

高海拔缺氧条件下大鼠视网膜的损伤机制

张 茜, 张文芳, 吉晓华, 杨 义, 李玉婷

作者单位: (730030) 中国甘肃省兰州市, 兰州大学第二医院眼科

作者简介: 张茜, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 张文芳, 毕业于北京大学, 博士, 教授, 研究方向: 眼底病。zhwenf888@163.com

收稿日期: 2016-11-17 修回日期: 2017-03-15

Mechanism of retinal injury in rats under hypoxia at high altitude

Qian Zhang, Wen - Fang Zhang, Xiao - Hua Ji, Yi Yang, Yu - Ting Li

Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Correspondence to: Wen - Fang Zhang, Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China. zhwenf888@163.com

Received: 2016-11-17 Accepted: 2017-03-15

Abstract

• **AIM:** To observe morphological changes of retinal tissues, early apoptosis rates and expressions of caspase-3 and p53 in rats, so as to analyze the mechanism of apoptosis in retinal damage of rats under stimulated hypoxic conditions at high altitude.

• **METHODS:** Experimental rats were randomly divided into the control and experimental groups. Ten rats in the control group were bred in an indoor environment with the altitude of 1,500 meters; 60 in the experimental group were divided into 6 groups with each group of 10 rats, which were bred in a simulated experimental cabin of a simulated plateau environment with the altitude of 5,000 meters for 2, 6, 12, 24, 48 and 72h, respectively. After rats were killed in all groups, pathomorphological changes of rats' retinas were observed with hematoxylin eosin staining, expressions of caspase-3 and p53 in rats' retinas were noticed with immunohistochemical staining, and flow cytometry was used to detect early apoptosis rates.

• **RESULTS:** The simulated hypoxic conditions at high altitude could cause rats' retinal tissues damage, and the longer hypoxic conditions were, the more obvious retinal pathological damage was. Expressions of caspase-3 and p53 were detected at 2h, and gradually increased with oxygen lack time increasing, the differences showed statistical significance ($P < 0.05$). Early apoptosis rates of retinal cells gradually rose with oxygen lack time, and rose obviously at 48h.

• **CONCLUSION:** Apoptosis may involve in the mechanism of rats' retinal damage induced by stimulated

hypoxic conditions at high altitude, and play this role by the caspase-3-dependent apoptotic pathway.

• **KEYWORDS:** high altitude hypoxia; retina; flow cytometry; cell apoptosis

Citation: Zhang Q, Zhang WF, Ji XH, *et al.* Mechanism of retinal injury in rats under hypoxia at high altitude. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(4):623-627

摘要

目的:通过观察大鼠视网膜组织形态改变、细胞早期凋亡率、caspase-3 和 p53 的表达,探讨细胞凋亡在模拟高海拔缺氧条件下大鼠视网膜损伤机制的作用。

方法:实验大鼠随机分为对照组和实验组。对照组为 10 只,饲养于海拔高度为 1 500m 的室内环境;实验组为 60 只,分为 6 组,每组 10 只,分别饲养于模拟的海拔高度为 5 000m 的高原环境模拟实验舱中 2、6、12、24、48、72h。各组大鼠处死后,每组分别采用苏木精-伊红染色观察大鼠视网膜病理形态的改变、免疫组化染色观察大鼠视网膜 caspase-3 和 p53 表达及流式细胞仪检测细胞早期凋亡率。

结果:模拟的高海拔缺氧条件可造成大鼠视网膜的组织损伤,且缺氧时间越长视网膜病理损伤越明显。caspase-3 和 p53 的表达于 2h 检测到,随着缺氧时间增加,两者表达逐渐增加,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。视网膜细胞早期凋亡率随缺氧时间逐渐上升,48h 升高明显。

