

课题研究 · 论著

不同剂量阿托伐他汀对老年早期糖尿病肾病患者外周血 NF- κ B 活性和尿白蛋白排泄率的影响

李建英, 郭 进, 谭文芳, 余文珊

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划课题(编号: 桂科攻 11138008)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院干部综合病房二区

作者简介: 李建英(1969-), 女, 大学本科, 医学硕士, 主任医师, 研究方向: 老年病诊治。E-mail: gxljydx@163.com

[摘要] 目的 观察不同剂量阿托伐他汀对老年早期糖尿病肾病(DN)患者外周血单个核细胞中核因子- κ B(NF- κ B)P65(ser536)的磷酸化水平、血清炎症因子水平(hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β)及尿白蛋白排泄率(UAER)的影响。方法 将72例2型糖尿病早期DN老年患者, 随机分为两组, 分别给予阿托伐他汀钙片10 mg/d(DN1组, 37例)和20 mg/d(DN2组, 35例), 疗程16周。测定两组患者治疗前和治疗16周后外周血NF- κ B P65的磷酸化水平、血清炎症因子水平、UAEA、血脂(TC、TG、DHL-C、LDL-C)。结果 两组患者治疗后外周血NF- κ B P65水平、血清炎症因子水平、TC及LDL-C均较治疗前降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 以DN2组降低更显著。DN2组治疗后UAER较治疗前显著降低($P < 0.01$), DN1组无显著下降($P > 0.05$)。结论 阿托伐他汀在降低血脂的同时可降低外周血NF- κ B P65的活性、血清炎症因子hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平, 改善患者炎症状态, 减少尿蛋白, 且呈剂量依赖性。

[关键词] 糖尿病肾病; 核因子 κ B; 炎症因子; 尿白蛋白排泄率; 阿托伐他汀

[中图分类号] R 587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)09-0799-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.09.01

Effects of different doses of atorvastatin on the activity of nuclear factor-kappa B in peripheral blood mononuclear cells and urinary albumin excretion rate in the elderly patients with early diabetic nephropathy LI Jian-ying, GUO Jin, TAN Wen-fang, et al. The Second Area of Cadre Integrated Ward, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To observe the effects of different doses of atorvastatin on phosphorylation of nuclear factor-kappa B(NF- κ B) P65(ser536) in peripheral blood mononuclear cells, on the levels of serum inflammatory factors, including high sensitivity C reactive protein(hs-CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6(IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), and on urinary albumin excretion rate(UAER) in the elderly patients with early diabetic nephropathy. **Methods** The patients($n=72$) of type 2 diabetes with early nephropathy were randomly divided into two groups. The patients were given atorvastatin 10 mg/d in DN1 group and atorvastatin 20 mg/d in DN2 group for sixteen weeks. Levels of NF- κ B, serum inflammation factors, UAER, Total cholesterol(TC), triglyceride(TG), low density lipoprotein(LDL-C) and high density lipoprotein(HDL-C) were measured before treatment and after treatment for sixteen weeks. **Results** After sixteen weeks of treatment, the levels of NF- κ B, serum inflammation factors, TC and LDL were reduced($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in two group. DN2 group decreased more significantly. UAER were reduced($P < 0.01$) in DN2 group. There was no significant changes in DN1 group($P > 0.05$). **Conclusion** Atorvastatin can reduce activity of NF- κ B, levels of hs-CRP, TNF- α , IL-6, IL-1 β , TC, and LDL in the olderly patients with type 2 diabetic pristine nephropathy. Atorvastatin may benefit patients with diabetes mellitus by ameliorating inflammatory stats, as well as reducing urinary albumin, in a dose-dependent manner.

