

· 综 述 ·

糖尿病血管内皮细胞代谢改变的研究进展

王 娟¹, 哈小琴^{2*}

(¹兰州大学第二临床医学院, 兰州 730030; ²兰州军区兰州总医院检验医学中心, 兰州 730050)

【摘 要】血管内皮细胞功能障碍是糖尿病(DM)血管并发症的始动环节。高血糖所致的氧化应激水平升高、异常糖代谢途径激活、晚期糖基化终产物(AGEs)累积和蛋白激酶C(PKC)通路活化等代谢改变均可介导内皮细胞损伤。如何抑制内皮细胞异常代谢并改善内皮细胞功能一直是DM血管并发症的研究重点。本文主要就DM患者血管内皮细胞的代谢改变作一综述。

【关键词】糖尿病; 内皮细胞功能障碍; 活性氧; 糖尿病血管并发症

【中图分类号】 R587.1

【文献标识码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.02.035

Research progress on metabolic alterations in diabetic vascular endothelial cells

WANG Juan¹, HA Xiao-Qin^{2*}

(¹The Second Clinical Medical School of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China; ²Clinical Laboratory Center, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command, Lanzhou 730050, China)

【Abstract】 Endothelial cell dysfunction is an important initial event of diabetic vascular complications. Hyperglycemia induces various metabolic alterations, such as the elevation of oxidative stress, activation of abnormal metabolic pathways, accumulation of advanced glycation end products (AGEs) and activation of protein kinase C (PKC) pathways, and all of these alterations can lead to endothelial cell injury. Therefore, how to inhibit abnormal metabolism and improve the functions of endothelial cells is the key point of diabetic vascular complications. In this article, we reviewed the abnormal metabolism of endothelial cells in diabetic patients.

【Key words】 diabetes mellitus; endothelial cell dysfunction; reactive oxygen species; diabetic vascular complications

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81273568).

Corresponding author: HA Xiao-Qin, E-mail: haxiaoqin2013@163.com

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是以高血糖为主要特征的一种慢性代谢性疾病。近年来,由于生活水平的提高和生活节奏的加快,2型DM的发病率在全球范围内呈上升趋势。根据国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)统计,2013年DM的患病率高达8.3%,并预计到2035年会增加1倍。DM对机体的危害主要为慢性血管并发症,包括大血管病变(动脉粥样硬化)和微血管病变(视网膜病变、神经病变和肾脏病变等)。而DM患者血管内皮细胞代谢改变导致的血管功能障碍是DM血管并发症的始发因素和病理生理基础^[1,2]。本文就正常生理和DM病理状态下血管内皮细胞代谢进行比较,并主要对DM内皮细胞的代谢改变进行综述。

1 正常生理状态下内皮细胞的代谢

生理状态下,内皮细胞除屏障作用外还具有合成和代谢功能,它们能通过分泌多种生物活性物质来参与血流量调节、凝血和纤溶平衡等生理过程。当体内出现低氧、营养缺乏、组织损伤等病理状态时可刺激内皮细胞产生细胞因子,促使内皮细胞代谢状态的改变,以保证氧气、营养物质的输送和血管的再生修复。这种代谢改变需要通过增加糖酵解量来保障内皮细胞的能量供应。Peter等^[3]近期研究表明,内皮细胞中85%的ATP来源于糖酵解过程,该过程主要依赖6-磷酸果糖激酶-2/果糖双磷酸酶-2同工酶3(6-phosphate fructose kinase-2/fructose biphosphatase-2 isoenzyme 3,

收稿日期: 2015-07-14; 修回日期: 2015-08-01

基金项目: 国家自然科学基金(81273568)

通信作者: 哈小琴, E-mail: haxiaoqin2013@163.com

PFKFB3)催化,敲除PFKFB3可抑制内皮细胞的增殖,减少新生血管的形成。

此外,内皮细胞中还存在两条重要的糖酵解旁路代谢途径。磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)可产生还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate H, NADPH)及5-磷酸核糖核酸。其中,NADPH可将氧化型谷胱甘肽转化为还原型,维持胞内氧化还原平衡;5-磷酸核糖核酸用于脂质、核苷酸和组氨酸的合成。氨基己糖生物合成途径(hexosamine biosynthesis pathway, HBP)产生的N-乙酰氨基葡萄糖是N-连接糖基化和O-连接糖基化的必需物质。该过程可促进血管内皮生长因子受体-2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)及Notch信号传导途径的糖基化,若糖基化过程受到干扰,则不利于血管生成^[4]。

