

## ارتباط سطح فاکتور رشد اندوتیال عروقی ویتره (VEGF) با سطح VEGF سرم، کنترل دیابت و میکروآلبومینوری در رتینوپاتی پرولیفراتیو دیابتی

نصرت الله ضرغامی<sup>۱\*</sup>، نادر بهاری وند<sup>۲</sup>، علی مهدوی فرد<sup>۲</sup>، عباس مهاجری<sup>۱</sup>

### چکیده

مقدمه: رتینوپاتی دیابتی یکی از جدی ترین عوارض ناشی از اختلال میکروواسکولر شبکیه است. بیماری دیابت منجر به افزایش ظاهر عوامل رشد رگ ساز در برخی بافت‌ها در پاسخ به هیپرگلیسمی و ایسکمی بافتی می‌شود. به علاوه، فاکتور رشد اندوتیوم عروقی (VEGF) به عنوان عامل میتوژن قوی اندوتیال و عامل نشت پذیری عروقی شناخته شده است. شواهد اخیر بر نقش مستقیم VEGF در پاتوزن رتینوپاتی تکثیری دیابتی دلالت دارند. هدف از این مطالعه، بررسی رابطه بین سطوح VEGF مایع ویتره با آلبومنوری و درجه کنترل قند خون در بیماران دچار رتینوپاتی تکثیری دیابتی است.

روش‌ها: ۳۰ بیمار مبتلا به رتینوپاتی تکثیری دیابتی و ۳۵ شاهد مبتلا به رتینوپاتی تکثیری غیردیابتی که از لحاظ سن و جنس با گروه اول همسان بودند، در یک مطالعه توصیفی-تحلیلی بررسی شدند. سطوح VEGF ویتره و سرم اندازه گیری و بین دو گروه مقایسه گردید. در گروه رتینوپاتی تکثیری دیابتی، سطح سرمی هموگلوبین A1c، میکروآلبومنوری، کراتینین سرم، مراحل نفروپاتی و رتینوپاتی و مدت دیابت قندی نیز تعیین شد. رابطه بین VEGF ویتره و سرم با عوامل مذکور تعیین شد.

یافته‌ها: ۳۰ بیمار دچار رتینوپاتی تکثیری دیابتی (شامل ۱۹ مرد و ۱۱ زن)، با سن متوسط  $56 \pm 10$  سال وارد مطالعه شدند (۳۵ شاهد). سطح متوسط VEGF ویتره و سرم در گروه مورد بطور معنی داری بیشتر بود (به ترتیب  $69 \pm 58/10$  و  $383 \pm 10$ ). سطح متوسط VEGF ویتره و سرم در برابر  $55/12 \pm 245$  و  $55/12 \pm 245$  pg/ml ( $P=0.001$ ) و ( $P=0.011$ ) (شاهد). همبستگی بالا و معنی داری بین سطوح VEGF ویتره و سرم مشاهده گردید ( $r=0.453$ ,  $P=0.012$ ). سرم بطور معنی داری در بیماران تحت درمان دارویی ( $P=0.045$ ), کنترل خوب قند خون ( $P=0.039$ ) و مرحله ۱ نفروپاتی ( $P=0.042$ ) پایین تر بود. همچنین همبستگی معنی داری بین سطح VEGF سرم و نسبت آلبومن ادرار به کراتینین خون مشاهده شد ( $r=0.432$ ,  $P=0.017$ ). روابط دیگر معنی دار نبودند ( $P>0.05$ ).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه ما مشابه موارد گزارش شده در سایر بررسی‌ها می‌باشد. عوامل پایین آورنده سطح VEGF سرم و ویتره، ممکن است در بیماران دچار رتینوپاتی تکثیری دیابتی از ارزش بالایی برخوردار باشند؛ به ویژه اگر در مراحل اولیه تجویز گرددند.

واژگان کلیدی: رتینوپاتی تکثیری دیابتی، ویتره، فاکتور رشد اندوتیوم عروقی، نفروپاتی، هموگلوبین A1c

۱- مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲- دپارتمان افتالامولوژی، بیمارستان نیکوکاری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

\*نشانی: تبریز، مرکز تحقیقات علوم تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، پست الکترونیک: zarghami@tbzmed.ac.ir

## مقدمه

**۳) آلدوز- ردوکتاز و عوامل تکثیر عروق:** به طور کلی، دیابت بعلت کاهش سطح یا فعالیت انسولین، باعث متابولیسم غیرطبیعی گلوکز می‌گردد. افزایش سطوح گلوکز خون آثار ساختاری و فیزیولوژیک بر مویرگ‌های شبکیه داشته و آنها را هم از نظر آناتومیک و هم از نظر عملکردی تغییر می‌دهد. افزایش مدام سطح گلوکز خون باعث شانت شدن آن به مسیر آلدوز- ردوکتاز در برخی بافت‌های خاص می‌گردد. نتیجه این مسیر، تبدیل قند به الكل است. پری سیت‌های داخل دیواره ای مویرگ‌های شبکیه متأثر از این الكل ها شده و دچار اختلال عملکرد می‌گردد. نتیجه این تاثیر، ضعف و آنوریسمال شدن دیواره عروق است. این میکروآنوریسم‌ها، علایم اولیه رتینوپاتی دیابتی می‌باشند. پاره شدن میکروآنوریسم‌ها منجر به خونریزی سطحی (شعله ای شکل<sup>۳</sup>) یا عمقی شبکیه ( نقطه نقطه<sup>۴</sup> ) می‌گردد [۶]. افزایش نفوذپذیری عروق منجر به نشت مایع و ماده پروتئینی شده که از نظر بالینی بصورت ضخامت رتین و اگزودا دیده می‌شود. در صورت ایجاد التهاب و اگزودا در ماکولا، کاهش دید مرکزی وجود خواهد داشت. ادم ماکولا شایع ترین علت از دست دادن دید در بیماران دچار رتینوپاتی دیابتی غیرتکثیری است؛ با این حال ممکن است در موارد تکثیری هم وجود داشته باشد [۷]. مناطق ایسکمیک شبکیه، محرك‌های اساسی جهت آثیروژن می‌باشند. این مسیر از طریق برخی فاکتورهای رشد خاص طی می‌گردد. فاکتور رشد اندولیوم عروقی (VEGF)، یکی از موارد مهم در این زمینه است. این فاکتور از دو منبع تولید می‌گردد: سلول‌های گلیال شبکیه<sup>۵</sup> و سلول‌های اندولیوم عروقی<sup>۶</sup> [۸]. VEGF محرك، قوی نفوذپذیری عروق است. این اثر از طریق اعمال تغییرات چشمگیر در محل اتصال سلول‌های اندولیال عروقی بهم در شبکیه رخ می‌دهد. بایستی توجه کرد که ایجاد این آثار از طریق فعال سازی آبشاری از فاکتورهای مختلف ادامه می‌یابد. نتیجه نهایی این که

