

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.18.007

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200722.1727.026.html\(2020-07-24\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200722.1727.026.html(2020-07-24))

白藜芦醇对高糖所致视网膜色素上皮细胞损伤的干预作用*

李青春^{1,2}, 李岱^{1,2}, 周跃², 周燕红^{1,2△}

(1. 咸宁爱尔眼科医院眼科, 湖北咸宁 437000; 2. 湖北科技学院五官医学院, 湖北咸宁 437100)

[摘要] **目的** 探讨白藜芦醇(Res)对高糖所致视网膜色素上皮细胞损伤的保护作用。**方法** 先将鉴定后的 ARPE-19 细胞株分为正常对照组、高糖组和高渗组培养 24、48、72 h, CCK-8 法检测各时间点细胞活力确定最佳作用时间; 再依据上述结果将 ARPE-19 细胞株分为不同浓度 Res 治疗组及正常对照组培养 48 h, CCK-8 法检测各组细胞活力确定 Res 最佳作用浓度。随后将 ARPE-19 细胞株分为正常对照组、HG 组(高糖)、HG+Res 组(高糖+Res)培养 48 h, 倒置显微镜观察各组细胞生长情况和形态变化; 采用化学比色法检测丙二醛(MDA)水平和超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH-Px)活性, ELISA 法检测各组血管内皮生长因子(VEGF)、色素上皮衍生因子(PEDF)水平, RT-PCR 检测各组肿瘤坏死因子- α (TNF- α) mRNA、白细胞介素-1 β (IL-1 β) mRNA、IL-6 mRNA 的水平。**结果** 与 HG 组比较, HG+Res 组形态学异常改变明显缓解。与 HG 组比较, HG+Res 组 SOD、GSH-Px 活性降低, MDA 活性增加($P < 0.05$); 与 HG 组比较, HG+Res 组 VEGF 水平降低, PEDF 水平升高($P < 0.05$)。与正常对照组比较, HG 组 TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA、IL-6 mRNA 水平升高($P < 0.05$); 与 HG 组比较, HG+Res 组 TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA、IL-6 mRNA 水平降低($P < 0.05$)。**结论** Res 可能通过抗氧化、抑制增殖、抗炎等途径延缓高糖环境 PRE 细胞的损伤。

[关键词] 白藜芦醇; 视网膜色素上皮; 氧化性应激; 炎症**[中图分类号]** R774**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)18-3002-06

Intervention of resveratrol on the damage of retinal pigment epithelial cells induced by high glucose*

LI Qingchun^{1,2}, LI Dai^{1,2}, ZHOU Yue¹, ZHOU Yanhong^{1,2△}

(1. Department of Ophthalmology, Xianning Aier Eye Hospital, Xianning, Hubei 437000, China;

2. Medical School of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei 437100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect of resveratrol on the damage of retinal pigment epithelial cell caused by high glucose. **Methods** First, the identified ARPE-19 cell lines were divided into the control group, the high glucose group and the hyperosmotic group and cultured for 24, 48, 72 h, cell viability of all groups were evaluated by cell counting kit-8 (CCK-8) assay at the three time points to select the most appropriate intervention time. Based on the above results, ARPE-19 cell lines were divided into different concentrations of resveratrol treatment groups and normal control group, and cultured for 48 h, the cell activity of each group was detected by CCK-8 method to determine the optimal concentration of resveratrol. Subsequently, ARPE-19 cell lines were divided into the normal control group, the HG group (high glucose), the HG+Res group (high glucose + resveratrol) and cultured for 48 h, and cell morphology was investigated by phase contrast inverted microscope. The level of MDA and activities of SOD and GSH-Px were detected by chemical colorimetric method. The levels of VEGF and PEDF in different groups were determined by ELISA. The expression levels of TNF- α mRNA, IL-1 β mRNA, IL-6 mRNA were quantified by real-time quantitative PCR (RT-PCR). **Results** Compared with the HG group, the abnormal morphological changes of the HG+Res group were significantly alleviated. Compared with the HG group, the SOD and GSH-Px activities in the HG+Res group decreased and the MDA level increased ($P < 0.05$), the expression level of VEGF in the HG+Res group decreased and the expression level of PEDF increased ($P < 0.05$). Compared with the control group,

