文章编号:1000-5404(2008)22-2069-03

论著

眼球飞弹伤后脉络膜体积和血管形态变化的研究

吴 燕,陈丽峰,应 希,曾玉晓,王 一 (第三军医大学西南医院全军眼科中心,重庆 400038)

摘 要:目的 观察和测定兔眼飞弹伤后脉络膜的血管形态、体积变化,为研究飞弹伤后眼球血循环变化提供病理依据。**方法** 利用气钉枪在6 kg/cm^{2}始动气压下打击眼球建立兔眼飞弹伤模型,于伤后1、3 d和1、2、4周取眼球进行HE染色观察脉络膜病理学改变,并采用生物体视学方法测定脉络膜的体积和脉络膜血管的体积密度、体积。**结果** 伤后1 d,脉络膜血管体积与正常眼球相比明显减小,在伤后3 d达到最低值,之后逐渐恢复,在伤后4周仅为正常值的55.99%。脉络膜体积在伤后各时间点均较正常值显著减小,各时间点之间无统计学差异。**结论** 飞弹伤后脉络膜受到明显损害,脉络膜血管体积明显减小,可能导致脉络膜循环血量减少,从而影响飞弹伤后视网膜功能的恢复。

关键词:视网膜损伤;球内异物伤;脉络膜;体视学;兔
中图法分类号:R339.141;R773.4;R828.702 **文献标识码**:A

Vessel morphology of choroid in the injured eyes caused by projectiles in rabbits

WU Yan, CHEN Li-feng, YING Xi, ZENG Yu-xiao, WANG Yi (Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the structure and quantity of choroidal vessels in the injuried eyes caused by projectiles in rabbits. Methods The experimental retinal injury caused by intraocular foreign body was made by nail gun. We used HE staining to examine the pathological changes of choroid of the eyes enucleated on day 1 and 3, and in 1st, 2nd and 4th week after trauma. The choroid volume (Vc), blood vessel density of choroid (Vv) and blood vessel volume of choroid (Vb) were measured by stereological methods. Results Compared with normal choroid, the Vc, Vv and Vb of traumatic eyes were all significantly reduced, among which the Vv and Vb reached the lowest value on day 3 after trauma and recovered gradually. The Vb rose to a stable level at 4th week after trauma, about 55.99% of the normal value. The Vc got smaller than that of normal control, but showed no significant changes among different time points. Conclusion The morphologic changes of choroid in the injuried eyes caused by projectiles lead to reduced choroidal blood supply, which may be one of the factors influencing the vision function after trauma.

Key words: ocular trauma; intraocular foreign body; choroid; stereology; rabbit

球内异物伤合并视网膜损伤是战时和平时均常见的眼外伤,常损伤严重,预后差。该类眼外伤最常见的致伤原因是飞行物打击进入眼球引起[1],为方便研究,我们将此类眼外伤统称为眼球飞弹伤。对眼球飞弹伤低视力原因的研究,目前主要集中在视网膜损伤方面[2],而对血液动力学改变的研究较少。Kohno等[3]对眼外伤后脉络膜改变进行了ICGA检查,发现眼外伤后脉络膜充盈时间延迟,有充盈缺损。Martini等[4]发现损伤后眼血流量明显减少。但关于眼球飞弹伤后脉络膜血管形态、数量变化的研究,鲜见文献报道。

本研究以兔眼飞弹伤为实验动物模型,观察飞弹伤后脉络膜的血管变化情况,旨在为眼球飞弹伤后眼球血循环的研究提供病理依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康灰色家兔18只(36眼),3只(6眼)作为正常对照,15

基金项目:全军医学科研"十一五"计划科技攻关项目(06G072)
Supported by the Research Project of "Eleventh Five-year Plan" for Medical Science Development of PLA (06G072)
作者简介:吴 燕,女,重庆市万州区人,硕士研究生,主治医师,主要从事眼外伤方面的研究,现在成都军区总医院眼科工作。E-mail:wyan331@sohu.com
通信作者:王 一, E-mail:wangyieye@yahoo.com.cn
收稿日期:2008-02-27;修回日期:2008-03-20

只(30 眼)作为实验组。实验组双眼均建立兔眼飞弹伤模型。

1.2 实验材料

重庆弘愿机械有限公司生产的 WST 气钉枪,将射钉从尾部截取 4 mm,作为实验中金属异物(体积:1.2 mm×1.2 mm×4 mm,质量:0.025 g)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型的建立 用速眠新(0.2 ml/kg)肌肉注射麻醉后,将其取侧卧位置于实验台上,用眼科有齿镊钳夹直肌止端固定眼球位置,将气钉枪枪口紧贴眼球壁,使枪口上缘与角膜缘平齐(枪口上缘距发射口 2 mm),保证巩膜入射口在距角膜缘 2~3 mm 位置,入射方向选择颞上方。气钉枪始动气压选用 6 kg/cm^2。伤后 3 h 内行清创缝合术,结膜下注射妥布霉素,肌注青霉素 1 次/d,连续 3 d。

