

# 糖尿病性视网膜病变患者 VEGF 与微血管损伤的相关性

温积权, 汪 恂, 杨 杰, 吴若欣

作者单位: (310013) 中国浙江省杭州市, 浙江医院眼科  
作者简介: 温积权, 硕士, 主治医师, 研究方向: 白内障、眼底病、眼外伤、视光学。

通讯作者: 温积权. wenjiquan@163.com

收稿日期: 2015-09-08 修回日期: 2015-11-17

## Correlation of vascular endothelial growth factor and microvascular damage in diabetic retinopathy

Ji-Quan Wen, Yi Wang, Jie Yang, Ruo-Xin Wu

Department of Ophthalmology, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Ji-Quan Wen. Department of Ophthalmology, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, Zhejiang Province, China. wenjiquan@163.com

Received: 2015-09-08 Accepted: 2015-11-17

### Abstract

• AIM: To explore the correlation of vascular endothelial growth factor (VEGF) level and microvascular damage degree in patients with proliferative diabetic retinopathy (DR).

• METHODS: Seventy-one patients with diabetes were analyzed retrospectively, and divided into 3 groups according to the degree of DR: the pure diabetes group ( $n=31$ ), the pure DR group ( $n=22$ ) and the proliferative DR group ( $n=18$ ). The incidence of microvascular damage was compared; At the same time, fasting venous blood of patients was extracted, and the VEGF levels were detected with ELISA kits, the endothelial cells (ECs), endothelial progenitor cells (EPCs) and circulating progenitor cells (CPCs) counts were detected with flow cytometry.

• RESULTS: The incidence of diabetic nephropathy and diabetic neuropathy was significantly different in three groups, proliferative DR group was higher than pure DR group and pure diabetes group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was difference in VEGF levels among groups, the proliferative DR group was higher than the pure DR group the pure diabetes group, and the pure DR group was higher than the pure diabetes group ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). VEGF levels in patients complicated with diabetic nephropathy and diabetic neuropathy were higher than the non-complicated patients, the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). There was significant difference in ECs, EPCs and

CPCs among groups, the ECs of proliferative DR group was higher than that of the pure DR group the pure diabetes group, and that of the pure DR group was higher than that of the pure diabetes group ( $P<0.01$ ), but EPCs and CPCs reversed. The VEGF level had positively correlation with ECs level ( $P<0.01$ ), and had negatively correlation with EPCs and CPCs levels ( $P<0.01$ ) in patients with proliferative DR.

• CONCLUSION: VEGF has important significance in the clinical diagnosis and medical treatment of diabetic retinopathy, especially proliferative diabetic retinopathy.

• KEYWORDS: diabetic retinopathy; vascular endothelial growth factor; microvascular damage

**Citation:** Wen JQ, Wang Y, Yang J, *et al.* Correlation of vascular endothelial growth factor and microvascular damage in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2015;15(12):2063-2066

### 摘要

目的: 探讨糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)患者血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平与微血管损伤程度的相关性。

方法: 回顾性分析本院收治的糖尿病患者 71 例, 根据有无 DR 及病变程度分为三组: 单纯糖尿病组( $n=31$ )、单纯型 DR 组( $n=22$ )、增殖型 DR 组( $n=18$ ), 比较各组微血管病变发生率。同时, 取患者空腹肘静脉血, 采用 ELISA 试剂盒测定血清 VEGF 水平, 采用流式细胞仪检测内皮细胞(ECs)、内皮祖细胞(EPCs)、循环祖细胞(CPCs)计数。

