

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.005

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.005

## $\alpha$ -硫辛酸、银杏叶提取物对波动高糖所致人视网膜色素上皮细胞损伤的作用

李立琴<sup>1</sup>, 张云良<sup>1</sup>, 郭淑芹<sup>1</sup>, 王翥<sup>1</sup>, 靳丽丽<sup>2</sup>, 董越华<sup>1</sup>, 辛欢欢<sup>1</sup>, 刘莉芳<sup>1</sup>

(保定市第一中心医院 1. 内分泌科; 2. 心血管心血管内五科, 河北 保定 071000)

**[摘要]** 目的: 研究 $\alpha$ -硫辛酸(alpha lipoic acid, ALA)、银杏叶提取物(Gingko biloba, EGb761)对波动性高糖所致人视网膜色素上皮细胞(human retinal pigment epithelial, HRPE)氧化应激和炎性损伤的保护作用。方法: 培养HRPE细胞株, 取生长良好的对数期细胞用于实验, 换用不同条件培养液, 分10组进行试验。1)5.5 mmol/L葡萄糖对照组(N组); 2)33 mmol/L持续高糖组(H组); 3)5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组(F组); 4)33 mmol/L渗透压对照组(P组); 5)ALA<sub>50</sub>干预组(ALA<sub>50</sub>组): 5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组+50  $\mu$ mol/L ALA; 6)ALA<sub>100</sub>干预组(ALA<sub>100</sub>组): 5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组+100  $\mu$ mol/L ALA; 7)ALA<sub>200</sub>干预组(ALA<sub>200</sub>组): 5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组+200  $\mu$ mol/L ALA; 8)EGb761<sub>0.1</sub>干预组(EGb761<sub>0.1</sub>组): 5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组+0.1 g/L EGb761; 9)EGb761<sub>0.5</sub>干预组(EGb761<sub>0.5</sub>组): 5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组+0.5 g/L EGb761; 10)EGb761<sub>1.0</sub>干预组(EGb761<sub>1.0</sub>组): 5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组+1.0 g/L EGb761。各组细胞培养72 h, 72 h时检测各组HRPE细胞上清液中SOD, GSH, MDA, TNF- $\alpha$ 与ICAM-1的含量。采用SPSS18.0软件进行统计学分析。结果: 与正常对照组相比, 持续高糖组、波动性高糖组、ALA干预组(ALA<sub>50</sub>, ALA<sub>100</sub>, ALA<sub>200</sub>)、EGb761干预组(EGb761<sub>0.1</sub>, EGb761<sub>0.5</sub>, EGb761<sub>1.0</sub>)的SOD, GSH, MDA, TNF- $\alpha$ 与ICAM-1含量差异有统计学意义(分别为 $F_{SOD}=67.936$ ,  $F_{GSH}=71.363$ ,  $F_{MDA}=81.123$ ,  $F_{TNF-\alpha}=70.684$ ,  $F_{ICAM-1}=80.193$ ; 均 $P<0.05$ ); 渗透压对照组与正常对照组相比各指标差异均无统计学意义( $P>0.05$ ); 波动性高糖组与持续性高糖组相比, SOD活性、GSH含量明显下降, MDA、ICAM-1与TNF- $\alpha$ 的表达量明显升高(均 $P<0.05$ )。ALA干预组(ALA<sub>50</sub>, ALA<sub>100</sub>, ALA<sub>200</sub>)、EGb761干预组(EGb761<sub>0.1</sub>, EGb761<sub>0.5</sub>, EGb761<sub>1.0</sub>)与波动性高糖组相比, 各组有统计学差异, 且随药物剂量增加, SOD活性、GSH含量增加, MDA, ICAM-1与TNF- $\alpha$ 的表达量下降, 存在剂量相关性(均 $P<0.05$ )。结论: ALA, EGb761可能通过降低波动性高血糖对人HRPE所致氧化应激水平, 减轻炎性反应, 对波动性高血糖所导致的病理损伤有一定保护作用。

**[关键词]** 血糖波动;  $\alpha$ -硫辛酸; 银杏叶提取物; 氧化应激; 炎性损伤

收稿日期 (Date of reception): 2017-06-20

通信作者 (Corresponding author): 张云良, Email: zhangyunliangnfm@sina.com

# Effect of alpha lipoic acid and Gingko biloba extract on the damage of human retinal pigment epithelial induced by the intermittent high level of glucose

