

醛糖还原酶在糖尿病视网膜病变中作用的研究进展

李宏哲¹, 李才锐¹, 孙曙光²

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 81260153);云南省应用基础研究计划自筹经费项目(No. 2011FZ162)

作者单位:(671000)中国云南省大理市,大理大学附属医院¹眼科;²内分泌科

作者简介:李宏哲,在读硕士研究生,研究方向:玻璃体视网膜膜疾病。

通讯作者:孙曙光,毕业于中南大学湘雅医学院,内分泌专业博士,副教授,大理大学硕士研究生导师,研究方向:糖尿病。lcrbrett@163.com

收稿日期:2015-04-07 修回日期:2015-06-04

Research progress on the roles of aldose reductase in diabetic retinopathy

Hong-Zhe Li¹, Cai-Rui Li¹, Shu-Guang Sun²

Foundation items: National Natural Foundation of China (No. 81260153); Yunnan Applied Basic Research Program of Self-financing Project (No. 2011FZ162)

¹Department of Ophthalmology; ²Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Dali Medical University, Dali 671000, Yunnan Province, China

Correspondence to: Shu-Guang Sun. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Dali Medical University, Dali 671000, Yunnan Province, China. lcrbrett@163.com

Received: 2015-04-07 Accepted: 2015-06-04

Abstract

• Aldose reductase (AR) belonging to nicotinamide - adenine dinucleotide phosphate (NADPH) - dependent aldehyde - keto reductase superfamily, is the key rate-limiting enzyme in the polyol pathway which plays an important role in the body's high-sugar metabolism. AR is widely present in the kidneys, blood vessels, lens, retina, heart, skeletal muscle and other tissues and organs, converts glucose to sorbitol which easy permeability of cell membranes, cause cell swelling, degeneration, necrosis, and have a close relationship with the development of chronic complications of diabetes mellitus. Diabetic retinopathy (DR) is a multifactorial disease, the exact cause is currently unknown, but polyol pathway has been demonstrated to play an important role in the pathogenesis of DR. Clinical risk factors such as blood sugar control, blood pressure and other treatments for DR only play a part effect of remission or invalid, if we can find out DR genes associated with the disease, this will contribute to a better understanding of the pathological mechanisms and contribute to the development of new treatments

and drugs. The current research progress of AR, AR gene polymorphism, Aldose reductase inhibitors to DR was reviewed in this article.

• KEYWORDS: aldose reductase; aldose reductase inhibitors; diabetic retinopathy; polyol pathway; polymorphism

Citation: Li HZ, Li CR, Sun SG. Research progress on the roles of aldose reductase in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(7):1176-1178

摘要

醛糖还原酶(aldose reductase, AR)属于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide - adenine dinucleotide phosphate, NADPH)依赖性的醛-酮还原酶超家族,是多元醇代谢通路中的关键限速酶,在机体高糖代谢中发挥重要作用。AR广泛存在于肾脏、血管、晶状体、视网膜、心脏、骨骼肌等组织器官中,催化葡萄糖转化为不易通透细胞膜的山梨醇,使细胞肿胀、变性、坏死,与糖尿病慢性并发症的发生发展有密切关系。糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)为多因素疾病,目前确切的病因尚不清楚,但多元醇代谢通路被证实在DR发病机制中发挥重要作用。临床工作中控制血糖、血压等危险因素的治疗方案对于DR的病情缓解仅有部分疗效或无效,如果能明确与DR病情相关的基因,将有助于更好地理解其病理机制,有助于新治疗方法及药物的研制。本文就目前AR及其基因多态性在DR中的作用和AR抑制剂的临床应用进行综述。

