

# 不同固定方法对豚鼠眼球后极部的固定效果比较

张秀艳<sup>1,2,3</sup>, 尹贻雪<sup>2,3</sup>, 宋继科<sup>1</sup>, 毕宏生<sup>2,3</sup>

引用:张秀艳,尹贻雪,宋继科,等. 不同固定方法对豚鼠眼球后极部的固定效果比较. 国际眼科杂志, 2024,24(8):1207-1212.

基金项目:山东省重点研发计划项目(No. 2021LCZX09);山东省自然科学基金项目(No.ZR2021LZY045);山东省中医药科技项目(No.2021Q096,Q-2023015);山东省医药卫生科技发展计划(No.202207020876)

作者单位:<sup>1</sup>(250014)中国山东省济南市,山东中医药大学;  
<sup>2</sup>(250002)中国山东省济南市,山东中医药大学附属眼科医院;  
<sup>3</sup>(250002)中国山东省济南市,山东省中西医结合眼病防治重点实验室 山东省高校中西医结合眼病防治技术(强化)重点实验室 山东省眼病防治研究院

作者简介:张秀艳,山东中医药大学 2023 级博士研究生,研究方向:屈光不正与白内障。

通讯作者:毕宏生,博士,主任医师,研究方向:屈光不正与白内障. hongshengbi1@163.com

收稿日期:2023-12-18 修回日期:2024-06-21

## 摘要

目的:为解决豚鼠眼球组织切片制备过程中所存在的视网膜脱片问题,采用不同固定方法,优化固定效果。

方法:2周龄正常豚鼠(75只)随机分为5个大组(A-E组),15个小组,每小组5只。A组(1-3小组)眼球分别置于FAS、Davidson固定液1(D1)和Davidson固定液2(D2)中固定24h;B组(4-6小组)眼球在固定液中固定1h后剪切角膜,再固定2h;C组(7-9小组)眼球在固定液中固定1h后沿视神经方向将眼球分为左右两半,再固定2h;D组(10-12小组)眼球在固定液中固定3h后将眼球分为左右两半;E组(13-15小组)眼球在固定液中固定3h后剪切角膜。经苏木精-伊红(HE)染色比较各个小组眼球后极部固定效果。

结果:形态观察表明1-6小组、11-15小组眼球表面光滑圆润,色泽透明,7-10小组眼球凹陷皱缩变形。HE染色表明大部分组别眼球后极部组织切片卷曲缠绕,视网膜脱离;1、5、6、14、15小组切片结构规整,其中14小组形态最佳,视网膜、脉络膜、巩膜连接紧密,组织结构清晰,细胞排列规整。

结论:采用D1固定液固定3h后剪切角膜的固定效果最为理想,适用于豚鼠眼球后极部相关组织研究。

关键词:豚鼠;眼球后极部;固定液;病理解剖;HE染色

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2024.8.05

## Comparison of effects of different fixation methods on the posterior pole of guinea pig eyeballs

Zhang Xiuyan<sup>1,2,3</sup>, Yin Yixue<sup>2,3</sup>, Song Jike<sup>1</sup>, Bi Hongsheng<sup>2,3</sup>

Foundation items: Key Research and Development Plan of Shandong Province (No. 2021LCZX09); Shandong Provincial

Natural Science Foundation Project (No. ZR2021LZY045); Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project of Shandong province (No. 2021Q096, Q-2023015); Shandong Province Medicine and Health Science and Technology Development Plan Project (No.202207020876)

<sup>1</sup>Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong Province, China; <sup>2</sup>Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China; <sup>3</sup>Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases in Universities of Shandong; Shandong Academy of Eye Disease Prevention and Therapy, Jinan 250002, Shandong Province, China

Correspondence to: Bi Hongsheng. Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China; Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases in Universities of Shandong; Shandong Academy of Eye Disease Prevention and Therapy, Jinan 250002, Shandong Province, China. hongshengbi1@163.com

Received:2023-12-18 Accepted:2024-06-21

## Abstract

• AIM: To avoid the problem of retinal dissection in guinea pig large eyeball tissue sections, different methods were used to optimize the fixation effect of the posterior pole of the eyeball.

• METHODS: A total of 75 normal guinea pigs (2 weeks old) were randomly divided into 5 large groups. Group A (1-3 small groups), the entire eyeball was fixed with FAS, Davidson fixative 1 (D1), and Davidson fixative 2 (D2) for 24 h; group B (4-6 small groups), the entire eyeball was fixed with FAS, D1, and D2 for 1 h, then cut the cornea and fix it in their respective fixatives for 2 h; group C (7-9 small groups), the eyeball was fixed in FAS, D1, and D2 for 1 h, divided into left and right halves along the direction of the optic nerve, and then placed them in their respective fixation solutions for 2 h; group D (10-12 small groups), after fixation for 3 h in FAS, D1, and D2, the eyeball was divided into left and right halves along the optic nerve direction; group E (13-15 small groups), the cornea was cut after fixation for 3 h in FAS, D1, and D2. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to compare the fixation effect on posterior eyeball in each group.