综上所述,糖酵解及其旁路代谢途径在生理性血管形成过程中起重要作用。下面我们将进一步探讨DM对血管内皮细胞代谢的影响。

2 DM状态下内皮细胞的代谢

无论1型还是2型DM,其血管并发症的发展均与血糖值及其持续时间密切相关^[5]。因而,高血糖被认为是DM血管损伤的首要因素。其中,高血糖所致的氧化应激增强被认为是内皮细胞功能障碍的共同机制。DM患者内皮细胞功能障碍的机制可概括如下:

(1)高血糖诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平升高;(2)高血糖激活异常糖代谢途径;(3)PPP受阻;(4)晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)累积;(5)蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)通路活化;(6)代谢记忆。

2.1 高血糖诱导ROS水平升高

2.1.1 细胞质来源的ROS 过多的葡萄糖可经糖酵解途径代谢生成丙酮酸或激活NADPH氧化酶^[6]从而升高细胞质内ROS水平。而ROS水平升高可导致内皮一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)解偶联,使NO产生减少。除此之外,生成的过氧化物阴离子还可与NO直接反应产生过氧化亚硝基阴离子(peroxynitrite, ONOO⁻),消耗细胞内NO,从而形成了恶性循环^[7]。NO可调节血管舒张,抑制内皮细胞功能障碍的进展。正常情况下,内皮依赖性血管舒张因子与内皮依赖性血管收缩因子之间的平衡对控制局部血管张力和功能至关重要。DM血管内皮功能障碍的特点就是内

皮依赖性舒张因子的作用减少和内皮依赖性收缩因子的作用增强,而其根源就是ROS的升高。ROS不仅能降低NO的生物利用度,而且使内皮依赖性血管收缩因子产生和利用增加。从而使血管收缩增强,并加速血管并发症进程。

2.1.2 线粒体来源的ROS 高血糖可使线粒体生物合成及自噬过程发生变异,电子传递链生成ROS增加,导致线粒体功能受损^[8,9]。尽管内皮细胞主要通过无氧酵解产生ATP,但线粒体在维持钙离子平衡和调节ROS生成方面发挥着重要作用。当线粒体功能受损,可导致钙离子超负荷及ROS合成增加,进而加剧内皮细胞功能障碍引发内皮细胞凋亡^[10]。由链脲霉素诱导的大鼠DM模型中,可观察到氧化应激介导的线粒体DNA损伤在糖尿病肾病的发生、发展过程中起着重要作用^[11]。过氧化物酶增殖体激活受体 γ 、辅激活因子1 α (peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 α , PPARGC1 α)及AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)与高血糖诱导的线粒体氧化应激密切相关。高血糖可诱导内皮细胞PPARGC1 α 的表达上调,抑制Ras/Akt/eNOS信号,下调eNOS的表达,使内皮细胞迁移和血管形成能力受损;而AMPK的内皮特异性激活可预防DM所诱发的内皮细胞功能障碍^[12]。因此,AMPK的激活剂(如二甲双胍)能对抗线粒体氧化应激所致的内皮细胞功能损伤。

2.2 高血糖激活异常糖代谢途径

高血糖产生的过量ROS可激活聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1(poly ADP-ribose polymerase-1, PARP1),通过ADP核糖基化作用抑制三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)活性^[13],并消耗NADPH和ATP。而GAPDH是糖酵解途径中所必需的酶,受到抑制会出现中间产物的累积,进而使糖酵解转向3个异常代谢途径:(1)多元醇通路;(2)氨基己糖生物合成途径;(3)糖基化途径。已有实验证明,使用PARP1拮抗剂可阻断上述异常代谢途径^[14]。

2.2.1 多元醇通路 高血糖导致多元醇代谢通路激活,在醛糖还原酶(aldose reductase, AR)的作用下依赖NADPH使葡萄糖转化为山梨糖醇^[15]。此过程消耗协同因子NADPH,使细胞内过氧化物清除减少,增加氧化应激水平。此外,在山梨醇脱氢酶作用下山梨醇转变为果糖,并生成3-脱氧葡萄糖醛酮(3-deoxyglucosone, 3-DG),该物质为高反应性的

