

($P < 0.05$). The serum levels of VASH-1 in the non-retinopathy group and the retinopathy group were higher than those in the control group, and the serum levels of TIMP-1 in the retinopathy group were lower than those in the control group, and the serum levels of VASH-1 in the retinopathy group were higher than those in the non-retinopathy group, and the serum levels of TIMP-1 in the retinopathy group were lower than those in the non-retinopathy group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of serum VASH-1 and TIMP-1 for predicting retinopathy in T2DM patients was 0.807 and 0.847 respectively. Multivariate Logistic regression analysis showed that long course of disease, high level of serum VASH-1 and low level of TIMP-1 were risk factors for retinopathy in T2DM patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The level of serum VASH-1 increased and TIMP-1 decreased in T2DM patients with retinopathy. Serum VASH-1 and TIMP-1 are influencing factors for retinopathy in patients with T2DM, and they are expected to be used as biomarkers for clinical diagnosis and treatment of retinopathy in patients with T2DM.

Key words: type 2 diabetes mellitus; retinopathy; angiogenesis inhibitory protein-1; tissue inhibitor of metalloproteinase-1; inflammatory response

视网膜病变为 2 型糖尿病(T2DM)常见的微血管并发症。糖尿病视网膜病变患者血管生成因子和抑制因子相互作用,导致新生血管过度增殖、微血管损伤,且具有不可逆致盲性^[1]。因此,寻找生化标志物进行视网膜病变早期筛查有利于临床防治。血管生成抑制蛋白 1(VASH-1)可经血管内皮生长因子(VEGF)阻碍内皮细胞增殖、迁移,属于血管生成的负反馈调节剂^[2]。金属蛋白酶组织抑制物 1(TIMP-1)参与细胞外基质生成、降解等过程,和糖尿病血管病变有关^[3]。既往研究表明,糖尿病足患者血清 TIMP-1 呈低表达^[4]。目前血清 VASH-1、TIMP-1 水平与 T2DM 患者视网膜病变的相关性研究报道较少见,本研究分析了血清 VASH-1、TIMP-1 水平对 T2DM 患者视网膜病变的评估价值,以期为临床诊治 T2DM 患者视网膜病变提供参考依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2021 年 1 月陕西省商洛眼科医院收治的 79 例 T2DM 患者作为研究对象。根据眼底荧光血管造影结果将患者分为无视网膜病变组、视网膜病变组。纳入标准:T2DM 患者符合《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》^[5]中诊断标准;视网膜病变患者符合《我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014 年)》^[6]中诊断标准;单眼患病,最佳矫正视力 < 0.1 ;眼底检查可见黄斑区黄斑水肿、出血等。排除标准:患有心、肝、肺、肾功能疾病;1 型糖尿病者;青光眼、黄斑前膜、黄斑裂孔等眼部疾病史;存在急性心肌梗死、脑血管疾病;近期有创伤、肿瘤、手术等者。另选取 40 例同期健康体检者作为对照组。所有研究对象及其亲属均知情同意本研究并签署知情同意书。本研究通过商洛眼科医院医学伦理委员会审核批准(2021201951-1)。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集各组性别、年龄、体质量指数(BMI)、T2DM 病程、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)等

一般资料。

1.2.2 生化指标 采集所有研究对象晨起第一次尿的中段尿,采用尿特定蛋白分析仪检测清蛋白(UA)、肌酐(Cr)水平。采集所有研究对象清晨空腹静脉血,检测空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2 h PG)水平,采用高效液相色谱法检测糖化血红蛋白(HbA1c)水平。采用酶比色法检测总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。计算尿微量 UA 与 Cr 比值(UACR)。

