

## 实验性网脱复位后未脱离区域视网膜组织形态学观察

西安市第四医院(西安 710004) 王卉芳 张妍春 朱赛林 杨新光 雷春灵 毕春潮

**摘要** 目的: 研究视网膜脱离(RD)复位后未发生脱离区域的视网膜组织形态改变。方法: 将 20 只健康成年新西兰灰兔随机分为空白对照组 2 只和实验组 18 只, 实验组在显微镜下行视网膜下注射透明质酸钠建立视网膜脱离自动复位动物模型, 分别于术后 10d、20d、30d 处死实验兔并摘除眼球进行组织学观察。结果: 未发生脱离区域的视网膜在复位早期表现为色素上皮层基本正常, 感光细胞层、双极细胞层排列紊乱, 感光细胞、双极细胞、神经节细胞均有变性。结论: RD 复位后视网膜上光感受器的不完全再生, 双极细胞和神经节细胞的不可逆变化, 均可影响视功能的提高。

**关键词** 视网膜脱离 视网膜/病理学

## Histomorphological changes of undetached retina after experimental retinal reattachment

Xi'an Fourth Hospital (Xi'an 710004) Wang Huifang  
Zhang Yanchun Zhu Cailin et al

**ABSTRACT** Objective: To study the possible histomorphological change of undetached retina after retinal reattachment. Methods: Twenty pigment rabbits were randomly divided into experimental group and control group. In the experimental group retinal detachment models were produced by infusing sodium hyaluronate between neural retina and retinal pigment epithelium. Light microscopy was used to observe the undetached retinal changes after 10, 20, 30 postoperative days. Result: In early stage after operation, the undetached retinal pigment epithelium seemed almost normal, but the outer and inner nuclear layers showed obvious abnormality with disturbance, and the photoreceptor cells, bipolar cells, ganglion cells all showed swelling and vacuolar degeneration. The changes had not recovered after 30 days later. Conclusion: Although the retina was only going through a short time detachment, the bipolar and ganglion cells in undetached region suffered irreversible injury. These pathologic changes may affect postoperative recovery of visual function.

**KEY WORDS** Retinal detachment Retina/ pathology

视网膜脱离(Retinal detachment, RD)是严重的致盲性眼病, 裂孔性视网膜脱离(Rhegmatogenous retinal detachment, RRD, 以下简称网脱)的双眼患病率约为 15%。我们通过实验研究了视网膜脱离及自动复位后未脱离区域的组织细胞光学结构, 现将结果报道如下。

### 材料与方 法

1 实验动物及分组 健康成年清洁级新西兰灰兔(2 000 ~ 2 500g) 24 只, 雌雄不拘, 经裂隙灯显微镜、眼底镜检查眼前节及眼底均无明显异

常, 颗粒饲料喂养, 动物及饲料均由第四军医大学动物实验中心提供。将实验兔共 24 只随机抽取分为 4 组, 1 组为空白对照组, 2、3、4 组分别在建立 RD 自动复位模型手术后第 10 天、第 20 天、第 30 天分阶段处死并摘取眼球。

2 药品及试剂 复方托品酰胺眼水(北京双鹤现代医药技术有限责任公司); 0.5% 氯霉素眼水(西安市第四医院制剂科); 1% 透明质酸钠(上海建华精细生物制品有限公司); 利眠新注射液(吉林生化制品研究所); 0.5% 地卡因(西安市第

四医院制剂科); 1% 甲基纤维素(上海建华精细生物制品有限公司); 4% 多聚甲醛。配制方法: 称取 40g 多聚甲醛, 置于三角烧杯中, 加入 900ml 0.01M 的磷酸盐缓冲液(PBS), 加热至 60 左右, 持续搅拌使粉末溶解, 加入 1N 的 NaOH 5ml 使溶液完全透明, 继续加入 PBS 至 1 000ml, 充分混匀。

