

屈光度和眼轴长度对豚鼠视网膜神经纤维层厚度和视乳头形态的影响

李涛, 周晓东*, 江瀚然, 朱杰

(复旦大学附属金山医院, 上海 201508)

【摘要】 目的 使用光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)观察豚鼠视网膜神经纤维层(retinal nerve fiber layer, RNFL)厚度及视乳头形态,并探讨豚鼠等效球镜和眼轴长度与这些参数的相关性。方法 选用20只普通级豚鼠,进行等效球镜和眼轴长度测量,以及运用OCT观察豚鼠RNFL厚度及视乳头形态。结果 豚鼠等效球镜与RNFL平均厚度、上方RNFL厚度、颞侧RNFL厚度、下方RNFL厚度、鼻侧RNFL厚度呈正相关;而眼轴长度与RNFL平均厚度、上方RNFL厚度、颞侧RNFL厚度、下方RNFL厚度、鼻侧RNFL厚度呈负相关。等效球镜和眼轴长度与盘沿面积、视盘面积、平均杯盘比、杯容积无相关性。等效球镜和垂直杯盘比无相关性,而眼轴长度与垂直杯盘比存在正相关。结论 等效球镜和眼轴长度对豚鼠各方位RNFL厚度均有影响。在使用豚鼠作为高眼压动物模型时,需考虑其屈光状态和眼轴长度的影响。

【关键词】 豚鼠;视网膜神经纤维层厚度;视乳头形态;光学相干断层扫描

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015)03-0285-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2015.03.012

Effect of refraction and axial length on retinal nerve fiber layer thickness and optic disc morphology in guinea pigs

LI Tao, ZHOU Xiao-dong, JIANG Han-ran, ZHU Jie

(Jinshan Hospital of Fudan University, Shanghai 201508, China)

【Abstract】 Objective To observe the retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness and optic disc morphology in guinea pigs by optical coherence tomography (OCT), and to investigate the correlation of spherical equivalent and axial length with those parameters. **Methods** Twenty healthy guinea pigs were used in this study. Spherical equivalent and axial length of nine guinea pigs were measured, and retinal nerve fiber layer thickness and optic disc morphology in the guinea pigs were analyzed by OCT. **Results** Spherical equivalent of the guinea pigs was positively correlated with average RNFL thickness, and with superior, temporal, inferior and nasal RNFL thicknesses; while ocular axial length was negatively correlated with average RNFL thickness, and with superior, temporal, inferior and nasal RNFL thicknesses. Spherical equivalent and axial length did not correlate significantly with disc edge area, optic disc area, average cup disc ratio, or cup volume. Vertical cup disc ratio significantly correlated with axial length, but did not with spherical equivalent. **Conclusions** The retinal nerve fiber layer thickness in guinea pigs is affected by both spherical equivalent and axial length. When guinea pigs are used as an animal model of glaucoma, the effect of refractive state and axial length should be considered.

【Key words】 Guinea pig; Retinal nerve fiber layer thickness; Optic disc morphology; Optical coherence tomography

[基金项目] 上海市科委自然科学基金(13ZR1405800), 上海市卫生局青年基金(2013-121), 金山区卫生局青年基金(2013-02)。

[作者简介] 李涛(1983-), 男, 硕士, 研究方向: 眼视光学。Email: litao13013@sina.com

[通讯作者] 周晓东(1963-), 男, 主任医师, 硕士生导师, Email: xdzhou2005@163.com

豚鼠作为一种良好的实验动物,已被广泛用于实验性近视的研究。此外,豚鼠因其视神经乳头结构与灵长类动物及人类相似,也被用作高眼压的动物实验模型,探讨高眼压对视神经的超微结构损害^[1]。视网膜神经纤维层(retinal nerve fiber layer, RNFL)厚度及视乳头形态分析是目前青光眼诊断中的重要依据,人类近视与青光眼具有密切关系,近视程度与 RNFL 厚度具有相关性。因此,在使用豚鼠作为高眼压动物模型时,需要考虑豚鼠屈光状态对 RNFL 厚度的影响。但尚未见到运用光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)测量豚鼠 RNFL 厚度及视乳头形态的有关报道。本研究拟使用 OCT 客观分析豚鼠 RNFL 厚度及视乳头形态,并探讨豚鼠等效球镜和眼轴长度与这些参数的相关性。

