

· 实验研究 ·

虾青素对 1 型糖尿病大鼠代谢性白内障的预防作用及其机制

杨明 王志军 邓婷婷 潘琳

100029 北京,中日友好医院眼科[杨明(北京协和医学院博士研究生)、王志军];100730 北京协和医学院(王志军);100029 北京,中日友好临床医学研究所(邓婷婷、潘琳)

通信作者:王志军,Email:Wangzj301@sina.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.03.007

【摘要】 背景 糖尿病性白内障的发病机制尚未完全明了,研究认为多种代谢通路参与其发病,其中包括氧化应激机制。研究表明虾青素有强大的抗氧化作用,可有效抑制氧化应激损伤及脂质过氧化,但目前鲜见虾青素对糖尿病性白内障防治作用研究的相关报道。目的 观察虾青素对 1 型糖尿病大鼠代谢性白内障的预防作用及其机制。方法 将 38 只 SPF 级 6 周龄雄性 SD 大鼠纳入研究,其中 30 只大鼠用一次性腹腔内注射质量分数 1% 链脲佐菌素(STZ)方法制备糖尿病大鼠模型,连续 3 d 血糖值 >16.7 mol/L 者为造模成功,应用随机数字表法将造模成功的 24 只大鼠随机分为糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组,正常对照组 8 只大鼠同法注射等容量生理盐水。低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠分别给予 50 mg/(kg·d)和 100 mg/(kg·d) 虾青素以及橄榄油和饲料混合物连续喂养 3 个月,糖尿病模型组大鼠以等容量橄榄油混合饲料喂养,正常对照组以正常饲料喂养。造模后用裂隙灯显微镜行眼前节照相并对晶状体混浊的严重程度分为 1~5 级;收集大鼠双侧眼球制备晶状体切片,采用苏木精-伊红染色法观察大鼠晶状体的组织病理学改变;采用免疫组织化学法观察晶状体中糖基化终末产物(AGEs)的阳性表达并进行定量分析;采用 ELISA 双抗体夹心法测定各组大鼠晶状体内 AGEs 质量浓度、丙二醛(MDA)浓度、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)水平以及谷胱甘肽(GSH)质量浓度。结果 造模后 2、4、6、8、10 和 12 周糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠血糖水平均明显高于正常对照组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),而糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组间大鼠血糖水平的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。正常对照组大鼠晶状体透明,为 1 级,糖尿病模型组晶状体混浊均为 5 级,不同剂量虾青素组大鼠晶状体混浊度多为 3~4 级。低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体匀浆内的 AGEs 质量浓度分别为 (7.23 ± 0.50) $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 (7.01 ± 0.37) $\mu\text{g}/\text{ml}$,MDA 浓度分别为 (1.43 ± 0.22) mmol/L 和 (1.35 ± 0.16) mmol/L,均低于糖尿病模型组的 (7.61 ± 0.45) $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 (1.62 ± 0.42) mmol/L,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 GSH 质量浓度分别为 (272.70 ± 12.53) ng/L 和 (283.52 ± 16.17) ng/L,SOD 含量分别为 (55.45 ± 6.47) $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$ 和 (56.73 ± 5.12) $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$,CAT 含量分别为 (2.91 ± 0.41) $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$ 和 (3.02 ± 0.13) $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$,均明显高于糖尿病模型组的 (241.52 ± 15.13) ng/L、 (51.67 ± 5.45) $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$ 和 (2.72 ± 0.27) $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。低剂量虾青素组大鼠晶状体中 GSH 质量浓度和 SOD 含量明显低于高剂量虾青素组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结论 虾青素能够延缓 1 型糖尿病大鼠代谢性白内障的发生和发展,其作用机制与其抗氧化应激反应有关。

【关键词】 抗氧化剂/药理; 类胡萝卜素虾青素; 实验性糖尿病/并发症; 糖尿病性白内障/药物治疗; 氧化应激; SD 大鼠

Proventive effects of astaxanthin on metabolic cataract and its mechanism in type 1 diabetic rats Yang Ming, Wang Zhijun, Deng Tingting, Pan Lin

Department of Ophthalmology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China (Yang M [Ph D of Graduate School of Peking Union Medical College, Beijing 100730, China], Wang ZJ); Graduate School of Peking Union Medical College, Beijing 100730, China (Wang ZJ); Institute of Clinical Medical Sciences, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China (Deng TT, Pan L)

Corresponding author: Wang Zhijun, Email: Wangzj301@sina.com

【Abstract】 **Background** The pathogenesis mechanism of diabetic cataract has not been fully elucidated. Researches showed that multiple biological pathways participate in the pathogenesis of diabetic cataract, including oxidative stress. Astaxanthin can inhibit oxidative stress-mediated injury and lipid peroxidation. However, whether astaxanthin has the preventive effects on diabetic cataract is unclear. **Objective** This study was to investigate the preventive effects of astaxanthin on metabolic cataract in type 1 diabetic rats. **Methods** Thirty-eight 6-week-old SPF male SD rats were used in this study, and 1% streptozocin was intraperitoneally injected to establish type 1

diabetic models in 30 rats, and 24 successful models were assigned to diabetic model group, low-dose astaxanthin group and high-dose astaxanthin group. Equal volume of normal saline solution was injected in the same way in 8 rats as the normal control group. Mixture foods containing 50 mg/(kg · day) or 100 mg/(kg · day) astaxanthin with olive oil and fodder were used continuously for 3 months in the rats of low-dose astaxanthin group and high-dose astaxanthin group, respectively, and mixture food of olive oil with fodder was used in the diabetic model group. Only fodder was used in the same way in the rats of the normal control group. The opacification of lens was examined by slit lamp section radiography system and graded on a scale of 1–5. The specimen of lens were prepared for the hematoxylin & eosin stain. The expression and lation of advanced glycosylation end products (AGEs) in the lens was examined using immunochemistry. The contents of oxidative stress-related indicators in the lens, such as AGEs, malonyldialdehyde (MDA), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and mass fraction of glutathione (GSH), were assayed by ELISA. The experimental process complied with the national standard (Laboratory Animal Requirements of Environment and Housing Facilities [GB14925-2001]).