• RESULTS: After fixation, the surface of the eyeballs in groups, 1-6 and 11-15 was smooth and round, with a

transparent and bright color. In groups 7-10, the eyeballs were sunken, wrinkled, and deformed. The HE staining showed that the eyeball morphology of groups 1, 5, 6, 14, and 15 was significantly better than the other groups, with a regular internal tissue structure. The eyeballs of the other groups were sunken and wrinkled, and the internal tissue was curled and tangled, with severe retinal detachment. In groups 1, 5, 6, 14, and 15, the retina, choroid, and sclera tissues of group 14 were closely connected, without obvious retinal detachment, rupture, or curling. The tissue structure was clear and visible, and the cells were arranged neatly.

• **CONCLUSION:** The fixation effect of cutting the cornea after fixing guinea pig eyeball with D1 fixative for 3 h is the most ideal, and this operation method is simple and suitable for studying the related structures of the posterior pole of the eye.

• **KEYWORDS:** guinea pigs; eyeball posterior; fix solution; pathological anatomy; hematoxylin - eosin staining

**Citation:** Zhang XY, Yin YX, Song JK, et al. Comparison of effects of different fixation methods on the posterior pole of guinea pig eyeballs. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2024, 24 (8): 1207-1212.

## 0 引言

近视是世界范围内视力受损的主要原因之一<sup>[1]</sup>,近年来已成为世界范围内重要的公共卫生问题<sup>[2]</sup>。豚鼠的眼球结构及发育过程与人类十分相似,是近视实验研究的常用模型,然而由于其眼球各层组织结构不同、密度相差较大,加上豚鼠眼球较大,在病理切片制备过程中极易出现眼球变形、组织结构紊乱、视网膜脱离、断裂卷曲等现象,严重影响实验研究。相关研究表明眼球的生长主要受到视网膜-脉络膜-巩膜级联反应的调节,异常视觉信号在视网膜、脉络膜和巩膜中的逐层传递在近视的发生发展中扮演重要角色<sup>[3-6]</sup>,因而制备高质量眼球组织切片对于评估视网膜-脉络膜-巩膜在近视发生发展中的作用机制至关重要。目前有关豚鼠眼球病理切片固定方法的研究较少,已知常用的4%多聚甲醛和Bouin固定液的固定效果均不理想,造成豚鼠眼球收缩变形、视网膜严重脱离,难以观察其形态特征。另有研究发现Davidson固定液对豚鼠眼球的固定效果较好<sup>[7-8]</sup>。固定液是影响病理切片质量的关键因素,除了固定液,固定时间、解剖方式也影响着眼球的固定效果。在固定时间的选择上,有的需过夜固定,也有研究表明3 h的固定时间最佳<sup>[7]</sup>;解剖方式的选择上除了全眼球固定,也有研究表明去除角膜固定的方式较理想<sup>[8]</sup>,另有研究发现将眼球分为左右两半的固定效果最佳<sup>[9]</sup>。然而到目前为止尚未出现一种能够制备高质量豚鼠眼球后极部切片的固定方法,本研究结合前期相关研究,选取3种固定液并结合不同的固定时间及解剖方式,行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色,在光学显微镜下观察比较不同固定方法对豚鼠眼球后极部的固定效果,以期寻找一种制备高质量眼球切片的固定方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物及分组** 2周龄英国三色豚鼠80只(济南金丰实验动物有限公司),体质量 $100\pm 10$  g,适应性饲养3 d,饲养温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右,12 h/12 h的昼夜规律,自由饮食,入组前检查所有豚鼠的眼前节,排除白内障、角膜炎、近视等眼部疾病(5只)。动物操作规范符合山东中医药大学动物伦理委员会标准。将75只豚鼠随机分为5个大组(A-E组),每个大组再分为3个小组(共15个小组,1-15小组),每小组5只。A组(1-3小组):整个眼球分别放入FAS固定液、Davidson固定液1(D1)和Davidson固定液2(D2),固定时间为24 h。B组(4-6小组):分别在FAS、D1和D2中固定1 h后,剪切角膜,去除内容物,再置于各自固定液中继续固定2 h。C组(7-9小组):分别在FAS、D1和D2中固定1 h后,沿视神经方向将眼球分为左右两半,再置于各自固定液中继续固定2 h。D组(10-12小组):分别在FAS、D1和D2中固定3 h后,沿视神经方向将眼球分为左右两半。E组(13-15小组):分别在FAS、D1和D2中固定3 h后剪切角膜,去除内容物。本研究分组情况见表1。

