

· 实验研究 ·

发光二极管照射对高糖培养的视网膜神经元凋亡的光生物调节作用及其机制

张丽敏 张凤久 林安岭 彭向东 杨建玲 于凌艳 王海明 高世凯

024000 内蒙古自治区赤峰市,赤峰学院附属医院眼科

通信作者:张丽敏,Email:zlm0476@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.07.004

【摘要】 **背景** 研究糖尿病视网膜病变(DR)的发病机制及防治具有重要的临床意义。近年来随着生物医学光子学的发展,国际上利用光生物调节进行疾病防治的研究越来越受到重视,但关于光生物调节对DR的防治作用研究鲜见报道。**目的** 探讨光生物调节对高糖环境下视网膜神经元凋亡的抑制作用及其机制,为光生物调节在DR治疗方面的应用提供依据。**方法** 采用免疫磁珠分离法分离Wistar大鼠视网膜神经元并进行传代培养,采用Nissl染色法对培养的细胞进行鉴定。将培养的细胞分为正常对照组、高糖模型组和高糖+发光二极管(LED)组,正常对照组细胞采用Neurobasal培养基进行培养,高糖模型组细胞在Neurobasal培养基中添加25 mmol/L葡萄糖,高糖+LED组细胞造模后48 h在培养箱中用LED红光光源进行照射,光源波长为620 nm,最大功率为1 W,中心光辐射照度为6.67 mW/cm²。光源置于细胞上方2 cm处,光斑直径为2.0 cm,使光斑完全覆盖1个培养孔,每次连续照射300 s,12 h后重复照射1次,共照射3次。培养后48 h采用流式细胞仪测定各组细胞凋亡情况;采用激光扫描共焦显微镜观察各组细胞内Ca²⁺浓度变化;Western blot法检测各组细胞中磷酸化丝氨酸-苏氨酸激酶(p-AKT)蛋白的相对表达量。**结果** 培养后2~3 d,倒置显微镜下可见细胞呈多边形和椭圆形,可见细胞核及核仁。培养后5~7 d神经元突起增多,经Nissl染色后细胞质呈蓝紫色,神经元与神经胶质细胞的比例达91%。正常对照组、高糖模型组和高糖+LED组细胞凋亡率分别为(7.634±3.176)%、(33.642±9.315)%和(23.914±6.375)%,其中高糖模型组和高糖+LED组细胞凋亡率均明显高于正常对照组,高糖+LED组细胞凋亡率明显低于高糖模型组,差异均有统计学意义(均P<0.01)。激光扫描共焦显微镜下可见高糖模型组和高糖+LED组细胞中Ca²⁺荧光像素值均明显高于正常对照组,高糖+LED组细胞中Ca²⁺荧光像素值明显低于高糖模型组,差异均有统计学意义(均P<0.05)。Western blot法检测显示正常对照组、高糖模型组和高糖+LED组细胞中p-AKT蛋白相对表达量分别为10.34±3.18、2.16±0.46和7.15±1.72,高糖+LED组细胞中p-AKT蛋白相对表达量明显低于高糖模型组,差异有统计学意义(P<0.05)。**结论** 高糖环境抑制抗凋亡的PI3K/AKT通路活性并影响视网膜神经元钙稳态,导致细胞凋亡。低强度LED光照射可激活PI3K/AKT通路,减少高糖引起的细胞凋亡。

【关键词】 低强度光疗法;发光二极管;光生物调节作用;视网膜;神经元;凋亡;Wistar大鼠;神经保护;葡萄糖

基金项目: 国家自然科学基金项目(61465001)

Photobiomodulation of light emitting diode irradiation on apoptosis of retinal neuronal cells induced by high-glucose Zhang Limin, Zhang Fengjiu, Lin Anling, Peng Xiangdong, Yang Jianling, Yu Lingyan, Wang Haiming, Gao Shikai

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Chifeng College, Chifeng 024000, China

