

# 叶黄素酯-虾青素复合物对视网膜 蓝光损伤的保护作用

赵雪<sup>1</sup>, 吴希阳<sup>2\*</sup>

(1. 暨南大学 管理学院, 广东 广州 510632; 2. 暨南大学 食品科学与工程系, 广东 广州 510632)

**摘要:** 为探究叶黄素酯-虾青素复合物对蓝光发光二极管(light-emitting diodes, LED)诱导的视网膜色素上皮细胞 ARPE-19 及 SD 大鼠视网膜组织损伤的保护作用, 采用不同浓度的叶黄素酯-虾青素复合物预处理细胞 6 h, 实验分为 6 组: 对照组、损伤组、参考组、低剂量组、中剂量组、高剂量组, 蓝光 LED 下光氧化损伤诱导 12 h。采用噻唑蓝法测定细胞活力, 检测乳酸脱氢酶释放率分析细胞损伤程度, 2', 7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯荧光探针标记检测细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平。利用蓝光损伤装置建立大鼠视网膜损伤模型, 在光强度为(5 500±100)lux 条件下暴露 10 h 后, 暗室(0 lux)饲养 24 h。苏木精-伊红染色组织切片可观察 SD 大鼠视网膜形态学变化, 测定组织中的氧化应激相关指标。结果显示: 叶黄素酯-虾青素复合物预处理可有效防止蓝光诱导的 ARPE-19 细胞活力降低, 防止细胞损伤; 显著降低细胞内 ROS 水平。同时, 中剂量组和高剂量组显著提升超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力, 降低组织中的丙二醛含量, 改善 SD 大鼠视网膜组织免受蓝光诱导的细胞氧化应激和组织病理损伤。

**关键词:** 虾青素; ARPE-19 细胞; 蓝光发光二极管; 氧化应激; 视网膜

## Lutein Ester-Astaxanthin Complex Protects Retinae from Blue Light-Induced Damage

ZHAO Xue<sup>1</sup>, WU Xiyang<sup>2\*</sup>

(1. School of Management, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China; 2. Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China)

**Abstract:** The protective effects of lutein ester-astaxanthin complex on the retinal pigment epithelial cell line ARPE-19 and the retinal tissue of Sprague-Dawley (SD) rats exposed to blue light-emitting diodes (LED) were studied. The cells were classified into control, damage, reference, low-, medium-, and high-dose lutein ester-astaxanthin complex groups and pretreated for 6 h. The photo-oxidative damage was induced by blue LED for 12 h. The thiazolyl blue assay was employed to determine the viability of cells, and the degree of damage was evaluated by the lactate dehydrogenase release rate. The fluorescent probe 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate was used to measure the intracellular reactive oxygen species (ROS) level. A blue light device was used to establish a rat retinal damage model. Specifically, the rats were exposed to blue light at (5 500±100) lux for 10 h and then kept in a dark room (0 lux) for 24 h. Hematoxylin-eosin staining of tissue sections was adopted to observe the morphological changes in the retinae of SD rats, and the oxidative stress indicators in the retinal tissue. The results showed that pretreatment with lutein ester-astaxanthin complex effectively prevented the blue light-induced reduction in ARPE-19 cell viability, protected the cells from damage, and lowered the intracellular ROS level. Meanwhile, the medium- and high-dose lutein ester-astaxanthin complex significantly enhanced the superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities and lowered the malondialdehyde content in the tissue, thus protecting the retinae of SD rats from blue light-induced cellular oxidative stress and histopathological damage.

**Key words:** astaxanthin; ARPE-19 cells; blue light-emitting diode; oxidative stress; retina

作者简介: 赵雪(1991—), 女(汉), 博士, 研究方向: 营养与功能性食品。

\*通信作者: 吴希阳(1966—), 男(汉), 教授, 博士, 研究方向: 食品安全和营养。

引文格式:

赵雪,吴希阳.叶黄素酯-虾青素复合物对视网膜蓝光损伤的保护作用[J].食品研究与开发,2025,46(5):80-86.

ZHAO Xue, WU Xiyang. Lutein Ester-Astaxanthin Complex Protects Retinae from Blue Light-Induced Damage[J]. Food Research and Development, 2025, 46(5): 80-86.

蓝光是自然界中常见可见光,蓝光发光二极管(light-emitting diodes, LED)作为常见的产生蓝光的节能光源之一,广泛应用于电子产品<sup>[1]</sup>。蓝光为波长 400~500 nm 的光子能量相对较高,能够直接穿透晶状体进入视网膜<sup>[2]</sup>。视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelial, RPE)对蓝光较为敏感,蓝光诱导产生过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),会导致细胞氧化代谢异常,产生严重的氧化应激而引起 RPE 结构损伤和活力下降,进而造成系统性眼部损伤<sup>[3]</sup>。

