

糖基化终末产物与冠脉舒张功能受损

苏 文 李卫萍 陈 晖 李虹伟

摘 要 糖基化终末产物及其受体是糖尿病继发冠脉病变的重要危险因素,而高糖引起的冠状动脉舒张功能减退,是糖尿病继发冠状动脉粥样硬化发生、发展中的重要环节,本文对糖基化终末产物的形成及影响、糖基化终末产物及其受体在冠脉舒张功能受损过程中的作用及其机制,以及阻断糖基化终末产物损伤作用的药物研究进展进行综述。

关键词 糖基化终末产物 冠状动脉 血管舒张

中图分类号 R541.4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.003

糖尿病是一种代谢紊乱性疾病,以血糖升高、胰岛素抵抗为主要特征,当今随着经济不断发展和生活方式的改变,糖尿病已成为世界范围的常见病、多发病,累及到全世界 1% ~ 2% 的人群^[1]。冠心病是 2 型糖尿病最主要的大血管并发症之一,2006 年对中国 3513 名冠心病患者进行的心脏调查研究显示,冠心病住院患者中仅有 23.1% 的患者血糖调节功能正常^[2]。目前,“糖尿病是冠心病的等危症”这一概念已成为共识。糖尿病患者发生心血管事件的风险是非糖尿病患者的 2 ~ 4 倍,且发生心血管事件后病死率高,预后差^[3]。糖尿病患者体内增加的糖基化终末产物(advanced glycation endproducts, AGEs)及其受体(receptor of advanced glycation endproducts, RAGE)是冠状动脉病变的重要危险因素,其可引起血管舒缩功能的异常。而高糖引起的冠状动脉舒张功能减退,是糖尿病继发冠状动脉粥样硬化发生、发展中的重要环节,探讨糖基化终末产物在冠脉舒张功能受损过程中的作用及其机制对早期预防糖尿病的大血管并发症及改善预后尤为重要。

一、糖基化终末产物的形成及影响

AGEs 于 1912 年由法国科学家 Maillard 发现,由还原糖(葡萄糖、果糖)的羰基与生物高分子(如蛋白质、脂质、核酸)的氨基进行反应,形成早期可逆产物 Schiff 碱,此过程也称为非酶糖基化反应(Maillard 反应),Schiff 碱再经分子重排形成更稳定的 Amadori 糖基化产物,如临床中检测的糖化血红蛋白等,再经进

一步氧化、脱水和凝聚,形成不可逆的糖基化终末产物,如体内最为常见的一种——羧甲基赖氨酸。Maillard 反应过程由氧化应激推动,而 AGEs 的形成又能促进氧化应激,因而形成恶性循环。AGEs 的特征为呈棕黄色、自发荧光、易形成交联。糖基化反应既可以发生于体内,也可以发生于体外。蛋白质与糖作用数小时至数天,便可自发形成 Amadori 早期糖基化产物,数周后形成终末产物,具有时间和浓度依赖性。人体内正常的 Maillard 反应发生则需几周甚至几个月,但当机体处于高血糖等异常状态时,可加速 Maillard 反应的进程。AGEs 生成增多的危险因素包括:高血糖、氧化应激增加、肾功能损伤、高糖高脂饮食、年龄、吸烟等^[1]。人体各个部位,包括血管、心脏、肾脏、皮肤、神经组织均有 AGEs 的生成。AGEs 的清除主要通过肾脏排泄或巨噬细胞吞噬,一般来说即使在肾功能正常的情况下,大部分 AGEs 也将滞留体内产生病理损害。

既往研究显示,2 型糖尿病合并冠心病患者血浆中 AGEs 水平明显高于不合并冠心病的患者,且血浆中 AGEs 水平与冠心病严重程度呈正相关^[4]。但血浆中 AGEs 水平尚不能完全反应人体内 AGEs 的总水平,Makita 等对血浆及动脉壁组织中的 AGEs 水平进行测定,发现糖尿病患者动脉壁组织中 AGEs 水平明显高于非糖尿病患者,且 AGEs 水平与肾功能损害程度密切相关^[5]。戊糖苷素是血清 AGEs 中的一种,Yoshida 等以脉搏波传导速度作为动脉硬化的指标,以颈动脉壁内膜中层厚度作为动脉增厚的指标,评估血清戊糖苷素对动脉结构及功能的影响,发现糖尿病患者血清戊糖苷素浓度增加与动脉硬化、增厚显著相关,且糖尿病合并冠心病或卒中患者血清戊糖苷素浓度明显高于不合并以上疾病的患者^[6]。

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7122053)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院心脏中心

