

早期糖尿病肾病尿蛋白排泄率 相关因素及中医证型分析

林 兰 郭小舟 李 敏 龚燕冰 王 斌 刘 颖

摘要 目的 探讨早期糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)尿蛋白排泄率(urinary albumin excretion rate, UAER)与亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)的 C677T 突变、同型半胱氨酸(Hcy)、叶酸、糖化血红蛋白(HbA1c)、血糖、血脂及中医证型的关系。方法 检测 63 例早期 DN 患者 MTHFR 基因的 677 碱基多态性情况,测定血浆 Hcy、叶酸、空腹血糖、餐后血糖、HbA1c、UAER 及血脂,并记录患者的中医辨证证型。结果 63 例早期糖尿病肾病患者中 17 例辨证为阴虚热盛、24 例辨证为气阴两虚、22 例辨证为阴阳两虚,其中 35 例兼血瘀证。63 例患者 MTHFR 基因的 677 碱基多态性情况:CC 型 19 例,TT 型 17 例,CT 型 27 例。兼血瘀证的患者具有更高的 UAER 水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同基因型的 UAER 差异无统计学意义,不同基因型组间两两比较差异也无统计学意义($P > 0.05$)。UAER 与 Hcy 的水平具有线性回归关系,为正相关($r = 0.674$, $P < 0.05$),具有统计学意义,与叶酸、血糖、HbA1c 等其他因素相关性无统计学意义($P > 0.05$)。结论 阴虚热盛、气阴两虚、阴阳两虚组间 UAER 比较差异无统计学意义,兼血瘀证的患者具有更高的 UAER 水平。UAER 与 Hcy 的水平具有线性回归关系,为正相关。

关键词 糖尿病肾病;尿蛋白排泄率;亚甲基四氢叶酸还原酶;同型半胱氨酸;中医证型

Analysis on Relationship of Chinese Medicine Syndrome Pattern with Urinary Albumin Excretion Rate and Its Related Factors in Early Stage Diabetic Nephropathy LIN Lan, GUO Xiao-zhou, LI Min, et al *Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053)*

ABSTRACT **Objective** To investigate the relationship of Chinese medicine syndrome pattern with urinary albumin excretion rate (UAER) and its related factors in patients with diabetic nephropathy (DN). **Methods** Sixty-three early stage DN patients were subjected to the study, the Chinese medicine syndrome patterns were differentiated, and their condition of methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation was detected (shown by gene polymorphism of 677 base pairs). Meantime, plasma levels of homocysteine (Hcy), folic acid, fasting and postprandial glucose (FG and PG), glycohemoglobin (HbA1c), blood lipids as well as UAER were measured. **Results** Syndrome pattern was differentiated as yin-deficiency with heat-flourishing in 17 patients, qi-yin deficiency in 24, and yin-yang deficiency in 22; while accompanied blood stasis syndrome (BSS) was found in 35. Gene polymorphism detection indicated that 19 patients were of CC-type, 17 of TT-type, and 27 of CT-type. Analysis showed that higher UAER level often revealed in patients with BSS, as compared with that in patients of non-BS pattern, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). UAER levels in patients of different genotypes were insignificantly different ($P > 0.05$), but showed a linear regressive relation, namely positively correlated with Hcy level in patients of isogeneic type ($r = 0.674$, $P < 0.05$). No statistical significance was found between levels of UAER and other related factors ($P > 0.05$). **Conclusion** UAER level in early stage DN patients of BSS pattern is rather higher, and it shows a linear regression relationship (positive correlation) with Hcy level in patients of isogeneic type.

KEYWORDS diabetic nephropathy; urinary albumin excretion rate; methylene tetrahydrofolate reductase; homocysteine; Chinese medicine syndrome pattern

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30672763)

作者单位:中国中医科学院广安门医院内分泌科(北京 100053)

通讯作者:林兰, Tel:010-88001423, E-mail:linlan1938@yahoo.com

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病主要的微血管并发症之一,在我国, DN 已经成为威胁糖尿病患者生活质量的一个公共卫生问题,是糖尿病致死致残的主要原因之一^[1]。微量白蛋白尿是肾病的最早临床证据,干预治疗能逆转微量白蛋白尿和阻止或延缓肾病的进展^[2]。本研究通过分析早期 2 型糖尿病肾病患者尿白蛋白排泄率(urinary albumin excretion rate, UAER)的相关因素及中医证型,以期为临床 DN 的早期诊断和早期干预提供理论依据。

资料与方法

1 诊断标准 参照《肾脏病学》^[3]:(1)确切的 2 型糖尿病病史;(2)半年内连续 2 次 UAER 在 20 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{min}$, 或 24 h 尿蛋白定量 30 ~ 300 mg。分期标准,根据国际通用的 Mogensen 分期标准^[3],Ⅲ期早期糖尿病肾病患者,主要表现为微量蛋白尿,血压轻度升高。

