

• 基础研究 •

负压吸引对兔视网膜组织结构的影响

赵海霞 黄一飞 杨惠英 窦宏亮 张笑明 刘丽 沈向学 王红

[摘要] 目的 探讨准分子激光原位角膜磨镶术(LASIK)中负压吸引对兔视网膜结构的影响。方法 32 只健康新西兰大耳白兔随机分为正常对照组、实验对照组、负压吸引 45 s 组和吸引 3 min 组。实验对照组只进行激光治疗,负压吸引各组先用负压发生器吸引眼角膜缘,持续 45 s 及 3 min,分别于术后即刻、7 d、14 d、28 d 在光镜和电镜下观察兔视神经和视网膜组织结构的变化,并与对照组进行比较。结果 与正常对照组相比,实验对照组视神经和视网膜结构无改变。负压吸引 45 s 组各时间点视神经和视网膜细胞改变轻微;3 min 组术后即刻~14 d 神经纤维和视网膜视细胞结构明显异常,至术后 28 d 时恢复正常。结论 LASIK 术中负压吸引引起的眼压急剧升高,可能会导致视网膜和视神经细胞的亚细胞结构改变,但这种改变为可逆的;负压吸引持续时间越长改变越明显。

[关键词] 准分子激光原位角膜磨镶术;负压吸引;眼压;视网膜;视神经

Effect of negative pressure suction on rabbit retina structure ZHAO Hai-xia, HUANG Yi-fei, YANG Hui-ying, et al. Department of Ophthalmology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

[Abstract] **Objective** To study the effect of negative pressure suction during laser in situ keratomileusis (LASIK) on rabbit retinal structure. **Methods** 32 New Zealand white rabbits were randomly divided into normal control, experimental control, negative suction 45 seconds and negative suction 3 minutes groups. Experimental control groups were treated only using excimer laser. In negative suction groups, rabbit eyes were suction for 45 seconds or 3 minutes by negative pressure generator. The tissues of optic nerve and retina both after negative pressure suction and of normal rabbit eyes were examined with electron and light microscope 0, 7, 14, 28 days after operation. **Results** There was no change in the tissues of optic nerve and retina between normal control and experimental control. After the negative pressure suction for 45 s, the optic nerve and retinal cells changed lightly at different time point. After the negative pressure suction for 3 min, the optic nerve fibers and retinal cells changed sharply during postoperative instant to 14th days, which can be recovered until 28 days after operation. **Conclusion** Ultrastructural changes of retina and optic nerve may be induced by acute intraocular pressure elevation caused by negative pressure suction during LASIK.

[Key words] laser in situ keratomileusis; negative pressure suction; intraocular pressure; retina; optic nerve

中图分类号:R774.6 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2005)05-0349-03

[本文著录格式] 赵海霞,黄一飞,杨惠英,等.负压吸引对兔视网膜组织结构的影响[J].中国康复理论与实践,2005,11(5):349-351.

准分子激光原位角膜磨镶术(laser in situ keratomileusis, LASIK)已被广泛应用于临床。然而它的安全性始终是人们关心的问题,例如术中负压吸引造成眼压的骤升骤降是否会造成视网膜和视神经的瞬时缺血。为此,我们观察了 LASIK 手术不同时间的负压吸引对兔视网膜结构影响的动态变化,以期客观评价 LASIK 手术时负压吸引的安全时间。

1 材料和方法

1.1 实验动物 解放军总医院动物实验中心提供的健康新西兰大耳白兔 32 只,体重 4~5 kg,无眼疾,雌雄兼用。

1.2 仪器 准分子激光治疗仪 S VS Apex:美国 Sum-

mit Tech 公司;微型角膜成型系统的负压发生器:美国博士伦公司;德国 Leica MPS 30 光学显微镜;Olympus PM 型显微摄像系统;JEM-1220 透射电子显微镜;日本电子公司;Topcon OMS-300 型倒置手术显微镜;LKB-2008 型超薄切片机。

1.3 动物模型及分组 实验分为正常对照组、实验对照组、负压吸引 45 s 组和负压吸引 3 min 组,每组 8 只。负压吸引各组氯氨酮 0.2 ml/kg + 复方麻保静 0.1 ml/kg 麻醉动物,术时用 0.5%地卡因行表面麻醉后,置开睑器,将负压环置于兔眼角膜缘,负压吸引(眼压 > 65 mmHg,1 mmHg = 0.133 kPa),分别持续 45 s 及 3 min,PTK 去除角膜上皮(切削直径 6.5 mm,切削深度 50 μm),角膜基质按照 -9.00 D 进行准分子激光扫描(切削直径为 6.5 mm,切削深度 127 μm),激光波长 193 nm,能量密度 125 mJ/cm²,脉冲频率 10 Hz。实验对照组不用负压环吸引,只进行激光扫描。术后滴抗生素眼药水。

