

## 锰离子增强 MRI 活体视神经示踪技术研究进展

陈瑶 综述 胡运韬 马志中 审校

102218 北京,北京清华长庚医院眼科

通信作者:胡运韬,Email:ythu203@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.06.018

**【摘要】** 锰离子增强 MRI(MEMRI)视神经示踪利用  $Mn^{2+}$  可在神经细胞轴索内运输并跨突触传递和其顺磁性特点可反映视神经轴浆流和视路连接情况,被广泛应用于视神经示踪研究,是一种极具潜力的神经示踪技术。 $Mn^{2+}$  通过钙离子门控通道进入细胞后通过不依赖电活动的微管系统的慢性轴浆运输,但其跨突触传递则需要细胞电活动的参与。眼科可利用 MEMRI 的特点进行视神经损伤相关的研究。 $Mn^{2+}$  属于细胞内 MRI 增强剂且具有金属毒性,给药宜多次少量靶点给药。就  $Mn^{2+}$  神经示踪的机制、MEMRI 在眼科研究中的应用、 $Mn^{2+}$  给药途径及其毒性做一概述。

**【关键词】** 锰离子; 磁共振; 视神经

**基金项目:** 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(2011CB707506)

**Research progress of Manganese-enhanced MRI optic nerve tracing in vivo** Chen Yao, Hu Yuntao, Ma Zhizhong

Department of Ophthalmology, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, Beijing 102218, China

Corresponding author: Hu Yuntao, Email: ythu203@163.com

**【Abstract】** Manganese-enhanced MRI (MEMRI) optic nerve tracing *in vivo* is a technology which can reflect the axonal transport status and visual pathway connection by utilizing divalent manganese ion's transportability in axons and its characteristics of paramagnetism, and such potential optic nerve tract-tracing technique has been widely used in ophthalmologic research.  $Mn^{2+}$  enters the neurons through the voltage-gating  $Ca^{2+}$  channel and is transported by microtubule system which is not depended on cellular electric activity. However, the trans-synaptic transport of  $Mn^{2+}$  relies on membrane potential. Taking advantages of MEMRI, optic nerve injury-related research could be implemented.  $Mn^{2+}$  is an intracellular contrast agent with metal toxicity, so low dose, fractionated, targeted delivery of  $Mn^{2+}$  is recommended to alleviate the adverse effects of  $Mn^{2+}$ . Herein, the mechanism of divalent manganese ion optic nerve tracing, application of MEMRI in ophthalmologic research field, drug delivery approach of divalent  $Mn^{2+}$  and its toxicity were summarized.

**【Key words】** Manganese; MRI; Optic nerve

**Fund program:** National Program on Key Basic Research Project (973 Program) (2011CB707506)

神经示踪技术有碳花青染料法<sup>[1]</sup>、生物素化葡聚糖法<sup>[2]</sup>、辣根过氧化物酶法<sup>[3]</sup>、荧光金法<sup>[4]</sup>和单疱病毒技术<sup>[5]</sup>等,这些方法都需要处死动物获取标本进行神经组织观察,不利于纵向观察。活体神经示踪方法有锰离子增强 MRI (manganese-enhanced MRI, MEMRI) 和功能性核磁共振成像 (functional magnetic resonance imaging, fMRI) 神经纤维示踪技术。利用  $Mn^{2+}$  可在神经细胞轴索内运输并跨突触传递和其顺磁性特点, MEMRI 视神经示踪可反映视神经轴浆流和视路连接情况,并被广泛应用于视神经示踪研究,是一种极具潜力的神经示踪技术。fMRI 的原理是基于神经元功能活动对局部氧耗量和脑血流影响程度不匹配而导致的局部磁场性质变化,该技术成像质