视网膜作为中枢神经的一部分,在机体视觉信息形成系统中扮演重要角色<sup>[4]</sup>,而 RPE 作为视网膜最外层结构,是一种高度分化的独特上皮细胞,位于感光细胞层之间,对维持视网膜系统平衡自调节和视觉健康水平起到至关重要的作用<sup>[5]</sup>。ARPE-19 作为呈现特殊细胞形状的 RPE 细胞系之一,由于其高耗氧量,很容易经历氧化应激,因其具有理想的细胞辨识度,通常用作视网膜健康水平的研究<sup>[6]</sup>。

氧化应激是一种生物体内十分常见的病理作用<sup>[7]</sup>,其宏观因素是生物体内氧化与抗氧化作用失衡生成大量氧化中间产物<sup>[8]</sup>。氧化应激是参与视网膜细胞暴露于蓝光有关的最重要的毒性机制之一<sup>[9]</sup>。细胞中 ROS 的主要来源分别为线粒体和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶,其氧化产物分别是超氧阴离子和过氧化氢<sup>[10]</sup>。这些 ROS 的产生与细胞内的生物化学反应有关,ROS 参与细胞信号传导和细胞功能调节<sup>[11]</sup>。处于激发态的氧原子及包含这些氧原子的分子在体内具有很强活性,高活性氧可以与大量分子(包括其他小无机分子)以及蛋白质、脂类、碳水化合物和核酸相互作用,从而发生不可逆破坏或改变靶分子的功能<sup>[12]</sup>。蓝光可以通过光诱导从线粒体中的细胞色素中产生 ROS,抑制细胞色素氧化酶,并导致 RPE 细胞的钙积累和凋亡<sup>[8]</sup>。

营养素在维持眼部健康中发挥至关重要的作用<sup>[13]</sup>。营养素不仅可以维持眼睛功能,还有助于防止眼睛受到光照损害<sup>[10]</sup>。例如,类胡萝卜素存在于眼睛的视网膜中,可以阻挡部分蓝光伤害,对眼睛起到光保护作用。由于人类自身不能进行类胡萝卜素的合成,所以需要额外通过饮食来源摄入。类胡萝卜素中的环状氧胡萝卜素(包括叶黄素和玉米黄质),作为黄斑色素在视网膜中大量积累,在防止视力退化、蓝光对视网膜的

损伤等保护视力健康方面起到不可忽视的作用<sup>[14]</sup>。虾青素是一种酮类胡萝卜素,主要存在于虾蟹外壳、牡蛎和雨生红球藻等海洋生物中,作为一种天然的抗氧化剂可以改善视网膜组织结构,上调抗氧化应激酶的表达,从而保护视网膜组织细胞免受氧化应激损伤<sup>[15]</sup>。除上述营养素外,在护眼配方中,通常复配有枸杞子和决明子,枸杞子具有多种特性,包括抗氧化剂、抗细胞凋亡和免疫调节特性<sup>[16]</sup>;决明子具有清肝明目、润肠通便等功效,其含有的多糖是其主要功效成分之一<sup>[17]</sup>。

随着蓝光屏幕的普遍应用,人们对蓝光发光二极管(LED)的依赖性也越来越高<sup>[18]</sup>。蓝光引起的视网膜组织退化越来越令人担忧<sup>[19]</sup>。因此,本研究通过合理复配护眼营养素的方式,旨在揭示蓝光诱导调节的视网膜组织变性的潜在机制,以开发一种利用较少用量的叶黄素酯、虾青素等营养素复配补充剂,替代大量的、单一性营养素的补充效果需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

虾青素(纯度 98%)、叶黄素(纯度 90%):美国 Sigma 公司;叶黄素酯(纯度 99%)、玉米黄质(纯度 99%):西安康诺化工有限公司;枸杞子、决明子:上海源叶生物科技有限公司;人视网膜色素上皮细胞 ARPE-19:北京鼎国生物技术有限公司;SPF 级雄性 SD 大鼠[60 只,体质量(180±20)g]:北京华阜康生物科技股份有限公司;杜氏改良(Dulbecco's modified eagle medium/nutrient mixture F-12, DMEM/F12)细胞培养基:美国 Corning 公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS):澳大利亚 AusGeneX 公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO):上海阿拉丁生物技术有限公司;2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)染色试剂盒:美国 Gibco 公司;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)检测试剂:北京索莱宝生物科技有限公司;二辛可酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量检测试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性检测试剂盒、噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT):上海碧云天生物技术有限公司;水合氯醛:上海麦克林生化科技有限公司;FAS 眼球固

定液、苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)染色试剂盒:湖北赛维尔生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS):武汉普诺赛生命科技有限公司;石蜡:上海国药集团化学试剂有限公司。

## 1.2 仪器与设备

AE240 电子分析天平:瑞士 Mettler Toledo 公司;2406-2 型二氧化碳培养箱:美国 SHELLAB 公司;发光二极管(light-emitting diodes, LED)灯:徐州艾嘉科技有限公司;T10 组织匀浆机:德国 IKA 公司;DK-S22 电热恒温水浴锅、DNP-9052 隔水式恒温培养箱:上海精宏实验设备有限公司;LYZD-822 型水浴恒温摇床:常州金坛良友仪器有限公司;L-550 台式离心机:上海卢湘仪离心机仪器有限公司;Varioskan Flash 多功能酶标仪:美国 Thermo Fisher 公司;ZT-14V2 组织脱水机、YB-7LF 石蜡包埋机:湖北孝感亚光医用电子技术有限公司;RM2255 组织切片机、DMi8 倒置荧光显微镜:德国 Leica 公司;TES1330A 数字照度计:北京金仕特仪表有限公司。

