

· 论 著 ·

2 型糖尿病患者谷胱甘肽催化反应体系改变及临床意义

魏卓, 杨广民

吉林省人民医院检验科, 吉林 长春 130022

摘要: **目的** 分析 2 型糖尿病(T2DM)患者谷胱甘肽催化反应体系改变情况,评价还原型谷胱甘肽治疗 T2DM 的效果。**方法** 选择 2014 年 10 月至 2015 年 6 月确诊的 T2DM 患者 86 例(T2DM 组)和健康人群 86 例(对照组),检测其血清过氧化氢(H_2O_2)、过氧化脂(LPO)含量及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、GSH 过氧化物酶(GSH-Px)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性;将 T2DM 组患者随机分为 GSH 组(给予还原型 GSH 治疗)和非 GSH 组(给予 B 族维生素治疗),每组 43 例。治疗 2 周后比较两组的 SOD 活性、糖化血红蛋白(HbA1c)含量、感觉神经传导速度(SCV)和尿蛋白排泄率(UAER)水平的变化情况。**结果** T2DM 组患者的 H_2O_2 和 LPO 含量分别为 (3.66 ± 0.81) nmol/L 和 (6.35 ± 1.43) nmol/L,明显高于对照组的 (2.23 ± 0.24) nmol/L 和 (4.14 ± 0.86) nmol/L,组间比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01);T2DM 组患者的 SOD、GSH、GSH-Px 及 GR 活性分别为 (41.36 ± 4.72) nu/ml、 (3.87 ± 1.56) μ g/L、 (0.28 ± 0.05) ng/L 和 (0.19 ± 0.06) ng/L,显著低于对照组的 (81.47 ± 9.73) nu/ml、 (4.46 ± 1.93) μ g/L、 (0.36 ± 0.09) ng/L 和 (0.27 ± 0.09) ng/L,组间比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01);治疗 2 周后,GSH 组患者的 SOD 活性、HbA1c、SCV 及 UAER 明显优于非 GSH 组($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论** T2DM 患者谷胱甘肽催化反应体系改变明显,给予还原型 GSH 治疗能有效提高 T2DM 患者的 SOD 活性,改善 SCV 和 UAER 水平。**关键词:** 2 型糖尿病; 催化反应体系; 还原型谷胱甘肽; 超氧化物歧化酶; 糖化血红蛋白; 感觉神经传导速度; 尿蛋白排泄率

中图分类号: R 587.1 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2016)04-0437-04

Change of glutathione catalytic reaction system and its clinical significance in patients with type 2 diabetes

WEI Zhuo, YANG Guang-min

Department of Clinical Laboratory, Jilin Provincial People's Hospital, Changchun, Jilin 130022, China

Corresponding author: YANG Guang-min, E-mail: JLYGM@163.com

Abstract: Objective To analyze the changes of glutathione catalytic reaction system in patients with type 2 diabetes (T2DM) and evaluate the effect of reduced glutathione (GSH) for the treatment of T2DM. **Methods** A total of 86 T2DM patients definitely diagnosed between October 2014 and June 2015 were selected as T2DM group, and 86 healthy subjects were selected as control group. The serum contents of hydrogen dioxide(H_2O_2) and lipid peroxidation (LPO), and the activities of superoxide dismutase (SOD), GSH, GSH-peroxidase (GSH-Px) and glutathione reductase (GR) were detected. The T2DM patients were randomly divided into two groups ($n = 43$ each) according to treatment method: GSH group (treatment with reduced glutathione) and non-GSH group (treatment with Vitamin B Complex). Two weeks after treatment, the activity of SOD, the glycosylated hemoglobin (HbA1c) level, the sensory nerve conduction velocity (SCV) and urinary albumin excretion rate (UAER) in two groups were compared. **Results** Before treatment, the serum contents of H_2O_2 and LPO [(3.66 ± 0.81) nmol/L, (6.35 ± 1.43) nmol/L] in T2DM group were significantly higher than those in control group [(2.23 ± 0.24) nmol/L, (4.14 ± 0.86) nmol/L] (all $P < 0.01$); the activities of SOD, GSH, GSH-Px and GR [(41.36 ± 4.72) nu/ml, (3.87 ± 1.56) μ g/L, (0.28 ± 0.05) ng/L and (0.19 ± 0.06) ng/L] in T2DM group were significantly lower than those in control group [(81.47 ± 9.73) nu/ml, (4.46 ± 1.93) μ g/L, (0.36 ± 0.09) ng/L and (0.27 ± 0.09) ng/L] (all $P < 0.01$). Two weeks after treatment, the activity of SOD, the HbA1c level, the SCV and UAER in GSH

group were all significantly better than those in non-GSH group (all $P < 0.05$). **Conclusion** The glutathione catalytic reaction system in T2DM patients has obvious changes, and the therapy of reduced GSH can effectively raise the activity of SOD and improve SCV and UAER level.

