

大鼠不同颜色光视网膜电图特点

曹青林,张磊,安晶,张作明

作者单位:(710032)中国陕西省西安市,第四军医大学航空航天医学院

作者简介:曹青林,在读硕士研究生,研究方向:视网膜疾病。

通讯作者:张作明,博士,教授,航临教研室主任,博士研究生导师,研究方向:视网膜疾病、遗传性眼底病. zzmfmumu@gmail.com

收稿日期:2013-11-29 修回日期:2014-03-04

Features of electroretinogram on rat under different color stimulation

Qing - Lin Cao, Lei Zhang, Jing An, Zuo - Ming Zhang

School of Aerospace Medicine, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Zuo - Ming Zhang. School of Aerospace Medicine, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. zzmfmumu@gmail.com

Received:2013-11-29 Accepted:2014-03-04

Abstract

• **AIM:** To research the feature of normal SD rat and retinal cone dysfunction (RCD) rat electroretinogram (ERG) under different color stimulation and to explore its possible diagnostic value.

• **METHODS:** Six male SD rats and six RCD rats were used, all of which were mature rats. They were stimulated by red, white, blue and green light and the ERG was recorded. The wavelength of red, green and blue light were 625nm, 525nm and 470nm respectively and the white light was mixed by three color light.

• **RESULTS:** The response of ERG in normal SD rat under green and blue light stimulation were stronger than under red and white stimulation. The dark-adapted ERG of RCD rat responded to color stimulation was similar to the ERG of normal SD rat, but the amplitude under each color stimulation was lower than that of normal SD rat. Light-adapted ERG response was hardly detected waveform.

• **CONCLUSION:** Rat is sensitive to blue and green light, which can be used as a suggested light stimulation in the ERG recording. The ERG of RCD rat is not specific for color stimulation, and at present we could not use color ERG as a diagnostic indicator.

• **KEYWORDS:** color light; electroretinogram; retinal cone dysfunction rat

Citation: Cao QL, Zhang L, An J, et al. Features of electroretinogram on rat under different color stimulation. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2014;14(4):606-609

摘要

目的:探索正常SD大鼠及视网膜锥体失功能(RCD)大鼠不同颜色光视网膜电图特点及其可能存在的诊断价值。

方法:成年雄性SD大鼠及RCD大鼠,各6只,分别进行红、白、绿及蓝色光的视网膜电图记录,刺激所用的红光波长为625nm,绿光波长为525nm,蓝光波长为470nm,白光为混合光。

结果:正常SD大鼠各颜色光ERG表现为短波长的绿光及蓝光刺激条件下波幅值较红光及白光高;而RCD大鼠各颜色光暗适应ERG的b波波幅值无显著差别,但各颜色光的波幅值均小于SD大鼠;而各颜色光明适应ERG均未记录到明显波形。

结论:大鼠对短波长的绿光及蓝光较为敏感,建议使用蓝光或者绿光作为大鼠视网膜电图记录的刺激光源。RCD大鼠对各颜色光无特异性的反应,尚不能用颜色光视网膜电图作为其特异的诊断指标。

