论著

文章编号:1000-5404(2008)02-0104-03

还原型谷胱甘肽对维持性血液透析患者氧化应激和微炎症状态的影响

申兵冰,赵洪雯,干 磊,余荣杰,吴雄飞 (第三军医大学西南医院肾科,重庆 400038)

摘 要:目的 探索药物预处理透析器的临床应用价值以及使用还原型谷胱甘肽的最佳方案。方法 2006年1-6月我院住院和门诊接受维持性血液透析患者51例,分为口服还原型谷胱甘肽组、透析前还原型谷胱甘肽预处理组、口服+预处理双重干预组进行6周治疗。同时设立健康对照组。治疗6周后检测血中超敏C反应蛋白(hs-CRP)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、晚期氧化蛋白产物(AOPP)、丙二醛(MDA)的变化并进行分析。结果 无论采用还原型谷胱甘肽口服还是预处理透析器,均能有效地减少患者血中CRP、IL-6、TNF-α、AOPP、MDA水平。而同时采用这两种措施干预则疗效更佳。结论 使用还原型谷胱甘肽预处理透析器能够有效改善患者的氧化应激和微炎症状态,而且与口服治疗的疗效相当。而同时采用两种方式干预疗效好于单独使用,且观察期间无明显不良反应。

关键词:还原型谷胱甘肽;氧化应激;微炎症状态;透析器
中图法分类号:R331;R459.5;R977.4 文献标识码:A

Effect of reduced glutathione on oxidative stress and microinflammatory state in patients with maintenance hemodialysis

SHEN Bing-bing, ZHAO Hong-wen, GAN Lei, YU Rong-jie, WU Xiong-fei (Department of Kidney, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To compare the effects of reduced glutathione by predisposing dialyser and/or taken orally on oxidative stress and microinflammatory state in patient with maintenance hemodialysis (MHD). Methods Fifty-one MHD patients visiting our hospital from January to June 2006, were randomly assigned to receive oral reduced glutathione, predisposing dialyser with reduced glutathione or both for 6 weeks. Ten healthy subjects from out-patient clinic for physical examination served as control. The levels of malondialdehyde (MDA), advanced oxidation protein products (AOPP), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), interleukin (IL-6), tumor necrosis factor (TNF-α) in plasma were measured before and after the treatment. Results The levels of hs-CRP, IL-6, TNF-α, AOPP, MDA 6 weeks after treatment of either therapy were all lower than those before treatment. The combined therapy of reduced glutathione achieved the best therapeutic effect. Conclusion Either reduced glutathione taken orally or by predisposing improves oxidative stress and microinflammatory state in MHD patients, but their combination achieves better therapeutic effect, without apparent side effect.

Key words: reduced glutathione; oxidative stress; microinflammatory state; dialyser

接受维持性血液透析的终末期肾病(end-stage renal disease, ERSD)患者最常见的死因是心脑血管并发症,而透析患者体内的异常氧化应激和微炎症状态通过不同途径造成的进展性动脉粥样硬化性心血管病是目前公认的心脑血管并发症重要致病机制和危险因素[1-4],其可能的机制有[5]:①血液透析的影响:透析过程中的补体成分的活化刺激促炎症细胞因子的转录;透析液中污染的内毒素进入血液循环;细胞接触生物相容性不良的透析膜后能刺激促炎症细胞因子表达,诱发机体炎症反应。②尿毒症患者本身肠道黏膜对内毒素的屏障作用降低,晚期蛋白氧化终产物(advanced oxidation protein product, AOPP)等多种促炎症代谢产物的潴留,造成氧化应激和持续的炎症状态。研究表明,血液透析能够加重尿毒症患者氧化应激和微炎症状态。可见,通过对透析器、膜的预处理从而预防在血液透析过程中产生的炎症和应激反应可能是有效的防治途径。还原型谷胱甘肽能通过与体内自由基的结合,降低血浆致炎因子水平,还能保护蛋白质分子

作者简介:申兵冰,男,四川省泸州市人,硕士,医师,主要从事肾小球疾病方面的研究,E-mail:sbbiceme1234@sina.com
通信作者:赵洪雯,电话:(023)68765335
收稿日期:2007-09-20;修回日期:2007-12-14

或酶分子中巯基免遭氧化,阻断毒性化合物对 DNA、RNA 以及蛋白质的损害。我们在临床使用还原型谷胱甘肽改善透析患者氧化应激和微炎症状态取得了较好效果。本研究希望通过比较还原型谷胱甘肽口服和预处理透析器对透析患者氧化应激和微炎症状态的治疗效果,探索药物预处理透析器的临床应用价值。

