

视动反应检测在啮齿类动物视网膜病变应用中的研究进展

冯玉沛¹, 罗向霞², 王 晗¹, 杨 敏¹

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 81460685)

作者单位:¹(730000) 中国甘肃省兰州市, 甘肃中医药大学;²(730000) 中国甘肃省兰州市, 甘肃省中医院眼科
作者简介: 冯玉沛, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医药治疗眼底病。

通讯作者: 罗向霞, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 中医药治疗眼底病. jessica_lxx@163.com

收稿日期: 2016-10-16 修回日期: 2017-02-28

Research progress of optkinetic testing applied on the retinal pathological changes in rodents

Yu - Pei Feng¹, Xiang - Xia Luo², Han Wang¹, Min Yang¹

Foundation item: Natural Science Foundation of China (No. 81460685)

¹Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; ²Department of Ophthalmology, Gansu Provincial Hospital of TCM, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Xiang - Xia Luo. Department of Ophthalmology, Gansu Provincial Hospital of TCM, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. jessica_lxx@163.com

Received: 2016-10-16 Accepted: 2017-02-28

Abstract

• At present, it is a problem to interpret and evaluate the relation of the damage and the death of photoreceptor cells with visual function in the study of retinal diseases. In recent years, the application of visual head tracking in rodents makes it possible to evaluate the relation of the damage and the death of photoreceptor cells with visual function. Behavioral evaluation, of which the relative study has made some progress, is predominate in continuous evaluation of animal's visual function. According to present researches of optkinetic testing on rodent animal with retinal diseases, the principles, the innovations, the achievements and the problems in application of the equipment in optkinetic response research are summarized to provide evidence when testing methods are being chosen in the study of animals with retinal diseases.

• KEYWORDS: optkinetic testing; retinal disease; visual function

Citation: Feng YP, Luo XX, Wang H, et al. Research progress of optkinetic testing applied on the retinal pathological changes in rodents. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(4):655-657

摘要

目前, 视网膜病变的研究中如何解释、评估光感受器细胞的损伤、死亡与视功能的对应关系是一个难题。近年来, 视动头部跟踪被用于啮齿类动物, 这对光感受器细胞的损伤、死亡与视功能的评估提供了可能。行为学评估在动物视功能的连续性评估中有很大的优势, 其相关研究已取得一定的进展。针对目前啮齿类动物视网膜病变视动力测试的研究状况, 对视动应答所研究的设备原理, 革新及应用等取得的成绩和存在的问题进行综述, 为啮齿类动物视网膜病变实验研究中更好地选择合适的检测方法提供依据。

关键词: 视动反应; 视网膜病变; 视功能

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2017.4.16

引用: 冯玉沛, 罗向霞, 王晗, 等. 视动反应检测在啮齿类动物视网膜病变应用中的研究进展. *国际眼科杂志* 2017;17(4):655-657

0 引言

对于啮齿类动物视觉功能的检测, 主要依靠视网膜解剖检查、视网膜电生理测试和视觉功能行为测试来完成^[1]。虽测试评估方法均有自己独特的优点, 但是由于存在各自的缺点, 尚未被科学界公认和接受。头部跟踪 (head-tracking-HT) 试验在 1979 年被 Cowey 等^[2]报道后其不断改进的测试方法, 视动测试已做为一种非侵入性技术, 被广泛应用于啮齿类动物视网膜功能减退的视觉功能量化评价^[3]。

1 视动反应测试的原理

Cahill 等^[5]认为图像稳定依靠头部转动反射, 是由视反射 (optokinetic reflex, OKR)、视动性眼震 (optokinetic nystagmus, OKN) 和前庭眼反射 (the vestibule - ocular reflex, VOR) 这两种类型的眼球运动反应介导^[6-7]。当动物或人通过视觉感知大部分视觉环境移动时 (如在一列移动的火车上通过车窗注视车外风景时), 这些反射就会被触发用于稳定在视网膜上运动的图像。而啮齿类动物的视网膜解剖结构无黄斑中心凹, 故它们锁定其所看到的目标的能力十分有限, 相反其更容易引起啮齿类动物的代偿性眼球运动^[4]。OKR 诱导时, 视网膜的整个视觉场景的漂移, 引起眼球同向快速地旋转, 最大限度地减少视网膜上的图像的运动。因其不需要培训, 评估不同的中枢神经系统的功能, 并且可以用最少的消耗或适应反复诱导, 并产生一个电子记录, 使结果分析更容易, 量化数据更客观。VOR 是类似的响应于头的运动, 是来自前庭系统, 而不是通过视网膜的传输引起的。通常情况下, OKR 和 VOR 一起工作, 以确保头部和身体的运动时图像在视网膜上的稳定^[5]。