关键词:颜色光;视网膜电图;视网膜锥体失功能大鼠

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.04.08

引用:曹青林,张磊,安晶,等.大鼠不同颜色光视网膜电图特点.国际眼科杂志2014;14(4):606-609

0 引言

视网膜电图(electroretinogram, ERG)是客观评价视网膜功能的检查手段。1941年Riggs首次将ERG推广后^[1],现已被广泛地应用于临床和动物实验中。现行的国际临床电生理学会(ISCEV)标准ERG闪光刺激及背景光皆选用白色可见光^[2],而对于颜色光的应用却较少,但近年来已有不少颜色光ERG应用于评估色素变性疾病、青光眼疾病的病变程度^[3,4],以及评估视网膜脱离、视网膜中央静脉阻塞等疾病的预后^[5,6]。本研究对正常SD大鼠进行白、红、绿及蓝4种颜色光视网膜电流图记录,旨在观察不同颜色光刺激下大鼠的视网膜电流图特点,以探讨记录动物视网膜电图的最佳条件。同时,视网膜锥体失功能(retinal cone dysfunction, RCD)大鼠是我科室自主发现的一种自发性视网膜锥体变性大鼠,其突变基因是X染色体上编码中波长视蛋白的*opn1mw*^[7],我们对其进行不同颜色光刺激记录ERG,以探讨中波长视蛋白对大鼠色觉功能的影响以及RCD大鼠的色觉功能的特点。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 雄性SD大鼠6只(购自第四军医大学实验动物中心);雄性RCD大鼠6只(我实验室提供)。8~10周龄,体重200~250g,温度控制在(22±2)℃,暴露于自然光照下,给予充足清洁饮水、摄食。实验前12h置于暗箱内进行暗适应,每晚于固定时间进行不同颜色光的视网膜电图记录。

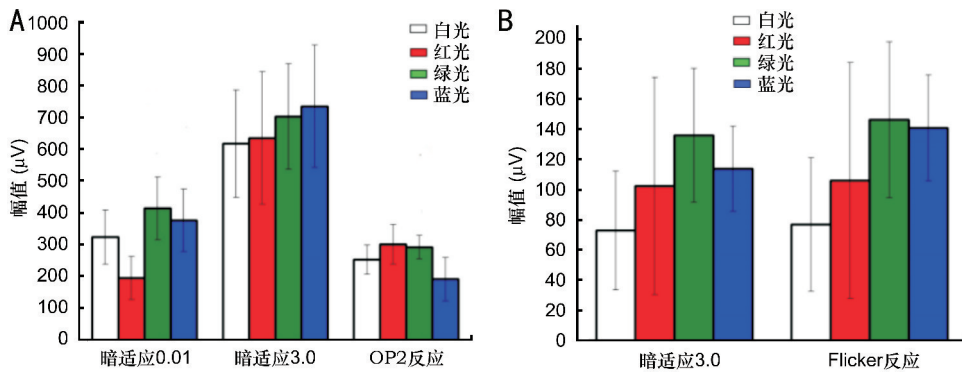


图1 正常SD大鼠各颜色光ERG反应比较 A:正常SD大鼠暗适应ERG反应;B:正常SD大鼠明适应ERG反应。

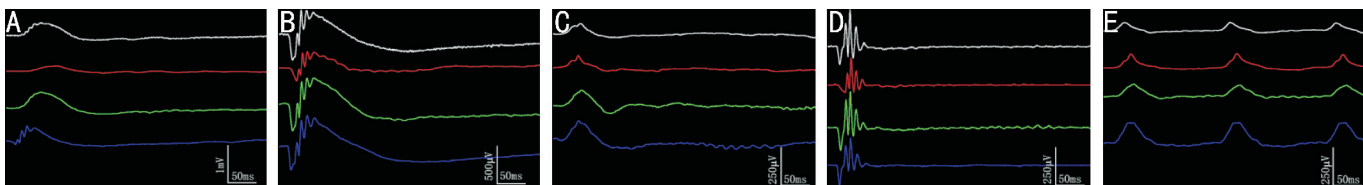


图2 SD大鼠各颜色光视网膜电图 A:暗适应0.01反应;B:暗适应3.0反应;C:暗适应OPs反应;D:明适应3.0反应;E:30Hz flicker反应。

1.1.2 实验仪器 采用RETIport(Roland Consult,德国)视觉电生理系统,分别使用白、红、绿、蓝4种颜色光按照常规方法记录ERG五项基本反应。4种颜色光都采用LED光源,其中红光波长 $\lambda_{max} = 625\text{nm}$,绿光波长为 $\lambda_{max} = 525\text{nm}$,蓝光波长为 $\lambda_{max} = 470\text{nm}$,白光为混合光。