دیابت، بیماری فراگیری در سراسر دنیا بشمار می‌رود. این بیماری باعث طیفی از عوارض سیستمیک طولانی مدت می‌گردد که تاثیر قابل توجهی هم بر سلامت بیمار و هم بر جامعه دارد. علت این است که این بیماری افراد را اغلب در فعال ترین مراحل زندگی درگیر می‌سازد. عوارض چشمی دیابت شامل اختلالات قرنیه، گلوکوم، ایجاد عروق جدید مردمک<sup>۱</sup>، کاتاراکت و نوروپاتی است. با این حال، شایع ترین و تهدیدکننده ترین عارضه چشمی، رتینوپاتی دیابتی است [۱]. در ایالات متحده، ۱۶ میلیون دیابتی وجود دارند که نزدیک به ۵۰٪ آنها از بیماری خود مطلع نیستند. در بیماران مشخص، تنها نیمی مراقبت چشمی دریافت می‌کنند. بنابراین تعجب آور نیست که رتینوپاتی دیابتی دلیل اصلی کوری جدید در افراد ۲۵ تا ۷۴ ساله باشد. این بیماری علت ۸۰۰۰ مورد در سال کوری جدید است؛ یعنی دیابت مسؤول ۱۲٪ کل موارد کوری است. درمان رتینوپاتی دیابتی مستلزم صرف هزینه‌های زیادی است؛ با این حال نسبت به هزینه‌های سایر عوارض دیابت کمتر می‌باشد [۲]. رتینوپاتی دیابتی به دو دسته عمده تقسیم می‌گردد: رتینوپاتی دیابتی غیرتکثیری (NPDR) و رتینوپاتی دیابتی تکثیری (PDR) [۳]. سازوکار دقیق رتینوپاتی دیابتی نامشخص است ولی چندین فرضیه و نظریه در این زمینه مطرح شده‌اند که می‌توان به این موارد اشاره کرد: ۱) **هورمون رشد**: بنظر می‌رسد این هورمون در ایجاد و پیشرفت رتینوپاتی دیابتی موثر باشد. نشان داده شده است که رتینوپاتی دیابتی در زنانی که دچار نکروز هموراژیک پس از زایمان غده هیپوفیز شده اند (سندرم Sheehan)، دچار پسرفت می‌گردد [۴]. ۲) **چسبندگی<sup>۲</sup> خون و پلاکت**: اختلالات متعدد خونی در دیابتی‌ها دیده می‌شوند، مانند افزایش تجمع اریتروسیت‌ها، کاهش انعطاف پذیری گلبول‌های قرمز خون، کاهش تجمع و اتصال پلاکت‌ها، آسیب اندولیوم و انسداد موضعی مویرگ‌ها. این عوامل منجر به ایسکمی شبکیه شده، درنتیجه رتینوپاتی دیابتی ایجاد می‌گردد [۵].

3 - Flame-like

4 - Blot & dot

5 - Retinal gelia cells

6 - Vascular endothelium cells

1 - Rris neovascularization

2 - Viscosity

### اندازه گیری VEGF به روش اینتو اسی

اندازه گیری VEGF در سطح سرم و مایع ویتروه به روش الیزا (با کیت شرکت R&D systemes ساخت کشور آمریکا، شماره کاتالوگ DVE00) انجام گرفت. ابتدا ۱۰۰  $\mu\text{l}$  میکرولیتر از محلول سنجش (RDW1) به داخل میکروپلیت ها ریخته، سپس ۱۰۰  $\mu\text{l}$  از محلول های استاندارد سرم و ویتره به میکروپلیت های مربوطه اضافه شده و دو ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. بعد از سه بار شستشو با محلول مخصوص، ۲۰۰  $\mu\text{l}$  کونژوگه اضافه کرده و در دمای اتاق دوباره انکوبه نموده و با سه بار شستشو و اضافه کردن ۲۰۰  $\mu\text{l}$  سوبسترا با سرعت ۲۵ دور در دقیقه و انکوبه شد. در نهایت ۵۰  $\mu\text{l}$  محلول استنپ اضافه کرده و پلیت در طول موج ۵۷۰-۴۵۰ خوانده شد.

