论著

DOI: 10.16016/j.1000-5404.201411172

氢饱和生理盐水对内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎的影响

严伟明,安 晶,张 磊,刘建文,张作明 (710032 西安,第四军医大学航空航天医学系航空航天临床医学教研室,教育部航空航天医学重点实验室)

[摘要] **目的** 探讨氢饱和生理盐水(hydrogen rich saline,HRS)对内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎(endotoxin-induced uveitis,EIU)是否有减轻作用。**方法** 健康成年雄性SD大鼠按随机数字表法分为正常组、模型组、氢饱和生理盐水(氢水)组和激素组,于后3组大鼠足垫部皮下注射0.125 mg/kg内毒素诱导葡萄膜炎。氢饱和生理盐水组大鼠于造模后0、0.5、1、2、6、8、12、24 h和3周内每天1次,腹腔注射氢饱和生理盐水20 mL/kg;激素组大鼠于造模后立即腹腔注射地塞米松磷酸钠注射液1 mg/kg。4组于造模后12、24、48、72、96 h在裂隙灯下观察葡萄膜炎表现,并进行量化评分;并于造模后1、4、7、10、14 d和21 d行视网膜电图检查、房水蛋白定量及病理组织学检查。**结果** 氢饱和生理盐水组葡萄膜炎程度与模型组相似,裂隙灯临床表现量化评分和炎症细胞计数差异均无统计学意义($P>0.05$);内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎模型的视网膜功能有改变,暗适应3.0反应b潜伏期延长;与模型组相比,氢饱和生理盐水组b波潜伏期有缩短趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);氢饱和生理盐水组房水蛋白总量较模型组略低,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 氢饱和生理盐水对内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎无明显减轻作用。

[关键词] 内毒素;葡萄膜炎;氢饱和生理盐水;视网膜电图
[中图法分类号] R-332;R773.905;R914.3 [文献标志码] A

Effect of hydrogen rich saline on endotoxin-induced uveitis in rats

Yan Weiming, An Jing, Zhang Lei, Liu Jianwen, Zhang Zuoming (Department of Aerospace Clinical Medicine, Key Laboratory of Aerospace Medicine of Ministry of Education, Faculty of Aerospace Medicine, Xi'an, Shaanxi Province, 710032, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate whether hydrogen rich saline (HRS) can ameliorate endotoxin-induced uveitis (EIU) in rats. **Methods** Healthy adult male SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, an HRS group, and a dexamethasone (DE) group, and EIU was induced in the rats of the later 3 groups by subcutaneously injecting 0.125 mg/kg of lipopolysaccharide (LPS) into the footpads. The rats of the HRS group were injected with 20 mL/kg of HRS intraperitoneally at time points of 0, 0.5, 1, 2, 6, 8, 12, and 24 h and once a day, for 3 weeks after injection of LPS. The rats of the DE group were injected with 1 mg/kg of DE sodium phosphate injection intraperitoneally and immediately after injection of LPS. All the rats were examined under a slit-slam microscope and graded according to the clinical signs of uveitis at time points of 12, 24, 48, 72, and 96 h after injection of LPS. Electroretinogram (ERG), aqueous humor protein quantification and histological examination were carried out on 1, 4, 7, 10, 14 and 21 d after injection of LPS. **Results** The rats in the HRS group and the model group showed similar uveitis symptoms, and there were no significant differences in the slit-lamp microscope quantitative scores and inflammation cell counts ($P>0.05$). Retinal function of the EIU rats was changed, with an elongated b wave potential in dark adaption 3.0 reaction. Compared with the model group, the b wave potential of the HRS group was shortened to some extent, but with no significant difference ($P>0.05$). Aqueous humor protein level of the HRS group

[基金项目] 陕西省科学技术研究发展计划项目(2011K14-2-05)
[通信作者] 张作明,电话:(029)84774817,E-mail:zhangzm@fmmu.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150327.1352.008.html(2015-03-27)

was slightly lower than that of the model group, with statistically significant difference ($P < 0.05$).
Conclusion HRS cannot significantly ameliorate EIU in the rats.

