

糖尿病肾病血浆 ET 和 CGRP 水平的变化及氯沙坦的干预作用

陈水华

摘要 目的 探讨糖尿病肾病(DN)与血浆内皮素(ET)、降钙素基因相关肽水平(CGRP)的相关性,以及氯沙坦干预治疗对早期 DN 的作用。**方法** 采用放射免疫法检测了 30 名正常对照患者和 60 名 DN 患者服用氯沙坦前后血浆 ET 和 CGRP 水平。**结果** DN 患者 MA 组和 ODN 组 ET 和 UAER 水平明显高于对照组,随着病情加重有进一步升高,而 CGRP 则相反;与治疗前比较,常规剂量氯沙坦治疗后血浆 ET 和 UAER 水平均下降,CGRP 升高;大剂量氯沙坦治疗后效果更显著;ET、CGRP 与 UAER 均呈强相关($r=0.548$, $r=-0.631$, P 均 <0.01),CGRP 与 ET 呈显著负相关($r=-0.679$, $P<0.01$)。**结论** 血浆 ET、CGRP 与 DN 关系密切,并参与了 DN 的发生和发展,早期大剂量氯沙坦能更有效地改善肾脏功能,且呈剂量依赖性。

关键词 糖尿病肾病 内皮素 降钙素基因相关肽 氯沙坦

The Change of Plasma ET and CGRP Level in Patients with Diabetic Nephropathy Syndrome and the Effect of Intervention with Losartan.

Chen Shuihua. The Central Hospital of Nanhui District, Zhejiang 314000, China

Abstract Objective To explore the correlation between plasma ET, CGRP and diabetic nephropathy(DN), and study the effect of treatment with Losartan in early DN patients. **Methods** Plasma levels of ET and ICGRP were measured with RIA in 60 cases of patients with DN, and 30 healthy subjects as controls. **Results** The levels of ET and UAER of patients with DN in MA group and ODN group were higher than those in control group respectively, and further increased when patient's condition exacerbated, while the levels of CGRP was in contrast. Compared to pretherapy, the levels of plasma ET and UAER were all lower after treatment with routine dosage Losartan, while plasma CGRP was increased. The effect was more significant when using large dosage Losartan. The plasma levels of ET and CGRP had significant correlation with UAER($r=0.548$, $r=-0.631$; all $P<0.01$), and the level of CGRP had significant negative correlation with ET($r=-0.679$, $P<0.01$). **Conclusion** Plasma ET and CGRP have close correlation with DN, and may be involved in the occurrence and development of DN. Large dosage Losartan in earlier period can be more effective to improve kidney function. The curative effect is correlated with the dosage.

Key words Diabetic nephropathy; ET; CGRP; Losartan

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是由于糖尿病(DM)所导致的肾脏损害,是造成终末期肾病(ESRD)的最常见原因之一,也是糖尿病(DM)的常见和严重的微血管并发症和主要死亡原因。目前认为多生长因子及细胞因子被激活则是肾脏病变形成的直接机制,内皮素(endothelin, ET)是目前公认的重要促生长因子,具有很强的收缩血管及促进血管平滑肌细胞增生、肾小球内皮细胞和系膜细胞增生、ECM 积聚等作用,进而促进肾小球硬化及肾损害^[1]。降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)是存在于感觉神经末梢的是一种生物活性神经多肽,是迄今所知体内最强的舒血管多肽。肾脏是

CGRP 的主要靶器官,肾血管床中存在丰富的 CGRP 受体,CGRP 通过与肾脏 CGRP 受体结合而产生强大的扩张肾血管作用,CGRP 具有拮抗 ET 生物效应的作用,CGRP 对肾脏有重要的保护及调节作用^[2]。本研究通过检测 DN 患者氯沙坦治疗前后血 ET 和 CGRP 的浓度变化,早期发现糖尿病性肾损害,旨在探讨它们在肾脏病变的可逆期中的发病机制,对 DN 的预防,并阻止其进展具有重要意义。

材料与方法

1. 对象:2009 年 6 月~2010 年 6 月入住笔者医院的 DN 患者 60 例,其中男性 26 例,女性 34 例,平均年龄 51.4 ± 16.1 岁,根据 Mogensen 糖尿病肾病诊断标准及糖尿病肾病分期^[3]:微量清蛋白尿组 32 例(MA, $20 \leq \text{UAER} \leq 200$),其中男性 14 例,女性 18 例,平均年龄 50.7 ± 16.4 岁;临床蛋白尿组 28 例(ODN, $\text{UAER} > 200$),其中男性 12 例,女性 16 例,平均年

