

· 论 著 ·

血清 Sirt1、Sestrin2 与 2 型糖尿病并发糖尿病周围神经病变患者的关系研究*

关晓燕, 王丽娟, 宁聪华, 闫雪梅, 包建玲

新疆医科大学第一附属医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830054

摘要:目的 探究血清沉默信息调节因子 1(Sirt1)、Sestrin2 与 2 型糖尿病(T2DM)并发周围神经病变(DPN)的关系。方法 选取 2020 年 3 月至 2022 年 3 月新疆医科大学第一附属医院收治的 T2DM 患者 142 例,根据 DPN 发生情况分为非 DPN 组(85 例)和 DPN 组(57 例),另选取同期体检健康者为健康对照组(50 例),对比健康对照组、非 DPN 组、DPN 组血清 Sirt1、Sestrin2 水平,对比非 DPN 组与 DPN 组氧化应激指标[丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)]及外周血单核细胞 Toll 样受体 4(TLR-4)、核转录因子(NF)- κ B 信使核糖核酸(mRNA)表达水平,分析血清 Sirt1、Sestrin2 与 DPN 患者氧化应激指标、外周血单核细胞 TLR-4 和 NF- κ B mRNA 表达水平的相关性,采用单因素和多因素分析 T2DM 发生 DPN 的影响因素。结果 与健康对照组比较,非 DPN 组和 DPN 组血清 Sirt1 水平降低($P < 0.05$),血清 Sestrin2 水平升高($P < 0.05$);与非 DPN 组比较,DPN 组血清 Sirt1、Sestrin2 水平降低($P < 0.05$)。与非 DPN 组比较,DPN 组血清 MDA 及外周血单核细胞 TLR-4、NF- κ B mRNA 表达水平升高($P < 0.05$),血清 SOD 水平降低($P < 0.05$),血清 T-AOC 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。Pearson 检验结果显示,DPN 患者血清 Sirt1、Sestrin2 与 SOD 呈正相关($P < 0.05$),与 MDA、TLR-4、NF- κ B 呈负相关($P < 0.05$)。多因素分析显示,年龄增大(≥ 63 岁)、T2DM 病程偏长(≥ 8 年)、糖化血红蛋白(HbA1c)水平升高($\geq 9\%$)、糖尿病视网膜病变(DR)、高密度脂蛋白(HDL)水平降低(< 1 mmol/L)、Sirt1 降低(< 8 ng/mL)、Sestrin2 降低(< 14 ng/mL)是 DPN 的危险因素($P < 0.05$)。结论 DPN 患者血清 Sirt1、Sestrin2 水平下降,可能与氧化应激、炎症反应过度激活有关,有望成为预测 DPN 风险的分子标志物。

关键词:沉默信息调节因子 1; Sestrin2; 2 型糖尿病; 糖尿病周围神经病变; 氧化应激; TLR-4/NF- κ B 通路

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.18.004

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2023)18-2192-06

文献标志码:A

Relationship between serum Sirt1, Sestrin 2 and type 2 diabetes patients complicated with diabetes peripheral neuropathy*

GUAN Xiaoyan, WANG Lijuan, NING Conghua, YAN Xuemei, BAO Jianling

Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054

Abstract: Objective To explore the relationship between serum silent information regulator 1 (Sirt1), Sestrin 2 and type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients complicated with diabetes peripheral neuropathy (DPN). **Methods** A total of 142 patients with T2DM who were admitted to the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from March 2020 to March 2022 were selected. According to the occurrence of DPN, they were divided into non-DPN group (85 cases) and DPN group (57 cases). In addition, healthy people in physical examination during the same period were selected as healthy control group (50 cases), the serum Sirt1 and Sestrin2 levels in the healthy control group, non-DPN group and DPN group were compared, the oxidative stress indicators [malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (T-AOC), superoxide dismutase (SOD)], peripheral blood mononuclear cells Toll-like receptor 4 (TLR-4) and nuclear transcription factor (NF)- κ B messenger ribonucleic acid (mRNA) expression levels between non-DPN group and DPN group were compared, the correlation between serum Sirt1 and Sestrin2 and oxidative stress indicators, peripheral blood mononuclear cells TLR-4 and NF- κ B mRNA expression levels in patients with DPN was analyzed. Univariate

