

文章编号: 1001-6325(2002)05-0469-04

急性眼内压升高对猫视网膜神经节细胞的影响

周逸峰^{1,3}, 陶黎明^{1,4}, 张继文¹, 寿天德^{2,3}

(1. 中国科学技术大学 生命科学院 视觉研究实验室, 合肥 230027; 2. 复旦大学 生命科学院 脑研究中心和立人实验室, 上海 200433; 3. 中国科学院 生物物理所 视觉信息加工开放实验室, 北京 100101; 4. 安徽医科大学 第一附属医院 眼科, 合肥 230022)

摘要:用前房穿刺直接升高眼内压的方法研究了 12 只正常猫视网膜神经节细胞在固定的灌注压 (PP = 股动脉压 - 眼内压) 下形态学的变化。动物经灌注固定后进行视网膜全铺片、尼氏染色, 在网膜上的不同区域进行细胞计数, 发现: 1. 加压后视网膜的不同区域较正常视网膜相应区域的细胞密度有不同程度的降低; 2. Ⅰ、Ⅱ类神经节细胞及视网膜的不同区域对高眼压有不同的耐受性; 3. 不同的加压时间, 对视网膜上造成不同的影响。这些结果反映急性眼内压升高造成的视功能损害可能是血管源性的。

关键词: 神经节细胞; 视网膜; 眼内压; 青光眼

中图分类号: R775 **文献标识码:** A

青光眼是指眼内压力升高造成的视神经和视网膜的功能损害。其症状由视野缺损到最终丧失视力。关于青光眼的视神经损害的发病机理主要有两种观点: 血源机制认为眼压上升导致视神经头部筛板前部的血流下降, 血液供应减少, 缺血同时引起缺氧造成代谢障碍使视网膜的生理功能受到损害^[1,2]; 机械性作用^[3]的观点则认为眼内压升高使筛板发生形变, 视神经轴突受压而被阻断, 视功能受损。长期以来, 有不少研究倾向于支持血源机制^[1,2]。关于高眼压对视网膜神经节细胞的影响的工作多限于电生理的角度^[4,5], 形态学方面的研究鲜见报导。仅 Quigley^[6]等较深入研究了猴视网膜神经节细胞在实验性青光眼模型中的死亡变化, 本工作旨在通过观察高眼压作用后猫视网膜上神经节细胞形态和数量的变化, 在形态学方面作出尝试, 试图从压力与血管因素探讨青光眼的发病机理。

1 材料与方法

1.1 动物准备及维持

实验所用动物为 12 只正常成年家猫, 体重 2.0 ~ 3.5kg。采用常规的电生理方法进行准备和维持^[4,5]。

1.2 股动脉压测定及升高眼压

麻醉后行一侧股动脉穿刺, 并与一水银压力计相连, 测量股动脉压力。

使用 G18 号针头穿刺入前房, 针后连接细乳胶管, 将乳胶管与一个内装复方氯化钠液的吊瓶相连, 通过调节吊瓶的高度控制眼内压的大小。实验中我们先用吊瓶将眼内压维持在正常水平, 需要升高眼压时, 将吊瓶升高至相应高度。细乳胶管同时还与一个水银压力计连通, 以连续测眼内压。实验过程只给一只眼加压, 另一只正常眼作对照。眼内灌注压 = 股动脉压 - 眼内压 (PP = BP - IOP), 在 PP = 5mmHg, 6 只猫维持 1h, 另 6 只猫维持 2h。

1.3 解剖学处理

将深度麻醉的动物按常规方法灌注, 取出眼球, 进行全视网膜铺片, 记下网膜水平方向及上下位置。用硫堇进行常规尼氏染色, 酒精、二甲苯脱水透明, 封片保存。

1.4 形态学观察及定量分析

显微镜下视网膜, 以中央区为原点, 网膜颞侧水平方向为正 X 轴, 垂直于水平方向向网膜的上侧为正 Y 轴, 单位长度为 1mm 建立直角坐标系。经图形描绘器把一定大小面积的正方形框投进显微镜下的