龄 52.3 ± 15.6 岁。60 例 DN 患者按照入院顺序随机分为两组各 30 例:常规治疗的基础上加用常规剂量氯沙坦 50mg/d (A 组)或大剂量氯沙坦 100mg/d (B 组),治疗 1 个月后分别检相关指标变化;正常对照组 30 例,均为正常健康人,男性 32 人,女性 18 人,平均年龄 49.3 ± 11.2 岁,排除妊娠、肿瘤、外伤、感染、风湿性疾病、心脏病、肝病及原发性肾脏疾病引起的肾脏损害者。

2. 氯沙坦治疗方法:两组均采用控制饮食和运动疗法,口服降糖药或皮下注射胰岛素,予以优质低蛋白饮食,使其空腹血糖 (FPG) 控制在 $6.0 \sim 7.0\text{mmol/L}$,餐后 2h 血糖控制在 7.8mmol/L ,糖化血红蛋白 (HbA1c) 控制在 $<7.0\%$;同时口服降压药物等,使血糖、血压控制较满意。以上指标稳定 1 个月后进入实验阶段, A 组给予氯沙坦 50mg/d , B 组给予氯沙坦 100mg/d ,晚饭后 2h 顿服,3 个月为一疗程。

3. 检测方法:所有研究对象均晨起空腹静脉取外周血 5ml ,别注入含 10% EDTA 二钠 $30\mu\text{l}$ 和抑肽酶 $40\mu\text{l}$ 的试管中,摇匀静置 30min , 3000r/min 离心 5min ,分别取血浆 -40°C 保存。采用 ELISA 测定血浆中 ET 和 CGRP 水平,试剂盒由解放军总医院北京东亚免疫技术研究所提供提供,严格按照说明书进行操作。患者于取血前 1 天收集 24h 尿液混匀,留取 10ml 尿液分装检测尿清蛋白计算尿蛋白排泄率 (UAER)。

4. 统计学分析:采用的 SPSS 16.0 软件分析,数据采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。组间比较采用完全随即设计的 t 检验,相关分析用 *Pearson* 相关分析。

结 果

1. DN 不同亚组和对照组 ET、CGRP 和 UAER 水平的变化:糖尿病肾病 MA 组 ET 和 UAER 水平明显

高于对照组 ($t = 2.310, 5.752, P$ 均 < 0.05),随着病情加重有进一步升高,ODN 组 ET 和 UAER 水平明显高于 MA 组 ($t = 2.095, 4.340, P$ 均 < 0.05);而糖尿病肾病 MA 组 CGRP 水平则显著低于对照组 ($t = -2.432, P < 0.05$),随着病情加重有进一步下降,ODN 组 CGRP 水平明显低于 MA 组 ($t = -2.284, P < 0.05$),见表 1。

表 1 DN 不同亚组和对照组 ET、CGRP 和 UAER 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ET (pg/ml)	CGRP (pg/ml)	UAER ($\mu\text{g/min}$)
正常对照组	30	43.21 ± 8.74	39.38 ± 7.50	6.38 ± 1.26
MA 组	32	$73.43 \pm 16.11^\bullet$	$23.21 \pm 5.74^\bullet$	$132.25 \pm 30.42^\bullet$
ODN 组	28	$114.83 \pm 23.26^\Delta$	$12.59 \pm 2.94^\Delta$	$471.05 \pm 109.66^\Delta$

与正常对照组比较, $^\bullet P < 0.05$; 与 MA 组比较, $^\Delta P < 0.05$

2. ACS 患者氯沙坦治疗前后 ET、CGRP 和 UAER 水平的比较:常规剂量氯沙坦 (A 组) 治疗后 ET 和 UAER 水平较治疗前下降 ($t = -2.100, t = -3.232, P$ 均 < 0.05),CGRP 水平较治疗前升高 ($t = 2.095, P < 0.05$);大剂量氯沙坦 (B 组) 治疗后 ET 和 UAER 水平较治疗前显著下降 ($t = -4.005, t = -5.448, P$ 均 < 0.01),CGRP 水平较治疗前显著升高 ($t = 4.062, P < 0.01$);B 组治疗后与 A 组比较,ET、CGRP 和 UAER 差异均有统计学意义 ($t = -2.431, t = 2.134, t = -2.393, P$ 均 < 0.05),见表 2。

