

α -硫辛酸联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的临床研究

徐 燕

解放军三二三医院 检验科, 陕西 西安 710049

摘要: **目的** 探讨 α -硫辛酸联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的临床疗效及可能机制。**方法** 收集 2013 年 3 月—2014 年 3 月解放军三二三医院收治的患者 188 例, 随机分为对照组和治疗组, 每组 94 例。两组均给予常规治疗。对照组将甲钴胺 1.0 mg 加入 250 mL 生理盐水中静脉滴注, 1 次/d。治疗组在对照组的基础上静脉滴注注射用硫辛酸, 0.45 g 加入生理盐水 250 mL 中, 1 次/d。两组均连续治疗 3 周。比较两组的周围神经传导速度、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 和血管内皮生长因子 (VEGF)、多伦多临床评分 (TCSS)。**结果** 与对照组相比, 治疗组胫前神经的运动神经传导速度 (MNCV)、感觉神经传导速度 (SNCV) 和腓总神经的 MNCV 提高更为显著, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗后治疗组 HIF-1 α 和 VEGF、对照组 HIF-1 α 均明显降低, 与治疗前相比差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 与对照组相比, 治疗组 HIF-1 α 和 VEGF 变化更为显著, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。治疗后两组的 TCSS 评分均明显降低, 与治疗前相比差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 与对照组相比, 治疗组下降更为显著, 两组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。**结论** α -硫辛酸联合甲钴胺能够提高糖尿病周围神经病变的临床疗效, 其作用机制可能与其诱导 HIF-1 α 表达有关。

关键词: α -硫辛酸; 甲钴胺; 糖尿病周围神经病变; 缺氧诱导因子-1 α ; 血管内皮生长因子

中图分类号: R971 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2015)05 - 0555 - 04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.05.018

Clinical study of α -lipoic acid combined with mecobalamin in treatment of diabetic peripheral neuropathy

XU Yan

Department of Laboratory, the PLA 323 Hospital, Xi'an 710049, China

Abstract: Objective To investigate curative effect and mechanism of the α -lipoic acid combined with mecobalamin in treatment of diabetic peripheral neuropathy. **Methods** The patients (188 cases) of the PLA 323 Hospital from March 2013 to March 2014 were randomly divided into control and treatment groups, and each group had 94 cases. Two groups were both given conventional therapy. The patients in control group were iv administered with Mecobalamin Injection (1 mg diluted with 250 mL saline water), once daily. On the basis of control group, the patients in treatment group were iv administered with Thiocctic Acid for Injection (0.45 g diluted with 250 mL saline water), once daily. The patients in two groups were treated for three weeks. Peripheral nerve conduction velocity, hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and vascular endothelial growth factor (VEGF), and Toronto clinical scoring (TCSS) scores were compared between two group. **Results** Compared with the control group, Motor Nerve Conduction Velocity (MNCV) and Sensory Nerve Conduction Velocity (SNCV) of anterior tibial nerve and MNCV of nervus peroneus communis in treatment group were improved more with significant difference ($P < 0.05$). After treatment, VEGF, HIF-1 α in treatment group and HIF-1 α in control group were significantly increased, and there were significant difference between two groups ($P < 0.01$). Compared with the control group, changes of HIF-1 α and VEGF in treatment group were more obviously with significant differences ($P < 0.01$). After treatment, TCSS scores in two groups decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with the control group, TCSS scores in treatment group decreased more obviously with significant differences ($P < 0.01$). **Conclusion** α -Lipoic acid combined with mecobalamin can improve the clinical effect of diabetic peripheral neuropathy. The mechanism may be associated with induced expression of HIF-1 α .