1.2 方法

1.2.1 记录参数 暗适应0.01反应,闪光刺激光强为 -25dB ($0.0095\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$);暗适应3.0反应及暗适应3.0OPs反应闪光刺激光强皆为 0dB ($3\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$);明适应3.0反应及30Hz flicker反应闪光刺激光强均为 0dB ($3\text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$),背景光亮度均为 $25\text{cd}/\text{m}^2$ 。通频带除暗适应3.0OPs反应为 $50 \sim 300\text{Hz}$ 外,其余都为 $1 \sim 300\text{Hz}$ 。

1.2.2 记录方法 取暗适应12h的大鼠,称重后,使用速眠新 $0.8\text{mL}/\text{kg}$ 的剂量予以麻醉,并给予托吡卡胺散瞳,采用盐酸奥布卡因进行角膜表面麻醉。记录电极为环形银电极,固定于左眼角膜缘,不锈钢针制作的参考电极和接地电极,分别置于尾部皮下及被检眼同侧颊部。然后按照红、白、蓝、绿的顺序进行暗适应ERG记录。明适应10min后,按照红、白、蓝、绿的顺序进行明适应ERG的记录。

1.2.3 数据采集 包括暗适应0.01反应、暗适应3.0反应及明适应3.0反应中的b波幅值,暗适应3.0OPs反应中OP2幅值,30Hz flicker反应中 ΣP 值。

统计学分析:使用SPSS 16.0统计软件,实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对数据进行方差分析,两两比较采用SNK-q检验。两种大鼠间比较采用两独立样本t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常SD大鼠颜色光视网膜电图特点 4种颜色光刺激条件下记录到的ERG波幅值,在暗适应0.01反应中可见红色光及白色光波幅值较绿色光及蓝色光低,具有统计学意义($F = 6.959, P = 0.002$);在暗适应3.0反应(图1A),也同样呈现出绿光及蓝光波幅值较红光和白光高,但差异不显著($F = 0.541, P = 0.66$);同样在明适应3.0反应中($F = 1.737, P = 0.192$)及明适应flicker反应中($F = 2.114, P =$

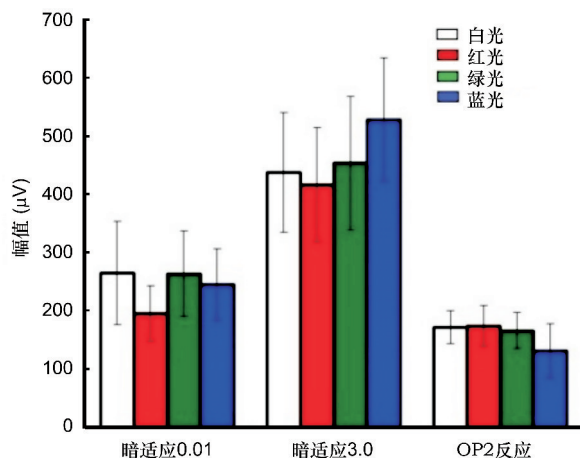


图3 RCD大鼠各颜色光暗适应ERG反应比较。

0.131)也可见绿光及蓝光的波幅值高于红光及白光波幅值(图1B);但是在OPs反应中却没有发现这种规律。总体可见正常SD大鼠ERG反应对中短波长的绿光及蓝光较敏感。图2为SD大鼠各颜色光视网膜电图波形。

2.2 RCD大鼠视网膜电图特点 在红、白、绿、蓝4种颜色光的刺激下,RCD大鼠暗适应0.01反应($F = 1.307, P = 0.300$)及暗适应3.0反应($F = 1.272, P = 0.311$)中同样也表现出中短波长的绿光及蓝光波幅值要较红光及白光高(图3),但未见统计学差异。而在RCD大鼠明适应ERG中各颜色均未记录到明显的波形(图4)。图4为RCD大鼠各颜色光视网膜电图波形。

