

氧化应激与糖尿病

哈尔滨医科大学第一临床医学院内分泌科 (150001) 张慧娟* 刘晓民

摘要: 高血糖引起的自由基产生过多或消除障碍导致氧化应激的出现, 氧化应激与糖尿病及其并发症的发生发展密切相关。抗氧化治疗为糖尿病及并发症的防治提供了新的思路。

关键词: 糖尿病; 氧化应激

Oxidative stress and diabetes

ZHANG Hui-juan, LIU Xiao-min

Department of Endocrinology, The First clinical Hospital of Harbin Medical University, Harbin, 150001

ABSTRACT: Overproduction or insufficient removal of highly reactive free radicals, largely due to hyperglycemia, causes oxidative stress, which is associated with the development and progression of diabetes and its complications. Antioxidants might be a new strategy for reducing diabetic complications.

Key words: diabetes; oxidative stress

引言

糖尿病是一种慢性进行性内分泌和代谢疾病。近年随着对自由基氧化损伤研究的不断深入, 证实氧化应激与糖尿病及并发症的发生发展关系密切^[1]。应用抗氧化治疗改善氧化应激可延缓并发症的发展。

1 氧化应激的定义

氧化应激是指机体内高活性分子如活性氧类自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮类自由基(reactive nitrogen species, RNS)产生过多或消除减少, 而导致组织受损。ROS 包括超氧阴离子(superoxide, $\cdot O_2^-$)、羟自由基(hydroxyl, $\cdot OH$)、过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)等, RNS 包括一氧化氮(nitric oxide, $\cdot NO$)、二氧化氮(nitrogen dioxide, $\cdot NO_2^-$)和过(氧化)亚硝酸盐(peroxynitrite, $ONOO^-$)等。在这些活性分子中 $\cdot O_2^-$ 、 $\cdot NO$ 和 $ONOO^-$ 被广泛研究并发现与糖尿病并发症关系密切。 $\cdot NO$ 是由 L-精氨酸经内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)催化而成的, 在血管平滑肌细胞 $\cdot NO$ 在鸟苷酸环化酶的作用下介导内皮依赖性血管舒张活动, $\cdot NO$ 可抑制血小板聚集和白细胞对血管内皮细胞的黏附。然而, $\cdot NO$ 易与 $\cdot O_2^-$ 反应, 生成高活性分子 $ONOO^-$, 引起机体损伤的级联反应。

2 氧化应激对机体的危害

在生理状态下, 体内产生的自由基可作为信号分子, 参与体内防御反应, 调节血管舒缩状态。但在病理条件下, 过多的自由基直接引起生物膜脂质过氧化、细胞内蛋白及酶变性、DNA 损害, 导致细胞死亡或凋亡, 组织损伤。血管壁处的氧化应激引起低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)氧化修饰, 氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, α -LDL)不能被 LDL 受体识别、代谢, 而被单核巨噬细胞通过细胞膜上的清道夫受体摄取, 形成泡沫细胞和动脉粥样硬化脂质

斑块。 $\cdot O_2^-$ 和 H_2O_2 能刺激核因子(nuclear factor of kappa B, NF- κB)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK), 引起血管平滑肌细胞迁移、增殖。 $ONOO^-$ 通过影响细胞的氧化还原状态和离子通道使蛋白质发生硝基化或失活, 进而限制线粒体呼吸, 导致细胞凋亡。糖尿病高血糖状态下自由基通过多个途径引起机体损伤, 包括晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)增多, 多元醇通路和己糖胺通路活性增高, 蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)活化。

3 糖尿病患者氧化应激的来源

糖尿病时氧化应激来源于非酶化、酶化和线粒体呼吸链等多个途径。氧化应激的非酶化途径来自葡萄糖的自氧化特性。氧化产物在自身氧化的过程中产生 ROS。而且在非酶促条件下, 葡萄糖和蛋白质相互作用形成 AGEs, AGEs 与其受体结合, 促进 ROS 形成。高血糖还引起多元醇通路活性增高, NADPH/NADP⁺比例降低, ROS 合成增多。

