

53%。

2.3.1 血浆同型半胱氨酸(Hcy) Hcy 水平升高可引起动脉粥样硬化、心肌梗死、脑血管病、外周血管病等多种疾病,是血管性疾病的独立危险因素^[9-10]。有研究表明,糖尿病患者血中叶酸、甲钴胺浓度升高有可能使血中的 Hcy 水平下降。

2.3.2 治疗糖尿病并发症的药物有醛糖还原酶抑制剂 依帕司他、唑泊司他、甲索比尼尔;蛋白酶抑制剂:灯盏花素;血管紧张素转换酶抑制剂和血管紧张素受体拮抗剂;羟甲基戊二酰 CoA 还原酶抑制剂;目前临床主要有他汀类药物,如辛伐他汀等;抗氧化剂:普罗布考,N-乙酰半胱氨酸等。

3 糖尿病的防治

糖尿病的临床以“三多一少”为典型症状,即多尿、多饮、多食和体质量减少,患者易并发感染。参考文献前瞻性糖尿病研究发现,胰岛β细胞功能随着糖尿病的发生和发展逐渐衰竭,导致了血糖水平的逐年增加,并且餐后血糖的升高早于空腹血糖的升高,餐后血糖的升高幅度也明显高于健康人^[11]。有研究发现,随着餐后血糖的增高,总的冠心病发生率和致死性冠心病发生率也逐渐增高^[12]。因此,随着社会现代化的发展,人们应每年进行一次或一次以上的体检,并且在血液检测时应同时进行餐前和餐后的血糖检测以及糖化血红蛋白的检测,定时监测血糖水平的高低。

目前倡导全球性的三级预防模式,在糖尿病防治工作中,糖尿病教育是保证与核心,没有糖尿病教育就不会有成功的防治^[13-14]。认识到广泛开展糖尿病教育的重要性,深刻地体会到提高患者、家属及高危人群对糖尿病的认识是治疗的重要环节,也是防治糖尿病工作的重要步骤^[15]。

参考文献

[1] 吕卓人. 临床医学概论[M]. 北京:科学出版社,2001:254-256.

[2] 邵成雷,张玲. 1 型糖尿病治疗研究进展[J]. 广州医药, 2004,35(1):6-8.

[3] 张珺辉. 2 型糖尿病治疗目标与治疗新策略[J]. 中国全科

医学,2006,9(4):265-258.

[4] 王煜. 关于糖尿病常见的错误认识[J]. 中国实用乡村医生杂志,2010,17(6):649.

[5] 王寿航,黄亚薇. 怎样指导糖尿病患者饮食治疗[J]. 中国乡村医药杂志,2010,9(1):6-8.

[6] 赖世兴. 2 型糖尿病饮食锻炼疗法[J]. 当代医学,2010,16(20):50-51.

[7] 李荧. 胰岛β细胞功能保护与理想的胰岛素促泌剂[J]. 中华内分泌杂志,2004,20(2):附录.

[8] 王震,荣翱. 糖尿病视网膜病变的治疗进展[J]. 同济大学学报:医学版,2004,25(3):248-250.

[9] Humphrey LL, Fu R, Rogers K, et al. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis[J]. Mayo Clin Proc, 2008, 83(11): 1203-1212.

[10] Rudy A, Kowalska I, Straczkowski M, et al. Homocysteine concentrations and vascular complications in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Metab, 2005, 31(2):112-117.

[11] American Diabetes Association. Postprandial blood glucose[J]. Diabetes Care, 2001, 24(4):775-778.

[12] Donahue RP, Abbott RD, Reed DM, et al. Postchallenge glucose concentration and coronary heart disease in men of Japanese ancestry[J]. Diabetes, 1987, 36(6):689-692.

[13] 陈家伟. 糖尿病教育[M]. 北京:北京医科大学出版社, 2000:75-79.

[14] 贾平. 糖尿病健康教育的指导内容及方法[J]. 中国实用医药, 2010, 5(26):239-240.

[15] 梁兰芳,郭臻. 糖尿病患者的健康教育[J]. 吉林医学, 2010, 31(14):2029-2030.