二羰基醛化合物, 可通过非酶糖基化反应生成毒性的AGEs。DM大鼠实验研究表明, AR在DM视网膜早期病变病理机制中起到重要作用^[16]。

2.2.2 氨基己糖生物合成途径 HBP是机体正常的旁路代谢途径, 糖酵解中间产物6-磷酸果糖可在6-磷酸果糖酰胺转移酶的作用下生成果糖6-磷酸(fructose-6-phosphate, F6P), 并通过乙酰化作用在UTP参与下形成二磷酸尿嘧啶-N-乙酰葡萄糖胺(diphosphate uracil N-acetylglucosamine, UDP-GlcNAc)。正常条件下, UDP-GlcNAc对蛋白质糖基化修饰非常重要; 但高血糖环境下, HBP产物UDP-GlcNAc异常增加, 蛋白糖基化修饰失常。例如, 在高血糖环境下O-糖基化可降低eNOS生物学活性^[17]。

2.2.3 糖基化途径 糖酵解的中间产物3-磷酸甘油醛(glyceraldehyde-3-phosphate, G3P)及磷酸二羟丙酮(dihydroxyacetone phosphate, DHAP)累积主要生成高活性二羰基化合物如丙酮醛(methylglyoxal, MG)、乙二醛、3-DG等。这些醛类化合物可与DNA、蛋白质反应, 形成有毒性的AGEs。其中丙酮醛是内皮细胞中最重要的醛类产物。多项研究显示, DM血管功能障碍与增高的丙酮醛有关^[18,19]。丙酮醛可使eNOS解偶联, 降低eNOS辅助因子四氢生物蝶呤(tetrahydrobiopterin, BH4)水平, 使细胞内氧化应激增强, 但其确切机制尚未完全明了^[20]。有研究显示, 丙酮醛还可抑制NADPH合成酶, 减少巯基和还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)的合成^[21]。GSH减少使醛类物质的清除率下降, 加强了氧化应激的损害。

2.3 PPP受阻

6-磷酸葡萄糖(glucose-6-phosphate, G6P)、F6P及G3P既是糖酵解的中间产物, 也是磷酸戊糖途径的原料或产物。因此, PPP可通过代谢多余中间产物、降低有害性终产物的水平, 达到保护机体的作用。此外, PPP迅速升高可增加NADPH及GSH的氧化还原循环, 提升内皮细胞的抗氧化能力。然而, 高血糖可导致PPP关键酶——6-磷酸葡萄糖脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)的活性降低, 使PPP受阻^[22], 内皮细胞氧化应激水平增高并降低NO的生物利用度。

2.4 AGEs累积

DM发生时, AGEs累积可引起氧化应激水平增高, 导致血管内皮细胞损伤。其中, AGEs可通过受

体途径与AGEs受体结合, 激活细胞内多种信号通路如核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、磷酸肌醇3激酶、p38促分裂素原活化蛋白激酶等, 导致内皮细胞增殖能力降低、血管通透性增加、血流调节受损等, 从而诱发血管病变^[23]。此外, AGEs还可通过蛋白交联的方式对胶原蛋白进行修饰, 改变基质与细胞之间的相互作用, 影响血管壁与基底膜结构的完整性, 从而促进糖尿病血管炎的病理进展。

2.5 PKC通路活化

DM发生时机体存在高糖、高脂、胰岛素抵抗等代谢功能紊乱。在高血糖及游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)利用增多情况下, 可以糖酵解的中间产物DHAP为原料, 从头合成甘油二酯(diacylglycerol, DAG), 进而激活PKC^[24]。在DM动物模型中, DAG和PKC水平均显著升高。DAG-PKC通路活化, 可阻碍胰岛素信号传递、降低糖耐量、加速DM血管病变进程^[25]。PKC还可激活NADPH氧化酶并改变eNOS的表达^[26], 影响血管舒张功能。除此之外, AGEs累积也可激活PKC及MAPK通路, 导致血小板源性生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor β , PDGFR β)去磷酸化, 引起血管壁细胞凋亡^[27], 而DM视网膜病变的早期信号便是壁细胞功能受损^[28]。

2.6 代谢记忆

根据上文可知, 高血糖诱发氧化应激介导内皮细胞损伤, 那么控制血糖水平理应可使氧化应激水平降低。然而, 临床研究表明即使DM患者血糖恢复正常, 血管功能障碍仍会持续存在^[29], 即存在“代谢记忆”。这也许可以解释为何1型DM患者严格控制血糖后动脉粥样硬化预后仍难以得到改善。DM患者中ROS及AGEs增加, 对血管系统产生持续性损伤^[30,31], 当血糖恢复正常后, 线粒体DNA损伤仍难以修复^[32]。最近研究表明, 线粒体衔接蛋白p66Shc在代谢记忆形成过程中发挥着关键作用, 其在血糖恢复正常后仍保持高表达状态, 并参与ROS合成、降低NO生物利用度、诱导细胞凋亡^[33]。大鼠实验中, 通过沉默信息调节因子1(silent information regulator1, SIRT1)抑制p66Shc可改善DM大鼠的内皮功能^[34]。此外, 氧化应激还可引发表观遗传修饰的改变, 从而促进代谢记忆的形成。

