

糖尿病大鼠眼内 VEGF 阶段性表达的 Meta 分析

娄 静, 谢婷玉, 陈雪艺

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(No. 2014211C046)
作者单位:(830054)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,新疆医科大学第一附属医院眼科
作者简介:娄静,在读硕士研究生,研究方向:眼底病。
通讯作者:陈雪艺,硕士,教授,主任医师,研究方向:眼底病。
yclangel@126.com
收稿日期:2015-05-16 修回日期:2015-09-08

Meta analysis of VEGF periodic expression in intraocular tissue of diabetic rats

Jing Lou, Ting-Yu Xie, Xue-Yi Chen

Foundation item: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region(No. 2014211C046)
Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to:Xue-Yi Chen. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. yclangel@126.com
Received:2015-05-16 Accepted:2015-09-08

Abstract

• **AIM:** To investigate VEGF expression at various stages of diabetic rats eye disease through Meta analysis and then provide effective reference for clinical treatment.
• **METHODS:** The randomized controlled experiment which studied the VEGF expression in the course of diabetic eye disease and used diabetic rat model was screened by searching database including pubmed, EMBASE, Medline, CNKI, Wanfang, VIP. Jadad scale (5 points as the full marks) was used to assess the quality of the included literatures. Data synthesis was carried out by the fixed effect model after heterogeneity test. Subgroups were divided according to different experiment stages.
• **RESULTS:** Eight high quality literatures were included, two literatures were excluded after heterogeneity test. Data synthesis showed that VEGF expression in intraocular tissue of diabetic rats increased by 1.62% [95% CI(1.20 ~ 2.03)], $P < 0.01$.
• **CONCLUSION:** VEGF expression in intraocular tissue of diabetic rats is increased in each stage and gradually decreases monthly from two to six months.
• **KEYWORDS:** streptozocin; expression; diabetic retinopathy; vascular endothelial growth factor; Meta analysis

Citation: Lou J, Xie TY, Chen XY. Meta analysis of VEGF

periodic expression in intraocular tissue of diabetic rats. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2015;15(10):1749-1752

摘要

目的:通过分析确定 VEGF 在糖尿病大鼠眼病各阶段表现,为临床治疗阶段提供最有效的参考。
方法:通过检索 PubMed、EMBASE、Medline、中国知网、万方、维普等数据库,筛选以糖尿病大鼠为模型研究 VEGF 在糖尿病眼病病程中表达的随机对照实验。对入选文献用 Jadad 评分表(共 5 分)进行评分,经异质性检验后采用固定效应模型进行数据综合,按时间段进行亚组分析。
结果:纳入高质量文献 8 篇,异质性检验排除两篇。数据综合显示糖尿病大鼠眼内 VEGF 的表达上升了 1.62%, 95% CI(1.20, 2.03), $P < 0.01$ 。
结论:VEGF 在 2 ~ 6 月龄糖尿病大鼠眼内组织各个阶段中表达增强,但强度在逐渐下降。
关键词:链脲佐菌素;表达;糖尿病视网膜病变;血管内皮生长因子;Meta 分析
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.10.19

引用:娄静,谢婷玉,陈雪艺. 糖尿病大鼠眼内 VEGF 阶段性表达的 Meta 分析. 国际眼科杂志 2015;15(10):1749-1752

0 引言

糖尿病眼病是糖尿病最为常见的慢性并发症之一,典型的代表是糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR),常造成视力减退或失明^[1]。糖尿病眼病的发病机制十分复杂,受多种血管刺激因子和抑制因子调控,目前普遍认为血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是糖尿病眼病发病过程中的重要因子。VEGF 是最有效的促血管生长因子,因此有关 VEGF 和糖尿病眼病的研究备受关注^[2]。相关实验通常以大鼠(SD/Wistar)为实验对象,通过注射链脲佐菌素(streptozocin, STZ),诱导大鼠产生高血糖,实现糖尿病大鼠的建模^[3]。建模成功后,一般采用 ELISA 法或免疫组织化学法检测 VEGF 蛋白含量或表达。有实验显示 VEGF 在糖尿病眼病过程中含量增加表达增强^[4],但对于糖尿病眼病各时间段 VEGF 的具体表现缺乏说明。本文通过对发表的文献进行分析,探究 VEGF 在糖尿病眼病全程中的表现。