* 基金项目:国家卫生健康委医药卫生科技发展研究中心课题(W2019ZT761)。

作者简介:关晓燕,女,主治医师,主要从事甲状腺及内分泌疾病的检验、诊断方向的研究。

and multivariate analysis were used to analyze the influencing factors of DPN in T2DM. **Results** Compared with the healthy control group, the serum Sirt1 level in the non-DPN group and DPN group was lower significantly ($P < 0.05$), and the serum Sestrin2 level was higher significantly ($P < 0.05$). Compared with the non-DPN group, the serum Sirt1 and Sestrin2 levels in the DPN group were significantly lower ($P < 0.05$). Compared with non-DPN group, serum MDA and peripheral blood mononuclear cells TLR-4 and NF- κ B mRNA expression levels in the DPN group was significantly higher ($P < 0.05$), serum SOD was significantly lower ($P < 0.05$), and the difference in serum T-AOC in two groups was not statistically significant ($P > 0.05$). Pearson test results showed that serum Sirt1, Sestrin2 were positively correlated with SOD in patients with DPN ($P < 0.05$), and they were negatively correlated with MDA, TLR-4, NF- κ B ($P < 0.05$). Multivariate analysis showed that increased age (≥ 63 years), longer duration of T2DM (≥ 8 years), increased glycated hemoglobin (HbA1c) ($\geq 9\%$), decreased diabetes retinopathy (DR), high-density lipoprotein (HDL) (< 1 mmol/L), decreased Sirt1 (< 8 ng/mL), and decreased Sestrin2 (< 14 ng/mL) were the risk factors for DPN ($P < 0.05$). **Conclusion** The serum Sirt1 and Sestrin2 levels in patients with DPN decreased significantly, which may be related to oxidative stress and over activation of inflammatory reaction, and which may become molecular markers to predict the risk of DPN.

Key words: silent information regulator 1; Sestrin2; type 2 diabetes mellitus; diabetes peripheral neuropathy; oxidative stress; TLR-4/NF- κ B pathway

2 型糖尿病(T2DM)属于一种内分泌代谢综合征,临床表现为多饮、多食、多尿、消瘦或体质量下降,在我国成年人中 T2DM 患病率达 10.9%^[1]。目前 T2DM 尚无根治性手段,若血糖长期得不到有效控制,将导致多种慢性并发症,严重时危及生命安全^[2]。糖尿病周围神经病变(DPN)为 T2DM 并发症之一,发生率为 10%~96%,常见临床症状有感觉障碍(肢端麻木、疼痛、烧灼感等)与肢体改变(关节变形、皮肤溃烂等),足部溃疡严重者需截肢^[3]。因此,研究 DPN 发病的影响因素对于预防或延缓 DPN 具有重要意义。氧化应激和炎症反应在 T2DM 发生发展中扮演着重要角色,被认为是引发其慢性并发症的共同机制^[4-5]:(1)氧化应激可下调细胞质嵌膜蛋白小窝蛋白-1(Cav-1)表达水平,促使 DPN 的发生;(2)前炎症性细胞因子可与细胞外 Toll 样受体 4(TLR4)结合,经由细胞内信号传导激活核转录因子 kappa B(NF- κ B),进而诱导单核、巨噬细胞产生炎症因子,引发炎症反应,最终导致 DPN 的发生。Sestrin2 是一种应激诱导型蛋白,能够参与葡萄糖代谢调节及体内氧化还原稳态,生理条件下表达较低,而在氧化应激时其表达水平可明显上调,以减少活性氧(ROS)累积^[6]。有研究表明,Sestrin2 可通过多种信号途径防御各种病理性改变,如脂质代谢异常、胰岛素抵抗等,并与糖尿病及其并发症的发生密切相关^[7]。沉默信息调节因子 1(Sirt1)是一种多功能蛋白,能够参与调控糖脂代谢及氧化应激、炎症反应,在糖尿病大鼠中呈低表达,并与神经病变有一定联系^[8]。鉴于上述背景,笔者推测 Sirt1、Sestrin2 与 DPN 可能有一定关系,为验证这一猜想,本研究拟分析血清 Sirt1、Sestrin2 与 T2DM 并发 DPN 患者的关系,为临床 T2DM