Corresponding author: Zhang Limin, Email: zlm0476@163.com

[Abstract] **Background** To study the pathogenesis and management of diabetic retinopathy (DR) has an important clinical significance. With the development of biomedical photonics in recent years, photobiomodulation therapy has been paid more and more attention. However, the study on biological regulation of light to DR is rarely reported. **Objective** This study was to explore the photobiomodulating effects on the apoptosis of retinal neuronal cells induced by high glucose environment and tried to offer a basis for the management of DR. **Methods** The

retinal neurons were isolated from Wistar rats using immunomagnetic beads and primarily cultured in Neurobasal, and the cells were identified by Nissl staining. The cells were divided into normal control group, high-glucose group and high-glucose+LED group. The glucose at the concentration of 25 mmol/L was added into medium for 48 hours in the high-glucose group, and the cells induced by high-glucose were irradiated in incubator by LED for consecutive 300 seconds per time in a 12-hour interval with the wavelength of 620 nm, maximal power of 1 W, central light radiation exposure of 6.67 mW/cm² and spot diameter of 2.0 cm. The apoptosis rate of the cells was assayed by flow cytometry; the intracellular Ca²⁺ content was determined by laser scanning confocal microscope; the relative expression level of phosphorylated serine-threonine kinase (p-AKT) protein in the cells was detected by Western blot. **Results** The cells grew well 2–3 days after cultured with the polygon and oval shape, and nucleolus were visible. More neuronal processes were obtained in 5–7 days after culture. Nissl staining showed the blue violet color in cytoplasm of neurons. The proportion of neurons and glial cells was 91%. The apoptosis rates of the cells were (7.634±3.176)%, (33.642±9.315)% and (23.914±6.375)% in the normal control group, high-glucose group and high-glucose+LED group, respectively, and the apoptosis rates of high-glucose group and high-glucose+LED group were significantly higher than that in the normal control group, while the apoptosis rate in the high-glucose+LED group was lower than that in the high-glucose group (all at $P < 0.01$). The fluorescence of Ca²⁺ in the cytoplasm was strong in the high-glucose group and weak in the normal control group. The fluorescence pixel values in the high-glucose group and high-glucose+LED group were significantly higher than that in the normal control group, and that in the high-glucose+LED group was reduced in comparison with high-glucose group (all at $P < 0.05$). The expressing band of p-AKT protein was strong in the normal control group and weak in the high-glucose group. The relative expressing levels were 10.34±3.18, 2.16±0.46 and 7.15±1.72 in the normal control group, high-glucose group and high-glucose+LED group, and relative expression level of high-glucose+LED group was significantly lower than that in the high-glucose group ($P < 0.05$). **Conclusions** High-glucose environment inhibits PI3K/AKT pathway and calcium homeostasis of retinal neurons, which results in cell apoptosis. Low intensity of LED light irradiation activates the anti-apoptotic PI3K/AKT pathway and therefore reduces apoptosis induced by high glucose.

[**Key words**] Low-level light therapy; Light emitting diode; Photobiomodulation; Retina; Neurons; Apoptosis; Rats, Wistar; Neuroprotection; Glucose

Fund program: National Natural Science Foundation of China (61465001)

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是世界范围内的主要致盲眼病,研究 DR 的发病机制及预防和治疗手段具有重要的临床意义。DR 的发病是一个复杂的病理过程,涉及多元醇代谢通路异常、肌醇耗竭、自由基的作用、蛋白质的非酶糖基化、细胞凋亡等,是多因素、多阶段作用的结果。从细胞学角度探讨 DR 的发病机制越来越受到广泛关注^[1]。光生物调节作用由辐射而不是热效应(温度升高不超过 0.5 ℃)产生,它是低强度单色光或激光对细胞或组织的一种非损伤调节作用。光生物调节作用在生物医学中应用广泛,最近发现它可以调节细胞凋亡,并有可能用于调节干细胞功能^[2],因此越来越受到重视。目前,关于光生物调节对 DR 修复作用的研究在中国鲜见报道。本研究中拟观察发光二级管(light emitting diode, LED)照射对高糖环境下培养的大鼠视网膜神经元凋亡的调节作用,探讨光生物调节在 DR 治疗方面的应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 出生 1~3 d 的清洁级 Wistar 大鼠 20 只(赤峰学院医学院实验动物学部提供)。实验动物的饲养和管理遵循国家实验动物保护条例。

1.1.2 主要试剂及仪器 D-Hanks 液、胎牛血清、胰蛋白酶、Neurobasal 培养液(美国 Gibco 公司);尼氏染色法试剂盒、细胞凋亡试剂盒、Western blot 试剂盒(美国 Sigma 公司)。磁珠(美国 Dynabeads 公司);流式细胞仪、激光扫描共焦显微镜(美国 DB 公司)。

