

雷珠单抗对高海拔地区 wAMD 患者房水中 VEGF 含量的影响

关瑞娟, 李凌, 张蓉, 马雪英, 孙卫东

基金项目: 青海省科技厅 (No. 2014-ZJ-762)

作者单位: (810007) 中国青海省西宁市, 青海省人民医院眼科

作者简介: 关瑞娟, 毕业于青海大学医学院, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 白内障、眼底病。

通讯作者: 李凌, 主任医师, 教授, 科主任, 研究方向: 白内障、眼底病。LiLing6361@126.com

收稿日期: 2016-11-16 修回日期: 2017-02-16

Analysis on concentration of VEGF in aqueous humor in patients with wAMD after Ranibizumab treating at high altitude

Rui-Juan Guan, Ling Li, Rong Zhang, Xue-Ying Ma, Wei-Dong Sun

Foundation item: Project of Qinghai Science and Technology Department (No. 2014-ZJ-762)

Department of Ophthalmology, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810007, Qinghai Province, China

Correspondence to: Ling Li. Department of Ophthalmology, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810007, Qinghai Province, China. LiLing6361@126.com

Received: 2016-11-16 Accepted: 2017-02-16

Abstract

• **AIM:** To study the concentration of vascular endothelial growth factor (VEGF) in aqueous humor in patients with wet age-related macular degeneration (wAMD) before and after Ranibizumab treating at high altitude and the correlation of VEGF concentration with central fovea macula thickness.

• **METHODS:** The patients with wAMD in our hospital from Jun. 2014. to Oct. 2015 were retrospectively analyzed, diagnosed after best corrected visual acuity, intraocular pressure, fundus examination, fundus color photography, fluorescence fundus angiography (FFA) and optical coherence tomography (OCT) inspection. Seventy-six patients with cataract without choroidal neovascularization (CNV) were selected as control group. In the 76 patients (76 eyes), 46 were male, 30 were female, aged 40-80 (55±11.18). The course was 0.3-6mo. The corrected visual acuity was 0.01-0.6. The intraocular pressure was 15.24±3.12mmHg. The CNV in all cases was within the range of the 500μm in diameter. Under surface anesthesia, Ranibizumab (0.5mg) was injected into vitreous cavity. Before and after injection, aqueous humor was obtained and used to detect the concentration of VEGF through ELISA. Best corrected visual acuity, slit lamp microscope, intraocular pressure, OCT and FFA were observed after treatment.

• **RESULTS:** The clinical curative effect is the best at 1mo after treatment with statistical significance ($P < 0.05$). The concentration of VEGF in aqueous humor in wAMD patients before treatment ($95.48 \pm 50.09 \text{pg/mL}$) was higher than that of control group ($43.01 \pm 16.17 \text{pg/mL}$). The concentration of VEGF decreased at 1mo after treatment as $31.89 \pm 14.14 \text{pg/mL}$ ($P < 0.05$). The concentration of VEGF was positive related with central fovea macula thickness ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** For wAMD patients, Ranibizumab injection is effective for it reduces the concentration of VEGF in aqueous humor and the central fovea macula thickness. The VEGF concentration in aqueous humor and foveal retinal thickness has a positive correlation.

• **KEYWORDS:** high altitude; wet age-related macular degeneration; concentration of vascular endothelial growth factor; central fovea macula thickness

Citation: Guan RJ, Li L, Zhang R, et al. Analysis on concentration of VEGF in aqueous humor in patients with wAMD after Ranibizumab treating at high altitude. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(3):495-498

摘要

目的: 了解高海拔地区湿性老年性黄斑变性 (wet age-related macular degeneration, wAMD) 患者注射雷珠单抗 (Ranibizumab) 前后房水中血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 含量的变化, 探讨 VEGF 浓度与黄斑中心凹视网膜厚度的相关性。