2 视动头部追踪装置及改进

目前普遍使用的视动头部追踪检测装置^[8]是一个透

明的转鼓,直径约在60~130cm,鼓中央有一个用来放置动物的平台。转鼓内侧壁贴有可以更换的不同空间频率和不同对比度的光波条栅。灯光从平台上方照射,以步进电机控制转鼓,可以顺时针和逆时针转动,转动速度可以调节。小鼠会随着鼓壁上条栅的旋转而转动其头部,通过相机拍摄记录小鼠的头部运动,通过计算花费跟踪运动的总时间,和改变条带的宽度(不同的光栅频率),建立视觉功能的测量和视力的量度。

据报道高级哺乳动物具有相当大的视野重叠和双眼视觉,而低等的哺乳动物(如老鼠)的眼睛很少产生双眼视^[9]。而低等哺乳动物以鼻颞刺激诱发的视动反应是无效的^[10]。色素大鼠两侧的单眼视动刺激是高度不对称的^[11]。对此 Thomas 等^[9]修改了原装置(图1),以单独测量每一只眼睛的视动反应,使左眼和右眼之间的头跟踪反应结果直接比较。由于原始装置中央平台未做其他的特殊处理,老鼠容易从平台上掉下或者偏离摄像头,这将给实验带来不便,故在原有的设备基础上加以改进。蒋丽琴等^[12]为了使头部动作观察更加明显,在老鼠头顶黏有一块椭圆形小纸板,纸板向上一面为黑色背景下有一定距离的两个小白点,自行编写的测量软件通过追踪小白点的运动来记录头部的追随运动。

3 视动头部跟踪的应用

3.1 视网膜退变 视动头部跟踪作为一种应用于啮齿类动物视网膜病变的视觉功能评价的非侵入性技术,在疾病不同阶段通过调整刺激参数如条纹宽度、光栅速度和对比敏感度的视动得分来评估视网膜功能。用于评估视网膜退变(retinal degenerate, RD)动物视动头部跟踪响应^[13-14],该研究使用了基于Java的软件程序来创建并调节视动的刺激参数,如条的宽度、光栅速度和条纹运动的方向,并且以比较正常和视网膜退化大鼠和小鼠之间的反应^[14]。并对其头部反应评分(“0”=没有明显的头部跟踪,“1”=最小头部跟踪,“2”=好的头部跟踪但没有身体的运动,“3”=最大头部跟踪和最小的身体运动,“4”=最大头部跟踪和大幅度的身体运动)。Caroline 等^[8]通过一个条纹宽度为28,光测量 $9\text{cd}/\text{m}^2$ 的视动转鼓参数检测发现,在204只小鼠当中有138只视网膜退化小鼠没有显示任何头部跟踪响应,剩余66只正常小鼠中45只表现出正常的反应,剩余21只中19只在第一次测试中没有反应,重复试验时显示正常的反应,剩余2只是由于其他原因影响。

3.2 青光眼 青光眼出现视网膜神经节细胞的不可逆的损害,最终导致视野的丧失。目前用于评估青光眼动物模型的视觉障碍评估有两种行为分析:视觉上的水迷宫任务和视动鼓。视动鼓依靠视觉运动反应,这种反射是一种生理反应,其非常适合于分析的电路和性能的视网膜神经元的微妙变化。而在青光眼的研究中评估微妙的变化是确定新的干预策略能否成功的关键^[15]。Liang 等^[16]建立高眼压性青光眼小鼠模型来模拟人的高眼压性青光眼,激光治疗后使用回弹式眼压计监测眼压的变化并用视动行为测试来测量视觉能力的相应变化发现,在激光治疗前,双眼表现出正常的视力(左:0.375周/度;右:0.397周/度)。在激光治疗后2mo,右眼的视力(眼压)与左对照眼相比明显下降(左:0.45周/度;右:0.228周/度)。Stephanie 等^[17]利用视动反应来定量 DBA/2J 小鼠在青光眼产生前后视野缺损的情况,并且充分体现了视