[**Key words**] endotoxin; uveitis; hydrogen rich saline; electroretinography

Supported by the Project of Science and Technology Research and Development of Shaanxi Province (2011K14-2-05). Corresponding author: Zhang Zuoming, Tel: 86-29-84774817, E-mail: zhangzm@fmmu.edu.cn

葡萄膜炎是眼科疾病中常见的一种,好发于青壮年,容易复发,严重时可导致失明。葡萄膜炎的病因较复杂,目前尚未被研究清楚,而文献[1-2]报道氧化应激在其中起到一定作用。临床上治疗葡萄膜炎所用的激素及免疫抑制剂有时会给患者带来严重的副作用。因此,寻求葡萄膜炎新的治疗或辅助治疗药物成为眼科医师一项重要的任务。

内毒素诱导葡萄膜炎(endotoxin-induced uveitis, EIU)是科研实验常用的人类葡萄膜炎的一种动物模型[3]。该模型可通过在敏感品系大鼠上注射内毒素(又称脂多糖,lipopolysaccharide,LPS),从而在其眼组织诱发出明显的葡萄膜炎表现。在EIU的发病过程中,氧自由基与炎症相互作用,促进疾病进展[4-5]。文献[6-9]报道许多药物(绿茶提取物、花青素、青蒿琥酯、海胆色素等)以抗氧化机制在EIU中起到一定治疗效果。

近年研究发现,氢分子作为一种新的抗氧化剂有很多优点,且对很多疾病有一定防治作用[10],而氢饱和生理盐水(hydrogen rich saline,HRS)是提供氢分子的一种方便、安全形式。目前仍少有研究表明氢分子对葡萄膜炎是否有防治作用,因此本实验用氢饱和生理盐水试验性治疗内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎,观察氢分子对葡萄膜炎是否有减轻作用。

1 材料与方法

1.1 材料

清洁级健康成年雄性SD大鼠(购于第四军医大学实验动物中心),6~8周龄,体质量180~220 g,置于明暗交替12/12 h的环境中适应性饲养3 d,食水不限。实验动物的使用遵循视觉与眼科研究协会(the Association for Research in Vision and Ophthalmology, ARVO)规定。主要试剂:伤寒杆菌内毒(Sigma,型号L6511),将其溶于无菌生理盐水,配制成2 mg/mL的溶液;氢饱和生理盐水制备方法参照文献[11],将过量氢气(99.999%;大连大特气体有限公司)注射到生理盐水中,在0.4 MPa高压氧舱中暴露4 h,于4 ℃冰箱保存;地塞米松磷酸钠注射液(苏州卓峰制药有限公司);BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术);戊巴比妥钠(上海行知化工厂,1%体积质量比);速眠新(吉林省华牧动物保健品有限公司)等。主要器材:裂隙灯显微镜(苏州六六视觉科技股份有限公司);微量进样器(上海高鸽工贸有限公司);RETI-SCAN视觉电生理检查系统(德国Roland Consult公司)等。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制备及给药 取24只大鼠,按随机数字表法分为4组,即:正常组、模型组、氢饱和生理盐水组和激素组,每组6只。除正常组外,用微量进样器于其余3组大鼠后足垫部皮下注射0.125 mg/kg LPS,进行EIU造模。氢饱和生理盐水组大鼠于注射LPS后0、0.5、1、2、6、8、12、24 h和3周内每天1次给予氢饱和生理盐水20 mL/kg腹腔注射,激素组大鼠于注射LPS后立即给予地塞米松磷酸钠注射液1 mg/kg腹腔注射,模型组不给任何药物。

1.2.2 裂隙灯观察及量化评分 造模后12、24、48、72 h和96 h,对各组大鼠进行裂隙灯观察,并参考文献[12]按葡萄膜炎临床表现进行量化评分(虹膜充血、前房积脓、房水闪辉、瞳孔缩小各2分)。

1.2.3 视网膜电图检查 4组大鼠于造模后1、4、7、10、14 d和21 d行视觉电生理ERG标准5项检查。具体操作:依据本实验室建立的小动物视觉电生理标准化方案[13],采用戊巴比妥钠(0.3 mL/100 g)联合速眠新(0.05 mL/只),腹腔注射,麻醉大鼠,在暗室检测ERG标准5项反应,即暗适应0.01反应,暗适应3.0反应,暗适应3.0 Ops反应,明适应3.0反应和明适应3.0闪烁光反应(30 Hz)。