糖尿病时氧化应激的酶主要包括一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)、还原型辅酶 II(reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate, NAD(P)H)氧化酶和黄嘌呤氧化酶。NOS 有五个辅基, 如果缺乏 NOS 的底物 L-精氨酸或一个辅基, NOS 的产物将由 $\cdot NO$ 变为 $\cdot O_2^-$ 。NAD(P)H 氧化酶是细胞膜相关酶, 受刺激后将电子转移给氧生成 $\cdot O_2^-$ 。Guzik 等检测糖尿病及非糖尿病患者隐静脉及乳房内动脉 NOS、NAD(P)H 氧化酶水平, 发现 NAD(P)H 氧化酶是糖尿病及非糖尿病患者血管系统超氧化物的重要来源, 糖尿病患者动、静脉 NAD(P)H 水平升高, NOS 功能受损, 补充 NOS 辅助因子四氢生物嘌呤后 NOS 功能恢复正常^[2]。

线粒体是细胞有氧呼吸的主要场所。线粒体通过氧化磷酸化合成 ATP, 同时将电子通过电子传递体传递给分子氧。在生理条件下, $\cdot O_2^-$ 可立即被体内防御系统清除。Nishikawa 等发现高糖刺激下牛主动脉内皮细胞 ROS 产生增多, 应用电子传递链复合体 II 抑制剂可减少 ROS 产生, 且可减少 AGEs 和山

* 作者简介: 张慧娟(1973-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 医学博士, 主治医师, 从事内分泌学专业。

收稿日期: 2005-11-21, 接受日期: 2005-12-18

梨醇生成,降低 NF- κ B 的活性^[3]。可见高血糖诱导线粒体呼吸链产生的 $\bullet\text{O}_2^-$ 是糖尿病氧化应激恶性循环的始动剂。

4 抗氧化防御系统

正常情况下机体存在一系列自由基清除系统,包括酶类和非酶类抗氧化剂。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是细胞内一个重要的抗氧化酶,它是一种金属蛋白,可以歧化 $\bullet\text{O}_2^-$ 生成 H_2O_2 。另一个重要的酶是谷胱甘肽还原酶,可催化氧化型谷胱甘肽转变成还原型谷胱甘肽(reduced glutathione homone, GSH),GSH在谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)作用下,把 H_2O_2 还原成 H_2O ,其自身被氧化为氧化型谷胱甘肽。糖尿病时SOD和GSH-PX活性减低。

体内的非酶类抗氧化剂包括维生素A、C、E; α -硫辛酸;类胡萝卜素;微量元素如铜、锌、硒;辅酶Q10;辅助因子如叶酸、尿酸、白蛋白和维生素B₁、B₂、B₆和B₁₂。维生素E为脂溶性抗氧化剂,可抑制脂质过氧化反应。维生素C能与自由基结合,保护生物膜免遭脂质过氧化的破坏。维生素C还能稳定NOS的辅助因子四氢生物嘌呤,从而增加内皮细胞NO的含量。辅酶Q10是内源性复合物,作为线粒体复合体的辅助因子而起抗氧化作用,高浓度的辅酶Q10能清除 $\bullet\text{O}_2^-$ 。 α -硫辛酸是所有抗氧化剂中功能最多且活性最强的抗氧化剂,能抑制AGEs的形成,清除自由基和活性氧。

