

大鼠外伤性视神经损伤模型建立的研究进展

朱夏茹, 陈晓明

作者单位: (610041) 中国四川省成都市, 四川大学华西医院眼科中心

作者简介: 朱夏茹, 在读硕士研究生, 研究方向: 青光眼。

通讯作者: 陈晓明, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 青光眼. chenxm58@163.com

收稿日期: 2014-07-29 修回日期: 2014-11-25

Recent research progress of traumatic optic nerve injury in rat model

Xia-Ru Zhu, Xiao-Ming Chen

Eye Center, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xiao-Ming Chen. Eye Center, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. chenxm58@163.com

Received: 2014-07-29 Accepted: 2014-11-25

Abstract

• Traumatic optic nerve injury (TON) is caused by direct or indirect optic nerve trauma, which is one of a serious complication of craniocerebral trauma. Its prognosis poor and usually bring permanent vision damage. At present, optic nerve injury and regeneration is hot in neurobiology research. To build an ideal experimental animal model is extremely important in research and development in the treatment of optic nerve injury. In this article, we review the methods of making rat models of traumatic optic neuropathy, clinical similarities, advantages and disadvantages of among these models, to provide reference for more experimental study.

• **KEYWORDS:** traumatic optic nerve injury; animal model; rat; progress

Citation: Zhu XR, Chen XM. Recent research progress of traumatic optic nerve injury in rat model. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(12):2182-2184

摘要

外伤性视神经损伤是由外伤直接或间接导致的视神经损伤,也是颅脑外伤严重的并发症之一,其预后不良,常遗留永久性视力损害。目前视神经的损伤及再生是神经生物学方面的研究热点,因此建立理想的实验动物模型是开发视神经损伤治疗的重要方面。本文就各种大鼠的外伤性视神经损伤模型的造模方法、模型的临床相似性及其利弊进行综述,为进一步的实验研究提供参考。

关键词: 外伤性视神经损伤; 动物模型; 大鼠; 进展

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.12.20

引用: 朱夏茹, 陈晓明. 大鼠外伤性视神经损伤模型建立的研究进展. 国际眼科杂志 2014;14(12):2182-2184

0 引言

视神经是中枢神经系统的一部分,由视网膜神经节细胞的轴突在视盘处汇聚,再穿过巩膜筛板而构成。外伤性视神经损伤又称之为外伤性视神经病变,主要是由外伤直接或间接导致的视神经缺血、水肿、炎症、断裂、萎缩而引起的视神经损伤。视神经损伤是一种严重的致盲性眼病,在颅脑损伤患者中的发病率为0.5%~5%^[1],预后较差,常遗留永久性视力损害,是颅脑外伤致残率较高的原因之一。视神经损伤患者在眼科的患者中所占比例大,治疗方法少,治疗效果差。探求视神经损伤后修复再生的方法、谋求改善视神经功能的策略一直是眼科研究的热点和难点^[2]。外伤性视神经损伤目前无较好的治疗方法,通过建立视神经损伤动物模型并进行干预研究,以寻求有效的治疗方法,对于研究视神经损伤机制及治疗具有重要意义。国内外学者通过大量的探索,研制出了各具特点的创伤性视神经损伤动物模型,在研究视神经损伤机制方面起了重要作用。创伤性视神经损伤动物模型常用哺乳动物包括大鼠、家兔、猫或犬类等。大鼠是最经济的小型标准动物之一,其眼球壁的色素层颜色较深,在分离视网膜时易于分辨,不易破损,可保持视网膜的完整性,较易实施视网膜铺片,所以最常被选用。

1 大鼠创伤性视神经损伤模型的一般造模方法

选用双眼屈光间质清、瞳孔等大等圆、对光反射正常、眼底无异常的大鼠纳入实验;一般通过上睑结膜入路,损伤视神经眶内段,次日观察术眼,如出现白内障、眼底缺血等情况,则予以剔除;若出现瞳孔扩大,直接对光反射消失或迟钝,间接对光反射存在,眼球无突出,视为成功模型。采用结膜入路暴露视神经的方法对实验动物创伤较轻,动物死亡率低,重复性较好,较接近临床;视神经眶内段易于手术暴露,且操作对脑组织损伤小,不易引起颅内感染及其他并发症。

