

# 单眼形觉剥夺大鼠反缝治疗前后视皮层 nNOS 的表达

张亚娟 苏 鸣 刘 丽 陈 璐

## The expression of nNOS in visual cortex of monocular deprived rats before and after reverse suture treatment

Zhang Yajuan, Su Ming, Liu Li, Chen Lu. Eye Hospital of Handan, Handan 056001, China

**Abstract Objective** It was confirmed that nitric oxide (NO) participates in the plasticity development of retina, lateral geniculate body and anterior colliculi. But the effects of NO on visual cortex development is below clear. This study aimed to observe the expression of nerve nitric oxide synthetase (nNOS) in visual cortex 17 area of rats with monocular deprivation.

**Methods** The eyelids of lateral eyes of 14-day-old male Sprague Dawley (SD) rats were sutured for 14 days to create the myopia models. The rats were randomly divided into monocular deprivation group (12 rats) with sutured left eyelids at postnatal day 14 and biocular alternative suture group (6 rats, at 14-day interval). Twelve normal rats were used as controls. The expression of nNOS in visual cortex 17 area was examined by SABC immunohistochemistry and measuring area and total length of dendrite of positive neuron by Td2000 image analysis system.

**Results** Visual cortex 17 area were divided into 6 layers by Nissl dyeing: molecular layer (I layer), external granular layer (II layer), external pyramidal layer (III layer), internal granular layer (IV layer), internal pyramidal layer (V layer), polymorphous cell layer (VI layer). The positive cell densities for nNOS in II/III, V layers, VI layer of visual cortex 17 area were significantly reduced in 6-week rats of normal group compared with 4-week rats of normal group ( $t_{II/III} = 3.029, P < 0.01$ ;  $t_V = 2.061, P < 0.05$ ;  $t_{VI} = 4.265, P < 0.01$ ). The neuron dendrites length of nNOS positive neurons in visual cortex 17 in 4-week rats of monocular deprived group was decreased obviously than 4-week rats of normal group before reverse suture treatment ( $t = 4.056, P < 0.01$ ). The neuron cross area of visual cortex 17 area in 48-day rats of monocular deprived group was significant decreased than 6-week rats of normal group ( $t = 3.056, P < 0.05$ ).

**Conclusion** The expression of nNOS might have spatial and time specificity. It implies that NO participates in the plasticity development of visual cortex in early and intermediate sensitive period. In later sensitive period, the plasticity development of visual cortex is influenced by NO through other mechanisms.

**Key words** nerve nitric oxide synthetase; monocular deprivation; reverse suture treatment; visual cortex 17 area; visual development

**摘要 目的** 探讨关键期内剥夺性弱视治疗前后视皮层神经元功能状态的改变, 论证 NO 在视觉发育可塑性及剥夺性弱视发病机制中的作用。**方法** 2 周龄健康雄性 SD 大鼠接受左眼睑缝合术造成剥夺性弱视模型, 术后 2 周打开左眼并行对侧眼眼睑缝合遮盖治疗。应用 SABC 免疫组织化学法检测各组大鼠脑组织视皮层 17 区切片 nNOS 阳性神经元在反缝治疗前后的表达; 应用 Td 2000 真彩色细胞图像分析系统进行视皮层 17 区 nNOS 阳性神经元胞体截面积和树突总长度测量。**结果** 反缝治疗前 (术后 2 周) 单纯剥夺组较同龄正常对照组视皮层 17 区 nNOS 免疫阳性细胞密度 (IV 层除外) 明显降低 ( $P < 0.05$ ); 胞体截面积和树突总长度明显减少 ( $P < 0.01$ )。治疗后 (术后 4 周) 除剥夺组视皮层 17 区胞体截面积较同龄正常对照组减少外 ( $P < 0.05$ ), 其余各层 nNOS 阳性神经元密度、胞体截面积和树突总长度比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。**结论** nNOS 在大鼠视觉中枢的表达具有时空特异性, 说明 NO 在敏感期的早期及中期参与视皮层的可塑性变化, 在敏感期后期, NO 可能通过其他机制影响视皮层的可塑性发育。

