

血清 PDGF-BB 作为糖尿病视网膜病变生物标志物的研究

陈冉^{1,2}, 王应利², 周玉梅², 陶俊², 靳扬扬²

引用:陈冉, 王应利, 周玉梅, 等. 血清 PDGF-BB 作为糖尿病视网膜病变生物标志物的研究. 国际眼科杂志 2019; 19(5): 853-856

China Emergency General Hospital, Beijing 100028, China.
wanglynancy@163.com

Received:2018-02-25 Accepted:2019-03-28

作者单位:¹(063009) 中国河北省唐山市, 华北理工大学临床医学院;²(100028) 中国北京市, 应急总医院眼科

作者简介:陈冉, 在读硕士研究生, 医师, 研究方向:眼底病。

通讯作者:王应利, 眼科学博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向:眼底病. wanglynancy@163.com

收稿日期:2019-02-25 修回日期:2019-03-28

摘要

目的:研究血清中血小板源性生长因子-BB (PDGF-BB) 的水平与 2 型糖尿病患者 DR 的相关性。

方法:以健康体检者为对照组 (75 例), 糖尿病病例组分为 NDR 25 例、NPDR 25 例和 PDR 25 例。用 ELISA 测定各组样本血清中 PDGF-BB 水平, 并分析血清 PDGF-BB 与糖尿病病程、HbA1c 等各项生化指标的关系, 分析 PDGF-BB 与黄斑厚度的关系。

结果:对照组、NDR 组、NPDR 组、PDR 组血清 PDGF-BB 水平各组间均有差异 ($F = 14.259, P < 0.01$)。NPDR 组、PDR 组血清 PDGF-BB 水平 ($535.67 \pm 69.21, 551.60 \pm 103.46 \text{pg/mL}$) 均高于对照组、NDR 组 ($400.28 \pm 44.55, 409.65 \pm 50.37 \text{pg/mL}$)。多元回归分析血清 PDGF-BB 水平与空腹血糖 (FPG)、甘油三酯 (TG)、糖尿病病程有相关性 (均 $P < 0.05$)。PDR 组血清 PDGF-BB 水平与黄斑厚度存在相关性 ($r = 0.613, P < 0.05$), 对照组、NDR 组、NPDR 组血清 PDGF-BB 水平与黄斑厚度无相关性 ($r = 0.013, 0.051, 0.062$, 均 $P > 0.05$)。

结论:血清 PDGF-BB 水平随着 DR 病变程度加重而升高, 与黄斑水肿存在相关性, 并与 FPG、TG、糖尿病病程有相关性, 可以考虑作为 DR 的生物标志物。

关键词:糖尿病视网膜病变; 血小板源性生长因子-BB; 黄斑厚度

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.5.35

Study on serum PDGF-BB as biomarker for diabetic retinopathy

Ran Chen^{1,2}, Ying-Li Wang², Yu-Mei Zhou², Jun Tao², Yang-Yang Jin²

¹College of Graduated School, North China University of Science and Technology, Tangshan 063009, Hebei Province, China;

²Department of Ophthalmology, China Emergency General Hospital, Beijing 100028, China

Correspondence to: Ying-Li Wang. Department of Ophthalmology,

Abstract

• **AIM:** To observe the correlation between serum level of platelet derived growth factor - BB (PDGF - BB) and diabetic retinopathy (DR) in type 2 diabetic patients.

• **METHODS:** Seventy - five cases of healthy subjects underwent physical examination were taken as control group. Diabetic patients were divided into non - diabetic retinopathy group (NDR, 25 cases), non - proliferative diabetic retinopathy group (NPDR, 25 cases) and proliferative diabetic retinopathy group (PDR, 25 cases). Serum level of each group was measured using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Correlation between serum PDGF - BB level and stages of diabetes mellitus, macular thickness, glycosylated hemoglobin, and other biochemical indexes in serum were analyzed.

