

丹参多酚酸盐对早期糖尿病肾病患者炎症细胞因子及肾血管内皮功能的影响

卢伟波, 杨丕坚*, 李舒敏, 吕以培, 黄中莹, 黄虹

(广西壮族自治区钦州市第二人民医院内分泌科, 广西 钦州 535000)

[摘要] **目的:**探讨早期糖尿病肾病(DN)患者炎症细胞因子、肾血管内皮功能的变化及丹参多酚酸盐干预治疗作用。**方法:**选择早期DN患者64例,分为常规治疗组、丹参多酚酸盐治疗组,健康对照组30例,检测DN患者治疗前后及健康受检者外周血清白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、超敏C-反应蛋白(hs-CRP)、血清可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)、内皮素-1(ET-1)水平,同时利用超声检测肱动脉血流介导的内皮依赖性血管舒张功能(FMD)。**结果:**早期DN患者组hs-CRP, TNF- α , IL-6, ICAM-1及ET-1均高于对照组($P < 0.05$);早期DN患者FMD较对照组降低($P < 0.05$);丹参多酚酸盐组治疗后外周血hs-CRP, sICAM-1, ET-1, TNF- α , IL-6[hs-CRP(9.24 ± 2.16) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, sICAM-1(257.72 ± 16.32) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, ET-1(103.78 ± 12.21) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, TNF- α (14.62 ± 7.23) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, IL-6(16.12 ± 5.68) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$]较常规治疗组[(14.58 ± 3.32) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, (567.43 ± 16.24) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, (258.5 ± 9.78) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, (36.72 ± 6.23) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, (34.62 ± 7.01) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$]下降更明显, FMD升高更明显[(10.12 ± 3.27)% vs (7.17 ± 0.32)%],且差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**丹参多酚酸盐能有效的降低早期DN患者炎症反应,并改善肾血管内皮功能。

[关键词] 糖尿病肾病; 内皮功能障碍; 炎症; 丹参多酚酸盐

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0184-04

[doi] 10.11653/syjf2014020184

Effect of Salvianolate on Inflammatory Cytokines and Renal Vascular Endothelial Function in Early Diabetic Nephropathy

LU Wei-bo, YANG Pi-jian*, LI Shu-min, LV Yi-pei, HUANG Zhong-ying, HUANG Hong

(Department of Endocrinology, the Second People's Hospital of Qinzhou, Qinzhou 535000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the changes of inflammatory cytokines, renal vascular endothelial function in early diabetic nephropathy and the effect of salvianolate on intervention. **Method:** Sixty-four patients with early diabetic nephropathy were selected and randomly divided into 2 groups (routine group and salvianolate group). routine group was treated with insulin; the salvianolate group was treated with $200 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ salvianolate combined with insulin. 30 healthy as control group. The endothelium-dependent flow-mediated dilatation (FMD) of brachial artery was determined with ultrasound, and the levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), endothelin-1 (ET-1), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF- α) and High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) were measured respectively before and after treatment. **Result:** All patients with early diabetic nephropathy showed that the hs-CRP, TNF- α , IL-6, ICAM-1 and ET-1 was higher than that of the controlled group ($P < 0.05$), the FMD were lower than controlled group ($P < 0.05$). After treatment the hs-CRP, TNF- α , IL-6, ICAM-1 and ET-1 in the salvianolate group [hs-CRP (9.24 ± 2.16) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, sICAM-1

[收稿日期] 20130310(008)

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0816004-26)

[第一作者] 卢伟波, 主治医师, 从事2型糖尿病慢性并发症的发病机制及治疗研究, Tel:13788276754, E-mail: lwb9751@163.com

[通讯作者] * 杨丕坚, 硕士, 主治医师, 从事2型糖尿病慢性并发症的发病机制及治疗研究, Tel:13471717133, E-mail: ypj0106@yahoo.com.cn

(257.72 ± 16.32) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, ET-1 (103.78 ± 12.21) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, TNF- α (14.62 ± 7.23) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, IL-6 (16.12 ± 5.68) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$] was decreased more significantly than routine group [(14.58 ± 3.32) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, (567.43 ± 16.24) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, (258.5 ± 9.78) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, (36.72 ± 6.23) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, (34.62 ± 7.01) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$] ($P < 0.05$). After treatment the FMD in the salvianolate group was increased more significantly than routine group [(10.12 ± 3.27)% vs (7.17 ± 0.32)%] ($P < 0.05$). **Conclusion:** The salvianolate can effectively reduce the body's inflammation recovery and recovery renal vascular endothelial function with early diabetic nephropathy.

