

皮肤 E2F6 蛋白表达水平与糖尿病周围神经病变患者预后的相关性研究

杨敏慧¹, 刘爱群², 李金海³, 向光红⁴

摘要 目的:探讨皮肤 E2F6 蛋白表达水平与糖尿病周围神经病变(DPN)患者病情的相关性。**方法:**纳入 2 型糖尿病(DM)患者 160 例,根据有无周围神经病变分为无病变 DM 组和 DPN 组,各 80 例。健康人 80 例纳入对照组。比较各组外周血空腹血糖(FBS)、糖化血红蛋白(GHb)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、胰岛素、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)及皮肤组织 E2F6 蛋白表达。**结果:**无病变 DM 组及 DPN 组的 FBS、GHb、空腹胰岛素、TG 和 TC 水平明显高于对照组(均 $P<0.05$)。DPN 组 GHb、空腹胰岛素、TG、TC 水平高于对照组(均 $P<0.05$),无病变 DM 组及 DPN 组 FBS 差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比,无病变 DM 组、DPN 组 SOD、GSH-Px 和 E2F6 蛋白水平较低,MDA 水平较高,差异有统计学意义($P<0.05$);与无病变 DM 组比,DPN 组 SOD、GSH-Px 和 E2F6 蛋白水平较低,MDA 水平较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**E2F6 蛋白水平的降低可能与 DPN 的发生发展有关。

关键词 糖尿病周围神经病变;E2F6 蛋白;氧化应激

中图分类号 R741;R741.02;R745 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2019.08.016

杨敏慧, 刘爱群, 李金海, 等. 皮肤 E2F6 蛋白表达水平与糖尿病周围神经病变患者预后的相关性研究[J]. 神经损伤与功能重建, 2019, 14(8): 423-424.

作者单位

1. 海口市人民医院
神经内科
海南 海口 570208
2. 广东药科大学附属第一医院神经内科
广州 510008
3. 海口市人民医院
西院内科
海南 海口 570208
4. 湖南省第二人民医院神经内科
长沙 410007

收稿日期

2018-11-03

通讯作者

向光红
zhg3211596@163.com

糖尿病周围神经病(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)常见的并发症之一,主要表现为手套长袜样分布的肢端疼痛、麻木、无力等,晚期可致残^[1]。慢性高血糖引起活性氧水平增高,导致机体处于氧化应激状态,损伤神经元和轴突,促进 DPN 发生^[2]。E2F 是转录因子,参与细胞周期控制、增殖分化和凋亡等。E2F6 是 E2F 家族成员,可能与低氧诱导的细胞凋亡有关^[3]。本研究通过检测皮肤的 E2F6 表达,探讨 E2F6 蛋白表达水平与 DPN 预后的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2016 年 1 月至 2017 年 12 月我科收治的 2 型 DM 患者 160 例,均符合 WHO 关于 DM 的诊断标准^[4],根据有无周围神经病变将 DM 患者分为无病变 DM 组和 DPN 组。无病变 DM 组 80 例,男 38 例,女 42 例;年龄 41~79 岁,平均(55.34±8.56)岁;平均病程(8.97±2.21)年。DPN 组 80 例,男 37 例,女 43 例,年龄 42~80 岁,平均(54.64±5.82)岁;平均病程(16.67±3.81)年。同期在本院就诊疑似小纤维神经病变后排除疾病的健康人 80 例纳入对照组,男 40 例,女 40 例;年龄 43~78 岁,平均(56.01±7.71)岁。DPN 组纳入标准:DM 诊断明确;存在周围神经病变的临床和(或)电生理证据^[4];缓慢进展型周围神经病变。排除标准:营养障碍、化学物质损害、药物中毒等所引起周围神经病变;慢性炎症性脱髓鞘性多发性周围神经病;结缔组织病;并发 DM 急重并发症;恶性肿瘤。各组年龄、性别等一般资料差异无