通讯作者:李虹伟,电子信箱:doctor_sue@163.com

二、糖基化终末产物损伤冠脉舒张功能的机制

AGEs 发挥生物学效应主要依赖两种途径:①通过对蛋白质、脂质、核酸等的直接修饰改变结构影响功能;②通过与其特异性受体结合介导下游信号通路导致机体的病理损害,后者的作用占主要地位。

1. 非受体介导途径:蛋白质在发生糖基化反应后其结构会发生改变,Howard 等^[7]用磁共振的方法在人血清白蛋白上证明了这一点。因此,AGEs 直接与细胞外基质蛋白发生糖化和交联后,可以破坏血管的完整结构和功能。如 AGEs 与血管基膜上的Ⅳ型胶原结合,破坏生物高分子形成的骨架结构,使基膜发生增厚、硬化改变,一定程度上降低血管壁的弹性^[8]。脂质亦可被 AGEs 修饰,低密度脂蛋白经糖基化修饰后结构发生改变,而无法被其特异性受体识别,导致血液循环中的低密度脂蛋白经肝细胞摄取等正常途径的清除减少,则单核-吞噬细胞等摄取低密度脂蛋白增加,进而使泡沫细胞形成增多,促进动脉粥样硬化斑块形成,导致冠脉舒张功能障碍。AGEs 还可以与细胞内的某些受体蛋白、离子通道蛋白发生反应,改变它们的正常结构和功能。如 Bidasee 等^[9]发现 AGEs 可以修饰心肌细胞内的兰尼碱受体,造成其功能障碍,影响钙离子的释放,进而影响心肌细胞的舒缩。对于 AGEs 能否修饰冠脉血管平滑肌细胞上的离子通道,进而影响血管的舒张功能,目前尚无定论。

2. 经受体介导途径

(1)糖基化终末产物受体:研究显示 AGEs 受体有 RAGE、巨噬细胞表面清道夫Ⅰ型和Ⅱ型受体、半凝集素-3 等,其中在糖尿病血管并发症发病机制中最为重要的受体类型是 RAGE。RAGE 是一种相对分子质量约 35000 的跨膜蛋白,存在于血管内皮细胞、平滑肌细胞、单核-吞噬细胞等表面,属于免疫球蛋白超家族。RAGE 由 3 部分组成:①胞外段,是配体的结合部位,由 1 个 V 型免疫球蛋白样片段及两个 C 型片段组成,VC1 胞外域决定了 RAGE 识别配体的特异性;②跨膜段;③胞内段,在配体结合受体后,该段可以结合细胞质内的信号转导分子,激活下游的多种信号通路。RAGE 是一种多配基受体,除 AGEs 外,也可以与高迁移率族蛋白 B1、S100 蛋白家族的某些成员、 β -淀粉样蛋白等结合,因此 RAGE 可能与以上配体相关的炎症、肿瘤、淀粉样变性等多种疾病相关。RAGE 存在 3 种亚型:完整型,显性抑制型及内生可溶性 RAGE。显性抑制型 RAGE 缺失

胞内段,内生可溶性 RAGE 由于只含胞外段而可以在血液循环中自由存在,以上两型 RAGE 竞争性结合 AGEs,却不产生完整型 RAGE 所介导的下游反应。在生理条件下,RAGE 在正常体内表达非常少,而在 AGEs 含量增多时可以相应增多,这提示 AGEs 与 RAGE 的结合对细胞表面 RAGE 的表达,可能具有正反馈调节作用^[10]。

(2)AGEs 与 RAGE 相互作用影响信号转导通路:RAGE 的启动子含两个 NF- κ B 功能位点,当 AGEs 与内皮细胞表面的 RAGE 结合后,会激活 NF- κ B 途径,增加多种细胞黏附分子、炎症因子等的表达,也可以通过还原型辅酶Ⅱ氧化酶系统增加活性氧的生成,进而诱导动脉粥样硬化等病理过程的进展^[10]。过氧化物酶体增殖体激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)对细胞的转录调控过程有重要作用,其中 PPAR- γ 亚型在脂肪生成、胰岛素增敏、细胞周期及分化调节、抗炎性反应中尤为重要。研究发现,AGEs 干预能够使人软骨细胞 PPAR- γ 蛋白表达减少^[11]。而另有研究发现 PPAR- γ 激动剂曲格列酮也能反过来抑制 AGEs 的形成及 RAGE 的表达,并能阻断 AGEs 对细胞和组织的损伤^[12-14]。可见,AGEs/RAGE 发挥作用与 PPAR- γ 信号通路间存在紧密联系。