结论:细胞凋亡可能参与模拟高海拔缺氧的大鼠视网膜损伤机制,并通过 caspase-3 依赖的凋亡通路发挥作用。

关键词:高海拔缺氧;视网膜;流式细胞仪;细胞凋亡

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.4.08

引用:张茜,张文芳,吉晓华,等.高海拔缺氧条件下大鼠视网膜的损伤机制.国际眼科杂志 2017;17(4):623-627

0 引言

视网膜作为脑的延续,耗氧量大且对缺氧特别敏感^[1]。以前认为神经组织在缺血条件下引起的细胞死亡为坏死,近年来越来越多的研究表明,细胞凋亡参与缺血缺氧性神经元损伤的病理生理过程,并在神经元损伤中具有重要作用^[2]。有研究发现^[3]脑部神经元细胞在缺血缺氧后 2h 即出现细胞凋亡,24h 明显增加,且凋亡比率与缺氧程度呈正相关。然而截至目前,对于高海拔视网膜病变的视网膜神经细胞凋亡特征却了解甚少。因此,了解高海拔视网膜病变下视网膜神经细胞凋亡情况对于未来通过调控凋亡防治高海拔视网膜病变具有重要意义。本实验运用高原环境模拟实验舱模拟 5 000m 高海拔低压低氧环境,研究高海拔缺氧条件对大鼠视网膜的影响,通过流式细胞仪检测细胞早期凋亡率、免疫组织化学染色观察 p53 和 caspase-3 的表达,从而探讨细胞凋亡在视网膜损伤机制中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 健康雌性 Wistar 大鼠 70 只,2~3 月龄,体质量 200~220g,兰州大学实验动物中心提供,清洁级。自由饮食,在光/暗周期为 12h/12h,背景噪音 40 ± 10 dB 条件下限制饲养。常规外眼及眼底检查均正常。将其随机分入对照组和实验组。对照组为 10 只,饲养于海拔高度大致为 1 500m 的室内环境(兰州市海拔高度,氧分压为 17.6kPa);实验组为 60 只,分为 6 组,每组 10 只,分别饲养于模拟的室内海拔高度为 5 000m 的高原环境模拟实验舱(氧分压为 11.3kPa)中 2、6、12、24、48、72h。主要试剂仪器:p53 兔抗鼠抗体(1:300)、caspase-3 兔抗鼠抗体(1:400)(北京博奥森生物技术有限公司);DAB 显色试剂盒、SP9001 检测试剂盒(北京中山生物技术有限公司);高原环境模拟实验舱(潍坊华信氧业有限公司);凋亡试剂盒、流式细胞仪(美国 BD 公司);光学显微镜(德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验方法 各组大鼠处死后,每只大鼠摘除两只眼球,每组随机选取 10 只眼球并置于固定液(多聚甲醛 90mL、甲醇 10mL)中固定 12h 后取出眼球,用 1mL 注射器针头刺穿角巩膜缘后 0.5mm 处放出房水,并沿角膜缘轻轻剪开眼球去除眼前节组织(晶状体)制成眼杯,尽量保持视网膜各层结构的完整。固定液中固定 24h 以上备用;另 10 只大鼠眼球用于流式细胞仪检测。

1.2.2 观察大鼠视网膜病理形态的改变及组织染色分布

采用 HE 染色(HE staining,HE)观察大鼠视网膜病理形态的改变及组织染色分布情况。取出标本,平行视轴剖切眼球。室温脱水,65℃石蜡包埋,冷却后切片厚约 3 μ m,烤干,脱蜡至水。苏木精染色 2min,分化液、返蓝液中浸润各 30s,冲洗后 80%酒精脱水 2min,酒精伊红染色液染色 2min,脱水透明后封片,观察并采集图像。

1.2.3 检测视网膜组织中 p53 和 caspase-3 的表达

取出标本,平行视轴剖切眼球。室温脱水,65℃石蜡包埋,冷却后切片厚约 3 μ m,烤干,脱蜡至水。磷酸盐缓冲液(PBS)浸洗,高压锅加热抗原修复,30mL/L H₂O₂ 室温孵育 10min,PBS 冲洗,山羊血清封闭,室温孵育 10min,加一抗兔抗鼠 caspase-3(1:400)、p53(1:300)抗体;以 0.1mol/L PBS 代替一抗作为阴性对照。4℃过夜,PBS 冲洗,滴加生物素标记二抗,37℃孵育 30min,PBS 冲洗,滴加辣根酶标记链霉卵白素,37℃孵育 30min,PBS 冲洗,DAB 显色试剂盒显色,自来水冲洗,苏木素复染,脱水透明后封片,观察并采集图像。采用 Image-Pro Plus 图像分析软件计算阳性细胞的平均吸光度值(A)。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞早期凋亡率

处死大鼠后摘除眼球,在预冷的生理盐水中漂洗 2 次,在垫有冰块玻璃皿中沿角巩膜缘后 0.5mm 环形剪开,将角膜、虹膜睫状体和晶状体去除,并分离出玻璃体,手术显微镜下仔细剥离视网膜,将视网膜与视网膜色素上皮及脉络膜分离,洗净玻璃体,依次搜集所有视网膜,剪碎,并移入离心管中。在上述离心管中加入 2.5g/L 胰蛋白酶溶液,使胰蛋白酶的终浓度为 0.1%。37℃恒温水浴箱中消化 20min,每隔 5min 震荡一次,使组织块成为单细胞悬液。加入 1mL PBS 溶液,终止蛋白酶消化。消化液经 300 目铜网过滤,收集滤过的单细胞悬液放入低速离心机中以 1 000r/min 离心 3min,弃上清。加入 2mL PBS,重悬,以 800r/min 离心