Key words: Type 2 diabetes; Catalytic reaction system; Reduced glutathione; Superoxide dismutase; Glycosylated hemoglobin; Sensory nerve conduction velocity; Urinary albumin excretion rate

目前,阐述糖尿病并发症的发病机制有多种学说,但尚无定论。谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 是一种含 γ -酰胺键和巯基的三肽,具有保持正常免疫系统的功能和抗氧化、整合解毒的作用,谷胱甘肽系统是人体抗氧化重要的防御系统^[1-2]。催化反应是指在催化剂作用下进行的化学反应。目前研究认为,过氧化氢 (H_2O_2) 和 O_2 在过氧化物酶-辅酶体系催化下生成损伤机体的羟自由基 ($\cdot OH$)^[3],超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 能通过歧化反应清除生物细胞中的超氧自由基 ($\cdot O_2^-$),生成 H_2O_2 和 O_2 , H_2O_2 由过氧化氢酶催化生成 H_2O 和 O_2 , 从而减少自由基对有机体的毒害^[4-5]。本文以 2 型糖尿病患者和健康人群各 86 例为对象,探讨 T2DM 患者 GSH 催化反应体系的变化及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 10 月至 2015 年 6 月经吉林省人民医院确诊为 T2DM 的患者 86 例 (T2DM 组)。纳入标准:(1)符合 2004 年中华医学会糖尿病学分会制定的 T2DM 诊断标准^[6];(2)患者知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)伴泌尿系统感染、原发性肾脏疾病、心功能不全者;(2)最近 1 个月内发生发热、感染及手术等情况者。另随机选择我院门诊检查的健康人群 86 例为对照组。T2DM 组 86 例患者中,男性 45 例,女性 41 例;年龄 31 ~ 78 (54.36 \pm 6.35) 岁;体质指数 (BMI) 为 21.45 \pm 2.81。对照组 86 例对象中,男性 44 例,女性 42 例;年龄 28 ~ 79 (52.57 \pm 7.14) 岁;BMI 为 20.76 \pm 2.63。两组患者的性别构成、年龄及 BMI 比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。按照随机数字表法将 T2DM 组患者随机分为 GSH 组和非 GSH 组, GSH 组 43 例患者中,男性 22 例,女性 21 例;年龄 31 ~ 77 (53.78 \pm 6.12) 岁,病程 2 ~ 16 (8.73 \pm 2.14) 年; BMI 为 20.69 \pm 2.74。非 GSH 组 43 例患者中,男性 23 例,女性 20 例;年龄 32 ~ 78 (54.94 \pm 6.84) 岁;病程 2 ~ 16 (8.46 \pm 2.12) 年, BMI 为 20.69 \pm 2.74。GSH 组与非 GSH 组患者的性别构成、年龄、病程及 BMI 差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。

1.2 样本采集与检测方法 仪器:芬兰 Konelab 公

司 Konelab 60i 全自动生化分析仪。各对象于清晨空腹抽取 5 ml 静脉血放置于普通玻璃管,加入肝素抗凝,在 4 $^{\circ}C$ 下高速离心 (3 500 r/min, 离心半径 17.3 cm) 10 min 后提取上清液放入试管,并置于 -40 $^{\circ}C$ 的冰箱保存。采用同步荧光法检测 H_2O_2 和过氧化脂质 (Lipid peroxide, LPO) 含量,采用 ELISA 法检测 (试剂盒由上海森雄科技提供) GSH、GSH-Px 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性;采用黄嘌呤氧化酶法 (试剂盒由上海钰博生物科技提供) 检测 SOD 活性。