(3)AGEs/RAGE 对冠脉舒张相关细胞的作用:1)冠状动脉内皮细胞:正常血管内皮细胞中 AGEs/RAGE 表达水平很低,但是糖尿病等病理状态下,内皮细胞的 AGEs/RAGE 表达会明显升高,引起冠脉内皮细胞功能紊乱。其机制包括:AGEs 影响内皮舒张因子如一氧化氮(nitric oxide, NO)的释放量及功能。研究表明 AGEs 既能直接淬灭 NO 的活性,又能通过降低内源性 NO 合酶的活性而减少 NO 合成量,从而造成血管舒张功能障碍^[15,16]。AGEs/RAGE 可以诱导血管内皮细胞黏附分子及趋化蛋白如 VCAM-1、ICAM-1、E-选择素的表达,促进单核细胞黏附及经血管内皮的迁移^[17]。另外,还能诱导炎症细胞因子 IL-1、IL-6、TNF- α 等表达分泌增加,促进血管内皮的炎症反应,而单核细胞的迁移及炎症反应往往是冠状动脉粥样硬化的早期步骤,进一步发展将导致冠脉舒缩功能障碍。2)血管平滑肌细胞:体外制备的 AGEs 能通过增加血管平滑肌细胞内蛋白激酶的活性、上调 KCa3.1 通道电流等途径促进血管平滑肌细胞增殖、迁移,进而加速冠状动脉粥样硬化进展,影响冠脉舒张功能^[18]。Wang 等^[19]还发现 AGEs 干预

可以使主动脉平滑肌细胞发生钙化改变,而血管的钙化是粥样硬化斑块不稳定破裂的原因之一。Kamata 等^[20]则发现 AGEs 能引起血管平滑肌细胞膜电位及钙通道的改变,影响细胞内钙离子水平,从而促进乙酰胆碱诱发的冠状动脉收缩,抑制其舒张功能。冠脉平滑肌细胞是冠状动脉舒缩功能的执行者,AGEs 对血管平滑肌细胞的影响将在一定程度上影响到冠状动脉舒缩功能。3)单核-吞噬细胞:具有清道夫功能的单核-吞噬细胞通过其细胞表面的 RAGE 可以识别、内吞 AGEs,同时,其细胞表面的氧化型低密度脂蛋白受体会被 AGEs 激活,进而增加氧化型低密度脂蛋白的摄取,导致血管壁内泡沫细胞形成、粥样硬化斑块进展,血管舒张功能受损。另外,糖尿病患者的单核-吞噬细胞可通过 RAGE 参与信号转导途径,产生炎性介质及氧化应激,造成斑块的不稳定破裂。例如,单核-吞噬细胞在 AGEs 刺激下会增加白介素-1 β 及肿瘤坏死因子- α 基因的表达,以上二者均在多项研究中被证明是影响冠脉功能的重要炎性因子。

三、AGEs/RAGE 的阻断剂

由于上述 AGEs/RAGE 途径在糖尿病血管并发症中所起到的介导作用,研究发掘 AGEs/RAGE 的阻断剂将是防治血管并发症的重要方法,目前已知的阻断剂主要有 3 种:①AGEs 形成的抑制剂:如氨基胍、维生素 B₆、苯磷硫胺等,该类抑制剂的主要机制是抑制 Amadori 产物进一步转化成 AGEs 以及抑制 AGEs 的氧化重排,其中氨基胍是目前研究领域比较肯定的 AGEs 抑制剂,它是一种亲核胍类化合物,其氨基能竞争性结合糖基化反应中间产物 3-脱氧葡萄糖酮醛上的羰基,从而阻止 Maillard 反应,抑制 AGEs 的最终形成,因而广泛应用于对糖基化终末产物病理作用的研究中;②AGEs 交联产物的断裂剂:如 ALT-711。AGEs 交联本来是不可逆的,但 ALT-711 含有一种噻唑基结构,其能够有效断裂 AGEs 羰基中的 C-C 键,从而分离 AGEs 中还原糖与蛋白质的交联,使 AGEs 交联的逆转成为可能;③RAGE 的拮抗剂:如抗 RAGE 抗体及 sRAGE。抗 RAGE 抗体能与靶细胞膜上的 RAGE 结合,起到封闭 AGEs 的作用,而 sRAGE 只含有胞外段,能竞争性捕获 AGEs 而不介导下游信号通路的活化,因此,RAGE 拮抗剂能够阻断 AGEs 与 RAGE 的相互作用,从而减少 AGEs/RAGE 继发的细胞及组织中病理反应的发生。