* 基金项目: 2016 年度爱尔眼科医院集团科研基金自由申报立项项目(AF151D02)。

作者简介: 李青春(1980—), 博士, 主要从事眼科学

教学与临床研究。△ 通信作者, E-mail: yanhongzhou326@163.com。

the expression levels of TNF- α mRNA, IL-1 mRNA, IL-6 mRNA were increased in the HG group ($P < 0.05$); compared with the HG group, the expression levels of TNF- α mRNA, IL-1 mRNA and IL-6 mRNA in the HG+Res group decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Res may delay the damage of PRE cells by high glucose environment through anti-oxidation, inhibition of proliferation, and anti-inflammatory.

[Key words] resveratrol; retinal pigment epithelium; oxidative stress; inflammation

全球糖尿病患病人数已达 4.22 亿^[1], 且其发病率呈逐年上升趋势, 糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)也随之增多, DR 不仅危害患者视力, 也降低患者生活质量。视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)细胞主要通过转运葡萄糖为视网膜神经感觉层提供能量支持, 易受血糖波动的影响^[2], 长期处于高糖环境下的 RPE 细胞形态及活力也可发生改变^[3], 并在某些特定条件下, 多种细胞因子表达发生变化, 促使 DR 的发生发展^[4]。白藜芦醇(resveratrol, Res)是具有多种生物及药理学活性的非黄酮类多酚化合物, 对 DR 具有潜在的防护功效^[5-6]。本研究拟探讨 Res 对高糖诱导 RPE 细胞的保护作用 and 机制。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂

人 RPE 细胞株 ARPE-19 细胞由中山大学中山眼科中心惠赠。Res、二甲基亚砜(DMSO)、DMEM 培养基购自美国 Sigma 公司, CCK-8 试剂盒购自上海碧云天生物技术公司, 丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒购自南京建成生物工程研究所, 血管内皮生长因子(VEGF)、色素上皮衍生因子(PEDF) ELISA 试剂盒购自武汉塞维尔生物科技有限公司, 引物购自美国 Servicebio 公司。

1.2 CCK-8 法检测各组细胞活性并确定最佳作用时间及 Res 最佳作用浓度

取同一代生长状态良好的对数期 ARPE-19 细胞用于实验: 将 ARPE-19 细胞消化后, 以 1×10^4 /孔接种于 96 孔板, 置于 37°C 、5% CO_2 培养箱培养 24 h 后, 弃原培养基换成无血清培养基, 饥饿 12 h 以达细胞同步化, 参照 GONG 等^[7]的研究, 将细胞分为正常对照组(5.5 mmol/L 葡萄糖)、高糖组(30.0 mmol/L 葡萄糖)及高渗组(葡萄糖 5.5 mmol/L + 甘露醇 24.5 mmol/L), DMEM 培养基培养 24、48、72 h, 吸去上清液, 小心向各孔加入 10% CCK-8 溶液 10 μL , 培养箱内继续培养 1 h 后, 用酶标仪测 450 nm 处的吸光度(A)值, 每组 5 个复孔, 实验重复 3 次, 确定 ARPE-19 细胞株最佳作用时间。参照上述细胞同步化步骤及结果, 将 ARPE-19 细胞株置入不同浓度 Res(0、5、10、25、50 $\mu\text{mol/L}$)复合 30 mmol/L 葡萄糖, 分别设为(HG 组、HG + 5 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 10 $\mu\text{mol/L}$

Res 组、HG + 25 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 50 $\mu\text{mol/L}$ Res 组)及 DMEM 培养基, 于 37°C 、5% CO_2 培养箱培养 48 h, 另设正常对照组(5.5 mmol/L 葡萄糖) CCK-8 法检测各组细胞活性并确定 Res 的最佳作用浓度。参照上述实验结果将 ARPE-19 细胞株分为正常对照组(5.5 mmol/L 葡萄糖)、HG 组(30 mmol/L 葡萄糖)、HG + Res 组(30 mmol/L 葡萄糖 + 10 $\mu\text{mol/L}$ Res), 37°C 、5% CO_2 培养箱培养 48 h 后, 倒置显微镜观察各组细胞排列、形状, 细胞体是否出现透明、皱缩、空泡状等形态变化。

