DOI:10.16016/j.1000-5404.201411165

专家述评

动物视觉功能检测的研究进展及其在动物视觉功能研究中的应用



张作明 (710032 西安,第四军医大学航空航天医学系航空航天临床医学教研室,教育部航空航天医学重点实验室)

[关键词] 视觉功能;动物模型;视觉功能检测
[中图法分类号] R770.43 [文献标志码] A

Progress on animal visual function testing and its application in visual function study

Zhang Zuoming (Department of Aerospace Clinical Medicine, Key Laboratory of Aerospace Medicine of Ministry of Education, Faculty of Aerospace Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi Province, 710032, China)

[**Abstract**] Human obtain the outside information mainly from the visual system which is important in human work and life. To improve or recover visual function is the most important indicator in clinical treatment, and visual function testing has special meaning in ophthalmology. The animal models are the key transformation from basic research to clinical outcome. Visual function testing in laboratory animals is also a very important indicator in animal study. For example, psychophysical methods are the main means to check human vision function, but not suitable for animals. Therefore, it needs to focus on research of visual function in animals and application of visual function testing in laboratory animals.

[**Key words**] visual function; animal model; visual function testing

Supported by the Project of National "Twelfth Five-year Plan" for Major New Drug Creation and Preparation (2011ZX09301-001). Corresponding author: Zhang Zuoming, E-mail: zhangzm@fmmu.edu.cn

视觉是人类获取外界信息的主要通道,对人类的生活、工作有重要的意义。预防视觉系统下降(或损伤)、消除可避免的眼盲是眼科领域的主要任务和我国人类健康的奋斗目标之一。视觉功能的改善或恢复是视觉系统疾病临床治疗的最重要指标,因此视觉功能检查在眼科有特殊的意义。而人类疾病动物模型是基础研究向临床转化的关键环节,在动物实验研究过程中,动物视觉功能的检测同样也是非常重要的指标。如心理物理学这类主观方法是检查人类视觉功能的主要手段,但是不适合于检测动物的视觉功能,因此需要建立适合动物视觉功能的检测方法和技术。目前在我国动物视觉功能研究及动物视觉功能检测领域存在以下几个方面的问题:一是缺乏针对动物视觉功能检测技术方法的研究,再是视觉功能检测技术的应用还不够普及,影响研究水平。为此,提出建议如下。

1 重视动物视觉功能检测方法的研究

临床视觉电生理学检测技术是目前公认的客观视觉功能检测技术,其中包括多种检查项目,如视网膜电图、视觉诱发电位等[1],多可以直接或经过改良后用于动物实验[2]。通过该技术可以了解视网膜各层神经元功能及视觉传导通路的功能变化,如视网膜疾病的诊断、药物疗效监测、药物安全性评价、生物学效应评价等。但是该技术还处于不断发展过程中,还需要进一步探索如动物形觉功能与电生理功能之间的联系、影像学改变与功能改变之间的联系,以及如视网膜

[基金项目] 国家"十二五"重大新药创制项目(2011ZX09301-001)
[通信作者] 张作明,男,博士,教授,博士研究生导师。现任中华航空航天医学学会委员,中华眼科学会视觉生理学组副组长,解放军航空航天医学专业委员会和实验动物学会委员,陕西省航空航天医学学会和眼科学会委员,中国医疗保健国际交流促进会氢分子医学专业委员会副主委;《中华航空航天医学》、《中华眼科杂志》、《*Medical Gas Research*》等杂志编委。获得陕西省科技进步二等奖 2 项;主编教材和专著各 1 部,发表 SCI 论文 20 余篇。主要从事飞行人员医学鉴定、视觉功能检查与评定、视网膜疾病方面的研究。E-mail: zhangzm@fmmu.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150505.1358.004.html(2015-05-05)

神经节细胞功能的检测技术等,使该技术能够更好地为各类研究提供支撑、服务。

通过临床视觉电生理技术往往可以了解某类细胞或信号传导的变化,与视觉有密切关系。但是视觉电生理功能检测指标的正常不代表一定有视觉,或者电生理学某项检测指标异常,不代表一定视觉功能异常,后者如进行性肌营养不良,ERG 呈负波形,但是视觉功能不受影响[3]。视觉行为学实验能够一定程度上弥补视觉电生理学实验的不足。目前常用的动物行为学实验,如经典的水迷宫实验,与视觉功能有关,但是不能比较准确地了解动物的视力范围。一种改良的水迷宫实验可以通过强迫选择性了解事先训练过的大鼠或小鼠视觉功能[4]。该方法的缺点是不能直接检测动物的视觉功能,而只能对在事先了解动物视觉功能的前提下观察某种干预因素的影响。还有一种视觉跟踪(head-tracking、视动性摆头)实验,即通过给予动物不同空间频率的运动视觉刺激,通过观察动物是否有与视觉刺激相关的摆头反应而确认其能够识别的最小空间频率、对比度或运动速度视标而了解动物的视觉功能[5-6]。该类行为学检测方法的优点是动物不需要进行事先训练。当然也可以通过视动性眼震代替视性摆头指标进行观察。视觉行为学实验易受主观因素的影响,因此建立规范化的方法、标准化的操作程序和客观化的评价指标是必要的。

