

# 孕酮对急性高眼压大鼠视网膜神经损伤保护作用的研究

曹业宏<sup>1</sup>, 高殿文<sup>2</sup>, 林乐理<sup>3</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(110031)中国辽宁省沈阳市第四人民医院眼科;  
<sup>2</sup>(110011)中国辽宁省沈阳市,中国医科大学盛京医院眼科;  
<sup>3</sup>(110024)中国辽宁省沈阳市,沈阳医学院奉天医院眼科  
作者简介:曹业宏,博士,副主任医师,研究方向:青光眼、眼外伤。  
通讯作者:曹业宏. cysl911@163.com  
收稿日期:2013-12-09 修回日期:2014-03-05

## Protective effects of progesterone on retinal nerve injury in acute high intraocular pressure rats

Ye-Hong Cao<sup>1</sup>, Dian-Wen Gao<sup>2</sup>, Le-Li Lin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Shenyang the Fourth Hospital of People, Shenyang 110031, Liaoning Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110011, Liaoning Province, China; <sup>3</sup>Department of Ophthalmology, Fengtian Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang 110024, Liaoning Province, China

**Correspondence to:** Ye-Hong Cao. Department of Ophthalmology, Shenyang the Fourth Hospital of People, Shenyang 110031, Liaoning Province, China. cysl911@163.com  
Received:2013-12-09 Accepted:2014-03-05

## Abstract

• **AIM:** To observe whether progesterone has a protective effect on retinal neural cells by establishing the acute high intraocular pressure model and intervening with progesterone.

• **METHODS:** Totally 140 Wistar rats were randomly divided into normal control group (group A) 20, high intraocular pressure control group (group B) 60 and high intraocular pressure progesterone treatment group (group C) 60. The acute high intraocular pressure models were made by saline anterior chamber perfusion. Group C were treated with intraperitoneal injection of progesterone 4.0mg/Kg immediately after intraocular pressure restored, and after 6, 24h and every other day were treated with subcutaneous injection. Group B were injected with equivalent saline at the same time. At the 1, 3, 7d after ocular hypertension, the retinas of rats in each group were obtained respectively. Retinas pathological changes were observed in samples hematoxylin and eosin staining. The protein expression of Caspase-3 was measured with immunohistochemistry and Western blot. Apoptosis in retinal nerve cells were

tested with TUNEL technique. Statistical analysis was performed in each group.

• **RESULTS:** The rats retina of group B and group C were edema, but the degree in group C was lower than that in group B. In relative quantitative detection of immunohistochemistry and Western blot, expression of Caspase-3 was lower than group B. Substantial expression of Caspase-3 protein lay in cell nucleus and cytoplasm. The level of Caspase-3 in group B was higher than in group C. The positive cells were mainly in inner nucleus layer and ganglion cell layer. The level on the first day after high intraocular pressure was the highest, then gradually decreased along with the passage of time. Apoptosis tested with TUNEL technique, positive cells could be observed in group B and group C, which in inner nucleus layer and ganglion cell layer. But the number in group B was significantly more than group C.

• **CONCLUSION:** Progesterone has nerve protection functions on retinal acute high intraocular pressure injury in rats.

• **KEYWORDS:** glaucoma; nerve protection; retina; progesterone; apoptosis; Caspase-3

**Citation:** Cao YH, Gao DW, Lin LL. Protective effects of progesterone on retinal nerve injury in acute high intraocular pressure rats. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2014;14(4):588-592

## 摘要

**目的:**通过建立大鼠急性高眼压模型,应用孕酮干预,观察孕酮是否对视网膜神经细胞具有保护作用。

**方法:**Wistar大鼠140只,随机分为正常对照组(A组)20只、高眼压对照组(B组)60只、高眼压孕酮干预组(C组)60只。应用生理盐水前房灌注的方法建立大鼠急性高眼压模型,C组在高眼压后即予腹腔注射孕酮4.0mg/kg,以后于6,24h以及隔日行皮下注射,B组于相同时间注射等量的生理盐水。于高眼压后1,3,7d分别获取各组大鼠的视网膜组织。HE染色观察视网膜病理学的变化,用免疫组化染色、Western blot检测视网膜细胞凋亡基因Caspase-3蛋白的表达情况,TUNEL法检测细胞的凋亡程度,并对各组数据进行统计学分析。

