

模拟失重对成年小鼠闪光视网膜电图和视网膜微循环的影响

戴旭锋¹, 保金华¹, 陈晓萍², 李文炯², 黄海笑¹, 陈浩¹

引用:戴旭锋,保金华,陈晓萍,等. 模拟失重对成年小鼠闪光视网膜电图和视网膜微循环的影响. 国际眼科杂志 2020;20(1):27-31

基金项目:载人航天第三批预先研究基金(No.020201);浙江省自然科学基金(No.LY15H120002)

作者单位:¹(325027)中国浙江省温州市,温州医科大学眼视光学院;²(100094)中国北京市,中国航天员科研训练中心人因工程重点实验室

作者简介:戴旭锋,毕业于温州医科大学,博士,主治医师,PI助理,研究方向:视网膜功能。

通讯作者:陈浩,毕业于美国新英格兰视光学院,博士,教授,副院长,研究方向:眼视光临床诊疗关键技术和转化.chenhao823@mail.eye.ac.cn

收稿日期:2019-03-21 修回日期:2019-12-05

摘要

目的:小鼠通过悬尾来模拟失重状态下体液头向重分布,然后观察视网膜电图(ERG)和视网膜微循环的变化。

方法:正常成年雄性 C57BL/6J 小鼠随机分到 3 个实验组和 3 个对照组,最终每组 6 只。具体分组如下:实验 1 组(尾悬 15d),实验 2 组(尾悬 30d),实验 3 组(悬吊 30d 后恢复体位 30d);对照 1 组(正常饲养 15d),对照 2 组(正常饲养 30d),对照 3 组(正常饲养 60d)。时间满足后马上检测暗适应闪光 ERG,记录混合反应和振荡电位(OPs),并进行荧光素眼底血管造影(FFA)。然后提取视网膜组织,用免疫组化法检测感光细胞视色素或视蛋白的表达,用 TUNEL 试剂盒检测视网膜组织细胞的凋亡情况。

结果:悬吊 15d 组,暗适应 ERG 的混合反应, b 波较大而 OPs 振幅明显降低,后者第二个子波(O₂)幅值 197±33μV,15d 未悬吊组 336±47μV($t = -5.938, P < 0.001$)。悬吊 30d 组,小鼠 ERG 恢复,O₂幅值 264±39μV,与 30d 未悬吊组 308±41μV 无差异($t = -1.887, P > 0.05$)。悬吊 15d 组 FFA,视网膜微血管较对照组更密集,呈迂曲扩张的表现,其他实验组基本正常。各实验组感光细胞视色素或视蛋白的表达未见明显异常,视网膜未见凋亡阳性细胞。

结论:模拟失重状态下体液头向重分布,短期内小鼠 ERG 和视网膜微循环可能受到影响,但未对视网膜产生明显的永久性损伤。

关键词:小鼠;尾部悬吊;模拟失重;视网膜电图;视网膜微循环

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.1.06

Impact of simulated microgravity on flash electroretinogram and retinal microcirculation in adult mice

Xu-Feng Dai¹, Jin-Hua Bao¹, Xiao-Ping Chen², Wen-Jiong Li², Hai-Xiao Huang¹, Hao Chen¹

Foundation items: The Third Batch of Chinese Manned Space Flight Pre-research Foundation (No.020201); Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (No.LY15H120002)

¹School of Optometry and Ophthalmology, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China; ²National Key Laboratory of Human Factors Engineering, China Astronaut Research and Training Center, Beijing 100094, China

Correspondence to: Hao Chen. School of Optometry and Ophthalmology, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China. chenhao823@mail.eye.ac.cn

Received:2019-03-21 Accepted:2019-12-05

Abstract

• **AIM:** To observe changes in the flash electroretinogram (ERG) and retinal microcirculation in mice suspended by their tails, an animal model that simulates cephalad movement of bodily fluids under conditions of microgravity.

