

正常恒河猴闪光视网膜电图特点的研究

冷云霞, 饶志波, 匡丽晖, 杨为中, 高宗银

基金项目: 广州市科技局基金资助项目 (No. 11C33150706)

作者单位: (510180) 中国广东省广州市第一人民医院眼科

作者简介: 冷云霞, 博士, 主治医师, 研究方向: 青光眼和眼底病。

通讯作者: 高宗银, 硕士, 副主任, 主任医师, 研究方向: 白内障、青光眼和眼底病. leng0829@163.com

收稿日期: 2012-05-02 修回日期: 2012-06-12

Spatial characteristics of flash electroretinogram in normal rhesus monkeys

Yun-Xia Leng, Zhi-Bo Rao, Li-Hui Kuang, Wei-Zhong Yang, Zong-Yin Gao

Foundation item: Supported by Guangzhou Municipal Science and Technology Bureau, China (No. 11C33150706)

Department of Ophthalmology, Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China

Correspondence to: Zong-Yin Gao. Department of Ophthalmology, Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China. leng0829@163.com

Received: 2012-05-02 Accepted: 2012-06-12

Abstract

• **AIM:** To observe the characteristics of visual electrophysiological activity in normal young rhesus monkeys in anesthesia state, so as to provide more effective checking methods and clinical reference for the establishment of various diseases rhesus animal model.

• **METHODS:** Totally 16 healthy rhesus monkeys (32 eyes), 36 to 48-month-old, were selected. Under general anesthesia achieved by intramuscular injection of ketamine, visual electrophysiology instrument (ROLAND CONSULT Co., Ltd) was applied for the detection of flash electroretinogram (f-ERG), and measured values were recorded under different stimulus intensity; The values of f-ERG in normal human adolescents were gained by the same method, then the data were compared and statistically analyzed.

• **RESULTS:** The result of f-ERG showed that, compared with the same age of human, the incubation period of ERG in rhesus monkey was shortened and the amplitude was also reduced under different stimulation intensity and stimulation method in dark adaptation state, while in light adaptation the amplitude of b-wave had no significant difference compared with that of human.

• **CONCLUSION:** This study provides the optimal stimulation conditions and normal reference range of f-ERG in normal rhesus monkeys. Comprehensive analysis shows that the ERG responses of rhesus monkeys was weaker than normal humans in dark adaptation state, while it has no

significant difference in light adaptation state. It reminds us that when we examine the various ophthalmological diseases of rhesus animal model, we should be more careful about the normal reference value scope of ERG.

• **KEYWORDS:** rhesus monkeys; flash electroretinogram; retina; animal model

Citation: Leng YX, Rao ZB, Kuang LH, et al. Spatial characteristics of flash electroretinogram in normal rhesus monkeys. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012; 12(7):1263-1265

摘要

目的: 观察正常青少年恒河猴麻醉状态下视觉电生理活动的特点, 为建立各种疾病的恒河猴动物模型提供更为有效的检查手段和临床参考。

方法: 健康 36 ~ 48 月龄恒河猴 16 只 32 眼; 氯胺酮肌注全麻下应用德国 ROLAND CONSULT 公司生产的视觉电生理仪进行 f-ERG 检测, 并分别记录各刺激强度下的检测值; 相同方法检测人类正常青少年的 f-ERG 数据; 对以上数据进行分析处理, 并将两组数据值进行比较和统计学分析。

结果: f-ERG 检测结果显示恒河猴与同龄人类相比较, 暗适应状态下不同刺激强度及刺激方式作用下 ERG 波形的潜伏期均有所缩短, 振幅亦有所减小; 明适应状态下 b 波振幅则和人类无显著性差异。

结论: 本研究提供了正常恒河猴 f-ERG 的最佳刺激条件及正常参考值范围。综合分析可知暗适应状态下恒河猴的视网膜电反应弱于正常人类, 而明适应状态下电反应活动则与人类无显著性差异。提示我们在对是恒河猴各种眼部疾病动物模型进行以上检测时要更加谨慎的对待恒河猴视网膜电流图正常参考值范围等问题。

关键词: 恒河猴; 视网膜电图/f-ERG; 视网膜; 动物模型

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.07.12

引用: 冷云霞, 饶志波, 匡丽晖, 等. 正常恒河猴闪光视网膜电图特点的研究. 国际眼科杂志 2012; 12(7):1263-1265

0 引言

动物模型是研究各类眼病发病机制的重要手段, 利用合理的动物模型不但有助于阐明各类眼病的发病机制, 而且还能对日后探讨有效防治手段搭建可靠的理论和实践平台。恒河猴作为灵长类动物的一种, 在进化上与人类有着较近的关系, 当前已有大量研究采用恒河猴作为实验对象建立了相应的近视眼、青光眼、糖尿病等的动物模型^[1-3], 也有许多文献研究了猕猴与人视网膜神经节细胞、光感受器细胞、Müller 等细胞形态及独立功能的异同^[4-6], 但关于恒河猴活体视网膜电流图 (ERG) 与正常人类的对照研究却很少。而视网膜电流图 (ERG) 在目前青