1 对象和方法

1.1 对象 入选采用随机对照实验研究 VEGF 在糖尿病大鼠眼病过程中的表达或不以此为目的但包含此项实验数据的文献。实验对象为大鼠(SD/Wistar),采用 STZ 诱导建立糖尿病模型。实验类型为随机对照试验,实验分组至少包含对照组和 STZ 干预组,即 Ctrl, STZ,其中干预组为 STZ 诱导建立的糖尿病大鼠模型,对照组为正常同等月龄大鼠,采用 ELISA 法或免疫组织化学法检测 VEGF。文献包含 Ctrl 和 STZ 组的 VEGF 含量或表达数据,

表1 纳入文献的基本特征

研究者	干预时 间(mo)	实验对象(例)		VEGF 表达值(Mean±SD)		质量评 分(分)
		干预组	对照组	干预组	对照组	
HongQuan Sun 等(2010) ^[11]	2	20	20	85.469±2.366	72.501±3.192	4
Hsi-Kung Kuo 等(2006) ^[12]	4	8	10	99.6±31.37	58.07±6.49	3
I. G. Obrosova 等(2001) ^[13]	2	8	6	33±7	19±5	3
Lin AnHua 等(2009) ^[14]	2	8	8	0.502±0.027	0.329±0.04	3
Margo P. Cohen 等(2008) ^[15]	6	9	8	167±147	75±28	3
R. E. Gilbert 等(2000) ^[16]	4	6	6	1.9±0.27	1±0.88	4
Richard E. Gilbert 等(1998) ^[17]	6	6	6	111±68.6	16±7.3	4
Zhang Y 等(2013) ^[18]	2	42	20	0.276±0.026	0.231±0.021	3

结果采用 mean±SD 或 mean±sem 计量。排除未给出具体实验数据的,实验分组不正确的文献。

1.2 方法

1.2.1 检索策略 检索 PubMed、EMBASE、Medline、中国知网、万方、维普等数据库。英文检索关键词为:vascular endothelial growth factor、VEGF、diabetic retinopathy、DR、rat、expression,中文检索关键词为:糖尿病大鼠、糖尿病视网膜病变、表达。采用各关键词自由组合方式进行检索,例如“DR VEGF rat”组合,经过反复预检后确定,辅以手工检索。检索年限为1995年至今。

1.2.2 数据收集与质量评价 按照文献纳入和排除标准,由两人独立筛选文献,无争议的入选,存在争议的排除。根据 Meta 分析要求提取文献中关于实验部分的数据建立数据表,包括:基本信息(题名、作者、发表年限、实验时间、实验目的),实验数据(Mean±SD 模式,样本数量),实验结论等。使用 Jadad 评分表(共5分)进行评分,≥3分为高质量^[5]。偏倚控制方面,通过制定全面细致检索策略控制抽样偏倚,通过严格遵照文献纳入标准来控制选择偏倚,通过统一的数据提取方法控制研究内偏倚。采用漏斗图^[6]和失安全系数^[7]对发表偏倚进行评估。

