DOI:10.16016/j.2097-0927.202305103

彩色光瞳孔测量法评估视网膜色素变性盲人视功能的临床意义

赵 赫,王 浩,翁传煌,刘 勇,阴正勤 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院眼科

[摘要] **目的** 研究彩色光瞳孔测量法量化评估视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)盲人视网膜功能的可行性和有效性。**方法** 纳入2022年1-12月在本院眼科就诊并达到法律盲标准的RP盲人46例(81眼),并根据最佳矫正视力分为无形觉组(no form perception,NFP)、微弱形觉组(faint form perception,FFP)、形觉组(form perception,FP)。另招募18名健康志愿者(18只眼)作为对照。入组病例接受彩色眼底照相、光学相干断层扫描、眼底自发荧光和闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential,FVEP)等眼科常规检查,并收集OCT外核层厚度、FAF高荧光区垂径长度、FVEP P2波幅值。而后行彩色光瞳孔测量检查,光刺激模式为可激活视杆细胞的低强度蓝光、激活视锥细胞的高强度红光,评价指标为瞳孔瞬时收缩幅值(transient pupil construction amplitude,TPCA)、收缩潜时、最大收缩速度(maximal contraction velocity,MCV)和收缩时间。**结果** 在低强度蓝光刺激下,超过半数RP盲人视杆细胞瞳孔对光反应消失。在高强度红光刺激下,RP盲人视锥细胞瞳孔对光反应大部分保留且明显降低。各RP盲人组视锥细胞瞳孔反应的TPCA、MCV均较对照组有显著降低($P<0.05$),收缩潜时较对照组显著升高($P<0.05$)。NFP组瞳孔TPCA、MCV较FP组显著降低($P<0.05$),收缩潜时较FP组显著升高($P<0.05$)。视锥细胞瞳孔反应的TPCA、MCV分别与视网膜外核层厚度、自发荧光垂径和FVEP P2波幅值呈显著正相关($P<0.05$),收缩潜时与视网膜外核层厚度、FVEP P2波幅值呈显著负相关($P<0.05$)。**结论** 彩色瞳孔测量法能够定量区分有形觉视力和无形觉视力的RP盲人视网膜功能差异;彩色光瞳孔测量结果改变与病变视网膜形态学和功能学的变化一致。

[关键词] 瞳孔光反射;法律定义盲人;功能学检测
[中图法分类号] R181.32; R770.425; R774.13 [文献标志码] A

Clinical significance of chromatic pupillometry in evaluating visual function in blind patients with retinitis pigmentosa

ZHAO He, WANG Hao, WENG Chuanhuang, LIU Yong, YIN Zhengqin Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To study the feasibility and effectiveness of quantitative evaluation of retinal function in blind patients with retinitis pigmentosa (RP) by chromatic pupillometry. **Methods** A total of 46 blind RP patients (81 eyes) who met the legal blindness standard admitted in our department from January 2022 to December 2022 were recruited in this study. According to their best-corrected visual acuity, they were divided into the no form perception (NFP) group, faint form perception (FFP) group, and form perception (FP) group. Another 18 healthy volunteers (18 eyes) were enrolled as controls. The subjects received routine ophthalmic examinations such as color fundus photography, optical coherence tomography (OCT), fundus autofluorescence (FAF), and flash visual evoked potential (FVEP). The thickness of the outer nuclear layer of OCT, vertical diameter of the FAF high fluorescence area, and amplitude of FVEP P2 were

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81770972,81970843)
[通信作者] 阴正勤,E-mail:qinzyin@aliyun.com

2097-0927/Copyright © 2023, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

collected. Then chromatic pupillometry was performed. The light stimulation mode of low-intensity blue light was conducted to activate rods, and of high-intensity red light to activate cones. The evaluation indexes included transient pupil construction amplitude (TPCA), latency, maximal contraction velocity (MCV), and contraction duration. **Results** Under the mode of low-intensity blue light stimulation, more than half of the blind RP patients had rods pupil light reaction disappeared. Under the mode of high-intensity red light stimulation, the blind RP patients though retained pupil response of cone cells to light mostly but the response was significantly weakened. Compared with the control group, the TPCA and MCV of the cones' pupillary responses were significantly lower ($P<0.05$), and the contraction latency was obviously higher ($P<0.05$) in all RP blind groups. The NFP group had significantly lower TPCA and MCV and higher contraction latency when compared with the FP group (both $P<0.05$). Positively correlations were observed in the TPCA and MCV of the cones' pupillary responses with the thickness of the outer nuclear layer of the retina, the vertical diameter of autofluorescence, and the amplitude of the FVEP P2 wave, respectively ($P<0.05$). The latency of contraction was significantly negatively correlated with the thickness of the outer nuclear layer of the retina and the amplitude of FVEP P2 wave ($P<0.05$). **Conclusion** Chromatic pupillometry can quantitatively distinguish the difference in retinal function between blind RP patients with and without formal perceptual vision. The changes in chromatic pupillometric results are consistent with the changes in retinal morphology and function.

[**Key words**] pupil light response; legal blindness; functional testing

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81770972, 81970843). Corresponding author: YIN Zhengqin, E-mail: qinzyin@aliyun.com

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是一类严重威胁人类视觉健康的不可逆致盲性遗传性眼病,目前尚缺乏公认有效治疗手段。迄今为止,基因疗法、干细胞移植疗法[1]已完成临床试验并显示出一定的治疗的潜力[2],光基因疗法也完成概念验证并取得突破性进展[3]。视力低于0.05或视野半径小于10度的RP盲人往往是这些新型治疗的主要受益者。为了确定治疗的适应证以及准确评估治疗效果,需要准确评估患者视功能状态[4]。由于晚期RP盲人逐渐丧失色觉、形觉和光觉,使用常规视网膜电图检查难以评估RP盲人微弱的视功能状况,而心理物理学检查主观性强、变异度大[5],难以满足准确客观评估视功能的需求。因此如何对RP盲人的视网膜功能进行准确、客观的评估成为目前极为迫切的需求。

