

· 实验研究 ·

经房角镜光凝小梁网法建立慢性高眼压大鼠模型及其与经角膜缘光凝法的比较

马迪 黄楚开 岑令平 张铭志

515041 汕头, 汕头大学·香港中文大学联合汕头国际眼科中心

通信作者: 张铭志, Email: zms@jsiec.org

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.07.002

【摘要】 **背景** 慢性高眼压动物模型的建立是青光眼发病机制研究的基础, 以往激光光凝建立慢性高眼压动物模型的方法存在模型眼压波动大, 需要重复光凝和并发症多的问题, 造模方法的改良对于顺利开展相关的实验研究具有重要意义。 **目的** 用经房角镜光凝小梁网法建立大鼠慢性高眼模型, 并与以往的经角膜缘光凝法进行比较。 **方法** 选取 8~12 周龄清洁级 Fischer344 大鼠 36 只, 将动物分为正常对照组、经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组, 每组 12 只, 经角膜缘光凝组采用 532 nm YAG 激光经角膜缘光凝大鼠右眼小梁网建立慢性高眼压模型, 激光能量为 440~500 mW, 激光光斑 40~60 个; 经房角镜光凝组激光能量为 800~850 mW, 激光光斑 100~120 个。光凝后用 Tonolab 眼压计测量并观察各组大鼠眼压变化; 于光凝后第 3 周每组处死 5 只大鼠, 分离视网膜, 采用免疫荧光技术检测并比较各组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性的视网膜神经节细胞 (RGCs) 数目。实验动物的使用及喂养遵循 ARVO 声明。 **结果** 造模后 3 周各组大鼠一般情况可, 眼表无明显损伤。经角膜缘光凝组和房角镜光凝组慢性高眼压模型的成模率分别为 75% 和 100%。正常对照组、经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠模型眼造模后 3 周的平均眼压分别为 (11.0±1.3)、(23.4±12.6) 和 (25.3±4.9) mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 峰眼压分别为 (12.3±1.0)、(50.5±7.3) 和 (44.3±12.3) mmHg, 组间总体比较差异均有统计学意义 ($F=25.496, 80.762$, 均 $P<0.001$), 其中经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠模型眼平均眼压均明显高于正常对照组, 差异均有统计学意义 (均 $P<0.001$), 而 2 个组间平均眼压和峰眼压差异均无统计学意义 ($P=1.000, 0.195$)。正常对照组、经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 数目分别为 (2048.2±148.5)、(645.2±177.1) 及 (1223.7±148.6)/mm², 总体比较差异有统计学意义 ($F=98.767, P<0.001$), 其中经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 数目均明显少于正常对照组, 且经角膜缘光凝组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 数目明显少于经房角镜光凝组, 差异均有统计学意义 (均 $P<0.01$)。 **结论** 经房角镜光凝小梁网能够诱导大鼠慢性高眼压并导致 RGCs 损害, 但眼压升高模式及 RGCs 损害程度与经角膜缘光凝法有所不同, 经房角镜光凝法建立慢性高眼压模型成模率更高。

【关键词】 动物模型; 激光光凝; 小梁网/手术; 青光眼; 高眼压/病理; 视网膜神经节细胞/病理; 近交系 F344 大鼠

基金项目: 教育部高等学校博士点专项基金博导项目 (20114402110005)

Establishment of chronic ocular hypertension rat model by transgoniscope laser photocoagulation to trabecular meshwork and its comparison with translimbal laser photocoagulation Ma Di, Huang Chukai, Cen Lingping, Zhang Mingzhi

International Eye Center, Joint Shantou University and Chinese University of Hong Kong, Shantou 515041, China