1.2.4 病理组织学检查 另取57只大鼠,除正常组3只外,其余54只按随机数字表法分为模型组、氢饱和生理盐水和激素组3组,每组18只,并按上述方法造模及给药,分别于造模后1、4、7、10、14 d和21 d,从各组大鼠中随机抽取3只大鼠,麻醉处死后立即取双眼眼球,抽取双眼房水,约10 μL/眼,-80 ℃保存待用;正常组3只大鼠按同样方法取材。眼球于固定液中固定24 h后,制作石蜡组织切片并行HE染色,用光学显微镜在高倍镜视野下统计虹膜睫状体处浸润的炎症细胞数(每个眼球取经视神经-瞳孔轴3张切片,计数炎症细胞,取平均值)。

1.2.5 房水蛋白定量 将上述步骤获得的各组大鼠房水,经3 500 r/min,离心10 min后,取上清液,按

BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书进行房水蛋白定量。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析。本实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示(其中裂隙灯评分和视网膜电图结果为重复测量数据,经球形检验 $P>0.05$,表明重复数据之间不存在相关性),采用单因素类方差分析,组间比较采用 LSD-t 检验(方差齐性时)或 Dunnett's T3 检测(方差不齐时)。用 Origin 6.0 软件制作统计图表。

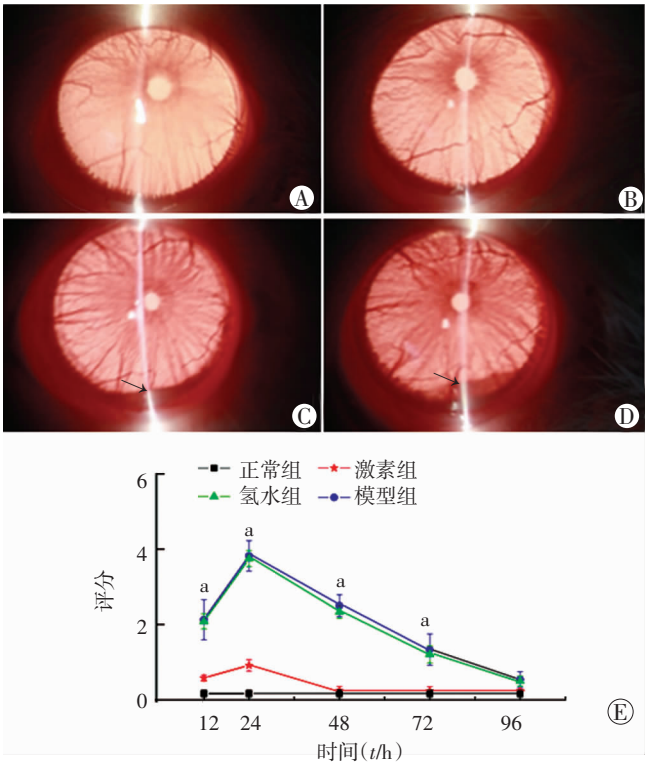
2 结果

2.1 裂隙灯观察及量化评分

造模后 24 h,模型组和氢饱和生理盐水组均出现明显虹膜充血、房水闪辉和前房积脓等葡萄膜炎表现,激素组只表现为轻度虹膜充血;模型组和氢饱和生理盐水组量化评分明显高于正常组($P<0.05$),而氢饱和生理盐水组与模型组量化评分差异无统计学意义($P>0.05$)。在 EIU 整个病程 5 个裂隙灯观察点上,氢饱和生理盐水组与模型组葡萄膜炎程度相似,量化评分差异无统计学意义($P>0.05$);在 96 h 葡萄膜炎消失,4 组量化评分差异无统计学意义($P>0.05$,图 1)。

