

糖尿病视网膜病变生物标志物的表达与测定

蒋依琳 综述 张晓敏 李筱荣 审校

天津医科大学眼科医院 天津医科大学眼视光学院 天津医科大学眼科研究所 天津市视网膜功能与疾病重点实验室 天津市眼科学与视觉科学国际联合研究中心,天津 300384

通信作者:李筱荣,Email:lixiaorong@tmu.edu.cn

【摘要】 糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病常见的血管并发症,也是不可逆盲的主要原因之一,其特征是视网膜血管渗漏、新生血管形成和纤维增生。尽管目前 DR 的治疗方式多样,但大多针对疾病中晚期且疗效欠佳。因此,DR 的早期诊断和精准治疗十分重要。近年来,DR 相关生物标志物的研究发展迅速,在疾病的风险评估、早期干预及治疗中发挥重要作用。经典的 DR 生物标志物如糖化血红蛋白,已在临床实践中广泛应用。随着对 DR 发病机制的进一步了解,炎症类生物标志物、血管生成类生物标志物已被证实与疾病的发生和进展密切相关。同时,随着科技的不断进步,先进设备与技术为 DR 相关生物标志物的探索构建了广阔平台,组学类生物标志物、影像类生物标志物和人工智能的应用已成为研究热点,为实现 DR 早期准确诊疗做出了重要贡献。本文就 DR 发生与发展中相关生物标志物表达与测定的最新研究进展进行综述,以期对 DR 的高效防控与有效治疗提供新思路。

【关键词】 糖尿病视网膜病变; 生物标志物; 诊断; 治疗

基金项目: 国家自然科学基金项目(81870675、81800880)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200417-00269

Expression and determination of biomarkers in diabetic retinopathy

Jiang Yilin, Zhang Xiaomin, Li Xiaorong

Tianjin Key Laboratory of Retinal Functions and Diseases, Tianjin International Joint Research Center of Ophthalmology and Visual Science, Eye Institute and School of Optometry, Tianjin Medical University Eye Hospital, Tianjin 300384, China

Corresponding author: Li Xiaorong, Email: lixiaorong@tmu.edu.cn

【Abstract】 Diabetic retinopathy (DR) is a kind of common vascular complications in diabetes and one of the leading causes of irreversible blindness. It is characterized by leaky retinal vasculature, neovascularization and fiber membrane proliferation. Although there are various DR treatments, most of them aim at middle and late stage of the disease and have limited efficacy. Therefore, early diagnosis and precise treatment of DR are important. In recent years, the research of biomarkers related to DR has developed rapidly, which plays an important role in the risk assessment and early intervention of the disease. Nowadays, classic biomarkers such as HbA1c have been widely used in clinical practice. With the further study on DR, inflammatory biomarkers and angiogenesis-related biomarkers have been found to be closely related to the occurrence and development of the disease. At the same time, with the progress of modern technology, advanced equipment have built a broad platform for the exploration of DR biomarkers. Omics biomarkers, imaging biomarkers and artificial intelligence have become the focus of research and made important contributions to the early treatment of DR. This article summarized the key progress related to the DR biomarkers research to provide new clinical strategies in the efficient prevention, control and treatment of DR.

【Key words】 Diabetic retinopathy; Biomarker; Diagnosis; Therapy

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81870675, 81800880)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200417-00269

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见的血管并发症,也是常见的致盲眼病之一。调查显示,2013 年我国 DR 患者人数已超过 1 亿,成为严重的公共卫生问题^[1]。一般认为,糖尿病患者体内长期持续的高血糖环境是触发血管

功能障碍的关键因素,而炎症介质的出现和血管生成相关因子间平衡的破坏可进一步推动疾病的发展,最终导致糖尿病黄斑水肿(diabetic macular edema, DME)和增生型糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)。由于 DR 在病变前

期存在一定隐匿性,导致很多患者就医时病情已到中晚期,视力受到不可逆损害,治疗预后情况并不理想,因此,实现 DR 的早期诊断及治疗具有重要的临床意义。生物标志物主要指可以客观测定和评价生物普遍生理、病理过程或治疗反应的某种特征性指标,通过对其测定可以获知机体当前所处生物学过程的方向与进程。随着生物标志物相关研究的快速发展,其在疾病的风险评估、早期诊断及治疗等方面发挥了重要作用。近年来,随着生物组学和人工智能 (artificial intelligence, AI) 的发展,DR 发生和发展中生物标志物的研究日新月异。本文就 DR 发生与发展中相关生物标志物表达和测定方法进行综述,为更加有效地控制其发生和发展提供新思路。