## 1.3 ARPE-19 细胞培养

利用含有体积分数 10% FBS 和质量分数为 1% 青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 mg/mL)的 DMEM/F12 培养基培养 ARPE-19 细胞,在温度为 37 °C、体积分数为 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。ARPE-19 细胞每间隔 3 d 进行一次传代培养。培养基每隔 1 d 更换一次,并接种至培养板中进行后续实验。

### 1.3.1 ARPE-19 细胞蓝光诱导氧化应激损伤模型建立

设置 LED 蓝光光源,波长为(450±20) nm,额定功率约 20 W,组装在固定且可调节框架上,利用照度计测量 ARPE-19 细胞表面光强度,根据蓝光强度适当调节灯管设置与细胞表面间距离,照射功率密度约为 2 mW/cm<sup>2</sup>。将以上调试完成的蓝光设备置于二氧化碳培养箱顶部,以保障 ARPE-19 细胞接受蓝光均匀照射。二氧化碳培养箱温度恒定保持为 36.5~37.5 °C。实验分为 6 组:对照组、损伤组、参考组(0.5 g/mL 叶黄素)、低剂量组、中剂量组、高剂量组。其中低剂量组、中剂量组和高剂量组分别按照表 1 的配方各配制成浓度为 1 mg/mL 的细胞培养基预处理细胞 6 h。对照组保持在同一平板中并用铝箔覆盖,在蓝光光源下暴露培养时长为 12 h。

表 1 叶黄素酯-虾青素复合物的低、中、高剂量组配方的成分用量  
Table 1 Content of ingredients in low-, medium-, and high-dose lutein ester-astaxanthin complex groups

组别	mg				
	叶黄素酯 提取物粉	虾青素提 取物粉	玉米黄质 提取物粉	枸杞子粉	决明子粉
低剂量组	2	1	0.3	1	1
中剂量组	4	2	0.6	2	2
高剂量组	6	3	0.9	3	3

### 1.3.2 细胞活力测定

通过 MTT 法分析细胞活力。采用 DMEM/F12 培养基分别按照上述方法配制预处理细胞。将 ARPE-19 细胞以每孔 5×10<sup>4</sup> 个细胞接种于 96 孔板中,并在含有 5% CO<sub>2</sub> 的二氧化碳培养箱中 37 °C 培养 24 h,弃去原 DMEM/F12 培养基,分别将各实验组培养基加入到细胞中,在二氧化碳培养箱中继续孵育细胞 12 h。在蓝光光源下暴露培养时长为 12 h。随后加入 20 μL MTT 试剂继续孵育 4 h。终止培养,吸去孔内培养液,每孔加入 150 μL DMSO,置于水浴恒温摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解,在多功能酶标仪 OD<sub>490 nm</sub> 处测量各孔的吸光度。

### 1.3.3 LDH 释放水平测定

当细胞膜的完整性良好,且未被破坏时,细胞的胞浆内 LDH 不会大量释放到细胞外并流入细胞培养基或上清液中。因此,通过监测培养基中 LDH 的释放率可以反映细胞膜通透性,进一步评估细胞是否受到损伤或具有完整性。将 ARPE-19 细胞悬液(1×10<sup>5</sup> 个/孔)接种于 96 孔板中,孵育 24 h。在蓝光光源下暴露培养时长为 12 h。分别吸取各组细胞上清液各 10 μL,各孔分别加入 60 μL LDH 检测工作液,与细胞共孵育 30 min,在波长为 450 nm 处测定吸光度(A)。继续添加细胞裂解液缓冲液-放射免疫沉淀法缓冲液(Radio-immunoprecipitation assay buffer, RIPA),测得细胞最大 LDH 水平,在波长为 450 nm 处测定总吸光度(B)。细胞中的 LDH 释放率(L,%)按下列公式计算<sup>[20]</sup>。

$$L = A/B \times 100$$

### 1.3.4 细胞内 ROS 水平测定

使用 DCFH-DA 探针测定细胞内 ROS 水平。将 ARPE-19 细胞悬液(1.5×10<sup>5</sup> 个/孔)接种于 6 孔板中,孵育 24 h。在蓝光光源下暴露培养时长为 12 h。用含 10 μmol/L DCFH-DA 的培养液培养细胞,在 37 °C 下孵育 30 min,再用磷酸盐缓冲液洗涤 2 次。用荧光倒置显微镜采集图像,并使用 Image J 软件分析图像荧光强度,结果以对照组细胞荧光强度的百分比表示。