方法: 回顾性分析 2014-06/2015-10 来我院就诊, 经最佳矫正视力、眼压、眼底检查、眼底彩色照相、荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography, FFA)、光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 检查确诊为 wAMD 的患者 76 例纳入治疗。其中男 46 眼, 女 30 眼; 年龄 40~80 (平均 55±11.18) 岁, 病程 0.3~6mo, 矫正视力 0.01~0.6, 平均眼压 15.24±3.12mmHg。入选患者全部脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 在距黄斑中心凹 500μm 范围内。在表面麻醉下给予 0.5mg 雷珠单抗注射液玻璃体内注射。治疗前和治疗后 1mo 抽取前房水 0.1mL, 行 ELISA 检测前房水中 VEGF 浓度。治疗后监测患者的最佳矫正视力、裂隙灯显微镜、眼压、OCT 检查、眼底血管造影检查。收集行白内障手术无 CNV 的 76 患者作为正常对照组, 所有白内障患者无虹膜新生血管、玻璃体混浊、视网膜脱离等眼部疾病, 排除糖尿病、高血压等全身慢性病。

结果: 治疗后 1mo 临床疗效最好, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); wAMD 患者房水中 VEGF 含量 ($95.48 \pm 50.09 \text{pg/mL}$) 较正常对照组 ($43.01 \pm 16.17 \text{pg/mL}$) 明显升高; 治疗后 1mo 房水中 VEGF 浓度 ($31.89 \pm 14.14 \text{pg/mL}$) 较治疗前

明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$);房水中 VEGF 浓度与中心凹视网膜的厚度具有正相关性,差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论:对于 wAMD 患者,雷珠单抗注射液有良好的治疗效果;治疗后能够使视网膜中心凹厚度明显变薄、降低房水中 VEGF 的浓度;并且房水中 VEGF 浓度与中心凹视网膜的厚度具有正相关性。

关键词:高海拔地区;湿性老年性黄斑变性;血管内皮生长因子浓度;黄斑中心凹厚度

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.3.27

引用:关瑞娟,李凌,张蓉,等.雷珠单抗对高海拔地区 wAMD 患者房水中 VEGF 含量的影响.国际眼科杂志 2017;17(3):495-498

0 引言

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)又称老年性黄斑变性,是引起全球老年人视力丧失最主要的原因之一。临床上主要分为萎缩型(干性)和新生血管型(湿性或渗出型, wet age-related macular degeneration, wAMD)两种类型,前者主要有玻璃膜疣、RPE 异常和地图样萎缩改变;后者主要以脉络膜新生血管(CNV)、RPE 脱离或盘状纤维化为病理特点^[1]。大约 10%~20%的 AMD 患者为新生血管型即 wAMD^[2], wAMD 的病变特点是 RPE 下有活跃的脉络膜新生血管的存在,从而引起一系列的渗出、出血改变,累及黄斑区导致中心视力的严重损害,从而严重影响患者生活质量。本研究采集 wAMD 患者 76 例 76 眼的病历,所有患者均采用 2+PRN(pro re nata, 按需治疗)治疗方案,通过回顾性分析观察 1a 的临床疗效。

1 对象和方法

1.1 对象 收集 2014-01/2015-10 在青海省人民医院眼科就诊的 wAMD 患者 76 例 76 眼,所有患者均来自海拔 2 200m 以上,其中男 46 眼,女 30 眼;年龄 40~80(平均 55±11.18)岁,病程 0.3~6mo,最佳矫正视力(best corrected visual acuity, BCVA)为 0.01~0.6,平均眼压 15.24±3.12mmHg(1mmHg=0.133kPa)。纳入标准:(1)视力<0.6,经眼底镜检查、FFA 和 OCT(HRA2-KT)确诊的湿性 AMD 患者;(2)只接受并坚持玻璃体内注射雷珠单抗治疗者;(3)坚持随访 1a;(4)患眼均未进行过玻璃体内注射且不伴有青光眼或青光眼家族史,并排除其他致病因素引起的黄斑水肿。收集行白内障手术无 CNV 的 76 例 76 眼患者作为对照组,所有白内障患者无虹膜新生血管、玻璃体混浊、视网膜脱离等眼部疾病,排除糖尿病、高血压等全身慢性病。本研究符合医学伦理要求,患者知情同意,签署书面同意书。

1.2 方法

1.2.1 注药操作准备流程 给药方法:在玻璃体腔注射给药前,对患者的既往病史进行全面的评估,以评估其发生高敏反应的可能性,眼内压控制于 20mmHg 以内;指导患者在注射前 3d 自行氧氟沙星眼药水点眼,4 次/d;术前 1d 冲洗术眼泪道。