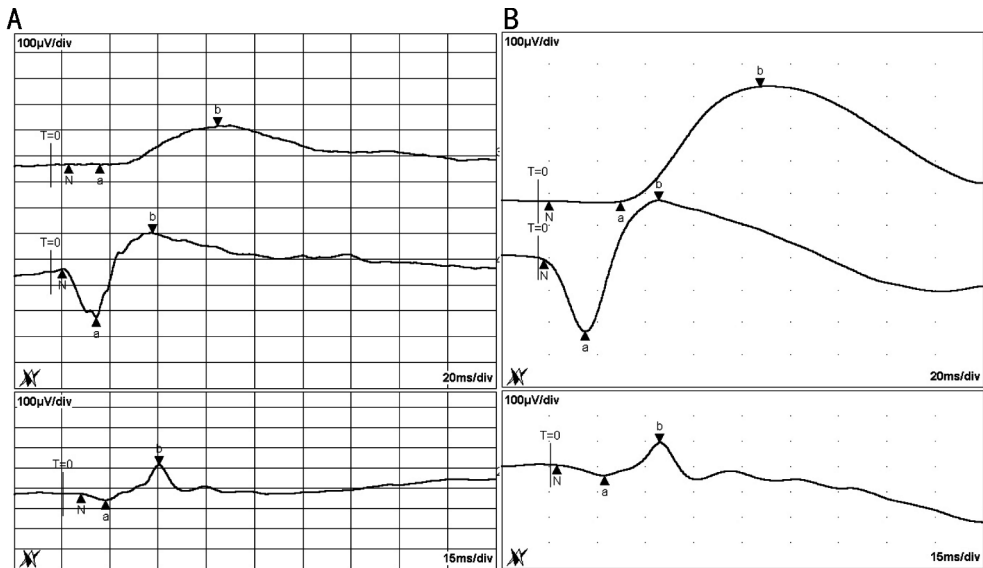


图1 恒河猴和人类 f-ERG 图形比较 A:正常恒河猴;B:正常人类。

光眼、近视眼、糖尿病视网膜病变等高发病率眼病的早期诊断中越来越引起重视。本研究采用视网膜电流图(f-ERG)的方法检测青少年恒河猴及正常青少年人类的正常视网膜电流图,来比较恒河猴与人视网膜功能的异同,为进一步利用恒河猴建立动物模型的检测提供相应的参考数据。

1 对象和方法

1.1 对象 实验动物和青少年人类入选标准:选健康青少年恒河猴 16 只,来自华南濒危动物研究所,性别不限;所有恒河猴均于 36~48 月龄(相当于人类 15~20 岁)入组,常规饲养环境下每隔 2mo 进行一次 f-ERG 检测和数据收集,共进行 3 次,以考察其检测结果的可重复性。正常 17~21 岁人类青少年 36 人,性别不限,眼部检查无明显异常,双眼屈光不正度数绝对值均 < 2.0D,最佳矫正视力均 > 1.0,进行 f-ERG 检测和数据收集。

1.2 方法

1.2.1 检查仪器及检查方法 采用德国 ROLAND CONSULT 公司生产的视觉电生理仪进行 f-ERG 检测,具体操作方法:将各组恒河猴进行散瞳后关闭整个猴房灯光,并用遮光布封闭门窗玻璃等使其处于完全暗室中进行暗适应 30min 以上。同时连接电生理仪的电极,使用 1 和 2 通道进行检测;暗室环境下红光手电筒照明进行肌注全麻,固定恒河猴于刺激器前方,给予角膜麻醉按顺序安放角膜电极、参考电极、地电极等各部位电极,进入程序 ERG/VEP-进入国际标准程序的闪光 ERG(f-ERG)检测界面,设定刺激强度及各个参数并输入各恒河猴资料;按照步骤进行暗视视杆细胞反应、暗视混合最大反应、暗视振荡电位三项检测;明适应 10min 后进行:明视视锥细胞反应,30Hz 振荡电位两项检测。调整各曲线的记录点到最佳位置并保存数据,将结果输出为图片格式以备数据整理及分析。青少年人类的 f-ERG 检查方法同临床常规检查。