1 材料和方法

1.1 实验动物

普通级 5~6 周龄英国种短毛三色雄性豚鼠 20 只,购自上海市松江区车墩实验动物良种场【SCXK(沪)2012-0008】,体重为 140~150 g,按实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀。在复旦大学附属金山医院动物房中饲养 3 个月【SYXK(沪)2010-0098】,保持室温在 20~26℃,湿度 50%,采用日光灯照明,光照周期 12 h 明:12 h 暗;自由摄食、进水。

1.2 实验方法

1.2.1 等效球镜测量

右眼使用睫状肌麻痹剂复方托吡卡胺滴眼液(参天制药有限公司,中国),每 5 min 滴 1 次,共 4 次,30 min 后进行带状光检影验光(YZ24 型,中国苏州六六公司),由验光经验丰富的检查者检影(散光以半量计入球镜)。

1.2.2 眼轴长度测量

应用 Super SW1000 眼科 A 超测量仪,A 超频率为 11 MHz,测量前先行角膜表面麻醉,测量时探头对准角膜中心并垂直于角膜平面,测定右眼眼轴长度手动模式连续测量 5 次,计算平均值,精确到 0.01 mm。

1.2.3 OCT 检查

豚鼠处于自然清醒状态,每只豚鼠仅检查右眼用于分析。撑开眼睑,固定于 OCT(Cirrus-HD 4000,德国 Carl Zeiss 公司)颌架合适位置。通过监视屏观察,保证 OCT 探测光源对准视乳头。选用 Optic Disc Cube 200×200 程序扫描,系统自动识别视乳头中心,自动确定计算圆环的位置。选择 RNFL 和 ONH OU 程序分析结果。豚鼠 OCT 扫描过程均由两位医师在 OCT 检查室内进行操作完成,一名医师负责保持豚鼠眼睛位置,同时协助调整被检眼距离 OCT 扫描镜头的距离,以使监视器可以清晰看到视乳头和大血管;另一名医师负责进行 OCT 操作。重复检测 3 次以上,对其中成像清晰者存盘以备分析(图 1)。

RNFL 和 ONH OU 分析: Optic Disc Cube 200x200

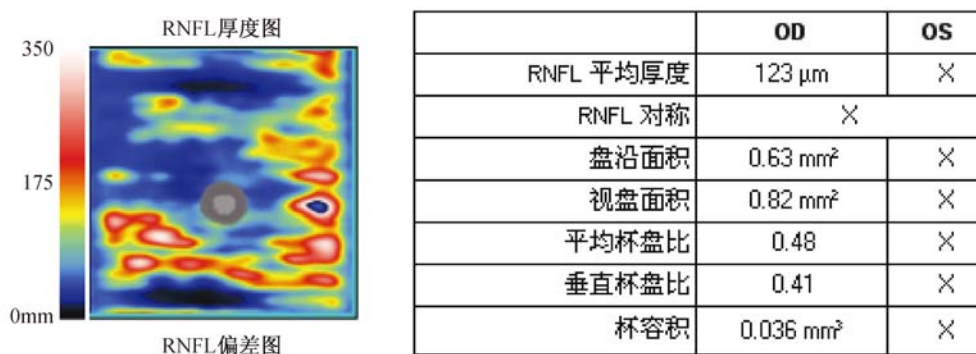


图 1 豚鼠右眼(等效球镜: +2 D)视网膜神经纤维层厚度和视乳头形态分析

Fig. 1 Analysis of retinal nerve fiber layer thickness and optic disc morphology of the right eye (spherical equivalent: +2 D) in a guinea pig.