1.2.3 血清 VASH-1、TIMP-1 采集所有研究对象清晨空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,放置在冰箱中保存待检。采用酶联免疫吸附试验检测血清 VASH-1、TIMP-1 水平。VASH-1 试剂盒购自美国 CUSABIO 公司, TIMP-1 试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司,所有操作均严格按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行数据处理与统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 SNK- q 检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 VASH-1、TIMP-1 水平对 T2DM 患者发生视网膜病变的预测价值。采用多因素 Logistic 回归分析 T2DM 患者发生视网膜病变的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组一般资料比较 无视网膜病变组纳入 45 例患者、视网膜病变组纳入 34 例患者。无视网膜病变组与视网膜病变组 FPG、2 h PG、HbA1c、UACR 水平均高于对照组,且视网膜病变组均高于无视网膜病变组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。视网膜病变组 T2DM 病程长于无视网膜病变组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 3 组血清 VASH-1、TIMP-1 水平比较 无视网膜病变组与视网膜病变组血清 VASH-1 水平均高于对照组, TIMP-1 水平均低于对照组, 且视网膜病变组

血清 VASH-1 水平高于视网膜病变组, 视网膜病变组血清 TIMP-1 水平低于视网膜病变组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 3 组一般资料比较(n/n 或 $\bar{x} \pm s$)

组别	n	男/女	年龄(岁)	BMI(kg/m^2)	T2DM 病程(年)	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)	FPG(mmol/L)	2 h PG(mmol/L)
对照组	40	23/17	55.98 \pm 5.52	22.76 \pm 2.24	—	123.85 \pm 10.33	78.42 \pm 5.33	5.12 \pm 0.95	6.32 \pm 1.16
无视网膜病变组	45	24/21	56.27 \pm 5.64	22.37 \pm 2.04	2.76 \pm 0.78	125.51 \pm 10.57 ^a	77.10 \pm 5.05	7.45 \pm 1.77 ^a	9.56 \pm 2.42 ^a
视网膜病变组	34	19/15	56.24 \pm 5.61	22.64 \pm 2.20	10.98 \pm 2.13 ^b	132.76 \pm 11.21 ^{ab}	78.24 \pm 5.27	10.33 \pm 2.67 ^{ab}	13.43 \pm 3.36 ^{ab}
χ^2/F		0.245	0.055	1.348	247.784	1.792	1.666	49.781	50.443
P		0.657	0.984	0.262	<0.001	0.243	0.179	<0.001	<0.001

组别	n	HbA1c(%)	TG(g/L)	TC(g/L)	LDL-C(g/L)	HDL-C(g/L)	UACR(mg/g)
对照组	40	5.53 \pm 1.02	1.61 \pm 0.36	4.64 \pm 0.63	3.06 \pm 0.72	1.53 \pm 0.43	13.26 \pm 2.51
无视网膜病变组	45	6.95 \pm 1.38 ^a	1.84 \pm 0.46 ^a	4.93 \pm 0.79 ^a	3.35 \pm 0.82 ^a	1.42 \pm 0.38 ^a	42.15 \pm 5.64 ^a
视网膜病变组	34	10.54 \pm 2.65 ^{ab}	2.26 \pm 0.62 ^{ab}	5.64 \pm 1.14 ^{ab}	3.95 \pm 0.99 ^{ab}	1.15 \pm 0.30 ^{ab}	120.161 \pm 0.64 ^{ab}
χ^2/F		58.092	1.236	1.471	1.511	1.235	15.641
P		<0.001	0.055	0.640	0.135	0.534	<0.001

注:—表示无数据;与对照组比较,^a $P < 0.05$,与无视网膜病变组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 2 3 组血清 VASH-1、TIMP-1 水平比较($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	n	VASH-1	TIMP-1
对照组	40	332.13 \pm 15.28	241.12 \pm 10.16
无视网膜病变组	45	451.97 \pm 20.19 ^a	221.25 \pm 9.35 ^a
视网膜病变组	34	745.48 \pm 30.56 ^{ab}	184.76 \pm 7.75 ^{ab}
F		2 170.923	276.084
P		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与无视网膜病变组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 血清 VASH-1、TIMP-1 水平对 T2DM 患者视网膜病变的预测价值 以对照组作为阴性样本,以视网膜病变组作为阳性样本绘制 ROC 曲线进行分析,