1 血液及眼部组织中 DR 生物标志物的表达

1.1 糖化血红蛋白

DR 的发生和发展与血糖控制情况密切相关。糖化血红蛋白 (Hemoglobin A1c, HbA1c) 是红细胞中的血红蛋白与血清中的糖类相结合的产物,可有效反映血糖控制水平,是糖尿病经典的生物标志物。Lind 等^[2]研究发现,DR 患者患病前 2~3 年的 HbA1c 水平与当前 DR 进展的相对危险度关系最为密切。Nordwall 等^[3]对 1 型糖尿病患者随访 20 余年发现,HbA1c 水平控制在 <7.6% 可有效预防 DR。然而有研究表明,仅有 11% 的 DR 与 HbA1c 有关^[4]。因此,HbA1c 并非判断 DR 发展的理想生物标志物。

1.2 炎症类生物标志物

1964 年, Powell 等^[5]发现,患有风湿性关节炎的糖尿病患者接受高剂量水杨酸盐类药物治疗后,DR 发病率远低于预期,这一发现首次显示炎症与 DR 的发展相关。自此,研究人员陆续在 DR 患者的玻璃体、视网膜、泪液和血液等样本中发现诸多炎症相关因子表达异常。炎症可能是引起 DR 一系列复杂病理过程的刺激因素和各种致病机制发挥作用的共同途径^[6]。

EURODIAB 前瞻性并发症研究结果显示,C 反应蛋白、肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 等炎症因子水平与 1 型糖尿病中微血管并发症和心血管疾病密切相关^[7]。江志坚等^[8]研究发现,糖尿病患者血清 S100A8/A9 质量浓度与血清超敏 C 反应蛋白质量浓度呈正相关,其可能参与糖尿病微血管病变的发生和发展。Costagliola 等^[9]研究发现,泪液中 TNF- α 水平与 DR 严重程度高度相关。TNF- α 可促进白细胞与血管内皮细胞的不可逆黏附,增加内皮细胞通透性,参与血-视网膜屏障的破坏,可作为 PDR 发病的预测因子^[10]。另有一些研究发现,DR 患者房水、玻璃体及血浆中 IL-6、IL-1 β 、IL-8、IL-17 及 IL-37 水平升高,其在视网膜内皮细胞凋亡、DME、血-视网膜屏障破坏、视网膜神经元凋亡和视网膜血管生成过程中均发挥一定作用,促进 DR 的进展^[11-13]。

此外,Geng 等^[14]对中国糖尿病患者进行研究发现,甘露糖结合凝集素 (mannose-binding lectin, MBL) 引发的炎症及补体活化可能与糖尿病的血管并发症有关,DR 患者较糖尿病非视网膜病变患者血清 MBL 水平明显升高,推测血清中 MBL 含量可作为

中国人群 DR 的生物标志物。同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 可通过介导促炎细胞因子的产生从而激活炎症反应,导致内皮细胞功能障碍^[15]。有研究表明,糖尿病患者和糖尿病动物模型的血清、玻璃体及视网膜中 Hcy 均显著升高,Hcy 有望成为 DR 的筛查和诊断指标,提高 Hcy 清除率可靶向预防及治疗 DR^[16]。

1.3 血管生成类生物标志物

视网膜新生血管的出现预示着 DR 由非增殖性糖尿病视网膜病变 (non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR) 发展为 PDR。及早监测引起新生血管生成的因素并尽早控制可有效延缓 PDR 的进展,保护患者视力。

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) (主要是 VEGF-A) 是控制血管生成的主要因子,无 DR 的糖尿病患者眼部 VEGF 水平较低,而 DR 患者玻璃体及泪液中 VEGF 水平升高且与 DR 严重程度呈正相关^[17-18]。抗 VEGF 治疗是目前临床治疗 DR 的主要手段。然而,DR 临床研究显示,仅抑制 VEGF 不足以完全阻止视网膜新生血管形成,这提示其他因子也参与这一过程^[19]。促红细胞生成素是一种糖蛋白激素,对血管内皮细胞具有调节作用,是一种强效的缺血诱导血管生成因子,在 PDR 视网膜新生血管生成过程中独立于 VEGF 发挥作用^[20]。此外,低氧诱导因子 1、血小板源性生长因子 B、胎盘生长因子、血管生成素 2 等均在 DR 患者玻璃体及视网膜组织中表达升高,参与新生血管形成^[21]。

