DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.05.013
第26卷第5期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 5
2004年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2004

文章编号:1000-5404(2004)05-0405-03

论著

视神经急性损伤后 Long Evans 大鼠闪光视觉诱发电位的实验研究

牛建军,王仕军,王 一,王艳华,姚军平,陈中山,曾玉晓 (第三军医大学西南医院全军眼科中心,重庆 400038)

提 要:目的 探索视神经急性损伤后 Long Evans 大鼠闪光视觉诱发电位(F-VEP)。方法 使用 AVE8000 自动视觉电生理系统,检测正常及视神经急性损伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP。结果 测出了正常 Long Evans 大鼠 F-VEP 潜伏时和振幅值;检测了视神经急性不完全损伤后 F-VEP,其特点为潜伏时延迟,振幅值降低,与正常相比有显著性差异;视神经横断后 F-VEP 波形呈熄灭型。结论 Long Evans 鼠视神经损伤模型可用于观察视神经保护效应的研究,F-VEP 是客观反映视神经功能的简便而有效的方法。

关键词:Long Evans 鼠;闪光视觉诱发电位
中图法分类号:R338.3;R651.3 文献标识码:A

Experimental study of flash visual evoked potential in Long Evans rats after acute optic nerve injury

NIU Jian-jun, WANG Shi-jun, WANG Yi, WANG Yan-hua, YAO Jun-ping, CHEN Zhong-shan, ZENG Yu-xiao (Ophthalmology Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of the flash visual evoked potential (F-VEP) in Long Evans rats after acute optic nerve injury. Methods Changes of F-VEP in normal Long Evans rats and those after acute optic nerve injury were detected using AVE8000 automatic visual electric physiological system. Results Compared with that of the normal rats, the latency of F-VEP in optic nerve crushed rats increased significantly, but the amplitude of F-VEP decreased significantly. "Silent pattern" waveform of F-VEP was found in optic nerve transected Long Evans rats. Conclusion The model of Long Evans rats with optic nerve injury can be used for the investigation of the neuroprotective effect of optic nerves. Detection of the changes of F-VEP is an objective, reliable, and effective method for the examination of optic nerve functions.

Key words: Long Evans rats; flash visual evoked potential

Long Evans 鼠是一种非白化鼠,外观白底黑顶,封闭群,色素眼。最初由 Dr. Long 和 Dr. Evans 于 1915 年用 Wistar 母白鼠和野生雄灰鼠杂交获得。该品系大鼠与常见的白化鼠(SD, Wistar)的区别之一是其视神经交叉的比例不象白化鼠那么高,视觉中枢神经元的双眼视觉要好于白化鼠。因而在双眼视觉的研究中,该品系大鼠是一个比较理想的动物标本。由于其视网膜具有色素上皮层,较其他鼠更接近于人的视网膜结构,因此近年来较多地被用于神经科学、毒理学及眼科学的研究,但目前对其正常的视觉电生理学特性尚不明了,少见文献报道。我们研究 Long Evans 大鼠的闪光视觉诱发电位(Flash visual evoked potentials, F-VEP),确立其正常值的范围及视神经损伤后的变化特征,旨在为进一步的视神经损伤修复的研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性 Long Evans 大鼠 20 只(美国 Taconic 公司引进,第三军医大学野战外科研究所动物所培育),体质量 220~255 g。记录左眼 F-VEP,建立 Long Evans 大鼠 F-VEP 潜伏时和振幅的正常值。选用其中 18 只动物,右眼视神经不完全损伤 1 h 后记录 F-VEP;其余 2 只动物,右眼视神经横断后记录 F-VEP,以监测视神经急性损伤后的视神经功能状况。

基金项目:全军医药卫生科研基金资助项目(01Z039)
Supported by the Scientific Research Foundation for Medical Science and Public Health of PLA (01Z039)
作者简介:牛建军(1969-),男,河北省行唐县人,硕士研究生,主治医师,主要从事视神经损伤与修复方面的研究,发表论文 11 篇。电话:(023)65399046。E-mail: jianjuniu2000@yahoo.com.cn.
通信作者:王 一,电话:(023)65354401
收稿日期:2003-07-17;修回日期:2004-01-15