(收稿日期:2010-08-15)

附睾抗氧化系统中的谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白

刘新 综述,李建远 审校(山东省烟台毓璜顶医院中心实验室 264000)

【关键词】 附睾; 抗氧化; 谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.04.051 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)04-0470-03

精子成熟是在附睾中完成的^[1]。精子与附睾管微环境中物质相互作用,获得运动,识别卵子并使卵子受精的能力。附睾微环境中适量活性氧可以调节精子功能,但过多活性氧会导致氧化应激发生,造成精子质膜不饱和和脂肪酸氧化,严重影响精子质膜流动性,危害精子获能,精卵识别和受精过程,同时破坏精子 DNA 和鱼精蛋白之间紧密包装状态,引起 DNA 断裂,碱基缺失,父方遗传信息完整性无法保障,常引起不育或者围生期流产^[2]。为了维持附睾微环境稳定,附睾具有独特的抗氧化系统清除多余自由基。其中包括多种酶类抗氧化剂(谷胱甘肽过氧化物酶家族、超氧化物歧化酶家族、过氧化氧化还原蛋白家族、过氧化氢酶、吡啶胺双加氧酶等)和非酶类(谷胱甘肽、硫氧还蛋白等)抗氧化剂,这些抗氧化物质在调节活性氧方面起

到至关重要作用。本文对附睾谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白抗氧化研究进展进行综述,以前发现男性不育治疗新方向并提供生殖药物研发新靶标。

1 附睾中的谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白

谷胱甘肽过氧化物酶属于抗氧化蛋白超家族,广泛分布于真核生物中,是一类非常重要的过氧化物分解酶。基于谷胱甘肽过氧化物酶家族基因序列,底物第一性以及亚细胞定位分为 8 类(命名从谷胱甘肽过氧化物酶 1 至谷胱甘肽过氧化物酶 8)^[3],它们分别由不同基因编码,染色体定位依次为 Chr. 3 p21. 3; Chr. 14 q24. 1; Chr. 5 q23; Chr. 19 p13. 3; Chr. 6 p21. 32; Chr. 6 p21; Chr. 1 p32; Chr. 5 q11. 2,基因序列比对分析表明,家族成员很可能起源于同一个基因^[4-5]。人 8 种谷胱甘肽

过氧化物酶蛋白相对分子质量依次为 21 946、21 954、25 552、22 175、25 202、24 971、20 996、23 881。

谷胱甘肽过氧化物酶的命名反映其酶学特性。例如谷胱甘肽过氧化物酶 1 因在红细胞中高表达,被称为细胞质谷胱甘肽过氧化物酶或者网织红细胞特异的谷胱甘肽过氧化物酶。谷胱甘肽过氧化物酶 2 首先在啮齿类动物胃肠道发现,也是一种细胞质酶。谷胱甘肽过氧化物酶 3 是在人血浆中首次发现,被称为细胞外谷胱甘肽过氧化物酶或血浆型谷胱甘肽过氧化物酶。随后研究表明,该酶主要在哺乳动物肾脏表达并在包括附睾在内的其他多组织中低水平表达,在附睾中谷胱甘肽过氧化物酶 3 是非分泌型的细胞质酶。谷胱甘肽过氧化物酶 4 又被称为磷脂氢过氧化物过氧化氢酶,该酶是一种膜相关酶,在哺乳动物睾丸、附睾、脑和心脏中表达。谷胱甘肽过氧化物酶 5 也被称为附睾特异谷胱甘肽过氧化物酶,仅在哺乳动物附睾头部表达^[6]。谷胱甘肽过氧化物酶 6~8 首次是从大规模哺乳动物基因组测序研究中发现。

2 附睾谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白的抗氧化作用

附睾上皮表达谷胱甘肽过氧化物酶有 4 种,分别是谷胱甘肽过氧化物酶 1、谷胱甘肽过氧化物酶 3、谷胱甘肽过氧化物酶 4、谷胱甘肽过氧化物酶 5,其中只有谷胱甘肽过氧化物酶 5 是附睾特异表达并分泌到附睾管腔,直接参与附睾微环境中氧化应激调控。同时谷胱甘肽过氧化物酶 5 占附睾头部谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白 mRNA 表达量 90% 以上。

谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白基本功能是清除多余自由基,谷胱甘肽过氧化物酶活性能够有效防止精子质膜过氧化发生。研究表明,如果谷胱甘肽过氧化物酶活性受到抑制或者还原型谷胱甘肽数量不足均可引起脂质过氧化增多^[7],而在过氧化氢酶存在条件下,谷胱甘肽过氧化物酶抗氧化能力显著增强。当过氧化氢酶表达水平低,谷胱甘肽过氧化物酶成为主要防止精子以及附睾免受过氧化氢介导的氧化损伤。谷胱甘肽过氧化物酶相比过氧化氢酶具有两个明显优势:一是作用底物不局限于过氧化氢;二是仅在生理浓度下即可清除自由基,而过氧化氢酶需要浓度大于 10~6 mol/L 才能发挥作用。过氧化氢能够引发自由基链式反应,产生更具破坏能力羟自由基。精子质膜含有丰富的不饱和脂肪酸,因而成为自由基攻击的靶标。为了避免精子质膜受到自由基损伤,附睾中精子被大量谷胱甘肽过氧化物酶包围。谷胱甘肽过氧化物酶 4 存在于精子核和精子中段^[8]。谷胱甘肽过氧化物酶 5 在精子上定位于顶体质膜和精子核;在附睾头部定位于主细胞细胞质;在附睾管腔液中附睾小体也被发现^[9],同时在附睾尾部上皮存在大量细胞质型谷胱甘肽过氧化物酶 3^[10]。

在附睾谷胱甘肽过氧化物酶家族中,谷胱甘肽过氧化物酶 5 因其不含有标志性硒代半胱氨酸,曾被假定为谷胱甘肽过氧化物酶^[11]。一般认为氨基酸序列中不含硒代半胱氨酸,其酶活会现在下降。体外研究结果显示,转染谷胱甘肽过氧化物酶 5 的哺乳动物细胞和正常细胞相比,在高浓度过氧化氢环境中能更好地存活,因而证明谷胱甘肽过氧化物酶 5 能够高效转化过氧化氢^[12];在没有硒环境中,谷胱甘肽过氧化物酶 5 mRNA 表达量明显增加,用以补偿含硒谷胱甘肽过氧化物酶活性降低^[13]。对谷胱甘肽过氧化物酶 5 基因敲除小鼠模型研究发现,附睾管腔液中缺乏谷胱甘肽过氧化物酶 5 导致附睾尾部严重氧化应激。模型鼠第 1 年中没有表现出任何不育或者生育力低下,但是老年雄性模型鼠生育能力明显下降,主要表现在

胚胎发育缺陷、流产、围生期死亡^[14]。进一步研究发现,模型鼠尾部精子 DNA 氧化程度增加,DNA 片段化加剧,并且核包装程度减弱,因此导致父方因素生育能力下降^[15]。上述研究结果证明谷胱甘肽过氧化物酶 5 是一种重要的管腔液自由基清除者,保护尾部精子精子自由基损伤,维持精子 DNA 完整性,保障男性生育能力^[16]。谷胱甘肽过氧化物酶以还原型谷胱甘肽作为电子供体,氧化型谷胱甘肽通过谷胱甘肽还原酶并有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸参与下进行再生^[17]。一般认为谷胱甘肽过氧化物酶是还原型谷胱甘肽依赖酶,但从植物谷胱甘肽过氧化物酶研究表明硫氧还蛋白也可以作为电子供体。该植物谷胱甘肽过氧化物酶是非硒依赖酶,类似附睾特异谷胱甘肽过氧化物酶 5。同时硫氧还蛋白作为电子供体时,转化过氧化氢,脂肪酸和磷脂过氧化物效率远高于谷胱甘肽电子供体。因此,非硒依赖谷胱甘肽过氧化物酶不仅可以作为谷胱甘肽过氧化物酶而且可以作为硫氧还蛋白过氧化物酶。基于上述研究结果,附睾中分泌的非硒谷胱甘肽过氧化物酶 5 可以克服谷胱甘肽数量不足问题,因为其可以利用其他电子供体:硫氧还蛋白或含巯基分子^[18]。