收稿日期: 2001 - 09 - 24 修回日期: 2002 - 02 - 04

视野内,每组标本均在同样的位置进行细胞计数,同时单独计数神经节细胞,同组数据取均数后列表进行统计。

2 结果

2.1 形态观察

2.1.1 正常眼视网膜上神经节细胞形态完整,有明显的核,并可见到核仁,胞质分布均匀(图1)。细胞形态规则,胞体直径小于10 μ m;细胞形状各异,胞体直径大于25 μ m,并能看到明显的突起。向周边区,两类细胞胞体均增大。眼压升高后,细胞明显变小,且形态不完整(图2):细胞直径小于20 μ m,胞体变长,看不到突起,胞质分布不均匀;细胞直径小于10 μ m,细胞内看到细胞核,有些细胞没有明显的边界,胞体形状也很不规则。细胞整体水平着色很浅。

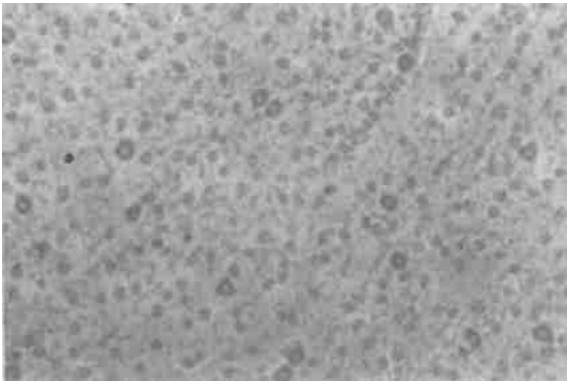


图1 正常眼视网膜位置

Fig 1 The normal retina, location(0, +3) \times 200

2.1.2 正常视网膜上血管经灌注后,在显微镜下呈白色带状,亦可清晰看到血管在网膜上的分布情况。主要特点:在细胞密集的地方血管分布较多,形

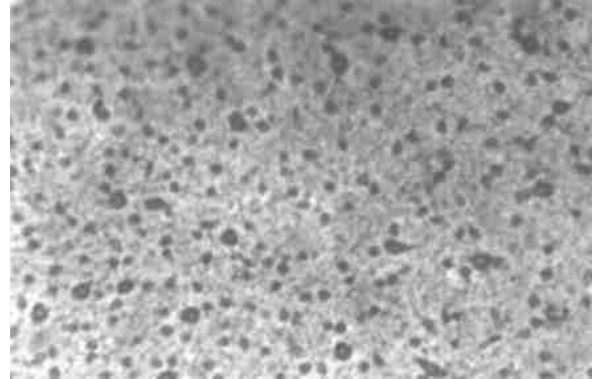


图2 加压 pp = 5mmHg, 1h 视网膜位置

Fig 1 The retina positioning after 1 hour of increasing IOP (pp = 5mmHg), location(0, +3) \times 200

成毛细血管网;围绕中央区血管最多,在中央区一定范围内没有血管通过,而是外围血管包围,在鼻侧只有大的血管分支,没有毛细血管网;在远外周血管分布最少。眼压增大后,网膜上看不到血管分布情况,甚至没有显示出大的血管分支。

2.2 不同加压时间神经节细胞的数量及分布的变化。

在正常猫视网膜中央凹细胞密度最大,向鼻颞侧和上下侧细胞密度明显下降,加压后细胞分布趋势不变,但细胞密度相应有所下降,高血压造成视网膜神经节细胞的密度降低,细胞数量变化明显的区域集中在中央区,从中央区向外周,细胞减少的比例程度变小(表2)。加压2h组细胞数明显少于加压1h组(表1)。