关键词:醛糖还原酶;醛糖还原酶抑制剂;糖尿病视网膜病变;多元醇代谢通路;基因多态性

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.7.15

引用:李宏哲,李才锐,孙曙光. 醛糖还原酶在糖尿病视网膜病变中作用的研究进展. 国际眼科杂志 2015;15(7):1176-1178

0 引言

众所周知,糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病在眼部最常见和最严重的微血管并发症,是全球三大致盲因素之一,是发达国家首位致盲因素。随着全球糖尿病患者数量的增多,DR患者也会随之增高。DR的发生发展与多元醇代谢通路的异常、蛋白质的非酶糖基化的堆积、蛋白激酶C的活化、血管紧张素转换酶系统的作用等有关^[1]。其中,多元醇代谢通路发挥着重要作用,醛糖还原酶(aldose reductase, AR)是多元醇代谢通路中的关键限速酶,与DR的发生发展密切相关^[2]。探讨AR在DR中的发生机制对预防及治疗DR有重要意义。

1 醛糖还原酶与糖尿病视网膜病变

Hers 于 1956 年在精囊中首次发现 AR,其在精囊中能催化血液中的葡萄糖转化为果糖,为精子提供能量^[3]。AR 广泛存在于肾脏、血管、晶状体、视网膜、心脏、神经、骨骼肌等组织器官中^[4]。研究表明,AR 能够选择性地定位于视网膜毛细血管的周细胞中^[5]。

AR 是多元醇代谢通路中的关键限速酶,属于 NADPH 依赖性的醛-酮还原酶超家族,在体内以单体形式存在。它是由 316 个氨基酸组成的多肽,AR 的活性部位位于整个蛋白质的中心部位,由 7 个芳香族氨基酸(Trp20, Tyr48, Trp79, Trp11, Phe121, Phe122, Trp219)、4 个非极性氨基酸(Val147, Pro218, Leu300, Leu301)及 3 个极性氨基酸(Glu49, Cys298, His110)组成的一个椭圆形、疏水性的三维口袋结构,第 48 位的酪氨酸和第 110 位的组氨酸参与酸碱催化作用。其底物、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)、AR 抑制剂的结合和底物的催化过程都在该中心完成,其中 Cys298 影响着 AR 的催化活性和对 AR 抑制剂的敏感性^[6]。

AR 在 NADPH 存在下能催化血液中的葡萄糖还原为山梨醇,山梨醇在山梨醇脱氢酶(sorbitol dehydrogenase, SDH)的作用下氧化为易于通透细胞膜的果糖^[7]。当人体血糖浓度维持在正常生理水平时,AR 对葡萄糖的亲合力远不如己糖激酶对葡萄糖的亲合力,绝大多数葡萄糖均经己糖激酶代谢,而且葡萄糖并不是 AR 的首选底物,所以经由 AR 代谢的葡萄糖很少,故而正常机体情况下,经山梨醇代谢通路生成的山梨醇量很少,其均能及时氧化为果糖。但是在糖尿病患者中,血液中的葡萄糖长期维持在高水平时,己糖激酶的活性已达到饱和,未被己糖激酶代谢的葡萄糖即进入多元醇代谢通路,激活 AR,并被还原为山梨醇,可是此时 SDH 的活性并未成比例的增加,所以无法将山梨醇氧化为果糖,导致视网膜周细胞内山梨醇水平增高^[8],而山梨醇不易通透细胞膜,造成细胞内高渗状态,随之大量水分子渗透入细胞内,产生渗透应激,引起视网膜周细胞肿胀、变性、坏死,缺少了周细胞的保护和抑制作用,病变部位的内皮细胞增生,从而血管的完整性受损,血管外翻呈囊袋状,随之形成微血管瘤、毛细血管基底膜增厚,导致血-视网膜屏障破坏、毛细血管闭塞、新生血管形成,致使视网膜水肿、渗出、出血,严重时神经纤维肿胀、坏死等,最后患者视力下降^[9,10]。同时,AR 的激活导致 NADPH 消耗增加,能竞争性地抑制另一同样以 NADPH 为辅酶的氧化亚氮合成酶的正常合成,由于氧化亚氮对维持血管内皮和神经组织的生理功能具有重要作用,因而 NADPH 的大量消耗会导致氧化亚氮合成数量的急剧减少,最终损伤机体氧化还原系统和神经组织^[11]。另一方面,NADPH 消耗增加亦能竞争性抑制同样以 NADPH 为辅酶的谷胱甘肽还原酶的正常合成,从而导致细胞内重要的抗氧化剂——谷胱甘肽水平明显下降,使细胞更易遭受自由基的损伤。故 AR 的激活导致细胞内氧化应激的加剧,氧自由基可以诱导视网膜周细胞的凋亡,使视网膜神经节细胞数目减少,并可同时损伤血-视网膜屏障,影响患者视力^[12]。另有学者提出,AR 除了代谢葡萄糖,还可以减少应激反应过程中脂质过氧化产生的乙醛,乙醛通过调节核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)等转录因子来改变细胞内信号传导^[13]。