LI Liqin<sup>1</sup>, ZHANG Yunliang<sup>1</sup>, GUO Shuqin<sup>1</sup>, WANG He<sup>1</sup>, JIN Lili<sup>2</sup>, DONG Yuehua<sup>1</sup>, XIN Huanhuan<sup>1</sup>, LIU Lifang<sup>1</sup>

(1. Department of Endocrinology; 2. Department of Cardiology, First Central Hospital of Baoding, Baoding Hebei 071000, China)

**Abstract** **Objective:** To evaluate the protective effect of alpha lipoic acid (ALA) and Gingko biloba extract (EGb761) on the oxidative stress and inflammatory response induced by the intermittent high level of glucose in human retinal pigment epithelial (HRPE) cells. **Methods:** HRPE cells were randomly divided into different groups and were cultured for continuous 3 days. The ten experimental groups were followed as: the normal glucose group (group N), the sustained high glucose group (group H), the intermittent high glucose group (group F) and the high osmotic pressure group (group P), the intermittent high glucose group with various concentrations of ALA (group ALA<sub>50</sub>, ALA<sub>100</sub>, ALA<sub>200</sub>) and the intermittent high glucose group plus various concentrations of low, medium, and high concentrations of EGb761 groups (group EGb761<sub>0.1</sub>, EGb761<sub>0.5</sub>, EGb761<sub>1.0</sub>). The cells were all cultured for 72 h, then the level of SOD, GSH, MDA, TNF- $\alpha$ , and ICAM-1 were measured. The software SPSS 18.0 was used for statistically analysis. **Results:** Compared with the normal glucose group, the differences in the level of SOD, GSH, MDA, TNF- $\alpha$ , and ICAM-1 in the the sustained high glucose group, the intermittent high glucose group, the ALA-intervention group (group ALA<sub>50</sub>, ALA<sub>100</sub>, ALA<sub>200</sub>) and the EGb761-intervention group (group EGb761<sub>0.1</sub>, EGb761<sub>0.5</sub>, EGb761<sub>1.0</sub>) were all statistically significant ( $F_{SOD}=67.936$ ,  $F_{GSH}=71.363$ ,  $F_{MDA}=81.123$ ,  $F_{TNF-\alpha}=70.684$ ,  $F_{ICAM-1}=80.193$ ; all  $P<0.05$ ), while the difference has no significance between the normal group and the high osmotic pressure group ( $P>0.05$ ). Compared with the sustained high glucose group, SOD and GSH decreased significantly and MDA, ICAM-1 and TNF- $\alpha$  increased significantly in the intermittent high glucose group ( $P<0.05$ ). Compared with the intermittent high glucose group, a notable decrease of ICAM-1, TNF- $\alpha$ , MDA and a dramatic increase in SOD and GSH varied with the concentration of drug in ALA (50, 100, 200  $\mu\text{mol/L}$ ) or EGb761 (0.1, 0.5, 1.0 g/L) group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** ALA and EGb761 alleviate the oxidative stress and inflammatory response by increasing the intermittent high glucose, which may play a potential therapeutic role on the pathological injures induced by the intermittent high glucose.

**Keywords** intermittent high glucose; alpha lipoic acid; Gingko biloba; the oxidative stress; inflammatory response

近年研究<sup>[1]</sup>表明:糖尿病慢性并发症的发生与发展不仅与血糖整体水平升高有关,而且与血糖的波动性也有密切关系,血糖波动性越大,慢性并发症的发生率越高、预后越差。血糖波动对机体靶器官的损伤已成为糖尿病防治领域新的热点。血糖波动通过不同的代谢途径而导致微血管和大血管病变,其中氧化应激损伤和炎性损伤是关键环节<sup>[2]</sup>,寻找安全有效的抗氧化药物及改善炎性损伤的药物,对于提高患者的生活质量有重要意义。视网膜色素上皮细胞(human retinal pigment epithelial, HRPE)作为视网膜的外屏障,转运大