结果: 各组糖尿病肾病和糖尿病神经病变发生率有明显差异, 增殖型 DR 组高于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。各组 VEGF 水平有明显差异, 增殖型 DR 组高于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组, 单纯型 DR 组高于单纯糖尿病组; 合并糖尿病肾病及糖尿病神经病变者 VEGF 水平高于非合并者, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。各组之间 ECs、EPCs、CPCs 水平有明显差异, 增殖型 DR 组 ECs 高于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组, 单纯型 DR 组高于单纯糖尿病组; 增殖型 DR 组 EPCs、CPCs 水平低于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组, 单纯型 DR 组低于单纯糖尿病组, 差异有统计学意义( $P<0.01$ )。增殖型 DR 患者的 VEGF 水平与 ECs 水平呈正相关性( $P<0.01$ ), 与 EPCs、CPCs 水平呈负相关性( $P<0.01$ )。

结论: VEGF 在糖尿病视网膜病变, 尤其是增殖型糖尿病视网膜病变的临床诊断和医疗中, 有重要意义。

关键词: 糖尿病视网膜病变; 血管内皮生长因子; 微血管损伤

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.12.10

引用:温积权,汪恽,杨杰,等.糖尿病性视网膜病变患者 VEGF 与微血管损伤的相关性.国际眼科杂志 2015;15(12):2063-2066

## 0 引言

血管并发症是糖尿病致残和致死的主要原因,糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见的眼科并发症之一,与糖尿病肾病、糖尿病神经病变并列,为糖尿病的前三位微血管病变。研究表明新生血管形成的发生与发展是 DR 的重要病理基础之一,其具体机制尚未完全明确,其典型病理特征为新生血管过度增殖,生长紊乱,伴随出血、低纤溶和内皮损伤<sup>[1-2]</sup>。在新生血管形成过程中,内皮细胞的增殖和迁移是关键环节,因此,抑制内皮细胞功能为临床治疗 DR 的重要思路之一。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前发现的特异性最强的促内皮生长糖蛋白,玻璃体内注射抗 VEGF 药物也被广泛应用于 DR 的治疗<sup>[3]</sup>。本研究重在分析 DR 患者 VEGF 水平与微血管损伤程度的相关性,以为抗 VEGF 药物的临床应用提供数据支撑。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 选取本院门诊 2012-05/2014-12 诊治的 2 型糖尿病患者 71 例;其中男 41 例,女 30 例;年龄 23~72(平均 45.3±8.26)岁;病程 1~11(平均 3.2±0.7)a。纳入标准:(1)根据 1985 年 WHO 糖尿病诊断标准确诊为 2 型糖尿病;(2)具有完整的眼底摄片资料,且病情结论明确。排除标准:(1)糖尿病急性并发症;(2)原发性肾脏疾病,合并有其他肝肾功能障碍;(3)合并有心脑血管疾病;(4)神经、精神类病变;(5)肿瘤或癌症。根据眼底摄片诊断,无 DR 为单纯糖尿病组 31 例;剩余 40 例根据第三届全国眼科学术会议(1985 年)DR 分期标准分为 6 期,1~3 期 22 例,为单纯型 DR 组,4~6 期 18 例,为增殖型 DR 组。

## 1.2 方法

**1.2.1 微血管病变的诊断**<sup>[4]</sup> (1)糖尿病肾病:尿常规筛查尿蛋白阳性者,行尿白蛋白排泄率测定。测定晚 10:00 至次日晨 6:00 的蛋白排泄率,连测 3 次,取平均值,根据 Mogensen 分期,蛋白排泄率≥20μg/min 者即可判断为糖尿病肾病。(2)糖尿病神经类病变(DUP):行常规肌电图检查,对正中神经、腓浅神经、腓总神经、尺神经等重要神经的电生理参数进行观察。并采用表面皮肤电极顺行性测定感觉神经传导,采用盘状表面电极记录测定运动神经传导,不在肌电图学正常值范围内者可诊断为 DUP。

**1.2.2 VEGF 检测** 所有病例均于入院初取空腹肘静脉血,采用美国宝特 800ELX 酶标仪和 ELISA 试剂盒测定血清 VEGF 含量。试剂盒由北京博凌科为生物科技公司提供,测定方法为双抗体夹心。

**1.2.3 微血管内皮功能检测** 所有病例均于入院初取空腹肘静脉血,采用美国毕地公司 FACSCALIBUR 流式细胞仪检测检测内皮细胞(endothelial cells, ECs)、内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)、循环祖细胞(circulating progenitor cells, CPCs)计数百分比。