2 中医辨证分型标准 参照《中药新药临床研究指导原则》^[4]分为阴虚热盛、气阴两虚、阴阳两虚、兼血瘀证。

3 纳入及排除标准 纳入标准:符合早期 DN 诊断及中医辨证分型标准。排除标准:原发性肾脏疾病;严重的心血管与肝脏疾病;年龄 < 18 岁;孕妇及哺乳期的妇女;感染或发热的患者;肿瘤患者。

4 一般资料 63 例均为 2007 年 1 月—2009 年 5 月中国中医科学院广安门医院门诊和住院早期 DN 患者。其中男 42 例,女 21 例;年龄 39 ~ 72 岁,平均 (55.5 ± 10.4) 岁;糖尿病病程 10 ~ 22 年,平均 (13.1 ± 6.1) 年;早期 DN 病程 2 个月 ~ 9 年,平均 (2.4 ± 1.1) 年;合并脂代谢紊乱 37 例,合并高血压 26 例,合并冠心病 10 例,合并脑血管病 7 例。

5 观察指标及方法

5.1 临床生化指标 空腹及餐后血糖(FBG、PBG)测定采用葡萄糖氧化酶法,糖化血红蛋白(HbA1c)采用美国伯乐公司高压液相自动测定仪测定,血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)采用自动生化分析仪测定。尿常规和 UAER 采用日本 MA-4210 型尿液分析仪测定。血浆同型半胱氨酸(Hcy)浓度采用酶联免疫吸附法检测;血浆叶酸浓度采用放免法测定;总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)采用酶法测定;低密度脂蛋白(LDL-C)采用磷钨酸镁沉淀法测定;高密度脂蛋白(HDL-C)采用聚乙烯硫酸一步法测定。

5.2 MTHFR 基因 C677T 位点突变分析 采用聚合酶链反应-限制性内切酶片段长度多态性技术检

测。MTHFR 引物序列由上海生工生物工程公司合成,引物 1:5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3',引物 2:5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'。PCR 循环程序是 94 °C 预变性 2 min;94 °C 30 s、62 °C 30 s、72 °C 30 s,40 个循环;72 °C 再延伸 7 min。扩增片段长度为 198 bp。PCR 产物用 Hinf I 酶切,2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。酶切产物基因型判定:CC 型为缺乏相应酶切位点(198, 单带);CT 型为存在酶切位点的杂合子基因型(198, 175 双带);TT 型为存在酶切位点的纯合子基因型(175, 单带)。

6 统计学方法 采用 SPSS 12.0 统计软件处理,计量资料检验其是否满足正态性分布,正态性分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态分布计量资料用中位数表示,正态性分布计量资料两组间均数比较采用 t 检验,多组间指标均值的比较采用方差分析,UAER 的多因素分析采用多元线性回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 不同中医证型的 UAER 比较 阴虚热盛 17 例,UAER (61.58 ± 35.20) mg/24 h;气阴两虚 24 例,UAER (57.75 ± 39.68) mg/24 h;阴阳两虚 22 例,UAER (54.95 ± 35.49) mg/24 h;兼血瘀证 35 例,UAER (68.88 ± 43.56) mg/24 h;非血瘀证 28 例,UAER (43.97 ± 17.99) mg/24 h。阴虚热盛、气阴两虚、阴阳两虚组间 UAER 比较,差异无统计学意义($F = 0.153$, $P > 0.05$)。兼血瘀证患者较非血瘀证具有更高的 UAER 水平,差异有统计学意义($t = 3.071$, $P < 0.05$)。

2 不同基因型的 UAER 比较 CC 基因型 19 例,UAER (59.12 ± 37.17) mg/24 h;CT 基因型 27 例,UAER (64.69 ± 42.31) mg/24 h;TT 基因型 17 例,UAER (45.41 ± 21.77) mg/24 h,不同基因型间的 UAER 差异无统计学意义($F = 1.489$, $P > 0.05$)。

3 UAER 相关因素多元线性回归分析(表 1) UAER 与 Hcy 的水平具有线性回归关系,为正相关,有统计学意义($r = 0.674$, $P < 0.05$),与其他因素相关性无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

DN 属中医学消渴病范畴,消渴病的发生、发展、变化均与“血瘀”有关,血瘀贯穿疾病始终^[5]。研究表明兼血瘀证患者具有更高的 UAER 水平,可见活血化瘀法是治疗糖尿病肾病的重要法则。

