

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00429

创伤性视神经损伤动物模型研究进展

林超,董艳,侯立军*

第二军医大学长征医院神经外科,上海市神经外科研究所,上海 200003

[摘要] 创伤性视神经损伤(TON)是在外力作用下引起的视神经损伤,尚缺乏确切的治疗方法,预后较差,是颅脑外伤致残率较高的主要原因之一。随着神经生物学和分子生物学研究的进展,视神经损伤和再生的研究成为神经科学研究的热点和难点。本文针对各种创伤性视神经损伤动物模型的优缺点进行综述,为进一步建立理想的动物模型及进行前瞻性实验研究提供参考。

[关键词] 视神经损伤;动物模型

[中图分类号] R 651.15

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2012)04-0429-03

Animal models of traumatic optic neuropathy: recent advance

LIN Chao, DONG Yan, HOU Li-jun*

Department of Neurosurgery, Changzheng Hospital, Shanghai Neurosurgical Institute, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] Traumatic optic neuropathy (TON) is caused by blunt trauma and has poor prognosis due to lack of effective treatments, and it is a main reason for high rate of disability after traumatic brain injury. Progression in neurobiology and molecular biology has made it a research focus to study optic nerve damage and regeneration. This article reviews the advantages and disadvantages of various animal TON models, paving a way for establishing ideal TON models and for future prospective researches.

[Key words] optic nerve injuries; animal models

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(4): 429-431]

随着颅脑创伤救治水平的提高,人们越来越重视颅脑创伤合并伤的治疗,以降低病死率和致残率,提高患者生活质量。创伤性视神经损伤(traumatic optic neuropathy, TON)在颅脑损伤患者中的发病率为0.5%~5%^[1],预后较差,是颅脑外伤致残率较高的主要原因之一。创伤性视神经损伤的临床救治尚无统一的治疗规范,视神经损伤和再生的研究是当今医学界研究的热点和难点。创伤性视神经损伤动物模型的研制是进行创伤性视神经损伤基础研究首先要面临的一个重要课题。国内外学者经过大量的探索,研制出了一系列各具特色的创伤性视神经损伤动物模型,现将其综述如下。

1 创伤性视神经损伤的致伤机制

创伤性视神经损伤包括原发性损伤和继发性损伤^[2]。原发性视神经损伤主要是由外伤直接导致的视神经横断伤、挫裂伤等。继发性视神经损伤主要指原发伤导致的视神经缺血、水肿等引起的视神经损伤。临床上以继发性视神经损伤常见。

视神经全长50 mm左右,分为球后段、眶内段、管内段和颅内段。头部及颌面部外伤可引起视神经任何部位的损伤。当视神经受到扭曲伤、牵拉伤时,易导致视神经球后段与眼球撕脱。视神经眶内段呈S形,不易损伤。但当眼部受到异物穿刺伤时,可导致视神经眶内段损伤。视神经颅内段为视交叉至视神经管近端部分,由脑组织及脑膜保护,不易受伤。视神经管长约6~10 mm、宽约4~6 mm,空间固定,骨质脆弱,且包绕视神经的硬脑膜张力较高,因此视神经管内段是创伤性视神经损伤的好发部位^[3-4]。

2 创伤性视神经损伤的动物模型的建立

创伤性视神经损伤动物模型分为原发性视神经损伤模型(直接视神经损伤动物模型)和继发性视神经损伤模型(间接视神经损伤动物模型)。前者主要包括视神经横断伤、视神经钳夹伤、视神经牵拉伤和视神经挤压伤等;后者主要包括视神经液压力打击伤等动物模型。动物模型手术入路主要包括:(1)经颅前部正中矢状切口路径;(2)经翼点入路;(3)经上睑结膜切口路径^[5-6]。目前创伤性视神经损伤的动物模

[收稿日期] 2011-09-05

[接受日期] 2011-11-27

[作者简介] 林超,硕士生. E-mail: 410linchao@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885687, E-mail: hou_lj2011@163.com

型主要采用经上睑结膜入路,损伤视神经眶内段,次日观察术眼,如出现眼球白内障、眼底缺血等情况,予以剔除;若出现瞳孔扩大、直接对光反射消失、间接对光反射存在、眼球无明显突出者,视为成功模型。采用结膜入路暴露视神经眶内段对实验动物的创伤较轻,动物死亡率低,可部分定量,重复性较好,比较接近临床;视神经眶内段易于获得,且操作对脑组织损伤小,不易引起颅内感染和死亡。

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,不易损伤,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。

2.1 直接视神经损伤动物模型

2.1.1 视神经横断伤

视神经横断伤的动物模型是各种视神经损伤动物模型中最易建立,也是最易于统一损伤标准的动物模型。该动物模型建立方法为:运用水合氯醛或戊巴比妥充分麻醉动物后,将其固定于手术台上;双目手术显微镜下,剪开球结膜至角膜缘,钝性分离外直肌,向前牵拉眼球,暴露视神经,于球后约 2.5~4.0 mm 处剪断,形成动物模型^[7-9]。此模型制作法造成的损伤属完全性视神经性损伤,接近临床视神经断裂伤,简单易行,且可有效保证各实验动物致伤量一致。