1.2.2 手术操作过程 所有患眼均采用 2+PRN 治疗方案,即初始注射雷珠单抗注射液 0.5mg(单次剂量 0.5mg/0.05mL),1mo 后进行第 2 次注射,随访期间据患者情况决定是否再次注射。再次注射标准^[3]:(1)视力

下降 1 档、视物变形加重;(2)OCT 显示 CMT≥250μm 或 CMT 较前增加≥100μm;(3)FFA 显示有渗漏。术前 30min 复方托品卡胺眼药水点眼,每 5min 1 次,共点 4 次;注射前给予患者奥布卡因局部点眼,5min 每 1 次,共点 3 次;术野皮肤消毒,铺无菌巾单,放置开睑器;稀释的碘伏溶液进行结膜囊消毒,9g/L 生理盐水冲洗结膜囊;行前房穿刺抽取前房房水 0.1mL;抽取雷珠单抗注射液,于角巩缘后 3.5~4.0mm 处对准眼球中心向玻璃体腔内缓慢注射 0.05mL(0.5mg,其中有晶状体眼于角巩缘后 4.0mm,人工晶状体眼于角巩缘后 3.5mm);术后 30min,2h 监测患者眼压并观察眼前节反应。

1.2.3 VEGF 含量的测定 所有患者明确诊断后,第 1 次治疗前及治疗后 1mo 分别抽取前房房水 0.1mL,对照组患者在行白内障手术之前抽取前房房水 0.1mL,将每次每眼中抽取的房水放入冷冻管中,置-80℃冰箱保存。采用酶联免疫吸附法即 ELISA 法测定房水中 VEGF 的含量。其主要步骤为:将标准品和待测标本各 0.1mL 依次加入标号的用抗人 VEGF 单抗包被的酶标孔内,充分混匀后置 37℃孵育 2h,洗板 5 次后,每孔中加入生物素化的抗人 VEGF 抗体 0.1mL,充分混匀后 37℃孵育 1h,洗板 5 次后,再依次加入辣根过氧化物酶标记的 Streptavidin 0.1mL 和底物 0.1mL,分别在上述条件下孵育 30min 和 15min。用酶标仪在波长 450nm 处测吸光值,在标准曲线上查出相应 VEGF 含量。

1.2.4 术后随访 治疗后于每个月随访 1 次,坚持随访 1a,每次随访均进行最佳矫正视力、裂隙灯显微镜、眼压、OCT 检查、眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)检查。疗效判断标准^[4]:(1)视力:以国际标准视力表检查结果评定视力变化情况,将视力分为五档:<0.02、0.02~0.05、0.05~0.1、0.1~0.3、>0.3。BCVA 提高一档及以上者为治疗有效;BCVA 下降为治疗无效。(2)CMT:随访末期视网膜黄斑中心凹厚度(center macular thickness, CMT)较术前明显变薄(CMT 至少降低 40μm)者为有效,其余为无效。

统计学分析:本研究所有数据均采用 SPSS17.0 统计学分析软件进行分析处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间均数比较采用独立样本 *t* 检验,计数资料采用行×列表 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 治疗前后视力变化 治疗后 1mo,视力提高 64 眼(64/76,84%),视力未提高者 12 眼(12/76,16%);治疗后 6mo,视力提高 60 眼(60/76,79%),视力未提高者 16 眼(16/76,21%);治疗后 12mo,视力提高 50 眼(50/76,66%),视力未提高者 26 眼(26/76,34%)。治疗后不同时间比较,差异有统计学意义($\chi^2=7.57, P=0.023$)。

2.2 影像学检查结果 治疗后 1、6、12mo 时黄斑中心凹视网膜厚度均较治疗前变薄,经统计学分析有统计学差异($P<0.01$,图 1,表 1)。经 FFA 复查,58 眼(76%,58/76)完全闭合,无荧光素渗漏;18 眼(24%,18/76)未完全闭合,存在荧光素渗漏(图 2)。

2.3 酶联免疫检测房水中 VEGF 浓度 治疗组与对照组相比,治疗组患者治疗前前房房水中的 VEGF 浓度(95.48±50.09pg/mL)较正常对照组(43.01±16.17pg/mL)明显升高,差异有统计学意义($t=8.635, P<0.01$);治疗组治疗