2 醛糖还原酶基因多态性与糖尿病视网膜病变

AR 基因位于 7 号染色体长臂 3 区 5 带,跨越将近 18kb,含有 10 个外显子和 9 个内含子,第一个外显子包括最后 40 个编码序列、终止密码子和 3' 端非翻译序列,第 2~9 外显子对应其余的编码序列,第 10 个外显子包括编码序列的最后 40 个碱基、终止密码和 3' 端非翻译序列。AR 基因启动子区跨越 5' 端 650bp,含有渗透应答元件、异生物应答元件、固醇应答元件、抗氧化应答元件和雌激素应答元件,可分别受到包括 Nr2f2、渗透应激调控转录因子等多个转录因子的调控,从而 AR 可以对氧化胁迫、异生物、脂类、渗透胁迫和激素刺激做出应答反应^[4]。

国内外许多学者研究表明:AR 基因启动子区 C(-106)T 单核苷酸多态性和启动子区上游 2.1kb 处(AC)_n 二核苷酸微卫星多态性与 DR 有密切关系。1993 年 Patel 等^[14]以 1 型糖尿病患者为试验对象研究糖尿病微血管并发症易患基因时发现,AR 基因的 3' 端有与视网膜病变相关的突变位点,之后证实为 AR 基因上第 8 个内含子中第 95 个核苷酸 A+11842C 的点突变。1999 年 Kao 等^[15]对 164 例青少年 1 型糖尿病患者研究发现(AC)_n 重复序列与视网膜病变相关。智利学者 Olmos 等^[16]在研究糖尿病 AR 基因(AC)_n 重复序列时发现 Z-2 等位基因是 DR 发生发展的危险因素。2007 年 Richeti 等^[17]研究巴西 1 型糖尿病时发现 Z 等位基因是增殖性视网膜病变的风险因素。我国学者^[18]以山东地区糖尿病患者为研究对象,用多肽标记 AR 基因 5' 端等位基因,结果发现 Z+2 等位基因可能是 DR 的保护性因素。最近的一项荟萃分析发现,AR 基因多态性中 Z-2 等位基因是 DR 的危险因素^[19]。Xie 等^[20]以 2 例糖尿病病史 10a 余而无任何并发症的患者为研究对象,发现患者红细胞中 AR 活性极低,处于无视网膜病变组的下限,并且发现一新的变异 C-167A,此新的变异使 AR 基因 5' 端调控区域产生一个新的 CCAAT 盒,使其启动子的相对转录活性(5.7%)低于野生型(15.7%)。澳大利亚学者^[21]在 AR 基因的启动子区首次发现 C(-106)T 单碱基突变,同时发现携带 C 等位基因的糖尿病患者并发 DR 的危险性增加,即 C 等位基因可能为 DR 进展的危险因素。后来学者^[22]以 1 型糖尿病患者为研究对象证实 T 等位基因是 DR 的保护性因素,而 C 等位基因是 DR 的易感因素。日本学者 Katakami 等^[23]以 2 型糖尿病患者为对象进行研究时也发现 AR 基因 C(-106)T 多态性与 DR 相关,且 C 等位基因为日本 2 型糖尿病患者 DR 进展的危险因素。但是我国学者^[24]在以甘肃地区汉族、回族 2 型糖尿病患者为研究对象研究 AR 基因 C(-106)T 多态性时却发现 T 等位基因可能是 DR 的危险因素。2010 年澳大利亚学者^[25]研究了 AR 基因多态性与 DR 的敏感性,发现 AR 基因单核苷酸多态性中 rs9640883 与 DR 很高的关联性,而且和 DR 的病程密切相关,其进一步的研究有待深入。

