

糖基化终末产物对糖尿病慢性 并发症的早期诊断价值

邢晓光

作者单位:300456 天津市,天津港口医院检验科

【摘要】 目的 探讨糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)与糖尿病(diabetes mellitus, DM)慢性并发症之间的关系及在 DM 诊断中的作用。**方法** 选择 2009 年 9 月至 2010 年 3 月在我院就诊的 DM 患者 87 例,其中男 51 例,女 36 例,年龄 45~74 岁。采用 ELISA 法检测 AGEs;采用葡萄糖氧化酶法检测血糖;采用高效液相色谱法检测糖化血红蛋白(HbA1c)。**结果** 单纯 DM 组、DM 伴脑梗死组、DM 伴冠心病组、DM 伴肾病组、DM 伴眼病组 AGEs 水平同对照组比较差异均有统计学意义(P 均 <0.01);同单纯 DM 组相比,DM 伴慢性并发症各组 AGEs 水平差异亦均有统计学意义(P 均 <0.05);DM 伴慢性并发症各组间 AGEs 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。DM 患者血清中 AGEs 水平同血糖水平、HbA1c 水平呈正相关($r=0.452, r=0.416, P$ 均 <0.01)。**结论** 血清 AGEs 水平的升高是早期诊断 DM 合并各种慢性并发症的重要指标,而 ELISA 方法具有快速、灵敏、准确且无放射性污染的特点,适于在临床实验室中作为常规检测 AGEs 的方法。

【关键词】 酶联免疫吸附试验;糖基化终末产物;糖尿病;糖尿病伴慢性并发症

Assess the early diagnostic value of AGEs to diabetes mellitus with chronic complicating diseases

XING Xiao-guang. Department of Clinical Laboratory, Tianjin Port Hospital, Tianjin 300456, China

【Abstract】 Objective To assess the early diagnostic value of AGEs to diabetes mellitus (DM) with chronic complications. **Methods** 87 patients with DM including 51 cases male and 36 cases female were selected from September 2009 to March 2010. The level of AGEs was detected by ELISA. Glucose was detected by glucose oxidase method and HbA1c was detected by high pressure liquid chromatography (HPLC). **Results** The levels of AGEs in the any DM groups were all higher than that of in control group and the differences all had statistical significance(P all <0.01). Only compared with DM group, there were statistical significance in the difference of the levels of AGEs for all DM with chronic complications groups(P all <0.01). There were no statistical significance in the differences of AGEs among the groups of DM with chronic complications($P>0.05$). The level of AGEs had positive correlation with the levels of glucose and HbA1c in DM patients($r=0.452, r=0.416, P$ all <0.01). **Conclusion** AGEs is an important indicator for early statge diagnose DM with chronic complications, ELISA is fit for detecting the level of AGEs as routine method because of its quick, sensitive and accuracy, especially of no radioactive pollution.

【Key words】 Enzymelinked immunosorbent assay; Advanced glycation end products; Diabetes mellitus; DM with chronic complicating diseases

糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)是体内蛋白质与葡萄糖或其他还原单糖反应生成的稳定的共价化合物,它可通过损伤血管内皮、促进白细胞黏附、增加血小板聚集和刺激血管平滑肌增殖等机制,促进动脉粥样硬化、糖尿病(diabetes mellitus, DM)血管病变、尿毒症等 DM 并发症的发生发展,而血清 AGEs 水平的升高是早期诊断 DM 合并各种慢性并发症的重要指标,本文采用 ELISA 法检测 DM 患者血清中 AGEs 水平,探讨其

在 DM 慢性并发症中的早期诊断价值,报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2009 年 9 月至 2010 年 3 月在我院就诊的 DM 患者 87 例,男 51 例,女 36 例,年龄 45~74 岁,平均年龄(59.3±7.52)岁,其中单纯 DM 患者 21 例,同时伴脑梗死患者 16 例,伴冠心病患者 29 例,伴肾病患者 11 例,伴眼病患者 10 例。对照组 50 例,为健康献血员,均无 DM、脑梗死、冠心病、肾病及眼病病史,其中男 29 例,女 21 例,年龄 42~70

岁,平均年龄(57.9±4.33)岁。经平衡检验,各组间研究对象性别及年龄差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 AGEs采用ELISA法检测,试剂盒由天津瑞爱金科技公司提供,仪器采用意大利ALISEI全自动酶标仪;血糖检测为葡萄糖氧化酶法,采用OLYMPUS全自动生化分析仪及其配套试剂;HbA1c检测采用高效液相色谱法,仪器采用美国BioRad D10全自动检测仪。

