

· 临床研究 ·

玻璃体切割术治疗增生性糖尿病视网膜病变中应用曲安奈德的止血作用及其机制

周琰捷 由彩云 王甜 张明雪 宋尹婷 廖梦宇 韩寒 张竹红 李家男 颜华

300052 天津医科大学总医院眼科

通信作者:颜华, Email:phuayan2000@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.05.011

【摘要】 **背景** 临床发现玻璃体切割术治疗增生性糖尿病视网膜病变(PDR)术中应用曲安奈德(TA)有止血作用,但其机制并不清楚。**目的** 探讨玻璃体切割术治疗 PDR 过程中眼内应用 TA 止血的作用机制。**方法** 采用前瞻性研究设计,于 2011—2014 年纳入在天津医科大学总医院眼科因 PDR 接受玻璃体切割术且术中眼内应用 TA 的患者 12 例 12 眼,作为 TA 组,同期因黄斑前膜或黄斑裂孔接受玻璃体切割术且未用 TA 的患者共 32 例 32 眼作为对照组,两组术眼在玻璃体切割术开始时均采集玻璃体样本 0.6~0.8 ml。采用 ELISA 法分别测定 TA 组和对照组患者玻璃体中尿激酶纤溶酶原激活物(u-PA)、组织纤溶酶原激活物(t-PA)及纤溶酶原激活物抑制剂 1(AI-1)含量,比较 TA 组和对照组术前玻璃体样本中上述指标含量的差异。**结果** TA 组术眼玻璃体中 u-PA、t-PA 和 PAI-1 平均质量浓度分别为 25.45、127.44 和 0.42 ng/ml,对照组分别为 22.94、142.37 和 0.27 ng/ml,TA 组术眼玻璃体中 u-PA 平均质量浓度明显高于对照组,差异有统计学意义($Z=-2.268, P<0.05$),TA 组和对对照组术眼玻璃体中 t-PA 和 PAI-1 平均质量浓度的差异均无统计学意义($Z=-0.092, -1.847, 均 P>0.05$)。**结论** PDR 患者玻璃体中 u-PA 平均质量浓度高,易致眼内出血。玻璃体切割术中眼内应用 TA 可减少或阻止出血其机制可能与 t-PA 和 u-PA 平均质量浓度降低而达到降低出血倾向,并通过增加 PAI-1 质量浓度而发挥止血作用有关。

【关键词】 增生性糖尿病视网膜病变; 曲安奈德; 尿激酶纤溶酶原激活物; 组织纤溶酶原激活物; 纤溶酶原激活物抑制剂 1

基金项目: 国家自然科学基金项目(81371038、91442124、81670865、81500743)

Anastalsis of triamcinolone acetonide during vitrectomy in proliferative diabetic retinopathy Zhou Yanjie, You Caiyun, Wang Tian, Zhang Mingxue, Song Yinting, Liao Mengyu, Han Han, Zhang Zhuhong, Li Jianan, Yan Hua
Department of Ophthalmology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China
Corresponding author: Yan Hua, Email:phuayan2000@163.com

【Abstract】 **Background** Clinical work found that triamcinolone acetonide (TA) bleeding during vitrectomy in proliferative diabetic retinopathy (PDR), but its mechanism is not clear. **Objective** This study was to explore the anastalsis of TA in vitrectomy for PDR. **Methods** A prospective study was performed. Twelve eyes of 12 patients who received vitrectomy combined with the intraocular use of TA for PDR were included in Tianjin Medical University General Hospital from 2011 to 2014 and served as TA group. Thirty-two eyes of 32 patients who underwent vitrectomy for epimacular membrane or macular hole were enrolled as control group. The vitreous specimens of 0.6~0.8 ml was collected during the surgery. The concentrations of urokinase plasminogen activator (u-PA), tissue plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitors 1 (PAI-1) in vitreous were measured by ELISA. **Results** The mean contents u-PA, t-PA and PAI-1 in the vitreous were 25.45, 127.44 and 0.42 ng/ml respectively in the TA group, and those the mean contents in the control group were 22.94, 142.37 and 0.27 ng/ml respectively, showing a significant difference between the TA group and the control group ($Z=-2.268, P<0.05$). NO significant difference was found in vitreous t-PA and PAI-1 between TA and control groups ($Z=-0.092, -1.847, both at P>0.05$). **Conclusions** Vitreous u-PA content is increased in PDR eyes, which is more likely to lead bleeding. Anastalsis of TA during vitrectomy for PDR may be related to decreasing vitreous t-PA and u-PA contents as well as

increasing PAI-1 contents.