Key words: α -lipoic acid; mecobalamin; diabetic peripheral neuropathy; hypoxia inducible factor- α ; vascular endothelial growth factor

糖尿病周围神经病变 (DPN) 是严重影响糖尿病患者生活质量的慢性并发症。其感觉障碍可随血

收稿日期: 2015-02-03

作者简介: 徐 燕, 女, 主管技师, 研究方向为临床生化。Tel: 13572542252 E-mail: xtoy104@163.com

糖水平和微血管病变逐渐发展, 严重时可导致患者感觉功能的减退或消失^[1]。最新研究表明^[2], 约有 50% 的糖尿病患者伴有 DPN 症状, 也是造成糖尿病患者死亡的重要原因。目前, DPN 治疗困难, 且单一疗法往往效果不良, 需要多种方法的综合应用。甲钴胺为甲基化 B 族维生素活性制剂, 能够直接进入神经细胞, 刺激细胞轴突再生和损伤修复, 对 DPN 神经病变症状具有明显的改善作用, 是常用的 DPN 治疗药物之一。 α -硫辛酸是治疗 DPN 的常见药物, 它能够清除氧自由基, 加快神经传导, 修正神经生长因子及神经肽异常, 并能够纠正高血糖所致的一氧化氮和内皮衍生性超级化因子异常的作用。为进一步探讨其作用机制, 以缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子 (VEGF)、促生长因子 (IGF-1) 为指标, 比较 α -硫辛酸对细胞内氧代谢的作用, 从而为 DPN 的发病机制和治疗积累证据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2013 年 3 月—2014 年 3 月解放军三二三医院检验科患者 188 例。其中, 男 100 例, 女 88 例, 年龄 (56.38 \pm 9.54) 岁, 病程 (7.38 \pm 1.35) 年, 空腹血糖 (6.99 \pm 2.38) mmol/L。

1.2 研究标准

伦理学标准: 本研究符合赫尔辛基宣言对伦理学要求, 符合广大患者的利益, 经解放军三二三医院伦理委员会批准进行 (批准号: IRB0000131123-005)。研究开始前已征得患者及家属同意, 患者均表示自愿参加, 书面签署同意书。

诊断标准: 糖尿病诊断标准参考 1999 年 WHO 标准^[3]: 空腹血糖 (FPG) \geq 7.0 mmol/L, 或糖耐量 (OGTT) 试验中 2 h 血糖 \geq 11.1 mmol/L。DPN 诊断标准参考 2009 年糖尿病周围神经病变诊疗规范 (征求意见稿)^[4]: (1) 肢体感觉异常或感觉障碍, 出现麻木或疼痛, 灼热发凉等; (2) 远端对称性多发性神经病变, 腱反射迟钝或消失; (3) 远端小肌肉肌力减退; (4) 神经传导速度异常, 运动神经传导速度 (MNCV) $<$ 45 m/s, 感觉神经传导速度 (SNCV) $<$ 40 m/s。

纳入标准: 具有糖尿病病史或符合糖尿病诊断标准, 并伴有 DPN 标准中至少 1 项表现者。

排除标准: (1) 严重内分泌疾病、肝肾疾病和精神疾病者; (2) 并发椎间盘病变、神经根病变或其他原因所致的周围神经病变者; (3) 治疗期间服用神经药物治疗者; (4) 治疗期间血糖控制不佳者;

(5) 出现严重的糖尿病并发症或急慢性感染者; (6) 哺乳或妊娠期妇女; (7) 糖尿病周围血管病变者; (8) 由于各种原因导致不能坚持治疗者。

1.3 药物

注射用硫辛酸由烟台只楚药业有限公司生产, 0.15 g/支, 产品批号 13034556; 甲钴胺注射液由长春海悦药业有限公司生产, 1 mL: 0.5 mg, 产品批号 13110974。

1.4 分组和治疗方法

本研究采用随机、双盲、同期对照试验。所有患者随机分为对照组和治疗组, 每组 94 例。对照组男 50 例, 女 44 例, 年龄 (56.18 \pm 8.33) 岁, 病程 (6.97 \pm 2.86) 年, 空腹血糖 (7.01 \pm 3.56) mmol/L。治疗组男 50 例, 女 44 例, 年龄 (56.58 \pm 7.33) 岁, 病程 (7.79 \pm 2.23) 年, 空腹血糖 (6.97 \pm 0.98) mmol/L。两组的一般资料比较差异无统计学意义, 具有良好的可比性。