1.2 方法

1.2.1 原代视网膜神经元培养 取出生 1~3 d 的 Wistar 大鼠 20 只,颈椎脱臼法处死大鼠。头部常规消毒,于超净工作台上迅速摘除眼球,去除晶状体和玻璃体,钝性分离出完整视网膜组织,在冰 D-Hank 液中展平视网膜,剪除肉眼可见的视网膜大血管分支及部分色素组织,将剩余视网膜组织充分剪碎,200 目筛网过

滤,收集网上组织置于 15 ml 离心管中,加含质量分数 0.1% EDTA 的胰蛋白酶 3 ml,37 °C 水浴 3 ~ 5 min,离心半径 12 cm,800 r/min 离心 5 min,弃胰蛋白酶再加人质量分数 0.5% II 型胶原酶 5 ml,37 °C 水浴 30 min,300 目筛网过滤,采用磁珠免疫分离视网膜神经元在 Neurobasal 培养基中进行传代培养,每日在倒置相差显微镜下观察细胞生长情况。参照文献[3]描述的方法,将培养第 7 天的视网膜细胞用 Nissl 染色法进行鉴定。在光学显微镜下每张盖玻片随机连续观察 5 个 100 倍视野,每处视野计数细胞总数及染色阳性细胞数,计算各视野中神经元比率。神经元比率 = 染色阳性细胞数/细胞总数 × 100%。重复 3 次,取其平均值。

1.2.2 实验分组及处理 视网膜神经元以 4×10^5 /ml 的密度接种于 24 孔细胞培养板进行培养,培养后 24 h 待细胞贴壁后用无血清培养液继续培养 24 h。将正常培养的视网膜神经元分为正常对照组(3 板)、高糖模型组(3 板)和高糖+LED 照射组(3 板)。高糖模型培养基葡萄糖浓度采用本课题组前期实验结果^[4];高糖+LED 照射组细胞在造模后 48 h 开始照射,在培养箱中用 LED 红光光源进行照射,按照文献[5]的方法设定光源波长为 620 nm,最大功率为 1 W,中心光功率密度为 6.67 mW/cm^2 。光源置于细胞上方 2 cm 处,光斑直径为 2.0 cm,使光斑完全覆盖 1 个培养孔,连续照射 300 s,12 h 后重复照射 1 次,共照射 3 次;正常对照组及高糖模型细胞避光置于培养箱内。

1.2.3 流式细胞仪测定各组细胞凋亡情况 常规酶消化法收集各组细胞,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 洗涤,再离心,反复 3 次后,细胞沉淀以少量 PBS 反复吹散成单细胞悬液。用去离子水按 1:4 稀释结合缓冲液,用 4 °C 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次,用 250 μl 结合缓冲液重新悬浮细胞,调节其密度为 1×10^6 /ml,取 100 μl 细胞悬液于 5 μl 流式管中,加入 1 μl Annexin/PI 和 5 μl 20 $\mu\text{g/ml}$ 碘化丙啶溶液,混匀后室温下避光孵育 15 min,在反应管中加入 400 μl PBS,流式细胞仪分析细胞凋亡。

1.2.4 激光扫描共焦显微镜下观察细胞内 Ca^{2+} 浓度变化 吸去各组培养基,用 DMEM 培养基洗涤 3 次,每次 3 min;加入 100 μl Fluo3/AM (DMEM 培养基稀释)染色液,37 °C 避光孵育 30 min;弃去染色液,用不含酚红的 DMEM 培养基洗涤 3 次,每次 3 min 后,继续稳定 20 min;检测荧光强度,设置激发波长 488 nm,绿色荧光接收通道 BP:500 ~ 550 nm,红色荧光接收通道 LP>580 nm。