1.3 各组细胞 MDA 水平及 SOD、GSH-Px 活性测定

分别处理各组细胞, 于细胞培养皿中接种, 贴壁处理后离心、物理裂解细胞, 制成蛋白样液, 将蛋白样液稀释至合适浓度后加入 96 孔板, 于 37°C 孵育 20 min, 硫代巴比妥酸法测 MDA 水平, 黄嘌呤-3 氧化酶法测 SOD 活性、二硫代二硝基苯酸法测 GSH-Px 活性。

1.4 各组细胞 VEGF 与 PEDF 表达水平测定

参照 1.3 实验步骤制成蛋白样液, 将蛋白样液稀释至合适浓度后加入 96 孔板, 于 37°C 孵育 20 min, 参照 ELISA 法说明书进行实验操作, 用酶标仪于 450 nm 波长处测量各孔的 A 值。以 VEGF 或 PEDF 标准品浓度为纵坐标, A 值为横坐标, 做直线相关回归, 据待测样本的 A 值在标准曲线上查出该样本的表达水平对应值。

1.5 各组肿瘤坏死因子- α (TNF- α) mRNA、白细胞介素-1 β (IL-1 β) mRNA、IL-6 mRNA 的表达水平测定

各组细胞接种于 6 孔板培养, 严格按照 RT-PCR 法试剂盒说明书收集细胞。微量移液器将培养板上培养液吸除干净, 加入 TRIzol 试剂盒提取各组细胞总 RNA; 加入反转录酶制成 cDNA, 随后进行荧光定量 PCR 反应。反应条件为: 95°C 10 min; 95°C 15 s, 60°C 60 s, 共 40 个循环。TNF- α 引物序列为: 上游 5'-TCT ACT CCC AGG TCC TCT TCA AG-3', 下游 5'-GGA AGA CCC CTC CCA GAT AGA-3'; IL-1 β 引物序列为: 上游 5'-CTA TCA TGT AAG CTA TGG CCC ACT-3', 下游 5'-GCC TCC AGG TCA TCA TCA GTG-3'; IL-6 引物序列为: 上游 5'-GTA GTG AGG AAC AAG CCA GAG C-3', 下游 5'-TAC ATT TGC CGA AGA GCC CT-3'; β -actin 引物序列

为:上游 5'-CAC CCA GCA CAA TGA AGA TCA AGA T-3',下游 5'-CCA GTT TTT AAA TCC TGA GTC AAG C-3'。

1.6 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。计数资料以百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ARPE-19 细胞体外培养及鉴定

培养后细胞呈不规则形、多边形,2~3 代后色素颗粒逐渐减少、脱失,至第 4 代基本消失,细胞核呈圆形透明状,符合 RPE 细胞特征形态。免疫组织化学细胞角蛋白检测呈阳性反应,细胞质呈棕黄色,证明所培养的细胞为 RPE 细胞。

