

醋甲唑胺干预尾悬吊大鼠眼压及 FVEP 的变化

赵 军 赵宏伟 宫玉波 顾 潼 石 琳 宋飞龙

摘 要 **目的** 观察醋甲唑胺干预下尾悬吊模拟微重力大鼠的眼压及闪光视觉诱发电位的变化。**方法** 选取 SD 大鼠 32 只,分为 4 组,分别给予单纯尾悬吊、悬吊联合 0.9% NaCl 溶液灌胃 1 次、悬吊联合醋甲唑胺灌胃 1 次或 2 次。在悬吊前及悬吊后 1 天、3 天、7 天、14 天行眼压和视觉诱发电位(flash visual evoked potential, FVEP)检查, FVEP 标记 P_1 波分析波幅及潜伏期。**结果** 双倍药物组眼压在受试后较其他组出现明显下降($P < 0.001$)。在受试后第 3 天,双倍药物组眼压下降程度较其他组比较,差异有统计学意义($P = 0.014$),并持续至实验结束。余各组无显著波动($P > 0.05$)。FVEP- P_1 波幅显示双倍药物组在受试后出现 P_1 波幅的明显上升($P = 0.042$),其中在受试后第 3 天及第 7 天 P_1 波幅差异明显(P 值分别为 0.015、0.024)。其余各组 P_1 波幅均无显著变化(P 均 > 0.05)。FVEP- P_1 潜伏期分析显示各组大鼠间差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。**结论** 在模拟微重力状态下,醋甲唑胺干预会影响大鼠的眼压,同时对视神经的功能造成影响。

关键词 模拟微重力 醋甲唑胺 眼内压 闪光视觉诱发电位

中图分类号 R77

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.10.035

Effects of Methazolamide on Intraocular Pressure and Visula Evoked Potential in Rats with Tail – suspended. ZHAO Jun, ZHAO Hong-wei, GONG Yubo, et al. Ophthalmology Department, PLA strategic Support Force Characteristic Medical Center, Beijing 100101, China

Abstract Objective To observe the effects of acetazolamide on intraocular pressure and flash visual evoked potential(FVEP) in tail – suspended simulated microgravity rats. **Methods** Thirty – two healthy Sprague – Dawley rats were enrolled and randomly divided into four groups. A model of simulated microgravity environment was established in each rat tail suspension method. Except the control group, the other groups were intragastrically given normal saline and methazolamide saline solution one or twice a day after tail suspension. Intraocular pressure(IOP), latency and amplitude of P_1 wave of FVEP were examined before, 1 day after, 3 days after, 7 days after and 14 days after suspension under anesthesia. **Results** It was found that the double dose group showed a significant decrease in the IOP ($P < 0.001$). It happened on the 3rd day of the trail($P = 0.014$) and lasted until the end of the trail. There was no significant different in other groups. The amplitude of FVEP – P_1 showed the double does group was increased significantly ($P = 0.042$). It was happened on the 3rd and 7th day during the trail (P were 0.015, 0.024). There was no significant change in FVEP – P_1 wave latency in each group(all $P > 0.05$). **Conclusion** The intervention of methazolamide could affect the IOP and the function of optic nerve simultaneously on rats under simulated microgravity condition.

Key words Simulated microgravity; Methazolamide; Intraocular pressure; Visual evoked potential

进入太空后,地球吸引力所形成的重力作用消失,环境呈微重力状态。这种状态对航天员的生理状态会产生显著的影响。航天医学证实,在微重力状态下,血液会在人体内重新分配,头面部及眼部的血液增加,这种供血状态的持续会导致一系列视觉异常的症状和体征,统称为微重力神经眼科综合征(space-flight associated neuro – ocular syndrome, SANS)^[1]。在 SANS 中,眼压的变化是最早被发现和报道的^[2]。

作为重要的生理指标之一,眼压对眼内结构正常生理功能的维持意义重大。近年来研究发现,跨筛板压力差可能是视神经损伤的重要危险因素^[3,4]。本研究采用尾悬吊模拟微重力大鼠模型,通过口服醋甲唑胺干预眼压,并通过对视觉诱发电位(flash visual evoked potential, FVEP)的观察,了解上述眼压变化是否能对视功能造成影响。

材料与方法

1. 实验动物:选取 SPF 级 SD 大鼠[购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物许可证号:SCXK(京)2016 – 002]32 只,6 周龄,体质量为 200 ~ 240g,雌雄不限。实验方案经中国人民解放军战略支援部队特色医学中心动物实验伦理委员会批准,实验