1.3.2 眼球取材及固定 实验组分成 5 组,每组 3 只(6 眼),分别于伤后 1、3 d 和 1、2、4 周兔耳缘静脉空气注射处死后摘除眼球,去前节,立即放入 4% 的甲醛溶液中,固定 7 d 后充分水洗,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,浸蜡后石蜡包埋。正常对照组用相同方法取眼球固定。

1.3.3 体视学测试脉络膜体积(Vc)、脉络膜血管体积密度(Vv)、脉络膜血管体积(Vb)

1.3.3.1 运用卡瓦列里原理计算脉络膜体积(Vc) 将眼球作若干等距随机切面,其总的脉络膜切面面积(ΣA)乘以切面之间的间距(t),即为该眼球脉络膜的体积:Vc = ΣA · t。我们通过连续切片的方法距 1.5 mm(t)(30 μm×46 张 +4 μm×30 张)取 1 张 4 μm 的切片常规 HE 染色。在 4 倍光学显微镜下给各部分脉络膜摄片,利用 Photoshop 拼接成一张完整的脉络膜照片。然后运用测点计数法计算脉络膜在切面上的面积(A)。A = ΣP · a(p) = ΣP · ΔX · ΔY(P 为落在脉络膜断面上的测点数;ΔX、ΔY 为两相邻测点之间在 X 轴和 Y 轴距离)。在整个计算过程中,脉络膜的放大倍数(n)是 12 倍,ΔX = ΔY = 7.2 mm。实际每个测点周围的面积 a(p) = ΔX · ΔY/n^2,代入公式 Vc = t · ΣA = t · a(p) · ΣP = ΣP × 1.5 mm × 7.2 mm × 7.2 mm/12^2。

1.3.3.2 脉络膜血管体积密度(Vv) 等距离所取的每张切片随机取 5 个视野,40 倍光学显微镜下摄片,用测点计数法计算脉络膜血管体积密度(Vv)。

1.3.3.3 脉络膜血管的体积(Vb) 等于脉络膜血管体积密度乘以脉络膜体积,Vb = Vv × Vc。

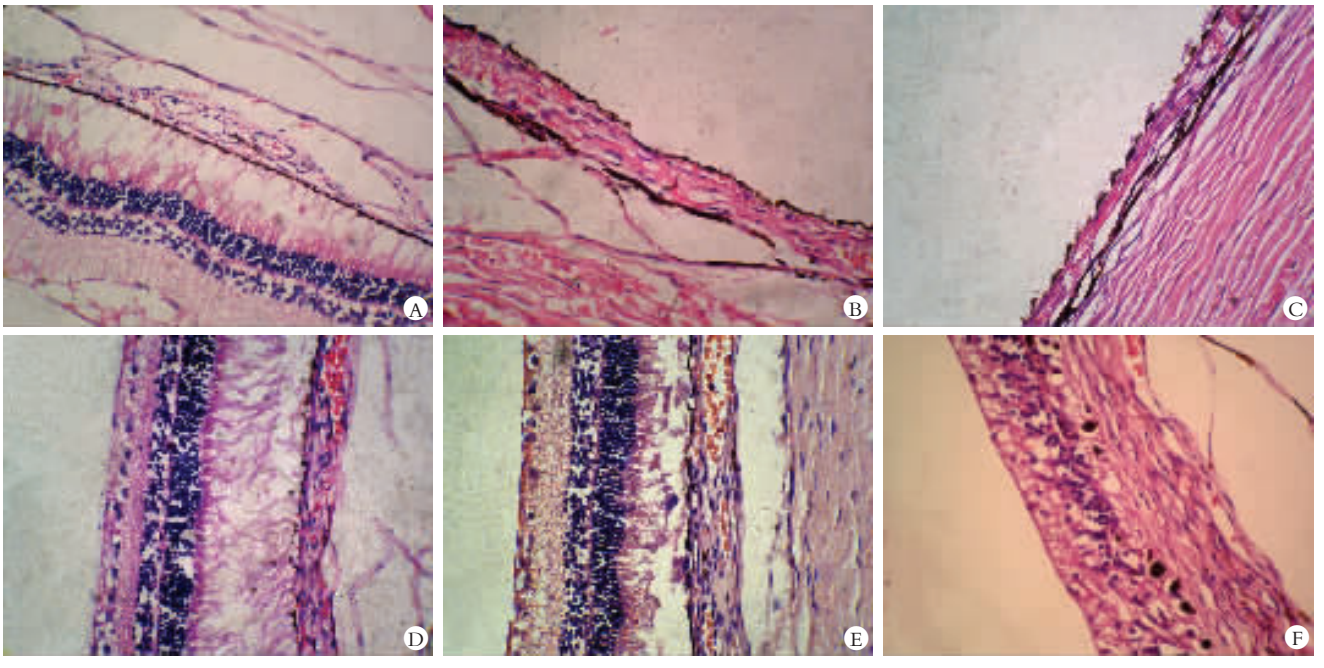
1.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件行单因素方差分析。