3min,弃上清。每管中加入 200 μ L PBS 溶液重悬。加入凋亡试剂盒中染料 Annexin V-FITC 5 μ L、碘化丙啶(PI) 10 μ L,避光孵育 15min,加入少量 Binding Buffer 溶液后用流式细胞仪检测视网膜细胞的早期凋亡。

统计学分析:全部数据应用 SAS 9.3 统计软件进行统计分析。对各组实验数据求均数及标准差。本实验所得数据为完全随机设计资料,在进行统计分析时,对于正态分布且方差齐的资料,采用单因素方差分析,其中多组样本均数两两比较,使用 SNK-*q* 法;对于非正态分布或(和/或)方差不齐的资料,采用 Kruskal-Wallis 检验,其中多组样本均数两两比较,使用 Nemenyi 秩和检验。并对 caspase-3 和 p53 的表达行 Spearman 相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 视网膜组织病理学变化 对照组大鼠视网膜各层结构清晰、完整、厚度均匀一致。视网膜神经节细胞呈密集单层排列,细胞核大小不一,核内染色质分布均匀,部分细胞核内可见清晰核仁(图 1A)。实验组模拟的海拔高度为 5 000m,饲养 2h 时,大鼠视网膜未见明显改变(图 1B);6h 时,大鼠视网膜可见神经节细胞层部分细胞轻度水肿,结构欠清楚(图 1C);12h 时,大鼠视网膜可见神经节细胞层细胞核减少、出现空泡变性,各层组织出现水肿疏松,厚度有所增加,结构层次出现紊乱(图 1D);24h 时,大鼠视网膜各层组织可见水肿疏松明显,神经节细胞层多见空泡变性、细胞核减少,内核层、内丛状层疏松明显,结构层次紊乱明显(图 1E);48h 时,大鼠视网膜各层组织水肿疏松更明显,结构层次紊乱更明显,厚度明显增加,神经节细胞层大量空泡变性,部分细胞可见核固缩、溶解,细胞核明显减少,内核层、内丛状层疏松更明显(图 1F);72h 时,较 48h 组大鼠视网膜各层组织水肿疏松更明显、结构层次紊乱,神经节细胞层可见大量空泡变性、细胞核明显减少(图 1G)。

2.2 视网膜组织中 p53 和 caspase-3 的表达

p53、caspase-3 的表达以细胞浆或细胞核中有特异性分布的棕黄色或棕褐色颗粒为阳性染色。在 1 500m 海拔的室内环境中,大鼠视网膜组织中 p53、caspase-3 仅在神经节细胞层有微量表达或不表达(图 2A,3A);实验组模拟的海拔高度在 5 000m,饲养 2h 时,大鼠视网膜中 p53、caspase-3 在神经节细胞中少量表达(图 2B,3B);6h 时,大鼠视网膜组织中 p53、caspase-3 均在神经节细胞层出现表达,p53 在细胞核表达明显,caspase-3 在细胞质表达明显(图 2C,3C);12h 时,大鼠视网膜组织中 p53、caspase-3 均在神经节细胞层出现表达增多(图 2D,3D);24h 时,大鼠视网膜组织中 p53、caspase-3 在神经节细胞层表达明显、内丛状层中也出现表达(图 2E,3E);48h 时,大鼠视网膜组织中 p53、caspase-3 在神经节细胞层、内丛状层表达更明显,视锥、视杆细胞层也可见少量表达,外核层中表达较少(图 2F,3F);72h 时,较 48h 组大鼠视网膜组织中 p53、caspase-3 表达增加(图 2G,3G)。对照组和实验组大鼠视网膜中 p53 和 caspase-3 的表达越高,其相对应的平均光密度 A 值越大(表 1,图 4)。经统计分析免疫组化吸光度值资料呈非正态分布,故采用非参数 Kruskal-Wallis 检验,实验组各时间点的 p53 和 caspase-3 阳性表达具有统计学差异($P = 0.0003 < 0.01$)。其中多组样本均数两两比较,使用 Nemenyi 秩和检验统计分析,各实验组与对照组相比,p53 和