• **RESULTS:** Serum level of PDGF - BB in control group ($400.28 \pm 44.55 \text{pg/mL}$), NDR ($409.65 \pm 50.37 \text{pg/mL}$), NPDR ($535.67 \pm 69.21 \text{pg/mL}$) and PDR subgroup ($551.60 \pm 103.46 \text{pg/mL}$) were significantly different ($F = 14.259, P < 0.01$). Serum level of PDGF - BB in NPDR group and PDR group were higher compared to control group and NDR subgroup. Multiple regression analysis showed that serum level of PDGF - BB positively correlated with fasting blood glucose (FBG), triglycerides (TG) and stages of diabetes ($P < 0.05$). Serum level of PDGF - BB in PDR subgroup correlated with the thickness of macular ($r = 0.613, P < 0.05$). Whereas, this correlation was not observed in other groups ($r_c = 0.013, r_{NDR} = 0.051, r_{NPDR} = 0.062; P > 0.05$).

• **CONCLUSION:** Serum PDGF - BB level was observed to rise with severity of DR and relevant to macula edema. It was also positively correlated to FPG, TG and stages of diabetes. PDGF - BB could be recommended as diagnostic biomarker for DR.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; platelet - derived growth factor-BB; macular thickness

Citation: Chen R, Wang YL, Zhou YM, et al. Study on serum PDGF-BB as biomarker for diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(5): 853-856

0 引言

我国 2013 年糖尿病的发病率为 11.6%, 糖尿病患者 1.139 亿, 是世界糖尿病患者最多的国家^[1]。我国 DR、NPDR 和 PDR 在糖尿病人群中的发病率分别是 23.0%、

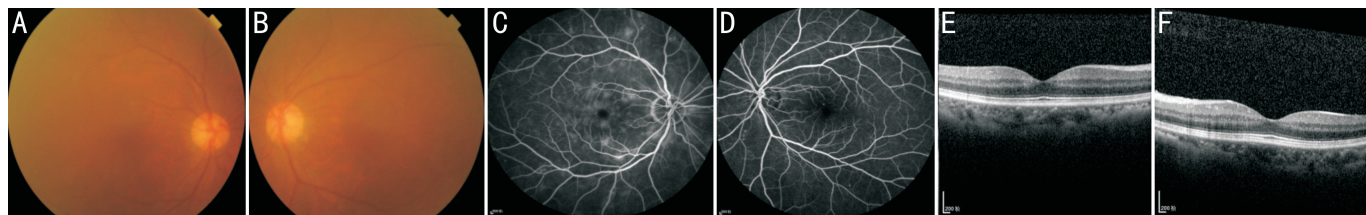


图1 NPDR患者,张某某,女,56岁,血清PDGF-BB浓度:471.385pg/mL A、B:分别示右、左眼彩色眼底图;C、D:分别示右、左眼FFA图,可见微动脉瘤及毛细血管渗漏;E、F:分别示右、左眼OCT图,未见黄斑水肿。

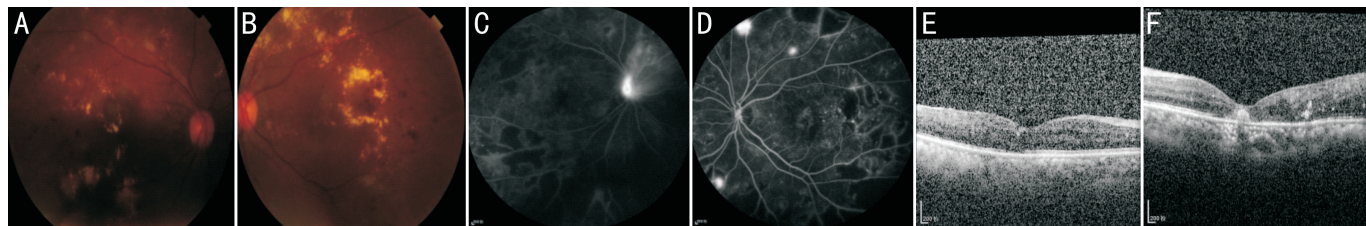


图2 PDR患者,李某某,男,64岁,血清PDGF-BB浓度:594.0684pg/mL A、B:分别示右、左眼彩色眼底图,可见全视网膜点片状出血及黄白色硬性渗出;C、D:分别示右、左眼FFA图,可见后极部微动脉瘤、无灌注区、视盘新生血管、视网膜新生血管;E、F:分别示右、左眼OCT图,可见黄斑水肿及硬性渗出。