**结果:**B组和C组的大鼠视网膜均发生水肿,C组水肿程度明显低于B组。免疫组化染色及Western blot相对定量检测,C组Caspase-3表达程度低于B组。Caspase-3蛋白主要表达于视网膜神经节细胞层和内核层,于高眼压后第1d强度最大,以后随时间的推移逐渐减少。

TUNEL 检测细胞凋亡, B 组和 C 组均出现阳性细胞, 主要位于视网膜的节细胞层和内核层, C 组细胞凋亡数量明显低于 B 组。

**结论:** 孕酮对大鼠视网膜急性高眼压损伤有保护作用。

**关键词:** 青光眼; 神经保护; 视网膜; 孕酮; 凋亡; Caspase-3

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.04.04

**引用:** 曹业宏, 高殿文, 林乐理. 孕酮对急性高眼压大鼠视网膜神经损伤保护作用的研究. 国际眼科杂志 2014;14(4):588-592

## 0 引言

在对青光眼的治疗中, 在降低眼压的同时, 还应合理地应用神经保护药物, 来减少毒性因子和机体不利的反应机制对神经节细胞的后遗损害<sup>[1]</sup>。近年来, 在众多神经保护的药物中, 孕酮越来越受到人们的重视。有研究发现在急性中枢神经系统损伤、中风以及脑认知功能损伤等动物模型中, 孕酮有延缓神经细胞的坏死和凋亡, 减少炎症级联反应, 减轻实验性脑缺血损伤和脑水肿等作用<sup>[2,3]</sup>。视网膜作为中枢神经系统的一部分, 孕酮对视网膜神经细胞的保护作用, 尤其在高眼压状态下对视网膜神经细胞的保护作用研究较少, 因此本实验通过观察孕酮和凋亡基因 Caspase-3 以及视网膜细胞凋亡数量的关系, 初步探讨孕酮对急性高眼压后视网膜神经细胞的保护作用, 以期能为寻找青光眼神经保护药物方面提供一些实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** Wistar 大鼠 140 只, 由中国医科大学实验动物部提供, 皆为雄性, 体质量 200 ~ 300g。实验动物及实验所用条件符合国家科学技术委员会的实验动物管理条例。

**1.1.2 主要试剂及药物** 孕酮(天津金耀氨基酸有限公司)、SP 试剂盒(北京博奥森公司)、Anti Caspase-3 antibody(北京博奥森公司)、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(江苏碧云天公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验动物分组** Wistar 大鼠 140 只, 随机分为正常对照组(A组)20只、高眼压对照组(B组)60只、高眼压孕酮干预组(C组)60只。按观察时间的不同, 将 B 组和 C 组各随机分为 3 个时间点, 分别为高眼压后 1, 3, 7d, 每个时间点各 20 只, 分别表示为 B1, B3, B7 和 C1, C3, C7。

**1.2.2 动物模型制备**<sup>[4,5]</sup> 动物称重, 10% 水合氯醛按 0.3mL/100g 腹腔注射麻醉, 选右眼作为高眼压灌注眼, 用连接生理盐水瓶及输液管的 7 号针头沿角膜缘作前房穿刺, 升高输液瓶至距动物垂直距离为 136cm 处, 此高度可形成 100mmHg 的眼压, 维持 60min, 予左氧氟沙星眼药水点眼。C 组在高眼压后即刻予腹腔注射孕酮 4.0mg/kg<sup>[6]</sup>, 以后于 6, 24h 以及隔日行皮下注射, B 组于相同时间注射等量的生理盐水。实验动物各组均存活 1, 3, 7d。

**1.2.3 视网膜组织标本的取材** 不同组动物 15 只处死后立即摘除双眼球, 置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24h,

然后去除角膜及晶状体、玻璃体, 继续固定 24h, 常规乙醇脱水, 石蜡包埋, 备用。不同组动物 5 只处死后立即摘除双眼球, 去除角膜、晶状体及玻璃体, 分离视网膜, 用滤纸尽可能吸干水分, 放入 1.5mL 冻存管中, 置于 -80℃ 冰箱保存。