[Key words] Diabetic nephropathy(DN); NF- κ B; Inflammation factors; Urinary albumin excretion rate(UAER); Atorvastatin

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是终末期肾脏疾病的主要诱因。肾脏的固有细胞与进入肾脏的外来细胞均可以参与DN的炎症损伤。核因子- κ B(nuclear factor, NF- κ B)是多种炎症、细胞因子的中间环节,可能参与DN发生发展机制^[1]。多种他汀类药物具有不依赖于调脂作用的抗炎活性^[2]。2010~2013年我们观察了不同剂量阿托伐他汀对老年早期DN患者外周血NF- κ B P65的磷酸化水平、血清炎症因子超敏C反应蛋白(high sensitivity C reactive protein, hs-CRP)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)水平等炎症指标及尿白蛋白排泄率(urinary albumin excretion rate, UAER)的影响,探讨不同剂量阿托伐他汀对早期DN抗炎作用及肾保护作用,报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取2010~2013年我院住院的2

表1 两组基线资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别		年龄(岁)	病程(年)	体质指数(kg/m ²)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)
		男	女					
DN1组	37	20	17	65.7 $\pm$ 6.8	12.1 $\pm$ 5.6	23.4 $\pm$ 4.9	142 $\pm$ 7.21	72 $\pm$ 6.65
DN2组	35	18	17	64.9 $\pm$ 7.3	11.9 $\pm$ 7.2	22.8 $\pm$ 5.5	145 $\pm$ 8.19	69 $\pm$ 7.48
χ^2/t	-	0.003		0.121	0.236	0.336	0.678	0.886
<i>P</i>	-	0.991		0.803	0.778	0.610	0.459	0.466

1.2 治疗方法 所有T2DM患者先按糖尿病、高血压病给予常规治疗,包括糖尿病饮食、低盐低脂饮食、适当运动、口服降糖药,至血糖稳定[空腹血糖(FBG) $\leq$ 7 mmol/L,餐后2 h血糖(PBG) $\leq$ 10 mmol/L];降压药首选血管紧张素II受体拮抗剂(ARB)单剂量,血压未达标者剂量加倍,仍未达标者加用钙离子阻滞剂,将血压控制在150~130/85~60 mmHg。血糖、血压稳定1个月后,所有患者在糖尿病、高血压病常规治疗基础上加服阿托伐他汀钙片(立普妥,辉瑞制药,20 mg/片),DN1组予阿托伐他汀钙片10 mg/d治疗, DN2组予阿托伐他汀20 mg/d治疗,疗程为16周。

1.3 观察指标 治疗前和治疗16周后测定两组血清炎症因子(hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β)水平、血脂(TC、TG、HDL-C、LDL-C)、血糖(FBG、PBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)及UAER。2组分别抽取10名患者,应用免疫印迹分析法(Western blot)检测PMNC中NF- κ B P65的磷酸化水平。禁食10 h后,于清晨空腹抽血,用全自动生化分析测定血生化指标TC、TG、LDL-C、HDL-C、FBG、PBG。HbA1c用亲和层析微

型糖尿病(T2DM)早期DN同时合并高血压病、高脂血症的老年患者72例。纳入标准:符合2007年KD-OQI DN指南诊断标准,按DN分期均属于3期[DM早期,患者3个月内至少2次UAER 20~200 μ g/min];1999年WHO高血压病诊断标准;2007年中国成人血脂异常防治指南。排除标准:糖尿病急性并发症、慢性肾功能衰竭等患者;伴有严重的心、脑、肝、肺等重要器官疾病,合并感染、恶性肿瘤及自身免疫性疾病患者;血肌酸激酶 $\geq$ 正常上限的3倍,丙氨酸氨基转移酶或门冬氨酸氨基转移酶 $\geq$ 正常上限的1.5倍;2个月内服用降脂药物患者。入选患者72例,其中男38例,女34例,年龄(65.3 $\pm$ 7.0)岁,按就诊顺序给患者编号,单号分为DN1组,双号为DN2组。两组性别、年龄、病程、体质指数、血糖、血脂及血压等临床资料差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。