量受各种因素影响,最重要的是无法反映神经轴浆流的情况<sup>[6]</sup>,而 MEMRI 既可对视神经成像,又可反映神经轴浆流的情况。

$Mn^{2+}$  存在 5 个不成对电子,可缩短 MRI T1 弛豫时间产生高亮的对比增强效果<sup>[7-8]</sup>。 $Mn^{2+}$  作为 MRI 增强剂,主要应用于以下 3 个方面:(1)解剖细节的增强;(2)可兴奋细胞的评估;(3)神经走行与连接的示踪<sup>[9]</sup>,这些功能使  $Mn^{2+}$  作为一种有巨大潜力的 MRI 增强剂广泛应用于神经系统<sup>[10]</sup>、心脏<sup>[11]</sup>、消化系统<sup>[12]</sup>等的研究。视神经外伤、青光眼、视神经炎等眼科疾病均可导致视神经节细胞的萎缩丢失,其本质是视神经节细胞轴浆流的中断与功能低下。利用  $Mn^{2+}$  可被吞噬进入神经细胞内并沿轴浆流运输的特点以及  $Mn^{2+}$  的顺磁性特点,神经细胞在

MEMRI 下可表现出 T1 阳性增强的效果,具有良好的组织鉴别能力,可以直观地评估神经的功能。

锰元素是一种动植物体所必需的微量元素,但过量的锰可产生细胞毒性。研究者对  $Mn^{2+}$  进行各种化学修饰以降低其细胞毒性,主要修饰方式有锰有机小分子螯合物、锰高分子螯合物、锰纳米粒子<sup>[13-14]</sup>。但是经化学修饰与改造的  $Mn^{2+}$  增强剂大多属于血池与肝胆系统的 MRI T1 增强剂,不能进入细胞内,故目前研究多采用  $Mn^{2+}$  的神经示踪。本文就目前 MEMRI 神经示踪的机制、眼科研究中的应用、给药途径和毒性进行综述。

## 1 $Mn^{2+}$ 神经示踪机制

目前比较公认的机制认为  $Mn^{2+}$  通过细胞膜上的电压门控钙通道进入可兴奋神经细胞内,并且通过轴突的微管传输系统进行细胞内传递到达突触部位,突触囊泡释放的  $Mn^{2+}$  被下一级神经元再摄取,同时  $Mn^{2+}$  的顺磁性可缩短 T1 弛豫时间,产生高亮的阳性增强,在远处非研究区域给药便可增强研究区域的信号, MEMRI 便是利用了其上述特点完整地将视觉通路显现<sup>[15]</sup>。

Leuze 等<sup>[16]</sup> 通过谷氨酸兴奋  $Ca^{2+}$  通道和异搏定拮抗  $Ca^{2+}$  通道发现,  $Ca^{2+}$  通道开放时细胞内  $Mn^{2+}$  浓度随之升高,而当  $Ca^{2+}$  通道关闭时细胞内的  $Mn^{2+}$  浓度低于细胞外,证明  $Mn^{2+}$  通过  $Ca^{2+}$  通道进出细胞。Serrano 等<sup>[17]</sup> 通过给予异氟烷减少突触囊泡的释放或者给予美金刚减少突触后  $Ca^{2+}$  离子的摄取可以使锰转运系数下降,说明  $Mn^{2+}$  是通过突触囊泡释放和钙通道再摄取传递的。CBA 盲鼠 (Rd1<sup>-/-</sup>) 尽管有完整的视网膜与神经突触连接,但由于缺乏感光细胞,故无视觉诱发电位。Bearer 等<sup>[18]</sup> 研究发现,在 CBA 盲鼠的玻璃体腔内注入  $MnCl_2$  溶液后其视神经与正常小鼠一样可被增强,说明  $Mn^{2+}$  被神经节细胞摄取和轴索传导不依赖于电活动,但是在 CBA 鼠中脑  $Mn^{2+}$  信号的增强并不明显,而正常对照小鼠中脑  $Mn^{2+}$  信号有明显增强,推测  $Mn^{2+}$  的跨突触转运需要神经电活动。Bearer 等<sup>[18]</sup> 进一步研究发现,往驱动蛋白轻链 1 敲除小鼠 (KLC<sup>-/-</sup>) 玻璃体腔内注入  $MnCl_2$  后 2.5 h 视神经才开始出现信号增强,时间明显长于正常对照鼠,但是 24 h 后 KLC1<sup>-/-</sup> 鼠与正常对照鼠视神经增强程度无明显差异,信号增强的延迟现象说明  $Mn^{2+}$  的运输不单有驱动蛋白的参与,应该还有其他微管转运机制的参与。其他大量的轴突传递缺陷模型也提示,  $Mn^{2+}$  是通过轴突微管系统传递运输的<sup>[19-21]</sup>。王玮玲等<sup>[22]</sup> 研究发现,  $Mn^{2+}$  在视觉通路中的传导速度约为  $(3.32 \pm 0.19)$  mm/h, 与 Pautler 等<sup>[23]</sup> 研究 2 mm/h 的结果接近,属于慢速轴浆运输,这个特点使得  $Mn^{2+}$  增强效果最佳的时间为给药后 24 h。  $Mn^{2+}$  的细胞内转运机制可以很好地解释给药后  $Mn^{2+}$  只沿神经轴索投射的方向传递而不往其他部位扩散的原因。