表 1 UAER 相关因素多元线性回归分析

变量	回归系数	标准误	标准回归系数	t	P
叶酸(μg/L)	-1.135	1.170	-0.130	-0.970	0.337
HbA1c(%)	3.642	3.185	0.172	1.144	0.258
FBG(mmol/L)	-1.828	2.506	-0.140	-0.729	0.469
PBG(mmol/L)	0.433	1.372	0.059	0.316	0.753
Hcy(μmol/L)	1.078	0.529	0.277	2.039	0.046
TG(mmol/L)	-0.628	6.283	-0.015	-0.100	0.921
TC(mmol/L)	-2.907	4.675	-0.098	-0.610	0.544
HDL-C(mmol/L)	21.898	18.984	0.179	1.153	0.254
LDL-C(mmol/L)	3.778	6.376	0.088	0.592	0.556

近年来研究表明高 Hcy 血症是微血管病变的独立危险因素,与糖尿病肾病的发生发展具有一定关系^[6]。最近有学者提出 Hcy 水平升高可作为肾损害的标志物的说法^[7]。本课题研究结果表明 UAER 与 Hcy 水平具有线性回归关系,为正相关,Hcy 水平可以反映肾脏损害的程度。

Hcy 代谢过程中的 3 个主要酶(即:甲基四氢叶酸还原酶、蛋氨酸合成酶和胱硫醚-β 合成酶)遗传缺陷可影响血浆中 Hcy 的浓度^[8]。MTHFR 基因 C677T 错义突变,引起该酶活性降低是高 Hcy 血症形成的主要机制。有研究表明 MTHFR 基因 C677T 位点突变的基因型增加了糖尿病并发肾病的危险^[9]。有鉴于此,本研究探讨 UAER 与基因型的关系,结果表明不同基因型的 UAER 差异无统计学意义,不同基因型组间两两比较差异也无统计学意义($P>0.05$)。说明对已经发生糖尿病肾病患者 MTHFR 基因 C677T 位点突变对 UAER 无明显影响,本研究样本量较少,MTHFR 基因 C677T 位点突变对糖尿病合并肾病的预后是否有影响,需要进一步研究。UAER 与血糖、血脂、叶酸、HbA1c 的相关性无统计学意义,本研究样本量较少,它们之间是否存在相关性,需待进一步研究确实。

参 考 文 献

[1] 丰罗菊,卢明俊.糖尿病肾病患者空腹血糖及糖化血红蛋白水平控制研究[J].中国慢性病预防与控制,2006,14(3):172-174.
Feng LJ, Lu MJ. Study on controlling level of fasting blood glucose and glucosylated hemoglobin for nephropathy in diabetic patients[J]. Chin J Prev Contr Chronic No-commun dis, 2006, 14 (3) :172-174.

[2] 陈思娇,魏敏,高阳,等.伟素治疗微量白蛋白尿期糖尿病肾病的疗效[J].中国循证医学杂志,2008,8(3):162-166.
Chen SJ, Wei M, Gao Y, et al. A randomized controlled

trial of sulodexide for early diabetic nephropathy[J]. Chin J Evid-based Med, 2008, 8 (3) :162-166.

[3] 王海燕主编.肾脏病学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,1996:949-967.
Wang HY, editor. Nephrology[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996:949-967.

[4] 郑筱萸主编.中药新药临床研究指导原则[S].北京:中国医药科技出版社,2002:233-237,283-285.
Zheng XY, editor. Guiding principle of clinical research on new drugs of traditional Chinese medicine[S]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2002:233-237, 283-285

[5] 葛芳芳,江泳,徐蓉娟.2型糖尿病血瘀证与血管内皮功能关系的临床研究[J].上海中医药杂志,2008,42(3):31-33.
Ge FF, Jiang Y, Xu RJ. Clinical study on correlativity between blood-stasis syndrome of type 2 diabetic mellitus and vascular endothelial function[J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2008, 42(3):31-33.

[6] Chico A, Perez A, Cordoba A, et al. Plasma homocysteine is related to albumin excretion rate in patients with diabetes mellitus; a new link between diabetic nephropathy and cardiovascular disease[J]. Diabetologia, 1998, 41 (6) :684-693.

[7] Potter K, Hankey GJ, Green DJ, et al. Homocysteine or renal impairment: which is the real cardiovascular risk factor? [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28 (6) :1158.

[8] 孙磊,陈丽,任建民,等.同型半胱氨酸及其相关酶基因多态性与糖尿病周围神经病变的关系[J].中华内分泌代谢杂志,2004,20(6):536-537.
Sun L, Chen L, Ren JM, et al. Relationship of plasma homocysteine and gene polymorphism of homocysteine metabolism related enzyme with diabetic peripheral neuropathy [J]. Chin J Endocrinol Metab, 2004, 20(6):536-537.

[9] 曹宏,黄德芳,毛莉,等.血清同型半胱氨酸水平、亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与糖尿病肾病相关性研究[J].南京医科大学学报(自然科学版),2005,25(4):249-251.
Cao H, Huang DF, Mao L, et al. Association of homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism with nephropathy in type 2 diabetes mellitus[J]. J Nanjing Med Univ (Nat Sci), 2005, 25(4):249-251.

(收稿:2009-11-30 修回:2010-01-11)