患者并发 DPN 诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究经新疆医科大学第一附属医院伦理委员会批准,选取 2020 年 3 月至 2022 年 3 月新疆医科大学第一附属医院收治的 T2DM 患者 142 例,根据 DPN 发生情况分为非 DPN 组(85 例)和 DPN 组(57 例),另选取同期体检健康者为健康对照组(50 例)。纳入标准:(1)符合 T2DM 诊断标准^[9];(2)年龄 ≥ 18 岁;(3)T2DM 病程 0.5~20.0 年;(4)无精神系统疾病或其他内分泌疾病;(5)病历资料完整;(6)签署知情同意书。排除标准:(1)1 型糖尿病;(2)有其他病因导致的神经病变如神经压迫、椎管狭窄等;(3)存在交流障碍;(4)合并恶性肿瘤、血液系统疾病、严重感染;(5)妊娠及哺乳期妇女。非 DPN 组中,男 47 例,女 38 例;年龄 27~80 岁,平均(61.62 \pm 8.36)岁;体质量指数(BMI)19~26 kg/m²,平均(22.36 \pm 2.10)kg/m²。DPN 组中,男 35 例,女 22 例;年龄 29~79 岁,平均(64.24 \pm 9.78)岁;BMI 20~26 kg/m²,平均(22.89 \pm 2.43)kg/m²。健康对照组中,男 31 例,女 19 例;年龄 25~79 岁,平均(63.20 \pm 8.83)岁;BMI 19~25 kg/m²,平均(22.24 \pm 2.37)kg/m²。3 组性别、年龄、BMI 差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 T2DM 诊断标准 参照《中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)》^[9]中关于 T2DM 诊断标准:(1)出现典型糖尿病症状(烦渴多饮、多尿、多食、不明原因的体重下降)加上糖负荷后 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L;(2)空腹时的血浆葡萄糖浓度 ≥ 7.0 mmol/L;(3)葡萄糖负荷后 2 h 血糖无典型糖尿病症状者,需改日复查确认,血

浆葡萄糖浓度 ≥ 11.1 mmol/L。

1.2.2 DPN 诊断标准 参照《中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)》^[9] 中关于 DPN 的诊断标准:(1)明确的 T2DM 病史;(2)T2DM 诊断时或之后发生的周围神经病变;(3)临床症状和体征与 DPN 表现符合;(4)存在疼痛、感觉异常、麻木等症状,进行 5 项检查(震动觉、踝反射、针刺痛觉、温度觉、压力觉)时,发现任意 1 项异常;(5)排除其他病变如颈腰椎病变(神经根压迫、椎管狭窄、颈腰椎退行性变),脑梗死,格林-巴利综合征,严重动静脉血管病变(静脉栓塞、淋巴管炎)等,尚需鉴别药物尤其是化疗药物引起的神经毒性作用及肾功能不全引起的代谢毒物对神经的损伤。

1.3 方法

1.3.1 临床资料收集 收集患者的临床资料包括:T2DM 病程、BMI、年龄、性别、吸烟史(每天吸烟 ≥ 1 支且时间 ≥ 6 个月)、饮酒史(每周饮酒 ≥ 1 次且时间 ≥ 6 个月)、糖尿病视网膜病变(DR)发生情况、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、血肌酐(Scr)、糖化血红蛋白(HbA1c)、载脂蛋白 A1(ApoA1)、载脂蛋白 B(ApoB)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)、血清 Sirt1、Sestrin2 等。

1.3.2 外周血指标检测 (1)外周血采集:T2DM 患者于入院次日清晨、体检健康者于体检当日采集空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心处理 30 min,半径 10 cm,分离上层清液,置于冰箱 -20 °C 保存。(2)血清指标检测:采用迈瑞 BS-420 全自动生化分析仪(武汉盛世达医疗设备有限公司)检测血清 TG、TC、LDL、HDL、Scr、HbA1c、ApoA1、ApoB。酶联免疫吸附试验检测血清 Sirt1、Sestrin2 水平,血清 Sirt1 试剂盒购自上海科艾博生物技术有限公司,血清 Sestrin2 试剂盒购自武汉贝茵莱生物科技有限公司。硫代巴比妥酸法检测丙二醛 MDA 水平,试剂盒购自上海富雨生物科技有限公司。黄嘌呤氧化酶法检测 SOD,试剂盒购自武汉赛培生物科技公司。Fe³⁺/Fe²⁺ 还原法检测 T-AOC,试剂盒购自上海酶联生物技术有限公司。