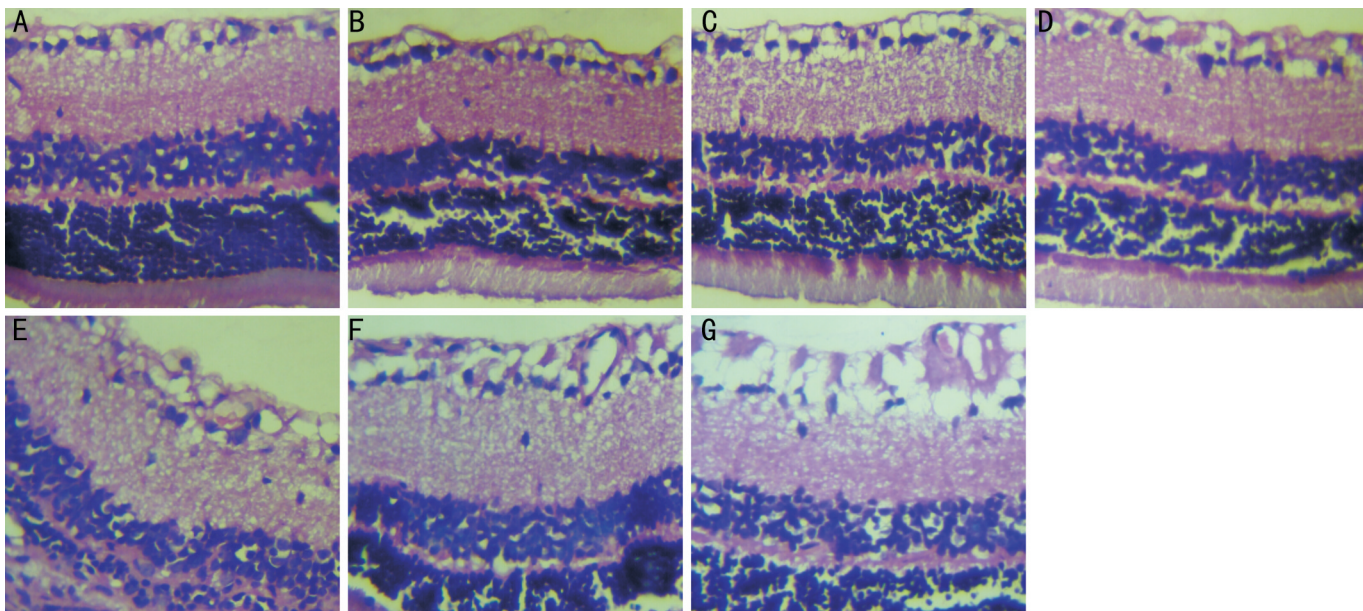


图1 对照组及模拟高海拔缺氧不同时间点的大鼠视网膜的组织病理图片(HE×400) A:对照组;B:2h组;C:6h组;D:12h组;E:24h组;F:48h组;G:72h组。

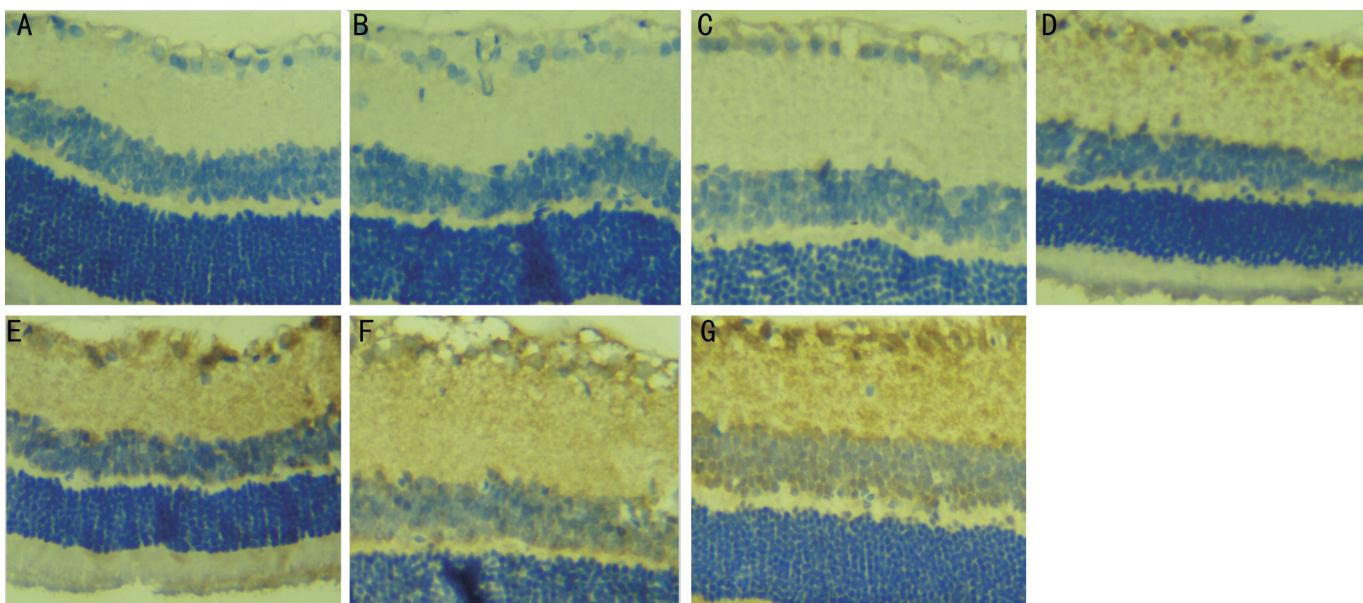


图2 对照组及模拟高海拔缺氧不同时间点的大鼠视网膜中 p53 表达的免疫组织化学染色图片(DAB×400) A:对照组;B:2h组;C:6h组;D:12h组;E:24h组;F:48h组;G:72h组。