### اندازه گیری هموگلوبین HbA1c

از بیمارانی که به مدت ۸-۱۲ ساعت ناشتا بودند، ۱۰CC نمونه خون وریدی گرفته شد. اندازه گیری میزان گلوکز خون ناشتا (FBS) به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (کیت شرکت زیست شیمی، تهران، ایران، شماره کاتالوگ ۵۰۵-۱۰) انجام گردید. روش کروماتوگرافی با کارابی بالا (HPLC) نیز برای اندازه گیری هموگلوبین گلیکوزیله استفاده قرار گرفت. به طور خلاصه اساس این روش، استفاده از کروماتوگرافی تبادل یونی با تمایل بالا در فشار پایین همراه با شستشوی گرادیانی جهت جداسازی هموگلوبین گلیکوزیله خون تام همولیزه شده بود. برای اندازه گیری HbA1c، ۵  $\mu\text{l}$  خون تام EDTA دار بر روی یک میلی لیتر محلول همولیز کننده اضافه و سپس جذب نوری فرکسیون های هموگلوبین، جمع آوری شده با حذف مواد زمینه ای در طول موج نوری ۴/۵ نانومتر خوانده شد. برای اندازه گیری کراتینین سرم (روش ژافه) و پروتئینوری و آلبومینوری از روش های تشخیصی قابل دسترس (روش های رسوبی) استفاده گردید. جهت اندازه گیری پروتئینوری و آلبومینوری از نمونه ادرار صحبتگاهی استفاده شد.

این فاکتور در ایجاد عروق جدید داخل چشمی در PDR نقش اساسی بر عهده دارد [۹، ۱۰].

## روش ها

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، نمونه های ویتره و خون از بیمارانی که به بیمارستان نیکوکاری تبریز مراجعه و تحت عمل جراحی ویتروکتومی قرار گرفته، جمع آوری گردید. قبل از اخذ نمونه از بیماران، پروتکل مطالعه در کمیته اخلاق پژوهش بیمارستان مورد تصویب و فرم رضایت نامه از بیماران اخذ گردید. معیارهای ورود به مطالعه برای افراد گروه مورد شامل بیماران PDR که نیاز به ویتروکتومی داشتند (خونریزی های طولانی مدت ویتره و یا همراه با دکولمان های کششی شبکیه و یا هر کدام به تنهایی) و معیارهای ورود افراد کترل با مشخصات زیر که شامل خونریزی های ویتره غیر دیابتی که نیاز به عمل ویتروکتومی داشتند (خونریزی های ویتره ناشی از بیماری های عروقی ایسکمیک غیر دیابتی به عنوان مثال انسداد شاخه ای و مرکزی ورید شبکیه). ۳۰ بیمار مبتلا به رتینوپاتی تکثیری دیابتی و ۳۵ بیمار مبتلا به رتینوپاتی تکثیری غیر دیابتی که از نظر سن و جنس همسان بودند به طور تصادفی انتخاب و وارد مطالعه گردیدند. نمونه های مایع ویتره و خون تام تمام افراد فوق اخذ گردید و بعد از جدا سازی در دمای ۷۰-۷۵ درجه سانتی گراد تا زمان انجام آنالیز نگه داری گردیدند.

اطلاعات بیماران از قبلی سن، جنس، مدت ابتلا به دیابت (کمتر و بیشتر از ۱۰ سال)، سطح هموگلوبین A1c، نوع دیابت (۱ و ۲)، نوع درمان دیابت (دارو، انسولین)، پرفشاری خون، stage ۳ نفروپاتی، سطح سرمی و ویتره VEGF، میزان پروتئینوری و آلبومینوری، میزان کراتینین سرم، شدت رتینوپاتی (stage ۳)، میزان کترل قند خون (ضعیف:  $HbA1c < 8$ ، متوسط: بین ۷ و ۸ خوب: کمتر از ۷)، نسبت آلبومین ادرار به کراتینین خون، نسبت VEGF ویتره نسبت به پروتئین آن در فرم ایجاد داده ها ثبت گردید.

## آنالیز آماری

اطلاعات به دست آمده بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ( $Mean \pm SD$ ) و نیز فراوانی و درصد بیان شده اند. برنامه آماری بکار رفته SPSS نسخه ۱۳ است. متغیرهای کمی با استفاده از Student T-test (Independent Samples) مقایسه شدند. مقایسه در مورد متغیرهای کیفی Contingency Tables (Categorical) و با Fisher's Exact Test و یا Chi-Square Test بر حسب شرایط صورت گرفته است. جهت بررسی همبستگی، از ضریب اسپیرمن استفاده شده است. در تمامی موارد مورد مطالعه، نتایج در صورت دارا بودن  $P < 0.05$  از نظر آماری معنی دار شناخته شدند.

## یافته‌ها

۳۰ بیمار در گروه مورد و ۳۵ بیمار در گروه شاهد بررسی شدند. متوسط سن بیماران گروه مورد  $56 \pm 10$  سال بود. کمترین سن ۳۷ سال و بیشترین سن ۸۳ سال بود. در گروه شاهد پایین ترین سن ۳۵ سال و بیشترین سن ۸۰ سال بود. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $P = 0.891$ ;  $CI: -5/20 - 5/97$ ). در گروه مورد ۱۹ بیمار مرد و ۱۱ بیمار زن بودند. در گروه شاهد ۲۴ بیمار مرد و ۱۱ بیمار زن بودند. درصد مربوطه در نمودار ۱ نشان داده شده است. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $P = 0.856$ ;  $OR = 0.79/0.95$ ). شانزده بیمار ( $3/53\%$ ) بیمار سیگاری بودند. تشخیص تمامی بیماران رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو بود. سایر عوارض دیابت در هیچیک از بیماران مشاهده نگردید. متوسط سطح VEGF ویتره در گروه شاهد  $383/10 \pm 107/48$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF ویتره در گروه شاهد بود ( $P = 0.001$ ;  $CI: 159/66 - 556/91$ ). متوسط سطح VEGF سرم در گروه مورد  $24/81 \pm 1/85$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF سرم در گروه شاهد  $343/58 \pm 46/41$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF خون در گروه مورد بطور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $P = 0.011$ ;  $CI: 41/46 - 30/160$ ).