## 1.4 动物饲养与视疲劳模型的建立

将 60 只 SD 大鼠平均分为 6 组:对照组、损伤组、参考组、低剂量组、中剂量组、高剂量组(表 1),每组 10 只。自制蓝光损伤造模装置,在密闭通风试验箱的顶面安装 2 条 20 W 蓝光灯管,调节试验箱高度,使底面平均光照强度恒定在(5 500±100) lux,平均温度范围 22~26 °C。除对照组外,所有大鼠均在 12 h 光照(90~150 lux)及 12 h 黑暗无光照(0 lux)的循环光环境下饲养。实验过程中,每日观察大鼠的体态、进食、饮水、活动和粪便的情况,大鼠眼睛是否存在红肿、感染等症状,同时记录。



### 1.4.1 抗氧化酶活力及丙二醛含量测定

各组大鼠以 10% 水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉后脱颈处置,冰浴条件下迅速摘取眼球,去除玻璃体后称质量,加入适量生理盐水制备组织匀浆。在 4 °C 条件下,12 000×g 离心 3 min 后取上清液待用;组织经过匀浆后,分别在 412、450、532 nm 波长处根据相关检测试剂盒说明书提供的方法测定 OD 值,并分别计算 GSH-Px、SOD 活力及 MDA 含量。

### 1.4.2 视网膜形态学观察

各组大鼠以 10% 水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉后脱颈处死,冰浴条件下迅速摘取眼球(保留视神经长约 1 cm),放入 4% 多聚甲醛固定液中室温下固定 10 h,对固定后的眼球壁脱水,脱水后透明,再将透明的大鼠眼球壁放入蜡缸中浸蜡,按眼球前后径水平方向用 60 °C 石蜡包埋。包埋的蜡块 4 °C 冷藏后切片,切片深度以切到视神经和角膜在同一水平线为宜,切片厚度 5 μm,然后进行苏木精-伊红染色,中性树胶封片后于光学显微镜下观察采集图像。

### 1.5 数据处理

采用 Origin 8.0 和使用 SPSS 18.0 软件对数据处理及分析。结果以平均值±标准差形式表示,采取单因素方差分析及多重比较分析组间差异, $P < 0.05$  视为差异具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶黄素酯-虾青素复合物对于细胞的增殖作用

采用 MTT 法测定叶黄素酯-虾青素复合物对蓝光诱导 ARPE-19 细胞损伤影响见图 1。

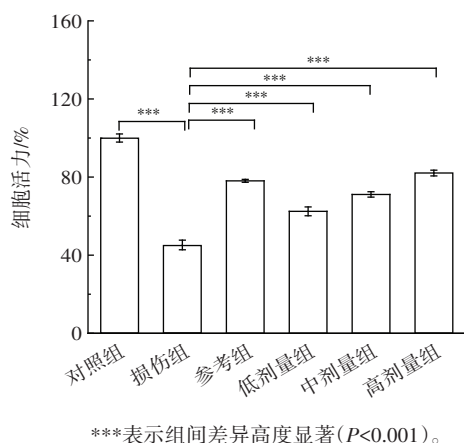


图 1 叶黄素酯-虾青素复合物对蓝光诱导细胞的增殖作用

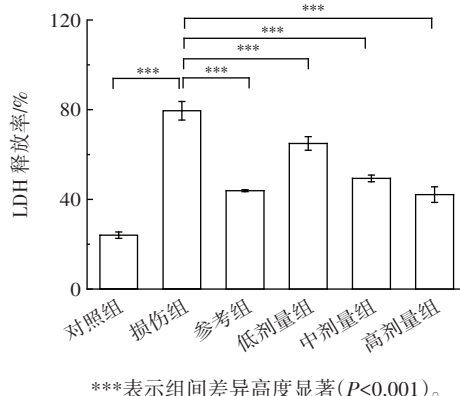
Fig.1 Effect of lutein ester-astaxanthin complex on the viability of cells exposed to blue light

由图 1 可知,与对照组相比,损伤组的细胞活力高度显著下降 54.8% ( $P < 0.001$ )。与损伤组相比,参考组、低剂量组、中剂量组和高剂量组的细胞对蓝光损伤

表现出不同程度的缓解作用,细胞活力分别高度显著提高了 32.9%、17.2%、25.9% 和 36.9% ( $P < 0.001$ )。

### 2.2 叶黄素酯-虾青素复合物对于细胞的保护作用

通过测定 LDH 释放率评估叶黄素酯-虾青素复合物对于细胞的保护作用,结果见图 2。



\*\*\*表示组间差异高度显著( $P < 0.001$ )。

图 2 叶黄素酯-虾青素复合物对蓝光诱导细胞乳酸脱氢酶释放率作用

Fig.2 Effect of lutein ester-astaxanthin complex on the lactate dehydrogenase release rate of cells exposed to blue light