1.2.5 Western blot 法检测各组细胞中磷酸化丝氨酸-苏氨酸激酶蛋白的表达 收集培养板各孔细胞,离心去上清液,加组织裂解液,4 °C 条件下 14 000 r/min 离心 30 min,吸取上清分装成小管存于 -80 °C 冰箱。常规按 BCA 蛋白浓度测定法绘制标准曲线,根据标准曲线测定样品在酶标仪 562 nm 处吸光度(A)值,换算出相应的浓度。将蛋白提取物与 5 倍 SDS 蛋白电泳上样缓冲液按体积比 4:1 混合,沸水浴 10 min,体积分数 10% SDS PAGE 电泳,并转印至 PVDF 膜上,50 g/L 脱脂牛奶室温封闭 4 h,分别加入 1:500 稀释的兔抗大鼠 AR、 β -actin 一抗,4 °C 孵育过夜,PBS 洗涤后,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(1:2 500),37 °C 孵育 1 h。胶片曝光显影及定影。将胶片进行扫描后,用 Band Scan 4.5 图像分析仪对结果进行灰度分析,以 β -actin 作为内对照进行校正,计算目的蛋白的相对表达量。计算公式:磷酸化丝氨酸-苏氨酸激酶 (serine threonine kinase, p-AKT) 蛋白表达水平 = p-AKT 蛋白 A 值/ β -actin A 值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验证实符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用均衡分组单因素干预三水平实验设计,正常对照组、高糖模型组和高糖+LED 组间细胞凋亡率、 Ca^{2+} 荧光像素值和细胞中 p-AKT 相对表达量的总体差异比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$ 为差异均有统计学意义。

2 结果

2.1 原代培养的大鼠视网膜神经元形态

倒置显微镜下可见大部分细胞于接种后 24 h 贴壁,少数细胞长出较短的突起,并向中央聚集。培养后 2 ~ 3 d 突起的神经元增多,细胞突起伸长为自身细胞体的 1 倍。培养的细胞胞体饱满,呈多边形和椭圆形,周围可见光晕,细胞内无颗粒,可见细胞核及核仁。培养的神经元周围可见少数神经胶质细胞。培养后 5 ~ 7 d 神经元突起进一步增多并变长(图 1A),经 Nissl 染色细胞质呈蓝紫色,尼氏小体清晰可见,而神经胶质细胞胞质不着色,细胞核呈圆形,为淡紫色,核仁清晰可辨(图 1B),神经元与神经胶质细胞的比例达 91%。

2.2 各组细胞凋亡率比较

流式细胞分析结果表明,正常对照组、高糖模型组和高糖+LED 组细胞凋亡率分别为 $(7.634 \pm 3.176)\%$ 、

(33.642±9.315)% 和 (23.914±6.375)% , 组间总体比较差异有统计学意义 ($F = 17.395, P = 0.016$), 其中高糖模型组和高糖+LED 组细胞凋亡率均明显高于正常对照组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.01$); 高糖+LED 组细胞凋亡率明显低于高糖模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$) (图 2)。

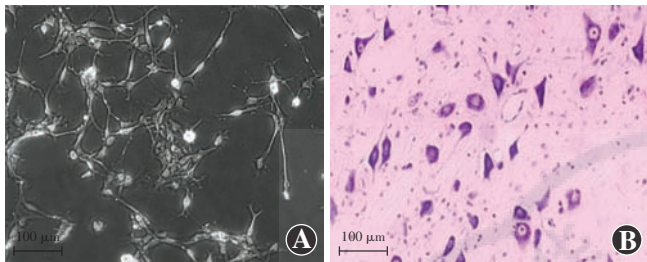


图 1 培养的大鼠视网膜神经元形态 (Nissl ×100, 标尺 = 100 μm)
A: 神经元胞体饱满, 呈多边形和椭圆形, 可见细胞核及核仁 B: 经 Nissl 染色细胞质呈蓝紫色, 可见颗粒状 Nissl 尼氏小体, 细胞核淡紫色, 核仁清晰

