

蛋白质非酶糖基化与糖尿病神经病变及中西医治疗概况

张克俭 梁晓春

糖尿病神经病变是糖尿病慢性并发症之一,据报道新发现的糖尿病患者中发现有神经病变者占 90%⁽¹⁾。目前认为持续的高血糖状态是其发生发展的基本病理生理基础。但具体发病机制尚未完全阐明,认为主要与以下几个方面有关:血管障碍,代谢紊乱:(1)多元醇代谢通路活性增高,山梨醇在细胞内蓄积,神经组织对肌醇摄取减少,最终导致 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性大大下降。(2)蛋白质糖基化使结构功能受到损害;神经营养因子的减少。其中蛋白非酶糖基化正日益引起学者们的重视,本文仅就目前这个领域的研究结果及中西医治疗情况作一综述。

蛋白质的非酶糖基化是糖的醛基或酮基与蛋白质分子中的赖氨酸或羟赖氨酸的 ϵ -氨基结合形成糖基化蛋白质的反应过程,又称作 Maillard 反应。首先形成可逆的早期糖基化产物 - Schiff 碱,进而形成较稳定的 Amadori 产物,此过程是可逆的。Amadori 产物进一步反应,形成不可逆的糖基化代谢终产物(AGE)。糖尿病时持续的高血糖可导致体内各种组织蛋白的非酶糖基化异常增高,如血红蛋白、晶状体蛋白、白蛋白、内皮细胞膜和胶原蛋白等^(2~6)。

1 糖尿病神经病变时的蛋白非酶糖基化 由于技术上的困难,曾限制了对糖尿病时神经蛋白糖基化的研究。Vlassara 等人应用新的亲和色谱分析法,测定了糖尿病与正常大鼠坐骨神经匀浆中糖基化氨基酸水平,发现糖尿病组平均水平($1228 \pm 309\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)比正常组($438 \pm 100\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)高 2.8 倍($P < 0.01$)。糖尿病狗股神经片段的糖基化氨基酸($6060 \pm 2900\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)比正常组($2814 \pm 897\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)高 2.15 倍。进行氨基酸分析,发现糖基化赖氨酸及其水解重组产物是糖基化蛋白的主要成分⁽⁷⁾。Sensi 等人测定了 3 个月和 6 个月病程的实验性糖尿病大鼠坐骨神经中 AGE 的水平,发现其显著增高,并与躯体感觉诱发电位(SEP)减慢有关⁽⁸⁾。Yagihashi 等人的实验亦发现糖尿病大鼠与正常组相比,坐骨神经的 AGE 水平明显增高^(9,10)。

之后, Vlassara 等人测定了普通和糖尿病大鼠周

围神经髓磷质、全脑、脑髓磷质及个别髓磷质蛋白的非酶糖基化。糖尿病组周围神经糖基化髓磷质($11891 \pm 1712\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)比正常组($2278 \pm 313\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)增加了 5.2 倍,这几乎是糖尿病整个周围神经较正常组糖基化增高程度的 2 倍,说明髓磷质是糖尿病时周围神经过度糖基化的主要部分。全脑组织的分析显示,糖尿病组蛋白糖基化水平($4288 \pm 316\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)比正常组($1786 \pm 272\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)高 2.4 倍,脑髓磷质糖基化水平高 3.8 倍($11731 \pm 1231\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸比 $3108 \pm 541\text{cpm}/\mu\text{mol}$ 氨基酸)。说明脑与周围神经一样,髓磷质是参与过度糖基化的主要成分。巨噬细胞识别和摄取糖化的髓磷质,以此促发了糖尿病神经病变的主要病理改变⁽¹¹⁾。

微管是神经元内纤维系统的主要组成部分,在细胞的骨架作用、细胞的分裂和运动、物质的输送以及神经的兴奋传递等方面,起着重要作用,而微管是由微管蛋白构成的。Williams 等人将 2 次纯化的大鼠脑微管蛋白在 3 种浓度的葡萄糖和 6 磷酸葡萄糖中进行孵化,发现微管蛋白的糖基化程度取决于时间和糖的浓度。糖基化促使微管蛋白的无定形沉积性聚集,阻碍了其有序聚合,导致微细管的生成减少。电子显微镜下的观察证实了此观点⁽¹²⁾。Cullum 等人的研究亦证实了这一点⁽¹³⁾。体内实验中,糖尿病大鼠脑微管蛋白糖基化比正常大鼠明显增高,依赖鸟苷三磷酸(GTP)的微管蛋白聚合减少⁽¹²⁾。

虽然目前尚缺乏对糖尿病神经血管的直接研究,但有关糖尿病血管病变的研究却是非常广泛的。因此, Vlassara 等人推测糖尿病时 AGE 在血管中的积累增多,以致血管壁增厚、闭塞。AGE 还可导致血管渗透性增高和血栓形成增多,引起神经元局部缺血⁽¹⁴⁾。

2 中西医治疗 近年来,维生素 E 和 C、芦丁等相继被证实可减少蛋白糖基化^(15~17),但研究最多且对神经病变有直接研究的仍是氨基胍。Yagihashi 等人用氨基胍治疗糖尿病大鼠 12、16 周后,测定胫骨神经的传导速度(MNCV)有了显著的改善($P < 0.01$),但与正常对照组比较仍有显著减慢。氨基胍治疗组大鼠与非治疗组比较,AGE 水平显著下降($P < 0.05$),但与正常对照组相比,AGE 水平仍较高。形态学观察发现,非治疗糖尿病大鼠有髓纤维中出现髓鞘皱折、副结