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

1.2 视神经损伤动物模型的制作

参照江冰等[1]方法制备 Long Evans 大鼠视神经不完全损伤(夹挫伤)动物模型。速眠新(购自长春农牧大学兽医研究所)0.3 ml/kg 左下肢肌肉注射麻醉动物并俯卧位固定于手术台上，解剖显微镜下垂直于睑缘方向剪开上睑中部，直到眶上缘，沿同样方向剪开球结膜和部分穹隆结膜，暴露并剪断上直肌，向下方牵拉眼球，充分暴露视神经，用头部宽 1.5 mm 的无创血管夹在球后 2 mm 处夹持视神经 10 s 造成视神经夹伤。视神经横断伤模型建立方法同上，暴露视神经后于球后 2 mm 处横断视神经，造成视神经横断伤。

1.3 F-VEP 记录方法及刺激参数

电生理检查参照国际临床视觉电生理标准[2]，使用 AVE 8000 自动视觉电生理系统(重庆康华公司)。速眠新 0.3 ml/kg 左下肢肌肉注射麻醉动物并固定于实验台，采用银针电极，记录电极插入枕后隆凸皮下，参考电极置于双眼连线中点皮下，接地电极置于右耳后皮下，暗适应 15 min 后记录 F-VEP。采用全视野刺激球白色闪光刺激，背景无色，通频带低频 75 Hz，高频 0.1 Hz，刺激模式 single，频率 2 Hz，闪光强度 3.556e-3 cd·s/m^2，刺激次数 50，放大倍数 20 000 倍，每次采样时间 500 ms，波形叠加 100 次，连续测量至少 5 次，每次间隔 10 min。每只动物记录稳定波形 3 次，每只动物检查一眼时，用自制不透光黑色眼罩完全遮盖对侧眼。

1.4 观察指标

采用 Harding 的命名法[2]。实验记录到的 F-VEP 波形是比较稳定的 N-P-N 波形，每只动物记录：N1 波、P1 波、N2 波潜伏期(ms)及 N1-P1、P1-N2 波振幅(μV)。测量方法：峰潜时的测量方法由起始至 N1 的顶峰为 N1 的峰潜时，由起始至 P1 的谷底为 P1 的峰潜时，依此类推；振幅值的测量的方法为 N1-P1 的振幅由 N1 的顶峰至 P1 的谷底为 N1-P1 的振幅值，依此类推。各指标值计算机自动测量，取 3 次的平均值登记。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 软件包，组间比较用 t 检验。

2 结果

2.1 正常 Long Evans 大鼠 F-VEP

每只大鼠均基本引出了典型的 N-P-N 波形(图 1)，测得了各观察值的均数，计算变异指标标准差和极差(表 1)。

表 1 正常 Long Evans 大鼠 F-VEP 的潜伏时与振幅

Tab 1 Latency and amplitude of F-VEP in normal Long Evans rats

F-VEP	Latency (ms)			Amplitude (μV)	
	N1	P1	N2	N1-P1	P1-N2
Average	25.75	45.90	93.33	14.60	34.45
Standard deviation	8.40	13.40	24.51	6.49	15.30
Range	26.00	57.00	98.50	24.50	25.30

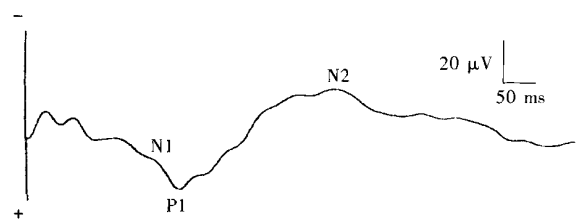
2.2 视神经急性不完全损伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP

测得视神经不完全损伤后各观察值的均数，计算变异指标标准差(表 2)。由表 2 及图 2 可见视神经急性不完全损伤后波形变得低而宽，潜伏期 N1、P1、N2 明显延长，波峰 N1-P1、P1-N2 的振幅明显降低，与正常有显著性差异($P<0.01$)。

表 2 正常与视神经挤压伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP 潜伏时与振幅的比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparison of latency and amplitude of F-VEP in normal Long Evans rats with those of F-VEP in optic nerve crushed rats ($\bar{x}\pm s$)