**关键词** 神经型一氧化氮合酶; 单眼剥夺; 反缝治疗; 视皮层 17 区; 视觉发育

**分类号** R 778 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)03-0206-05

近年来,无机小分子气体 NO 作为视觉发育的可塑性因子成为研究热点。大量研究证实 NO 与视网膜、外侧膝状体、上丘脑等部位的可塑性发育相关<sup>[1-2]</sup>,对于 NO 是否在视皮层水平参与神经元可塑性发育,国内外有不同的研究结论。一氧化氮合酶(NOS)是催化产生内源性 NO 的唯一酶类,有 3 种不同亚型,与神经系统密切相关的为 NOS I 型(神经型, nNOS),以往国内外对 NO 与视觉发育关系的研究大多应用 NADPH-diaphorase 组织化学法显示 NOS 阳性神经元,但只能间接显示 NOS 的分布,无法明确显示 NOS 各亚型的表达。本研究通过对敏感期内单眼形觉剥夺大鼠视皮层 17 区反缝治疗前后 nNOS 在形态学及免疫组织化学的表达变化,探讨剥夺性弱视治疗前后视皮层神经元功能状态的改变,论证 NO 在视觉发育可塑性及剥夺性弱视发病机制中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物模型的建立与分组

2 周龄健康雄性 SD 大鼠 30 只,均于昼夜交替环境下(每日光照不少于 12 h)常规饲料喂养。采用随机数字表法平均分为 5 个组,每组 6 只,分别为单纯剥夺(I)组、单纯剥夺(II)组、反缝治疗组、正常对照(I)组、正常对照(II)组。单纯剥夺组及反缝治疗组均接受左眼睑缝合手术造成剥夺性弱视模型。反缝治疗组术后 2 周打开左眼并行对侧眼眼睑缝合进行遮盖治疗。正常对照组未进行任何处理。5 个组大鼠分别于 4、6、6、4、6 周龄时处死。

### 1.2 标本获取与制备

**1.2.1 灌注动物与取材** 经 25% 乌拉坦深度麻醉后,4% 多聚甲醛经左心室升主动脉插管快速灌注。开颅取脑,后固定,置于 4℃ 冰箱至材料沉淀。选取视交叉至乳头体段组织,在左侧大脑皮层下方及脑干下方用锋利的剃须刀片切矢状线,区分左右两侧视皮层 17 区。

**1.2.2 切片** 对照 Paxion 大鼠脑读片提要及图谱,连续冠状冰冻切片贯穿整个视皮层 17 区,厚度 40 μm。将视皮层 17 区每个标本每隔 3 张切片取 1 张行 Nissl 染色。

### 1.3 nNOS 免疫组织化学染色

SABC 免疫组织化学试剂盒、DAB(北京中山生物技术有限公司);nNOS 抗体(美国 Santa Cruz 公司)。SABC 免疫组织化学染色步骤:滴加 0.4 mol/L triton-PBS 液配成的稀释比例 1:500 的多克隆兔抗鼠 nNOS 一抗和正常山羊血清的混合液,4℃ 冰箱放置 48 h 后,

加入 1:200 的 0.4 mol/L triton-PBS 液-羊抗兔生物素抗体和正常山羊血清的混合液,4℃ 冰箱放置过夜。将 1:200 的 0.4 mol/L triton-PBS 液-SABC 复合物加至切片,20~37℃ 放置 2 h 后,放入含有 0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 0.05% DAB 的 PBS(pH 7.4)内显色,反应后的切片经 0.01 mol/L PBS 液充分漂洗后,裱片,自然干燥,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,封片。

### 1.4 切片观察与数据处理

参照 Paxion 鼠脑立体定位图谱进行视皮层定位和分区,视皮层按照 Reid 等<sup>[3]</sup>的标准对照邻近切片的 Nissl 染色结果进行皮层的定位,取距离中线 2.25~2.50 mm 相当于皮层中央区域(V1 区)进行神经元计数,V1 区内 2/3 为单眼反应区(Oc1M 区),其外 1/3 为双眼反应区(Oc1B 区)。本研究选择 Oc1M 区进行细胞计数。将每组内每只大鼠右侧 17 区视皮层连续切片各 5~6 张,应用 Olympus 光学显微镜及 IPP 图像采集系统测定 nNOS 阳性神经元的数目。免疫阳性细胞数/切片核团面积=细胞密度。采用 Td 2000 真彩色细胞图像分析系统在 400 倍光镜下,通过 Camera Lucida 精确绘出每组 Oc1M 区不同类型 nNOS 阳性神经元 200 个,测定其胞体截面积及树突总长度。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 12.0 统计软件对数据进行统计学处理。计量资料数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,对两个组间测试指标的比较采用独立样本的 *t* 检验,3 个组测试指标的总检验在方差齐性检验(Levene 法)方差齐的前提下采用单因素方差分析进行比较,组间比较采用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 视皮层 17 区 Nissl 染色结果

