

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.02.021

❖ 临床研究 ❖

血清 VEGF、HIF-1 α 及 Hcy 与 2 型糖尿病视网膜病变的相关性

陈焱¹, 李志洪²

(1. 厦门大学附属第一医院眼科; 2. 中国人民解放军陆军第七十三集团军医院心内科心功能区, 福建 厦门 361003)

【摘要】目的: 探究血清血管内皮生长因子 (VEGF)、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、同型半胱氨酸 (Hcy) 与 2 型糖尿病 (T2DM) 视网膜病变的相关性。**方法:** 按是否发生糖尿病视网膜病变 (DR) 将 120 例 T2DM 患者分为 DR 组 ($n=76$) 和单纯 T2DM 组 ($n=44$), 将 DR 组分为非增生型 DR (NPDR) 组 ($n=45$) 和增生型 DR (PDR) 组 ($n=31$)。收集所有患者一般资料及生化指标水平, 采用单因素及 Logistic 回归模型分析相关指标与 DR 的关系, 并采用受试者工作特征曲线 (ROC) 分析血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 对 DR 的诊断价值。**结果:** 两组性别、年龄、BMI、SPB、DPB、吸烟和饮酒占比、空腹血糖 (FPG)、血清总胆固醇 (TC)、甲状腺球蛋白 (TG)、密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、超敏 C-反应蛋白 (hs-CRP) 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。与单纯 T2DM 组相比, DR 组糖尿病病程更长, HbA1c 及血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 水平均更高 ($P<0.05$)。PDR 组血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 水平均高于 NPDR 组 ($P<0.05$)。Logistic 回归分析显示, 糖尿病病程、HbA1c、VEGF、HIF-1 α 、Hcy 均是 DR 的独立危险因素 ($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示, 血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 均可用于 DR 诊断, 且以三者联合的诊断价值最大 (曲线下面积 = 0.984, 敏感度 = 94.74%, 特异度 = 95.45%)。**结论:** 血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 与 DR 关系密切, 是 DR 发生的独立危险因素, 三者联合用于 DR 诊断中的具有较高的诊断效能。

【关键词】 2 型糖尿病; 糖尿病视网膜病变; 血管内皮生长因子; 缺氧诱导因子-1 α ; 同型半胱氨酸

【中图分类号】 R587.2; R774.1 **【文献标志码】** A

Correlation between serum VEGF, HIF-1 α and Hcy with type 2 diabetic retinopathy

CHEN Han¹, LI Zhi-hong²

(1. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xiamen University; 2. Cardiac Functional Area of Department of Cardiology, the 73 Group Army Hospital of the PLA, Xiamen 361003, Fujian, China)

【Abstract】Objective: To investigate the correlation of serum vascular endothelial growth factor (VEGF), hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and homocysteine (Hcy) with type 2 diabetic retinopathy. **Methods:** A total of 120 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) were selected as the study subjects. According to whether patients had diabetic retinopathy (DR), they were divided into DR group ($n=76$) and simple T2DM group ($n=44$). The DR group was divided into non-proliferative DR (NPDR) group ($n=45$) and proliferative DR (PDR) group ($n=31$). The general data and biochemical indexes of all patients were collected. Single factor and Logistic regression model were used to analyze the relationship between related indicators and DR, and receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the diagnostic value of serum VEGF, HIF-1 α and Hcy for DR. **Results:** There was no significant difference in gender, age, BMI, SPB, DPB, smoking and drinking cases, FPG, TC, TG, LDL-C, HDL-C, hs-CRP levels between the two groups ($P>0.05$). Compared with the T2DM group, the duration of diabetes in the DR group was longer, and the levels of HbA1c, serum VEGF, HIF-1 α and Hcy were significantly higher ($P<0.05$). Serum VEGF, HIF-1 α and Hcy levels in PDR group were higher than those in NPDR group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that the duration of diabetes, HbA1c, VEGF, HIF-1 α and Hcy were all independent risk factors for DR ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that serum VEGF, HIF-1 α and Hcy could be used for the diagnosis of DR, and the diagnostic value of the combination of the three was the highest [area under the curve = 0.984, sensitivity = 94.74%, specificity = 95.45%]. **Conclusion:** Serum VEGF, HIF-1 α and Hcy are closely related to DR, and they are independent risk factors for DR. The combination of VEGF, HIF-1 α and Hcy in the diagnosis of DR has high diagnostic efficiency.