• **METHODS:** Thirty-six adult male C57BL/6J mice (36 eyes) were randomly divided into three experimental groups and three control groups. Mice in the experimental groups were tail-suspended for 15d (Group one), tail-suspended for 30d (Group two), or tail-suspended followed by returning to normal position for 30d (Group three). Three control groups were similarly fixed with a harness but kept in the normal position for corresponding periods of 15, 30, and 60d. The mice were immediately examined using scotopic ERG (including oscillatory potentials [OPs]) and fundus fluorescein angiography (FFA) *in vivo*, and subsequently sacrificed to analyze the retinal histology (methods including immunohistochemistry and TUNEL staining) *in vitro*. Independent sample *t*-test was used for data comparison between the same time-point groups.

• **RESULTS:** Following 15 - days' tail - suspension, scotopic ERG showed a decline in OPs, but not in the b-wave; the second OP (O₂) showed an amplitude of 197±33μV, which was about 60% of the control level ($t = -5.938, P < 0.001$). Following 30 - days' tail - suspension, ERG recovered, with O₂ showing an average value of 264±39μV; when compared to the corresponding control group

($308 \pm 41 \mu V$), no significant difference was observed ($t = -1.887, P > 0.05$). Morphologically, only the 15-days' tail-suspended mice showed FFA with microvascular dilation and tortuosity. Rhodopsin and cone-opsin were almost normal and no apoptotic-positive signals were detected in the retinas of the three tail-suspended groups.

• **CONCLUSION:** Simulating cephalad shifting of bodily fluids as under microgravity, using short-term tail-suspension can affect rodent ERG and retinal microcirculation; however, the change is reversible with no obvious permanent injury observed in the retinas.

• **KEYWORDS:** mice; tail-suspension; simulated microgravity; electroretinogram; retinal microcirculation

Citation: Dai XF, Bao JH, Chen XP, et al. Impact of simulated microgravity on flash electroretinogram and retinal microcirculation in adult mice. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(1):27-31

0 引言

失重状态下液体悬浮无沉降,航天员体内的流体静压消失,血液和其他体液不像重力条件下那样惯常地流向下身。相反,约有 2000mL 血液由下身转移到胸腔和头部,其中 20%左右重分布到头面部,可引起宇航员面部浮肿、头胀、颈部静脉曲张和鼻咽部堵塞等改变^[1-3]。血液重新分布后,头部灌注压增高 20~30mmHg^[4-6]。近年来国外航天医学研究发现,航天员在太空失重环境下,出现了不同程度的视觉功能和解剖学的改变,包括视盘水肿、眼球变扁、视网膜皱褶、远视以及眼内压升高等;这些改变有的人是短暂的,有些人要持续较长的时间。初步研究结果提示,可能与航天员头部(尤其是眼球)血液重新分布有关^[2-3,7]。至于失重对眼球尤其是视网膜的影响有多大,能否恢复,是否会造成长期永久性损害等,这些问题目前尚不清楚。文献报道一些啮齿类动物在地面,通过改变体位的方式,可以模拟失重状态下体液重分布^[8-9],本研究选择小鼠进行实验。在观察指标方面,闪光视网膜电图(electroretinogram, ERG)能客观反映视网膜整体功能,其中振荡电位(oscillatory potentials, OPs)还能敏感地反映视网膜中内层的血液循环状态^[10-11]。本研究通过以上功能学检测,并结合一些相关的形态学研究,来初步探讨模拟失重对小鼠视网膜的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 健康雄性 2 月龄清洁级 C57BL/6J 小鼠 36 只,体质量 $23 \pm 3g$,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(苏)2016-0003。小鼠饲养于 12h 明/12h 暗交替环境中,实验动物饲养及操作,均在温州医科大学眼视光学院动物实验中心进行。小鼠的喂养和使用,符合浙江省实验动物管理的有关规定和条例。10% 荧光素钠注射液购自美国爱尔康公司;小鼠源抗 Rhodopsin 抗体(一抗)购自美国 Millipore 公司,兔源抗红/绿视锥细胞视蛋白(Opsin)抗体(一抗)、兔源抗蓝视锥细胞 Opsin 抗体(一抗)和 Cy3 标记的山羊抗兔 IgG(二抗)均购自德国 Merck Millipore 公司, Alexa Fluor 488 标记的山羊抗小鼠 IgG(二抗)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Roche 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制备和分组 按随机原则,将动物分为