- 1 - Good
- 2 - Moderate
- 3 - Poor
- 4 - Correlation

۳۰ بیمار در گروه مورد و ۳۵ بیمار در گروه شاهد بررسی شدند. متوسط سن بیماران گروه مورد  $56 \pm 10$  سال بود. کمترین سن ۳۷ سال و بیشترین سن ۸۳ سال بود. در گروه شاهد پایین ترین سن ۳۵ سال و بیشترین سن ۸۰ سال بود. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $P = 0.891$ ;  $CI: -5/20 - 5/97$ ). در گروه مورد ۱۹ بیمار مرد و ۱۱ بیمار زن بودند. درصد مربوطه در نمودار ۱ نشان داده شده است. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $P = 0.856$ ;  $OR = 0.79/0.95$ ). شانزده بیمار ( $3/53\%$ ) بیمار سیگاری بودند. تشخیص تمامی بیماران رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو بود. سایر عوارض دیابت در هیچیک از بیماران مشاهده نگردید. متوسط سطح VEGF ویتره در گروه شاهد  $383/10 \pm 107/48$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF ویتره در گروه شاهد بود ( $P = 0.001$ ;  $CI: 159/66 - 556/91$ ). متوسط سطح VEGF سرم در گروه مورد  $24/81 \pm 1/85$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF سرم در گروه شاهد  $343/58 \pm 46/41$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF خون در گروه مورد بطور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $P = 0.011$ ;  $CI: 41/46 - 30/160$ ).

**جدول ۱- میانگین غلظت سرمی و مایع ویتره فاکتور رشد اندوتیال عروقی در بیماران مبتلا به رتینوپاتی تکثیری دیابتی و غیر دیابتی**

(N=۳۵ نفر) NPDR	(N=۳۰ نفر) PDR	VEGF(pg/ml)
مایع ویتره		
۲۴/۸۱±۱/۸۵	۳۸۳/۱±۱۰۷/۴۸	کل بیماران <sup>†</sup>
۲۴/۸±۲/۲۴	۳۲۵/۸۱±۱۰۹/۶۶	مردان <sup>†</sup>
۲۴/۸۲±۳/۴۹	۴۸۲/۰۶±۲۲۸/۹۷	زنان <sup>†</sup>
سرم		
۴۴/۸±۵۱۵/۱۲	۴۴/۸±۵۱۵/۱۲	کل بیماران <sup>†</sup>
۴۸۸/۶۷±۴۸/۲۷	۴۸۸/۶۷±۴۸/۲۷	زنان <sup>††</sup>
۲۹۷/۲۵±۷۲/۸۱	۵۶۰/۸±۱	مردان <sup>†</sup>

PDR بیماران مبتلا به رتینوپاتی تکثیری دیابتی  
 NPDR بیماران مبتلا به رتینوپاتی تکثیری غیردیابتی  
 VEGF عامل رشد اندوتیال عروق

\* مقادیر  $\pm$  نشانگر Mean  $\pm$  SD است.  
 † مقادیر P معنی دار بود ( $P \leq 0.05$ )  
 †† مقادیر P معنی دار نبود ( $P \geq 0.05$ )

**جدول ۲- ضریب همبستگی بین فاکتور رشد اندوتیال عروقی با Alb Alb/Cr, HbA1C و Alb در بیماران رتینوپاتی تکثیری دیابتی**

VEGF ویتره و Alb/Cr	VEGF ویتره و Alb	VEGF سرم Alb/Cr ویتره و	VEGF سرم Alb ویتره و	VEGF سرم HbA1C ویتره و	VEGF ویتره و HbA1C	VEGF ویتره و سرم	P
۰/۸۴۲	۰/۹۱۷	۰/۰۱۷	۰/۴۱۴	۰/۸۳۷	۰/۴۰۳	۰/۰۱۲	
۰/۰۳۸	۰/۰۲۰	۰/۴۳۲	۰/۱۰۵	۰/۰۳۹	۰/۱۵۸	۰/۴۵۳	r

عامل رشد اندوتیال عروق

**جدول ۳- مقایسه سطح VEGF سرمی و ویتره در گروه های مختلف بر اساس شدت کنترل قند خون**

کنترل دیابت			
خوب	متوسط	ضعیف	
۱۰۵/۰۰±۲۳/۷۵	۵۶۷/۲۲±۲۰۷/۷۳	۵۲۴/۶۵±۲۴۷/۴۳	VEGF سرمی (pg/ml)
۳۸۳/۱۰±۵۸۸/۶۹	۴۴۱/۷۰±۶۲۴/۲۱	۲۵۰/۵۳±۴۱۲/۲۱۷	VEGF ویتره (pg/ml)

\* مقادیر  $\pm$  نشانگر Mean  $\pm$  SD است.  
 عامل رشد اندوتیال عروق

**جدول ۴- مقایسه سطح VEGF سرمی و ویتره در گروه های مختلف بر اساس مرحله نفروپاتی**

مرحله نفروپاتی			
شدید	متوسط	خفیف	
۵۲۵/۹۷±۲۲۶/۷۰	۵۵۶/۳۵±۲۳۲/۸۵	۱۰۵/۰۰±۲۳/۷۵	VEGF سرمی (pg/ml)
۳۸۳/۱۰±۵۸۸/۶۹	۳۲۴/۲۲±۵۳۶/۶۹	۹۹۶/۳۵±۱۳۹۱/۰۹	VEGF ویتره (pg/ml)