[**Key words**] diabetic nephropathies; endothelial dysfunction; inflammation; salvianolate

糖尿病肾病(DN)是糖尿病(DM)的微血管并发症之一,亦是终末期肾病最常见的单一病因。近年来的研究表明慢性的血管内皮炎症是糖尿病慢性并发症发生的一个重要因素,而慢性的血管内皮炎症所致的血管内皮功能障碍是糖尿病肾病发病环节之一^[1-2]。中成药对炎症及血管内皮功能独特的调节作用^[3],丹参多酚酸盐为丹参的提取物,其主要成分为丹参乙酸镁。丹参多酚酸盐具有改善微循环灌注,增加微血管血流速度、抗凝和抗氧化的作用^[4]。本次研究着重观察早期糖尿病肾病患者炎症细胞因子、肾血管内皮功能的变化及丹参多酚酸盐干预治疗,旨在探讨丹参多酚酸盐对早期糖尿病肾病患者肾血管内皮功能的保护作用及其可能的机制。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2011-2012年在本院住院的2型糖尿病肾病患者64例,均符合1999年WHO糖尿病标准。纳入标准:尿微量白蛋白排泄量(urinary albumin excretion rate, UAER)为20~200 $\mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$ 或24尿白蛋白总量为30~300 mg;排除标准:脑卒中、肝病、全身或尿路感染、血尿、血液系统疾病、周围血管疾病、其他原因引起的肾病与肾炎以及非DN引起的高血压等。随机数字法将患者分为常规治疗组[31例,男16例,女15例,年龄(54.70 ± 10.26)岁]和丹参多酚酸盐治疗组[33例,男16例,女17例,年龄(56.16 ± 9.09)岁]。另选取同期在我院门诊体检的健康者30例作为健康对照组[男15例,女15例,年龄(52.30 ± 10.72)岁],3组性别、年龄差异无统计学意义。观察前近2周末应用胰岛素增敏剂、调脂药、血管紧张素转化酶抑制剂及内皮功能保护剂等。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 DN患者两组均给予胰岛素治疗使血糖控制达标后纳入实验,同时丹参多酚酸盐组在胰岛素治疗的基础上给予注射用丹参多酚酸盐

(上海绿谷制药有限公司生产)静脉滴注,200 mg/次,1次/d,连用14 d为1个疗程;常规治疗组仅使用胰岛素治疗。

1.2.2 血标本采集及测定 所有患者采集治疗前后空腹静脉血标本,由本院生化实验室用Olympus 400全自动生化仪测定空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、甘油三脂(TG);免疫透射比浊法测定超敏C-反应蛋白(hs-CRP)水平;可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)、内皮素-1(ET-1)、血清白介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)的检测采用酶联免疫吸附法检测,实验步骤按照产品说明书进行。

1.2.3 动脉血流介导的内皮依赖性舒张(flow mediated Vasodilation, FMD)功能的检测 参照向光大等^[5]所用的方法测定FMD。应用美国GE公司LOGIQ-500彩色超声和7.0线阵探头,探测深度4 cm,同步记录心电图。每次分别测3个心动周期取其平均值。受试者测试前休息15 min,在测定基础值(D_0)后进行反应性充血试验,将血压袖带置于肘下充气加压300 mmHg,4~5 min后迅速将袖带放气减压,放气后90 s内测肱动脉内径(D_1)。FMD的变化用百分比表示, $\text{FMD} = (D_1 - D_0) / D_0 \times 100\%$ 。当FMD < 10%时定义为内皮损害。

1.3 统计学方法 采用SPSS 15.0统计软件处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DN患者治疗前与对照组各项指标的比较 DN患者治疗前的FBG, TC, TG, hs-CRP, sICAM-1, IL-6, TNF- α 及 ET-1 均高于对照组, FMD 较对照组降低($P < 0.05$)。见表1。

2.2 DN患者常规治疗组与丹参多酚酸盐治疗组治疗前后各项指标的比较 DN患者常规治疗组治疗前与丹参多酚酸盐治疗组治疗前的FBG, TC, TG,

hs-CRP, sICAM-1, IL-6, TNF- α , ET-1 及 FMD 差异无统计学意义,丹参多酚酸盐治疗组治疗后 hs-CRP, sICAM-1, IL-6, TNF- α , ET-1 较治疗前下降, FMD 较

治疗前升高 ($P < 0.05$),同时 sICAM-1, IL-6、TNF- α , ET-1, hs-CRP 较常规治疗组下降更明显, FMD 升高更明显 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 1 DN 患者治疗前与对照组各项指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FBG/mm \cdot L ⁻¹	TC/mm \cdot L ⁻¹	TG/mm \cdot L ⁻¹	TNF- α /ng \cdot L ⁻¹	IL-6/ng \cdot L ⁻¹
DN	64	7.16 \pm 3.65 ¹⁾	6.68 \pm 1.30 ¹⁾	2.76 \pm 0.16 ¹⁾	40.92 \pm 8.40 ¹⁾	38.87 \pm 3.89 ¹⁾
健康对照	30	5.13 \pm 2.42	3.76 \pm 1.21	1.32 \pm 0.15	8.14 \pm 3.78	9.83 \pm 2.56

