

## 糖尿病肾病患者血清趋化因子与氧化应激水平的相关性及 $\alpha$ -硫辛酸的治疗作用

周莉,陆卫平\*

(南京医科大学附属淮安第一医院内分泌科,江苏 淮安 223300)

**[摘要]** 目的:观察血清趋化因子及氧化应激指标在糖尿病肾病(DN)不同时期的差异及 $\alpha$ -硫辛酸治疗后水平的变化,探讨趋化因子与氧化应激在DN中的相关性及抗氧化应激治疗对二者的影响。方法:选择2型糖尿病患者100例,根据24h尿白蛋白定量(24h-UAL)水平分为肾功能正常组(24h-UAL<30 mg/24 h)、早期DN组(24h-UAL 30~300 mg/24 h)和临床DN组(24h-UAL>300 mg/24 h),3组患者均给予 $\alpha$ -硫辛酸治疗4周,测定各组治疗前后血清趋化因子[fractalkine(FKN)、血清单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)]、氧化应激指标[谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)、血清丙二醛(MDA)]、空腹血糖(FPG)、餐后2h血糖(2hPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)水平及24h-UAL变化。另选30例健康体检者为健康对照组。结果:①糖尿病患者GSH-PX及SOD水平显著低于健康对照组,血清趋化因子与MDA水平则显著高于健康对照组;3组治疗后血清趋化因子与MDA水平均较治疗前显著下降,GSH-PX及SOD水平则显著升高;早期DN组及临床DN组治疗后24h-UAL较治疗前显著降低;治疗前后临床DN组血清FKN、MCP-1及MDA水平均明显高于肾功能正常组和早期DN组,GSH-PX及SOD水平则显著低于另两组( $P < 0.05$ );②趋化因子与MDA、24h-UAL、FPG、2hPG及HbA1c呈正相关,与GSH-PX和SOD呈负相关;MDA与趋化因子、24h-UAL、FPG、2hPG及HbA1c呈正相关,GSH-PX和SOD与上述指标呈负相关。结论:DN患者血清趋化因子及氧化应激指标水平与24h-UAL及血糖水平显著相关,抗氧化应激治疗能降低血清趋化因子水平,减少尿蛋白排泄,从而延缓DN的进展。

**[关键词]** fractalkine;MCP-1;氧化应激;糖尿病肾病; $\alpha$ -硫辛酸

**[中图分类号]** R587.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2013)10-1435-04

**doi:**10.7655/NYDXBNS20131022

## The correlation of chemotactic factors and oxidative stress markers in diabetic nephropathy and the effects of $\alpha$ -lipoic acid

Zhou Li, Lu Weiping\*

(Department of Endocrinology, Huaian First Hospital Affiliated to NJMU, Huaian 223300, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the differences between serum chemotactic factors and oxidative stress markers in different periods of diabetic nephropathy(DN) and the changes of them after therapy of  $\alpha$ -lipoic acid. To explore the correlation of chemotactic factors and oxidative stress markers in diabetic nephropathy and the effects of  $\alpha$ -lipoic acid to them. **Methods:** One hundred patients with type 2 diabetic mellitus were randomly divided into normal group, early DN group and clinical DN group according to 24 hour urinary albumin (24h-UAL). Changes of FKN, MCP-1, GSH-PX, SOD, MDA, 24h-UAL, FPG, 2hPG, HbA1c and 24h-UAL before and after treatment of  $\alpha$ -lipoic acid in three groups were observed. Thirty healthy person were chosen as control group. **Results:** ①Serum GSH-PX and SOD in diabetic groups were significantly lower and serum chemotactic factors and MDA were higher than control group. Serum chemotactic factors and MDA decreased, while GSH-PX and SOD increased significantly after treatment in all groups, 24h-UAL was lower than before in early DN group and clinical DN group. Levels of FKN, MCP-1 and MDA in clinical DN group were obviously higher while GSH-PX and SOD were lower than those in normal two group and early DN group before and after treatment, ( $P < 0.05$ ). ②Serum chemotactic factors were positively correlated with MDA, 24h-UAL, FPG, 2hPG and HbA1c, and negatively correlated with GSH-PX and SOD. MDA was positively correlated with 24h-UAL, FPG, 2hPG and HbA1c, while GSH-PX and SOD

**[基金项目]** 淮安市科技支撑计划(HAS2010027)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail:hyhalwp@sina.com

were opposite. **Conclusion:** Serum chemotactic factors and markers of oxidative stress significantly correlate with 24h-UAL and serum glucose. Serum chemotactic and urine protein are decreased by antioxidant, which may delay the progression of diabetic nephropathy.