**1.1.2 主要仪器和试剂** 主要仪器:眼科手术器械(苏州明仁医疗器械厂)、光学显微镜(日本尼康)、脱水机(意大利DIAPATH公司)、包埋机(武汉俊杰电子有限公司)、切片机(德国徕卡)、摊片机(浙江金华科迪设备有限公司)、烘箱(天津莱玻瑞仪器设备有限公司)。主要试剂:FAS固定液(G1109-100mL)、40%甲醛、95%乙醇、冰乙酸(均购自天津市富宇精细化工有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 固定液配比** D1固定液:40%甲醛20 mL,95%乙醇30 mL,冰乙酸10 mL,三蒸水30 mL混合(2:3:1:3);D2固定液:40%甲醛20 mL,95%乙醇30 mL,冰乙酸20 mL,三蒸水20 mL混合(2:3:2:2)<sup>[10]</sup>。

**1.2.2 取材与固定** 过量戊巴比妥腹腔注射麻醉处死豚鼠后立即用眼科镊取出眼球,0.9%生理盐水冲洗眼球表面的血液,保留视神经,去除结膜、眼外肌等组织,按分组方法置于不同固定液中(体积比为1:10)固定。

**1.2.3 组织包埋和切片及染色** 各组标本固定完毕后经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,浸蜡包埋后切片,厚度 $5\text{ }\mu\text{m}$ ,经HE染色、中性树脂封片,置于光学显微镜下观察和拍照。

## 2 结果

**2.1 形态观察** 固定完毕后,1-6小组、11-15小组豚鼠眼球形态饱满,色泽亮白透明,未见明显变形,基本保持其原有形态,而7-10小组豚鼠眼球皱缩凹陷,变形严重,切口处视网膜多出现卷曲皱褶(图1)。

表1 实验动物分组

固定液	A组	B组	C组	D组	E组
FAS	1小组	4小组	7小组	10小组	13小组
D1	2小组	5小组	8小组	11小组	14小组
D2	3小组	6小组	9小组	12小组	15小组

注:A组为全眼球固定;B组为眼球固定1 h后剪切角膜再固定2 h;C组为眼球固定1 h后分成左右两半再固定2 h;D组为眼球固定3 h后分成左右两半;E组为眼球固定3 h后剪切角膜。D1:Davidson固定液1;D2:Davidson固定液2。

**2.2 HE 染色情况** 各小组豚鼠眼球组织切片 HE 染色结果比较见表 2。各小组豚鼠眼球视网膜、脉络膜和巩膜染色鲜明均匀,细胞核清晰可见。A 组(1-3 小组)眼球内部组织结构完整(图 2),其中 1 小组大部分视网膜脱离,脉络膜和巩膜连接紧密;2、3 小组巩膜发生严重卷曲,视网膜与脉络膜大部分连接紧密,少部分有脱离(图 3)。B 组(4-6 小组)眼球内部组织结构完整,其中 4 小组眼球轻微变形,视网膜脱离明显;5 小组眼球轻微变形,大部分视网膜与脉络膜、巩膜连接紧密,后极部视网膜小部分脱离,巩膜轻微卷曲;6 小组眼球形态规整,大部分视网膜与脉络膜、巩

膜连接紧密,后极部视网膜轻微卷曲(图 2、3)。C 组(7-9 小组)视网膜脱离、卷曲、变形,且脉络膜和巩膜明显脱离(图 2、3)。D 组(10-12 小组)中 10 小组眼球被严重拉长变形,视网膜组织断裂,缺失并脱离,同时脉络膜和巩膜脱离明显;11 小组眼球内部组织连续性被打断(图 2 黑色箭头),视网膜卷曲断裂,明显脱离;12 小组眼球组织排列规整,后极部视网膜少部分脱离,巩膜轻微皱褶(图 2、3)。E 组(13-15 小组)中 13 小组眼球严重变形,脉络膜和巩膜明显卷曲,视网膜断裂并完全脱离;14 小组眼球组织结构排列规整,视网膜、脉络膜和巩膜结构清晰、连接紧密,