节脱髓鞘、轴突变性、节段性脱髓鞘和髓鞘再生。氨基胍治疗组髓鞘皱折、副结节脱髓鞘的发生比糖尿病组减少($P < 0.01$)。超微结构形态学分析显示,糖尿病大鼠有髓纤维轴突萎缩,氨基胍治疗对轴突有明显的保护作用^[9,10]。以上形态学的改变显然与氨基胍预防 AGE 形成有关。

目前尚无中药对糖尿病神经病变 AGE 预防和治疗作用的研究,但已有学者对其他组织蛋白非酶糖基化的中医治疗进行了研究。王新嘉等用橙皮苷及氨基胍治疗链脲佐菌素(STZ)——糖尿病大鼠 120 天后,测定主动脉匀浆中胶原荧光(代表 AGE 含量)含量,橙皮苷、氨基胍治疗组分别为 $21.56 \pm 4.94 \text{ AU/mg}$ 羟脯氨酸、 $20.09 \pm 8.95 \text{ AU/mg}$ 羟脯氨酸,糖尿病组为 $41.18 \pm 14.59 \text{ AU/mg}$ 羟脯氨酸,2 个治疗组明显低于未治疗的糖尿病组($P < 0.01$)。血糖、体重无明显差别,提示橙皮苷对糖尿病大鼠蛋白非酶糖基化的治疗作用与氨基胍相似。鉴于体外实验已证实橙皮苷具有抗氧化和抑制自由基介导的作用^[18],因此认为橙皮苷抑制 AGE 的作用机理可能与其抑制脂质过氧化、阻断氧化——糖基化之间的恶性循环,或直接清除自由基有关^[19]。

蛋白非酶糖基化是糖尿病神经病变的重要生化基础之一,并且实验研究证实氨基胍可有效地抑制蛋白非酶糖基化终产物的形成,但目前仅限于动物研究,还未能应用于临床。中药无明显的毒副作用,实验研究发现某些中药的有效成分有类似氨基胍样的作用,因此从中药中寻找 AGE 抑制剂有着重要的临床意义和良好的应用前景。从目前所搜集的文献来看,对糖尿病神经病变有较好疗效的方药很多,但大多只限于总结疗效的变化,未对中药的作用机制作进一步的研究,有待于我们进一步探讨。

参 考 文 献

1. 钟学礼. 临床糖尿病学. 第 1 版. 上海: 上海科学技术出版社. 1989: 240.
2. Koenig J, Blobstein H, Cerami A. Structure of carbohydrate of hemoglobin A_{1c}. *J Biol Chem* 1977; 252(9): 2992—2997.
3. Day F, Thorpe R, Baynes W. Nonenzymatically glycosylated albumin. *J Biol Chem* 1979; 254(3): 595—597.
4. Stevens J, Rouzer A, Monnier M, et al. Diabetic cataract formation: Potential role of glycosylation of lens crystallins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 75(6): 2918—2922.
5. Miller A, Gravallesse E, Bunn F. Nonenzymatic glycosylation of erythrocyte membrane proteins. *J Clin Invest* 1980; 65(3): 896—901.
6. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Measurement of glycosylated amino acids and peptides from urine of diabetic patients using affinity chromatography. *Diabetes* 1980; 29(12): 1044—1047.
7. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation of peripheral nerve protein in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78(8): 5190—5192.
8. Sensi M, Pricei F, Pugliese G, et al. Role of advanced glycation end-products (AGE) in late diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1995; 28(1): 9—17.
9. Yagihashi S, Kamijo M, Baba M, et al. Effect of Aminoguanidine on functional and structural abnormalities in peripheral nerve of STZ-induced diabetic rats. *Diabetes* 1992; 41(1): 47—52.
10. Yagihashi S, Kamijo M, Taniguchi N, et al. Increased glycation of axonal cytoskeleton and prevention effect of Aminoguanidine on development of experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 1991; 40(suppl. 1): 302A.
11. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. Excessive nonenzymatic glycosylation of peripheral and central nervous system myelin components in diabetic rats. *Diabetes* 1983; 32(7): 670—674.
12. Williams K, Howarth L, Devenny J, et al. Structural and functional consequences of increased tubulin glycosylation in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79(21): 6546—6550.
13. Cullum A, Mahou J, Stringer K, et al. Glycation of rat sciatic nerve tubulin in experimental diabetes mellitus. *Diabetologia* 1991; 34(6): 387.
14. Vlassara H, Bucala K, Striker L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: Biochemical, Biologic, and Clinical implications of diabetes and aging. *J Lab Invest* 1994; 70(2): 138—151.
15. Ceriello A, Gagliano D, Quatraro A, et al. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. *Diabetic care* 1991; 14(1): 68—72.
16. Ceriello A, Quatraro A, Gagliano D. New insights on nonenzymatic glycosylation may lead to therapeutic approaches for the prevention of diabetic complications. *Diabetic Medicine* 1992; 9(3): 297—299.
17. 田浩明, 梁彦忠, 张翔迅. 维生素 E 对糖尿病 GHb 及血清 LPO 的影响. *中国糖尿病杂志* 1994; 2(4): 243—244.
18. Ratty K, Das P. Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: Structure-activity relationship. *Biochem Med Metab Bio* 1988; 39(1): 69.
19. 王新嘉, 何国芬, 张志利, 等. 橙皮苷与氨基胍对 STZ-糖尿病大鼠主动脉胶原非酶糖化作用的比较. *中国糖尿病杂志* 1994; 2(4): 218—220.

(收稿: 1997-04-28 修回: 1997-09-06)