Corresponding author: Zhang Mingzhi, Email: zms@jsiec.org

【Abstract】 **Background** The establishment of chronic ocular hypertension is a basis for the research of glaucoma. Previous laser photocoagulation method to establish ocular hypertension model showed obvious fluctuation of intraocular pressure (IOP) and complications and need repeatedly photocoagulation. Improvement of modeling method is of important significance for glaucoma. **Objective** This study was to establish chronic ocular hypertension rat models by transgoniscope laser photocoagulation to trabecular meshwork and to compare this method with previous

translimbal laser photocoagulation. **Methods** Thirty-six 8 to 12-week-old clean grade Fischer344 rats were collected and divided into normal control group, translimbal laser photocoagulation group and transgonioscope laser photocoagulation group, 12 rats for each group. Five hundred and thirty-two nm YAG laser was used to photocoagulate trabecular meshwork translimbally in the right eyes of rats in the translimbal laser photocoagulation group, with the laser power 440–500 mW and spots 40–60, and the photocoagulation was performed transgonioscopely in the right eyes of rats in the transgonioscope laser photocoagulation group, with the laser power 800–850 mW and spots 100–120. IOP was measured by using Tonolab tonometer in all the rats after modeling. The rats were sacrificed 3 weeks after modeling and retinas were isolated, the Tuj-1 positive retinal ganglion cells (RGCs) were counted by immunofluorescence technology. The use and care of the animals followed the Statement of ARVO. **Results** The successful rate of establishment of models was 75% in the translimbal laser photocoagulation group and 100% in the transgonioscope laser photocoagulation group. The mean IOP was (11.0 ± 1.3) , (23.4 ± 12.6) and (25.3 ± 4.9) mmHg, and the peak IOP was (12.3 ± 1.0) , (50.5 ± 7.3) and (44.3 ± 12.3) mmHg in the normal control group, transgonioscope laser photocoagulation group and translimbal laser photocoagulation group, respectively, with significant differences among the groups ($F=25.496, 80.762$, both at $P<0.001$), and the mean IOP was significantly higher in the transgonioscope laser photocoagulation group and translimbal laser photocoagulation group than that in the normal control group (all at $P<0.001$), and no significant differences in the mean and peak IOP between transgonioscope laser photocoagulation group and translimbal laser photocoagulation group ($P=1.000, P=0.195$). The numbers of Tuj-1 positive RGCs in the retinas were (2048.2 ± 148.5) , (645.2 ± 177.1) and $(1223.7 \pm 148.6)/\text{mm}^2$ in the normal control group, transgonioscope laser photocoagulation group and translimbal laser photocoagulation group, showing a significant difference among the groups ($F=98.767, P<0.001$). The number of Tuj-1 positive RGCs was considerably reduced in the transgonioscope laser photocoagulation group and translimbal laser photocoagulation group compared with the normal control group and the number of Tuj-1 positive RGCs was low in the translimbal laser photocoagulation group compared with the transgonioscope laser photocoagulation group (all at $P<0.001$). **Conclusions** Transgonioscope laser photocoagulation targeting trabecular meshwork can induce chronic ocular hypertension and RGCs losing. However, its pattern is different from translimbal laser photocoagulation. Transgonioscope laser photocoagulation has a higher successful rate of chronic ocular hypertension than that of translimbal laser photocoagulation.

[Key words] Disease models, animal; Laser coagulation; Trabecular meshwork/surgery; Ocular hypertension/pathology; Retinal ganglion cells/pathology; Rat, inbred F344

Fund program: Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (20114402110005)

青光眼是一类以视神经受损以及特征性视野缺损为特征的眼科疾病,其主要病理特征是多种因素导致的视网膜神经节细胞(retinal ganglial cells, RGCs)死亡和凋亡,而病理性眼压升高是其主要的致病因素^[1]。迄今为止,青光眼的发病及视神经损害机制尚未完全阐明。慢性高眼压动物模型能够较好地模拟人青光眼视网膜神经损伤的病理过程,对相关病理机制的研究有重要作用。目前,常用的鼠类慢性高眼压模型构建方法包括激光光凝法、注射高渗盐水法及烧灼、结扎巩膜浅层静脉法和前房注射微粒法等。每种模型各有优缺点^[2],目前尚无一致公认的理想或标准模型,造模方法的改良对于顺利开展相关的实验研究具有重要意义。激光光凝法诱导的慢性高眼压动物模型已经被多次报道应用于实验研究,包括采用氩激光或二极管激光光凝角巩膜缘小梁网对应的表区域、光凝角膜缘静脉丛及经角膜以一定角度光凝周边房角及小梁网组织等方法^[3-4],具有易操作、省时、炎症反应轻、RGCs 损