正常生理状态下,组织内的促血管生成因子和抗血管生成因子之间保持稳态平衡,共同维持血管的健康状态。色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF) 是最有效的天然抗血管生成因子^[22]。多项研究表明,DR 患者尤其是 PDR 患者房水和玻璃体液中 PEDF 水平降低^[23-25]。房水和玻璃体液 PEDF 浓度变化可能在 DR 进展中具有一定预测价值。

1.4 DR 生物标志物在组学分析中的表达与测定

随着测序技术、质谱分析技术和生物信息学等组学技术的发展,实现了基因组学、蛋白组学和代谢组学的快速高通量分析,这为了解疾病进程和发现生物标志物提供了极大便利。

1.4.1 基因组学类生物标志物 研究表明,DR 是一种多基因相关性疾病,存在明显的家族聚集性,且其易感性与等位基因变异相关^[26-27]。基因组学有助于揭示遗传因素对 DR 的影响,为 DR 生物标志物的研究提供了新方向。全基因组关联研究 (genome-wide association studies, GWAS) 通过在整个基因组中筛选单核苷酸多态性来识别与复杂疾病相关的数百种遗传变异。GWAS 已被用于多个人群以识别 DR 相关风险基因^[28-30]。其中,*GRB2* 基因附近的遗传变异已被发现与 DR 存在显著相关性,且该变异为首个在多个研究队列中可重复的研究成果^[31]。下一代测序技术可对候选基因、全外显子组或全基因组 DNA 中的每个核苷酸进行测定,其中,全外显子组测序可有效帮助解释遗传学在 DR 中的作用。目前,共 2 项 DR 相关全外显子组测序研究。Shtir 等^[32]以糖尿病史达 10 年但未出现 DR 者为试验组、以 DR 患者为对照组进行研究,发现 *NME3*、*LOC728699*、*FASTK* 基因罕见变异可在一定程度上阻止 DR 出

现。Ung 等^[33]采用类似的研究方法对 DR 发病机制进行探索,发现高血糖环境对 VEGFB、VPS13B、PHF21A、NAT1、ZNF600、PKHD1L1 表达的抑制在 DR 发展中起重要作用。哈佛大学乔斯林糖尿病中心与新墨西哥医学院联合开展了 DR 遗传学研究,利用全外显子组测序技术对 DR 进行炎症和血管生成途径相关基因和变异的全面基因组学研究,发现 KLF17、ZNF395、CD33、PLEKHF5、COL18A1 参与 DR 进展,NKX2.3 则起保护作用^[34]。

1.4.2 微小 RNA 类生物标志物 微小 RNA (microRNA, miRNA) 为非编码 RNA,可通过与 mRNA 结合控制转录后基因表达,促进 mRNA 降解和抑制蛋白翻译。研究表明,miRNA 参与 DR 视网膜新生血管形成和炎症反应^[35-36]。Helal 等^[37]研究发现,血清 miR-146a 和 miR-21 的表达量与 DR 严重程度呈正相关,miR-34 表达量则随 DR 进展而降低,三者可成为 DR 诊断和预后的生物标志物。Liang 等^[38]研究发现,与 2 型糖尿病无 DR 患者相比,DR 患者血清中 let-7a-5p、miR-novel-chr5_15976 及 miR-28-3p 均显著上调。Chen 等^[39]利用测序技术鉴定房水样本发现,与无 DR 糖尿病患者相比,PDR 患者房水 miR-150-5p 及 miR-93-5p 含量显著降低,二者有望成为 PDR 生物标志物。Mazzeo 等^[40]分离健康者、无 DR 糖尿病患者和 DR 患者血浆细胞外囊泡,利用流式细胞仪和微阵列分析技术测定其内 miRNA 含量,发现 DR 患者 miR-150-5p 含量显著降低,miR-21-3p 及 miR-30b-5p 含量显著升高,三者可作为 DR 潜在生物标志物。目前已鉴定出 miR-126、miR-3197 及 miR2116-5p 等多种 miRNA 含量在 DR 进程中发生显著变化并可作为 DR 生物标志物^[41-42]。了解 miRNA 在 DR 中的作用有助于开发靶向调节 miRNA 的疾病治疗新策略。

