

## 2 型糖尿病神经病变患者血清 IL-6、8-iso-PGF2 $\alpha$ 检测及意义 \*

阮园 谢晓竞 马建华 $\Delta$  郭琳 王敏

(南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)内分泌科 江苏 南京 210012)

**摘要** 目的 探讨 2 型糖尿病神经病变(DPN)患者血清 IL-6、8-iso-PGF2 $\alpha$  水平的变化及意义。方法 选择 2 型糖尿病患者伴神经病变的患者 55 例,单纯 2 型糖尿病不伴有神经病变的患者 25 例,另选 25 例体检健康者作为对照组。采用 ELISA 法分别测定各组血清 IL-6、8-iso-PGF2 $\alpha$  水平。结果 血清 IL-6、8-iso-PGF2 $\alpha$  水平在糖尿病组和糖尿病神经病变组均较对照组显著升高,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。DN 组 8-iso-PGF2 $\alpha$  较 DM 组显著升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );但 IL-6 在两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 IL-6 在糖尿病神经病变发病中的作用不能肯定。8-iso-PGF2 $\alpha$  可能通过氧化应激作用参与糖尿病神经病变的发生发展。

**关键词** 糖尿病 周围神经病变 白细胞介素 -6  $\beta$ - 异前列腺素 F2a

**中图分类号** R587.2 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)16-3138-03

## Determination and Clinical Significance of Serum IL-6 and 8-iso-PGF2 $\alpha$ in Patients with Diabetic Peripheral Neuropathy\*

RUAN Yuan, XIE Xiao-jing, MA Jian-hua $\Delta$ , GUO Lin, WANG Min

(Department of Endocrinology, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210006, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the levels and clinical significance of serum IL-6, 8-iso-PGF2 $\alpha$  in diabetic peripheral neuropathy patients. **Methods:** 25 DM (Diabetic Mellitus) patients, 55 DN (Diabetic Neuropathy) patients, and 25 health people were chosen. Serum IL-6, in the 3 groups were detected through ELISA. **Results:** Serum IL-6 and 8-iso-PGF2 $\alpha$  level were significantly higher in the DM and DN groups than the control group ( $P<0.05$ ); Serum IL-6 level was higher in the DN group than in the DM group, but there was no significantly difference between two groups ( $P>0.05$ ); Serum 8-iso-PGF2 $\alpha$  level was significantly higher in the DN group than in DM group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** This research showed the 8-iso-PGF2 $\alpha$  had effect on the diabetes and diabetes nerve pathological changes. But it was not considered that IL-6 had effect on DN.

**Key words:** Diabetes Mellitus; Diabetic Neuropathy; IL-6; 8-iso-PGF2 $\alpha$

**Chinese Library Classification (CLC):** R587.2 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2012)16-3138-03

### 前言

糖尿病神经病变是糖尿病常见的慢性并发症,患病率高达 60%~90%,其临床表现为感觉障碍、感觉过敏、肢体疼痛,重者感觉减退甚至消失,是糖尿病足发生的重要原因之一,甚至会发生足溃疡、坏死甚至截肢,严重影响患者的生活质量,甚至致残、死亡<sup>[1-5]</sup>。目前该病的发病机制尚不完全清楚,最近研究表明,炎症和氧化应激可能在糖尿病神经病变的发生、发展中起重要作用<sup>[6-11]</sup>。白细胞介素 -6(IL-6)是具有广泛生物学功能的炎性细胞因子。8- 异前列腺素 F2a(8-iso-PGF2 $\alpha$ )是近年来新发现的异前列腺素类代谢产物,被认为是评价机体氧化应激的理想指标<sup>[12-14]</sup>。本研究拟在无并发症的 2 型糖尿病患者、糖尿病神经病变患者、及正常人群中进行血 IL-6、8-iso-PGF2 $\alpha$  的水平测定,旨在从炎症和氧化应激的角度探讨糖尿病神经病变的发病机制。

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究对象

选择 2010 年 11 月至 2011 年 9 月在南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)内分泌科门诊已确诊的 2 型糖尿病患者 80 例,均符合 1999 年 WHO 诊断标准,空腹血糖  $\geq 7.0$  和(或)餐后 2h 血糖  $\geq 11.1$  mmol/L。均经控制饮食或口服降糖药或使用胰岛素控制血糖,血糖控制平稳至少一月。根据有无神经病变分为以下两组:单纯 2 型糖尿病组(DM) 无并发症,肌电图检查无异常,25 例,其中男性 18 例,女性 7 例,平均年龄  $53.5 \pm 3.6$  岁,平均病程  $9.3 \pm 5.0$  年。2 型糖尿病伴神经病变组(DN) 伴有肢体感觉障碍或疼痛、肌电图检查受累神经传导速度减慢,除其他原因导致的周围神经病变。共 55 例,其中男性 32 例,女性 23 例,平均年龄  $54.2 \pm 4.3$  岁,平均病程  $9.8 \pm 5.6$  年。另设健康对照组(C 组) 选自同一时间段体检的健康人 25 例,无血糖及血脂异常,无周围神经病变。其中男性 17 例,女性 8 例,平均年龄