Results The blood glucose levels of the rats were significantly higher in the diabetic model group, low-dose astaxanthin group and high-dose astaxanthin group than those in the normal control group at 2, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks after modeling (all at $P < 0.05$), while the blood glucose levels of rats were not evidently different between low-dose astaxanthin group and high-dose astaxanthin group at various time points (all at $P > 0.05$). The rat lenses were transparent in the normal control group with scale of grade 1, and serious lens opacification was seen in the rats of the diabetic model group, with the scale of grade 5, while the rat lenses in the low-dose astaxanthin group and high-dose astaxanthin group were in grade 3–4. The contents of AGEs in the lenses were $(7.23 \pm 0.50) \mu\text{g/ml}$ and $(7.01 \pm 0.37) \mu\text{g/ml}$, and MDA contents were $(1.43 \pm 0.22) \text{mmol/L}$ and $(1.35 \pm 0.16) \text{mmol/L}$ in the low-dose astaxanthin group and high-dose astaxanthin group respectively, which were significantly lower than $(7.61 \pm 0.45) \mu\text{g/ml}$ and $(1.62 \pm 0.42) \text{mmol/L}$ in the normal control group (all at $P < 0.05$). GSH contents in rat lenses were $(272.70 \pm 12.53) \text{ng/L}$ and $(283.52 \pm 16.17) \text{ng/L}$, and SOD contents were $(55.45 \pm 6.47) \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ and $(56.73 \pm 5.12) \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$, and CAT contents were $(2.91 \pm 0.41) \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ and $(3.02 \pm 0.13) \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ in the low-dose astaxanthin group and high-dose astaxanthin group respectively, which were significantly higher than $(241.52 \pm 15.13) \text{ng/L}$, $(51.67 \pm 5.45) \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ and $(2.72 \pm 0.27) \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ in the normal control group (all at $P < 0.05$). The GSH content and SOD content in rat lens were lower in the low-dose astaxanthin group than that in the high-dose astaxanthin group (both at $P < 0.05$).

Conclusions Astaxanthin can postpone the pathogenesis and development of diabetic cataract in type 1 diabetic rats by antioxydative stress.

[Key words] Antioxidants/pharmacology; Carotenoid astaxanthin; Diabetes mellitus, experimental/complications; Diabetic cataract/drug therapy; Oxidative stress; Rats, SD

糖尿病是一组以胰岛素分泌不足及靶器官对胰岛素敏感性下降引起的糖代谢紊乱综合征,糖尿病性白内障是一种代谢性白内障,其发病率在糖尿病眼部并发症中仅次于糖尿病视网膜病变^[1],近来其发病率呈继续增长的趋势。研究表明,糖尿病性白内障有发生率增高、发病时间提前、发生速度快的特点,且与患者的年龄、血糖水平等因素相关。糖尿病性白内障的发病机制尚未完全明确^[2-4],目前较为认可的有 3 种学说,分别为多元醇代谢异常学说、非酶糖基化学说和氧化应激学说,这些机制相互作用,共同促进疾病的发生和发展^[5]。其中氧化应激学说正逐渐被越来越多的研究所证实,主要为高血糖可导致氧化应激损伤的作用增强,细胞中自由基含量增多,机体抗氧化屏障受损,防御体系失衡,进而导致晶状体混浊^[6-7]。虾青素是抗氧化能力较强的类胡萝卜素,其结合自由基的能力是其他类胡萝卜素的 10~100 倍。研究证实,虾青素有强大的抗氧化作用,可有效抑制氧化应激损伤及脂质过氧化,抑制糖基化终末产物(advanced glycosylation end products, AGEs)的形成^[8-10],以其抗氧化作用及抗炎作用对白内障、葡萄膜炎、年龄相关性

黄斑变性、糖尿病视网膜病变以及慢性高眼压等多种眼部疾病具有保护作用^[11-12]。然而,目前尚未见虾青素对糖尿病性白内障防治作用研究的相关报道。因此,本研究拟观察虾青素对糖尿病大鼠晶状体和视网膜形态学变化的影响及抗氧化作用,探讨虾青素对糖尿病并发症的防治作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂及仪器 链脲佐菌素(streptozocin, STZ)(美国 Sigma 公司);虾青素(上海将来实业有限公司);大鼠 AGEs 酶联免疫试剂盒(武汉华美生物工程有限公司);大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)酶联免疫试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);兔抗鼠 AGEs 多克隆抗体(PL031158R)、生物素化山羊抗兔 IgG(PAB9401)(北京博奥森生物技术有限公司)。眼前节照相系统(日本 Topcon 公司);酶标仪(上海闪谱生物科技有限公司);TISSUE-TEK 包埋机、TISSUE-TEK

脱水机、CRM-440 病理切片机(日本 SAKURA 公司)。

1.1.2 实验动物 SPF 级 6 周龄雄性 SD 大鼠 38 只, 体质量 200 ~ 240 g(购于北京华阜康生物科技股份有限公司), 饲养于中日友好临床研究所 SPF 级中心动物实验室[许可证号: SYXK(京)2010-0011]。实验前常规适应性饲养 3 d, 在扩瞳条件下检查 SD 大鼠的双眼前节和眼底, 除外屈光间质和眼底异常者。实验期间所有大鼠分笼饲养, 室温为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 自由饮食进水, 每日更换新鲜垫料, 观察大鼠的一般状况, 每 2 周监测血糖及体质量。大鼠的喂养和实验过程遵循实验室动物护理指南(the Care and Use of Laboratory Animals)。大鼠造模前禁食 12 h, 然后一次性腹腔内注射质量分数 1% STZ 溶液 60 mg/kg。另取正常对照组 8 只大鼠同法注射等容量生理盐水。各组大鼠注射后 72 h 尾尖采血测定血糖, 连续 3 d 血糖值 $>16.7 \text{ mol/L}$ 者为造模成功, 共 24 只大鼠造模成功。采用随机数字表法将造模成功的 24 只大鼠随机分为糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组, 每组各 8 只, 均于造模成功后次日 8:00 ~ 10:00 给药。参照文献[13]

的方法, 低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠分别给予 $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和 $100 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 虾青素, 对这 2 个组大鼠进行混合饲料(将称量好的虾青素分装到掏空的圆柱状饲料中, 以橄榄油混匀)喂养; 糖尿病模型组大鼠以等量橄榄油与饲料混合进行喂养, 药物干预和各项实验指标的测定时间为造模后 12 周。