3 醛糖还原酶抑制剂与糖尿病视网膜病变

AR 抑制剂(aldose reductase inhibitor, ARI)可以有效地抑制多元醇代谢通路中的关键限速酶——AR 活性,改善机体多元醇代谢通路异常,减少细胞内山梨醇的生成^[26],减轻果糖和山梨醇在周围组织细胞中的过多蓄积,此外还可阻止蛋白激酶 C 信号通路,增加内皮细胞-氧化氮的合成,从而抑制高糖介导的中性粒细胞-内皮细胞黏附因子的表达,进而纠正微血管、血流动力学异常及

神经营养因子的缺失,改善神经传导速度,阻止视网膜组织中蛋白异常渗漏等,阻止或延缓糖尿病慢性并发症的发生发展。

第一个在体内外均有较高活性的 AR 抑制剂——索比尼尔于 1978 年问世,但后来发现其能够引起严重的过敏反应而被迫终止临床试验。随后许多化学合成类的 AR 抑制剂被开发出来,如甲索比尼尔、非达司他、泊那司他、托瑞司他等,但大部分因为具有较大副作用或疗效不明显而失败于临床试验。依帕司他是第一个成功用于临床治疗的 AR 抑制剂,于 1992 年在日本上市,取得了较好的临床治疗效果^[27]。

我国对于 AR 抑制剂的研究主要集中在从中草药中提取的黄酮类化合物,现已发现具有 AR 抑制作用的黄酮类化合物有黄芩苷、葛根素、槲皮素、水飞蓟素等。中草药来源的 AR 抑制剂作为天然植物来源,无明显不良反应,且来源广泛,其不良反应远低于化学合成及微生物来源的 AR 抑制剂,因而在糖尿病并发症的治疗和预防方面显示了良好的应用前景。但是,实验室研究和临床试验大多数都集中在糖尿病周围神经病变,而并未有针对性的涉及 DR。

4 总结与展望

综上所述,AR 介导的多元醇通路在 DR 的发生发展中发挥着重要作用,其基因多态性与环境因素相互作用影响着 DR 的易感性,探明这些基因多态性的特点对于明确 DR 的发病机制、制定早期预防方案和研制新型的治疗药物都会有很大帮助。但是,目前关于这些方面的研究还不深入,需要各位同仁继续进行全面而深入的研究,对于 DR 的预防及治疗将会产生重要意义。

参考文献

- 1 陈美兰,蔡季平. 糖尿病视网膜病变发病机制. 中国实用眼科杂志 2011;29(6):521-524
- 2 Lorenzi M. The Polyol Pathway as a Mechanism for Diabetic Retinopathy: Attractive, Elusive, and Resilient. *Exp Diabetes Res* 2007; 2007:61038
- 3 Gao L, Mann GE. Vascular NAD(P)H oxidase activation in diabetes: a double-edged sword in redox signalling. *Cardiovasc Res* 2009;82(1): 9-20
- 4 谷娟,严谨,吴卫华,等. 醛糖还原酶的研究进展. 中南大学学报(医学版) 2010;35(4):395-400
- 5 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. *Diabetes* 2005;54(11): 3119-3125
- 6 Fournier B, Bendeif el-E, Guillot B, et al. Charge density and electrostatic interactions of fidarestat, an inhibitor of human aldose reductase. *J Am Chem Soc* 2009;131(31):10929-10941
- 7 Hers HG. The mechanism of the transformation of glucose in fructose in the seminal vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1956;22(1):202-203
- 8 Gacche RN, Dhole NA. Profile of aldose reductase inhibition, anti-cataract and free radical scavenging activity of selected medicinal plants: an attempt to standardize the botanicals for amelioration of diabetes complications. *Food Chem Toxicol* 2011;49(8):1806-1813
- 9 Nunes S, Pires I, Rosa A, et al. Microaneurysm turnover is a biomarker for diabetic retinopathy progression to clinically significant macular edema; findings for type 2 diabetics with nonproliferative retinopathy. *Ophthalmologica* 2009;223(5):292-297