作者单位:1.100853 北京市,解放军总医院眼科(赵海霞、黄一飞、杨惠英、张笑明、刘丽、沈向学、王红);2.100085 北京市,北京医科大学眼科中心(窦宏亮)。作者简介:赵海霞(1968-),女,内蒙古呼和浩特市人,博士研究生,副主任医师,主要研究方向:角膜病、青光眼及视光学。

各组分别于术后即刻、7 d、14 d、28 d 空气栓塞处死动物,迅速取出眼球,冰盐水洗去血污,置于 10% 甲醛溶液中固定 48 h,石蜡包埋,HE 染色,制作光镜切片。于术后即刻、7 d、14 d 空气栓塞处死动物,迅速取出眼球,冰盐水洗去血污,置于 3% 戊二醛中,4℃ 冰箱中固定 12 h 后取出,剥离视神经和后极部视网膜,切成 $1 \times 1 \times 2$ mm 大小,再固定 1.5 h 后制作电镜切片。

2 结果

光镜下观察,正常对照组视网膜由里至外分为 10 层,外颗粒层细胞排列 4~7 层,内颗粒层细胞排列成 2~3 层,神经节细胞大小不一,呈圆形或椭圆形,胞内核大多数偏位(中插图 6.1)。实验对照组与正常对照组相比,视网膜结构无改变。负压吸引 45 s 组各时间点光镜下视网膜各层结构正常,无水肿等损伤表现(中插图 6.2)。负压吸引 3 min 组术后即刻可见神经纤维层和神经节细胞层明显水肿,神经节细胞核破裂溶解,内核层细胞数量减少、排列紊乱,视锥视杆层排列紊乱、不完整(中插图 6.3)。至术后 28 d 视网膜结构基本恢复正常,光镜下兔视网膜各层结构清晰,排列整齐,视锥视杆层的内外节清晰可见(中插图 6.4)。

透射电镜下观察,正常对照组视神经纤维髓鞘结构紧密,无分层,其内电子密度较高,微管和微丝清晰可见(中插图 6.5);视网膜外节膜盘排列整齐,内节含有大量线粒体,分布均匀(中插图 6.6)。实验对照组与正常对照组相比,视神经及视网膜亚细胞结构无改变。负压吸引 45 s 组各时间点视神经纤维髓鞘结构完整,少量髓鞘疏散,光滑度下降,微管和微丝清晰(中插图 6.7);视网膜各层超微结构完整、清晰,视细胞排列整齐,视细胞内节胞膜完整,含有大量线粒体,线粒体无肿胀,无空泡变性,嵴清晰,胞浆均匀,胞质电子密度均匀,微管和微丝明显,视细胞外节膜盘排列整齐,无损伤(中插图 6.8)。负压吸引 3 min 组术后即刻视神经纤维髓鞘结构紊乱,其内电子密度下降,微管和微丝不明显(中插图 6.9);视网膜后极部视细胞内节胞浆破裂,线粒体肿胀变圆,呈空泡化,视细胞外节膜盘损伤、水肿(中插图 6.10);术后 7 d,视神经的纤维髓鞘结构紊乱,微管和微丝不明显。视网膜后极部视细胞内节胞膜不完整,胞浆破裂、紊乱,呈空泡化,微管和微丝不明显;术后 14 d,视神经和视网膜后极部超微结构基本同术后 7 d;至术后 28 d 视网膜结构基本恢复正常。

3 讨论

LASIK 术中眼内压瞬间可达 65 mmHg 以上,负压时间通常持续 45 s 左右。LASIK 术中眼压瞬时升高对眼组织和视功能的影响,一直是临床关注的热点。Lee 等报道了 4 例 LASIK 术后发生缺血性视神经病

变^[1];Tsai 等也发现,LASIK 术后 1 个月,患者的视网膜神经纤维层(retinal nerve fiber layer, RNFL)明显变薄^[2]。动物实验显示,LASIK 手术中负压吸引时眼内压可达 80~230 mmHg,做角膜瓣时眼内压甚至可达 140~360 mmHg,并持续 45 s 左右^[3-4]。

兔眼虽然与人眼有一定差别,主要是视网膜血供不同,但我们的研究目的是观察负压吸引后视网膜组织结构的变化,选择兔为实验动物对实验结果没有影响。与灵长类动物相比,兔眼操作方便,因此,本实验用兔眼制作实验模型。研究表明,激光治疗对组织结构无影响。负压吸引 45 s 术后各时间点,光镜及电镜均未见明显改变,推测常规 LASIK 是安全的。但负压吸引持续时间延长后,神经髓鞘、视锥细胞及视杆细胞的改变明显,与 Adachi 等报道的结果^[5]一致。此外,眼压的骤升骤降会削弱玻璃体皮质和玻璃体内界膜的粘附,影响维持玻璃体皮质和玻璃体内界膜连接处的细胞外基质的结构和功能^[6-7]。眼压的急剧升高可能导致视神经局部缺血和视野损伤,对青光眼高危人群也可能造成视神经的缺血和损害。