[Key words] Proliferative diabetic retinopathy; Triamcinolone acetonide; Urokinase plasminogen activator; Tissue plasminogen activator; Plasminogen activator inhibitors-1

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81371038, 91442124, 81670865, 81500743)

增生性糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 由于有视网膜新生血管、玻璃体积血、牵拉性视网膜脱离等形成, 往往导致视力严重下降, 甚至致盲^[1]。玻璃体切割术是治疗 PDR 的安全、有效的方法, 但术中处理视网膜新生血管膜时往往会出血, 处理高危 PDR 患者时更是如此, 导致手术时间延长、视网膜病变处理不彻底等, 预后差^[2]。既往处理术中出血的方法包括升高眼内灌注压或眼内电凝, 但效果均不理想。曲安奈德 (triamcinolone acetonide, TA) 在玻璃体切割术中发挥辅助标记玻璃体及抑制增生的作用, 已被广泛应用。此外, 适当时机于眼内注入 TA 可有效控制 PDR 术中视网膜出血。尿激酶纤溶酶原激活物 (urokinase plasminogen activator, u-PA)、组织纤溶酶原激活物 (tissue plasminogen activator, t-PA) 和纤溶酶原激活物抑制剂 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) 均为凝血相关因子, 但 TA 的止血作用机制是否与其有关尚不清楚。本研究中拟探讨 PDR 术中 TA 止血作用与 u-PA、t-PA 和 PAI-1 含量变化的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用前瞻性研究设计, 于 2011—2014 年纳入因 PDR、黄斑前膜、黄斑裂孔在天津医科大学总医院眼科接受玻璃体切割术患者 44 例 44 眼, 其中接受玻璃体切割术且术中眼内应用 TA 的 PDR 患者 12 例 12 眼作为 TA 组, 包括男 1 例 1 眼, 女 11 例 11 眼; 年龄 46 ~ 79 岁, 平均 61 岁; 同期接受玻璃体切割术且未用 TA 的黄斑前膜或黄斑裂孔患者 32 例 32 眼作为对照组, 其中男 16 例 16 眼, 女 16 例 16 眼; 年龄 43 ~ 79 岁, 平均 59 岁。糖尿病患者均由内分泌科确诊, 诊断标准符合 1998 年世界卫生组织制定的糖尿病诊断标准^[3]。PDR 分期参照 2002 年国际糖尿病视网膜病变临床分期标准^[4], 本研究中所有 PDR 患者均为 VI 期。排除术前眼内曾注射抗血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 者、既往有眼部手术史者、术前应用抗凝药物及凝血功能异常者、围手术期血压控制欠佳者。本研究遵循赫尔辛基宣言, 所有患者术前均签署知情同意书。

1.2 方法

所有患者均接受标准三切口非接触广角镜观察系统辅助下 23G 联合 25G 玻璃体切割术, 用质量分数 2% 利多卡因 3 ml 行球后阻滞麻醉, 放置灌注管并插入光导及玻璃体切割套管。在未开放灌注前用玻璃体切割头切割增生膜并抽吸玻璃体腔中央部位玻璃体 0.6 ~ 0.8 ml, 移至 1 ml 注射器中低温保存以备检测。然后打开灌注管, 行玻璃体切割术。

对于 PDR 伴白内障患者先行白内障超声乳化摘出术。玻璃体切割术中将玻璃体切割干净后将增生膜剥除干净。剥除增生膜时, 所有患眼均发生不同程度视网膜出血或小血管出血, 此时向玻璃体腔注入 TA (4 mg/0.1 ml), 药物在玻璃体内持续 1 min, 然后继续切除残存的与增生膜粘连紧密的玻璃体及增生膜。行视网膜光凝、眼内填充或人工晶状体植入术。黄斑前膜或黄斑裂孔患者玻璃体切割术后行黄斑前膜或内界膜剥除, 眼内填充 C₃F₈ 或消毒空气 (视频 1)。

将低温保存的玻璃体标本溶解后转移至消毒的 Eppendorf 管内, 低温离心机离心半径为 10 cm, 4 000 r/min 离心 15 min, 取上清分装并置于 -80 °C 冰箱中保存。用 ELISA 试剂盒 (美国 R&D 公司) 检测术眼玻璃体标本中 t-PA、u-PA 和 PAI-1 含量, 每个标本重复检测 3 次。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。本研究测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验不符合正态分布, 以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示。2 个组患者玻璃体腔 u-PA、t-PA 和 PAI-1 含量比较采用 Mann-Whitney U 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TA 组患者术中出血情况