1.2 方法

1.2.1 实验动物的分组处理 应用随机数字表法随机取 30 只大鼠制作糖尿病模型。

1.2.2 晶状体混浊的评分 大鼠药物干预后第 4 周开始每周一 10:00 使用质量分数 1% 托吡卡胺滴眼液双眼各点眼 1 次, 10 min 后裂隙灯显微镜下观察大鼠晶状体的透明度, 并用眼前节照相系统进行右眼前节相, 参照 Azuma 等^[14] 的标准将晶状体混浊度分为 5 级。1 级: 晶状体透明; 2 级: 晶状体轻度混浊, 周边出现空泡; 3 级: 晶状体中度混浊, 皮质呈小片状或环形混浊, 晶状体核出现雾状混浊; 4 级: 晶状体皮质大片混浊, 晶状体核雾状混浊加重; 5 级: 晶状体完全混浊(图 1)。

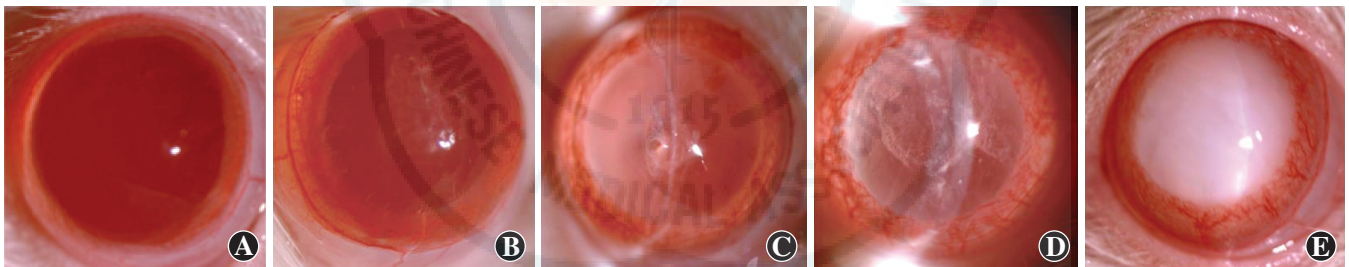


图 1 大鼠裂隙灯显微镜下晶状体混浊分级 A: 晶状体透明, 为 1 级 B: 晶状体轻度混浊, 为 2 级 C: 晶状体中度混浊, 为 3 级 D: 晶状体皮质及晶状体核均出现混浊, 为 4 级 E: 晶状体完全混浊, 呈瓷白色, 为 5 级

1.2.3 晶状体中各氧化指标含量的测定 造模后 12 周用过量水合氯醛麻醉法处死大鼠, 冰浴下摘取双侧眼球, 称量标记, 右侧眼球做角膜切口, 取出晶状体, 显微镜下仔细剔除晶状体上附着的虹膜及悬韧带, 称量标记后置于 -80°C 冰箱保存。大鼠左侧眼球置于质量分数 4% 多聚甲醛中固定。将低温保存的晶状体吸干水分后置于研磨器内, 倒入预冷的 PBS(pH 7.4) 进行研磨, 制备 10% 的组织匀浆, 离心半径 3 cm, 4°C 条件下 9 000 r/min 离心 10 min, 取晶状体上清液, 分装后置于 -80°C 冰箱保存备用。参照试剂盒说明书利用 ELISA 双抗体夹心法分别检测大鼠晶状体中 AGEs、SOD、GSH、CAT 和 MDA 蛋白含量。

1.2.4 晶状体的组织病理学检查 将 4% 多聚甲醛固定的眼球浸入石蜡包埋盒底部(眼球垂直包埋), 制作石蜡切片, 部分切片用苏木精-伊红染色, 光学显微镜下观察晶状体组织学改变并拍照; 另一部分切片用

于免疫组织化学染色。

1.2.5 免疫组织化学法检测晶状体中 AGEs 的表达

将切片用 H_2O_2 封闭后滴加兔抗鼠 AGEs 抗体(1:100) 4°C 过夜, 复温冲洗后滴加生物素标记山羊抗兔 IgG, 室温孵育 15 min, DAB 染色后复染, 脱水, 透明, 封片。AGEs 在晶状体组织中的阳性表达为黄褐色。取免疫组织化学法检测后的切片组织, 光学显微镜下检查和定位 AGEs 在晶状体中的表达, 每张切片任意选取 3 个视野进行拍照, 用 Image Pro Plus 软件定量分析各组染色区的平均吸光度(A)值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件(序列号: 4625180487) 进行统计分析。本研究中计量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表达, 组间资料经 Levene 检验证实方差齐; 计数资料以频数表达。采用完全随机分组单因素干预四水平研究设计, 正常对

表 1 不同时间点各组大鼠血糖水平的比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	样本量	不同时间点血糖水平						
		成模时	成模后 2 周	成模后 4 周	成模后 6 周	成模后 8 周	成模后 10 周	成模后 12 周
正常对照组	8	6.42±0.15	6.57±0.23	6.92±0.94	7.03±0.30	6.63±0.71	6.15±0.37	6.48±0.58
糖尿病模型组	8	28.03±2.29 ^a	29.90±1.66 ^a	29.30±1.85 ^a	30.74±2.74 ^a	30.29±2.43 ^a	31.44±1.55 ^a	31.16±1.62 ^a
低剂量虾青素组	8	29.88±1.00 ^a	31.28±2.15 ^a	27.70±1.22 ^a	29.65±1.65 ^a	30.38±1.44 ^a	32.53±1.55 ^a	31.55±1.70 ^a
高剂量虾青素组	8	30.40±2.23 ^a	28.08±2.35 ^a	28.82±2.27 ^a	29.53±1.12 ^a	30.30±3.19 ^a	29.68±2.05 ^a	31.85±2.58 ^a
F 值		260.12	189.23	104.45	112.23	210.23	202.38	190.21
P 值		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:与各自时间点正常对照组比较,^a $P < 0.05$ (单因素方差分析, LSD- t 检验)

照组、糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠血糖水平、晶状体中 AGEs、MDA 和 GSH 质量浓度以及 SOD 和 CAT 含量的总体差异比较均采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD- t 检验。各组大鼠不同晶状体混浊分级眼数分布的差异比较采用等级资料的 Kruskal-Wallis H 检验,多重比较采用 Radit 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物的造模情况