1.3.3 外周血单核细胞 TLR-4 和 NF- κ B 信使核糖核酸(mRNA)表达水平检测 (1)分离外周血单核细胞:Ficoll 密度梯度离心法。向离心管中加入人淋巴细胞分离液 2 mL(杭州联科生物技术股份有限公司),再将 0.9%氯化钠溶液 1 mL(上海源叶生物科技有限公司)与外周静脉血 1 mL 混合后加入离心管中,经 3 500 r/min 离心处理 30 min,收集离心管内 1~2 层交界处(由下至上分为 3 层)的白色云雾状液体(以单核细胞为主),并加至 4 mL 0.9%氯化钠溶液中,以 1 500 r/min 离心处理 10 min,即可获取目的细胞。(2)逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)法检测:Trizol 试剂盒(沈阳万类生物技术有限公司)提取细胞总

RNA,Thermo 超微量紫外分光光度计(北京智杰方远科技有限公司)测 RNA 浓度、纯度,Takara 逆转录试剂盒(温州科森生物科技有限公司)将总 RNA 逆转录为 cDNA。通过 ABI7500PCR 仪(上海实维实验仪器技术有限公司)检测,反应体系(20 μ L)如下,cDNA 1 μ L、2 \times SYBR Green Mix10 μ L、去离子水 7.4 μ L、上下游引物 10 μ mol/L 分别 0.8 μ L。反应条件:95 °C 60 s,95 °C 15 s,60 °C 15 s,72 °C 45 s,循环 40 个。溶解曲线的反应条件为:95 °C 15 s,60 °C 60 s,95 °C 15 s,60 °C 15 s,1.6 °C/s 速度。PCR 扩增产物通过 2%琼脂糖电泳分离,以 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 TLR-4 和 NF- κ B mRNA 相对表达水平。引物序列如下,内参 U6:上游 5'-TTGCCGACAGGATGCAGAA-3',下游 5'-GCCGATCCACACGGAGTACT-3';TLR-4:上游 5'-CTACCCTGCGGAGATCAC-3',下游 5'-TAGGACAGCCAGGCCAGCAACA-3';NF- κ B:上游 5'-TCACCCTGAGATGGGAGC-3',下游 5'-AGCTCTTCCTCCTCCACAT-3'。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。Logistic 回归模型分析 T2DM 发生 DPN 的影响因素,血清 Sirt1、Sestrin2 与 DPN 患者氧化应激指标、外周血单核细胞 TLR-4 和 NF- κ B mRNA 表达水平的相关性分析采用 Pearson 检验。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非 DPN 组与 DPN 组基本资料比较 DPN 组年龄大于非 DPN 组(*P* < 0.05),T2DM 病程长于非 DPN 组(*P* < 0.05),HbA1c 水平高于非 DPN 组(*P* < 0.05),TG、HDL 水平低于非 DPN 组(*P* < 0.05),DR 发生率高于非 DPN 组(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 研究对象基本资料[n(%)或 $\bar{x} \pm s$]

基本资料	非 DPN 组 (85 例)	DPN 组 (57 例)	χ^2/t	<i>P</i>
年龄(岁)	61.62 \pm 8.36	64.24 \pm 9.78	4.330	<0.001
T2DM 病程(年)	5.77 \pm 1.13	11.79 \pm 2.04	20.289	<0.001
BMI(kg/m ²)	22.36 \pm 2.10	22.89 \pm 2.43	1.383	0.168
Scr(mmol/L)	86.82 \pm 15.63	87.79 \pm 16.20	0.357	0.721
HbA1c(%)	7.12 \pm 1.75	10.68 \pm 2.62	9.000	<0.001
TC(mmol/L)	4.46 \pm 0.77	4.48 \pm 1.10	0.119	0.905
TG(mmol/L)	2.48 \pm 0.48	2.16 \pm 0.52	3.766	<0.001
HDL(mmol/L)	1.22 \pm 0.24	0.93 \pm 0.20	7.534	<0.001
LDL(mmol/L)	2.74 \pm 0.66	2.80 \pm 0.64	0.537	0.591
ApoA1(mmol/L)	1.18 \pm 0.28	1.22 \pm 0.26	0.858	0.392

续表 1 研究对象基本资料[n(%)或 $\bar{x} \pm s$]