5 抗氧化治疗

将抗氧化剂应用于糖尿病的试验多种多样,利用标志物可以评价抗氧化剂对氧化应激的影响,这些标志物包括过氧化物氢酶、SOD、GSH-PX、谷胱甘肽还原酶等。

有研究表明维生素C和维生素E可升高糖尿病大鼠过氧化物氢酶和SOD活性,降低尿白蛋白排泄率、肾小球基膜厚度和肾脏重量^[4]。Obrosova等发现链脲菌素(streptozocin, STZ)诱导的Wistar大鼠视网膜GSH活性降低, α -硫辛酸对其没影响^[5]。另有研究认为应用 α -硫辛酸可逆转SOD水平,舒张血管,恢复基础NO水平^[6]。Brands MW等发现应用NOS抑制剂可诱导1型糖尿病大鼠发生高血压,如果早期应用SOD拟似物Tempol,可预防高血压的发生,改善肾小球滤过率^[7]。有关抗氧化剂的动物实验研究结果不尽相同,可能与不同的实验模型,不同的给药时间,不同的剂型有关。尽管如此,动物模型研究依然为临床研究提供了重要基础。

抗氧化剂的临床研究主要集中在维生素E和维生素C,近期也有关于 α -硫辛酸的实验。其中包括一些大规模临床研究,如心脏后果预防评估研究(Heart Outcomes Prevention Evaluation, HOPE)^[8],应用抗氧化剂二级预防终末期肾功能衰竭患者的心血管病研究(Secondary Prevention using Antioxidants of Cardiovascular disease in Endstage renal disease, SPACE)^[9]和一级预防计划(the Primary Prevention Project, PPP)^[10]。

HOPE研究旨在评估雷米普利和/或维生素E治疗能否降低高危人群心血管事件的发病率和死亡率。入选9544例年龄大于55岁有血管病或糖尿病并另一种心血管危险因素的病人,随访观察4.5年,试验为随机、双盲、安慰剂对照,2x2析因分析,病人随机分为雷米普利10mg组或安慰剂组,并加服维生素E400IU或安慰剂。其中维生素E及安慰剂组分别有糖尿病患者1838例及1816例。结果显示维生素E组与安慰剂组比较,两组无差异^[8]。

SPACE研究入选196例既往有心血管病且由于肾衰行长期血液透析治疗的患者,观察大剂量维生素E对心血管疾病

后果的影响。患者分别服用维生素E800U/d或安慰剂,每组约43%为糖尿病患者。结果发现一级终点维生素E组占13.4%,安慰剂组占33.3%;心肌梗死维生素E组占5.2%,安慰剂组占17.2%^[9]。

PPP研究旨在观察小剂量阿司匹林(100mg/d)和维生素E(300mg/d)预防心血管事件的效果。试验为随机、对照、开放2x2析因设计,试验共纳入4495例受试者,研究对象有下列一种或多种危险因素:高血压、高胆固醇血症、糖尿病、肥胖、早发性心肌梗死家族史或老年,其中糖尿病患者1031例。在随访至平均3.6年后,服用阿司匹林者心血管死亡率和总心血管事件均降低。而维生素E对心血管死亡率或总心血管事件无影响^[10]。

与维生素E相比, α -硫辛酸临床研究的结果似乎更有希望。SYDNEY研究(sensory symptoms of diabetic polyneuropathy SYDNEY)采用随机、双盲、安慰剂对照,静点 α -硫辛酸600mg/d,结果表明 α -硫辛酸可显著改善糖尿病多发神经病变^[11]。Ziegler D等^[12]经过荟萃分析发现 α -硫辛酸600mg/d安全、有效,可明显改善糖尿病神经病变。目前很多随机、安慰剂对照、大范围试验提示维生素E的作用令人失望。 α -硫辛酸是具有自我再生能力的线粒体抗氧化剂,在糖尿病动物模型及糖尿病患者中被证实具有内皮保护功能, α -硫辛酸有可能在糖尿病血管病变的防治中发挥作用。人们对多种抗氧化剂关注的同时发现一些目前临床常用药同样有抗氧化作用。

已有多个动物实验证实噻唑烷二酮类有抗氧化作用。有研究表明吡格列酮可降低糖尿病鼠尿中氧化应激标志物异前列腺素水平^[13]。Bagi等发现罗格列酮可降低糖尿病鼠NAD(P)H诱导的ROS,升高过氧化物氢酶活性^[14]。