3 个实验组和 3 个相应的对照组,最终每组 6 只小鼠。实验组参照 Morey-Holton 大鼠尾部悬吊法^[8],稍加改进,使之更适合建立小鼠模拟失重模型。实验动物单笼饲养,尾部悬吊于笼顶,后肢自然悬空不受力,躯干长轴与笼底水平约呈 30°角。前肢可正常抓地,小鼠能在笼底一定范围自由活动,但始终保持头低位,造成腹部和后肢的体液头向重分布。期间,动物能顺利进食和饮水。对照组小鼠也单笼饲养,尾部装置同实验组,但躯干长轴与笼底水平可呈 0°角。对照组小鼠的摄食量,与相应的实验组前 1d 的摄入量相同。具体分组如下:实验 1 组(尾悬 15d),实验 2 组(尾悬 30d),实验 3 组(悬吊 30d 后恢复体位 30d);对照 1 组(正常饲养 15d),对照 2 组(正常饲养 30d),对照 3 组(正常饲养 60d)。作为对照的 3 组小鼠不改变正常体位,分别饲养 15、30 和 60d,然后同样进行视网膜检测。

1.2.2 ERG 小鼠暗适应过夜后,用复方托吡卡胺眼药水充分散瞳。氯胺酮(72mg/kg)和赛拉嗪(4mg/kg)混合液腹腔注射,动物全身麻醉后在角膜缘放置环状细金丝电极,作为记录电极;双耳正中头皮下插入的针状电极作为参考电极,尾根部皮下插入的针状电极作为地电极。全视野球形刺激器(Ganzfeld Q450),标准白色闪光强度为 $3.0(\text{cd} \cdot \text{s})/\text{m}^2$,诱导暗适应 ERG。记录混合反应时,通频带设为 0.2~500Hz;记录 OPs 时,通频带设为 65~300Hz^[12],单次闪光刺激持续时间为 2ms,对相关反应波的幅值进行测量并分析。

1.2.3 荧光素眼底血管造影 应用小动物视网膜影像系统(Micron IV),对小鼠行荧光素眼底血管造影(fluorescein fundus angiography, FFA)检查。小鼠全身麻醉后置于专用的小动物台上,使用人工泪液防止角膜干燥及屈光间质混浊,被检眼充分散瞳。调整小鼠眼位,镜头向角膜缓慢推进,不断调焦直至眼底清晰可见,且视乳头基本居中。然后,动物腹腔注射荧光素钠(0.001mL/g)。蓝光照射下,循环至眼底血管的荧光素被激发发出黄绿色荧光,对视网膜微血管的循环情况进行拍照^[13]。

1.2.4 免疫组化检测感光细胞视色素或视蛋白的表达 取材、固定和脱水:小鼠处死后马上取眼球,在 1×PBS 中快速剪除角膜,将眼球即刻浸泡在 4% 多聚甲醛溶液中固定过夜(pH=7.4, 4℃),固定好的眼球在 30% 蔗糖中脱水 4h。冰冻切片制备:眼球标本在包埋剂中浸 2h, -80℃ 包埋然后冰冻切片,片厚 12μm,切片方向与视轴平行。贴片于载玻片,在室温下干燥 30min。免疫荧光染色:冰冻切片置于穿透液(0.3% Triton X-100)中 30min,增强细胞膜的通透性。常温下,在 5% 牛血清白蛋白(工作液)中封闭 1h。滴加一抗孵育过夜(4℃),常温下二抗孵育 2h(避光)。用到的一抗有小鼠源抗 Rhodopsin 抗体(1:300)、兔源抗两种视锥细胞 Opsin 抗体(1:400),合适的二抗有山羊抗小鼠 IgG(1:400)和山羊抗兔 IgG-Cy3(1:1000)。1×PBS 清洗,滴加 DAPI 染细胞核,免疫荧光显微镜(Zeiss)检查。