视皮层神经元尼氏小体清晰显示,呈深蓝色,细胞核淡蓝色。Nissl 染色下视皮层分为 6 层:分子层(I 层)、外颗粒层(II 层)、外锥体细胞层(III 层)、内颗粒层(IV 层)、内锥体细胞层(V 层)、多形细胞层(VI 层),作为视皮层 17 区 nNOS 免疫组织化学染色结果分析的分层参考(图 1)。

### 2.2 NOS 免疫组织化学染色结果

**2.2.1 正常对照组不同鼠龄视皮层 17 区 nNOS 阳性细胞形态和密度变化** 正常发育大鼠视皮层 17 区 nNOS 阳性神经元胞体及树突分支着色,未见胞核着色,神经元树突分支清晰。大多属于非锥体的双极或多极细胞,亦可见少量的锥体细胞。nNOS 阳性神经元在视皮层各层均有分布,但在 II/III 及 V、VI 层最多,



IV层最少。正常对照(Ⅰ)组与正常对照(Ⅱ)组神经元细胞形态特征和分布模式不变,但正常对照(Ⅱ)组较正常对照(Ⅰ)组各层nNOS阳性细胞密度(IV层除外)明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );胞体截面积和树突总长度明显减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1,图2,3)。

### 2.2.2 单纯剥夺(Ⅰ)组视皮层17区nNOS阳性细胞形态及密度变化

单纯剥夺(Ⅰ)组视皮层17区nNOS阳性细胞形态和分布与同龄正常对照(Ⅰ)组相似,各层(IV层除外)nNOS阳性神经元密度均明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。单纯剥夺(Ⅰ)组视皮层17区胞体截面积较正常对照(Ⅰ)组明显减小( $P < 0.01$ );树突总长度也较正常对照(Ⅰ)组减少( $P < 0.05$ )(表2,图4)。

2.2.3 反缝治疗组视皮层17区nNOS阳性细胞形态及密度变化 反缝治疗组与正常对照(Ⅱ)组和单纯剥夺(Ⅱ)组阳性细胞形态和分布基本相似。除单纯剥夺(Ⅱ)组视皮层17区胞体截面积较正常对照(Ⅱ)组减少外,其余组视皮层17区各层nNOS阳性神经元密度、胞体截面积和树突总长度比较均无统计学意义(表3,图5,6)。

表1 视皮层17区nNOS阳性神经元在正常组不同鼠龄的表达( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The expression of nNOS positive neurons in visual cortex in normal group ( $\bar{x} \pm s$ )

Normal group	Positive cell density(/mm <sup>2</sup> )					Neuron cross area (μm <sup>2</sup> )	Dendrite length (μm)
	Ⅱ/Ⅲ layer	Ⅳ layer	V layer	Ⅵ layer	Total		
4-week rats	2.80 ± 1.16	1.17 ± 0.87	2.60 ± 1.25	4.07 ± 1.20	10.63 ± 2.17	253.91 ± 34.29	525.10 ± 105.92
6-week rats	1.83 ± 1.18	1.03 ± 0.81	1.93 ± 1.26	2.50 ± 1.61	7.30 ± 2.80	189.67 ± 35.00	360.69 ± 93.10
<i>t</i>	3.209	0.613	2.061	4.265	5.159	5.236	4.636
<i>P</i>	0.002	0.542	0.044	0.000	0.000	0.000	0.000

(Student's *t* test)

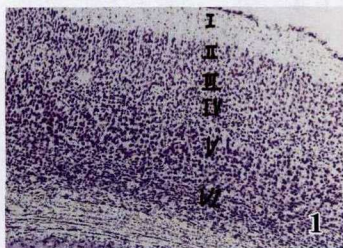


图1 尼氏染色下视皮层17区分层(×100) 图2 正常对照(Ⅰ)组视皮层阳性神经元表达(×100) 图3 正常对照(Ⅱ)组视皮层阳性神经元表达(×100)