作者单位:100101 北京,中国人民解放军战略支援部队特色医学中心眼科

通信作者:赵宏伟,电子信箱:66359988@sina.com;宫玉波,电子信箱:gongyb16@126.com

过程符合国家科学技术部颁布的《实验动物管理条例》。

2. 药物:使用醋甲唑胺(商品名:尼目克司,中国杭州澳医保灵药业有限公司生产,国药准字:H20003010)制备灌胃溶液。按每 100g 大鼠体质量给予醋甲唑胺 1.0125mg 计算,灌胃溶液浓度为 1.0125mg/100ml。灌胃量(ml)=体质量×1.0125mg/100ml。

3. 模拟微重力环境大鼠模型建立:本研究采用尾悬吊法建立大鼠失重模型。微重力环境对人体最主要的影响是体液,尤其是血液的头向分布增加。通过大量的实验研究观察,−30°尾悬吊大鼠所形成的血液分布状态是动物模型中最为接近微重力条件下血液头向分布特点的动物模型^[5,6]。大鼠单笼饲养,尾部悬吊,使后肢悬空,保持头低位,并使身体纵轴与水平线呈 −30°夹角,前肢着地可自由活动,自由进食、饮水。

4. 实验分组:32 只大鼠按随机数字表法分为 4 组:单纯悬吊组大鼠($n=8$)持续保持悬吊状态 14 天;水灌胃对照组大鼠($n=8$)除悬吊外,每日给予 0.9% NaCl 溶液灌胃 1 次;单倍药物组大鼠($n=8$)除悬吊外,每日给予醋甲唑胺 0.9% NaCl 溶液灌胃 1 次;双倍药物组大鼠($n=8$)除悬吊外,每日给予醋甲唑胺 0.9% NaCl 溶液灌胃 2 次。

5. 大鼠眼压测量方法:大鼠采用 10% 水合氯醛

腹腔注射麻醉,麻醉成功后眼压测量采用 ICare 回弹式眼压计(芬兰爱科公司)。大鼠俯卧状态,充分暴露角膜,测量过程中保持探针方向与角膜缘平面垂直。测量 6 次后,取平均值。

6. 视觉诱发电位测量方法:大鼠采用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉,麻醉成功后将针形记录电极穿刺于大鼠尾根部(地电极)、两耳后缘连线的中点骨膜表面(记录电极)及鼻部(参考电极)。使用重庆国特医疗视觉电生理检查系统,采用闪光视觉诱发电位模式,每只眼睛测量 3 次。结果取稳定的 NPN 波形, N_1 谷底至 P_1 峰值为 N_1-P_1 的振幅,起始至 P_1 顶峰的时间为 P_1 潜伏期。

7. 统计学方法:应用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行统计分析。眼压数据结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,根据数据特点,采用单因素、多因素及重复测量的方差分析,样本均数间的多重比较采用 LSD 方法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 眼压的变化:双倍药物组在受试后第 1 天即出现明显的眼压下降,并持续于较低水平($P<0.001$),其中在受试后 3、7、14 天,双倍药物组眼压下降与其他组比较,差异有统计学意义(P 分别为 0.014、0.002、0.027)。其余各组眼压均无显著变化($P>0.05$)。单倍药物组及水灌胃对照组出现眼压波动,但差异无统计学意义(P 分别为 0.469、0.425),详见表 1。

表 1 各组大鼠眼压变化(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	受试前	受试后 1 天	受试后 3 天	受试后 7 天	受试后 14 天
单纯悬吊组	7.25±1.67	7.88±1.36	7.88±1.36	8.00±1.07	7.13±1.36
水灌胃对照组	8.00±0.82	7.50±0.58	6.50±0.58	6.75±0.98	7.75±2.22
单倍药物组	7.29±1.38	6.86±1.86	7.57±2.51	8.14±2.97	7.14±2.12
双倍药物组	7.80±0.84	6.00±0.71	5.20±0.45	3.80±0.84	4.40±1.14

2. FVEP- P_1 波变化:双倍药物组 P_1 波波幅波动的差异有统计学意义($P=0.042$)。其中在受试后第 1 天,出现 P_1 波波幅的上升,在受试后 3 天($P=0.015$)和 7 天($P=0.024$)上升达到峰值,与其他组