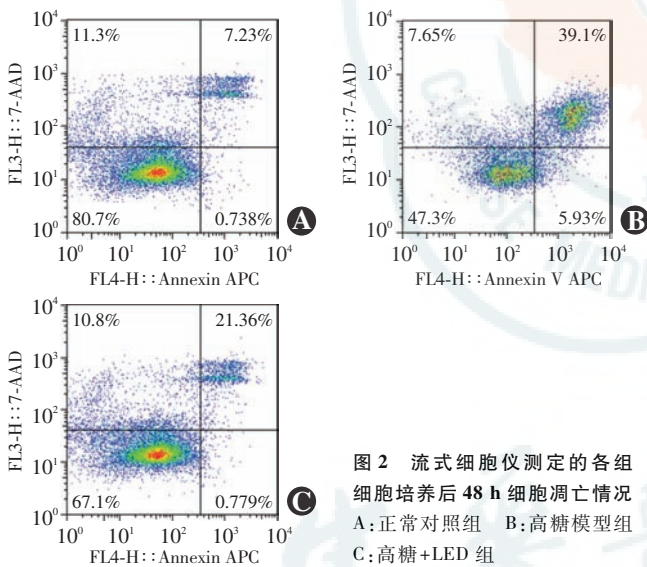


图 2 流式细胞仪测定的各组细胞培养后 48 h 细胞凋亡情况
A: 正常对照组 B: 高糖模型组 C: 高糖+LED 组

2.3 各组细胞内 Ca²⁺浓度的变化

激光扫描共焦显微镜下可见正常对照组细胞质中微弱 Ca²⁺ 荧光染色, 呈绿色荧光, 细胞核呈蓝色荧光; 高糖模型组细胞质呈强绿色荧光; 高糖+LED 组细胞质中绿色荧光强于正常对照组而弱于高糖模型组 (图 3)。正常对照组、高糖模型组和高糖+LED 组细胞中 Ca²⁺ 荧光像素值明显不同, 差异有统计学意义 ($F = 23.746, P = 0.035$), 其中高糖模型组和高糖+LED 组细胞中 Ca²⁺ 荧光像素值均明显高于正常对照组, 高糖+LED 组细胞中 Ca²⁺ 荧光像素值明显低于高糖模型组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (表 1)。

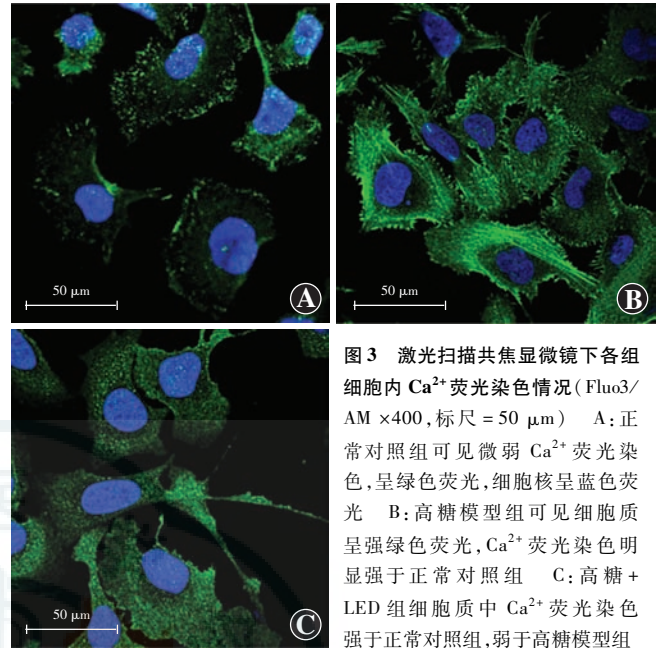


图 3 激光扫描共焦显微镜下各组细胞内 Ca²⁺ 荧光染色情况 (Fluo3/AM ×400, 标尺 = 50 μm)
A: 正常对照组可见微弱 Ca²⁺ 荧光染色, 呈绿色荧光, 细胞核呈蓝色荧光 B: 高糖模型组可见细胞质呈强绿色荧光, Ca²⁺ 荧光染色明显强于正常对照组 C: 高糖+LED 组细胞质中 Ca²⁺ 荧光染色强于正常对照组, 弱于高糖模型组

表 1 各组细胞内 Ca²⁺ 荧光像素值的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量	Ca ²⁺ 荧光像素值
正常对照组	24	193.24 ± 65.48
高糖模型组	24	712.15 ± 153.67 ^a
高糖+LED 组	24	432.71 ± 104.76 ^{ab}
<i>F</i> 值		23.746
<i>P</i> 值		0.035

注: 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与高糖模型组比较, ^b $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD-*t* 检验) LED: 发光二极管

2.4 各组细胞中 p-AKT 蛋白表达的比较

Western blot 法检测结果显示, 正常对照组细胞中 p-AKT 蛋白表达条带最强, 其次为高糖+LED 组, 高糖模型组细胞中 p-AKT 蛋白表达条带最弱 (图 4)。正常对照组、高糖模型组和高糖+LED 组细胞中 p-AKT 蛋白相对表达量的总体比较, 差异有统计学意义 ($F = 20.592, P = 0.026$), 其中高糖模型组和高糖+LED 组细胞中 p-AKT 蛋白相对表达量均明显低于正常对照组, 高糖+LED 组细胞中 p-AKT 蛋白相对表达量明显高于高糖模型组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (表 2)。