2 结果

2.1 眼球飞弹伤后脉络膜病理学观察

伤后 1 d 见脉络膜虽然不同程度变薄,但基质水肿,各层血管的管腔边界模糊,血管内红细胞淤积,血管外有红细胞漏出,视网膜脉络膜直接损伤处周围的脉络膜血管扩张充血明显,部分眼可见脉络膜下出血。伤后 3 d,脉络膜基质水肿血管渗出明显好转,血管较细,腔内红细胞团块状聚集,部分血管闭塞。伤后 1 周,脉络膜基质水肿基本消退,可见纤维细胞和色素细胞不均匀增生,各层血管结构清楚,血管腔内仍有红细胞聚集。伤后 2 周与 4 周脉络膜形态相似,脉络膜结构清晰,血管腔内红细胞仍较正常密集,纤维细胞和色素细胞增生而血管数量明显减少,异物直接损伤处视网膜和脉络膜结构均紊乱,胶原纤维组织大量增生,视网膜色素上皮层结构不清,可见团块状色素增生,血管组织明显减少(图 1)。



A:正常兔眼脉络膜;B:伤后 1 d;C:伤后 3 d;D:伤后 2 周;E:伤后 4 周;F:伤后 2 周异物直接损伤脉络膜处

图 1 异物损伤前后兔眼脉络膜病理学观察 (HE×400)

2.2　眼球飞弹伤脉络膜形态学定量分析

2.2.1　脉络膜体积(Vc)　　眼球飞弹伤后各时间点的脉络膜体积(Vc)与正常对照组相比均显著下降($P<0.01$),但各时间点之间无显著性差异($P>0.05$)。从变化趋势上看,伤后 3 d 脉络膜体积最小,之后逐渐上升,到伤后 4 周脉络膜体积为正常对照组的 81.65%(表 1)。

表 1　眼球飞弹伤后脉络膜体积(Vc)、血管体积密度(Vv)、血管体积(Vb)的变化($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	Vv	Vc(mm^3)	Vb(mm^3)
正常对照组	0.54 ± 0.05^{c}	68.99 ± 4.77^{c}	37.42 ± 3.79^{c}
伤后 1 d	0.34 ± 0.02^{ab}	55.44 ± 1.88^{a}	18.58 ± 1.41^{ab}
伤后 3 d	0.30 ± 0.02^{a}	53.60 ± 3.10^{a}	16.00 ± 1.44^{a}
伤后 1 周	0.33 ± 0.02^{a}	55.23 ± 1.49^{a}	18.03 ± 0.79^{a}
伤后 2 周	0.37 ± 0.03^{ac}	56.13 ± 2.19^{a}	20.61 ± 2.39^{ac}
伤后 4 周	0.37 ± 0.02^{ac}	56.33 ± 2.80^{a}	20.95 ± 1.96^{ac}

a:$P<0.01$,与正常对照组比较;b:$P<0.05$, c:$P<0.01$,与伤后 3 d 比较

2.2.2　脉络膜血管体积密度(Vv)　　眼球飞弹伤后 1 d 脉络膜血管体积密度较伤前显著下降($P<0.01$),3 d 降至最低,之后逐渐升高,但 1、3 d 和 1 周之间无显著性差异($P>0.05$)。伤后 2 周和 4 周显著高于伤后 3 d($P<0.05$),但仍显著低于正常对照组($P<0.01$)。

2.2.3　脉络膜血管体积(Vb)　　眼球飞弹伤后 1 d,脉络膜血管体积显著低于正常对照组($P<0.01$),3 d 降至最低,之后逐渐升高,但 1、3 d 和 1 周之间无显著性差异($P>0.05$),伤后 2 周和 4 周显著高于伤后 3 d($P<0.05$),但两者间无显著性差异($P>0.05$),且均显著低于正常对照组($P<0.01$),伤后 4 周仅为正常对照组的 55.99%。