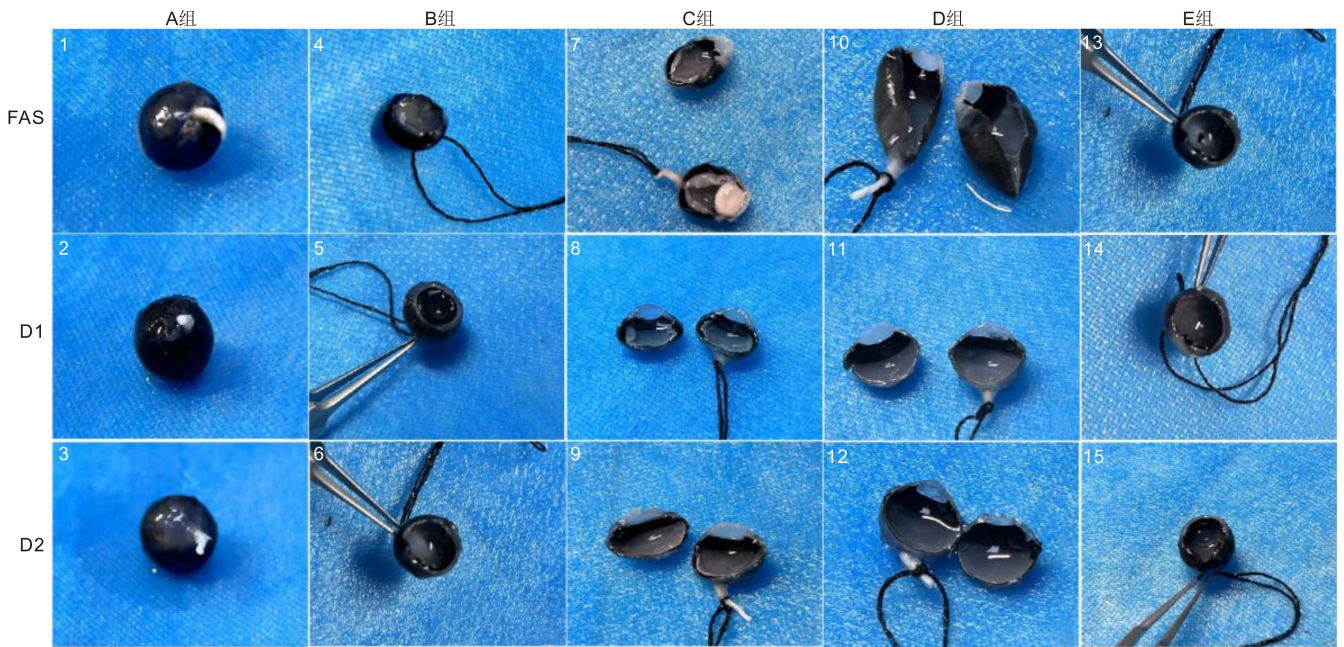


图 1 各组豚鼠眼球固定完毕后形态观察 A 组(1-3):全眼球固定;B 组(4-6):固定 1 h 后剪切角膜再固定 2 h;C 组(7-9):固定 1 h 后分成左右两半再固定 2 h;D 组(10-12):固定 3 h 后分成左右两半;E 组(13-15):固定 3 h 后剪切角膜。D1:Davidson 固定液 1;D2:Davidson 固定液 2。