【Key words】 Type 2 diabetes; Diabetic retinopathy; Vascular endothelial growth factor; Hypoxia inducible factor-1 α ; Homocysteine

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是因持续高血糖状态导致的眼底微血管功能和结构改变,是 2 型糖尿病 (diabetes mellitus type 2, T2DM) 患者常见的慢性进行性并发症之一,也是导致成人视力障碍的首要原因^[1]。DR 可通过早期规范性预防和治疗来延缓病情进展,改善预后^[2],但 DR 病变早期无明显症状。因此,探究与 DR 相关的生化指标用以指导 DR 诊疗极具临床意义。目前,DR 的确切机制仍不明确,近年来众多研究^[3-4]支持慢性炎症、血管内皮功能紊乱、新血管生成等参与了 DR 的发生发展。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 具有刺激血管内皮细胞生长增殖和诱导迁移、增强血管通透性、诱导新生血管形成等作用^[5];缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) 是参与机体应答缺氧环境的一种转录调节因子,也是新血管形成中的关键因子之一^[6];同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 可通过诱导生成 H₂O₂ 而增加自由基活性的细胞毒作用,直接损伤血管内皮功能^[7]。本研究旨在探究血清 VEGF、HIF-1 α 及 Hcy 与 DR 的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2021 年 6 月厦门大学附属第一医院收治的 120 例 T2DM 患者为研究对象,根据是否合并 DR 分为 DR 组 ($n = 76$) 和单纯 T2DM 组 ($n = 44$),再根据 DR 分期将 DR 组分为非增殖型 DR (non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR) 组 ($n = 45$) 和增殖型 DR (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 组 ($n = 31$)。纳入标准:(1)符合 T2DM 诊断标准;(2)完成 DR 筛查,DR 诊断标准^[8]:经散瞳后眼底镜检查、眼底荧光造影、眼底照相等检查发现渗出、出血、血管增生、微血管瘤等症状;(3)年龄 18~75 岁;(4)临床资料清晰完整;(5)患者或家属知情同意参与研究。排除标准:(1)合并免疫系统疾病、慢性炎症性疾病、神经系统疾病、严重肝肾功能障碍、恶性肿瘤者;(2)合并青光眼、白内障、屈光改变等眼部疾病或眼底病变难以分级者;(3)妊娠或哺乳期妇女;(4)存在其他糖尿病急性并发症者;(5)入组前两个月内有免疫抑制剂、细胞毒制剂应用史者。本研究已获得相关医学伦理委员会审批。本研究为前瞻性研究,符合《赫尔辛基宣言》。

1.2 观察指标与检测方法

入组后即收集所有对象:(1)一般资料包括性别、年龄、体质指数 (BMI)、糖尿病病程、收缩压 (SPB)、舒张压 (DPB)、吸烟及饮酒情况;(2)生化指

标包括空腹血糖 (FPG)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、血清总胆固醇 (TC)、甲状腺球蛋白 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、超敏 C-反应蛋白 (hs-CRP) 及 VEGF、HIF-1 α 、Hcy,其中血清学指标检测血样为空腹外周静脉血,FPG 检测采用葡萄糖氧化酶法,HbA1c 检测采用高效液相色谱法,TC、TG、LDL-C、HDL-C、hs-CRP、Hcy 检测采用全自动生化分析仪 (AU5800, Beckman Coulter),VEGF、HIF-1 α 检测采用酶联免疫吸附法 (ELISA) (上海酶联生物科技有限公司)。

1.3 统计学分析

使用 SPSS24.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料描述为 ($\bar{x} \pm s$),组间比较行独立样本 t 检验;计数资料描述为 [n (%)],组间比较行 χ^2 检验;多因素分析采用 Logistic 回归模型进行;采用受试者工作特征曲线 (ROC) 评价血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 对 DR 的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单纯 T2DM 组与 DR 组患者一般资料比较

DR 组糖尿病病程长于单纯 T2DM 组 ($P < 0.05$)。两组性别、年龄、BMI、SPB、DPB 等其他一般资料比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 单纯 T2DM 组与 DR 组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