**1.2.4 大鼠视网膜 HE 染色** 取石蜡包埋标本, 切片厚度 5 $\mu$ m。进行 HE 染色。

**1.2.5 免疫组化方法检测大鼠视网膜中 Caspase-3 蛋白表达** 取石蜡包埋标本, 切片厚度 5 $\mu$ m, 按试剂盒操作说明进行染色。每张切片分别选取 5 个不连续的高倍视野, 采集图像, 用 Image Pro Plus 6.0 图像分析系统处理进行分析测定。进行光密度校正和扣除背景后, 测量 Caspase-3 的平均光密度, 进行统计学分析。

**1.2.6 Western blot 方法检测大鼠视网膜中 Caspase-3 蛋白含量** 将各组视网膜组织加入 RIPA 裂解液, 匀浆、离心, 分离上清。制备标准曲线, 应用酶标仪测得各组样本蛋白的吸光度(570nm), 根据标准曲线计算浓度。将各组等量蛋白 20 $\mu$ g, 制成电泳上样液(20 $\mu$ L)进行电泳, 并转移到 PVDF 膜上。置于 5% 脱脂奶粉室温封闭 1h, 加一抗兔抗鼠(1:1000 稀释), 再 4℃ 过夜。洗涤后再加羊抗兔 IgG-HRP(1:10000 稀释), 37℃, 45min。ECL 底物发光, 暗室曝光。以目的蛋白条带的吸光度与  $\beta$ -Actin 条带吸光度的比值作为目的蛋白的相对含量。

**1.2.7 大鼠视网膜中凋亡细胞的检测** 取石蜡包埋标本, 切片厚度 5 $\mu$ m, 按 TUNEL 试剂盒操作说明进行染色。应用 Image-Pro Plus 6.0 软件计数每 5 个随机 400 倍视野中 TUNEL 阳性细胞数, 取平均值。

统计学分析: 统计结果均以均数  $\pm$  标准差表示, 用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。用药组与未用药组均数间的比较用 *t* 检验分析。以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠 HE 染色组织病理学改变及视网膜厚度的比较** A 组大鼠视网膜结构层次清楚, 细胞排列整齐规则, 细胞形态清晰规整, 染色均匀(图 1A); B 组大鼠视网膜细胞层次不清楚, 细胞及间质水肿, 结构疏松, 核染色不均, 界限不清, 以神经纤维层与内网状层水肿明显, 视网膜神经节细胞空泡变性, 晚期视网膜逐渐萎缩变薄, 层次欠清, 细胞渐进性丢失(图 1B); C 组大鼠视网膜细胞层次排列及形态介于 A 组和 B 组之间(图 1C)。高眼压第 1d, 各组视网膜细胞水肿明显, 视网膜厚度较厚, 之后逐渐降低, 至第 7d 水肿基本消退, 接近对照组。相同时间各组间对比, C 组视网膜的水肿程度在 1, 3d 时明显小于 B 组( $P < 0.05$ , 表 1)。

**2.2 各组大鼠视网膜中 Caspase-3 蛋白的表达** A 组视网膜几乎没有 Caspase-3 蛋白表达(图 2A); B 组有大量 Caspase-3 表达, 阳性染色呈棕黄色, 位于细胞的胞浆及胞核, 染色阳性的细胞位于视网膜的内核层和节细胞层, 外核层阳性细胞表达较少(图 2B)。C 组也有 Caspase-3 蛋白表达(图 2C), 但表达程度在 1, 3d 均明显低于 B 组( $P < 0.05$ , 表 2), 水肿程度也较轻。两组的表达程度随时间逐渐减少。