瞳孔对光反应(pupil light reflex,PLR)是一种客观反映视功能的生理反射[6],其传入神经冲动由视锥、视杆细胞介导产生[7]。根据不同感光细胞感光特性,可通过对特定强度和波长的光刺激单独激活由相应通路诱发的瞳孔反应。视杆细胞表达的视蛋白为视紫红质,对短波长蓝光敏感,在所有视蛋白中具有最低的感光阈值($10^7 \sim 10^8$ photons cm^2/s),能够感知黑暗环境中的微弱光线变化[8]。视锥细胞视蛋白可吸收光谱广泛(420 ~ 563 nm),并且感光阈值为10^{12} photons cm^2/s,能够根据明亮环境中的对比度变化产生神经冲动[9]。因此不同强度下的红、蓝光能够分别单独激活由视杆和视锥细胞驱动产生的瞳孔对光反应,进而评估外层视网膜功能。彩色光瞳孔测量正是基于这一原理开发的新型检测技术。因其简便、无创、敏感度高的特点,在眼科视觉功能评估领域具有重要的应用价值。本课题组前期使用蓝光刺激检测RP患者视杆细胞活动[10],并用于评估干细胞移植治疗RP的疗效[11],初步验证了该技术检测RP盲人视功能的可行性。然而,彩色光瞳孔测量法能否量化区分不同视力损害程度RP盲人的视网膜残存功能,目前尚不清楚。

此外,光学相干断层扫描(optical coherence tomography,OCT)、眼底自发荧光(fundus autofluorescence,FAF)等光学成像技术所提供的影像学信息,可反映视网膜组织结构的健康状态[12-13],侧面为视网膜功能评估提供依据。闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential,FVEP)能够检测从感光细胞到视皮层整体视通路的生物电功能[14],可用于检测盲人的视功能损害。将彩色光瞳孔测量结果与现有能够反映RP盲人视网膜结构和功能状态的检查指标进行比较分析,对于佐证该检测方法的准确性十分必要。

基于此,本研究首先比较不同RP盲人视杆细胞、视锥细胞驱动的瞳孔反应变化,评估彩色光瞳孔测量

法客观量化检测 RP 盲人视网膜功能的可行性。而后将 RP 盲人的彩色光瞳孔测量结果与 OCT、FAF、FVEP 等指标进行相关性分析,旨在验证彩色光瞳孔测量法是否有望作为反映 RP 盲人残余视网膜功能的评价指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2022 年 1-12 月在陆军军医大学第一附属医院眼科就诊并达到法律盲标准的 RP 患者(后统称 RP 盲人),共 46 例(81 眼)。本研究经过陆军军医大学第一附属医院伦理委员会审核批准(KY202221),并获得了患者或其家属的书面知情同意。

纳入标准:①年龄≥18 岁;②临床诊断为视网膜色素变性;③最佳矫正视力(best-corrected visual acuity,BCVA)小于 0.05 或中央注视点周围视野半径小于 10°(法律定义盲)。

排除标准:①合并其他影响视功能器质性眼病,包括青光眼、黄斑前膜/裂孔、视网膜脱离、视网膜血管阻塞、脉络膜新生血管等;②存在严重眼部屈光介质混浊,包括角膜病变、白内障、严重的玻璃体混浊等;③近 6 个月接受眼内手术;④近 1 个月内服用或局部使用影响瞳孔活动的药物;⑤因罹患全身系统疾病或精神疾病无法完成检查者。

另招募 18 例健康志愿者(18 只眼)作为对照组(healthy control,HC)进行彩色光瞳孔测量法检查。入组标准:①年龄 18~65 岁;②任一眼最佳矫正视力大于 1.0;③无任何眼部器质性疾病;④任一眼屈光度不大于 3.00 D;⑤近 1 个月内无服用或局部使用任何影响瞳孔药物史;⑥无严重躯体疾病或精神疾病病史。

1.2 方法

1.2.1 试验设计与分组 由 2 名具有高级职称的眼科医师确定临床诊断为 RP 的患者,对入组的 RP 盲人进行包括彩色眼底照相、OCT、FAF 和视觉电生理等眼科常规检查,并确定最终纳入研究的 RP 盲人眼视野半径均小于 10°。根据 BCVA 值将 RP 盲人分为 3 组,具体为无形觉组(no form perception,NFP):BCVA 为无光感或光感;微弱形觉组(faint form perception,FFP):BCVA 为手动或者数指;形觉组(form perception,FP)BCVA 为 0.01~0.3。

1.2.2 眼科常规检查数据收集 受试者完成眼科常规检查后收集以下指标。①视网膜外核层厚度:完成 OCT 图像采集后使用海德堡 OCT 内置 EYE EXPLORER 软件对各层视网膜厚度进行分析;以黄斑中心凹为中心,分别测量了鼻侧 500、1 000 μm 处,颞侧 500、1 000 μm 处视网膜 4 个位置的厚度,而后取均值作为外核层厚度指标[15]。②自发荧光垂径:采用海德堡 HRA2 图像分析软件,测量高荧光区经黄斑中心的垂径长度,作为 AF 的量化评价指标[13]。③FVEP P2 波幅值:重复完成 3 次电信号采集后,收集每次记录的 P2 波幅值,取均值作为 FVEP 反映强弱的量化指标。

