

4 参考文献

- 1 胡萍,高永峰,许文俊,等. 2 型老年糖尿病视网膜病变与血清中 TG/HDL 比值关系研究 (J). 中国实用眼科杂志, 2013; 31(7): 831-3.
- 2 修巍威,张耀光,邵静,等. 银杏达莫注射液治疗老年糖尿病视网膜病变临床效果分析 (J). 中国实用医药, 2014; (31): 150-1.
- 3 王德功,陈松,王昀,等. 玻璃体腔注射抗血管内皮生长因子单克隆抗体 ranibizumab 辅助微创玻璃体视网膜手术治疗严重增生型老年糖尿病视网膜病变的临床观察 (J). 中华眼底病杂志, 2014; 30(2): 136-40.
- 4 张祖海. 银杏达莫注射液治疗单纯型老年糖尿病视网膜病变 28 例疗效观察 (J). 国际中医中药杂志, 2012; 34(2): 159-60.
- 5 韩改玲,鲁娜,王翠娟,等. 25(OH)D 与 2 型老年糖尿病视网膜病变程度的相关性 (J). 山东医药, 2013; 53(9): 34-5.
- 6 韩姬,王玲,刘伟仙,等. 康柏西普玻璃体腔注射对老年糖尿病视网膜病变患者视力的影响 (J). 中国全科医学, 2015; 18(5): 502-6.
- 7 王加良,张艳丽,梁春娥,等. 银杏达莫注射液对实验性 2 型糖尿病大鼠肝脏 GLP-1 表达的影响 (J). 中国老年学杂志, 2014; 34(16): 4606-7.
- 8 唐灵,刘树娇,陈春莲,等. 银杏达莫注射液对早期糖尿病肾病患者血清脂肪因子水平的影响 (J). 山东医药, 2014; 54(7): 43-4.
- 9 郑志. 老年糖尿病视网膜病变临床防治: 进展、挑战与展望 (J). 中华眼底病杂志, 2012; 28(3): 209-14.
- 10 胡臣义. 银杏达莫注射液治疗老年糖尿病视网膜病变疗效观察 (J). 中国现代药物应用, 2010; 4(5): 119-20.

(2016-10-30 修回)
(编辑 曹梦园)

氢谱磁共振代谢组学在 2 型糖尿病特征代谢物监测中的应用

张志军 马红¹ 董继扬² (厦门大学附属中山医院干部保健科 福建 厦门 361004)

〔摘要〕 目的 应用氢谱磁共振(¹H-NMR)代谢组学方法研究 2 型糖尿病(T2DM)患者尿液中小分子代谢物代谢轮廓的变化。方法 选择 T2DM 患者 98 例及健康对照组 82 例,利用¹H-NMR 方法检测尿液的代谢轮廓,结合偏最小二乘判别分析法的模式识别分析方法,比较两组尿液中小分子代谢物差异。结果 尿液的偏最小二乘判别分析法得分图显示与 T2DM 有关的特征代谢物包括乙酸、乳酸、牛磺酸、乙酰乙酸、葡萄糖、丙氨酸、甲基丙二酸、肌酐、柠檬酸、三甲胺等。结论 糖代谢紊乱、氧化应激、氨基酸及脂类代谢异常、维生素缺乏在 T2DM 及其并发症的发生发展中起到重要作用。¹H-NMR 代谢组学方法,可以全景监测小分子代谢终端产物的变化,符合 T2DM 代谢性疾病的特点。

〔关键词〕 氢谱核磁共振;代谢组学;2 型糖尿病;特征代谢物

(中图分类号) R587 (文献标识码) A (文章编号) 1005-9202(2018)04-0810-03; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.04.018

2 型糖尿病(T2DM)起病隐匿、进展缓慢,往往出现相关症状的时候,已经发展到中期甚至晚期,给家庭和社会带来沉重的负担。T2DM 是多因素参与的整体代谢性紊乱,其调控机制十分复杂。以前的研究主要是利用分子生物学和生物化学等方法,通过检测单个或少数几个成分的变化来获得疾病的相关信息,忽略了整体器官中动态的代谢变化,很难了解体内的整体紊乱,也无法做到对疾病的早期预警。代谢组学技术主要提取生物体液(如尿液、血液)或组织中分子量小于 1 000 kD 的小分子代谢物信息,揭示系统关联生物标记物的综合差异,可以从整体上全面分析疾病对生物系统的影响,能够为糖尿病(DM)的代谢研究提供良好的技术平台。磁共振(NMR)技术作为一种非侵入和高效的检测手段,是代谢组学普遍采用的方法,广泛应用于生物体液的研究。本文将基于¹H-NMR 的代谢组学方法应用于 T2DM 尿液特征代谢物的寻找。