结果显示,血清 VASH-1、TIMP-1 水平预测 T2DM 患者发生视网膜病变的曲线下面积(AUC)分别为 0.807、0.847。见表 3。

2.4 多因素 Logistic 回归分析 T2DM 患者发生视网膜病变的危险因素 将 T2DM 患者发生视网膜病变作为因变量(无视网膜病变=0,视网膜病变=1),采用逐步回归分析法将表 1、2 中差异有统计学意义的因素(病程、HbA1c、UACR、VASH-1、TIMP-1)作为自变量(均为连续变量,赋值均为实测值)进行多因素 logistic 回归分析,结果显示,病程长、血清 VASH-1 高水平、TIMP-1 低水平为 T2DM 患者发生视网膜病变的危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

表 3 血清 VASH-1、TIMP-1 水平对 T2DM 患者发生视网膜病变的预测价值

指标	约登指数	AUC	AUC 的 95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	最佳截断值	P
VASH-1	0.429	0.807	0.775~0.839	81.3	61.6	515.55 ng/L	<0.001
TIMP-1	0.574	0.847	0.806~0.888	86.7	70.7	213.36 $\mu\text{g}/\text{L}$	<0.001

表 4 多因素 Logistic 回归分析 T2DM 患者视网膜病变的危险因素

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR(95%CI)
病程	1.778	0.491	13.113	<0.001	5.91(2.26~15.49)
HbA1c	1.368	0.455	9.040	0.003	3.92(1.60~9.58)
UACR	1.274	0.317	16.152	<0.001	3.57(1.92~6.65)
VASH-1	1.618	0.378	18.322	<0.001	5.04(2.40~10.57)
TIMP-1	0.856	0.284	9.085	0.003	2.35(1.35~4.11)

3 讨论

T2DM 为代谢性疾病,高发于中老年人群。长期

患病会引起微血管结构、功能改变,进而导致微循环障碍、血管新生,诱发微血管及视网膜病变等^[7]。糖尿病患者 DR 患病率 > 20%,表现为视力减退、视物模糊,其发病因素包括糖脂代谢障碍、血流动力学异常、微循环紊乱、炎症反应、血管活性物质等^[8-9]。有研究表明,有生物标志物参与了 T2DM 合并心血管疾病、外周血管疾病等并发症,且与病情严重程度有关^[10-11]。

本研究结果表明,无视网膜病变组与视网膜病变组血清 VASH-1 水平均高于对照组, TIMP-1 水平均

低于对照组,且视网膜病变组血清 VASH-1 水平高于无视网膜病变组,视网膜病变组血清 TIMP-1 水平低于无视网膜病变组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。提示血清 VASH-1 水平升高、TIMP-1 水平降低参与视网膜病变发生、发展过程。有研究证实,眼部病变、糖尿病肾病等患者机体 VASH-1 可使病变组织微血管密度下降^[12]。分析原因为 VASH-1 由内皮细胞分泌,通过负反馈机制阻碍内皮细胞迁移、增殖,具有抗血管生成活性^[13],还具有生理性抑制 VEGF、成纤维细胞生长因子的促血管生长功能,从而稳定血管生成^[14];TIMP-1 由巨噬细胞、内皮细胞、中性粒细胞等合成分泌,参与细胞迁移、组织重构等过程^[15];还可限制细胞外基质金属蛋白酶降解过度,维持机体动态平衡^[16]。既往研究表明,随糖尿病足病情发展,血清 TIMP-1 水平下降,与本研究结果一致^[4]。

本研究 ROC 曲线分析结果显示,血清 VASH-1、TIMP-1 水平预测 T2DM 患者发生视网膜病变的 AUC 分别为 0.807、0.847。多因素 Logistic 回归分析结果显示,病程长、血清 VASH-1 高水平、TIMP-1 低水平为 T2DM 患者发生视网膜病变的危险因素($P < 0.05$),提示血清 VASH-1、TIMP-1 水平可作为 T2DM 患者发生视网膜病变的预测、病情评估指标,诊断价值高。眼内缺氧、炎症导致视网膜细胞、内皮细胞等诱导 VEGF 过度表达,引起白细胞黏附,促进血管内皮细胞迁移,分泌大量 VASH-1,破坏血-视网膜,形成新生血管腔^[17]。TIMP-1 为视网膜病变保护性因子,由微血管内皮细胞或视网膜微血管环境细胞产生。高糖的非酶糖基化作用、缺血缺氧内皮细胞活性改变均会启动 TIMP-1 酶释放机制。TIMP-1 水平降低导致 Bruch 膜、感光细胞间质基质降解,视网膜病变纤维增生,形成新生血管^[18]。

