

正常成年 SD 大鼠明视闪光视网膜电图特征

The Photopic Electroretinogram in Normal Adult SD Rat

陈红玲 刘丽芳 林洪杰 耿义群 张铭志

汕头大学·香港中文大学联合汕头国际眼科中心, 汕头 515041

Hongling Chen, Lifang Liu, Hongjie Lin, Yiqun Geng, Mingzhi Zhang

Joint Shantou International Eye Center of Shantou University and the Chinese University of Hong Kong, Shantou 515041, China

目的:探讨正常成年 SD 大鼠的明视视网膜电图 (Electroretinogram, ERG) 特征。

方法:选取正常 9~12 周 SD 大鼠 60 只, 使用罗兰视觉电生理仪记录大鼠右眼的明视闪光 ERG。使用 SPSS 统计分析 a 波、b 波和明视负波反应 (Photopic negative response, PhNR) 的隐含期和振幅。比较雄性和雌性 SD 大鼠明视 ERG 特征。

结果:每只 SD 大鼠均能记录到稳定的 a 波、b 波和 PhNR, 其中 a 波的隐含期和 PhNR 的隐含期及振幅均符合正态分布, 而其余指标均不符合正态分布。PhNR 的隐含期为 124.6 ± 8.5 ms, 其变异系数最小 (0.07)。PhNR 的振幅为 $(11.3 \pm 4.2) \mu\text{V}$, 变异系数为 0.37。雄性和雌性 SD 大鼠明视 ERG 的各反应波之间无显著差异。

结论:在正常成年 SD 大鼠, 明视闪光 ERG 是一项客观评价大鼠明视状态下视网膜功能的手段, PhNR 可以作为一项稳定的评价内层视网膜功能的指标。《眼科学报》2010; 25: 103-106。

关键词: 视网膜电图; 大鼠

Purpose: To study the characteristics of photopic flash electroretinogram (ERG) in normal adult SD rats.

Methods: Sixty normal adult SD rats aged 9 to 12 weeks old were enrolled in this study. Photopic flash ERG were recorded from these 60 SD rats. The results were analyzed with SPSS.

Results: Stable a, b and PhNR wave could be recorded in each rat. Implicit time of a wave, implicit time and amplitude of PhNR fit normal distribution. Implicit time of PhNR was (124.6 ± 8.5) ms with the smallest coefficient of variation of 0.07. The amplitude of PhNR was $(11.3 \pm 4.2) \mu\text{V}$ and coefficient of variation was 0.37. There was no difference between the results of female and male rats.

Conclusion: Photopic flash ERG is an objective method in evaluating the retinal function in rats and PhNR can be used as a sensitive index of inner retinal function. *Eye Science* 2010; 25: 103-106.

Key words: Electroretinogram; Rat

全视野闪光视网膜电图 (Electroretinogram, ERG) 作为一项客观评价视网膜功能的手段, 已经在实验室和临床应用一百多年的历史。无

基金项目: 广东省医学科研基金资助项目 (B2008139)

论是在实验室或临床上, 对 ERG 的研究始终没有停止, ERG 也一直是研究动物和人类视网膜功能的重要工具之一。由于鼠类和灵长类动物眼之间有极强的相似性, 并且大鼠相对猴子价格便宜得

多,因此大鼠也成为研究各类眼病的常用模型。明视 ERG 是在明适应状态下,使用一定的强闪光刺激,从角膜表面记录到的视网膜综合电反应。该综合电反应波由 a 波、b 波及最新发现的明视负波反应(Photopic negative response, PhNR)等组成。其中 a 波和 b 波是研究比较成熟的波形,分别反映光感受器层和双极细胞层的功能,而对 PhNR 的研究尚较少。根据 Viswanathan 等^[1-3]的研究表明,PhNR 反映的是视网膜神经节细胞及其轴突的功能,是最近视觉电生理领域研究的热点。本研究对正常成年 SD 大鼠明视 ERG 进行了研究和分析,以探讨正常成年 SD 大鼠的 PhNR 特征。

材料与方 法

一、实验动物

正常成年 SD 大鼠 60 只(购自汕头大学医学院动物中心),周龄 9~12 周,平均(10.7±0.8)周;体重 280~320 g,平均(301.7±10.2)g。60 只 SD 大鼠中雌性 29 只,雄性 31 只。

二、实验仪器及刺激参数

采用罗兰视觉电生理仪(ROLAND, Consult, 德国)记录明视 ERG,刺激器为小型 Ganzfeld 刺激器(ROLAND, Consult, 德国),见图 1。角膜电极和皮肤电极见图 2。闪光强度 3.0 cd·s/m²,背景光强度 25 cd·s/m²。低频截止(low cut-off)0.2 Hz,高频截止(high cut-off) 300 Hz,每项记录重复 30 次。