Fig. 1 The laminating of visual cortex 17 area by Nissl dyeing (×100) Fig. 2 The nNOS positive neurons of visual cortex 17 area in 4-week rats of normal group (×100) Fig. 3 The nNOS positive neurons of visual cortex 17 area in 6-week rats of normal group (×100)

表2 视皮层17区nNOS阳性神经元在剥夺组和正常组的表达( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Expression of nNOS positive neurons in visual cortex between deprived and normal rats ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Positive cell density(/mm <sup>2</sup> )					Neuron cross area (μm <sup>2</sup> )	Dendrite length (μm)
	Ⅱ/Ⅲ layer	Ⅳ layer	V layer	Ⅵ layer	Total		
Normal(4-week rats)	2.80 ± 1.16	1.17 ± 0.87	2.60 ± 1.25	4.07 ± 1.20	10.63 ± 2.17	253.91 ± 34.29	525.10 ± 105.92
MD(6-week rats)	1.47 ± 1.14	1.07 ± 0.58	1.23 ± 1.07	2.63 ± 0.96	6.40 ± 1.92	201.84 ± 37.00	423.86 ± 105.85
<i>t</i>	4.503	0.521	4.548	5.096	7.991	4.056	2.660
<i>P</i>	0.000	0.604	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013

MD: monocular deprived group (Student's *t* test)



图4 单纯剥夺(Ⅰ)组视皮层阳性神经元表达(×100) 图5 单纯剥夺(Ⅱ)组视皮层阳性神经元表达(×100) 图6 反缝治疗组视皮层阳性神经元表达(×100)

Fig. 4 The nNOS positive neurons of visual cortex 17 area in the monocular deprived group (×100) Fig. 5 The nNOS positive neurons of visual cortex 17 area in 6-week rats of monocular deprived group (×100) Fig. 6 The nNOS positive neurons in visual cortex 17 area in biocular alternative suture group (×100)

表3 视皮层17区nNOS阳性神经元在反缝治疗后的表达( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Expression of nNOS positive neurons in visual cortex after reverse suture ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Positive cell density(/mm <sup>2</sup> )					Neuron cross area (μm <sup>2</sup> )	Dendrite length (μm)
	Ⅱ/Ⅲ layer	Ⅳ layer	V layer	Ⅵ layer	Total		
Normal(4-week rats)	1.83 ± 1.18	1.03 ± 0.81	1.93 ± 1.26	2.50 ± 1.61	7.30 ± 2.80	189.67 ± 35.00	360.69 ± 93.10
MD (6-week rats)	1.37 ± 1.25	0.80 ± 0.61	1.30 ± 1.26	2.63 ± 1.33	6.10 ± 1.95	148.11 ± 45.81 <sup>b</sup>	328.71 ± 105.47
Treated	1.73 ± 1.39	0.93 ± 0.64	1.73 ± 1.31	2.53 ± 1.50	6.93 ± 2.52	157.48 ± 46.10	344.86 ± 98.12
<i>F</i>	1.117	0.859	1.926	0.065	1.895	4.620	0.478
<i>P</i>	0.332	0.427	0.152	0.937	0.156	0.014	0.622

<sup>b</sup>  $P < 0.05$  vs respective normal (4-week rats) group (One-way ANOVA, LSD-*t* test)

MD: monocular deprived group



### 3 讨论

#### 3.1 大鼠视觉中枢的解剖生理及动物模型的建立

鼠类视觉系统 90% 的视神经纤维交叉到对侧视束后到达外侧膝状体,进而传至对侧视皮层。大鼠的视皮层共 3 个区,初级视皮层 17 区是研究重点。经电生理研究,17 区分为内侧的单眼反应区(Oc1M)和外侧的双眼反应区(Oc1B)。单眼反应区接受对侧眼传入的视觉信息并对周边视野的刺激起反应;双眼反应区接受来自双侧眼的视觉输入并对视野中心部位的刺激起反应。