TA 组所有术眼术中于 TA 注射后未发现玻璃体腔出血, 玻璃体切割时原视网膜出血部位被 TA 颗粒覆盖, 形成红、白相间的小出血片或膜状物 (图 1)。视网膜颜色稍变浅, 视网膜渗血及小血管出血逐渐停止, 术野迅速清晰 (图 2)。

2.2 2 个组患者玻璃体腔 u-PA、t-PA 和 PAI-1 质量浓度的比较

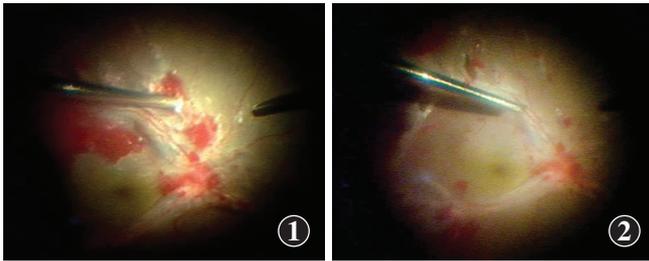


图 1 1 例 58 岁女性 PDR 患者玻璃体切割术中眼内注入 TA 后血管出血情况 可见 TA 覆盖在视网膜表面,并与出血融合,视野逐渐清晰 图 2 与图 1 同一患者清除 TA 后情况 视网膜清晰可见,未发现新鲜出血,术野清晰

TA 组 u-PA、t-PA 和 PAI-1 的平均质量浓度分别为 25.45 (22.67, 108.39)、127.44 (75.80, 291.47) 和 0.42 (0.29, 0.98) ng/ml; 对照组为 22.94 (21.41, 25.86)、142.37 (78.43, 219.73) 和 0.27 (0.22, 0.48) ng/ml。TA 组玻璃体腔 u-PA 质量浓度显著高于对照组,差异有统计学意义 ($Z = -2.268, P < 0.05$), TA 组与对照组术眼玻璃体腔 t-PA 和 PAI-1 质量浓度的差异均无统计学意义 ($Z = -0.092, -1.847$, 均 $P > 0.05$) (表 1)。

表 1 TA 组与对照组术眼玻璃体腔 u-PA、t-PA 和 PAI-1 的质量浓度的比较 [$M(Q_1, Q_3)$, ng/ml]

组别	眼数	u-PA	t-PA	PAI-1
TA 组	12	25.45(22.67,108.39)	127.44(75.80,291.47)	0.42(0.29,0.98)
对照组	32	22.94(21.41, 25.86)	142.37(78.43,219.73)	0.27(0.22,0.48)
Z 值		-2.268	-0.092	-1.847
P 值		0.023	0.926	0.065

注:TA:曲安奈德;u-PA:尿激酶纤溶酶原激活物;t-PA:组织纤溶酶原激活物;PAI-1:纤溶酶原激活物抑制剂 1 (Mann-Whitney U 检验)

3 讨论

本研究中发现,PDR 患眼玻璃体腔中 u-PA 含量明显高于黄斑前膜和黄斑裂孔,是造成玻璃体易出血的机制之一。玻璃体切割术中剥离 PDR 患眼的视网膜增生膜时不可避免发生出血。既往采用不同方法止血,但效果均不佳,且手术时间长、并发症多,如眼内电凝法需要有明确出血点,对术者技术要求较高;升高灌注压法灌注压过高可造成视网膜或视神经缺血;使用凝血酶或肾上腺素以及其他方法,如黏弹剂、硅油、气体、全氟化碳液体等也存在相应的不良作用。TA 最初用于玻璃体切割术是利用其结晶的颗粒附着作用以识别玻璃体组织及辨别视网膜的增生膜,同时可减轻术后炎症反应、增生及黄斑水肿等。研究表明 TA 可使血小板和纤维蛋白原增加,使血液呈高凝状态^[5]。本研究中发现,当眼内注入 TA 并充分与视网膜暴露的出血点接触时,可使视网膜局部血液呈高凝状态,从而

