

综述

·血液学与临床·

谷胱甘肽血红蛋白与氧化应激状态

蔡爱玲 综述 唐爱华 审校
(湖北荆州市第三人民医院 434001)

摘要: 氧化应激(Oxidative Stress)状态是组织氧化损伤的表现,是危害人类最严重疾病如糖尿病、动脉粥样硬化及相关心血管病、癌症、尿毒症、爱滋病及衰老等多种疾病共有的潜隐性组织病理渐进性变化过程。谷胱甘肽血红蛋白是上述病症中氧化损伤最新标志物,在氧化损伤时明显增加,并具有高度敏感性及特异性。检测其含量变化,有助于识别氧化损伤的病理过程,为预防和有效治疗上述疾病提供依据。

关键词: 谷胱甘肽血红蛋白;氧化应激;自由基;氧亲和

中图分类号: R 329.26

文献标识码: A

文章编号: 1006-3730(2002)03-0147-02

1 氧化应激及其损伤机制

氧化应激、谷胱甘肽血红蛋白由 Niwa 等于 2000 年元月在《临床化学》上加以报道,并立即引起编辑的关注并加以专家评论^[1,2]。氧化应激系指机体内抗氧化物和氧化物生成系统之间的不平衡状态^[1,2]。两者之间的失衡启动了与超氧自由基产物的相关机制,从而对诸如脂蛋白修饰、转换和细胞功能及代谢产生损伤^[2~4],还对葡萄糖和糖蛋白的自身氧化作用和抗氧化酶的糖化作用产生影响^[1,5,6]。就组织病理变化而言,可表现为 DNA 分子中单股或双股的核苷酸链断裂、DNA 蛋白质交联、碱基结构改变等,从而导致基因变异或突变;对脂质中主要分布于细胞膜结构的多不饱和脂肪酸的损伤则可生成过多的过氧化脂质及降解产物,从而导致动脉粥样硬化的逐步形成和心血管病的发生;对蛋白质中的一些重要氨基酸中的肽键和二硫键的损伤则为肽键的断裂或二硫键结构改变而致蛋白酶及抗氧化酶活力减弱甚至丧失其功能等^[1,5,7]。临床已证实:高糖血症、游离脂肪酸增加者、高胰岛素血症患者均能触发氧化应激状态^[5,7]。糖尿病、特别是血糖失控者中谷胱甘肽血红蛋白均明显增加,而合并有微血管病变的患者尤为明显^[7,8]。氧化应激已被作为糖尿病合并症的致病因子,后者与患者红细胞中的谷胱甘肽呈负相关而与谷胱甘肽血红蛋白呈正相关^[1,7,8]。Jialal^[8]等发现血浆脂蛋白增加的患者均合并有过氧化脂质及氧化应激状态的增加,从而导致动脉粥样硬化危险因子的增加和相关心血管疾病的形成。

2 谷胱甘肽血红蛋白—临床新标志物

红细胞含有大量的谷胱甘肽(GSH),其含量远高于各种游离氨基酸,约为 24g/ml 红细胞左右。几乎完全以还原型(GSH)的形式存在,而氧化型(GSSG)不到总量的 0.2%,而血浆中氧化型谷胱甘肽含量也很低,约为红细胞中谷胱甘肽总量的 0.4%。红细胞中 GSH 转换率很快,其半寿期约为 4 天。GSH 具有重要的生理功能,它通过 GSH 过氧化酶还原体内不断生成的超氧自由基和过氧化氢,以消除后者对血红蛋白、酶和膜蛋白上巯基的氧化作用,维持细胞及组织结构的正常功能及代谢^[9,12,15]。上述反应是红细胞中消除活性氧的主要方式,反应中生成的 GSSG,可以经红细胞中谷胱甘肽还原酶所催化,利用磷酸戊糖旁路所生成的还原型辅酶 II 重新还原成 GSH。

谷胱甘肽血红蛋白标志物首先由日本学者 Niwa 于 2000 年初应用于临床观察。通过对 37 例糖尿病、17 例高脂血症患者和 20 例健康人的对比观察,采用先进的液相色谱/电子离子质谱仪(LC/ESI-MS)进行检测,发现糖尿病和高脂血症患

者的谷胱甘肽血红蛋白 β 链,分别为 $7.9 \pm 0.5\%$ 和 $8.1 \pm 0.8\%$,与健康人 $3.7 \pm 0.3\%$ 相比有极显著性差异 ($P < 0.001$);而糖化血红蛋白 β 链则分别为 $6.0 \pm 0.4\%$ 和 $3.7 \pm 0.2\%$,与健康人 $3.4 \pm 0.2\%$ 比较,糖尿病有极显著性差异 ($P < 0.001$)^[1,8,10]。