近来发现他汀类药物具有不依赖于其降脂效果的抗氧化作用,Takayama等发现他汀类药物可降低糖尿病犬NAD(P)H氧化酶^[15]。他汀类药物阻断甲羟戊酸途径介质的合成,抑制类异戊二烯的产生,从而阻碍各种蛋白酶及介质转变为活性形式,并减少其与细胞膜的结合,导致胞内NAD(P)H氧化酶等激活减少。此外,他汀类药物通过刺激对氧磷酶防止低密度脂蛋白胆固醇氧化。

血管紧张素通过增加NAD(P)H氧化酶活性,诱导细胞产生ROS,血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin-converting enzyme inhibitor, ACEI)和血管紧张素II受体拮抗剂(angiotensin receptor blocker, ARB)通过抑制血管紧张素减轻氧化损伤。Berry等发现ACEI或ARB可以降低冠心病患者冠状动脉 $\bullet\text{O}_2^-$ 水平^[16]。

近年来发现第二代磺脲类口服降糖药物具有抗氧化、清除自由基的能力,确切机制不清。Chugh SN等分别用格列齐特和格列本脲治疗糖尿病患者,研究发现与格列本脲相比,格列齐特可明显降低丙二醛,升高GSH^[17]。

综上所述,在糖尿病及其并发症的发生发展过程中,氧化应激起着重要作用,对氧化应激与糖尿病关系的研究可加深对其发病机制的认识。虽然目前抗氧化治疗的临床研究结果令人失望,但是随着人们对氧化应激认识的不断深入,抗氧化治疗有望成为糖尿病及其并发症治疗中一项新的策略。

参考文献

- [1] 赵明, 胡兰萍, 王燕燕等. 糖尿病抵抗素和C反应蛋白水平的关联性研究[J]. 医学研究生学报, 2005, 18(5): 427-428
- [2] Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, et al. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H ox

- dase and endothelial nitric oxide synthase [J]. *Circulation*, 2002, 105 (14): 1656–1662
- [3] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. *Nature*, 2001, 414(6865): 813–820
- [4] Kedziora–Kornatowska K, Szram S, Komatowski T, et al. Effect of vitamin E and vitamin C supplementation on antioxidative state and renal glomerular basement membrane thickness in diabetic kidney[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2003, 95(4): e134–143
- [5] Ohrosová IG, Fathallah L, Greene DA. Early changes in lipid peroxidation and antioxidative defense in diabetic rat retina: effect of DL- α -lipoic acid[J]. *Eur J Pharmacol*, 2000, 398(1): 139–146
- [6] Kocak G, Aktan F, Canbolat O, et al. ADIC Study Group—Antioxidants in Diabetes-Induced Complications. α -Lipoic acid treatment ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes[J]. *Diabetes Nutr Metab*, 2000, 13(6): 308–318
- [7] Brands MW, Bell TD, Gibson B. Nitric oxide may prevent hypertension early in diabetes by counteracting renal actions of superoxide[J]. *Hypertension*, 2004, 43(1): 57–63
- [8] Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, et al. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(3): 154–160
- [9] Boaz M, Smetana S, Weinstein T, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial[J]. *Lancet*, 2000, 356(9237): 1213–1218
- [10] Sacco M, Pellegrini F, Roncaglioni MC, et al. PPP Collaborative

Group. Primary prevention of cardiovascular events with low-dose aspirin and vitamin E in type 2 diabetic patients: results of the Primary Prevention Project (PPP) trial[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(12): 3264–3272