1.4.3 蛋白质组学类生物标志物 蛋白质组学的不断发展让我们能够在更短的时间内识别和分析更多蛋白质、揭示蛋白质功能和相互作用规律,有助于疾病诊断生物标志物和治疗靶标的探索。目前,通过高通量蛋白质组学技术对泪液、房水、玻璃体、视网膜及血液等样本进行分析,已发现多个在 DR 患者与无 DR 的糖尿病患者间有重要意义的差异蛋白。其中载脂蛋白和晶状体蛋白等已成为诊断 DR 的潜在生物标志物,视黄酸受体反应蛋白 2、轴突生长导向因子 4B、载脂蛋白 B、热休克蛋白 70 等有望成为 PDR 防治的新靶点^[43]。

1.4.4 代谢组学类生物标志物 代谢组学是新兴的组学领域,可检测体内核酸、蛋白质、脂质等全部内源性代谢物的整体动态变化,是基因组学、转录组学和蛋白质组学数据的补充,有助于更好地识别生物标志物、了解疾病进程和探索新的药物靶点^[44]。血浆代谢组学可揭示 DR 进展代谢谱^[45]。Barba 等^[46]发现 PDR 患者玻璃体中乳酸和葡萄糖含量较高,而半乳糖醇和抗坏血酸含量显著降低。Paris 等^[47]揭示了 PDR 患者玻璃体氨基酸、酰基肉碱、嘌呤代谢受到严重损害的代谢特征,PDR 患者和氧诱导视网膜病变小鼠模型玻璃体样本均显示精氨酸-脯氨酸通路活性增强,且该通路可作为 DR 治疗靶点。Haines 等^[48]研究发现,DR 患者玻璃体黄嘌呤水平降低,氧化反应产生的肌苷、次黄嘌呤、尿酸盐、尿酸盐水平升高。Chen 等^[49]

利用血浆样本首次发现 DR 患者 2-脱氧核糖酸和 3,4-二羟基丁酸水平升高,且二者可作为 DR 生物标志物,同时强调磷酸戊糖途径代谢失调与 DR 密切相关。Rhee 等^[50]发现,与无 DR 的糖尿病患者相比,DR 患者血浆谷氨酰胺含量升高、谷氨酸含量降低,二者及其比值可作为 DR 生物标志物。Sumarriva 等^[51]发现,相比于 NPDR 患者,PDR 患者血浆脂肪酸代谢发生明显改变。

2 DR 生物标志物在影像分析中的表达与测定

2.1 影像学生物标志物

影像学技术的不断革新推动着 DR 生物标志物由有创向无创的方向发展。近年来眼科影像学一些特征性指标已经被纳入到广义的生物标志物范畴。

Ribeiro 等^[52]提出应用软件分析视网膜的微动脉瘤 (microaneurysm, MA) 周转率,即微动脉瘤生成和消失的速率,预测 NPDR 患者发展为 DME 的风险,MA 周转率越高,患者进展为 DME 的可能性越大。Pappuru 等^[53]的研究结果也强调了 MA 周转率在识别 DR 进展中的重要作用。Santos 等^[54]将谱域光相干断层扫描 (spectral domain optical coherence tomography, SD-OCT) 与多焦视网膜电图联合应用以评估视网膜的结构和功能,SD-OCT 显示的黄斑神经节细胞层-内丛状层、视盘周围神经纤维层变薄以及多焦视网膜电图提示的 P1 振幅下降、P1 潜伏时间延长均出现在 DR 早期,甚至早于糖尿病患者出现明显眼底异常,二者结合可用于糖尿病患者 DR 筛查及早期诊断。OCT 血管成像可较早发现黄斑中心凹无血管区 (foveal avascular zone, FAZ) 面积扩大、脉络膜新生血管早期征象等 DR 发生和发展标志,可用于 DR 筛查以及抗 VEGF 治疗后的动态观察^[55]。