\* مقادیر  $\pm$  نشانگر Mean  $\pm$  SD است.  
 عامل رشد اندوتیال عروق

جدول ۵- مقایسه سطح VEGF سرمی و ویتره در گروه های مختلف بر اساس مرحله رتینوپاتی

مرحله رتینوپاتی			
شدید	متوسط	خفیف	
۵۵۷/۷۷±۲۵۶/۵۷	۵۳۳/۷۷±۲۳۲/۳۲	۴۳۹/۸۳±۲۷۲/۹۱	VEGF سرمی (pg/ml)
۱۷۶/۲۸±۱۹۲/۶۲	۶۴۸/۵۳±۷۷۵/۶۷	۱۲۵/۴۲±۱۲۴/۷۸	VEGF ویتره (pg/ml)

مقادیر  $\pm$  نشانگر Mean  $\pm$  SD است.

عامل رشد اندوتیال عروق

VEGF ویتره نیز در سه گروه مذکور تفاوت معنی داری نداشت ( $P=0.063$ ) (جدول ۵). همبستگی پایین و غیرمعنی داری بین سطح VEGF سرم و میزان آلبومینوری مشاهده شد ( $P=0.155$ ). از نظر همبستگی بین سطح VEGF سرم با میزان Alb/Cr ( $P=0.432$ ) و Alb ( $P=0.017$ ) بدست آمد. یعنی تغییرات این دو فاکتور به طور معنی داری همجهت صورت می گیرد. همبستگی پایین و غیرمعنی داری بین سطح VEGF ویتره و میزان آلبومینوری مشاهده شد ( $P=0.020$ ). همبستگی پایین و غیرمعنی داری بین سطح VEGF ویتره و میزان Cr ( $P=0.038$ ) مشاهده شد ( $P=0.042$ ) (جدول ۲). متوسط سطح VEGF سرم در بیماران با سابقه کمتر از ۱۰ سال ابتلا به دیابت  $525/80\pm 237/74$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF سرم در بیماران با سابقه بیشتر از ۱۰ سال ابتلا به دیابت  $512/45\pm 252/39$  pg/ml بود. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $P=0.908$ ; CI: -۲۲۰/۲۴ - ۲۴۶/۹۳) (جدول ۳). متوسط سطح VEGF ویتره در بیماران با سابقه کمتر از ۱۰ سال دیابت در بیماران با سابقه بیشتر از ۱۰ سال دیابت  $457/68\pm 634/66$  pg/ml بود.

### تفاوت VEGF در بیماران با کنترل ضعیف قند خون

متوسط سطح VEGF سرم در بیماران با سابقه کمتر از ۱۰ سال دیابت  $581/13\pm 202/34$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF سرم در بیماران با سابقه بیشتر از ۱۰ سال دیابت  $510/53\pm 263/42$  pg/ml بود. تفاوت معنی دار آماری از

متوسط سطح هموگلوبین A1c سرم در بیماران مصرف کننده انسولین  $7/87\pm 0/52$  درصد و در بیماران مصرف کننده دارو  $7/84\pm 0/66$  درصد بود (CI: -۰/۴۳ - ۰/۵۰). متوسط سطح VEGF خون در بیماران مصرف کننده انسولین مصرف کننده دارو  $623/94\pm 139/51$  pg/ml و در بیماران مصرف کننده دارو  $442/57\pm 276/28$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF خون در بیماران مصرف کننده انسولین بطور معنی داری بیشتر از مصرف کنندگان دارو بود ( $P=0.045$ ; CI: ۳/۹۷ تا ۳۵۸/۷۴). متوسط سطح VEGF ویتره در بیماران مصرف کننده انسولین  $264/98\pm 167/94$  pg/ml و در بیماران مصرف کننده دارو  $461/85\pm 746/100$  pg/ml بود (CI: -۲۵۴/۰۹ - ۶۴۷/۹۳). در سه گروه بیمار طبقه بندی شده از نظر کیفیت کنترل قند خون، سطح VEGF خون بطور معنی داری در گروه با کنترل خوب کمتر از بقیه بود ( $P=0.379$ ; CI: ۰/۹۵). متوسط سطح VEGF خون در این سه گروه VEGF در جدول ۳ خلاصه شده است. متوسط سطح VEGF ویتره در سه گروه مذکور تفاوت معنی داری نداشت ( $P=0.222$ ; جدول ۳). در سه گروه بیمار طبقه بندی شده از نظر stage نفوپاتی، سطح VEGF سرم بطور معنی داری در گروه با stage<sup>1</sup> کمتر از بقیه بود ( $P=0.042$ ). متوسط سطح VEGF سرم در این سه گروه در جدول ۴ خلاصه شده است. متوسط سطح VEGF ویتره در سه گروه مذکور تفاوت معنی داری نداشت ( $P=0.319$ ; جدول ۴). در سه گروه بیمار طبقه بندی شده از نظر stage رتینوپاتی، سطح VEGF سرم در سه گروه مذکور تفاوت معنی داری نداشت ( $P=0.601$ ). متوسط سطح VEGF سرم در این سه گروه در جدول ۵ خلاصه شده است. متوسط سطح

