

外伤性视神经损伤手术时机选择的实验研究

史剑波¹, 文卫平¹, 许庚¹, 徐锦堂², 狄静芳², 夏潮涌²

(1. 中山大学附属第三医院耳鼻咽喉科, 广东 广州 510630;
2. 暨南大学医学院, 广东 广州 510632)

摘要:【目的】通过视神经外伤后视网膜形态的变化, 了解外伤性视神经损伤的手术时机与疗效间的相关关系。【方法】建立外伤性视神经损伤和不同时间减压动物模型, 对视网膜神经节细胞(RGCs)、视网膜等进行了定量分析。【结果】正常对照组 RGCs 相对体积数密度(体密度, V_v)为 0.072, 小细胞所占比例为 49.5%, 视网膜厚度为 108.9 μm , 节细胞以内层的厚度为 19.5 μm ; 48 h 减压组 RGCs 体密度为 0.052, 小细胞占比例为 66.8%, 视网膜总厚度为 101.9 μm , 节细胞以内层厚度为 16.9 μm ; 14 d 减压组 RGCs 体密度为 0.042, 小细胞占比例为 76.4%, 视网膜总厚度为 96.5 μm , 节细胞以内层为 15.5 μm 。【结论】48 h 减压较 14 d 减压可以较好的保存 RGCs 和视网膜的形态, 外伤性视神经损伤后应该尽早解除周围因素对视神经的压迫。

关键词:视神经/损伤; 视网膜/细胞学; 视网膜神经节细胞

中图分类号:R77

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2003)04-0368-03

Experimental Research of Operative Time Selection After the Traumatic Optic Nerve Injuries

SHI Jian-bo, WEN Wei-ping, XU Geng, XU Jin-tang, DI Jing-fang, XIA Chao-yong

(Department of Otolaryngology, The Third Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract:【Objective】Through observation of retinal change, to understand the relationship between the operative time and effectiveness traumatic optic neuropathy.【Method】Animal model (Guinea pig) of traumatic optic neuropathy and nerve decompressing at different time were established, followed by quantitative study of retinal structure and retinal ganglion cells (RGCs).【Results】RGCs relative volume density (relative number of cumulus RGCs populations) in normal Guinea pig was 0.072 (small RGCs 49.5%). The complete retina thickness was 108.9 μm and RGCs layer was 19.5 μm . 48 h nerve decompression group: RGCs relative volume density was 0.052 (small RGCs 66.8%), and the complete retina thickness was 101.9 μm and RGCs layer was 16.9 μm . 14 d nerve decompression group: the complete retina thickness was 0.042 (small RGCs 76.4%), and the complete retina thickness were 96.5 μm and RGCs was 15.5 μm .【Conclusion】The shape of RGCs and retina is better preserved in 48 nerve decompression than in 14 d group. The optic nerve decompression should be done as soon as possible.

Key words: optic nerve/injuries; retina/cytology; retinal ganglion cells

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2003, 24(4): 368 ~ 370, 397]

外伤性视神经损伤 (traumatic optic neuropathy, TON) 导致视力障碍的病理学基础是视神经受到视神经周围骨折片、后组筛窦和蝶窦骨折片、眶尖部血肿等压迫, 外伤后肿胀的视神经受到视神经管的

挤压, 上述因素可能导致神经离断、轴索断裂、挫伤, 视神经轴浆运输功能障碍, 视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 逆行性溃变, 视神经营养血管血供减少, 眼供血系统受损等^[1,2]。目前

收稿日期:2002-10-23

基金项目:广东省卫生厅“五个一”工程重点项目

作者简介:史剑波(1961-),男,江苏常州人,博士.E-mail:tsjbent@163.com

认为视神经减压术是主要的治疗手段之一。一些文献^[1]认为解除外部各种因素对视神经的压迫,能促使视神经和视网膜血供恢复,恢复视神经轴浆的运输功能,阻断 RGCs 的溃变,是视功能恢复的基础,但是缺乏足够的实验依据。为此,我们通过动物实验研究,探讨在实验状态下解除视神经的压迫能否获得疗效,为临床 TON 进行合适手术提供理论依据,并试图探讨手术的合适时限。