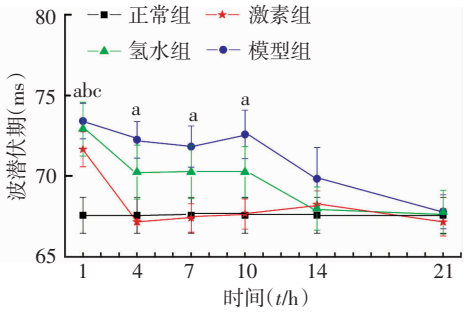
2.2 视网膜电图检查

造模后第 1 天,激素、氢饱和生理盐水、模型 3 组暗适应 3.0 反应 b 波潜伏期较正常组延长($P<0.05$),而 3 组间差异无统计学意义($P>0.05$);造模后第 4 天,激素组 b 波潜伏期恢复,与正常组间差异无统计学意义($P>0.05$),模型组仍有延长,与正常组间差异有统计学意义($P<0.05$),氢饱和生理盐水组与正常组间差异无统计学意义($P>0.05$),而氢饱和生理盐水组与模型组间差异无统计学意义($P>0.05$);造模后第 7、10 天各组间差异与第 4 天结果相似;造模后第 14 天和 21 天,4 组间 b 波潜伏期差异无统计学意义($P>0.05$)。ERG 其他指标差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 2、3。



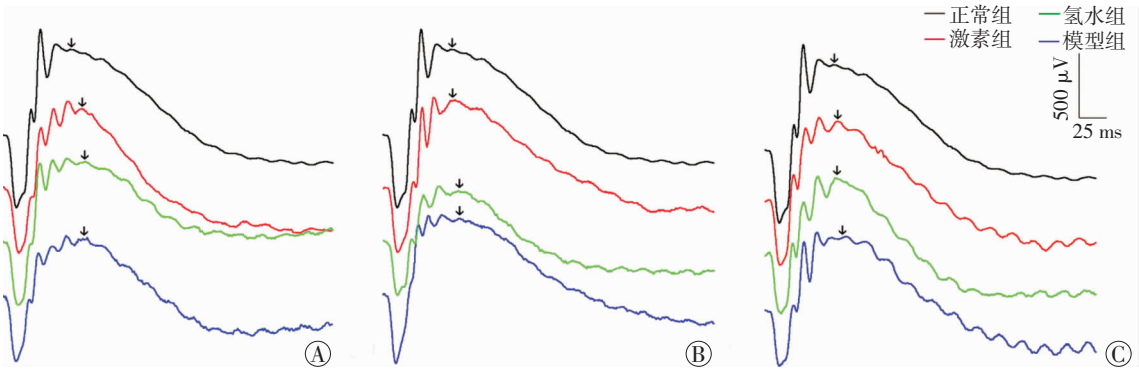
A:正常组;B:激素组;C:氢饱和生理盐水组;D:模型组;箭头示前房积脓;E:量化评分结果 a:$P<0.05$,与正常组比较