19.1%和2.8%,且DR的患病率还在逐年增加,致盲率也逐年升高,因此制定DR的筛查和治疗方案成为当务之急^[2]。很多生物标志物参与了DR的发生和进展,传统的标志物有血糖、血压、血脂、体质量指数、氧化应激等相关因子,更多的新型标志物有糖基化终产物、炎症因子、血管生成因子、血管调节因子等^[3-4]。PDGF-BB因其在视网膜或脉络膜新生血管中的作用日益受到重视,它能够促进视网膜内皮祖细胞增殖、分化和迁移,加强对周细胞的募集,诱导血管平滑肌细胞的增殖、移行等影响视网膜新生血管的成熟^[5]。但目前PDGF-BB与糖尿病视网膜病变是否直接相关少见报道。本研究测定血清中PDGF-BB的质量浓度,观察其与2型糖尿病患者DR的相关关系,探索它能否作为DR的生物标志物。

1 对象和方法

1.1 对象

纳入2017-11/2018-10于应急总医院就诊的2型糖尿病患者75例,健康体检者75例。纳入标准:(1)符合2010年美国糖尿病协会(ADA)颁布的糖尿病诊断标准的2型糖尿病患者;(2)检查时配合良好;(3)所得OCT、彩色眼底照相及眼底荧光血管造影图像清晰。排除标准:(1)存在除高血压、糖尿病以外的其他系统疾病者(患者通过心电图、超声心动图、胸片、腹部B超等排除系统病变);(2)有内眼手术史及视网膜激光光凝治疗史;(3)伴有青光眼、虹睫炎等其它严重眼部疾病者;(4)具有可能影响黄斑厚度的其他眼底病者;(5)资料不全或不能配合检查者。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,受检者均签署知情同意书,并通过我院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 采集血清标本

抽取清晨空腹静脉血5mL,其中3mL静脉血用于测定空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)等生化指标,另2mL静脉血以3000r/min的转速离心10min后,取其血清置于-50℃冰箱中冻存。

1.2.2 分组

将患者根据2014年《我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南》DR的临床分期标准^[2]进行分组:(1)患

2型糖尿病但无糖尿病视网膜病变者组(NDR组)25例;(2)非增殖性糖尿病视网膜病变组(NPDR组)25例;(3)增殖性糖尿病视网膜病变组(PDR组)25例。对照组选取同期应急总医院的健康体检者75例。四组研究对象近6mo内无感染性疾病史,且性别、年龄、体质量指数(BMI)相匹配。

1.2.3 PDGF-BB质量浓度测定

采用人PDGF-BB ELISA检测试剂盒,ELISA法对血清中的PDGF-BB质量浓度进行测定。取出血清标本,室温下静置解冻,30min内检测,根据试剂盒说明书操作,酶标仪450nm处读数,测定各孔吸光度(OD)值,根据定比稀释标准品的OD值绘制标准曲线,根据样品OD值和标准曲线,计算出标本中PDGF-BB的质量浓度。

1.2.4 数据收集

由同一组经验丰富的医生收集数据,包括最佳矫正视力(BCVA)、眼底检查,彩色眼底照相,OCT及眼底荧光血管造影检查。由OCT多功能影像诊断平台扫描生成黄斑区视网膜厚度地形图,并测量以黄斑中心为圆心,直径4mm圆形范围内的9个区域视网膜厚度值,取其平均值为黄斑中心厚度(central subfield macular thickness,CSMT)^[6]。

统计学分析:使用统计学软件SPSS24.0进行数据分析,经检验所测数据均符合正态分布。计量资料以均数±标准差表达。血清中PDGF-BB浓度与高血压、糖尿病病程、各项生化指标相关性用多元线性回归分析。各组间血清中PDGF-BB浓度的比较使用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两组间比较采用LSD-t法进行多重比较。各组PDGF-BB浓度与CSMT的相关性采用Pearson相关性分析,双侧P<0.05则差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的一般资料