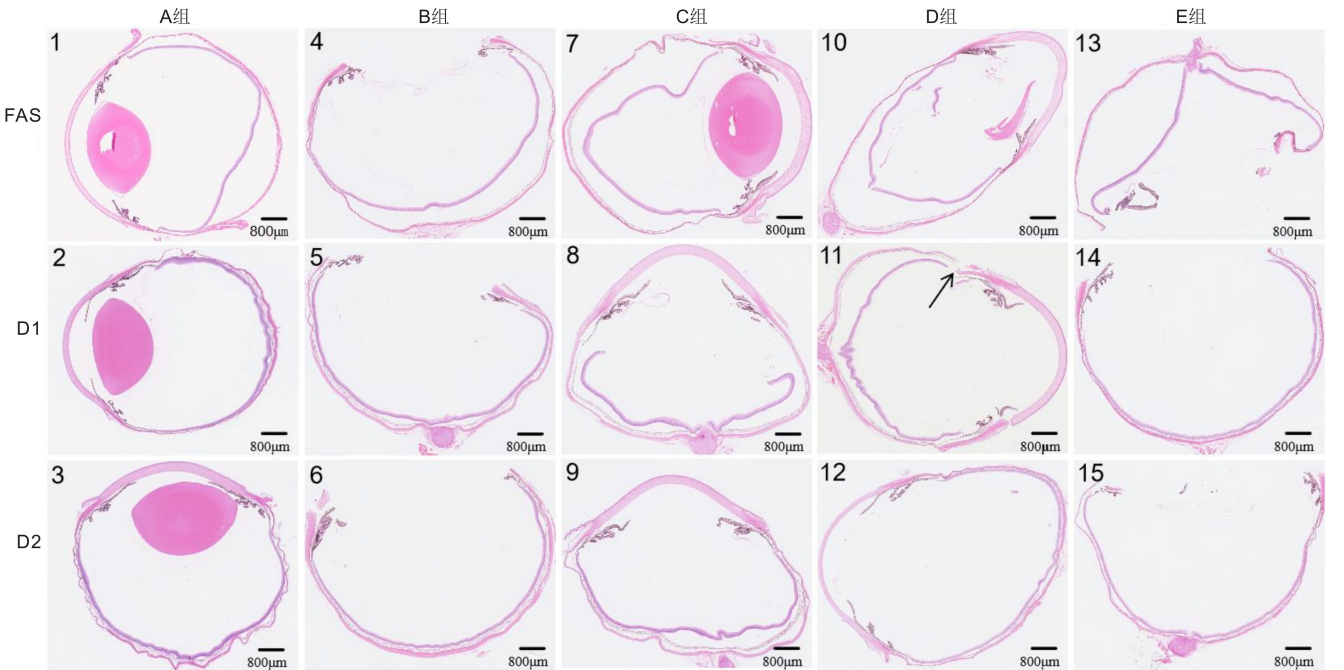


图 2 各组豚鼠眼球 HE 染色情况 A 组(1-3):全眼球固定;B 组(4-6):眼球固定 1 h 后剪切角膜再固定 2 h;C 组(7-9):眼球固定 1 h 后分成左右两半再固定 2 h;D 组(10-12):眼球固定 3 h 后分成左右两半,黑色箭头示眼球内部组织连续性被打断;E 组(13-15):眼球固定 3 h 后剪切角膜。D1:Davidson 固定液 1;D2:Davidson 固定液 2。