1.2.3 彩色光瞳孔测量检查 彩色光瞳孔测量由视觉监测系统(法国,Metrovision)完成。视觉监控系统包括刺激产生单元和记录单元,其中由 LED 驱动的 Ganzfeld 刺激器可产生波长范围 414~660 nm、光照强度-5~3 log cd/m^2 的全视野单色光刺激,内置高分辨率(200 Hz 刷新率)近红外相机,可在黑暗环境下对受试者的瞳孔进行扫描测量。瞳孔检测方案是基于课题组自主设计的瞳孔检测方法[10,15],并根据文献[16]优化后制定,共包括 2 个光刺激测试。测试 1:视杆细胞瞳孔反应测试。受试者经 10 min 暗适应后,接受低强度蓝光[(487±20)nm,-1 log cd/m^2]刺激,刺激持续时间 1 s,刺激记录周期为 7.5 s。测试 2:视锥细胞瞳孔反应测试。受试者经 10 min 明适应后,接受高强度红光[(630±20) nm,2 log cd/m^2]刺激,刺激持续时间 1 s,刺激记录周期为 7.5 s。

每个测试重复 3 次。在每次测试中,刺激眼与记录眼为同一只眼,同时对侧眼需遮光处理以避免干扰。为了消除个体间瞳孔基线差异的影响,本研究通过计算相对瞳孔直径(relative pupillary constriction,RPC),以实现对每个受检者的瞳孔反应归一化[17]。光刺激测试开始前 5 s 的平均瞳孔直径定义基线瞳孔直径 D0,光刺激后实时记录的瞳孔直径定义为 Dt,RPC 通过以下公式计算:RPC=(D0-Dt)/D0。而后根据 RPC 分别计算瞳孔瞬时收缩幅值(transient pupil construction amplitude,TPCA)、收缩潜时、最大收缩速度(maximal contraction velocity,MCV)和收缩时间。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 22.0、GraphPad Prism 8.0、Excel 软件进行统计分析和图表绘制。不同组别的性别比较采用卡方检验。通过 Shapiro-Wilk 法检验样本数据正态性。对于符合正态分布的数据,进行独立样本 t 检验或方差分析。否则采用非参数方法,包括 Mann-Whitney 和 Kruskal-Wallis 检验。方差分析或 Kruskal-Wallis 检验的事后分析采用 Bonferroni 校正。瞳孔测量值与 BCVA、FVEP、OCT 结果之间的相关性采用 Spearman 相关分析。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 基本临床资料

共纳入 46 例 RP 盲人的 81 只眼。3 组 RP 盲人在年龄($P=0.60$, $F=0.64$)和性别($P=0.87$, $\chi^2=0.73$)方面差异无统计学意义,见表 1。

表 1 RP 盲人的基本资料

组别	眼数/患者例数	性别(男/女)	年龄/岁($\bar{x}\pm s$)	最佳矫正视力	视野半径/°
NFP 组	27/14	6/8	47.11±12.18	NLP 或 LP	0
FFP 组	28/18	8/10	44.58±12.45	HM 或 CF	0
FP 组	26/14	8/6	39.72±14.09	0.01~0.50	<10

3 组 RP 盲人和健康志愿者(HC 组)的眼科常规检查见图 1。在彩色眼底照相中,RP 盲人视网膜出现视网膜萎缩和骨针状色素沉着,眼底自发荧光显示 RP 盲人视网膜色素上皮进行性丢失。黄斑 OCT 显示 RP 盲人视网膜厚度减少,结构层次紊乱,视野检查提示 RP 盲人视野缩小甚至完全丧失。

2.2 RP 盲人彩色光瞳孔测量结果特征

2.2.1 RP 盲人视杆细胞瞳孔对光反应大部分消失

在低强度蓝光刺激下,RP 盲人视杆细胞 PLR 严重降低甚至消失(图 2A~C),仅有 27 只眼(33.33%)可记录到视杆细胞 PLR,其中 NFP 组绝大部分消失,仅有 3 只眼(3/27,11.11%)可记录到 PLR;FFP 组和 FP 组的视杆细胞 PLR 严重降低,分别有 12 只眼(12/28,42.86%)和 12 只眼(12/26,46.15%),见表 2。各 RP 盲人组 TPCA 和 MCV 均显著小于 HC 组($P<0.05$,图 3A、C),收缩潜时均显著大于 HC 组($P<0.05$,图 3B),收缩时间与 HC 组差异无统计学意义(图 3D)。各 RP 盲人组间比较提示:各组间 TPCA、收缩潜时、MCV、收缩时间差异均无统计学意义。