统计学意义($P>0.05$);DPN 组的病程长于无病变 DM 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 血液指标 采集所有研究对象的清晨空腹血,采用全自动生化分析仪(西门子 ADVIA 2400)检测空腹血糖(fasting blood sugar, FBS)、糖化血红蛋白(glycated hemoglobin, GHb)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC);采用化学发光法(DADE-AR 全自动分析仪)检测胰岛素水平;采用二硫代硝基苯甲酸比色法检测谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px);采用黄嘌呤氧化酶法检测超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD);采用硫代巴比妥法检测丙二醛(maleic dialdehyde, MDA)。

1.2.2 皮肤 E2F6 蛋白定性和定量表达测定 常规皮肤消毒,切至真皮组织,取长约为 0.5 cm,厚约 0.2 cm 的皮肤组织。采用免疫组化 SP 法检测皮肤组织的 E2F6 蛋白,羊抗人 E2F6 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),E2F6 阳性染色为黄色或棕黄色,表达部位在细胞质和(或)细胞核。阳性细胞的染色强度按无色、浅黄色、黄色和棕黄色分别计为 0、1、2、3 分;阳性细胞数计分:无阳性细胞 0 分,1%~10%计 1 分,11%~50%计 2 分,51%~80%计 3 分,≥81%计 4 分;染色强度和阳性细胞数的乘积 0~3 分为阴性,≥4 分为阳性。采用 CMIAS 真彩色病理图像分析系统进行形态学定量分析表达强度。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示, t 检验或单因素方差分析;计数资料以率表示, χ^2 检

验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组生化指标情况

无病变DM组及DPN组的FBS、GHb、空腹胰岛素、TG和TC水平均明显高于对照组(均 $P<0.05$)。DPN组的GHb、空腹胰岛素、TG、TC水平均高于对照组(均 $P<0.05$),无病变DM组及DPN组FBS差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 各组的生化指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	FBS/(mmol/L)	GHb/%
对照组	80	4.31±1.22	4.28±0.54
无病变DM组	80	11.66±3.39 ^①	9.79±2.31 ^①
DPN组	80	12.89±4.51 ^①	13.84±3.35 ^{①②}

组别	空腹胰岛素/(mIU/L)	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)
对照组	8.89±2.75	1.28±0.32	4.34±1.33
无病变DM组	12.96±3.11 ^①	3.79±1.19 ^①	6.38±1.28 ^①
DPN组	15.97±3.41 ^{①②}	4.95±1.74 ^{①②}	7.85±1.60 ^{①②}

注:与对照组比较,^① $P<0.05$;与无病变DM组比较,^② $P<0.05$

2.2 各组氧化应激指标及皮肤E2F6蛋白表达比较

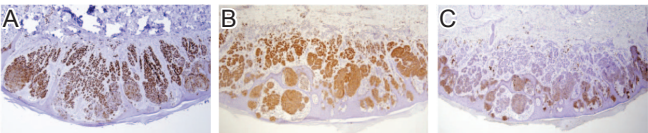
与对照组比,无病变DM组、DPN组的SOD、GSH-PX和E2F6蛋白水平较低,MDA水平较高($P<0.05$);与无病变DM组比,DPN组的SOD、GSH-PX和E2F6蛋白水平较低,MDA水平较高($P<0.05$),见表2、图1。

表2 各组氧化应激指标及E2F6蛋白比较

组别	例数	SOD/(mg/L, $\bar{x}\pm s$)	GSH-PX/(mg/L, $\bar{x}\pm s$)
对照组	80	126.25±24.23	224.07±32.08
无病变DM组	80	106.88±13.58 ^①	179.33±30.59 ^①
DPN组	80	79.64±18.75 ^{①②}	143.26±23.88 ^{①②}