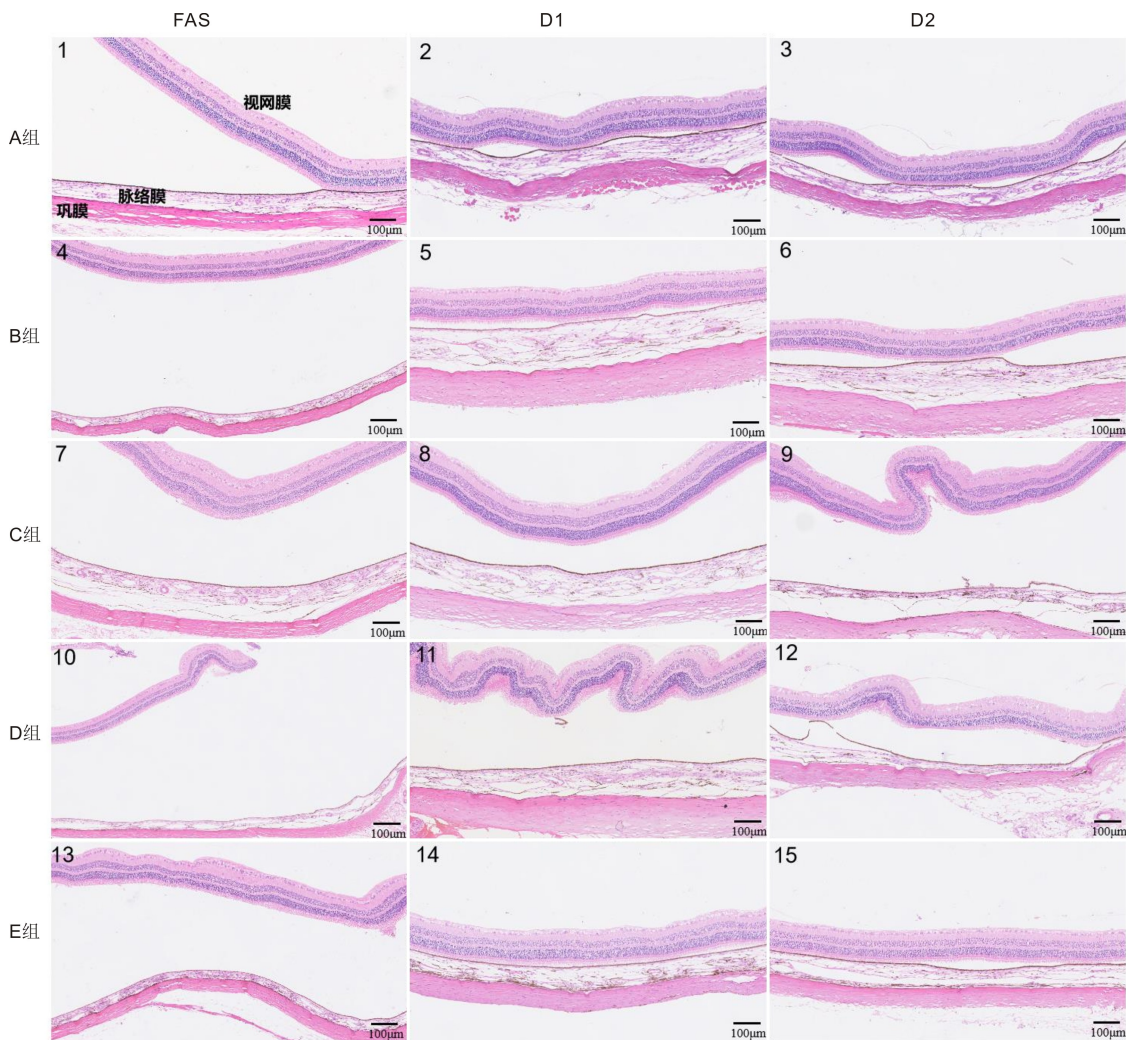


图3 各组豚鼠眼球后极部 HE 染色图情况 A 组(1-3):全眼球固定;B 组(4-6):眼球固定 1 h 后剪切角膜再固定 2 h;C 组(7-9):眼球固定 1 h 后分成左右两半再固定 2 h;D 组(10-12):眼球固定 3 h 后分成左右两半;E 组(13-15):眼球固定 3 h 后剪切角膜。D1:Davidson 固定液 1;D2:Davidson 固定液 2。

表 2 各小组豚鼠眼球后极部 HE 染色结果比较

组别	视网膜完全脱离	视网膜部分脱离	视网膜未脱离
1	1	4	0
2	0	5	0
3	0	5	0
4	4	1	0
5	0	3	2
6	0	4	1
7	5	0	0
8	5	0	0
9	4	1	0
10	5	0	0
11	5	0	0
12	3	2	0
13	5	0	0
14	0	1	4
15	0	2	3

无明显视网膜脱离、卷曲及断裂现象;15 小组视网膜完整,大部分视网膜与脉络膜、巩膜连接紧密,小部分视网膜由于脉络膜、巩膜组织卷曲而发生脱离(图 2、3)。

### 3 讨论

近视作为一种常见的眼科疾病,其中以高度近视作为最常见的致盲性眼病之一。豚鼠是最常用的近视模型,其眼球组织病理切片在近视实验研究中具有重要的作用。近视发生机制之一“视网膜局部调控学说”认为视网膜感知外界环境,作用于视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)-脉络膜,从而启动 RPE-脉络膜-巩膜信号转导通路,导致巩膜细胞外基质主动重塑,眼轴增长,进而引发近视<sup>[3,5,11]</sup>。在研究视网膜信号级联反应这一过程中维持眼球后极部紧密相连的原始形态,对近视机制研究具有重要意义。

标本的固定是组织切片制备的关键环节,固定方法(固定液、解剖方式和固定时间等)是影响组织切片质量的关键因素。根据以往的研究,本研究对豚鼠眼球进行解剖,分别为延视神经轴方向将眼球分为左右两个半球<sup>[9]</sup>以及剪切角膜保留眼球后极部<sup>[8,12]</sup>,相较于全眼固定,这两种解剖方式都能够使固定液有效均匀地渗入眼内,视网膜内外均等固定,有利于保持眼球原本形态。

传统的 4%多聚甲醛主要由甲醛和磷酸盐组成,是最常用的固定液之一,它能够快速渗入组织内部,保持组织

弹性和细胞形态,适用于绝大多数组织的固定,在眼科研究中也常用于大鼠和小鼠眼球固定<sup>[13-14]</sup>,然而该固定液对豚鼠眼球的固定效果并不理想,极易造成眼球收缩变形,视网膜脉络膜脱离,难以观察其形态结构<sup>[7]</sup>。另外,Bouin 固定液也是常用的固定液之一,主要由甲醛、冰醋酸和苦味酸组成。与 4% 多聚甲醛不同,Bouin 固定液中的苦味酸是一种渗透缓慢的固定液,它所固定的豚鼠眼球虽无明显变形,但视网膜脱离现象仍未解决<sup>[8]</sup>。此外,苦味酸具有强烈的刺激性和致敏性,与之接触的组织、细胞及研究人员的皮肤会出现黄染现象,在高热、受到撞击时也可能发生爆炸,存在安全隐患<sup>[15]</sup>。戊二醛是一种饱和直链二元醛,多用于消毒、灭菌<sup>[16]</sup>。戊二醛固定液在固定蛋白质的过程会伴随氢离子的释放,导致 pH 值降低,因而需在戊二醛固定剂中加入足量的缓冲液,以维持 pH 值<sup>[17]</sup>。此外,该固定液穿透力强,渗透速度慢,对微细结构的固定效果更佳,因而适合于免疫组化或电镜样本制作。