综上所述,发生视网膜病变的 T2DM 患者血清 VASH-1 水平升高、TIMP-1 水平降低。血清 VASH-1、TIMP-1 为 T2DM 患者发生视网膜病变的影响因素,二者有望作为临床诊治 T2DM 患者发生视网膜病变的生物标志物。

参考文献

- [1] SAW M, WONG V W, HO I V, et al. New anti-hyperglycaemic agents for type 2 diabetes and their effects on diabetic retinopathy[J]. *Eye (Lond)*, 2019, 33(12): 1842-1851.
- [2] FENG Y, WANG D, LIU Y, et al. Serum levels of vasohibin-1 in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic retinopathy[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2022, 32(5): 2864-2869.
- [3] SAUCEDO L, PFISTER I B, ZANDI S, et al. Ocular TGF- β , matrix metalloproteinases, and TIMP-1 increase with the development and progression of diabetic retinop-

athy in type 2 diabetes mellitus[J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021: 9811361.

- [4] 张慧,蔡俊玮,李敏,等. 糖尿病足患者血清 IGF-1、IL-12、TIMP-1 的表达水平及其与 Wanger 分级的相关性[J]. *医学综述*, 2020, 26(22): 4572-4576.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2021, 41(5): 482-548.
- [6] 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.
- [7] 陈建志, 冼文光, 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.
- [8] 李丹, 汲宝兰, 班博, 等. 2 型糖尿病患者血清胆红素水平与糖尿病视网膜病变的相关性研究[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2020, 36(3): 227-234.
- [9] 胡淑阳, 徐燕, 任舒婷. 血清趋化因子样受体 1 水平与 2 型糖尿病并发视网膜病变的关系[J]. *山东医药*, 2020, 60(4): 13-16.
- [10] 关清华, 程岚, 赵兴, 等. 2 型糖尿病视网膜病变患者血清 25-羟维生素 D 水平及其发生和严重程度的影响因素分析[J]. *临床误诊误治*, 2021, 34(1): 98-102.
- [11] 汪琳姣, 王德琴, 周永华, 等. 糖尿病视网膜病变患者血清视黄醇结合蛋白 4 及胱抑素 C 水平的变化及意义研究[J]. *中国全科医学*, 2018, 21(5): 517-520.
- [12] 杨小林. 非小细胞肺癌患者埃兹蛋白、血管抑制蛋白 1 的表达与微血管密度的相关性研究[J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(2): 259-263.
- [13] REN H, SHAO Y, MA X, et al. Expression levels of serum vasohibin-1 and other biomarkers in type 2 diabetes mellitus patients with different urinary albumin to creatinine ratios[J]. *J Diabetes Complications*, 2019, 33(7): 477-484.
- [14] 王亚玲, 师永红. Vasohibin-1 在常见肿瘤发生发展中作用的研究进展[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2019, 35(2): 195-197.
- [15] 程芳. 2 型糖尿病患者血清血管生成抑制蛋白 1 的表达及其临床意义[J]. *中国综合临床*, 2019, 35(2): 138-141.
- [16] 孙定军, 邢波, 陈漠水, 等. 髓过氧化物酶对 THP-1 巨噬细胞活性及 MMP-9、TIMP-1 表达的影响[J]. *新疆医科大学学报*, 2020, 43(4): 425-429.
- [17] DE OLIVEIRA M B, MEIER K, JUNG S, et al. Vasohibin 1 selectively regulates secondary sprouting and lymphangiogenesis in the zebrafish trunk[J]. *Development*, 2021, 148(4): dev194993.
- [18] 马建功, 王晓斌, 侯欣, 等. 胶质母细胞瘤中基质金属蛋白酶组织抑制物 1、基质金属蛋白酶组织抑制物 2 的表达及与微血管密度的关系[J]. *癌症进展*, 2021, 19(9): 911-914.