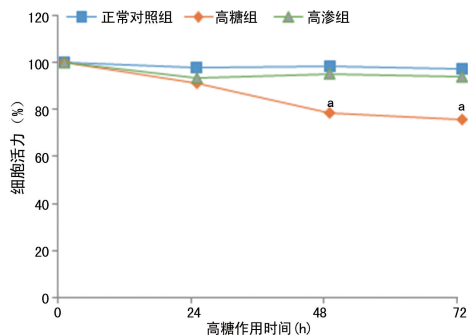
2.2 高糖最佳作用时间的确定

CCK-8 法检测显示,高糖作用 24 h 时对照组、高糖组和高渗组相对细胞活力(%)分别为(97.75 ± 38.46)%、(91.26 ± 12.39)%、(93.52 ± 10.35)%、3 组间差异无统计学意义($P > 0.05$);高糖作用 48 h 时各组相对细胞活力(%)分别为(98.33 ± 16.34)%、(78.58 ± 14.43)%、(95.32 ± 45.72)%、与对照组比较,高糖组相对细胞活力显著降低($P < 0.05$),高渗组差异无统计学意义($P > 0.05$);高糖作用 72 h 时各组相对细胞活力(%)分别为(97.28 ± 25.91)%、(75.74 ± 20.72)%、(94.04 ± 16.89)%、与对照组比较,高糖组相对细胞活力显著降低($P < 0.05$),高渗组差异无统计学意义($P > 0.05$)。高糖作用 72 h 时高糖组相对细胞活力与 48 h 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 1。故后续实验取作用 48 h 为高糖最佳作用时间点。

2.3 不同浓度 Res 对 ARPE-19 细胞活性的影响

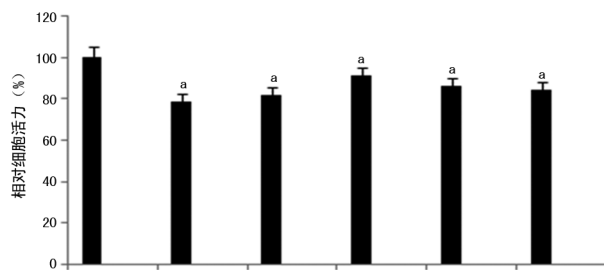
各组细胞的相对细胞活力:HG 组为(78.62 ± 5.28)%、HG + 5 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 10 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 25 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 50 $\mu\text{mol/L}$ Res 组分别为(81.45 ± 12.17)%、(90.65 ± 15.63)%、(85.74 ± 16.27)%、(83.82 ± 13.68)%、正

常对照组为(99.03 ± 15.22)%。高糖组细胞活性明显低于对照组($P < 0.05$),HG + 5 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 10 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 25 $\mu\text{mol/L}$ Res 组、HG + 50 $\mu\text{mol/L}$ Res 组高于高糖组($P < 0.05$),见图 2。且 HG + 10 $\mu\text{mol/L}$ Res 组相对细胞活力最强。



^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 1 不同高糖作用时间对 ARPE-19 细胞活力的影响

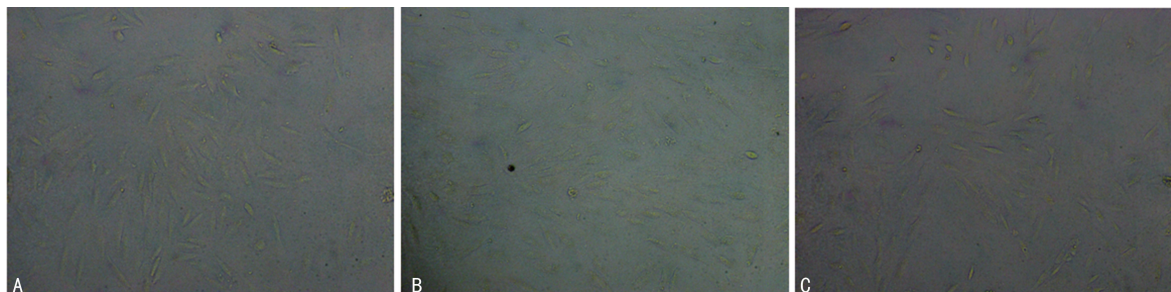


^a: $P < 0.05$, 与正常对照组比较;1: 正常对照组;2: HG 组;3: HG + 5 $\mu\text{mol/L}$ Res 组;4: HG + 10 $\mu\text{mol/L}$ Res 组;5: HG + 25 $\mu\text{mol/L}$ Res 组;6: HG + 50 $\mu\text{mol/L}$ Res 组。