资料	单纯 T2DM 组 ($n = 44$)	DR 组 ($n = 76$)	t/χ^2 值	P 值
男/女 (例)	25/19	40/36	0.197	0.657
年龄 (岁)	56.49 \pm 7.62	57.31 \pm 7.96	0.552	0.582
BMI (kg/m ²)	22.53 \pm 2.75	22.86 \pm 2.48	0.675	0.501
糖尿病病程 (年)	2.62 \pm 0.81	6.17 \pm 1.66	13.283	< 0.001
SPB (mmHg)	125.33 \pm 10.20	126.19 \pm 11.14	0.420	0.675
DPB (mmHg)	84.75 \pm 6.39	85.03 \pm 6.87	0.221	0.826
吸烟 (是/否,例)	12/32	24/52	0.246	0.620
饮酒 (是/否,例)	9/35	15/61	0.009	0.925

2.2 单纯 T2DM 组与 DR 组患者生化指标比较

与单纯 T2DM 组相比,DR 组 HbA1c 及血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 水平均更高 ($P < 0.05$)。两组 FPG、TC、TG、LDL-C、HDL-C、hs-CRP 水平比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 单纯 T2DM 组与 DR 组患者生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

资料	单纯 T2DM 组 ($n = 44$)	DR 组 ($n = 76$)	t 值	P 值
FPG (mmol/L)	7.74 \pm 0.92	8.16 \pm 1.13	2.144	0.034
HbA1c (%)	8.33 \pm 1.56	9.57 \pm 1.71	4.028	< 0.001
TC (mmol/L)	4.49 \pm 0.65	4.54 \pm 0.66	0.409	0.683
TG (mmol/L)	1.56 \pm 0.48	1.72 \pm 0.59	1.564	0.120
LDL-C (mmol/L)	2.61 \pm 0.73	2.74 \pm 0.74	0.948	0.345
HDL-C (mmol/L)	2.02 \pm 0.58	1.89 \pm 0.52	1.281	0.203
hs-CRP (mg/L)	1.18 \pm 0.32	1.23 \pm 0.35	0.793	0.429
VEGF (pg/mL)	92.33 \pm 21.25	115.96 \pm 24.58	5.440	< 0.001
HIF-1 α (pg/mL)	25.13 \pm 3.10	26.94 \pm 3.83	2.731	0.007
Hcy (mol/L)	11.34 \pm 2.37	12.82 \pm 3.59	2.513	0.013

2.3 不同分期 DR 患者血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 水平比较

PDR 组血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 水平均高于 NPDR 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同分期 DR 患者血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF(pg/mL)	HIF-1 α (pg/mL)	Hcy(mol/L)
NPDR 组($n=45$)	111.78 \pm 20.96	26.35 \pm 2.82	12.29 \pm 2.57
PDR 组($n=31$)	122.03 \pm 18.14	27.80 \pm 3.04	13.59 \pm 2.48
t 值	2.211	2.134	2.198
P 值	0.030	0.036	0.031

2.4 Logistic 多因素回归分析

以 T2DM 患者是否合并 DR 为因变量,以单因素分析中有统计学意义的指标为自变量,行 Logistic 回归分析。结果显示,糖尿病病程、HbA1c、VEGF、HIF-1 α 、Hcy 均是 DR 的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 影响 DR 的多因素 Logistic 回归分析

指标	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
糖尿病病程	0.429	0.146	8.634	0.003	1.536	1.154 ~ 2.045
HbA1c	0.186	0.077	5.835	0.016	1.204	1.036 ~ 1.401
VEGF	0.522	0.203	6.612	0.010	1.685	1.132 ~ 2.509
HIF-1 α	0.336	0.162	4.302	0.038	1.399	1.019 ~ 1.922
Hcy	0.306	0.148	4.275	0.039	1.358	1.016 ~ 1.815

2.5 血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 对 DR、PDR 的诊断价值

血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 诊断 DR 的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.754、0.683、0.676;且三者联合的 AUC 最大(0.984),敏感度、特异度分别为 94.74%、95.45%。见表 5。

表 5 血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 对 DR 的诊断价值

指标	最佳截断值	AUC 值	P 值	95% CI	敏感度(%)	特异度(%)
VEGF	>119.92 pg/mL	0.754	<0.001	0.667 ~ 0.828	44.74	97.73
HIF-1 α	>24.17 pg/mL	0.683	<0.001	0.592 ~ 0.765	86.84	43.18
Hcy	>13.53 mol/L	0.676	<0.001	0.584 ~ 0.758	43.42	86.36
三者联合		0.984	<0.001	0.942 ~ 0.998	94.74	95.45

