

· 综述 ·

糖尿病血管内皮功能损伤机制及无创评估的研究进展

沈诗意¹ 武晓泓²¹浙江中医药大学第二临床医学院, 杭州 310053; ²浙江省人民医院内分泌科, 杭州 310014

通信作者: 武晓泓, Email: drxhwu@163.com

【摘要】 糖尿病(diabetes mellitus)是一种以高血糖为特征的慢性疾病,其患病率在全球范围内不断上升。心血管病变是糖尿病最主要的并发症之一,具有治疗难度大、病情进展快及死亡率高的特征。血管内皮功能受损是诱发糖尿病心血管并发症的始动环节,其持续存在可以作为评估心血管并发症发生风险的一个重要指标。本文综述了糖尿病患者血管内皮功能损伤的机制及无创评估方式研究进展,以期在糖尿病患者中,早期发现并及时干预内皮功能损伤,降低心血管事件的发生风险。

【关键词】 糖尿病;内皮功能损伤;机制;评估方式

基金项目: 国家自然科学基金(81970714);浙江省自然科学基金联合基金资助项目(LHDMZ23H070001);浙江省“高层次人才特殊支持计划”科技领军人才项目(2021R52022);卫生创新人才项目(2021-CXRC07-01)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20230522-05040

Research progress on the mechanism and noninvasive assessment of vascular endothelial dysfunction in diabetes mellitus Shen Shiyi¹, Wu Xiaohong². ¹Second Clinical Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; ²Department of Endocrinology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China

Corresponding author: Wu Xiaohong, Email: drxhwu@163.com

【Abstract】 Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease characterized by hyperglycemia, the prevalence of which is increasing worldwide. Cardiovascular disease is one of the main complication of DM, which is characterized by high treatment difficulty, rapid progression, and high mortality. Vascular endothelial dysfunction is the initiating link in the development of diabetic cardiovascular complications, and its persistence can be an important indicator in assessing the risk of vascular complications. This article reviews the research progress on the mechanism and noninvasive assessment of vascular endothelial dysfunction in patients with DM, with the aim of early detection and timely intervention of endothelial function impairment to reduce the risk of cardiovascular events in patients with DM.

【Keywords】 Diabetes mellitus; Endothelial dysfunction; Mechanism; Assessment method

Fund program: The National Natural Science Foundation of China (81970714); Joint Funds of Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China under Grant (LHDMZ23H070001); Science and Technology Innovation leading talent project of Zhejiang ten thousand people plan (2021R52022); Zhejiang Province Health Innovative Talents Project (2021-CXRC07-01)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20230522-05040

糖尿病(diabetes mellitus)作为全身系统性疾病,可影响全身各重要器官,其中血管病变是糖尿病最主要的并发症,血管内皮功能受损是诱发DM心血管并发症的始动环节。血管内皮细胞主要通过产生血管收缩剂如内皮素-1(ET-1)、活性氧(ROS)、血管紧张素-Ⅱ(Ang-Ⅱ)、内皮源性超极化

因子(EDHF)和一氧化氮(NO)来保持血管完整性,同时血管内皮又具有多种生理功能,通过调节血管舒缩、抑生长和促生长、抗血栓和促血栓形成、抗炎和促炎以及抗氧化和促氧化之间的平衡来维持血管系统的内环境稳定^[1-2]。本文就糖尿病血管内皮损伤机制及无创评估最新进展进行综述,以期预

防 DM 血管内皮损伤提供新思路。

1 糖尿病血管内皮损伤机制

1.1 内皮依赖性血管舒张受损 调节血管张力是内皮维持血管稳态的重要功能。NO 是由内皮产生的主要血管舒张分子,NO 扩散到血管平滑肌细胞,通过鸟苷酸环化酶的激活引起环磷酸鸟苷(cGMP)依赖性血管舒张。高血糖情况下促进内皮型一氧化氮合酶(eNOS)解耦联,eNOS 从催化 NO 产生转变为产生超氧阴离子。而超氧阴离子可与 NO 反应生成过氧亚硝酸根阴离子,其消耗 NO,降低 NO 的生物利用度,并导致内皮功能障碍^[3]。此外,当发生胰岛素抵抗时,胰岛素信号传导磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)途径被抑制,NO 产生减少,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)依赖性通路被激活,促进 ET-1、Ang-Ⅱ的产生和内皮功能障碍。