Davidson 固定液是一种快速固定液,广泛应用于睾丸、小肠、骨骼等组织的固定<sup>[18-20]</sup>,它能够避免组织溶解,维持组织及细胞的原本形态<sup>[21]</sup>。近年来研究发现,Davidson 对大鼠眼球的固定效果优于以往固定液<sup>[22]</sup>。Davidson 固定液配方很多,一种配方是由 40% 甲醛、95% 乙醇、冰乙酸、三蒸水依据比例配比而成,其比例为 2:3:1:3,也有研究采用体积配比为 2:3:2:2 的配方对豚鼠眼球固定也取得了较好的效果<sup>[7]</sup>。此外,商业专用眼球固定液(FAS)也是由甲醛、95% 乙醇、冰乙酸和三蒸水配制而成,但其具体配比不清。相较于 Bouin 固定液,Davidson 固定液用乙醇取代了有安全隐患的苦味酸,乙醇通常作为消毒剂使用,是一种较安全的溶剂,同时 Davidson 也不含汞和其他金属,安全隐患小。因此本研究同时选择了上述两种不同配比的 Davidson 和 FAS 眼球专用固定液,采用 HE 染色对所固定的眼球后极部组织进行比较。结果表明,D1 比 FAS、D2 固定液的固定效果好,D2 较 D1 固定液固定效果欠佳,这可能是由于 D2 固定液所含的冰乙酸含量高,易引起组织过度膨胀,而 D1 固定液中的甲醛和乙醇对组织细胞的微收缩和硬化作用,恰好抵消了低含量冰乙酸的组织膨胀作用<sup>[21]</sup>。

以往研究显示,选择 Davidson 固定液固定 24 h 或固定 3 h,亦或是在固定后选择去除角膜、虹膜、晶状体和玻璃体,或是将眼球分为左右两半,所得到的眼球外形饱满圆润,无明显凹陷,切片中视网膜各层结构排列规整,未见明显断裂,然而视网膜切片问题仍未解决。此外,上述研究仅针对固定时间或解剖方式进行探讨,为此本研究将固定时间与解剖方式相结合以寻求眼球后极部最佳固定效果,结果表明 D1 固定液固定 3 h 后剪切角膜,去掉晶状体所得到的固定效果最佳。豚鼠眼球饱满光滑,眼球后极部组织结构完整清晰,各层组织紧密相连,未见明显断裂、脱离,显著降低了豚鼠眼球在组织病理中存在的大面积视网膜脱离的发生率,效果优于其他固定方法。分析该固定效果最佳的原因可能是:(1)眼球外壁主要由视网膜、脉络

膜和巩膜这 3 层组织紧密连接构成,如果在固定前剪开角膜,由于外力的作用,眼球会发生变形,导致视网膜脱离;同时由于视网膜中含有大量蛋白质,直接接触固定液会使视网膜中的蛋白质变性凝固,引起视网膜轻度萎缩<sup>[23]</sup>,导致视网膜轻度脱离。(2)角膜、巩膜主要由胶原纤维构成,固定液渗入到眼球内部需要一定的时间,根据实验室前期经验摸索<sup>[7]</sup>,发现在不解剖眼球的情况下,豚鼠眼球在 Davidson 固定液中固定 3 h 得到的固定效果最好。(3)晶状体密度高,固定之后不易切片,固定 3 h 后去除角膜、晶状体,便于残余固定液、脱水液和石蜡的渗透,有利于后期切片,但是其具体机制还有待进一步的实验证实。

本研究选择 FAS、D1 和 D2 固定液在不同时间点采取不同的解剖方式对豚鼠眼球进行固定,结果表明 D1 固定液固定 3 h 后剪切角膜的固定方法更适用于豚鼠眼球后极部的固定。所固定的视网膜、脉络膜、巩膜连接紧密,后极部视网膜无脱离、断裂,细胞排列规整,染色鲜明,与以往研究相比,本研究获得的眼球后极部切片较为理想。该方法制备简单、试剂危害性均可有效避免,固定效果好,是良好的豚鼠眼球固定方法,同时该改进方法为现代依托原位技术的空间组学开展提供了前期保障。