VEGF بطور معنی داری در بیماران دیابتی بیشتر بود ( $p < 0.001$ ). Funatsu و همکارانش ۵۷ بیمار PDR را با ۱۶ بیمار شاهد مقایسه نمودند. متوسط سطح VEGF ویتره به ترتیب  $1135 \pm 113$  و  $193 \pm 19$  pg/ml بود. این اختلاف از نظر آماری معنی دار گزارش شد [۱۱]. Hernandez و همکاران ۲۰ بیمار PDR را با ۲۰ بیمار شاهد مقایسه نمود. در این مطالعه نیز سطح VEGF ویتره بطور معنی داری در گروه PDR بیشتر بود ( $134 \pm 13$  در برابر  $9 \pm 12$  pg/ml) ولی تفاوت معنی داری از نظر سطح VEGF سرمی مشاهده نگردید ( $177 \pm 17$  در برابر  $170 \pm 17$  pg/ml) [۱۲]. در یک مطالعه مشابه دیگر توسط Malik و همکارانش بر روی ۱۱ بیمار PDR و ۲۳ بیمار شاهد، سطح VEGF ویتره در گروه مورد بیشتر بود ( $720 \pm 180$  pg/ml) [۱۳]. در یک بررسی دیگر توسط Hernandez بر روی ۲۳ بیمار PDR و ۱۷ کنترل، سطح VEGF ویتره در بیماران گروه مورد بیشتر بود ( $142 \pm 14$  در برابر  $9 \pm 9$  pg/ml) ولی تفاوت معنی داری از نظر سطح VEGF سرمی مشاهده نشد ( $150 \pm 15$  در برابر  $120 \pm 12$  pg/ml) [۱۴]. در مطالعه Simo بر روی ۳۷ بیمار PDR و ۲۱ کنترل، سطح VEGF ویتره در بیماران گروه مورد بیشتر بود ( $138 \pm 13$  در برابر  $9 \pm 9$  pg/ml) ولی تفاوت معنی داری از نظر سطح VEGF سرمی مشاهده نشد ( $130 \pm 10$  در برابر  $160 \pm 15$  pg/ml) [۱۵]. Watanabe نیز در مطالعه خود بر روی ۴۱ بیمار PDR و ۱۸ غیردیابتی نشان داد که سطح VEGF ویتره در گروه اول بیشتر است ( $812 \pm 81$  در برابر  $17 \pm 16$  pg/ml) [۱۶]. در یک بررسی مشابه توسط Sydorova و همکارانش، هم میزان VEGF سرم و هم سطح VEGF ویتره در بیماران PDR بیشتر از گروه کنترل بود [۱۷]. Hogeboom Van Buggenum و همکارانش ۳۹ بیمار PDR را با ۱۱ بیمار شاهد مقایسه نمودند. متوسط سطح VEGF ویتره به ترتیب  $1134 \pm 113$  و  $50 \pm 50$  pg/ml بود. این اختلاف از نظر آماری معنی دار گزارش شد [۱۸]. Aiello در یک مطالعه مشابه دیگر توسط Aiello و همکارانش بر روی ۷۰ بیمار PDR و ۲۵ بیمار شاهد، سطح VEGF ویتره در گروه مورد بیشتر بود ( $360 \pm 100$  در برابر  $100 \pm 83$  pg/ml) [۱۹]. Deng و همکارانش ۲۷ بیمار PDR را با ۱۴ بیمار شاهد مقایسه نمودند. متوسط سطح VEGF ویتره بترتیب  $410 \pm 40$  و  $248 \pm 24$  pg/ml بود.

این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $426 \pm 42$  -  $284 \pm 28$  pg/ml). متوسط سطح VEGF ویتره در بیماران با سابقه کمتر از ۱۰ سال دیابت  $155 \pm 13$  و در بیماران با سابقه VEGF ویتره در بیماران با سابقه  $274 \pm 40$  -  $452 \pm 45$  pg/ml بود. متوسط سطح VEGF ویتره در بیماران با سابقه  $472 \pm 47$  -  $711 \pm 52$  pg/ml بود. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $472 \pm 47$  -  $711 \pm 52$  pg/ml) [۲۰].

## تفاوت VEGF در بیماران با کنترل متوسط قند خون

متوسط سطح VEGF سرم در بیماران با سابقه کمتر از ۱۰ سال دیابت  $644 \pm 64$  و در بیماران با سابقه بیشتر از ۱۰ سال دیابت  $553 \pm 53$  pg/ml بود. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $453 \pm 45$  -  $270 \pm 33$  pg/ml) [۲۱]. متوسط سطح VEGF ویتره در بیماران با سابقه کمتر از ۱۰ سال دیابت  $1530 \pm 15$  و در بیماران با سابقه بیشتر بود. متوسط سطح VEGF ویتره در بیماران با سابقه کمتر از ۱۰ سال دیابت  $519 \pm 51$  و در بیماران با سابقه بیشتر از ۱۰ سال دیابت  $651 \pm 61$  pg/ml بود. تفاوت معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $547 \pm 54$  -  $1555 \pm 15$  pg/ml) [۲۲]. بعلت تعداد حجم کم نمونه بیماران با کنترل خوب، مقایسه مذکور در این گروه محدود نگردید. ارتباط معنی دار آماری از این نظر بین دو گروه وجود نداشت ( $168 \pm 16$  -  $914 \pm 91$  pg/ml) [۲۳].

## بحث

ما در این مطالعه به بررسی و مقایسه سطح سرمی و ویتره فاکتور رشد اندوتیلیوم عروق (VEGF) در بیماران دچار رتینوپاتی پرولیفراتیو دیابتی و غیر دیابتی پرداختیم. متوسط VEGF سرمی و ویتره در بیماران دچار رتینوپاتی پرولیفراتیو دیابتی (PDR) به ترتیب  $515 \pm 12$  و  $515 \pm 24$  pg/ml بود. در بیماران دچار رتینوپاتی پرولیفراتیو غیردیابتی (PDR) به ترتیب  $383 \pm 10$  و  $588 \pm 58$  pg/ml بود. هر دو میزان سرمی و ویتره پرولیفراتیو غیردیابتی به ترتیب  $343 \pm 34$  و  $58 \pm 27$  pg/ml بود.