1.2 氧化应激 当促氧化剂和抗氧化剂系统之间的平衡被破坏时,就会发生氧化应激。内皮细胞中的 ROS 主要来源于黄嘌呤氧化酶、还原型辅酶Ⅱ(NADPH)氧化酶和功能失调的线粒体,在血管内稳态中,抗氧化系统包括过氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等主导了促氧化剂途径^[4]。高血糖环境下激活多元醇途径增加 NADPH 消耗,NADPH 是还原型谷胱甘肽再生所必需的。因此,还原型谷胱甘肽的细胞内浓度降低,由于还原型谷胱甘肽是主要的细胞内抗氧化剂,所以糖尿病患者细胞内氧化应激增强。

1.3 慢性炎症 当内皮细胞被激活并产生白细胞介素-6(IL-6)、E-选择素、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和其他炎性因子,吸引单核细胞和中性粒细胞附着在活化的内皮上,穿透动脉壁引发炎症。高血糖通过诱导蛋白激酶 C(PKC)的激活导致 E-选择素表达增加,核因子- κ B 激活,增强细胞因子、化学引诱物和血管粘附分子的产生,诱导血管炎症^[5]。在糖尿病患者中,当胰岛素抵抗发生时,胰岛素通过 MAPK 途径增加内皮细胞纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、IL-6、ET-1 等表达,并以旁分泌方式进一步增强炎症。

1.4 内皮细胞衰老 细胞衰老是一种无限期细胞周期停滞的状态,是对亚致死应激的反应,如 DNA 损伤、端粒缩短、氧化应激和癌基因激活。衰老的内皮细胞发展为功能失调的表型,其特征是增殖和迁移减少,血管生成分子表达减少,eNOS 和 NO 活性降低。许多异常分子或分子途径参与其中,包括

沉默调节蛋白(SIRT)1、SIRT6、Klotho 蛋白和血红素加氧酶-1^[6]。糖尿病条件下,miR-199a-3p/盘状结构域受体 1(miR-199a-3p/DDR1)信号通路激活,伴随衰老相关基因 p53 和 p21 表达升高,而最新研究表明,AQR/PLAU 也参与内皮细胞衰老,加重内皮功能障碍^[7]。

1.5 血小板聚集 血小板活化信号通路是由糖蛋白(GP)Ⅱb/Ⅲ α 受体-纤维蛋白相互作用介导,高血糖促进血小板释放大量的 GPIb 和 GP Ⅱb/Ⅲ α 受体,增加血小板聚集和血栓素形成能力^[8]。在糖尿病患者中,晚期糖基化终末产物(AGEs)的增加触发 ROS 和细胞因子的产生,增加氧化应激和炎症反应,增强血小板受体的信号传导。其次,糖尿病患者血小板嘌呤能(P2Y₁₂)受体数量增加,P2Y₁₂受体激活导致蛋白激酶介导的血管舒张刺激蛋白依赖性磷酸化降低,促进血小板的活化和过度聚集。

1.6 内皮-间充质转化(endothelial-to-mesenchymal transition,EndMT) EndMT 是血管内皮功能障碍和随后血管重塑的关键步骤。高血糖是糖尿病中 EndMT 的已知驱动因素,通过激活 PKC 途径促进内皮细胞中的转化生长因子- β (TGF- β)信号传导,通过 Smad 依赖性和非依赖性途径触发 EndMT。PKC 途径还触发 ET-1 产生,其独立于 TGF- β 促进 EndMT。由 ROS、AGEs 和其他高血糖诱导的途径触发的炎症反应也有助于糖尿病中的 EndMT。此外,高血糖影响表观遗传调节的变化,并且可以增加内皮细胞对 EndMT 的易感性^[6,9]。

