

# 短时程高眼压对猫外膝体细胞感受野特性的影响

陶黎明 张南 叶翔 周逸峰\*

( 中国科学技术大学生命科学学院视觉研究实验室, 合肥 230027; 安徽医科大学第一附属医院眼科, 合肥 230022; 中国科学院生物物理研究所视觉信息加工开放实验室, 北京 100101. \* 联系人, E-mail: zhouy@ustc.edu.cn)

**摘要** 为了研究猫外侧膝状体(LGN)细胞多种感受野特性在短时程眼内压升高前后的差异性变化, 采用前房穿刺直接施加眼压的方法, 保持眼内灌注压为 30 mmHg(1 mmHg = 1.33322 × 10<sup>2</sup> Pa), 胞外记录了猫 LGN 细胞对同心圆光斑、光环刺激和对高、低空间频率移动光栅刺激的反应. 实验结果表明, 所记录不同类型 LGN 细胞及感受野不同组分的反应在眼内压升高后都明显下降. 采用同心圆光斑和光环刺激时, Y 细胞比 X 细胞对眼内压升高有更强的耐受性, 细胞的周边反应比中心反应对眼内压升高更敏感, 眼内压升高对细胞的峰发放较平均发放影响小; X 细胞对高空间频率移动光栅刺激的对眼内压升高更敏感. 上述实验结果提示, 短时程眼内压升高对 LGN 不同类型细胞和感受野特性的不同影响, 可能反映视网膜上不同结构的缺血影响了相关的神经通路.

**关键词** 眼内压 外侧膝状体 视网膜 青光眼 猫

尽管并非所有类型的青光眼都表现为眼内压升高, 但眼内压升高可导致视神经萎缩和视野缺损, 为青光眼的典型改变. 在青光眼的实验研究中, 大多以眼内压升高为模型, 急慢性高眼压对视网膜及视神经影响的研究主要集中在形态学方面<sup>[1,2]</sup>, 有关单细胞水平上的功能研究较少, 而高眼压对外膝体影响方面的研究则更少. 本实验室在先前的实验中对短时程高眼压下猫视网膜神经节细胞感受野特性的变化作了较详细的研究<sup>[3,4]</sup>, 结果显示 Y 细胞较 X 细胞对短时程高眼压的耐受性更高. 对外膝体细胞的初步研究(少于 2 min 的眼内压升高), 也显示了类似的结果<sup>[5]</sup>. 本工作旨在进一步研究短时程高眼压过程中猫外膝体不同类型的细胞和其感受野不同反应组分的变化, 以及 X 和 Y 细胞对不同空间频率光栅刺激的反应差别, 增加对外膝体在异常情况下功能的理解.

## 1 材料与方 法

( ) 动物准备和生理状态维持. 实验动物为 18 只正常成年猫, 体重 2.3~2.9 kg. 在氯胺酮(20 mg/kg)浅麻醉下施行气管插管和股静脉、动脉插管手术, 术后将猫固定在动物立体定位仪上, 用三碘季胺酚(10 mg · kg<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>)和乌拉坦(20 mg · kg<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>)混合液维持麻痹和浅麻醉状态, 施以人工呼吸. 股动脉压的测定和眼内压的升高参考文献[4]的方法.

( ) 视觉刺激和记录. 刺激图形的产生、实验数据的采集均由基于 MS-DOS 的 Visual Stimulation System(VS, Cambridge Electronic Design, 英国)驱动.

视觉图像发生器为 Picasso(美国), 图像显示在 Tektronix 608 上. 实验采用细胞外记录的方法, 每记录到一个外膝体细胞, 确定其感受野中心位置并判断其 ON 及 OFF 属性, 按文献[4,6,7]的方法判断细胞 X 和 Y 类型.

(1) 同心圆光斑和光环刺激. 在升高眼内压之前、之中和之后, 进行同心圆光斑和光环的刺激并记录细胞反应. 由于通常感受野中心大小在 1~2° 之间, 故选取中心光斑直径 1°, 周边光环内径 3°, 外径 8°. 20 次图形刺激为一组, 每组间隔 1 min. 升高眼内压之前、之中和之后各作 4~5 组.

(2) 低频和高频扫描正弦光栅刺激. 在升高眼内压之前、中和后, 进行低频和高频的扫描正弦光栅刺激并记录细胞反应. 高、低空间频率由预先测定的空间频率调谐曲线决定, 时间频率为 2.5 Hz, 运动方向取最优方向. 高低空间频率各刺激 5 次为一组, 加压之前、中和后各作 3 组, 每组之间间隔 15~20 s.