مذکور است. بهر حال جهت رسیدن به نتایج قطعی در این زمینه، به مطالعات بیشتری نیازمند هستیم. در مطالعه فعلی نشان داده شد که سطح VEGF ویتره با نوع درمان دیابت، نحوه کنترل قند خون، شدت نفروپاتی، طول مدت دیابت، نسبت کراتینین به آلبومین سرم، شدت رتینوپاتی و سطح هموگلوبین A1c رابطه معنی داری ندارد ( $P > 0.05$ ). تا جایی که ما بررسی نمودیم، مطالعات محدودی در این زمینه صورت گرفته اند: Malik نیز در بررسی خود نشان داد که رابطه معنی داری بین سطح هموگلوبین A1c و VEGF ویتره وجود ندارد [۱۳]. Shinoda در مطالعه دیگری نشان داد که رابطه معنی داری بین سطح VEGF ویتره با نوع و مدت دیابت، نوع رژیم درمانی بکار رفته، سطح هموگلوبین A1c و میزان اختلال عملکرد کلیوی وجود ندارد [۲۵].

در مورد رابطه سطح VEGF ویتره با شدت رتینوپاتی، مطالعات موجود نشان داده اند که سطح این ماده در موارد فعال<sup>۱</sup> بیماری بیشتر از حالت خاموش<sup>۲</sup> است ولی مطالعه ای مشابه بررسی ما وجود ندارد [۱۱، ۱۲، ۱۵]. از سوی دیگر در مطالعه ما سطح VEGF سرمی در مصرف کنندگان دارو، کنترل خوب قند خون و مرحله ۱ نفروپاتی دیابتی کمتر بود. همچنین رابطه معنی دار و مثبتی بین سطح این عامل و نسبت کراتینین به آلبومین خون مشاهده گردید. مطالعه مشابهی در این زمینه وجود ندارد. جهت تایید این موارد نیز به بررسی های بیشتری وجود دارد.

به طور خلاصه، متوسط VEGF سرمی و ویتره در بیماران دچار رتینوپاتی نسبت به پرولیفراتیو دیابتی بالاتر و VEGF معنی دار بود. همبستگی مثبت و معنی داری بین سرم و ویتره بیماران وجود داشت. متوسط نسبت آلبومین ادرار به کراتینین سرم VEGF سرم در بیماران تحت درمان دارویی، کنترل خوب قند خون و مرحله خفیف نفروپاتی دیابتی کمتر بود. VEGF سرم و ویتره با شدت رتینوپاتی و طول مدت دیابت رابطه نداشت. همبستگی معنی دار و مثبتی بین VEGF سرم و میزان کراتینین آلبومینوری وجود داشت. همبستگی معنی داری بین سطح VEGF سرم یا

pg/ml ۱۷ شد [۲۰]. در یک مطالعه توسط Ambati و همکارانش بر روی ۲۲ بیمار PDR و ۲۸ بیمار شاهد، سطح VEGF ویتره در گروه مورد بیشتر بود (۱۷۵۹ pg/ml در برابر ۲۷) [۲۱]. در مطالعه Zhou بر روی ۱۹ بیمار PDR و ۷ کنترل، سطح VEGF ویتره در بیماران گروه مورد بیشتر بود (۵۶۶ در برابر ۳۵۰ pg/ml) [۲۲]. Adamis نیز نتیجه مشابهی ۲۰ گزارش نموده است [۲۳]. در مطالعه Burgos بر روی بیماران PDR و ۱۳ کنترل، سطح VEGF ویتره در بیماران گروه مورد بیشتر بود (۱۷۵ pg/ml در برابر ۹) ولی تفاوت معنی داری از نظر سطح VEGF سرمی مشاهده نشد [۲۴]. تقریباً تمامی مطالعاتی که در این زمینه تا کنون انجام شده اند، ذکر گردیدند. همانگونه که ملاحظه می گردد، در تمامی بررسی های انجام شده، سطح VEGF ویتره در بیماران PDR به طور معنی داری بیشتر گزارش شده است. در مورد سطح VEGF سرم نتایج متناقض است و در جمع بندي نتایج سایر مطالعات می توان متوسط سطح VEGF ویتره در بیماران PDR را ۶۲۳ (۱۳۸ تا ۱۷۵۹) pg/ml و متوسط سطح VEGF سرم در بیماران PDR را ۲۳۴ (۱۲۰ تا ۵۰۹) pg/ml در نظر گرفت.

نتایج حاصل از مطالعه ما نیز در محدوده ذکر شده قرار دارد، ولی باقیستی توجه کرد که نتایج بررسی فعلی بر اساس میزان پروتئین های ویتره محاسبه شده اند. اینکار جهت رفع عامل مخدوش کننده غلیظ یا رفیق بودن صورت گرفته و در نتیجه نتایج حاصله از دقت بالایی برخوردارند. همین امر یکی از نقاط قوت مطالعه فعلی می باشد.

در مورد سطح VEGF سرمی، Burgos در مطالعه خود نشان داد که رابطه معنی داری بین سطح آن و سطح VEGF ویتره وجود ندارد. وی معتقد است که تمامی VEGF ویتره در داخل چشم ساخته شده و انتشار سرمی آن وجود نداشته و یا ناچیز است [۲۴]. در مطالعه ما همبستگی بالا و معنی داری بین سطح سرمی و ویتره VEGF مشاهده گردید ( $r = 0.453$  و  $P = 0.012$ ). همانطور که اشاره شد، سطح VEGF سرمی در مطالعه ما در بیماران PDR بیشتر است. این برخلاف نتایج گزارش شده مطالعه

1 - Active  
2 - Quiescent

### سپاسگزاری

نویسنده‌گان این مقاله از حمایت مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران در جهت تامین اعتبارات این پژوهش و همکاران محترم در بیمارستان چشم نیکو کاری و نیز آزمایشگاه تخصصی و فوق تخصصی پاتوبیولوژی مرکزی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای تمهید مقدمات این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را دارند.