成模时及成模后 2、4、6、8、10 和 12 周 4 个组间大鼠血糖水平的总体比较差异均有统计学意义 ($F = 260.12$ 、 189.23 、 104.45 、 112.23 、 210.23 、 203.38 、 190.21 , 均 $P < 0.05$), 其中各时间点糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠血糖水平均明显高于正常对照组, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 但糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组间大鼠血糖水平的差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (表 1)。

2.2 各组大鼠晶状体混浊度的评估

正常对照组大鼠晶状体均透明;糖尿病模型组大鼠晶状体出现雾状混浊,6 只眼晶状体全部混浊变白,为 5 级混浊;低剂量虾青素组和高剂量虾青素组中大鼠晶状体混浊度较糖尿病模型组减轻,晶状体混浊多为 3~4 级,成模后 12 周正常对照组大鼠 16 只眼晶状体均透明,糖尿病模型组大鼠 16 只眼中 12 只眼晶状体混浊 4~5 级,低剂量虾青素组和高剂量虾青素组晶状体混浊度分布较均匀,均有 10 只眼为 3~4 级。正常对照组、糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体混浊度分级的总体比较差异有统计学意义 ($P = 0.002$),低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体混浊度的分级低于糖尿病模型组,差异均有统计学意义 ($P = 0.005$ 、 0.001),而低剂量虾青素组与高剂量虾青素组间晶状体混浊度的分布差异无统计学意义 ($P = 0.724$) (表 2)。

表 2 各组大鼠不同级别晶状体混浊的眼数分布 (n)

组别	眼数	不同晶状体混浊分级的眼数				
		1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
正常对照组	16	16	0	0	0	0
糖尿病模型组	16	0	0	2	8	6
低剂量虾青素组 ^{ab}	16	0	4	6	4	2
高剂量虾青素组 ^{ab}	16	0	4	8	2	2
Z 值				12.420		
P 值				0.002		

注:正常对照组比较,^a $P < 0.01$;与糖尿病模型组比较,^b $P < 0.05$ (Kruskal-Wallis H 检验, Radit 检验)

2.3 各组大鼠晶状体中氧化应激相关指标含量的变化

2.3.1 各组大鼠晶状体中 AGEs 质量浓度的比较

正常对照组、糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组间大鼠晶状体中 AGEs 质量浓度的总体比较差异有统计学意义 ($F = 259.87$, $P = 0.00$), 与正常对照组比较,糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 质量浓度明显升高,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 与糖尿病模型组比较,低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 质量浓度明显降低,高剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 质量浓度明显低于低剂量虾青素组,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (表 3)。

2.3.2 各组大鼠晶状体中 MDA 浓度的变化

正常对照组、糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组间大鼠晶状体中 MDA 浓度的总体比较差异有统计学意义 ($F = 8.07$, $P = 0.00$), 与正常对照组比较,其余各组大鼠晶状体中 MDA 浓度明显升高,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 MDA 浓度明显低于糖尿病模型组,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 高剂量虾青素组大鼠晶状体中 MDA 浓度明显低于低剂量虾青素组,差异有统计学意义 ($P = 0.04$) (表 3)。

2.3.3 各组大鼠晶状体中 SOD、CAT 含量及 GSH 质量浓度的变化

正常对照组、糖尿病模型组、低剂量虾

表 3 各组大鼠晶状体中氧化应激相关指标的定量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	样本量	AGEs($\mu\text{g}/\text{ml}$)	MDA(mmol/L)	GSH(ng/L)	SOD[$\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$]	CAT[$\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{L})$]
正常对照组	8	3.63 \pm 0.40	1.01 \pm 0.32	355.00 \pm 15.40	108.62 \pm 5.30	7.62 \pm 0.04
糖尿病模型组	8	7.61 \pm 0.45 ^a	1.62 \pm 0.42 ^a	241.52 \pm 15.13 ^a	51.67 \pm 5.45 ^a	2.72 \pm 0.27 ^a
低剂量虾青素组	8	7.23 \pm 0.50 ^{ab}	1.43 \pm 0.22 ^{ab}	272.70 \pm 12.53 ^{ab}	55.45 \pm 6.47 ^{ab}	2.91 \pm 0.41 ^{ab}
高剂量虾青素组	8	7.01 \pm 0.37 ^{abc}	1.35 \pm 0.16 ^{abc}	283.52 \pm 16.17 ^{abc}	56.73 \pm 5.12 ^{abc}	3.02 \pm 0.13 ^{ab}
F 值		259.87	8.07	87.63	277.65	291.45
P 值		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:与各自的正常对照组比较,^a $P<0.05$;与各自的糖尿病模型组比较,^b $P<0.05$;与各自的低剂量虾青素组比较,^c $P<0.05$ (单因素方差分析,LSD-*t*检验) AGEs:糖基化终末产物;MDA:丙二醛;GSH:谷胱甘肽;SOD:超氧化物歧化酶;CAT:过氧化氢酶

青素组和高剂量虾青素组间大鼠晶状体中 SOD 和 CAT 含量的总体比较差异均有统计学意义($F=277.65$ 、 291.45 ,均 $P<0.01$),与正常对照组比较,其余各组大鼠晶状体中 SOD 含量均明显降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 SOD 含量明显高于糖尿病模型组,高剂量虾青素组大鼠晶状体中 SOD 含量明显高于低剂量虾青素组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 CAT 含量明显低于正常对照组,低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 CAT 含量明显高于糖尿病模型组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),低剂量虾青素组与高剂量虾青素组间大鼠晶状体中 CAT 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。正常对照组、糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组间大鼠晶状体中 GSH 质量浓度的差异有统计学意义($F=87.63$, $P=0.00$),其中糖尿病模型组、低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 GSH 质量浓度均明显低于正常对照组,低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠晶状体中 GSH 质量浓度均明显高于糖尿病模型组,高剂量虾青素组大鼠晶状体中 GSH 质量浓度明显高于低剂量虾青素组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)(表 3)。

2.4 各组大鼠晶状体的组织学检查表现

正常对照组大鼠晶状体呈均质红染,晶状体上皮为单层立方上皮细胞,细胞形态规则,排列整齐,分布均匀,晶状体纤维细胞排列规则,细胞体积正常,大小基本一致,细胞质红染;糖尿病模型组大鼠晶状体上皮细胞增生呈多层,细胞排列紊乱,细胞形态呈长形或椭圆形,类