3 启示与展望

近年来研究表明, 内皮细胞代谢在DM血管新生方面具有重要作用^[35,36], 如何降低内皮细胞氧化应激

并改善其功能一直是DM血管并发症的研究重点。尽管现今临床上抗氧化剂治疗的效果并不理想^[37,38],但内皮细胞功能障碍是DM血管病变的始动环节,降低DM内皮细胞异常代谢,减少其ROS生成、增强ROS的清除率以及寻找新的治疗靶点,仍是未来DM血管并发症的研究热点。

【参考文献】

- [1] Xu J, Zou MH. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction[J]. *Circulation*, 2009, 120(13): 1266–1286.
- [2] Pober JS, Min W, Bradley JR. Mechanisms of endothelial dysfunction, injury, and death[J]. *Annu Rev Pathol*, 2009, 4: 71–95.
- [3] De Bock K, Georgiadou M, Schoors S, *et al.* Role of PFKFB3-driven glycolysis in vessel sprouting[J]. *Cell*, 2013, 154(3): 651–663.
- [4] Merchan JR, Kovacs K, Railsback JW, *et al.* Antiangiogenic activity of 2-deoxy-D-glucose[J]. *PloS One*, 2010, 5(10): e13699.
- [5] Kolluru GK, Bir SC, Kevil CG. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing[J]. *Int J Vasc Med*, 2012, 2012: 918267.
- [6] Drummond GR, Sobey CG. Endothelial NADPH oxidases: which NOX to target in vascular disease[J]? *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25(9): 452–463.
- [7] Sasaki N, Yamashita T, Takaya T, *et al.* Augmentation of vascular remodeling by uncoupled endothelial nitric oxide synthase in a mouse model of diabetes mellitus[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(6): 1068–1076.
- [8] Pangare M, Makino A. Mitochondrial function in vascular endothelial cell in diabetes[J]. *J Smooth Muscle Res*, 2012, 48(1): 1–26.
- [9] Shenouda SM, Widlansky ME, Chen K, *et al.* Altered mitochondrial dynamics contributes to endothelial dysfunction in diabetes mellitus[J]. *Circulation*, 2011, 124(4): 444–453.
- [10] Tang X, Luo YX, Chen HZ, *et al.* Mitochondria, endothelial cell function, and vascular diseases[J]. *Front Physiol*, 2014, 5: 175.
- [11] Kakimoto M, Inoguchi T, Sonta T, *et al.* Accumulation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and mitochondrial DNA deletion in kidney of diabetic rats[J]. *Diabetes*, 2002, 51(5): 1588–1595.
- [12] Li FY, Lam KS, Tse HF, *et al.* Endothelium-selective activation of AMP-activated protein kinase prevents diabetes mellitus-induced impairment in vascular function and reendothelialization *via* induction of heme oxygenase-1 in mice[J]. *Circulation*, 2012, 126(10): 1267–1277.
- [13] Devalaraja-Narashimha K, Padanilam BJ. PARP-1 inhibits glycolysis in ischemic kidneys[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(1): 95–103.
- [14] Du X, Matsumura T, Edelstein D, *et al.* Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(7): 1049–1057.
- [15] Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient[J]. *Exp Diabetes Res*, 2007, 2007: 61038.
- [16] Cheung AK, Fung MK, Lo AC, *et al.* Aldose reductase deficiency prevents diabetes-induced blood-retinal barrier breakdown, apoptosis, and glial reactivation in the retina of db/db mice[J]. *Diabetes*, 2005, 54(11): 3119–3125.
- [17] Zhang F, Snead CM, Catravas JD. Hsp90 regulates O-linked beta-N-acetylglucosamine transferase: a novel mechanism of modulation of protein O-linked beta-N-acetylglucosamine modification in endothelial cells[J]. *Am J Physiol*, 2012, 302(12): C1786–C1796.
- [18] Skapare E, Konrade I, Liepinsh E, *et al.* Glyoxalase 1 and glyoxalase 2 activities in blood and neuronal tissue samples from experimental animal models of obesity and type 2 diabetes mellitus[J]. *J Physiol Sci*, 2012, 62(6): 469–478.
- [19] Nakayama K, Nakayama M, Iwabuchi M, *et al.* Plasma alpha-oxoaldehyde levels in diabetic and nondiabetic chronic kidney disease patients[J]. *Am J Nephrol*, 2008, 28(6): 871–879.
- [20] Su Y, Qadri SM, Hossain M, *et al.* Uncoupling of eNOS contributes to redox-sensitive leukocyte recruitment and microvascular leakage elicited by methylglyoxal[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(12): 1762–1774.
- [21] Morgan PE, Sheahan PJ, Davies MJ. Perturbation of human coronary artery endothelial cell redox state and NADPH generation by methylglyoxal[J]. *PloS One*, 2014, 9(1): e86564.
- [22] Zhang Z, Apse K, Pang J, *et al.* High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase *via* cAMP in aortic endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(51): 40042–40047.
- [23] Matafome P1, Sena C, Seica R. Methylglyoxal, obesity, and diabetes[J]. *Endocrine*, 2013, 43(3): 472–484.
- [24] Inoguchi T, Xia P, Kunisaki M, *et al.* Insulin's effect on protein kinase C and diacylglycerol induced by diabetes and glucose in vascular tissues[J]. *Am J Physiol*, 1994, 267(3 Pt 1): E369–E379.
- [25] Das Evcimen N, King GL. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes[J]. *Pharmacol Res*, 2007, 55(6): 498–510.