[Key words] fractalkine; MCP-1; oxidative stress; diabetic nephropathy;  $\alpha$ -lipoic acid

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(10): 1435-1438]

众所周知,糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病慢性微血管并发症之一,其发病机制尚不十分清楚。流行病学研究显示在我国住院的糖尿病患者中, DN患病率约为33%,并有逐年递增的趋势,严重影响了DM患者的生活质量。因此,阐明DN的发病机制并进行干预研究意义重大。现已发现在糖尿病动物和DN患者肾小球和肾小管间质存在单核巨噬细胞或中性粒细胞的浸润,而引起这些细胞浸润的机制可能与局部趋化因子高表达有关。氧化应激是许多疾病发病过程中的致病环节,有研究显示,机体氧化应激的增强及抗氧化应激能力的衰退与DN的发生发展有关<sup>[1]</sup>。笔者观察了血清趋化因子及氧化应激指标在DN不同时期的变化以及抗氧化应激治疗对其水平的影响,现报道如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选择2010年1月~2012年12月在本院住院的糖尿病患者100例(符合1999年WHO推荐的2型糖尿病诊断标准,血糖控制平稳),根据24h尿白蛋白(24h-UAL)水平分为肾功能正常组(24h-UAL < 30

mg/24 h, 35例)、早期DN组(24h-UAL 30~300 mg/24 h, 33例)和临床DN组(24h-UAL > 300 mg/24 h, 32例)。另选30例健康体检者为健康对照组。4组在年龄、性别、体质指数(body mass index, BMI)方面差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),4组在空腹血糖(FPG)、餐后2小时血糖(2hPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,表1)。

排除标准:①糖尿病酮症酸中毒、乳酸酸中毒、高血糖高渗状态、低血糖昏迷等糖尿病急性并发症;②合并严重高血压[指血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)类或血管紧张素II受体拮抗剂(ARB)类降压药治疗后血压仍在130/80 mmHg以上者]、高血脂、心肌梗死、脑梗死等心脑血管疾病、肝肾功能异常者;③急慢性肾小球肾炎、肾病综合征等原发性肾病及狼疮性肾炎、梗阻性肾病、痛风性肾病等其他继发性肾病所致蛋白尿;④泌尿系统感染、发热、心力衰竭、慢性腹泻、结核、药物(ACEI类及ARB类降压药除外)等影响尿蛋白因素及应用肾毒性药物者;⑤尿常规检查有血尿或管型尿者;⑥妊娠期、哺乳期妇女。

### 1.2 方法

表1 三组患者临床资料比较

Table 1 Comparison of clinical data of patients in three groups

组别	例数	年龄(岁)	性别(男/女)	病程(年)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	FPG(pmol/L)	2hPG(pmol/L)	HbA1c(%)
健康对照组	30	55.9 ± 8.9	16/14	0	24.39 ± 1.58	4.73 ± 0.62	6.95 ± 0.57	4.93 ± 0.32
肾功能正常组	35	58.1 ± 9.6	19/16	7.83 ± 2.55	24.45 ± 1.39	5.95 ± 0.85 <sup>a</sup>	7.93 ± 0.86 <sup>a</sup>	6.82 ± 0.20 <sup>a</sup>
早期DN组	33	56.2 ± 9.3	18/15	8.21 ± 2.46	23.64 ± 1.35	6.45 ± 0.74 <sup>ab</sup>	8.61 ± 1.07 <sup>ab</sup>	7.15 ± 0.37 <sup>ab</sup>
临床DN组	32	55.5 ± 8.7	17/15	8.78 ± 2.32	24.13 ± 1.60	7.14 ± 0.85 <sup>abc</sup>	9.73 ± 0.90 <sup>abc</sup>	8.50 ± 0.65 <sup>abc</sup>

与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与肾功能正常组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与早期DN比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