( ) 数据采集和分析. 数据由 VS 系统和计算机自动采集, 实验结束后对细胞刺激后时间直方图(PSTH)进行离线分析. 同心圆光斑和光环的刺激采用峰反应(Peak)和平均反应(Count)为指标. 高、低空间频率扫描正弦光栅刺激的反应采用快速富里叶变换的基频值(FFT1)为指标. 以加压前的反应平均值为基准值, 以加压中反应平均值与基准值比较得到加压后反应的相对幅度(relative amplitude, R 值). 以此相对幅度为指标, 在眼内压升高状态下, 对 LGN

不同类型细胞(X和Y)、不同反应组分(中心和周边反应, Peak和Count反应)发放进行比较;以及X和Y细胞在高空间频率和低空间频率光栅刺激下的不同敏感性进行对照研究。

## 2 实验结果

对同心圆光斑和光环刺激记录了36个细胞(X细胞为17个, Y细胞为19个; ON细胞19个, OFF细胞17个), 对高、低空间频率正弦光栅刺激记录了38个细胞(X细胞为18个, Y细胞为20个)。所记录LGN细胞, 在眼内压升高至眼内灌注压(perfusion pressure, PP)约为30 mmHg(1 mmHg = 1.33322 × 10<sup>2</sup> Pa)时, 细胞发放迅速降低, 2 min内达到平台; 撤压后, 细胞发放在短时间内(小于5 min)恢复到原有水平。

### 2.1 在眼内压升高期间, X和Y细胞对同心圆光斑和光环刺激的反应差异

在灌注压PP = 30 mmHg时, 19个Y细胞中心反应的Peak衰减比R的平均值为71.6%, 17个X细胞中心反应的Peak衰减比R的平均值为62.6%, (图1(a)), Y细胞的平均R值显著大于X细胞的平均R值(*t*检验, *P* < 0.005)。

19个Y细胞在眼内压升高后细胞中心Count反应衰减比R的平均值为56%, 而17个X细胞的相应值为45%(图1(b)), X和Y细胞之间具有显著的统计学差异(*t*检验, *P* < 0.05)。

另外, Y细胞的周边反应在加压后Peak和Count反应平均衰减到的百分比R的平均值分别为65.1%和50%, 而X细胞在加压后分别为51.9%和37%, X与Y细胞之间差异同样有统计意义(*t*检验, *P* < 0.05)。

上述结果表明, 无论是细胞反应的峰值发放Peak, 还是平均发放Count, 以及无论是中心反应, 还是周边反应, 在灌注压PP = 30 mmHg下, Y细胞反应都比X细胞反应具有更高的耐受性。

### 2.2 在眼内压升高期间, 细胞感受野中心、周边机制对同心圆光斑和光环刺激的反应差异

在眼内压升高之后, 细胞感受野中心及周边的反应都有下降, 但中心和周边的衰减程度不同, 图2(a)和(b)分别表示36个LGN细胞在加压后平台期以Peak及Count为指标的相对衰减(周边R值/中心R值)分布图。

以Peak为指标的平均相对衰减值为88%, 其中86%的细胞其相对衰减比小于1, 而14%的细胞相对

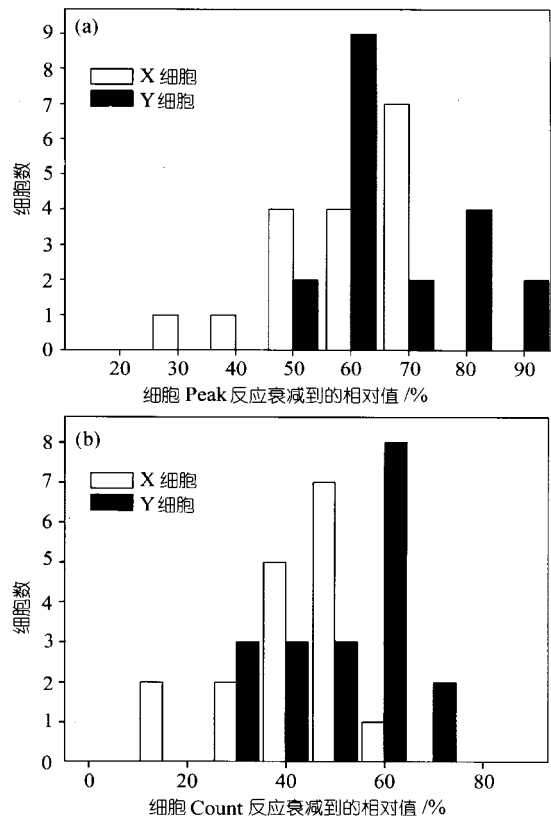


图1 X及Y细胞中心反应Peak(a)和Count(b)在加压后平台期衰减到的相对百分比值分布图  
横坐标为细胞加压后反应衰减到的相对百分比值; 纵坐标为细胞数