2.2 AI 在生物标志物诊断分析中的应用

近年来,随着计算机数据分析能力的革新、算法研究的进展以及互联网大数据平台的普及,AI 成为医学辅助诊断领域的研究热点。眼科 AI 技术将基于影像学资料建立的数据库与深度学习 (deep learning, DL) 算法结合,可对 FAZ 面积、血管、MA 等眼部特征性生物学结构进行自动定量测量和分析^[56],快速筛选和捕捉异常的生物标志物并对疾病进行辅助诊断。Gulshan 等^[57]建立了由 12.8 万幅彩色眼底像组成的大数据集训练 DL 算法,用于检测 DR,结果显示,该系统敏感性和特异性分别达 97.5% 和 96.1%,诊断准确度与眼科专家持平。Li 等^[58]利用 DL 算法和彩色眼底照片开发的自动评分系统,可用于检测威胁视力的 DR,其敏感性和特异性分别达 97% 和 91.4%。Ting 等^[59]构建了新加坡、中国、美国、墨西哥等 6 个国家正常人及不同程度 DR 患者的眼底照片数据集,评估 DL 系统的 DR 诊断性能,结果显示,DL 系统的敏感性和特异性分别为 90.5% 和 91.6%。随着 DR 筛查系统的不断发展,AI 的应用有望结合影像学标志物以外更多的生物标志物资料、节约社会成本、提高 DR 早期筛查效率。

3 总结与展望

近年,DR 相关生物标志物的研究发展迅猛,一部分证据较

充分的标志物如 HbA1c、VEGF 等和一些无创的影像类指标等均已应用于临床,并在 DR 的风险评估、尽早发现、进展预防、治疗干预等方面发挥了不可代替的作用。但很多 DR 生物标志物还处在研究阶段,有待进行更深入的了解。