统计学分析:所得数据采用统计学软件 SPSS 16.0 进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组之间行方差分析,有统计学意义的再以 LSD-*t* 检验分析任意两组之间的差异性;计数资料以百分比表示,常规资料行  $\chi^2$  检验,列联表中

表 1 各组患者其他微血管病变发生率对比 例(%)

组别	例数	糖尿病肾病	糖尿病神经病变
单纯糖尿病组	31	3(10)	2(6)
单纯型 DR 组	22	3(14)	3(14)
增殖型 DR 组	18	8(44)	6(33)

存在理论频数小于 5 单元格行 Fisher 确切概率法;相关性分析采用 Pearson 积差相关系数分析法, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 微血管病变发生率** 各组之间糖尿病肾病和糖尿病神经病变的发生率有明显差异,增殖型 DR 组高于单纯型 DR 组,单纯型 DR 组高于单纯糖尿病组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中糖尿病肾病:单纯糖尿病组与单纯型 DR 组相比无统计学意义( $P = 0.683$ );单纯糖尿病组与增殖型 DR 组相比有统计学意义( $P = 0.010$ );单纯型 DR 组与增殖型 DR 组相比有统计学意义( $\chi^2 = 7.930, P < 0.01$ )。糖尿病神经病变:单纯糖尿病组与单纯型 DR 组相比无统计学意义( $P = 0.638$ );单纯糖尿病组与增殖型 DR 组相比无统计学意义( $P = 0.039$ );单纯型 DR 组与增殖型 DR 组相比无统计学意义( $P = 0.253$ ),见表 1。

**2.2 VEGF 水平** 各组之间 VEGF 水平有明显差异,增殖型 DR 组高于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组,单纯型 DR 组高于单纯糖尿病组。此外,无论哪种程度的糖尿病视网膜病变,有糖尿病肾病患者的 VEGF 水平明显高于无糖尿病肾病患者,有糖尿病神经病变患者的 VEGF 水平明显高于无糖尿病神经病变患者,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同病变程度的糖尿病肾病方差分析具有统计学意义( $F = 6.38, P < 0.01$ ),其间任意两两比较具有统计学意义( $t = 6.384, 5.8, 8.59, 均 P < 0.01$ );不同病变程度的非糖尿病肾病方差分析具有统计学意义( $F = 14.68, P < 0.01$ ),其间任意两两比较均有统计学意义( $t = 12.24, 9.10, 19.94, 均 P < 0.01$ );各个病变程度的糖尿病肾病与非糖尿病肾病相比具有统计学意义( $t = 6.62, 7.07, 8.47, 均 P < 0.01$ )。不同病变程度的糖尿病神经病变方差分析具有统计学意义( $F = 5.32, P < 0.01$ ),其间任意两两比较( $t = 2.70, 5.16, 6.19, P = 0.036, < 0.01, < 0.01$ );不同病变程度的非糖尿病神经病变方差分析具有统计学意义( $F = 7.59, P < 0.01$ ),其间任意两两比较均具有统计学意义( $t = 9.69, 5.97, 16.45, 均 P < 0.01$ );各个病变程度的糖尿病神经病变与非糖尿病神经病变相比均有统计学意义( $t = 9.16, 7.11, 10.61, 均 P < 0.01$ ),见表 2。