1　资料与方法

1.1　病例选择

1.1.1　纳入标准　　2006 年 1 – 6 月我院住院和门诊接受维持性血液透析患者并愿意接受本研究的治疗方案及随访。

1.1.2　排除标准　　患者在接受治疗前 1 个月内有急、慢性感染、心力衰竭、心绞痛;原发病为系统性红斑狼疮、血管炎等自身免疫性疾病及合并肿瘤、甲状腺疾病、病毒性肝炎等;患者接受治疗前使用过抗氧化药物;不愿意接受治疗者。

1.1.3　入选病例情况　　男性 29 例,女性 22 例,年龄(52.6 ±12.5)岁。原发病:慢性肾小球肾炎 28 例、糖尿病肾病 12 例、多囊肾 1 例、高血压肾病 10 例。

健康对照组 10 例,系门诊体检健康人。

1.2　试验分组和干预方法

①口服还原型谷胱甘肽组:16 例,年龄(51.7 ± 11.5)岁。除接受维持性透析外,本组患者口服还原型谷胱甘肽(商品名:阿托莫兰)100 mg,3 次/d。

②透析前还原型谷胱甘肽预处理组:16 例,年龄(53.4 ± 13.2)岁。预处理方法:本组患者透析前,在先对透析器和管路用生理盐水冲洗后,再用生理盐水 500 ml 加肝素钠 20 mg 以及还原型谷胱甘肽(商品名:阿托莫兰注射液)1.2 g,保留 10 min 后尽可能将冲洗液放尽,避免因透析时进入体内影响结果。

③口服 + 预处理组:19 例,年龄(52.3 ± 14.7)岁。本组干预措施为按前两组方法规律口服且每次透析前予还原型谷胱甘肽预处理透析器。

④健康对照组:10 例,年龄(50.3 ± 9.8)岁。

以上除健康对照外各组患者均每周透析 3 次,透析均采用 Fresenous 透析器,聚砜膜;其余个体化治疗不变,血压、血脂等控制在正常水平;观察时间 6 周。

各试验组患者的血红蛋白(Hb)、白蛋白(ALB)、血肌酐等基础生化指标无显著性差异($P > 0.05$)。见表 1。

表 1　各组进入实验前基础指标比较

组别	年龄(岁)	Hb(g/L)	ALB(g/L)	Scr(μmol/L)
健康对照组	50.3 ±9.8	118.2 ±12.7	41.7 ±4.5	78.4 ±10.5
口服组	51.7 ±11.5	84.5 ±13.4[a]	32.9 ±2.5[a]	718.5 ±85.3[a]
预处理组	53.4 ±13.2	82.9 ±11.6[a]	33.1 ±3.3[a]	41.5 ±73.5[a]
口服 + 预处理组	52.3 ±14.7	82.2 ±15.2[a]	32.3 ±2.6[a]	724.5 ±65.7[a]

a:$P < 0.05$,与健康对照组比较

1.3　标本采集和观察指标

标本采集:血液透析患者于透析前采集空腹血,健康对照组晨起采集空腹血,–70 ℃保存,1 周内完成监测。检测指标:血浆 hs-CRP、IL-6、TNF-α、AOPP、MDA。

检测方法:IL-6、TNF-α 检测采用放射免疫法,试剂盒来源于武汉博士德生物工程有限公司。hs-CRP 采用乳胶增强透射免疫比浊法测定,试剂盒由北京中杉生物公司提供。MDA 测定采用硫代巴比妥酸法,722 nm 分光光度计测量结果。AOPP 检测按文献[6]进行,采用 Acclaim 高效液相色谱仪以及 1640 型电化学检测器处理,紫外分光光度计 340 nm 测定。

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,由 SPSS 11.0 统计软件进行。组间比较 t 检验和方差分析。

2　结果

本试验检测指标 hs-CRP、IL-6、TNF-α、AOPP、MDA 等在各试验组之间无显著性差异($P > 0.05$),与健康对照组均有显著性差异($P < 0.05$),说明尿毒症患者确实存在明显的异常氧化应激和微炎症状态。