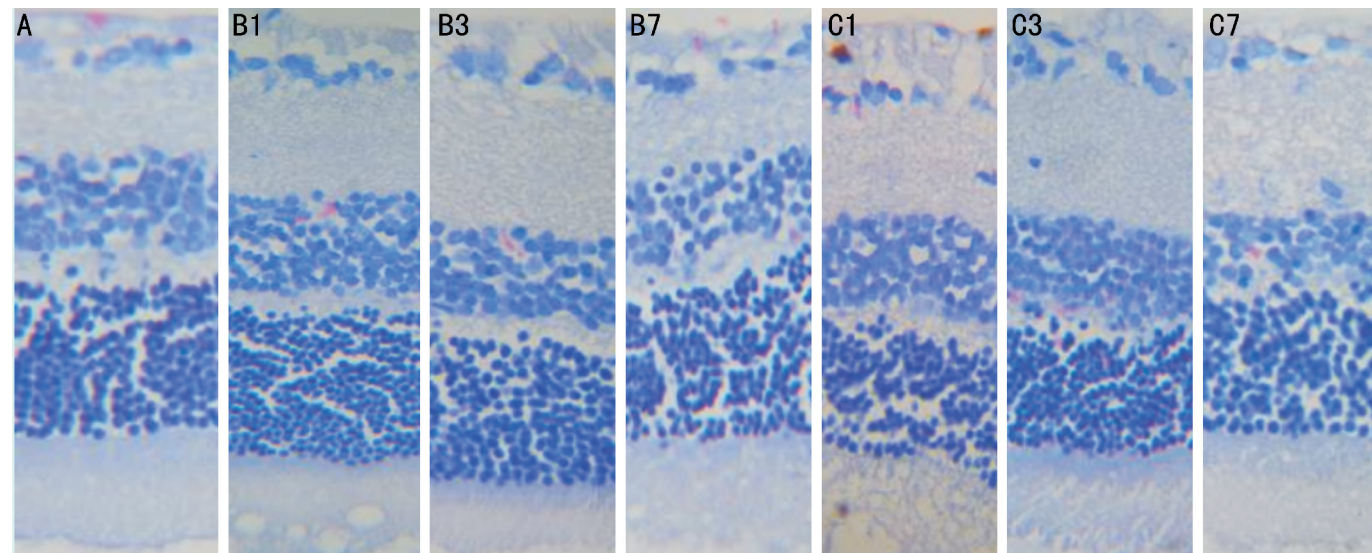


图1 各组大鼠视网膜 HE 染色的比较(×400) A:正常对照组;B1:高眼压对照组高眼压后 1d;B3:高眼压对照组高眼压后 3d;B7:高眼压对照组高眼压后 7d;C1:高眼压孕酮干预组高眼压后 1d;C3:高眼压孕酮干预组高眼压后 3d ;C7:高眼压孕酮干预组高眼压后 7d。