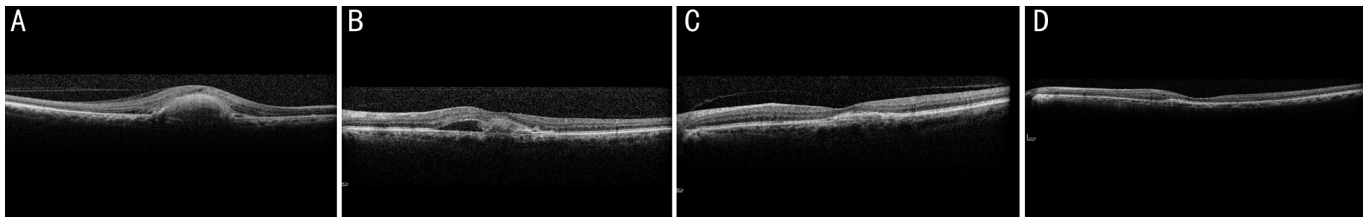


图1 治疗前后患者 OCT 检查结果 A:治疗前;B:治疗后 1mo;C:治疗后 6mo;D:治疗后 12mo。

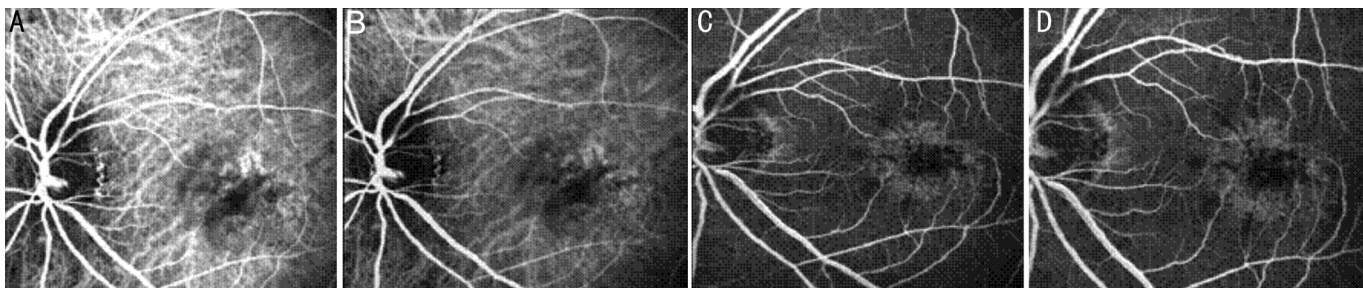


图2 治疗前后 FFA 检查结果 A:治疗前;B:治疗后 1mo;C:治疗后 6mo;D:治疗后 12mo。

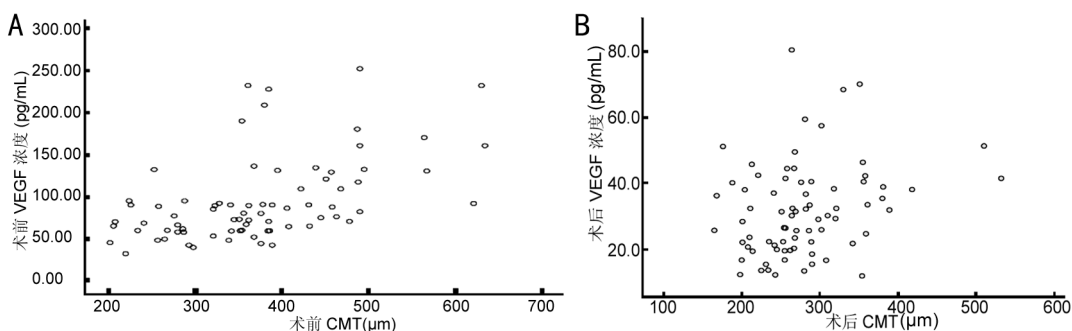


图3 治疗前后 VEGF 浓度和 CMT 的相关性 A:治疗前;B:治疗后。

表1 治疗前后中心视网膜厚度的比较

时间	眼数	CMT	($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$)	
			与治疗前相比	
			<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	76	417.45±108.64		
治疗后 1mo	76	281.50±70.36	13.752	<0.01
治疗后 6mo	76	282.50±58.31	13.683	<0.01
治疗后 12mo	76	301.50±43.28	10.224	<0.01