**2.3 内皮功能** 各组之间 ECs、EPCs、CPCs 水平有明显差异,增殖型 DR 组 ECs 高于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组,单纯型 DR 组高于单纯糖尿病组;增殖型 DR 组 EPCs、CPCs 水平低于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组,单纯型 DR 组低于单纯糖尿病组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),不同病变程度的 ECs 方差分析具有统计学意义( $F = 16.54, P < 0.01$ );其间任意两两比较,单纯糖尿病组与单纯型 DR 组相比具有统计学意义( $t = 13.99, P < 0.01$ );单纯 DR 组与增殖型 DR 组相比具有统计学意义( $t = 4.49, P < 0.01$ );单纯糖尿病组与增殖型 DR 组相比具有统计学意义( $t = 18.77, P < 0.01$ )。不同病变程度的 EPCs 方差分析具有统

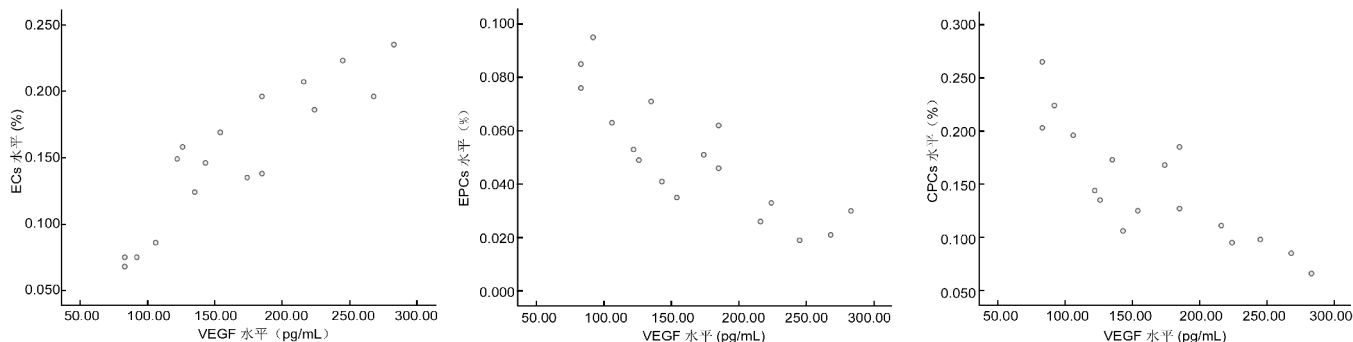


图1 增殖型 DR 患者的 VEGF 水平与 ECs、EPCs、CPCs 水平散点图。

表2 各组患者外周血 VEGF 水平对比 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

组别	例数	糖尿病肾病		糖尿病神经病变	
		有	无	有	无
单纯糖尿病组	31	142±13.1	103±9.4	158±14.6	98.6±8.6
单纯型 DR 组	22	188±15.3	139±10.6	196±15.8	131±14.6
增殖型 DR 组	18	243±18.4	180±13.2	263±19.3	166±17.8

表3 各组患者外周血内皮功能水平对比 ( $\bar{x} \pm s$ , %)

组别	例数	ECs	EPCs	CPCs
单纯糖尿病组	31	0.073±0.011	0.064±0.013	0.161±0.021
单纯型 DR 组	22	0.135±0.021	0.055±0.008	0.114±0.013
增殖型 DR 组	18	0.167±0.024	0.031±0.004	0.073±0.009

计学意义 ( $F=8.37, P<0.01$ ); 其间任意两两比较, 单纯糖尿病组与单纯型 DR 组相比具有统计学意义 ( $t=2.88, P<0.01$ ); 单纯 DR 组与增殖型 DR 组相比具有统计学意义 ( $t=11.58, P<0.01$ ); 单纯糖尿病组与增殖型 DR 组相比具有统计学意义 ( $t=10.45, P<0.01$ )。不同病变程度的 CPCs 方差分析有统计学意义 ( $F=8.37, P<0.01$ ); 其间任意两两比较, 单纯糖尿病组与单纯型 DR 组相比有统计学意义 ( $t=9.29, P<0.01$ ); 单纯 DR 组与增殖型 DR 组相比具有统计学意义 ( $t=11.33, P<0.01$ ); 单纯糖尿病组与增殖型 DR 组相比具有统计学意义 ( $t=16.85, P<0.01$ ), 见表 3。