量葡萄糖,为视网膜神经感觉层提供能量,更容易受到血糖波动的影响<sup>[3]</sup>。 $\alpha$ -硫辛酸(alpha lipoic acid, ALA)是作用强大的抗氧化剂,可有效抑制大鼠视网膜VEGF的表达,改善糖尿病大鼠胰岛素抵抗、抑制慢性炎症和氧化应激等<sup>[4-5]</sup>。银杏叶提取物(Gingko biloba, Egb761)是从银杏叶中提取有药用成分的化合物,它主要为黄酮类及银杏内脂等,具有抗氧化、抗凋亡、抗血栓、抗炎等多种功能,可以减缓糖尿病大鼠、高糖细胞模型、糖尿病患者的氧化应激,减少炎性因子的表达,对糖尿病视网膜病变具有保护作用<sup>[6-10]</sup>。本研究

应用不同浓度的ALA, EGb761作用于体外培养人HRPE 72 h, 观察各组HRPE细胞氧化应激水平以及TNF- $\alpha$ , ICAM-1分泌含量的变化, 探讨ALA, EGb761对波动高糖环境下HRPE细胞的保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人HRPE株购于美国ATCC公司; 台式离心机TDL-50B购于上海安亭科学仪器厂; Thermo Forma 3110系列CO<sub>2</sub>培养箱购于北京博奥恒信生物科技有限公司; 胎牛血清, DMEM培养基(低糖型)购于美国HyClone公司, 胰蛋白酶、葡萄糖(血糖)测定试剂盒-氧化酶法购于北京普利莱基因技术有限公司; 甘露醇, 722紫外分光光度计, EGb761购于深圳海王药业有限公司; ALA购于美国Sigma公司; SOD, GSH, MDA测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所; ICAM-1-ELISA检测试剂盒购于美国R&D公司; 人TNF- $\alpha$ -ELISA检测试剂盒购于上海卡努生物科技有限公司; 其他细胞培养相关材料。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

人HRPE复苏后按常规培养。培养于含10%胎牛血清和抗生素的低糖型DMEM(含5.5 mmol/L葡萄糖)培养液中, 0.25%胰蛋白酶消化传代, 取生长良好的对数期细胞用于实验, 以 $2 \times 10^5$ 个/mL接种于24孔培养板, 待细胞生长至70%~80%融合状态, 换无血清的DMEM培养液培养24 h, 使细胞同步于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, 然后换用条件培养液进行培养。

#### 1.2.2 分组

分别在不同条件的DMEM培养基中培养, 实验分为10组, 包括1)5.5 mmol/L葡萄糖对照组(N); 2)33 mmol/L持续高糖组(H组); 3)5.5~33 mmol/L波动葡萄糖组(F组): 先用33 mmol/L糖浓度的培养基培养3 h, 再用5.5 mmol/L糖浓度的培养基培养2 h, 日间重复波动3次, 高糖过夜; 4)33 mmol/L渗透压对照组(P组): 含5.5 mmol/L葡萄糖和27.5 mmol/L的甘露醇培养基培养(总渗透压浓度为33 mmol/L); 5)ALA<sub>50</sub>干预组(ALA<sub>50</sub>组): 先用33 mmol/L糖浓度+50  $\mu$ mol/L ALA的培养基培养3 h, 再用5.5 mmol/L糖浓度+50  $\mu$ mol/L ALA的培养基培养2 h, 日间重复波动3次, 高糖过夜; 6)ALA<sub>100</sub>干预组(ALA<sub>100</sub>组): 先用33 mmol/L糖浓度+100  $\mu$ mol/L ALA的培养基培养3 h, 再用