2 各种大鼠的创伤性视神经损伤模型的制作

2.1 视神经横断伤大鼠模型 视神经横断伤大鼠模型是各种视神经损伤模型中最易建立,并且最易于统一损伤标准的模型。该模型建立方法一般为:用水合氯醛或戊巴比妥将大鼠充分麻醉后,并将其固定于手术台上,在双目手术显微镜下,沿外眦部剪开球结膜暴露巩膜,钝性分离外直肌,向前牵拉眼球,暴露视神经,于球后剪断,形成动物模型^[3-7]。

视神经横断伤大鼠模型的特点为将视神经于视交叉前切断,造成视网膜神经节细胞轴突完全离断,属于完全性视神经损伤,类同临床视神经横断伤。它具有保证各试验中致伤量一致,具有简单可行性,便于对照研究等优点,不足之处在于该模型在随后的修复治疗研究方面有局限性。

2.2 视神经夹持伤大鼠模型 视神经夹持伤大鼠模型是在实验研究上较多采用的方法,最接近临床上的视神经挫伤,最早可追溯到20世纪90年代,主要用于外伤性不完全损伤等类型的研究。根据文献报道,视神经钳夹伤的夹持器械主要包括血管钳、血管镊、神经损伤夹、动脉瘤夹、珠宝钳等,夹伤的力量和时间各有一定差异,且受多种因素影响。该模型建立方法一般为:用水合氯醛或戊巴比妥将大鼠充分麻醉后,并将其固定于手术台上,在双目手术显微镜下,沿外眦部剪开球结膜,钝性分离外直肌,向前牵拉眼球,暴露视神经,用夹持器械于球后夹持视神经,并避免损伤眼动脉,形成夹持伤模型,不同模型夹持时间及夹持力度各有不同^[8-13]。1998年Yoles等^[8,9]制作的大鼠模型是用特制的显微钳在眼球后1~2mm处以120g力钳夹视神经30s致伤;2000年Ellen等^[10]制作的大鼠模型则用5号珠宝钳在眼球后3mm处钳夹视神经3次,每次10s,致视神经损伤;2004年,黄厚斌等^[11]制作的大鼠模型是用压力为148g的反向镊夹持大鼠视神经3,6,12,30,60s,或用压力为32.4g的微型动脉夹夹持大鼠视神经5,10,15s,建立不同程度视神经损伤的动物模型,对致伤强度和损伤程度以及它们之间的关系进行量化分析;2008年Tsai等^[13]制作的模型采用60g力度的微血管钳在球后2mm处钳夹视神经30s致伤;2014年曹霞等^[12]制作的大鼠模型用夹持力为50g夹持钳在球后约2mm处钳夹视神经10s。损伤后出现视神经肿胀、视神经纤维稀疏水肿、视网膜神经节细胞数目渐进性减少,并且随着致伤强度的增加,致伤时间的延长,损伤呈进行性加重。

视神经夹持伤大鼠模型的优点为设计简单、易于操作、无需开颅,且创伤较小,具有保持视神经鞘膜完整性、损伤明确、术后动物存活率高等特点,与临床上视神经挫伤的特点相符合,因而应用更加广泛。但是目前对于夹力大小、夹持时间未形成统一的规范,而且致伤程度对操作者依赖性较大,不同操作者造成的视神经损伤程度难以保持一致,且损伤程度难以精确定量,故缺乏统一的、可控制的致伤标准。

2.3 视神经撞击伤大鼠模型 视神经撞击伤大鼠模型是一种间接致伤模型,利用间接撞击造成的视神经损伤致伤方式非常接近于临床,也是目前视神经损伤研究中应用较多的一种。它分为闭合性和开放性两大类:(1)闭合性:用头盔将动物头部固定,通过加速冲击仪撞击动物头部造成间接性视神经外伤^[14];(2)开放性:显露大鼠两侧眶上缘切迹和眶壁,咬骨钳向视神经管方向咬除部分眶壁骨板,将大鼠头部置于致伤管下,致伤头卡在一侧视神经孔上方的眶板上,打击球从高处自由落下击于卡头上,致伤视神经。2008年,张琳琳等^[15]制作的大鼠模型:全麻大鼠后,沿着10:00~2:00弧形剪开双眼穹隆部结膜,然后沿巩膜外壁将自制的打击管经结膜切口伸入眼眶内约2mm,与此同时,将大鼠头部固定在液压颅脑损伤仪(FPI)鼠架上,根据打击锤不同的预定角度及其所产生的不同打击力量,将损伤分为轻、重两组分别对大鼠的视神经进行撞击,建立程度不同的视神经损伤模型;结果显示损伤后随着时间的延长,视网膜各层细胞逐渐减少,伤后8wk在血管和星形胶质细胞突起的附近有呈簇状分布的新生轴突,数量上重伤组少于轻伤组;F-VEP与伤前相比,潜伏期延长,振幅降低,损伤越重,伤后变化越明显。