\* 基金项目 江苏省自然科学基金项目(BK2010121)

作者简介 阮园(1982),女,硕士,主要研究方向 内分泌与代谢病。E-mail: zhuisy8268@yahoo.com.cn

$\Delta$  通讯作者 马建华,男,主任医师,内分泌科主任,主要研究方向 糖尿病等各类内分泌疾病的诊治。

E-mail: majianhua@china.com

(收稿日期 2012-03-17 接受日期 2012-04-12)

52.6± 3.2 岁。排除标准 ①合并糖尿病急性并发症 ②有严重心脑血管并发症,合并感染 ③存在明显的肝肾功能损害 ④妊娠期妇女 ⑤除外其他原因导致的周围神经病变。

1.2 研究方法

(1)测身高、体重 受试者清晨空腹排尿后仅着内衣赤足测定身高和体重 3 次,取平均值,体重指数(BMI)= 体重(kg)/ 身高<sup>2</sup>(m<sup>2</sup>)。 (2)相关指标测定:FPG、餐后血糖(PBG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG) 由美国柯达 750 型干式全自动生化分析仪测定。HbA1c 使用 BIO-RAD 自动分析仪(美国伯乐公司)。 (3)全部受试者采血前禁食 12h 以上,清晨空腹采血 5 ml,EDTA 抗凝,迅速离心(5 000 r/min),分离血清后,置 -20℃ 保存。采用 ELISA 法测定血清 IL-6 及 8-iso-PGF2α 水平,IL-6 ELISA 试剂盒购自武汉优尔生科技股份有限公司,8-iso-PGF2α ELISA 购自美国

CAYMAN 公司。由专人操作,操作方法严格按照说明书进行。

1.3 统计学处

数据用均值± 标准差( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,3 组间比较采用单因素方差分析,性别比较采用 X<sup>2</sup> 检验,指标间的关系判定采用 Pearson 相关分析。用 SPSS19.0 软件包进行统计分析。所有结果在 P<0.05 时被认为有统计学意义。

2 结果

2.1 统计学处

本研究 DM 组、DN 组和正常对照组的临床资料如表 1 所示。3 组间个体在性别、年龄、体重指数、收缩压、舒张压、甘油三酯及总胆固醇差异无统计学意义(P>0.05)。DM 组和 DN 组空腹及 HbA1c 均显著高于常对照组(P<0.05)。

表 1 DM 组、DPN 组和正常对照组的临床资料

Table 1 Clinical data of DM group, DPN group and normal control group

| 组别<br>Group | 年龄(岁)<br>Age | 性别<br>(男/女) | BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> ) | 收缩压<br>(mmHg)Systolic | 舒张压<br>(mmHg) | FPG<br>(mmol/L)       | HbA1c<br>(%)          | TG<br>(mmol/L) | TC<br>(mmol/L) |
|-------------|--------------|-------------|-----------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| DM 组        | 53.5± 3.6    | 18/7        | 24.8± 3.6                   | 134.4± 9.3            | 83.2± 5.1     | 8.0± 1.4 <sup>a</sup> | 7.9± 1.3 <sup>a</sup> | 1.5± 0.8       | 4.9± 1.3       |
| DN 组        | 54.2± 4.3    | 32/23       | 25.6± 2.9                   | 135.2± 11.1           | 84.0± 5.0     | 7.9± 2.1 <sup>a</sup> | 8.1± 1.4 <sup>a</sup> | 1.9± 1.6       | 5.2± 1.1       |
| C 组         | 52.6± 3.2    | 17/8        | 24.7± 3.0                   | 131.6± 9.3            | 80.9± 7.6     | 4.5± 0.5              | 5.4± 1.2              | 1.4± 0.6       | 4.7± 1.4       |

注 BMI 体重指数 ;FPG 空腹血糖 ;HbA1c 糖化血红蛋白 ;TC 总胆固醇 ;TG :甘油三酯 ;a 与正常对照组比较,P<0.05。

Note: BMI: body mass index; FPG: fasting plasma glucose; of HbA1c: glycated hemoglobin; TC: total cholesterol; TG: triglycerides; a: compared with normal control group (P <0.05)