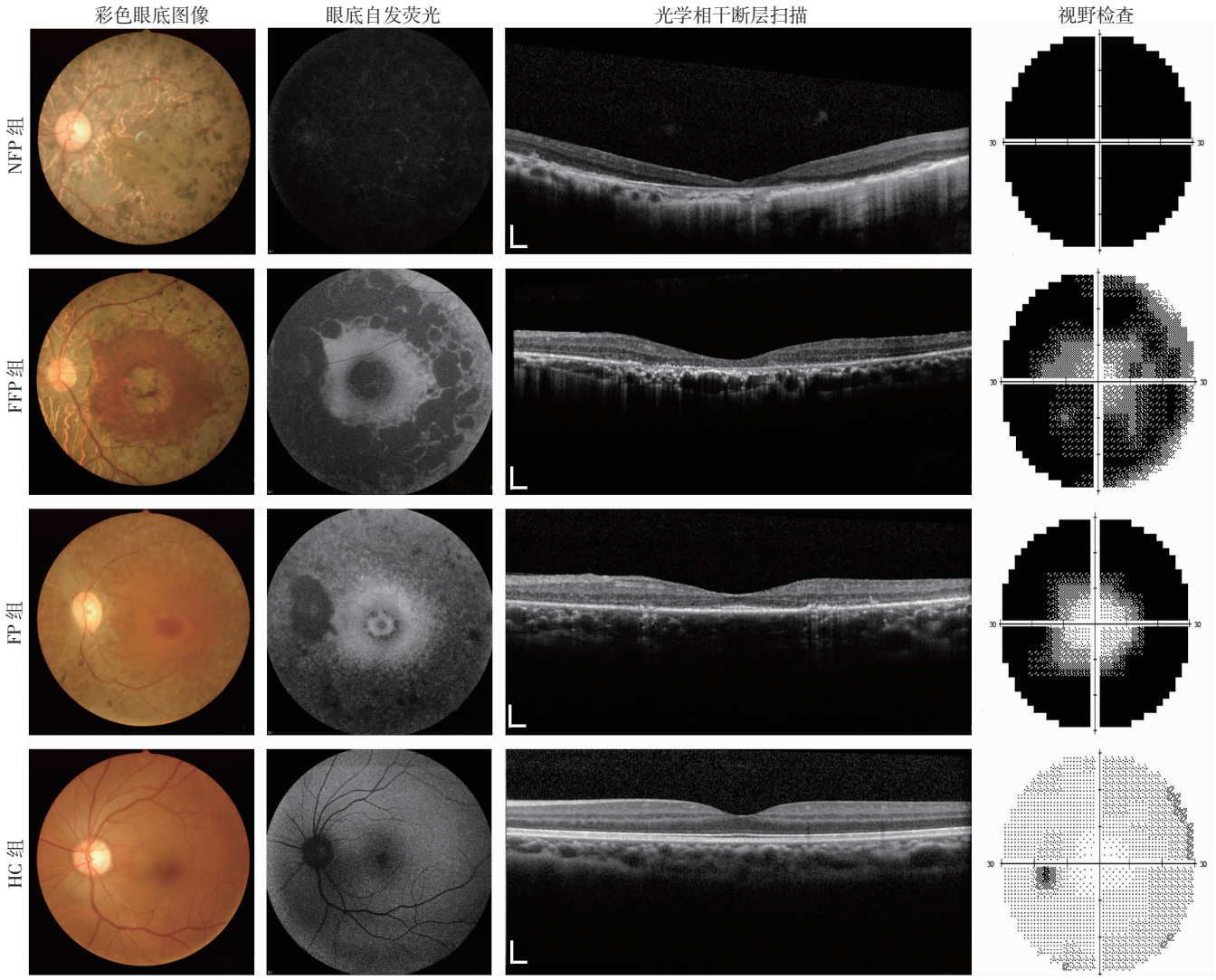
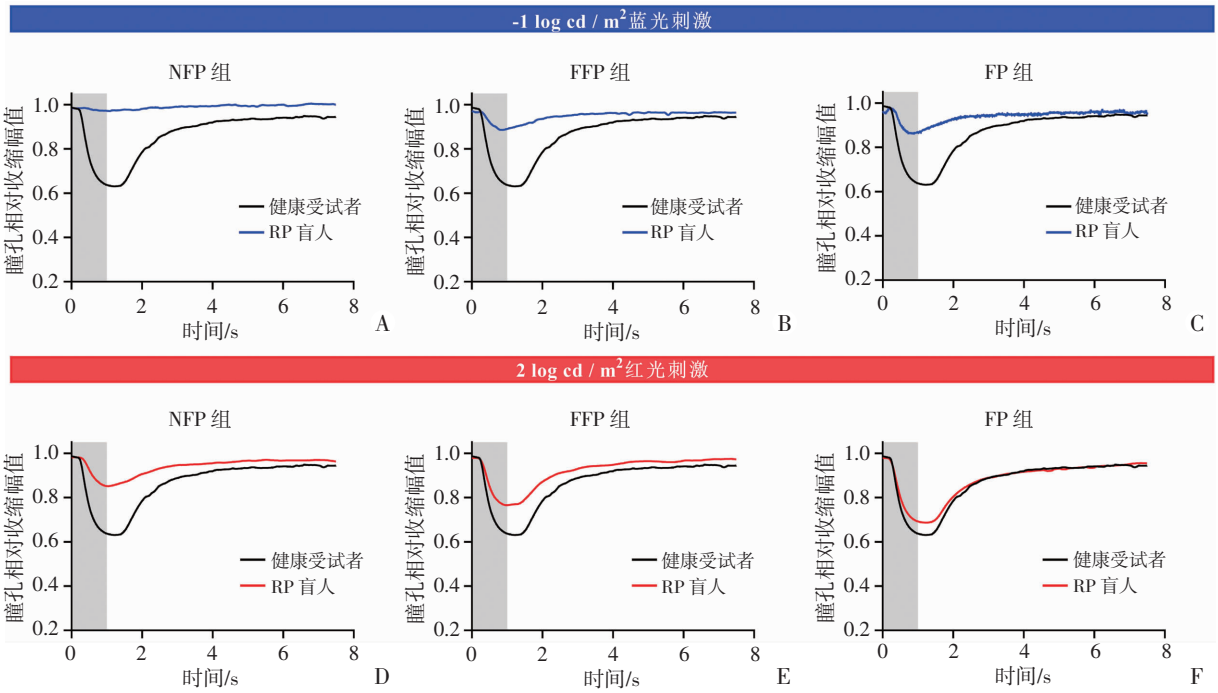


图 1 RP 盲人及健康志愿者常规眼科检查示意图



A~C:-1 log cd/m² 蓝光刺激下 RP 盲人和健康受试者的瞳孔对光反应曲线　蓝色曲线表示 RP 盲人平均反应,黑色曲线表示健康受试者平均反应,灰色阴影区域代表光刺激;D~F:2 log cd/m² 红光刺激下 RP 盲人和健康受试者的瞳孔对光反应曲线　红色曲线表示 RP 盲人平均反应,黑色曲线表示健康受试者平均反应,灰色阴影区域代表光刺激,灰色阴影区域代表光刺激