2 普及视觉功能检测技术的应用

作为一个观察指标,视觉功能适用于各种发病机制、药理作用、疗效观察等方面的研究,而在以下 3 个方面更应当注意应用。

2.1 视觉功能检测技术在动物疾病模型筛选中的应用

人类疾病动物模型在生命科学领域研究中具有重要的作用,是基础研究向临床转化的关键环节。而在涉及动物实验方面的研究多属于跟踪性研究,很难获得原创新的科研成果,这一问题直到最近才在我国引起重视[7]。如国家自然科学基金委员会医学科学部在2011年的项目指南中将人类疾病的动物模型相关基础研究列入今后的倾斜支持范围[8]。疾病动物模型的复制可以通过基因工程、理化方法诱导和自发性疾病模型筛选等方式实现,上述方法和技术手段同样适用与视觉系统疾病动物模型的开发。

在眼科领域,我国尚缺少具有自主知识产权的疾病动物模型。据我们了解,我国目前只有 5 种自发性眼科疾病近交系动物模型,包括一种白内障模型(南京军区总医院建立,保存在军事医学科学院)、4 种视网膜疾病动物模型(第四军医大学建立、保存)。由于缺乏自主知识产权的疾病动物模型资源,因此在涉及动物实验方面的研究多属于跟踪性研究,很难获得原创新的科研成果。因此开发具有自主知识产权的疾病动物模型是项重要的基础性工作。筛选视觉系统疾病动物模型需要有完善的视觉功能和视觉相关功能的检查方法,才能够发现隐性的、以功能改变为主的疾病动物模型。选用合适的疾病动物模型开展研究,研究结果更接近于临床实际,也更容易转化。

相较于临床诊断的容易,眼科专业检查技术手段丰富,但往往不适用于小动物实验,有的甚至无法采用。比较简单的筛选方式就是肉眼观察,容易发现表现明显异常的突变动物,如毛色改变、角膜混浊、白内障等。而对于那些对毛色、生长、发育、繁殖没有受到明显影响,不经过特殊检查就不能发现疾病的动物的识别尤为困难,因而,常用动物视觉功能检查来识别,包括视觉行为学、视觉电生理学技术方法等。由于各实验室的研究目的不同,所采用的筛选策略也有所区别。美国 Jackson 实验室即采用间接眼底镜和 ERG 检查方法对大量自发突变和化学诱变的模式小鼠进行筛查[9]。我实验室采用视觉电生理方法,发现了多种自发性遗传性视网膜疾病动物,并逐步建立了近交系,筛选到了多种 ENU 诱导的视网膜疾病小鼠。目前,遗传工程能够高通量复制人类疾病动物模型。如果采用策略得当,将视觉功能检查技术与眼科影像学检查技术结合起来进行筛查,预期能够发现更多的具有眼部表型的疾病模型,从而丰富眼科疾病动物模型种类和资源,并利用这些研究资源获得原创性的研究结果。

2.2 视觉功能检测在药物开发、药物的眼毒理学评估

眼睛是重要的感觉器官,不可避免地受到全身及局部药物的影响,其中视网膜更加敏感。临床上许多药物可导致多种视觉症状及视网膜病变,早期发现这些病变对调整用药、保护视觉功能具有重要的意义[10]。

眼毒性是药物安全性评价的一个重要指标,通常采用行为学、视觉电生理学和组织病理学方法进行观察[11-15]。最近也有人提出将循环中的 MicroRNA 作为一个监测视网膜毒性的生物标志物[16],使得对药物对视网膜的毒性观察更加方便,但是仍然需要与传统的方法进行对比观察。在我国药物毒性研究过程中只进行简单的眼部观察(如裂隙灯和眼底镜检查),或做眼组织病理学观察。如在国家《中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则》(2005)中规定,当眼科检查发现异常时才要求进行眼组织病理学观察。事实上,很多药物的眼毒性作用仅表现为功能性障碍,不能被一般的眼部检查所发现,也不一定有病理变化,因此该指导原则尚有不完善的地方。由于实验动物视觉相关功能评价需要较强专业的知识背景和专业技能,以及昂贵的设备条件,我国各药物研发机构和医药企业多建立

了通用性的平台,或心脑血管疾病和肿瘤等重要疾病的研究平台,尚缺乏眼科方面的专业服务平台和专业人员参与,尚未建立起眼毒性评价的体系,应当引起重视。

视网膜微血管是唯一可视的微血管,其功能的变化可以反映心脑微循环的改变。眼底照相、荧光血管造影、脉络膜血管造影、OCT 等手段可以从不同角度反映视网膜微循环情况,而将这些影像学手段与视觉功能检查手段的有机结合,则不仅可以作为心脑血管疾病、神经系统疾病药物药理效应的重要指标,同样可以作为药物安全性的观察指标,因此对药物开发具有重要作用。目前有专门的用于小动物影像学观察的系统,如德国罗兰公司的 RETImap animal 系统和美国 Phonex 公司 Micron IV Retinal Imaging Microscope 等,同时也可以做视网膜电图等功能检查。