- [11] Ametov AS, Barinov A, Dyck PJ, et al. The sensory symptoms of diabetic polyneuropathy are improved with α -lipoic acid: the SYDNEY trial[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(3): 770–776
- [12] Ziegler D, Nowak H, Kempler P, et al. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant α -lipoic acid: a meta-analysis[J]. *Diabet Med*, 2004, 21(2): 114–121
- [13] Dobrian AD, Davies MJ, Schriver SD, et al. Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension[J]. *Hypertension*, 2001, 37(2 Part 2): 554–560
- [14] Bagi Z, Koller A, Kaley G. PPAR γ activation, by reducing oxidative stress, increases NO bioavailability in coronary arterioles of mice with Type 2 diabetes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 286(2): H742–H748
- [15] Takayama T, Wada A, Tsutamoto T, et al. Contribution of vascular NAD(P)H oxidase to endothelial dysfunction in heart failure and the therapeutic effects of HMG-CoA reductase inhibitor[J]. *Circ J*, 2004, 68(11): 1067–1075
- [16] Berry C, Anderson N, Kirk AJ, et al. Renin angiotensin system inhibition is associated with reduced free radical concentrations in arteries of patients with coronary heart disease[J]. *Heart*, 2001, 86(2): 217–220
- [17] Chugh SN, Dhawan R, Kishore K, et al. Glibenclamide vs gliclazide in reducing oxidative stress in patients of noninsulin dependent diabetes mellitus— a double blind randomized study[J]. *J Assoc Physicians India*, 2001, 49(8): 803–807

非酒精性脂肪肝与胰岛素抵抗

哈尔滨医科大学第一临床医学院 (150001) 韩继武

自 1958 年 Ludwig 首次发现非酒精性脂肪肝 (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 以来,时至今日,NAFLD 已成为全球范围内普遍存在的具有流行病学特征的顽疾,是一种越来越引起人们重视和认识的慢性肝病。其发病机制的研究已近半个世纪,几个潜在的机制已经明确,其中,胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 是目前为止在 NAFLD 发病中最重要的环节。

非酒精性脂肪肝 (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种无过量饮酒史 (或酒精摄入量小于 20 克/天) 致肝实质细胞脂肪变性和脂肪贮积,并以肝细胞脂肪变、气球样变、弥漫性肝小叶轻度炎症和 (或) 肝中央静脉、肝窦周围胶原沉积等为临床病理特征的慢性肝脏疾病或非酒精性脂肪贮积综合症。胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 一词是用于临床和实验研究,表示胰岛素 (insulin) 对其靶组织糖利用和维持血糖正常稳态的能力减低,意即存在“代谢性胰岛素抵抗”,反映胰岛素对糖代谢作用的不足,而未言及胰岛素其他方面的作用。事实上胰岛素的作用是多方面的,除糖代谢外尚包括脂肪、蛋白质代谢、离子和氨基酸的运转、细胞的增殖与分化以及 NO 合成等。

1 NAFLD 的高危因素与流行病学特征

NAFLD 常见的高危因素包括肥胖、高脂血症、2 型糖尿病和血清转氨酶慢性升高等^[1]。其中肥胖是最主要的原因之一。肥胖者中 NAFLD 的发病率为 50%,重度肥胖者肝活检证实组织学完全正常者仅占 10%,单纯性脂肪肝占 30%,非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 占 24%~30.5%,肝纤维化占 28%,肝硬化或肝硬化倾向占 1.5%~8%^[2];有的研究甚至认为 NAFLD 是一种癌前期病变^[3]。随着生活条件的改善,肥胖儿童日益增多,脂肪肝在儿童中的发病率也逐渐增多^[4]。体重指数 (BMI) 超过 30% 的肥胖患者患 NAFLD 的危险性较正常人高出 4.6 倍,而患糖尿病的患者无论 BMI 如何,其患 NAFLD 的危险性及病情严重程度均明显增加^[5]。在高脂血症中,高甘油三酯血症较高胆固醇血症患 NAFLD 的危险性更大^[6]。有脂肪性肝炎或原因不明的肝硬化家族史其也被认为是 NAFLD 的一个危险因素^[7]。但是一些体质瘦、无糖尿病及高脂血症的病人也可患 NAFLD,这说明遗传因素和不良的生活方式也是其发病机制之一。

作者简介:韩继武 (1967–),男,博士研究生,副教授

收稿日期:2005–11–12,接受日期:2005–12–26