1.3 统计学处理 采用SPSS 10.0软件进行统计学处理。计量资料数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,不同参数间相关性采用Pearson相关性分析,组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 q 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清中AGEs、空腹血糖、HbA1c检测结果分析 表1所示,单纯DM组及DM慢性并发症各组与对照组比较,AGEs检测结果差异均具有统计学意义(P 均 <0.01)。DM慢性并发症各组间AGEs水平差异无统计学意义($F=1.96, P>0.05$),但分别与单纯DM组比较,差异均具有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.2 DM患者血清中AGEs与空腹血糖、HbA1c水平的相关分析 经Pearson相关性分析,AGEs水平同血糖水平与HbA1c水平呈正相关($r=0.452, r=0.416, P$ 均 <0.01),见表1。

3 讨论

DM是世界性关注的公众健康问题,且其患病率明显增加。DM慢性并发症累及全身各器官,起病隐匿,早期不易被发现,呈渐进性发展,当发展到一定阶段后治疗效果不佳,是造成患者致残、致死的重要原因。近年来大量研究表明,持续高血糖引起体内多种蛋白质非酶糖基化及由此形成的晚期AGEs在DM慢性并发症的发病机制中起重要作用^[1]。

AGEs是非酶糖基化反应的终末产物,是指糖的醛基与蛋白质的氨基端在非酶催化的化学反应下生成的一类物质,是体内蛋白质与葡萄糖或其他还原单糖反应生成的稳定的共价化合物,它可通过损伤血管内皮、促进白细胞黏附、增加血小板聚集和刺激血管平滑肌增殖等机制,促进动脉粥样硬化、DM血管并发症、尿毒症等疾病的发生发展^[2]。

在高血糖环境下,AGEs可直接损伤神经组织及由于氧化应激介导AGEs的细胞毒性作用导致DM神经病变^[3];高血糖环境下,AGEs可启动和加速动脉粥样硬化斑块组织的形成从而导致DM动脉粥样硬化^[4];高血糖可使AGEs的积聚导致血管增厚,弹性减低,内皮功能不良,影响组织重构,使血管通透性增加从而导致DM血管病变,如DM视网膜等眼部疾患;体内积聚的AGEs也可造成肾脏结构破坏和功能丧失从而导致DM肾病甚至尿毒症的发生发展^[5],因此,AGEs的研究对于临床控制和治疗DM并发症有重要意义,而准确检测血清中AGEs浓度可为临床提供重要的诊断依据。

本文研究结果显示,同对照组相比,单纯DM组、DM伴脑梗死组、DM伴冠心病组、DM伴肾病组、DM伴眼病组AGEs水平明显升高,差异均有统计学意义(P 均 <0.01);同单纯DM组相比,DM伴脑梗死组、DM伴冠心病组、DM伴肾病组、DM伴眼病组AGEs水平也均升高,差异均有统计学意义(P 均 <0.05),但DM伴慢性并发症各组间AGEs水平差异无统计学意义($P>0.05$);通过Pearson相关性分析,单纯DM组及DM伴各种并发症组,其AGEs水平同血糖水平、HbA1c水平呈正相关(P 均 <0.01),这提示持续的高血糖是导致AGEs升高的重要原因,其水平越高,越容易出现并发症,因此,血清AGEs水平的升高是早期诊断DM合并各种慢性并发症的重要指标。

目前,国内外已知的AGEs的检测方法有高效

表1 各组患者血清AGEs、空腹血糖、HbA1c水平检测结果($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	AGEs (U/ml)	空腹血糖 (mmol/L)	HbA1c (%)	统计学处理			
					组间比较	q	组间比较	q
对照组	50	3.14±1.55	4.49±0.58	5.51±0.37	-	-	-	-
单纯DM组	21	8.89±0.29	8.17±0.26	9.24±0.36	2:1	4.117*	-	-
DM伴脑梗死组	16	13.69±0.64	8.56±0.22	8.98±0.13	3:1	6.523*	3:2	3.514*
DM伴冠心病组	29	14.13±0.55	9.79±0.16	9.17±0.14	4:1	6.011*	4:2	3.756*
DM伴肾病组	11	12.27±0.33	9.52±0.21	10.15±0.11	5:1	5.682*	5:2	3.443*
DM伴眼病组	10	13.25±0.24	8.99±0.12	8.78±0.25	6:1	5.961*	6:2	3.451*

注:统计学处理中各组间计量数据的 q 检验仅做AGEs的,且与对照组比较,* $P<0.01$;与单纯DM组比较,* $P<0.05$

(下接117页)