5.5 mmol/L糖浓度+100  $\mu$ mol/L ALA的培养基培养2 h, 日间重复波动3次, 高糖过夜; 7)ALA<sub>200</sub>干预组(ALA<sub>200</sub>组): 先用33 mmol/L糖浓度+200  $\mu$ mol/L ALA的培养基培养3 h, 再用5.5 mmol/L糖浓度+200  $\mu$ mol/L ALA的培养基培养2 h, 日间重复波动3次, 高糖过夜; 8)EGb761<sub>0.1</sub>干预组(EGb761<sub>0.1</sub>组): 先用33 mmol/L糖浓度+0.1 g/L EGb761的培养基培养3 h, 再用5.5 mmol/L糖浓度+0.1 g/L EGb761的培养基培养2 h, 日间重复波动3次, 高糖过夜; 9)EGb761<sub>0.5</sub>干预组(EGb761<sub>0.5</sub>组): 先用33 mmol/L糖浓度+0.5 g/L EGb761的培养基培养3 h, 再用5.5 mmol/L糖浓度+0.5 g/L EGb761的培养基培养2 h, 日间重复波动3次, 高糖过夜; 10)EGb761<sub>1.0</sub>干预组(EGb761<sub>1.0</sub>组): 先用33 mmol/L糖浓度+1.0 g/L EGb761的培养基培养3 h, 再用5.5 mmol/L糖浓度+1.0 g/L EGb761的培养基培养2 h, 日间重复波动3次, 高糖过夜。各组均同时换液、同时培养, 每组均设4个复孔, 置于37  $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养72 h, 于72 h收集各组细胞上清液用于指标检测。

#### 1.2.3 指标检测

各组细胞分别被干预72 h以后, 收集各组细胞上清液至EP管冻存待检。1)SOD的检测: 采用黄嘌呤氧化酶法(羟胺法)测定SOD活力, 严格按照说明书操作, 于550 nm处, 应用722型分光光度计比色, 计算SOD活力。2)GSH的检测: 二硫代二硝基苯甲酸与巯基化合物反应时能生成一种黄色化合物, 通过比色可进行定量, 于420 nm处, 722型分光光度计测各管吸光度(A)值, 计算上清液中GSH含量。3)MDA的检测: 过氧化脂降解产物中的MDA可与硫代巴比妥酸缩合, 形成红色产物, 在532 nm处, 测定各管吸光度值。4)ICAM-1, TNF- $\alpha$ 含量的测定: 严格按照说明书的方法, 取培养上清, 采用ELISA法检测ICAM-1, TNF- $\alpha$ 的含量。

### 1.3 统计学处理

所有统计过程均采用SPSS 18.00统计分析软件。观测数据主要为计量资料, 以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。组间均数比较采用单因素方差分析。两两比较采用LSD-t法。定 $\alpha=0.05$ 为显著性检验水准, 取双侧P值。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

与正常对照组相比, 持续高糖组、波动性高糖组、ALA干预组(ALA<sub>50</sub>, ALA<sub>100</sub>,

ALA<sub>200</sub>)、EGb761干预组(EGb761<sub>0.1</sub>, EGb761<sub>0.5</sub>, EGb761<sub>1.0</sub>), SOD, MDA, GSH, ICAM-1与TNF- $\alpha$ 的含量差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 但渗透压对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 波动性高糖组与持续性高糖组相比, SOD活性、GSH含量明显下降, MDA, ICAM-1与TNF- $\alpha$ 的表达量明显升高。ALA干预组(ALA<sub>50</sub>, ALA<sub>100</sub>, ALA<sub>200</sub>)与波动性高糖组相比, 各指标表达差异均有统计学意义;

且随ALA剂量增加, SOD活性、GSH含量增加, MDA, ICAM-1与TNF- $\alpha$ 的表达量下降, 存在剂量相关性。EGb761干预组(EGb761<sub>0.1</sub>, EGb761<sub>0.5</sub>, EGb761<sub>1.0</sub>)与波动性高糖组相比, 各指标表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 且随ALA剂量增加, SOD活性、GSH含量逐渐增加, MDA, ICAM-1与TNF- $\alpha$ 的表达量逐渐下降, 存在剂量相关性(表1, 2)。

表1 ALA和EGb761对波动性高糖所致HRPE细胞氧化应激损伤的保护作用

Table 1 Potential therapeutic role of ALA and EGb761 against the intermittent high glucose-induced oxidative stress