视神经损伤的原因可能是:神经髓鞘束存在于由软脑膜发出的含纤维和血管的中隔中,在压力作用下,中隔内的血管可断流,导致髓鞘缺血、缺氧,纤维层不同程度松解,视细胞也因此出现核膜分离,染色质凝集,线粒体肿胀和空泡化,微管和微丝破坏,胞浆电子密度下降等。

短暂的眼压波动对视网膜内视神经损害的原因,目前还不清楚,可能有如下几方面:①负压吸引时眼球形态的改变以及瞬时的眼压骤升骤降,可能造成巩膜筛板处神经纤维的损害^[8-9];②负压吸引引起的瞬间眼压升高可能会引起视网膜短暂的缺血,停止吸引后眼压骤降,这种瞬间的血流改变会造成血管内皮和血细胞的损害^[10];③急性高眼压可导致轴浆流运输的障碍,引起神经节细胞的功能紊乱或死亡^[11];④急性高眼压改变了视网膜血流动力学,使血流量减少,视网膜供血不足,造成视乳头缺血。

视神经和视网膜的损伤虽与压力的直接物理作用有关,但更主要的原因应是压力造成的组织缺血和缺氧。由于 LASIK 术中眼压升高至 65 mmHg 时间在 1 s 内,推测视乳头及其周围组织的血流将全部中断,视神经和视网膜等缺血缺氧区的组织功能和形态将受到损伤。根据血液流动中断时间的长短,缺血缺氧区的组织可出现不同程度的损伤表现。停止吸引后,眼压骤降,低于吸引前 5 mmHg^[12],这种眼压的短暂大幅度波动,可能会对视神经纤维造成损害。另外,眼压急剧变化还可引起视乳头移位^[13-14],这种移位是压力作用后的损伤表现,还是对压力的耐受性表现?其发生

机制尚待深入研究。

本研究还显示,负压吸引持续 3 min,神经纤维层、神经节细胞层和内核层发生损伤,这种损伤至术后 28 d 可恢复正常,表现为可逆性。我们认为,视神经和视网膜的细胞亚细胞结构在压力的作用下,虽出现了不同程度的改变,但未必均表现出与损伤相应的功能变化,而且部分组织结构的损伤是可逆或可更新的^[15-17],提示负压吸引后视神经和视网膜细胞的亚细胞结构形态学改变可不影响或仅轻度影响组织的正常生理功能,或者这种改变是一过性、可逆的。

综上所述,LASIK 术中眼压急剧升高可造成视神经和视网膜细胞的亚细胞结构改变,且负压吸引持续时间越长(3 min),组织损伤改变越明显。但经过一定的修复时间,视神经和视网膜组织结构可以恢复正常。我们认为,在 LASIK 术中,应尽量缩短负压吸引的时间,缩短眼压持续升高的时间,以保证手术的安全性,同时要在手术前、后监测视神经。

[参考文献]

