

2型糖尿病视网膜病变患者血清氧化水平与炎症因子的关系及其临床意义

徐 芳

作者单位:(100073)中国北京市,北京电力医院健康管理部
作者简介:徐芳,女,主治医师,研究方向:临床眼科。
通讯作者:徐芳. bsfengning@126.com
收稿日期:2017-07-22 修回日期:2018-01-04

Relationship between serum levels of oxidation and inflammatory factors in type 2 diabetic patients with retinopathy and its clinical significance

Fang Xu

Department of Health Management, Beijing Electric Power Hospital, Beijing 100073, China

Correspondence to: Fang Xu. Department of Health Management, Beijing Electric Power Hospital, Beijing 100073, China. bsfengning@126.com

Received:2017-07-22 Accepted:2018-01-04

Abstract

• **AIM:** To investigate the relationship between serum levels of oxidation and inflammatory factors in type 2 diabetic patients with retinopathy and its clinical significance.

• **METHODS:** Totally 54 cases of patients with diabetic retinopathy was selected as subjects, including 31 patients with diabetes and non-proliferative retinopathy (NPDR group) and 23 patients with diabetes and proliferative retinopathy (PDR group). Another 30 cases of diabetes patients without DR (DM group) and 30 normal people (NC group) was selected as control. The level of fasting blood glucose (FPG), 2h postprandial blood glucose (2hPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), serum malondialdehyde (MDA) and heme oxygenase - 1 (HO-1), tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin -6 (IL-6) and C reactive protein (CRP) was detected, and variance test detect the difference between 4 groups, and SNK-Q was used to multiple comparison. Pearson correlation analysis was used to compare the correlation between oxidation markers (MDA and Ho-1) and the level of inflammatory factors (TNF- α , IL-6 and CRP). COX multivariate analysis was used to investigate the risk and protective factors of diabetic retinopathy.

• **RESULTS:** The levels of FPG, 2hPG, HbA1c, MDA, TNF- α , IL-6 and CRP in DM group, PDR group and NPDR group were significantly higher than that in NC group ($P < 0.05$), and HO-1 was lower than that in NC group ($P < 0.05$). The levels of MDA, TNF- α , IL-6 and CRP in PDR

group and NPDR group were significantly higher than that in DM group ($P < 0.05$), and HO-1 was significantly lower than that of DM group ($P < 0.05$). MDA and TNF- α in PDR group were significantly higher than that in NPDR group ($P < 0.05$), and HO-1 was lower than that in NPDR group ($P < 0.05$). The level of MDA was positively correlated with the level of TNF- α and CRP ($P < 0.05$), and the level of HO-1 was negative correlated with the level of IL-6, TNF- α and CRP ($P < 0.05$). COX multivariate analysis showed that both MDA and TNF- α were risk factors of retinopathy, and HO-1 was the protective factor of retinopathy.

• **CONCLUSION:** Oxidative stress is closely related to the expression of inflammatory factors in serum of patients with diabetes mellitus, and is an important risk factor of DR, and related indicators can be used as markers for DR diagnosis.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; oxidation; inflammatory factor

Citation: Xu F. Relationship between serum levels of oxidation and inflammatory factors in type 2 diabetic patients with retinopathy and its clinical significance. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018;18(2):309-312

摘要

目的:探讨2型糖尿病视网膜病变患者血清氧化水平与炎症因子的关系及其临床意义。

方法:临床选取54例糖尿病合并视网膜病变患者,其中包括31例糖尿病非增殖期视网膜病变患者(NPDR组)和23例糖尿病增殖期视网膜病变患者(PDR组),另取30例确诊为糖尿病但尚无糖尿病视网膜疾病的患者(DM组)和30例体检正常人群(NC组)作为对照,检测患者空腹血糖(FPG)、餐后2h血糖(2hPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、血清丙二醛(MDA)、血红素加氧酶-1(HO-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)和C反应蛋白(CRP)的表达量,方差分析比较组间差异,SNK-q对组间进行两两比较, Pearson 相关分析对氧化标志物水平(MDA和HO-1)与炎症因子水平(TNF- α 、IL-6和CRP)进行相关性分析,COX多因素分析探讨糖尿病视网膜病变的危险因素和保护因素。