F-VEP	Latency (ms)			Amplitude (μV)	
	N1	P1	N2	N1-P1	P1-N2
Normal rats	25.75±8.40	45.90±13.40	93.33±24.51	14.60±6.49	34.45±15.30
Optic nerve Crushed rats	65.83±19.53	126.5±38.22	187.28±60.82	7.59±2.54	8.60±1.90
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01



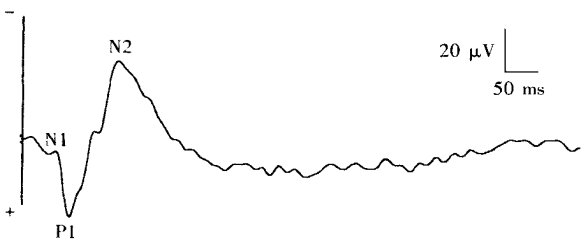
Lower and wider waveform of F-VEP in optic nerve crushed Long Evans rats, obviously prolonged latencies N1, P1, and N2, and obviously depressed amplitude of wave crest N1-P1 and P1-N2

图 2 视神经夹挫伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP 的波形

Fig 2 Waveform of F-VEP in optic nerve crushed Long Evans rats

2.3 视神经急性横断伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP

由图 3 可以看出，视神经急性横断伤后，Long Evans 大鼠 F-VEP 波形呈熄灭型，未见明显波峰出现。



Typical N-P-N waveform of F-VEP in normal Long Evans rats. N1: First negative wave; P1: First large positive wave; N2: Second negative wave

图 1 正常 Long Evans 大鼠 F-VEP 的波形

Fig 1 Waveform of F-VEP in normal Long Evans rats



"Silent pattern" waveform of F-VEP in optic nerve transected Long Evans rats, no obvious wave crest appeared

图 3 视神经横断伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP 的波形

Fig 3 Waveform of F-VEP in optic nerve transected Long Evans rats

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

3　讨论

视觉诱发电位(visual evoked potential, VEP)是大脑皮层对视觉刺激发生反应的一簇电信号, 又称视诱发皮层电位(visual evoked cortical potential, VECP)或视诱发反应(visual evoked response, VER)。VEP 与其他视觉电生理技术联用时, 能提供关于视觉系统功能是否完好的重要诊断信息。F-VEP 是研究正常状态和疾病过程中视功能状态的一种较成熟而有效的无创性方法。由于不同的实验室之间, 刺激方式及记录方法不同, F-VEP 波峰的极性、潜伏期、波幅有很大的差异, 目前尚没有一个统一的标准值。本实验测得的变异指标标准差和极差较大, 说明了 Long Evans 大鼠 F-VEP 的变异性及波动性较大, F-VEP 存在一定的个体差异。

由于 Long Evans 大鼠视网膜具有色素上皮层, 较其他鼠更接近于人的视网膜结构, 因此近年来其较多地被用于神经科学、毒理学及眼科学的研究, 目前对其正常的电生理学特性尚不明了, 少见文献报道。我们研究 Long Evans 鼠的 F-VEP, 确立其正常值的范围及视神经损伤后的变化特征, 旨在为进一步的视神经损伤修复的研究奠定基础。实验检测了正常及视神经急性损伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP, 引出了重复性较好的波形, 得到了正常及及视神经急性损伤后 Long Evans 大鼠 F-VEP 的潜伏时及振幅。

目前视神经损伤的保护研究多使用动物模型来进行。视神经损伤模型有视神经完全损伤和视神经不完全损伤两类。完全损伤方法是直接切断视神经, 不完全性损伤方法有视神经管挤压伤、视神经间接冲击伤、夹挫伤、挤压伤、牵拉伤, 其他有视神经放射性损伤、化学性损伤及急慢性高眼压模型、再灌注或缺氧、缺氧模型等。临床上常见的为不完全性视神经损伤, 我们建立了国外最常用的和被公认的较精确的视神经损伤方法——视神经夹挫伤作为视神经不完全损伤模型, 较好地模拟了临床视神经损伤过程[3]。视神经夹伤眼 1 h 后测量 F-VEP, 并与对侧正常眼做自身对照。结果显示视神经急性不完全损伤波形变得低而宽, 潜伏期 N1、P1、N2 明显延长, 波峰 N1-P1、P1-N2 明显降低, 与正常眼相比有显著性差异。实验同时建立视神经横断伤模型, 发现视神经横断后 Long Evans 大鼠 F-VEP 波形基本呈熄灭型, 未见明显波峰出现。

