

兔眼脉络膜上腔出血模型建立及自然转归的研究

于金国 颜 华

Study on establishment of suprachoroidal hemorrhage model and its natural course in rabbit

Yu Jinguo, Yan Hua. Department of Ophthalmology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Abstract Objective Suprachoroidal hemorrhage has a worse prognosis in clinic and the surgery outcome is not ideal generally. This study was designed to investigate the method and safety of the establishment of suprachoroidal hemorrhage model in rabbit and observe its natural course. **Methods** 0.1 mL auto-anticoagulation blood was injected into the suprachoroidal space via the full-thick scleral tunnel incision under the operation microscope to establish the suprachoroidal hemorrhage model in 12 adult healthy rabbits. Two normal rabbits were as control group. The clinical examinations including direct and indirect ophthalmoscopy, fundus photography, B-scan ultrasonography were performed at 1 hour, 1 day, 3 days, 7 days, 14 days and 21 days after operation. The histopathologic examination was performed at above time points under the light microscope. **Results** The clinical examination demonstrated that suprachoroidal hemorrhage models were successfully established in all the 12 rabbits without the evidence of anterior segment damage. Retinas and choroids of model rabbits were obviously eminenced 1 hour after operation with the range of 8 - 10 disc diameter (DD) and well-defined border. The size of suprachoroidal hemorrhage extended and degree of eminence decreased 1 day later. The suprachoroidal hemorrhage began to be absorbed at 3 days and mostly absorbed 7 days later and completely disappeared at 21 days after operation. The inflammatory cell infiltration was seen in the suprachoroidal space during the period of 1 to 3 days after operation, and the blood was hemolyzed incompletely 7 days after operation. Vacuolation degeneration in photoreceptor layer was seen on 14 days and became more obvious on 21 days after operation. The atrophy of ciliary processes on 14 days and became severer on 21 days after operation. **Conclusion** Establishment of suprachoroidal hemorrhage model mentioned in this paper is a simple, safe and reproducible way. This study result offer a reference for the management of retinal damage induced by suprachoroidal hemorrhage.

Key words suprachoroidal hemorrhage; animal model; natural course

摘要 目的 建立兔眼脉络膜上腔出血(SCH)模型,观察其自然转归。**方法** 经隧道式巩膜全层切口注入兔眼脉络膜上腔自体抗凝血建立SCH模型,并行检眼镜、B型超声及组织病理学观察。**结果** 术后实验组兔眼均出现了SCH。术后1h视网膜及脉络膜呈明显红色隆起,边界清楚,出血范围为8~10个视盘直径;术后1d出血范围扩大、隆起度降低,术后3d出血开始吸收,术后7d大部分吸收,术后14d基本吸收,术后21d完全吸收。术后1~3d脉络膜上腔炎性细胞浸润,术后7d脉络膜上腔血液部分溶血,术后14d完全溶血,光感受器层发生空泡变性,睫状体萎缩。**结论** 经隧道式巩膜全层切口注入兔眼脉络膜上腔自体抗凝血建立SCH模型的方法简单实用、安全可靠、重复性较好,为视网膜受损及相关治疗提供依据。

关键词 脉络膜上腔出血; 动物模型; 自然转归

分类号 R 773.4 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)08-0676-04

脉络膜上腔出血(suprachoroidal hemorrhage, SCH)是内眼手术的严重并发症,也可见于眼球破裂伤、

角膜溃疡穿孔及无明显诱因的原发性SCH者^[1]。虽然发病率较低,但常导致视力的完全丧失^[2]。目前,一般处理方法为紧急关闭切口,二期行后巩膜切开,促使脉络膜上腔血液的排出和视网膜脉络膜复位,但预后均较差^[3]。本实验尝试建立稳定可靠的SCH动物

作者单位:300052 天津医科大学总医院眼科(于金国,博士研究生)

通讯作者:颜华 (Email:phuayan2000@163.com)