1.3 统计分析

使用 SPSS 11.6 统计学软件分析, GraphPad Prism5 软件绘图。实验结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm$

s)表示,并进行正态性检验。豚鼠等效球镜和眼轴长度分别与 RNFL、盘沿面积、视盘面积、平均杯盘比、垂直杯盘比、杯容积采用线性回归分析。以 $P <$

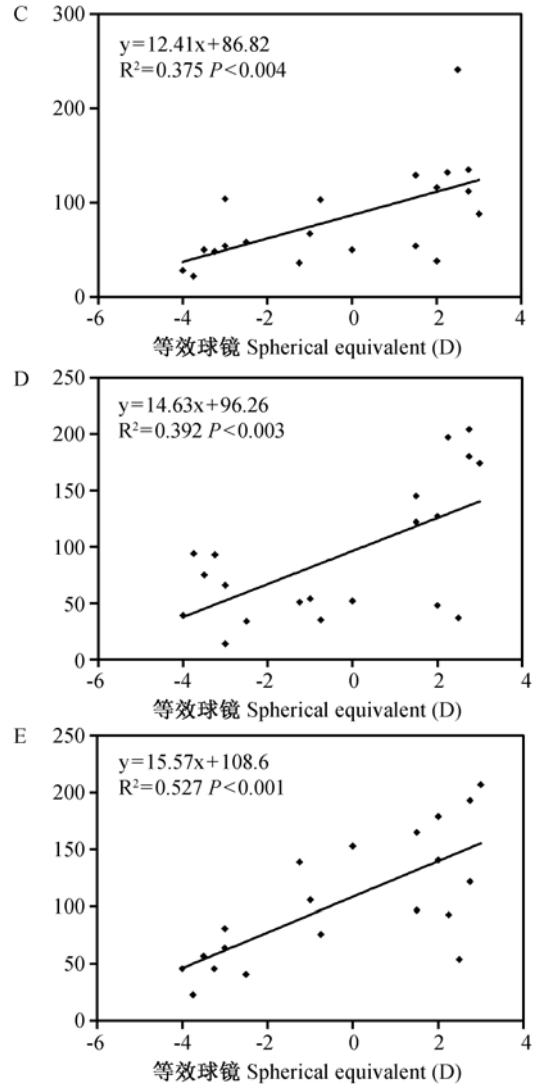
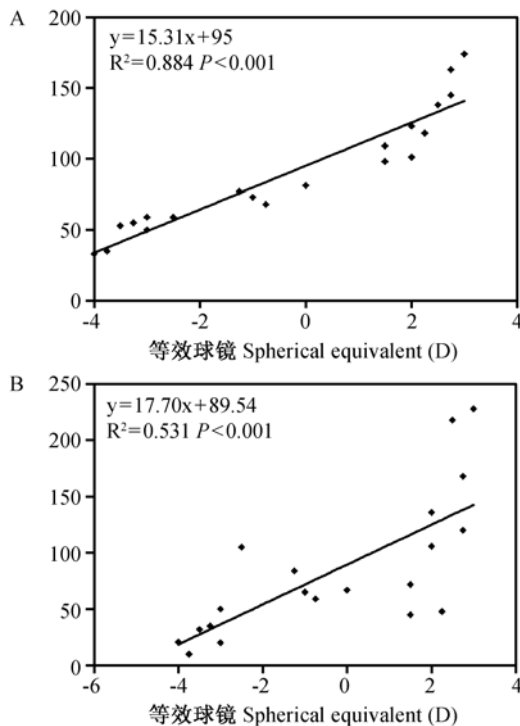
0.05 作为差异有显著性的标准。

2 结果

本实验中 20 只豚鼠的右眼平均等效球镜为 $(-0.29 \pm 2.58)D$ ($-4.00 \sim +3.00 D$), 眼轴长度为 $(8.52 \pm 0.04) mm$ ($8.43 \sim 8.58 mm$)。豚鼠右眼 RNFL 平均厚度为 $(90.6 \pm 42.0) \mu m$, 上方、颞侧、下方、鼻侧 RNFL 厚度分别为 $(84.5 \pm 62.7) \mu m$ 、 $(83.3 \pm 52.3) \mu m$ 、 $(92.1 \pm 60.3) \mu m$ 、 $(104.2 \pm 55.4) \mu m$, 盘沿面积、视盘面积分别为 $(0.85 \pm 0.46) mm^2$ 、 $(1.28 \pm 0.54) mm^2$, 平均杯盘比、垂直杯盘比分别为 (0.56 ± 0.11) 、 (0.52 ± 0.17) , 杯容积为 $(0.062 \pm 0.036) mm^3$ 。