柱法测定。抽静脉血按试剂盒要求分离血清, -80 $^{\circ}$ C冰箱保存待测。hs-CRP采用免疫荧光分析法检测。TNF- α 、IL-6、IL-1 β 采用ELISA法检测,试剂盒购自上海船夫生物科技有限公司。PMNC NF- κ B P65 (ser536)磷酸化水平用免疫印迹分析法检测外周血NF- κ B P65磷酸化水平,结果以Alphaimager 2200多功能凝胶成像仪定量扫描条带灰度,以P65蛋白条带/ β -actin蛋白条带的比值反映核因子- κ B P65的磷酸化水平(抗NF- κ B P65抗体购自碧云天生物技术有限公司)。UAER测定:留24 h尿,加10 ml甲苯酸防腐,准确记录尿量,LUMINO化学发光分析仪测定尿微量白蛋白(ALB),UAER = 尿微量白蛋白/(尿量 $\times$ 1440),用 μ g/min表示。嘱患者在留尿前24 h和留尿过程中不进高蛋白饮食,不做剧烈运动。检测全程由专人盲法检测。

1.4 统计学方法 应用SPSS17.0统计软件分析数据,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间均数比较采用独立样本 t 检验,组内治疗前后的比较采用配对 t 检验。计数资料比较用 χ^2 检验。 $P \leq 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后血脂、血糖、HbA1c 及 UAER 水平比较 两组患者治疗前血脂、血糖、HbA1c 及 UAER 差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗 16 周后, DN1

组 TC、LDL 较治疗前下降($P < 0.05$), DN2 组下降更显著($P < 0.01$)。两组 TG、HDL、血糖及 HbA1c 与治疗前比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。DN2 组 UAER 较治疗前显著减低($P < 0.01$), DN1 组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 两组治疗前后血脂、血糖、HbA1c 及 UAER 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	TC (mmol/L)		TG (mmol/L)		HDL (mmol/L)		LDL (mmol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
DN1 组	37	5.58 ± 0.31	5.01 ± 0.29 ^{##}	1.95 ± 0.26	1.87 ± 0.24	1.04 ± 0.07	1.06 ± 0.07	3.45 ± 0.25	2.84 ± 0.28 ^{##}
DN2 组	35	5.61 ± 0.28	4.72 ± 0.26 [#]	1.97 ± 0.17	1.86 ± 0.19	1.09 ± 0.06	1.20 ± 0.05	3.47 ± 0.13	2.28 ± 0.31 [#]
<i>t</i>	-	0.866	3.475	0.131	0.187	0.626	0.682	0.695	3.660
<i>P</i>	-	0.518	0.044	0.721	0.703	0.483	0.438	0.401	0.033

组 别	例数	FBG (mmol/L)		PBG (mmol/L)		HbA1c (%)		UAER	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
DN1 组	37	7.85 ± 0.65	7.89 ± 0.69	9.61 ± 1.27	9.72 ± 1.31	7.64 ± 0.55	7.68 ± 0.70	156.50 ± 7.18	149.2 ± 6.18
DN2 组	35	7.91 ± 0.24	7.94 ± 0.96	9.63 ± 0.98	9.79 ± 1.28	7.71 ± 0.66	7.73 ± 0.81	159.80 ± 8.13	126.5 ± 7.30 [#]
<i>t</i>	-	0.231	0.167	0.031	0.092	0.510	0.254	1.395	15.080
<i>P</i>	-	0.751	0.792	0.933	0.811	0.570	0.761	0.148	0.000

注:与同组治疗前比较,[#] $P < 0.01$,^{##} $P < 0.05$

2.2 两组治疗前后血清炎症因子水平比较 两组患者治疗前血清炎症因子水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗 16 周后, DN1 组血清炎症因子较

治疗前下降($P < 0.05$), DN2 组显著下降($P < 0.01$)。两组治疗后的血清炎症因子水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组治疗前后血清炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	hs-CRP (mg/L)		TNF- α (ng/L)		IL-6 (ng/L)		IL-1 β (ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
DN1 组	37	7.73 ± 1.87	6.25 ± 1.64 ^{##}	37.23 ± 5.00	30.01 ± 4.20 ^{##}	21.17 ± 2.13	16.48 ± 1.65 ^{##}	16.21 ± 1.54	13.74 ± 1.01 ^{##}
DN2 组	35	7.73 ± 1.91	5.13 ± 1.32 [#]	37.48 ± 4.60	24.99 ± 4.90 [#]	20.98 ± 2.04	14.89 ± 1.23 [#]	16.25 ± 1.56	11.83 ± 1.39 [#]
<i>t</i>	-	0.111	4.500	0.019	5.003	0.011	4.589	0.375	5.034
<i>P</i>	-	0.813	0.029	0.837	0.011	0.864	0.025	0.620	0.014