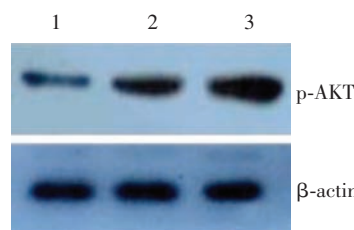


图 4 Western blot 法检测各组细胞中 p-AKT 蛋白的表达情况 可见正常对照组细胞中 p-AKT 蛋白表达条带最强, 高糖模型组表达条带最弱, 高糖+LED 组表达条带强于高糖模型组, 弱于正常对照组 1: 高糖模型组 2: 高糖+LED 组 3: 正常对照组 p-AKT: 磷酸化丝氨酸-苏氨酸激酶

表 2 各组细胞中 p-AKT 蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量	p-AKT 蛋白相对表达量
正常对照组	24	10.34 ± 3.18
高糖模型组	24	2.16 ± 0.46 ^a
高糖+LED 组	24	7.15 ± 1.72 ^{ab}
F 值		20.592
P 值		0.026

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与高糖模型组比较,^b $P < 0.05$ (单因素方差分析,LSD-*t* 检验) p-AKT:磷酸化丝氨酸-苏氨酸激酶;LED:发光二极管

3 讨论

研究表明,糖尿病早期在视网膜微血管发生改变之前就已经存在视网膜神经元和神经胶质的改变,这种改变直接影响着 DR 的进展,并可能是糖尿病视网膜微血管病变的主要原因^[6]。Bloodworth^[7] 在糖尿病患者尸眼中发现视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 出现核破碎、核固缩等细胞凋亡的特征性改变。Barber 等^[8] 也发现,糖尿病患者在被发现存在典型眼底微血管病变之前已经出现视网膜神经元的退行性改变,TUNEL 法检测染色阳性细胞与血管内皮细胞标志物 vonWillebrand 因子标记的位置并不重叠,证明凋亡细胞并非血管内皮细胞。此外,OCT 检查发现,糖尿病患者出现黄斑区 RGCs 层和视盘周围神经纤维层变薄,且与糖尿病病程相关^[9]。糖尿病患者在 DR 发生前,RGCs 和双极细胞功能已发生异常,起源于神经视网膜内层的视网膜电图振荡电位振幅下降和潜伏期延长早于血-视网膜屏障通透性出现异常^[10]。上述研究均显示在出现糖尿病视网膜微血管病变之前,神经活动及稳定性已经出现变化,提示内层神经视网膜发生改变。

本研究中通过体外高糖环境模拟体内高血糖状态,发现 25 mmol/L 葡萄糖的培养基通过抑制抗凋亡的 PI3K/AKT 通路以及影响视网膜神经元钙稳态,使细胞易于发生钙超载,使细胞内代谢异常导致凋亡。研究表明,多种细胞的生存、凋亡信号通过抑制 PI3K 信号途径进行传导^[11]。PI3K 参与调节细胞的分裂、分化、凋亡等活动。AKT 是 PI3K 下游靶蛋白,多种细胞因子可通过与其受体结合产生与 PI3K 的 p85 亚单位高亲和性的位点,诱导 AKT 的活化。钙在维持细胞的正常功能和结构方面起重要作用^[12]。正常时细胞通过一系列转运机制可维持细胞内低钙状态,一些因素引起的钙平衡系统功能失调导致细胞钙超载,损伤细胞膜和线粒体,加速细胞的不可逆转死亡,而高糖是如何通过抑制 PI3K/AKT 信号通路发挥作用尚需进一

步证实。

光生物调节作用的细胞康复作用是通过线粒体、信号转导和基因表达实现的,光生物调节作用只调节功能不正常的细胞或组织,对功能正常的细胞或组织不产生影响^[13-14]。光生物调节作用只有在特定情况下才发生,需要选择合理的参数以实现细胞康复作用^[15-16]。LED 是一种高亮度、高效率、长寿命的新型固体光源,近年来的研究发现低强度 LED 具有光生物调节作用^[17],且在生命科学中的应用受到日益广泛的关注。研究光的生物学调节作用剂量关系有固定照射剂量、固定照射时间和固定照射光强 3 种方法^[16]。本研究中采取固定照射光强研究其作用与剂量的关系,结果显示低强度 LED 光照射激活了抗凋亡的 PI3K/AKT 通路,减少了高糖作用下的细胞凋亡数目,同时开启了细胞膜离子通道,可直接或间接地影响钙信号的传导,进而调节细胞的分泌、增生及基因表达,恢复视网膜神经元钙稳态,抑制细胞凋亡。同时本研究中也观察到经过低强度 LED 光照射的高糖模型细胞各项实验指标与正常对照组仍有明显差距,可能与高糖细胞模型在照射实验中仍然采用 25 mmol/L 葡萄糖的培养基对细胞进行培养有关,仍需进一步研究。