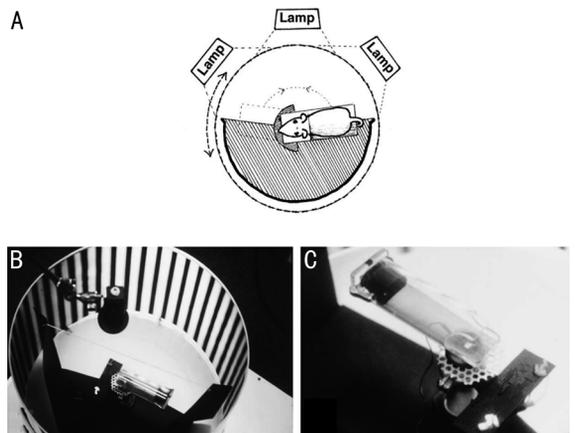


图1 行为测试仪器 A:修改后的装置示意图,包括一个旋转鼓以及条纹。从滚筒外部170°均匀照射和后面固定190°的黑色挡板,阻断光源路径。B:从上述滚筒加入视频摄像机,记录的头部运动,固定的黑色挡板,并在转鼓中心放置大鼠束缚器。C:大鼠束缚器:将大鼠置于一个细管(不同的尺寸取决于大鼠尺寸管),其可转动180°。该管头部一侧的前面有开口。带电板可以防止老鼠从爬出来。一旦受到电击,老鼠会一直平静地坐着,只转动头部。老鼠一次测试4min,每只眼睛为2min,条纹鼓单向转动,每个方向1min。头部跟随视动鼓旋转一次的时间(s)被记录为“头部跟踪”的鼓的旋转。两个不同的条纹宽度应对2个光栅频率,每度0.25个周期(1cm,中等条纹)和每度0.125个周期(2cm,大条纹)以每分钟两圈的恒定转速旋转。用摄像机记录老鼠的头部动作供以后分析和评分。

动反应非侵入性的测量和评估视网膜视觉系统的功能。其研究的结果表明,增加眼压与视觉空间性能(视力和对比敏感度)存在着相关性。

3.3 糖尿病视网膜病变 对于糖尿病动物研究的视觉通路的功能缺损表现使用最多的是视网膜电图(electroretinogram, ERG)。ERG已用于动物模型主要是量化全视野视网膜光闪烁的整体反应具有感光功能的衰老和疾病的认识是很有价值的。然而,视网膜内层电路,以及包括它们的无长突和神经节神经元均受糖尿病影响显著^[18-19],使ERG不能完全解释糖尿病模型。因此,需要在糖尿病的动物模型的视觉功能的视动测试。Akimov 等^[20]利用视动头部跟踪设备对杂交的秋田鼠视觉损失进行量化评估,结果表明在5~7.5月龄有显著的视觉缺失并且发现糖尿病可以引起空间频率关系的对比敏感度的改变。Aung 等^[21]通过视动跟踪对链脲佐菌素(STZ)诱导的色素长埃文斯大鼠的高血糖的糖尿病模型视功能进行了评估,结果表明视动测定的刺激参数与大鼠的血糖水平有一定的关系。

3.4 视网膜光损伤 视网膜光损伤是一个非常复杂的过程,其中视紫红质在光损伤后视细胞凋亡的过程中起着十分重要的作用。在各种视网膜退行性病变的研究中,解释和评估光感受器细胞的损伤、死亡与视功能的对应关系也是眼科科研中的一个难题。陈晓勇等^[22]利用视觉头部跟踪对28只SD大鼠在光损伤治疗前后连续测量动物的视功能状况,以观察大鼠视力的连续变化过程,以评估不同程度视功能的损伤。李学民等^[23]通过视动头部跟踪观察SD大鼠视细胞光损伤模型发现随着视细胞损伤程度的加重,SD大鼠的视功能呈现渐进性的下降,其视觉-运

动的平均运动速度亦出现相应的变化。视觉-运动行为测试可以用于对SD大鼠的视功能进行定量的评估。

3.5 其他 Leber氏遗传性视神经病变(LHON)是线粒体呼吸链的复合物I突变引起的遗传性疾病。该疾病的特征在于中央视力损失,由于视网膜神经节细胞(RGC)功能障碍和视神经萎缩。Fabrice等通过视动反射对艾地苯醌和短链苯醌对LHON的治疗效果进行评估,结果表明其在保护视力丧失和在加速视力恢复LHON患者疗效明显^[24]。张森等^[25]通过转鼓视力仪检测豚鼠的颜色视觉并定量确定其颜色对比敏感度视力,以此评估豚鼠色觉和视功能。

4 小结

视动头部跟踪是一种行为测试技术,与传统的视功能检查技术相比具有方法简单、快速、重复、无创、不会被适应的特点。虽然视动反应有其存在的局限如动物的不配合致使测量不准确,但是视觉头部跟踪具有很大的潜力,以增加我们对视网膜视觉系统的正常功能及病理机制的认识,以更好地了解、预防和治疗人类疾病,在未来的测定评估技术联合应用,将对继续了解发病机制和临床前试验测试新的治疗起到至关重要的作用。