组别	n	hs-CRP/mg \cdot L ⁻¹	sICAM-1/ μ g \cdot L ⁻¹	ET-1/ng \cdot L ⁻¹	FMD/%
DN	64	18.72 \pm 5.12 ¹⁾	595.41 \pm 22.49 ¹⁾	276.67 \pm 10.23 ¹⁾	6.73 \pm 1.10 ¹⁾
健康对照	30	6.65 \pm 3.22	132.27 \pm 12.32	53.86 \pm 8.91	13.75 \pm 3.32

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 DN 患者常规治疗组与丹参多酚酸盐治疗组治疗前后参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	FBG/mm \cdot L ⁻¹	TC/mm \cdot L ⁻¹	TG/mm \cdot L ⁻¹	TNF- α /ng \cdot L ⁻¹	IL-6/ng \cdot L ⁻¹
丹参多酚酸盐治疗 (n = 33)	治疗前	6.92 \pm 2.46	7.09 \pm 1.68	2.58 \pm 0.52	39.12 \pm 7.43	40.82 \pm 4.86
	治疗后	7.24 \pm 2.10	6.62 \pm 1.42	2.32 \pm 0.24	14.62 \pm 7.23 ^{1,2)}	16.12 \pm 5.68 ^{1,2)}
常规治疗 (n = 31)	治疗前	7.28 \pm 3.19	6.79 \pm 2.21	2.79 \pm 0.26	41.64 \pm 8.32	36.78 \pm 5.79
	治疗后	7.09 \pm 1.87	6.01 \pm 2.16	2.65 \pm 0.37	36.72 \pm 6.23	34.62 \pm 7.01

组别	时间	hs-CRP/mg \cdot L ⁻¹	sICAM-1/ μ g \cdot L ⁻¹	ET-1/ng \cdot L ⁻¹	FMD/%
丹参多酚酸盐治疗 (n = 33)	治疗前	19.30 \pm 6.70	580.63 \pm 18.46	288.67 \pm 14.75	6.53 \pm 0.74
	治疗后	9.24 \pm 2.16 ^{1,2)}	257.72 \pm 16.32 ^{1,2)}	103.78 \pm 12.21 ^{1,2)}	10.12 \pm 3.27 ^{1,2)}
常规治疗 (n = 31)	治疗前	17.72 \pm 4.89	614.83 \pm 20.12	269.19 \pm 13.60	6.98 \pm 1.20
	治疗后	14.58 \pm 3.32	567.43 \pm 16.24	258.5 \pm 9.78	7.17 \pm 0.32

注:与同组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$;与常规组治疗后比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

糖尿病肾病是一种进展的疾病,一旦出现明显的蛋白尿,将不可避免地进展为终末期肾病。其发病的确切机制尚未完全明确,目前认为是多因素共同参与、相互作用的结果。许多实验和临床资料均发现糖尿病肾病患者存在炎症细胞浸润以及细胞因子和炎症介质水平升高,提示慢性持续性炎症反应是糖尿病肾病持续发展的关键因素^[6]。以往认为糖尿病微血管病变和大血管病变是完全不同的疾病过程,但最近研究发现糖尿病微血管病变和动脉粥样硬化终点事件相关,动脉粥样硬化的启动可能早于糖尿病微血管病变的发生,而炎症贯穿两者的发生、发展^[7-8]。本研究显示,早期糖尿病肾病患者的血清 IL-6, TNF- α , sICAM-1 的水平明显高于正常人。IL-6 是一种前炎性细胞因子,血液中的血管壁内皮细胞分泌 IL-6,其在动脉粥样硬化的发生发展具有重要作用^[9]。IL-6 可通过多条途径诱导巨噬细胞等产生 TNF- α ,而 TNF- α 升高水平可以判断 DN 进展程度,同时 TNF- α 水平升高可促进的血管内皮细胞表达大量淋巴细胞功能相关抗原配体 ICAM-1,可

增强 T 淋巴细胞和内皮细胞间形成强大的黏附力,加速内皮细胞的炎症损伤^[10-12],血清中 sICAM-1 水平和细胞表面的 ICAM-1 分子数量呈正比^[13],测定血清 sICAM-1 水平可间接反应内皮细胞表面 ICAM-1 的表达量,从而反映出炎症的程度。而内皮细胞的损伤是 ET-1 增高的重要机制之一,血浆中 ET-1 水平增高反映出血管内皮损伤或功能失调^[14],本研究亦表明 DN 患者血清 ET-1 水平明显升高, FMD 值明显下降。以上均表明炎症机制是糖尿病肾病发生、发展的关键因素。