2.1.2 视神经钳夹伤

视神经钳夹伤的动物模型最接近临床上的视神经挫伤,最早可追溯到 1998 年。有文献报道,视神经钳夹伤的加持器械主要包括无创血管钳、无创血管镊、神经损伤夹、动脉瘤夹等,夹力和加持时间差异较大^[5-6, 10-14]。于峰等^[6]通过经猫翼点入路,游离视神经约 3 mm,使用无创血管夹(夹持力 20 g)夹闭 20 s 来形成视神经损伤动物模型。有实验通过剪开球结膜至角膜缘钝性分离外直肌,向前牵拉眼球,暴露视神经,使用无创血管镊紧贴球后位置夹持球后视神经 5 s,造成视神经损伤^[12, 15-16]。陈二涛等^[5]沿角巩膜缘环形剪开颞侧球结膜,使用标定力量为 90 g 的动脉瘤夹,于球后 2 mm 处钳夹大鼠眶内段视神经 9 s,建立视神经部分损伤动物模型。还有学者依据不同的夹力或夹持时间,制造轻、中、重不同视神经损伤的动物模型^[11, 17-19]。王丽等^[11]运用 32、98、148 g 三种不同夹力的血管夹,夹持视神经 20 s,制造轻、中、重度视神经损伤的动物(兔子)模型。此模型制作法易于操作,具有视神经鞘膜完整、损伤明确、成功率高、与临床上视神经挫伤的特点相符合等优点。但是目前对于夹力、夹持时间未形成统一的规范,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,缺乏统一的可控制的致伤标准。

2.1.3 视神经牵拉伤

视神经牵拉伤的动物模型较类似于手术牵拉损伤以及部分外伤性损伤,国内外均有相关文献报道^[20-21],与临床有密切联系。牵拉可以造成视神经机械性损伤及局部组织缺血的两种损伤。徐丽等^[21]通过打开兔的眼眶,充分暴露兔视神经,在距球后 5 mm 处用丝线牵引 120 g 砝码,负荷 45 min,造成视神经牵引后的视神经损伤。牵拉

的方向可以分为与视神经管平行和与视神经管垂直。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。用该模型进行实验研究可获得较好的临床意义,但该模型制作方法难度较大,不利于大量研究工作开展。

2.1.4 视神经挤压伤

视神经挤压伤的动物模型类似眶内压过高时挤压视神经造成的损害。史剑波等^[22]将体质量为 250~350 g 的豚鼠麻醉后,手术暴露视神经孔,并放入一细端直径为 2 mm 的圆锥软硅胶,阻塞视神经孔,形成视神经挤压损伤动物模型。此方法简单,易于操作,造成视神经损伤确切,对实验动物创伤较小,便于继续观察。但是视神经损伤程度无法定量,难以形成统一的视神经损伤动物模型,不利于实验研究。

2.2 间接视神经损伤动物模型

间接打击造成的视神经损伤致伤方式非常接近于临床,是目前外伤性视神经损伤研究中应用较多的一种,可分为闭合打击法和开放打击法。早在 1999 年,王一等^[23]运用兔子通过闭合打击法和开放打击法制作了间接视神经损伤模型:(1)闭合打击法。将动物头置于工作台圆孔窗下,以眼眶上缘切迹内、后侧为打击点,打击锤以自由落体方式造成视神经间接损伤;(2)开放打击法。显露动物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,兔头置于致伤管下,致伤卡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。与闭合打击法相比,开放打击法成功率高,更接近临床间接视神经损伤特征。颜华等^[24]沿 10:00 至 14:00 钟位弧形剪开大鼠双眼穹隆部结膜,将直径 5 mm、圆弧口宽度 1 mm 的自制打击管经结膜切口伸入眼眶内约 2 mm,对准视神经应用液压冲击颅脑损伤仪进行打击,建立了稳定的外伤性视神经损伤的大鼠模型,并且根据打击力量不同分为轻、重 2 组。轻伤组以 15° 预定角度打击,平均力量(243.18±20.26) kPa;重伤组以 25° 预定角度打击,平均力量(699.14±60.79) kPa。亦有文献报道,用头盔固定动物头部,连接自制加速冲击仪器,通过在不同时间(5~25 s 内)旋转 60°,造成微小冲击力的间接性视神经损伤^[25]。

闭合打击法与临床创伤性视神经损伤的特点相符合,但由于成功率低、动物致死率高,不是理想的模型制作方法;而开放打击法由于咬除了眶壁,使其打击力量更加集中,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动物模型,但是手术复杂、设备要求高。

3 小结

临床上创伤性视神经损伤常好发于视神经管内段,多为间接性视神经损伤。动物模型应尽可能地接近于临床,因此实验动物最佳损伤部位宜为视神经管内段,且为间接性视神经损伤。理想的创伤性视神经损伤模型应具备以下特点:(1)损伤部位为视神经管内段且为间接性视神经损伤;(2)实验动物易于标化,解剖特点较类似于人类;(3)病理过程与人眼相仿;(4)易于操作、可重复性强,致伤率高,存活率高;(5)易于产生可预测的结果和临床过程;(6)模型稳定,各模型动