2.3 正常SD大鼠及RCD大鼠视网膜电图比较 由图5可见正常SD大鼠暗适应0.01反应中,绿光($t = 2.973, P = 0.015$)及蓝光($t = 2.773, P = 0.023$)刺激条件下的波幅值要明显高于RCD大鼠,而在白光($t = 1.175, P = 0.267$)及红光($t = -0.10, P = 0.992$)的刺激下,两种大鼠却未表现出较为明显的差异。而在暗适应3.0反应($t_{白} = 2.229, P_{白} = 0.049$; $t_{红} = 2.329, P_{红} = 0.042$; $t_{绿} = 3.029, P_{绿} = 0.013$; $t_{蓝} = 2.306, P_{蓝} = 0.044$)及OPs反应($t_{白} = 3.755, P_{白} = 0.004$; $t_{红} = 4.346,$

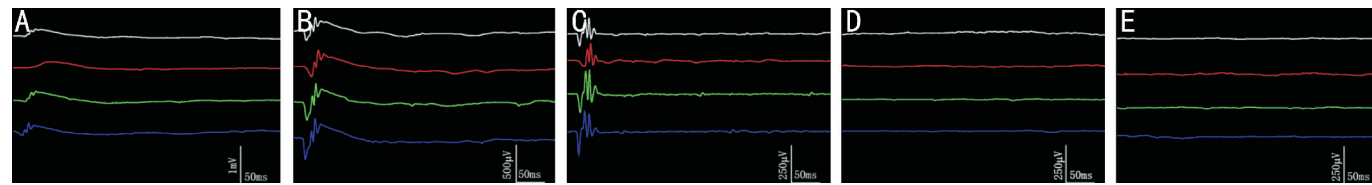


图4 RCD大鼠各颜色光反应 A:暗适应0.01反应;B:暗适应3.0反应;C:暗适应OPs反应;D:明适应3.0反应;E:30Hz flicker反应。

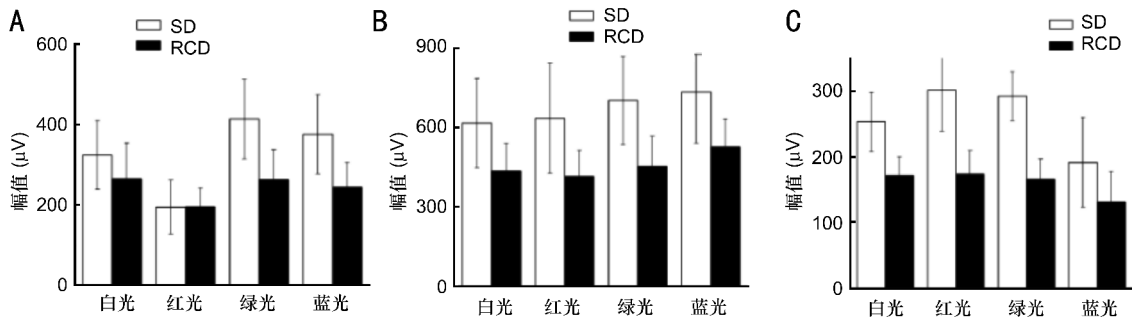


图5 SD大鼠与RCD大鼠暗适应ERG比较 A:暗适应0.01反应;B:暗适应3.0反应;C:暗适应OPs反应。

$P_{\text{红}} = 0.001$; $t_{\text{绿}} = 6.369$, $P_{\text{绿}} = 0.001$; $t_{\text{蓝}} = 2.273$, $P_{\text{蓝}} = 0.047$) 中各颜色光SD大鼠波幅值均要显著高于RCD大鼠。

3 讨论

正常人类视网膜视锥细胞含有3种视色素,分别对红、绿、蓝三种颜色光敏感^[8];而大鼠视网膜锥细胞同人类不同,只含有两种视色素,分别对波长为510nm处的绿光及360nm处的紫外线敏感^[9]。大鼠属于夜行性动物,其视杆细胞占绝对优势,而视锥细胞仅占0.85%,其中93%为中波长视锥细胞(M-cone),其余为短波长视锥细胞(S-cone)^[9]。