比较,差异有统计学意义。其余各组 P_1 波波幅均无显著的变化,详见表 2。各组 P_1 波潜伏期在受试前后均无显著的变化($P>0.05$)。

表 2 各组大鼠 FVEP- P_1 波幅变化($\mu V, \bar{x} \pm s$)

组别	受试前	受试后 1 天	受试后 3 天	受试后 7 天	受试后 14 天
单纯悬吊组	7.65±2.42	5.53±4.90	3.71±2.64	4.39±2.50	5.40±3.36
水灌胃对照组	6.07±1.56	6.80±4.22	7.59±5.35	8.38±3.60	7.41±2.20
单倍药物组	7.05±4.26	9.64±4.64	12.20±8.68	9.96±7.29	8.74±5.42
双倍药物组	5.59±2.98	8.46±3.53	12.39±7.46	12.84±7.82	8.43±5.77

讨 论

近年来,跨筛板压力差概念出现在 SANS 相关研究中。由于眼球和中枢神经系统的解剖特点,在视盘处形成了跨筛板的接触。在微重力状态下,眼内压和颅内压均会发生波动,由此造成跨筛板压力差的变化,从而对视神经造成影响^[7~9]。

Zhao 等^[10]对不同跨筛板压力差的大鼠进行了观察,发现在不同压力差下,视网膜及视神经的功能发生了明显的变化。Eklund 等^[11]通过对不同体位的跨筛板压力差的观察发现不同角度的体位,跨筛板压力差差异显著。Marshall - Goebel 等^[12]研究显示,在不同角度头低位模拟微重力状态下,眼内压是持续升高的,但颅内压只在 -18° 时才开始发生变化,这使得跨筛板的压力差比在正常状态下发生明显改变,而这种压力差会导致视神经的损害。Nelson 等^[13]在观察了各种不同形式模拟微重力的结论数据后认为,眼内压和颅内压的变化是在微重力即时发生的,而颅内压和眼内压的压差对眼部的结构和功能会产生影响。在微重力短期内,跨筛板压力差所产生的影响是可以忽略不计的,但长期的跨筛板压力差是否对视网膜及视神经产生影响,则需要进一步的观察^[14]。

长期处于微重力环境下,视神经会发生形态学的变化。Wahlin 等^[15]采用磁共振方法观察国际空间站返回的航天员的视神经形态学变化。发现在航天员返回后,视神经的长度较之前增长,主要表现为视乳头的前移。Rohr 等^[16]在航天员在轨飞行半年返回后研究发现,航天员返回恢复期内视神经的弯曲度变小,视神经截面积增加,而视神经鞘的截面积变小。因神经鞘的截面积取决于颅内压,因此也验证了颅内压的变化。视神经形态学的变化意味着视神经可能有伴随的功能学的改变。

VEP 能敏感地反映视神经的功能。Zhao 等^[17]研究发现,大鼠在尾悬吊 12 周后,视觉诱发电位的 P_{100} 波潜伏期延长,波幅下降。赵军等^[18,19]进行的人体卧床实验中发现,在 -6° 条件下,在受试后第 2 天及第 5 天,高空间频率下的 VEP - P_{100} 波幅有明显的下降,而在中低空间频率下无明显改变。

本研究通过探讨醋甲唑胺干预眼压后发现,尾悬吊大鼠在给予足够剂量的醋甲唑胺后眼压有所下降。与之对应的组别研究发现,VEP - P_1 波的波幅有显著的升高后逐步下降到正常,结果提示,醋甲唑胺干预眼压后,眼压的波动对视神经功能有明显的影响,结