两组患者均进行运动、饮食控制, 降血糖、降血压、降血脂和改善微循环等常规治疗, 使血糖、血压、血脂等控制在达到或接近正常水平。对照组将甲钴胺 1.0 mg 加入 250 mL 生理盐水中静脉滴注, 1 次/d。治疗组在对照组的基础上静脉滴注注射用硫辛酸, 0.45 g 加入生理盐水 250 mL 中, 1 次/d。两组均连续治疗 3 周。

1.5 观察指标

1.5.1 神经传导速度检测 治疗前后以美国 NEO 公司生产的神经定量检测仪分别测量患者左右侧肢体腓总神经和胫前神经的 MNCV 和 SNCV。检测温度 24 $^{\circ}$ C。

1.5.2 HIF-1 α 、VEGF 的测定 治疗前后采集患者血液, 3 000 r/min 离心 15 min 后取上层血清, 酶联免疫吸附剂 (ELISA) 法测定 HIF-1 α 、VEGF、IGF-1 的量。

1.5.3 疗效分析^[5] 以多伦多临床评分 (TCSS) 进行疗效判断。TCSS 包括症状分、反射分和感觉试验分 3 部分, 总分为 19 分, 得分越高, 表示神经功能受损越严重。

1.6 不良反应

对治疗过程中的不良反应进行观察和记录。

1.7 统计学分析

研究数据以双录入方式录入, 经软件核对正确后以 SPSS 20.0 软件包进行分析。两组计数资料比较采用 χ^2 检验, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 两组治疗前后神经传导速度的比较

治疗后, 两组胫前神经和腓总神经的 MNCV、SNCV 均得到提高, 且差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 与对照组相比, 治疗组胫前神经的 MNCV、SNCV 和腓总神经的 MNCV 提高更为显著, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组治疗前后 HIF-1 α 、VEGF 的比较

治疗后治疗组 HIF-1 α 和 VEGF、对照组 HIF-1 α

均明显降低, 与治疗前相比差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 与对照组相比, 治疗组 HIF-1 α 和 VEGF 变化更为显著, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 2。

2.3 两组患者治疗前后 TCSS 比较

治疗后两组的 TCSS 评分均明显降低, 与治疗前相比差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 与对照组相比, 治疗组下降更为显著, 两组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 1 两组治疗前后神经传导速度比较

Table 1 Comparison on nerve conduction velocity between two groups before and after treatment

组别	观察时间	胫前神经/(m·s ⁻¹)		腓总神经/(m·s ⁻¹)	
		MNCV	SNCV	MNCV	SNCV
对照	治疗前	38.73 ± 11.82	35.98 ± 6.54	40.68 ± 16.53	32.21 ± 11.64
	治疗后	45.43 ± 8.46 ^{###}	40.98 ± 21.92 ^{##}	41.53 ± 12.64 ^{##}	37.98 ± 9.75 ^{##}
治疗	治疗前	37.97 ± 8.52	35.23 ± 8.32	39.07 ± 11.86	31.73 ± 13.23
	治疗后	50.43 ± 14.34 ^{####}	44.64 ± 16.43 ^{###}	47.76 ± 12.55 ^{####}	40.53 ± 10.64 ^{##}

与同组治疗前比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与对照组治疗后比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$
^{###} $P < 0.05$ ^{####} $P < 0.01$ vs same group before treatment; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group after treatment

表 2 两组治疗前后 HIF-1 α 、VEGF 比较

Table 2 Comparison on HIF-1 α and VEGF between two groups before and after treatment

组别	观察时间	HIF-1 α /(pg·mL ⁻¹)	VEGF/(pg·mL ⁻¹)
对照	治疗前	487.38 ± 89.43	38.37 ± 10.58
	治疗后	339.88 ± 28.37 ^{##}	36.37 ± 10.28
治疗	治疗前	485.34 ± 102.44	36.44 ± 18.45
	治疗后	236.32 ± 129.38 ^{####}	22.33 ± 10.44 ^{####}