**2.4 相关性考察** 增殖型 DR 患者的 VEGF 水平与 ECs 水平呈正相关性 ( $r=0.901, P<0.01$ ), 与 EPCs ( $r=-0.842, P<0.01$ )、CPCs ( $r=-0.829, P<0.01$ ) 水平呈负相关性; 其散点图见图 1, 单纯型糖尿病患者和单纯型 DR 患者的 VEGF 水平与 ECs、EPCs、CPCs 均未表现出明显相关性。

### 3 讨论

临床调查结果显示, 病程 15a 以上的糖尿病患者, DR 发生率高达 80%, 其中增殖型 DR 是造成严重功能障碍的主要原因<sup>[5]</sup>。因其病理机制尚未完全明确, 临床治疗 DR 的方案仍以控制血糖和血压为主, 缺乏特异性。近年研究表明, DR 的主要病理基础为微血管病变, 在发病机制和病理特征方面与糖尿病肾病、糖尿病神经病变等其他微血管并发症具有一定的相似性, 均由微血管增生和生长紊乱引发<sup>[6]</sup>。本研究对单纯糖尿病、单纯型 DR 及增殖型 DR 患者的糖尿病肾病和糖尿病神经病变发生率做了对比研究, 结果显示增殖型 DR 的糖尿病肾病和糖尿病神经病变发生率明显高于单纯糖尿病和单纯型 DR, 但单纯糖

尿病和单纯型 DR 之间无明显差异。该结果初步证实增殖型 DR 的微血管病变更为广泛, 更易累及肾脏、神经等其他部位。

DR 的发生是一个复杂的病理过程, 涉及多种因素及生长因子的交互作用, 最终表现在内皮细胞的功能紊乱上。血管内皮细胞的生长受到各种血管生成促进因子和抑制因子的双重调节, 当相关调节因子功能失调时, 可能诱发微血管自动调节功能失代偿, 并导致内皮细胞屏障功能损害和广泛性视网膜缺血<sup>[7]</sup>。由此引发的视网膜微循环异常是 DR 的重要病理基础之一, 也是导致视网膜水肿、渗出或发展至增生型 DR 的最直接原因。由于增生型 DR 的病理进程是不可逆的, 一旦发生, 可导致大量视网膜新生血管生成<sup>[8]</sup>。新生血管是指从正常血管上发出的毛细血管网, 生长杂乱、无序, 易渗漏, 由视网膜神经上皮层向视网膜、玻璃体乃至玻璃体后界面生长, 可导致玻璃体出血或视网膜脱离<sup>[9]</sup>。

新生血管的生长离不开 VEGF 的调节, 已有动物实验证实, 在生理状态下, VEGF 低表达于眼部组织, 而在 DR 模型中, 细胞和体液中 VEGF 含量均有明显上调<sup>[10]</sup>。且 VEGF 上调程度与视网膜血管出血、渗出等病理活动直接相关。目前, 部分研究倡导通过阻断 VEGF 受体信号传导通路的方案治疗 DR, 取得了一定的成效, 但其具体机制尚未完全明确<sup>[11-12]</sup>。本研究发现, 增殖型 DR 组高于单纯型 DR 组和单纯糖尿病组, 单纯型 DR 组高于单纯糖尿病组; 且无论哪种程度的糖尿病视网膜病变, 糖尿病肾病、糖尿病神经病变合并症患者 VEGF 水平明显高于其他患者。该结果初步说明 VEGF 水平可能与增殖型 DR、糖尿病肾病及糖尿病神经病变的发生、发展有一定关联。