1.2.5 视网膜组织细胞凋亡检测 TUNEL(TdT-mediated dUTP nick end labeling)细胞凋亡试剂盒是用来检测组织细胞在凋亡早期过程中细胞核 DNA 的断裂情况^[14]。小鼠视网膜冰冻切片在 0.2% 的 Triton X-100 中处理,然后浸洗干净。将 50μL 的 TdT 和 450μL 荧光素标记的 dUTP 液混匀,制备成 TUNEL 反应混合液。TUNEL 技术常常造成假阴性或假阳性,因此有阳性对照和阴性对照可更准确

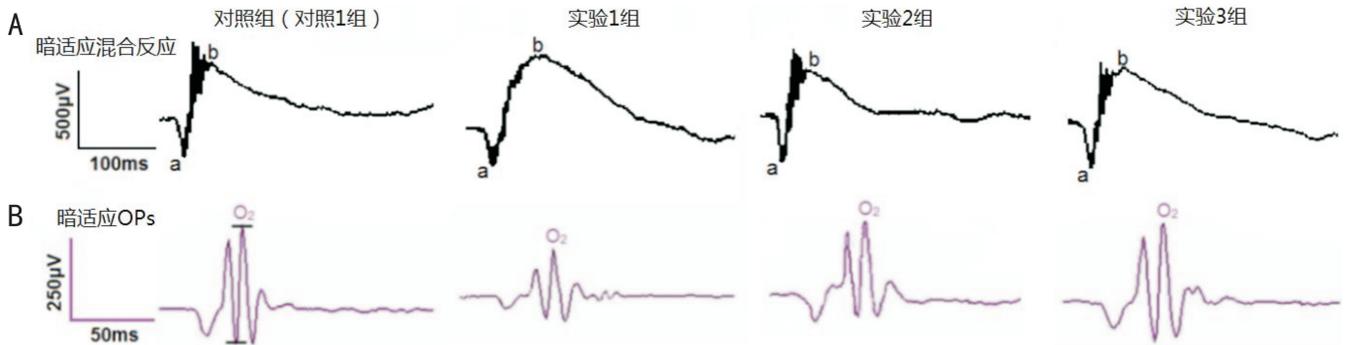


图1 模拟失重组和对照组小鼠暗适应闪光 ERG A:混合反应;B:OPs。

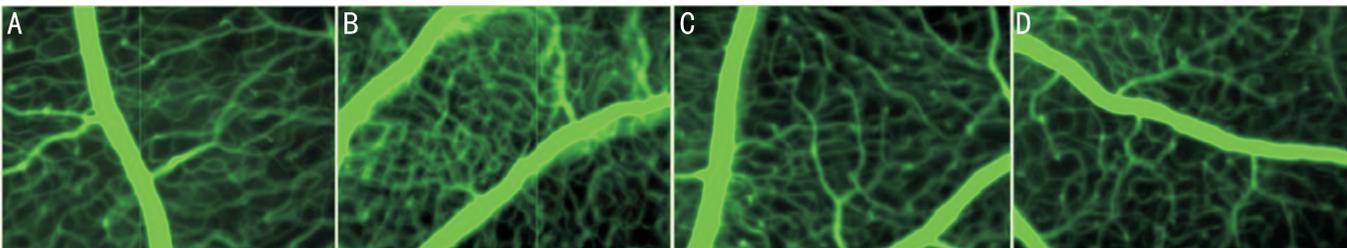


图2 模拟失重组和对照组小鼠 FFA 图 荧光素注射后 5min 进行拍照,在距离视乳头 3PD 的区域,比较各组视网膜的微循环状态。实验 1 组视网膜微血管网,较其他组更加密集,呈迂曲、扩张的表现。A:对照 1 组;B:实验 1 组;C:实验 2 组;D:实验 3 组。

表 1 模拟失重组和对照组小鼠暗适应闪光 ERG 的 b 波和 O₂波幅值比较 ($\bar{x} \pm s, \mu V$)

组别	实验/对照 1 组		实验/对照 2 组		实验/对照 3 组	
	b 波	O ₂ 波	b 波	O ₂ 波	b 波	O ₂ 波
对照组	593±50	336±47	550±44	308±41	648±76	325±38
实验组	698±74	197±33	587±51	264±39	628±63	346±40