害明显及可通过调整激光能量控制眼压升高幅度的特点,具有较好的代表性,但该方法需重复激光以维持眼压^[3,5-6],眼压波动明显,组内个体差异大,且易损害眼部血液循环或者周围组织,引起前房出血、角膜病变等并发症^[7]。既往有报道灵长类动物应用 Argon 激光房角镜下直接光凝小梁网组织可诱导慢性高眼压^[8],但灵长类动物的价格昂贵,相关的鼠类慢性高眼压制作方法和效果鲜见报道,探讨鼠慢性青光眼模型新的制作方法可为慢性高眼压发病机制和治疗研究提供方法学基础。Smith 等^[9]应用房角镜成功观察鼠类房角结构及形态,使得房角镜下激光光凝内部小梁网诱导慢性高眼压模型方法应用于鼠类成为可能。本研究拟建立房角镜下激光光凝小梁网的方法诱导大鼠慢性高眼压动物模型。从诱导方法及实验条件的相似性等方面考虑,本研究对经房角镜及经角膜缘激光光凝小梁网两种慢性高眼压建模方法的效果进行比较。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选用 8~12 周龄健康成年 Fischer344 大鼠 36 只,雌雄各半,由北京维通利华实验动物技术有限公司供应。实验动物按清洁级标准于 12 h 明/12 h 暗环境中饲养。将实验动物分为正常对照组、经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组,每组 12 只。实验操作和实验动物的喂养均遵循 ARVO 声明。本研究通过汕头国际眼科中心动物伦理委员(EC20110310(2)-P01)会审核通过。

1.1.2 主要试剂及仪器 盐酸氯胺酮(福建古田药业有限公司);甲苯噻嗪(德国 Sigma 公司);小鼠抗大鼠 III β -Tubulin (Tuj-1) 一抗(MMS-435P, 1:400, 美国 Covance 公司);兔抗小鼠 IgG (Cy3) 二抗(92680, 1:400, 美国 Jackson 公司)。532Vitra 型 YAG 激光(法国光太公司);Tonolab 眼压计(芬兰 Toilat 公司);E1000 型荧光显微镜(日本 Nikon 公司)。

1.2 方法

1.2.1 慢性高眼压模型的制作 参照既往大鼠角膜缘激光光凝小梁网诱导慢性高眼压模型(0.4~1.0 W, 0.2~0.7 s, 50 μ m)及灵长类动物房角镜下激光小梁网诱导慢性高眼压模型(1.0~1.5 W, 0.5 s, 50 μ m)中应用的激光参数^[5,8],以激光激发后靶点出现轻微变白或收缩作为有效激光光凝标准,激光后眼压能够达到预期眼压而不会过多增加额外性损伤的最小能量及最少点数为原则,经预实验进行调整后制定激光参数。(1)经角膜缘激光光凝小梁网法 将 100 mg/ml 盐酸氯胺酮和 20 mg/ml 甲苯噻嗪等体积混合,按 1.5 ml/kg 的剂量腹腔内注射混合液麻醉大鼠。用波长为 532 nm YAG 激光光束经角膜缘光凝右眼小梁网,激光能量为 440~500 mW,发射时间 0.7 s,光斑直径 100 μ m,共发射 40~60 个激光斑。光凝后 1 周观察眼压变化,若激光眼与对侧眼之间的眼压差小于 6 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)则重复光凝。(2)房角镜下激光光凝小梁网法 用与上述同样的方法麻醉大鼠,用上述激光仪于房角镜下直接光凝大鼠右眼小梁网组织,激光能量为 800~850 mW,发射时间为 0.7 s,光斑直径为 100 μ m,发射 100~120 个激光斑。