单眼形觉剥夺是视觉发育和可塑性研究的经典动物模型。研究证实,生后视觉发育存在“敏感期”,一般认为大鼠的敏感期在生后 2 周自然睁眼开始至生后 6 周<sup>[4]</sup>。在敏感期内对动物进行单侧眼睑缝合阻断该侧眼的视觉信息输入,剥夺对侧视中枢会产生剥夺效应,并且在剥夺超过 1 周后,单纯把剥夺眼打开,几乎观察不到生理功能的恢复,但如果在打开剥夺眼的同时把另一眼封闭进行反缝治疗,迫使动物使用剥夺眼,功能会有所恢复,但这些必须在敏感期内进行,并且越早越好<sup>[5]</sup>。因此,本研究对 2~4 周龄大鼠进行单眼缝合,建立单眼形觉剥夺动物模型;4~6 周打开剥夺眼,同时缝合对侧眼进行反缝治疗。根据大鼠视中枢的解剖特点,将可代表剥夺眼视中枢发生的剥夺效应和治疗效果的剥夺眼对侧视皮层 17 区 Oc1M 区作为观察对象。

#### 3.2 NO 在视皮层发育可塑性中的作用及其机制

本研究中各年龄段正常大鼠 nNOS 神经元胞体多为非锥体状的双极细胞、多极细胞,也有少量锥体状神经元。在视皮层 17 区各层均有分布,以 II/III 层及 V、VI 较多,IV 层稀少,造成这种分布的原因尚不十分清楚。有研究发现大鼠视皮层 II/III 层与 IV 层的可塑性关键期不一致,II/III 层的可塑性关键期要长于 IV 层<sup>[6]</sup>。有学者则认为 NO 可能同时调节着这些部位的血供,从而影响局部视皮层的发育成熟<sup>[7]</sup>。与敏感中期(4 周龄)正常大鼠相比,敏感期末(6 周龄)正常大鼠视皮层各层神经元密度(IV 层除外)、胞体截面积及树突总长度均明显减少,说明 NO 在视皮层的表达高峰时间是短暂的,可能仅在早期对视皮层的发育成熟起作用。这与蒋斌等<sup>[8]</sup>研究结果相似,即视皮层 17 区中的 NOS 阳性神经元在生后 1 周开始出现,生后 2~4 周视皮层中的 nNOS 阳性神经元的表达处于较高水平,说明视皮层内 NOS 的表达具有时空特异性。

长时程增强效应(long-term potentiation,LTP)是突

触的可塑性形式,被认为是学习记忆的主要机制(Hebbian 机制)。研究表明,生后发育敏感期内在视皮层功能构筑和外侧膝状体-皮层连接模式的发育中遵循 Hebbian 机制。动物在学习记忆过程中,不同脑区的 NO 水平及 NOS 活力会有所升高。NO 作为逆行化学信使,参与诱导并完成 LTP<sup>[9-11]</sup>。国内学者用膜片钳全细胞记录法研究了大鼠视觉发育关键期内视皮层 LTP 与大鼠生理年龄及视觉经验的关系,发现大鼠生后 2~4 周时视皮层 LTP 的诱发率上升明显<sup>[12]</sup>,这与 NOS 在视皮层表达高峰时间正好吻合。由此推测,在视觉发育期 NO 同样参与视觉系统 LTP 的形成和维持。其作用机制目前比较公认的是 NMDA 受体相关的 NO/cGMP 途径。即突触前神经元释放 Glu,作用于突触后神经元的 NMDA 受体,使其激活后导致  $\text{Ca}^{2+}$  内流,作用于 NOS,使其催化 L-Arg 和氧生成 NO,NO 作为逆行性化学信使弥散至突触前神经元,兴奋鸟苷酸环化酶,产生 cGMP,再依次使特异性调节蛋白磷酸化,打开  $\text{Ca}^{2+}$  通道使其大量流入突触前膜,促使含 Glu 的突触小泡向前膜移动,并释放至突触间隙。这样突触前的 Glu 与突触后的 NO 形成相互兴奋的突触回路,以维持 LTP。