结果:DM组、PDR组和NPDR组的FPG、2hPG、HbA1c、MDA、TNF- α 、IL-6和CRP均显著高于NC组,差异有统计学意义($P < 0.05$);HO-1显著低于NC组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。PDR组和NPDR组MDA、TNF- α 、IL-6和CRP显著高于DM组,差异有统计学意义($P < 0.05$);HO-1显著低于DM组,差异有统计学意义($P <$

0.05);PDR组MDA和TNF- α 显著高于NPDR组,差异有统计学意义($P<0.05$);HO-1显著低于NPDR组,差异有统计学意义($P<0.05$);MDA水平与TNF- α 及CRP水平存在显著正相关性($P<0.05$);HO-1水平与TNF- α 、IL-6及CRP水平存在显著负相关性($P<0.05$);COX多因素分析MDA、TNF- α 均为视网膜病变的危险因素,HO-1为视网膜病变的保护因素。

结论:氧化应激与糖尿病患者血清中相关炎症因子的表达密切相关,是DR重要的危险因素,MDA、TNF- α 和HO-1可作为DR诊断标志物。

关键词:糖尿病视网膜病变;氧化水平;炎症因子

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.2.26

引用:徐芳. 2型糖尿病视网膜病变患者血清氧化水平与炎症因子的关系及其临床意义. 国际眼科杂志 2018;18(2):309-312

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是因糖尿病患者体内胰岛素代谢异常引起眼部神经和微血管病变,进而造成眼营养和视功能损害,其在糖尿病人群中发病率为20%~40%,是成人致盲眼病的首要病因^[1]。根据是否存在视网膜新生血管的形成,可将DR分为增殖期DR(proliferative diabetic retinopathy, PDR)和非增殖期DR(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR)。近年有研究显示,多种炎症因子参与糖尿病微血管病变的发生发展,包括肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factors- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等^[2],基于氧化应激与炎症反应存在的密切关系^[3-4],本试验拟探讨DR患者血清氧化水平和炎症因子水平及影响视网膜病变的危险因素,以期指导临床工作。

1 对象和方法

1.1 对象 连续选取我院2015-01/2017-03内分泌科收治的54例DR患者,其中NPDR患者31例(NPDR组)、PDR患者23例(PDR组),另采用随机数字表法,选取30例确诊为糖尿病但尚无糖尿病视网膜疾病患者(DM组)和30例体检中心正常人群(NC组)作为对照。其中DM、NPDR和PDR患者诊断符合1999年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)糖尿病诊断标准^[5],DR患者诊断符合2003年糖尿病视网膜病变国际临床分级标准^[6],且未合并黄斑水肿,其中I期患者8例,II期患者13例,III期患者10例,IV期患者11例,V期患者8例,VI期患者4例。所有患者均排除合并其他严重的器质性疾病、近期感染和相关眼部疾病,且未合并其他糖尿病并发症。NC组患者无糖尿病、糖耐量异常、高血压、肝肾功能和不全和相关眼部疾病,患者基本资料见表1。四组人群年龄、男女比例比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 采集DM、NPDR和PDR组患者入院后第1d清晨空腹静脉血,NC组患者取单次静脉血,采集的血样放入抗凝管中2h后转速1500r/min,离心20min,取上清。全自动生化分析仪检测患者空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)和糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin-A1c, HbA1c)。酶联免疫吸附法(enzyme-linked immune sorbent assay, ELISA)检测TNF- α 和IL-6水平;免疫透射比浊法检测CRP水平;硫代巴比妥酸比色法检测血清丙

二醛水平(malondialdehyde, MDA);ELISA检测血红素加氧酶-1(hemeoxygenase-1, HO-1)水平。另取DM、NPDR和PDR组患者餐后2h血样,检测餐后2h血糖(postprandial 2h blood glucose, 2hPG)。