2.1 等效球镜与多个参数之间的关系

豚鼠等效球镜与 RNFL 平均厚度、上方 RNFL 厚度、颞侧 RNFL 厚度、下方 RNFL 厚度、鼻侧 RNFL 厚度呈正相关(图 2)。随着等效球镜增加, RNFL 平均厚度及各方位厚度均变厚。等效球镜每增加 1D, RNFL 平均厚度、上方 RNFL 厚度、颞侧 RNFL 厚度、下方 RNFL 厚度、鼻侧 RNFL 厚度分别约变化 15.31、17.70、12.41、14.63、15.57 μm 。等效球镜与盘沿面积、视盘面积、平均杯盘比、垂直杯盘比、杯容积无相关性(表 1)。



注:A: 视网膜神经纤维层平均厚度; B: 上方视网膜神经纤维层厚度; C: 颞侧视网膜神经纤维层厚度; D: 下方视网膜神经纤维层厚度; E: 鼻侧视网膜神经纤维层厚度。

图 2 等效球镜与视网膜神经纤维层厚度的线性回归分析

Note. A: Mean retinal nerve fiber layer thickness; B: Superior retinal nerve fiber layer thickness; C: Temporal retinal nerve fiber layer thickness; D: Inferior retinal nerve fiber layer thickness; E: Nasal retinal nerve fiber layer thickness.

Fig. 2 Linear regression analysis of the relationship of spherical equivalent with retinal nerve fiber layer thickness.

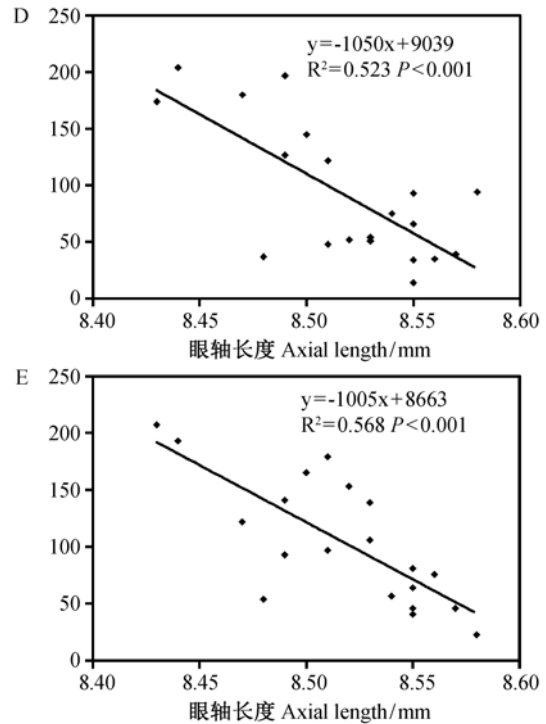
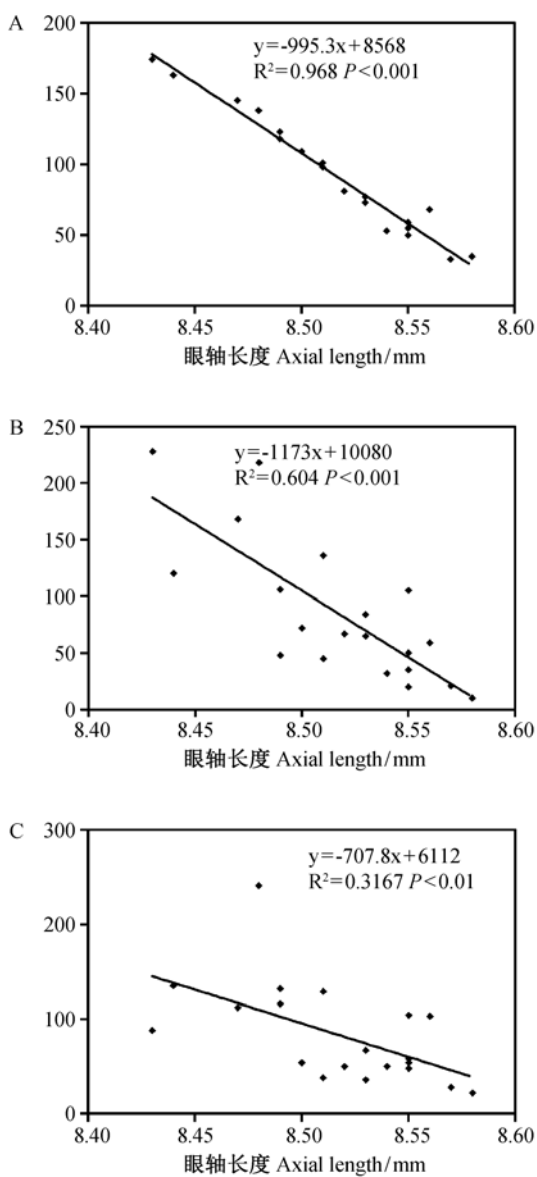
表 1 豚鼠等效球镜与视乳头形态参数的相关性