3 讨论

糖尿病病程是 DR 发生的重要危险因素,DR 的发生几率会随病程的延长而显著增加;血糖控制是临床治疗糖尿病及其相关并发症的关键所在,高血糖状态会刺激 T2DM 患者眼底组织加速病变^[9-10]。

本研究也显示糖尿病病程、高 HbA1c 水平均是 DR 发生的独立危险因素,提示临床应重视 T2DM 的血糖控制状态,进行 DR 的定期筛查,从而通过早期积极干预来改善预后。

目前,DR 发生发展的确切机制不详,但高血糖负荷导致的视网膜微血管损伤是主流假说^[11]。VEGF 是视网膜新血管生成、血管渗漏的关键因素,在 DR 的视网膜异常增生、纤维化病变过程中有着重要作用,其水平异常与 DR 病变程度存在显著相关性^[12]。严鸣光等^[13]研究显示,不同分期 DR 患者的房水和血清中的 VEGF 水平均存在明显差异,PDR 患者的 VEGF 表达程度更高。VEGF 一方面可与 VEGF 受体(vascular endothelial growth factor receptor,VEGFR)特异性结合来诱导内皮细胞增生,另一方面可通过细胞小囊泡器增强血管通透性。当机体的组织或细胞因高血糖刺激发生炎性损伤或增生时,血清 VEGF 水平随之上调,进而诱导新血管增生,最终形成 DR^[14]。抗 VEGF 靶向治疗是近年来临床 DR 治疗新策略和方向。本研究中,PDR 组的血清 VEGF 水平高于 NPDR 组,且为 DR 发生的独立危险因素,与既往研究^[15]结果相一致。

DR 的发生还与视网膜缺氧有关。T2DM 患者存在糖代谢异常,血红蛋白(hemoglobin,Hb)出现非酶糖化,将降低 Hb 的携氧能力,使氧扩散受阻,导致视网膜缺氧,视网膜微血管受损^[16]。HIF-1 α 是细胞受缺血缺氧刺激而产生应答缺氧环境的特异性转录调节因子。Syaed 等^[17]研究发现,合并 DR 患者的外周血 HIF-1 α 水平要高于单纯 T2DM 患者。HIF-1 α 与 VEGF 在 DR 患者外周血中表达呈现明显互相依赖,干扰 HIF-1 α 可降低 VEGF 的表达^[18]。基础实验^[19]也证实,敲除掉小鼠的 HIF-1 α 基因可有效降解细胞间黏附分子和 VEGF 的表达,减轻视网膜血管渗漏和过度增生。本研究显示,HIF-1 α 在 DR 组患者中表达更高,是 DR 发生的独立影响因素,表明 HIF-1 α 与 DR 的发生发展密切相关,监测、调节 HIF-1 α 表达可能是 DR 诊断、治疗的一种新思路。Hcy 是血管内皮损伤的常用监测指标,可反映血管病变情况。高水平 Hcy 可能通过加重血管内皮细胞的脂质过氧化反应^[20]、提高血小板的黏附性和聚集性^[21]、刺激血管平滑肌过度增殖^[22]等多种机制损害视网膜微血管,加重循环障碍,进而引发 DR。本研究也证实,高 Hcy 水平是 DR 发生的独立危险因素,与黄漓莉等^[23]研究结果一致。本研究还将血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 用于 DR 诊断分析,ROC 曲线分析显示,三者联合应用诊断 DR 的 AUC 高达 0.984,明显高于单项指标应用,表明血清 VEGF、

HIF-1 α 联合 Hcy 对 DR 具较高的诊断效能。

综上所述,血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 均与 DR 的发生发展关系密切,是 DR 发生的独立影响因素,三者联合用于 DR 诊断中具较高的诊断效能。临床在诊疗 T2MD 患者时应密切关注患者的血清 VEGF、HIF-1 α 、Hcy 水平,对存在较高风险的患者进行定期筛查,采取预防性干预措施,发挥其诊断、病情监测的积极作用,进而改善患者预后。