基本资料	非 DPN 组 (85 例)	DPN 组 (57 例)	χ^2/t	<i>P</i>
ApoB(mmol/L)	0.96±0.23	0.92±0.21	1.051	0.295
DR			41.757	<0.001
无	71(83.53)	17(29.82)		
有	14(16.47)	40(70.18)		
性别			0.521	0.470
男	47(55.29)	35(61.40)		
女	38(44.71)	22(38.60)		
吸烟史			0.416	0.519
无	68(80.00)	43(75.44)		
有	17(20.00)	14(24.56)		
饮酒史			0.294	0.587
无	66(77.65)	42(73.68)		
有	19(22.35)	15(26.32)		

2.2 健康对照组、非 DPN 组、DPN 组血清 Sirt1、

表 3 非 DPN 组与 DPN 组氧化应激指标及外周血单核细胞 TLR-4、NF-κB mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	MDA(nmol/mL)	SOD(U/mL)	T-AOC(U/mL)	TLR-4 mRNA	NF-κB mRNA
非 DPN 组	85	3.90±0.56	79.90±9.63	9.18±2.12	1.35±0.26	2.02±0.47
DPN 组	57	4.85±0.97	72.31±8.16	9.39±2.05	3.52±0.86	4.17±0.98
<i>t</i>		6.685	4.887	0.586	18.492	15.417
<i>P</i>		<0.001	<0.001	0.558	<0.001	<0.001

2.4 分析血清 Sirt1、Sestrin2 与氧化应激指标、外周血单核细胞 TLR-4 和 NF-κB mRNA 表达水平的相关性 Pearson 检验结果显示,血清 Sirt1、Sestrin2 与 SOD 呈正相关($P < 0.05$),与 MDA、TLR-4、NF-κB 呈负相关($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 相关性数据

指标	Sirt1		Sestrin2	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
MDA	-0.526	<0.001	-0.494	<0.001
SOD	0.505	<0.001	0.547	<0.001
TLR-4 mRNA	-0.435	<0.001	-0.460	<0.001
NF-κB mRNA	-0.519	<0.001	-0.511	<0.001

表 5 T2DM 患者发生 DPN 的多因素分析

变量	赋值	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
常数	—	-0.290	0.135	4.635	0.031	—	—
年龄	≥63 岁=1,<63 岁=0	0.227	0.100	5.166	0.023	1.255	1.032~1.526
T2DM 病程	≥8 年=1,<8 年=0	0.855	0.282	9.222	0.002	2.352	1.354~4.083
HbA1c	≥9%=1,<9%=0	0.516	0.146	12.517	<0.001	1.675	1.259~2.230

Sestrin2 水平比较 与健康对照组比较,非 DPN 组和 DPN 组血清 Sirt1 水平降低($P < 0.05$),血清 Sestrin2 水平升高($P < 0.05$);与非 DPN 组比较,DPN 组血清 Sirt1、Sestrin2 水平降低($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 健康对照组、非 DPN 组、DPN 组血清 Sirt1、Sestrin2 水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/mL)

组别	<i>n</i>	Sirt1	Sestrin2
健康对照组	50	14.35±3.09	9.05±2.12
非 DPN 组	85	10.13±2.58*	15.61±3.69*
DPN 组	57	7.15±1.32*#	12.28±2.97*#

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$;与非 DPN 组比较,# $P < 0.05$ 。

2.3 非 DPN 组与 DPN 组氧化应激指标及外周血单核细胞 TLR-4、NF-κB mRNA 表达水平比较 与非 DPN 组比较,DPN 组血清 MDA 及外周血单核细胞 TLR-4、NF-κB mRNA 表达水平升高($P < 0.05$),血清 SOD 水平降低($P < 0.05$),血清 T-AOC 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

2.5 T2DM 患者发生 DPN 的多因素分析 建立非条件 Logistic 回归模型,以本研究资料为样本,以 T2DM 患者发生 DPN 情况为应变量,赋值 DPN=1,非 DPN=0。以前述研究对象基本资料(表 1)中 $P < 0.05$ 的指标和因素为自变量。将部分为连续数值的自变量,按两组总均值(适当取整)进行分段(分层),转化成两分类变量。回归过程采用逐步向前法,并反复试验优化调整自变量纳入顺序,以利先剔除部分因素($\alpha_{剔除} = 0.10, \alpha_{入选} = 0.05$)。结果显示,年龄增大(≥63 岁)、T2DM 病程偏长(≥8 年)、HbA1c 水平升高(≥9%)、DR、HDL 水平降低(<1 mmol/L)、Sirt1 水平降低(<8 ng/mL)、Sestrin2 水平降低(<14 ng/mL)是 DPN 的危险因素($P < 0.05$)。见表 5。