#### 参考文献

- [1] Dhiman R, Rakheja V, Gupta V, et al. Saxena R. Current concepts in the management of childhood myopia. *Indian J Ophthalmol*, 2022,70(8):2800-2815.
- [2] Park UC, Ma DJ, Ghim WH, et al. Influence of the foveal curvature on myopic macular complications. *Sci Rep*, 2019, 9(1):16936.
- [3] Liu H, Schaeffel F, Trier K, et al. Effects of 7-methylxanthine on deprivation myopia and retinal dopamine release in chickens. *Ophthalmic Res*, 2020,63(3):347-357.
- [4] Nickla DL, Totonnelly K, Dhillon B. Dopaminergic agonists that result in ocular growth inhibition also elicit transient increases in choroidal thickness in chicks. *Exp Eye Res*, 2010,91(5):715-720.
- [5] 冯娇娇,宋继科,毕宏生.形觉剥夺性近视的视网膜调控机制研究进展. *眼科新进展*, 2023,43(9):736-741.
- [6] Sekaran S, Cunningham J, Neal MJ, et al. Nitric oxide release is induced by dopamine during illumination of the carp retina: serial neurochemical control of light adaptation. *Eur J Neurosci*, 2005,21(8):2199-2208.
- [7] 宋惠欣,蒋文君,毕宏生.三种不同固定液对豚鼠眼球的固定效果比较. *国际眼科杂志*, 2018,18(6):1010-1013.
- [8] 邱宇,高洪莲,张磊.不同固定液固定豚鼠视网膜效果的比较. *滨州医学院学报*, 2022,45(2):158-160.
- [9] 裴希,吴秋萍,柯晓云,等.比较 4 种不同复合固定液对小鼠视网膜的固定效果. *中国组织工程研究*, 2014,18(24):3791-3796.
- [10] 王伯云,李玉松,黄高升,等.病理学技术.北京:人民卫生出版社 2000:67-74.
- [11] Brown DM, Mazade R, Clarkson-Townsend D, et al. Candidate pathways for retina to scleral signaling in refractive eye growth. *Exp Eye Res*, 2022,219:109071.
- [12] Léger H, Santana E, Beltran WA, et al. Preparation of mouse retinal cryo-sections for immunohistochemistry. *J Vis Exp*, 2019, 149:31305566.

[13] 程天豪, 邹玉平, 简柳连, 等. 硫辛酸烟酸二联体对蓝光致大鼠视网膜损伤的防治作用. 国际眼科杂志, 2024,24(2):196-202.

[14] 唐德荣, 杨雨雯, 石蕊, 等. 非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜神经组织中 miR-26a-5p/PTEN 表达的影响. 国际眼科杂志, 2024,24(1):24-29.

[15] 朱衍志, 王爱秀, 陈立宏, 等. 凯式定氮法替代苦味酸法测定注射用 A 型肉毒毒素中明胶含量的可行性研究. 微生物学免疫学进展, 2023,51(3):45-50.

[16] 温晓晓, 潘文志, 张坤, 等. 基于戊二醛和非戊二醛处理体系制备的生物瓣膜材料的血液相容性评估. 中国胸心血管外科临床杂志, 2023,30(9):1323-1328.

[17] 孙良, 徐林. 三种小鼠眼球组织石蜡切片固定液固定效果的比较. 中国组织工程研究, 2019,23(34):5492-5496.

[18] Moore KL, Barr ML. The sex chromatin in benign tumours and

related conditions in man. Br J Cancer, 1955,9(2):246-252.

[19] 付莉莉, 魏丽萍, 王雁, 等. 来曲唑对幼龄 SD 大鼠发育毒性的考察. 中国医药工业杂志, 2023,54(3):404-410.

[20] 陈宵, 肖志忠, 肖永双, 等. 斑石鲷消化系统形态学与组织学观察. 海洋科学, 2022,46(7):70-77.

[21] Chidlow G, Daymon M, Wood JP, et al. Localization of a wide-ranging panel of antigens in the rat retina by immunohistochemistry: comparison of Davidson's solution and formalin as fixatives. J Histochem Cytochem, 2011,59(10):884-898.

[22] 盛婵, 王辉, 陆姮磊, 等. Davidson's 固定液用于睾丸和眼球固定的优势. 毒理学杂志, 2007,21(4):291.

[23] 赵晓龙, 贾天琦, 滕岩. 玻璃体注射康柏西普联合激光光凝术治疗增殖性糖尿病视网膜病变的效果及对视力功能的影响. 临床误诊误治, 2022,35(11):98-101.

国际眼科杂志中文版(IES)近5年影响因子趋势图