1.3 治疗方法 T2DM 组患者均根据中华医学会糖尿病学分会 2010 年提出的中国 T2DM 防治指南 (2010 年版)^[6] 中的意见进行治疗,即均给予饮食控制、口服降糖药物、严格控制血糖、控制血压等基础治疗,基础治疗 2 周后,若患者情况稳定,则:GSH 组给予注射用还原型谷胱甘肽 (重庆药友制药,国药准字 H19991067,批号 1408116,规格 0.6 g) 1.8 g/次,1 次/d,加入 5% 的葡萄糖注射液 250 ml 中静脉滴注;非 GSH 组给予 B 族维生素营养神经疗法。两组患者均于治疗 2 周后观察。

1.4 观察指标 (1)对 T2DM 组与对照组患者 H_2O_2 、LPO 含量及 SOD、GSH、GSH-Px 及 GR 活性进行比较,分析 T2DM 患者谷胱甘肽催化反应体系改变情况。(2)对 T2DM 患者实施 GSH 干预的效果,具体指标包括 SOD 活性、HbA1c (禁食 10 h 后取清晨静脉血测定, DCA-2000, Bayer 公司)、采用 Medtronic 公司提供的肌电图仪测定双侧胫后感觉神经传导速度 (sensory nerve conduction velocity, SCV) 和尿蛋白排泄率 (urinary albumin excretion rate, UAER) 的变化情况。

1.5 统计学处理 用 SPSS 17.0 软件进行数据统计处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料组内比较采用配对 t 检验,组间比较采用成组 t 检验;计数资料用频数和 % 表示,比较采用 χ^2 检验。检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组患者谷胱甘肽催化反应体系改变情况 与对照组比较, T2DM 组患者的 H_2O_2 、LPO 含量明显增高,而 SOD、GSH、GSH-Px 及 GR 活性则明显降低,组

表 1 T2DM 组与对照组 H₂O₂、LPO 含量及 SOD、GSH、GSH-Px 及 GR 活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	H ₂ O ₂ (nmol/L)	LPO (nmol/L)	SOD (nu/ml) *	GSH (μg/L)	GSH-Px (ng/L)	GR (ng/L)
T2DM 组	86	3.66 ± 0.81	6.35 ± 1.43	41.36 ± 4.72	3.87 ± 1.56	0.28 ± 0.05	0.19 ± 0.06
对照组	86	2.23 ± 0.24	4.14 ± 0.86	81.47 ± 9.73	4.46 ± 1.93	0.36 ± 0.09	0.27 ± 0.09
<i>t</i> 值		3.147	4.742	7.689	3.264	2.759	3.014
<i>P</i> 值		0.006	0.003	0.000	0.005	0.008	0.007

注: * nu 表示亚硝酸盐单位。

表 2 GSH 组与非 GSH 组患者的 SOD 活性、HbA1c、SCV 及 UAER 治疗前后变化情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SOD (nu/ml)		HbA1c (%)		SCV (m/s)		UAER (μg/min)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
GSH 组	43	42.13 ± 3.78	69.24 ± 10.67 ^①	7.81 ± 1.04	7.73 ± 0.92 ^②	31.54 ± 4.78	38.86 ± 6.32 ^③	97.87 ± 1.56	21.94 ± 1.44 ^④
非 GSH 组	43	40.94 ± 4.16	58.46 ± 9.74 ^⑤	7.89 ± 1.01	8.91 ± 1.01 ^⑥	31.04 ± 4.12	33.65 ± 4.87 ^⑦	98.74 ± 1.54	54.36 ± 1.51 ^⑧
<i>t</i> 值		0.374	3.716	0.163	2.436	0.118	3.049	0.524	7.685
<i>P</i> 值		0.872	0.004	0.912	0.032	0.945	0.006	0.437	0.000

注:与本组治疗前比较,① $t=4.172, P=0.002$;② $t=0.632, P=0.746$;③ $t=2.267, P=0.025$;④ $t=9.463, P=0.000$;⑤ $t=3.726, P=0.004$;⑥ $t=2.533, P=0.031$;⑦ $t=0.362, P=0.883$;⑧ $t=6.714, P=0.000$ 。

间比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。见表 1。

2.2 对 T2DM 患者实施 GSH 干预的效果 治疗 2 周后与治疗前组内比较, GSH 组与非 GSH 组患者的 SOD 活性均明显提高、UAER 明显改善, GSH 组 SCV 明显改善, 差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。治疗 2 周后, GSH 组与非 GSH 组比较, SOD 活性、HbA1c、SCV 及 UAER 差异均有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