后($31.89 \pm 14.14 \text{ pg/mL}$)与治疗前相比,前房房水中的 VEGF 浓度较治疗前明显降低,经统计学分析差异有统计学意义($t = 12.098, P < 0.01$)。由图3得知:治疗前 VEGF 浓度与视网膜中心凹厚度具有正相关性($r = 0.508, P < 0.01$);治疗后 VEGF 浓度与视网膜中心凹厚度具有正相关性($r = 0.267, P = 0.006$)。

2.4 患者眼压变化与术后并发症 治疗后患者平均眼压为 $16.24 \pm 2.02 \text{ mmHg}$,无眼压高于 21.0 mmHg 者。3 眼(4%, 3/76)患者出现球结膜下出血,2 眼(3%, 2/76)患者发生角膜上皮擦伤,这可能与术者操作过程不够精细有关;随访期间未发生眼内炎、视网膜裂孔、视网膜脱离、视网膜血管阻塞、心脑血管疾病等并发症。

3 讨论

AMD 是导致老年人视力损伤的主要原因之一,随着我国人口结构的老龄化,AMD 患病率逐年上升^[5-6]。2010 年一项全球范围的统计数据显示,15 例盲人中有 1 例患有黄斑疾病,32 例视力受损患者中有 1 例患黄斑疾病,且黄斑疾病的致盲率逐年上升^[7]。

有学者研究,在大于 50 岁的人群中,AMD 的患病率为 5.8%,大于 80 岁的人群中高达 17.6%^[8]。随着我国人口老龄化的发生,使 AMD 的患病率也随之升高,赵家良等^[9]报道的北京顺义县 50 岁及其以上人群眼底改变者占 15.10%。

AMD 的特点是都存在活动性 CNV,造成患者视力不可逆的损伤,严重影响患者的生活质量。青海省西宁市地处高海拔地区,西宁市平均海拔为 2 295m,空气稀薄,氧分压低,大气含量只占海平面地区的 75% 左右。陈玉华等^[10]研究发现,湿性 AMD 在高海拔地区的发病率较高。本研究中所有患者均来自海拔 2 200m 以上的地区。

雷珠单抗是全球公认的治疗 wAMD 的有效药物,同时也是治疗新生血管最关键有效的靶点之一^[11-12]。在 CNV 的发生发展过程中,VEGF 起着不可忽视的调节作用,当机体全身或局部出现缺血、缺氧时,VEGF 的合成与分泌会大大增加,血管内皮细胞发生侵袭、迁移、增殖和管腔形成等步骤,形成新生血管^[13]。研究表明,VEGF 的表达受局部氧浓度的影响,参与缺氧诱导的视网膜新生血管形成。暴露于缺氧环境下 24h 内,视网膜 VEGF 上调,提示视网膜缺氧性病早期出现促血管生成因子的表达变化^[14]。

近年来玻璃体腔注射抗 VEGF 药物治疗眼底 CNV 被越来越多地应用于临床,比较常用的主要包括雷珠单抗、贝伐单抗、康柏西普和阿柏西普等。雷珠单抗是一种血管生成因子抑制剂^[15],能够与血管内皮因子-A 紧密结合,从而发挥抑制新生血管的作用。目前,我国雷珠单抗已经被批准用于湿性年龄相关性黄斑变性的治疗。然而,在高

海拔地区关于治疗 wAMD 的远期疗效及房水中 VEGF 含量改变的报道不多。

通过对 76 例患者进行分析,我们得出结果:(1)治疗后 1mo 临床有效率为 84% ,6mo 临床有效率为 79% ,12mo 临床有效率为 66% ;(2)检测 wAMD 患者房水中 VEGF 含量 ($95.48 \pm 50.09 \text{ pg/mL}$) 较正常对照组 ($43.01 \pm 16.17 \text{ pg/mL}$) 明显升高,有统计学差异 ($P < 0.05$);较美国学者 Roh 等^[16] 检测的 wAMD 患者房水浓度 ($68.0 \pm 32.1 \text{ pg/mL}$) 升高,这可能与我们的患者长期久居高海拔地区这种缺氧的环境有关;经雷珠单抗注射液治疗后 1mo,房水中 VEGF 浓度 ($31.89 \pm 14.14 \text{ pg/mL}$) 较治疗前明显降低,有统计学差异 ($P < 0.05$)。(3)房水中 VEGF 的浓度与中心凹视网膜的厚度具有正相关性,有统计学差异 ($P < 0.05$)。