1.2.2 数据测量和收集 f-ERG 检查主要研究对比 a,b 波的潜伏期及峰值变化:a 波振幅是从基线测到 a 波的波谷;b 波振幅是从 a 波的波谷测到 b 波的波峰。a,b 波的潜伏期时长是从闪光刺激开始到波谷、波峰的时间。

统计学分析:将收集到的数据进行加权平均,获得最终可进行统计学处理的数值;使用 SPSS 13.0 软件包进行处理,对各对应值进行独立样本 t 检验,显著性标准 $P < 0.05$ 。

2 结果

在本研究中我们每隔 2mo 一次,共对 16 只恒河猴进行了 3 次的 f-ERG 检测,结果显示,在 3 次检测中视网膜电反应活动重复性良好。本研究重点分析了临床研究应用较为广泛的暗适应视杆反应、暗适应最大反应、明适应视锥反应等三组数据。恒河猴的典型 f-ERG 波形由一个负向 a 波和一个正向 b 波组成,与正常人类 f-ERG 波形反应相似(图 1)。

在 25dB 弱光刺激时恒河猴暗适应视杆细胞反应的 f-ERG 波形 a 波的反应不明显,其后是一个缓慢上升的 b 波(图 1);与正常人类暗适应视杆细胞反应相比:恒河猴 a,b 波潜伏期缩短,波幅降低,二者间各组数据统计学分析显示均有显著性差异($P < 0.001$,表 1)。

在 0dB 强光刺激下的恒河猴暗适应混合最大反应 f-ERG 波形由一个负向 a 波和一个正向 b 波组成,b 波的上升支偶可看到被称为 OPs 的次成分;与正常人类暗适应混合最大反应相比:恒河猴 a,b 波潜伏期缩短,波幅降低,二者间各组数据统计学分析显示均有显著性差异($P < 0.001$,表 2)。

恒河猴暗适应振荡电位图形亦与人类十分相似,一般具有 3 个主要的波峰 OP1,OP2,OP3,后面偶尔会伴有第 4 个相似的峰 OP4。

在明适应白色标准闪光刺激下的恒河猴视锥细胞反应 f-ERG 波形表现为 a,b 波潜伏期较短,振幅较小,波形较尖锐(图 1);与人类同条件刺激相比:a,b 波潜伏期均缩短,a 波振幅降低,b 波振幅则与人类相似无明显统计学差异(表 3)。

在 30Hz 白色标准闪烁光刺激下闪烁光反应 f-ERG 波形反应呈现与闪光频率一致的正弦波,其周期与人类无显著性差异。

综合以上数据分析提示恒河猴电反应活动在暗适应状态下的电反应值弱于正常人;在明适应状态下其反应强度则与人类相似。

表1 暗适应视杆细胞反应 f-ERG 潜伏期及振幅比较 $\bar{x} \pm s$

	a 波潜伏期 (ms)	b 波潜伏期 (ms)	a 波振幅 (μV)	b 波振幅 (μV)
恒河猴	22.22 \pm 5.63	61.13 \pm 12.89	8.09 \pm 5.38	161.64 \pm 75.28
人类	33.64 \pm 3.90	87.19 \pm 3.58	19.66 \pm 17.07	411.00 \pm 74.67
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表2 暗适应混合最大反应 f-ERG 潜伏期及振幅比较 $\bar{x} \pm s$

	a 波潜伏期 (ms)	b 波潜伏期 (ms)	a 波振幅 (μV)	b 波振幅 (μV)
恒河猴	15.97 \pm 1.03	39.22 \pm 1.70	150.64 \pm 49.47	341.69 \pm 94.98
人类	19.88 \pm 0.87	50.33 \pm 4.01	281.83 \pm 50.94	568.43 \pm 115.75
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3 明适应视锥细胞反应 f-ERG 潜伏期及振幅比较 $\bar{x} \pm s$

	a 波潜伏期 (ms)	b 波潜伏期 (ms)	a 波振幅 (μV)	b 波振幅 (μV)
恒河猴	16.03 \pm 19.36	29.22 \pm 1.50	27.25 \pm 12.73	134.08 \pm 37.93
人类	15.67 \pm 1.46	32.43 \pm 1.26	55.38 \pm 17.77	142.87 \pm 25.92
P	<0.001	<0.001	<0.001	>0.05

3 讨论

视网膜电图的研究最早始于 1860, 1870 年代, 直至 1940 年代才开始应用于临床。闪光视网膜电图是指视网膜受全视野闪光刺激时, 从角膜上记录到的视网膜的神经元和非神经元细胞的电反应总和, 代表了从光感受器到无长突细胞的视网膜各层细胞的电活动。