3 讨论

在正常情况下, 机体抗氧化能力与不断产生的氧自由基的氧化能力保持平衡, 若抗氧化能力下降或自由基产生过多, 就会导致机体损伤。机体内氧自由基和 LPO 含量的增加促进了机体器官的老化、功能丧失, 甚至导致组织、器官的衰亡。

对糖尿病患者, 在持续高糖、游离脂肪酸的刺激下, 通过葡萄糖自动氧化、多元醇代谢途径活化等一系列催化反应, 致使体内活性氧、H₂O₂ 和 LPO 含量增高, 而高血糖也使机体抗氧化酶活性降低^[8]。所以 T2DM 患者的 H₂O₂ 和 LPO 含量明显增高, 而 SOD、GSH、GSH-Px 及 GR 活性则明显降低。本研究结果显示, 与健康人群比较, T2DM 患者的 H₂O₂ 和 LPO 含量明显增高, 而 SOD、GSH、GSH-Px 及 GR 活性则明显降低, 与谢建军等^[9] 研究结果一致。

GSH 作为人体最重要的自由基清除剂, 可直接还原自由基或促进 SOD 的合成, GSH-Px 可将 H₂O₂ 还原成 O₂ 和 H₂O, 从而去除其活性氧的毒性^[10]。一旦机体的抗氧化能力下降, 便导致各种病变。在下一步的研究中, 我们将探讨 GSH、GSH-Px 及 GR 活性与血管病变的相关性。

谷胱甘肽是谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成的三肽物质^[11], 以还原型谷胱甘肽为主要活性状态, 含有活化基团-SH 键, 具有防止自由基对细胞的氧化损伤、结合毒性过氧化物以及抗脂质过氧化等作用, 是细胞内主要的抗氧化物^[12], 在保护细胞膜的完整性方面具有很好的功效^[13-14]。本研究显示, T2DM 患者在常规基础治疗后, 给予还原型 GSH 1.8 g/d 的 GSH 组与给予 B 族维生素治疗的非 GSH 组比较, 治疗 2 周后 GSH 组患者的 SOD 活性、HbA1c、SCV 及 UAER 明显优于非 GSH 组。这说明, GSH 在改善 T2DM 患者 SOD 活性、改善神经传导速度及改善 UAER 方面的效果优于 B 族维生素, 这种优势主要是由 GSH 清除氧自由基并直接修复受损的神经细胞决定的。

综上所述, T2DM 患者的 H₂O₂ 和 LPO 含量明显增高, SOD、GSH、GSH-Px 及 GR 活性明显降低, 还原型 GSH 治疗能有效提高 T2DM 患者的 SOD 活性, 改善 SCV 和 UAER 水平。

参考文献

- [1] 辛光大, 周广宇. 还原型谷胱甘肽对老年早期糖尿病肾病患者氧化应激和炎症反应的影响[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(6): 1449-1450.
- [2] 谢雅清, 梁晓美, 叶伟霞. 还原型谷胱甘肽的药理作用与临床应用研究进展[J]. 中国药业, 2013, 22(7): 124-127.
- [3] 李海涛, 李玉平, 曹宏斌, 等. 过氧化物酶-辅酶 NADH 催化 O₂/H₂O₂ 产生羟基自由基研究及其氯苯处理初探[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(11): 3119-3123.
- [4] 丁黎敏, 黄小民, 张卓一, 等. 原花青素对过氧化氢损伤内皮细胞 SOD、GSH-PX 活性的影响[J]. 中国中医急症, 2013, 22(5): 714-716.

理心理的痛苦减轻,最终其生存质量获得提高。因此在抗病毒药物治疗早期应对患者加强健康教育、心理疏导,提高治疗的依从性,从而使更多患者受益。但治疗 48 周时两组腹部症状差异仍不明显,是否与心理暗示有关,尚需加大样本量进行观察。抗病毒治疗对 CHC 合并冷球蛋白血症的作用机制如何,有待进一步研究。

