

糖尿病大鼠早期视网膜神经节细胞凋亡机制的探讨

谷瑞东¹, 郝莹莹², 陈晓隆¹

作者单位:(110004)中国辽宁省沈阳市,中国医科大学附属盛京医院¹眼科;²妇产科

作者简介:谷瑞东,毕业于中国医科大学,眼科学博士,现工作于沈阳市第四人民医院眼科,主治医师,研究方向:眼底病、眼外伤。

通讯作者:陈晓隆,毕业于中国医科大学,博士研究生导师,教授,主任医师,研究方向:眼底病、眼外伤。chenxl@sj-hospital.org

收稿日期:2013-11-21 修回日期:2014-01-24

Study on the mechanism of retinal ganglion cell apoptosis in early stage of diabetic rats

Rui-Dong Gu¹, Ying-Ying Hao², Xiao-Long Chen¹

¹Department of Ophthalmology; ²Department of Gynecology and Obstetrics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xiao-Long Chen. Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. chenxl@sj-hospital.org

Received:2013-11-21 Accepted:2014-01-24

Abstract

• **AIM:** To investigate the mechanism of retinal ganglion cell apoptosis in early stage of streptozotocin (STZ) - induced diabetic rats.

• **METHODS:** Sixty SD rats were randomly divided into two groups: control group (CON) and diabetes mellitus group (DM). Diabetic rat model was produced by intraperitoneal injection of 1% STZ in 30 adult male SD rats. At 4, 8, 12wk, the rats were killed and eyeballs were enucleated for the HE staining, TUNEL staining, transmission electron microscopy detection respectively, and laser confocal microscope detection was used to detect the calcium ion concentration.

• **RESULTS:** At 8wk RGCs decreased gradually and appeared disordered arrangement and got worse at 12wk in DM group. In DM group, mitochondrial swelling was detected at 4wk, and became more obvious, more in number at 8wk with reduction in some cells' volume and the number of organelles decreased. In DM group, few TUNEL positive RGCs were seen at 4wk, and became more and more at 8 and 12wk. The apoptosis index was significantly higher in DM group compared with CON group in different time points ($P < 0.01$). Intracellular calcium ion concentration of RGCs in DM group began to elevate obviously at 8 and 12wk in contrast with CON

group in the same time point ($P < 0.01$). In DM group, Intracellular calcium ion concentration of RGCs increased difference was statistically significant between 8 and 12wk ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** The study suggested that RGCs apoptosis occurs in early stage of diabetes, the mechanism might be associated with increased intracellular calcium ion concentration.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; retinal ganglion cells; apoptosis; calcium ion concentration

Citation: Gu RD, Hao YY, Chen XL. Study on the mechanism of retinal ganglion cell apoptosis in early stage of diabetic rats. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(3):402-406

摘要

目的:探讨糖尿病大鼠模型早期视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)凋亡的机制。

方法:SD大鼠60只,随机分为对照组(CON)及糖尿病组(DM),糖尿病组一次性腹腔注射1% STZ诱发糖尿病鼠模型,两组于第4,8,12wk分别行HE、透射电镜及TUNEL法检测RGCs的凋亡情况,并应用激光共聚焦显微镜检测RGCs内钙离子浓度的变化。

结果:糖尿病组第8wk开始出现RGCs数量减少、细胞排列紊乱的病理改变,第12wk更为明显。糖尿病组透射电镜下可见第4wk时RGCs出现线粒体肿胀;第8wk时RGCs内肿胀的线粒体更为明显、数目增多,染色质堆积于核膜周边,部分细胞体积缩小、细胞器减少;第12wk时出现RGCs体积变小,甚至出现细胞核断裂。TUNEL阳性RGCs最早于糖尿病组第4wk时出现,随病程延长凋亡的阳性细胞逐渐增多,凋亡指数与同期对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$)。糖尿病组第8,12wk时RGCs内钙离子浓度明显高于同期对照组,差异显著($P < 0.01$);糖尿病组第8wk与第12wk比较,升高差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。