组别	SOD/(U·mL <sup>-1</sup> )	GSH/(mg·L <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mL <sup>-1</sup> )
N组	28.56 ± 1.76	142.77 ± 9.44	3.27 ± 0.85
H组	16.64 ± 0.89*	92.11 ± 5.05*	13.91 ± 1.40*
P组	30.28 ± 1.40	140.52 ± 6.03	2.78 ± 0.78*
F组	14.64 ± 0.72* <sup>&amp;</sup>	71.42 ± 7.44* <sup>&amp;</sup>	19.51 ± 0.47* <sup>&amp;</sup>
ALA <sub>50</sub> 组	21.00 ± 1.01* <sup>#</sup>	104.02 ± 5.95* <sup>#</sup>	15.52 ± 2.21* <sup>#</sup>
ALA <sub>100</sub> 组	23.62 ± 0.54* <sup>#†</sup>	119.61 ± 2.96* <sup>#†</sup>	12.48 ± 1.23* <sup>#†</sup>
ALA <sub>200</sub> 组	26.72 ± 0.76* <sup>#‡</sup>	128.90 ± 2.43* <sup>#‡</sup>	6.76 ± 0.77* <sup>#‡</sup>
EGb761 <sub>0.1</sub> 组	19.36 ± 1.61* <sup>#</sup>	97.78 ± 1.93* <sup>#</sup>	15.03 ± 1.72* <sup>#</sup>
EGb761 <sub>0.5</sub> 组	22.19 ± 1.30* <sup>#§</sup>	109.27 ± 3.59* <sup>#§</sup>	11.66 ± 0.99* <sup>#§</sup>
EGb761 <sub>1.0</sub> 组	24.39 ± 1.53* <sup>#§¶</sup>	118.60 ± 2.19* <sup>#§¶</sup>	7.51 ± 1.02* <sup>#§¶</sup>
F	67.936	71.363	81.123
P	<0.05	<0.05	<0.05

与N组比较, \* $P < 0.05$ ; 与H组比较, <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与F组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与ALA<sub>50</sub>组比较, <sup>†</sup> $P < 0.05$ ; 与ALA<sub>100</sub>组比较, <sup>‡</sup> $P < 0.05$ ; 与EGb761<sub>0.1</sub>组比较, <sup>§</sup> $P < 0.05$ ; 与EGb761<sub>0.5</sub>组比较, <sup>¶</sup> $P < 0.05$ 。

Compared with group N, \* $P < 0.05$ ; compared with group H, <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; compared with group F, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; compared with group ALA<sub>50</sub>, <sup>†</sup> $P < 0.05$ ; compared with group ALA<sub>100</sub>, <sup>‡</sup> $P < 0.05$ ; compared with group EGb761<sub>0.1</sub>, <sup>§</sup> $P < 0.05$ ; compared with group EGb761<sub>0.5</sub>, <sup>¶</sup> $P < 0.05$ 。

表2 ALA和EGb761对波动性高糖所致HRPE细胞炎症损伤的保护作用

Table 2 Potential therapeutic role of ALA and EGb761 against the intermittent high glucose-induced inflammatory damage

组别	TNF- $\alpha$ /(pg·mL <sup>-1</sup> )	ICAM-1/(nmol·mL <sup>-1</sup> )
N组	45.32 ± 2.84	2035.70 ± 105.15
H组	69.69 ± 3.45*	2702.91 ± 12.21*
P组	47.49 ± 1.68	2096.94 ± 108.06
F组	84.59 ± 3.37* <sup>&amp;</sup>	2826.01 ± 41.02* <sup>&amp;</sup>
ALA <sub>50</sub> 组	79.64 ± 2.88* <sup>#</sup>	2687.71 ± 11.21* <sup>#</sup>
ALA <sub>100</sub> 组	67.80 ± 3.40* <sup>#†</sup>	2493.42 ± 50.58* <sup>#†</sup>
ALA <sub>200</sub> 组	61.26 ± 2.42* <sup>#‡</sup>	2224.25 ± 53.68* <sup>#‡</sup>
EGb761 <sub>0.1</sub> 组	73.55 ± 3.82* <sup>#</sup>	2578.31 ± 65.77* <sup>#</sup>
EGb761 <sub>0.5</sub> 组	65.15 ± 3.10* <sup>#§</sup>	2379.50 ± 36.61* <sup>#§</sup>
EGb761 <sub>1.0</sub> 组	56.43 ± 3.00* <sup>#§¶</sup>	2268.87 ± 28.91* <sup>#§¶</sup>
F	70.684	80.193
P	<0.05	<0.05