视神经撞击伤模型十分接近临床状态的间接视神经损伤,即致伤力通过颅骨的传导,在伴发或不伴发视神经管骨折的情况下致视神经损伤。此模型在损伤视神经的同时保持了其完整性,伤情稳定,重复性好,对操作者的依赖程度较小,且可大致定量致伤程度。从其结果来看,开放性撞击法相对闭合性撞击法来说是更为完善的模型制作方法,由于咬除了眶壁,使其撞击力量更加集中,方向性更好,强度稳定、成功率高,是比较接近于临床状态的间接视神经损伤,但是手术复杂、操作不便、设备要求高;而闭合性撞击法与临床创伤性视神经损伤的特点更加符合,但由于成功率低、动物致死率高,不利于术后继续饲养观察,因而不是理想的模型制作方法。

2.4 视神经牵拉伤大鼠模型 视神经牵拉伤视神经损伤的大鼠模型较类似于部分外伤性损伤及手术牵拉损伤,国内外均有学者进行研究^[16-19],该模型与临床视神经损伤有密切联系。制作方法:对大鼠进行全身麻醉后,球结膜切开1/4,用血管钳分离至球后,将眼球向外托出至球后与眶前骨缘平齐,立即恢复眼球正常解剖位置。解剖测量正常球后视神经起始段至视交叉长度,以及牵拉球后与眶骨缘平齐时的视神经长度,测得视神经延长的长度,而后观察视神经牵拉伤后的视神经纤维超微结构的变化^[18]。2002年王开仕等^[18]制作的模型发现视神经牵拉损伤后神经纤维超微结构变化明显,并伴有相应的电生理表现;且在24h内电生理变化明显,同期出现轴突水肿、线粒体肿胀、髓鞘松散等变化;96h后电生理变化达到高峰;之后有缓慢恢复的趋势,同期轴突有萎缩与修复的表现;2mo后电生理部分恢复,但在牵拉程度较大的模型轴突萎缩现象明显,甚至消失,胶原纤维增生明显。

视神经牵拉伤大鼠模型的牵拉方向可以分为与视神经管平行或与视神经管垂直:前者可造成视神经的弥漫性轴索损伤,后者类似视神经管骨折所致的切割伤。用该模型进行研究具有较好的临床意义,可较为准确地定量损伤程度。但其致伤装置复杂、手术步骤较多,操作过程难度较大,不利于大量开展研究工作。

3 小结

视神经损伤的研究目的是:弄清造成视神经损伤的因素,探索视神经损伤后的病变发展,摸索如何避免进一步的继发损伤,如何更好更快地促进损伤后视神经的修复。从这些方面考虑,理想的外伤性视神经损伤模型的制作应满足以下特点:(1)模型的制作尽量类似于人类的视神经损伤状态;(2)选择动物要有一定的实用价值,易于标化,解剖较类似于人类;(3)动物要经济适用,便于饲养及大规模复制模型并节约研究成本;(4)模型的制作要简单易行,可重复性强;(5)致伤设备简单,便于操作,手术步骤少,对实验动物创伤小,动物死亡率低,存活率高;(6)致伤率高,可造成确切的视神经损伤,同时尽量避免损伤视网膜中央动脉和脉络膜毛细血管层,且可对损伤程度精确定量,保证造成大量、标准的视神经损伤动物模型,易于产生可预测的结果和临床过程,保证实验研究的临床意义;(7)模型稳定,各模型动物之间的致伤强度便于统一标准。综如上述,视神经夹持伤及视神经撞击伤模型目前应用较为广泛,由于它们的致伤原理更接近于临床上的外伤患者,也符合建立动物模型的基本条件——尽量模仿临床。但是由于它们自身的局限性,故不能完全成为理想的外伤性视神经损伤模型,尽快建立更为理想的外伤性视神