3 展 望

附睾是精子成熟器官,精子在附睾移行过程中与附睾管腔微环境中物质相互作用,获得运动,识别卵子和受精能力。附睾上皮旺盛耗氧代谢活动导致活性氧的产生。然而至今附睾管腔液微环境中活性氧来源仍然不很清楚。一般认为有 3 种来源:(1)附睾上皮细胞脂膜烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶产生超氧阴离子,超氧化物歧化酶将其转化为过氧化氢,然后透过附睾上脂质膜进入附睾管腔;(2)附睾管腔中多形核白细胞,巨噬细胞过氧化物酶产生活性氧释放到附睾管腔;(3)精子质膜烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶和线粒体水平上的 NADH 依赖性的氧化还原酶也是活性氧主要来源。适量附睾微环境中活性氧对于精子 DNA 包装,精子成熟是有帮助的,但是过量活性氧会导致精子损伤,男性不育。因此附睾发展了多种抗氧化物质来清除多余活性氧,平衡精子成熟环境。谷胱甘肽过氧化物酶家族蛋白是很重要的自由基清除分子。附睾上皮细胞具有 4 种谷胱甘肽过氧化物酶,尤其是附睾特异表达的非硒依赖谷胱甘肽过氧化物酶 5 具有很强的过氧化物转化能力,以期男性不育患者的诊断、治疗以及药物研发提供新的靶点和新视野。尽管目前对于附睾微环境氧化应激研究也获得不少结果,但是对于活性氧产生机制,平衡机制,生理功能,信号通路扰动仍需要不断深入探索,揭示人类生殖健康特别是男性生殖奥秘。

参考文献

- [1] Hinton BT, Cooper TG. The epididymis as a target for male contraceptive development [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2010, 198: 117-137.
- [2] Lanzafame FM, La Vignera S, Vicari E, et al. Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility [J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 19(5): 638-659.
- [3] Chabory E, Damon C, Lenoir A, et al. Mammalian glutathione peroxidases control acquisition and maintenance of spermatozoa integrity [J]. *J Anim Sci*, 2010, 88(4): 1321-1331.
- [4] Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohé R, et al. Diversity

- of glutathione peroxidases [J]. *Methods Enzymol*, 1995, 252:38-53.
- [5] Dufaure JP, Lareyre JJ, Schwaab V, et al. Structural organization, chromosomal localization, expression and phylogenetic evaluation of mouse glutathione peroxidase encoding genes [J]. *C R Acad Sci*, 1996, 319(7):559-568.
 - [6] Zhang T, Chabory E, Britan A, et al. GPX5, the selenium-independent glutathione peroxidase-encoding single copy gene is differentially expressed in mouse epididymis [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2008, 20(5):615-625.
 - [7] Alvarez JG, Storey BT. Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation [J]. *Gamete Res*, 1989, 23(1):77-90.
 - [8] Ursini F, Heim S, Kiess M, et al. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation [J]. *Science*, 1999, 285(5432):1393-1396.
 - [9] Rejraji H, Sion B, Prensier G, et al. Lipid remodeling of murine epididymosomes and spermatozoa during epididymal maturation [J]. *Biol Reprod*, 2006, 74(6):1104-1113.
 - [10] Schwaab V, Baud E, Ghyselinck N, et al. Cloning of the mouse gene encoding plasma glutathione peroxidase; organization, sequence and chromosomal localization [J]. *Gene*, 1995, 167(1-2):25-31.
 - [11] Ghyselinck NB, Dufaure I, Lareyre JJ, et al. Structural organization and regulation of the gene for the androgen-dependent glutathione peroxidase-like protein specific to the mouse epididymis [J]. *Mol Endocrinol*, 1993, 7(2):258-272.
 - [12] Vernet P, Rigaudière N, Ghyselinck N, et al. In vitro expression of a mouse tissue specific glutathione-peroxidase-like protein lacking the selenocysteine can protect stably transfected mammalian cells against oxidative damage [J]. *Biochem Cell Biol*, 1996, 74(1):125-131.
 - [13] Vernet P, Rock E, Mazur A, et al. Selenium-independent epididymis-restricted glutathione peroxidase 5 protein (GPX5) can back up failing Se-dependent GPXs in mice subjected to selenium deficiency [J]. *Mol Reprod Dev*, 1999, 54(4):362-370.
 - [14] Chabory E, Damon C, Lenoir A, et al. Epididymis selenium-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(7):2074-2085.
 - [15] Aitken RJ, De Iuliis GN. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa [J]. *Mol Hum Reprod*, 2010, 16(1):3-13.
 - [16] Thomson LK, Fleming SD, Aitken RJ, et al. Cryopreservation-induced human sperm DNA damage is predominantly mediated by oxidative stress rather than apoptosis [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(9):2061-2070.
 - [17] Yeung CH, Cooper TG, De Geyter M, et al. Studies on the origin of redox enzymes in seminal plasma and their relationship with results of in-vitro fertilization [J]. *Mol Hum Reprod*, 1998, 4(9):835-839.
 - [18] Herbette S, Lenne C, Leblanc N, et al. Two GPX-like proteins from *Lycopersicon esculentum* and *Helianthus annuus* are antioxidant enzymes with phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and thioredoxin peroxidase activities [J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269(9):2414-2420.