地对结果进行分析。阳性对照先加 100 μ L 的 DNase I 液,反应控制在 15 $^{\circ}$ C ~ 25 $^{\circ}$ C,持续时间为 10min,然后再加 50 μ L 的反应混合液;阴性对照仅加 50 μ L 荧光素标记的 dUTP 液。本实验悬吊组和相应的对照视网膜标本,直接加 50 μ L 的反应混合液;切片在暗湿盒中反应 1h (37 $^{\circ}$ C),漂洗干净后盖上盖玻片,在荧光显微镜(激发光的波长为 488nm)下观察。

统计学分析:采用统计学软件 SPSS17.0 分析数据,所有定量资料均满足正态分布,以均数 \pm 标准差表示。悬吊组与相应天数的对照组之间,数据比较采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模拟失重对小鼠 ERG 的影响 闪光 ERG 的混合反应和 OPs,都是在 3.0 (cd · s)/m² 的强光刺激下,由视网膜产生的生物电信号。混合反应 b 波幅值,实验 1 组较对照 1 组升高,且差异有统计学意义 ($t = 2.860, P < 0.05$, 图 1A, 表 1)。实验 2、3 组的 b 波幅值,与对照 2、3 组相比,差异均无统计学意义 ($t = 1.350, -0.487$, 均 $P > 0.05$, 表 1)。同混合反应不同,OPs 是在较窄通频带(本实验设为 65~300Hz)条件下记录到的一组节律性小波,后者不受 b 波影响。小鼠 OPs 一般含有 3~6 个子波,各子波间隔时间约为 10ms,其中第二子波(O₂)相对比较稳定。实验 1 组 O₂ 幅值为 197 \pm 33 μ V,对照 1 组 O₂ 的幅值为 336 \pm 47 μ V,两者差异有统计学意义 ($t = -5.938, P < 0.001$, 图 1B, 表 1)。实验 2、3 组的 O₂ 幅值,与对照 2、3 组比较,差异均无统计学意义 ($t = -1.887, 1.023$, 均 $P > 0.05$, 表 1)。

2.2 模拟失重对小鼠视网膜血液循环的影响 10% 荧光

素钠在 1s 内被快速注射完毕,然后开始计时。注射后 3~5s,视乳头及视网膜动脉开始显影,然后各级血管相继快速充盈;至 5min 时,视网膜毛细血管已充盈;5min 后脉络膜的背景荧光开始逐渐变亮。在荧光素注射后 5min 时,对距离视乳头相同距离的后极部视网膜,进行观察并比较微循环状态。结果显示,实验 1 组视网膜微血管网较其他组更加密集,呈迂曲扩张的表现,而视网膜大血管管径、走行未见明显异常(图 2B)。实验 2、3 组,微循环均未显示明显异常,与相应的对照组没有区别(图 2C、D)。

2.3 各组感光细胞视色素或视蛋白的表达以及 TUNEL 染色情况 模拟失重的实验组中,感光细胞视色素或视蛋白的表达未见明显异常(图 3)。在此基础上,我们还进行 TUNEL 细胞凋亡检测,观察模拟失重是否造成视网膜中内层神经细胞的损伤。根据特殊的荧光素标记,TUNEL 试剂盒能准确地定位正在凋亡的组织细胞。本实验结果显示,模拟失重的 3 个悬吊组小鼠,视网膜各层组织细胞均未见明显的凋亡(图 4),与相应的对照组没有区别。

3 讨论

太空失重状态与人类生存的地球环境完全不同,失重对已适应地球重力作用的哺乳动物的影响,已成为空间生命科学研究的热点之一。国际公认的在地面模拟失重效应(体液头向重分布)的方法,包括适用于人^[15]和猕猴的头低位卧床实验^[16],以及适用于小型啮齿类动物的尾悬吊实验^[9]。以小鼠为例,体位改变后身体躯干与水平面的夹角越大,腹部和后肢体液发生头向转移的量越多。但夹角过大时,正常的进食进水会受到严重影响,将导致动物体质量锐减,存活期普遍很短($\leq 1wk$),造模反而不能成功。