- [26] Roberts AC, Porter KE. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2013, 10(6): 472–482.
- [27] Gerald P, Hiraoka-Yamamoto J, Matsumoto M, *et al.* Activation of PKC-delta and SHP-1 by hyperglycemia causes vascular cell apoptosis and diabetic retinopathy[J]. *Nat Med*, 2009, 15(11): 1298–1306.
- [28] Sheetz MJ, King GL. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications[J]. *JAMA*, 2002, 288(20): 2579–2588.
- [29] Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, *et al.* Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(25): 2643–2653.
- [30] Ihnat MA, Thorpe JE, Kamat CD, *et al.* Reactive oxygen species mediate a cellular 'memory' of high glucose stress signalling[J]. *Diabetologia*, 2007, 50(7): 1523–1531.
- [31] Ihnat MA TJ, Ceriello A. Hypothesis: The 'metabolic memory', the new challenge of diabetes[J]. *Diabet Med*, 2007, 24(6): 582–586.
- [32] Madsen-Bouterse SA, Mohammad G, Kanwar M, *et al.* Role of mitochondrial DNA damage in the development of diabetic retinopathy, and the metabolic memory phenomenon associated with its progression[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 13(6): 797–805.
- [33] Chen HZ WY, Liu DP. Cross-talk between SIRT1 and p66Shc in vascular diseases[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2013, 23(7): 237–241.
- [34] Zhou S, Chen HZ, Wan YZ, *et al.* Repression of P66Shc expression by SIRT1 contributes to the prevention of hyperglycemia-induced endothelial dysfunction[J]. *Circ Res*, 2011, 109(6): 639–648.
- [35] Schoors S, Cantelmo AR, Georgiadou M, *et al.* Incomplete and transitory decrease of glycolysis: a new paradigm for anti-angiogenic therapy[J]? *Cell Cycle*, 2014, 13(1): 16–22.
- [36] Schoors S, De Bock K, Cantelmo AR, *et al.* Partial and transient reduction of glycolysis by PFKFB3 blockade reduces pathological angiogenesis[J]. *Cell Metab*, 2014, 19(1): 37–48.
- [37] Lonn E, Yusuf S, Hoogwerf B, *et al.* Effects of vitamin E on cardiovascular and microvascular outcomes in high-risk patients with diabetes: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy[J]. *Diabetes Care*, 2002, 25(11): 1919–1927.
- [38] Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20 536 high risk individuals: a randomised placebo-controlled trial[J]. *Lancet*, 2002, 360(9326): 23–33.

(编辑: 刘子琪)

• 消 息 •

《中华老年多器官疾病杂志》采用中英文对照形式著录中文参考文献

本刊对录用稿件中的中文参考文献在文末采用中英文对照形式著录, 详见例示。

例: [1] Wang X, Yuan ST, Mu XW, *et al.* De-escalation application of norepinephrine in treatment of patients with septic shock[J]. *Chin J Mult Org Dis Elderly*, 2013, 12(11): 826–830. [王 翔, 袁受涛, 穆心苇, 等. 去甲肾上腺素在脓毒症休克患者中的降阶梯使用[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2013,12(11): 826–830.]

地址: 100853 北京市复兴路28号,《中华老年多器官疾病杂志》编辑部

电话: 010-66936756

网址: <http://www.mode301.cn>

E-mail: zhlnldqg@mode301.cn