干预 6 周后收集数据,可见:治疗后与治疗前比较,各组患者 hs-CRP、IL-6、TNF-α、AOPP、MDA 水平均较治疗前显著降低($P < 0.05$);单独口服组和单独透析器预处理组比较,各项指标并无显著性差异($P > 0.05$);而口服 + 预处理干预组治疗效果较单独干预组更佳,分别与单独口服以及预处理组相比,hs-CRP、IL-6、TNF-α、AOPP、MDA 水平下降更为明显($P < 0.05$)。见表 2、3。

各组经过 6 周治疗,均未发现明显不良反应。

表 2　各组患者治疗前后微炎症指标的变化

组别	hs-CRP(mg/L)	IL-6(pg/ml)	TNF-α(ng/ml)
健康对照	2.10 ±0.54	88.2 ±13.7	2.27 ±0.85
治疗前			
口服组	6.25 ±1.76[a]	330.9 ±62.4[a]	8.90 ±2.53[a]
预处理组	5.84 ±1.46[a]	326.9 ±51.2[a]	9.12 ±3.15[a]
口服 + 预处理组	6.12 ±1.33[a]	319.62 ±55.46[a]	9.32 ±2.46[a]
治疗后			
口服组	4.22 ±1.18[c]	164.3 ±31.8[c]	4.71 ±1.09[c]
预处理组	4.14 ±1.02[c]	170.6 ±33.4[c]	5.02 ±1.18[c]
口服 + 预处理组	3.52 ±4.46[b]	141.62 ±5.46[b]	3.62 ±2.46[b]

a:$P < 0.05$,与健康对照组比较;b:$P < 0.05$,与治疗前比较;c:$P < 0.05$,与口服 + 预处理组比较

表 3　各组患者治疗前后氧化应激指标的变化

组别	MDA(μmol/L)	AOPP(μmol/L)
健康对照	3.50 ±1.20	86.7 ±17.3
治疗前		
口服组	7.50 ±2.03[a]	180.4 ±19.8[a]
预处理组	7.45 ±2.48[a]	166.2 ±10.7[a]
口服 + 预处理组	7.31 ±1.88[a]	174.5 ±12.4[a]
治疗后		
口服组	5.02 ±2.15[c]	137.2 ±19.4[c]
预处理组	4.70 ±1.82[c]	129.3 ±11.5[c]
口服 + 预处理组	3.74 ±1.66[b]	112.3 ±21.0[b]

a:$P < 0.05$,与健康对照组比较;b:$P < 0.05$,与治疗前比较;c:$P < 0.05$,与口服 + 预处理组比较

3　讨论

心脑血管事件是维持性血液透析患者最常见的并发症,也是导致患者死亡的最主要原因[7]。近年大量研究证实,血液透析可以加重终末期肾病患者体内本来已经存在的氧化应激和微炎症状态,促进动脉粥样硬化性心血管疾病的发生、发展。

终末期肾病患者氧化应激和微炎症状态的根本原因目前尚未完全清楚,主要表现为体内脂质过氧化产物和晚期氧化蛋白产物等氧化物水平以及多种炎症因子水平增高,抗氧化能力异常。hs-CRP 是低水平炎症的敏感标志物。尿毒症透析与非透析患者血清 hs-CRP 均明显升高,其被认为是目前反应亚临床炎症的较好指标,也是预测心血管并发症的重要因子[8-10]。而 AOPP 是一种新发现的尿毒症毒素,它是由于补体、炎症细胞被反复激活,使蛋白质的氨基酸残基产生具有双酪氨酸的交联结构形成的各种蛋白质氧化终产物的总称。AOPP 在体内可促发炎症效应并激发中性粒细胞的呼吸爆发,导致更强的氧化应激并加重全身的微炎症状态[11-14]。不管是 hs-CRP 还是 AOPP 都能够促进 IL-6、TNF-α、MDA 等的产生及单核细胞的活化。炎症因子的活化反过来通过白细胞膜上 NADPH 氧化酶复合物的氧化作用放大氧化应激反应,进一步刺激炎症细胞活化,从而产生"瀑布效应"。由此可见维持性血液透析患者体内的微炎症状态与氧化应激损伤相互促进,形成恶性循环[15,16]。

