.4 光感受器细胞核大小

绿光照射组、紫光照射组、对照组视网膜背侧光感受器细胞核面积分别为(0.88 ± 0.03)、(0.42 ± 0.04)、(0.27 ± 0.05) μm<sup>2</sup>;腹侧光感受器细胞核面积

(0.66 ± 0.06)、(0.35 ± 0.05)、(0.36 ± 0.06) μm<sup>2</sup>;绿光照射组视网膜背侧与腹侧相比,及与对照组背侧相比,紫光照射组视网膜腹侧与背侧相比,及与对照组腹侧相比,光感受器细胞核明显变大( $t = -6.91, F = 72.22; t = -4.12, F = 43.87, P < 0.01$ )(图13~16)。

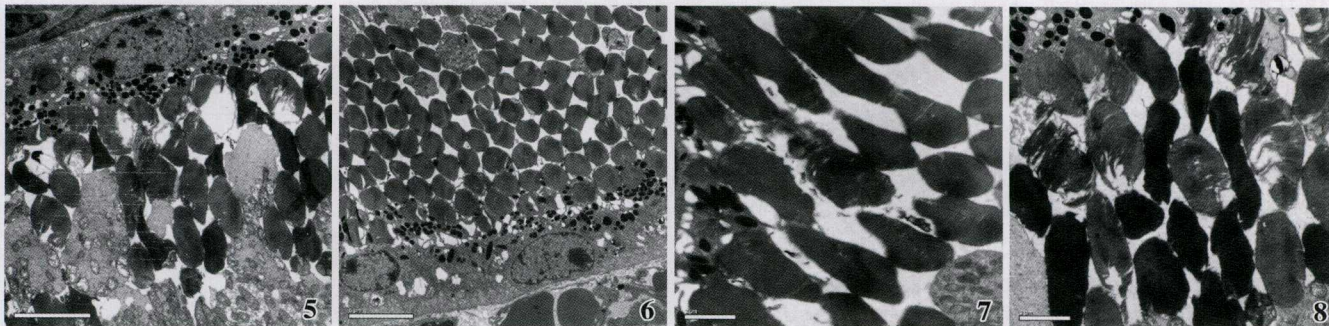


图5 绿光照射组背侧光感受器细胞外节膜盘电镜图(×6000) 图6 绿光照射组腹侧感受器细胞外节膜盘电镜图(×5000)  
图7 紫光照射组背侧光感受器细胞外节膜盘电镜图(×10000) 图8 紫光照射组腹侧感受器细胞外节膜盘电镜图(×10000)

Fig. 5 Photograph of electron microscope of membrane discs of dorsal retina in green group display the vacuolating degeneration (×6000) Fig. 6 No obvious vacuolating degeneration is found in the membrane discs of ventral retina in green light group (×5000) Fig. 7 Photograph of electron microscope exhibits no vacuolating degeneration of membrane discs of dorsal retina in purple light group (×10000) Fig. 8 Photograph of electron microscope shows the vacuolating degeneration of membrane discs of ventral retina in purple light group (×10000)

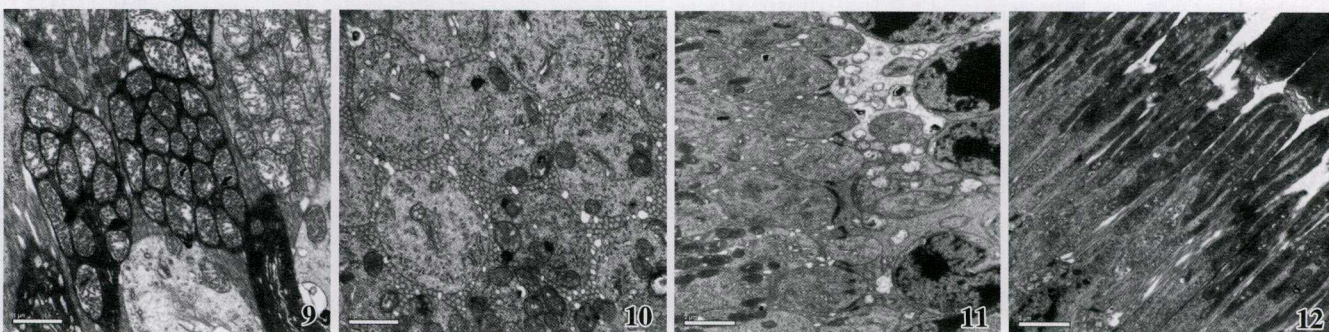


图9 绿光照射组背侧光感受器细胞内节线粒体电镜图(×20000) 图10 绿光照射组腹侧光感受器细胞内节线粒体电镜图(×20000)  
图11 紫光照射组背侧光感受器细胞内节线粒体电镜图(×10000) 图12 紫光照射组腹侧光感受器细胞内节线粒体电镜图(×10000)