结论:糖尿病早期出现了视网膜神经节细胞的凋亡,其机制可能与细胞内钙离子浓度升高有关。

关键词:糖尿病视网膜病变;视网膜神经节细胞;凋亡;钙离子浓度

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.03.06

引用:谷瑞东,郝莹莹,陈晓隆.糖尿病大鼠早期视网膜神经节细胞凋亡机制的探讨. *国际眼科杂志* 2014;14(3):402-406

0 引言

糖尿病视网膜病变的经典定义是糖尿病视网膜微血管病变及其并发症,目前临床上常规的研究方法仍局限于如何早期发现和治疗视网膜微血管病变,但近年来新

近的研究结果表明^[1-4],在糖尿病视网膜病变的早期就已经发生了视网膜神经元的神经变性,而且它参与了微血管异常的发展,所以新的治疗策略应当围绕如何有效抑制视网膜神经元的神经变性展开。而视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)是视网膜唯一的视觉信息输出元件,研究其在糖尿病早期的变化尤显重要。有学者已经证明^[5]:在链脲佐菌素(STZ)诱发的糖尿病鼠模型早期,RGCs的数量减少了18.6%,并且证明其发生了凋亡,但引起凋亡的机制还不清楚。本研究采用STZ诱导糖尿病大鼠模型,通过HE、透射电镜、TUNEL检测和激光共聚焦显微镜检测,观察糖尿病大鼠模型早期RGCs的凋亡情况,并探讨其凋亡的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物与试剂 成年雄性(Sprague-Dawley, SD)大鼠60只,体质量210~250g左右,由中国医科大学动物部提供。链脲佐菌素(美国Sigma公司),原位细胞凋亡检测试剂盒(武汉博士德生物技术有限公司),DAB显色剂(福州迈新生物技术有限公司),一次性血糖试纸、一次性尿糖试纸(美国Lifesan公司),Fluo-3, AM ester(美国Biotium公司)。

1.1.2 主要仪器设备 透射电镜(日本电子株式会社),微量快速血糖仪OneTouch II型(美国Lifescan公司),震荡切片仪(美国WPI公司),激光共聚焦显微镜(日本奥林帕斯有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 将大鼠用随机数字表法平均分为对照组(CON)和糖尿病组(DM),糖尿病大鼠模型确认后,两组开始计算时间,选择第4,8,12wk三个时间点进行观察。STZ按60mg/kg一次性腹腔注射诱导糖尿病模型:STZ溶解于0.1mmol/L, pH≈4.5的无菌柠檬酸钠溶液中,浓度为1%,给药前大鼠禁食水12h。模型建立标准:给药后48h剪尾法测血糖、尿糖试纸测尿糖,血糖>16.7mmol/L,尿糖+++以上者为糖尿病大鼠模型建立成功,成模后每2wk测1次非空腹血糖。

1.2.2 石蜡切片制备及HE染色 水合氯醛麻醉大鼠,快速摘除大鼠左眼球,置40g/L多聚甲醛中固定30min。在显微镜下,于角膜缘后约1mm,沿角膜缘环形剪开,祛除角膜、晶状体及玻璃体,剩余“眼杯”浸入40g/L多聚甲醛溶液中继续固定2h。“眼杯”经石蜡包埋后,以平行于角膜至视乳头的矢状位切片。分别于3个平面切片,每个平面间隔75μm,厚度为5μm,连续切6次,共18张。常规苏木精-伊红染色,梯度乙醇脱水,二甲苯透明、封片,光镜下观察并拍照。