统计学分析:用 Review Manager 5.2 软件进行数据分析。数据类型采用连续类型(continuous),效应测量方式(Effect Measure)为标准化均差(Std. Mean Difference, SMD)^[8]。由于所有研究估计的是同一个干预效应,故分析模型采用固定模式(fixed effect)^[9]。Meta 分析中需要对多个研究的统计量进行合并,根据统计原理,只有同质的资料才能进行统计量合并,因此需要对多个研究的统计量进行异质性检验以判断是否具有同质性。检验方法:采用异质化定量统计量 I^2 进行异质性评估,首先在固定效应模型下合并统计量,当 $I^2 < 50\%$ 时,表明多个研究无异质性, $I^2 > 50\%$ 为存在异质性,此时假设某组数据为异质性数据,排除异质性数据后再进行数据综合直到达到同质^[10]。同质数据用固定效应模型 95% 置信区间合并。敏感性分析选用固定效应模型与随机效应模型两种不同统计方法进行结果比较。

2 结果

2.1 检索结果 共检索到文献 346 篇,初步筛选剩下 54 篇,按照纳入和排除标准,剩下 8 篇^[11-18],经异质性分析排除 2 篇^[11,14],最终纳入数据综合分析的文献有 6 篇。文献筛选流程及结果见图 1。

2.2 纳入文献的基本特征和质量评价 对入选文献用 Jadad 评分表(共5分)进行评分,基本特征见表 1。

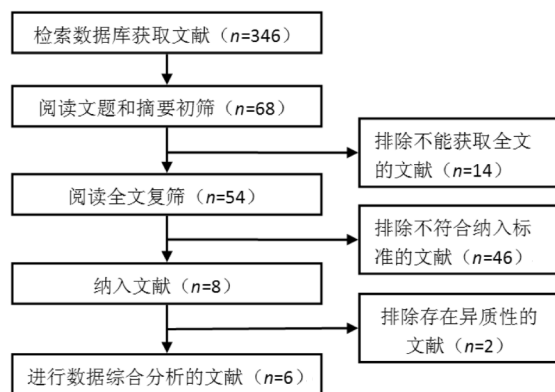


图1 文献筛选流程及结果。

2.3 Meta 分析结果 纳入文献 8 篇,异质性分析 $I^2 = 77\%$ 为存在异质性(图 2),排除 HongQuan Sun2010、Lin AnHua2009 共 2 组数据,得 6 篇。异质性检验 $I^2 = 0\%$,纳入文献的无异质性,可以采用固定效应模型分析。分析结果显示,STZ 干预组的 VEGF 表达上升 1.62% [95% CI (1.20,2.03), $P < 0.00001$] (图 3)具有统计学意义。95% 可信区间横线不与无效线相交且落在右侧,表明干预组效应大于对照组。采用随机效应模型的数据综合结果与固定效应模型的相同,表明本次 Meta 分析结果稳定。按糖尿病作用时间将实验划分为 2、4、6mo 后分析结果 SMD 95% CI 分别为 1.86(1.29,2.43),1.60(0.74,2.46),1.13(0.31,1.95),均显示实验组效应大于对照组(图 4~6)。同质文献的漏斗图中各点较为集中(图 7),无明显发表偏倚。失安全系数 $NFS_{0.05} = 182$,大于 $5k+1 = 31$ (k 为纳入分析文献数目)说明发表偏倚得到有效控制。

3 讨论

3.1 VEGF 在糖尿病大鼠眼内的表达增强 VEGF 与糖尿病眼病的病程关系密切,在糖尿病大鼠眼内各个组织中均可监测到 VEGF 的存在,如房水、玻璃体、视网膜等,并且随着糖尿病病程的延长,VEGF 在各个组织中表达增强。DR 是典型的糖尿病眼病,VEGF 在非 DR 的视网膜的节细胞层表达很弱,但在 DR 的视网膜中迅速增加,在各层都被检测到,血管周围表达尤为突出^[1,19]。根据固定效应模型数据分析得出 VEGF 在干预组中表达比对照组中表达增强 1.62%,可以得出结论,从总体看 VEGF 在糖尿病大鼠眼病中表达是增强的。