Fig. 9 Abundant bomitochondrions are showed in the inner segment in dorsal retina of green light group (×20000) Fig. 10 Less mitochondrions are found in the inner segment in ventral retina compared with dorsal retina of green light group (×20000) Fig. 11 More mitochondrions of inner segment in dorsal retina are exhibited in purple light group (×10000) Fig. 12 The mitochondrions of inner segment are less in ventral retina than dorsal retina in purple light group (×10000)

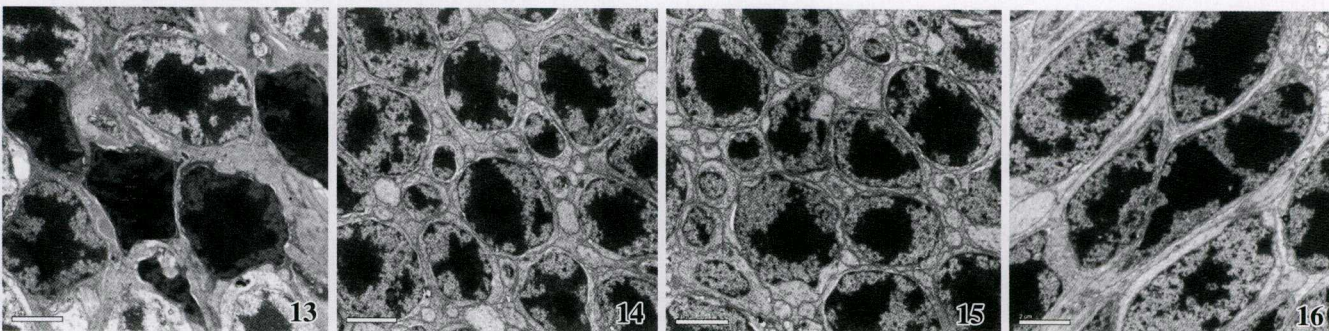


图13 绿光照射组背侧光感受器细胞核电镜图(×10000) 图14 绿光照射组腹侧光感受器细胞核电镜图(×10000) 图15 紫光照射组背侧光感受器细胞核电镜图(×10000) 图16 紫光照射组腹侧光感受器细胞核电镜图(×10000)

Fig. 13 The cell nucleus of photoreceptors are obviously larger in dorsal retina in green light group (×10000) Fig. 14 The nucleus of photoreceptors in ventral retina are smaller than that of dorsal retina in green light group (×10000) Fig. 15 The cell nucleus of photoreceptors in dorsal retina are larger than that of ventral retina in purple light group (×10000) Fig. 16 The cell nucleus of photoreceptors are smaller in ventral retina of purple light group (×10000)



### 3 讨论

豚鼠眼球发育快, 出生时视觉系统发育良好<sup>[4]</sup>, 能分辨不同的物体和线性定位<sup>[5]</sup>。ERG 的表现形式也与人类和灵长类动物相近<sup>[6]</sup>, 是研究人类视觉的一个良好模型。另外, 豚鼠为二色视动物, 视锥细胞按其视蛋白最大吸收光谱峰值不同又分为绿敏视锥细胞(530 nm)、紫敏视锥细胞(400 nm)<sup>[7]</sup>, 两种细胞在视网膜上的分布存在着区域性的阶梯性分布特点<sup>[8]</sup>(图 17)。绿光照射组 530 nm 波长光主要由豚鼠背侧视网膜吸收, 紫光照射组 400 nm 波长光主要由豚鼠腹侧视网膜吸收, 如此长时间单色光照射(光谱剥夺)视网膜背侧、腹侧光感受器超微结构的改变将反映视网膜对光谱剥夺的代偿, 可为色觉发育的可塑性提供解剖基础。

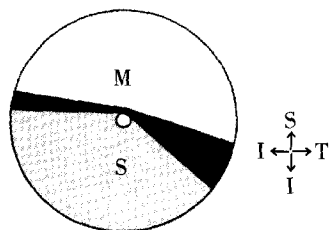


图 17 豚鼠视锥细胞分布模式图<sup>[8]</sup> S:背侧部 I:腹侧部 N:鼻侧 T:颞侧 M:绿敏视锥细胞区 S:紫敏视锥细胞区 黑色条带:中间过渡区,即视色素共表达区

Fig. 17 Sketch map of cone distribution in retina of guinea pig<sup>[8]</sup> S, I, N, T: dorsal, ventral, nasal, temporal side respectively M: L-cone region, S: S-cone region Black strap: coexpression cone region