1.2.3 透射电镜下观察视网膜超微结构 取出左眼的大鼠,以40g/L多聚甲醛与25g/L戊二醛混合液进行心脏灌注。眼球固定后,快速取出大鼠右眼球,刺破角膜,沿角膜缘剪除角膜、去除晶状体,放入25g/L戊二醛溶液中固定,4℃保存。取出标本,显微镜下将“眼杯”制作成1.5mm×2mm的组织条,选择位于视乳头周围1~3mm组织,标记后送电镜室,由专科技术人员制作超薄切片及染色,透射电镜下观察。

1.2.4 TUNEL法原位检测细胞凋亡 石蜡切片常规脱蜡脱水,用末端脱氧核糖核酸转移酶反应液37℃孵育,用抗体稀释液1:100稀释生物素化抗地高辛抗体,混匀后加

表1 不同时间点两组大鼠血糖值的比较

分组	(n=8, $\bar{x} \pm s$, mmol/L)		
	4wk	8wk	12wk
对照组	5.62±0.71	5.84±0.96	5.47±0.25
糖尿病组	26.98±4.53 ^b	27.03±6.34 ^b	27.55±3.97 ^b

^bP<0.01 vs 对照组。

至标本片,置37℃湿盒内反应30min,用抗体稀释液1:100稀释SABC,混匀后加至标本片,置37℃湿盒内反应30min, DAB显色, Mayer 苏木素轻度复染细胞核15~30s,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜观察。视网膜神经节细胞凋亡指数计算方法:凋亡指数=凋亡细胞/同一视野细胞总数×100%。每个标本随机抽取3张切片,每张切片高倍镜下随机选取5个视野计数,计算取平均值,作为该标本的凋亡指数,每组中5个标本的结果取平均值,作为该组的凋亡指数。

1.2.5 激光共聚焦显微镜检测细胞内钙离子浓度 大鼠乙醚麻醉、剔除眼球后,在显微镜下,沿角膜缘后2mm剪开眼球,取出角膜、晶状体及玻璃体后,轻柔分离视网膜,并将视网膜置于事先准备好的保存溶液中(溶液配比见下方)。将20g/L低熔点琼脂放入含有视网膜的保存溶液中(保持温度在37℃~39℃),并立即置于冰袋上。将含有视网膜标本的琼脂块用生物胶粘在震荡切片仪平台上,用上述冰冻的保存溶液浸没震荡切片仪平台及琼脂块,以50μm厚度连续切片,切片标本放于冰冻的保存溶液中并持续通氧^[6]。将视网膜切片标本置于含有浓度为5mmol/L FLUO-3的共聚焦皿中,放入37℃孵育箱中1h(持续通氧),取出后用保存溶液冲洗切片3次,送实验室由专业人员检测。用OLYMPUS FLUOVIEW 3.1a Viewer软件拍摄图片并进行钙离子浓度的测定。每个标本选取5张切片,每张切片选取染色明显、细胞形态清晰的RGCs,测量的平均数值进行荧光染色强度的对比,即细胞内钙离子浓度的变化。保存溶液配比:(单位:mmol/L) NaCl 130, KCl 5, CaCl 22, MgCl 21, HEPES 10, glucose 20, 用1mol/L NaOH调节溶液最终pH值为7.4。

统计学分析:采用SPSS 12.0统计软件包进行统计分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,不同时间点组间比较采用单因素方差分析。造模后TUNEL染色阳性细胞率的比较采用析因设计的方差分析,组间均数的两两比较采用LSD-t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型大鼠的体质量和血糖变化情况 CON组:30只成年雄性大鼠,每日饮水量、尿量正常,体质量随鼠龄增加呈上升趋势。随鼠龄增长,血糖无明显变化,其差异无统计学意义(P>0.05)。DM组:共30只成年雄性大鼠注射STZ,48h后测血糖、尿糖,血糖>16.7mmol/L,尿糖+++共28只,2只剔除实验。按4,8,12wk时间点处死时测血糖,各组血糖均>16.7mmol/L,其血糖值如表1所示,与CON组比较各时间点均有统计学意义(P<0.01),无血糖自行恢复。每日饮水量、尿量明显多于同期对照组2~3倍,随鼠龄增加体质量初期改变不明显,之后呈逐渐下降趋势,最终呈现消瘦状态,其体质量变化如表2所示,与CON组比较各时间点均有统计学意义(P<0.01)。