尽管光生物调节治疗在临床研究中的应用日益广泛,但其在 DR 治疗方面的研究国内尚属空白。本研究中观察了低强度 LED 光照射对 Wistar 大鼠视网膜神经元高糖模型的光生物调节作用,发现高糖通过抑制抗凋亡的 PI3K/AKT 通路及影响视网膜神经元钙稳态使细胞内代谢异常,从而导致细胞凋亡,而低强度 LED 光照射激活了 PI3K/AKT 通路,减少了高糖作用下的细胞凋亡,有可能成为治疗 DR 的一种辅助手段。

参考文献

- [1] Jin J, Zhao WC, Yuan F. CXCR7/CXCR4/CXCL12 axis regulates the proliferation, migration, survival and tube formation of choroid-retinal endothelial cells [J]. *Ophthalmic Res*, 2013, 50 (1): 6-12. DOI: 10.1159/000348532.
- [2] Medalha CC, Santos AL, Veronez SO, et al. Low level laser therapy accelerates bone healing in spinal cord injured rats [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2016, 159: 179-185. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.03.041.
- [3] 周君, 陈勤. 神经细胞尼氏体染色方法改良 [J]. *生物学杂志*, 2010, 27 (5): 94-95. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9632.2010.05.094. Zhou J, Chen Q. Improvement in dye methods to neurons Nissl bodies [J]. *J Biology*, 2010, 27 (5): 94-95. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9632.2010.05.094.
- [4] 张凤久, 张丽敏, 林安岭, 等. Wistar 大鼠视网膜神经元高糖模型葡萄糖浓度和培养时间的筛选 [J]. *眼科新进展*, 2016, 36 (12): 1113-1115. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0297. Zhang FJ, Zhang LM, Lin AL, et al. Filtering glucose concentration and culture time of Wistar rat retinal neurons in high glucose model [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2016, 36 (12): 1113-1115. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0297.
- [5] 彭飞, 郑亚东, 徐西强, 等. 620 nm 低能量红光对骨髓间充质干细