续表 5 T2DM 患者发生 DPN 的多因素分析

变量	赋值	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
DR	有=1%,无=0	1.158	0.296	15.298	<0.001	3.184	1.782~5.688
HDL	≥ 1 mmol/L=1,<1 mmol/L=0	-0.459	0.174	6.984	0.008	0.632	0.450~0.888
Sirt1	≥ 8 ng/mL=1,<8 ng/mL=0	-0.564	0.149	14.337	<0.001	0.569	0.425~0.762
Sestrin2	≥ 14 ng/mL=1,<14 ng/mL=0	-0.229	0.082	7.861	0.005	0.795	0.678~0.933

注:—表示无数据。

3 讨 论

DPN 为 T2DM 的并发症之一,主要病理改变为神经受损,其发病机制与氧化应激和炎症反应有关^[9-11]。临床预防 DPN 除了控制高血糖外,还需关注氧化应激、炎症反应等导致病情进一步发展的各种因素。MDA、SOD、T-AOC 为氧化应激相关指标^[12-14]。MDA 是组织脂质过氧化产物(LPO)的终产物之一,可反映体内脂质过氧化水平;SOD 为一种金属蛋白酶,其活性高低可反映组织自由基水平及脂质过氧化程度;T-AOC 表示人体内非酶类与酶类抗氧化物总体水平,可以清除过高水平的 ROS,维持体内氧化还原相对平衡。本研究中,与非 DPN 组比较,DPN 组血清 MDA 水平升高,血清 SOD 水平降低,血清 T-AOC 无明显差异,提示氧化应激参与了 T2DM 患者的 DPN 发病过程。TLR-4/NF- κ B 作为信号传导通路在炎症反应中起重要作用,TLR-4 能够识别细菌脂多糖,与其结合后可以激活 NF- κ B 通路,进而引发炎症级联反应^[15]。相关基础研究显示,DPN 大鼠坐骨神经组织 TLR4 和 NF- κ B 表达水平较健康大鼠升高^[16],提示 TLR-4/NF- κ B 在 DPN 中呈异常激活状态,与 DPN 形成密切相关,经治疗干预后 TLR4/NF- κ B 蛋白水平明显减少,说明 TLR-4/NF- κ B 通路可能与 DPN 进展和疗效相关,提示 DPN 发病过程中存在炎症反应过度激活的现象。

生理状况下,ROS 在机体内水平极低,而且可被内源性的抗氧化系统有效清除;病理条件下,机体内 ROS 大量生成,抗氧化酶活性减弱,机体倾向于氧化状态,则会出现氧化应激反应^[17]。Sestrin2 作为一种应激诱导型蛋白,除具有抗氧化应激作用外,还在抗炎、抑制过度免疫反应等方面发挥重要效应,在代谢紊乱、神经病变等病理情况下,体内会代偿性分泌 Sestrin2 蛋白,发挥正向的保护效果。有研究显示,糖尿病肾病发生时 Sestrin2 水平降低,并可激活 YAP-TEAD1 通路促使系膜细胞增殖及细胞外基质合成^[18]。Sestrin2 水平降低已被证实会造成诸多不良影响,如胰岛素抵抗、糖尿病加速等^[19]。研究显示,T2DM 患者外周血中 Sestrin2 水平上升,在代谢紊乱中起关键作用^[20],这与本研究结果有相符之处,即非 DPN 组和 DPN 组血清 Sestrin2 水平较健康对照组升高,Sestrin2 具有抗氧化特性,Sestrin2 水平升高或许