参考文献

- [1] Padhy SK, Takkar B, Chawla R, *et al.* Artificial intelligence in diabetic retinopathy: A natural step to the future[J]. *Indian Journal of Ophthalmology*, 2019, 67(7):1004-1009.
- [2] 叶秀玲,郭晓娜,熊飞.口服羟苯磺酸钙联合和血明目片治疗非增殖性糖尿病视网膜病变临床观察[J]. *川北医学院学报*, 2019, 34(2):67-69.
- [3] Hammer SS, Busik JV. The role of dyslipidemia in diabetic retinopathy[J]. *Vision Research*, 2017, 34(10):1446-1449.
- [4] 温德佳,任新军,郑传珍,等.玻璃体液中细胞因子表达水平与糖尿病视网膜病变发病关系的研究进展[J]. *中华眼底病杂志*, 2020, 36(2):151-155.
- [5] Stefanini MO, Wu FT, Gabhann FM, *et al.* A compartment model of VEGF distribution in blood, healthy and diseased tissues[J]. *BMC Systems Biology*, 2008, 2(77):1-25.
- [6] Agata GDA, Grazia M, Rita R, *et al.* PACAP modulates expression of hypoxia-inducible factors in streptozotocin-induced diabetic rat retina[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2015, 57(4):501-509.
- [7] Caprnda M, Mesarosova D, Ortega PF, *et al.* Glycemic variability and vascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Folia Medica*, 2017, 59(3):270-278.
- [8] 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)[J]. *中华眼科杂志*, 2014, 50(11):851-865.
- [9] 陈小瑾.康柏西普联合玻璃体切割术治疗增生性糖尿病视网膜病变的疗效分析[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2016, 13(6):136-138.
- [10] 夏云.糖尿病微血管病变危险因素分析[J]. *实用糖尿病杂志*, 2011, 7(4):32-33.
- [11] 凌宏威,李伟.2型糖尿病合并视网膜病变患者纤维蛋白原与血糖波动的相关性[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(7):1458-1464.
- [12] Ahmed MAEA, Mohd IN, Gert DH, *et al.* The angiogenic biomarker endocan is upregulated in proliferative diabetic retinopathy and correlates with vascular endothelial growth factor[J]. *Current Eye Research*, 2014, 40(3):321-331.
- [13] 严鸣光,殷卫兵,解传奇. VEGF、IL-6 表达水平在糖尿病性视网膜病变患者中的差异性分析[J]. *中国实验诊断学*, 2017, 21(12):2119-2122.
- [14] Ooto S, Yamashiro K, Tamura H, *et al.* Five-year visual outcomes after anti-VEGF therapy with or without photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy[J]. *British Journal of Ophthalmology*, 2019, 103(5):617-623.
- [15] 陈建志,洗文光,符小林,等.2型糖尿病患者血清中血管内皮生长因子,apelin 及血红素氧合酶-1 水平变化及其与糖尿病视网膜病变的相关性研究[J]. *中华眼底病杂志*, 2019, 35(2):145-149.
- [16] 田沫,岳岩坤,邓禹,等.血糖控制不佳 2 型糖尿病视网膜病变患者外周血 VEGF、HIF-1 α 和 ET-1 水平及其临床意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(5):54-59.
- [17] Sayed KM, Mahmoud AA. Heat shock protein-70 and hypoxia inducible factor-1 α in type 2 diabetes mellitus patients complicated with retinopathy[J]. *Acta Ophthalmologica*, 2016, 94(5):361-366.
- [18] Zhang D, Lv FL, Wang GH, *et al.* Effects of HIF-1 α on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018, 22(16):5071-5076.
- [19] Lin M, Chen Y, Jin J, *et al.* Ischaemia-induced retinal neovascularisation and diabetic retinopathy in mice with conditional knockout of hypoxia-inducible factor-1 in retinal Müller cells[J]. *Diabetologia*, 2011, 54(6):1554-1566.
- [20] Dayal S, Baumbach GL, Arning E, *et al.* Deficiency of superoxide dismutase promotes cerebral vascular hypertrophy and vascular dysfunction in hyperhomocysteinemia[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4):e0175732.
- [21] 张广森,赵红霞,张琳.高半胱氨酸对血管内皮细胞、血小板聚集和肝素辅助因子活性效应的实验研究[J]. *中华血液学杂志*, 1999, 20(9):471-473.
- [22] Faraci FM, Lentz SR. Hyperhomocysteinemia, oxidative stress, and cerebral vascular dysfunction[J]. *Stroke*, 2004, 35(2):345-347.
- [23] 黄漓莉,于健,周素娟,等.同型半胱氨酸和视黄醇结合蛋白 4 与糖尿病视网膜病变的相关性研究[J]. *眼科新进展*, 2016, 36(3):50-52.

(收稿日期:2021-09-11

修回日期:2021-10-22)