#### 1.2.1 常规治疗

3组糖尿病患者均给予糖尿病健康教育、饮食控制及运动治疗;采用预混人胰岛素降糖治疗,血糖控制平稳,避免发生低血糖;合并高血压者给予ACEI类或ARB类降压药,使血压控制在130/80 mmHg以下。

#### 1.2.2 抗氧化应激治疗

3组糖尿病患者均给予 $\alpha$ -硫辛酸600 mg加入

250 ml生理盐水中静脉滴注,1 d 1次,共4周。

#### 1.2.3 观察指标

观察各组fractalkine(FKN)、血清单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)、血清丙二醛(MDA)、FPG、2 h PG、HbA1C、24 h-UAL水平,及3组糖尿病患者治疗前后上述指标的变化。

#### 1.2.4 检测方法

所有患者禁食 10 h 以上,次日晨起空腹静脉取血并留尿。采用酶联免疫吸附法测定血清 FKN 及 MCP-1 水平,所有步骤严格按照试剂盒操作说明进行(人 MCP-1 96 孔 ELISA 试剂盒购自美国 Assaypro 公司,人 FKN 96 孔 ELISA 试剂盒购自武汉博士德公司)。采用黄嘌呤氧化酶法测定血清 SOD、化学比色法测定 GSH-PX、硫代巴比妥法测定 MDA 水平,所有步骤严格按照试剂盒操作说明进行(均购自南京建成生物工程研究所)。

### 1.3 统计学方法

数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,应用 SPSS17.0 软件,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用  $q$  检验。采用二元变量相关分析验证两变量间的相关性, $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各级趋化因子和氧化应激水平比较

糖尿病患者 GSH-PX 及 SOD 水平显著低于健康对照组,血清趋化因子与 MDA 水平则显著高于健康对照组;糖尿病患者治疗后血清趋化因子与 MDA 水平均较治疗前显著下降,GSH-PX 及 SOD 水平则显著升高;早期 DN 组及临床 DN 组治疗后 24h-UAL 较治疗前显著降低;治疗前后临床 DN 组血清 FKN、MCP-1 及 MDA 水平均明显高于肾功能正常组和早期 DN 组,GSH-PX 及 SOD 水平则显著低于另两组 ( $P < 0.05$ ,表 2)。

### 2.2 血清趋化因子与其他指标相关性分析

趋化因子与 MDA、24h-UAL、FPG、2hPG 及 HbA1c 呈正相关,与 GSH-PX 和 SOD 呈负相关 ( $P < 0.05$ ,表 3)。

### 2.3 血清氧化应激指标与其他指标相关性分析

MDA 与趋化因子、24 h-UAL、FPG、2 h PG 及 HbA1c 呈正相关,GSH-PX 和 SOD 与上述指标呈负相关 ( $P < 0.05$ ,表 4)。

表 2 各组糖尿病患者治疗前后相关指标比较

Table 2 Comparison of related indicators of patients in 4 groups before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	FKN(pg/ml)	MCP-1(ng/L)	GSH-PX(U/ml)	SOD(U/ml)	MDA(nmol/ml)	24h-UAL(mg/L)
健康对照组	453.5 $\pm$ 58.2	63.72 $\pm$ 8.35	192.65 $\pm$ 9.73	112.43 $\pm$ 5.29	3.12 $\pm$ 0.55	11.73 $\pm$ 3.28
肾功能正常组	治疗前 570.6 $\pm$ 61.4 <sup>d</sup>	89.51 $\pm$ 9.71 <sup>d</sup>	158.17 $\pm$ 10.74 <sup>d</sup>	85.80 $\pm$ 5.74 <sup>d</sup>	4.97 $\pm$ 0.48 <sup>d</sup>	15.38 $\pm$ 5.49
	治疗后 504.9 $\pm$ 59.7 <sup>cd</sup>	78.60 $\pm$ 9.55 <sup>cd</sup>	173.18 $\pm$ 10.90 <sup>cd</sup>	96.50 $\pm$ 6.56 <sup>cd</sup>	3.87 $\pm$ 0.43 <sup>cd</sup>	15.55 $\pm$ 4.79
早期 DN 组	治疗前 663.9 $\pm$ 75.0 <sup>ad</sup>	130.45 $\pm$ 14.18 <sup>ad</sup>	142.64 $\pm$ 10.16 <sup>ad</sup>	74.16 $\pm$ 5.67 <sup>ad</sup>	7.37 $\pm$ 0.96 <sup>ad</sup>	167.27 $\pm$ 47.12 <sup>ad</sup>
	治疗后 585.2 $\pm$ 71.7 <sup>acd</sup>	117.49 $\pm$ 13.90 <sup>acd</sup>	156.51 $\pm$ 10.04 <sup>acd</sup>	84.51 $\pm$ 5.91 <sup>acd</sup>	6.20 $\pm$ 0.93 <sup>acd</sup>	129.68 $\pm$ 44.99 <sup>acd</sup>
临床 DN 组	治疗前 763.1 $\pm$ 52.3 <sup>abd</sup>	154.00 $\pm$ 14.96 <sup>abd</sup>	127.80 $\pm$ 11.43 <sup>abd</sup>	68.63 $\pm$ 5.65 <sup>abd</sup>	8.56 $\pm$ 0.65 <sup>abd</sup>	575.92 $\pm$ 137.18 <sup>abd</sup>
	治疗后 680.9 $\pm$ 55.3 <sup>abcd</sup>	143.78 $\pm$ 15.91 <sup>abcd</sup>	142.31 $\pm$ 10.57 <sup>abcd</sup>	79.55 $\pm$ 5.54 <sup>abcd</sup>	7.35 $\pm$ 0.66 <sup>abcd</sup>	494.59 $\pm$ 131.18 <sup>abcd</sup>