鸡视网膜主要以视杆细胞为主, 所述的外节膜盘部分损伤其实就是外节膜盘部分空泡化, 是光感受器细胞的一种吞噬、脱落、再生现象<sup>[10-11]</sup>, 表明新陈代谢旺盛。Wagner 等<sup>[12]</sup>用不同单色光照射金鱼后发现蓝光组中长波长敏感视锥细胞的内节长度明显增加, 也与本实验结果相近。本研究认为此现象是光感受器细胞对不同单色光照环境的一种适应性变化, 特别是光感受器细胞外节增长, 这种变化可以明显增加光量子吸收量。豚鼠长波长敏感视锥细胞主要分布于视网膜背侧, 绿光环境下信号处理自然集中于视网膜背侧, 光感受器细胞新陈代谢加强, 随之出现相应变化, 如: 外节膜盘部分空泡化, 内节线粒体变丰富, 光感受器细胞核增大。同理, 紫光照射组腹侧光感受器细胞出现同样适应性变化。这为色觉

发育的可塑性提供了解剖依据。但本实验未能将视锥、视杆细胞在电镜下区分开来, 所有数据来源于两类细胞的综合, 在这种情况下仍然出现明显的统计学差异。分析其原因: (1) 长时间单色光照射下视锥细胞的变化引起了视杆细胞同样的变化; (2) 视杆细胞未受影响, 仅仅视锥细胞造成了这种变化。

Knoblauch 等<sup>[13]</sup>证明, 至少两种色觉通道信号的对比才能获得颜色、饱和度和明暗度方面的色觉信息。但在单色光环境下视觉系统很难得到颜色对比方面的信息, 为获得食物, 动物视觉系统可能会放弃精细视觉, 牺牲色觉, 重点关注大小、形状和远近方面的信息。有实验证明, 鱼和蜜蜂的非色觉信号主要来自于单一视锥细胞, 而不是几种视锥细胞信号的总合<sup>[14]</sup>, 单种视锥细胞新陈代谢的加强可能有利于空间视力, 即非色觉视力<sup>[15]</sup>。

### 参考文献

- 1 Wagner HJ, Kroger RH. Adaptive plasticity during the development of color vision[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2005, 24(4): 521-536
- 2 Neitz J, Carroll J, Yamauchi Y, et al. Color perception is mediated by a plastic neural mechanism that is adjustable in adults[J]. *Neuron*, 2002, 35(4): 783-792
- 3 Neitz M, Neitz J. Molecular genetics of human color vision and color vision defects. The visual neurosciences[M]. Cambridge: The MIT Press, 2004: 974-988
- 4 Jonson KM, Lyle JG, Edwards MJ, et al. Spatial and non-spatial discrimination reversal (SDR) learning in the guinea pig[J]. *Animal Behav*, 1974, 22(1): 118-123
- 5 Sluckin W. Imprinting in guinea-pigs[J]. *Nature*, 1968, 220(5172): 1148
- 6 Rosolen SG, Rigaudiere F, Le Gargasson JF, et al. Comparing the photopic ERG i-wave in different species[J]. *Veterinary Ophthalmol*, 2004, 7(3): 189-192
- 7 Jacobs GH, Deegan JF. Spectral sensitivity, photopigments, and color vision in the guinea pig (*Cavia porcellus*) [J]. *Behav Neurosci*, 1994, 108(5): 993-1004
- 8 Parry JW, Bowmaker JK. Visual pigment coexpression in guinea pig cones: a microspectrophotometric study[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(5): 1662-1665
- 9 Liang H, Crewther DP, Crewther SG, et al. A role for photoreceptor outer segments in the induction of deprivation myopia[J]. *Vision Res*, 1995, 35(9): 1217-1225
- 10 Young RW, Droz B. The renewal of protein in retinal rods and cones[J]. *J Cell Biol*, 1968, 39(1): 169-184
- 11 Young RW. The renewal of photoreceptor cell outer segments[J]. *J Cell Biol*, 1967, 33(1): 61-72
- 12 Wagner HJ, Kröger RH. Effects of long-term spectral deprivation on the morphological organization of the outer retina of the blue acara (*Aequidens pulcher*) [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2000, 355(1401): 1249-1252
- 13 Knoblauch K, Shevell SK. The visual neurosciences[M]. Chalupa: The MIT Press, 2004: 892-907
- 14 Schaerer S, Neumeier C. Motion detection in goldfish investigated with the optomotor response is "color blind" [J]. *Vision Res*, 1996, 36(24): 4025-4034
- 15 Chiao CC, Vorobyev M, Cronin TW, et al. Spectral tuning of dichromats to natural scenes[J]. *Vision Res*, 2000, 40(23): 3257-3271

(收稿: 2008-09-16 修回: 2008-11-22)

(本文编辑: 刘 艳)