参考文献

- [1] Wang LF, Wu CH, Shan Y, et al. Prevalence of abnormal glycometabolism in patients with chronic hepatitis C and related risk factors in China[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(2): 183 - 188.
- [2] European Association for the Study of the Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2014[J]. J Hepatol, 2014, 61(2): 373 - 395.
- [3] Feld JJ. Treatment indication and response to standard of care with peginterferon and ribavirin in acute and chronic HCV infection[J]. Best Pract Resh Clin Gastroenterol, 2012, 26(4): 429 - 444.
- [4] Cacoub P, Gragnani L, Comarmond C, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection[J]. Dig Liver Dis, 2014, 46 Suppl 5: S165 - S173.
- [5] Mondelli MU, Zorzoli I, Cerino A, et al. Clonality and specificity of cryoglobulins associated with HCV: pathophysiological implications [J]. J Hepatol, 1998, 29(6): 879 - 886.
- [6] Younossi ZM, Guyatt G, Kiwi M, et al. Development of a disease specific questionnaire to measure health related quality of life in patients with chronic liver disease[J]. Gut, 1999, 45(2): 295 - 300.
- [7] St Clair EW. Hepatitis C virus-related cryoglobulinemic vasculitis; emerging trends in therapy[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(3): 604 - 608.
- [8] Gragnani L, Fabbrizzi A, Triboli E, et al. Triple antiviral therapy in hepatitis C virus infection with or without mixed cryoglobulinaemia: a prospective, controlled pilot study[J]. Dig Liver Dis, 2014, 46(9): 833 - 837.
- [9] Damacco F, Tucci FA, Lauletta G, et al. Pegylated inteferon- α , ribavirin, and rituximab combined therapy of hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia: a long-term study [J]. Blood, 2010, 116(3): 343 - 353.
- [10] Lauletta G, Russi S, Conteduca V, et al. Hepatitis C virus infection and mixed cryoglobulinemia [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 502156.
- [11] Oze T, Hiramatsu N, Mita E, et al. A multicenter survey of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan[J]. Hepatol Res, 2013, 43(1): 35 - 43.
- [12] Stine JG, Cornella S, Shah NL. Treatment of chronic hepatitis C complicated by mixed cryoglobulinemia with new protease inhibitor, sofosbuvir[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(10): e64.
- [13] 李新华, 王会琳, 张爱秋, 等. 抗病毒治疗对慢性丙型肝炎合并冷球蛋白血症患者肝功能的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2014, 24(3): 144 - 145, 181.
- [14] Gragnani L, Fognani E, Piluso A, et al. Long-term effect of HCV eradication in patients with mixed cryoglobulinemia: a prospective, controlled, open-label, cohort study [J]. Hepatology, 2015, 61(4): 1145 - 1153.

收稿日期: 2015 - 12 - 16 修回日期: 2016 - 01 - 28 编辑: 石嘉莹

(上接第 439 页)

- [5] 张红欣, 韩鲁军, 安召伟, 等. 还原型谷胱甘肽对表阿霉素所致心脏毒性的保护作用及机制探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(10): 1219 - 1221.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2010 年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(1): 1227 - 1245.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会代谢综合征研究协作组. 中华医学会糖尿病学分会关于代谢综合征的建议[J]. 中华糖尿病杂志, 2004, 12(3): 156 - 161.
- [8] 杜雪雪, 李瑞, 张惠英. 2 型糖尿病患者血清氧化应激水平及相关微量元素分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(1): 59 - 62.
- [9] 谢建军, 杨英姿, 王长松, 等. 2 型糖尿病患者斋月前后丙二醛、超氧化物歧化酶、总抗氧化力和谷胱甘肽过氧化物酶变化的观察[J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 21(5): 449 - 451.
- [10] 鲁雅琴. 还原型谷胱甘肽对大鼠局灶性脑缺血再灌注后 MDA、GSH-PX、SOD 表达的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2006.
- [11] Koga M, Serritella AV, Messmer MM, et al. Glutathione is a physiologic reservoir of neuronal glutamate[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 409(4): 596 - 602.
- [12] Yang KC, Wu CC, Chen WY, et al. l-Glutathione enhances antioxidant capacity of hyaluronic acid and modulates expression of pro-inflammatory cytokines in human fibroblast-like synoviocytes[J]. J Biomed Mater Res A, 2016 Mar 29. [Epub ahead of print].
- [13] 王宇飞, 蔡元丽, 林夏, 等. 毛细管电泳-激光诱导荧光检测法分离检测谷胱甘肽及其构成氨基酸[J]. 化学研究与应用, 2013, 25(3): 311 - 316.
- [14] 张哲英, 张蓓, 秦静, 等. 多器官功能障碍综合征患者血清对上皮细胞氧化损伤的影响及还原型谷胱甘肽的保护作用[J]. 中国急救医学, 2015, 35(1): 38 - 43.

收稿日期: 2016 - 02 - 10 修回日期: 2016 - 04 - 01 编辑: 周永彬