理想的 DR 生物标志物应该具备创伤小、便捷、经济、特异性高和可重复性强等特点。目前,DR 发生与发展中相关生物标志物的研究仍面临着样本量需求大、需在不同人群中进行验证、缺乏统一量化标准以及分析技术耗时长、成本高等难题。未来,随着医学与技术的不断发展和科研工作者的不懈努力,将会有更多的理想生物标志物更广泛应用于临床,实现 DR 早期发现和早期治疗,从而降低 DR 的致盲率。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013 [J]. *JAMA*, 2017, 317 (24) : 2515-2523. DOI: 10. 1001/jama. 2017. 7596.
- Lind M, Odén A, Fahlén M, et al. The shape of the metabolic memory of HbA1c; re-analysing the DCCT with respect to time-dependent effects [J]. *Diabetologia*, 2010, 53 (6) : 1093-1098. DOI: 10. 1007/s00125-010-1706-z.
- Nordwall M, Abrahamsson M, Dhir M, et al. Impact of HbA1c, followed from onset of type 1 diabetes, on the development of severe retinopathy and nephropathy; the VISS Study (Vascular Diabetic Complications in Southeast Sweden) [J]. *Diabetes Care*, 2015, 38 (2) : 308-315. DOI: 10. 2337/dc14-1203.
- Hirsch IB, Brownlee M. Beyond hemoglobin A1c—need for additional markers of risk for diabetic microvascular complications [J]. *JAMA*, 2010, 303 (22) : 2291-2292. DOI: 10. 1001/jama. 2010. 785.
- Powell ED, Field RA. Diabetic retinopathy and rheumatoid arthritis [J]. *Lancet*, 1964, 2 (7349) : 17-18. DOI: 10. 1016/s0140-6736(64) 90008-x.
- 刘巨平. 糖尿病视网膜病变:一种非可控性炎症[J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32 (1) : 94-96. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 01. 019.
Liu JP. Diabetic retinopathy: a nonresolving inflammation [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2014, 32 (1) : 94-96. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 01. 019.
- Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk CG, et al. Markers of inflammation are cross-sectionally associated with microvascular complications and cardiovascular disease in type 1 diabetes—the EURODIAB Prospective Complications Study [J]. *Diabetologia*, 2005, 48 (2) : 370-378. DOI: 10. 1007/s00125-004-1628-8.
- 江志坚, 冀慧莹, 黄亮, 等. 糖尿病视网膜病变患者血清 S100A8/A9 变化与视网膜炎症反应的关系 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35 (3) : 263-266. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 03. 016.
Jiang ZJ, Ji HY, Huang L, et al. Relationship of serum S100A8/A9 complex and retinal inflammation in patients with diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2017, 35 (3) : 263-266. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 03. 016.
- Costagliola C, Romano V, De Tollis M, et al. TNF-alpha levels in tears: a novel biomarker to assess the degree of diabetic retinopathy [J/OL]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013 : 629529 [2021-09-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24259948>. DOI: 10. 1155/2013/629529.
- Aveleira CA, Lin CM, Abcouwer SF, et al. TNF- α signals through PKC ζ /NF- κ B to alter the tight junction complex and increase retinal endothelial cell permeability [J]. *Diabetes*, 2010, 59 (11) : 2872-2882. DOI: 10. 2337/db09-1606.
- Feng S, Yu H, Yu Y, et al. Levels of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, and TNF- α in aqueous humour of patients with diabetic retinopathy [J/OL]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018 : 8546423 [2021-09-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29850610>. DOI: 10. 1155/2018/8546423.
- Qiu AW, Bian Z, Mao PA, et al. IL-17A exacerbates diabetic retinopathy by impairing Müller cell function via Act1 signaling [J/OL]. *Exp Mol Med*, 2016, 48 (12) : e280 [2021-09-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27980343>. DOI: 10. 1038/emmm. 2016. 117.
- Zhao M, Hu Y, Yu Y, et al. Involvement of IL-37 in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57 (7) : 2955-2962. DOI: 10. 1167/iovs. 15-18505.
- Geng P, Ding Y, Qiu L, et al. Serum mannose-binding lectin is a strong biomarker of diabetic retinopathy in chinese patients with diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2015, 38 (5) : 868-875. DOI: 10. 2337/dc14-1873.
- Homme RP, Singh M, Majumder A, et al. Remodeling of retinal architecture in diabetic retinopathy; disruption of ocular physiology and visual functions by inflammatory gene products and pyroptosis [J/OL]. *Front Physiol*, 2018, 9 : 1268 [2021-09-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30233418>. DOI: 10. 3389/fphys. 2018. 01268.
- Tawfik A, Mohamed R, Elsherbiny NM, et al. Homocysteine: a potential biomarker for diabetic retinopathy [J/OL]. *J Clin Med*, 2019, 8 (1) : 121 [2021-09-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30669482>. DOI: 10. 3390/jcm8010121.
- Ang WJ, Zunaina E, Norfadzillah AJ, et al. Evaluation of vascular endothelial growth factor levels in tears and serum among diabetic patients [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (8) : e0221481 [2021-09-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31437234>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0221481.
- Mesquita J, Castro-de-Sousa JP, Vaz-Pereira S, et al. Vascular endothelial growth factors and placenta growth factor in retinal vasculopathies: current research and future perspectives [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2018, 39 : 102-115. DOI: 10. 1016/j. cytogfr. 2017. 11. 005.
- Simó R, Hernández C. Novel approaches for treating diabetic retinopathy based on recent pathogenic evidence [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2015, 48 : 160-180. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2015. 04. 003.
- Hernández C, Simó R. Erythropoietin produced by the retina: its role in physiology and diabetic retinopathy [J]. *Endocrine*, 2012, 41 (2) : 220-226. DOI: 10. 1007/s12020-011-9579-6.
- Zhang SX, Ma JX. Ocular neovascularization; implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2007, 26 (1) : 1-37. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2006. 09. 002.
- Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, et al. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis [J]. *Science*, 1999, 285 (5425) : 245-248. DOI: 10. 1126/science. 285. 5425. 245.
- Boehm BO, Lang G, Feldmann B, et al. Proliferative diabetic retinopathy is associated with a low level of the natural ocular anti-angiogenic agent pigment epithelium-derived factor (PEDF) in aqueous humor. a pilot study [J]. *Horm Metab Res*, 2003, 35 (6) : 382-386. DOI: 10. 1055/s-2003-41362.
- Boehm BO, Lang G, Volpert O, et al. Low content of the natural ocular anti-angiogenic agent pigment epithelium-derived factor (PEDF) in aqueous humor predicts progression of diabetic retinopathy [J]. *Diabetologia*, 2003, 46 (3) : 394-400. DOI: 10. 1007/s00125-003-1040-9.
- Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, et al. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy [J]. *Am J Ophthalmol*, 2002, 134 (3) : 348-353. DOI: 10. 1016/s0002-9394(02)01568-4.
- Cho H, Sobrin L. Genetics of diabetic retinopathy [J/OL]. *Curr Diab Rep*, 2014, 14 (8) : 515 [2021-10-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24952107>. DOI: 10. 1007/s11892-014-0515-z.
- 韩珺琳, 韩梅. 糖尿病视网膜病变相关基因单核苷酸多态性 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37 (5) : 390-395. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 05. 014.
Han JL, Han M. Research progress on single nucleotide polymorphisms of genes associated with diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37 (5) : 390-395. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 05. 014.
- Cheung CY, Hui EY, Lee CH, et al. Impact of genetic loci identified in genome-wide association studies on diabetic retinopathy in Chinese