通过 EndMT,内皮源性间充质细胞失去了内皮细胞的结构和功能,并获得干细胞特性,它们不仅分化成不同的中胚层细胞类型,还影响底层平滑肌细胞合成胶原蛋白和积累脂质,导致血管僵硬和动脉粥样硬化^[10]。

1.7 自噬性细胞凋亡 自噬是细胞稳态调控的重要机制,是通过溶酶体介导细胞内蛋白质和细胞器降解并循环利用的过程。自噬的丧失减弱了 eNOS 的磷酸化和 NO 的产生,促进了 ROS 的增加和炎性因子产生。自噬体与溶酶体的融合是自噬流顺利推进的关键环节,受到一组蛋白的精确和严格调控,包括自噬相关蛋白 14(Atg14),突触融合蛋白 17(STX17)和溶酶体关联膜蛋白 2(LAMP2)。我们的研究表明,在糖尿病患者中,叉头框蛋白 O1(FoxO1)通过抑制自噬相关蛋白 14 抗体(Atg14)表达,引发自噬体-溶酶体融合障碍,介导 AGEs 诱导

的血管内皮自噬性细胞凋亡^[11]。Liu 等^[12]也发现糖脂毒性可以通过 AMP 依赖的蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白/人自噬启动蛋白 1 (AMPK/mTOR/ULK1) 途径诱导自噬启动和抑制自噬流, 从而引起内皮功能障碍。

此外, Sun 等^[13]发现内皮转录因子 EB 的缺乏通过 Akt 信号传导减少和胰岛素受体底物 1 和 2 表达减少导致葡萄糖耐量受损、内皮功能损伤, 强调了内皮细胞代谢异常与代谢性疾病和血管功能障碍之间的联系。为我们在糖尿病内皮功能受损研究中提供了新的视角。

2 糖尿病血管内皮损伤评估

2.1 血流介导的肱动脉血管舒张(flow-mediated dilation, FMD) FMD 已经被证明是由 NO 介导, 可以有效地反映内皮局部的 NO 生物利用度, 反映内皮依赖性血管舒张。由于其非侵入性的特点, FMD 成为最广泛应用的评估内皮功能的方法。检测方法: 患者在检查前应禁食至少 6 h, 在安静环境下平卧至少 15 min, 将压力袖带置于上臂, 膨胀到高于患者收缩压 50 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 阻断肱动脉血流 5 min, 后释放袖带导致反应性充血, 高分辨超声(>7 MHz) 分别测量管腔基础内径、充血前内径、充血后内径, FMD 即刺激后直径变化占基线直径的百分比。目前关于 FMD 的诊断标准尚未建立, 但最近一项荟萃分析显示, 在健康个体中可以将 FMD 评估正常内皮功能的临界值设为 6.5%^[14], 在 3.1%~6.5% 存在内皮功能受损, 而 FMD<3.1% 则认为可能存在病理性改变。FMD 作为心血管疾病的独立预测因子, 对冠状动脉内皮障碍的阳性预测值为 95%^[15]。有研究发现血糖控制不佳的 2 型糖尿病患者比血糖控制良好的患者具有更低的 FMD 和更严重的冠状动脉疾病^[16], 这为早期诊断和防治糖尿病并发症提供了有效手段。

2.2 封闭区 FMD 检查(enclosed zone flow-mediated dilation, ezFMD) 传统的 FMD 是超声测量下的血管直径的改变, 而 ezFMD 测量是基于血管容量的改变。检测方法: 患者在检查前应禁食至少 6 h, 在安静环境下休息至少 15 min, 用临床常用的振荡测量法, 将血压计袖带绑于上臂, 首先用该仪器测量坐姿状态下血压, 然后加压至收缩压 50 mmHg 以上中断血流 5 min, 后慢慢放气, 每次袖带压下降 5 mmHg 时, 检测到两个振荡信号脉冲, 记录基线及峰值震荡幅度, ezFMD 即刺激后震荡幅度变化占基

线的百分比。有研究发现 ezFMD 是心血管事件的独立预测因子, 提示其可能作为未来心血管事件的替代标志物, 但需要进一步的大型临床试验来证实 ezFMD 的有效性^[17]。