图 2 不同浓度 Res 对 ARPE-19 细胞活力的影响

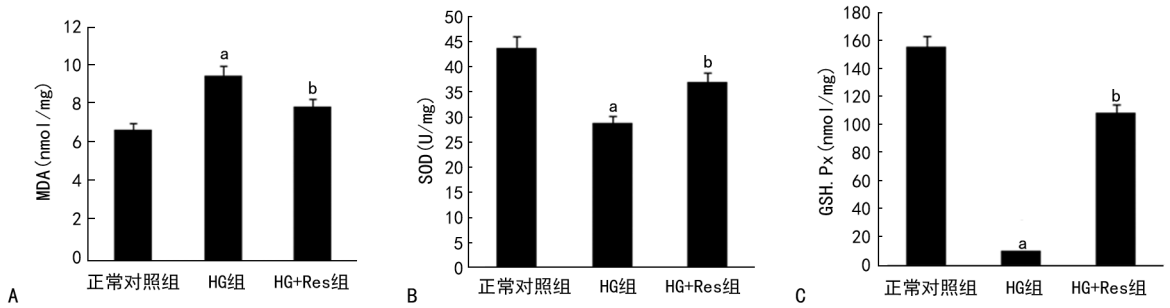
2.4 各组细胞形态变化

倒置显微镜下,正常对照组细胞排列紧密、规则,多呈三角形、扁平多角形或长梭形,细胞体不透明,细胞质透明,其内可见少许褐色和黑色色素颗粒;细胞核呈圆形或卵圆形,边界清,核仁明显(图 3A)。而 HG 组细胞排列紊乱、细胞体变薄,部分细胞伸出伪足,不规则细胞增多,形态表现多样,还可见少部分细胞胞体皱缩、变圆,呈空泡状甚至出现脱壁(图 3B)。HG + Res 组细胞形态仍可见变化,不规则细胞较多,但细胞体皱缩、脱壁鲜见(图 3C)。



A: 正常对照组;B: HG 组;C: HG + Res 组

图 3 各组 RPE-19 细胞典型形态变化($\times 100$)



A:MDA 定量分析;B:SOD 定量分析;C:GSH-Px 定量分析;^a: $P < 0.05$,与正常对照组比较;^b: $P < 0.01$,与 HG 组比较。

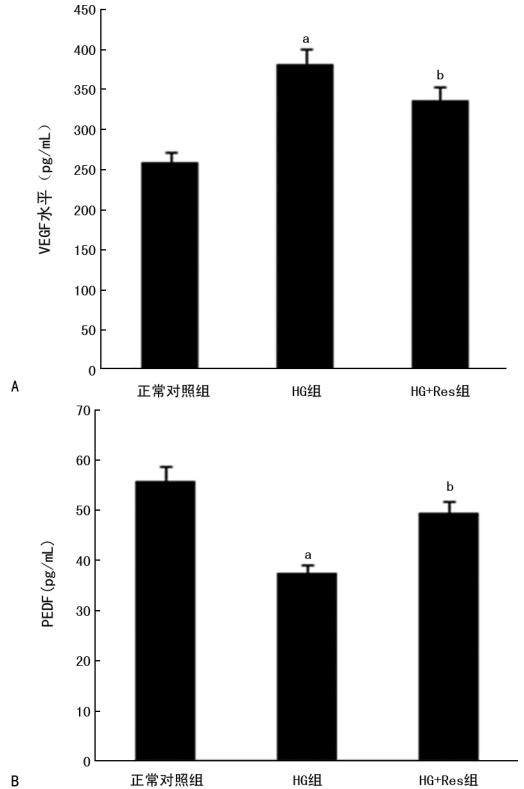
图 4 Res 对 MDA 水平和 SOD、GSH-Px 活性的影响

2.5 各组 MDA 水平及 SOD、GSH-Px 活性情况

正常对照组、HG 组及 HG+Res 组 MDA 水平分别为(6.64±0.78)nmol/mg、(9.41±0.98)nmol/mg、(7.85±0.88)nmol/mg;SOD 活性分别为(43.65±4.21)U/mg、(28.75±2.89)U/mg、(36.74±3.54)U/mg;GSH-Px 活性分别为(152.71±8.64)U/mg、(10.25±1.31)U/mg、(106.74±6.58)U/mg。与正常对照组比较,HG 组 MDA 水平明显降低,SOD、GSH-Px 活性明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与 HG 组比较,HG+Res 组 MDA 水平明显增加,SOD、GSH-Px 活性明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见图 4。