3.2 VEGF 在糖尿病大鼠眼内的各个阶段表达特点 按照糖尿病成模后的不同时间段将纳入文献分组进行数据

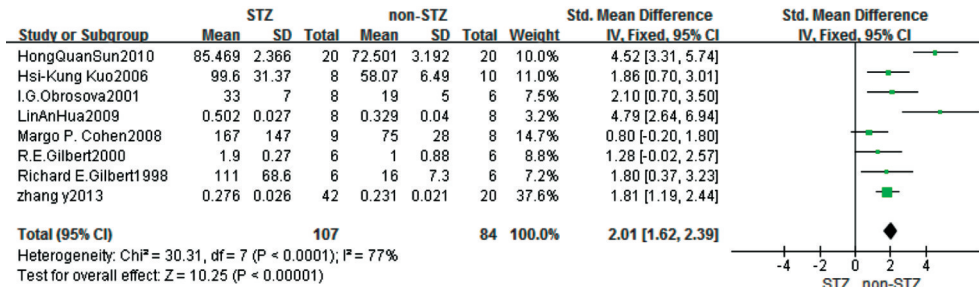


图2 排除异质性数据前的数据综合 I² = 77%, 存在异质性。

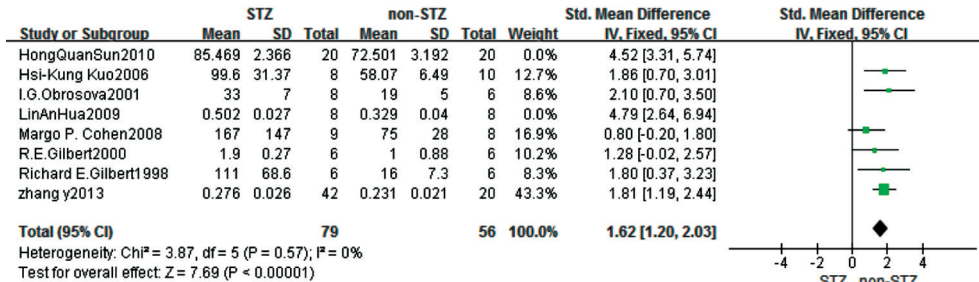


图3 固定效应模型数据综合。

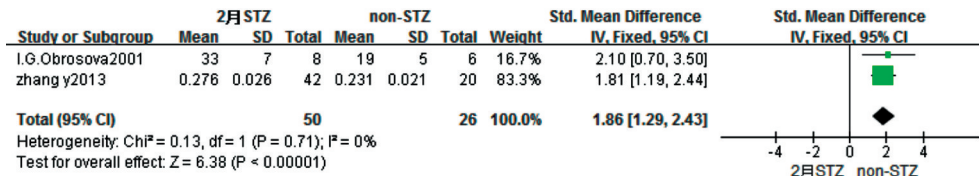


图4 干预2mo的数据综合。

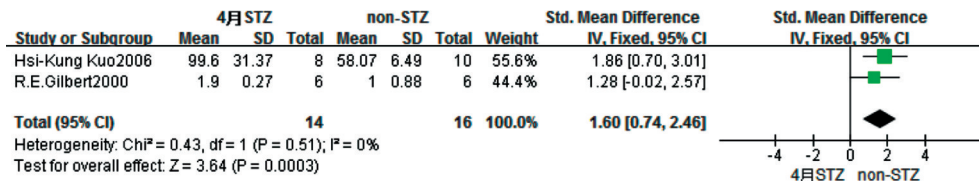


图5 干预4mo的数据综合。

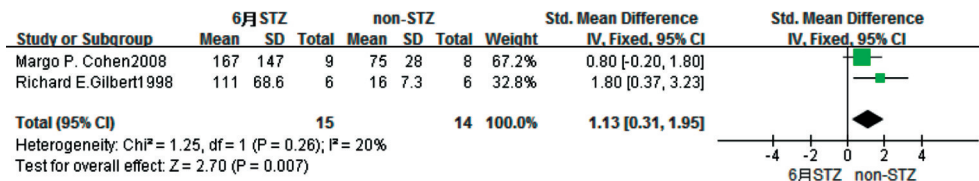


图6 干预6mo的数据综合。

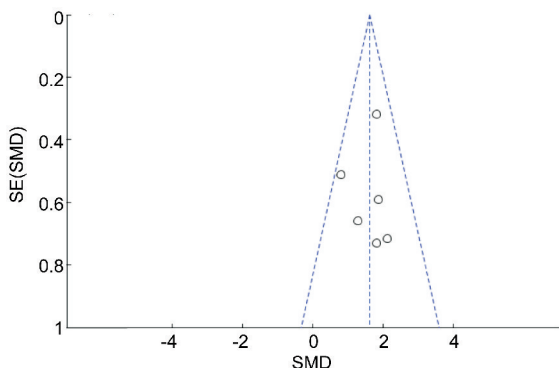


图7 同质文献的漏斗图比较。

综合,从结果可以看出不同时间段干预组效应均大于对照组,表明在糖尿病大鼠成模后眼内 VEGF 在 2、4、6mo 均表

达增强,但表达量逐渐降低。有研究发现,对于 STZ 诱导的大鼠,VEGF 在 DR 初期含量已经增加,但新增血管并不明显,3mo 表达明显,进入增殖阶段,然而 DR 进入增殖阶段时间并不固定^[20]。可见这与糖尿病大鼠眼内 VEGF 在 2~6 月龄表达增强的结论是相符的。