表1 模拟高海拔缺氧的大鼠视网膜 p53 及 caspase-3 表达比较

组别	p53		caspase-3	
	对照组	实验组	对照组	实验组
对照组	0.087±0.031	-	0.076±0.012	-
2h	-	0.121±0.011	-	0.113±0.007
6h	-	0.162±0.014	-	0.158±0.032
12h	-	0.213±0.021	-	0.273±0.057
24h	-	0.356±0.063	-	0.394±0.021
48h	-	0.391±0.037	-	0.429±0.018
72h	-	0.421±0.028	-	0.461±0.063

caspase-3 表达明显增高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 相关性分析发现大鼠视网膜组织中 caspase-3 与 p53 的表达水平呈正相关($r=0.832, P<0.01$)。

2.3 细胞凋亡检测结果 对照组平均细胞早期凋亡率为(0.46±0.13)%。饲养于模拟的海拔高度为5 000m的高原环境模拟实验舱中细胞凋亡率随时间推移不断升高(图5、6),其中平均细胞早期凋亡率2h为(1.17±0.06)%,6h为(2.25±0.32)%,12h为(7.84±0.19)%,24h为(14.37±1.94)%,48h为(24.32±1.68)%,72h为(26.72±1.13)%。经统计分析,细胞早期凋亡率结果服从正态分布,采用单因素方差分析,实验组各时间点的细胞早期凋亡率具有统计学差异($F=961.76, P<0.01$),其中多组样本均数两两比较,使用SNK- q 法检验,经统计分析可得:2h组与对照组比较无统计学差异($P=0.213$),其余各组比较差异均具有统计学意义($P<0.01$)。

3 讨论

高原医学定义海拔3000m以上环境引起的疾病称为高原病^[4]。当机体急进高原来不及产生充分的代偿反应以适应急进高原缺氧时,导致全身组织器官病理损伤;其

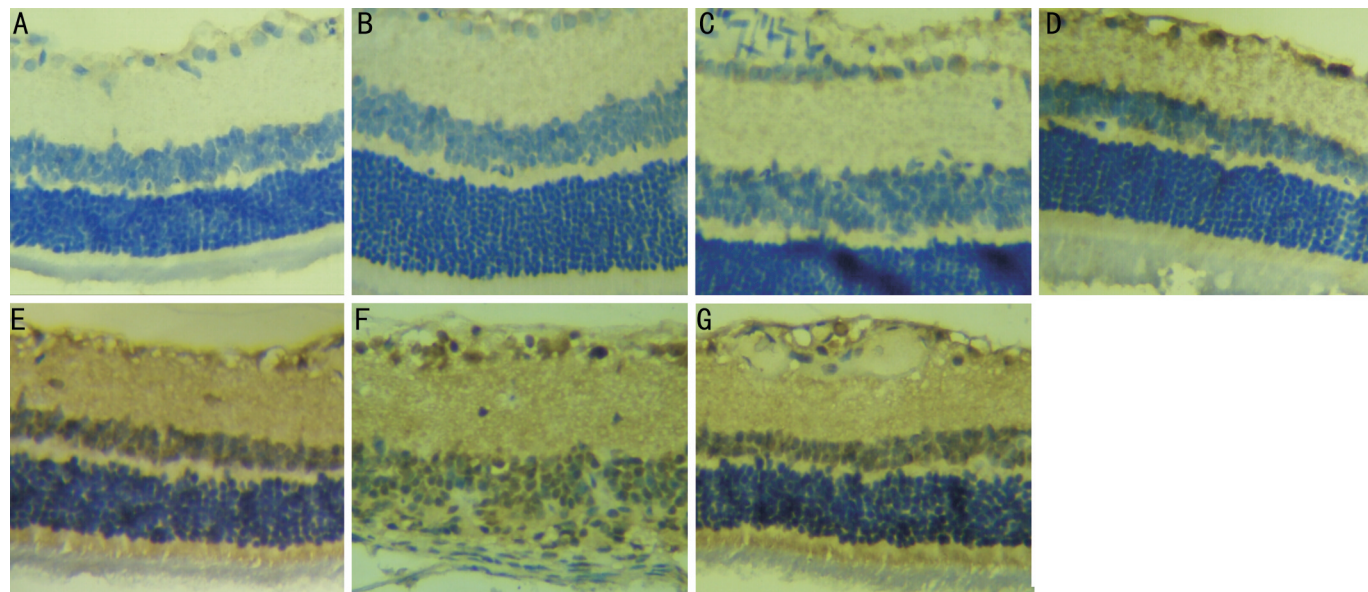


图3 对照组及模拟高海拔缺氧不同时间点的大鼠视网膜中 caspase-3 表达的免疫组织化学染色图片 (DBA×400) A:对照组;B:2h组;C:6h组;D:12h组;E:24h组;F:48h组;G:72h组。