3　讨论

本实验利用气钉枪在 6 kg/cm^2 始动气压下打击射钉进入眼球所建立的兔眼飞弹伤模型,其后极部视网膜损伤率高达 83.3%,与临床常见的飞弹伤类似,该模型较能反应临床飞弹伤的损伤规律[5]。

飞弹伤的致伤原理包括投射物的直接致伤和压力波的致伤作用[6]。由于含液组织中液体可压缩性很小,与气体相比压力波传播速度快,衰减慢,因此压力波对含液组织的损伤严重。朱莉等[7]研究发现眼外伤后眼血流量减少,眼动脉、颈内动脉和颈外动脉有不同程度痉挛、狭窄,表明外伤不仅直接影响伤眼的血管运动功能,而且创伤性刺激可通过同感反应影响对侧眼植物神经系统及皮层功能,使眼供血系统血液动力学异常。本研究中飞弹伤后脉络膜血管体积(Vb)明显下降,显然引起了脉络膜血循环的障碍,目前其发生的病理生理机制尚不清楚,但我们认为可能的原因有:①创伤刺激影响植物神经系统和皮层功能,不仅引起脉络膜血管收缩,还使眼动脉血管痉挛,导致脉络膜血管供血减少;②压力波沿血管传递,造成血液扰动,引起血管管壁破裂,或通透性增高,并引起血管内膜尤其内皮细胞和内弹力膜的损伤,导致血循环障碍(淤血、血淤滞、出血、血栓形成、水肿、渗出),部分血管闭塞,最后纤维化;③异物直接损伤视网膜脉络膜,导致血管数量减少。

脉络膜主要由血管组成,正常的脉络膜体积应随血管体积变化而变化。但本研究显示,飞弹伤后脉络膜血管体积(Vb)在伤后 3 d 降到最低之后缓慢回升,而脉络膜体积(Vc)在伤后各时间点之间并无差异。从脉络膜血管体积密度(Vv)的改变也能看出,伤后 4 周也不能恢复到正常值,说明脉络膜中血管的体积所占比例明显减小,基质中其他成分增多。在伤后早期,由于压力波的挤压和血管的收缩,脉络膜变薄,体积减小。炎症反应和血管损伤还导致基质出现水肿,1 周后炎症反应消退,基质内纤维组织开始增生,到伤后 2~4 周时脉络膜基质中见大量增生的胶原纤维,这些增生的胶原纤维组织使脉络膜的弹性降低,同时限制了血管的舒缩程度,以及胶原纤维一定程度的收缩,都使脉络膜体积不能恢复到正常水平。增生的纤维组织还影响了脉络膜的功能,使机械缓冲作用减小,血管和组织之间物质的交换以及能量的传递也受到影响。研究结果表明飞弹伤后脉络膜受到明显损害,脉络膜血管体积明显减小,可能导致脉络膜循环血量减少,从而影响飞弹伤后视网膜功能,提示我们在飞弹伤后早期应重视改善血循环的治疗。

参考文献:

[1] Lounsbury D E, Thach A B, Davi L B. Opthalmic care of the combat casualty[M]. Virginia: Office of The Surgeon General Department of the Army, 2003: 213-227.

[2] Charteris D G, Sethi C S, Lewis G P, *et al*. Proliferative vitreoretinopathy-developments in adjunctive treatment and retinal pathology[J]. Eye, 2002, 16(4): 369-374.

[3] Kohno T, Miki T, Shiraki K, *et al*. Indocyanine green angiographic features of choroidal rupture and choroidal vascular injury after contusion ocular injury[J]. Am J Ophthalmol, 2000, 129(1): 38-46.

[4] Martini E, Guiducci M, Campi L, *et al*. Ocular blood flow evaluation in injured and healthy fellow eyes[J]. Eur J Ophthalmol, 2005, 15(1): 48-55.

[5] 吴　燕, 王　蕊, 应　希, 等. 兔眼飞弹伤模型的建立及临床与组织病理学验证[J]. 创伤外科杂志, 2008, 10(4): 337-340.

[6] 付小兵, 王德文. 创伤修复基础[M]. 北京: 人民军医出版社, 1997: 56-65.

[7] 朱　莉, 宋　琛, 王素香, 等. 眼外伤的血液动力学改变及复方樟柳碱的治疗[J]. 中华眼科杂志, 1996, 32(2): 110-113.

(编辑　王小寒)