3.3 评价过程中的偏倚控制 常见偏倚有抽样偏倚、选择偏倚和研究内偏倚^[21]。抽样偏倚产生在搜集文献阶段,通过精选检索词,制定细致的检索策略来减小抽样偏倚。发表偏倚是抽样偏倚的一种,Meta 分析中使用漏斗图对发表偏倚进行了验证。通过制定全面的文献纳入标准和两人独立筛选文献来减小选择偏倚。研究内偏倚控制则是按照统一标准提取数据,建立数据表。

3.4 对今后研究的启示 当前研究表明 DR 同多种因素相关,如血糖控制、高血压、高血脂等^[22],这些因素可能同 VEGF 的表达有关系。如在 DR 背景下 VEGF 表达同高血

糖关系密切,通过胰岛素控制血糖能一定程度控制 VEGF 的表达^[12,23],也有研究表明运动可对大鼠 VEGF 表达产生抑制影响^[24]。可见影响 VEGF 表达的途径是多样的,本文研究方式可推广到研究这些因素对 VEGF 的影响上来。针对 VEGF 在糖尿病大鼠眼病各个阶段中的不同表达,可针对性采用不同的抗 VEGF 疗法。已经发现了多种有效药物,短期能产生较好治疗效果,但也有导致并发症的副作用,患者进行抗 VEGF 治疗的长期效果和安全性有待进一步验证^[25]。

3.5 研究的局限性 局限性:(1)纳入文献数量较少,导致亚组分析时样本少,阶段性分析的结果偏倚大。(2)文献质量评价较为简单,jadad 评价项目较少,不能全面评价文献。(3)数据采集自不同实验,各时间段无法进行相互比较分析。