表2 不同时间点两组大鼠体质量的比较 (n=8, $\bar{x} \pm s, g$)

分组	4wk	8wk	12wk
对照组	258.41±8.72	362.54±9.86	407.87±13.25
糖尿病组	262.13±7.98	247.69±8.32 ^b	234.56±14.28 ^b

^bP<0.01 vs 对照组。

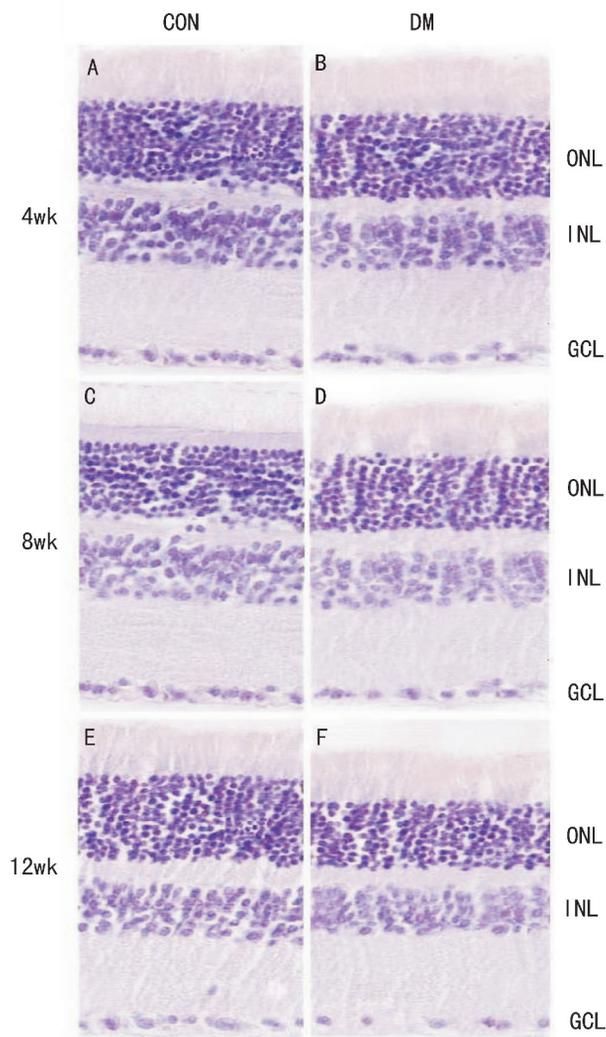


图1 大鼠视网膜 HE 染色 (×400) A,C,E:正常 SD 大鼠视网膜各细胞层次清楚、排列整齐;B,D,F:分别为 DM 4,8,12wk 组视网膜切片,其中图 F 的视网膜神经节细胞层变化比较明显,较同期 CON 组细胞间距增大、数目减少,内核层相对变薄。

2.2 视网膜组织形态病理学观察 CON 组大鼠视网膜各层细胞层次清楚、排列整齐,光镜下可见清晰组织结构层次。DM 4,8wk 组大鼠视网膜结构形态变化不大,与同期 CON 组相比无明显差异。DM 12wk 组的视网膜神经节细胞层变化明显,较同期 CON 组细胞间距增大、数目减少,内核层相对变薄(图1)。

2.3 透射电镜下视网膜超微结构观察 CON 组视网膜超微结构:RGCs 核大,电子密度低,细胞器丰富,可见线粒体、内质网及核蛋白体等结构,线粒体结构正常、无肿胀、可见线粒体嵴。DM 组视网膜超微结构(图2),与同期 CON 组相比:4wk 组多数 RGCs 超微结构无明显改变,少数细胞内可见线粒体肿胀、线粒体嵴模糊不清、变短;8wk 组:RGCs 内肿胀的线粒体更为明显、数目增多,染色质边