表 2 ACS 患者氯沙坦治疗前后 ET、CGRP 和 UAER 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ET (pg/ml)	CGRP (pg/ml)	UAER ($\mu\text{g/min}$)
A 组 治疗前	30	95.43 ± 14.27	18.21 ± 4.65	312.25 ± 65.36
治疗后	30	$68.88 \pm 10.79^\bullet$	$28.73 \pm 5.37^\bullet$	$126.52 \pm 48.29^\bullet$
B 组 治疗前	30	93.82 ± 14.78	17.78 ± 4.50	284.33 ± 61.68
治疗后	30	$45.48 \pm 8.32^{\bullet\bullet\Delta}$	$40.46 \pm 5.62^{\bullet\bullet\Delta}$	$43.46 \pm 8.77^{\bullet\bullet\Delta}$

与治疗前比较, $^\bullet P < 0.05$, $^{\bullet\bullet} P < 0.01$; 与 A 组治疗后比较, $^\Delta P < 0.05$

3. ET、CGRP 和 UAER 相关性分析:ET、CGRP 与 UAER 均呈强相关 ($r = 0.548, r = -0.631, P$ 均 < 0.01),CGRP 与 ET 呈显著负相关 ($r = -0.679, P < 0.01$)。

讨 论

近年来糖尿病,特别是 2 型糖尿病的发病率呈逐步上升趋势,正以每年近 3% 的速度增加,已成为人类健康的巨大威胁。而糖尿病肾病 (DN) 是其最常见的慢性微血管病变并发症之一,累及率约为 $30\% \sim$

35% 。一旦肾脏累及出现持续性蛋白尿,则肾脏病变往往不可逆转,最终在短时间内进入终末期肾衰竭 (ESRD),已成为糖尿病患者的主要死亡原因之一。因此,早期防治糖尿病肾病发生、发展是目前热切关注的课题。目前其发病机制尚未完全阐明,认为其是肾脏血流动力学与非血流动力学两大因素综合作用的结果,其中血管活性肽通过对肾脏血流动力学的影响显著,与 DN 发生与发展密切相关,被人们所关注。ET 是由 21 个氨基酸组成酸性多肽家族,包括至少 4

个家族成员:ET-1、ET-2、ET-3 和 ET-4。ET 主要由内皮细胞产生,是血管内皮损伤的标志,也是迄今作用最强大、持续时间最长的血管收缩肽^[4]。

CGRP 是一种由 37 个氨基酸组成的活性多肽,是降钙素基因不同剪切的产物,是体内最强的舒血管物质,具有最强的非肾上腺素能、非胆碱能血管舒张作用,从而拮抗内皮素的生物学作用^[5]。CGRP 还具有细胞保护作用,是内源性防止血管损伤的保护因子,抑制血管平滑肌细胞增殖,对糖尿病的糖代谢紊乱产生一定影响^[6]。肾脏是 CGRP 与 ET 的靶器官之一,两者的动态平衡维持着肾脏血流动力学的稳定和血压恒定。其动态变化参与了糖尿病肾脏血流动力学改变,在糖尿病肾病的发生、发展中起重要作用。氯沙坦的商品名为科素亚,是血管紧张素 II 受体拮抗剂,拮抗血管紧张素 II 的生理作用。血管紧张素 II 受体拮抗剂(ARB)类药物能够阻断所有由血管紧张素受体 I(ATI)介导的血管紧张素 II 的作用,其对 ATI 选择性拮抗作用导致了血浆肾素和血管紧张素 II 水平的升高和血浆醛固酮水平的降低,从而增加肾血流量达到保护肾脏的目的^[7]。本研究通过血管紧张素 II 受体拮抗剂药物氯沙坦的干预实验,进一步研究 CGRP 与 ET 在糖尿病肾病发生发展中的作用。