图 1 各组大鼠造模后 24 h 裂隙灯下葡萄膜炎表现(×25)及 96 h 内量化评分结果



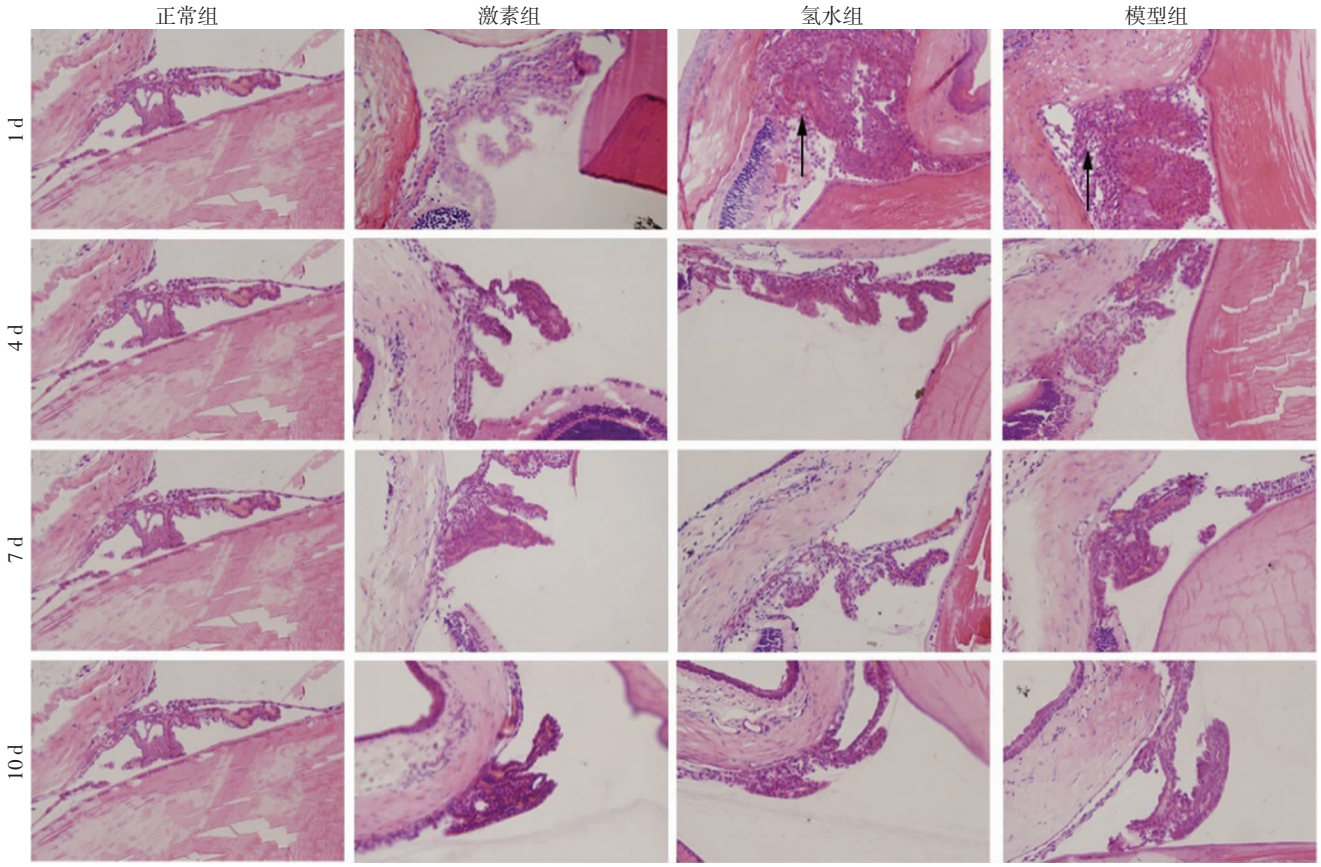
a:$P<0.05$,与正常组比较

图 2 各组大鼠造模后 21 d 内各组暗适应 3.0 反应 b 波潜伏期变化趋势



箭头示 b 波的位置

图 3 各组大鼠造模后 1 d(A)、4d(B)、14 d(C)暗适应 3.0 反应波形变化



箭头示炎症细胞浸润

图 4　各组大鼠造模后 1、4、7、10 d 眼球 HE 染色结果　（×200）

2.3　病理组织学观察

HE 染色观察造模后 1 d，相对正常组和激素组，模型组和氢饱和生理盐水组虹膜睫状体处有出现明显的炎症细胞浸润，炎症细胞计数差异有统计学意义（$P<0.01$）；而二者炎症程度相似，炎症细胞计数差异无统计学意义（$P>0.05$）；造模后 4 d，氢饱和生理盐水组和模型组虹膜睫状体浸润的炎症细胞消失，4 组炎症细胞计数差异无统计学意义（$P>0.05$）；造模后 7、10、14、21 d 情况与造模后 4 d 相似（图 4，表 1）。

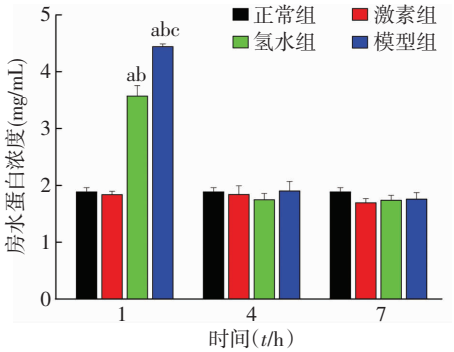
表 1　各组大鼠造模后 1、4、7 d 眼球虹膜睫状体处炎症细胞计数比较　（个，$\bar{x}\pm s$）