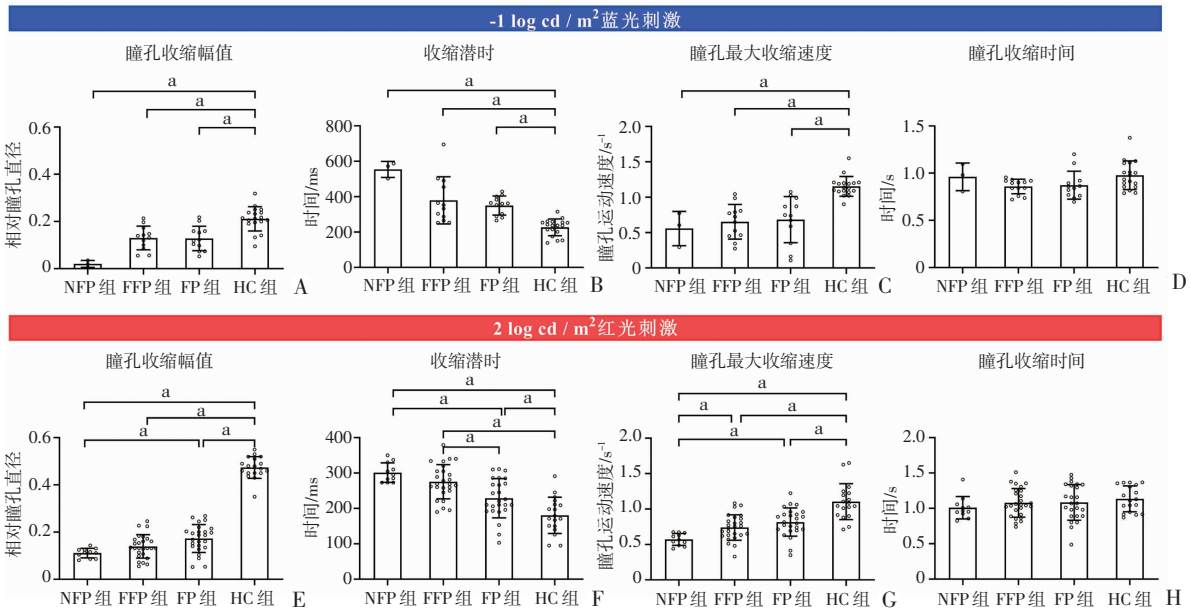
图 2　红光和蓝光刺激下平均瞳孔对光反应曲线

表 2　各组彩色光瞳孔测量结果($\bar{x}\pm s$)

组别	n	瞳孔收缩幅值	收缩潜时/ms	瞳孔最大收缩速度/s^{-1}	瞳孔收缩时间/s
-1 log cd/m² 蓝光刺激					
NFP 组	3	0.02±0.02	594.51±89.68	0.47±0.26	0.99±0.13
FFP 组	12	0.16±0.05	374.72±125.3	0.72±0.29	0.86±0.07
FP 组	12	0.24±0.04	355.22±52.62	0.65±0.32	0.87±0.16
HC 组	18	0.21±0.05	224.51±48.28	1.15±0.14	0.98±0.15
2 log cd/m² 红光刺激					
NFP 组	11	0.11±0.02	0.57±0.08	301.33±27.57	1.02±0.23
FFP 组	26	0.14±0.05	0.74±0.18	275.52±48.32	1.09±0.22
FP 组	25	0.17±0.06	0.82±0.22	228.81±55.36	1.07±0.25
HC 组	18	0.47±0.05	1.13±0.25	180.62±51.14	1.13±0.18

2.2.2　RP 盲人视锥细胞瞳孔对光反应明显减弱　在高强度红光刺激下,RP 盲人中 62 只眼(76.54%)可记录到视杆细胞驱动的 PLR(图 2D~F),其中 NFP 组 11 只眼(11/27,40.74%)、FFP 组 26 只眼(26/28,92.68%)、FP 组 25 只眼(25/26,96.15%)。3 组 RP 盲人的 TPCA 和 MCV 均显著小于 HC 组($P<0.05$,图 3E、G),收缩潜时均显著大于 HC 组($P<0.05$,图 3F),收缩时间与 HC 组差异无统计学意义(图 3H)。

3 组 RP 盲人组间比较显示:NFP 组 TPCA 均显著小于 FP 组($P<0.05$),FFP 组与 FP 组 TPCA 差异无统计学意义;NFP 组、FFP 组收缩潜时均显著小于 FP 组($P<0.05$);NFP 组 MCV 均显著小于 FFP 组和 FP 组($P<0.05$),FFP 组与 FP 组 MCV 差异无统计学意义。



a: $P<0.01$

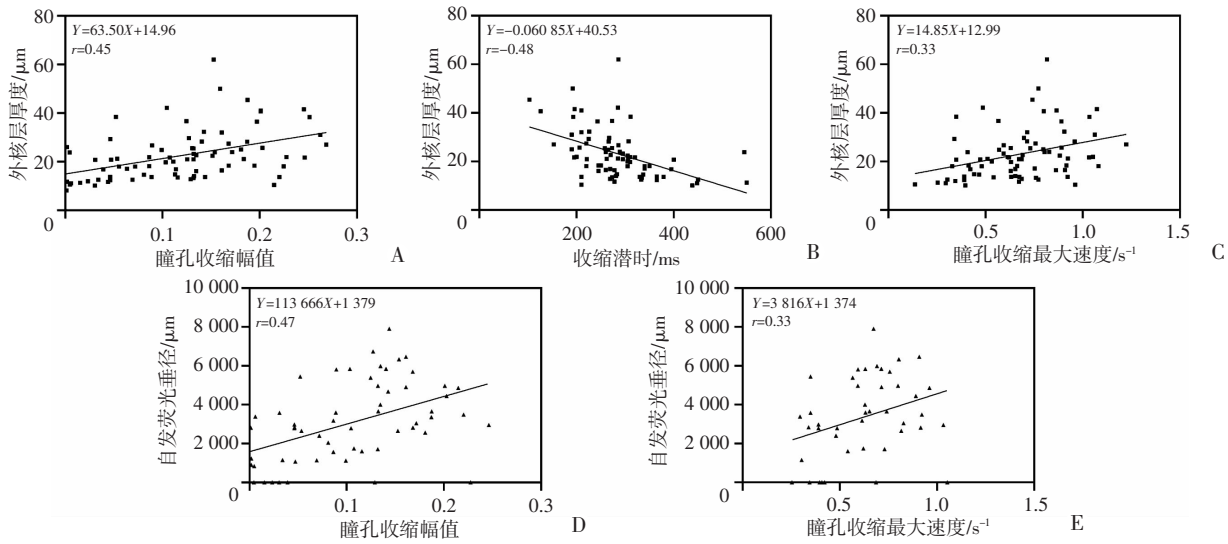
A~D:−1 log cd/m² 蓝光刺激下各 RP 盲人组和对照组间瞳孔收缩幅值、收缩潜时、瞳孔最大收缩速度和瞳孔收缩时间的比较(样本量 NFP=3,FFP=12,FP=12,HC=18);E~H:2 log cd/m² 红光刺激下各 RP 盲人组和对照组间瞳孔收缩幅值、收缩潜时、瞳孔最大收缩速度和瞳孔收缩时间的比较(样本量 NFP=11,FFP=26,FP=25,HC=18)