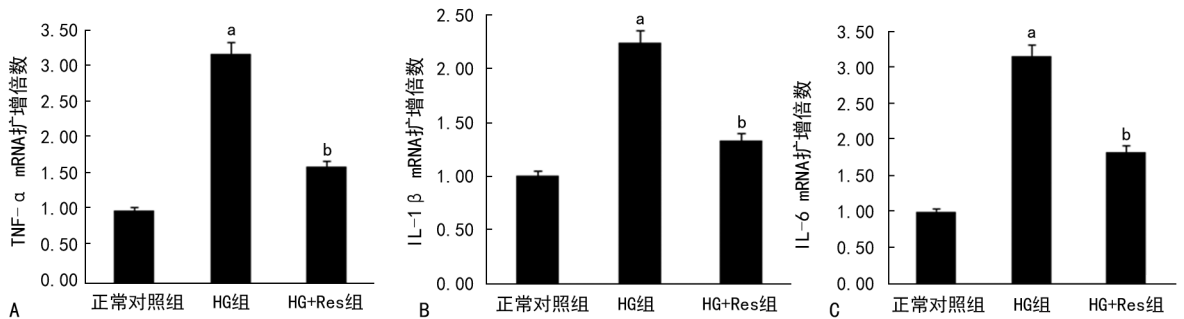
2.6 各组 VEGF、PEDF 水平比较

正常对照组、HG 组及 HG+Res 组 VEGF 水平分别为(251.88±25.42)、(371.54±28.75)、(327.59±27.61)pg/mL;PEDF 水平分别为(54.61±5.34)、(36.46±4.13)、(48.28±4.65)pg/mL。与正常对照组比较,HG 组 VEGF 水平明显升高,PEDF 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与 HG 组比较,HG+Res 组 VEGF 的水平明显降低,PEDF 水平的明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),见图 5。



A:VEGF 定量分析;B:PEDF 定量分析;^a: $P < 0.05$,与正常对照组比较;^b: $P < 0.01$,与 HG 组比较。

图 5 Res 对 VEGF、PEDF 的影响



A:各组 TNF-α 的扩增倍数;B:各组 IL-1β 的扩增倍数;C:各组 IL-6 的扩增倍数;^a: $P < 0.05$,与正常对照组比较;^b: $P < 0.01$,与 HG 组比较。

图 6 Res 对 TNF-α mRNA、IL-1 mRNA、IL-6 mRNA 表达的影响

2.7 各组 TNF-α mRNA、IL-1β mRNA、IL-6 mRNA 表达情况

正常对照组、HG 组及 HG+Res 组 TNF-α mRNA

扩增倍数分别为 1.00±0.01、3.15±0.18、1.60±0.09;IL-1β mRNA 分别为 1.00±0.01、2.24±0.12、1.33±0.07;IL-6 mRNA 分别为 1.00±

0.01、3.17±0.17、1.83±0.09。与正常对照组比较, HG 组 TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA、IL-6 mRNA 水平均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与 HG 组比较, HG+Res 组以上各项水平均降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 6。

3 讨 论

正常的 RPE 细胞是保障视网膜氧供, 维持血-视网膜屏障稳定的重要组成部分。高糖环境下, RPE 细胞更易被嗜中性粒细胞黏附, 破坏视网膜外屏障^[8]; 也可促使 RPE 细胞异常分泌 VEGF, 闭塞毛细血管, 促进视网膜新生血管的形成^[9]; 并能抑制 RPE 细胞的自噬功能, 致使衰老的细胞器或大分子蛋白不能被及时清除, 并产生大量自由基及活性氧(ROS), 造成严重组织损害^[10], 上述 RPE 细胞活性和形态改变、氧化应激、细胞增殖及凋亡、炎症损伤加重, 均可促进 DR 的发生发展。Res 是一种多酚类化合物, 对 DR、年龄相关性黄斑变性、青光眼均有一定的防治作用^[11]。前期体内试验研究发现, Res 可减轻糖尿病大鼠视网膜病理改变, 并通过 Bcl-2/Bax 途径抑制视网膜神经节细胞凋亡, 延缓 DR 的发生发展^[12], 本研究拟从体外实验探讨 Res 对高糖诱导的 ARPE-19 细胞的影响。