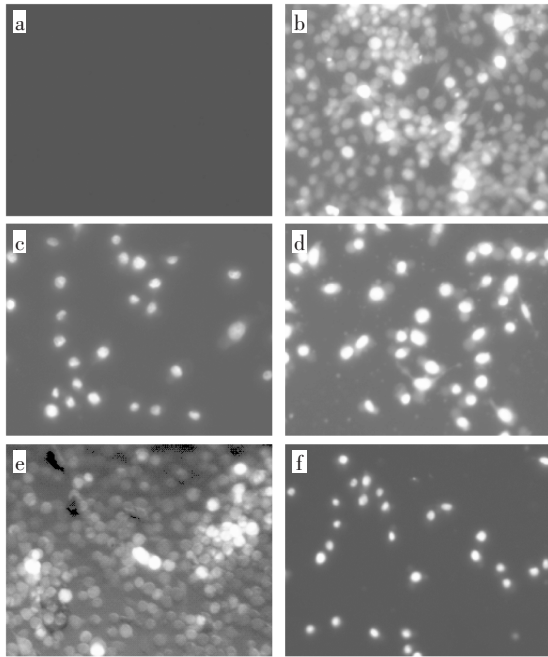
将 ARPE-19 细胞与叶黄素酯-虾青素复合物共孵育 2 h,然后再暴露在蓝光条件下 24 h。正常生理情况下 LDH 主要存在于细胞内,当细胞受到损伤后,导致膜损伤变性,LDH 释放到细胞外。由图 2 可知,与对照组相比,损伤组的 LDH 释放率高度显著增加了 55.5% ( $P < 0.001$ )。与损伤组相比,参考组 LDH 释放率高度显著减少了 35.7%,低剂量组高度显著减少了 14.3%、中剂量组高度显著减少了 30.0%,高剂量组高度显著减少了 37.3% ( $P < 0.001$ )。此结果表明,在参考组中单独的叶黄素能够较好地与相应酶的活性位点结合,以此来有效抑制 LDH。而在此基础上,剂量远低于参考组的叶黄素酯-虾青素复合物显示出了优异的协同作用效果,其中的中、高剂量组的作用效果与参考组相近,增强了 LDH 的调节作用,通过与活性位点更好地结合,有效地阻断了 LDH 的催化活性,可作为潜在的 LDH 天然抑制剂并提高了其活性成分的生物利用度。

### 2.3 叶黄素酯-虾青素复合物对于细胞的氧化水平影响

通过染色法检测细胞内 ROS 水平,评价叶黄素酯-虾青素复合物对于 ARPE-19 细胞的氧化应激损伤缓解作用见图 3 与图 4。

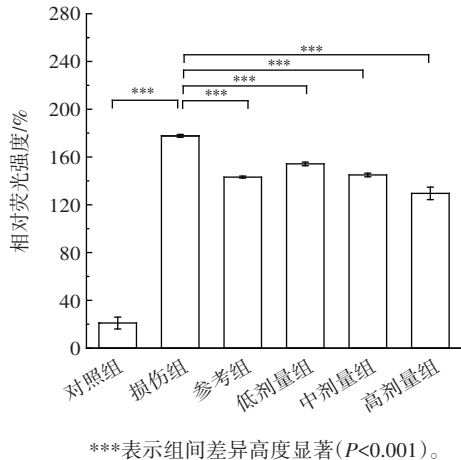
由图 3 可知,当细胞内的活性氧物质含量较高时,利用 DCFH-DA 荧光探针结合染色法,检测产生的荧光产物 DCF,生成绿色荧光信号,绿色荧光信号的强弱与氧化产物的含量成正比<sup>[21]</sup>。

由图 4 可知,与对照组相比,损伤组细胞内 ROS 水平高度显著升高了 156.7% ( $P < 0.001$ )。与损伤组相



a-f 分别为对照组、损伤组、参考组、低剂量组、中剂量组、高剂量组的荧光染色结果(200×)。

图3 叶黄素酯-虾青素复合物对蓝光诱导细胞 ROS 水平的影响  
Fig.3 The effect of lutein ester-astaxanthin complex on blue light-induced cellular ROS levels



\*\*\*表示组间差异高度显著( $P < 0.001$ )。

图4 叶黄素酯-虾青素复合物抑制蓝光诱导细胞内 ROS 含量的相对荧光强度

Fig.4 Relative fluorescence intensity of ROS content in the cells exposed to blue light and treated with lutein ester-astaxanthin complex

比,参考组细胞内 ROS 水平高度显著降低了 34.5%、低剂量组细胞内 ROS 水平高度显著降低了 23.5%、中剂量组细胞内 ROS 水平高度显著降低了 32.8%、高剂量组细胞内 ROS 水平高度显著降低了 48.2% ( $P < 0.001$ )。结果表明,叶黄素酯-虾青素复合物可以通过降低细胞内 ROS 水平来保护 ARPE-19 细胞免受蓝光诱导的氧化应激损伤。

#### 2.4 叶黄素酯-虾青素复合物对于大鼠视网膜组织 SOD 活力影响

SOD 是一种氧化防御酶,可以将超氧化物阴离子进行催化,分解为过氧化氢和氧气。因此,SOD 在抗氧化防御机制中发挥着重要作用。如果组织中的 SOD 活力降低,将会导致 ROS 产生积累。超氧化物自由基属于毒性较强的自由基之一,通过增加眼组织中血管的通透性而进一步加剧炎症作用的产生。通过 SOD 活力测定评估叶黄素酯-虾青素复合物对于视网膜组织的抗氧化作用见图 5。