经损伤模型还有待于进一步研究和探讨,从而为临床的治疗和预防提供理论依据。

参考文献

- 1 Warner N, Eggenberger E. Traumatic optic neuropathy: a review of the current literature. *Curr Opin Ophthalmol* 2010;21:459-462
- 2 尹丹萍,柳林. 视神经损伤后修复与再生的研究进展. *国际眼科杂志* 2013;13(6):1152-1156
- 3 Villegas-Perez MP, Vidal-Sanz M, Rasminsky M, et al. Rapid and protracted phases of retinal ganglion cell loss follow axotomy in the optic nerve of adult rats. *J Neurobiol* 1993; 24(1):23-36
- 4 雷季良,陈白羽,栾丽菊,等. 视神经损伤动物模型的建立. *解剖学杂志* 2005;28(108):107-108
- 5 Berkelaar M,Clarbe B. Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci* 1994; 14(7):4368-4374
- 6 王琼,李爱林. 弥漫性轴索损伤实验模型研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志* 2013;40(3):255-258
- 7 Agudo M, Perez-maria MC. Time course profiling of the retinal transcriptome after optic nervetranssection and optic nerve crush. *Mol Vis* 2008;14:1050-1063
- 8 Yoles E, Schwartz M. Elevation of intraocular glutamate levels in rats with partial lesion of the optic nerve. *Arch Ophthalmol* 1998; 116(7):906-910
- 9 Yoles E, Wheeler LA, Schwartz M. Alpha 2-Adrenoreceptor agonists are neuroprotective in a rat model of optic nervedegeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(1):65-73

- 10 Ellen E, Freeman, Cynthia L, et al. The Effects of FK506 on Retinal Ganglion Cells after Optic Nerve Crush. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(5):1111-1115
- 11 黄厚斌,张卯年,马志中. 大鼠视神经不同程度量化损伤模型的建立和评价. *中华创伤杂志* 2004;20(12):747-750
- 12 曹霞,姜晓璇,马林昆,等. 大鼠视神经钳夹伤模型的建立及磁共振成像运用初探. *眼科新进展* 2014;4(3):205-208
- 13 Tsai RK, Chang CH, Wang HZ. Neuroprotective effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in neuro degeneration after optic nerve crush in rats. *Exp Eye Res* 2008;87(3):242-250
- 14 Jafari SS, Maxwell WL, NeilsonM, et al. Axonal cytoskeletal changes after non-disruptive axonal injury. *Neurocytol* 1997;26(2):207-221
- 15 张琳琳,吕瀛娟,颜华,等. 标准化大鼠外伤性视神经损伤动物模型建立. *眼外伤职业眼病杂志* 2008;30(12):913-917
- 16 徐丽,夏德昭,李富君. 复明中药对牵拉性视神经损伤后视神经及血中 SOD、MDA 水平的影响. *中国实用眼科杂志* 1998;16:721-723
- 17 Gennarelli TA, Thibault LE, Brown M, et al. Axonal injury in the optic nerve: a model simulating diffuse axonal injury in the brain. *J Neurosurg* 1989;71:244-253
- 18 王开仕,王正敏. 视神经牵拉伤的实验研究. *上海医学* 2002;25(8):479-483
- 19 李峰,孙晓川,唐文渊. 视神经牵拉伤视网膜神经节细胞和少突胶质细胞中 GABA 的表达及意义. *中国神经精神疾病杂志* 2006;32(2):173-175

亚非眼科学会副主席吴乐正教授给本刊来信

胡总编辑:

收到您寄来的三本《国际眼科杂志》,甚有教益。办一本这样的杂志十分不易,可以想象您为之付出的精力与汗水,更为中国眼科医生打开了重要的一扇国际交流窗口。也只有开放改革的今天,您这样饱含勇气、有志之士才能办成这样有风格的杂志。在我们感受中,您圆了多少眼科前辈和渴望加强国际学术交流大夫的梦。

再次祝贺您!

吴乐正 陈又昭

中华医学杂志(英文版)总编辑照日格图教授给本刊来信

胡总编:

您好!

因为这几天为 ICMJE 年会忙碌,未能及时给您回复,请您多多原谅。

在那次会议上认识您,我也感到十分高兴! 您们办刊有方,成为我国进入 SCI 的少数期刊之一,是很不容易的,您们的经验也值得国内许多期刊学习和借鉴。我也希望有机会多与您们交流。

祝您们取得更多更大的成果和进展!

照日