组别	MDA/(nmol/L, $\bar{x}\pm s$)	E2F6	
		阳性率/[例(%)]	蛋白定量/($\bar{x}\pm s$)
对照组	12.76±1.67	50(62.50)	0.24±0.15
无病变DM组	17.63±3.64 ^①	37(46.25) ^①	0.15±0.13 ^①
DPN组	25.24±3.31 ^{①②}	24(30.00) ^{①②}	0.07±0.12 ^{①②}

注:与对照组比较,^① $P<0.05$;与无病变DM组比较,^② $P<0.05$



注:(A)对照组,(B)无病变DM组,(C)DPN组

图1 各组皮肤的E2F6蛋白比较

3 讨论

由于长期未控制高血糖,引发微循环改变、神经营养因子缺乏、自身免疫异常和过量氧化自由基产生等因素而导致DPN^[5]。DM患者产生大量的活性氧簇,激活应激反应元件细胞凋亡通路,并抑制细胞色素氧化酶,影响葡萄糖代谢^[6]。研究表明^[7],醛糖还原酶抑制剂可减轻氧化应激,改善DPN。

核转录因子E2Fs家族可调控细胞有丝分裂,并结合一系列下游基因启动子,与细胞增殖分化、凋亡等重要生命活动有关^[8]。E2F6是E2Fs家族的一员,其可抑制DNA损伤诱导的细胞凋亡作用。相关研究显示,缺氧条件下,E2F6 mRNA和/或蛋白表达降低^[9]。但E2F6在DPN的表达尚未见报道。在本研究中,对照组、无病变DM组、DPN组皮肤的E2F6阳性率分别为62.50%、46.25%和30.00%,呈递减趋势,提示E2F6表达下调使下游基因受到影响,引起细胞周期调控异常。在本研究中,与对照组比,DM患者外周血的SOD和GSH-PX水平较低,MDA水平较高;与无病变DM组比,DPN组外周血SOD和GSH-PX水平较低,MDA水平较高,提示DPN患者的机体氧化应激反应增强。DM患者的氧化应激反应增强,E2F6蛋白水平降低,引起微循环障碍,造成神经营养失调,从而导致DM神经损伤,继而出现典型神经病变症状^[10]。因此,皮肤组织的E2F6和外周血的SOD、GSH-PX和MDA水平有助于判断DPN患者的病情。但皮肤组织E2F6蛋白检测具有侵入性,较难推广,关于皮肤组织E2F6蛋白与DPN的机制仍需进一步研究。

参考文献

[1] 尚国涛,任利. 中西医结合治疗糖尿病周围神经病变的疗效及对氧化应激的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2018, 3: 114-115.
[2] 贺娟,周珺,罗晓红. 糖尿病周围神经病变相关血清标记物研究进展[J]. 中国临床研究, 2018, 31: 682-684.
[3] 于冰,俞娉,吴春丽. 桂哌齐特对糖尿病周围神经病变患者的神经功能及预后的影响分析[J]. 中国农村卫生事业管理, 2018, 38: 686-688.
[4] 中国2型糖尿病防治指南(2017年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38: 292-344.
[5] 黄婴婷,戴标. 2型糖尿病周围神经病变的危险因素分析及治疗对策研究[J]. 中外医学研究, 2018, 16: 65-66.
[6] 白云. 糖尿病慢性并发症的中医治疗进展[J]. 中外医学研究, 2018, 16: 185-186.
[7] 苏晓清,谢勇丽. 糖尿病周围神经病变的治疗[J]. 医学信息, 2018, 31: 1-2.
[8] 曹燕飞,任睿,杨晔,等. miR-185通过调控E2F6抑制肺鳞癌细胞增殖和侵袭[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39: 123-129.
[9] 焦延延,姜崑. FGF19与糖尿病炎症反应和氧化应激的相关研究[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38: 623-627.
[10] 王乐,牛国栋. 初诊2型糖尿病合并周围神经病变与氧化应激和炎症反应的关系研究[J]. 糖尿病新世界, 2017, 20: 169-170.

(本文编辑:唐颖馨)