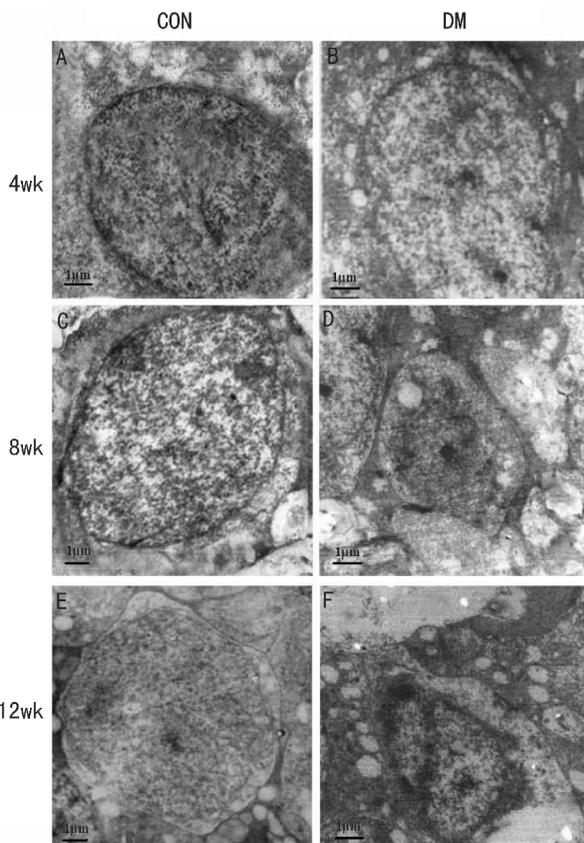


图2 大鼠视网膜神经节细胞透射电镜图片 (×15K) A,C,E:正常 SD 大鼠 RGCs 超微结构,细胞形态正常,线粒体结构正常、无肿胀;B,D,F:分别为 DM 4,8,12wk 组 RGCs 超微结构;与同期 CON 组相比:图 B 中多数细胞超微结构无明显改变;图 D 中神经节细胞内肿胀的线粒体更为明显、数目增多,染色质边集于核膜周边,部分细胞体积缩小、细胞器减少。图 F 中 RGCs 出现不同阶段的凋亡征象,如视网膜神经节细胞体积变小,核膜分辨不清等。

表3 不同时间点两组视网膜神经节细胞凋亡指数的比较

分组	4wk	8wk	12wk
对照组	0	0	0
糖尿病组	0.02±1.2	3.8±2.6 ^b	7.7±4.2 ^b

^bP<0.01 vs 对照组。

集于核膜周边,部分细胞体积缩小、细胞器减少;12wk 组:RGCs 出现体积变小,细胞质分布紊乱,核膜皱缩、增厚,核染色质固缩,线粒体肿胀,嵴缺失,核膜分辨不清、甚至出现细胞核断裂。

2.4 视网膜神经细胞凋亡情况 CON 组未见 RGCs 凋亡;DM 4wk 组神经节细胞层未见明显凋亡,仅偶见零散凋亡细胞;DM 8wk 组神经节细胞层出现明显染色阳性的凋亡细胞,凋亡细胞的细胞核呈现棕褐色或棕黄色;DM 12wk 组视网膜神经节细胞层可见凋亡细胞增多(图3)。RGCs 凋亡指数如表3所示,正常 CON 组凋亡指数为0;DM 组随病程延长凋亡指数呈现上升趋势,于同期 CON 组比较:DM 4wk 组无统计学差异;DM 8,12wk 组升高差异均有统计学意义(P<0.01)。

2.5 视网膜神经节细胞内钙离子浓度变化 CON 组 RGCs 内钙离子荧光染色强度无明显改变。DM 4wk 组与 CON 4wk 组比较,RGCs 内钙离子荧光染色强度比值变化