组别	1 d	4 d	7 d
正常组	0.67 ± 0.21	0.67 ± 0.21	0.67 ± 0.21
激素组	1.00 ± 0.37	1.21 ± 0.35	0.73 ± 0.52
氢水组	141.50 ± 8.72^{ab}	1.00 ± 0.26	1.17 ± 0.88
模型组	143.33 ± 10.54^{ab}	0.89 ± 0.41	1.32 ± 0.72

a：$P<0.01$，与正常组比较；b：$P<0.01$，与激素组比较

2.4　房水蛋白定量

造模后 1 d，相对正常组和激素组，模型组和氢饱和生理盐水组房水蛋白升高，差异有统计学意义（$P<0.01$）；而与模型组相比，氢饱和生理盐水组房水蛋白较低，差异有统计学意义（$P<0.05$）；造模后 4 d，模型组和氢饱和生理盐水组房水蛋白恢复正常，4 组间差异无统计学意义；造模后 7、10、14、21 d 情况与造模后 4 d 相似（图 5）。



a：$P<0.01$，与正常组比较；b：$P<0.01$，与激素组比较；c：$P<0.05$，与氢水组比较

图 5　各组大鼠造模后 1、4、7 d 房水蛋白定量结果

3　讨论

葡萄膜炎的发病机制涉及自身免疫、感染、氧化化损伤等多方面。研究证实在葡萄膜炎患者眼内组织中

存在ROS[14]。这些物质能引起蛋白质和DNA改变。眼内组织ROS水平增加会减弱眼内固有的抗氧化体系,引起氧化状态失衡,从而导致氧化信号相关介质的激活,继而激活转录因子NF-κB,促使炎症基因的表达,趋化炎症细胞浸润,进一步加剧氧化应激状态,开始无调节的恶性循环。这表明氧化应激在葡萄膜炎的起病和进展中发挥着重要的作用。应用ROS清除剂、抗氧化剂和其他类似的药物可能有效治疗葡萄膜炎[15]。

内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎(endotoxin-induced uveitis,EIU)在注射LPS 1 h后开始出现虹膜血管扩张,2 h后血房水屏障发生破坏,8 h后出现明显前房渗出,24 h后炎症达到高峰,之后炎症开始逐渐缓解,于96 h后炎症消失。在EIU病程中,炎症细胞主要浸润到虹膜睫状体处,而中性粒细胞是最早进入组织的细胞之一。这些细胞通过NADPH氧化酶产生ROS,对周围组织造成损伤,同时又促进炎症介质的表达。文献[6-9, 16]报道氧化应激是EIU的一个重要致病机制,使用降低氧化应激的药物能减轻EIU。

1975年science上一篇文献[17]报道氢气可能通过清除ROS而抑制白化小鼠的皮肤鳞状细胞癌。2007年Ohsawa等[18]报道氢分子能选择性减少体内的羟自由基和过氧亚硝基,从而减轻大鼠脑缺血再灌注损伤。之后,氢分子成为医学气体研究领域的热点,以其选择性抗氧化的特性在多种疾病的预防和治疗中取得一定效果[19]。

前期实验我们采用文献[20-21]惯用的1 mg/kg剂量的LPS诱导大鼠EIU,并用不同剂量的氢水(10 mL/kg和20 mL/kg)进行试验性治疗,实验结果提示氢水对于大鼠EIU葡萄膜炎体征和病理组织学改变没有减轻作用,对房水蛋白总量升高有一定抑制趋势,但此抑制作用未见统计学意义。2008年Cai等[22]报道氢分子对轻度的新生大鼠缺血缺氧脑损伤有保护和治疗作用,而2009年Matchett等[23]发现氢分子对于中重度的新生大鼠缺血缺氧脑损伤并未起到保护作用,不能减少缺血损伤的大脑面积及降低氧化产物的含量。他们认为氢分子对不同程度的新生大鼠缺血缺氧脑损伤模型有不同作用效果的原因之一可能是中、重度新生大鼠缺血缺氧脑损伤模型的损伤程度超出了短期氢分子的治疗效果。本实验采用的大鼠EIU模型主要表现为急性前葡萄膜炎,有明显的虹膜充血、房水闪辉、前房积脓等典型葡萄膜炎体征,葡萄膜炎炎症程度较重,在临床上属于较重的葡萄膜炎。因此,我们认为可能是1 mg/kg剂量的LPS诱导的大鼠葡萄膜炎炎症程度较重,超出了氢水的治疗作用。