此外,NO 还可能通过多种非 cGMP 途径影响基因转录。研究证实,在外侧膝状体 NOS 与 GABA 共存,有学者发现大鼠视皮层 NOS 阳性细胞也具有 GABA 活性,并认为 NOS 阳性细胞为 GABA 神经元的一个亚群<sup>[13-15]</sup>。说明视皮层中 NOS 阳性神经元可能是中间神经元中的局部回路神经元,而局部回路神经元的活动与学习和记忆等高级神经功能密切相关<sup>[16]</sup>,从而推测 NOS 与 GABA 一起参与中间神经元对视信息的整合及向中枢的传递。本研究视皮层 nNOS 神经元的胞体形态大多类似于局部回路神经元,只有少量投射神经元,推测 NO 可能在投射神经元与 GABA 能神经元之间发挥着重要的逆行信使作用,作为一种调制因子调节兴奋性神经递质的释放,防止兴奋性递质的过度刺激的损害,从而参与剥夺性弱视的发病机制。还有一些研究表明,NOS 除了和 GABA 共存外,还可与生长抑素、神经肽 Y、多巴胺、乙酰胆碱、5-羟色胺等多种物质广泛共存,共同调节兴奋性或抑制性神经递质的代谢,这种与经典神经递质的共存机制也是 NOS/NO 参与学习记忆过程和视中枢发育可塑性的机制之一<sup>[13,17-18]</sup>。

**3.3 单眼剥夺与反缝治疗对视皮层 17 区 NOS 的影响**

刘燕等<sup>[19]</sup>的研究表明剥夺眼对侧视皮层 NOS 阳

性神经元的数目明显减少,说明单眼剥夺对 NO 在皮层的表达产生影响。覃烈等<sup>[20]</sup>用组织化学方法分别在不同时间测定了正常和剥夺性弱视大鼠视皮层 17 区 NOS 阳性神经元表达,发现 NOS 表达的最高峰在生后 2 周,且单眼剥夺并未影响 NOS 在视皮层 17 区的表达,从而提出不同的观点:NO 在正常大鼠和剥夺性弱视大鼠视皮层的短暂高水平表达说明 NO 在视皮层早期发育和成熟中起一定作用,但 NO 与视皮层的可塑性发育无关,可能因为 NOS 表达高峰出现在视皮层的经验依赖的关键期之前。

本研究发现视皮层 17 区 nNOS 阳性神经元密度(IV 层除外)于敏感期中期(28 日龄)在单眼剥夺组表达明显减少、胞体截面积较正常组减小,树突分支也明显减少,但在敏感期后期和反缝治疗前后与同期正常组相比无明显改变。这与覃烈等<sup>[20]</sup>的结果有所不同,其原因可能为:(1) NOS 在视皮层的表达高峰时间在生后 2~4 周,这时的单眼剥夺效应较为明显。(2) 反缝治疗错过了 NOS 表达的高峰时间,6 周龄处死时正常组大鼠视皮层 nNOS 的表达较 4 周龄时已明显减少,以至于 3 个组之间的差别无法显示。(3) 本研究采用 nNOS 免疫组织化学方法,比组织化学方法能更精确地显示出 3 种 NOS 中 nNOS 亚型的表达,方法学的不同也可能造成结果的差异。因此我们推测,在敏感早期和中期 NO 参与了视皮层 17 区的可塑性变化,单眼剥夺后,相应输入侧(右侧)视皮层神经元接受的投射减少,导致皮层 NOS 投射神经元发育障碍,使正常突触联系的建立受阻,进一步使视冲动的传递受到抑制;并且皮层局部神经元回路亦受阻,最终导致视皮层功能降低,视功能减弱形成弱视。在敏感后期,皮层的 NOS 表达高峰已过,NOS 的投射神经元和局部回路神经元均明显减少,故单眼剥夺和反缝治疗均未对 NOS 的表达产生影响。本研究同一组动物的另一研究结果表明,反缝治疗对 nNOS 在背外侧膝状体(dLGN)的免疫组织化学表达产生影响<sup>[21]</sup>,说明 nNOS 在大鼠视觉中枢的表达具有时空特异性,在 dLGN 表达高峰时间较视皮层长。在敏感期后期,NO 可能并不直接调节视皮层的发育,而是影响外膝体的发育分化,进而通过其他机制影响视皮层的可塑性发育。