研究对象近15d内均未患感染性疾病,按前述方法分为四组。NPDR组和PDR组典型病例图片见图1、2。四组研究对象年龄、性别、BMI相匹配,基本情况见表1。

2.2 各组生化指标及病程的比较

糖尿病组与对照组FPG、HbA1c、TC、TG、LDL、HDL、高血压病程、糖尿病病程

表 1 各组研究对象基本情况

组别	例数	性别(男/女,例)	年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)
对照组	75	37/38	57.02±4.23	23.80±2.57
NDR 组	25	12/13	56.65±6.23	24.44±3.62
NPDR 组	25	13/12	57.72±5.34	22.53±0.27
PDR 组	25	14/11	56.83±3.74	24.43±4.10
<i>P</i>		1.000	0.724	0.493

表 2 各组生化指标及病程的比较

组别	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL(mmol/L)	HDL(mmol/L)	高血压病程(a)	糖尿病病程(a)
对照组	4.49±0.48	4.55±0.51	3.50±0.66	0.94±0.27	1.13±0.22	1.67±0.66	3.13±3.94	0
NDR 组	6.55±1.18	6.67±1.15	3.46±0.52	1.07±0.28	1.21±0.26	1.42±0.25	4.00±5.43	4.54±2.47
NPDR 组	7.64±0.28	7.39±0.56	3.44±0.45	1.06±0.23	1.22±0.26	1.36±0.38	3.80±3.63	9.13±2.20
PDR 组	8.93±1.30	8.96±1.33	3.67±0.52	1.18±0.41	1.23±0.32	1.42±0.38	4.42±5.00	12.50±2.39

表 3 各组血清 PDGF-BB 浓度与 CSMT 的相关性分析

组别	例数	血清 PDGF-BB 浓度(pg/mL)	CSMT(μm)	<i>r</i>	<i>P</i>
对照组	75	400.28±44.55	318.10±2.15	0.013	0.732
NDR 组	25	409.65±50.37	318.06±2.29	0.051	0.771
NPDR 组	25	535.67±69.21	330.42±27.55	0.062	0.108
PDR 组	25	551.60±103.46	362.05±22.42	0.613	0.017

的水平比较见表 2。各组间 TC、TG、HDL、LDL、高血压病程差异均无统计学意义($P>0.05$)。NDR 组、NPDR 组、PDR 组的糖尿病病程、FPG、HbA1c 均高于对照组($P<0.05$),且 NDR 组<NPDR 组<PDR 组。

2.3 血清 PDGF-BB 浓度与各项指标相关性分析 血清 PDGF-BB 浓度与各项指标的多元回归分析模型结果可信($R^2=0.656$),结果显示:血清 PDGF-BB 浓度与 FPG、TG、糖尿病病程有相关性($P=0.045、0.002、<0.01$),与 HbA1c、TC、高血压病程、HDL、LDL 均无相关性($P=0.800、0.626、0.571、0.736、0.342$)。

2.4 各组血清 PDGF-BB 浓度比较 对照组、NDR 组、NPDR 组、PDR 组四组血清 PDGF-BB 浓度分别为 400.28±44.55、409.65±50.37、535.67±69.21、551.60±103.46pg/mL,各组间差异有统计学意义($F=14.259,P<0.01$)。进一步采用 LSD-*t* 多重比较发现,对照组和 NDR 组 PDGF-BB 浓度比较差异无统计学意义($t=0.288,P=0.774$),NPDR 组和 PDR 组 PDGF-BB 浓度比较差异无统计学意义($t=0.569,P=0.572$)。对照组和 NPDR 组 PDGF-BB 浓度比较差异有统计学意义($t=4.28,P<0.01$)。对照组和 PDR 组 PDGF-BB 浓度比较差异有统计学意义($t=4.59,P<0.01$)。NDR 组和 NPDR 组 PDGF-BB 浓度比较差异有统计学意义($t=4.61,P<0.01$)。NDR 组和 PDR 组 PDGF-BB 浓度比较差异有统计学意义($t=4.91,P<0.01$)。血清 PDGF-BB 浓度比较: PDR 组、NPDR 组>NDR 组、对照组。