1.2.2 眼压测量 大鼠于清醒平静状态下使用 Tonolab 眼压计测量眼压。测量时保持眼压计置于角膜水平位置,测量探头距离角膜顶点约 3~5 mm,与视轴之间的夹角小于 25°。分别于光凝后 1 d 及此后每周 2 次测量眼压,取连续 3 次测量的平均值。眼压测

量均在 9:00~12:00 由同一检测人员完成,以减少测量偏差及昼夜波动对眼压造成的影响。参照 Aihara 等^[10]的造模后 4 周内平均眼压升高 30% 以上即为模型成功的标准评价本研究的成模率。

1.2.3 免疫荧光染色法检测大鼠 RGCs 的存活情况

于大鼠造模后 21 d 腹腔内注射麻醉后用生理盐水及质量分数 4% 多聚甲醛溶液心脏灌注法处死大鼠,每组 5 只,待上肢及头颈僵硬后摘出右侧眼球并完整分离出视网膜,置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 60 min, PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,加封闭液(体积分数 10% 羊血清、体积分数 4% Triton-X100 的 PBS),室温封闭 1 h,吸去多余液体,添加小鼠抗大鼠 III β -Tubulin (Tuj-1) 一抗,湿盒 4 $^{\circ}$ C 孵育 1 d, PBS 洗 3 次,每次 5 min,添加兔抗小鼠 IgG (Cy3) 二抗,湿盒 4 $^{\circ}$ C 过夜, PBS 洗 3 次,每次 5 min,铺片,用体积分数 50% 甘油封片,荧光显微镜下观察,在绿色荧光激发下显示红色荧光者为存活的 RGCs。由同一个未知实验分组的技术人员在 200 倍视野下计数一定区域内(0.5 mm \times 0.5 mm 范围)呈现红色荧光的 RGCs 数量,参照文献^[11]的方法从左到右、从上到下移动计数,上下左右间隔恒定区域(0.5 mm \times 0.5 mm),每个视网膜计数约 40 个区域,各象限及距离视神经不同部位均有一定数量的计数区域纳入。计算视网膜上所有计数区域阳性细胞的平均值(/mm²)代表该视网膜的 RGCs 整体水平。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)进行统计分析,本研究中测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布,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、经房角镜光凝组和经角膜缘光凝组间大鼠眼压和 Tuj-1 阳性 RGCs 数目的总体差异比较均采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Bonferroni 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 大鼠造模后一般情况

大鼠精神状态可,眼部组织完整,未发现上皮损伤。经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组光凝后 3 周的成模率分别为 75% 和 100%。

2.2 各组大鼠眼压变化

正常对照组眼压始终稳定于基线水平,平均眼压(11.0 \pm 1.3) mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),峰眼压(12.3 \pm 1.0) mmHg。经角膜缘光凝组大鼠激光光凝眼的眼压明显升高,其中 4 只眼首次光凝后眼压持续升

高 2~3 周,其他 8 只眼光凝后第 3 天眼压明显下降,光凝后 1 周眼压恢复到正常水平,需行二次激光光凝。经角膜缘光凝组模型眼光凝后眼压波动幅度明显,呈双峰曲线,2 次峰值点与 2 次光凝时间点相对应,3 周平均眼压为 (23.4 ± 12.6) mmHg,眼压达峰时间为光凝后第 1 天和第 1 周。经房角镜光凝组大鼠单次激光光凝后眼压升高持续约 3 周,所有模型眼未进行 2 次激光,光凝后眼压呈小幅度波动曲线,走行趋势比经角膜缘光凝组更为平稳,于光凝后第 3 周时仍然高于正常对照组,眼压达峰时间为光凝后第 1 天和第 10 天。