Tab. 1 Correlation between spherical equivalent and morphological parameters of the optic disc in the guinea pigs

参数 Parameters	R2	P
盘沿面积 Disc edge area	0.050	0.343
视盘面积 Optic disc area	0.014	0.616
平均杯盘比 Mean cup disc ratio	0.057	0.312
垂直杯盘比 Vertical cup disc ratio	0.162	0.079
杯容积 Cup volume	0.006	0.740

2.2 眼轴长度与多个参数之间的关系

豚鼠眼轴长度与 RNFL 平均厚度、上方 RNFL 厚度、颞侧 RNFL 厚度、下方 RNFL 厚度、鼻侧 RNFL 厚度呈负相关(图 3)。随着眼轴长度增加, RNFL 平均厚度及各方位厚度均变薄。眼轴长度每增加 0.1 mm, RNFL 平均厚度、上方 RNFL 厚度、颞侧 RNFL 厚度、下方 RNFL 厚度、鼻侧 RNFL 厚度分别约变化 99.53、117.3、70.78、105、100.5 μm 。眼轴长度与盘沿面积、视盘面积、平均杯盘比、杯容积无相关性;与垂直杯盘比正相关($R^2 = 0.2$; $P = 0.048$)(表 2)。



注:A:视网膜神经纤维层平均厚度;B:上方视网膜神经纤维层厚度;C:颞侧视网膜神经纤维层厚度;D:下方视网膜神经纤维层厚度;E:鼻侧视网膜神经纤维层厚度。

图 3 眼轴长度与视网膜神经纤维层厚度的线性回归分析

Note. A: Mean retinal nerve fiber layer thickness; B: Superior retinal nerve fiber layer thickness; C: Temporal retinal nerve fiber layer thickness; D: Inferior retinal nerve fiber layer thickness; E: Nasal retinal nerve fiber layer thickness.

Fig. 3 Linear regression analysis of the relationship of axial length with retinal nerve fiber layer thickness.

表 2 豚鼠眼轴长度与视乳头形态参数的相关性

Tab. 2 Correlation between axial length and morphological parameters of optic nerve head in the guinea pigs

参数 Parameters	R^2	P
盘沿面积 Disc edge area	0.039	0.401
视盘面积 Optic disc area	0.005	0.750
平均杯盘比 Mean cup disc ratio	0.071	0.254
杯容积 Cup volume	0.004	0.792

3 讨论

OCT 作为一种非接触式、非侵入性、高分辨率的活体生物病理学检查方法,目前已广泛应用于临床和科研工作中。在动物实验中, OCT 已用于小鸡^[2]、牛^[3]、兔^[4]、树鼠^[5]和小鼠^[6]等的视网膜检查。李翊^[7]曾用 OCT 观察了豚鼠眼底形态结构,测

量了视网膜和脉络膜厚度,但未描述 RNFL 和视乳头形态结构的有关特征。

对实验动物,如猴^[8,9]和大鼠^[10]的 RNFL 厚度测量,多是基于青光眼的动物模型,即通过 OCT 测量明确疾病的动物模型 RNFL 厚度变化。刘敬东等^[10]观察了慢性高眼压大鼠模型的 RNFL 平均厚度,并未对各方位的 RNFL 厚度作进一步探讨分析。而灵长类动物猴^[8,9],即便是青光眼模型,其 RNFL 厚度分布也类似与人类,上下象限厚于鼻颞象限。RNFL 厚度的直接影响因素包括青光眼和近视等,而青光眼与近视存在一定相关性,并认为近视是青光眼发病的危险因素。研究近视眼 RNFL 厚度及视乳头形态特征有助于将近视导致的 RNFL 厚度及视乳头形态改变与早期青光眼加以鉴别。