实验证明:人类成人的血红蛋白 β 链中的胱氨酸 $\beta 93$ 与谷胱甘肽的胱氨酸之间能以二硫键的结合形式在实验中进行反应,谷胱甘肽血红蛋白则可产生于两者之间巯基和二硫键的互换而形成。这种互换仅涉及到血红蛋白 β 链,而与 α 链无关。这是因为在血红蛋白分子表面仅有的胱氨酸 $\beta 93$ 可作为巯基的结合部位之故。正常人红细胞中的谷胱甘肽血红蛋白含量较低,采用电泳方式无法检出。必须采用本文提到的(LC/ESI-MS)高敏感、高特异性方法,方能准确检测正常人及患者红细胞中的谷胱甘肽血红蛋白含量^[1,12,7]。

Niwa 等还分别对加有谷胱甘肽和未加有谷胱甘肽的血红蛋白在体外进行了氧亲和力的测试,结果显示其氧解离曲线有显著差异。在加有谷胱甘肽后形成的谷胱甘肽血红蛋白时,其氧亲和力比未加有谷胱甘肽的血红蛋白有显著增加。在孵育后第 4 天和第 7 天,其对氧的亲合力分别增加了 56.9% 和 79.2%,是未加入谷胱甘肽的血红蛋白的 1.9 倍和 2.5 倍;而其协同性则分别下降了 0.72 倍和 0.67 倍。上述结果明确显示谷胱甘肽血红蛋白对氧的亲合力明显增加,而协同性则明显降低。同时提示:氧化应激状态的增加引起血红蛋白中谷胱甘肽的减少可导致谷胱甘肽、血红蛋白之间巯基与二硫键互换增加,致使患者谷胱甘肽血红蛋白含量明显增加,并成为新的氧化应激临床标记物。此外,谷胱甘肽的降低反馈性的通过清除活性氧分子和抑制蛋白质巯基的氧化作用以对抗和保护细胞及组织免受自由基的损害^[1,2,12]。

3 新标志物临床应用评价

随着自由基生物学的发展和检测水平的不断提高,近年来,一些氧化应激损害标志物不断出现^[11,14,15]。目前按标志物类型大致可以分为以下三类:(1)直接检测氧自由基($O_2^{\cdot-}$, OH 等),这在技术上存在一定难度。电子捕获法还难于推广,所需电子自旋共振仪价格比较昂贵。(2)检测 $O_2^{\cdot-}$, OH 等自由基的结合物、代谢产物或裂解片段等作为体内自由基生成的标志物。这在技术上比较可行,但受干扰因素大,结果不够稳定,临床意义有限。(3)通过检测血液中抗氧化物(酶)及自由基氧化产物的含量(酶活力),间接反应机体内自由基的水平。这在技术上不存在难度,仪器也为常用仪器,但其影响因素较多,敏感性及特异性不够,临床评价不一。

本文报道的谷胱甘肽血红蛋白新标志物, 具有高度敏感性和特异性, 结果稳定可靠。目前临床对其评价较高, 应用前景看好^[12-14, 15]。其主要优点如下: (1) 新标志物可以提供机体氧化损伤的早期预警信号, 连续监测可供临床做到早防早治, 防止氧化损伤的进一步发展。(2) 对许多严重疾病如糖尿病、心脏病、癌症等的严重合并症的预防, 如微血管损伤提供依据, 做到及早防治合并症的出现, 改善或延缓氧化应激状态的进一步发展^[2, 15]。(3) 为抗氧化药物的临床应用提供治疗和预防依据, 为探求新的疗法、新的药物筛选奠定基础。

最近的一项研究表明, 维生素 E 与其它抗氧化剂如维生素 C 的配合使用, 可以有效的保护机体免受自由基的损害, 降低糖尿病、心脏病和癌症的危险。维生素 E 可以保护血细胞、神经系统和骨骼肌肉, 并能防止白内障。美国仪器和营养科学联合会的一项调查表明: 美国目前有 3700 多万人每天服用维生素 E, 并第一次规定了维生素 E 的最大服用量。该联合会还希望人们能更好地了解服用抗氧化剂的意义, 以确保每天的摄入量足够保护他们的健康^[2, 14, 15]。

另有报道, 口服一种具有降解胆固醇脂和抗氧化双重功能的药物“Probuca”, 该药能进入脂蛋白颗粒, 并有效抑制 Cu²⁺ 对脂蛋白(a)和 LDL 的氧化修饰, 抑制细胞对修饰了的脂蛋白(a)的摄取, 防止细胞内胆固醇的蓄积和泡沫细胞的形成, 达到预防及辅助治疗动脉硬化及相关疾病的目的。

总之, 谷胱甘肽血红蛋白这一新的临床标志物, 将随着技术上的不断更新和成熟以及新仪器的推广应用, 必将成为今后反映机体抗氧化损伤的标志物之一。它对诊断、预防严重疾病的发生和发展, 对预防合并症和观察新药物、新疗法, 均具有积极意义。

参考文献

1 Niwa T, Naito C, Hassan A, et al. Increased glutathionyl hemoglobin in diabetes mellitus and hyperlipidemia demonstrated by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry[J]. Clin Chem, 2000, 46: 82-88.
2 Bursell SE, George L, King. The potential use of glutathionyl hemoglobin as a clinical marker of oxidative stress[J]. Clin Chem, 2000, 46: 145-146.
3 Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm[J]. Diabetes, 1999, 48: 1-9.