- lyocyte colony stimulating factor mobilized peripheral blood progenitor cells after allogeneic hematological stem cell transplantation in patients with high-risk leukemia. *Leukemia*, 2006, 20: 365-368.
- 8 Huang XJ, Liu DH, Liu KY, et al. Donor lymphocyte infusion for the treatment of leukemia relapse after HLA-mismatched/haploidentical T-cell-replete hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*, 2007, 92: 414-417.
- 9 Kang Y, Chao NJ, Aversa F. Unmanipulated or CD34 selected haplo-type mismatched transplants. *Curr Opin Hematol*, 2008, 15: 561-567.
- 10 周世勇, 冯四洲, 王玫, 等. 非清髓性造血干细胞移植治疗白血病的初步临床疗效观察. *临床血液学杂志*, 2005, 5: 147-150.
- 11 Sloan E, Childs RW, Solomon S, et al. The graft-versus-leukemia effect of nonmyeloablative stem cell allografts may not be sufficient to cure chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 2003, 32: 897-901.
- 12 Chakraverty R, Sykes M. The role of antigen-presenting cells in triggering graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia. *Blood*, 2007, 110: 9-17.
- 13 Mapara MY, Kim YM, Wang SP, et al. Donor lymphocyte infusions mediate superior graft-versus-leukemia effects in mixed compared to fully allogeneic chimeras: a critical role for host antigen-presenting cells. *Blood*, 2002, 100: 1903-1909.
- 14 赵金河, 谢彦晖. 移植抗宿主反应中抗原提呈细胞作用的研究进展. *临床血液学杂志*, 2008, 3: 170-173.
- 15 Huang XJ, Zhao J, Zhao XY, et al. Treating donor mice with rhIL-11 and rhG-CSF promotes transplant-tolerance and preserves the effects of GVL after allogeneic bone marrow transplantation. *Leuk Res*, 2009, 33: 123-128.
- 16 Tuovinen H, Salminen JT, Arstila TP. Most human thymic and peripheral-blood CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells express 2 T-cell receptors. *Blood*, 2006, 108: 4063-4070.
- 17 Nadal E, Garin M, Kaeda J, et al. Increased frequencies of CD4 (+) CD25 (high) T (regs) correlate with disease relapse after allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*, 2007, 21: 472-479.

(收稿日期: 2010-04-26)

(本文编辑: 陈淑莲)

(上接第 103 页)

液相色谱法、免疫组织化学法、荧光分析法^[6]、放射免疫分析法、放射受体分析法、质谱法、流动注射分析法^[7]等,但以上各种方法有的需要大型设备,价格昂贵;有的方法虽然结果准确,但操作繁琐,耗时较长;有的方法有放射性污染,均不适于在临床实验室常规开展,而本文研究所采用的 ELISA 法具有灵敏度高、特异性强、结果准确、操作简单等特点,适于在临床实验室常规操作。然而,ELISA 法检测 AGEs 没有统一的标准,这是由多方面的原因造成的:AGEs 的化学结构复杂多样、没有制备抗体的标准方法、没有统一的计量单位等。为使不同实验室或不同批次所测得的 AGEs 具有可比性, Misuhashi 等^[8]首先提出用正常人血清(normal human serum, NHS)来标准化 AGEs 检测。因 NHS 中可检测到 AGEs,而且其水平处在狭窄范围,所以可用 NHS 平均 AGEs 值作为测定 AGEs 的通用标准。NHS 法所定义的 AGEs 单位为:在竞争性 ELISA 中 1 U AGEs 等于 1:5 稀释的 NHS 所抑制的 AGEs 的量,即 NHS 中 AGEs 量定为 5 U/ml,本文也采用了 Misuhashi 的标准进行检测。

综上所述,血清 AGEs 水平的升高是早期诊断 DM 合并各种慢性并发症的重要指标,而 ELISA 具有快速、灵敏、准确且无放射性污染的特点,适于在临床实验室中作为常规检测 AGEs 的方法。

4 参考文献

- 1 Peppas M, Uribarri J, Vlassara H. The role of advanced glycation end products in the development of atherosclerosis. *Curr Diab Rep*, 2004, 4: 31-36.
- 2 Singh R, Barden A, Mori T, et al. Advanced glycation end products: a review. *Diabetologia*, 2001; 129-146.
- 3 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, 2005, 54: 1615-1625.
- 4 Huali ZH, Kathryn CB T, Sammy WM S, et al. Increased serum advanced glycation end products are associated with impairment in HDL antioxidative capacity in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23: 927-933.
- 5 Jurgen MB, Sybille F, Gunter S, et al. Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 289: F645-F659.
- 6 王培昌, 赵琪彦, 张建. 北京健康人群 AGEs 水平测定及其增龄性变化的研究. *中国老年学杂志*, 2006, 26: 725-726.
- 7 张林, 孙子林. 糖基化终产物与 2 型糖尿病慢性并发症的关系调查. *实用预防医学*, 2006, 13: 1140-1141.
- 8 Misuhashi T, Vlassara H, Found HM, et al. Standardizing the immunological measurement of advanced glycation end products using normal human serum. *Immunol Methods*, 1997, 207: 79-88.

(收稿日期: 2010-04-17)

(本文编辑: 陈淑莲)