## 2 MEMRI 神经示踪在眼科研究中的应用

视神经损伤是眼科常见病,视神经损伤后视神经和视网膜细胞都将出现凋亡<sup>[24]</sup>。视神经的损伤程度关系到治疗时机的选择和治疗效果的评估,甚至可以为将来人工视觉假体的植入提供直接的参考<sup>[25]</sup>。Sandvig 等<sup>[26-27]</sup> 利用 MEMRI 观察评估可

再生动物视神经再生现象,认为 MEMRI 可作为一种有用的检查手段发现视神经的损伤程度, Feng 等<sup>[28]</sup> 利用反方向镊制作不同程度的视神经损伤模型,经视觉诱发电位和神经节细胞技术确认损伤程度后玻璃体腔内注入  $2 \mu\text{l}$  25 mmol/L  $MnCl_2$  安全浓度剂量,观察发现神经损伤早期,夹持点以后的视神经对比信噪比 (contrast-to-noise ratio, CNR) 逐渐降低,与夹持力量的大小呈正相关,夹持后 14 d 和 28 d, CNR 夹持点前与夹持点后 CNR 逐渐接近一致,结果提示神经损伤早期应用 MEMRI 对确定视神经挤压位置有直接的帮助。

青光眼是临床上另一常见的致盲眼病,眼压升高是重要的危险因素。青光眼视神经功能丧失的机制并未完全明确, MEMRI 提供了一种新的方法对其进行研究。Chan 等<sup>[29]</sup> 通过对单侧眼表层巩膜和角膜缘静脉光凝阻塞房水回流制作青光眼模型,模型眼比正常眼的眼压高 1.6 倍,分别在造模后 2 周和 6 周玻璃体腔注射  $3 \mu\text{l}$  50 mmol/L  $MnCl_2$  溶液行 MEMRI 检查,研究发现相比造模后 2 周模型眼,造模后 6 周模型眼视神经 T1 增强时间滞后,相比正常眼,青光眼模型眼  $Mn^{2+}$  滞留玻璃体腔内时间延长,视盘和视网膜内  $Mn^{2+}$  浓度明显高于视神经,研究有助于阐明青光眼的发病机制。

此外, Lin 等<sup>[30]</sup> 利用 MEMRI 对脱髓鞘疾病多发性硬化视神经炎小鼠模型的研究发现,视神经轴索  $Mn^{2+}$  传输速率在中度和严重视神经炎小鼠上分别下降 43% 和 65%,轴索传输速度与视功能下降和微管相关的微管蛋白消失程度呈正相关,同样与炎症、脱髓鞘和轴索损伤程度呈正相关。

总之, MEMRI 在视神经相关疾病的发病机制研究方面有独特优势,有望在不久的将来实现临床上的应用。

## 3 $Mn^{2+}$ 玻璃体腔给药和眼表给药途径及其毒性

$MnCl_2$  属于强酸盐,极易溶于水,易溶于乙醇。  $Mn^{2+}$  在弱酸环境下稳定,碱性条件下易产生  $MnOH_2$  沉淀,故在配制  $MnCl_2$  溶液时需注意 pH 值必须低于 7.0,配制溶液时可应用 N-二甘氨酸缓冲液使  $MnCl_2$  溶液 pH 处于生理范围<sup>[31]</sup>。

$Mn^{2+}$  虽然有作为示踪剂的良好特性,但是其毒性也不能忽视。锰元素大部分通过肠道吸收,也可通过吸入含锰的粉尘进入血液,锰的日常需要量为 0.5 ~ 5.0 mg,其大鼠口服半数致死量为 250 mg/kg,小鼠为 1 031 mg/kg<sup>[31]</sup>,过量的锰元素蓄积可产生帕金森样改变<sup>[32]</sup>。