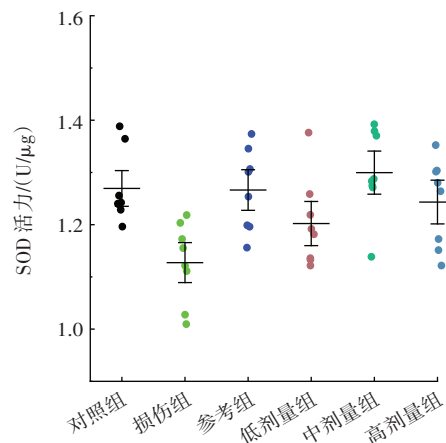


图5 叶黄素酯-虾青素复合物对大鼠视网膜组织 SOD 活力影响  
Fig.5 Effect of lutein ester-astaxanthin complex on the SOD activity in rat retinal tissue

由图 5 可知,与对照组相比,损伤组中 SOD 活力下降了 14.2%。与损伤组相比,参考组中 SOD 活力增加了 12.3%。低剂量组中 SOD 活力增加了 6.6%,此结果与损伤组相差不大。中剂量组和高剂量组中 SOD 活力分别比损伤组增长了 15.3% 和 10.3%。结果表明,中剂量组和高剂量组与参考组效果相似,可以提升蓝光损伤后的视网膜组织中 SOD 活力。而且中剂量组效果优于高剂量组,显示出剂量使用并非越多越好,应根据地区、季节、体质、年龄等因素综合考虑。剂量的不同延伸其作用效果的不尽相同,结果表明在低剂量与中剂量的一定限度范围内可以达到较好的作用效果。较为合适的剂量优化使其充分发挥功能效果,最终让使用者在作用效果中最大获益。

#### 2.5 叶黄素酯-虾青素复合物对于大鼠视网膜组织 MDA 含量影响

氧化应激会产生 ROS 诱导脂质氧化。由于生物体脂质发生氧化后会产生一系列天然副产物,其中包括一种含有毒性的副产物游离醛 MDA。以 MDA 含量作为评估脂质氧化程度的指标,结果见图 6。

由图 6 可知,与对照组相比,损伤组中 MDA 平均含量升高了 20.4%。与损伤组相比,参考组中 MDA 平均含量下降了 21.7%。低剂量组中 MDA 平均含量下

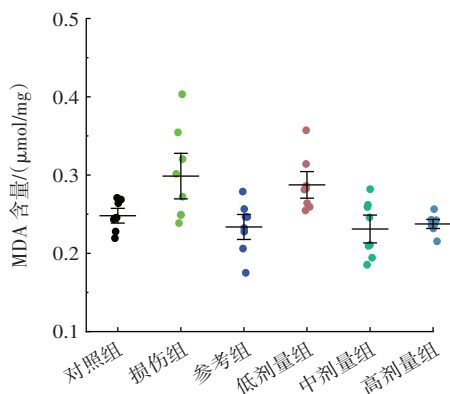


图6 叶黄素酯-虾青素复合物对于大鼠视网膜组织 MDA 含量影响

Fig.6 Effect of lutein ester-astaxanthin complex on the MDA content in rat retinal tissue

降了 3.8%，此结果与损伤组相差不大。中剂量组和高剂量组中 MDA 平均含量分别比损伤组下降了 22.6% 和 20.5%。结果表明，中剂量组和高剂量组与参考组效果相似，可以降低蓝光损伤后视网膜组织中的 MDA 含量。