视网膜电图(ERG)中b波主要反映的是视网膜外层的视锥细胞、水平细胞的去极化和超极化,还包括少量的Müller细胞的电活动,在明适应刺激条件下在一定程度上记录相应敏感的视锥细胞系统的反应,并且不同类型的视锥细胞向下级神经元传递信息的方式也不同^[10, 11],但其具体机制仍不是很清楚。

我们本次实验采用德国罗兰公司的 Ganzfeld Q450 全视域刺激器,能够提供 λ_{max} 为 625, 525, 470nm 的红、绿、蓝颜色光。在我们的实验结果表明正常SD大鼠及RCD大鼠颜色光ERG均对中短波长的绿光及蓝光更为敏感,在暗适应ERG反应中,刺激光主要兴奋视杆细胞,而视杆细胞对波长在498nm附近的光较为敏感^[12],而本次实验所用的绿光波长主要为525nm,蓝光波长为470nm,均较接近视杆细胞的波长敏感区,而红光主要波长集中在625nm,视杆细胞则对其敏感性较低。在明适应ERG反应中,刺激光主要兴奋视锥细胞,大鼠的视锥系统无对红光敏感的L-cone,而存在对510nm波长的绿光及360nm波长紫外线敏感的M-cone及S-cone,所以我们认为大鼠明适应ERG反应对绿光及蓝光的敏感性较红光和白光高可能与其自身的生理结构有关。

经典的视觉信号在视网膜内产生的神经冲动是由感光细胞→双极细胞→神经节细胞三级神经元传递。并且早期的解剖学研究认为,哺乳动物的视杆细胞只与去极化的视杆双极细胞发生突出联系,视锥细胞只与去极化或者超极化的视锥双极细胞相联系^[13-15]。而在随后的研究中发现,在光感受器水平方向视杆细胞与视锥细胞也存在联系,经解剖学及生理学证实这种联系为电突触^[16]。本实

验中RCD大鼠为视网膜锥体失功能大鼠,对于暗适应ERG各颜色光反应均较正常SD大鼠低,其中波长视锥细胞(M-cone)功能异常,这可能导致上述视杆-视锥通路发生故障,从而影响波幅值。而RCD大鼠明适应各颜色光均未记录到明显波形,其可能原因是:(1)RCD大鼠中M-cone功能异常,而短波长视锥细胞(S-cone)数量较少^[9],起主要作用的中波长视蛋白缺失,所以未能引出较明显的明视觉波形。(2)大鼠S-cone可能并不参与视觉信息的传导^[17],对可见光不敏感,而与昼夜节律和睡眠调节相关^[18]。

综上所述,在我们的实验当中我们发现大鼠对于中短波长的绿光及蓝光ERG反应均较红光及白光敏感,故建议在记录大鼠ERG反应时应用短波长的蓝光或者绿光作为刺激光源,可得到更理想的反应波形。而M-cone对大鼠明视觉起主要作用,RCD大鼠对暗适应各颜色光均无特异性反应,尚不能够用颜色光ERG作为其特异性的诊断指标。

参考文献

- Lim SH, Ohn YH. Study of blue and red flash in dark-adapted electroretinogram. *Korean J Ophthalmol* 2005;19(2): 106-111
- Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, et al. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc Ophthalmol* 2009; 118(1): 69-77
- Kellner U, Sadowski B, Zrenner E, et al. Selective cone dystrophy with protan genotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36(12): 2381-2387
- Castelo-Branco M, Faria P, Forjaz V, et al. Simultaneous comparison of relative damage to chromatic pathways in ocular hypertension and glaucoma: correlation with clinical measures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(2): 499-505
- Hayashi M, Yamamoto S. Changes of cone electroretinograms to colour flash stimuli after successful retinal detachment surgery. *Br J Ophthalmol* 2001;85(4): 410-413
- Roy MS, Mackay CJ, Gouras P. Cone ERG subnormality to red flash in central retinal vein occlusion: a predictor of ocular neovascularisation? *Eye (Lond)* 1997;11 (Pt 3): 335-341
- Xie B, Nakanishi S, Guo Q, et al. A novel middle-wavelength opsin (M-opsin) null-mutation in the etinal cone dysfunction rat. *Exp Eye Res* 2010;91(1): 26-33
- Weiss AH, Kelly JP, Bisset D, et al. Reduced L- and M- and

increased S-cone functions in an infant with thyroid hormone resistance due to mutations in the THRbeta2 gene. *Ophthalmic Genet* 2012;33(4): 187-195