1 对象与方法

1.1 研究对象 T2DM 组:厦门大学附属中山医院内分泌科 2012~2013 年住院患者 98 例,平均年龄(58.58±8.69)岁,符合 1999 年世界卫生组织(WHO)T2DM 诊断标准,血清谷氨酸脱羧酶(GAD)抗体检测均为阴性;排除急性感染、严重营养不良、肿瘤、家族性遗传性疾病等。健康对照组:厦门大学附属中山医院体检中心 2012~2013 年健康志愿者 82 例,平均年龄(55.34±9.54)岁,血、尿常规、生化检查均无明显异常。所有参与本试验的志愿者同意参与本研究,被告知本试验的目的及意义,并签署知情同意书。

1.2 样品采集 收集研究对象清晨中段尿液 3 ml,收集后 1 h 内经台式超速离心机以 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 0.6 ml,放入-80℃冰箱储存,1 个月内完成实验。

1.3 NMR 制谱 进行 NMR 实验时,解冻尿液样品至常温,取样品 500 μl 与 250 μl 磷酸盐缓冲液混合,以消除 pH 变化对化学位移的影响,加入适量的 2,2-二甲基-2-硅烷-5-磺酸钠(DSS)作为化学位移零点的定标,用 5 mm 样品管在 Varian NMR System 5 000 MHz 谱仪上采集样品¹H NMR 谱。实验采用 5 mm HCN 三共振探头,温度 300 K,谱宽 5 kHz,信号累加 128 次,用 NOEPR 采样并抑制水峰信号。

1 厦门大学附属中山医院内分泌科 2 厦门大学电子科学系
通信作者:马红(1972-),女,博士,主任医师,硕士生导师,主要从事糖尿病及并发症研究。
第一作者:张志军(1984-),男,主治医师,主要从事糖尿病微血管病变的相关研究。

1.4 数据预处理 采用 MestRe-C 2.3 软件及自编程软件对谱图的手工相位调节、基线校正和谱峰对齐。并将 δ 4.5~ δ 6 的谱峰强度置为零,截取化学位移 δ 0.7~ δ 9 区间,以消除残留水信号对分析结果的影响。为了减少噪声和化学位移漂移的影响,采用自适应分段积分的方法,通过分段积分,得到 1 个观测数据矩阵。最后将数据矩阵进行归一化和标准化,采用 sup-PQN 面归一化,归一后再用 Pareto 进行列归一,应用主成分分析(PCA)方法删除得分图上明显不符合的离群点,进行多元统计分析。

1.5 统计学方法 将预处理结果导入 MATLAB 平台进行多元统计分析。采用 PLS-DA 进行判别分析及 t 检验。

2 结果

2.1 NMR 谱图分析 根据相应的化学位移和波谱形态,可以得到尿液中主要代谢物成分信息如下:异亮氨酸(δ 0.85)、甲基丙二酸(MMA, δ 1.18)、乳酸(δ 1.33)、丙氨酸(δ 1.48)、亮氨酸(δ 1.75)、柠檬酸(δ 2.56 2.72)、二甲胺(DMA, δ 2.73)、三甲胺(TMA, δ 2.92)、肌酐(δ 3.05 4.05)、甜菜碱(δ 3.27)、氮氧三甲胺(TMAO, δ 3.27)、葡萄糖(δ 3.2~ δ 4.0)等。T2DM 组和健康对照组尿液中葡萄糖、氮氧三甲胺、柠檬酸水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。其他代谢物的浓度变化很难识别,并且由于存在个体差异,单个样本的代谢物差异不足以代表全部样本。

2.2 T2DM 和健康对照组尿液代谢产物的 PLS-DA 分析 通过 PLS-DA 的模式识别分析方法,可以明显地将 T2DM 及健康对照组区分开。相对于健康对照组,T2DM 组的样本分布比较分散,这是由于 T2DM 组的代谢产物个体差异较大造成的。在负载图中,葡萄糖、乳酸、乙酸的特征变量偏离负载图中心点最远,说明这三种成分是引起 T2DM 组和健康对照组类别差异的重要参数。除了以上 3 种成分,其他远离中心点的化学位移对负载图也有突出贡献,这说明导致两组样本类别差异的代谢物还包含了其他特征代谢物。根据负载图中的特征变量,我们得到了 T2DM 尿液中的特征代谢物,经过 t 检验后,T2DM 与健康对照组尿液代谢产物比较,乙酸、乳酸、牛磺酸、乙酰乙酸、葡萄糖、丙氨酸、甲基丙二酸含量升高,肌酐、柠檬酸、三甲胺含量降低,差异均有统计学意义($P < 0.005$)。

3 讨论

代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一门新兴学科,也是系统生物学的重要组成部分。可实现对代谢物全面、实时、系统的轮廓分析,并且可对代谢物因饮食、生活方式、服药等影响而发生的变化进行描述和评估。实验中,由于 T2DM 患者存在糖代