### 2.6 叶黄素酯-虾青素复合物对于大鼠视网膜组织 GSH-Px 活力影响

通过测定谷胱甘肽过氧化物酶活力，评价组织中脂质过氧化程度和抗氧化损伤水平见图 7。

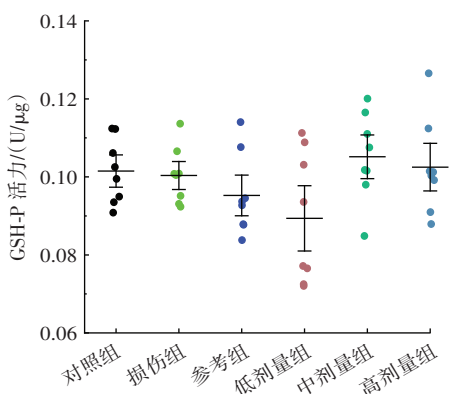


图7 叶黄素酯-虾青素复合物对于大鼠视网膜组织 GSH-Px 活力影响

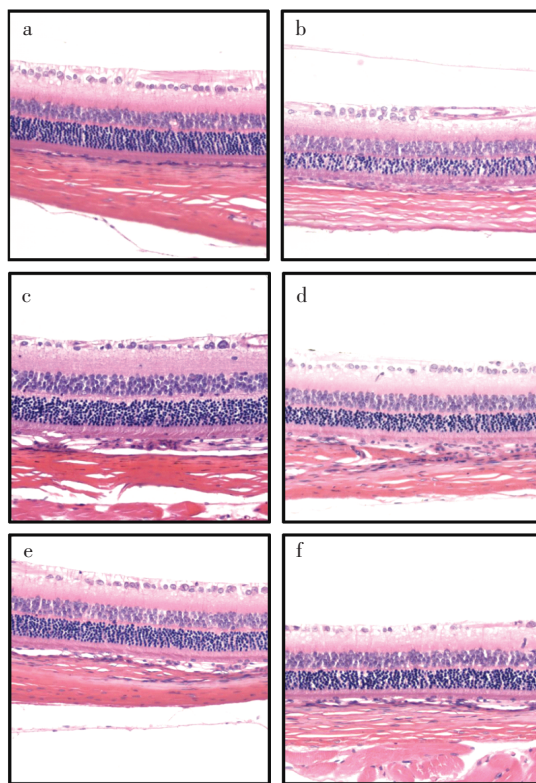
Fig.7 Effect of lutein ester-astaxanthin complex on the GSH-Px activity in rat retinal tissue

谷胱甘肽是组织环境中具有抗氧化作用的重要分子之一，可通过一种含硒的水溶性四聚体蛋白酶-谷胱甘肽过氧化物酶的催化而产生<sup>[22]</sup>。在一些病理情况下，谷胱甘肽过氧化物酶水平会发生明显变化，能清除活细胞内的过氧化物，在保护细胞不受自由基损伤的过程中起着重要作用。由图 7 可知，与对照组相比，损伤组中 GSH-Px 活力降低了 1.1%。与损伤组相比，参考组中 GSH-Px 活力下降了 5.2%。低剂量组中 GSH-Px

活力下降了 11.0%。中剂量组和高剂量组中 GSH-Px 活力分别比损伤组增加了 0.5% 和 2.1%。结果表明，中剂量组和高剂量组可以相对较小范围内增加蓝光损伤后眼组织中的 GSH-Px 活力，在统计学结果上并不显著，且损伤组作用不显著。其原因可能是由于该损伤条件虽然在一定程度上干预了 SOD 等其它氧化酶活力和调节 MDA 含量以防止过氧化，但是影响 SOD 和 GSH-Px 等氧化酶活力的因素较多，酶之间的关系较为复杂，它们中的任何一个都不能单独清除所有形式的活性氧，尤其是 SOD 和 GSH-Px 等氧化酶之间存在协同、互补、代偿以及互相保护的作用。存在当 GSH-Px 活力较低时，其它氧化酶浓度互补，代偿增强的可能性。

### 2.7 叶黄素酯-虾青素复合物对于 SD 大鼠视网膜组织 HE 染色影响

采用 HE 染色法观察叶黄素酯-虾青素复合物对于视网膜组织损伤的改善作用见图 8。



a-f 分别为对照组、损伤组、参考组、低剂量组、中剂量组、高剂量组的 HE 染色结果(200×)。

图8 叶黄素酯-虾青素复合物对于 SD 大鼠视网膜组织 HE 染色影响  
Fig.8 Effect of lutein ester-astaxanthin complex on HE staining of the ocular tissue of SD rats

由图 8 可知，相较于对照组，损伤组内界膜稀薄，视网膜神经纤维层和神经节细胞缺失，内核层排列失去规则，细胞分布稀疏，内核层和外核层黏连，外丛状层模糊，神经层整体组织厚度降低，提示蓝光视疲劳模



型造模成功。低剂量组与损伤组相比,内界膜稀薄改善,视网膜神经纤维层和神经节细胞排布较为规则,细胞分布密度有所上升,内核层排列有所改善,内核层和外核层界限清晰,未发生黏连,外丛状层清晰,但神经层厚度未见明显区别。中、高剂量组及参考组相较于损伤组,细胞分布致密均匀,内核层排列有序,内核层和外核层界限清晰,未发生黏连,外丛状层清晰,神经层整体组织厚度均有不同程度增加。因此,结果表明,中、高剂量组对于蓝光损伤的眼组织结构在形态学方面具有一定改善作用。

### 3 结论

在本研究中,使用 MTT 和 LDH 释放评估暴露于蓝光 LED 的 ARPE-19 细胞的损伤程度。实验结果表明,叶黄素酯-虾青素复合物处理可显著减轻 ARPE-19 细胞损伤并抑制 LDH 释放。叶黄素酯-虾青素复合物对 ARPE19 细胞的蓝光损伤具有缓解作用。通过选择天然黄色素抗氧化剂营养素的复合策略(主要包含叶黄素酯、玉米黄质、虾青素,辅料配合枸杞子和决明子),与参考组用量大的单一抗氧化剂叶黄素进行比较。中剂量组和高剂量组提升 SOD、GSH-Px 活力,降低视网膜组织中的 MDA 含量,改善内界膜稀薄,恢复视网膜神经纤维层和神经节细胞缺失,内核层排列趋向规则,减少细胞分布稀疏,缓解内核层和外核层黏连,外丛状层结构清晰,提升神经层整体组织厚度。叶黄素酯-虾青素复合物可以通过维持细胞活力、缓解 LDH 释放和抑制 ROS 水平来对抗 ARPE-19 细胞的蓝光损伤。同时,促进抗氧化酶水平升高,从而保护和改善了大鼠视网膜组织免受蓝光诱导的细胞氧化应激和组织病理损伤。为开发预防眼部疲劳所需补充的复合营养素补充剂提供了理论基础。

