DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.01.009

兔视网膜中度冲击伤后血视网膜屏障改变及其治疗的研究

巢 阳* 王正国 惠延年** 杨志焕 徐 辉 江诗安 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室) 重庆,630042

提 要 目的: 探讨兔视网膜中度冲击伤后血视网膜屏障的形态变化及超氧化物歧化酶 (SOD)和地塞米松的治疗作用。方法: 建立兔视网膜中度冲击伤动物模型,采用硝酸镧示踪剂观察伤后血视网膜屏障的改变及药物治疗效果。结果: 视网膜中度冲击伤后部分视网膜色素上皮细胞及感光细胞损害,血视网膜屏障轻度破坏和示踪剂向视网膜内渗漏, SOD及大剂量地塞米松治疗可明显减轻兔视网膜组织的损伤,缩短病程,改善其功能。结论: SOD及大剂量地塞米松对兔视网膜中度冲击伤有显著治疗效果。

关键词 冲击伤;血视网膜屏障;硝酸镧; SOD;地塞米松

中图法分类号 R774.1

眼外伤部分病例可因视网膜损伤后遗视力障碍。有的作者[1]报道视网膜严重损伤,伴有结构破坏,治疗难以奏效,可遗留永久性失明。而视网膜轻度损伤,无结构破坏,仅为暂时性功能改变,可自行恢复。此两种伤型作为眼外伤药物治疗实验研究模型尚不够理想。本实验通过兔视网膜中度冲击伤模型的建立,采用硝酸镧血管示踪剂观察血视网膜屏障 (Blood retinal barrier, BRB)形态学变化,探讨 BRB破坏的结构基础和超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)以及不同剂量地塞米松对其治疗的作用。

1 材料与方法

1.1 动物分组

健康杂色家兔 42只,体重 2.0 kg~ 2.5 kg,随机分为 4组: 致伤组 (n = 24); SOD治疗组 (n = 6); 小剂量地塞米松治疗组 (LDD治疗组 n = 6); 大剂量地塞米松治疗组 (HDD治疗组 n= 6)。

1.2 实验方法

采用 BST-II型激波管以压力峰值 (666± 10.5) kPa,正压持续时间 (7.25± 0.96) ms,正向致伤单侧兔眼,建立视网膜中度冲击伤模型。

1.2.1 致伤组 伤前 1 d和伤后 3 d以生理盐水 3 ml静脉注射,每 6 h一次。在伤前和伤后 1、3 h及 1、3、7、14 d各时相点经双侧颈总动脉插管注入 2% 硝酸镧原液各 20 ml, 3 min内摘除眼球,光、电镜常规检查,以及临床观察,眼底彩色照像及视网膜电图 (ERG)检查。

1.2.2 治疗组 3组动物于伤前 1 d和伤后 3 d分别给予 SOD 1500 u, LDD(给予地塞米松 0.5 mg/kg,首剂), HDD(给予地塞米松 6 mg/kg,首剂)静脉注射,以后每 6 h 1次 (LDD治疗组给予地塞米松 0.3 mg/kg, HDD治疗组给予地塞米松 3 mg/kg)。伤前和伤后 1、3 h及 1、3、7、14 d各时相点进行临床观察,眼底彩色照像及 ERG检查。伤后 14 d用 2% 硝酸镧原液经颈总动脉注射后摘除眼球,制备光、电镜标本检查。

1.3 统计学处理

所有数据均采用第三军医大学数学教研室统计程序 PDA-2做单因素方差分析,结果以 $\bar{x}\pm s$表示, $P<0.05$相差显著, $P<0.01$相差非常显著。

2 结果

2.1 临床观察与眼底照像

致伤组兔眼于伤后 1 h后极部视网膜乳白色混浊水肿,范围约 3~ 5 PD(视乳头直径),边界模糊,视盘下方及颞侧可见圆点状、片状出血,伤后 3 h除上述改变外,视乳头髓线欠清,后极部有小条状或羽毛状黄白色渗出。伤后 1 d,视网膜水肿、出血、渗出最重,个别眼底条状渗出融合呈片状。伤后 3 d水肿、出血部分消退、吸收,渗出明显减少。伤后 7 d除视网膜仍残留少许渗出,还可见局限的色素脱失。伤后 14 d病变区有色素沉着。

治疗组: LDD治疗组伤后与同期对照组相比,眼底改变无明显差异。 SOD及 HDD治疗组伤后 1 h~ 3 h眼底也出现水肿,范围约 3~ 5 PD,但点片状出血较致伤组及 LDD组量少, SOD治疗组中 3例眼底少许渗出, HDD治疗组无眼底渗出。伤后 1 d,两组视网膜仍有水肿、出血,但病变未继续加重。伤后 3 d, HDD