图 3　各 RP 盲人组和对照组的瞳孔反应测量值的统计结果

2.3　瞳孔测量值与视网膜结构指标相关性分析

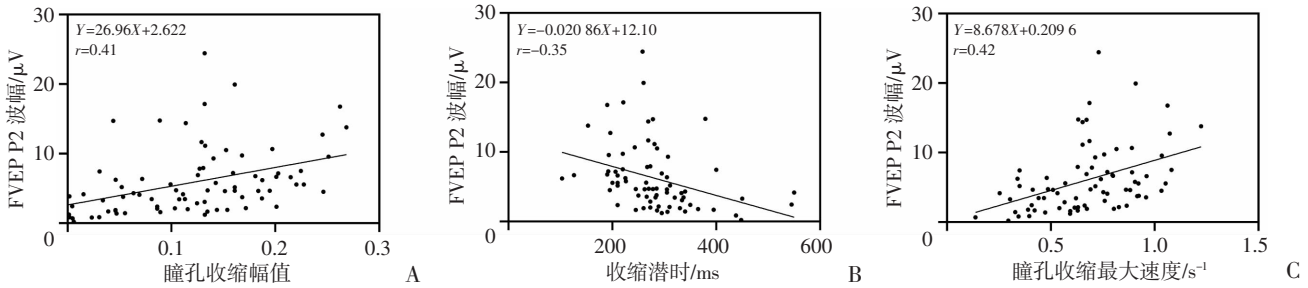
由于大部分 RP 盲人的视杆细胞 PLR 消失,能提供的信息较为有限,难以量化评估残余视网膜功能,因此将视锥细胞瞳孔测量结果与反应视网膜结构的 OCT 结果进行 Spearman 相关性分析,提示 TPCA、收缩潜时、MCV 与 OCT 外核层厚度差异有统计学意义($P<0.01$),其中 TPCA、MCV 与 OCT 外核层厚度呈正相关,收缩潜时与外核呈厚度呈负相关(图 4A~C)。

RP 盲人 FAF 剩余的荧光代表残余的色素上皮,可间接反映感光细胞剩余的数量,将 FAF 结果与视锥细胞瞳孔测量结果进行 Spearman 相关性分析,提示 TPCA、MCV 与自发荧光垂径的差异有统计学意义($P<0.01$),且呈正相关(图 4D、E)。以上结果说明,视锥细胞瞳孔反应的结果能够正确反映外层视网膜的结构改变。



A~C:视锥细胞瞳孔测量结果与 OCT 视网膜外核层厚度的相关性分析;D、E:视锥细胞瞳孔测量结果与自发荧光垂径的相关性分析

图 4　各 RP 盲人瞳孔测量结果与视网膜结构指标的相关性分析



A:视锥细胞瞳孔收缩幅值与 FVEP P2 波幅值的相关性分析;B:视锥细胞瞳孔收缩潜时与 FVEP P2 波幅值的相关性分析;C:视锥细胞瞳孔最大收缩速度与 FVEP P2 波幅值的相关性分析

图 5 各 RP 盲人瞳孔测量结果与视功能指标的相关性分析

2.4 瞳孔测量值与客观视功能指标相关性分析

为了探索彩色光瞳孔测量值与客观视功能指标的关系,将视锥细胞瞳孔测量结果与 FVEP P2 波幅进行 Spearman 相关分析。发现视锥反应的 TPCA、MCV 分别与 FVEP P2 波幅值大小呈正相关(图 5A、C),视锥反应的收缩潜时与 FVEP P2 波幅值呈负相关(图 5B)。这些结果说明,彩色光瞳孔测量法所检测的视锥细胞反应能够反映光感受器的功能状态,且与视觉电生理检查结果相一致,印证了采用彩色光瞳孔测量法评估 RP 盲人客观视功能的有效性。

3 讨论

对晚期 RP 患者的视功能进行客观量化评估,在临床工作中始终是一项挑战。本研究通过对 RP 盲人在不同光刺激模式下的 PLR 特征进行分析,发现彩色瞳孔测量法能够定量区分有形觉视力和无形觉视力 RP 盲人的视网膜功能差异,并证实 RP 盲人彩色光瞳孔测量结果改变与病变视网膜形态学和功能学变化的一致性。说明彩色光瞳孔测量法可作为一种客观、有效的视网膜功能检测手段,评估 RP 盲人残存视网膜功能。