正常对照组、经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠造模后 3 周眼压值和峰眼压值的总体比较差异均有统计学意义 ($F = 25.496, P < 0.001; F = 80.762, P < 0.001$),其中经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠造模后 3 周眼压值均明显高于正常对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$),但经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组间模型眼的平均眼压值及峰眼压值相近,差异均无统计学意义($P = 1.000, 0.195$) (表 1)。

表 1 各组大鼠造模后眼压值比较 ($\bar{x} \pm s$, mmHg)

| 组别 | 样本量 | 造模后 3 周眼压值 | 峰眼压值 |
|----------|-----|--------------------------|--------------------------|
| 正常对照组 | 12 | 11.0 ± 1.3 | 12.3 ± 1.0 |
| 经角膜缘光凝组 | 12 | 23.4 ± 12.6 ^a | 50.5 ± 7.3 ^a |
| 经房角镜光凝组 | 12 | 25.3 ± 4.9 ^a | 44.3 ± 12.3 ^a |
| <i>F</i> | | 25.496 | 80.762 |
| <i>P</i> | | <0.001 | <0.001 |

注:与各自的正常对照组比较,^a $P < 0.01$ (单因素方差分析, Bonferroni 检验)

2.3 各组大鼠存活的 RGCs 数目比较

造模后 3 周荧光显微镜下可见,正常对照组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 数目较多,呈红色荧光,经角膜缘光凝组大鼠视网膜中呈红色荧光的细胞最少,经房角镜光凝组大鼠视网膜中红色荧光细胞数多于经角膜缘光凝组,但少于正常对照组(图 1)。

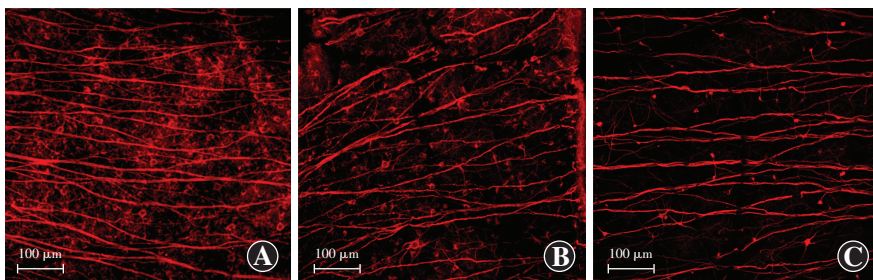


图 1 造模后 3 周各组大鼠视网膜中 RGCs 存活情况 (Cy3 × 200, 标尺 = 100 μm) A: 正常对照组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 较多,呈红色荧光 B: 经房角镜光凝大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 少于正常对照组 C: 经角膜缘光凝组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 最少

正常对照组、经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 数目分别为 $(2\ 048.2 \pm 148.5)$ 、 (645.2 ± 177.1) 和 $(1\ 223.7 \pm 148.6)/\text{mm}^2$, 3 个组间总体比较差异有统计学意义 ($F = 98.767, P < 0.001$),其中经房角镜光凝组、经角膜缘光凝组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 数目均明显低于正常对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$),且经角膜缘光凝组大鼠视网膜中 Tuj-1 阳性 RGCs 数目明显少于经房角镜光凝组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。