随访期间,3 眼 (4% ,3/76) 患者出现球结膜下出血,2 眼 (3% ,2/76) 患者发生角膜上皮擦伤,这可能与术者操作过程不够精细有关;2 眼患者因治疗效果欠佳,予以出组后重新纳入了新患者;2 眼患者进行了 5 次注药;8 眼患者进行了 4 次注药;10 眼患者进行了 3 次注药;治疗期间,治疗组 76 眼患者未发生眼内炎、视网膜裂孔、视网膜脱离、视网膜血管阻塞、心脑血管疾病等并发症。因大部分患者为进行第 3 次注药,故而未能进行第 2 次注药后房水中 VEGF 浓度的检测。

本研究未能将高原地区正常患者与 wAMD 患者前房水浓度与平原地区相比较,是本研究的不足,在以后的研究中我们将完成此项工作。

参考文献

- 1 Tuo J, Ross RJ, Herzlich AA, et al. A high omega-3 fatty acid diet reduces retinal lesions in a murine model of macular degeneration. *Am J Pathol* 2009;175(2):799
- 2 Wang ZY, Zhao KK, Song ZM, et al. Erythropoietin as a novel therapeutic agent for Atrophic age-related macular degeneration. *Med Hypotheses* 2009;72(4):4-48
- 3 郑燕林,彭晓丽,陈廷,等. Lucentis 治疗黄斑脉络膜新生血管 1 年的临床疗效观察. *眼科新进展* 2016;36(3):348-351

- 4 赵培泉,许宇,黄欣,等. 玻璃体内注射抗血管内皮生长因子单克隆抗体 Ranibizumab 治疗脉络膜新生血管疗效观察. *中华眼底病杂志* 2008;24(3):217-218
- 5 Ye H, Zhang Q, Liu X, et al. Prevalence of age related macular degeneration in an elderly urban Chinese population in china; the jiangning eye study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(10):6374-6380
- 6 Yang K, Liang YB, Gao LQ, et al. Prevalence of age related macular degeneration in a rural Chinese population; the handan eye study. *Ophthalmology* 2011;118(7):1395-1401
- 7 Jonas JB, Bourne RR, White RA, et al. Visual impairment and blindness due to macular diseases globally: a systematic review and meta-analysis. *Am J Ophthalmol* 2014;158(4):808-815
- 8 Varma R, Choudhury F, Chen S, et al. Prevalence of Age-Related Macular Degeneration in Chinese American Adults: The Chinese American Eye Study. *JAMA Ophthalmol* 2016;134(5):571-577
- 9 赵家良,贾丽君. 北京市顺义县 50 岁及以上人群中盲患病率调查. *中华眼科杂志* 1999;35(5):341
- 10 陈玉华,申齐奎,张泓宇. 高原地区老年性黄斑变性. *实用眼科杂志* 1993;11(4):247-248
- 11 Zheng B, Li T, Chen H, et al. Correlation between ficolin-3 and vascular endothelial growth factor-to-pigment epithelium-derived factor ratio in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2011;152:1039-1043
- 12 Zheng Z, Chen H, Ke G, et al. Protective effect of perindopril on diabetic retinopathy is associated with decreased vascular endothelial growth factor-to-pigment epithelium-derived factor ratio: involvement of a mitochondria-reactive oxygen species pathway. *Diabetes* 2009;58:954-964
- 13 Auerbach R, Lewis R, Shinnors B, et al. Angiogenesis assays: a critical overview. *Clin Chem* 2003;49:32-40
- 14 张琼,周颖明,张士胜,等. 氧诱导小鼠视网膜组织 VEGF 和 iNOS 的早期表达及意义. *眼科研究* 2007;25(7):485-488
- 15 吴晓彤,潘磊,唐超智. 单克隆抗体抗肿瘤药物研究进展及其市场动态. *新乡医学院学报* 2011;28(4):520-523
- 16 Roh MI, Lim SJ, Ahn JM, et al. Concentration of cytokines in age-related macular degeneration after consecutive intravitreal bevacizumab injection. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248(5):635-640