## 参考文献

- 1 Torrao AS, Britto LR. Increased expression of nitric oxide synthase in visual structures of the chick brain after retinal removal[J]. J Neurosci Res, 2004, 78(1): 123-131
- 2 Tenório F, Giraldo-Guimarães A, Mendez-Otero R. Removal of the cortical projections alters expression of NOS in the different cell types of the superficial layers of the superior colliculus in rats [J]. An Acad Bras Cienc, 2002, 74(4): 677-681
- 3 Reid SN, Juraska JM. The cytoarchitectonic boundaries of the monocular and binocular areas of the rat primary visual cortex[J]. Brain Res, 1991, 563: 293-296
- 4 Montero VM. Amblyopia decreases activation of the corticogeniculate pathway and visual thalamic reticularis in attentive rats' focal attention hypothesis[J]. Neuroscience, 1999, 91: 805-817
- 5 Guire ES, Lickey ME, Gordon B. Critical period for the monocular deprivation effect in rat; assessment with sweep visual evoked potentials [J]. J Neurophysiol, 1999, 81: 121-128
- 6 Fox K. A critical period for experience-dependent synaptic plasticity in rat barrel cortex[J]. J Neuroscience, 1992, 12: 1826-1838
- 7 Yan XX, Garey LJ, Jen LS. Development of NADPH-diaphorase activity in the rat neocortex[J]. J Dev Brain Res, 1994, 79: 29-38
- 8 蒋斌, 沙泉, 周逸峰, 等. 大鼠视中枢生后发育过程中的 NOS 阳性神经元的形态分布变化[J]. 神经解剖学杂志, 1998, 14: 209-214
- 9 Bartsch AP, van Hemmen JL. Combined Hebbian development of geniculocortical and lateral connectivity in a model of primary visual cortex[J]. Biol Cybern, 2001, 84: 41-55
- 10 Yamada K, Noda Y, Nakayama S, et al. Role of nitric oxide in learning and memory and in monoamine metabolism in the rat brain[J]. Br J Pharmacol, 1995, 115: 852-858
- 11 González-Forero D, Portillo F, Gómez L, et al. Inhibition of resting potassium conductances by long-term activation of the NO/cGMP/protein kinase G pathway: a new mechanism regulating neuronal excitability [J]. J Neurosci, 2007, 27(23): 6302-6312
- 12 高朋芬, 阴正勤, 刘应兵, 等. 大鼠视觉发育可塑性关键期视皮层 LTP 的研究[J]. 中国神经科学杂志, 2002, 18: 699-703
- 13 Gabbot PLA, Bacon SJ. Two types of interneuron in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat: a combined NADPH-diaphorase histochemical and GABA immunocytochemical study[J]. J Comp Neurol, 1994, 350: 281-301
- 14 Shih CD, Chuang YC. Nitric oxide and GABA mediate bi-directional cardiovascular effects of orexin in the nucleus tractus solitarii of rats [J]. Neuroscience, 2007, 149(3): 625-635
- 15 Jiménez-Velázquez G, López-Muñoz FJ, Fernández-Guasti A. Participation of the GABA/benzodiazepine receptor and the NO-cyclicGMP pathway in the "antinociceptive-like effects" of diazepam [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2008, 91(1): 128-133
- 16 Salemme E, Diano S, Maharajan P, et al. Nitric oxide, a neuron messenger. Its role in the hippocampus neuronal plasticity[J]. Riv Biol, 1996, 89: 87-107
- 17 Finney EM, Stone JR, Shatz CJ. Major glutamatergic projection from subplate into visual cortex during development[J]. J Comp Neurol, 1998, 398: 105-118
- 18 Medina M, Reperant J, Miceli D, et al. An immunohistochemical study of putative neuromodulators and transmitters in the centrifugal visual system of the quail (Coturnix japonica) [J]. J Chem Neuroanat, 1998, 15: 75-95
- 19 刘燕, 张东果. 剥夺性大鼠视中枢一氧化氮合酶阳性神经元分布与数量变化[J]. 第四军医大学学报, 1997, 18: 357-360
- 20 覃烈, 陶永贤. 正常和剥夺性弱视大鼠视皮层 NOS 阳性神经元的生后变化[J]. 重庆医科大学学报, 2003, 28: 341-345
- 21 张亚娟, 苏鸣, 刘丽, 等. 单眼剥夺大鼠反缝治疗前后背外侧膝状体 nNOS 的免疫组织化学研究[J]. 中国斜视与小儿眼科杂志, 2007, 15(4): 145-148

(收稿: 2008-06-17 修回: 2008-12-26)

(本文编辑: 刘艳)