- 胞成骨分化的影响[J]. 激光生物学报, 2011, 20(3): 285-288. DOI:10.3969/j.issn.1007-7146.2011.03.001.
- Peng F, Zheng YD, Xu XQ, et al. 620 nm red light enhances osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells [J]. Acta Laser Biology Sinica, 2011, 20(3): 285-288. DOI: 10.3969/j.issn.1007-7146.2011.03.001.
- [6] van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PH, et al. Decreased retinal ganglion cell layer thickness in patients with type 1 diabetes [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(7): 3660-3665. DOI: 10.1167/iov.09-5041.
- [7] Bloodworth JM. Diabetic retinopathy [J]. Diabetes, 1962, 11(1): 1-22.
- [8] Barber AJ, Lieth E, Khin SA, et al. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin [J]. J Clin Invest, 1998, 102(4): 783-791. DOI: 10.1172/JCI2425.
- [9] Chhablani J, Sharma A, Goud A, et al. Neurodegeneration in type 2 diabetes: evidence from spectral-domain optical coherence tomography [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(11): 6333-6338. DOI: 10.1167/iov.15-17334.
- [10] Jansson RW, Raeder MB, Krohn J. Photopic full-field electroretinography and optical coherence tomography in type 1 diabetic retinopathy [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2015, 253(7): 989-997. DOI: 10.1007/s00417-015-3034-y.
- [11] Zhang W, Yu H, Zou W, et al. Cbl-b and PI3K/Akt pathway are differently involved in oxygen-glucose deprivation preconditioning in PC12 cells [J]. Chin Med J (Engl), 2013, 126(21): 4132-4138.
- [12] 崔瑞冰, 阎宝甜, 孙晓萌, 等. 钙池操纵的钙离子通道在乙醇诱导的原代肝细胞钙超载及损伤中的作用 [J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(11): 860-864. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.11.014.
- Cui RB, Kan BT, Sun XM, et al. Role of store-operated Ca^{2+} channels in primary hepatocytes under conditions of calcium overload and ethanol induced injury [J]. Chin J Hepatology, 2013, 21(11): 860-864. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.11.014.
- [13] 王冰水. 低强度激光疗法促进组织修复的研究进展 [J]. 中国康复, 2011, 18(6): 448-450. DOI: 10.3870/zgkf.2011.06.024.
- Wang BS. Advances of low intensity laser therapy in promoting tissue repair [J]. Chin J Rehabil, 2011, 18(6): 448-450. DOI: 10.3870/zgkf.2011.06.024.
- [14] 李方晖, 杨海平. 弱光调节炎症反应和促进肌肉再生研究进展 [J]. 中国运动医学杂志, 2013, 32(5): 453-461. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6710.2013.05.013.
- Li FH, Yang HP. Advances in studies on low-light regulation of inflammatory response and promotion of muscle regeneration [J]. Chin J Sports Med, 2013, 32(5): 453-461. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6710.2013.05.013.
- [15] Tim CR, Bossini PS, Kido HW, et al. Effects of low level laser therapy on inflammatory and angiogenic gene expression during the process of bone healing: a microarray analysis [J]. J Photochem Photobiol B, 2016, 154: 8-15. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2015.10.028.
- [16] Chabert R, Fouque L, Pinacolo S, et al. Evaluation of light-emitting diodes (LED) effect on skin biology (*in vitro* study) [J]. Skin Res Technol, 2015, 21(4): 426-436. DOI: 10.1111/srt.12210.
- [17] Magri AM, Fernandes KR, Assis L, et al. Photobiomodulation and bone healing in diabetic rats; evaluation of bone response using a tibial defect experimental model [J]. Lasers Med Sci, 2015, 30(7): 1949-1957. DOI: 10.1007/s10103-015-1789-3.

(收稿日期: 2017-05-11)

(本文编辑: 尹卫靖)

读者 · 作者 · 编者

眼科常用英文缩略语名词解释

- AMD: 年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration)
- ANOVA: 单因素方差分析 (one-way analysis of variance)
- BUT: 泪膜破裂时间 (breakup time of tear film)
- DR: 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy)
- EAU: 实验性自身免疫性葡萄膜炎 (experimental autoimmune uveitis)
- EGF: 表皮生长因子 (epidermal growth factor)
- ELISA: 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay)
- ERG: 视网膜电图 (electroretinogram)
- FFA: 荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography)
- FGF: 成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor)
- GFP: 绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein)
- IFN- γ : γ 干扰素 (interferon- γ)
- IL: 白细胞介素 (interleukin)
- IOL: 人工晶状体 (intraocular lens)
- IRBP: 光间受体视黄类物质结合蛋白 (interphotoreceptor retinoid binding protein)
- LASIK: 准分子激光原位角膜磨镶术 (laser in situ keratomileusis)
- ICGA: 吲哚菁绿血管造影 (indocyanine green angiography)
- LECs: 晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells)
- miRNA: 微小 RNA (microRNA)
- MMP: 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase)
- mTOR: 哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin)
- MTT: 四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium)
- NF: 核转录因子 (nuclear factor)
- OCT: 光学相干断层扫描 (optical coherence tomography)
- OR: 优势比 (odds ratio)
- PACG: 原发性闭角型青光眼 (primary angle-closure glaucoma)
- PCR: 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction)
- RGCs: 视网膜节细胞 (retinal ganglion cells)
- POAG: 原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma)
- RPE: 视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium)
- RNV: 视网膜新生血管 (retinal neovascularization)
- RP: 视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa)
- S I t: 泪液分泌试验 (Schirmer I test)
- shRNA: 小发夹 RNA (short hairpin RNA)
- siRNA: 小干扰 RNA (small interfering RNA)
- α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin)
- TAO: 甲状腺相关眼病 (thyroid-associated ophthalmopathy)
- TGF: 转化生长因子 (transforming growth factor)
- TNF: 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor)
- UBM: 超声生物显微镜 (ultrasound biomicroscope)
- VEGF: 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor)
- VEP: 视觉诱发电位 (visual evoked potential)

(本刊编辑部)