统计学分析:采用SPSS17.0软件进行统计分析,计量资料以平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示;计数资料以率表示。正态分布计量资料采用单因素方差分析, Mann-whitney秩和检验比较非正态分布计量资料的统计学差异, SNK- q 法对组间进行两两比较; χ^2 检验比较计数资料的统计学差异。Pearson相关分析对氧化标志物水平(MDA和HO-1)与炎症因子水平(TNF- α 、IL-6和CRP)进行相关性分析, COX多因素分析在DM组、NPDR组和PDR组患者中对视网膜病变的危险因素和保护因素进行探究,以Wald检验筛选自变量。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 四组患者血糖和糖化血红蛋白水平的比较 结果显示,DM组、PDR组和NPDR组的FPG、2hPG及HbA1c均显著高于NC组,差异有统计学意义($P<0.05$);而DM组、PDR组和NPDR组比较,差异无统计学意义($P>0.05$,表2)。

2.2 四组患者氧化水平和炎症因子水平的比较 结果显示DM组、PDR组和NPDR组的MDA、TNF- α 、IL-6及CRP水平均显著高于NC组,HO-1水平显著低于NC组,差异有统计学意义($P<0.05$);而PDR组和NPDR组MDA、TNF- α 、IL-6和CRP显著高于DM组,HO-1水平显著低于DM组,差异有统计学意义($P<0.05$);且PDR组MDA及TNF- α 显著高于NPDR组,HO-1水平显著低于NPDR组,差异有统计学意义($P<0.05$,表3)。

2.3 DR患者氧化水平和炎症因子水平的相关性分析 结果显示DR患者中MDA水平与TNF- α 及CRP水平存在显著正相关性($P<0.05$);HO-1水平与TNF- α 、IL-6及CRP水平存在显著负相关性($P<0.05$,表4)。

2.4 DM患者糖尿病视网膜病变的危险和保护因素 COX多因素分析结果显示,MDA、TNF- α 均为视网膜病变的危险因素,HO-1为视网膜病变的保护因素(表5)。

3 讨论

DR是糖尿病最常见的微血管并发症之一,由于糖尿病患者持续的高血糖状态导致患者视网膜毛细血管内皮细胞增生、基底膜增厚,进而发生微循环障碍、微血管瘤和新生血管的形成,导致DR的发生。国内外诸多研究显示,炎症反应在DM患者微血管病变的发生中起着关键作用。Arita等^[7]研究显示,TNF- α 可通过激活Rho激酶(Rho-kinase, ROCK)介导糖尿病患者微血管损伤,进而导致DR的发生。Shirish等^[8]研究发现,生姜提取物可通过其抗炎作用,减少患者体内TNF- α 等炎症因子的水平,进而缓解高血糖状态导致的微血管病变。Wegner等^[9]发现炎症因子IL-6表达水平较高的患者微血管并发症发生率更高,王爱红等^[10]研究显示,IL-6可反映糖尿病肾病病情的严重程度,与血管内皮损伤和功能障碍密切相关。Araszkiwicz等^[11]研究显示,CRP可促进糖尿病患者体内长期持久的低度炎症反应,进而导致微血管病变,但其水平对微血管病变程度的提示作用不灵敏^[12]。另有研究显示,DM患者机体内存在明显的氧化应激,且氧化应激与炎症反应在微血管病变中存在密切的相互作用。

表 1 四组患者一般情况的比较

组别	例数	年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	男女比例(男/女)	病程($\bar{x}\pm s$,a)
NC 组	30	55.7±8.3	1.0(15/15)	-
DM 组	30	54.2±9.1	1.3(17/13)	6.7±4.5
NPDR 组	31	55.8±6.9	1.2(17/14)	11.6±4.2 ^a
PDR 组	23	57.5±8.7	1.3(13/10)	14.9±5.8 ^a
F/χ^2		0.68	0.34	10.90
P		0.35	0.95	<0.001

注:^a $P<0.05$ vs DM 组。

表 2 四组患者血糖及糖化血红蛋白水平的比较

组别	例数	FPG(mmol/L)	2hPG(mmol/L)	HbA1c(%)	$\bar{x}\pm s$
NC 组	30	4.5±0.3	6.4±1.9	4.9±0.8	
DM 组	30	8.7±0.6 ^a	11.9±2.7 ^a	11.4±3.5 ^a	
NPDR 组	31	8.4±0.6 ^a	11.3±2.5 ^a	10.9±3.0 ^a	
PDR 组	23	8.9±0.7 ^a	12.4±2.8 ^a	11.6±3.4 ^a	
F		5.32	5.91	7.46	
P		0.008	0.006	<0.001	