与同组治疗前比较: ^{##} $P < 0.01$; 与对照组治疗后比较: ^{**} $P < 0.01$
^{####} $P < 0.01$ vs same group before treatment; ^{**} $P < 0.01$ vs control group after treatment

表 3 两组治疗前后 TCSS 比较

Table 3 Comparison on TCSS between two groups before and after treatment

组别	治疗前	治疗后
对照	12.18 ± 7.59	9.04 ± 3.75 ^{##}
治疗	11.38 ± 4.35	7.73 ± 3.96 ^{####}

与同组治疗前比较: ^{##} $P < 0.01$; 与对照组治疗后比较: ^{**} $P < 0.01$
^{####} $P < 0.01$ vs same group before treatment; ^{**} $P < 0.01$ vs control group after treatment

2.4 不良反应

治疗过程中治疗组仅 1 例患者出现轻微胸痛, 与滴速过快有关, 调整滴速后症状消失。对照组无不良反应出现。

3 讨论

甲钴胺是治疗 DPN 的常用药物, 它可以通过甲基化功能参与机体甲基转移相关蛋白、核酸和磷脂合成, 对损伤神经的修复和髓鞘形成具有重要保护作用。但也有临床报道^[6]认为甲钴胺治疗虽能够改善神经组织缺血、缺氧状态, 但对其功能恢复并不理想。由于 DPN 患者往往表现为四肢末端的手套、脚套样变化, 感觉麻木、疼痛, 且程度随病程延长而加重, 甚至造成患者足感染和截肢, 是最常见的致残原因。有学者^[7]认为, DPN 的机制可能与由于高血糖导致的代谢紊乱、血管损伤、神经营养障碍、氧化应激等有关。但有研究^[8]显示, 这些因素的作用可能导致或加重机体组织的缺氧, 从而使患者出现代偿性或失代偿性变化。而这些变化很可能与 HIF-1 α 表达有关。

目前学者对 HIF-1 α 与糖尿病周围神经病变的关系并不完全一致。Chavez 等^[9]认为, 轻度的缺氧可增加细胞的生存能力, 这种变化与缺氧刺激 HIF-1 α 表达有关。其机制可能与以下有关: (1) 在低氧条件下, HIF-1 α 可以诱导磷酸甘油酸酯激酶 1 (PGK1) 和葡萄糖转运载体 1、2 (GLUT1、GLUT2) 表达, 从而刺激糖酵解产生能量, 并减少线粒体在低氧下的消耗, 为细胞适应低氧环境提供能量支持; (2) HIF-1 α 能够减少活性电子的产生, 从而减少缺氧调节下细胞膜的氧化应激损伤。VEGF 是 HIF-1 α

的下游因子,在缺氧调节下,VEGF可以在HIF-1 α 调控下大量产生,从而有利于血管形成和内皮细胞的增殖,使机体对低氧环境产生代偿性变化。Botusan等^[10]对糖尿病大鼠进行研究发现,坐骨神经病变大鼠HIF-1 α 和VEGF水平呈现即时性增长,说明神经病变后患鼠组织呈现缺血、缺氧状态;Cho等^[11]则认为,HIF-1 α 还可能诱导EPO表达,从而通过PI3K/AKT/GSK-3 β 途径,抑制p21表达,使细胞凋亡减少,并促进组织再生;唐枫燕等^[12]对糖尿病患者、DPN患者和正常人所做的描述性调查则显示,在糖尿病患者和DPN患者中,HIF-1 α 和VEGF水平均明显高于正常对照($P<0.05$),但DPN低于无并发症糖尿病患者($P<0.05$),因此认为,早期HIF-1 α 水平增高对糖尿病患者具有保护作用,但随着时间的延长,这种单纯增加HIF-1 α 的代偿作用减弱,而细胞毒性损伤逐渐显现。