视神经损伤是常见的眼外伤类型, 占意外事故损伤的 0.3% ~5%[4]。伤后视力损失严重, 黑朦发生率高达 43% ~73%[5]。视神经损伤后及时了解视力是指导治疗和判断愈后的重要指标, 但主观视力检查往往受到多种因素影响, 且患者常伴有颅脑外伤引起的昏迷, 因此, F-VEP 检查作为一项客观指标, 对于指导眼外伤的临床治疗具有重要的意义。研究表明 F-VEP 可以预测白内障术前、术后的视功能状况[6], 依视神经功能的状况可指导手术方案。朱豫[7,8]及唐东润等[9]通过实验及临床研究发现, 应用 F-VEP 进行眼眶手术术中视神经传导功能的监护是可靠的, 可减少眼眶手术中意外视神经损伤的致盲率, 使手术操作由临床经验解剖阶段逐步进入了功能解剖阶段。当视神经严重损伤时, 大部分神经纤维的电传导功能发生障碍, 代表视野中央 60 ~120 黄斑中心凹形觉视功能的图形视觉诱发电位(Pattern Visual evoked potential, P-VEP)绝大多数消失, 因而不具有临床意义。而反应全部视神经传导机能的 F-VEP 可作为判断伤后视力, 了解视神经损伤程度的一项客观指标[10]。F-VEP 异常高度揭示视神经的功能受损, 并可预测恢复可能性的大小。F-VEP 可敏感地反映视神经损伤的程度, 严重视神经损伤时 F-VEP 波幅的下降率可作为判断伤后视力和估计预后的一项客观指标[4]。

本实验记录到了正常 Long Evans 大鼠典型的 F-VEP 波形, 其视神经损伤模型的波峰明显降低, 说明此动物模型可用于进一步观察视神经保护效应的研究。而且 F-VEP 的波形改变与视神经的损伤程度相一致, 对于了解外伤后视觉信息向视皮层传导具有较大的应用价值。随着 F-VEP 检测技术的不断完善和发展, 将在临床上更有应用价值。

参考文献:

[1] 江　冰, 蒋幼芹. 大鼠视神经压榨伤模型的建立[J]. 眼科学报, 2001, 17(2): 99－102.

[2] 吴乐正, 吴德正. 临床视电生理[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 275, 330－349.

[3] Yoles E, Muller S, Schwartz M. NMDA-Receptor an tagonist protects neurons from secondary degeneration after partial optic crush[J]. J Neurotrauma, 1997, 14(9): 665－675.

[4] 蔡　莉, 惠延年, 郭守一. 严重视神经损伤后视觉诱发电位变化分析[J]. 眼外伤职业眼病杂志. 1999, 21(5): 407－408.

[5] Lessell S. Indirect optic nerve trauma[J]. Arch Opthalmol, 1989, 107(3): 382－386.

[6] Xu W, Yao K, Shentu X. The comparison of two methods to predict the post-operative visual acuity of cataractous patients[J]. Zhonghua Yan Ke Za Zhi, 2001, 37(2): 121－124.

[7] 朱　豫, 宋国祥, 杨卫民. F-VEP 术中监护视神经传导功能的实验研究[J]. 眼外伤职业眼病杂志, 2000, 22(5): 495－497.

[8] 朱　豫, 宋国祥, 唐东润, 等. 应用闪光视觉诱发电位监护眼眶术中的视觉功能[J]. 中华眼科杂志, 2000, 36(6): 445－448.

[9] 唐东润, 朱　豫, 宋国祥, 等. 闪光视觉诱发电位的新应用——进行眼眶术中视功能监护[J]. 中华眼底病杂志, 2001, 17(4): 260－263.

[10] 王　煊, 郭守一. 临床视电生理学[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1993. 117.

(编辑　刘洪娥)

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