模型,观察其自然转归过程,为临床治疗 SCH 提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 14 只健康成年新西兰长耳大白兔,体重 1.8 ~ 2.5 kg,平均 2.2 kg,雌雄不限(天津医科大学实验动物中心提供)。自由饮食,在光/暗周期 12 h/12 h、光照时间每日 12 h(6:00 ~ 18:00)、背景噪音(40 ± 10)dB、(20 ± 3)℃ 条件下饲养。实验前充分散瞳,进行裂隙灯显微镜以及直接检眼镜、间接检眼镜检查,排除眼部疾患。

1.1.2 动物分组 采用随机数字表法将 12 只兔(24 只眼)根据术后不同观察时间点分为 6 组,即术后 1 h、1、3、7、14、21 d 组。每组 2 只兔(4 只眼)作为实验组,均在脉络膜上腔内注入自体抗凝血。其余 2 只兔(4 只眼)作为对照组,眼内无任何填充物。

1.2 实验方法

1.2.1 模型建立 术前 30 min,术眼点复方托品酰胺滴眼液充分散大瞳孔;腹腔注射 10% 水合氯醛 3 mL/kg 麻醉及结膜囊滴 0.4% 倍诺喜滴眼液表面麻醉后,将兔固定于实验台上,常规消毒铺巾,暴露手术眼;手术显微镜下,在兔眼鼻上方作一以穹隆部为基底的梯形结膜瓣,在距角膜巩膜缘 10 mm 处作一隧道式巩膜切口至全层穿透,长约 1 mm,宽约 1 mm;角膜穿刺刀穿刺前房,放出房水约 0.1 mL,同时将预先准备好的自体抗凝血 0.1 mL 用微量注射器,经巩膜切口缓慢注入脉络膜上腔;抽出针头,结扎预置巩膜切口缝

线,复位、缝合结膜瓣。术后 7 d 内点 0.3% 氧氟沙星滴眼液,每日 3 次。

1.2.2 临床观察 分别在各个时间点裂隙灯显微镜下观察眼前节情况,直接检眼镜、间接检眼镜观察玻璃体及视网膜、脉络膜情况,并行眼底照相及 B 型超声检查,记录 SCH 情况。

1.2.3 组织病理学观察 在各时间点观察后过量麻醉处死兔,摘除眼球,10% 甲醛固定眼球,石蜡包埋,常规苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察视网膜、脉络膜及睫状体的变化情况。

2 结果

2.1 眼前节检查

结膜及巩膜切口愈合情况良好,角膜透明,前房深度正常,房水闪辉(-),虹膜纹理清,瞳孔圆,直径 3 mm,对光反应存在,晶状体透明。

2.2 眼底检查

实验组兔眼均出现了 SCH。模型建立后 1 h,实验组兔眼髓线上方视网膜及脉络膜呈边界清楚的红色球形隆起,隆起较高,颜色均匀,大小为 8 ~ 10 个视盘直径(图 1);1 d 时血液沿眼球后壁向下移动,隆起高度下降,上方略平,下方隆起略明显,出血范围扩大,边界模糊,视网膜静脉明显迂曲扩张(图 2);3 d 出血范围不再扩大,颜色不均,隆起高度继续下降,视网膜静脉扩张迂曲减轻;7 d 出血范围明显减小,呈小片状,颜色加深呈深红色,视网膜及脉络膜基本平伏;14 d 出血范围逐渐缩小,仅残存少量血凝块,呈灰黄色(图 3);21 d,出血完全吸收。



图 1 SCH 形成 1 h 眼底彩色照相 视网膜和脉络膜可见明显红色隆起,边界清楚(箭头),颜色均匀一致,范围 8 ~ 10 个视盘直径 **图 2 SCH 形成 1 d 眼底彩色照相** 脉络膜上腔出血的面积增大,边界模糊,静脉迂曲扩张(箭头) **图 3 SCH 形成 14 d 眼底彩色照相** 脉络膜上腔仅残留少量血凝块,呈灰黄色