- 10 Srivastava SK, Ramana KV, Bhatnagar A. Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options. *Endocr Rev* 2005;26(3):380-392
- 11 Zhang Y, Huang P, Jiang T, et al. Role of aldose reductase in TGF-beta1-induced fibronectin synthesis in human mesangial cells. *Mol Biol Rep* 2010;37(6):2735-2742
- 12 Rajala RV. Phospho-Site-Specific Antibody Microarray to Study the State of Protein Phosphorylation in the Retina. *J Proteomics Bioinform* 2008;1:242
- 13 Tammali R, Reddy AB, Srivastava SK, et al. Inhibition of aldose reductase prevents angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Angiogenesis* 2011; 14(2):209-221
- 14 Patel A, Ratanachaiyavong S, Millward BA, et al. Polymorphisms of the aldose reductase locus (ALR2) and susceptibility to diabetic microvascular complications. *Adv Exp Med Biol* 1993;328:325-332
- 15 Kao YL, Donaghue K, Chan A, et al. An aldose reductase intragenic polymorphism associated with diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 1999;46(2):155-160
- 16 Olmos P, Futers S, Acosta AM, et al. (AC) 23 [Z-2] polymorphism of the aldose reductase gene and fast progression of retinopathy in Chilean type 2 diabetics. *Diabetes Res Clin Pract* 2000;47(3):169-176
- 17 Richeti F, Noronha RM, Waetge RT, et al. Evaluation of AC(n) and C(-106)T polymorphisms of the aldose reductase gene in Brazilian patients with DM1 and susceptibility to diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2007;2007(13):740-745
- 18 程硕,刘长山,王秀军,等. 醛糖还原酶基因 5' 端两种基因多态性与糖尿病视网膜病变的相关性研究. 中国当代医药 2013;20(4):13-15
- 19 Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, et al. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. *Diabetes* 2009;58(9):2137-2147
- 20 Xie P, Li QJ, Liu ML, et al. Effect of a novel mutation in 5'-regulatory region of aldose reductase gene on its expression. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)* 2003;35(10): 904-908
- 21 Kao YL, Donaghue K, Chan A, et al. A novel polymorphism in the aldose reductase gene promoter region is strongly associated with diabetic retinopathy in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes* 1999; 48(6):1338-1340
- 22 Demaine A, Cross D, Millward A. Polymorphisms of the Aldose Reductase Gene and Susceptibility to Retinopathy in Type 1 Diabetes Mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(13):4064-4068
- 23 Katakami N, Kaneto H, Takahara M, et al. Aldose reductase C-106T gene polymorphism is associated with diabetic retinopathy in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;92(3):57-60
- 24 尹虹,张莹丽,辛燕,等. 回、汉两民族 2 型糖尿病视网膜病醛糖还原酶基因启动子 C(-106)T 多态性的比较. 中国当代医药 2011; 18(15):30-32
- 25 Abhary S, Burdon KP, Laurie KJ, et al. Aldose reductase gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility. *Diabetes Care* 2010;33(8):1834-1836
- 26 Srivastava S, Ramana KV, Tammali R, et al. Contribution of aldose reductase to diabetic hyperproliferation of vascular smooth muscle cells. *Diabetes* 2006;55(4):901-910
- 27 Ohmura C, Watada H, Azuma KR, et al. Aldose reductase inhibitor, epalrestat, reduces lipid hydroperoxides in type 2 diabetes. *Endocr J* 2009;56(1):149-156