DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.13.012
第26卷第13期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 13
2004年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2004

文章编号:1000-5404(2004)13-1159-02

论著

光学相干断层扫描在大鼠视网膜光损伤研究中的应用

纪淑兴,严 密,张军军 (四川大学华西医院眼科,成都 610041)

提 要:目的 探讨光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)技术在视网膜光损伤研究中的应用价值。方法 Sprague-Dawley(SD)鼠置于1 000~1 400 lux弥散白色冷荧光灯下光照2、5、7 d后行OCT及组织学检查。其中OCT检查采用经鼠视网膜后极部的横向线性扫描,计算机自动测量视网膜神经上皮层的厚度,并与组织学测量结果相比较。结果 随着光照时间的延长,SD鼠视网膜神经上皮层厚度呈进行性变薄。OCT检查测量的视网膜厚度改变[光照2、5、7 d后视网膜厚度分别为(179.11±12.01)、(159.27±12.81)、(133.67±11.43)μm]与组织学的测量结果[其相关厚度分别为(144.26±9.36)、(116.16±11.24)、(94.27±10.68)μm]具有良好的相关性($r=0.995$, $P<0.01$)。结论 OCT技术可以反映光损伤所致的视网膜变性鼠视网膜结构的进行性改变,是一种简单准确的无创检查方法。

关键词:相干断层扫描;光损伤;视网膜
中图法分类号:R770.43;R779.1 文献标识码:A

Application of optical coherence tomography technique in the research of rat retinal light damage

JI Shu-xing, YAN Mi, ZHANG Jun-jun (Department of Ophthalmology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China)

Abstract: Objective To evaluate the application of optical coherence tomography (OCT) in the rat retinal light damage. Methods Albino Sprague-Dawley (SD) rats (5—8 weeks of age) were exposed to 1 000—1 400 lux of diffuse, cool, white, fluorescent light for 2, 5, and 7 d. OCT image analysis and histological measurements of the retinal thickness were performed. Animals were then sacrificed and the measured results were compared with those by histological examination. Results The sensory retinal thickness of the retina in the rats thinned progressively as the retinal degeneration was in progress. The sensory retinal thickness measured by OCT [the corresponding thickness was (179.11±12.01)μm, (159.27±12.81)μm, and (133.67±11.43)μm, respectively] was well correlated with that measured by histology [the sensory retinal thickness after exposure to the light for 2, 5, and 7 d was (144.26±9.36)μm, (116.16±11.24)μm, and (94.27±10.68)μm, respectively] ($r=0.995$, $P<0.01$). Conclusion OCT imaging technique, a simple, liable, and non-invasive method, can monitor the progressive structural changes of retinal degeneration in rats.

Key words: optical coherence tomography; light damage; retinal degeneration

光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)是一种非侵入性、非接触性的光学成像技术,能够对眼组织进行高分辨率的断层成像[1,2],但在光损伤所致视网膜变性鼠模型中的应用情况,少见相关文献报道。本研究应用OCT技术检测光损伤所致鼠眼视网膜形态学变化,并与组织学检测结果相比较,以探讨其在视网膜光损伤疾病研究中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 实验动物

5~8周龄Sprague-Dawley(SD)白化病鼠共35只,体质量170~200 g,雌雄不拘,由华西医学实验动物中心提供。实验前检查双眼眼前节和眼底均正常。实验分为光照2、5、7 d组(每组10只)和无光照组(5只)。实验动物及实验使用条件均符合国家科学技术委员会制定的《实验动物管理条例》。

1.2 光损伤模型的建立

参照文献[3]建立SD鼠视网膜光损伤模型的方法。采用40 W的弥散白色冷荧光灯(上海嘉定甲马灯泡厂,波长510~560 nm),光照箱内各方向光照强度为1 000~1 400 lux,平均(1 200±101.1)lux(LX-101数字型光照度计),以确保动物充分接受光照。SD鼠先于12 h明(30~50 lux)及12 h暗循环光环境适应10 d,光照前暗适应24 h,然后进入光照箱内接受光照。SD鼠在箱内的活动不受限制,无散瞳及麻醉等处理。光照期间,温度保持在(25.0±1.0)℃。

1.3 OCT检查

应用美国Zeiss-Humphrey OCT仪,检查前将SD鼠双眼散瞳。OCT设计的程序可以用来测量视网膜的厚度,即根据不同

作者简介:纪淑兴(1972—),女,山东省蓬莱市人,博士,主治医师,讲师,主要从事眼底病方面的研究,现在中山眼科中心博士后流动站。E-mail:jsx8090369@sina.com

收稿日期:2003-12-23;修回日期:2004-04-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

光反射强度来分辨视网膜内界膜和色素上皮(呈现红色)前界,自动测量两者之间的距离(即视网膜神经上皮层厚度)。采用经视网膜颞侧后极部和视盘中心连线的直线横向线性扫描,扫描长度为2.8 mm,扫描深度为2 mm。每只动物重复5次,取其中成像清晰者(不少于3幅图像)分析。

1.4 视网膜形态学观察及外核层厚度测定

摘取眼球(于3点钟处留下少许结膜作为标记),10%中性福尔马林缓冲液中固定2 d,取包含视盘在内的颞侧后极部眼球壁组织块,常规石蜡包埋,经视乳头颞侧旁开1 mm处沿水平子午线切片,厚度为5 μm,常规HE染色,显微镜下观察组织学形态并照相。采用美国Nikon & spot图像分析系统测量视网膜神经上皮层的厚度。