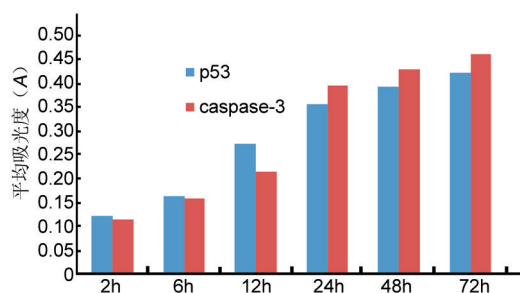


图4 模拟高海拔缺氧不同时间点的大鼠视网膜中 p53 和 caspase-3 表达的平均吸光度值。

中,视网膜组织对缺氧极其敏感,可引起视网膜血管扩张迂曲、视网膜出血、视盘水肿等高海拔视网膜病变的一系列视网膜病理生理改变^[5-6]。随着高原经济、交通、旅游快速发展,导致高原眼病的发病率明显升高。因此,研究解决高原急性缺氧对视网膜损伤的机制和防治措施已成为高原医学研究的热点^[7-8]。高原环境模拟实验舱是一种人工模拟高原低压低氧环境的试验设备,通过舱外控制台调控舱体运转和舱内条件,结合手动和自动控制系统控制舱内海拔高度、温度、湿度及升降速度,可模拟出不同海拔高度和气候环境条件。查阅相关文献^[9-10]及参考本中心前期研究^[11]已证实利用高原环境模拟实验舱可成功建立急性缺氧高海拔视网膜病变模型。本研究拟运用高原环境模拟实验舱模拟 5 000m 高原低压低氧环境,观察急性缺氧后不同时间点大鼠视网膜组织的病理形态改变。结果显示在模拟的海拔高度为 5 000m 的缺氧条件下,大鼠视网膜组织均发生不同程度的病理形态改变,主要表现为视网膜组织水肿疏松,视网膜厚度增加,视网膜层排列紊乱,神经节细胞层、内核层细胞肿胀伴细胞数目减少并出现空泡现象。提示本研究在高海拔缺氧条件下的大鼠高海拔视网膜病变动物模型建立成功。

细胞凋亡又称程序性死亡,生物体发生细胞凋亡是一种极为常见的现象,无论是在生理条件下,还是病理条件

下,均可见到细胞凋亡现象。细胞经凋亡途径发生自然死亡从而保证了细胞数量的动态平衡^[12]。近年日益增多的研究表明,细胞凋亡参与缺血缺氧性脑损伤的病理生理过程并在神经元损伤中具有重要作用,有研究表明缺氧可导致神经纤维轴浆流中断,继而导致靶源性神经因子中断,激活诱导凋亡的基因表达,促发细胞凋亡^[13]。视网膜作为脑的延续,是机体代谢最活跃的组织、对氧高度敏感,研究探讨急进高原高海拔缺氧是否促发视网膜细胞发生细胞凋亡从而参与视网膜细胞损伤机制同样有重要作用。大量研究表明^[14-15],caspase-3 是 caspase 级联瀑布下游最关键的蛋白酶,直接参与凋亡的早期启动、凋亡信号的传递及凋亡晚期事件的发生,它的表达与活化代表了细胞凋亡的不可逆转,是细胞凋亡的主要执行者。p53 在正常眼部组织中主要高表达在角膜、结膜上皮细胞和晶状体上皮细胞中,在视网膜组织呈低水平表达^[16]。p53 可通过调控 Bax/Bcl-2, Fas/FasL, IGF-BP3 等蛋白协助 caspase-3 执行的细胞凋亡。有学者认为 p53 还可直接刺激线粒体释放高毒性的氧自由基来引发凋亡^[17]。本实验结果显示 1 500m 海拔高度时(兰州市海拔高度),大鼠视网膜组织中 p53、caspase-3 无表达或微弱表达。随着高海拔缺氧时间增加、缺氧程度加重,大鼠视网膜细胞中 p53、caspase-3 表达增加。分析其机制可能与急性缺氧时促发细胞凋亡,caspase-3 和 p53 参与介导细胞凋亡的相关机制,然而其具体作用机制仍需要进一步探讨研究。