综上所述,随着对糖基化终末产物与冠脉舒张功

能受损关系的研究不断深入,终将防治糖尿病心血管并发症提供新的治疗靶点。

参考文献

- 1 Bodiga VL, Eda SR, Bodiga S. Advanced glycation end products: role in pathology of diabetic cardiomyopathy[J]. *Heart Fail Rev*, 2014, 19(1): 49-63
- 2 Hu DY, Pan CY, Yu JM. The relationship between coronary artery disease and abnormal glucose regulation in China: the China Heart Survey[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(21): 2573-2579
- 3 Zellweger MJ. Prognostic significance of silent coronary artery disease in type 2 diabetes[J]. *Herz*, 2006, 31(3): 240-245
- 4 Kiuchi K, Nejima J, Takano T, *et al.* Increased serum concentrations of advanced glycation end products: a marker of coronary artery disease activity in type 2 diabetic patients[J]. *Heart*, 2001, 85(1): 87-91
- 5 Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, *et al.* Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 1991, 325(12): 836-842
- 6 Yoshida N, Okumura K, Aso Y. High serum pentosidine concentrations are associated with increased arterial stiffness and thickness in patients with type 2 diabetes[J]. *Metabolism*, 2005, 54(3): 345-350
- 7 Howard MJ, Smales CM. NMR analysis of synthetic human serum albumin alpha-helix 28 identifies structural distortion upon amadori modification[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(24): 22582-22589
- 8 Paul RG, Bailey AJ. The effect of advanced glycation end-product formation upon cell-matrix interactions[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1999, 31(6): 653-660
- 9 Bidasee KR, Nallani K, Yu Y, *et al.* Chronic diabetes increases advanced glycation end products on cardiac ryanodine receptors/calcium-release channels[J]. *Diabetes*, 2003, 52(7): 1825-1836
- 10 Hegab Z, Gibbons S, Neyes L, *et al.* Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease[J]. *World J Cardiol*, 2012, 4(4): 90-102
- 11 Chen YJ, Sheu ML, Tsai KS, *et al.* Advanced glycation end products induce peroxisome proliferator-activated receptor gamma down-regulation-related inflammatory signals in human chondrocytes via Toll-like receptor-4 and receptor for advanced glycation end products[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66611
- 12 Sobal G, Menzel EJ, Sinzinger H. Troglitazone inhibits long-term glycation and oxidation of low-density lipoprotein[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 46(5): 672-680
- 13 Wang K, Zhou Z, Zhang M, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma down-regulates receptor for advanced glycation end products and inhibits smooth muscle cell proliferation in a diabetic and nondiabetic rat carotid artery injury model[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 317(1): 37-43
- 14 Li J, Liu NF, Wei Q. Effect of rosiglitazone on cardiac fibroblast proliferation, nitric oxide production and connective tissue growth factor expression induced by advanced glycation end-products[J]. *J Int Med Res*, 2008, 36(2): 329-335

- 15 Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium – dependent vasodilatation in experimental diabetes[J]. J Clin Invest, 1991, 87(2): 432 – 438
- 16 Xu B, Chibber R, Ruggiero D, *et al.* Impairment of vascular endothelial nitric oxide synthase activity by advanced glycation end products[J]. FASEB J, 2003, 17(10): 1289 – 1291
- 17 Basta G, Lazzarini G, Massaro M, *et al.* Advanced glycation end products activate endothelium through signal – transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses[J]. Circulation, 2002, 105(7): 816 – 822
- 18 Zhao LM, Su XL, Wang Y, *et al.* KCa3.1 channels mediate the increase of cell migration and proliferation by advanced glycation end-

products in cultured rat vascular smooth muscle cells[J]. Lab Invest, 2013, 93(2): 159 – 167

- 19 Wang Y, Zhang ZY, Chen XQ, *et al.* Advanced glycation end products promote human aortic smooth muscle cell calcification in vitro via activating NF – kappaB and down – regulating IGF1R expression[J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34(4): 480 – 486
- 20 Kamata K, Ozawa Y, Kobayashi T, *et al.* Effect of N – epsilon – (carboxymethyl) lysine on coronary vasoconstriction in isolated perfused hearts from control and streptozotocin – induced diabetic rats [J]. J Smooth Muscle Res, 2009, 45(2 – 3): 125 – 137

(收稿日期:2014 – 10 – 01)

(修回日期:2014 – 10 – 28)

(上接第 7 页)