ELMASRY 等^[13]观察高糖对 ARPE-19 细胞损伤情况发现, 30 mmol/L 葡萄糖为最适宜浓度。本研究采用上述高糖浓度并在预实验中加以验证, 将 ARPE-19 细胞株分为对照组、高糖组及高渗组培养, 确定 48 h 时细胞活力最佳, 在此基础上继续确定 Res 作用浓度为 10 μ mol/L 时 ARPE-19 细胞活力最强, 细胞形态变化最小, 故用 10 μ mol/L 浓度 Res 进行后续实验。

RPE 细胞对氧化应激较为敏感, 当抗氧化屏障被破坏, 可造成不可逆性损伤^[14]。MDA 是脂质过氧化过程中的主要产物, SOD 是一种内源性抗氧化剂, GSH-Px 是一种细胞内抗氧化剂。随着 DR 患者体内 GSH-Px 活性降低, 其抗原性减弱, 进而影响谷胱甘肽氧化还原反应、生物合成和降解, 致使 MDA、SOD 等因子活性发生改变^[15]。有研究报道, Res 可减轻过氧化氢(H₂O₂)诱导的 RPE 细胞损伤, 其 MDA 水平及 SOD 活性均较氧化损伤模型明显好转^[16]。本研究结果显示, 采用 10 μ mol/L 浓度 Res 干预后, 能显著降低 MDA 水平, 增加 SOD、GSH-Px 活性, 与上述研究结果相一致。

RPE 细胞可分泌少量的 VEGF 和 PEDF, 前者具有促进视网膜脉络膜新生血管生成作用, 后者则为抑制作用, 二者保持动态平衡。有研究报道, 缺氧状态下 RPE 细胞自噬增高, 并通过 VEGF/PEDF 比值调节视网膜新生血管形成^[17]; 长期处于高糖刺激的

RPE 细胞, 其 VEGF/PEDF 动态平衡状态被打破, 其细胞增殖加快, 进而影响血-视网膜功能稳定^[18]。本研究发现, 与空白对照组比较, HG 组 VEGF 增加, PEDF 减少, 而采用 Res 干预后, 显著逆转了上述变化, 并趋于正常化, 说明 Res 可调节 VEGF/PEDF 的比值, 减缓高糖诱导的 RPE 细胞增殖。

慢性炎症反应和免疫反应贯穿于 DR 发生发展的整个病程, 高糖环境下的 RPE 细胞也可分泌炎症因子参与 DR 的进程^[19]。有研究表明, 晚期糖基化终产物可致 PE 组织中 TNF- α 水平增加^[20], 并通过 IL-1 β 反应链致使视网膜内皮细胞变性^[21]等途径促使眼内新生血管形成。本研究测定高糖环境下体外培养的 RPE 细胞炎症因子水平发现, HG 组 TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA、IL-6 mRNA 较正常对照组表达明显升高, 而采用 Res 干预后, 上述因子水平均明显降低, 由此提示 Res 可抑制高糖诱导的 RPE 细胞分泌炎症因子, 减少炎症损伤。

综上所述, Res 可通过抑制氧化应激、减轻细胞增殖、降低炎症因子分泌等途径延缓高糖所致 RPE 细胞损伤。本研究初步观察到 Res 对体外培养的 ARPE-19 细胞具有抗氧化应激、抗增殖、抗炎等作用, 但未就具体的细胞信号通路和细胞凋亡等途径深入探讨, 此为今后之研究方向。

参考文献

- [1] ZHOU B, LU Y, HAJIFATHALIAN K, et al. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants[J]. Lancet, 2016, 387(10027):1513-1530.
- [2] CHAO J R, KNIGHT K, ENGEL A L, et al. Human retinal pigment epithelial cells prefer proline as a nutrient and transport metabolic intermediates to the retinal side [J]. J Biol Chem, 2017, 292(31):12895-12905.
- [3] MOLINS B, PASCUAL A, LLOREN V, et al. C-reactive protein isoforms differentially affect outer blood-retinal barrier integrity and function[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2017, 312(3):244-253.
- [4] BISWAS L, ZHOU X, DHILLON B, et al. Retinal pigment epithelium cholesterol efflux mediated by the 18 kDa translocator protein, TSPO, a potential target for treating age-related macular degeneration[J]. Hum Mol Genet, 2017, 26(22):4327-4339.