物之间的致伤强度具有统一标准。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Warner N, Eggenberger E. Traumatic optic neuropathy: a review of the current literature[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2010, 21:459-462.
- [2] Levin L A, Baker R S. Management of traumatic optic neuropathy[J]. *J Neuroophthalmol*, 2003, 23:72-75.
- [3] Peng A, Li Y, Hu P, Wang Q. Endoscopic optic nerve decompression for traumatic optic neuropathy in children[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2011, 75:992-998.
- [4] 陶存山, 卢亦成, 楼美清, 王冰心, 汪亮, 李文, 等. 视神经管及其相关结构的显微外科解剖[J]. *江苏医药*, 2005, 31:757-759, F0003.
- [5] 陈二涛, 刘勇, 冯东福, 潘栋超, 余振钰, 朱志安. 大鼠视神经部分损伤模型的建立[J]. *中华实验外科杂志*, 2008, 25:1514-1516.
- [6] 于峰, 袁绍纪, 张荣伟, 楼美清, 卢亦成. 翼点入路在构建视神经损伤动物模型中的应用[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2010, 15:156-159.
- [7] Levkovitch-Verbin H, Quigley H A, Martin K R, Zack D J, Pease M E, Valenta D F. A model to study differences between primary and secondary degeneration of retinal ganglion cells in rats by partial optic nerve transection[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44:3388-3393.
- [8] 雷季良, 陈白羽, 栾丽菊. 视神经损伤动物模型的建立[J]. *解剖学杂志*, 2005, 28:107-108.
- [9] Berkelaar M, Clarke D B, Wang Y C, Bray G M, Aguayo A J. Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats[J]. *J Neurosci*, 1994, 14:4368-4374.
- [10] Maeda K, Sawada A, Matsubara M, Nakai Y, Hara A, Yamamoto T. A novel neuroprotectant against retinal ganglion cell damage in a glaucoma model and an optic nerve crush model in the rat[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45:851-856.
- [11] 王丽, 朱豫, 李志刚. 轻、中、重度视神经损伤动物模型制作和病理学评价[J]. *眼科新进展*, 2009, 29:739-744.
- [12] 刘丹, 杨柳. 建立小鼠视神经损伤模型的实验研究[J]. *现代预防医学*, 2010, 37:3514-3515, 3517.
- [13] Chen H, Weber A J. BDNF enhances retinal ganglion cell survival in cats with optic nerve damage[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42:966-974.
- [14] Fischer D, He Z, Benowitz L I. Counteracting the Nogo receptor enhances optic nerve regeneration if retinal ganglion cells are in an active growth state[J]. *J Neurosci*, 2004, 24:1646-1651.
- [15] Cho K S, Yang L, Lu B, Feng M H, Huang X, Pekny M, et al. Re-establishing the regenerative potential of central nervous system axons in postnatal mice[J]. *J Cell Sci*, 2005, 118:863-872.
- [16] Jiao J, Huang X, Feit-Leithman R A, Neve R L, Snider W, Datt D A, et al. Bcl-2 enhances Ca^{2+} signaling to support the intrinsic regenerative capacity of CNS axons[J]. *EMBO J*, 2005, 24:1068-1078.
- [17] 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[J]. *中华创伤杂志*, 2004, 20:747-750.
- [18] Yoles E, Schwartz M. Degeneration of spared axons following partial white matter lesion: implications for optic nerve neuropathies[J]. *Exp Neurol*, 1998, 153:1-7.
- [19] Gellrich N C, Schimming R, Zerfowski M, Eysel U T. Quantification of histological changes after calibrated crush of the intraorbital optic nerve in rats[J]. *Br J Ophthalmol*, 2002, 86:233-237.
- [20] Gennarelli T A, Thibault L E, Tipperman R, Tomei G, Sergot R, Brown M, et al. Axonal injury in the optic nerve: a model simulating diffuse axonal injury in the brain[J]. *J Neurosurg*, 1989, 71:244-253.
- [21] 徐丽, 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[J]. *中国实用眼科杂志*, 1998, 16:721-723.
- [22] 史剑波, 夏潮涌. 视神经损伤对视网膜结构的形态学研究[J]. *眼外伤职业眼病杂志*, 1998, 20:283-285.
- [23] 王一, 周继红, 许立军, 马志中, 刘杰. 间接视神经损伤动物模型的研制[J]. *中华创伤杂志*, 1999, 15:287-289.
- [24] 颜华, 张琳琳, 李凤荣. 应用液压冲击颅脑损伤仪建立大鼠外伤性视神经损伤动物模型[J]. *中华眼底病杂志*, 2009, 25:301-305.
- [25] Adams J H, Graham D I, Murray L S, Scott G. Diffuse axonal injury due to nonmissile head injury in humans: an analysis of 45 cases[J]. *Ann Neurol*, 1982, 12:557-563.

[本文编辑] 周燕娟, 孙岩