目前瞳孔光反射检查在临床实践中的应用包括电筒快速检查法和数字化瞳孔测量法。前者主要应用于急救现场或床旁的快速中枢神经损伤评估以及相对性传入性神经传导阻滞的检测[18],但电筒检测法难以量化,且对于急性中毒患者瞳孔振幅较小等情况,通过人工检查完全无法检测。与之相对的,数字化瞳孔测量法是一种更灵敏的技术,与人工检查相比操作者误差更小[19]。数字化瞳孔测量法可根据检测需求将光刺激设为白光或几种单色光的组合(即彩色光瞳孔测量法)。其中白光刺激可用于检测有毒化学品和酒精中毒筛查[20],彩色光刺激由于其适应于特定感光细胞的光谱吸收峰,故更适应于视网膜神经细胞的功能检测。不同于心理物理学检查,瞳孔对光反射是一种由可兴奋的功能性细胞数量决定,而非感知阈值驱动的客观效能检查。因此,瞳孔接受光刺激后收缩的幅度能够反映感光细胞的功能状态[21]。既往研究曾报道,患有外层视网膜疾病的患者对低强度蓝光刺激表现出减弱甚至消失的瞳孔反应,对中高强度红光刺激的瞳孔反应也出现降低,且降低程度小于视杆反应[22];一项关于 CEP290 基因突变的视网膜变性患者队列研究中[23],通过红蓝双色光刺激证明了患者视杆细胞和视锥细胞的瞳孔反应均出现减少;在另一项对 Leber's 先天性黑蒙患者的瞳孔光反射研究中,研究者发现红光诱发的瞬时瞳孔收缩低于正常范围[24]。但以上研究受限于样本量较小,未报告不同病变程度患者之间的差异。与既往文献报道一致,本研究也发现 RP 盲人的视杆细胞瞳孔反应严重受损、大部分熄灭,视锥细胞瞳孔反应较视杆细胞受损程度较轻,且能够有效区分 RP 盲人是否有形觉视力。

确定存活视锥细胞数量和功能对于 RP 的治疗至关重要。研究显示,变性视网膜的重塑依次为外层光感受器的变性、内层神经元的代谢应激和细胞死亡以及神经胶质细胞激活瘢痕化 3 个阶段。研究者发现当视锥细胞在退化的视网膜中存在时,视网膜重塑的阶段不会发生进展,内层视网膜的神经网络仍保持有序、神经元细胞不会发生应激性死亡[25]。无论对于移植光感受器前体的细胞疗法或是以双极细胞为靶点的光遗传学疗法都需要完整的视网膜初级神经回路作为结构支撑。因此,通过彩色光瞳孔测量法检测 RP 盲人的视网膜中功能性视锥细胞是否存在以及功能状态如何,对于不同治疗策略的选择具有重要临床指导意义。

OCT 对于视网膜厚度和层次的形态学测量已经广泛用于视网膜疾病的诊断,组织结构清晰、各层较厚的视网膜通常被认为与健康的视觉功能相关。在 RP 中,OCT 检查呈现的视网膜横断面影像表现为 ONL 层厚度降低,直到疾病的后期阶段 ONL 层完全消失[26]。在本研究的 RP 盲人队列中,发现彩色光瞳孔测量结果中的视锥细胞反应指标的变化(收缩幅值、收缩速度和收缩潜时)与 OCT 测量的视网膜外层厚度减少的结构学指标一致,即 ONL 层较厚的患者对应视锥细胞的瞳孔反应受损程度越低。这些结果与日本团队的一项临床研究结果一致,该研究发现在视力低于 0.01 的视网膜变性患者队列中,视网膜厚度与大部分视网膜功能指标(全场刺激测试和彩色光瞳孔测量)无明显相关性,仅适宜视锥细胞的瞳孔反应与 OCT 结果有中等程度相关[27]。

本研究分析了不同 RP 盲人 VEP 与彩色光瞳孔测量值的关系。VEP 是一种评估从视网膜到视觉皮层整个视通路功能的客观电生理检测[14]。尽管图形视觉诱发电位(pattern visual evoked potential,PVEP)通常以其波形稳定的特性用于视觉功能评价的主要客观指标,然而本团队前期研究表明,晚期 RP 盲人残存的光感受器细胞数量很少,光转导产生向视皮层传输的电信号很弱,导致 PVEP 提供的有效信息较少,难以区分不同 RP 盲人[15],故在本研究中采用 FVEP 作为 RP 盲人的客观视功能指标。结果显示 FVEP P2 波振幅与视锥细胞引发的瞳孔反应呈显著相关,且存在线性关系。众所周知,无论是非成像系统的 PLR 通路抑或是成像系统的视通路,均可由视杆、视锥细胞产生输入信号。因此不同 RP 盲人视网膜残余视锥细胞数量的差异导致 PLR 幅值以及 FVEP 振幅的改变,同时二者呈正相关,综合考量彩色光瞳孔测量和 FVEP 的结果可能更有助于了解视网膜变性的病理状态,允许本实验在低视力、法律盲患者群体中进行比传统视力等级更客观和更全面的视功能评估。

本研究存在一定的局限性。首先,RP 盲人的临床诊断尽管由 2 名眼科专家共同确认,但 RP 作为一类遗传性疾病,纳入全基因组检测等分子生物学证据将会进一步提高本研究的可信度。另外,本研究样本量较少,在后续研究中可联合多中心开展大规模前瞻性研究,从而更好地评估彩色光瞳孔测量法的检测准确性和有效性。

随着类器官、光遗传学等新兴技术的出现和快速发展,用于视觉再生的新型疗法正从概念验证向临床应用转化。彩色光瞳孔测量法为无创且持续客观地测量的视网膜功能提供可能,可用于监测自然疾病的进展或视网膜变性疾病的治疗干预效果,为研究 RP 盲人的视觉重建提供了简便、客观的诊断工具。

参考文献:

[1] AHMED I, JOHNSTON R J Jr, SINGH M S. Pluripotent stem cell therapy for retinal diseases[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(15): 1279. DOI: 10.21037/atm-20-4747.

[2] SHARMA A, JAGANATHAN B G. Stem cell therapy for retinal degeneration: the evidence to date[J]. Biologics, 2021, 15: 299-306. DOI: 10.2147/BTT.S290331.

[3] LINDNER M, GILHOOLEY M J, HUGHES S, *et al*. Optogenetics for visual restoration: from proof of principle to translational challenges[J]. Prog Retin Eye Res, 2022, 91: 101089. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2022.101089.