1 材料和方法

1.1 实验材料及分组

健康豚鼠 16 只(体质量 250~350 g,月龄 3 个月左右),随机分成 A、B、C、D 4 组,每组 4 只。A 组为正常对照组,B 组为损伤组、C 组于外伤手术后 48 h 取出硅胶,D 组于外伤手术后 14 d 取出硅胶。

1.2 建立视神经撞击和挤压损伤模型

沿眶缘内侧暴露眶尖部视神经入颅处,将 100 g 的砝码,从 6 cm 高沿着有刻度的玻璃管自由垂直落下,冲击视神经上方的木条,造成视神经眶内段入颅处的间接冲击伤,模拟额眶筛复合体骨折的直接损伤;暴露豚鼠的视神经孔,在孔中塞入一细端 2 mm 直径的圆锥软硅胶,阻塞视神经孔,模拟额眶筛复合体骨折的间接挤压伤。术后第 2 天瞳孔在 4.5 mm 以上、直接对光反射消失、眼球无明显突出、眼睑闭合基本完全者为成功模型(并经视神经病理得以证实)。

1.3 标本制备

各组动物于术后 3 个月,左心室 0.1 mol/L PBS 冲洗和 40 g/L 多聚甲醛灌注,完整取出全眼球,定位包埋。前后方位视网膜全层切片 3 次(间隔 30 μm),每次切片厚度为 4 μm 和 10 μm ,共得 4 μm 3 张,10 μm 3 张,常规 HE 染色。

1.4 观察方法^[3-5]

本研究由 TIGER 细胞图像分析仪(重庆大学工业 CT 研究所研制)和 Olympus BX50 显微镜组成的图像分析系统完成,选用 Olympus 的 20~100(物镜,按下述方法确定测量区域,采用 TIGER 细胞图像分析仪的交互测量功能进行测量。① 视网膜各层厚度的测量:视神经乳头旁开 2 mm 起,每侧连续 4 个低倍视野中点,共 100 个视野点,以视网膜的内界膜至节细胞层的外界(X_1),内网层和内核层(X_2),外网层内界至色素上皮层的外界(X_3)和全视网膜层(X_4)为待测距离。② RGC 核相对体积数

密度(体密度, V_v)的测算:视神经根旁各 2 mm 始随机连续选择 8 个视野,共选择 200 个高倍视野,网格测量法覆盖内视网膜层,参照空间(V_c)选内界膜至内网层间面积与网格交叉点重叠的点数,目标数目(RGC 核, V_t)为 RGC 核与网格交叉点重叠的点数,计算目标数目占上述参照空间的比例。计算公式为: $V_v = \Sigma V_t / \Sigma V_c$ 。③ RGC 核平均体积(\bar{V})的计算:视神经根旁开 2 mm 始随机选择符合体视学细胞体积计算原理的 RGC 核共 400 个,十字测定法计算细胞核体积。平均体积计算公式: $\bar{V} = 4/3\pi(l_n^3)$,其中 l_n 为截距。

1.5 统计处理

全部数据使用统计软件包 SPSS 8.0 for Windows 进行独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 时认为有统计学显著性意义。

2 结果

2.1 TON 及其减压后 RGCs 核的相对体积数密度、平均体积数密度

视神经减压 48 h 组与外伤组比较, RGCs 核相对体积数密度增加了 40.5%, 平均体积增加了 35.9%, 数密度增加了 6.4%, 经统计学处理有非常显著差异($P < 0.001$); 14 d 减压组与 B 组比较, 体积密度增加了 13.5%, 平均体积增加了 15.4%, 经统计学处理有显著差异($P < 0.05$), 数密度增加了 1.3%, 统计学处理无显著差异(表 1)。