发挥其止血作用,但 TA 是通过什么机制使出血凝固并不清楚。

生理条件下人体内血液的凝固和溶解之间保持着动态平衡,存在严格的调控系统。纤维蛋白溶解系统通过纤维蛋白酶的作用阻止血栓形成或溶解血栓。正常情况下纤维蛋白溶解激活剂和其抑制剂之间保持动态平衡,其中主要的激活剂是 u-PA 和 t-PA,抑制剂是 PAI-1^[6]。u-PA 属单链糖蛋白,由肾小管内皮细胞和血管内皮细胞等产生,可直接激活纤维蛋白溶酶原;t-PA 是一种丝氨酸蛋白酶,由血管内皮细胞合成。在 u-PA 或 t-PA 作用下,单链纤维蛋白溶酶原的精氨酸(560)-缬氨酸(561)肽键断裂,形成由重链和轻链连接的双链纤溶酶。PAI-1 属于单链糖蛋白,由血管内皮细胞和血小板合成,是最主要的 t-PA 和 u-PA 的直接抑制剂,当与 u-PA 和/或 t-PA 形成复合物时可使其失去活性^[7]。本研究中发现,PDR 患眼玻璃体腔 u-PA 质量浓度显著高于对照组,而 t-PA 和 PAI-1 质量浓度 2 个组之间差异均无统计学意义。由于正常情况下纤维蛋白溶解的激活剂和抑制剂保持动态平衡,即 u-PA、t-PA 和 PAI-1 保持平衡,因此当 PDR 患者玻璃体腔 u-PA 质量浓度含量显著升高时打破了该平衡,导致 PDR 患者比黄斑前膜或黄斑裂孔患者更容易发生玻璃体腔出血。当手术中将 TA 直接注入 PDR 患者玻璃体腔并与视网膜出血部位充分接触时,由于 TA 属于糖皮质激素类药物,可明显影响 t-PA、u-PA 和 PAI-1 作用,可降低 t-PA 和 u-PA 质量浓度,并同时增加 PAI-1 质量浓度,也就是说 TA 通过降低 t-PA 和 u-PA 质量浓度而达到降低出血倾向的目的,并通过增加 PAI-1 质量浓度发挥止血作用^[8-16]。因此我们推测 TA 是通过与 PAI-1 相互作用,抑制 t-PA 和 u-PA 质量浓度而发挥止血作用的。以往研究发现,糖皮质激素可影响凝血系统和纤溶系统之间的平衡,可诱发促凝状态^[17],这均说明了糖皮质激素有促凝血作用。

总之,玻璃体切割术治疗 PDR 中应用 TA 止血的可能机制是其与 PAI-1 发生相互作用,从而减少 t-PA 和 u-PA 含量有关,但与其相关的其他机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Li X, Liu X, Guo H, et al. The significance of the increased expression of phosphorylated MeCP2 in the membranes from patients with proliferative diabetic retinopathy [J/OL]. Sci Rep, 2016, 6 : 32850 [2016-12-21]. <http://dx.doi.org/10.1038/srep32850>. DOI:10.1038/srep32850.
- [2] Yan H, Cui J, Lu Y, et al. Reasons for and management of postvitrectomy vitreous hemorrhage in proliferative diabetic retinopathy [J]. Curr Eye Res, 2010, 35 (4) : 308-313. DOI:10.3109/02713680