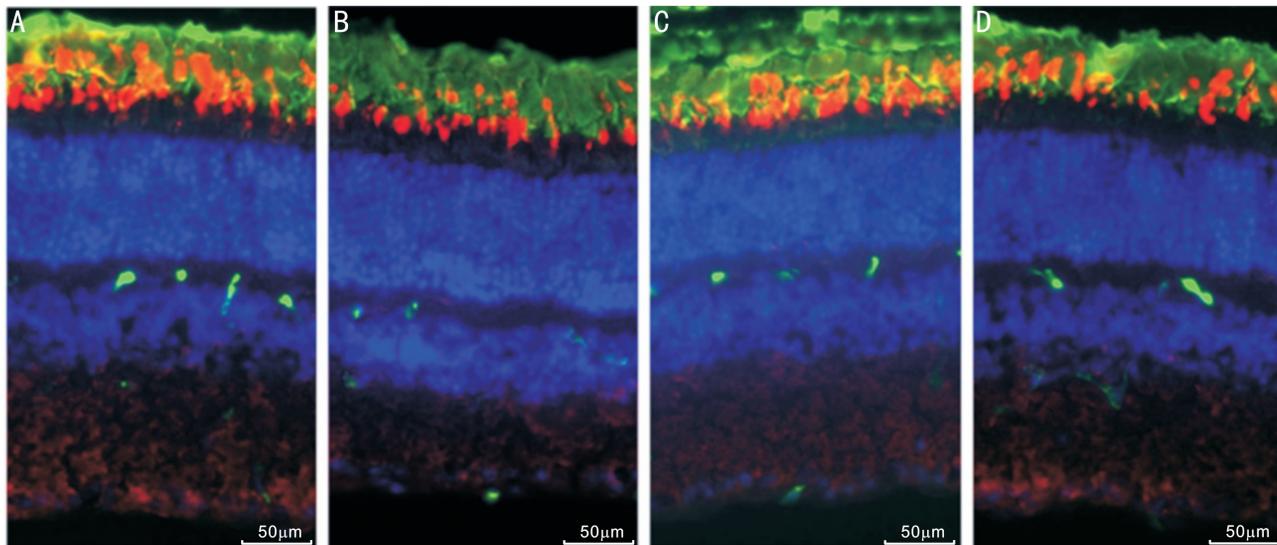


图3 模拟失重组和对照组小鼠视网膜感光细胞视色素或视蛋白的表达(免疫荧光染色×200) 视杆细胞感光色素(Rhodopsin)染成绿色,视锥细胞视蛋白(Opsin)染成红色,细胞核染成蓝色。A:对照1组;B:实验1组;C:实验2组;D:实验3组。

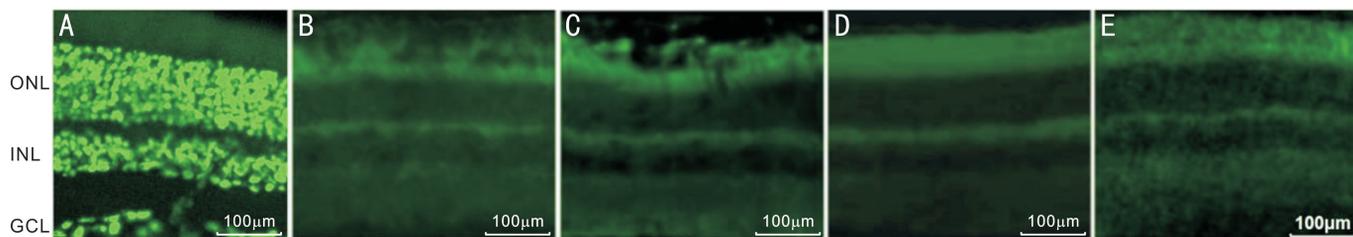


图4 模拟失重组和对照组小鼠视网膜组织细胞凋亡检测(TUNEL染色×200) 凋亡细胞中断裂DNA会结合特异性的基因,并产生显色反应。A:阳性对照;B:对照1组;C:实验1组;D:实验2组;E:实验3组。ONL:外核层;INL:内核层;GCL:神经节细胞层。