- 8 Russo GT, Giandalia A, Romeo EL, *et al.* Markers of Systemic Inflammation and Apo – AI Containing HDL Subpopulations in Women with and without Diabetes[J]. Int J Endocrinol, 2014, 2014:607924
- 9 Pacilli A, De Cosmo S, Trischitta V. Role of relationship between HbA1c, fibrinogen and HDL – cholesterol on cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Atherosclerosis, 2013, 228(1):247 – 248
- 10 Abbasi A, Corpeleijn E, Gansevoort RT, *et al.* Role of HDL cholesterol and estimates of HDL particle composition in future development of type 2 diabetes in the general population: The PREVEND Study [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(8):E1352 – 1359
- 11 Hwang YC, Ahn HY, Park SW, *et al.* Association of HDL – C and apolipoprotein A – I with the risk of type 2 diabetes in subjects with impaired fasting glucose[J]. Eur J Endocrinol, 2014, 171(1):137 – 142
- 12 Okin PM, Hille DA, Wiik BP, *et al.* In – treatment HDL cholesterol levels and development of new diabetes mellitus in hypertensive patients: the LIFE Study[J]. Diabet Med, 2013, 30(10):1189 – 1197
- 13 Hwang YC, Ahn HY, Park SW, Park CY. Apolipoprotein B and non – HDL cholesterol are more powerful predictors for incident type 2 diabetes than fasting glucose or glycated hemoglobin in subjects with normal glucose tolerance: a 3.3 – year retrospective longitudinal study [J]. Acta Diabetol, 2014, 51(6):941 – 946
- 14 Ley SH, Harris SB, Connelly PW, *et al.* Association of apolipoprotein B with incident type 2 diabetes in an aboriginal Canadian population [J]. Clin Chem, 2010, 56(4):666 – 670
- 15 Onat A, Can G, Çiçek G, *et al.* Fasting, non – fasting glucose and HDL dysfunction in risk of pre – diabetes, diabetes, and coronary disease in non – diabetic adults[J]. Acta Diabetol, 2013, 50(4):519 – 528
- 16 Drew BG, Rye KA, Duffy SJ, *et al.* The emerging role of HDL in glucose metabolism[J]. Nat Rev Endocrinol, 2012, 8(4):237 – 245
- 17 von Eckardstein A, Sjöblom RA. Possible contributions of lipoproteins

and cholesterol to the pathogenesis of diabetes mellitus type 2 [J]. Curr Opin Lipidol, 2011, 22(1):26 – 32

- 18 Kruit JK, Brunham LR, Verchere CB, *et al.* HDL and LDL cholesterol significantly influence – cell function in type 2 diabetes mellitus [J]. Curr Opin Lipidol, 2010, 21(3):178 – 185
- 19 Fryirs MA, Barter PJ, Appavoo M, *et al.* Effects of high – density lipoproteins on pancreatic cell insulin secretion [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(8):1642 – 1648
- 20 Dullaart RP, Annema W, de Boer JF, *et al.* Pancreatic β – cell function relates positively to HDL functionality in well – controlled type 2 diabetes mellitus[J]. Atherosclerosis, 2012, 222(2):567 – 573
- 21 Zhou M, Li Z, Min R, *et al.* Log (TG)/HDL – C ratio as a predictor of decreased islet beta cell function in patients with type 2 diabetes: 6 – year cohort study[J]. J Diabetes, 2015, 7(5):689 – 698
- 22 Siebel AL, Natoli AK, Yap FY, *et al.* Effects of high – density lipoprotein elevation with cholesteryl ester transfer protein inhibition on insulin secretion[J]. Circ Res, 2013, 113(2):167 – 175
- 23 Barter PJ, Rye KA, Tardif JC, *et al.* Effect of torcetrapib on glucose, insulin, and hemoglobin A1c in subjects in the Investigation of Lipid Level Management to Understand its Impact in Atherosclerotic Events (ILLUMINATE) trial[J]. Circulation, 2011, 124(5):555 – 562
- 24 Ruan X, Li Z, Zhang Y, *et al.* Apolipoprotein A – I possesses an anti – obesity effect associated with increase of energy expenditure and up – regulation of UCP1 in brown fat[J]. J Cell Mol Med, 2011, 15(4): 763 – 772
- 25 Peterson SJ, Kim DH, Li M, *et al.* The L – 4F mimetic peptide prevents insulin resistance through increased levels of HO – 1, pAMPK, and pAKT in obese mice[J]. J Lipid Res, 2009, 50(7):1293 – 1304
- 26 Drew BG, Carey AL, Natoli AK, *et al.* Reconstituted high – density lipoprotein infusion modulates fatty acid metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. J Lipid Res, 2011, 52(3):572 – 581

(收稿日期:2015 – 05 – 05)

(修回日期:2015 – 05 – 25)