作为视神经 MRI 增强剂,锰对神经细胞的毒性大小至关重要。Luo 等<sup>[33]</sup> 通过在大鼠玻璃体腔内注射  $2 \mu\text{l}$  不同浓度的  $MnCl_2$  溶液比较其增强效果和对视网膜组织的毒性大小发现,75 mmol/L 以下视网膜组织 CNR 值与  $Mn^{2+}$  浓度呈正比,而视网膜节细胞计数则与  $Mn^{2+}$  浓度呈反比,当  $Mn^{2+}$  浓度超过 25 mmol/L 时,视网膜节细胞内核糖体数目开始增加,当  $Mn^{2+}$  浓度继续增加,视网膜节细胞的线粒体出现异常直至细胞出现破裂,故建议玻璃体腔内  $Mn^{2+}$  注射浓度以不超过 25 mmol/L 为宜。与此结论类似,王玮玲等<sup>[22]</sup> 发现兔玻璃体腔注射  $2 \mu\text{l}$  5 ~ 40 mmol/L  $MnCl_2$  溶液足以清晰显示从视神经至对侧外侧膝状体和上丘的视觉传导通路,故 5 ~ 25 mmol/L 可视作玻璃体腔

注射相对安全浓度。

由于玻璃体腔给药为有创给药方式, Sun 等<sup>[34]</sup> 尝试  $MnCl_2$  表面给药行大鼠 MEMRI 视神经示踪, 给药浓度为 1.0 ~ 1.5 mol/L, 可以清晰地勾勒出虹膜、视网膜和晶状体边界以及视神经到上丘结构, 但玻璃体腔信号无增强, 并且给药后 1 周免疫组织化学检查发现视神经无损伤, 认为表面点眼后,  $Mn^{2+}$  通过虹膜吸收进入毛细血管循环网络并渗透至视网膜, 被视网膜节细胞摄取、传递, 从而产生增强效果。同时, Sun 等<sup>[35]</sup> 发现酸性的  $MnCl_2$  溶液增强效果比中性溶液的效果更好, 且延长给药间隔时间可降低  $MnCl_2$  溶液的角膜水肿等不良反应。与 Sun 等<sup>[34]</sup> 的结论相反, Lin 等<sup>[36]</sup> 研究发现 1.00 mol/L  $MnCl_2$  溶液点眼可导致视网膜感光细胞损伤, 但视网膜节细胞和视交叉前视神经无明显损伤。同时还发现 0.75 mol/L 的  $MnCl_2$  溶液点眼即足够增强视神经信号, 但此时大鼠的视功能明显受损, 主要原因是角膜的严重水肿。此外, 与玻璃体腔注射 0.25  $\mu$ l 0.2 mmol/L  $MnCl_2$  溶液比较, 表面点眼给药不良反应更大, 重复性更差。由于眼组织屏障的存在<sup>[37]</sup>, 结合上述实验结果推测, 只有当高浓度  $Mn^{2+}$  破坏眼部屏障后才有可能实现视神经信号的增强。

Bock 等<sup>[38]</sup> 分别采用  $6 \times 30$ 、 $3 \times 60$ 、 $2 \times 90$  和  $1 \times 180$  mg/kg 剂量  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  静脉注射比较大鼠脑部 T1 增强效果, 发现全身的不良反应, 包括注射部位的坏死和动物的不适也随着单次给药剂量的增加而逐渐增多, 结果提示少量多次玻璃体腔注射给药可以用来降低  $Mn^{2+}$  的细胞毒性并作为 T1 增强剂的应用。寻找一种无创、低毒、高效的给药方式对实现 MEMRI 的临床应用具有积极的意义。