本研究则显示,利用 α -硫辛酸的强抗氧化作用,可以对糖尿病周围神经病变进行治疗。这种治疗作用可能与其降低HIF-1 α 和VEGF水平有关。这个结论与上述学者的研究并不完全一致。考虑到本研究中的病程均较长,平均病程(7.38 \pm 1.35)年,这些患者的机体缺血、缺氧状况较为严重。与糖尿病发病初期的HIF-1 α 和VEGF迅速上升相比,目前的HIF-1 α 应该已超过代偿阶段,进入细胞毒过程。 α -硫辛酸的抗氧化作用应该同时调节HIF-1 α 水平,使之毒作用减弱。但这个过程导致下游VEGF水平的下降,又可能加重血管内皮的损失。这两个相反作用表现的最终结果是患者神经功能损伤改善,TCSS评分降低,因此推测,在糖尿病晚期,高血糖所导致的微循环障碍使HIF-1 α 更多的表现为细胞毒作用,使患者神经功能降低, α -硫辛酸的具有对抗HIF-1 α 损伤的作用。但由于本研究并未对不同病程的患者进行具体分析,研究结果尚需同行进一步验证。

HIF-1 α 和下游因子与DPN关系的研究近年来已成为人们关注的热点^[13-14]。但搜索数据库后发现,这些研究更多的关注HIF-1 α 在患者或模型动物中的表达,而极少有临床研究资料。基于以上原因,本研究利用 α -硫辛酸对DPN患者治疗后分析HIF-1 α 变化,结果发现 α -硫辛酸的具有更多地体现在降低HIF-1 α 水平上。这与通常认为的HIF-1 α 和VEGF的神经保护观点并不完全一致。这也提醒学

者,DPN发病过程中HIF-1 α 的作用更为复杂,或许对DPN的治疗也需要考虑病程变化,分层次进行。

参考文献

- [1] Yang W, Lu J, Weng J, *et al.* Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] Thangarajah H, Yao D, Chang E I, *et al.* The molecular basis for impaired hypoxia-induced VEGF expression in diabetic tissues [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(32): 13505-13510.
- [3] 钱荣立. 关于糖尿病的新诊断标准与分型 [J]. 中国糖尿病杂志, 2000, 8(1): 5.
- [4] 中国医师协会内分泌代谢科医师分会. 糖尿病周围神经病变诊疗规范: 征求意见稿 [J]. 中国糖尿病杂志, 2009, 17(8): 628-640.
- [5] 衡先培. 糖尿病性神经病变诊断与治疗 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 49-52.
- [6] 谢宝强, 周青美. 甲钴胺与法舒地尔联合治疗糖尿病周围神经病变的疗效 [J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(5): 949-951.
- [7] Geijer A E, van der Wall E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(10): 1009-1014.
- [8] Marfella R, D'Amico M, Di Filippo C, *et al.* Myocardial infarction in diabetic rats: role of hyperglycaemia on infarct size and early expression of hypoxia-inducible factor 1 [J]. *Diabetologia*, 2002, 45(8): 1172-1181.
- [9] Chavez J C, Almhanna K, Berti-Mattera L N. Transient expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and target genes in peripheral nerves from diabetic rats [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 374(3): 179-182.
- [10] Botusan I R, Sunkari V G, Savu O, *et al.* Stabilization of HIF-1 α is critical to improve wound healing in diabetic mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(49): 19426-19341.
- [11] Cho Y S, Bae J M, Chun Y S. HIF-1 α control keratinocyte proliferation by up-regulating p21(WAF1/Cip1) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1783(2): 323-333.
- [12] 唐枫燕, 李全民, 赵波. 缺氧诱导因子1 α 与糖尿病周围神经病变的关系 [J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(4): 266-268.
- [13] 刘学敏, 奚琦, 杜鹏. 缺氧诱导因子-1及其血管内皮生长因子在体外缺氧培养神经元中的表达及意义 [J]. 临床儿科杂志, 2012, 30(3): 268-270.
- [14] Cartina S B, Okamoto K, Pereira T, *et al.* Hyperglycemia regulates hypoxia-inducible factor-1 α protein stability and function [J]. *Diabetes*, 2013, 53(12): 3226-3232.