- 903572491.
- [3] Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation [J]. *Diabet Med*, 1998, 15(7): 539-553. DOI: 10. 1002/ (SICI) 1096-9136(199807) 15: 7<539::AID-DIA668> 3.0.CO;2-S.
- [4] Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales [J]. *Ophthalmology*, 2003, 110(9): 1677-1682. DOI: 10. 1016/ S0161-6420(03)00475-5.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 版 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 361-362.
- [6] Diaz JA, Ballard-Lipka NE, Farris DM, et al. Impaired fibrinolytic system in ApoE gene-deleted mice with hyperlipidemia augments deep vein thrombosis [J]. *J Vasc Surg*, 2012, 55(3): 815-822. DOI: 10. 1016/j. jvs. 2011. 08. 038.
- [7] 王鸿利. 出血, 凝血与止血 (1) - 正常止血, 凝血和纤溶机制 [J]. 外科理论与实践, 2000, 5(1): 附 1-1 附 3, 附 7.
- [8] Augustine AJ, Oleksyszyn J. Glucocorticosteroids inhibit degradation in bovine cartilage explants stimulated with concomitant plasminogen and interleukin-1 alpha [J]. *Inflamm Res*, 1997, 46(2): 60-64. DOI: 10. 1007/s000110050073.
- [9] Kumar S, Shah S, Tang HM, et al. Tissue plasminogen activator in trabecular meshwork attenuates steroid induced outflow resistance in mice [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72447 [2017-01-04]. <http://journals. plos. org/plosone/article? id = 10. 1371/journal. pone. 0072447>. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0072447.
- [10] Hamilton JA, Vairo G, Knight KR, et al. Activation and proliferation signals in murine macrophages. Biochemical signals controlling the regulation of macrophage urokinase-type plasminogen activator activity by colony-stimulating factors and other agents [J]. *Blood*, 1991, 77(3): 616-627.
- [11] Kerachian MA, Séguin C, Harvey EJ. Glucocorticoids in osteonecrosis of the femoral head: a new understanding of the mechanisms of action [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2009, 114(3-5): 121-128. DOI: 10. 1016/j. jsmb. 2009. 02. 007.
- [12] Busso N, Belin D, Faily-Crépin C, et al. Glucocorticoid modulation of plasminogen activators and of one of their inhibitors in the human mammary carcinoma cell line MDA-MB-231 [J]. *Cancer Res*, 1987, 47(2): 364-370.
- [13] Sakamoto K, Osaki M, Hozumi A, et al. Simvastatin suppresses dexamethasone-induced secretion of plasminogen activator inhibitor-1 in human bone marrow adipocytes [J/OL]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2011, 12(1): 82 [2017-01-05]. <https://www. ncbi..nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3114799>. DOI: 10. 1186/1471-2474-12-82.
- [14] van Zaane B, Nur E, Squizzato A, et al. Systematic review on the effect of glucocorticoid use on procoagulant, anti-coagulant and fibrinolytic factors [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(11): 2483-2493. DOI: 10. 1111/j. 1538-7836. 2010. 04034. x.
- [15] Kimura H, Li X, Torii K, et al. Glucocorticoid enhances hypoxia-and/or transforming growth factor- β -induced plasminogen activator inhibitor-1 production in human proximal renal tubular cells [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2011, 15(1): 34-40. DOI: 10. 1007/s10157-010-0351-7.
- [16] Hozumi A, Osaki M, Sakamoto K, et al. Dexamethasone-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in human primary bone marrow adipocytes [J]. *Biomed Res*, 2010, 31(5): 281-286.
- [17] Majoor CJ, Sneebouer MM, de Kievit A, et al. The influence of corticosteroids on hemostasis in healthy subjects [J]. *J Thromb Haemost*, 2016, 14(4): 716-723. DOI: 10. 1111/jth. 13265.



欲观视频
即刻扫码

(收稿日期: 2017-02-03)

(本文编辑: 杜娟)

读者 · 作者 · 编者

本刊对一稿两投的处理

作者投稿请勿一稿两投或一稿多投。本刊编辑部发现一稿两投并经证实后,稿件将不予审理并对作者进行告知。如果发现一稿两用,本刊将做出如下处理:(1)在本刊杂志及网站上刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明,并在中华医学会系列杂志上通报。(2)向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。(3)2年内拒绝发表其作为第一作者或通信作者的任何来稿。

文章未在公开发表物上发表者、以不同文字分别投往国外期刊和国内期刊以供不同受众者阅读者不属于一稿两投的行为,但本刊严格遵照国际医学期刊编辑委员会《国际生物医学期刊投稿统一要求》(http://www. icmje. org/urm_main. html),属于以不同语言文字二次发表者,请作者在首次接受稿件的期刊发表后1周再另行投稿,并请提供首次发表期刊同意以不同语言发表的同意函。

本刊对医学研究中知情同意和医学伦理学描述的要求

根据国际医学期刊编辑委员会提供的“生物医学期刊投稿统一要求”的表述,本刊对作者撰写稿件时关于“知情同意”和“医学伦理学”的描述提出如下要求:

(1) 知情同意 在未事先获得知情同意的情况下,患者有隐私不被侵犯的权力。患者的身份信息,包括姓名、来源、住院号等均不应该以文字、图片或家系信息的方式在出版物上公开,除非这些信息对于本研究是必需的,如需在出版物上显示,应征得患者(或者父母、监护人)签署的书面同意书。

发表的文章中应该省略不必要的患者个人信息,但难以做到完全匿名时(如在照片中掩盖患者的眼部,不足以保护患者的隐私权),应提供知情同意的信息。如果用改变患者的身份特征(如遗传家系等)以保护患者隐私权的方法,作者应该确保这些改变不影响研究的科学性,并且编辑应在文中对此予以说明。

(2) 医学伦理学 以人体为实验对象的研究,作者应该提及试验步骤是否符合相应的负责机构、国家委员会或1975年赫尔辛基宣言(2005年修订)的医学伦理学标准。如果研究过程对是否符合赫尔辛基宣言有疑问或存在一定的问题,作者应当做出客观说明并解释研究的合理性,提交已通过审查机构的批准情况。以动物为实验对象的研究,作者应当说明是否遵循当地的相关机构、学会(国内或国外)及国家实验动物保护和和使用指南。

(本刊编辑部)