#### 4 总结

作为一种细胞内型 MRI 增强剂,  $Mn^{2+}$  可与 MRI 组成 MEMRI 视神经示踪技术, 该技术是一种极具潜力的视神经检查评估工具。鉴于  $Mn^{2+}$  的毒性, 目前 MEMRI 的挑战是以极低浓度的  $Mn^{2+}$  达到可被 MRI 探测的神经信号增强, 这涉及到给药方式的改进, 真正做到既保留  $Mn^{2+}$  的优点, 又能避免其细胞毒性, 且能达到无创。MEMRI 应用于临床的另一挑战是弄清  $Mn^{2+}$  进入神经细胞后是如何分布、扩散和清除的, 从而避免  $Mn^{2+}$  在神经细胞内蓄积产生帕金森样神经症状的可能。总之, MEMRI 视神经示踪技术仍有待于进一步的研究和发展。

#### 参考文献

- [1] Leak RK, Moore RY. Topographic organization of suprachiasmatic nucleus projection neurons [J]. *J Comp Neurol*, 2001, 433(3): 312-334.
- [2] Glover JC, Petrusdotir G, Jansen JK. Fluorescent dextran-amines used as axonal tracers in the nervous system of the chicken embryo [J]. *J Neurosci Methods*, 1986, 18(3): 243-254.
- [3] Kristensson K, Olsson Y. Retrograde axonal transport of protein [J]. *Brain Res*, 1971, 29(2): 363-365.
- [4] Schmued LC, Fallon JH. Fluoro-Gold: a new fluorescent retrograde axonal tracer with numerous unique properties [J]. *Brain Res*, 1986, 377(1): 147-154.
- [5] Norgren RB, Lehman MN. Herpes simplex virus as a transneuronal tracer [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1998, 22(6): 695-708.
- [6] Zaccà D, Agarwal S, Gujar SK, et al. Special considerations/technical limitations of blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging [J]. *Neuroimaging Clin N Am*, 2014, 24(4): 705-715. DOI:10.1016/j.nic.2014.07.006.
- [7] Burtche C, Laurent S, Vander Elst L, et al. Contrast agents; magnetic resonance [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2008 (185 Pt 1): 135-165. DOI:10.1007/978-3-540-72718-7\_7.
- [8] Geraldès CF, Laurent S. Classification and basic properties of contrast agents for magnetic resonance imaging [J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2009, 4(1): 1-23. DOI:10.1002/cmim.265.
- [9] Massaad CA, Pautler RG. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 711: 145-174. DOI: 10.1007/978-1-61737-992-5\_7.
- [10] Grünecker B, Kaltwasser SF, Zappe AC, et al. Regional specificity of manganese accumulation and clearance in the mouse brain; implications for manganese-enhanced MRI [J]. *NMR Biomed*, 2013, 26(5): 542-556. DOI:10.1002/nbm.2891.
- [11] Delattre BM, Braunersreuther V, Hyacinthe JN, et al. Myocardial infarction quantification with Manganese-Enhanced MRI (MEMRI) in mice using a 3T clinical scanner [J]. *NMR Biomed*, 2010, 23(5): 503-513. DOI:10.1002/nbm.1489.
- [12] Albiin N, Kartalis N, Bergquist A, et al. Manganese chloride tetrahydrate (CMC-001) enhanced liver MRI; evaluation of efficacy and safety in healthy volunteers [J]. *MAGMA*, 2012, 25(5): 361-368. DOI:10.1007/s10334-012-0307-x.
- [13] Pan D, Schmieder AH, Wickline SA, et al. Manganese-based MRI contrast agents; past, present and future [J]. *Tetrahedron*, 2011, 67(44): 8431-8444. DOI:10.1016/j.tet.2011.07.076.
- [14] 曾庆斌, 郭茜旋, 罗晴, 等. 锰对比剂在 MRI 中的应用 [J]. *磁共振成像*, 2014, 5(4): 315-320. DOI:10.3969/j.issn.1674-8034.2014.04.016.
- [15] Zeng QB, Guo XN, Luo Q, et al. Manganese-based contrast agents for MRI [J]. *Chin J Magn Reson Imaging*, 2014, 5(4): 315-320. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8034.2014.04.016.
- [16] Pautler RG, Mongeau R, Jacobs RE. *In vivo* trans-synaptic tract tracing from the murine striatum and amygdala utilizing manganese enhanced MRI (MEMRI) [J]. *Magn Reson Med*, 2003, 50(1): 33-39. DOI: 10.1002/mrm.10498.
- [17] Leuze C, Kimura Y, Kershaw J, et al. Quantitative measurement of changes in calcium channel activity *in vivo* utilizing dynamic manganese-enhanced MRI (dMEMRI) [J]. *Neuroimage*, 2012, 60(1): 392-399. DOI:10.1016/j.neuroimage.2011.12.030.
- [18] Serrano F, Deshazer M, Smith KD, et al. Assessing transneuronal dysfunction utilizing manganese-enhanced MRI (MEMRI) [J]. *Magn Reson Med*, 2008, 60(1): 169-175. DOI:10.1002/mrm.21648.
- [19] Bearer EL, Falzone TL, Zhang X, et al. Role of neuronal activity and kinesin on tract tracing by manganese-enhanced MRI (MEMRI) [J]. *Neuroimage*, 2007, 37 Suppl 1: S37-46. DOI:10.1016/j.neuroimage.2007.04.053.
- [20] Gallagher JJ, Zhang X, Ziomek GJ, et al. Deficits in axonal transport in hippocampal-based circuitry and the visual pathway in APP knock-out animals witnessed by manganese enhanced MRI [J]. *Neuroimage*, 2012, 60(3): 1856-1866. DOI:10.1016/j.neuroimage.2012.01.132.
- [21] Bertrand A, Khan U, Hoang DM, et al. Non-invasive, *in vivo* monitoring of neuronal transport impairment in a mouse model of tauopathy using MEMRI [J]. *Neuroimage*, 2013, 64: 693-702. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2012.08.065.
- [22] Daoust A, Bohic S, Saoudi Y, et al. Neuronal transport defects of the MAP6 KO mouse—a model of schizophrenia—and alleviation by Epothilone D treatment, as observed using MEMRI [J]. *Neuroimage*, 2014, 96: 133-142. DOI:10.1016/j.neuroimage.2014.03.071.
- [23] 王伟玲, 马志中, 李颖, 等. 锰离子对兔视网膜毒性的形态学研究 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2013, 35(1): 4-8. DOI:10.3969/j.issn.1674-6309.2013.01.002.
- [24] Wang WL, Ma ZZ, Li Y, et al. Toxicity of manganese on rabbits retina [J]. *J Ningxia Med Univer*, 2013, 35(1): 4-8. DOI:10.3969/j.issn.1674-6309.2013.01.002.
- [25] Pautler RG, Silva AC, Koretsky AP. *In vivo* neuronal tract tracing using manganese-enhanced magnetic resonance imaging [J]. *Magn Reson*