还原型谷胱甘肽能激活多种酶,从而促进糖、脂肪以及蛋白质的代谢,并可通过与体内自由基结合,降低血浆内皮素(ET)水平,保护血管内皮细胞,减轻微血管损害。此外,还原型谷胱甘肽作为还原剂能保护蛋白质分子或酶分子中巯基免遭氧化,并可与嗜电子毒物结合,阻断毒性化合物对 DNA、RNA 以及蛋白质的损害。还原型谷胱甘肽不但能有效地控制氧化应激状态,还能通过抑制多种炎症因子的活化产生抗炎效应[17]。从本研究的观察结果来看,使用还原型谷胱甘肽预处理透析器能够有效改善患者的氧化应激和微炎症状态,而且与口服治疗的疗效相当。而同时采用两种方式干预疗效好于单独使用,就证明了采用预处理透析器的方法对透析过程本身产生的氧化应激和致炎反应有抑制作用,并能在常规的口服治疗基础上提高疗效。我们推断:预冲处理不但对透析管道起到了预先抗氧化处理的作用,更重要的是虽然还原型谷胱甘肽与透析膜的结合是非特异性的,但是高浓度的还原型谷胱甘肽冲洗液还是能使透析膜预先吸附部分还原型谷胱甘肽。于是在血液透析过程中,这些预先吸附在透析膜上的还原型谷胱甘肽就能在原位抑制因生物膜相容性等透析因素造成的异常氧化应激和炎症反应,从而能抑制炎症细胞的活性,阻止氧自由基和炎性细胞因子的大量产生,从而抑制血液透析过程中的氧自由基的损伤作用和炎症效应。通过 6 周的治疗,我们没有发现使用还原型谷胱甘肽有明显的不良反应,可以进一步扩大病例进行观察。

参考文献:

[1] Schomig M, Eisenhardt A, Ritz E. The microinflammatory state of uremia[J]. Blood Purif, 2000, 18(4): 327-332.

[2] Stenvinkel P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient[J]. Blood Purif, 2001, 19(1): 53-61.

[3] Fragedaki E, Nebel M, Schupp N, *et al*. Genomic damage and circulating AGE levels in patients undergoing daily versus standard haemodialysis[J]. Nephrol Dial Transplant, 2005, 20(9): 1936-1943.

[4] Bayes B, Pastor M C, Bonal J, *et al*. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis--role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years of follow-up[J]. Nephrol Dial Transplant, 2006, 21(4): 984-990.

[5] Kaysen G A. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences[J]. J Am Soc Nephoral, 2001, 12(7): 1549-1557.

[6] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen-Khca T, *et al*. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure[J]. J Immunol, 1998, 161(5): 2524-5232.

[7] 冯利平, 张 玲, 钟 玲, 等. 口服维生素 E 对维持性血液透析患者血清几种炎症因子水平的影响[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(8): 733-735.

[8] Schalkwijk C G, Poland D C, van-Dijk W, *et al*. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in type I diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with markers of endothelial dysfunction: evidence for chronic inflammation[J]. Diabetologia, 1999, 42(3): 351-357.

[9] 张 冬, 陈香美, 申力军, 等. 血液透析患者超敏 C-反应蛋白水平与营养状况及心室结构的相关研究[J]. 中国血液净化, 2005, 4(2): 62-64.

[10] Saifullah A, Watkins B A, Saha C, *et al*. Oral fish oil supplementation raises blood omega-3 levels and lowers C-reactive protein in haemodialysis patients a pilot study[J]. Nephrol Dial Transplant, 2007, 22(12): 3561-3567.

[11] Descapmps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure[J]. Kidney Int Suppl, 2001, 78: S108-S113.

[12] Drueke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, *et al*. Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in end-stage renal disease[J]. Circulation, 2002, 106(17): 2212-2217.

[13] Xu D L, He H, Zeng P, *et al*. Effects of carvedilol and metoprolol on plasma advanced glycation end products (AGE) and advanced oxidation protein products (AOPP) in patients with chronic heart failure [J]. Circulation, 2006, 114(18 Suppl): II_571.

[14] Coskun C, Kural A, Doventas Y, *et al*. Hemodialysis and protein oxidation products[J]. Ann NY Acad Sci, 2007, 1100: 404-408.

[15] Rodriguez-Iturbe B, Zhan C D, Quinze Y, *et al*. Antioxidant-rich diet relieves hypertension and reduces renal immune infiltration in spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertension, 2003, 41(2): 341-346.

[16] Capeillere-Blandin C, Gausson V, Nguyen A T, *et al*. Respective role of uraemic toxins and myeloperoxidase in the uraemic state[J]. Nephrol Dial Transplant, 2006, 21(6): 1555-1563.

[17] Mandel L J, Schnellmann R G, Jacobs W R. Intracellular glutathione in the protection from anoxic injury in renal proximal tubules[J]. J Clin Invest, 1990, 85(2): 316-324.

(编辑 王 红)