- [5] FARHAD G S, ELHAM A, MOZHGAN R K, et al. Anti-inflammatory properties of resveratrol in the retinas of type 2 diabetic rats[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2015, 42(1): 63-68.
- [6] BOLA C, BARTLETT H, EPERJESI F. Resveratrol and the eye: activity and molecular mechanisms [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2014, 252(5): 699-713.
- [7] GONG X Z, IVANOV V N, HEI T K. 2,3,5,6-Tetramethylpyrazine (TMP) down-regulated arsenic-induced heme oxygenase-1 and ARS2 expression by inhibiting Nrf2, NF- κ B, AP-1 and MAPK pathways in human proximal tubular cells[J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(9): 2187-2200.
- [8] KENNELLY K P, HOLMES T M, WALLACE D M, et al. Early subretinal allograft rejection is characterized by innate immune activity[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(6): 983-1000.
- [9] FARJOOD F, VARGIS E. Novel devices for studying acute and chronic mechanical stress in retinal pigment epithelial cells [J]. *Lab on a chip*, 2018, 18(22): 3413-3424.
- [10] ZINFLOU C, ROCHETTE P J. Absorption of blue light by cigarette smoke components is highly toxic for retinal pigmented epithelial cells[J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(2): 453-465.
- [11] BISWAS L, ZHOU X, DHILLON B, et al. Retinal pigment epithelium cholesterol efflux mediated by the 18×10^3 translocator protein, TSPO, a potential target for treating age-related macular degeneration [J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(22): 4327-4339.
- [12] 李青春, 邢怡桥, 李岱. 白藜芦醇对糖尿病大鼠视网膜 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(8): 1223-1226.
- [13] ELMASRY K, MOHAMED R, SHARMA I, et al. Epigenetic modifications in hyperhomocysteinemia: potential role in diabetic retinopathy and age-related macular degeneration[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(16): 12562-12590.
- [14] ERFANI S, MOGHIMI A, ABOUTALEB N, et al. Protective effects of Nesfatin-1 peptide on cerebral ischemia reperfusion injury via inhibition of neuronal cell death and enhancement of antioxidant defenses [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(1): 79-85.
- [15] SAMAD N, HALEEM D J. Antioxidant effects of rice bran oil mitigate repeated haloperidol-induced tardive dyskinesia in male rats[J]. *Metab Brain Dis*, 2017, 32(4): 1099-1107.
- [16] YANG Y, WU Z Z, CHENG Y L, et al. Resveratrol protects against oxidative damage of retinal pigment epithelium cells by modulating SOD/MDA activity and activating Bcl-2 expression [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(1): 378-388.
- [17] LI R, DU J H, YAO G M, et al. Autophagy: a new mechanism for regulating VEGF and PEDF expression in retinal pigment epithelium cells[J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(4): 557-562.
- [18] RICHERT E, KOINZER S, TODE J, et al. Release of different cell mediators during retinal pigment epithelium regeneration following selective retina therapy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(3): 1323-1331.
- [19] SUN B, GAO L, AHSAN A, et al. Anticancer effect of SZC015 on lung cancer cells through ROS-dependent apoptosis and autophagy induction mechanisms in vitro[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 30(4): 400-409.
- [20] SHARIF U, MAHMUD N M, KAY P, et al. Advanced glycation end products-related modulation of cathepsin L and NF- κ B signalling effectors in retinal pigment epithelium lead to augmented response to TNF- α [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(1): 405-416.
- [21] KONENKOV V I, KOROLEVA E G, ORLOV N B, et al. Blood serum levels of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-8, IL-12p70, and IFN γ) in patients with uterine myoma [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2018, 165(5): 698-701.