衰减比大于1, 有显著的差异性(*t*检验, *P* < 0.001); Count的相对衰减比为86%, 其中84%的细胞其相对衰减比小于1, 16%的细胞大于1, 也有显著的统计学差异(*t*检验, *P* < 0.001)。本结果表明, 在短程眼内压升高时, 细胞中心反应较周边反应更有耐受性。

### 2.3 眼内压升高期间, 细胞对同心圆光斑和光环刺激后Peak及Count发放的比较

短程眼内压升高到PP = 30 mmHg时, 细胞的Peak发放和Count发放都同时下降, 但是它们的下降程度也不一致, 图3(a)表示36个神经节细胞中心反应在加压后反应平台期Peak发放和Count发放相对衰减比(Count R值/Peak R值)分布图, 平均衰减比为77%, 其中80.6%的细胞其相对衰减比小于1, 而19.4%的细胞相对衰减比大于1, 二者具有显著差异(*t*检验, *P* < 0.001), 提示细胞中心反应的Peak发放在加压后下降的程度比Count发放下降的小。

细胞的周边反应也有类似的结果, 图3(b)所示为

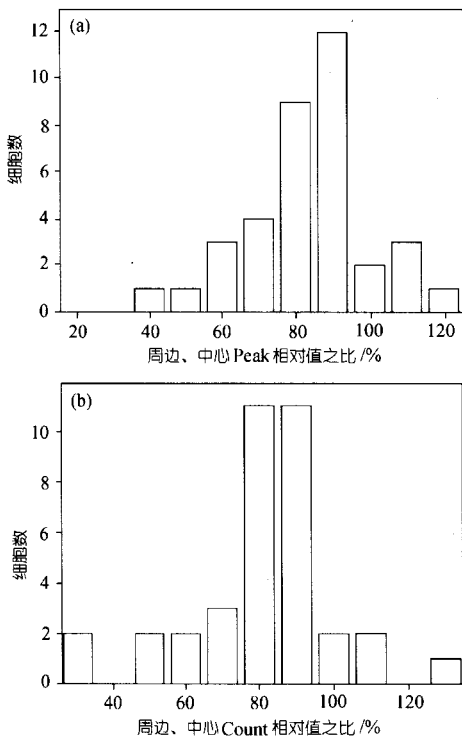


图 2 细胞周边、中心 Peak(a)和 Count (b)在加压后平台期发放衰减到的相对值之比图  
横坐标为周边与中心发放衰减到的相对值之比; 纵坐标为细胞数

36 个神经节细胞的周边反应在加压后反应平台期 Peak 和 Count 发放相对衰减比分布图, 衰减比的平均值为 75%, 其中相对衰减比小于 1 的为 83.4%, 大于 1 的为 16.6%, 二者具有显著性的差异( $t$  检验,  $P < 0.001$ ). 上述结果提示细胞的 Peak 发放比 Count 发放对眼内压升高有更高的耐受性.

2.4 短时程高眼压下 X 及 Y 细胞对高低空间频率正弦光栅刺激的反应

加压后, X 和 Y 细胞对高低空间频率的反应差异见表 1. 在眼内压升高期间, X 和 Y 细胞对高低空间频率的反应衰减有差异. 对于 X 细胞, 高频时 FFT1 发放相对衰减比  $R$  的均值低于在低频时的相应值, 但二者比较有统计差异( $t$  检验,  $P < 0.05$ ), 表明短时程眼内压升高后, X 细胞对高空间频率刺激反应的衰减更明显.

对于 Y 细胞, 在高空间频率光栅刺激时, 其 FFT1 发放相对衰减比  $R$  的均值高于低频光栅刺激时 FFT1 发放的相应值, 二者比较无显著性差异( $t$  检验,  $P > 0.05$ ). Y 细胞在眼内压升高的平台期, 其 FFT1 的放在高频和低频时都减少, 其  $R$  值无显著差异.