本实验使用第四代 FD-OCT 观察豚鼠 RNFL 和视乳头形态,选用 Optic Disc Cube 200 × 200 程序扫描即对视乳头超过 6 × 6 mm² 的区域进行容积扫描而测量 RNFL 厚度,选择 RNFL 和 ONH OU 程序分析检测结果,发现豚鼠等效球镜和眼轴长度与 RNFL 平均厚度具有相关性:等效球镜越负, RNFL 厚度越薄;眼轴长度越长, RNFL 厚度越薄。这与人类的观察结果是一致的^[11-13]。

本实验中豚鼠等效球镜与上方、颞侧、下方、鼻侧 RNFL 厚度均正相关,而眼轴长度与这些参数呈负相关。陈伟等^[14]在 7-18 岁青少年中发现,等效球镜和眼轴长度与上方 RNFL 厚度无相关性,颞侧 RNFL 厚度与等效球镜负相关,下方、鼻侧 RNFL 厚度与眼轴长度负相关。Kang 等^[15]发现相比于正视眼,近视眼的颞侧 RNFL 将更厚,而上下方 RNFL 会更薄。他们认为这是由于视乳头周围的视网膜神经纤维的分布模式并非完全一样所导致的。此外,我们发现在豚鼠的 RNFL 厚度分布中,鼻侧最厚,下方其次,上方再次之,颞侧最薄。这与人类 RNFL 分布不同:人类 RNFL 分布呈驼峰形曲线,即上、下方象限均较厚,为两个“波峰”;鼻、颞侧象限均较薄,为两个“波谷”。我们推测豚鼠视乳头周围视网膜的组织结构分布可能与人类不同。

Abbott 等^[5]通过 OCT 对形觉剥夺性近视树鼠的视网膜进行观察,发现近视眼的视网膜厚度较对照眼薄,鼻侧较颞侧更薄的程度更大,但是他们并未测量比较 RNFL 厚度。本研究发现随着等效球镜和眼轴长度变化,鼻侧 RNFL 厚度变化程度比其他方位更大。我们推测在动物模型中,随着近视程度加

深和眼轴延长,视乳头周围的视网膜厚度变薄,同时 RNFL 也变薄,但鼻侧因其解剖结构特点而导致视网膜和 RNFL 厚度变化尤其显著。

此外,我们发现豚鼠等效球镜和眼轴长度的变化与视乳头形态参数,如盘沿面积、视盘面积、平均杯盘比、垂直杯盘比、杯容积均无相关性;等效球镜和垂直杯盘比无相关性,仅眼轴长度与垂直杯盘比存在正相关。这些视乳头形态参数对于青光眼的诊断和随访的敏感指标,具有一定的参考作用。青光眼患者的视杯容积、杯盘比和垂直杯盘比均显著增加;而盘沿面积显著降低^[16,17]。以往的动物实验中,研究者更关注于 RNFL 的变化,而对于这些视乳头形态参数的报道很少。近视患者,尤其是高度近视患者,因为视乳头倾斜、视乳头旁萎缩弧等异常结构变化往往会影响视乳头轮廓的描绘,进而干扰视乳头参数的计算。豚鼠视乳头在眼底的位置分布与人类不同以及等效球镜差异不大,可能是本实验中豚鼠盘沿面积等这些参数差异无显著性的主要原因。

参 考 文 献

- [1] 欧波. 高眼压豚鼠视神经损害的超微结构研究 [J]. 中国热带医学, 2003, 3: 352-353.
- [2] Huang Y, Cideciyan AV, Papastergiou GI, et al. Relation of optical coherence tomography to microanatomy in normal and rd chickens [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998, 39(12): 2405-2416.
- [3] Chauhan DS, Marshall J. The interpretation of optical coherence tomography images of the retina [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999, 40(10): 2332-2342.
- [4] 骆荣江, 葛坚, 郭彦, 等. 兔眼视网膜厚度的光学相干断层扫描测量与组织学检查的相关性研究 [J]. 中华眼底病杂志, 2000, 16(2): 111-113.
- [5] Abbott CJ, Grunert U, Pianta MJ, et al. Retinal thinning in tree shrews with induced high myopia: optical coherence tomography and histological assessment [J]. Vision Res, 2011, 51(3): 376-385.
- [6] Horio N, Kachi S, Hori K, et al. Progressive change of optical coherence tomography scans in retinal degeneration slow mice [J]. Arch Ophthalmol, 2001, 119(9): 1329-1332.
- [7] 李翊. 应用光学相干断层扫描检测豚鼠眼底结构形态 [J]. 国际眼科杂志, 2011, 11(10): 1722-1723.
- [8] 黄丽娜, Joles Schuman, Wang N. 光学相干断层成像与组织形态学检测猴青光眼视网膜神经纤维层厚度的比较 [J]. 中华眼科杂志, 2001, 37(3): 31-35.
- [9] Schuman JS, Pedut-Kloizman T, Pakter H, et al. Optical coherence tomography and histologic measurements of nerve fiber layer thickness in normal and glaucomatous monkey eyes [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(8): 3645-3654.
- [10] 刘东敬, 陈晓明, 孟丹, 等. 光相干断层扫描连续监测大鼠