果验证了跨筛板压力的变化可能对视神经功能具有明显的影响。

随着在轨飞行时间的延长,航天员面临着生理功能受损的风险,研究结果提示应关注跨筛板压力差的变化对航天员视神经功能的影响,注重做好相关的医疗保障工作。

参考文献

- 1 Lee AG, Mader TH, Gibson CR, *et al.* Spaceflight associated neuro - ocular syndrome (SANS) and the neuro - ophthalmologic effects of microgravity: a review and an update [J]. NPJ Microgravity, 2020, 6: 7
- 2 Linder BJ, Trick GL. Simulation of spaceflight with whole - body head - down tilt: influence on intraocular pressure and retinocortical processing [J]. Aviat Space Environ Med, 1987, 58(9): 139 - 142
- 3 Zhao D, He Z, Vingrys AJ, *et al.* The effect of intraocular and intracranial pressure on retinal structure and function in rats [J]. Physiol Rep, 2015, 8(3): e12507
- 4 Nelson ES, Mulugeta L, Feola A, *et al.* The impact of ocular hemodynamics and intracranial pressure on intraocular pressure during acute gravitation changes [J]. J Appl Physiol (1985), 2017, 123(2): 352 - 363
- 5 Wronski TJ, Morey - Holton ER. Skeletal response to simulated weightlessness: a comparison of suspension techniques [J]. Aviat Space Environ Med, 1987, 58(1): 63 - 68
- 6 Tan B, Gurdita A, Choh V, *et al.* Morphological and functional changes in the rat retina associated with 2 months of intermittent moderate intraocular pressure elevation [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 7727
- 7 艾家玲, 杨嘉玮, 朱思泉, 等. 失重/模拟失重对眼结构和视功能影响的研究进展 [J]. 航天医学与医学工程, 2021, 34(1): 75 - 79
- 8 杨振菲, 朱思泉. 失重状态对眼部影响的研究进展 [J]. 中华眼科杂志, 2015, 51(4): 310 - 313
- 9 陈小凤, 潘学会, 朱思泉. 微重力环境对眼压和视力的影响及其机制研究进展 [J]. 西南国防医药, 2018, 28(12): 1290 - 1292
- 10 Zhao D, He Z, Vingrys AJ, *et al.* The effect of intraocular and intracranial pressure on retinal structure and function in rats [J]. Physiol Rep, 2015, 8(3): e12507
- 11 Eklund A, Johannesson G, Johansson E, *et al.* The pressure difference between eye and brain changes with posture [J]. Ann Neurol, 2016, 80(2): 269 - 276
- 12 Marshall - Goebel K, Mulder E, Bershad E, *et al.* Intracranial and intraocular pressure during various degrees of head - down tilt [J]. Aerosp Med Hum Perform, 2017, 88(1): 10 - 16
- 13 Nelson ES, Mulugeta L, Feola A, *et al.* The impact of ocular hemodynamics and intracranial pressure on intraocular pressure during acute gravitation changes [J]. J Appl Physiol (1985), 2017, 123(2): 352 - 363

(转第 137 页)

是接受急诊 PCI 治疗的 STEMI 患者术后发生 CI - AKI 的独立危险因素。两者联合可提高对 STEMI 患者急诊 PCI 术后 CI - AKI 的预测价值。

参考文献

- McCullough PA, Choi JP, Feghali GA, *et al.* Contrast - induced acute kidney injury [J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 68(13): 1465 - 1473
- Mehran R, Dangas GD, Weisbord SD. Contrast - associated acute kidney injury [J]. N Engl J Med, 2019, 380(22): 2146 - 2155
- 范雪松, 王恩世, 贺建勋, 等. 小而密低密度脂蛋白胆固醇及其与低密度脂蛋白胆固醇之比与颈动脉粥样硬化斑块的关系 [J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(3): 219 - 226
- 郭迎雪, 李俊峰, 高艺航, 等. 小而密低密度脂蛋白胆固醇对冠状动脉粥样硬化患者自噬诱导作用研究 [J]. 中国实验诊断学, 2021, 25(11): 1614 - 1617
- Shimizu N, Kotani K. Point - of - care testing of (N - terminal pro) B - type natriuretic peptide for heart disease patients in home care and ambulatory care settings [J]. Pract Lab Med, 2020, 22: e00183
- Gencer B, Vuilleumier N, Nanchen D, *et al.* Prognostic value of total testosterone levels in patients with acute coronary syndromes [J]. Eur J Prev Cardiol, 2021, 28(2): 235 - 242
- Takase H, Dohi Y. Kidney function crucially affects B - type natriuretic peptide (BNP), N - terminal proBNP and their relationship [J]. Eur J Clin Invest, 2014, 44(3): 303 - 308
- 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 (2019) [J]. 中华心血管病杂志, 2019, 47(10): 766 - 783
- Owen RJ, Hiremath S, Myers A, *et al.* Canadian association of radiologists consensus guidelines for the prevention of contrast - induced nephropathy: update 2012 [J]. Can Assoc Radiol J, 2014, 65(2): 96 - 105
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, *et al.* A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group [J]. Annals of Internal Medicine, 1999, 130(6): 461 - 470
- Lin KY, Wu ZY, You ZB, *et al.* Pre - procedural N - terminal pro - B type natriuretic peptide predicts contrast - induced acute kidney injury and long - term outcome in elderly patients after elective percutaneous coronary intervention [J]. Int Heart J, 2018, 59(5): 926 - 934