似成纤维细胞,细胞体积缩小,细胞质染色深,细胞核致密、浓缩,呈深紫色,可见晶状体纤维细胞肿胀、破裂、崩解、液化、空泡形成等表现。低剂量虾青素组可见部分晶状体上皮细胞增生,仍有大部分上皮细胞保持单层立方形态,晶状体纤维细胞部分崩解,少量空泡形成,纤维细胞间连接及晶状体核形态与正常对照组相似(图 2)。

2.5 各组大鼠晶状体中 AGEs 的表达及定位

正常对照组大鼠晶状体上皮细胞及皮质中均未见 AGEs 的阳性表达,糖尿病模型组可见大鼠晶状体上皮细胞的细胞质呈棕黄色染色,晶状体皮质层中可见散在棕黄色染色颗粒,低剂量虾青素组和高剂量虾青素组晶状体中 AGEs 阳性染色强于正常对照组,但弱于糖尿病模型组(图 3)。AGEs 的阳性表达定量分析显示,正常对照组、糖尿病模型组、低剂量虾青素组和

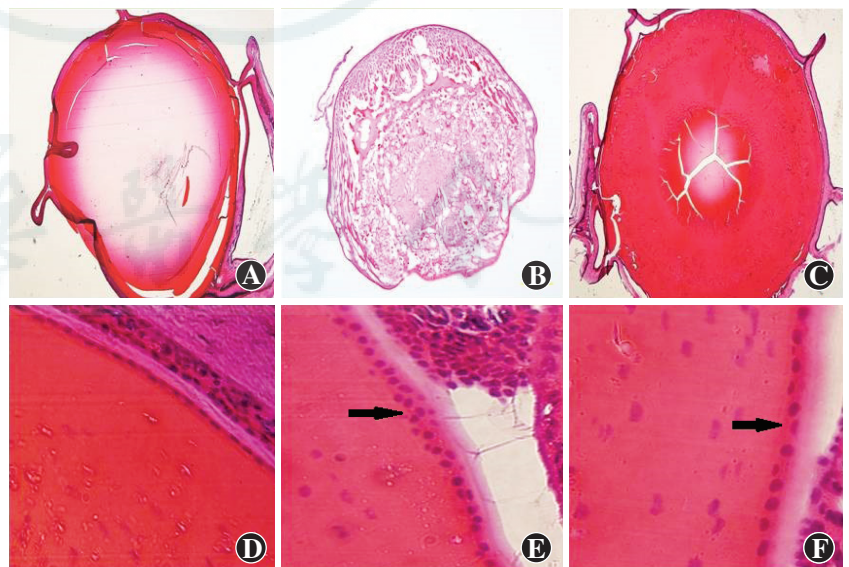


图 2 各组大鼠晶状体组织形态学改变 A:正常对照组低倍光学显微镜下可见大鼠晶状体呈均质红染(HE \times 40) B:糖尿病模型组低倍光学显微镜下可见晶状体淡染,组织疏松(HE \times 40) C:低剂量虾青素组低倍光学显微镜下可见大鼠晶状体呈均质红染(HE \times 40) D:正常对照组高倍光学显微镜下可见大鼠晶状体上皮细胞为单层立方状,排列整齐(HE \times 400) E:糖尿病模型组高倍光学显微镜下可见复层晶状体上皮细胞(箭头)(HE \times 400) F:低剂量虾青素组高倍光学显微镜下可见晶状体上皮细胞仍为单层分布,但细胞大小不一(箭头)(HE \times 400)

高剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 的平均 A 值分别为 2.11 ± 0.18 、 6.34 ± 0.53 、 5.21 ± 0.32 和 5.23 ± 0.24 ，总体比较差异有统计学意义 ($F = 133.52, P < 0.01$)，低剂量虾青素组与高剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 的平均 A 值差异无统计学意义 ($P = 0.073$)，低剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 的平均表达强度值明显低于糖尿病模型组，差异有统计学意义 ($P = 0.013$)。

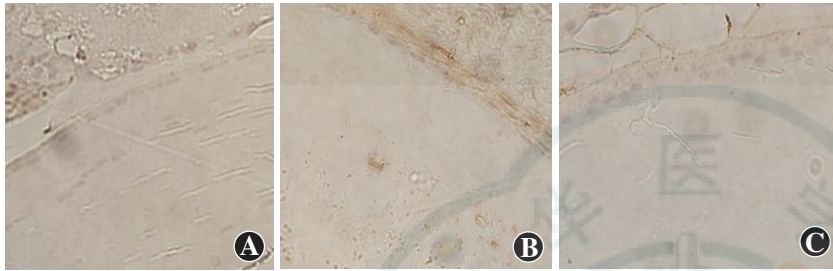


图3 各组大鼠晶状体中 AGEs 的表达 (DAB $\times 400$) A: 正常对照组大鼠晶状体中未见 AGEs 表达 B: 糖尿病模型组大鼠晶状体上皮细胞和晶状体皮质中均可见 AGEs 表达, 呈棕黄色染色 C: 低剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 表达强度弱于糖尿病模型组

3 讨论

目前多采用虾青素粉末与一定比例的橄榄油混合后以灌胃饲养法进行动物实验研究^[14], 这种方法可操作性强, 给药量准确且可控, 但易造成动物死亡, 实验超过 3 个月时动物死亡率高达 80%, 且啮齿类动物需进食坚硬饲料以满足自身磨牙的特点和需要。为解决上述问题, 本研究中将虾青素粉与橄榄油混合后填塞至掏空的颗粒饲料中, 油剂渗入饲料后分笼喂养, 大鼠可顿服, 整个过程中无大鼠死亡。