表 1 TON 及其减压后 RGCs 核的相对体积数密度、平均体积、数密度
Table 1 Relative volume density, mean volum, and number density(N_v) of RGCs nuclear after TON and optic nerve decompression

| Group | V_v | $\bar{V}/\mu\text{m}^3$ | $N_v/\mu\text{m}^{-3}$ |
|-------|---------------------------------|-------------------------|------------------------|
| A | 0.072 \pm 0.044 | 174.0 | 415 |
| B | 0.037 \pm 0.039 | 92.7 | 388 |
| C | 0.052 \pm 0.045 ¹⁾ | 126.0 ¹⁾ | 413 ¹⁾ |
| D | 0.042 \pm 0.041 ²⁾ | 107.0 ²⁾ | 393 ²⁾ |

A: normal; B: injured; C: 48 h after surgery; D: 14 d after surgery. Compared with group B (t -test): 1) $P < 0.01$, 2) $P < 0.05$; $N_v = V_v/n$

2.2 TON 及其减压后各组 RGCs 核的体积

视网膜神经节细胞核的体积分布曲线不呈正态分布, 而由 3 个细胞核群体组成, 根据峰形特点, 结合文献^[6], 将之大致分成小、中、大核 3 种类型的

表 2 TON 及其减压后各组 RGCs 核的平均体积

Table 2 Average volume of RGCs nuclear of TON and optic nerve decompression

| Groups | Size of nuclear ¹⁾ | Range | % | $\bar{x} \pm s$ |
|--------|-------------------------------|-----------|------|-----------------|
| A | S | 18 - 138 | 49.5 | 80 ± 26 |
| | M | 138 - 258 | 28.6 | 183 ± 32 |
| | L | 258 - 594 | 20.9 | 364 ± 76 |
| B | S | 18 - 138 | 84.1 | 75 ± 27 |
| | M | 138 - 258 | 14.2 | 170 ± 28 |
| | L | 258 - 594 | 1.7 | 306 ± 61 |
| C | S | 18 - 138 | 66.8 | 77 ± 26 |
| | M | 138 - 258 | 24.6 | 184 ± 32 |
| | L | 258 - 594 | 8.7 | 338 ± 66 |
| D | S | 18 - 138 | 76.4 | 75 ± 28 |
| | M | 138 - 258 | 19.4 | 174 ± 32 |
| | L | 258 - 594 | 4.2 | 370 ± 101 |

A、B、C、D, the same as table 1. 1) RGC was classified into three groups according literature¹⁶⁾, S: Small; M: Middle; L: Large

细胞群体。正常组、外伤组、外伤后 48 h 组和 14 d 组的 RGCs 核的体积分别见表 2。

2.3 TON 及其减压后视网膜厚度的测量

外伤后 3 个月, 外伤对照组全视网膜层的厚度为 90.0 μm, 是正常对照组的 82.6%; 而 48 h 减

表 3 外伤性视神经损伤及其减压对视网膜各层厚度的影响
Table 3 Effecting of traumatic optic neuropathy and decompression to retinal thickness (n = 100, $\bar{x} \pm s$, μm)

| Groups | X ₁ | X ₂ | X ₃ | X ₄ |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| A | 19.4 ± 3.8 | 45.5 ± 6.0 | 44 ± 5.5 | 108.9 ± 8.9 |
| B | 14.6 ± 2.0 | 37.5 ± 3.0 | 38 ± 5.7 | 90.0 ± 6.6 |
| C | 16.9 ± 2.8 ¹⁾ | 41.6 ± 3.8 ¹⁾ | 43.4 ± 5.7 ¹⁾ | 101.9 ± 9.1 ¹⁾ |
| D | 15.5 ± 1.9 ¹⁾ | 39.8 ± 3.6 | 40.2 ± 4.6 | 96.5 ± 6.8 ²⁾ |

A、B、C、D, the same as table 1. Compared with group B, 1) P < 0.01, 2) P < 0.05

压组为正常组的 93.5%; 14 d 减压组为正常组的 88.6%。各组视网膜的厚度见表 3。

3 讨 论

外伤性视神经损伤的治疗一直是多学科关注的问题, 到目前为止, 其主要治疗方法为大剂量肾上腺皮质激素和各种进路的视神经减压术。其中术前评估视神经管减压术的疗效、估计预后、确定有效手术的时限一直是临床医师关注的问题之