注:与同组治疗前比较,[#] $P < 0.01$,^{##} $P < 0.05$

2.3 两组治疗前后外周血单个核细胞中 NF- κ B P65 的磷酸化水平比较 两组患者治疗前 NF- κ B P65 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗 16 周后, DN2 组 NF- κ B P65 的磷酸化水平较治疗前降低($P < 0.05$), DN1 组较治疗前差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组治疗后 NF- κ B P65 的磷酸化水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4, 图 1。

表 4 两组外周血单个核细胞中 NF- κ B P65 磷酸化水平比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	治疗前	治疗后
DN1 组	10	0.95 ± 0.18	0.93 ± 0.51
DN2 组	10	0.95 ± 0.17	0.80 ± 0.13 [#]
<i>t</i>	-	0.166	3.380
<i>P</i>	-	0.794	0.041

注:与同组治疗前比较,[#] $P < 0.05$

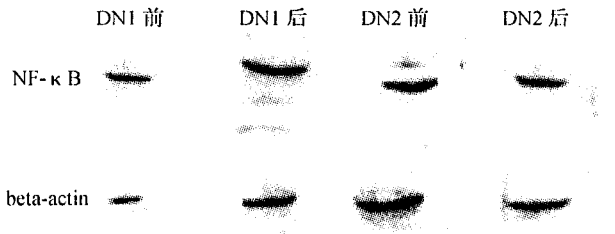


图 1 DN1 组治疗前后和 DN2 组治疗前后 NF- κ B P65 磷酸化水平比较

2.4 不良反应 DN2 组有 1 例因行走时肌肉酸痛撤出观察组。

3 讨论

3.1 近年研究认为 2 型糖尿病可能是炎症因子介导的炎症反应,炎症可能通过多种途径导致胰岛 β

细胞结构与功能障碍,促进 β 细胞凋亡,引起胰岛素分泌不足^[3];炎症能够引起内皮细胞结构和功能的异常,导致胰岛素在人体组织细胞中出现转运障碍,不能发挥正常作用,引起胰岛素抵抗^[4]。DN患者肾间质聚集大量巨噬细胞,炎症可通过引发氧化应激,使低密度脂蛋白转化为氧化型低密度脂蛋白,增加单核细胞对血管内皮细胞的黏附和浸润,损害肾小球内皮细胞结构和功能,炎症可能是DN发展的重要危险因素。在DN研究中涉及到的炎症因子种类繁多,如细胞因子白细胞介素、肿瘤坏死因子- α 、急性期反应蛋白C。Hs-CRP是由肝脏合成的,主要受血循环中IL-6、TNF- α 调节,反过来也可以刺激单核细胞释放IL-6、IL-1 β 、TNF- α ,介导内皮细胞产生单核细胞趋化蛋白-1和内皮细胞黏附分子等,发挥致炎作用。TNF- α 、IL-6具有多种功能,可直接作用于胰岛 β 细胞,造成胰岛 β 细胞损伤、胰岛素抵抗,是DN独立危险因素^[5]。在DN形成过程中,NF- κ B是炎症启动、调节的关键核因子,参与多种炎症因子转录的调控,使IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、hs-CRP等炎症因子升高,炎症因子又可导致NF- κ B激活,导致炎症状态放大^[6]。

3.2 近年研究^[7-9]表明,阿托伐他汀除了有调脂功能外,还具有改善内皮功能、抗炎、抗增殖、抗氧化等多种作用。抗炎作用的分子机制可能与抑制NF- κ B的活化和降低炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平有关^[10]。毛德军等^[11]发现阿托伐他汀能够明显下调TNF诱导的HUVEC[人脐静脉内皮细胞(HUVECs)]表达NF- κ B,且呈现明显的时程依赖性及剂量依赖性,揭示阿托伐他汀通过下调NF- κ B靶点发挥抗炎效应。阿托伐他汀可通过降低DN患者超敏C反应蛋白,起到抗炎及改善血管内皮功能的作用,减少蛋白尿,延缓肾功能的恶化^[12]。阿托伐他汀可下调内皮细胞NF- κ B活性,减弱ICAM-1的表达,可能控制炎症反应^[13]。