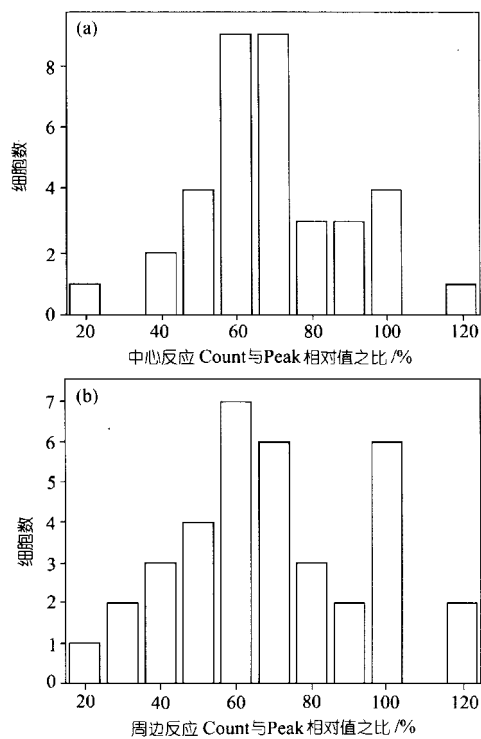


图 3 细胞中心(a)和周边(b)反应 Peak 加压后平台期发放与 Count 发放衰减到的相对值之比分布图  
横坐标为 Count 与 Peak 发放衰减到的相对值之比; 纵坐标为细胞数

在低频扫描正弦光栅刺激下, X 及 Y 细胞 FFT1 发放的相对衰减比  $R$  的均值无明显差异( $t$  检验,  $P > 0.05$ ). 在高频扫描正弦光栅刺激下, Y 细胞的 FFT1 发放的相对衰减比  $R$  的均值大于 X 细胞, 二者经统计学检验, 有显著差异( $t$  检验,  $P < 0.05$ ), 说明在同样的高眼压情况下, Y 细胞对高空间频率刺激较 X 细胞更具有耐受性.

表 1 X 及 Y 细胞加压后对高低空间频率的光栅反应差异<sup>a)</sup>

	R 均值	标准差	N
X 细胞低频(光栅刺激)	0.744	0.178	18
X 细胞高频	0.597	0.195	18
Y 细胞低频	0.666	0.202	20
Y 细胞高频	0.748	0.226	20

a)  $R$  值为眼内压升高后细胞的反应值与加压前细胞的反应值之比;  $N$  示细胞数

3 讨论

青光眼是常见致盲眼病, 目前对于该病确切病因、病程的了解还比较有限. 近年的研究表明, 青光眼的损害会向中枢视觉系统发展, 青光眼可能是整个视觉系统的一种神经退变性疾病<sup>[8,9]</sup>, 这一新的概念可能使人们对青光眼的视觉损害机制有进一步认识.

LGN 是从视网膜到视皮层的信息中转站, 本工作研究了高眼压下外膝体细胞感受野特性的变化, 有助于了解高眼压下视通路的功能变化. 在加压至 PP = 30 mmHg 时, 比较了 LGN 的不同类型细胞和感受野不同组分对高眼压耐受性的差异, 结果显示, 眼内压升高对 X 及 Y 细胞, 中心和周边机制以及细胞的 Peak 和 Count 发放反应产生不同影响. 该发现支持本实验室以前的研究结果, 短时程眼内压升高导致眼内灌注压减少, 视网膜不同程度缺血, 引起神经节 X, Y 细胞, 中心和周边机制以及 Peak 和 Count 不同程度反应减少, 从而导致外膝体细胞的相应结果.

在以前的报道中, 本实验室也观察到猫外膝体 Y 细胞比 X 细胞对高眼压更有耐受性, 尽管使用的是不同的标准(使反应幅度达到半衰的眼内压或灌注压)和不同的光刺激方式(闪光刺激)<sup>[5]</sup>. 在猫视网膜 X 和 Y 细胞中存在类似的结果, 提示短暂性(< 2 min)眼内压升高与短时程眼内压升高在对外膝体 X 和 Y 细胞的作用上可能有类似的机制. 相关研究证明 Y 细胞胞内比 X 细胞储存有更多的营养<sup>[10,11]</sup>, 这可能是 Y 细胞在短时程眼内压升高后比 X 细胞更具有耐受性的原因. 形态学研究表明在慢性缺血过程中<sup>[12,13]</sup>, 外膝体的 Y 细胞经常首先受累, 进一步的工作可比较在慢性眼内压升高时 X 和 Y 细胞的功能变化.