ویتره با سطح هموگلوبین A1c مشاهده نشد. با توجه به این که سطح VEGF سرم در مقایسه با سطح VEGF ویتره عامل تعیین کننده بهتری برای بهتر وضعیت بیماران دچار رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو بوده و از سویی اندازه گیری آن راحت تر است، توصیه می‌شود از عامل سرمی در ارزیابی بیماران استفاده شود. با توجه به تاثیر مثبت کنترل خوب قند خون بر سطح VEGF سرم، بر اهمیت این اقدام در جهت جلوگیری از ایجاد ضایعات چشمی و انجام مطالعات بعدی با حجم نمونه بیشتر توصیه می‌گردد.

### مأخذ

1. Aiello LM, Cavallerano JD, Aiello LP, Bursell SE . Diabetic retinopathy. In: Guyer DR, Yannuzzi LA, Chang S: *Retina Vitreous Macula*, Vol2, 6<sup>th</sup> ed. 1999 Saunders, USA, 316-344.
2. Akduman L, Olk RJ . The early treatment for diabetic retinopathy study. In: Kertes C: *Clinical Trials in Ophthalmology-A Summary and Practice Guide*, 3<sup>rd</sup> ed. 1998 Lipincott, USA, 15-36.
3. Liesegang TJ, Skuta GL, Cantor LB . *Retina & vitreous*, 25<sup>th</sup> ed. 2004 LEO Publication, USA, 100-103.
4. Benson WE, Tasman W, Duane TD . *Duane's Clinical Ophthalmology*. Vol3, 11<sup>th</sup> ed. 1994 McGraw Hill, 125-146.
5. Bhavsar AR. Diabetic retinopathy: the latest in current management. *Retina* 2006; 26 (6), S71-S79.
6. Federman JL, Gouras P, Schubert. Systemic diseases. In: Podos SM, Yanoff M: *Retina and Vitreous-Textbook of Ophthalmology*, Vol9, 24<sup>th</sup> ed. H (1994) McGraw Hill, USA, 7-24.
7. Frank RN. Etiologic mechanisms in diabetic retinopathy. In: Ryan SJ: *Retina*, Vol2, 2<sup>nd</sup> ed. (1994) Lipincott , USA, 1243-1276.
8. Murata T, Nakagawa K, Khalil A, Ishibashi T, Inomata H, Sueishi K. The relation between expression of vascular endothelial growth factor and breakdown of the blood-retinal barrier in diabetic rat retinas. *Lab Invest* 1996; 74: 819-825.
9. Levy AP, Levy NS, Wegner S, Goldberg MA . Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia. *J Biol Chem* 1995; 270: 13333-13340.
10. Battegay EJ. Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases, and therapeutic prospects. *J Mol Med*. 1995; 73: 333-346.
11. Funatsu H, Yamashita H, Nakanishi Y, Hori S. Angiotensin II and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy.*Br J Ophthalmol* 2002; 86(3): 311-315.
12. Hernandez C, Burgos R, Canton A, Garcia-Arumi J, Segura RM, Simo R. Vitreous levels of vascular cell adhesion molecule and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study. *Diabetes Care* 2001; 24(3): 516-521.
13. Malik RA, Li C, Aziz W, Olson JA, Vohra A, McHardy KC, et al. Elevated plasma CD105 and vitreous VEGF levels in diabetic retinopathy. *J Cell Mol Med* 2005; 9(3): 692-697.
14. Hernandez C, Lecube A, Segura RM, Sararols L, Simo R. Nitric oxide and vascular endothelial growth factor concentrations are increased but not related in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabet Med* 2002; 19(8): 655-660.
15. Simo R, Lecube A, Segura RM, Garcia Arumi J, Hernandez C. Free insulin growth factor-I and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2002; 134(3): 376-382.
16. Watanabe D, Suzuma K, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Kurimoto M, et al. Vitreous levels of angiopoietin 2 and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2005; 139(3): 476-481.
17. Sydorova M, Lee MS. Vascular endothelial growth factor levels in vitreous and serum of patients with either proliferative diabetic retinopathy or proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmic Res* 2005; 37(4): 188-190.

18. Hogeboom van Buggenum IM, Polak BC, Reichert-Thoen JW, de Vries Knoppert WA, van Hinsbergh VW, Tangelder GJ.. Angiotensin converting enzyme inhibiting therapy is associated with lower vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia* 2002; 45(2): 203-209.
19. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994; 331(22): 1480-1487.
20. Deng J, Wu DZ, Gao R. Elevated vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Yan Ke Xue Bao* 1999; 15(1): 17-21.
21. Ambati J, Chalam KV, Chawla DK, D'Angio CT, Guillet EG, Rose SJ, et al. Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate, and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1997; 115(9): 1161-1166.
22. Zhou H, Zhang H. A comparative study of vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 1997; 33(4): 247-250.
23. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, D'Amico DJ, Folkman J, Yeo TK, et al.. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1994; 118(4): 445-450.
24. Burgos R, Simo R, Audi L, Mateo C, Mesa J, Garcia-Ramirez M, et al.. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentrations in diabetic retinopathy. *Diabetologia* 1997; 40(9): 1107-1109.
25. Shinoda K, Ishida S, Kawashima S, Wakabayashi T, Uchita M, Matsuzaki T, et al. Clinical factors related to the aqueous levels of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2000; 21(2): 655-661.