与N组比较, \* $P < 0.05$ ; 与H组比较, <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与F组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与ALA<sub>50</sub>组比较, <sup>†</sup> $P < 0.05$ ; 与ALA<sub>100</sub>组比较, <sup>‡</sup> $P < 0.05$ ; 与EGb761<sub>0.1</sub>组比较, <sup>§</sup> $P < 0.05$ ; 与EGb761<sub>0.5</sub>组比较, <sup>¶</sup> $P < 0.05$ 。

Compared with group N, \* $P < 0.05$ ; compared with group H, <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; compared with group F, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; compared with group ALA<sub>50</sub>, <sup>†</sup> $P < 0.05$ ; compared with group ALA<sub>100</sub>, <sup>‡</sup> $P < 0.05$ ; compared with group EGb761<sub>0.1</sub>, <sup>§</sup> $P < 0.05$ ; compared with group EGb761<sub>0.5</sub>, <sup>¶</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

糖尿病是一种常见、多发的慢性、终身性疾病,患病率逐年增加,严重威胁着人类健康。长期的持续高血糖和血糖控制不稳定会导致各种糖尿病慢性并发症的发生。在稳定的高浓度葡萄糖环境下,细胞存在一定程度的适应能力,形态和功能受损程度相对稳定。而在间断暴露于高浓度葡萄糖环境下,这种适应能力受损,加速细胞形态和功能的破坏。因此在降糖的同时要减少血糖波动,使血糖曲线更符合生理要求,这需要多方面的努力,包括更有效的监测手段,更合理的饮食与锻炼,更符合胰岛素生理分泌模式的药物,更需要在分子生物学基础上对糖尿病及血糖波动危害的相关机制深入研究,以便找到更合理的治疗靶点,以延缓甚至阻断糖尿病慢性并发症的发生。

糖尿病的病因及发病机制尚未完全阐明,氧化应激及炎症学说备受关注。Brownlee<sup>[11]</sup>提出“糖尿病并发症的共同机制”学说,认为高血糖引发的过氧化产物对血管内皮细胞的损伤是糖尿病并发症机制中关键性的第一步,氧化应激可能是糖尿病并发症发生的共同机制。国内外大量研究<sup>[12-14]</sup>已证实:波动性高糖可加重机体氧化应激反应。评估机体内氧化应激水平的高低具有非常重要的临床意义。反映机体氧化应激状态的指标主要包括过氧化的指标和抗氧化的指标。MDA, GSH和SOD都是细胞受自由基攻击和氧化损伤的重要指标。机体受到氧化应激损伤时,过氧化指标MDA增加,抗氧化指标SOD, GSH降低。近年来众多学者<sup>[15-16]</sup>认为糖尿病是一种自然免疫和低度慢性炎症反应性疾病,细胞因子介导的炎症反应,在糖尿病的发病机制中起媒介作用。TNF-α是一种多功能炎症细胞因子,可以参与机体的免疫和炎症反应。它通过细胞膜上的受体发挥作用,参与多种生理及病理过程,其正常水平对机体有利,过量则可作为炎症介质引起炎症损伤和免疫抑制效应,是与增殖期糖尿病视网膜病变密切相关的细胞因子<sup>[17-18]</sup>。ICAM-1,又名CD54,是一种跨膜单链糖蛋白,分布广泛,作为配体与白细胞表面LFA-1结合,而使白细胞在多种内皮细胞和上皮细胞上黏附而参与炎症反应。正常情况下细胞较少表达或不表ICAM-1,而在糖尿病大鼠模型和糖尿病患者视网膜ICAM-1表达上升<sup>[19-20]</sup>。