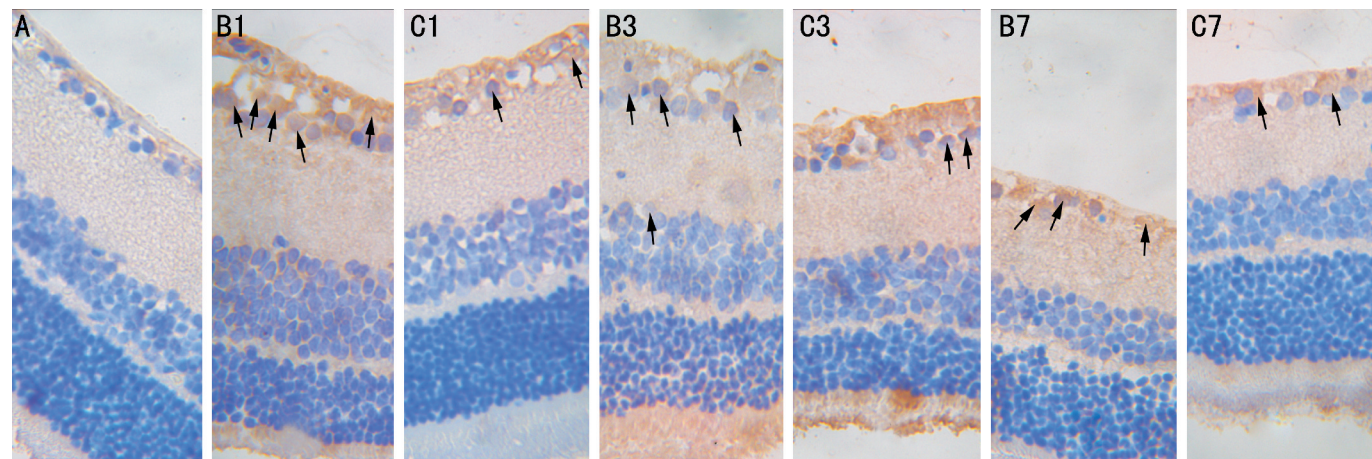


图2 各组大鼠视网膜 Caspase-3 免疫组化染色(×400) A:正常对照组;B1:高眼压对照组高眼压后 1d;B3:高眼压对照组高眼压后 3d;B7:高眼压对照组高眼压后 7d;C1:高眼压孕酮干预组高眼压后 1d;C3:高眼压孕酮干预组高眼压后 3d ;C7:高眼压孕酮干预组高眼压后 7d。

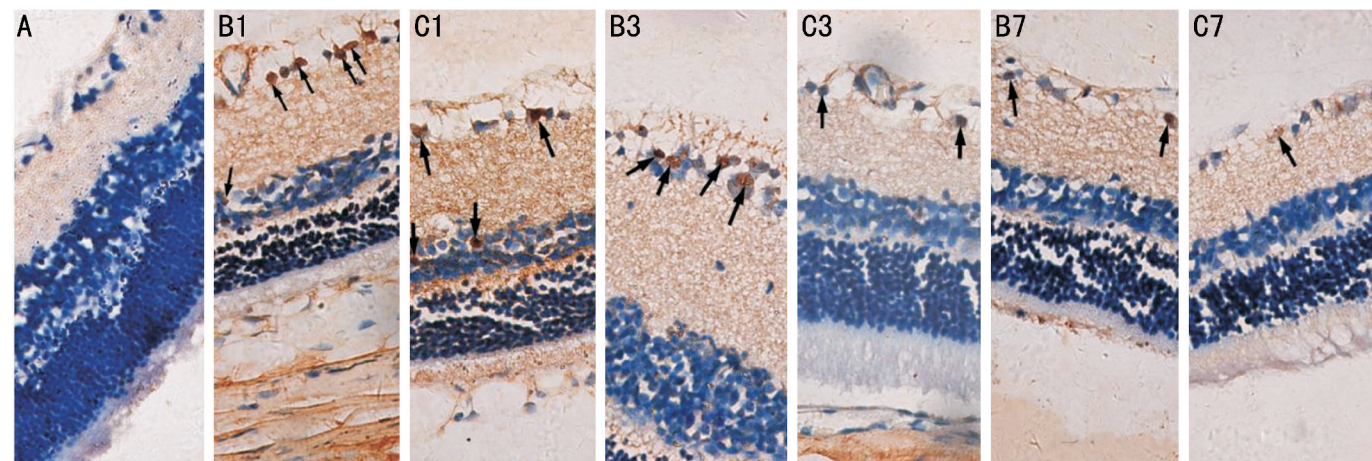


图3 各组大鼠视网膜的 TUNEL 染色(×400) A:正常对照组;B1:高眼压对照组高眼压后 1d;B3:高眼压对照组高眼压后 3d;B7:高眼压对照组高眼压后 7d;C1:高眼压孕酮干预组高眼压后 1d;C3:高眼压孕酮干预组高眼压后 3d ;C7:高眼压孕酮干预组高眼压后 7d。

2.3 各组大鼠视网膜中凋亡细胞的检测结果 A 组染色阴性,几乎没有细胞凋亡(图3A),B 组和 C 组均可见阳性细胞,阳性染色成棕黄色,位于细胞核。阳性细胞主要位于节细胞层,内核层有少量,外核层很少(图3B,C)。1d

出现最多,随着时间的推移逐渐减少。各组每个时间点选取 5 张切片,用 Image-Pro Plus 6.0 软件计数每张切片的阳性细胞数,进行统计学分析。可见 C 组细胞凋亡的数量明显低于 B 组( $P_{3d} < 0.01, P_{1,7d} < 0.05$ ,表 3)。