正常人晶状体内存在一定数量的自由基, 同时又有两大抗氧化体系, 分别以酶促和非酶促反应为特点, 其中包括 CAT、SOD 和 GSH, 使晶状体组织活性氧及自由基的产生和清除保持动态平衡, 免受自由基的损伤^[1-3]。在外界诱发因素作用下, 自由基生成增多, 抗氧化防御系统受到抑制而氧化应激损伤反应活跃, 引起晶状体上皮细胞损伤, 晶状体蛋白成分比例失调, 不可溶性蛋白比例增加, 晶状体囊膜的屏障功能受损, 促使白内障的发生和发展^[1-2]。在高血糖代谢状态下, 晶状体以及房水内的抗氧化酶活性降低, 小分子抗氧化物质数量减少, 抗氧化防御系统水平低下, 多种抗氧化物质可延缓病情进展, 口服抗氧化剂羟苯磺酸钙能降低糖尿病大鼠视网膜的血管通透性, 减轻血管损伤, 减少 AGEs 生成^[13], 口服普罗布考可减少周细胞凋亡^[15], 提示氧化应激与糖尿病性白内障存在一定关系, 但形成机制尚未明确。

本研究中发现低剂量虾青素组和高剂量虾青素组

大鼠晶状体混浊情况较糖尿病模型组减轻, 但部分低剂量虾青素组和高剂量虾青素组大鼠也出现重度晶状体混浊, 其原因可能为糖尿病性白内障的发生是由多种机制相互交互的共同作用, 仅用抗氧化药物干预只能抑制氧化应激损伤这一途径, 但不能阻止多元醇致病通路和非酶糖基化反应的发生。此外, 本实验样本量较小, 大鼠存在个体差异, 都可能造成虾青素组大鼠中也出现 5 级晶状体混浊。

AGEs 是蛋白糖基化过程中还原性醛基与蛋白质中的氨基亲核结合进一步脱水重排形成的产物, 其形成是一个不可逆过程。在糖尿病个体中, 高血糖状态可以通过多种途径加速晚期 AGEs 的形成, AGEs 在糖尿病性白内障的发展过程中起到重要作用, 可改变晶状体蛋白的分子结构, 尤其是氨基酸的构成比例, 其不能及时清除则于晶状体内堆积, 导致晶状体蛋白变性交联, 颜色变深, 致其光学性质改变, 影响组织结构和功能^[16]。AGEs 也可与相应受体结合而催化脂质过氧化反应, 产生 O_2^- 、 H_2O_2 等自由基, 自由基水平升高, 糖尿病个体晶状体的抗氧化能力受损, 增加了其对氧化应激的敏感性, AGEs 可与自由基相互作用, AGEs 和自由基表达量上调, 形成恶性循环, 加重氧化应激损伤, 促进病程进展^[17]。糖尿病患者房水中 AGEs 质量浓度明显升高, 提示其与糖尿病性白内障的发病密切相关^[18]。本研究中发现糖尿病模型组大鼠晶状体中 AGEs 质量浓度较正常对照组大鼠明显升高, 验证了 AGEs 在糖尿病性白内障发病机制中的重要作用。本研究还发现, 不同剂量虾青素组大鼠晶状体中 AGEs 含量较糖尿病模型组明显下降, 说明虾青素可减少 AGEs 的形成, 减少其在大鼠晶状体内的堆积, 进而延缓晶状体混浊的进程, 对晶状体起到保护作用。本研究中发现, 糖尿病模型组大鼠晶状体上皮内 AGEs 表达增强, 而正常对照组 AGEs 表达量极低, 不同剂量虾青素组大鼠晶状体内的表达强度介于两者之间, 可见虾青素可减少晶状体上皮细胞中 AGEs 的沉积, 进而减少自由基生成和氧化损伤, 对晶状体上皮细胞具有保护作用。

人体组织或细胞中 GSH 质量浓度和 SOD、CAT 的活性是衡量机体抗氧化能力的重要指标。高血糖状态下晶状体及房水内的抗氧化酶活性降低, 抗氧化防御系统水平低下^[19-20], 且 AGEs 通过催化脂质过氧化反应生成大量自由基, 进一步导致机体氧化应激损伤, 机体的抗氧化系统通过与自由基结合进一步清除自由

基,因而高血糖个体中 SOD、CAT 及 GSH 活性下降。多种抗氧化物,如丙酮酸、牛磺酸等均可通过减少机体内自由基的产生以及直接淬灭自由基而增强糖尿病大鼠的抗氧化能力^[21],减轻晶状体的氧化应激损伤,抗氧化剂已经成为抗糖尿病性白内障药物开发的焦点。虾青素作为类胡萝卜素中的一类强抗氧化剂^[1,22-24],已成为多学科研究的热点。本实验选用虾青素作为干预药物,对晶状体组织中的 GSH 质量浓度及 SOD、CAT 含量进行测定,发现虾青素组大鼠晶状体中的 GSH 质量浓度及 SOD 和 CAT 含量较正常对照组明显下降,较糖尿病模型组增加。Ishikawa 等^[9]用糖皮质激素诱导鸡胚代谢性白内障,诱导后 48 h 发现虾青素可阻止 GSH 的氧化,维持还原电位,这可能是由于虾青素可以直接淬灭自由基,提高抗氧化防御系统的水平,保护抗氧化酶和抗氧化小分子物质的活性,进而抑制氧化应激损伤,延缓糖尿病性白内障的发生。

MDA 是自由基攻击生物膜中的多元不饱和脂肪酸引发脂质过氧化反应所形成的氧化终产物,MDA 的浓度反映了组织内脂质过氧化的程度,进而间接反映机体氧化损伤程度^[25]。研究表明,褪黑素等抗氧化剂能显著抑制 STZ 诱导的糖尿病大鼠视网膜中 MDA 浓度的增加,减轻脂质过氧化反应对组织的损伤^[26]。本研究显示,不同剂量虾青素组大鼠晶状体组织中的 MDA 浓度明显低于糖尿病模型组,虾青素的作用呈剂量依赖性,提示虾青素以其较强的抗氧化能力抑制晶状体内脂质过氧化反应的发生,降低 MDA 浓度。其可能的机制是虾青素直接与过量的自由基发生反应,降低晶状体内活性氧的水平,使其攻击性降低,稳定生物膜。

虾青素可减轻高血糖引起的晶状体混浊程度,可能与虾青素能通过抑制氧化应激反应、提高机体抗氧化能力及减少氧化损伤有关,提示虾青素可作为天然药物对糖尿病性白内障发挥治疗作用,同时也可作为糖尿病性白内障致病机制的氧化应激学说和多元醇学说提供实验依据。