- Med, 1998, 40(5): 740-748.
- [24] Wang HC, Choi JH, Greene WA, et al. Pathophysiology of blast-induced ocular trauma with apoptosis in the retina and optic nerve [J]. *Mil Med*, 2014, 179 (8 Suppl): 34-40. DOI: 10.7205/MILMED-D-13-00504.
- [25] Luo YH, da CL. A review and update on the current status of retinal prostheses (bionic eye) [J]. *Br Med Bull*, 2014, 109: 31-44. DOI: 10.1093/bmb/ldu002.
- [26] Sandvig A, Sandvig I, Berry M, et al. Axonal tracing of the normal and regenerating visual pathway of mouse, rat, frog, and fish using manganese-enhanced MRI (MEMRI) [J]. *J Magn Reson Imaging*, 2011, 34(3): 670-675. DOI: 10.1002/jmri.22631.
- [27] Sandvig I, Sandvig A. Using manganese-enhanced MRI to assess optic nerve regeneration [J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1162: 233-249. DOI: 10.1007/978-1-4939-0777-9\_19.
- [28] Feng Y, Luo L, Ma Z, et al. *In vivo* detection of severity of optic nerve crush using manganese-enhanced magnetic resonance imaging in rats [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(3): 522-527.
- [29] Chan KC, Fu QL, Hui ES, et al. Evaluation of the retina and optic nerve in a rat model of chronic glaucoma using *in vivo* manganese-enhanced magnetic resonance imaging [J]. *Neuroimage*, 2008, 40(3): 1166-1174. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2008.01.002.
- [30] Lin TH, Kim JH, Perez-Torres C, et al. Axonal transport rate decreased at the onset of optic neuritis in EAE mice [J]. *Neuroimage*, 2014, 100: 244-253. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2014.06.009.
- [31] Silva AC, Lee JH, Aoki I, et al. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI): methodological and practical considerations [J]. *NMR Biomed*, 2004, 17(8): 532-543. DOI: 10.1002/nbm.945.
- [32] Sanchez-Betancourt J, Anaya-Martínez V, Gutiérrez-Valdez AL, et al. Manganese mixture inhalation is a reliable Parkinson disease model in rats [J]. *Neurotoxicology*, 2012, 33(5): 1346-1355. DOI: 10.1016/j.neuro.2012.08.012.
- [33] Luo L, Xu H, Li Y, et al. Manganese-enhanced MRI optic nerve tracking: effect of intravitreal manganese dose on retinal toxicity [J]. *NMR Biomed*, 2012, 25(12): 1360-1368. DOI: 10.1002/nbm.2808.
- [34] Sun SW, Campbell B, Lunderville C, et al. Noninvasive topical loading for manganese-enhanced MRI of the mouse visual system [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(6): 3914-3920. DOI: 10.1167/iov.10-6363.
- [35] Sun SW, Thiel T, Liang HF. Impact of repeated topical-loaded manganese-enhanced MRI on the mouse visual system [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(8): 4699-4709. DOI: 10.1167/iov.12-9715.
- [36] Lin TH, Chiang CW, Trinkaus K, et al. Manganese-enhanced MRI (MEMRI) via topical loading of Mn(2+) significantly impairs mouse visual acuity: a comparison with intravitreal injection [J]. *NMR Biomed*, 2014, 27(4): 390-398. DOI: 10.1002/nbm.3073.
- [37] Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, et al. Ocular drug delivery [J]. *AAPS J*, 2010, 12(3): 348-360. DOI: 10.1208/s12248-010-9183-3.
- [38] Bock NA, Paiva FF, Silva AC. Fractionated manganese-enhanced MRI [J]. *NMR Biomed*, 2008, 21(5): 473-478. DOI: 10.1002/nbm.1211.