是保护患者机体免受氧化应激损害的代偿反应。本研究结果显示,Sestrin2 在 DPN 组患者血清中的水平明显低于非 DPN 组患者,可能是由于随着 T2DM 病情进展,Sestrin2 代偿机制不足以调控细胞内环境,其表达逐步减少。此外,Sestrin2 水平降低为 DPN 的危险因素,说明高水平 Sestrin2 对 DPN 发挥保护作用,其水平降低可能会促进 DPN 发生,提示 Sestrin2 有望成为 DPN 的临床预测指标。与此同时,本研究还发现,DPN 患者 Sestrin2 水平与 SOD 呈正相关,与 MDA、TLR-4、NF- κ B 呈负相关,提示上调 Sestrin2 水平或许可通过下调体内炎症和氧化应激反应进而影响 DPN 的发生。

Sirt1 是一种去乙酰化酶,能够参与调节细胞凋亡、新陈代谢、基因转录、糖脂代谢、胰岛素分泌、炎症反应等,还可通过调控 NF- κ B、P53、eNOS 等靶基因或蛋白而参与氧化应激损伤过程^[21]。近年来,Sirt1 的神经保护效应已在局部缺血性损伤、创伤性脑损伤及神经退行性疾病中得到证实^[22]。有细胞学实验表明,在高糖刺激下,内皮细胞中 Sirt1 蛋白表达量明显降低,Sirt1 激动剂白藜芦醇有助于减轻高糖所致的内皮细胞损伤^[23]。有大鼠模型实验发现,与健康大鼠比较,DPN 模型大鼠的 Sirt1 水平明显下调,经补阳还五汤干预后 DPN 大鼠的 Sirt1 水平明显升高,提示 Sirt1 或许与 DPN 发生、发展及病情转归有关^[24]。本研究中,与非 DPN 组比较,DPN 组血清 Sirt1 水平明显降低,说明 Sirt1 在 DPN 中存在异常表达,该蛋白可能参与了 DPN 发病过程。此外,Sirt1 水平降低为 DPN 的危险因素,并与氧化应激指标和 TLR-4、NF- κ B 水平存在相关性,推测 DPN 的发生可能与 Sirt1 水平降低导致对 TLR-4/NF- κ B 炎症通路及氧化应激的抑制作用减弱有关。有学者认为,Sirt1 可通过去乙酰化抑制 NF- κ B 转录活性,进而发挥抗氧化应激损伤的作用^[25],这或许可以解释上述推测。与此同时,年龄增大、T2DM 病程偏长、HbA1c 水平升高、DR、HDL 水平降低也是 DPN 的危险因素,与既往研究结论一致^[26-28],临床可将血清 Sirt1、Sestrin2 水平与临床危险因子结合应用于 DPN 早期预测。

综上所述,DPN 患者血清 Sirt1、Sestrin2 水平下降,这或许与氧化应激、炎症反应过度激活有关,其有望成为预测 DPN 发生风险的分子标志物。在临床实

践中,早期检测 T2DM 患者血清 Sirt1、Sestrin2 水平,有助于评估 DPN 风险性,制订个体化诊疗方案,改善患者预后。但 Sirt1 和 Sestrin2 之间有无关联,还需更多研究加以证实。

参考文献

[1] 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.

[2] 费朝霞,李红,丁明昱,等. 2 型糖尿病患者血清尿酸、胱抑素 C、半乳糖凝集素-3、丝氨酸蛋白酶抑制剂 B1 与血糖及颈动脉粥样硬化的关系研究[J]. 现代生物医学进展,2022,22(20):3951-3955.

[3] 胡方舟,杨雯月,谢小红,等. 2 型糖尿病患者合并周围神经病变的危险因素分析[J]. 中华全科医学,2018,16(5):781-784.

[4] 杨昕,刘志民. 氧化应激和炎症反应与初诊 2 型糖尿病合并周围神经病变的关系[J]. 现代中西医结合杂志,2017,26(4):346-349.

[5] 张婧婧,曹雯,赵一璟,等. 木丹颗粒治疗糖尿病周围神经病变患者的疗效及其血清氧化应激,炎症因子及疼痛物质水平的影响[J]. 世界中西医结合杂志,2021,16(12):2265-2270.

[6] 杨永. 应激诱导蛋白 Sestrin2 在多种病理过程中的作用研究进展[J]. 临床与病理杂志,2021,41(2):5-9.

[7] 李萍,哈小琴. Sestrin2 在慢性病防治中的潜力[J]. 海南医学院学报,2021,27(16):556-560.

[8] 李斐,赵瑛. 2 型糖尿病大鼠海马组织中 PGC-1 α 和 SIRT1 表达的变化及意义[J]. 第二军医大学学报,2013,8(4):34-39.