3 讨论

慢性高血压动物模型是青光眼基础研究的重要工具,以往常用的鼠类慢性高血压模型包括激光光凝法、注射高渗盐水法及烧灼巩膜浅层静脉法,烧灼或结扎巩膜浅层静脉法,以及通过前房注射微粒法诱导高血压^[12-15],每种模型都具有各自的优缺点。注射高渗盐水法对手术操作技术要求高,眼压升高个体差异明显;烧灼或结扎巩膜浅层静脉法,造模过程中组织创伤大,炎症、缺血等反应重,以上大多需要重复操作^[16]。氩激光或二极管激光光凝角巩膜缘小梁网或角膜缘静脉丛,或经角膜缘光凝周边房角及小梁网组织等造模过程中组织创伤及炎症反应较轻微,但模型眼并发症较多,本研究中采用经房角镜光凝小梁网的方法建立慢性高血压模型,并与经角膜缘光凝法进行比较,发现 2 种方法均可成功诱导大鼠眼压升高,经角膜缘光凝组和经房角镜光凝组大鼠造模后 3 周眼压分别为正常对照组大鼠的 1.9 倍和 2.1 倍,经房角镜光凝法单次光凝可诱导至少 3 周的持续高眼压,与激光直接、精确地破坏小梁网组织有关,这种造模方法的眼压变化呈小范围波动变化,推测这种眼压的波动与小梁网激光损伤后炎症反应及瘢痕化等病理变化有关。经角膜缘光凝小梁网造模法操作相对简单,但眼压升高持续时间短,多需二次光凝,眼压升高后波动更为明显,观察发现 2 种模型都存在组内个体间眼压

差异较为明显的问题,与既往报道的激光诱导的慢性高血压模型相似^[10],考虑此现象与模型构建操作中激光对小梁网光凝损伤效果及大鼠对激光反应的个体差异性有一定关系。

RGCs 丢失是青光眼主要的病理改变,也是评价青光眼动物模型构建是否成功的指标之一,本研究中发经房角镜光凝组和经角膜缘光凝组

大鼠眼压水平相近,但后者 RGCs 损害程度较前者更为显著,其原因可能为经房角镜直视下光凝法激光可直接作用于小梁网,极少损伤房角周边的虹膜睫状体等组织,所以因缺血、炎症等眼压以外的因素诱导的继发性 RGCs 损伤概率大大降低。经角膜缘光凝组模型眼眼压波动幅度大,尤其是 2 次激光的大鼠,很可能对视网膜形成缺血-再灌注损伤,从而加剧视神经损伤。这种不同的诱导高眼压方式和视网膜缺血特点不同,也为相关的实验研究过程中针对不同青光眼损伤机制进行干预或治疗提供了依据和选择。

本研究中发现,虽然经角膜缘光凝法与经房角镜光凝法造模时所用的激光能量及发射点数不同,但诱导的平均眼压水平相近,分析其原因如下:(1)角膜缘周围血管较为丰富,对激光能量的吸收性强,反应较为敏感,因此较低的激光能量即可产生明显的效应,而在房角镜指引下光凝其激光可精准靶向小梁网组织,正常情况下该部位无血管分布,且本实验用的是无色素大鼠,其小梁网部位基本没有色素细胞,因而对激光的吸收能力及作用效能均明显降低。房角镜下激光光凝具有色素组织的小梁网所需激光能量为 500 ~ 1 500 mW^[8,17],对于以形成小梁组织损伤为目的无色素大鼠而言,本研究中采用的激光能量在合理范围内。此外,激光在经房角镜时能量可能会有部分减弱,而且由于经房角镜光凝下定位准确,对周边组织的损伤可控制在可预见的最小程度内,因此增加激光参数并未造成更多的眼部并发症及加重 RGCs 的损害。

既往应用房角镜下激光光凝小梁网主要是灵长类动物,此种动物应用房角镜易于观察和操作,但也存在检查困难、饲养成本及条件较高、只能小样本研究等缺点。本研究中应用 Fischer344 大鼠以相同方法进行模型构建并取得成功,啮齿类动物的自身优点填补了以往灵长类动物应用受限等方面的不足。

本研究中在房角镜辅助下采用激光光凝小梁网可以诱导大鼠慢性高眼压模型,该模型高眼压状态和 RGCs 损害情况稳定,较以往报道的激光诱导慢性高眼压模型效果更好,为青光眼相关的实验研究提供了一个新的造模方法。但本研究中也存在一定的不足,如尚未对 2 种造模方法诱导的模型眼眼压的波动情况进行比较分析,也未对模型眼的视网膜功能改变进行检测,此外本研究中模型眼的观察时间较短,尚待在后续的工作中进一步完善。

参考文献

[1] Vargas JL, di Polo A. Neuroinflammation in glaucoma: soluble tumor

necrosis factor alpha and the connection with excitotoxic damage[J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11(3): 424-426. DOI: 10.4103/1673-5374.179053.