2.3 细胞对高眼压的不同敏感性

细胞整体计数的同时,在可明显区分、类细胞处计数细胞,发现施加眼压后细胞占细胞总数的百分比显著高于正常($P < 0.01$)。

表1 加压后两组水平方向细胞数的变化

Table 1 The changing of horizontal retinal ganglion cells among different groups (+ :temporal, - :nasal)($\bar{x} \pm s$)

groups	N	- 8	- 6	- 3	- 1	0	+ 1	+ 3	+ 6	+ 8
normal	12	354 \pm 78	452 \pm 65	595 \pm 116	1392 \pm 212	7080 \pm 436	2400 \pm 254	640 \pm 185	358 \pm 35	224 \pm 19
1h *	6	56 \pm 12	76 \pm 19	168 \pm 22	200 \pm 24	840 \pm 53	380 \pm 41	249 \pm 22	78 \pm 6	54 \pm 6
2h **	6	12 \pm 5	28 \pm 6	44 \pm 6	52 \pm 8	328 \pm 32	214 \pm 27	88 \pm 5	36 \pm 5	28 \pm 8

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal; $P < 0.05$ vs 1h group

表2 在视网膜各轴象上的细胞减少情况比较

Table 2 Comparison of cells in various axial

eccentric (mm)	nasal (%)	temporal (%)	superior (%)	inferior (%)
1	14.3	15.8	22.3	11.3
2	22.4	35.8	43.1	16.9
3	28.2	38.9	49.5	23.4
4	24.3	33.3	49.4	32.7
5	20.6	37.5	31.4	25.7
6	19.8	21.7	19.7	32.7
7	21.5	30	28.5	37.5

表3 正常和加眼压后(PP = 5mmHg, 1h)视网膜上 细胞所占百分比

Table 3 Comparison of the percent of retinal cells between the high intraocular pressure (pp = 5mmHg, 1hour) and the normal (+ :temporal, - :nasal) ($\bar{x} \pm s$)

groups	n	- 7	- 6	- 3	+ 3	+ 4	+ 5	+ 8
normal	12	5.6 \pm 1.2	8.7 \pm 2.2	7.0 \pm 1.9	8.2 \pm 2.5	7.9 \pm 1.8	5.9 \pm 1.1	11.1 \pm 3.7
pp = 5mmHg *	6	21.3 \pm 5.5	14.4 \pm 5.0	15 \pm 3.6	10.7 \pm 2.6	8.7 \pm 2.1	13 \pm 4.3	19.6 \pm 4.5

*P < 0.05 vs normal

3 讨论

尼氏染色(Nissl)是用碱性染料染神经组织的一种方法^[7]。神经元胞体中的尼氏小体、细胞核中的核仁含有大量的核糖核酸,能与碱性染料结合,被明显着色,而突起不能被染色。所以尼氏染色通常被用来研究细胞的密度分布。实验用正常成年猫,经检眼部正常,并在实验过程中只给一只眼施加眼压,另一只眼维持正常作对照,而后作完全相同的解剖学处理;计数异常眼细胞的同时亦对正常眼作细胞密度分析,以确定在处理过程中没有造成异常。

尽管青光眼的视网膜神经节细胞损伤机制仍不十分清楚,但与眼内的血液灌注是有联系的, Tielsch JM^[8]等在流行病学调查中发现开角性青光眼与眼内的灌注压密切相关, Anderson DR^[9]曾对猴升高眼压8h, PP = 15mmHg,发现视盘周围的感受细胞、

色素上皮层及视神经纤维都发生部分坏死和萎缩,我们在预实验中摸索,在 PP = 5mmHg,加压 1h 后,神经节细胞即明显的减少,加压 2h 减少更多,可能是随加压时间的延长,视网膜缺血加重,在临床也可见一些急性眼内大量出血致眼压升高的病人,可在 1~2h 使视力下降或丧失。另外,升高的眼内压也使网膜上不同区域受到不同影响,而视网膜各点引起的眼内压升高应是相同的;这种影响不是由机械压力造成的,而是由灌注压升高引起缺血造成的。

在形态观察的结果中曾提到视网膜上血管分布不均匀,这种情况与上述结论中得出的高眼压造成区域性影响的结果有紧密联系;中央区细胞密度最大,内部又没有血管通过,因而由缺血造成的损害最大,细胞减少最多;在中央区附近的颞侧和上侧,血管密集,因而受的影响最小;在鼻侧和下侧,特别是在远外周,血管分布较少,尽管细胞密度不大,却造成很大程度的破坏。