一^[7]。为此, 我们设计了 48 h 减压和 14 d 减压时间组的动物模型, 试图通过对 RGCs 和视网膜的形态学的定量分析来判断视神经减压的确切疗效。本实验发现, 视神经撞击和挤压损伤后, 在 48 h 和 14 d 给予去除视神经周围压迫的硅胶, 与损伤对照组比较, RGCs 核的平均体积明显增加, 其中 48 h 减压组平均体积增加了 35.9%, RGCs 以内层、内网内核层、光感受细胞层、全视网膜层分别提高了 16.0%、10.8%、14.5%、12.8%, t 检验有极显著性差异 (P < 0.001)。14 d 减压组平均体积增加了 15.4%, RGCs 以内层、内网内核层、光感受细胞层、全视网膜层分别提高了 6.8%、6.0%、5.9%、7.2%, 均不超过 7.2%, 其效果明显差于 48 h 组; 48 h 减压组大、中细胞占细胞总数的比例亦明显多于 14 d 组, 各组数据更接近正常对照组, 在外伤后 48 h 解除硅胶对视神经的压迫, 节细胞的数密度与正常组相差无几, 说明 48 h 内减压能有效地保存 RGCs 和视网膜的形态; 而在 14 d 减压组, 节细胞的数密度则下降了 5.3%, 说明 14 d 减压 RGCs 已经开始出现明显破坏。上述结果提示在视神经损伤后及时减压的效果明显优于远期减压, 有机会更好地保留视网膜神经节细胞的形态, 在某种意义上说, 就能更好地保证较好的视功能。

倪道凤等^[8]报道在破坏豚鼠耳蜗后 2 月前腹侧耳蜗核和后腹侧耳蜗核神经元细胞面积分别下降了 50% 和 32%, 并且发现外伤后 4 d 和外伤后 60 d 下降的程度相差无几, 而在外伤后 24 h 内前腹侧耳蜗核神经元细胞面积的改变与正常比较无显著性差异, 说明神经元的病变在 24 h 刚刚开始。狄静芳等^[9]实验显示视神经在受到撞击和挤压造成视神经不完全损伤后 48 h, 尽管并不立即出现视神经的溃变和视网膜细胞的坏死, 但是已经可以发现视网膜细胞凋亡, 在损伤后 14 d, 损伤已累及内、外核层神经元, 一些 RGCs 出现不可逆转的改变和 RGCs 的丧失。这些结果与我们的临床疗效相吻合^[7], 因此强调早期手术治疗的重要性。

参考文献:

- [1] Steinsapir K D, Goldberg R A. Traumatic optic neuropathy[J]. *Survay Ophthalmol*, 1994, 38(6):487.
- [2] Levin L A, Jesoph M P, Rizzo J F, et al. Optic canal decompression in indirect optic nerve trauma[J]. *Ophthalmology*, 1994, 101(3):566.
- [3] 夏潮涌, 夏志坚. 细胞体积测量与计算方法的比较研究 (下转第 397 页 to page 397)

引流理论上具有手术简单、引流效果确切、更换导管方便、治疗费用低等特点。但是由于肝门部胆管癌的特殊位置关系,肿瘤距胆总管只有1~2 cm,单独使用U管(U管要求在肿瘤上下端均开有多个侧孔)穿过肿瘤从胆总管引出是相当不易的,因为U管在胆总管的引出处,很难缝合使其不漏胆汁,另外,即使可以缝合胆总管,U管稍有的移动其侧孔也很易露出胆总管引起严重的胆漏的并发症。正因如此,国内外报道单独使用U管引流治疗肝门部胆管癌的文章极少,多数是联合胆肠吻合术使用^[3-5]。但胆肠吻合手术创伤仍相当大,而且手术并发症多,常见有出血、胆瘘、肠瘘、伤口感染、胆道感染、肠梗阻等。