当身体躯干与水平面的夹角减至 30° 时^[9],动物正常的进食和饮水量基本不受影响,除造模容易成功外,实验的干扰因素也最少。

哺乳动物的外层视网膜组织,基本上都含有两种感光细胞,分别为视杆和视锥细胞。视杆细胞感光色素(Rhodopsin)和视锥细胞特异性 Opsin 的表达情况,与视网膜的生理功能和 ERG 结果密切相关。闪光 ERG 能够客观、敏感地反映全视网膜的整体功能。ERG 混合反应的 b 波上升支,通常有一组规律的振荡小波(OPs),后者被认为起源于视网膜中内层神经网络的抑制性反馈回路^[10-11]。我们以小鼠作为研究对象,动物改变体位后短期内 OPs 幅值下降。OPs 幅值的变化同 b 波不一致,提示前者可能是模拟失重状态下,体液重新分布所导致的特异性改变。从 ERG 混合反应以及感光细胞视色素或视蛋白的表达情况分析,视网膜外层的神经细胞(光感受器)并未受到较大的影响。模拟失重状态下体液重新分布,可能主要影响视网膜中内层的功能。本研究发现,视网膜 OPs 的变化规律,可以用来验证动物造模是否成功。

根据本研究中几个时间点的 ERG 数据,我们发现视网膜功能变化呈如下趋势:(1)模拟失重短期内(尾悬 15d),视网膜中内层呈现功能下降,小鼠 OPs 幅值约为正常水平的 60%。(2)模拟失重时间延长(尾悬 30d),可能随着动物自身调节机制的启动,视网膜相关功能又出现回升,此时 OPs 幅值达到正常水平的 85%左右。(3)尾悬 30d 小鼠恢复正常体位 1mo 后,视网膜中内层功能基本上能完全恢复至正常水平。除了小鼠之外,人体在地面模拟失重的实验,也发现 OPs 在一定范围内发生波动^[17]。

临床上发现,OPs 对视网膜中内层的血液循环状态比较敏感。比如糖尿病视网膜病变和视网膜静脉阻塞的早期,由于视网膜循环发生阻滞和静脉淤血,OPs 幅值可显著降低^[10-11]。本研究中小鼠尾悬 15d 发生 OPs 异常,进一步行 FFA 检测,也发现该时间点视网膜微血管呈迂曲、扩张的特点。以上可能与小鼠腹部及后肢的血液大量回流到头部,导致暂时的视网膜微循环异常有关。人体头低足高位卧床,模拟失重状态下血液重新分配,短期内也会造成头面部供血增加,同时引起眼部血液循环改变,这种改变对视功能可能造成影响^[7]。

小鼠尾悬 30d 组,动物机体可能已经对模拟失重(体液头向重分布)状态产生适应,此时视网膜微循环和神经生物电反应出现恢复。人体模拟失重早期,视网膜在表现为功能的下降后;随着自身调节机制的启动,视网膜功能也会出现反应性升高,甚至超出正常水平;随着不断地自身调节,最终也能恢复到正常水平^[17]。小鼠模拟失重短期内,形态学上除了视网膜微循环发生暂时性改变外,TUNEL 染色未见视网膜组织细胞的结构性损伤。

从航天员经历过的短、中期在轨飞行情况来看^[7],失重对眼球的影响并不大且基本上能完全恢复。这与本研究中,动物实验的一些形态和功能检查结果基本一致。随着悬吊时间延长,视网膜微循环的异常状态发生改善,提示动物机体可能存在某种神经血管的调节机制。然而航天员长期在太空工作和生活后,视网膜及其功能出现紊乱,除了失重状态下全身体液重新分布外,可能也和其他因素有关,如宇宙辐射,航天器内空气组成和湿度异常,特殊航空食谱,以及航天员生物节律异常等^[18-19]。

小鼠尾悬短期内 ERG-OPs 异常,可能与视网膜中内

层的微循环状态改变有关。相关的视觉电生理检测,不仅可以用来验证动物液体头向重分布的造模是否成功外;将来还可能适用于失重状态下,对宇航员的视网膜功能进行无创性监测。