图 1 小型 Ganzfeld 刺激器

三、实验方法

检查前大鼠用戊巴比妥钠按 50 mg/kg 腹腔注射麻醉,托品卡胺滴眼液充分散瞳,爱尔卡因滴眼液表面麻醉。在室内照明下明适应 10 min,明适应的同时安放电极。作用电极为角膜电极(图 2 上),置于角膜。参考电极和地电极均使用皮肤电极(图 2 下),分别置于前额及耳尖皮下。明适应时

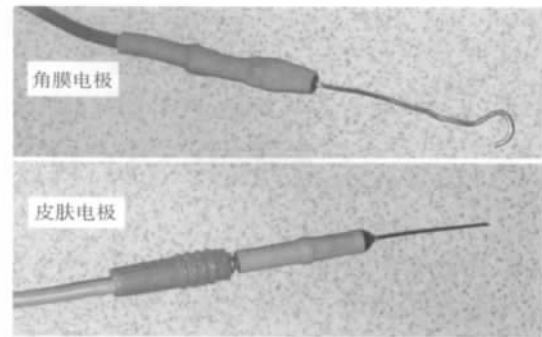


图 2 角膜电极和皮肤电极

间足够后将大鼠平躺,把小型 Ganzfeld 全视野刺激器罩在大鼠头部。然后按照 ISCEV 标准记录大鼠右眼明视闪光全视野 ERG。

四、评价标准

a 波、b 波的标识依据是国际视觉电生理协会(Clinical Electrophysiology of Vision, ISCEV)的最新标准,a 波的隐含期为从刺激开始(图中的 N 点)到第一个波谷的时间,b 波的隐含期为从 N 点到第一个波峰的时间,a 波的振幅为从基线到 a 波波谷的高度,b 波的振幅计算为从 a 波波谷到 b 波波峰的高度^[4]。由于 PhNR 不包括在 ISCEV 标准中,标识的依据是 PhNR 的发现者 Viswanathan 等^[1-3]的标准,即从 N 点到 b 波后的第一个波谷的时间为 PhNR 的隐含期,基线到波谷的高度为其振幅。

四、统计学处理

数据采用 SPSS15.0 统计软件处理。正态分布采用 Shapiro-Wilk 检验,雄性和雌性 SD 大鼠各项明视 ERG 反应波之间的差异使用独立样本 T 检验。

结 果

每只 SD 大鼠均能记录到稳定的 a 波、b 波和 PhNR,见图 3。a 波的隐含期和 PhNR 的隐含期及振幅均符合正态分布,而其余指标均不符合正态分布,见表 1。明视 ERG 各反应波隐含期及振幅的频数分布直方图和均数箱图见图 3-4。在 6 项观测指标中,PhNR 隐含期为(124.6±8.5)ms,其变异系数最小(0.07),b 波隐含期次之(0.12),而 a 波振幅的变异系数最大(0.8)。PhNR 的振幅为(11.3±4.2)μV,变异系数为 0.37。雄性和雌性 SD 大鼠明视 ERG 的各反应波比较差异无统计学意义(P>0.05)。

图中可以看到明确的 a 波、b 波及 PhNR。

表 1 60 只 SD 大鼠明视 ERG 隐含期及振幅统计结果

ERG		均值	95% CI	中位数	标准差	变异系数	峰度	偏度	正态分布检验 P 值
a波	隐含期	15.4	14.6~16.3	16.0	3.3	0.21	-0.308	0.138	>0.05
	振幅	3.5	2.8~ 4.3	3.0	2.8	0.80	4.385	1.680	0.000
b波	隐含期	46.2	44.8~47.6	47.0	5.4	0.12	0.059	-0.450	0.003
	振幅	73.5	68.9~78.0	70.7	17.7	0.24	-0.548	0.574	0.013
PhNR	隐含期	124.6	122.4~126.8	124.0	8.5	0.07	-0.368	-0.092	>0.05
	振幅	11.3	10.3~12.4	10.4	4.2	0.37	-0.816	0.345	>0.05