Fig. 1 Fundus photograph of 1 hour after development of suprachoroidal hemorrhage The bulge of choroid was exhibited with the well-defined margin and size of 8 to 10 DD (arrow) Fig. 2 Fundus photograph of 1 day after development of suprachoroidal hemorrhage The bleeding range was larger with the blurred border, and the retinal vein became circuitous and dilatant (arrow) Fig. 3 Fundus photograph of 14 days after development of suprachoroidal hemorrhage Only small patches of blood clots were left in the suprachoroidal space with gray yellow color

2.3 B型超声检查

模型建立后1 h,实验组B型超声显示黑色玻璃体腔暗区出现一强回声区,内部有大量中低密度回声光点,从球后壁向玻璃体腔内呈半球形隆起,边界清晰、光滑,隆起较高(图4);1 d强回声区隆起高度下降,范围扩大;3 d强回声区隆起边界平直,内部回声光点减少,隆起高度下降,范围无明显变化;7 d强回声区隆起不明显,内部强回声光点明显减少,范围明显减小。14 d和21 d强回声区基本消失,球后壁回声粗糙(图5)。正常对照组B型超声显示玻璃体腔呈低回声暗区。

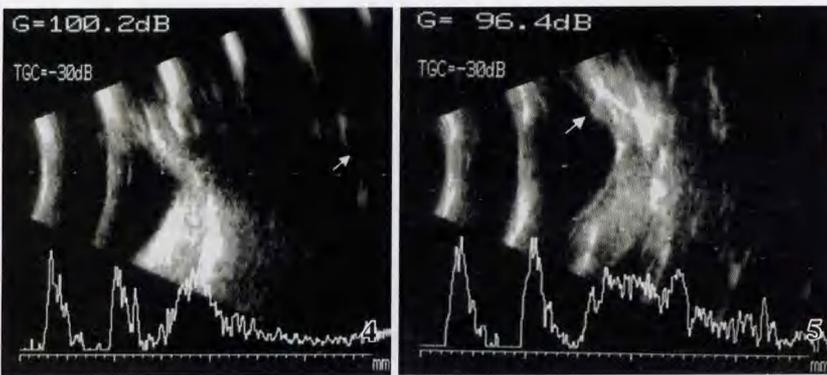


图4 SCH形成1 h B型超声检查图像 B型超声显示玻璃体后部一半球强回声区,内部伴回声光点(箭头) 图5 SCH形成14 d, B型超声检查图像 玻璃体内强回声光点基本消失,球后壁回声粗糙(箭头)

Fig. 4 B-scan echogram of suprachoroidal hemorrhage for 1 hour The intensive echo was seen to be a hemi-sphere shape with the light spots inside(arrow) Fig. 5 B-scan echogram of the same eye as Fig. 4 Forteen days after formation of suprachoroidal hemorrhage, the strong echo spots were displayed in the vitreous cavity, and the echo appeared to be rough in the posterior wall of eyeball(arrow)