### 参考文献:

- [1] NAKAMURA M, YAKO T, KUSE Y, et al. Exposure to excessive blue LED light damages retinal pigment epithelium and photoreceptors of pigmented mice[J]. *Experimental Eye Research*, 2018, 177: 1-11.
- [2] MAINSTER M A, FINDL O, DICK H B, et al. The blue light hazard versus blue light hype[J]. *American Journal of Ophthalmology*, 2022, 240: 51-57.
- [3] MARIE M, BIGOT K, ANGEBAULT C, et al. Light action spectrum on oxidative stress and mitochondrial damage in A2E-loaded retinal pigment epithelium cells[J]. *Cell Death & Disease*, 2018, 9(3): 287.
- [4] HARJU N. Regulation of oxidative stress and inflammatory responses in human retinal pigment epithelial cells[J]. *Acta Ophthalmologica*, 2022, 100(Suppl 273): 3-59.
- [5] SENABOUTH A, DANISZEWSKI M, LIDGERWOOD G E, et al. Transcriptomic and proteomic retinal pigment epithelium signatures of age-related macular degeneration[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 4233.
- [6] FENG J H, DONG X W, YU H L, et al. Cynaroside protects the blue light-induced retinal degeneration through alleviating apoptosis and inducing autophagy *in vitro* and *in vivo*[J]. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 2021, 88: 153604.
- [7] HUANG S, LIU C H, WANG Z X, et al. REV-ERB $\alpha$  regulates age-related and oxidative stress-induced degeneration in retinal pigment epithelium via NRF2[J]. *Redox Biology*, 2022, 51: 102261.
- [8] HAO W G, ZHAO C C, LI G W, et al. Blue LED light induces cytotoxicity via ROS production and mitochondrial damage in bovine subcutaneous preadipocytes[J]. *Environmental Pollution*, 2023, 322: 121195.
- [9] ZHAO Y, LI Q, JIAN W Y, et al. Protective benefits of salvianic acid against retinal iron overload by inhibition of ferroptosis[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 165: 115140.
- [10] DELIYANTI D, ALRASHDI S F, TOUYZ R M, et al. Nox (NADPH oxidase) 1, Nox4, and Nox5 promote vascular permeability and neovascularization in retinopathy[J]. *Hypertension*, 2020, 75(4): 1091-1101.
- [11] JOMOVA K, RAPTOVA R, ALOMAR S Y, et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging[J]. *Archives of Toxicology*, 2023, 97(10): 2499-2574.
- [12] LI D, DING Z X, DU K L, et al. Reactive oxygen species as a link between antioxidant pathways and autophagy[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 2021: 5583215.
- [13] SHARMA S, KATOCH V, KUMAR S, et al. Functional relationship of vegetable colors and bioactive compounds: Implications in human health[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2021, 92: 108615.
- [14] EGGERSDORFER M, WYSS A. Carotenoids in human nutrition and health[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2018, 652: 18-26.
- [15] CAO Y R, YANG L, QIAO X, et al. Dietary astaxanthin: An excellent carotenoid with multiple health benefits[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(18): 3019-3045.
- [16] ZHOU W T, ZHAO Y, YAN Y M, et al. Antioxidant and immunomodulatory activities *in vitro* of polysaccharides from bee collected pollen of Chinese wolfberry[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 163: 190-199.
- [17] SUN M M, HE N, LV Z G. Polysaccharides extracted from *Cassia* seeds protect against high glucose-induced retinal endothelial cell injury[J]. *International Ophthalmology*, 2021, 41(7): 2465-2472.
- [18] SKELDON A C, DIJK D J. Weekly and seasonal variation in the circadian melatonin rhythm in humans: Entrained to local clock time, social time, light exposure or sun time?[J]. *Journal of Pineal Research*, 2021, 71(1): e12746.
- [19] ZHANG C C, ZHU Z, ZHAO J, et al. Ubiquitous light-emitting diodes: Potential threats to retinal circadian rhythms and refractive development[J]. *The Science of the Total Environment*, 2023, 862: 160809.
- [20] KIM M H, KIM D H, YANG S G, et al. Improved effect of a mitochondria-targeted antioxidant on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in human retinal pigment epithelium cells[J]. *BMC Pharmacology & Toxicology*, 2021, 22(1): 7.
- [21] ZHANG X D, ZHAO X, TIE S S, et al. A smart cauliflower-like carrier for astaxanthin delivery to relieve colon inflammation[J]. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 2022, 342: 372-387.
- [22] DOBREVA A, CAMACHO E T, MIRANDA M. Mathematical model for glutathione dynamics in the retina[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13: 10996.