、类细胞的主要差别是细胞大小不同,但对于胞体上各点受到的压力应是相同的。在高眼压情况下,细胞比 细胞更具耐受性,与电生理研究结果一致^[4],其可能机制之一是由于 细胞胞体较大,贮存的营养物质和能量更丰富,因而在升高眼内压引起缺血的情况下 细胞比 细胞受到损害程度小。其他更深层次的机制以及可能对视网膜上其它细胞产生的影响有待于进一步的探讨。

参考文献:

- [1] Dreyer EB, Lipton SA. New perspectives on glaucoma[J]. JAMA, 1999, 281(4):306-308.
- [2] Alm A, Lambrou GN, Maepea O, et al. Ocular blood flow in experimental glaucoma: a study in cynomolgus monkeys[J]. Ophthalmologica, 1997, 211(3):178-182.
- [3] Quigley HA, Addicks EM, Green WR, et al. Optic nerve damage in human glaucoma. II. The site of injury and susceptibility to damage [J]. Arch Ophthalmol, 1981, 99:635-649.
- [4] Shou TD, Zhou YF. Y cells in the cat retina are more tolerant than X cells to brief elevation of IOP[J]. Invest Ophthalmol Vis

- Sci, 1989, 30(10): 2093 - 2098.
- [5] Zhou Y, Wang W, Ren B, *et al.* Receptive field properties of cat retinal ganglion cells during short-term IOP elevation [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994, 35(6): 2758 - 2764.
- [6] Quigley HA, Nicholls RW, Kerrigan LA, *et al.* Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis [J]. Invest Ophthalmol & Vis Sci, 1995, 36: 774 - 786.
- [7] 鞠躬, 万选才, 等. 神经解剖学方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 29 - 30.
- [8] Tielsch JM, Katz J, Quigley HA, *et al.* Hypertension, perfusion pressure, and primary open angle glaucoma. A population based assessment [J]. Arch Ophthalmol, 1995, 113(2): 216 - 221.
- [9] Anderson DR, Davis EB. Sensitivities of ocular tissues to acute pressure-induced ischemia [J]. Arch Ophthalmol, 1975, 93(4): 267 - 274.

Influence on cat retinal ganglion cells by acute intraocular pressure elevation

ZHOU Yi-feng, TAO Li-ming, ZHANG Ji-wen, *et al*

(Vision Research Lab, School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract: Intraocular pressure (IOP) of feline eye was elevated by changing perfusion pressure (PP), and morphological changes of retinal ganglion cells were studied. After IOP elevation for one or two hours at certain PP, the cat was perfused and the retina was stained with Nissl method. Results showed that: 1. The density of the cells was declined after IOP elevation, and different retinal areas were affected to different extent; 2. Ganglion cells have different tolerance to the elevation of IOP; 3. The different time of high IOP results in different effect on retina. These results demonstrate that ischemia induced by elevation of IOP is probably the main factor of retina damage.

Key words: ganglion cells; retina; IOP; glaucoma

(上接 460 页)

全身性疾病的基因疗法在动物身上试验成功

据英国《BBC 新闻》报道,不久前科学家首次成功的利用基因疗法治疗全身性的疾病。这项试验在患有罕见疾病的实验狗身上的大突破,证明了基因疗法应该能够治疗更多疾病。BBC NEWS, 2002/09/19

基因疗法与基因沉寂技术的结合

美国爱荷华州立大学的研究人员日前首次成功的将基因治疗和基因沉寂 (gene silencing) 技术结合,使实验老鼠身上的特定基因表现量明显减少。这项新的技术可望为抗病毒、治疗某些遗传疾病带来新的希望。

研究发现新的前列腺癌致癌基因

据美国生物科技网报道,美国伟基森林大学医学院 (Wake Forest University School of Medicine) 和约翰霍普金斯医学研究所的研究人员最近共同发现了一个与前列腺癌有密切关系的基因。他们发现的这个基因突变是位于巨噬细胞清道夫受体 (Macrophage Scavenger Receptor1, MSR1) 基因上。BIO. COM (2002/09/20)