参考文献

- 1 Norsk P, Asmar A, Damgaard M, *et al.* Fluid shifts, vasodilatation and ambulatory blood pressure reduction during long duration spaceflight. *J Physiol* 2015;593(3):573-584
- 2 Alperin N, Bageci AM. Spaceflight - Induced Visual Impairment and Globe Deformations in Astronauts Are Linked to Orbital Cerebrospinal Fluid Volume Increase. *Acta Neurochir Suppl* 2018;126:215-219
- 3 Lee AG, Tarver WJ, Mader TH, *et al.* Neuro-Ophthalmology of Space Flight. *J Neuro Ophthalmol* 2016;36(1):85-91
- 4 Van Ombergen A, Demertzi A, Tomilovskaya E, *et al.* The effect of spaceflight and microgravity on the human brain. *J Neurol* 2017;264 (Suppl 1):18-22
- 5 Arbeille P, Provost R, Zuj K, *et al.* Measurements of jugular, portal, femoral, and calf vein cross-sectional area for the assessment of venous blood redistribution with long durationspaceflight (Vessel Imaging Experiment). *Eur J Appl Physiol* 2015;115(10):2099-2106
- 6 Taylor CR, Hanna M, Behnke BJ, *et al.* Spaceflight - induced alterations in cerebral artery vasoconstrictor, mechanical, and structural properties; implications for elevated cerebral perfusion and intracranial pressure. *FASEB J* 2013;27(6):2282-2292
- 7 Nelson ES, Mulugeta L, Myers JG. Microgravity-induced fluid shift and ophthalmic changes. *Life (Basel)* 2014;4(4):621-665
- 8 Marzuca-Nassr GN, Vitzel KF, De Sousa LG, *et al.* Effects of high EPA and high DHA fish oils on changes in signaling associated with protein metabolism induced byhindlimb suspensionin rats. *Physiol Rep* 2016;4(18):e12958
- 9 Kamiya H, Sasaki S, Ikeuchi T, *et al.* Effect of simulated microgravity

- on testosterone and sperm motility inmice. *J Androl* 2003;24(6):885-890
- 10 Yang X, Xu J, Liu J, *et al.* Acetastrogadin effects on retina oscillatory potentials in patients during the early stages of diabetes. *Acta Diabetol* 2017;54(1):73-79
- 11 Tan B, Maclellan B, Mason E, *et al.* Structural, functional and blood perfusion changes in the ratretina associated with elevated intraocular pressure, measured simultaneously with a combined OCT+ERG system. *PLoS One* 2018;13(3):e0193592
- 12 Lei B, Yao G, Zhang K, *et al.* Study of rod - and con - driven oscillatory potentials in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(6):2732-2738
- 13 Ehrenberg M, Ehrenberg S, Schwob O, *et al.* Murin fundus fluorescein angiography: An alternative approach using a handheld camera. *Exp Eye Res* 2016;148:74-78
- 14 Shibagaki K, Okamoto K, Katsuta O, *et al.* Beneficial protective effect of pramipexole on light-induced retinal damage inmice. *Exp Eye Res* 2015;139:64-72
- 15 Koy T, Ganse B, Zange J, *et al.* T2 - relaxation time increases in lumbar intervertebral discs after 21d head - down tiltbed - rest. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2017;17(3):140-145
- 16 罗维, 张鹏, 李文炯, 等. 红益胶囊对猕猴 28 天头低位卧床肌萎缩的保护作用. *航天医学与医学工程* 2013;26(6):455-458
- 17 赵军, 胡莲娜, 李志生, 等. 头低位卧床对健康人视网膜电图的影响. *眼科研究* 2010;28(2):172-174
- 18 Mader TH, Gibson CR, Miller NR, *et al.* An overview of spaceflight-associated neuro - ocular syndrome (SANS). *Neurol India* 2019; 67 (Supplement):S206-S211
- 19 Marshall - Goebel K, Terlević R, Gerlach DA, *et al.* Lower body negative pressure reduces optic nerve sheath diameter during head-down tilt. *J Appl Physiol* (1985) 2017;123(5):1139-1144