与肾功能正常组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与早期 DN 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与本组治疗前比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与健康对照组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 血清趋化因子与其他指标相关性分析

Table 3 Correlation analysis of serum chemotactic factors and other indicators ( $r$ )

项目	MDA	24h-UAL	FPG	2hPG	HbA1c	GSH-PX	SOD
FKN	0.641	0.732	0.407	0.509	0.602	-0.607	-0.623
MCP-1	0.829	0.810	0.406	0.443	0.666	-0.666	-0.775

表 4 血清氧化应激指标与其他指标相关性分析

Table 4 Correlation analysis of serum oxidative stress markers and other indicators ( $r$ )

项目	FKN	MCP-1	24h-UAL	FPG	2hPG	HbA1c
MDA	0.641	0.829	0.793	0.432	0.515	0.667
GSH-PX	-0.607	-0.666	-0.735	-0.377	-0.522	-0.630
SOD	-0.623	-0.775	-0.659	-0.308	-0.441	-0.530

## 3 讨论

DN 的发病机制十分复杂,现已发现,遗传因素、血流动力学改变、糖代谢异常、脂代谢紊乱、氧化

应激、细胞因子及炎症等因素参与了 DN 的发生发展,从而引起肾小球肥大、肾小球基底膜增厚及系膜基质增宽,最终导致肾小球硬化、纤维化<sup>[2-3]</sup>。

糖尿病中存在的高糖、血流动力学障碍等均可

损伤肾脏固有细胞,细胞损伤后释放前炎症介质,促使单核巨噬细胞或中性粒细胞在局部浸润,而引起这些细胞浸润的机制可能与局部趋化因子高表达有关<sup>[4-5]</sup>。MCP-1和FKN是趋化因子家族中的主要成员,在肾脏炎症、血管重建和纤维化等方面发挥重要作用<sup>[6]</sup>。Kikuchi等<sup>[7]</sup>发现在DN的早期(4周)FKN及CX3CR1的表达就开始增多,提示FKN的表达及CX3CR1<sup>+</sup>细胞的浸润可能参与了DN的发展。Song等<sup>[8]</sup>研究发现,FKN可能通过增加肾小球系膜细胞外基质的合成进一步加重糖尿病大鼠肾脏的损伤。Nam等<sup>[9]</sup>在糖尿病大鼠模型中发现,MCP-1可能与TGF- $\beta$ 1相互作用,诱导肾小球足细胞凋亡,从而促进肾小球硬化。本研究发现DN患者血清趋化因子FKN和MCP-1水平与尿蛋白水平呈正相关,由此可见,FKN、MCP-1在DN发生发展中起着不容忽视的作用。