参考文献

- 1 Hammes HP, Lin J, Bretzel RG, et al. Upregulation of the Vascular Endothelial Growth Factor/Vascular Endothelial Growth Factor Receptor System in Experimental Background Diabetic Retinopathy of the Rat. *Diabetes* 1998;47(3):401-406
- 2 Moradi A, Sepah YJ, Sadiq MA, et al. Vascular endothelial growth factor trap-eye (Aflibercept) for the management of diabetic macular edema. *World J Diabetes* 2013;4(6):303-309
- 3 陈嘉,张永斌,桑传兰,等. SD 大鼠 2 型糖尿病模型的建立及相关指标的测定. *动物医学进展* 2012;33(6):91-95
- 4 Song E, Dong Yu, Han LN, et al. Diabetic retinopathy: VEGF, bFGF and retinal vascular pathology. *Chin Med J* 2004;117(2):247-251
- 5 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996;17(1):1-12
- 6 贾书冰,赵明沂,梁露花. 漏斗图在 meta 分析中的正确使用研究. *数理医药学杂志* 2013;4:402-405
- 7 Rosenthal R. The file drawer problem and tolerance for null results. *Psychol Bull* 1979;86(03):638-641
- 8 张红,王珍. Meta 分析中标准化均差效应量的计算. *中国组织工程研究* 2011;15(4):737-740
- 9 Falkenberg M, Finnstrom K. Associations with Retinopathy in Type 2 Diabetes: a Population-based Study in a Swedish Rural Area. *Diabet Med* 1994;11(9):843-849
- 10 Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in Meta analyses. *BMJ* 2003;327(7414):557-560
- 11 Sun HQ, Zhou ZY. Effect of ginsenoside-Rg3 on the expression of

- VEGF and TNF- α in retina with diabetic rats. *Int J Ophthalmol* 2010;3(3):220-223
- 12 Kuo HK, Wu PC, Kuo CN, et al. Effect of insulin on the expression of intraocular vascular endothelial growth factor in diabetic rats. *Chang Gung Med J* 2006;29(6):555-560
- 13 Obrosova IG, Minchenko AG, Marinescu V, et al. Antioxidants attenuate early up regulation of retinal vascular endothelial growth factor in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 2001;44:1102-1110
- 14 Lin A, Lei M, Xie X, et al. Expression and meaning of pro-angiogenic factors in retinopathy of diabetic rats. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2009;34(12):1243-1250
- 15 Cohen MP, Hud E, Wu VY, et al. Amelioration of diabetes-associated abnormalities in the vitreous fluid by an Inhibitor of albumin glycation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(11):5089-5093
- 16 Gilbert RE, Kelly DJ, Cox AJ, et al. Angiotensin converting enzyme inhibition reduces retinal overexpression of vascular endothelial growth factor and hyperpermeability in experimental diabetes. *Diabetologia* 2000;43:1360-1367
- 17 Gilbert RE, Vranes D, Berka JL, et al. Vascular endothelial growth factor and its receptors in control and diabetic rat eyes. *Lab Invest* 1998;78(8):1017-1027
- 18 Zhang Y, Song D, Zhang G. Study on vascular endothelial growth factor and its receptor in the vitreous of diabetic rats. *West Indian Med J* 2013;52(9):799-802
- 19 Murata T, Ishibashi T, Khalil A, et al. Vascular endothelial growth factor plays a role in hyperpermeability of diabetic retinal vessels. *Ophthalmic Res* 1995;27(1):48-52
- 20 Gong CY, Lu B, Hu QW, et al. Streptozotocin induced diabetic retinopathy in rat and the expression of vascular endothelial growth factor and its receptor. *Int J Ophthalmol* 2013;6(5):573-577
- 21 Felson DT. Bias in Meta-analytic research. *J Clin Epidemiol* 1992;45(8):885-892
- 22 Moreno A, Lozano M, Salinas P. Diabetic retinopathy. *Nutr Hosp* 2013;28(Supl. 2):53-56
- 23 Whitmire W, Al-Gayyar MM, Abdelsaid M, et al. Alteration of growth factors and neuronal death in diabetic retinopathy what we have learned so far. *Mol Vis* 2011;17:300-308
- 24 Ji ES, Ko IG, Cho JW. Treadmill exercise inhibits apoptotic neuronal cell death with suppressed vascular endothelial growth factor expression in the retinas of the diabetic rats. *J Exerc Rehabil* 2013;9(3):348-353
- 25 Sim R, Hernández C. Prevention and treatment of diabetic retinopathy: evidence from large, randomized trials. The emerging role of fenofibrate. *Rev Recent Clin Trial* 2012;7(1):71-80