2.3 外周动脉张力法(peripheral arterial tonometry, PAT) PAT 通过外周动脉压力设备测定缺血前后指尖动脉张力变化。检测方法: 将指尖探头置于受试侧食指, 压力袖带至于其上臂, 对侧食指放置相同探头, 加压前 10 min 记录双侧指尖的基础张力幅度, 后以大于收缩压 50 mmHg 压力加压受试侧手臂 5 min, 计算机自动记录袖带释放后 3 min 双侧指尖张力的平均变化程度, 计算出反应性充血指数(RHI), RHI<1.67 提示外周动脉内皮功能障碍^[18]。Rubinshtein 等^[19]进一步研究发现该指数<0.4 预测心血管事件具有良好的敏感性和特异性。

2.4 生物标志物 血管内皮功能障碍生物标志物的评估, 是基于内皮相关标志物血浆水平的检测, 一定程度上反映总体内皮细胞活化或功能障碍。内皮祖细胞(EPCs) 作为一种起源于骨髓的原始细胞, 在炎症、应激等条件刺激下, 能够募集到血管损伤部位, 促进血管新生, 参与动脉内膜损伤修复。血管内皮生长因子、NO、基质细胞衍生因子 1 α 则是调节此过程的重要物质^[20]。在临床研究中, 通常采用流式细胞术分析特定表面标记物(CD34/CD133、KDR) 来识别和定量 EPCs。大量研究证实循环 EPCs 数量和功能与动脉粥样硬化高度相关^[21]。Meta 分析显示 EPCs 循环水平降低可能是糖尿病患者内皮功能障碍和未来心血管事件的新型生物标志物^[22]。

此外, 其他研究内皮功能的生物标志物如循环内皮微粒、内皮细胞特异性分子-1、ICAM-1、同型半胱氨酸、ET-1、PAI-1、氧化低密度脂蛋白、微量白蛋白尿等, 也与糖尿病并发症的筛查密切相关^[23]。在糖尿病患者中, 结合经典和新型生物标志物的评估方法可能更有意义, 是未来评估内皮功能的一种选择。

3 总结

糖尿病可以通过 eNOS 解耦联、氧化应激、慢性炎症、细胞衰老、血小板聚集等作用, 参与内皮细胞功能障碍, 而内皮到间充质转化、内皮细胞自噬凋亡和细胞代谢改变是目前关于内皮损伤机制较新的研究领域。糖尿病无创内皮功能评估方式较多, 但缺乏标准规范及参考指标。因此, 进一步开展内