在短时程眼内压升高时, 外膝体细胞的周边反应较中心反应更敏感, 这可能与视网膜上神经节细胞的中心-周边同心圆拮抗式感受野的组成结构有关, 而这种结构来源于双极细胞的中心-周边感受野结构. 双极细胞感受野的中心反应反映了光感受器-双极细胞突触间直接的相互作用, 而周边的反应则反映了光感受器-水平细胞-光感受器间的相互作用; 眼内压升高导致视网膜缺血, 对水平细胞可能产生更大的影响, 故在外膝体细胞记录中, 中心反应较周边反应有更高的耐受性. 外膝体细胞的 Peak 反应是细胞的瞬间反应, 其 Count 反应是细胞的平均反应, 主要成分是细胞的持续反应, Count 反应更易受到眼内压升高的影响, 可能与细胞的能量供应不足有关.

Chen 等人<sup>[14]</sup>发现, 应用基于内源性信号的脑光学成像方法显示在急性眼内压升高时, 猫视皮层方位功能柱选择性消失, 这种改变可能是由于皮层下 X 通路功能显著下降所致. 我们的实验显示, 外膝体 X 和 Y 细胞在短时程眼内压升高后, 对低空间频率条形光栅的刺激, 二者反应的降低无显著差异, 而对高

空间频率条形光栅的刺激, X 细胞的相对衰减比 R 的均值较 Y 细胞的小, 本研究结果为 Chen 等人的视觉皮层光学成像研究结果提供了皮层下机制的证据.

青光眼导致视觉通路功能下降的过程是复杂的, 本工作在单细胞水平上研究短时程眼内压升高对外膝体细胞感受野特性的影响, 进一步了解青光眼病程中导致中枢视觉通路的变性机制, 为青光眼的研究、治疗和诊断提供一定的参考依据.

致谢 本工作为安徽省自然科学基金资助项目(批准号: 03043401).

### 参 考 文 献

- 1 Yucel Y H, Zhang Q, Weinreb R N, et al. Atrophy of relay neurons in magno- and parvocellular layers in the lateral geniculate nucleus in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42(13): 3216~22
- 2 Weber A J, Chen H, Hubbard W C, et al. Experimental glaucoma and cell size, density, and number in the primate lateral geniculate nucleus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41(6): 1370~1379
- 3 Shou T D, Zhou Y F. Y cells in the cat retina are more tolerant than X cells to brief elevation of IOP. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1989, 30: 2093~2098
- 4 Zhou Y F, Wang W, Ren B, et al. Receptive field properties of cat retinal ganglion cells during short-term elevation of IOP. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1994, 35: 2758~2754
- 5 Shou T D, Zhou Y F. Incremental IOP for abolishing the response of cat LGN Y cells and X cells to flash stimulation of the eye. *Chin J Physiol Sci*, 1990, 6: 95~99
- 6 杨昱鹏, 金坚中, 周逸峰, 等. 猫外膝体细胞对光栅刺激图形适应的时间特性. *科学通报*, 2001, 46(10): 824~826
- 7 金坚中, 徐鹏景, 李祥瑞, 等. 刺激图形对外膝体细胞图形适应的影响. *科学通报*, 2003, 48(13): 1428~1431
- 8 Gupta N, Yucel Y H. Glaucoma and the brain. *J Glaucoma*, 2001, 10(5 Suppl 1): S28~S29
- 9 Yucel Y H, Zhang Q, Weinreb R N, et al. Effects of retinal ganglion cell loss on magno-, parvo-, koniocellular pathways in the lateral geniculate nucleus and visual cortex in glaucoma. *Prog Retin Eye Res*, 2003, 22(4): 465~481
- 10 Grehn F, Prost M. Function of retinal nerve fibers depends on perfusion pressure: Neurophysiologic investigations during acute pressure elevation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1983, 24: 347~357
- 11 Leone J, Ochs S. Anoxic block and recovery of axoplasmic transport and electrical excitability of nerve. *J Neurobiol*, 1978, 9: 229~241
- 12 Shou T D, Liu J, Wang W, et al. Differential dendritic shrinkage of alpha and beta retinal ganglion cells in cats with chronic glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(7): 3005~3010
- 13 Weber A J, Chen H, Hubbard W C, et al. Experimental glaucoma and cell size, density, and number in the primate lateral geniculate nucleus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41(6): 1370~1379
- 14 Chen X, Sun C, Huang L X, et al. Selective loss of orientation column maps in visual cortex during brief elevation of intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44: 435~441

(2004-02-17 收稿, 2004-05-11 收修改稿)