2.2 IL-6 及 8-iso-PGF2α 检测水平

血清 IL-6 及 8-iso-PGF2α 在 DM 组和 DN 组均较健康对照组明显升高,差异有统计学意义 (P<0.01) ,且 8-iso-PGF2α 水

平在 DN 组较 DM 组显著升高 (P<0.05) 而血清 IL-6 水平虽然在 DN 组较 DM 组有升高,但差异无统计学意义(P>0.05) ,见表 2。

表 2 DM 组、DN 组和正常对照组间血清 IL-6、8-iso-PGF2α 值

Table 2 Value of serum IL-6, 8-iso-PGF2α in DM group, DN group and normal control group

| 组别 Group | 例数 (n) | IL-6 (ng/mL)            | 8-iso-PGF2α(pg/mL)        |
|----------|--------|-------------------------|---------------------------|
| DM 组     | 25     | 33.2± 25.9 <sup>a</sup> | 83.5± 55.5 <sup>a</sup>   |
| DN 组     | 55     | 47.4± 40.0 <sup>a</sup> | 182.8± 97.8 <sup>ab</sup> |
| C 组      | 25     | 9.4± 5.2                | 30.7± 14.5                |

注 a 与正常对照组比较,P<0.05 b 与 DM 组比较,P<0.05。

Note: a: compared with normal control group (P <0.05); b: compared with DM group (P <0.05)

对 DN 组患者组血清 IL-6 水平和 8-iso-PGF2α 水平进行相关分析,发现两者之间无相关关系(r=0.262, P=0.062)

3 讨论

糖尿病神经病变是糖尿病最常见的并发症之一,目前多认为在慢性高血糖的基础上多种因素直接或间接作用于神经组织引起,包括多元醇-肌醇途径、蛋白糖基化异常、氧化应激、脂肪代谢异常、微血管病变等。最近研究发现,其中炎症和氧化应激的病理生理变化在起到重要作用,其中炎症因子 IL-6 是一种由 T 细胞、巨噬细胞、成纤维细胞等自发或诱发生成的多功能细胞因子,通过诱导多种细胞合成和分泌多种急性期蛋白,促进 T 细胞增殖、分化,使反应性氧介质(ROS)、脂质过氧化和细胞因子增加。IL-6 受血糖调节,高血糖时可促进胰岛细胞

分泌 IL-6,而 IL-6 可促进 B 淋巴细胞分化,产生大量 IgG,进而促进杀伤性 T 淋巴细胞克隆的过度激活,此作用与其他细胞因子和效应分子产生的细胞毒作用共同引起胰岛 B 细胞死亡<sup>[15]</sup>。本文结果显示,DN 组及 DM 组病人血清 IL-6 水平高于健康对照组,提示糖尿病病体内有炎症反应,而 DM 组与 DN 组病人之间血清 IL-6 水平无明显差别。说明糖尿病人的炎症反应水平并不是随病情加重而升高,故不能通过测定体内 IL-6 的水平来监测 T2DM 的病情进展,以及作为糖尿病神经病变监测指标。

氧化应激是指机体内高活性分子如活性氧簇(ROS)产生过多或消除减少,在糖尿病并发症中处于核心地位,它是引起胰岛抵抗、糖尿病神经和微血管并发症的“共同土壤”。DN 的发生与进展是细胞氧化应激导致多个代谢途径受损的最终结

果,其中线粒体与细胞内氧化应激和生化途径受损起关键作用<sup>[16]</sup>。8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 是自由基催化生物膜上的花生四烯酸发生脂质过氧化(非酶促反应)后的特异性产物。其具有多种生物学功能<sup>[17,18]</sup>,主要包括①具有选择性收缩血管的作用;②刺激血管内皮细胞的分化、DNA的合成和内皮素-1的表达;③促进血小板黏附、聚集和变形;④在炎症反应早期可通过直接作用或第二信使系统促使单核细胞黏附于微血管内皮细胞,导致内皮受损。由于8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 在体内生成且结构稳定,不受食物脂质含量的影响,特异性强,能灵敏反映体内氧化应激水平并与疾病严重程度相关,是评价氧化应激理想的生物指标。本文结果显示,DN组及DM组病人血清8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 水平显著高于健康对照组,提示糖尿病病人体内有明显的氧化应激,而DN组病人血清8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 水平显著高于DM组,提示氧化应激水平随病情加重升高,故提示可以通过测定体内8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 的水平来监测T2DM的病情进展,作为糖尿病神经病变的监测指标。

近来研究也表明了糖尿病时高血糖可通过多元醇途径使醛糖还原酶(aldose reductase,AR)活性增强、糖基化终末产物(AGEs)合成增多。AGEs和RAGE结合后,可以导致内皮细胞的氧化应激,引起GSH减少,从而导致NF-KB途径的激活<sup>[19,20]</sup>。激活的NF-KB参与多种炎症性细胞因子的产生、成纤维细胞的增生分化、细胞外基质交联及神经细胞凋亡等过程并且激活了诱导型一氧化氮合酶(iNOS),从而合成了大量的NO,导致神经细胞凋亡、死亡。说明炎症与氧化应激共同参与了糖尿病神经病变发生、发展。但是本实验结果发现,DN组血清IL-6水平并没有随8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 水平的增加而同步增加,相关分析结果发现各患者组血清IL-6水平和8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 水平之间无相关关系,表明IL-6水平的升高可能不是8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 水平升高的独立影响因素。