(收稿日期: 2015-11-01)

(本文编辑: 刘艳 张宇)

读者·作者·编者

## 本刊对中英文摘要的要求

论著或综述文稿正文请撰写中英文摘要。原创性论著文稿要求为结构式摘要,包括背景(Background)、目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusions) 5个要素,摘要应能够回答以下问题:(1)为什么进行这项研究。(2)主要用什么方法进行的研究。(3)获得什么主要结果。(4)通过研究得出什么结论等。其中背景部分请概括本课题所涉及的研究内容及亟待解决的问题。目的部分为本课题对上述提出问题设立的目标。方法部分应提供研究对象、样本量、分组情况、各组的干预情况、与研究相适应的观察或检测指标,获得结局指标的手段和设备等。临床研究请说明是前瞻性研究、回顾性研究还是观察性研究。结果部分请客观描述研究的主要发现,包括主要的形态学检查表现、相关的关键性或主要的量化资料以及相应的统计学比较结果,须写明统计学量值及其概率值。结论部分请提出与本研究论据直接相关的、必然的推论,避免得出过度推测性、评价性和扩大化的结论。摘要请用第三人称客观表述,不列图表,不引用文献,不加评论和解释。英文摘要应与中文摘要内容相对应,但为了对外交流的需要,可以略详细。英文摘要应包括论文文题(正体)及全部作者姓名(汉语拼音,姓在前,首字母大写,名在后,首字母大写,双字连写。如:Yin Xiaohui)、标准化的单位名称、城市名称(汉语拼音)、邮政编码及国家名称(全部为斜体)。并请在另起一行处提供通信作者姓名的汉语拼音和Email地址,如 *Corresponding author: Yin Xiaohui, Email: xiaohui@126.com*。专家述评或综述类文稿请撰写指示性中英文摘要,摘要内容应包含研究涉及的概念、研究的目的、综述资料的来源、复习的文献量、研究的新发现或应用领域、综合的结果和结论及其意义等必要的信息。

研究论文为前瞻性研究者应在中英文摘要结束处提供临床试验注册号,以“临床试验注册(Trial registration)”为标题,提供注册机构名称和注册号。前瞻性临床研究的论著摘要应注明遵循 CONSORT 声明(Consolidated Standards of Reporting Trials)(<http://www.consort-standart.org/home>)。

## 本刊对来稿中组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)