- 慢性高血压模型视盘神经纤维厚度变化 [J]. 中华眼底病杂志, 2007, 23(5): 352-354.
- [11] Zhu BD, Li SM, Li H, et al. Retinal nerve fiber layer thickness in a population of 12-year-old children in central China measured by iVue-100 spectral-domain optical coherence tomography: the Anyang Childhood Eye Study [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(13): 8104-8111.
- [12] Aykut V, Oner V, Tas M, et al. Influence of axial length on peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in children: a study by RTVue spectral-domain optical coherence tomography [J]. Curr Eye Res, 2013, 38(12): 1241-1247.
- [13] Lim HT, Chun BY. Comparison of OCT measurements between high myopic and low myopic children [J]. Optom Vis Sci, 2013, 90(12): 1473-1478.
- [14] 陈伟, 傅培, 杨琦, 等. 7~18 岁近视青少年视网膜神经纤维层厚度及其影响因素的分析 [J]. 中华眼科杂志, 2010, 46(11): 1011-1015.
- [15] Kang SH, Hong SW, Im SK, et al. Effect of myopia on the thickness of the retinal nerve fiber layer measured by Cirrus HD optical coherence tomography [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(8): 4075-4083.
- [16] 郭冉阳, 刘莉莉, 付文丽. OCT 测量视网膜神经纤维层厚度及视盘参数在青光眼早期诊断中的应用及意义 [J]. 眼科新进展, 2011, 21(9): 854-856.
- [17] Lee JY, Lee YK, Moon JI, et al. Spectral domain optical coherence tomography cross-sectional image of optic nerve head during intraocular pressure elevation [J]. Int J Ophthalmol, 2014, 7(6): 1022-1029.

[收稿日期] 2005-01-07

(上接第 271 页)

- [6] Shen B, Zhang J, Wu H, et al. Generation of gene-modified mice via Cas9/RNA-mediated gene targeting [J]. Cell Res. 2013, 23(5): 720-723.
- [7] Wang H, Yang H, Shivalila CS, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering [J]. Cell. 2013, 153(4): 910-918.
- [8] Li D, Qiu Z, Shao Y, et al. Heritable gene targeting in the mouse and rat using a CRISPR-Cas system [J]. Nat Biotechnol. 2013, 31(8): 681-683.
- [9] Shan Q, Wang Y, Li J, et al. Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system [J]. Nat Biotechnol. 2013, 31(8): 686-688.
- [10] Feng Z, Zhang B, Ding W, et al. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system [J]. Cell Res. 2013, 23(10): 1229-1232.
- [11] Jiang W, Bikard D, Cox D, et al. RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems [J]. Nat Biotechnol. 2013, 31(3): 233-239.
- [12] Li W, Teng F, Li T, et al. Simultaneous generation and germline transmission of multiple gene mutations in rat using CRISPR-Cas systems [J]. Nat Biotechnol. 2013, 31(8): 684-686.
- [13] Wang H, Yang H, Shivalila CS, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering [J]. Cell. 2013, 153(4): 910-918.
- [14] Cong L, Ran F A, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems [J]. Science. 2013, 339(6121): 819-823.
- [15] Ding Q, Regan S N, Xia Y, et al. Enhanced efficiency of human pluripotent stem cell genome editing through replacing TALENs with CRISPRs [J]. Cell Stem Cell. 2013, 12(4): 393-394.

[收稿日期] 2014-10-10