另外,ECs、EPCs、CPCs等指标是患者微血管内皮功能的直观反应,既往有研究指出<sup>[13]</sup>,糖尿病患者外周血中的ECs含量有所升高,EPCs和CPCs含量有所降低。本研究对分组情况加以细化,对单纯糖尿病、单纯型DR及增生型DR做对比研究,发现增殖型DR组ECs高于单纯型DR组和单纯糖尿病组,单纯型DR组高于单纯糖尿病组;增殖型DR组EPCs、CPCs水平低于单纯型DR组和单纯糖尿病组,单纯型DR组低于单纯糖尿病组,进一步证实微血管内皮损伤不仅与糖尿病发病有关,还与其诱发的微血管并发症严重程度有关。既往有研究指出<sup>[14]</sup>,在增生型DR病理过程中,VEGF的高表达可能是视网膜新生血管形成的一个始动因素。本研究进一步对VEGF水平与ECs、EPCs、CPCs水平做相关性分析,发现增殖型DR患者的VEGF水平与ECs水平呈正相关性,与EPCs、CPCs水平呈负相关性,而单纯型糖尿病患者和单纯型DR患者的VEGF水平与ECs、EPCs、CPCs均未表现出明显相关性。该结果也提示,较单纯糖尿病或单纯型DR,增殖型DR的内皮损伤与VEGF可能存在更为密切的关联。

综上所述,DR的发生及发展,是否合并有糖尿病肾病、糖尿病神经病变等其他微血管病变均能影响VEGF水平,VEGF在糖尿病视网膜病变、尤其是增殖型糖尿病视网膜病变的临床诊断和医疗中,有重要意义。

#### 参考文献

- 1 Momeni A, Dyani MA, Ebrahimi E, et al. Association of retinopathy and intima media thickness of common carotid artery in type 2 diabetic patients. *J Res Med Sci* 2015;20(4):393-396
- 2 Fagan XJ, Chong EW. Fenofibrate and diabetic retinopathy. *Clin Exper Ophthalmol* 2015; 43(4):297-299

- 3 Wang JJ, Zhu M, Le YZ. Functions of Müller cell-derived vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *World J Diabetes* 2015; 6(5):726-733
- 4 边菁哲. 初诊2型糖尿病患者糖尿病视网膜病变及微血管病变相关性研究. *河北医学* 2013;19(12):1866-1868
- 5 房炳华. 糖尿病视网膜病变新生血管生成与血清VEGF、ES、TSP关系研究. 滨州医学院 2011
- 6 Braunger BM, Leimbeck SV, Schlecht A, et al. Deletion of ocular transforming growth factor  $\beta$  signaling mimics essential characteristics of diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 2015;185(6):1749-1768
- 7 刘子睿,张丽琼,高丽园,等. 视网膜微血管内皮细胞在糖尿病视网膜病变中的研究现状. *现代生物医学进展* 2014;14(13):2590-2592
- 8 Guex - Crosier Y, Behar - Cohen F. Diabetic retinopathy: new therapeutic possibilities. *Rev Med Suisse* 2015;11(456-457):101-107
- 9 谢明捷. VEGF、IGF-1在增殖性糖尿病性视网膜病变患者血和玻璃体中的表达及其相关性研究. 泸州医学院 2013
- 10 李春深,常柏,苗戎,等. 抵挡汤早期干预对糖尿病大鼠视网膜VEGF和PKC基因表达的影响. *北京中医药大学学报* 2012;35(8):543-548
- 11 Agarwal A, Sarwar S, Sepah YJ, et al. What have we learnt about the management of diabetic macular edema in the antivascular endothelial growth factor and corticosteroid era? *Curr Opin Ophthalmol* 2015;26(3):177-183
- 12 陈娟,吕红彬. 抗VEGF药物在糖尿病性视网膜病变治疗中的应用. *眼科新进展* 2014;34(4):397-400
- 13 Dennis MD, Kimball SR, Fort PE, et al. Regulated in development and DNA damage 1 is necessary for hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in the retina of diabetic rodents. *J Biol Chem* 2015;290(6):3865-3874
- 14 毛文文,申政磊,田伟盟,等. 2型糖尿病老年患者视网膜微血管病变与内皮功能紊乱关系初步探讨. *医学研究杂志* 2009;39(9):86-88