- [2] 刘丽芳,张铭志. 鼠类慢性高血压模型的研究进展[J]. *中华眼科杂志*, 2009, 45(7): 668-668.
Liu LF, Zhang MZ. Progress of chronic ocular hypertensive glaucoma in rodents[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2009, 45(7): 668-668.
- [3] Ueda J, Sawaguchi S, Hanyu T, et al. Experimental glaucoma model in the rat induced by laser trabecular photocoagulation after an intracameral injection of India ink[J]. *Jpn J Ophthalmol*, 1998, 42(5): 337-344.
- [4] Ebner A, Casson RJ, Wood JP, et al. Estimation of axon counts in a rat model of glaucoma: comparison of fixed-pattern sampling with targeted sampling[J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2012, 40: 626-633. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2011.02741.x.
- [5] Levkovich-Verbin H, Quigley HA, Martin KR, et al. Translimbal laser photocoagulation to the trabecular meshwork as a model of glaucoma in rats[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(2): 402-410.
- [6] Goldblum D, Mittag T. Prospects for relevant glaucoma models with retinal ganglion cell damage in the rodent eye[J]. *Vision Res*, 2002, 42(4): 471-478.
- [7] Ji J, Chang P, Pennesi ME, et al. Effects of elevated intraocular pressure on mouse retinal ganglion cells[J]. *Vision Res*, 2005, 45(2): 169-179.
- [8] Lu W, Hu H, Sévigny J, et al. Rat, mouse, and primate models of chronic glaucoma show sustained elevation of extracellular ATP and altered purinergic signaling in the posterior eye[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(5): 3075-3083. DOI: 10.1167/iovs.14-15891.
- [9] Smith RS, Korb D, John SW. A gonioscope for clinical monitoring of the mouse iridocorneal angle and optic nerve[J]. *Mol Vis*, 2002, 8: 26-31.
- [10] Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN. Experimental mouse ocular hypertension: establishment of the model[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(10): 4314-4320.
- [11] Cen LP, Luo JM, Geng Y, et al. Long-term survival and axonal regeneration of retinal ganglion cells after optic nerve transection and a peripheral nerve graft[J]. *Neuroreport*, 2012, 23(11): 692-697. DOI: 10.1097/WNR.0b013e328355f1d6.
- [12] Yu S, Tanabe T, Yoshimura N. A rat model of glaucoma induced by episcleral vein ligation[J]. *Exp Eye Res*, 2006, 83(4): 758-770.
- [13] Moreno MC, Marcos HJ, Oscar Croxatto J, et al. A new experimental model of glaucoma in rats through intracameral injections of hyaluronic acid[J]. *Exp Eye Res*, 2005, 81(1): 71-80.
- [14] Miyara N, Shinzato M, Yamashiro Y, et al. Proteomic analysis of rat retina in a steroid-induced ocular hypertension model: potential vulnerability to oxidative stress[J]. *Jpn J Ophthalmol*, 2008, 52(2): 84-90. DOI: 10.1007/s10384-007-0507-5.
- [15] Sappington RM, Carlson BJ, Crish SD, et al. The microbead occlusion model: a paradigm for induced ocular hypertension in rats and mice[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(1): 207-216. DOI: 10.1167/iovs.09-3947.
- [16] Pang IH, Clark AF. Rodent models for glaucoma retinopathy and optic neuropathy[J]. *J Glaucoma*, 2007, 16(5): 483-505.
- [17] Quigley HA, Hohman RM. Laser energy levels for trabecular meshwork damage in the primate eye[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1983, 24(9): 1305-1307.

(收稿日期:2016-02-21)

(本文编辑:尹卫靖)