- 李雨涵, 马凯, 郑迪, 等. 小而密低密度脂蛋白对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者急诊 PCI 后对比剂肾病的预测价值 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2021, 13(12): 1534 - 1537
- 卢建刚, 田杰, 曾秋蓉, 等. 氨基末端脑钠肽前体与老年冠心病患者支架置入术后造影剂肾病的相关性 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2015, 17(10): 1036 - 1040
- Zhang F, Lu Z, Wang F. Advances in the pathogenesis and prevention of contrast - induced nephropathy [J]. Life Sci, 2020, 259: 118379
- Leoncini M, Toso A, Maioli M, *et al.* Early high - dose rosuvastatin and cardioprotection in the protective effect of rosuvastatin and antiplatelet therapy on contrast - induced acute kidney injury and myocardial damage in patients with acute coronary syndrome (PRATO - ACS) study [J]. Am Heart J, 2014, 168(5): 792 - 797
- Hu Z, Ren L, Wang C, *et al.* Effect of chenodeoxycholic acid on fibrosis, inflammation and oxidative stress in kidney in high - fructose - fed Wistar rats [J]. Kidney Blood Press Res, 2012, 36(1): 85 - 97
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease [J]. Physiol Rev, 2007, 87(1): 315 - 424
- Gyebi L, Soltani Z, Reisin E. Lipid nephrotoxicity: new concept for an old disease [J]. Curr Hypertens Rep, 2012, 14(2): 177 - 181
- Lu J, Niu D, Zheng D, *et al.* Predictive value of combining the level of lipoprotein - associated phospholipase A₂ and antithrombin III for acute coronary syndrome risk [J]. Biomed Rep, 2018, 9(6): 517 - 522
- Abbasi A, Corpeleijn E, Gansevoort RT, *et al.* Role of HDL cholesterol and estimates of HDL particle composition in future development of type 2 diabetes in the general population: the PREVEND study [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(8): E1352 - 1359
- Chae MS, Koo JM, Park CS. Predictive role of intraoperative serum brain natriuretic peptide for early allograft dysfunction in living donor liver transplantation [J]. Ann Transplant, 2016, 21: 538 - 549
- 张森. 血清 NT - proBNP 在老年 CKD 合并 CHF 患者中的临床价值 [J]. 检验医学, 2021, 36(9): 985 - 987
- Li X, Liu C, Mao Z, *et al.* Brain natriuretic peptide for predicting contrast - induced acute kidney injury in patients with acute coronary syndrome undergoing coronary angiography: a systematic review and Meta - analysis [J]. J Interv Cardiol, 2020, 2020: 1035089

(收稿日期: 2022 - 01 - 25)

(修回日期: 2022 - 02 - 24)

(接第 163 页)

- Mader TH, Gibson CR, Otto CA, *et al.* Persistent asymmetric optic disc swelling after long duration space flight: implications for pathogenesis [J]. J Neuroophthalmol, 2017, 37(2): 133 - 139
- Wahlin A, Holmud P, Fellows AM, *et al.* Optic nerve length before and after spaceflight [J]. Ophthalmology, 2021, 128(2): 309 - 316
- Rohr JJ, Sater S, Sass AM, *et al.* Quantitative magnetic resonance image assessment of the optic nerve and surrounding sheath after spaceflight [J]. NPJ Microgravity, 2020, 6: 30

- Zhao HW, Zhao J, Hu L, *et al.* Effect of long - term weightlessness on retina and optic nerve in tail - suspension rats [J]. Int J Ophthalmol, 2016, 9(6): 825 - 830
- 赵军, 胡莲娜, 李志生, 等. 头低位模拟失重对正常人视觉诱发电位的影响 [J]. 眼科新进展, 2009, 29(10): 756 - 758
- 赵军, 胡莲娜, 李勇枝, 等. 模拟失重状态下 VEP 及 OPs 与远近视力相关性的分析 [J]. 国际眼科杂志, 2013, 13(5): 921 - 923

(收稿日期: 2021 - 10 - 26)

(修回日期: 2022 - 02 - 08)