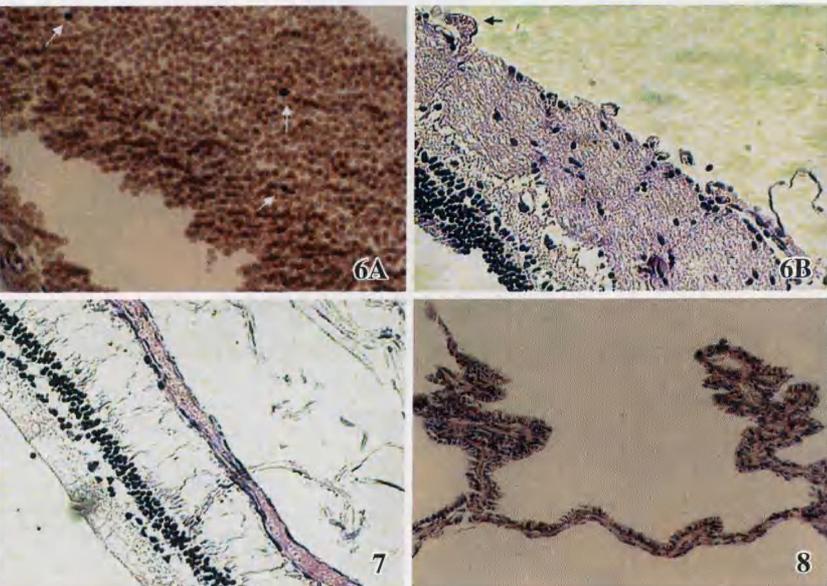


图6 SCH形成1 d组织病理学检查(HE × 400) A:脉络膜上腔出血变薄,面积增大,炎性细胞浸润(箭头) B:视网膜静脉血管扩张充血(箭头) 图7 SCH形成14 d组织病理学检查 SCH发生溶血,视网膜光感受器层空泡变性(HE × 400) 图8 SCH形成21 d睫状突光学显微镜观察睫状体萎缩更加明显(HE × 150)

Fig. 6 Histologic section of rabbit eye 1 day after creation of suprachoroidal hemorrhage(HE × 400) A: The bleeding thickness in the suprachoroidal space decreased but the area of hemorrhage increased with inflammation cells infiltration B: The retinal vein became dilated and congested Fig. 7 Histologic section of 14 days after creation of suprachoroidal hemorrhage Complete hemolysis of suprachoroidal hemorrhage and vacuolation degeneration occurred in photoreceptor layer of the retina(HE × 400) Fig. 8 Histologic section of 21 days after creation of suprachoroidal hemorrhage Severe ciliary process atrophy was seen under the light microscope(HE × 150)

2.4 组织病理学检查

组织病理学检查显示模型建立1 h后, SCH较厚,伴有炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主,伴少量嗜酸性粒细胞,视网膜各层排列整齐,内外核层细胞核密度较高,视杆细胞、视锥细胞层排列紧密;睫状突血管明显扩张充血,结缔组织较为疏松。1 d后出血厚度降低,伴中性粒细胞、淋巴细胞及嗜酸性粒细胞浸润(图6A),视网膜血管扩张充血(图6B)。3 d后出血厚度较前明显降低,伴中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及淋巴细胞明显浸润,视网膜血管扩张充血。7 d后出血厚度明显变窄,部分红细胞溶血,无明显炎性细胞浸润。14 d

后出血呈窄条状,红细胞全部溶血,未见炎性细胞浸润,光感受器层变薄,空泡变性,细胞排列稀疏,内核层及外核层细胞核稀疏(图7);睫状突明显萎缩,表现为双层睫状体上皮细胞排列紊乱,细胞核大小不等,疏松结缔组织明显减少。21 d后脉络膜上腔仅残留少量血液,视网膜变性更加明显;睫状突萎缩更加明显(图8)。正常对照组视网膜及脉络膜结构良好,视杆细胞、视锥细胞层排列紧密,内外核层细胞核排列良好;睫状体主要有双层上皮细胞、毛细血管和疏松结缔组织构成。

2.5 并发症

2只眼针头刺入玻璃体腔造成少量玻璃体体积血,未影响检查结果,未见其他并发症发生。

3 讨论

兔眼脉络膜与人眼基本相似,即脉络膜上腔位于脉络膜和巩膜之间,2层粘连疏松,容易分离。本研究以兔眼为研究对象,用1 mL注射针头经巩膜全层切口向脉络膜上腔内注入自体抗凝血0.1 mL建立SCH动物模型,结果显示实验组兔眼均出现了SCH。

国外SCH动物模型建立方法较多,如Craig等^[4]采用兔耳缘静脉输入肝素钠后,去除中央角膜,使晶状体核和前部玻璃体脱出,导致了驱逐性SCH;Zauberan^[5]采用结扎涡静脉,角膜切开使眼内容物脱出,导致SCH。以上建立SCH动物模型的方法是建立在破坏眼球结构、眼内容物脱出的基础上,出血是自发进行的,出血量多少不等,不能定量,对研究SCH对视网膜的损害带来不确定性。本实验建立SCH的方法既没有破坏眼球结构,又对SCH进行了定量,便于长期观察SCH的自然转归及血液对视网膜和睫状体造成的组织病理学改变。