培养人HRPE,建立葡萄糖浓度波动的模型,通过氧化应激、炎症因子来研究各组对细胞的损伤情况,观察波动性高糖是否比持续性高糖环境

造成更为严重的损伤。本研究结果提示:与正常对照组相比,波动性高糖组与持续性高糖组SOD活性与GSH含量下降,MDA生成增加,TNF-α,和ICAM-1表达量增加,且波动性高糖组上述指标的变化更显著,损伤更明显,血糖波动对HRPE细胞造成更强的氧化应激和更严重的炎性损伤。研究中高渗对照组与正常对照组差异无统计学意义;而与持续高糖组具有相同渗透压,但产生的效果不同,通过设立高渗对照组,排除渗透压的影响。同时,进一步研究发现:对波动性高糖组进行应用ALA干预治疗后,SOD活性与GSH含量可升高,MDA, TNF-α和ICAM-1表达量下降,说明ALA可以一定程度上减缓血糖波动对人HRPE的氧化应激反应及炎性损伤,且具有剂量依赖性。在试验中通过不同浓度EGb761干预治疗后,发现EGb761,可以使SOD活性与GSH增加,MDA, TNF-α, ICAM-1表达量减少,说明EGb761对血糖波动所致氧化应激及炎性反应具有一定的缓解及保护作用,同时保护作用与剂量相关。但是本研究结果提示ALA和EGb761对血糖波动的保护作用是有限的,不管是何种浓度的药物干预,氧化应激及炎症反应各指标均不能上调至正常水平,提示ALA和EGb761只能起到延缓的作用,不能逆转波动高糖对机体造成的损伤。

因此,在临床工作中,应积极应对糖尿病,合理应用降糖药物,使血糖平稳达标,避免血糖反复波动。针对不同患者,从根本上去除血糖波动的可能因素,制定个体化的降糖方案,精细降糖,平稳达标,与此同时,可考虑应用ALA及EGb761,从一定程度上可缓解波动性高糖所致机体氧化应激反应及炎性损伤。

### 参考文献

1. 陈名道. 波动性高血糖与糖尿病并发症[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2006, 26(5): 312-314.  
CHEN Mingdao. Glucose fluctuation and diabetic complications[J]. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 2006, 26(5): 312-314.
2. 魏琼, 孙子林, 金晖, 等. 血糖波动和糖尿病慢性并发症的分子机制研究进展[J]. 中华糖尿病杂志, 2012, 4(9): 560-563.  
WEI Qiong, SUN Zilin, JIN Hui, et al. Molecular mechanism of glucose fluctuations and chronic diabetic complications[J]. Chinese Journal of Diabetes Mellitus, 2012, 4(9): 560-563.
3. Udono T, Takahashi K, Nakayama M, et al. Induction of