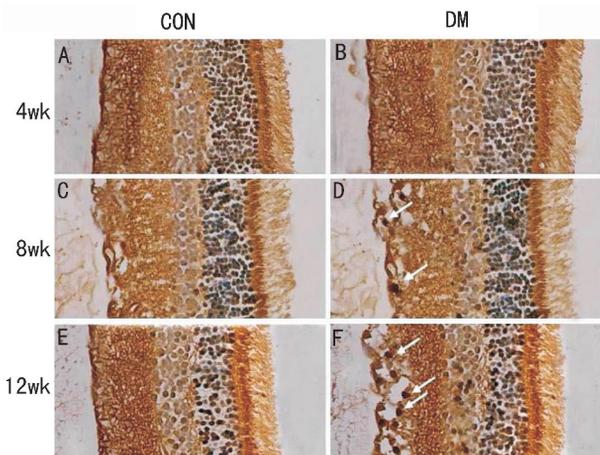


图3 大鼠视网膜 TUNEL 标记($\times 400$) A,C,E:正常 SD 大鼠视网膜 TUNEL 标记;B,D,F:分别为 DM 4,8,12wk 组视网膜 TUNEL 标记,与同期 CON 组相比:图 B 中可见大部分神经节细胞层未见明显凋亡,仅偶见零散凋亡细胞;图 D 中神经节细胞层出现明显染色阳性的凋亡细胞,凋亡细胞的细胞核呈现棕褐色或棕黄色;图 F 中视网膜神经节细胞层可见凋亡细胞明显增多。

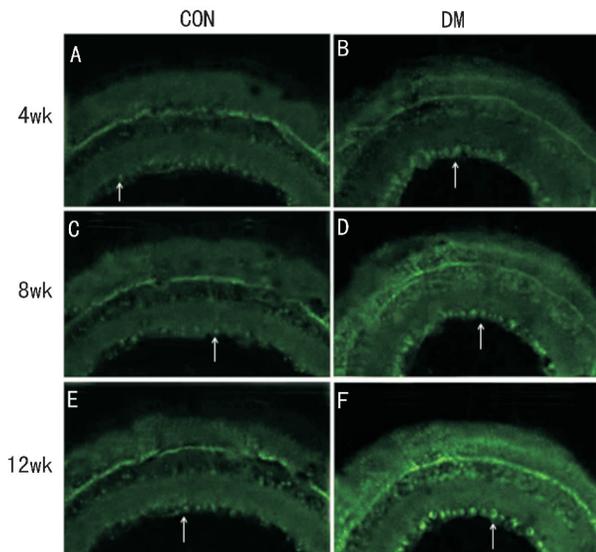


图4 大鼠视网膜 FLUO-3AM 染色($\times 200$) A,C,E:正常 SD 大鼠视网膜 FLUO-3AM 染色,各时间点 RGCs 内钙离子荧光染色强度无明显差异;B,D,F:分别为 DM 4,8,12wk 组视网膜 FLUO-3AM 染色,与同期 CON 组相比:图 B 中可见部分 RGCs 内钙离子荧光染色强度略升高,但无统计学意义;图 D 和图 F 中视网膜神经节细胞内钙离子荧光染色逐渐增强。

表4 相同时间点各组间 RGCs 内钙离子荧光染色强度比值变化 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

时间	对照组	糖尿病组
4wk	1058.97 \pm 74.99	1074.40 \pm 91.87
8wk	1053.18 \pm 73.03	1394.21 \pm 230.26 ^b
12wk	1054.54 \pm 72.07	1450.76 \pm 223.31 ^b

^b $P < 0.01$ vs 对照组。

无统计学差异($P > 0.05$)。DM 8,12wk 组与同期 CON 组比较,RGCs 内钙离子荧光染色强度比值明显升高($P < 0.01$),且随时间延长逐渐升高(图4,表4)。CON 4,8,12wk 组间 RGCs 内钙离子荧光染色强度比值组内无明显改变。DM 8,12wk 组与 DM 4wk 组相比较,RGCs 内钙离子荧光浓度逐渐升高,荧光染色强度比值的升高具