综上所述,T2DM周围神经病变病人体内存在明显的炎症反应及氧化应激反应,IL-6及8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 在DN的发生、发展中起重要作用,其中8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 水平可作为DN病情进展的监测指标。

#### 参考文献(References)

- [1] Davies M, Brophy S, Williams R, et al. The prevalence, severity, and impact of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29(7): 1518-1522
- [2] Van Acker K, Bouhassira D, De Bacquer D, et al. Prevalence and impact on quality of life of peripheral neuropathy with or without neuropathic pain in type 1 and type 2 diabetic patients attending hospital outpatients clinics[J]. Diabetes Metab, 2009, 35(3): 206-213
- [3] Argoff CE, Cole BE, Fishbain DA, et al. Diabetic peripheral neuropathic pain: clinical and quality-of-life issues [J]. Mayo Clin Proc, 2006, 81(4): 3-11
- [4] Veves A, Backonja M, Malik RA. Painful diabetic neuropathy: epidemiology, natural history, early diagnosis, and treatment options[J]. Pain Med, 2008, 9(6): 660-674
- [5] Casellini CM, Vinik AI. Clinical manifestations and current treatment options for diabetic neuropathies. Endocr Pract, 2007, 13(5): 550-566
- [6] Kawamura N, Dyck PJ, Schmeichel AM, et al. Inflammatory mediators in diabetic and non-diabetic lumbosacral radiculoplexus neuropathy[J]. Acta Neuropathol, 2008, 115(2): 231-239
- [7] Dyck PJ, Windebank AJ. Diabetic and nondiabetic lumbosacral radiculoplexus neuropathies: new insights into pathophysiology and treatment[J]. Muscle Nerve, 2002, 25(4): 477-491
- [8] Kawamura N, Dyck PJ, Schmeichel AM, et al. Inflammatory mediators in diabetic and non-diabetic lumbosacral radiculoplexus neuropathy[J]. Acta Neuropathol, 2008, 115(2): 231-239
- [9] Thaisetthawatkul P, Dyck PJ. Treatment of diabetic and nondiabetic lumbosacral radiculoplexus neuropathy[J]. Curr Treat Options Neurol, 2010, 12(2): 95-99
- [10] Hirai A, Yasuda H, Joko M, et al. Evaluation of diabetic neuropathy through the quantitation of cutaneous nerves [J]. J Neurol Sci, 2000, 172(1): 55-62
- [11] Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2008, 9(4): 301-314
- [12] Sibal L, Agarwal SC, Schwedhelm E, et al. A study of endothelial function and circulating asymmetric dimethylarginine levels in people with Type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria[J]. Cardiovasc Diabetol, 2009, 1(8): 8-27
- [13] Hoste EA, Kellum JA. Incidence, classification and outcomes of acute kidney injury[M]. Contrib Nephrol, 2007, 156: 32-38
- [14] Yasuda S, Miyazaki S, Kanda M, et al. Intensive treatment of risk factors in patients with type-2 diabetes mellitus is associated with improvement of endothelial function coupled with a reduction in the levels of plasma asymmetric dimethylarginine and endogenous inhibitor of nitric oxide synthase[J]. Eur Heart J, 2006, 27(10): 1159-1165
- [15] Brinkmann C, Neumann E, Blossfeld J, et al. Influence of glycemic status and physical fitness on oxidative stress and the peroxiredoxin system in the erythrocytes of non-insulin-dependent type 2 diabetic men[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2011, 119(9): 559-564
- [16] Shalbaya S, Amer H, Seddik S. Study of the role of interleukin-6 and highly sensitive C-reactive protein in diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012, 2, 16(2): 176-182
- [17] Van de Ree, Huisma M. Strong decrease of Interleukin-6 with high-dose atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Atherosclerosis, 2003, 166: 129-135
- [18] TSIKAS D. Handling of commercially available enzyme immunoassays for 8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  (8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , iPF<sub>2</sub> $\alpha$ -III, 15-F<sub>2</sub>t-IsoP) in clinical research and science: considerations from the analytical and review point of view [J]. Clin Chim Acta, 2004, 344 (1/2): 215-217
- [19] Figueroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: The oxidative stress theory of diabetic neuropathy [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2008, 9(4): 301-314
- [20] Busik JV, Mohr S, Grant MB. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species toxicity to endothelial cells is dependent on paracrine mediators[J]. Diabetes, 2008, 57(7): 1952-1965