经过预实验,我们逐渐减少LPS造模剂量,在用0.125 mg/kg剂量的LPS造模时,获得葡萄膜炎炎症程度相对较轻的模型。因此,本实验采用0.125 mg/kg剂量的LPS诱导大鼠EIU,并用20 mL/kg剂量的氢水进行试验性治疗。根据EIU的病程,我们在注射LPS后24 h内,尤其是2 h内,在多个时间点腹腔注射氢水20 mL/kg,尽量提高氢分子浓度,延长其作用时间。

本实验使用裂隙灯观察大鼠的葡萄膜炎体征,并进行量化评分,同时采用眼球石蜡组织切片统计虹膜睫状体处浸润的炎症细胞数量,以观察氢水对大鼠EIU的影响。实验结果提示氢水未能减轻大鼠EIU葡萄膜炎体征及炎症细胞浸润。

杨培增等[24]应用视网膜平片技术对大鼠EIU的受累结构进行研究,发现视网膜在注射LPS后16 h开始有单核细胞浸润,之后单核细胞数量增加,48 h后树突状细胞数量逐渐增加,在7~10 d,单核细胞和树突状细胞等逐渐减少,在14 d浸润的炎症细胞几乎恢复到原来水平,而一些树突状细胞仍有较长的树突。据此,我们推测在EIU模型中,大鼠的视网膜功能可能有改变。本实验记录EIU造模后3周内的视网膜电图变化,观察氢水在大鼠EIU视网膜功能方面是否起到治疗作用。实验结果提示,在EIU模型中,大鼠的视网膜功能发生变化(b波潜伏期延长),并持续至造模后14d,激素在造模后4d改善视网膜功能,而氢水对大鼠EIU的视网膜功能改变虽有一定改善趋势,但无统计学意义。

正常情况下,房水内蛋白含量很低,当有炎症、外伤等诱因出现时,血房水屏障完整性受损,血管内蛋白渗出,引起房水内蛋白总量升高。因此,房水蛋白总量可反应EIU的炎症程度。本实验结果提示,氢水对大鼠EIU中房水蛋白升高有一定抑制作用,这可能与氢分子选择性减少诱导房水蛋白渗出的炎症因子有关[25]。

本实验中氢水未能对大鼠EIU起得明显治疗作用的原因可能有以下几种:第一,以氢水形式提供的氢分子浓度较有限,以至于氢分子的治疗效果无法明显体现出来。改用持续吸入氢气的方式可能取得较明显治疗效果。第二,氢分子呈弱还原性,与其他能减轻EIU的抗氧化药物[6-9, 26]相比,其抗氧化性较弱,只能选择性中和氧化活性较强的羟基和过氧亚硝基,而EIU模型中除了产生羟基和过氧亚硝基外,可能还有很多其他种类的ROS,比如超氧阴离子、过氧化氢等,而这些ROS可能占大多数。第三,大鼠眼内组织(尤其是葡萄膜)被报道对内毒素有一定特异敏感性。研究[27]发现当注射LPS的种类及剂量能够在相应敏感

品系的大鼠眼内组织产生炎症时,用光学显微镜在全身其他器官(心、肺、肝、肾、脾、皮肤、小肠以及骨髓)观察不到明显炎症或其他病理组织学变化。激素的强抗炎作用能抑制这种严重的炎症反应,而氢分子的作用可能较弱,无法对此特异的组织炎症产生明显的抑制作用。

综上所述,在本实验条件下,氢饱和生理盐水对内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎没有明显减轻作用,其确切原因尚不清楚。后续我们将改用持续吸入氢气的方式,观察吸入高浓度氢气对内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎能否有减轻作用,并对具体可能原因进行深入探索。

参考文献:

[1] Pereira D V, Petronilho F, Pereira H R, *et al*. Effects of gold nanoparticles on endotoxin-induced uveitis in rats[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(13): 8036-8041.
[2] Turk A, Aykut M, Akyol N, *et al*. Serum anti-carbonic anhydrase antibodies and oxidant-antioxidant balance in patients with acute anterior uveitis[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2014, 22(2): 127-132.
[3] Rosenbaum J T, McDevitt H O, Guss R B, *et al*. Endotoxin-induced uveitis in rats as a model for human disease[J]. Nature, 1980, 286(5773): 611-613.
[4] Smith J R, Hart P H, Williams K A. Basic pathogenic mechanisms operating in experimental models of acute anterior uveitis[J]. Immunol Cell Biol, 1998, 76(6): 497-512.
[5] Yadav U C, Kalariya N M, Ramana K V. Emerging role of antioxidants in the protection of uveitis complications[J]. Curr Med Chem, 2011, 18(6): 931-942.
[6] Qin Y J, Chu K O, Yip Y W, *et al*. Green tea extract treatment alleviates ocular inflammation in a rat model of endotoxin-induced uveitis[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e103995.
[7] Lennikov A, Kitaichi N, Noda K, *et al*. Amelioration of endotoxin-induced uveitis treated with the sea urchin pigment echinochrome in rats[J]. Mol Vis, 2014, 20: 171-177.
[8] Miyake S, Takahashi N, Sasaki M, *et al*. Vision preservation during retinal inflammation by anthocyanin-rich bilberry extract: cellular and molecular mechanism[J]. Lab Invest, 2012, 92(1): 102-109.
[9] Wang X Q, Liu H L, Wang G B, *et al*. Effect of artesunate on endotoxin-induced uveitis in rats[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(2): 916-919.
[10] Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(22): 2241-2252.
[11] Chen Y, Jiang J, Miao H, *et al*. Hydrogen-rich saline attenuates vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia by inhibiting reactive oxygen species production and inactivating the Ras-ERK1/2-MEK1/2 and Akt pathways[J]. Int J Mol Med, 2013, 31(3): 597-606.
[12] Hoekzema R, Murray P I, van-Haren M A, *et al*. Analysis of interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1991, 32(1): 88-95.
[13] 张作明, 顾永昊, 郭群, 等. 小鼠与大鼠视网膜电图和闪光视觉诱发电位记录标准化方案建议[J]. 眼科新进展, 2004, 24(2): 81-83.
[14] Rao N A, Wu G S. Free radical mediated photoreceptor damage in uveitis[J]. Prog Retin Eye Res, 2000, 19(1): 41-68.
[15] Grover A K, Samson S E. Antioxidants and vision health: facts and fiction[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 388(1/2): 173-183.
[16] Yadav U C, Subramanyam S, Ramana K V. Prevention of endotoxin-induced uveitis in rats by benfotiamine, a lipophilic analogue of vitamin B1[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(5): 2276-2282.
[17] Dole M, Wilson F R, Fife W P. Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment for cancer[J]. Science, 1975, 190(4210): 152-154.
[18] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, *et al*. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. Nat Med, 2007, 13(6): 688-694.
[19] Hong Y, Chen S, Zhang J M. Hydrogen as a selective antioxidant: a review of clinical and experimental studies[J]. J Int Med Res, 2010, 38(6): 1893-1903.
[20] Keles S, Halici Z, Atmaca H T, *et al*. The ocular endothelin system: a novel target for the treatment of endotoxin-induced uveitis with bosentan[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(6): 3517-3524.
[21] 马翠萍, 金浩丽, 杨培增, 等. 伤寒杆菌内毒素诱导的SD大鼠全葡萄膜炎[J]. 中山医科大学学报, 2001, 22(6): 451-453.
[22] Yang P, de-Vos A F, Kijlstra A. Normal rat retina lacks significant numbers of ED2-positive macrophages[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999, 40(12): 3067.
[23] Herbort C P, Okumura A, Mochizuki M. Endotoxin-induced uveitis in the rat. A study of the role of inflammation mediators[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1988, 226(6): 553-558.
[24] Bosch-Morell F, Roma J, Marin N, *et al*. Role of oxygen and nitrogen species in experimental uveitis: anti-inflammatory activity of the synthetic antioxidant ebselen[J]. Free Radic Biol Med, 2002, 33(5): 669-675.
[25] Herbort C P, Chan C C, Nussenblatt R B. Endotoxin-induced uveitis in the rat: a hypothesis for preferential involvement of the anterior uvea[J]. Curr Eye Res, 1990, 9(Suppl): 119-124.

(**收稿**:2014-11-18;**修回**:2015-01-29)
(编辑 张 维)