3.3 本研究结果显示,DN1组治疗后TC、LDL、血清hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平降低,DN2组TC、LDL、血清hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平、NF- κ B P65的磷酸化水平及UAER下降更显著,表明10 mg、20 mg阿托伐他汀可以抑制DN患者炎症因子hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平,20 mg阿托伐他汀还可以抑制DN患者NF- κ B P65的磷酸化水平,减少尿蛋白,与近年研究结果一致^[14,15],阿托伐他汀抗炎作用及减少尿蛋白效果与剂量相关。

综上所述,我们认为阿托伐他汀可抑制老年早

期DN患者炎症因子hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平以及外周血NF- κ B活性,改善患者炎症状态,减少尿蛋白,且呈剂量依赖性。

参考文献

- Sanchez AP, Sharma K. Transcription factors in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2009, 11: e13.
- Gensini GF, Gori AM, Dilaghi B. Effect of atorvastatin on circulating hs-CRP concentrations: A sub-study of the Achieve Cholesterol Targets Fast with Atorvastatin Stratified (ACTFAST) study[J]. *Int J Cardiol*, 2010, 142(3): 257-264.
- DeFuria J1, Belkina AC, Jagannathan-Bogdan M, et al. B cells promote inflammation in obesity and type 2 diabetes through regulation of T-cell function and an inflammatory cytokine profile[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(13): 5133-5138.
- Melloul D. Role of NF kappaB in beta-cell death[J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(3): 334-339.
- Yeo ES, Hwang JY, Park JE, et al. Tumor necrosis factor(TNF-alpha) and C-reactive protein(CRP) are positively associated with the risk of chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes[J]. *Yonsei Med J*, 2010, 51(4): 519-525.
- Igoillo-Esteve M, Marselli L, Cunha DA, et al. Palmitate induces a pro-inflammatory response in human pancreatic islets that mimics CCL2 expression by beta cells in type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2010, 53(7): 1395-1405.
- Loughrey BV, McGinty A, Young IS, et al. Increased circulating CC chemokine levels in the metabolic syndrome are reduced by low-dose atorvastatin treatment: evidence from a randomized controlled trial[J]. *Clinical Endocrinology*, 2013, 79(6): 800-806.
- 徐艳丽,李青菊. 辛伐他汀与阿托伐他汀对高糖培养大鼠肾小球系膜细胞p27蛋白表达的影响[J]. *重庆医学*, 2013, 42(28): 3400-3402.
- Raddino R, Della Pina P, Gavazzoni M, et al. Effect of high dose of atorvastatin versus moderate dose on endothelial function and inflammatory biomarkers in patients with STEMI[J]. *American College Cardiology*, 2013, 61(10 suppl. 1): 218.
- 王敬祥,张月兰,田文,等. 阿托伐他汀在大鼠颈总动脉球囊损伤模型中对NF-KB及其相关炎症因子的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(2): 135-139.
- 毛德军,崔君平,臧运华,等. 阿托伐他汀下调肿瘤坏死因子- α 诱导的人脐静脉内皮细胞NF- κ B的表达[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(10): 1061-1063.
- 肖宁. 阿托伐他汀治疗糖尿病早期肾病的疗效观察[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2012, 20(10): 1660-1662.
- 郑庆杨,宇邹,邹斌. 阿托伐他汀对慢性间歇性缺氧兔主动脉NF- κ B和ICAM-1表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 12(33): 6234-6236.
- Hernandez C, Francisco G, Ciudin A, et al. Effect of atorvastatin on lipoprotein(a) and interleukin-10: a randomized placebo-controlled trial[J]. *Diabetes Metab*, 2011, 37(2): 124-130.
- 李建英,路文盛,刘斐,等. 阿托伐他汀对早期糖尿病肾病老年患者外周血NF- κ B和尿白蛋白排泄率的影响[J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(11): 1956-1958.

[收稿日期 2014-06-18][本文编辑 黄晓红]