皮损伤机制的临床研究,建立并规范内皮功能检测操作指南,开创更具针对性的检测方法,将对早期发现并及时干预糖尿病患者内皮功能障碍发挥重要作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Wautier JL, Wautier MP. Endothelial cell participation in inflammatory reaction[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6341. DOI: 10.3390/ijms22126341.
- [2] 张城林, 何蕾, 王力, 等. 内皮功能障碍的发生机制[J]. *中国科学: 生命科学*, 2022, 52: 691-698. DOI: 10.1360/SSV-2021-0251.
- [3] Daiber A, Chlopicki S. Revisiting pharmacology of oxidative stress and endothelial dysfunction in cardiovascular disease; evidence for redox-based therapies[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 157: 15-37. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.026.
- [4] Poznyak AV, Grechko AV, Orekhova VA, et al. Oxidative stress and antioxidants in atherosclerosis development and treatment[J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9(3): 60. DOI: 10.3390/biology9030060.
- [5] 张雪, 匡洪宇. 血糖变异性对糖尿病慢性并发症的作用及其优化策略[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2020, 40(6): 408-411. DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200330-03028.
- [6] Xu S, Ilyas I, Little PJ, et al. Endothelial dysfunction in atherosclerotic cardiovascular diseases and beyond: from mechanism to pharmacotherapies[J]. *Pharmacol Rev*, 2021, 73(3): 924-967. DOI: 10.1124/pharmrev.120.000096.
- [7] Wan Y, Liu Z, Wu A, et al. Hyperglycemia promotes endothelial cell senescence through AQR/PLAU signaling axis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2879. DOI: 10.3390/ijms23052879.
- [8] Przygodzki T, Luzak B, Kassassir H, et al. Diabetes and hyperglycemia affect platelet GPIIb/IIIa expression. effects on adhesion potential of blood platelets from diabetic patients under in vitro flow conditions[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3222. DOI: 10.3390/ijms21093222.
- [9] Wang E, Wang H, Chakrabarti S. Endothelial-to-mesenchymal transition; an underappreciated mediator of diabetic complications[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1050540. DOI: 10.3389/fendo.2023.1050540.
- [10] You M, Liu Y, Wang B, et al. Asprosin induces vascular endothelial-to-mesenchymal transition in diabetic lower extremity peripheral artery disease[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2022, 21(1): 25. DOI: 10.1186/s12933-022-01457-0.
- [11] Zhang H, Ge S, He K, et al. FoxO1 inhibits autophagosome-lysosome fusion leading to endothelial autophagic-apoptosis in diabetes[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(14): 2008-2020. DOI: 10.1093/cvr/cvz014.
- [12] Liu Y, Xiang H, Xiong W, et al. Glucolipotoxicity induces endothelial cell dysfunction by activating autophagy and inhibiting autophagic flow[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2022, 19(3): 14791641221102513. DOI: 10.1177/14791641221102513.
- [13] Sun J, Lu H, Liang W, et al. Endothelial TFEB (transcription factor EB) improves glucose tolerance via upregulation of IRS (insulin receptor substrate) 1 and IRS2[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(2): 783-795. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.315310.
- [14] Heiss C, Rodriguez-Mateos A, Bapir M, et al. Flow-mediated dilation reference values for evaluation of endothelial function and cardiovascular health[J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(1): 283-293. DOI: 10.1093/cvr/cvac095.
- [15] Alexander Y, Osto E, Schmidt-Trucksäss A, et al. Endothelial function in cardiovascular medicine: a consensus paper of the european society of cardiology working groups on atherosclerosis and vascular biology, aorta and peripheral vascular diseases, coronary pathophysiology and microcirculation, and thrombosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(1): 29-42. DOI: 10.1093/cvr/cvaa085.
- [16] Chen S, Shen Y, Liu YH, et al. Impact of glycemic control on the association of endothelial dysfunction and coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2021, 20(1): 64. DOI: 10.1186/s12933-021-01257-y.
- [17] Morimoto H, Kajikawa M, Oda N, et al. Endothelial function assessed by automatic measurement of enclosed zone flow-mediated vasodilation using an oscillometric method is an independent predictor of cardiovascular events[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(12): e004385. DOI: 10.1161/JAHA.116.004385.
- [18] Koo BK, Chung WY, Moon MK. Peripheral arterial endothelial dysfunction predicts future cardiovascular events in diabetic patients with albuminuria; a prospective cohort study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2020, 19(1): 82. DOI: 10.1186/s12933-020-01062-z.
- [19] Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, et al. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(9): 1142-1148. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq010.
- [20] 吕淑芳, 赵晓彤, 许慕蓉, 等. 度拉糖肽对 2 型糖尿病患者外周血内皮祖细胞数量的影响[J]. *临床心血管病杂志*, 2022, 38(7): 572-576. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1439.2022.07.011.
- [21] Fadini GP, Mehta A, Dhindsa DS, et al. Circulating stem cells and cardiovascular outcomes: from basic science to the clinic[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(44): 4271-4282. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz923.
- [22] Rigato M, Fadini GP. Circulating stem/progenitor cells as prognostic biomarkers in macro- and microvascular disease: a narrative review of prospective observational studies[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(35): 4507-4517. DOI: 10.2174/0929867324666170920154020.
- [23] Shityakov S, Nagai M, Ergün S, et al. The protective effects of neurotrophins and microRNA in diabetic retinopathy, nephropathy and heart failure via regulating endothelial function[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(8): 1113. DOI: 10.3390/biom12081113.

(收稿日期: 2023-05-22)