谢障碍,使丙酮酸氧化障碍,无法完全进入三羧酸循环,在细胞液中堆积,导致乳酸升高。T2DM 患者普遍存在微循环障碍,细胞供氧不良,乳酸脱氢氧化成丙酮酸的过程被抑制,也是造成 T2DM 患者体内乳酸升高的原因。乳酸性酸中毒死亡率高,预后较差,所以对 T2DM 患者血液乳酸水平的检测显得尤为重要。国外研究报道,乳酸在人体内存在两种立体异构体,L-乳酸和 D-乳酸,D-乳酸含量较少,但其神经毒性远大于 L-乳酸,应当将 D-乳酸作为单独的检测项目⁽¹⁾。T2DM 患者体内 D-乳酸含量几乎为正常人的 2 倍,其原因目前认为是机体在高血糖状态下,由升高的丙酮醛转化而来。文献指出丙酮醛加剧了机体组织的氧化应激和糖基化过程,促进了糖基化终末产物的形成,从而加速 T2DM 微血管并发症和周围神经病变的进程⁽²⁾。作为丙酮醛的终末产物,D-乳酸可以作为其体内水平的参考。在临床上开展针对 D-乳酸的检测,并深入探寻它在 T2DM 微血管及神经病变中的贡献,可以作为今后研究的一个方向。

相关研究发现牛磺酸具有影响糖代谢,降低血糖的作用⁽³⁾。国外学者对其降糖作用进行深入研究,机制主要涉及增加胰岛素的敏感性⁽⁴⁾,减少胃肠道葡萄糖的吸收⁽⁵⁾,促进外周组织对葡萄糖的利用⁽⁶⁾。此外 Winiarska 等⁽⁷⁾ 研究指出,牛磺酸可能通过抑制糖异生来达到降血糖的作用,同时发现,牛磺酸同时具有抗氧化和保护神经的作用,对 T2DM 并发症的预防和控制有一定作用。在本研究中,T2DM 患者尿液中牛磺酸的水平升高,综合相关文献研究结果,我们考虑牛磺酸的排泄增加、体内牛磺酸水平的相对不足,可能在一定程度上参与了 T2DM 的发生发展。

本研究中 T2DM 患者尿液中的甲基丙二酸的水平升高,原因可能为:①T2DM 患者体内氨基酸及脂肪的代谢异常。②T2DM 患者体内维生素 B12 不足。有文献报道 T2DM 患者常用的二甲双胍、罗格列酮等药物会导致维生素 B12 缺乏⁽⁸⁾。本研究中 T2DM 患者服用二甲双胍的比例较高,我们认为这是尿液中甲基丙二酸水平增加的主要原因。美国的一项 META 研究指出,维生素 B12、MMA 的异常会增加多发性神经病变的危险性⁽⁹⁾。国内研究也表明,在 T2DM 患者中,维生素 B12 水平降低会增加 T2DM 患者周围神经病变的发生率⁽¹⁰⁾。临床上二甲双胍相关性的 VitB12 缺乏一直被忽略,早期的 VitB12 缺乏无典型的临床表现,但已经存在潜在神经系统损害⁽¹¹⁾。MMA 对维生素 B12 的早期缺乏较敏感,且 MMA 由肾脏排泄,尿液中含量较高,所以尿液中的 MMA 水平敏感地反映维生素 B12 的缺乏。对于长期应用二甲双胍的患者,定期监测尿液 MMA 的水平,预防 T2DM 周围神经病变的发生发展,具有一定指导意义。研究表明,多进食富含柠檬酸的食物,能够限制体内糖基化终末产物的形成,从而延

缓 T2DM 血管病变的进程^[12]。本研究发现 T2DM 患者尿液中柠檬酸的水平下降,这可能也是引起微血管病变的因素。

4 参考文献

- 1 Talasniemi J, Pennanen S, Savolainen H, et al. Analytical investigation: assay of d-lactate in diabetic plasma and urine (J). Clin Biochem 2008; 41(13): 1099-1103.
- 2 Kalapos MP. Methylglyoxal in living organisms: chemistry, biochemistry, toxicology and biological implications (J). Toxicol Lett 1999; 110(3): 145-75.
- 3 Franconi F, Bennardini F, Mattana A, et al. Plasma and platelet taurine are reduced in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus: effects of taurine supplementation (J). Am J Clin Nutr 1995; 61(5): 1115-9.
- 4 Nakaya Y, Minami A, Harada N, et al. Taurine improves insulin sensitivity in the otsuka long-evans tokushima fatty rat, a model of spontaneous type 2 diabetes (J). Am J Clin Nutr 2000; 71(1): 54-8.
- 5 Kim AJL HW, You S, Park T, et al. Characterization of taurine as inhibitor of sodium glucose transporter (J). Adv Exp Med Biol 2006; 583(2): 137-45.
- 6 Nandhini AT, Thirunavukkarasu V, Anuradha CV. Stimulation of glucose