3 RD 自动复位模型的制备 术前用复方托品酰胺眼水点眼 3 次充分散瞳, 手术时用利眠新注射液按 0.2ml/kg 体重肌肉注射麻醉兔子。缝线固定上下直肌, 沿角巩膜缘剪开颞上方球结膜, 在颞上方角巩缘后 3mm 处, 用 5 号球后针刺穿巩膜, 进入玻璃体, 放置中斜角膜接触镜, 在显微镜下将球后针伸向鼻下方视网膜近赤道部造孔, 然后向后极部以平行于视网膜方向在视网膜下缓慢推注少量浓度为 1% 的透明质酸钠, 可见局部视网膜隆起, 再在视网膜层间向各个方向继续推注浓度为 0.2% 的透明质酸钠 0.2~0.3ml, 显微镜下可见后极部视网膜局部灰白色隆起, 为了确保实验各组相互之间具有可比性, 手术过程中尽量维持裂孔在 1~2PD 范围大小; 并最大限度扩大视网膜脱离范围。拔出注射器, 取掉直肌线, 结膜囊内滴入 0.5% 氯霉素眼水 2 滴。记录裂孔大小、网脱范围、有无视网膜出血及角膜水肿等术中情况。

4 眼底检查 造模后行眼底照相, 光学相干断层扫描(OCT)检查, B 超检查; 用直接检眼镜于术后每天观察眼底视网膜脱离的范围、视网膜隆起的高度、裂孔大小、自动复位时间、视网膜出血情况和玻璃体反应等情况。

5 HE 染色光镜片的制作 右眼于多聚甲醛中固定 24h 后沿视神经水平面切开, 再沿矢状轴经视神经鼻侧 2mm 处切开, 取鼻下方发生过 RD 并已复位区域的视网膜组织及鼻上方未发生过 RD 区域的视网膜组织, 经酒精梯度脱水, 氯仿透明, 浸蜡包埋, 用切片机连续切成厚 3 $\mu$ m 的切片 5 张, 分别贴于载玻片上, 常规脱蜡, 苏木素-伊红染色, 树胶加盖片封固。BX-50 OLYMPUS 光学显微镜及照相系统下观察并拍照。

## 结果

1 手术过程中见 手术过程中有 4 只眼在视网膜上造孔时发生视网膜表面出血, 平铺于视网膜前, 2 眼出血量少, 2 眼出血量较多, 均未进入玻璃体; 1 只眼晶体后囊破; 1 只眼眼压暂时升高,

角膜水肿, 术后 1h 消失。造模后在显微镜下均可见视盘下方视网膜灰白色隆起范围达 50%~60%。

2 手术后观察 术后第 1 天观察手术后兔眼, 结膜囊均无异常分泌物, 球结膜稍充血, 3 只眼巩膜穿刺处有结膜下淤血, 所有眼角膜均透明、前房清亮, 1 只眼形成外伤性白内障, 其余眼晶体透明, 2 只眼玻璃体内可见少量絮状混浊, 其余玻璃体无混浊, 视网膜均有脱离, 呈灰白色隆起 4~5D, 范围达 50%~60%, 裂孔约 1~2PD 大小, 均位于鼻下方近赤道部。视网膜前积血吸收较快, 3~4d 完全吸收。RD 复位情况: 大部分模型眼 RD 维持 3~5d 后视网膜自动复位。通过眼底彩照、B 超、OCT 检查均证实 RD 存在且脱离发生的组织解剖结构与临床一致。

3 光镜检查结果 正常对照组: 光镜下清晰可见视网膜色素上皮层、视杆与视锥层、外核层、外丛状层、内核层、内丛状层、神经节细胞层、神经纤维层等结构, 各层细胞及组织排列整齐, 层次结构清晰。色素上皮由单层色素上皮细胞构成, 呈极性规则排列; 光感受器细胞外节与色素上皮细胞顶部微绒毛紧密连接, 外节及内节排列整齐, 内外节界限可见, 外核层有 6~8 层视细胞, 内核层有 3~4 层神经细胞, 均形态正常, 无变性。神经节细胞数量和排列正常, 无空泡样变性, 神经纤维层清晰, m $\ddot{u}$ ller 细胞框架纤维结构完整。术后 10d 组: 视盘上方未发生 RD 区域的视网膜: 色素上皮层、光感受器外节、内节、光感受器细胞层排列基本正常, 双极细胞排列轻度紊乱, 双极细胞、节细胞均可见空泡样变性及水肿, 内外网状层结构正常。术后 20d 组: 视盘上方未发生 RD 区域的视网膜: 色素上皮层形态基本正常, 光感受器外节排列基本整齐, 内节排列轻度紊乱、局部有空泡样变性, 外核层结构轻度紊乱, 内核层细胞结构排列紊乱较 10d 时明显严重, 内外核层均可见细胞水肿变性, 有核周空泡及核固缩现象。节细胞水肿, 空泡变性, 神经纤维层厚度增加。术后 30d 组: 视盘上方未发生 RD 区域的视网膜: 视网膜各层结构较前清晰, 色素上皮层细胞形态结构正常, 光感受器外节排列整齐, 内节排列较 20d 整齐, 空泡变性明显减轻, 内核层及神经节细胞层仍可见细胞空泡样变性, 其余各层未见明显异常。