表1 各组大鼠视网膜厚度的比较 ( $\bar{x}\pm s, \mu\text{m}, n=5$ )

时间	B组	C组	t	P
术前	179.0±12.50	183.48±13.83	0.38	0.72
高眼压后 1d	255.6±14.78 <sup>a</sup>	232.38±10.08	3.40	0.02
高眼压后 3d	229.3±11.31 <sup>a</sup>	205.42±12.72	3.45	0.03
高眼压后 7d	171.41±12.59	175.30±14.82	0.53	0.63

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs C组。

表2 两组视网膜 Caspase-3 蛋白平均光密度的比较

时间	B组	C组	t	P
高眼压后 1d	0.0435±0.0065	0.0329±0.0036 <sup>a</sup>	2.78	0.026
高眼压后 3d	0.0356±0.0039	0.0287±0.0024 <sup>a</sup>	2.92	0.031
高眼压后 7d	0.0302±0.0063	0.0166±0.0095	1.25	0.370

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs B组。表3 各组大鼠视网膜凋亡细胞数的比较 ( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

时间	A组	B组	C组	t	P
高眼压后 1d	0±0.55	13.0±1.64 <sup>a</sup>	9.4±1.7	3.497	0.025
高眼压后 3d		9.6±2.1 <sup>b</sup>	6.6±1.5	5.477	0.005
高眼压后 7d		7.0±1.58 <sup>a</sup>	3.8±1.3	4.355	0.012

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs C组。

2.4 各组大鼠视网膜 Caspase-3 蛋白的相对含量 B组和C组比较,C组 Caspase-3 蛋白表达于1,3d明显低于B组( $P<0.05$ ,图4,表4)。

### 3 讨论

青光眼的发病机制中,高眼压和视神经缺血是启动因素,最终导致了神经节细胞及其突触的凋亡和变性。因此,我们从视网膜神经节细胞及其他神经细胞的凋亡程度来研究孕酮的保护作用。

在实验中,我们看到高眼压对照组和孕酮干预组视网膜均发生了水肿,但后者视网膜水肿程度明显小于前者( $P_{1,3d}<0.05$ )。说明孕酮具有减轻组织水肿、维持组织及细胞正常结构的作用,和文献报道的结果相一致。卢娜等<sup>[7]</sup>在孕酮对大鼠视网膜缺血再灌注干预的实验中发现,孕酮干预组的视网膜组织学形态及超微结构的改变均好于对照组。一般认为,孕酮可能通过提高  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶的活性,抑制  $\text{K}^+$  外流及  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  内流,并通过 GABAA 受体抑制细胞内特别是内质网内钙的释放,减少 NMDA 受体的表达,从而抑制受体门控性钙通道的开放,同时抑制 L 型和 N 型电压调节钙通道的开放,抑制  $\text{Ca}^{2+}$  的内流,减轻细胞的水肿。另外,神经组织缺血后,  $\text{TNF-}\alpha$  的表达具有神经毒性作用,促进白细胞和内皮细胞的黏附,并激活巨噬细胞,神经胶质细胞释放炎性介质  $\text{IL-1}\beta$ 。而孕酮则通过抑制  $\text{NF}\kappa\text{B}$  p65 的表达及  $\text{TNF-}\alpha$  的产生,抑制脑损伤后的炎症反应<sup>[8]</sup>,从而减轻水肿的发生。已有大量实验证明孕酮可以抑制脑损伤后的水肿程度,在大鼠假孕状态时,孕酮血浓度极高,这时雌鼠脑受损几乎不出现脑水肿。孕酮对大鼠高眼压后视网膜炎症及水肿的减轻,是否通过以上途径发挥作用,还需进一步研究。

表4 各组视网膜的 Caspase-3 蛋白表达相对光密度比值的比较 ( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

时间	A组	B组	C组	t	P
高眼压后 1d	0.52±0.043	0.87±0.048 <sup>a</sup>	0.72±0.036	3.511	0.025
高眼压后 3d		0.77±0.031 <sup>a</sup>	0.67±0.038	3.315	0.030
高眼压后 7d		0.56±0.058	0.52±0.051	1.029	0.362