光感受器细胞主要包括了视锥和视杆细胞, 其中视锥细胞司明视觉, 视杆细胞司暗视觉, 两种感光细胞共同参与了正常视觉的形成。由于两种感光细胞对光刺激的反应不同, 我们可通过设定不同的光刺激条件和刺激方式来分别研究视网膜视锥细胞和视杆细胞的各自功能。如经过一定时间暗适应后, 用较弱的恒定强度光刺激记录到的 ERG 图形主要反应了视杆细胞的功能状况; 而暗适应状态下使用较强的恒定强度光刺激记录到的 ERG 图形则反应了视锥和视杆细胞的混合电反应活动; 而明适应状态下视网膜电活动则主要反应了视锥细胞的功能状况。目前临床通用的常规检查方式是国际视觉电生理学学会建议的 ERG 标准五项反应涵盖了视杆细胞、视锥细胞的功能检测。

目前 f-ERG 主要用于: (1) 各种视网膜遗传性和变性性疾病, 如原发性视网膜色素变性、先天性黑矇及视网膜发育不全、各种原因的夜盲症; (2) 循环障碍所致的视网膜病变或疾病 (如糖尿病视网膜病变); (3) 视网膜化学损害 (如药物中毒); (4) 各种炎症或外伤及其继发视网膜功能损害的评估 (如视网膜炎、铁锈症等); (5) 评价视网膜脱离或屈光间质混浊时的视网膜功能, 作为某些眼科手术后效果的评估检查。

本研究采用了国际视觉电生理学学会建议的 ERG 标准五项反应对正常恒河猴视网膜功能进行相应检测。数据分析显示在各项检测中恒河猴视网膜电图的 a, b 波的潜伏期均较正常人类缩短, 且统计学分析有显著性差异。究其根源 ERG 的 a 波起源于视网膜的感光细胞层, 代表感受器的电活动, 反映视网膜光感受器的电位变化; ERG 的 b 波起源于内层视网膜的外丛状层和内核层范围内, 主要反映视网膜内层功能^[7,8], 潜伏期的缩短则表示其传导速

度的加快或者传导通路的缩短。数据分析显示在暗适应状态下恒河猴视网膜电图的 a, b 波振幅均低于正常人类, 统计学分析亦显示二者有显著性差异, 即说明暗适应状态下恒河猴的电反应活动弱于正常人类, 而暗适应状态下的 ERG 主要反应了视杆细胞的功能, 因此也间接提示恒河猴的视杆细胞数量或功能低于正常人类。另有数据显示在明适应状态下恒河猴视网膜电图 b 波振幅与正常人类相似, 统计学分析二者间无显著性差异, 提示我们明适应状态下恒河猴的 ERG 即视锥细胞功能与正常人类相似。

综上所述, 本研究中恒河猴 ERG 的 a, b 波潜伏期较正常人类缩短, 暗适应状态下的视网膜电反应活动弱于正常人类, 明适应状态下的电反应活动则与人类无显著性差异。提示我们在对恒河猴各种眼部疾病动物模型进行以上检测分析时要更加谨慎的对待恒河猴视网膜电图正常参考值范围等问题。

参考文献

- Leng YX, Lan WZ, Yu KM, *et al.* Effects of confined space and near vision stimulation on refractive status and vitreous chamber depth in adoles-cent rhesus monkeys. *Sci China Life Sci* 2010;53(12):1-7
- 戴毅, 孙兴怀, 郭文毅, 等. 猴慢性青光眼模型的建立及相关生物学特性. *中国实验动物学报* 2005;13(2):6-9
- 代解杰, 孙晓梅, 匡德宣, 等. 实验恒河猴糖尿病动物模型建立及视网膜并发症的研究. *中国实验动物学报* 2005;13(S1):32-33
- Azzopardi P, Cowey A. Models of ganglion cell topography in theretina of macaque monkeys and their application to sensory corticallscaling. *Neurosci* 1996;72(3):617-625
- Andrade da Costa BL, Hokoc JN. Photoreceptor topography of the retina in thenew world monkey Cebus paella. *Vis Res* 2000;40(18):2395-2409
- Pannicke T, Biedermann B, Uckermann O, *et al.* Physiological properties of retinal Müller glial cells from the cynomolgus monkey, *Macaca fascicularis* - a comparison to human Müller cells. *Vis Res* 2005;45(14):1781-1791
- 罗俊, 刘双珍, 吴小影, 等. 高度近视患者多焦视网膜电图的评估. *国际眼科杂志* 2006;6(6):1339-1341
- 李海生, 潘家普. 视觉电生理的原理与实践. 上海: 科学普及出版社 2002:117-123