为探讨使用一种更为简便的方法,既起到U管引流的手术简单,引流、换管方便的作用,又没有像置U管那样容易引起胆漏及胆肠吻合手术创伤大、并发症多、术后逆行感染机会大等并发症,我们设计出用T管套U管的方法来解决U管从胆总管引出及容易胆漏的问题,待术后2周,T管的窦道形成,拔除T管,U管对接,通过U管完全起到内支架所起的作用。我们用该方法从1991年至2001年共治疗肝门部胆管癌24例,与同期我们用传统的胆肠吻合加U管引流的方法治疗41例相比,认为该方法具有如下特点:①手术简单,手术时间平均只45 min,对照组为145 min,两者相差非常显著。②术后并发症少。因手术简单,手术时间短,创伤少,病人术后恢复很快,与手术相关的并发症也明显减少。本组术后出现并发症的只有3例,对照组有17例,经统计学处理,有显著性差异。③术后引起逆行胆道感染的机会少。因该方法没有改变正常胆道引流时解剖结构关系,较胆肠吻合术的病例胆道感染的机会大为减少。特别在采用Warren吻合方式的胆肠吻合,虽然手术较Roux-en-y吻合方式要简单,但其术后引起的胆道感染情况却较

Roux-en-y吻合方式要多。而我们作胆肠吻合术的病例大部分是采用Warren吻合方式再加U管引流,故术后引起胆道感染的比例较高。对于U管引流问题,手术后只要正确护理并教导病人出院后正确维护U管,病人的生活质量与根治性切除是无明显差异的。④两组病例手术后退黄、手术死亡、中位生存期无明显差异。

T管套U管引流存在一些主要问题是:①术后早期U管堵塞。原因是血块、胆泥、坏死脱落的肿瘤组织混合物堵塞U管或其侧孔,使胆汁引流不畅。后来我们采用了将侧孔加大、多开侧孔的方法,而且在手术后马上开放双侧U管使其主要起外引流的作用,并随时观察胆汁的引流情况,发现堵塞,及时冲管。现已较少出现U管堵塞的情况。但需注意的是,早期不能随便移动U管,以免在肝膈面处出现胆漏。②该手术不适宜用在胆总管较细的病人,因T管套上U管后,过细的胆总管是无法缝合的。

参考文献:

- [1] 中华医学会外科学会胆道外科学组. 肝外胆管癌全国调查1098例分析[J]. 中华外科杂志,1990,28(9):516.
- [2] Miyagawa S, Makuuchi M, Kawasaki S. Outcome of extended right hepatectomy after biliary drainage in hilar bile duct cancer[J]. Arch Surg, 1995, 130(7):759.
- [3] Thompson J S, Burnett D A, Hodgson PE. The many uses of the U tube[J]. Am J Surg, 1986, 152(6):616.
- [4] 梁钢,傅炯,晁明,等. 晚期阻塞性黄疸减黄术式选择[J]. 中华肝胆外科杂志,2002,8(12):732.
- [5] Pichlmayr R, Weimann A, Klempnauer J, et al. Surgical treatment in proximal bile duct cancer. A single-center experience[J]. Ann Surg, 1996, 224(5):628.

(编辑 张恩健)

(上接第370页 from page 370)

- 究[J]. 中国体视学与图像分析, 1997, 4(2): 264.
- [4] 申洪,沈忠英. 实用生物体视学技术[M]. 广州:中山大学出版社, 1991. 64~216.
 - [5] 史剑波,徐锦堂,夏潮涌,等. 豚鼠视网膜正常结构的定量研究[J]. 眼科研究, 1999, 17(4):98.
 - [6] Fukuda Y, Hsiao C F, Watanabe M, et al. Morphological correlates of physiologically identified Y-, X, and W-cells in cat retina[J]. J Neurophys, 1984, 52(6): 999.
 - [7] 史剑波,许庚,李源,等. 经鼻内窥镜视神经管减

压术的初步报告[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志,1998,33(4):225.

- [8] 倪道凤,杜明,徐晓春,等. 豚鼠耳蜗损伤对耳蜗核神经元细胞面积的影响[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1997, 32(5):264.
- [9] 狄静芳,史剑波,曾耀英,等. 视神经损伤后视网膜细胞凋亡的实验研究[J]. 暨南大学理医学报, 1999, 20(4):88.

(编辑 刘清海)