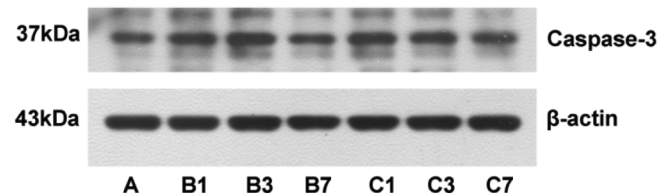
<sup>a</sup> $P<0.05$  vs C组。

图4 Western blot 法检测各组大鼠视网膜的 Caspase-3 蛋白表达 A:正常对照组;B1:高眼压对照组高眼压后 1d;B3:高眼压对照组高眼压后 3d;B7:高眼压对照组高眼压后 7d;C1:高眼压孕酮干预组高眼压后 1d;C3:高眼压孕酮干预组高眼压后 3d;C7:高眼压孕酮干预组高眼压后 7d。

细胞凋亡受到严格调控,Caspases 家族在细胞凋亡调节过程中起关键作用,Caspase-3 是 Caspases 级联反应中下行的最关键的凋亡执行蛋白酶。在细胞凋亡启动时,Caspase-3 在其上游物质 Caspase-10、Caspase-8 等激活下作用于它主要的底物多聚(ADP-核糖)聚合酶 PARP,将 116kD 的 PARP 剪切成 31kD 和 85kD 两个片段,结果使受 PARP 负调控影响的  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  依赖性核酸内切酶的活性增高,裂解核小体间的 DNA,从而引起细胞凋亡。由免疫组化和 Western blot 检测结果可以看出,孕酮干预组 Caspase-3 在各时间点的表达程度均明显低于高眼压对照组( $P_{1,3d}<0.05$ ),说明孕酮可以抑制 Caspase-3 的激活,减少凋亡的发生。Tunel 凋亡检测结果也证实了这一点。Caspase-3 染色阳性细胞以及细胞凋亡主要位于视网膜的节细胞层和内核层,这可能与这些细胞对缺血、缺氧更加敏感有关。孕酮抗凋亡的机制,除了抑制  $\text{Ca}^{2+}$  的内流,减轻炎症反应外,可能还通过以下的各种调节抑制凋亡:(1)诱导热休克蛋白 70(heat-shock protein70, HSP-70)的表达。Cutler 等<sup>[9]</sup>通过检测动物脑损伤后,自发活动能力及注意力集中能力等的恢复情况,认为孕酮可能通过诱导 HSP-70 的表达起到神经保护作用;Li 等<sup>[10]</sup>研究发现 HSP-70 可以抑制细胞色素 C 的释放及 Caspase-3 的激活;(2)下调促凋亡基因的表达。Bad 是 Bcl-2 凋亡调节蛋白家族成员之一,它通过其丝氨酸残基的脱磷酸化和磷酸化来实现其生物活性的转变。脱磷酸化的 Bad 位于线粒体的 Bcl-2 和 Bcl-XL 附近,其功能是诱导凋亡。孕酮可能上调了 Bcl-2 和 Bcl-XL 的表达并抑制 Bad 和 Bax 的表达<sup>[11]</sup>;(3)抑制即早基因的表达。cFos 是广泛存在于真核细胞内的即刻早期基因,cFos 蛋白通过亮氨酸拉链形成同源二聚体影响晚期基因的表达。研究表明,孕酮可抑制创伤性脑损伤后 cFos 的表达<sup>[12]</sup>;(4)清除自由基。孕酮主要是通过降低体内自由基的产生和增强内源自由基清除能力两大方面来抵御氧化作用的。离体、在体研究证实孕酮具有抗氧化作

用,其既可以增加作为自由基清除剂的谷胱甘肽、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GPx)水平,又可以有效减少巨噬细胞应答细胞因子产生的亚硝酸盐、过氧化物和过氧化氢等。