本研究结果表明,糖尿病肾病 MA 组和 ODN 组 ET 和 UAER 水平明显高于对照组,随着病情加重进一步升高;而 CGRP 水平则显著低于对照组,随着病情加重有进一步下降,与李鲁生等^[8]研究结果相一致。其可能的机制:糖尿病肾病时,由于高糖直接或间接导致血管内皮细胞损伤,引起 CGRP 降低,其内源性保护作用减弱,而内皮细胞合成和释放大量的 ET,进一步减弱了 CGRP 的生物学效应,使血管损伤进一步加重。随着糖尿病肾病的进展,UAER 升高致尿蛋白增多,肾功能损害逐渐加重,BUN、Cr 和 TGF- β 升高引起代谢性酸中毒,加重了组织缺血缺氧,CGRP 进行性下降,ET 进行性升高,最终导致肾血流量减少,肾小球滤过率及肾小球功能进一步受损,从而破坏了肾脏内环境的相对平衡状态,CGRP 与 ET 的失衡及彼此制衡功能亦不复存在,并最终导致肾衰竭^[2]。本研究对 DN 患者早期应用不同剂量氯沙坦治疗 3 个月后,50mg/d 常规剂量氯沙坦(A 组)治疗后 ET 和 UAER 水平较治疗前下降,CGRP 水平较治疗前升高;100mg/d 大剂量氯沙坦(B 组)治疗后 ET 和 UAER 水平较治疗前显著下降,CGRP 水平

较治疗前显著升高;B 组治疗后与 A 组比较,ET、CGRP 和 UAER 差异也均有统计学意义。提示通过氯沙坦治疗后,能有效地减少早期糖尿病患者的 UAER,明显降低血浆 ET 水平,提高 CGRP 水平,改善血管内皮功能,保护肾脏,而且作用强度呈剂量依赖性。氯沙坦是一种高选择性的血管紧张素 II 受体拮抗剂类药物,其机制可能是通过从受体水平阻断血管紧张素 II 的作用,使血管阻力降低,优势性地扩张肾小球出球小动脉、降低肾小球毛细血管的内压,改善肾小球基膜的滤过屏障功能而达到部分保护肾功能的作用^[9]。相关性分析结果表明,血浆 CGRP 与 ET、UAER 之间呈显著负相关关系,ET 与 UAER 均呈显著正相关。可见,CGRP 和 ET 参与了尿清蛋白的形成,其发生机制可能是糖尿病患者由于长期高血糖致血管基膜增厚,微血栓、微血管瘤形成,导致血管张力降低,引起 ET 水平升高 CGRP 水平降低,从而导致了肾功能损害^[8]。

总之,本研究通过对体内最强收缩和舒张血管的活性多肽 ET 和 CGRP 的研究,对 DN 患者采取不同剂量氯沙坦治疗,均能减少 ET,升高 CGRP,提示 CGRP 和 ET 的失衡对糖尿病肾病的发生、发展起重要作用,且治疗效果呈剂量依赖性,更能延缓及减轻 DN 的发生和发展。

参考文献

- 夏成云,周京圆,谢建平.茶色素对早期糖尿病肾病患者尿内皮素排泄的影响及其意义[J].中国医师杂志,2002,4(2):156-158
- 胡雪剑,倪安民,任建功,等.降钙素基因相关肽、内皮素与 2 型糖尿病肾病的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2009,30(6):555-558
- 黄珍萍,贺汉昌.糖尿病患者血浆降钙素基因相关肽、内皮素水平及临床意义[J].广西医学,2001,23(2):228-230
- 徐尔理,李岚,魏巍,等.2 型糖尿病肾病患者血浆内皮素及降钙素基因相关肽的变化[J].实用诊断与治疗杂志,2006,20(6):396-400
- 何伟,李英.降钙素基因相关肽和内皮素与糖尿病肾病的关系[J].中华糖尿病杂志,2005,13(1):74-76
- Coleman TP, Tran Q, Roesser JR. Binding of a candidate splice regulator to a calcitonin-specific splice enhancer regulates calcitonin/CGRP pre-mRNA splicing. BiolBiophy Acta, 2003, 1625(2): 153-164
- 杨洪霞,王书圣,朱洁.厄贝沙坦对老年早期糖尿病肾病的干预作用[J].中国现代药物应用,2007,1(1):33-34
- 李鲁生,赵鑫,迟流萤,等.内皮素、降钙素基因相关肽对 2 型糖尿病肾病的诊断价值[J].中国辐射卫生,2007,26(1):34-46
- 曹翠平,刘国良,温滨红.血管紧张素 II 受体拮抗剂对糖尿病肾病患者降钙素基因相关肽、内皮素水平的影响[J].中华内分泌代谢杂志,2004,20(6):530-531

(收稿:2010-10-19)