[9] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中华糖尿病杂志,2018,10(1):4-67.

[10] 周亚男,杨洁,王丽晖,等. 百令片联合依帕司他治疗 2 型糖尿病周围神经病变患者临床效果及对氧化应激,炎症反应影响[J]. 临床误诊误治,2021,34(7):5-7.

[11] 魏萱. 双通法治疗糖尿病周围神经病变对氧化应激,炎症因子的影响[J]. 河北医药,2021,43(21):3254-3257.

[12] MIAO Z,MIAO Z,WANG S,et al. Quercetin antagonizes imidacloprid-induced mitochondrial apoptosis through PTEN/PI3K/AKT in grass carp hepatocytes[J]. Environ Pollut,2021,290:118036.

[13] QIU Y,YIN Q,FEI Y,et al. JLX001 modulated the inflammatory reaction and oxidative stress in pMCAO rats via inhibiting the TLR2/4-NF- κ B signaling pathway[J]. Neurochem Res,2019,44(8):1924-1938.

[14] YANG Z,WANG J,LI J,et al. Antihyperlipidemic and

hepatoprotective activities of polysaccharide fraction from *Cyclocarya paliurus* in high-fat emulsion-induced hyperlipidaemic mice[J]. Carbohydr Polym,2018,183:11-20.

[15] 龙小琴,戴应和,袁经权,等. 甘草查尔酮 A 对 THP-1 巨噬细胞促炎因子表达的影响—依赖于 TLR-4/NF- κ B 炎症信号通路[J]. 中国动脉硬化杂志,2017,25(12):749-750.

[16] 周夏慧,王庆来,朱雪梅,等. 当归多糖对 DPN 大鼠 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路抑制影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2018,23(12):1340-1347.

[17] 刘柳,蒋超,赵紫昊. 丹参川芎嗪注射液联合甲钴胺对糖尿病周围神经病变患者的治疗效果和对氧化应激反应的影响[J]. 中草药,2019,50(11):2670-2674.

[18] 边亚薇. Sestrin2 在糖尿病肾病系膜细胞增殖和基质合成中的作用及机制研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2022.

[19] 乔雪松,牛燕媚,傅力. Sestrin2/3 在有氧运动改善骨骼肌胰岛素抵抗中的作用研究进展[J]. 中国运动医学杂志,2019,38(9):348-350.

[20] 张程昌,陆艳,王雷,等. 新诊断 2 型糖尿病患者血清 Sestrin2 与胰岛素抵抗的相关性研究[J]. 湖北民族大学学报(医学版),2021,38(1):417-418.

[21] 段新飞,宋利宏,胡科,等. 血管性痴呆大鼠氧化应激,炎症反应与 SIRT1 的相关性研究[J]. 精神医学杂志,2020,33(2):420-422.

[22] 刘金泉,孙永胜,刘春云. miR-34a 通过靶向 SIRT1 对 MPP+ 诱导的帕金森病模型细胞凋亡和氧化应激损伤的影响[J]. 中国免疫学杂志,2020,36(6):729-730.

[23] 杨菊红. SIRT1 在高糖培养人脐静脉血管内皮细胞损伤中的作用[D]. 天津:天津医科大学,2009.

[24] 贲莹,张天雅,田佳鑫,等. 基于 SIRT1/p53 介导的细胞凋亡途径探讨补阳还五汤对糖尿病周围神经病变的治疗作用及方中黄芪用量[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,8(2):123-124.

[25] 刘旺,周琴怡,莫志勇,等. SIRT1 调控氧化应激的研究进展[J]. 中南医学科学杂志,2021,49(2):5-6.

[26] 程志强,袁志娟. 2 型糖尿病患者并发糖尿病周围神经病变危险因素分析[J]. 临床军医杂志,2021,49(7):801-803.

[27] 谢云亮,邓琳玲,师柔,等. 初诊 2 型糖尿病患者并发糖尿病周围神经病变的相关危险因素分析[J]. 实用临床医药杂志,2022,26(11):62-66.

[28] 邱丽君,高方,邹梦晨,等. 2 型糖尿病患者周围神经病变与糖尿病视网膜病变的关系[J]. 山东医药,2019,59(3):33-34.

(收稿日期:2023-02-05 修回日期:2023-06-16)