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.20.015

动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者开颅夹闭术后血清 KLF5 mRNA 和 lncRNA NEAT1 表达及其与认知功能的相关性研究*

周真真¹, 王琦², 张旋³, 马美娜²

河北省沧州市中心医院:1. 日间手术治疗科;2. 麻醉科;3. 科研处, 河北沧州 061000

摘要:目的 探讨动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者开颅夹闭术后血清 Kruppel 样因子 5(KLF5)微小 RNA (mRNA)和长链非编码 RNA 核富含丰富的转录本 1(lncRNA NEAT1)表达与认知功能的相关性。方法 选取 2021 年 2 月至 2022 年 4 月在该院进行开颅夹闭术的 110 例动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者作为研究对象。术后根据认知功能的评分分为认知功能正常(≥ 26 分,对照组)和认知功能障碍(< 26 分,研究组)。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测血清 KLF5 mRNA 和 lncRNA NEAT1 水平;采用简易精神状态量表(MMSE)和蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分评定患者的认知功能水平;采用 Pearson 相关分析血清 KLF5 mRNA 与 lncRNA NEAT1 的相关性及二者与认知功能障碍的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者认知功能障碍的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 KLF5 mRNA 和 lncRNA NEAT1 水平单独及二者联合对动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者认知功能障碍的诊断价值。结果 对照组纳入 67 例患者,研究组纳入 43 例患者。术后早期研究组血清 KLF5 mRNA 和 lncRNA NEAT1 水平均显著高于对照组,且术后早期血清 KLF5 mRNA 和 lncRNA NEAT1 水平均显著高于术前,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组 MMSE 和 MoCA 评分均显著低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,血清 KLF5 mRNA 和 lncRNA NEAT1 水平呈正相关($P < 0.05$),且二者均与 MMSE 和 MoCA 评分均呈负相关($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,KLF5 mRNA、lncRNA NEAT1 高表达均为动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者认知功能障碍的危险因素($P < 0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,KLF5 mRNA 诊断动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者认知功能障碍的曲线下面积(AUC)为 0.814,lncRNA NEAT1 诊断动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者认知功能障碍的 AUC 为 0.872,二者联合诊断动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者认知功能障碍的 AUC 为 0.950,二者联合诊断优于 KLF5 和 lncRNA NEAT1 各自单独诊断($Z_{\text{联合 vs. KLF5 mRNA}} = 2.547$ 、 $Z_{\text{联合 vs. lncRNA NEAT1}} = 3.268$, $P < 0.05$)。结论 动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者开颅夹闭术后血清 KLF5 mRNA 和 lncRNA NEAT1 表达升高与认知功能障碍有关,二者联合检测可以更好地预测认知功能障碍的发生。

关键词:动脉瘤性蛛网膜下腔出血; 开颅夹闭术; Kruppel 样因子 5; 长链非编码 RNA 核富含丰富的转录本 1; 认知功能

中图法分类号:R651.19;R739.41

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)20-3017-06

Correlation between serum KLF5 mRNA and lncRNA NEAT1 expression and cognitive function in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage after craniotomy clipping*

ZHOU Zhenzhen¹, WANG Qi², ZHANG Xuan³, MA Meina²

1. Department of Day Surgery treatment; 2. Department of Anesthesiology; 3. Department of Science and Research, Cangzhou Central Hospital of Hebei Province, Cangzhou, Hebei 061000, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between the expression of serum Kruppel-like factor 5 (KLF5) microRNA (mRNA) and long non-coding RNA nuclear rich and abundant transcript 1 (lncRNA NEAT1) and cognitive function in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage after craniotomy clipping. **Methods** A total of 110 patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage who underwent craniotomy clipping in this hospital from February 2021 to April 2022 were selected as the research objects. According to the postoperative cognitive function score, the patients were divided into normal cognitive function (≥ 26 points, control group) and cognitive dysfunction (< 26 points, study group). The levels of KLF5 mRNA and lncRNA NEAT1 in serum were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. Cognitive function was assessed by Mini-Mental State Examination (MMSE) and Montreal Cognitive Assessment (MoCA). Pearson correlation was used to analyze the correlation between serum KLF5 mRNA and lncRNA NEAT1 expression and cognitive function.

* 基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20200311);河北省沧州市重点研发计划指导项目(213106071)。

作者简介:周真真,女,主治医师,主要从事神经外科方面的研究。