* 现在成都军区总医院眼科 成都,610083

** 第四军医大学附属西京医院眼科 西安,710032

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

治疗组视网膜病变完全消退,SOD治疗组出血大部分吸收,可见个别小渗出点。7 d后,两组可见局限性色素脱失。

2.2 ERG检查

各组伤后 a b波波幅明显下降,a波在伤后 3 h及 b波伤后 3 h 1 d时下降的百分比虽有差异,但无统计学意义($P > 0.05$)。致伤组 a b波波幅分别在伤后 3 d和 7 d逐渐恢复至伤前水平,SOD和 HDD治疗组则在伤后 1 d和 3 d逐渐恢复至伤前水平。而 LDD治疗组与致伤组相比差异不显著,见表 1、2

表 1 各组伤后 ERG a波波幅 (%)比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of the amplitude(%) of ERG a wave after injury in different groups ($\bar{x} \pm s$)

Time	Control	SOD	LDD	HDD
3 h	0.6220± 0.1403	0.6699± 0.1143	0.6051± 0.0769	0.6631± 0.3850
1 d	0.6725± 0.1105	0.8350± 0.0996*△	0.6340± 0.0919	0.9602± 0.0778*△△
3 d	0.9019± 0.2068	0.9602± 0.0747	0.9463± 0.0669	1.0146± 0.1123
7 d	0.9260± 0.1045	1.0590± 0.3149	1.0188± 0.2121	0.994± 0.0479
14 d	1.040± 0.1946	0.996± 0.0198	1.0305± 0.1638	1.051± 0.2161

*: $P < 0.01$, **: $P < 0.01$ *vs* control; △: $P < 0.05$, △△: $P < 0.01$ *vs* LDD

表 2 各组伤后 ERG b波波幅 (%)比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of the amplitude (%) of ERG b wave after injury in different groups ($\bar{x} \pm s$)

Time	Control	SOD	LDD	HDD
3 h	0.6019± 0.1474	0.6106± 0.1135	0.5803± 0.1139	0.6349± 0.0677
1 d	0.6212± 0.1429	0.6845± 0.0375	0.5883± 0.0321	0.6646± 0.0471
3 d	0.6278± 0.1297	0.9554± 0.0248*△△	0.6075± 0.1465	0.9874± 0.0709*△△
7 d	0.8939± 0.0709	0.9815± 0.1464	0.9246± 0.1928	1.0084± 0.0775
14 d	0.9878± 0.1384	1.0265± 0.1505	0.9949± 0.0342	1.0056± 0.0927

**: $P < 0.01$ *vs* control; △△: $P < 0.01$ *vs* LDD

2.3 光镜检查

致伤组伤后 1 h~ 3 h脉络膜血管扩张、充血;1 d时可见部分视网膜色素上皮 (Retinal pigment epithelium, RPE)细胞及视锥视杆细胞外节破坏;3 d时外核层部分细胞变性,神经纤维层水肿;7 d RPE细胞局限性增生,外核层细胞间隙轻度增宽;14 d RPE层有胶质细胞增生,外核层细胞轻度减少。SOD及 HDD治疗组伤后 14 d外核层未见明显异常,神经纤维层无水肿,RPE层有少量胶质细胞增生。LDD治疗组与同期致伤组相比病理改变大体相似。

2.4 BRB硝酸镧示踪电镜观察

致伤组伤后 3 h至 7 d镧颗粒经少数 RPE细胞间开放的紧密连接渗入视网膜组织内。伤后 1 d在外核层细胞间隙可见大量示踪剂见图 1,同时内核层及内网状层也可见渗漏的镧颗粒见图 2 伤后 14 d视网膜内未见示踪剂,有部分变性 RPE细胞及损伤的感光细胞外节。各治疗组伤后 14 d视网膜内未见到示踪剂,SOD及 HDD治疗组大部分感光细胞外节膜盘排列整齐。



图 1 伤后 1 d在视网膜外核层细胞间隙可见大量镧示踪剂 (TEM× 16 000)

Fig 1 Large amounts of lanthanum tracing were seen in the outer retinal intercellular space 1 d after injury (TEM× 16 000)

图 2 伤后 1 d在视网膜内核层细胞间隙可见镧示踪剂 (TEM× 16 000)

Fig 2 Lanthanum tracing was seen in the inner retinal intercellular space 1 d after injury (TEM× 16 000)

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

3 讨论

应用 BST-Ⅲ型生物激波管造成的视网膜中度冲击伤模型具有能定量、伤情稳定、重复性好[2],以及视网膜形态学改变与钝挫伤有某些相似等优点。该模型不仅有轻度损伤模型的特点,而且有部分视网膜感光细胞破坏、RPE细胞及细胞间紧密连接损伤,但损伤程度又较重度模型轻,没有眼球破裂。伤后 ERG b波波幅下降 40%左右,经药物治疗病变可逆转。中度损伤模型的建立,为进一步研究 BRB的结构、作用、影响因素及临床视网膜损伤的治疗提供了新的致伤模型和依据,在眼外伤后遗症的防治研究中有一定的实用价值。