2.3 视觉功能检测在武器装备的生物学效应评估

武器装备的生物学效应是军事医学领域重点关注的问题,如美国空军有专门的部门对此进行研究[17]。视觉对军事作业有特殊的意义,特别是对于飞行人员等特种作业人员尤为重要。眼睛也是某些新概念武器的直接作用靶点或效应器官,一些武器或者措施就是通过破坏人的视觉功能而达到军事目的,如各类激光武器、闪光弹等,其他一些武器,如电离辐射、电磁辐射、化学毒剂或有害制剂等都对视觉功能有不同程度的影响。这些武器装备对视觉功能的生物学效应均需要进行评价,其中对视觉功能的评价是在视觉系统中最重要的指标,需要采用实验动物作为人类替身去获取科研数据[18]。对这些指标的评估不仅涉及武器的杀伤能力,还需要考虑到伦理学问题[19]。当然,关于武器生物学效应的资料往往处于保密状态,对于非武器系统生物学效应的研究更加广泛,且可获取到公开的资料[20]。因此,建设一个专业性强,且具有明显特色的动物视觉检测服务平台,不仅为各科研机构或药物企业提供资源和服务,产生一定社会和经济效益外,还将用于武器开发、特殊环境因子对视觉系统的影响等,也具有重要的军事意义。

3 展望

总之,动物视觉功能检测在眼科领域有特殊的意义和价值,是评价视觉系统损伤、治疗效果和各种因子生物学效应的最重要指标。但是检测动物视觉功能的方法并不完善,因此需要结合我们的国情和实验目的需要,开发出特色的检测技术和方法。鉴于已有的动物视觉功能检测技术方法在我国还没有得到广泛开展,使研究存在瑕疵或不够完善,建议应当将视觉功能指标主动应用于各项基础研究之中,全面反映实验研究的价值和意义,提高我国眼科领域的研究水平。

参考文献:

[1] http://www.iscev.org/standards/index.html.
[2] 张作明, 顾永昊, 郭群, 等. 小鼠与大鼠视网膜电图和闪光视觉诱发电位记录标准化方案建议[J]. 眼科新进展, 2004, 24(2): 81-83.
[3] 杨渝, 张成, 盛文利, 等. 进行性肌营养不良患者视网膜眼电图表型与临床分型及基因型的关系[J]. 中华医学遗传学杂志, 2001, 18(1): 32-34.
[4] http://sbfnl.stanford.edu/cs/bm/sm/bmst_visual.html.
[5] Thomas B B, Seiler M J, Sadda S R, *et al*. Optokinetic test to evaluate visual acuity of each eye independently[J]. J Neurosci Methods, 2004, 138(1/2): 7-13.
[6] Prusky G T, West P W, Douglas R M. Behavioral assessment of visual acuity in mice and rats[J]. Vision Res, 2000, 40(16): 2201-2209.
[7] 江虎军, 冯锋, 董尔丹. 模式动物与人类疾病的动物模型[J]. 生命科学, 2011, 23(3): 234-238.
[8] 国家自然科学基金委员会. 2011 年度国家自然科学基金项目指南[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 56-57.
[9] Chang B, Hurd R, Wang J, *et al*. Survey of common eye diseases in laboratory mouse strains[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(7): 4974-4981.
[10] 肖骏. 药物导致的视网膜病变[J]. 中国实用眼科杂志, 2006, 24(9): 883-885.
[11] Omoti A E, Omoti C E. Ocular toxicity of systemic anticancer chemotherapy[J]. Pharm Pract (Granada), 2006, 4(2): 55-59.
[12] Deeti S, OFarrell S, Kennedy B N. Early safety assessment of human oculotoxic drugs using the zebrafish visualmotor response[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2014, 69(1): 1-8.
[13] Renouf D J, Velazquez-Martin J P, Simpson R, *et al*. Ocular toxicity of targeted therapies[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(26): 3277-3286.
[14] Agustoni F, Platania M, Vitali M, *et al*. Emerging toxicities in the treatment of non-small cell lung cancer: ocular disorders[J]. Cancer Treat Rev, 2014, 40(1): 197-203.
[15] Polat N, Ciftci O, Cetin A, *et al*. Toxic effects of systemic cisplatin on rat eyes and the protective effect of hesperidin against this toxicity[J]. Cutan Ocul Toxicol, 2015, 16: 1-7.
[16] Peng Q, Huang W, John-Baptiste A. Circulating microRNAs as biomarkers of retinal toxicity[J]. J Appl Toxicol, 2014, 34(6): 695-702.
[17] http://www.wpafb.af.mil/shared/media/document/AFD-070418-032.pdf.
[18] Elder J A. Ocular effects of radiofrequency energy[J]. Bioelectromagnetics, 2003, Suppl 6: S148-S161.
[19] Seet B, Wong T Y. Military laser weapons: current controversies[J]. Ophthalmic Epidemiol, 2001, 8(4): 215-226.
[20] http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_035.pdf.

(**收稿**:2014-11-18;**修回**:2014-12-12)
(编辑 张 维)