[4] SCHMETTERER L, SCHOLL H, GARHÖFER G, *et al*. Endpoints for clinical trials in ophthalmology[J]. Prog Retin Eye Res, 2023: 101160. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2022.101160.

[5] JOLLY J K, BRIDGE H, MACLAREN R E. Outcome measures used in ocular gene therapy trials: a scoping review of current practice[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1076. DOI: 10.3389/fphar.2019.01076.

[6] BELLIVEAU A P, SOMANI A N, DOSSANI R H. Pupillary light reflex[M]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2023.

[7] PAPAGEORGIOU E, TICINI L F, HARDIESS G, *et al*. The pupillary light reflex pathway: cytoarchitectonic probabilistic maps in hemianopic patients[J]. Neurology, 2008, 70(12): 956-963. DOI: 10.1212/01.wnl.0000305962.93520.ed.

[8] HOFMANN K P, LAMB T D. Rhodopsin, light-sensor of vision[J]. Prog Retin Eye Res, 2023, 93: 101116. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2022.101116.

[9] KATAYAMA K, GULATI S, ORTEGA J T, *et al*. Specificity of the chromophore-binding site in human cone opsins[J]. J Biol Chem, 2019, 294(15): 6082-6093. DOI: 10.1074/jbc.RA119.007587.

[10] HE Y, TANG H Y, WANG G, *et al*. Correlation between transient pupillary light reflex and retinal function impairment in patients with retinitis pigmentosa[J]. J Ophthalmol, 2018, 2018: 2519375. DOI: 10.1155/2018/2519375.

[11] LIU Y, CHEN S J, LI S Y, *et al*. Long-term safety of human retinal progenitor cell transplantation in retinitis pigmentosa patients[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1):

209. DOI: 10.1186/s13287-017-0661-8.

[12] LEE J Y, CHOI J H, PARK K A, *et al*. Ganglion cell layer and inner plexiform layer as predictors of vision recovery in ethambutol-induced optic neuropathy: a longitudinal OCT analysis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(5): 2104-2109. DOI: 10.1167/iovs.17-22988.

[13] MURAKAMI T, AKIMOTO M, OOTO S, *et al*. Association between abnormal autofluorescence and photoreceptor disorganization in retinitis pigmentosa [J]. Am J Ophthalmol, 2008, 145(4): 687-694. DOI: 10.1016/j.ajo.2007.11.018.

[14] CREEL D J. Visually evoked potentials[J]. Handb Clin Neurol, 2019, 160: 501-522. DOI: 10.1016/B978-0-444-64032-1.00034-5.

[15] ZHANG M F, OUYANG W B, WANG H, *et al*. Quantitative assessment of visual pathway function in blind retinitis pigmentosa patients[J]. Clin Neurophysiol, 2021, 132(2): 392-403. DOI: 10.1016/j.clinph.2020.11.023.

[16] PARK J C, MOURA A L, RAZA A S, *et al*. Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(9): 6624-6635. DOI: 10.1167/iovs.11-7586.

[17] KELBSCH C, STRASSER T, CHEN Y J, *et al*. Standards in pupillography[J]. Front Neurol, 2019, 10: 129. DOI: 10.3389/fneur.2019.00129.

[18] HALL C A, CHILCOTT R P. Eyeing up the future of the pupillary light reflex in neurodiagnostics[J]. Diagnostics (Basel), 2018, 8(1): 19. DOI: 10.3390/diagnostics8010019.

[19] OLSON D M, STUTZMAN S, SAJU C J, *et al*. Interrater reliability of pupillary assessments [J]. Neurocrit Care, 2016, 24(2): 251-257. DOI: 10.1007/s12028-015-0182-1.

[20] LOBATO-RINCÓN L L, CABANILLAS CAMPOS M C, NAVARRO-VALLS J J, *et al*. Utility of dynamic pupillometry in alcohol testing on drivers[J]. Adicciones, 2013, 25(2): 137-145.

[21] BARRIONUEVO P A, NICANDRO N, MCANANY J J, *et al*. Assessing rod, cone, and melanopsin contributions to human pupil flicker responses[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(2): 719-727. DOI: 10.1167/iovs.13-13252.

[22] KARDON R, ANDERSON S C, DAMARJIAN T G, *et al*. Chromatic pupillometry in patients with retinitis pigmentosa [J]. Ophthalmology, 2011, 118(2): 376-381. DOI: 10.1016/j.ophtha.2010.06.033.

[23] COLLISON F T, PARK J C, FISHMAN G A, *et al*. Full-field pupillary light responses, luminance thresholds, and light discomfort thresholds in CEP290 leber congenital amaurosis patients[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(12): 7130-7136. DOI: 10.1167/iovs.15-17467.

[24] CHARNG J, JACOBSON S G, HEON E, *et al*. Pupillary light reflexes in severe photoreceptor blindness isolate the melanopic component of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58(7): 3215-3224. DOI: 10.1167/iovs.17-21909.

[25] PFEIFFER R L, MARC R E, JONES B W. Persistent remodeling and neurodegeneration in late-stage retinal degeneration[J]. Prog Retin Eye Res, 2020, 74: 100771. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2019.07.004.

[26] LAZOW M A, HOOD D C, RAMACHANDRAN R, *et al*. Transition zones between healthy and diseased retina in choroideremia (CHM) and Stargardt disease (STGD) as compared to retinitis pigmentosa (RP) [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(13): 9581-9590. DOI: 10.1167/iovs.11-8554.

[27] YAMAMOTO M, MATSUYAMA T, MAEDA T, *et al*. Detailed evaluation of chromatic pupillometry and full-field stimulus testing to assess ultralow vision in retinitis pigmentosa[J]. Ophthalmol Sci, 2023, 3(4): 100328. DOI: 10.1016/j.xops.2023.100328.

(**收稿**:2023-05-29;**修回**:2023-06-04)

(编辑 张 维)