参考文献

- Pinto LH, Enroth-Cugell C. Tests of the mouse visual system. *Mammalian Genome* 2000;11(7):531-536
- Cowey A, Franzini C. The retinal origin of uncrossed optic nerve fibres in rats and their role in visual discrimination. *Exp Brain Res* 1979;35(3):443-455
- Peachey NS, Goto Y, Quiambao AB, et al. Functional consequences of oncogene-induced photoreceptor degeneration in transgenic mice. *Visual Neuroscience* 1995;12(3):513-522
- De JM, De Zeeuw CI. Video-oculography in mice. *J Vis Exp* 2012;65:e3971
- Cahill H, Nathans J. The optokinetic reflex as a tool for quantitative analyses of nervous system function in mice: application to genetic and drug-induced variation. *PLoS One* 2008;4(3):e2055
- Stahl JS. Using eye movements to assess brain function in mice. *Vis Res* 2004;44(28):3401-3410
- Leigh RJ, Zee DS. The neurology of eye movements (fourth edition). Oxford: Oxford University Press 2006:762
- Caroline T, Arnold K, Jackson IJ, et al. Presence of visual head tracking differentiates normal sighted from retinal degenerate mice. *Neuroscience Letters* 2002;325(1):21-24

- Thomas BB, Seiler MJ, Saddy SR, et al. Optokinetic test to evaluate visual acuity of each eye independently. *J Neuroscience Methods* 2004;138(1-2):7-13
- Hobbelen JF, Collewijn H. Effect of cerebro/cortical and collicular ablations upon the optokinetic reactions in the rabbit. *Documenta Ophthalmologica* 1971;30(1):227-236
- Harvey RJ, De'Sperati C, Strata P. The early phase of horizontal optokinetic responses in the pigmented rat and the effects of lesions of the visual cortex. *Vis Res* 1997;37(12):1615-1625
- 蒋丽琴,张森,莫丹平等.豚鼠的条栅视力检测设备的制作及其条栅视力的测定.中国眼视光学与视觉科学杂志 2010;46(8):725-730
- Tomita H, Sugano E, Fukazawa Y, et al. Visual Properties of Transgenic Rats Harboring the Channel rhodopsin-2 Gene Regulated by the Thy-1.2 Promoter. *PLoS One* 2009;4(11):e7679
- Thomas BB, Shi D, Khine K, et al. Modulatory influence of stimulus parameters on optokinetic head-tracking response. *Neuroscience Letters* 2010;479(2):92-96
- Grillo SL, Koulen P. Psychophysical testing in rodent models of glaucomatous optic neuropathy. *Exp Eye Res* 2015;141(12):154-163
- Liang F, Chen H, Suyeoka G, et al. A laser-induced mouse model of chronic ocular hypertension to characterize visual defects. *J Vis Exp* 2013;78(8):e50440
- Stephanie BL, Kaja S, Koulen P. Quantification of deficits in spatial visual function of mouse models for glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(6):3654-3659
- Jackson GR, Barber AJ. Visual dysfunction associated with diabetic retinopathy. *Curr Diabetes Reports* 2010;10(5):380-384
- Kern TS, Barber AJ. Retinal ganglion cells in diabetes. *J Physiol* 2008;586(18):4401-4408
- Akimov NP, Rentería RC. Spatial frequency threshold and contrast sensitivity of an optomotor behavior are impaired in the Ins2Akita mouse model of diabetes. *Behavioural Brain Res* 2012;226(2):601-605
- Aung MH, Kim MK, Olson DE, et al. Early visual deficits in streptozotocin-induced diabetic long evans rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(2):1370
- 陈晓勇,沈丽,张纯,等.大鼠视网膜光损伤模型的行为观察.中国比较医学杂志 2005;15(1):10-13
- 李学民,陈晓勇,沈丽,等.大鼠视网膜光损伤前、后视觉介导的行为变化.中华眼科杂志 2005;41(10):924-929
- Heitz FD, Erb M, Anklin C, et al. Idefenone protects against retinal damage and loss of vision in a mouse model of Leber's hereditary optic neuropathy. *PLoS One* 2012;7(9):e45182
- 张森,蒋丽琴,瞿佳,等.利用视动性转鼓视力仪对豚鼠色觉和对比度视力的检测.中国眼视光学与视觉科学杂志 2010;12(5):340-343