参考文献

- [1] Zhang J, Sun Z, Sun P, et al. Microalgal carotenoids: beneficial effects and potential in human health[J]. *Food Funct*, 2014, 5(3): 413-425. DOI: 10.1039/c3fo60607d.
- [2] Maoka T, Tokuda H, Suzuki N, et al. Anti-oxidative, anti-tumor-promoting, and anti-carcinogenesis activities of nitroastaxanthin and nitrolutein, the reaction products of astaxanthin and lutein with peroxynitrite[J]. *Mar Drugs*, 2012, 10(6): 1391-1399. DOI: 10.3390/md10061391.
- [3] Ciccone MM, Cortese F, Gesualdo M, et al. Dietary intake of carotenoids and their antioxidant and anti-inflammatory effects in cardiovascular care[J/OL]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 782137 [2016-05-12]. <https://www.hindawi.com/journals/mi/2013/782137/>. DOI: 10.1155/2013/782137.
- [4] Lorenz RT, Cysewski GR. Commercial potential for Haematococcus

- microalgae as a natural source of astaxanthin[J]. *Trends Biotechnol*, 2000, 18(4): 160-167.
- [5] Xu J, Gao H, Zhang L, et al. A combination of flaxseed oil and astaxanthin alleviates atherosclerosis risk factors in high fat diet fed rats[J]. *Lipids Health Dis*, 2014, 13: 63. DOI: 10.1186/1476-511X-13-63.
- [6] Pashkow FJ, Watumull DG, Campbell CL. Astaxanthin: a novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease[J]. *Am J Cardiol*, 2008, 101(10A): 58D-68D. DOI: 10.1016/j.amjcard.2008.02.010.
- [7] Yang Y, Pham TX, Wegner CJ, et al. Astaxanthin lowers plasma TAG concentrations and increases hepatic antioxidant gene expression in diet-induced obesity mice[J]. *Br J Nutr*, 2014, 112(11): 1797-1804. DOI: 10.1017/S0007114514002554.
- [8] Liao JH, Chen CS, Maher TJ, et al. Astaxanthin interacts with selenite and attenuates selenite-induced cataractogenesis[J]. *Chem Res Toxicol*, 2009, 22(3): 518-525. DOI: 10.1021/tx800378z.
- [9] Ishikawa S, Hashizume K, Nishigori H, et al. Effect of astaxanthin on cataract formation induced by glucocorticoids in the chick embryo[J]. *Curr Eye Res*, 2015, 40(5): 535-540. DOI: 10.3109/02713683.2014.935445.
- [10] Micklisch S, Lin Y, Jacob S, et al. Age-related macular degeneration associated polymorphism rs10490924 in ARMS2 results in deficiency of a complement activator[J/OL]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 4 [2016-09-07]. <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-016-0776-3>. DOI: 10.1186/s12974-016-0776-3.
- [11] Carido M, Zhu Y, Postel K, et al. Characterization of a mouse model with complete RPE loss and its use for RPE cell transplantation[J/OL]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(8): 5431-5444. DOI: 10.1167/iovs.14-14325.
- [12] Yildirim O, Ateş NA, Tamer L, et al. Changes in antioxidant enzyme activity and malondialdehyde level in patients with age-related macular degeneration[J]. *Ophthalmologica*, 2004, 218(3): 202-206. DOI: 10.1159/000076845.
- [13] Nakajima Y, Inokuchi Y, Shimazawa M, et al. Astaxanthin, a dietary carotenoid, protects retinal cells against oxidative stress *in-vitro* and in mice *in-vivo*[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2008, 60(10): 1365-1374. DOI: 10.1211/jpp/60.10.0013.
- [14] Azuma K, Kubota K, Tashiro T, et al. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses[J]. *Inter Congress*, 2002, 1245(2): 503-508.
- [15] Crabb JW, Miyagi M, Gu X, et al. Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(23): 14682-14687. DOI: 10.1073/pnas.222551899.
- [16] Li Z, Dong X, Liu H, et al. Astaxanthin protects ARPE-19 cells from oxidative stress via upregulation of Nrf2-regulated phase II enzymes through activation of PI3K/Akt[J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 1656-1666.
- [17] Izumi-Nagai K, Nagai N, Ohgami K, et al. Inhibition of choroidal neovascularization with an anti-inflammatory carotenoid astaxanthin[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(4): 1679-1685. DOI: 10.1167/iovs.07-1426.
- [18] Eshaq RS, Wright WS, Harris NR. Oxygen delivery, consumption, and conversion to reactive oxygen species in experimental models of diabetic retinopathy[J]. *Redox Biol*, 2014, 2: 661-666. DOI: 10.1016/j.redox.2014.04.006.
- [19] Denis U, Lecomte M, Paget C, et al. Advanced glycation end-products induce apoptosis of bovine retinal pericytes in culture: involvement of diacylglycerol/ceramide production and oxidative stress induction[J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, 33(2): 236-247.
- [20] Dong LY, Jin J, Lu G, et al. Astaxanthin attenuates the apoptosis of retinal ganglion cells in db/db mice by inhibition of oxidative stress[J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(3): 960-974. DOI: 10.3390/md11030960.
- [21] Park JS, Chyun JH, Kim YK, et al. Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans[J/OL]. *Nutr Metab (Lond)*, 2010, 7: 18 [2016-11-05]. <https://nutritionandmetabolism.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-7075-7-18>. DOI: 10.1186/1743-7075-7-18.
- [22] Ohgami K, Shiratori K, Kotake S, et al. Effects of astaxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation *in vitro* and *in vivo*[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(6): 2694-2701.
- [23] Saito M, Yoshida K, Saito W, et al. Astaxanthin increases choroidal blood flow velocity[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2012, 250(2): 239-245. DOI: 10.1007/s00417-011-1843-1.
- [24] Yuan C, Du L, Jin Z, et al. Storage stability and antioxidant activity of complex of astaxanthin with hydroxypropyl-β-cyclodextrin[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 91(1): 385-389. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.08.059.

[25] Yasunori N. The effect of astaxanthin on retinal capillary blood flow in normal volunteers [J]. J Clin Ther Med, 2005, 21 (5) : 537-542.

[26] Cort A, Ozturk N, Akpınar D, et al. Suppressive effect of astaxanthin on retinal injury induced by elevated intraocular pressure [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2010, 58 (1) : 121-130. DOI:10.1016/j.yrtph.