- patients with type 2 diabetes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(13): 5518-5524. DOI: 10.1167/iov.16-20094.
- [29] Meng W, Shah KP, Pollack S, et al. A genome-wide association study suggests new evidence for an association of the NADPH oxidase 4 (*NOX4*) gene with severe diabetic retinopathy in type 2 diabetes [J/OL]. *Acta Ophthalmol*, 2018, 96(7): e811-e819 [2021-10-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30178632>. DOI: 10.1111/aos.13769.
- [30] Pollack S, Igo RP Jr, Jensen RA, et al. Multiethnic genome-wide association study of diabetic retinopathy using liability threshold modeling of duration of diabetes and glycemic control [J]. *Diabetes*, 2019, 68(2): 441-456. DOI: 10.2337/db18-0567.
- [31] Burdon KP, Fogarty RD, Shen W, et al. Genome-wide association study for sight-threatening diabetic retinopathy reveals association with genetic variation near the *GRB2* gene [J]. *Diabetologia*, 2015, 58(10): 2288-2297. DOI: 10.1007/s00125-015-3697-2.
- [32] Shtir C, Aldahmesh MA, Al-Dahmash S, et al. Exome-based case-control association study using extreme phenotype design reveals novel candidates with protective effect in diabetic retinopathy [J]. *Hum Genet*, 2016, 135(2): 193-200. DOI: 10.1007/s00439-015-1624-8.
- [33] Ung C, Sanchez AV, Shen L, et al. Whole exome sequencing identification of novel candidate genes in patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Vision Res*, 2017, 139: 168-176. DOI: 10.1016/j.visres.2017.03.007.
- [34] Cabrera AP, Monickaraj F, Rangasamy S, et al. Do genomic factors play a role in diabetic retinopathy? [J/OL]. *J Clin Med*, 2020, 9(1): 216 [2021-10-09]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31947513>. DOI: 10.3390/jcm9010216.
- [35] Mastropasqua R, Toto L, Cipollone F, et al. Role of microRNAs in the modulation of diabetic retinopathy [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2014, 43: 92-107. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2014.07.003.
- [36] Shafabakhsh R, Aghadavod E, Mobini M, et al. Association between microRNAs expression and signaling pathways of inflammatory markers in diabetic retinopathy [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 7781-7787. DOI: 10.1002/jcp.27685.
- [37] Helal HG, Rashed MH, Abdullah OA, et al. MicroRNAs (-146a, -21 and -34a) are diagnostic and prognostic biomarkers for diabetic retinopathy [J]. *Biomed J*, 2021, 44(6 Suppl 2): S242-S251. DOI: 10.1016/j.bj.2020.11.003.
- [38] Liang Z, Gao KP, Wang YX, et al. RNA sequencing identified specific circulating miRNA biomarkers for early detection of diabetes retinopathy [J/OL]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2018, 315(3): E374-E385 [2021-10-09]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29812988>. DOI: 10.1152/ajpendo.00021.2018.
- [39] Chen S, Yuan M, Liu Y, et al. Landscape of microRNA in the aqueous humour of proliferative diabetic retinopathy as assessed by next-generation sequencing [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2019, 47(7): 925-936. DOI: 10.1111/ceo.13554.
- [40] Mazzeo A, Beltramo E, Lopatina T, et al. Molecular and functional characterization of circulating extracellular vesicles from diabetic patients with and without retinopathy and healthy subjects [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 176: 69-77. DOI: 10.1016/j.exer.2018.07.003.
- [41] Ji H, Yi Q, Chen L, et al. Circulating miR-3197 and miR-2116-5p as novel biomarkers for diabetic retinopathy [J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 501: 147-153. DOI: 10.1016/j.cca.2019.10.036.
- [42] Qin LL, An MX, Liu YL, et al. MicroRNA-126: a promising novel biomarker in peripheral blood for diabetic retinopathy [J]. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(4): 530-534. DOI: 10.18240/ijo.2017.04.05.
- [43] Loukovaara S, Nurkkala H, Tamene F, et al. Quantitative proteomics analysis of vitreous humor from diabetic retinopathy patients [J]. *J Proteome Res*, 2015, 14(12): 5131-5143. DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b00900.
- [44] 张露元, 李筱荣. 糖尿病视网膜病变的代谢组学研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2022, 40(1): 93-96. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20201203-00819.