直接剥离动物视网膜制备的细胞悬液包含各种类型的视网膜细胞,与细胞系相比能更好地代表在体水平^[18-19]。本实验参考王文军等^[20]对大鼠视神经损伤研究,建立大鼠高海拔视网膜病变模型,并采用剥离视网膜制备细胞悬液的方法行流式细胞仪检测细胞早期凋亡率,以期更直观地反映在体病变水平,能够真实反映视网膜病变损伤的发病机制,具有一定的理论意义。本实验通过建立大鼠模拟高海拔缺氧视网膜损伤模型,检测早期细胞凋亡率及凋亡相关蛋白 p53、caspase-3 的表达,实验结果显示视网膜缺氧损伤后视网膜细胞发生凋亡,凋亡比率与缺氧程度成正比,p53 与 caspase-3 表达也与凋亡比率成正

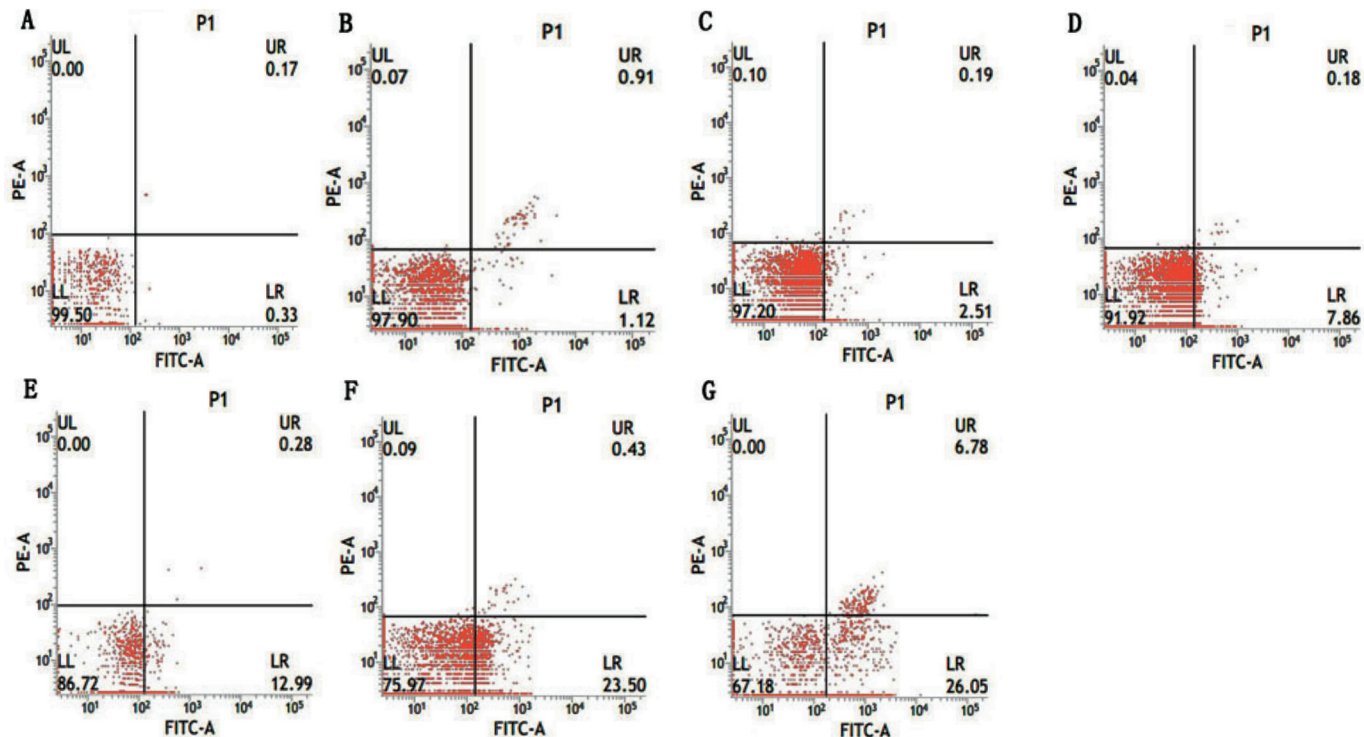


图5 模拟高海拔缺氧不同时间点的大鼠视网膜流式细胞检测图(每组仅列出1个检测图),在流式细胞术检测图上:左下象限为阴性细胞即活细胞(Annexin V-/PI-);右上象限是非活细胞,即坏死细胞(Annexin V+/PI+);右下象限为早期凋亡细胞(Annexin V+/PI-) A:正常对照组;B:2h;C:6h;D:12h;E:24h;F:48h;G:72h。