2.5 各组血清中 PDGF-BB 浓度与 CSMT 的相关性分析 各组血清 PDGF-BB 浓度与 CSMT 采用 Pearson 相关性分析显示:PDR 组血清 PDGF-BB 浓度与 CSMT 存在相关性($r=0.613,P=0.017$),对照组、NDR 组、NPDR 组血清

PDGF-BB 浓度与 CSMT 不存在相关性($r=0.013、0.051、0.062,P=0.732、0.771、0.108$),见表 3。

3 讨论

本研究检测了 2 型糖尿病患者不同 DR 病程及对照组血清 PDGF-BB 水平,发现四组血清 PDGF-BB 浓度组间存在显著性差异($F=14.259,P<0.01$)。PDR 患者血清中 PDGF-BB 水平高于 NDR 患者及对照组,且黄斑水肿程度与 PDGF-BB 水平正相关。说明随着 DR 疾病程度的加重,血清 PDGF-BB 水平升高,血清 PDGF-BB 水平或许可以作为反映 DR 程度的血清标记物。既往动物实验表明,2 型糖尿病的遗传模型 Goto-Kakizaki(GK)大鼠在 7mo 时血清中 PDGF-BB 含量开始升高,说明其可能参与了 GK 大鼠糖尿病的发生发展^[7]。而易如海等^[8]在大鼠 DR 模型中的研究发现,大鼠在 NDR 期视网膜 PDGF-BB 的表达已显著增加,随着病程延长 PDGF-BB 的表达进一步增加,和我们的结果略有区别。可能是因为 DM 早期血-视网膜屏障尚未破坏,视网膜中的 PDGF-BB 尚未影响到血清。Anna 等^[9]在研究中发现 NPDR 患者玻璃体液中的 PDGF-BB 含量较非糖尿病对照组显著下调,而我们的结果显示 NPDR 患者血清中 PDGF-BB 浓度高于正常对照组,这可能是由于随着病情的进展,NPDR 期患者的血-视网膜屏障破坏,NDR 期形成的 PDGF-BB 进入血液中,导致血清中 PDGF-BB 浓度增加,但 NPDR 期由于高血糖刺激,视网膜 PDGF-B 表达受到抑制,玻璃体液中的 PDGF-BB 含量减少。Annie 等发现 PDGF-BB 在 PDR 患者的玻璃体中持续增加,与我们的结果一致^[10]。可能因 PDGF-BB 表达在 NPDR 期被抑制,使其对周细胞保护和调控作用下降,导致周细胞增殖减少而凋亡增加,加剧了视网膜微血管损伤,随着病程由 NPDR 向 PDR 进展,机体对高血糖的耐受,PDGF-BB 的表达代偿性增加,进而形成视网膜

新生血管。因此可以推断,PDGF-BB在NPDR和PDR阶段可能起不同作用。

本项研究中,血清PDGF-BB浓度仅与PDR组黄斑厚度相关,与NPDR组黄斑厚度无相关性。我们知道,随着DR病情的加重,进入增殖期的患者发生黄斑水肿的机率更大,程度更重。最近,Cacciamani等^[11]通过蛋白芯片、western blot、ELISA等方法检测了30例糖尿病黄斑水肿患者玻璃体液中众多与炎症和血管生成有关的生物标记物,发现除了众所周知的VEGF外,还有骨桥蛋白、白介素-6等生物标记物水平与黄斑水肿程度相关。我们的研究是对PDGF-BB作为糖尿病黄斑水肿的生物标记物,还需要多中心大样本检测。既往的试验是用OCT扫描生成黄斑视网膜地形图,取黄斑中心为圆心,直径1mm圆形范围内的128个视网膜厚度值为CSMT^[6],本试验将测量范围扩大到直径4mm圆形范围内,并取黄斑区视网膜地形图中9个区域视网膜平均厚度值为CSMT,使结果更加准确。本试验观察到血清中PDGF-BB浓度与FPG具有相关性,以往的研究也已证实,体内高血糖水平会通过激活蛋白激酶C信号通路促进血管内皮细胞中PDGF-BB和PDGFR- β 的表达^[12]。本研究发现血清中PDGF-BB浓度与TG具有相关性,目前普遍认为严重的脂质代谢异常,不仅直接损伤细胞,还会导致PDGF-BB的高表达^[13],与本试验相符。Sahar等发现糖尿病患者尿PDGF-BB与糖尿病病程正相关^[12],我们的结果显示患者血清中PDGF-BB浓度与糖尿病病程具有相关性,可能是由于随着糖尿病病程的迁延,患者血清中PDGF-BB含量增加导致随尿液排出的PDGF-BB含量增加。本研究发现血清中PDGF-BB水平与HbA1c、TC、HDL、LDL、高血压病程无相关性,与Yang等^[14]的研究结果一致。