B型超声在SCH的诊断、手术、随访中可提供可靠的影像学依据^[6],本研究应用检眼镜及B型超声检查观察到SCH的自然转归是一个渐进过程,即模型建立后1 h实验组兔眼均发生了SCH,1 d出血范围扩大,隆起高度降低,3 d出血开始吸收,7 d大部分吸收,14 d基本吸收,21 d完全吸收,且检眼镜与超声检查结果吻合。但Lakhanpal^[7]研究认为SCH发生后7 d内无明显改变,8~14 d时血凝块开始液化,出血开始吸收。由此可见本研究中出血吸收较早,可能与注入的血液为抗凝血有关。

模型建立后3 d内视网膜静脉扩张迂曲,这与红细胞进入脉络膜上腔引起炎症反应有关,血管扩张充血,炎性细胞游出,组织病理学检查证实,术后1~3 d脉络膜上腔炎性细胞浸润比较明显。7 d脉络膜上腔血液部分发生溶血,术后14 d血液完全溶血,光感受器层发生空泡变性,21 d变性更加明显。睫状体的睫状突在术后1 h毛细血管扩张充血,随后充血逐渐减轻,逐渐萎缩,术后14 d明显萎缩,术后21 d更加明显,这与Lakhanpal^[7]的研究结果基本一致。认为纤维蛋白呈蜂巢状包裹视网膜光感受器外端,血块收缩造成了光感受器撕脱,加上血红蛋白铁对视网膜的损害等共同作用造成了视网膜损伤^[8]。而睫状体的萎缩

可能由于血液的积聚致使脉络膜上腔的负压环境受到破坏,影响了睫状体的血液循环,早期表现为扩张充血,后期表现为睫状体萎缩。

由于SCH发生后7 d红细胞开始溶血释放出血红蛋白铁,且血红蛋白铁对视网膜有损伤,因此应该在SCH发生后7 d内引流出血以最大程度地降低血液对视网膜的损伤。但Meier等^[9]认为SCH发生后2周左右进行手术引流最为合适,此时炎症反应得到控制,血凝块液化,便于引流,与本研究结果一致。由此可见,SCH成功引流的关键是脉络膜上腔血凝块的液化是否完全。在血凝块没有溶解到某种程度前试图引流SCH常常失败,且努力尝试将血凝块从脉络膜上腔拉出会对眼球造成进一步伤害。但拖延时间过长,视网膜增生严重,视网膜及脉络膜复位困难,手术成功率会进一步降低。

综上所述,在兔眼经巩膜全层切口注入自体抗凝血建立SCH动物模型的方法简单、安全可靠,可重复性较好。同时对SCH自然转归进行了初步探讨,为SCH的相关治疗研究提供了实验依据。

参考文献

- 1 田春玲,赵小平.角膜穿孔暴发脉络膜上腔出血一例[J].眼科研究,2006,26(12):957
- 2 Romero AP,Salvat SM,Mendez MI. Suprachoroidal bleeding; review and description of eight cases [J]. J Fr Ophthalmol,2003,26(2):164
- 3 曾仁攀,曾庆华.白内障术中暴发性脉络膜出血一例[J].眼科研究,2008,25(7):536
- 4 Craig F,Beyer CF,Peyman GA,et al. Explosive choroidal hemorrhage in rabbits: a histoathologic study [J]. Arch Ophthalmol,1989,9(107):1648-1653
- 5 Zauberan H. Expulsive choroidal hemorrhage; an experimental study[J]. Br J Ophthalmol,1982,66(1):43-45
- 6 黎铨,李娟娟. B型超声在迟发性脉络膜上腔出血诊治中的应用价值[J].眼科研究,2008,26(10):779
- 7 Lakhanpal V. Experimental and clinical observations on massive suprachoroidal hemorrhage [J]. Trans Am Ophthalmol Soc,1993,91:545-652
- 8 王建刚,惠延年. 出血性视网膜脱离[J]. 中华眼底病杂志,2003,19:330-331
- 9 Meier P, Wiedemann P. Massive suprachoroidal hemorrhage; secondary treatment and outcome [J]. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol,2000,238(1):28-32

(收稿:2008-09-20 修回:2009-04-15)

(本文编辑:王莉红)