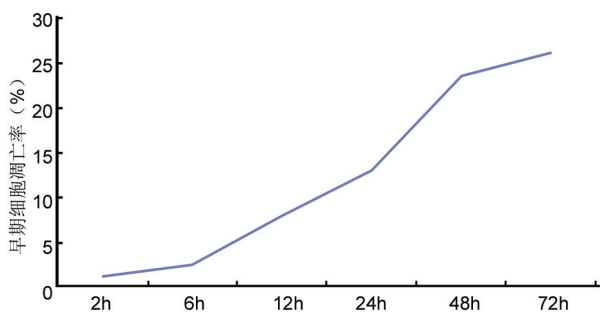


图6 模拟高海拔缺氧不同时间点的大鼠视网膜细胞早期凋亡率。

比。因此可推测细胞凋亡参与模拟高海拔缺氧的大鼠视网膜损伤机制,并通过 caspase-3 依赖的凋亡通路发挥作用。

目前研究表明细胞凋亡是一个可逆的过程^[21],缺血缺氧后的48h内是抑制凋亡细胞的最佳时期,提示早期干预和治疗可以让更多的细胞存活,也是提高疗效的关键。未来可通过视网膜缺氧损伤后神经细胞凋亡过程中细胞通路及细胞信号转导变化的研究,进一步阐明神经细胞凋亡的发生机制,同时为有效阻断原发的损伤活动或增强视网膜神经细胞的生存机制提供充足的理论依据,并从抑制细胞凋亡方面着手开发相关药物研究,从而发挥对高海拔缺氧的视网膜组织的保护和治疗作用。

参考文献

- Arora R, Jha KN, Sathian B. Retinal changes in various altitude illnesses. *Singapore Med J* 2011;52(9):685-688
- 姜立刚,李雪,李海平,等.局灶性脑缺血再灌注损伤神经细胞凋亡的研究. *北华大学学报(自然)* 2016;17(2):205-208
- 汪灏,赵玲,吴星恒,等.缺血缺氧型脑病与细胞凋亡. *南昌大学学报(医学版)* 2001;41(4):21-23
- 黄海香,张文芳,律鹏.高海拔视网膜病变及中药应用的研究进展. *国际眼科杂志* 2014;14(11):1999-2002
- Pardinas BN, Fernández FF, Fondevila CF, et al. High - altitude

- retinopathy. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2012;87(10):337-339
- Macomick IJ, Sommer J, Morris DS, et al. Retinal vessel tortuosity in response to hypobaric hypoxia. *High Alt Med Biol* 2012;13(4):263-271
- 吴天一.我国高原医学研究进展(热烈祝贺中华医学会成立九十周年). *高原医学杂志* 2005;15(1):1-8
- 贾茜钰,刘勤,张书,等.黄芪注射液对模拟高原缺氧环境大鼠视网膜缺氧诱导因子-1 α 、p53 表达的影响. *中华眼底病杂志* 2016;32(4):423-427
- 刘戟环,糜漫天,张乾勇,等.模拟海拔5000m高原间断性缺氧对大鼠视网膜的损伤及牛磺酸的防护作用. *第三军医大学学报* 2004;26(21):1936-1939
- 马慧萍,吴金华,高荣敏,等.低压氧舱模拟急性高原缺氧动物模型建立的初探. *解放军药理学学报* 2013;4:301-304
- 黄海香,张文芳,杨义,等.红景天对模拟高海拔缺氧的大鼠视网膜组织形态以及缺氧诱导因子表达的影响. *中华眼底病杂志* 2014;30(6):599-603
- Choudhury S. Caspase-7: a critical mediator of optic nerve injury-induced retinal ganglion cell death. *Mol Neurodegener* 2015;10(1):40
- Sato T, Oku H, Tsuruma K, et al. Effect of hypoxia on susceptibility of RGC-5 cells to nitric oxide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(5):2575-2586
- 郝旭红,裴涌,孙晓楠. P2X7 受体对缺氧诱发小鼠视网膜神经节细胞凋亡的影响. *国际眼科杂志* 2016;16(4):622-624
- 蔡丽,周炼红. Caspase 与视网膜细胞凋亡的研究进展. *临床眼科杂志* 2016;24(4):380-383
- Pokroy R, Tendler Y, Pollack A, et al. p53 expression in the normal murine eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(6):1736-1741
- Sermeus A, Michiels C. Reciprocal influence of the p53 and the hypoxic pathways. *Cell Death Disease* 2011;2(5):e164
- 胡单萍,罗雪,刘诗亮,等.一种急性分离视网膜细胞的实验方法. *武汉大学学报医学版* 2015;36(3):359-362
- 冯燕,张波,王少兰,等. H₂O₂ 诱导 SD 大鼠视网膜细胞凋亡过程中细胞内钙离子浓度的变化. *西安交通大学学报:医学版* 2015;36(5):580-586
- 王文军,闫元奎,唐罗生.大鼠视神经损伤视网膜内 P38 丝裂原活化蛋白激酶活性的表达. *国际眼科杂志* 2008;8(4):711-716
- Luo Y, Yang X, Gao Y. Strategies for the prevention of acute mountain sickness and treatment for large groups making a rapid ascent in China. *Int J Cardiol* 2013;169(2):97