- Zhang LY, Li XR. Research progress of metabolomics in diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2022, 40(1): 93-96. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20201203-00819.
- [45] Sun Y, Zou H, Li X, et al. Plasma metabolomics reveals metabolic profiling for diabetic retinopathy and disease progression [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 757088 [2022-08-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34777253>. DOI: 10.3389/fendo.2021.757088.
- [46] Barba I, Garcia-Ramírez M, Hernández C, et al. Metabolic fingerprints of proliferative diabetic retinopathy: an 1H-NMR-based metabolomic approach using vitreous humor [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(9): 4416-4421. DOI: 10.1167/iov.10-5348.
- [47] Paris LP, Johnson CH, Aguilar E, et al. Global metabolomics reveals metabolic dysregulation in ischemic retinopathy [J/OL]. *Metabolomics*, 2016, 12: 15 [2021-10-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26617478>. DOI: 10.1007/s11306-015-0877-5.
- [48] Haines NR, Manoharan N, Olson JL, et al. Metabolomics analysis of human vitreous in diabetic retinopathy and rhegmatogenous retinal detachment [J]. *J Proteome Res*, 2018, 17(7): 2421-2427. DOI: 10.1021/acs.jproteome.8b00169.
- [49] Chen L, Cheng CY, Choi H, et al. Plasma metabolomic profiling of diabetic retinopathy [J]. *Diabetes*, 2016, 65(4): 1099-1108. DOI: 10.2337/db15-0661.
- [50] Rhee SY, Jung ES, Park HM, et al. Plasma glutamine and glutamic acid are potential biomarkers for predicting diabetic retinopathy [J/OL]. *Metabolomics*, 2018, 14(7): 89 [2021-10-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29950956>. DOI: 10.1007/s11306-018-1383-3.
- [51] Sumarriva K, Uppal K, Ma C, et al. Arginine and carnitine metabolites are altered in diabetic retinopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(8): 3119-3126. DOI: 10.1167/iov.19-27321.
- [52] Ribeiro ML, Nunes SG, Cunha-Vaz JG. Microaneurysm turnover at the macula predicts risk of development of clinically significant macular edema in persons with mild nonproliferative diabetic retinopathy [J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(5): 1254-1259. DOI: 10.2337/dc12-1491.
- [53] Pappuru R, Ribeiro L, Lobo C, et al. Microaneurysm turnover is a predictor of diabetic retinopathy progression [J]. *Br J Ophthalmol*, 2019, 103(2): 222-226. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2018-311887.
- [54] Santos AR, Ribeiro L, Bandello F, et al. Functional and structural findings of neurodegeneration in early stages of diabetic retinopathy: cross-sectional analyses of baseline data of the EUROCONDOR Project [J]. *Diabetes*, 2017, 66(9): 2503-2510. DOI: 10.2337/db16-1453.
- [55] 魏文斌, 周楠. 光相干断层扫描血管成像在眼底疾病临床应用中的不足及前景 [J]. *中华眼底病杂志*, 2018, 34(4): 317-322. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.04.002.
- Wei WB, Zhou N. The shortcoming and developing perspective of optical coherence tomography angiography in clinical diagnosis and treatment of ocular fundus diseases [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2018, 34(4): 317-322. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.04.002.
- [56] 明帅, 雷博. 基于深度学习人工智能辅助诊断糖尿病视网膜病变研究现状及展望 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37(8): 684-688. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.08.019.
- Ming S, Lei B. Research status and prospect of deep learning algorithm-based artificial intelligence in assisted diagnosis of diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37(8): 684-688. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.08.019.
- [57] Gulshan V, Peng L, Coram M, et al. Development and validation of a deep learning algorithm for detection of diabetic retinopathy in retinal fundus photographs [J]. *JAMA*, 2016, 316(22): 2402-2410. DOI: 10.1001/jama.2016.17216.
- [58] Li Z, Keel S, Liu C, et al. An automated grading system for detection of vision-threatening referable diabetic retinopathy on the basis of color fundus photographs [J]. *Diabetes Care*, 2018, 41(12): 2509-2516. DOI: 10.2337/dc18-0147.
- [59] Ting D, Cheung CY, Lim G, et al. Development and validation of a deep learning system for diabetic retinopathy and related eye diseases using retinal images from multiethnic populations with diabetes [J]. *JAMA*, 2017, 318(22): 2211-2223. DOI: 10.1001/jama.2017.18152.

(收稿日期:2022-01-13 修回日期:2022-08-12)

(本文编辑:张宇 骆世平)