孕酮抗凋亡机制涉及到多种信号转导通路和相关的信号分子,其机制非常复杂,尚未完全阐明,有待于进一步的研究。

参考文献

1 方家华,徐尤学,李静波,等.青光眼的视神经保护及视神经再生策略.山西医科大学学报 2012;43(8):629-632  
 2 Sayeed I, Stein DG. Progesterone as a neuroprotective factor in traumatic and ischemic brain injury. *Progress in Brain Research* 2009; 175:219-237  
 3 李新娟,何瑞芳,李爽,等.孕酮对全脑缺血/再灌注损伤大鼠学习记忆及海马 P2X7 受体表达的影响.中国应用生理学杂志 2012;28(5):472-475  
 4 王浩,刘索新,鞠学红.视网膜缺血再灌注模型的建立与观察研究进展.国际眼科杂志 2012;12(10):1902-1903  
 5 赵秀军,徐亮,白凤阁.正常大鼠和急性高眼压诱导的视网膜缺血

再灌注损伤大鼠模型的视网膜电图.眼科 2001;10(3):173-178  
 6 Jiang N, Chopp M, Stein D, et al. Progesterone is neuroprotective after transient middle cerebral artery occlusion in male rats. *Brain Res* 1996; 735(1):101-107  
 7 卢娜,李超,程远,等.孕酮对大鼠视网膜缺血-再灌注损伤的保护作用.南方医科大学学报 2008;28(11):2026-2029  
 8 Pan DS, Liu WG, Yang XF, et al. Inhibitory effect of progesterone on inflammatory factors after experimental traumatic brain injury. *Biomed Environ Sci* 2007;20(5):432-438  
 9 Cutler SM, Vanlandingham JW, Stein DG. Tapered progesterone withdrawal promotes long-term recovery following brain trauma. *Exp Neurol* 2006;200(2):378-385  
 10 Li CY, Lee JS, Ko YG, et al. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome C release and upstream of caspase-3 activation. *J Biol Chem* 2000;275(33):25665-25671  
 11 Yao XL, Liu J, Lee E, et al. Progesterone differentially regulates pro- and anti-apoptotic gene expression in cerebral cortex following traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma* 2005;22(6):656-668  
 12 Cutler SM, Pettus EH, Hoffman SW, et al. Tapered progesterone withdrawal enhances behavioral and molecular recovery after traumatic brain injury. *Exp Neurol* 2005;195(2):423-429

## 2014 国内主要眼科会议一览

会议名称	地点	时间	网址
2014 中国眼底病论坛全国眼底病专题学术研讨会	大连	2.27-3.1	<a href="http://www.coretina.com/CN/column/item342.shtml">http://www.coretina.com/CN/column/item342.shtml</a>
第十四届中国国际眼科学学术会议 第十四届国际视光学学术会议 第三届中国国际眼科和视光技术及设备展览会	上海	3.27-3.30	<a href="http://www.cooc.org.cn/Exhibition.asp">http://www.cooc.org.cn/Exhibition.asp</a>
第六届中国眼科学基础研究大会暨研究生导师论坛会议	北京	3.14-3.16	<a href="http://www.ccrvo.org/2014/cn/">http://www.ccrvo.org/2014/cn/</a>
第十四届全国角膜及眼表疾病学术大会暨第六届全国角膜屈光学术大会	上海	4.24-4.27	<a href="http://tougao.sd-ch.com/html/news/25.html">http://tougao.sd-ch.com/html/news/25.html</a>
第十六届全国白内障与人工晶状体学术会议	天津	6.19-6.22	<a href="http://www.eye-zju.com/news_disp.php?id=1281">http://www.eye-zju.com/news_disp.php?id=1281</a>
2014 全国斜视与小儿眼科学国际高峰论坛	南宁	6.13-6.15	<a href="http://www.cjo-eye.com/index.php?c=defaults&amp;m=news&amp;id=354">http://www.cjo-eye.com/index.php?c=defaults&amp;m=news&amp;id=354</a>
第十九次全国眼科学术大会 第十七届亚非眼科会议	西安	9.17-9.21	<a href="http://www.aaco2014china.org/">http://www.aaco2014china.org/</a>

注:具体会议时间及安排以主办方通知为主。