注:^a $P<0.05$ vs NC 组。

表 3 四组患者氧化水平及炎症因子水平的比较

组别	例数	MDA($\mu\text{mol/L}$)	HO-1(ng/L)	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	CRP(mg/L)	$\bar{x}\pm s$
NC 组	30	10.5±2.1	190.5±33.2	33.9±9.2	20.8±5.3	2.5±0.4	
DM 组	30	15.3±3.5 ^a	92.6±17.7 ^a	82.4±14.6 ^a	36.2±6.1 ^a	4.3±0.7 ^a	
NPDR 组	31	19.6±2.8 ^{a,c}	72.4±13.8 ^{a,c}	111.9±21.5 ^{a,c}	53.5±7.5 ^{a,c}	5.9±0.7 ^{a,c}	
PDR 组	23	24.5±3.2 ^{a,c,e}	49.1±12.1 ^{a,c,e}	147.6±21.8 ^{a,c,e}	58.7±6.8 ^{a,c}	6.3±1.1 ^{a,c}	
F		8.14	10.91	11.52	8.36	7.54	
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

注:^a $P<0.05$ vs NC 组;^c $P<0.05$ vs DM 组;^e $P<0.05$ vs NPDR 组。

表 4 DR 患者氧化水平和炎症因子水平的相关性分析

相关指标	MDA		HO-1	
	r	P	r	P
TNF- α	0.446	<0.001	-0.573	<0.001
IL-6	0.249	0.096	-0.348	0.022
CRP	0.380	0.015	-0.510	<0.001

注: r 为相关系数, P 表示双侧 P 值。

表 5 DM 患者糖尿病视网膜病变的 COX 多因素分析

相关指标	HR	B	SE	Wald	P	95%置信区间	
						上部	下部
性别	1.120	-0.040	0.094	0.181	0.635	1.435	0.701
年龄	1.028	-0.049	0.041	1.138	0.260	1.181	0.934
病程	1.239	0.076	0.048	1.983	0.174	1.743	0.818
FPG	1.602	0.092	0.055	2.908	0.095	3.217	0.895
2hPG	1.842	0.108	0.050	3.130	0.082	2.883	0.861
HbA1c	1.579	0.068	0.046	2.195	0.147	2.774	0.710
MDA	2.184	0.153	0.061	5.532	0.026	2.918	1.175
HO-1	0.561	0.190	0.075	6.941	0.009	0.843	0.349
TNF- α	1.821	0.127	0.058	4.264	0.037	2.723	1.038
IL-6	1.607	0.112	0.068	3.104	0.083	2.336	0.910
CRP	1.753	0.084	0.060	2.570	0.102	1.824	0.877

注:HR 表示危险比; P 表示双侧 P 值; B 表示回归系数; SE 表示回归系数标准误。

Domingueti 等^[13]报道显示,持续的高血糖状态不仅促进患者体内炎症反应的发生,同时也可以促进氧化应激的发生;Aghadavod 等^[14]报道指出,氧化应激和炎症因子在糖尿病肾病中存在相互作用,持续的高血糖导致循环蛋白质及脂质的结构和功能异常,导致糖化氧化和过氧化的发生,进而促进炎症因子的产生,同样炎症因子的增加也可以刺激氧自由基的产生,形成正反馈效应,促进糖尿病患者微循环障碍,导致微血管并发症的发生。基于上述研究,我们对 DR 患者体内氧化应激水平及其与炎症因子的水平和相关性进行了探究。

本研究发现,DR 患者血糖水平和糖化血红蛋白较 DM 患者均无显著升高,但血清炎症因子水平显著上调,表明即时血糖水平尚不能反映患者微血管病变的情况,而血清炎症因子水平可较好地反映患者是否存在微血管病变,也提示了患者炎症反应对微血管病变的促进作用。PDR 是 NPDR 发展的后期,相比 NPDR,由持续微循环障碍引起的广泛缺血会使视网膜或视盘新生血管生长,新生血管可长入玻璃体,引起玻璃体出血,导致严重视力下降甚至完全失明,是严重的微血管病变所致。但本研究发现,PDR 患者 CRP 及 IL-6 水平与 NPDR 患者相比无统计学差异($P>0.05$),提示炎症因子对于微血管病变程度不灵敏。我们对患者血清中氧化因子 MDA 和 HO-1 进行了检测,MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一,可作为机体氧化水平的标志物^[15],而 HO-1 则是机体内重要的抗氧化物^[16]。本研究结果显示,PDR 患者 MDA 的表达显著高