本实验从硝酸镧电镜示踪显示,伤后 3 h少数 RPE细胞间紧密连接开放,镧沿细胞间隙向视网膜渗透,表明 BRB有损害,且可持续数天之久。BRB的损伤导致视网膜正常的代谢作用亦遭破坏,许多原来不能透过屏障的物质得以透过,使视网膜细胞外环境紊乱,以致部分受损可逆的不稳定细胞进一步变性、坏死[3],加之伤后视网膜水肿、出血、渗出和脉络膜血液循环障碍引起的缺血再灌注损伤等,均可造成严重的视网膜继发性损伤。因此,只有在早期采取积极正确的治疗,才可能阻止这些继发性损害因素对视网膜的进一步破坏,促进其功能恢复。

外伤性视网膜病变是影响视力的主要原因之一,临床上药物的疗效不尽理想。由于眼及中枢系统的神经组织有很多相似性,中枢神经创伤的疗法也可在眼创伤中试用[4]。本实验采用自由基拮抗剂 SOD及不同剂量地塞米松进行视网膜中度冲击伤的实验性治疗,结果显示: SOD及 HDD治疗组伤后视网膜病变较致伤组减轻,病程缩短, ERG a、b波波幅恢复较快,伤后 14 d光电镜检查视网膜组织学及超微结构损害也较轻。大剂量糖皮质激素对中枢神经组织的保护作用与抑制脂质过氧化反应(Lipid peroxidation, LPO)有关[5]。其作用的可能机理是:① 抑制膜的 LPO;② 增加损伤区血流量;③ 稳定细胞膜的离子通道;④ 作用于特异性糖皮质激素受体,抑制磷酯酶 A_2,从而抑制花生四烯酸的产生。本实验的结果证明: SOD及 HDD具有保护眼冲击伤后视网膜免遭继发性损伤,缩短病程,改善其功能的作用,为今后临床应用 SOD及 HDD治疗视网膜损伤提供了进一步的依据。

参考文献

1 吴永强,惠延年,肖庆珊等.轻度和重度眼球挫伤的血视网膜屏障改变.中华眼底病杂志, 1992; 8(3): 130

2 黄秋闽,杨志焕,杨恒文.眼冲击伤早期脉络膜血流量的变化.第三军医大学学报, 1994; 16(5): 354

3 Hubschmann O R, Nathanson D C. The role of calcium and cellular membrane dysfunction in experimental trauma and subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg, 1985; 62(5): 698

4 巢　阳,惠延年.眼及中枢的神经组织创伤药物防治.国外医学: 眼科学分册, 1995; 19(4): 234

5 Szabo M E, Drog-Lefaix M T, Doly M *et al*. Modification of ischemia reperfusion-induced ion shifts (Na^+, K^+, Ca^{2+} and Mg^{2+}) by free radical scavengers in the rat retina. Ophthalmic Res, 1993; 25(1): 1

6 Armstrong D, Santangelo G, Connole E. The distribution of peroxide regulation enzymes in the canine eye. Curr Res, 1981; 1(3): 225

7 Young W, Wojak J, Decrescito V. 21-Aminosteroid reduces ion shifts and edema in the rat middle cerebral artery occlusion of regional ischemia. Stroke, 1988; 19(6): 1013

(收稿: 1996-04-09;修回: 1996-11-01)

(编辑　张大春)

Changes of blood retinal barrier after retinal moderate blast injury and its treatment in rabbits

Chao Yang, Wang Zhengguo, Hui Yannian, Yang Zhihuan, Xu Hui, Jiang Shian (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630042)

Abstract **Objective**: To observe the morphological changes of blood retinal barrier (BRB) after retinal moderate blast injury and the therapeutic effects of superoxide dismutase (SOD) and dexamethasone on them. **Methods**: After the model of retinal moderate blast injury was established in rabbits, the morphological changes of BRB and the therapeutic effects of SOD and dexamethasone on them were observed with colloidal lanthanum tracing. **Results**: A part of retinal pigment epithelium cells, rod cells and cone cells were damaged and slight damage of BRB as shown by the leakage of lanthanum tracing into retina was seen. SOD and large-dosed dexamethason could remarkably abate the injury of the retina, shorten the course of recovery and improve the retinal function. **Conclusion**: SOD and large-dosed dexamethason can exert marked therapeutic effects on retinal moderate blast injury.

Key words retinal blast injury; blood retinal barrier; SOD; dexamethasone; rabbit

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