综上所述,随着糖尿病病程的发展,患者从发生DR开始血清中PDGF-BB浓度明显升高,当进入增殖期时患者血清中PDGF-BB浓度与黄斑水肿存在明显正相关,提示PDGF-BB可以做为监测糖尿病病程进展的生物标志物。但本试验为横断面研究,无法建立因果联系,且DM患者血清中PDGF-BB浓度受全身因素影响较大,与DR的关联性需要增大样本量进一步确认,并且需要深入探索DM患者血清中PDGF-BB的来源、影响因素以及对DR病情发展的作用。

参考文献

- 1 Xu Y, Wang L, He J, *et al.* Prevalence and control of diabetes in Chinese adults. *JAMA* 2013;310(9):948-959
- 2 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014年). *中华眼科杂志* 2014;50(11):851-865
- 3 Jenkins AJ, Joglekar MV, Hardikar AA, *et al.* Biomarkers in diabetic retinopathy. *Rev Diabet Stud* 2015;12(1-2):159-195
- 4 Luo WJ, Zhang WF. The relationship of blood cell-associated inflammatory indices and diabetic retinopathy: a Meta-analysis and systematic review. *Int J Ophthalmol* 2019;12(2):312-323
- 5 Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev* 2008;22(10):1276-1312
- 6 宋一帆,蔡宏媛,王新,等. 糖尿病视网膜病变患者白内障超声乳化术后黄斑水肿的分析. *眼科新进展* 2016;36(7):658-661
- 7 Gong CY, Lu B, Sheng YC, *et al.* The Development of Diabetic Retinopathy in Goto-Kakizaki Rat and the Expression of Angiogenesis-Related Signals. *Chin J Physiol* 2016;59(2):100-108
- 8 易如海,杨立勇,张声,等. 糖尿病大鼠视网膜核因子-kB与血小板源性生长因子-B表达的意义. *福建医科大学学报* 2004;38(4):496
- 9 Anna P, Eleni P, Sofia A, *et al.* Vitreous and serum levels of vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor and their correlation in patients with non-proliferative diabetic retinopathy and clinically significant macula oedema. *J Acta Ophthalmol* 2011;89(3):248-254
- 10 McAuley AK, Sanfilippo PG, Hewitt AW, *et al.* Vitreous biomarkers in diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *J Diabetes Complications* 2014;28(3):419-425
- 11 Cacciamani A, Esposito G, Scarinci F, *et al.* Inflammatory mediators in the vitreal reflux of patients with diabetic macular edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019;257(1):187-197
- 12 Wang QY, Guan QH, Chen FQ. The changes of platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) in T2DM and its clinical significance for early diagnosis of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;85(2):166-170
- 13 Sahar SB, Tarek AH, Morad AM, *et al.* Urinary platelet-derived growth factor-BB as an early marker of nephropathy in patients with type 2 diabetes: an Egyptian study. *J Renal Failure* 2012;34(6):670-675
- 14 Yang F, Yu TT, Li K, *et al.* Sitagliptin reduces transforming growth factor- β 1 and platelet derived growth factor-BB in regulation of UAER in type 2 diabetic nephropathy stage III patients. *Biomed Res* 2017;28(6):2571-2577