于 NPDR 患者,而 HO-1 显著低于 NPDR 患者,提示两种氧化标志物可有效反映微血管的病变程度。进而我们对氧化因子和炎症因子的水平进行了相关性分析,发现 DR 患者中 MDA 水平与炎症因子水平显著正相关,而 HO-1 水平与炎症因子水平显著负相关,提示 DR 患者中氧化和炎症可能存在相互促进作用。COX 多因素分析示 MDA、TNF- α 为 DR 的危险因素,HO-1 为 DR 的保护因素,进一步提示氧化水平可良好地反映 DR 的严重程度,氧化应激是 DR 发生的危险因素。今后的研究,我们将通过动物模型对氧化应激致 DR 的确切机制进行探究,以期对 DR 的临床诊治工作提供有价值的依据。

参考文献

- 1 裴锦云,晏丕军. 糖尿病视网膜病变的临床治疗进展. 重庆医学 2015; 44(5):706-708
- 2 魏冉. 糖尿病微血管并发症中炎症因子的表达及意义. 河北医科大学 2013
- 3 易晔,卢远航,冀倩倩. 高通量血液透析对糖尿病肾病透析患者氧化应激及微炎症状态的影响. 重庆医学 2015;44(19):2667-2669
- 4 陶立德,薛同敏,张杰,等. 缺血预处理对大鼠缺血再灌注肝组织 NF- κ B 表达、炎症及氧化应激反应的影响. 中国普通外科杂志 2015;24(1):70-74
- 5 钱荣立. 关于糖尿病的新诊断标准与分型. 中国糖尿病杂志 2000; 8(1):5-6
- 6 Wilkinson CP, Iii FLF, Klein RE, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003;110(9):1677-1682
- 7 Arita R, Nakao S, Kita T, et al. A key role for ROCK in TNF- α -mediated diabetic microvascular damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(3):2373-2383

- 8 Shirish D, Gupta SK, Rajani M, et al. Zingiber officinal eattenuates retinal microvascular changes in diabetic rats via anti-inflammatory and antiangiogenic mechanisms. *Mol Vision* 2016;22(1):599-609
- 9 Wegner M, Araszkievicz A, Piorunska - Stolzmann M, et al. Association between IL-6 concentration and diabetes-related variables in DM1 patients with and without microvascular complications. *Inflammation* 2013;36(3):723-728
- 10 王爱红,毛雄伟,王孝芳,等. 血清 Hcy、CRP、IL-6 和 IL-8 联检对糖尿病肾病的诊断价值. 放射免疫学杂志 2013;26(4):508-509
- 11 Araszkievicz A, Soska J, Borucka K, et al. In diabetic Charcot neuroarthropathy impaired microvascular function is related to long lasting metabolic control and low grade inflammatory process. *Microvasc Res* 2015;101(3):143-147
- 12 Fronczyk A, Moleęda P, Safranow K, et al. Increased concentration of C-reactive protein in obese patients with type 2 diabetes is associated with obesity and presence of diabetes but not with macrovascular and microvascular complications or glycemic control. *Inflammation* 2014;37(2):349-357
- 13 Domingueti CP, Dusse LM, Md C, et al. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *J Diabetes Complications* 2016;30(4):738-745
- 14 Aghadavod E, Khodadadi S, Baradaran A, et al. Role of Oxidative Stress and Inflammatory Factors in Diabetic Kidney Disease. *Iran J Kidney Dis* 2016;10(6):337-343
- 15 冯亚娟,胡滨青,周建华. 甘草黄酮对糖尿病大鼠血糖、血脂水平及抗氧化能力的影响. 山东医药 2016;56(3):23-25
- 16 李倩倩,李慧敏,钟继娟,等. 2型糖尿病患者脂肪组织中的 HO-1 表达及临床意义. 山东医药 2012;52(45):7-10