(收稿日期:2010-10-23)

(上接第 461 页)

均应进行血涂片的显微镜检查和人工分类,并要注意淋巴细胞的形态有无异常。

一般来说复检是根据血液细胞仪提出的异常信息进行复检,本文出现的两个病例仪器都没有出现异常信息的提示,这就一方面需要技术性强的检验者,另一方面需要根据本实验室的特点和在实际工作中遇到的病例来建立和补充复检规则。血涂片显微镜复检不仅能补充仪器形态鉴别能力的不足,而且足以直观地评估和验证血液学分析仪所报告结果的可行性^[2]。作者认为在国际规定的复片 41 条规则的基础上,每个实验室应结合本实验室的仪器设备状况,专业人员的技术水平以及实验室的其他条件等来制定本实验室血涂片复查的标准,并且随着以后的工作中遇到的问题不断地更新和完善,是可以弥补三分类乃至五分类血液分析仪对形态和结构等方面的不足,避免漏诊和误诊,为临床治疗提供可靠的科学依据。

参考文献

- [1] 朱晓辉,马洪玉,朱忠勇.应用血液学分析仪后显微镜复检标准刍议[J]. *中国实验诊断学*, 2006, 10(3):297.
- [2] 郑赵利. Sysmex SE-9000 血细胞分析仪在白细胞分类中的应用评价[J]. *国际检验医学杂志*, 2009, 29(4):395-

396.

- [3] 彭黎明,府假灵,高行军. Sysmex SE-9000 全自动血液分析性能的评价[J]. *临床检验杂志*, 2004, 22(5):396-397.
- [4] 王艳梅. 血液分析仪检测结果与复查血片的比较[J]. *中国医药导报*, 2007, 4(12):156-157.
- [5] 汪嘉,李智,孙仲华,等. CELI-DYN 3700 血液分析仪复检规则制订及应用评价[J]. *检验医学*, 2008, 23(1):6.
- [6] 许顺姬. Sysmex SE-9000 血液分析仪白细胞异常信息的相互分析[J]. *现代预防医学*, 2007, 34(1):21.
- [7] 朱晓辉,何菊英,朱忠勇. 应用血液分析仪后复查血片的内容和方法及程序[J]. *中华检验医学杂志*, 2003, 26(12):786.
- [8] 陈小剑,王晓欧,李绵绵,等. XE-2100 血细胞分析仪血涂片复检标准制定及评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(4):386.
- [9] 李焱鑫,熊志刚,钟亚玲. SYSMEX 尿液常规分析系统的显微镜复查标准探讨[J]. *实用医院临床杂志*, 2009, 6(6):86-87.

(收稿日期:2010-08-22)