- utilization and inhibition of protein glycation and AGE products by taurine (J). Acta Physiol Scand 2004; 181(3): 297-303.
- 7 Winiarska K, Szymanski K, Gorniak P, et al. Hypoglycaemic, antioxidative and nephroprotective effects of taurine in alloxan diabetic rabbits (J). Biochimie 2009; 91(2): 261-70.
- 8 Sahin M, Tutuncu N, Ertugrul D, et al. Effects of metformin or rosiglitazone on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B12 in patients with type 2 diabetes mellitus (J). J Diabet Complicat 2007; 21(2): 118-23.
- 9 England JD, Gronseth GS, Franklin G. Practice parameter: evaluation of distal symmetric polyneuropathy: role of laboratory and genetic testing (an evidence-based review) (J). Neurology 2009; 72(2): 185-92.
- 10 孙爱丽, 刘元涛, 倪一虹, 等. 维生素 B12 与甲基丙二酸水平在糖尿病二甲双胍治疗中的变化 (J). 中华内分泌与代谢杂志 2013; 29(1): 24-5.
- 11 Saperstein DS, Barohn RJ. Peripheral neuropathy due to cobalamin deficiency (J). Curr Treatment Option Neurol 2002; 4(3): 197-201.
- 12 Nagai R, Nagai M, Shimasaki S, et al. Citric acid inhibits development of cataracts, proteinuria and ketosis in streptozotocin (type 1) diabetic rats (J). Biochem Biophys Res Commun 2010; 393(1): 118-22.

(2016-10-08 修回)

(编辑 苑云杰/曹梦园)

捷诺达联合胰岛素和二甲双胍联合胰岛素治疗 2 型糖尿病临床疗效比较

刘莹莹 陈琰 赵淑杰 张川 王嘉欣 康静 赵莹 王彦君
(吉林大学第二医院, 吉林 长春 130000)

摘要 目的 对比捷诺达联合胰岛素和二甲双胍联合胰岛素治疗 2 型糖尿病(T2DM) 临床疗效和并发症发生率。方法 T2DM 患者 120 例随机分为对照组和观察组各 60 例。患者均接受饮食控制与体育锻炼, 对照组应用二甲双胍与胰岛素治疗, 观察组使用捷诺达与胰岛素治疗, 两组治疗时间均为 3 个月。分别观察在治疗前后患者空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2 h PG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、体重指数(BMI)及不良反应情况。结果 与对照组比较, 治疗后观察组 HbA1c、FPG、BMI、2 h PG 指标的下降程度明显更高($P < 0.01$)。观察组不良反应发生率(8.3%)明显低于对照组(26.0%) ($P < 0.01$)。结论 捷诺达联合胰岛素与二甲双胍联合胰岛素相比临床疗效更优且不良反应少。

关键词 捷诺达; 2 型糖尿病; 二甲双胍; 胰岛素

(中图分类号) R587.1 (文献标识码) A (文章编号) 1005-9202(2018)04-0812-02; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.04.019

对于无法通过控制饮食和锻炼身体来控制血糖和病情的 2 型糖尿病(T2DM) 尤其是肥胖的 T2DM 而言, 治疗首选药物一般为二甲双胍。与胰岛素合用时, 二甲双胍可减少胰岛素的使用量。但二甲双胍联合胰岛素治疗时可能会出现低血糖等副作用, 患者也可能因为胃肠道反应或乳酸酸中毒等并发症停用二甲双胍。二甲双胍和西格列汀分别为双胍类降糖药和二肽基肽酶(DPP)-4 抑制剂, 两者的固定复方制剂为西格列汀二甲双胍(捷诺达, 50 mg/85.0 mg)。本研究旨

在对比捷诺达联合胰岛素和二甲双胍联合胰岛素治疗 T2DM 临床疗效和并发症发生率。

1 对象与方法

1.1 病例来源 选取吉林大学第二医院 2016 年 6 月至 2017 年 6 月收诊的 T2DM 患者 120 例。随机分为对照组和观察组各 60 例。两组性别、年龄、病程、空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2 h PG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、体重指数(BMI)等一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

1.2 诊断标准 依据中国糖尿病指南诊断标准诊断 T2DM, 具体标准如下: ①出现体重下降、多饮、多尿等典型糖尿病症状, 且血糖浓度 ≥ 11.1 mmol/L。② FPG > 7.0 mmol/L。③给予患者 75 g 无水葡萄糖进行

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20160101103JC)

通信作者: 王彦君(1965-), 男, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事内分泌代谢性疾病研究。

第一作者: 刘莹莹(1989-), 女, 住院医师, 主要从事糖尿病及并发症临床研究。