4 Murr C, Fuith LC, Wridner B, et al. Increased neopterin concentrations in patients with cancer: indicator of oxidative stress[J]. Anticancer Res, 1999, 19: 1721-1728.
5 Paolisso G, Eposito R, D' Alessio MA, et al. Primary and secondary prevention of atherosclerosis: is there a role for antioxidants[J]. Diabetes Metab, 1999, 25: 298-306.
6 Papassotiou I, Traeger-Synodinos J, Prome D, et al. Association of unstable hemoglobin variants and heterozygous β -thalassaemia: example of new variant Hb achames or β 53(D4) Ala \rightarrow Thr[J]. Am J Hematol 1999, 62: 186-192.
7 唐爱华. GPBB 作为 AMI 新指标的评述. 国外医学临床生物化学与检验学分册[J], 1997, 18(3): 102-104.
8 Jialal I, Devaral S. Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective[J]. Clin Chem, 1996, 42: 498-506.
9 Ceniello A. Hyperglycaemia: the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications[J]. Diabetes Nutr Metab, 1999, 12: 42-46.
10 Bursell SE, Clemons AC, Aiello LP, et al. High-dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes[J]. Diabetes Care, 1999, 22: 1245-1251.
11 Thornalley PJ, Langborg A, Minhas HS. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose[J]. Biochem J, 1999, 344: 109-166.
12 唐爱华. 老年期检验数据的变化特点及其意义. 国外医学临床生物化学与检验学分册[J]. 1998, 19(2): 69-71.
13 Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage[J]. In Vivo, 1999, 13: 295-309.
14 唐爱华. 巨内皮素-1 的研究进展. 国外医学临床生物化学与检验学分册[J], 1998, 19(4): 147-148.
15 Pennathur S, Jackson-lewis V, Przedborski S, et al. Mass spectrometric quantification of 3-nitrotyrosine, o-tyrosine and o, o'-dityrosine in brain tissue of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-treated mice: a model of oxidative stress in Parkinson's disease[J]. J Biol Chem 1999, 274: 34621-34628.

(2001-04-13 收稿 2001-08-09 修回)
本文编辑: 辜明铭

(上接第 136 页) detection(Cancer and Leukemia Group B Study)[J]. Blood, 2001, 97(11): 3574-3580.
8 Nakamura K, Ogata K, An E, et al. Flow cytometric assessment of CD15+ CD117+ cells for the detection of minimal residual disease in adult acute myeloid leukemia[J]. Br J Haematol, 2000, 108(4): 710-716.
9 Yokota S, Okamoto T. The minimal residual disease(MRD) in hematological malignancies[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2001, 28(6): 762-768.
10 Fukahori S. Quantification of WT1 mRNA by competitive NASBA in AML patients[J]. Kunume Med J, 2001, 48(2): 129-134.
11 Chim CS, Liang R, Tam CY. Methylation of P¹⁵ and P¹⁶ gene in acute promyelocytic leukemia: potential diagnostic and prognostic significance[J]. J Clin Oncol, 2001, 19(7): 2033-2040.
12 Matsushita M, Ikeda H, Kizaki M, et al. Quantitative monitoring of the PRAME gene for the detection of minimal residual in leukemia[J]. Br J Haematol, 2001, 112: 916-926.
13 Engelhardt M, Mackenzie K, Drullinsky P, et al. Telomerase activity and length in acute chronic leukemia: pre and post-ex vivo culture[J]. Cancer Res, 2000, 60(3): 613-617.
14 Li B, Yang J, Andrew C, et al. Telomerase activity in preleukemic and acute myelogenous leukemia[J]. Leuk Lymphoma, 2000, 36(5-6): 579-587.
15 Xu D, Gruber A, Peterson C, et al. Telomerase activity and the expression of components in acute myelogenous leukemia[J]. Br J Haematol, 1998, 102(5): 1367-1375.
16 Estrov Z, Freedman MH. Detection of residual disease in acute lymphoblastic leukemia or childhood[J]. Leuk Lymphoma, 1999, 33(1-2): 47-52.
(2001-10-11 收稿 2002-01-10 修回)
本文编辑: 陈新黔