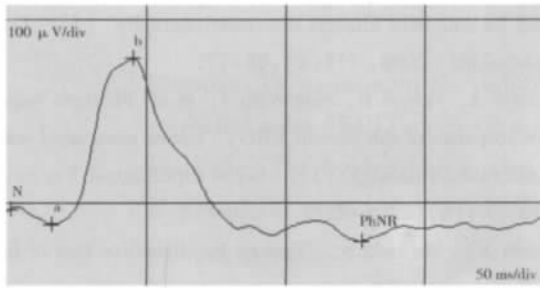


图 3 1 只 SD 大鼠的 ERG 结果

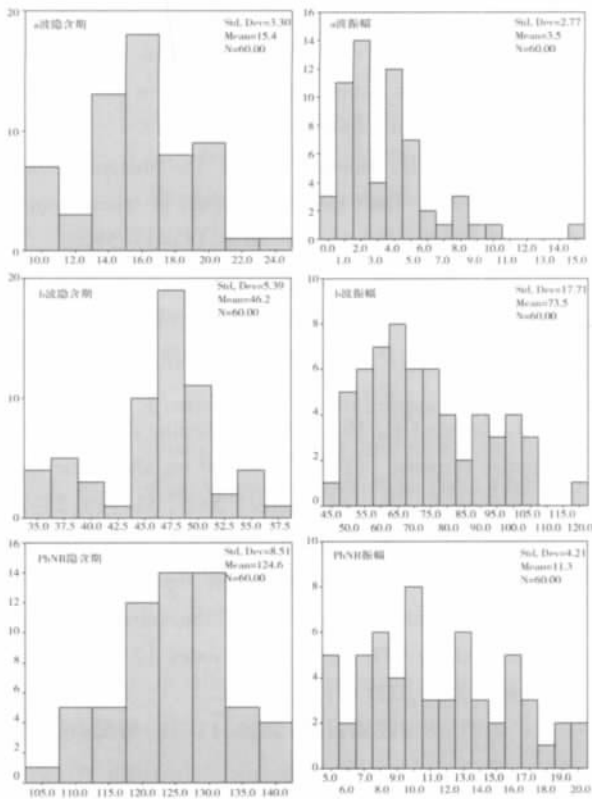


图 4 明视 ERG 各反应波隐含期及振幅的频数分布直方图

讨 论

明视 ERG 是在明适应状态下,使用一定的强闪光刺激,从角膜表面记录到的视网膜综合电反应。该综合电反应包括 a 波、b 波和紧跟 b 波之后

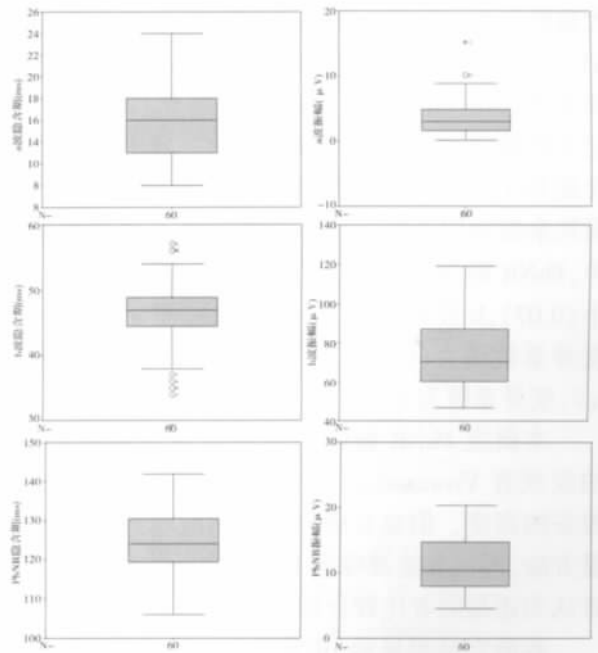


图 5 明视 ERG 各反应波隐含期及振幅的均数箱图

的负向波 PhNR。根据动物模型及药理实验研究证实,PhNR 来源于视网膜神经节细胞及其轴突的电活动^[1-2]。因此 PhNR 最初用于青光眼的实验室及临床研究^[2-3,5]。研究发现,在青光眼动物模型及病人,PhNR 选择性受损,而 a 波和 b 波无明显改变。在随后的视神经病变研究中也发现了类似的结果^[6-7]。在视网膜中央动脉阻塞病人,PhNR 下降至未受累眼的 12.3%,而视锥反应 b 波仅下降至未受累眼的 73.4%。笔者也曾经对视网膜静脉阻塞病人^[8]和非增殖糖尿病视网膜病变病人的 PhNR 进行了研究,发现 PhNR 可以作为评价内层视网膜功能的敏感指标^[9]。PhNR 越来越受到眼科研究者的重视,并被应用于视网膜视神经相关疾病的实验室研究中。在实验动物中,由于鼠类和灵长类动物眼之间有极强的相似性,且大鼠价格比猴子更便宜,因此大鼠也成为研究各类眼病的常用模型。