## 讨 论

原发性视网膜脱离是由于视网膜和玻璃体的退行性变,进而形成视网膜裂孔,致视网膜神经上皮层与色素上皮层分离。

原发性视网膜脱离动物模型的建立有助于对其影响因素、治疗方法及预后观察进行详细研究,该模型可以建立在猴、猫、兔等动物上,方法多样<sup>[1,2]</sup>。本实验采用对 GP Lewis 等视网膜脱离自动复位模型改进后的方法,通过在兔眼视网膜下直接注射透明质酸钠建立 RD 动物模型,比较符合人眼 RD 发病过程,手术并发症少,方法简便实用,本模型兔眼在 RD 发生后无需采用其他方法,待透明质酸钠吸收后视网膜可以自行复位,从而排除了其它方法对实验结果的影响,有利于进行视功能恢复的研究。在动物手术的过程中以及术后对实验眼的观察过程中可以清楚地看到 RD 发生和复位。OCT 检查结果也明确了 RD 发生的解剖结构与临床一致。

目前已开展的动物实验表明,视网膜脱离区域 RD 复位后早期视锥视杆层、内外核层、网状层结构排列紊乱、空泡样变性、细胞水肿、有核固缩现象。部分神经节细胞水肿、空泡变性、神经纤维层有空泡样变性。随复位时间延长,外节段能迅速再生,但不完全,双极细胞肿胀, RGC 空洞形成晚期仍未恢复; müller 细胞过度增生和肥大<sup>[3,4]</sup>。本实验以 RD 复位后未发生视网膜脱离的区域为观察对象,发现即使经过短期的视网膜脱离, RD 复

位后未发生 RD 区域的视网膜神经细胞也受到影响,除色素上皮细胞层、光感受器外节未见明显改变外其余各层均受不同程度影响。术后 10d 以内核层及节细胞层改变明显,至术后 20d 各层受损伤程度尤为严重,表现为光感受器内节肿胀,内外核层及神经节细胞层排列紊乱,且以内核层及神经节细胞层改变更为严重,这种改变持续到术后 30d 仍未完全恢复。这些在国内文献中未见报道。这可能与 RD 时和 RD 复位后局部微环境中细胞外基质成分的改变有关,尚有待于进一步研究。RD 复位后未脱离区域视网膜上双极细胞和神经节细胞的病理变化,与 RD 复位后复位区域视网膜上光感受器的不完全再生、双极细胞和神经节细胞的不可逆变化以及视网膜自身纤维化均有可能对 RD 复位后视功能的恢复造成影响。

## 参考文献

- 1 Takeuchi A, Kricorian G, Marmor MF. When vitreous enters the subretinal space. Implications for subretinal fluid protein. in: Retina, 1996; 16 426
- 2 Kim SD, Naoi N, Maruiwa F, *et al*. Electrical responses from locally detached retina and its recovery after reattachment. Ophthalmologica, 1996; 210 195
- 3 高永峰. 孔源性视网膜脱离和增生性玻璃体视网膜病变的动物模型. 眼科研究, 2000; 18 92
- 4 牟国营, 崔长霞. 国纪林实验性视网膜脱离模型的建立. 山东大学基础医学院学报, 2002; 16(6) 360

(收稿: 2006-01-12)

(上接第 946 页)

低对原发性高血压患者靶器官的保护可能有重要的意义。

## 参考文献

- 1 Staley S, Franklin MD, Shehzad A, *et al*. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? the Framingham heart study. Circulation, 1999; 100 354
- 2 Cuspidi C, Macca G, Sampieri L, *et al*. Target organ damage and non-dipping pattern defined by two ses-

sions of ambulatory blood pressure monitoring in recently diagnosed essential hypertensive patients. J Hypertens, 2001; 19 1539

- 3 Michael D, James N, Michael W, *et al*. Cardiovascular risk assessment using pulse pressure in the first national health and nutrition examination survey. Hypertension, 2001; 10 793
- 4 Dstan HP. Hypertension. JACC, 2000; 35(Suppl 131) 1011

(收稿: 2006-03-21)