9 Akula JD, Lyubarsky AL, Naarendorp F. The sensitivity and spectral identity of the cones driving the b-wave of the rat electroretinogram. *Vis Neurosci* 2003;20(2): 109-117

10 Breuninger T, Puller C, Haverkamp S, et al. Chromatic bipolar cell pathways in the mouse retina. *J Neurosci* 2011; 31(17): 6504-6517

11 Li W, DeVries SH. Bipolar cell pathways for color and luminance vision in a dichromatic mammalian retina. *Nat Neurosci* 2006;9(5): 669-675

12 Bowmaker JK, Dartnall HJ. Visual pigments of rods and cones in a human retina. *J Physiol* 1980;298: 501-511

13 Wässle H. Parallel processing in the mammalian retina. *Nat Rev*

Neurosci 2004;5(10):747-757

14 Boycott B, Wässle H. Parallel processing in the mammalian retina; the Proctor Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(7): 1313-1327

15 Ghosh KK, Bujan S, Haverkamp S, et al. Types of bipolar cells in the mouse retina. *J Comp Neurol* 2004;469(1):70-82

16 Smith RG, Freed MA, Sterling P. Microcircuitry of the dark-adapted cat retina: functional architecture of the rod-cone network. *J Neurosci* 1986;6(12): 3505-3517

17 Szel A, Rohlich P. Two cone types of rat retina detected by anti-visual pigment antibodies. *Exp Eye Res* 1992;55(1):47-52

18 van Oosterhout F, Fisher SP, van Diepen HC, et al. Ultraviolet light provides a major input to non-image-forming light detection in mice. *Curr Biol* 2012;22(15): 1397-402

关于吴宪巍医师抄袭一事的系列声明

本刊声明:

《国际眼科杂志》关于吴宪巍医师抄袭行为的声明

经严格审查,发表在本刊 2014 年第 2 期文章《CCR3 抑制剂对激光诱导脉络膜新生血管的抑制机制》确属抄袭,经研究国际眼科杂志社作出如下决定:

1. 撤销已发表的论文《CCR3 抑制剂对激光诱导脉络膜新生血管的抑制机制》。
2. 三年之内《国际眼科杂志》不再受理该研究团队提交的稿件。
3. 将此事通报作者单位。
4. 本刊将进一步加强学术不端的审查,防止再发生抄袭行为。

由于本刊使用的学术不端审查系统的局限性造成漏审以及编审工作的失误,我们特向 IOVS 和原文作者及公众真诚道歉!

《国际眼科杂志》编辑部

2014-03-07

吴宪巍医师声明:

声 明

关于《CCR3 抑制剂对激光诱导脉络膜新生血管的抑制机制》这篇文章的抄袭行为本人承担所有责任,这件事自始至终都是我一个人完成的,其它二位作者并不知情,他们属于“被署名”,这么做的目的就是想使文章快速发表,对此我对他们二人表示深深的歉意!同时也借此机会对原文作者、IOVS 杂志及国际眼科杂志社表达最真诚的歉意!由于此事确与其他二位“作者”无关,本人在此声明所有责任由我一人承担,一切后果由我本人负责!特此声明。

吴宪巍

2014/3/8

关于作者简介虚假信息的更正声明:

更正声明

吴宪巍医师发表于本刊 2014 年第 2 期的抄袭论文《CCR3 抑制剂对激光诱导脉络膜新生血管的抑制机制》一文中作者简介存在虚假信息,现予以更正为“作者简介:吴宪巍,本溪市中心医院副主任医师,中国医科大学在读博士研究生,师从刘哲丽教授,研究方向:眼底疾病。”

《国际眼科杂志》编辑部

2014-03-20