实验证明活血化瘀中药单味药和复方能通过调节血脂代谢、抑制血管平滑肌增生和迁移、抗氧化、保护血管内皮细胞等多个环节减轻动脉粥样硬化病变^[15-16]。丹参作为活血化瘀类的代表药一直是研究的热点,丹参多酚酸盐是丹参的主要活性成分,是其的水溶性有效部位,其可通过促进钾通道开放,抑制内皮细胞参与的炎症反应,促进血管内皮细胞迁移,抑制醛糖还原酶活性,减轻钙超载等对缺血再灌注损伤组织发挥保护作用^[17]。本研究结果显示丹参多酚酸盐能使 DN 患者外周血清 IL-6, TNF-

α , sICAM-1 及 ET-1 水平明显下降(与常规治疗组比较 $P < 0.05$),同时 FMD 改善,提示,丹参多酚酸盐可能通过早期抑制 IL-6, TNF- α 分泌,减少 sICAM-1 表达,进而抑制内皮炎症反应,减轻内皮细胞的损伤,从而起到改善内皮功能的作用。

综上所述,IL-6, TNF- α , sICAM-1 等多功能炎症细胞因子可能协同参与了 DN 的发生发展。丹参多酚酸盐改善 DN 患者肾血管内皮功能的作用可能与其抑制上述细胞因子的产生相关,为临床治疗 DN 提供出新的理论依据。

[参考文献]

- [1] Schram M T, Chaturvedi N, Schalkwijk C, et al. Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes; the EURODIAB prospective complications study[J]. *Diabetes Care*,2003,26:2165.
- [2] Goligorsky M S, Chen J, Brodsky S. Workshop; endothelial cell dysfunction leading to diabetic nephropathy; focus on nitric oxide [J]. *Hypertension*, 2001,37(2):744.
- [3] 夏成霞,陆曙. 中药改善高血压病血管内皮功能的研究进展[J]. *中国中西医结合杂志*,2008,28(4):378.
- [4] 熊涛,吴兴军,王逸平. 丹参多酚酸盐抑制低密度脂蛋白氧化修饰[J]. *中药药理与临床*,2004,20(4):7.
- [5] Guangda X, Linshuang Z, Jie H, et al. Apo e4 allele is associated with endothelium-dependent arterial dilation in women with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Res Clin Prac*,2006,72(2):155.
- [6] 张馨,陆付耳. 抗炎与免疫调节在糖尿病肾病治疗中的地位[J]. *中国中西医结合杂志*,2010,30(6):649.
- [7] Juutilainen A, Lehto S, Rnnemaa T, et al. Retinopathy predicts cardiovascular mortality in type 2 diabetic men and women[J]. *Diabetes Care*,2007,30(2):292.
- [8] van Hecke M V, Dekker J M, Stehouwer C D, et al. Diabetic retinopathy is associated with mortality and cardiovascular disease incidence; the EURODIAB prospective complications study [J]. *Diabetes Care*, 2005,28(6):1383.
- [9] Serruys P W, Lemos P A, van Hout B A. Sirolimus eluting stent implantation for patients with multivessel disease; rationale for the arterial revascularisation therapies study part II (ARTS II) [J]. *Heart*,2004,90(9):995.
- [10] 李敏州,高彦彬,马鸣飞,等. 糖尿病肾病发病机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2012,18(22):344.
- [11] Moon M R, Sundt T M, Pasque M K, et al. Influence of internal mammary artery grafting and completeness of revascularization on long-term outcome in octogenarians [J]. *Ann Thorac Surg*,2001,72(6):2003.
- [12] 刘强,邓华聪,冯正平,等. 高糖状态下内脂素对血管内皮细胞单核细胞趋化蛋白 1 及细胞间黏附分子 1 表达的影响[J]. *解放军医学杂志*,2010,35(4):402.
- [13] Leeuwenberg J F, Smeets E F, Neeffjes J J, et al. E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells *in vitro* [J]. *Immunology*,1992,77(4):543.
- [14] 杨丕坚,吕以培,李舒敏,等. 不同时期糖尿病肾病患者血浆 ET-1 和 CGRP 含量变化及其临床意义[J]. *重庆医学*,2011,40(5):462.
- [15] 王伟,杨滨,王岚,等. 丹参-山楂协同抗大鼠动脉粥样硬化的实验研究[J]. *中国实验方剂学杂志*,2012,18(19):212.
- [16] 张建永,晏仁义,王岚,等. 丹参山楂有效组分配伍抗动脉粥样硬化的实验研究[J]. *中国中药杂志*,2013,38(12):1987.
- [17] Mariani G, De Servi S, Dellavalle A, et al. Complete or incomplete percutaneous coronary revascularization in patients with unstable angina in stent era; Are early and one-year results different? [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*,2001,54(4):448.

[责任编辑 邹晓翠]