表5 同组内不同时间点 RGCs 内钙离子荧光染色强度比值变化 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	4wk	8wk	12wk
对照组	1058.97 \pm 74.99	1053.18 \pm 73.03	1054.54 \pm 72.07
糖尿病组	1074.40 \pm 91.87	1394.21 \pm 230.26 ^b	1450.76 \pm 223.31 ^{b,c}

^b $P < 0.01$ vs 糖尿病 4wk 组;^c $P < 0.05$ vs 糖尿病 8wk 组。

有统计学意义($P < 0.01$);DM 12wk 组与 DM 8wk 组相比较,RGCs 内钙离子荧光染色强度比值显著升高($P < 0.05$),见表5。

3 讨论

糖尿病视网膜神经损伤机制错综复杂,至今尚无定论,可能的参与的机制有^[7-11]:(1)高血糖激活了异常的葡萄糖代谢通路,产生了过多的山梨醇、糖基化终末产物等;(2)视网膜中谷氨酸含量增加,由于谷氨酸的兴奋毒性而引起神经细胞损伤,同时也影响视网膜神经细胞的能量代谢和视网膜的离子通道;(3)一些与视网膜营养相关的因子耗竭;(4)激活小胶质细胞,使促炎性因子分泌增加等。

谷氨酸的兴奋毒性是导致视网膜神经细胞损伤的机制之一,其机制是:由于发生代谢的异常,导致谷氨酸浓度升高,过多的谷氨酸通过 N-甲基-D-天(门)冬氨酸(NMDA)受体通路介导,引起线粒体内的钙离子堆积和线粒体去极化,去极化的线粒体反过来促使依赖钙离子内流的受体激动,过多的钙离子激活了钙敏感酶、蛋白激酶、一氧化氮合酶,从而引起一系列的神经毒性作用^[12]。但也有学者证明^[13]:通过检测糖尿病视网膜病变患者的玻璃体内的谷氨酸含量,证明谷氨酸浓度并没有升高,这之前谷氨酸的兴奋毒性的论点相悖。还有学者证明^[14]:在 STZ 诱发的糖尿病鼠模型中,视网膜神经节细胞的谷氨酸受体和钙离子结合蛋白发生了上调,这反应出了谷氨酸和钙离子的代谢发生了相应的改变。综上,谷氨酸或许并未直接参与损伤,但谷氨酸受体发生了上调,谷氨酸受体通路可以引起钙离子浓度的升高,并且钙离子结合蛋白发生了上调,那么我们推测:在糖尿病大鼠模型早期,RGCs 内的钙离子浓度可能升高。

本实验结果表明,糖尿病早期大鼠 RGCs 发生了凋亡,最早发生于成模后第 4wk,并且随病程延长,凋亡的 RGCs 逐渐增多。通过激光共聚焦显微镜检测钙离子浓度,在第 4,8,12wk 时,糖尿病组 RGCs 内的钙离子浓度较对照组均升高,并且通过糖尿病组内第 4,8,12wk 之间比较发现,RGCs 内钙离子浓度逐渐升高。细胞内钙离子浓度的升高,会激活一些生物酶,通过引起一系列的神经毒性作用,有可能最终导致 RGCs 的凋亡。随着糖尿病病程的延长,凋亡的 RGCs 逐渐增多,RGCs 内钙离子浓度也逐渐升高,所以我们推测:在糖尿病大鼠模型早期,RGCs 内钙离子浓度的升高,可能是导致 RGCs 凋亡的机制之一。

综上所述,在糖尿病大鼠模型早期,RGCs 发生了凋亡,而且 RGCs 内钙离子浓度逐渐升高,是否可以寻找某种药物阻止这种改变,是否会对 RGCs 产生保护作用,还有待进一步研究。