Shao等<sup>[10]</sup>发现,在DN早期机体氧化应激水平已有明显升高,多次线性回归结果显示,脂质氧化应激可作为评估DN肾损伤程度的独立指标。Rovira-Llopis等<sup>[11]</sup>研究结果显示,2型糖尿病诱导的氧化应激和髓过氧化物酶体(MPO)水平的增加以及白细胞-内皮间交互作用可能参与了DN的发生发展。Singh等<sup>[12]</sup>通过测定放射性标记的上清液中黏多糖水平发现,在机体高氧化应激状态下,GSH-PX可能通过诱导硫酸乙酰肝素黏多糖的脱落导致DN蛋白尿的发生。本研究亦观察到机体氧化应激指标MDA随着24h-UAL的增多而升高,而GSH-PX和SOD则随之下降,因此,机体氧化应激水平和DN密不可分。

已有学者发现,炎症和氧化应激在动脉疾病中起着相辅相成的作用,其机制可能与趋化因子及其受体、脂肪因子及miRNA有关<sup>[13]</sup>。 $\alpha$ -硫辛酸是一种在少数细胞内合成的二硫化合物,它的天然功能是作为丙酮酸脱氢酶和 $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶线粒体酶复合体中的辅酶,是众所周知的一种强抗氧化剂,通过多种途径改善体内高氧化应激状态。本研究发现,经 $\alpha$ -硫辛酸治疗后,FKN、MCP-1及MDA水平显著下降,GSH-PX和SOD显著升高。由此可见,趋化因子可能参与了氧化应激致DN的过程,抗氧化应激治疗能降低血清趋化因子水平,减少尿蛋白排泄,延缓DN的进展。因此,FKN、MCP-1可作为检测DN预后及治疗效果的指标之一,在临床开展并普及。

#### [参考文献]

[1] Naruse R,Suetsugu M,Terasawa T,et al. Oxidative stress

and antioxidative potency are closely associated with diabetic retinopathy and nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. Saudi Med J,2013,34(2):135-141

[2] Lehmann R,Schleicher ED. Molecular mechanism of diabetic nephropathy[J]. Clin Chim Acta,2000,297(1-2):34-38

[3] Wang Z,Jiang T,Li J,et al. Regulation of renal lipid metabolism,lipid accumulation,and glomerulosclerosis GSH-PX in FVBdb/db mice with type 2 diabetes [J]. Diabetes,2005,54(8):2328-2335

[4] Navarro-González JF,Mora-Fernández C,Muros de Fuentes M,et al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Nat Rev Nephrol,2011,7(6):327-340

[5] Ruster C,Wolf G. The role of chemokines and chemokine receptors in diabetic nephropathy[J]. Front Biosci,2008,13:944-955

[6] Nakajima K,Tanaka Y,Nomiyama T,et al. Chemokine receptor genotype is associated with diabetic nephropathy in Japanese with type 2 diabetes [J]. Diabetes,2002,51(1):238-242

[7] Kikuchi Y,Ikee R,Hemmi N,et al. Fractalkine and its receptor,CX3CR1,upregulation in streptozotocin-induced diabetic kidneys[J]. Nephron Exp Nephrol,2004,97(1):e17-25

[8] Song KH,Park J,Park JH,et al. Fractalkine and its receptor mediate extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy in mice[J]. Diabetologia,2013,[Epub ahead of print]

[9] Nam BY,Paeng J,Kim SH,et al. The MCP-1/CCR2 axis in podocytes is involved in apoptosis induced by diabetic conditions[J]. Apoptosis,2012,17(1):1-13

[10] Shao N,Kuang HY,Wang N,et al. Relationship between oxidant/antioxidant markers and severity of microalbuminuria in the early stage of nephropathy in type 2 diabetic patients[J]. J Diabetes Res,2013,2013:232404

[11] Rovira-Llopis S,Rocha M,Falcon R,et al. Is myeloperoxidase a key component in the GSH-PX-induced vascular damage related to nephropathy in type 2 diabetes? [J]. Antioxid Redox Signal,2013,[Epub ahead of print]

[12] Singh A,Ramnath RD,Foster RR,et al. Reactive oxygen species modulate the barrier function of the human glomerular endothelial glycocalyx [J]. PLoS One,2013,8(2):e55852

[13] Hajjar DP,Gotto AM Jr. Biological relevance of inflammation and oxidative stress in the pathogenesis of arterial diseases[J]. Am J Pathol,2013,182(5):1478-1481

[收稿日期] 2013-06-27