- [1] Lee AG, Kohnen T, Ebner R, et al. Optic neuropathy associated with laser in situ keratomileusis[J]. J Cataract Refract Surg, 2000, 26: 1581 - 1585 .
- [2] Tsai YY, Lin JM. Effect of laser assisted in situ keratomileusis on the retinal nerve fiber layer[J]. Retina, 2000, 20: 342 - 345 .
- [3] Wachtlin J, Schrunder S, Pham DI, et al. Rise in intraocular tension in microkeratome sections(LASIK) and with the GTS trephine system for keratoplasty[J]. Ophthalmology, 1998, 95: 137 - 141 .
- [4] Farash SG, Azar DT, Gurdal C, et al. Laser in situ keratomileusis: literature review of a developing technique[J]. J Cataract Surg, 1998, 24: 989 - 1006 .
- [5] Adachi M, Takahashi K, Naishikawa M, et al. High intraocular pressure induced ischemia and reperfusion injury in the optic nerve and retina in rats[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1996, 234: 445 - 451 .
- [6] Sebag J. The vitreous structure, function and pathobiology[M]. New York, Berlin, Heidelberg: Springer, 1989. 73 - 95 .
- [7] Sebag J. Age-related differences in the human vitreous-retinal interface[J]. Arch Ophthalmol, 1991, 109: 966 - 971 .
- [8] Busheley P, Hourihan F, Sandbach J, et al. Visual field defect associated with laser in situ keratomileusis[J]. Am J Ophthalmol, 2000, 129(5): 668 - 671 .
- [9] 周浩, 褚仁远, 周行涛, 等. LASIK 手术时眼压波动对视神经轴突影响的实验研究[J]. 眼视光学杂志, 2003, 5(3): 136 - 138 .
- [10] Laquis S, Chaudhary P, Sharma SC. The pattern of retinal ganglion cell death in hypertensive eyes[J]. Brain Res, 1998, 784: 100 - 104 .
- [11] Quigley HA, McZack DJ, et al. Retrograde axonal transport of BDNF in retinal ganglion cells is blocked by acute IOP elevation in rats[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000, 41(11): 3460 - 3466 .
- [12] Sachs HG, Lohmann CP, Op de Laak JP. Intraocular pressure in sections with 2 microkeratomes in vitro[J]. Ophthalmology, 1997, 94(10): 707 - 709 .
- [13] Coleman AL, Quigley HA, Vitale S, et al. Displacement of the optic nerve head by acute changes in intraocular pressure in monkey eyes[J]. Ophthalmology, 1991, 98: 35 - 40 .
- [14] Levy NS, Grappas EE, Bonney RC. Displacement of the optic nerve head: response to acute intraocular pressure elevation in primate eyes[J]. Arch Ophthalmol, 1981, 99: 2166 - 2174 .
- [15] 吴德正. 光感受器的物理特性、生理功能及再生过程[A]. 见: 李凤鸣. 眼科全书[C]. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 332 - 334 .
- [16] Clifford-Jones RE, McDonald WJ, Landon DN. Chronic optic nerve compression: an experimental study[J]. Brain, 1985, 108: 241 - 262 .
- [17] Harrison BM, McDonald WJ. Remyelination after transient experimental compression of the spinal cord[J]. Ann Neurol, 1977, 1: 542 - 551 .

(收稿日期: 2004-12-15 修回时间: 2005-02-24)



图5.4 Ⅲ组 (100 ×)



图6.1 正常视网膜、脉络膜
(HE, 400 ×)



图6.2 负压吸引45 s后即刻
(HE, 400 ×)

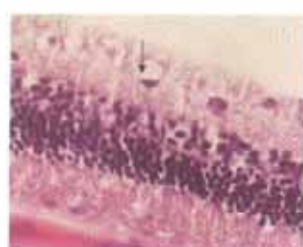


图6.3 负压吸引3 min后即刻
(HE, 400 ×)

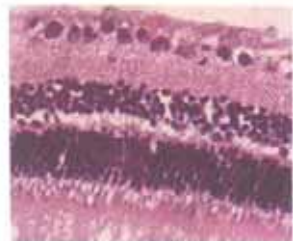


图6.4 负压吸引3 min后修复28 d
(HE, 400 ×)

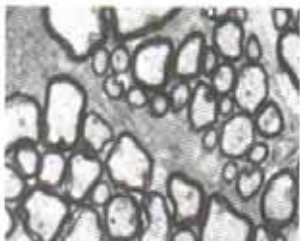


图6.5 正常视神经(电镜, 10000 ×)

图1.1—图1.3 正文见 P324—326

图2.1—图2.3 正文见 P327—328

图3.1—图3.3 正文见 P335—336

图4.1—图4.4 正文见 P399—340

图5.1—图5.4 正文见 P341—342

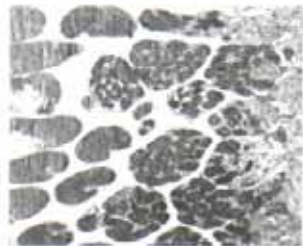


图 6.6 正常视细胞(电镜, 10000 ×)

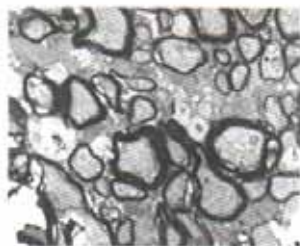


图 6.7 负压吸引 45 × 后即刻视神经
(电镜, 10000 ×)



图 6.8 负压吸引 45 × 后即刻视细胞
(电镜, 10000 ×)

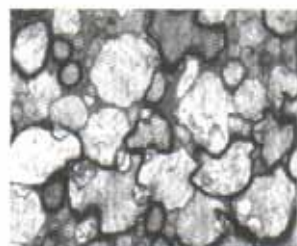


图 6.9 负压吸引 3 min 后即刻视神经
(电镜, 10000 ×)



图 6.10 负压吸引 3 min 后即刻视神经
(电镜, 15000 ×)



图 7.1 骨髓增生 I 级
(H&E 和地衣红, 100 ×)



图 7.2 骨髓增生 II 级
(H&E 和地衣红, 100 ×)



图 7.3 骨髓增生 III 级
(H&E 和地衣红, 100 ×)