关于大鼠 PhNR 的研究尚不多, Li 等^[10]就对

Brown Norway 大鼠的 PhNR 进行了一些研究,他们发现在 40 cd/m^2 的绿色背景光强度下,随着闪光强度从 0.36 增强到 $45.52 \text{ cd}\cdot\text{s/m}^2$,PhNR 和 b 波的振幅也随着增大,并且在刺激光强度为 $0.71 \text{ cd}\cdot\text{s/m}^2$ 时,开始出现稳定的 PhNR。但是 PhNR 的振幅在刺激强度为 11.38 和 $22.76 \text{ cd}\cdot\text{s/m}^2$ 时饱和,而 b 波的振幅则持续增加。他们使用 11.38 和 $22.76 \text{ cd}\cdot\text{s/m}^2$ 刺激光记录到的正常 Brown Norway 大鼠的 PhNR 振幅分别为 $(46\pm 1.3)\mu\text{V}$ 和 $(50\pm 1.3)\mu\text{V}$ 。本研究设计参考 ISCEV 标准采用标准的白色刺激光 ($3.0 \text{ cd}\cdot\text{s/m}^2$) 和白色背景光 (25 cd/m^2),记录到稳定的 a 波、b 波和 PhNR。其中 a 波的隐含期和 PhNR 的隐含期及振幅均符合正态分布,而其余指标均不符合正态分布。在 6 项观测指标中,PhNR 隐含期为 $(124.6\pm 8.5)\text{ms}$,其变异系数最小 (0.07),b 波隐含期次之 (0.12),而 a 波振幅的变异系数最大 (0.8)。PhNR 的振幅为 $(11.3\pm 4.2)\mu\text{V}$,变异系数为 0.37 。

本研究 PhNR 振幅的测量方法是参照 PhNR 的发现者 Viswanathan 等^[1-3]的标准,即从基线到波谷的高度,但也有研究者选用波峰到波谷的测量方法,即从 b 波波峰到 PhNR 波谷的高度^[11]。笔者认为还是前者比较合理。

本研究结果显示,正常 SD 大鼠 PhNR 隐含期和振幅是比较稳定的指标。本研究的结果为我们今后进一步研究 SD 大鼠各种视网膜视神经疾病模型的 PhNR 提供了宝贵的资料。在进一步研究中,笔者将把 PhNR 用于 SD 大鼠青光眼模型及神经切断模型等的研究。

参考文献

1. Viswanathan S, Frishman LJ. Evidence that negative potentials in the photopic electroretinograms of cats and primates depend upon spiking activity of retinal ganglion cell axons[J]. Soc Neurosci Abstr, 1997, 23(4): 1024.
2. Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG, et al. The photopic negative response of the macaque electroretinogram is reduced by experimental glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999, 40(6): 1124-1136.
3. Viswanathan S, Frishman LJ, Robson JG et al. The photopic negative response of the flash electroretinogram in primary open angle glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(2): 514-522.
4. Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, et al. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography [J]. Doc Ophthalmol, 2008, 118(1): 69-77.
5. Colotto A, Falsini B, Salgarello T, et al. Photopic negative response of the human ERG: losses associated with glaucomatous damage [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000, 41(8): 2205-2211.
6. Gotoh Y, Machida S, Tazawa Y. Selective loss of the photopic negative response in patients with optic nerve atrophy [J]. Arch Ophthalmol, 2004, 122(3): 341-346.
7. Tamada K, Machida S, Yokoyama D, et al. Photopic negative response of full-field and focal macular electroretinograms in patients with optic nerve atrophy [J]. Jpn J Ophthalmol, 2009, 53(6): 608-614.
8. Chen H, Wu D, Huang S, et al. The photopic negative response of the flash electroretinogram in retinal vein occlusion [J]. Doc Ophthalmol, 2006, 113: 53-59.
9. Chen H, Zhang M, Huang S, et al. The photopic negative response of flash ERG in nonproliferative diabetic retinopathy [J]. Doc Ophthalmol, 2008, 117(2): 129-135.
10. Li B, Barnes GE, Holt WF. The decline of the photopic negative response (PhNR) in the rat after optic nerve transection [J]. Doc Ophthalmol, 2005, 111(1): 23-31.
11. Mortlock KE, Binns AM, Aldebasi YH, et al. Inter-subject, inter-ocular and inter-session repeatability of the photopic negative response of the electroretinogram recorded using DTL and skin electrodes [J]. Doc Ophthalmol, 2010, 12(12): 123-124.

(收稿日期: 2010-11-18; 编辑: 林燕薇)