参考文献

1 Simó R, Hernández C. Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol Metab* 2014;25(1):23-33
2 Stem MS, Gardner TW. Neurodegeneration in the pathogenesis of diabetic retinopathy: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Curr Med Chem* 2013;20(26):3241-3250
3 Simó R, Hernández C. Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy: therapeutic implications. *Br J Ophthalmol* 2012;96(10):1285-1290
4 Villarreal M, Ciudin A, Hernández C, et al. Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy. *World J Diabetes* 2010;1(2):57-64
5 Li P, Xu X, Zheng Z, et al. Protective effects of rosiglitazone on retinal neuronal damage in diabetic rats. *Curr Eye Res* 2011;36(7):673-679
6 Schmid S, Guenther E. Voltage-activated calcium currents in rat retinal ganglion cells *in situ*: changes during prenatal and postnatal development. *J Neurosci* 1999;19(9):3486-3494
7 Park JW, Park SJ, Park SH, et al. Up-regulated expression of neuronal nitric oxide synthase in experimental diabetic retina. *Neurobiol Dis* 2006;21(1):43-49

8 Gaucher D, Chiappore JA, Pâques M, et al. Microglia changes occur without neural cells death in diabetic retinopathy. *Vision Res* 2007;47(5):612-623
9 Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient. *Exp Diabetes Res* 2007;6:1038-1039
10 Seigel GM, Lupien SB, Campbell LM, et al. Systemic IGF-I treatment inhibits cell death in diabetic rat retina. *J Diabetes Comp* 2006;20(3):196-204
11 Wang AL, Yu AC, He QH, et al. AGEs mediated expression and secretion of TNF alpha in rat retinal microglia. *Exp Eye Res* 2007;84(5):905-913
12 林丁, 陈琛. 青光眼的视网膜神经节细胞损伤及其保护. *中华眼科杂志* 2005;41(12):1144-1148
13 Asensio Sánchez VM, Corral Azor A, Aguirre Aragón B, et al. Glutamate concentration in diabetic vitreous. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2003;78(9):493-497
14 Ng YK, Zeng XX, Ling EA, et al. Expression of glutamate receptors and calcium-binding proteins in the retina of streptozotocin-induced diabetic rats. *Brain Res* 2004;1018(1):66-72

COOC 2014 会议通知

由上海市医学会眼科分会、全国十省医学会眼科分会、复旦大学附属眼耳鼻喉科医院、温州医科大学眼视光学院和中国科学技术协会中国国际科技会议中心共同主办;复旦大学附属眼耳鼻喉科医院、中国国际科技会议中心和上海瑞欧展览服务有限公司共同承办的“第十四届国际眼科学学术会议”和“第十四届国际视光学学术会议”将于2014年3月27日-30日在上海跨国采购会展中心(上海市普陀区中江路35号)举行。

来自中国、美国、亚欧部分国家的眼科学领域和视光学领域的医生、专家、学者和知名厂商将云集上海出席本届会议。注册本届会议并符合相关要求的参会代表可获得国家级I类继续教育学分8分,参加眼科继续教育学习班者可获得国家级I类继续教育学分10分。同期将举行“第三届国际角膜塑形学术大会”,欢迎国内外医生踊跃投稿、注册参会。

论文投稿截止日期为2014年2月16日。论文投稿只需论文摘要。

摘要要求:① 500字以内的规范格式书写。

② 四段式基本形式(包括目的、方法、结果、结论)。

③ 投稿方式:在线上上传。

大会秘书处:上海瑞欧展览服务有限公司,联系人:汤雅萍老师、黄嘉菲老师

地址:上海市中山北路2790号1007室,邮编:200063

电话:021-52665618,传真:021-52668178,E-mail:realexpo@cooc.org.cn

详情,请登陆大会官方网站:www.cooc.org.cn