1.5 统计学方法

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 11.0统计软件进行相关分析。

2 结果

组织学上,无光照组视网膜形态正常,结构层次清楚,内外节排列整齐规则,ONL为9~11排。连续光照2、5、7 d后,视网膜光感受器外节肿胀、细胞极性消失,细胞空泡变性,感受器内节细胞核固缩,内核层细胞空泡变性,连续光照时间越长,损害越严重。

视网膜OCT图像表现为相应于视网膜神经纤维层以及视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)和脉络膜毛细血管层的红色反射带在所有SD鼠眼均可观察到;位于RPE和脉络膜毛细血管层的红色反射带前的低反射带在无光照组鼠眼可清楚的观察到,而在光照组鼠眼,随着光照时间的延长,此低反射带进行性变薄,相应视网膜厚度也进行性变薄,与组织学观察到的情况相对应。

无光照组和光照组鼠眼,视网膜厚度OCT检查结果与组织学检查结果具有良好的相关性($r=0.995$, $P<0.01$),见表1。

表1 OCT与组织学测量的视网膜厚度($\bar{x}\pm s$, μm)

Tab 1 Retinal thickness measured by OCT and histology ($\bar{x}\pm s$, μm)

	Histology	OCT
Before light damage	5 209.36±12.37 **	263.45±14.97
2 d after light damage	10 144.26±9.36 **	179.11±12.01
5 d after light damage	10 116.16±11.24 **	159.27±12.81
7 d after light damage	1 094.27±10.68 **	133.67±11.43

**: $P<0.01$, *vs* OCT

3 讨论

啮齿类动物是研究视网膜变性疾病非常有用的模型[4]。不足之处在于如不进行传统的侵入性组织学检查,则很难检测到其视网膜的细胞结构变化;且对于每只动物模型而言,只能观察其在整个病程发展过程中的一个时相点,不能获得连续的视网膜形态学变化信息。鉴于以上原因,视网膜变性疾病的实验研究常常需用大量实验动物,即使实验过程繁琐复杂,又不能获得稳定的、非常令人信服的实验结果。

OCT是一种非接触性、无损害性、快速、高分辨率活体生物组织切面显微检测系统,目前已广泛应用于人视网膜各种疾病的检测。用于视网膜变性鼠模型研究能充分体现其优点:能在一个动物个体中连续观察施加的干预因素对整个疾病进程的影响,可以长期对同一动物视网膜同一部位进行形态学变化的检测,组织结构的测量不受组织标本制备过程中各种因素的影响,从而增强了实验的可信性,同时也降低了实验所需动物的数量;OCT扫描视网膜需时不到5 s,可以短时间内很容易的获取大量实验动物的结果,应用组织学的方法则需较长时间;OCT的轴向分辨率仅依赖于光源的空间相干特性,不受瞳孔大小和眼像差的限制;OCT 10 μm的高分辨率,可以定量追踪疾病进程中组织结构的微小变化。缺点是OCT不能精确的确定视网膜各层的边界,不能观察到细胞水平发生的变化;所测量的是视网膜神经上皮层的厚度,不包括视网膜色素上皮层;眼前节的角膜混浊、白内障等可以减弱光在眼组织中的传播,从而减弱视网膜图像的强度和对比度。

以前的研究将鸡、猪正常和变性的视网膜进行比较[5~7],确立了OCT断层成像与视网膜显微解剖之间的确切关系,但是很少用OCT成像技术检测变性的视网膜微细结构的改变。我们利用OCT成像技术与组织学方法,测量光损伤视网膜变性鼠视网膜厚度的改变,结果表明两种技术测量的结果之间存在较好的相关性($r=0.995$, $P<0.01$)。OCT测量的SD鼠眼视网膜厚度为(263.45±14.97)μm,较组织学测量的视网膜厚度值(209.36±12.37)μm略大,这可能是因为组织在固定及石蜡浸润包埋的过程中脱水所致。在光损伤鼠眼中,尽管OCT不能观察到视网膜的微细结构,但可以很容易的检测到视网膜厚度的整体改变,从而证实对鼠视网膜进行OCT扫描成像的方法是可行的,可以定量的观察光损伤鼠视网膜结构的进行性改变。

参考文献:

[1] Huang D, Swanson E A, Lin C P. Optical coherence tomography[J]. Science, 1991, 22(254): 1178-1181.

[2] 马 凯, 王光璐. 光学相干断层扫描及其在眼科的应用[J]. 中华眼底病杂志, 1999, 15(1): 59-61.

[3] 谢伯林, 严 密, 张军军, 等. 绿色荧光灯对大鼠视网膜光化学损伤的动态观察[J]. 中华眼底病杂志, 1998, 14(2): 101-103.

[4] Hauswirth W W, Timmers A M. The eyes have it[J]. Mol Med Today, 2000, 6(2): 51-53.

[5] Huang Y, Cideciyan A V, Papastergiou G I, *et al*. Relation of optical coherence tomography to microanatomy in normal and rd chickens[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998, 39(12): 2405-2416.

[6] Huang Y, Cideciyan A V, Aleman T S, *et al*. Optical coherence tomography (OCT) abnormalities in rhodopsin mutant transgenic swine with retinal degeneration[J]. Exp Eye Res, 2000, 70(2): 247-251.

[7] 骆荣江, 葛 坚, 郭 彦, 等. 兔眼视网膜厚度的光学相干断层扫描测量与组织学检查的相关性研究[J]. 中华眼底病杂志, 2000, 16(2): 111-113.

(编辑 栾 嘉)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net