- adrenomedullin by hypoxia in cultured retinal pigment epithelial cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42(5): 1080-1086.
4. 胡辅华, 许玉俊, 刘丽林, 等.  $\alpha$ -硫辛酸对糖尿病大鼠视网膜 VEGF 表达的影响及机制[J]. *重庆医学*, 2015, 44(25): 3463-3465.  
HU Fuhua, XU Yujun, LIU Lilin, et al. The effect of  $\alpha$ -lipoic acid on the retinal expression level of VEGF in rats with diabetes mellitus and mechanism[J]. *Chongqing Medicine*, 2015, 44(25): 3463-3465.
  5. 张军霞, 向光大, 孙慧伶, 等.  $\alpha$ -硫辛酸对高糖作用下血管内皮细胞 ICAM-1 表达的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2009, 34(11): 1353-1355.  
ZHANG Junxia, XIANG Guangda, SUN Huiling, et al. Effect of  $\alpha$ -lipoic acid in inhibiting the expression of intercellular adhesion molecule-1 in human umbilical vein endothelial cells under high glucose concentration[J]. *Medical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 2009, 34(11): 1353-1355.
  6. 解正高, 陈放, 庄朝荣, 等. 银杏叶提取物增强大鼠视网膜光损伤模型抗氧化应激能力[J]. *眼科新进展*, 2012, 32(1): 24-26.  
XIE Zhenggao, CHEN Fang, ZHUANG Chaorong, et al. Ginkgo biloba extract (EGb 761) enhancing retinal anti-oxidation capability after light-induced retinal damage in rats[J]. *Recent Advances in Ophthalmology*, 2012, 32(1): 24-26.
  7. 杜倩, 田秋霞, 付莉萍, 等. 银杏叶提取物对糖尿病大鼠视网膜病变的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(7): 1323-1326.  
DU Qian, TIAN Qiuxia, FU Liping, et al. Effect of Ginkgo biloba extract on retinopathy in diabetic rats[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2016, 32(7): 1323-1326.
  8. Lu Q, Yang T, Zhang M, et al. Preventative effects of Ginkgo biloba extract (EGb761) on high glucose-cultured opacity of rat lens[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(5): 767-773.
  9. Tsai HY, Huang PH, Lin FY, et al. Ginkgo biloba extract reduces high-glucose-induced endothelial reactive oxygen species generation and cell adhesion molecule expression by enhancing HO-1 expression via Akt/eNOS and p38 MAP kinase pathways[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 48(4/5): 803-811.
  10. Chen JS, Chen YH, Huang PH, et al. Ginkgo biloba extract reduces high-glucose-induced endothelial adhesion by inhibiting the redox-dependent interleukin-6 pathways[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2012, 11: 49.
  11. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism[J]. *Diabetes*, 2005, 54(6): 1615-1625.
  12. 胡雅国, 张利棕, 邓九零, 等. 氧化应激在血糖波动加速 GK 大鼠糖尿病肾病发病过程中的作用[J]. *中国糖尿病杂志*, 2015, 23(12): 1106-1110.  
HU Yaguo, ZHANG Lizong, DENG Jiuling, et al. Role of oxidative stress in the process of blood glucose fluctuation accelerating the development of diabetic nephropathy in GK rats[J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2015, 23(12): 1106-1110.
  13. La Sala L, Pujadas G, De Nigris V, et al. Oscillating glucose and constant high glucose induce endoglin expression in endothelial cells: the role of oxidative stress[J]. *Acta Diabetol*, 2015, 52(3): 505-512.
  14. Liu TS, Pei YH, Peng YP, et al. Oscillating high glucose enhances oxidative stress and apoptosis in human coronary artery endothelial cells[J]. *J Endocrinol Invest*, 2014, 37(7): 645-651.
  15. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, et al. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 105(2): 141-150.
  16. Davi G, Liani R, Halvorsen B, et al. Abstract 9493: plasma levels of soluble CD36 in type 2 diabetes—a link between platelet activation, inflammation and oxidative stress[J]. *Circulation*, 2011, 124(Suppl 21): A9493.
  17. 孟春梅, 高桦, 张鑫谢, 等. 肿瘤坏死因子在糖尿病大鼠视网膜中的表达[J]. *中国糖尿病杂志*, 2007, 15(7): 399-400.  
MENG Chunmei, GAO Hua, ZHANG Xinxie, et al. The expression of tumor necrosis factor  $\alpha$  in retina of STZ-induced diabetic rat[J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2007, 15(7): 399-400.
  18. 储俐, 王转丽, 李官鸿, 等. 增殖期糖尿病视网膜病变与血清 TNF- $\alpha$  表达的相关性研究[J]. *中医眼耳鼻喉杂志*, 2016, 6(1): 16-17.  
CHU Li, WANG Zhuanli, LI Guanhong, et al. The study about the correlation of proliferative diabetic retinopathy and serum angiogenic factors TNF- $\alpha$  expression[J]. *Journal of Chinese Ophthalmology and Otorhinolaryngology*, 2016, 6(1): 16-17.
  19. 江红, 匡洪宇. 炎症因子与糖尿病视网膜病变[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2007, 27(1): 31-33.  
JIANG Hong, KUANG Hongyu. Inflammatory cytokines and diabetic retinopathy[J]. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2007, 27(1): 31-33.
  20. Nozaki M, Ogura Y, Hirabayashi Y, et al. Enhanced expression of adhesion molecules of the retinal vascular endothelium in spontaneous diabetic rats[J]. *Ophthalmic Res*, 2002, 34(3): 158-164.

本文引用: 李立琴, 张云良, 郭淑芹, 王嵩, 靳丽丽, 董越华, 辛欢欢, 刘莉芳.  $\alpha$ -硫辛酸及银杏叶提取物对波动高糖所致人视网膜色素上皮细胞损伤的作用[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(9): 1797-1802. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.005

Cite this article as: LI Liqin, ZHANG Yunliang, GUO Shuqin, WANG He, JIN Lili, DONG Yuehua, XIN Huanhuan, LIU Lifang. Effect of alpha lipoic acid and Ginkgo biloba extract on the damage of human retinal pigment epithelial induced by the intermittent high level of glucose[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(9): 1797-1802. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.005