2010.05.001.

(收稿日期:2016-12-02)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)

· 病例报告 ·

急性梅毒性后极部鳞状脉络膜视网膜炎合并黄斑区脉络膜新生血管一例

魏为 唐罗生 高玲 罗静 欧阳平波

410011 长沙,中南大学湘雅二医院眼科

通信作者:魏为,Email:weiweiy12@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.03.008

患者,男,46岁,因右眼视力下降2周2013年9月就诊于中南大学湘雅二医院眼科。患者自幼因注射庆大霉素治疗感染性疾病导致聋哑,其父代诉患者未婚,无其他特殊病史,2013年8月全身体格检查未见异常。眼科检查:视力右眼0.2,左眼1.0;双眼眼压及眼前节均未见异常。扩瞳后眼底检查:右眼黄斑区视网膜可见微隆起灰黄色病灶,周围可见视网膜下出血。左眼眼底未见异常。胸部X射线正侧位检查、血常规、肝功能、肾功能和血糖检查未发现异常,结核菌素试验结果阴性。荧光素眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)检查显示右眼早期黄斑拱环及其周围约1 PD大小的强荧光,边界清楚,周围可见遮蔽荧光,FFA晚期黄斑区病灶荧光素渗漏,视盘呈强荧光,近端视网膜血管壁染色,视网膜下云雾样荧光渗漏。左眼黄斑区散在斑点状透见荧光。OCT显示右眼黄斑区视网膜增厚,局部视网膜色素上皮隆起,呈高反射信号。初步诊断:右眼后葡萄膜炎合并黄斑区脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)。给予醋酸泼尼松片40 mg口服,每天1次,每周递减。药物口服2周后右眼行雷珠单抗0.5 ml(0.5 mg)玻璃体腔注射。注射后1周右眼视力为0.3,黄斑区视网膜厚度变薄,CNV病灶高反射范围缩小。醋酸泼尼松片口服1个月,注射后2周复查,右眼视力下降至0.05,左眼1.0。裂隙灯显微镜下查右眼前节未见异常,玻璃体细尘样混浊,检眼镜下可见视盘上方视网膜呈片状灰黄色病灶,与正常视网膜组织分

界清楚,视网膜颞上象限散在黄白色斑点状病灶,边界清晰,颞上周边部视网膜血管闭塞,可见血管白鞘(图1A)。实验室检查显示患者人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)抗体抗原反应阴性,梅毒螺旋体抗体试验阳性,梅毒初筛滴度阳性(1:16);梅毒特异性抗体反应阳性。血沉为26 mm/h。患者全身无其他梅毒表现。FFA检查显示右眼下方视网膜血管充盈时间延迟,颞上方周边视网膜血管闭塞伴大片无灌注区,视盘颞上方及视网膜颞侧周边部散在斑点状低荧光,晚期视盘荧光素渗漏,近端血管壁染色,视盘颞上方及下方视网膜大片状荧光素染色区域(图1B~F)。OCT检查显示黄斑颞上侧视网膜增厚,视网膜水肿,层间结构不清,对应于颞上方黄白色斑点处显示神经纤维层圆形结节状隆起高反射信号,其下低反射信号,内段/外段连续性中断。黄斑中心凹处色素上皮隆起,显示为高反射信号(图1G)。临床诊断:急性梅毒性后极部鳞状脉络膜视网膜炎(acute syphilitic posterior placoid chorioretinitis, ASPPC)合并黄斑区CNV。停用醋酸泼尼松片,给予苄星青霉素240万U(商品单位)肌内注射,每周1次。治疗后1个月眼科复查:视力右眼0.05,左眼1.0;眼压右眼20 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),左眼18 mmHg;眼底检查示颞上象限视网膜色泽恢复正常,眼底黄白色斑点消失,颞上象限及视盘下方视网膜可见散在斑点状色素沉着,黄斑区出血吸收,局部可见瘢痕灶(图2A)。FFA显示视网膜颞上静脉染料

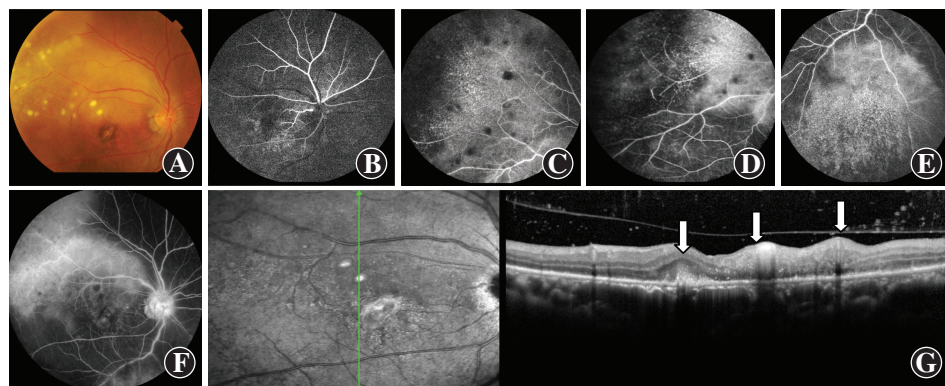


图1 糖皮质激素口服6周及右眼玻璃体腔注射雷珠单抗4周后患者右眼表现 A:彩色眼底照相 视盘颞上象限大片灰黄色视网膜,可见散在黄白色斑点状浸润病灶,血管末端血管白鞘,黄斑区出血吸收,可见灰黄色CNV病灶 B:FFA早期表现 下半侧视网膜动脉充盈延迟 C:颞上方FFA表现 颞上方视网膜血管末端闭塞伴大片无灌注区,散在低荧光斑点与眼底圆点状浸润灶相对应 D:颞侧FFA表现 颞侧可见不规则片状视网膜色素上皮着色伴斑点状低荧光 E:下方FFA表现 下方大片视网膜荧光素着色 F:FFA晚期表现 晚期颞上方及下方大片视网膜荧光素着色。颞上方散

在低荧光斑点,视盘高荧光,近端视网膜血管粗糙染色,黄斑区可见CNV病灶 G:黄斑OCT表现 黄斑颞上方对应于圆点状浸润灶显示神经纤维层高反射信号(箭头),其下低反射信号,内段/外段显示不清,黄斑中心凹处色素上皮高反射信号