

骨化三醇联合缬沙坦对糖尿病肾病肾素、血管紧张素及血管紧张素转换酶表达的影响

施 磊

北京怀柔医院 肾内科, 北京 101400

摘要: 目的 探讨骨化三醇联合缬沙坦对糖尿病肾病(DN)患者肾素、血管紧张素II(Ang II)、血管紧张素转换酶(ACE)表达的影响。方法 按随机数字表法将2014年1月—2017年7月北京怀柔医院接诊的60例DN患者分为两组,对照组30例接受缬沙坦治疗,观察组30例接受骨化三醇联合缬沙坦治疗。连续用药6个月后,比较两组肾素、Ang II、肌酐(Scr)、ACE、ACE2、糖代谢指标[糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FPG)]、蛋白尿相关指标[24 h尿蛋白、尿蛋白排泄率(UAER)、尿微量白蛋白(mAlb)、尿 α 1-微球蛋白(α 1-MG)]水平。结果 治疗后观察组Scr、Ang II、肾素水平分别为(72.15 \pm 7.19) μ mol/L、(81.24 \pm 9.12) ng/L、(104.32 \pm 10.37) ng/L,对照组Scr、Ang II、肾素水平分别为(83.64 \pm 7.43) μ mol/L、(86.36 \pm 10.09) ng/L、(117.69 \pm 8.75) ng/L,差异具有统计学意义($P < 0.05$);观察组24 h尿蛋白、UAER、mAlb、 α 1-MG水平低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);观察组和对照组ACE水平分别为(7.79 \pm 2.31) pg/mL、(14.82 \pm 4.56) pg/mL,差异具有统计学意义($P < 0.05$);两组ACE2、HbA1c、FPG水平比较,差异无统计学意义。结论 对DN患者采用骨化三醇联合缬沙坦治疗效果显著,能有效抑制肾脏ACE表达,降低Ang II、肾素水平,改善蛋白尿症状,提高肾功能,对延缓DN病情发展起到重要的作用。

关键词: 糖尿病肾病; 缬沙坦; 骨化三醇; 尿血管紧张素转换酶; 血管紧张素II

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)06-1189-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.06.026

Effect of valsartan combined with calcitriol on expression of renin, angiotensin and angiotensin converting enzyme in patients with diabetic nephropathy

SHI Lei

Department of Nephrology, Beijing Huairou Hospital, Beijing 101400, China

Abstract: Objective To investigate the effect of valsartan combined with calcitriol on expression of renin, angiotensin II (Ang II) and angiotensin converting enzyme in patients with diabetic nephropathy (DN). **Methods** 60 DN patients admitted into our hospital from January 2014 to July 2017 were divided into two groups by random number table, 30 cases in each group. Control group was given valsartan, while research group was treated with valsartan combined with calcitriol. After six-month treatment, the renin, Ang II, serum creatinine (Scr), ACE, ACE2, glucose metabolism indexes [haemoglobin A1C (HbA1c), fasting plasma glucose (FPG)], proteinuria-related indexes [24 h urinary protein, urine albumin excretion rate (UAER), microalbuminuria (mAlb), α 1 - microglobulin (α 1-MG)] were compared between the two groups. **Results** After treatment, the levels of Scr, Ang II, renin in research group [(72.15 \pm 7.19) μ mol/L, (81.24 \pm 9.12) ng/L, (104.32 \pm 10.37) ng/L] and control group [(83.64 \pm 7.43) μ mol/L, (86.36 \pm 10.09) ng/L, (117.69 \pm 8.75) ng/L] were compared, there was statistical difference ($P < 0.05$). The levels of 24 h urinary protein, UAER, mAlb, α 1-MG in research group were lower than those in control group ($P < 0.05$). The levels of ACE in research group and control group were (7.79 \pm 2.31) pg/mL and (14.82 \pm 4.56) pg/mL, with statistical difference ($P < 0.05$). There was no statistical difference in the levels of ACE2, HbA1c, FPG between the two groups. **Conclusion** Valsartan combined with calcitriol in treatment of DN is effective, it can restrain renal ACE expression, decrease the levels of Ang II and renin, improve proteinuria, increase renal function and delay the development of DN.

Key words: diabetic nephropathy; valsartan; calcitriol; urinary angiotensin converting enzyme; angiotensin II

收稿日期: 2018-11-22

第一作者: 施磊, 研究方向为肾内科。Tel: 13381437066 E-mail: 2798605293@qq.com

糖尿病肾病(DN)为糖尿病慢性并发症之一,主要特征为尿蛋白排泄量增加,其会使肾损害进一步加重,促使DN疾病进展,如治疗不及时可发展为终末期肾衰,对患者的生活质量和生命安全造成严重的影响^[1-2]。临床针对DN治疗以保护肾功能、降低尿蛋白为主。血管紧张素II受体拮抗剂(ARBs)为治疗DN一线药物,能减少尿蛋白、控制血压、降低肾小球内压力,进而延缓肾功能进展^[3]。部分研究显示,对DN患者采用维生素D治疗能降低尿蛋白,具有调节钙磷代谢、血糖、血压等作用^[4]。骨化三醇属机体维生素D3的活性产物。本研究选择北京怀柔医院接诊的60例DN患者为研究对象,分析采用骨化三醇联合缬沙坦对其治疗效果,旨在为临床制定治疗方案提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 入选标准

(1)纳入标准:符合《糖尿病肾病的流行病学和诊断标准》^[5]中DN诊断标准;自愿参与本次研究,并签署知情同意书者;年龄 ≥ 18 岁;认知功能正常者;尿蛋白定量 > 0.5 g/24 h。

(2)排除标准:严重感染者;过敏体质者;近期内发生过糖尿病急性并发症,如乳酸酸中毒、糖尿病酮症酸中毒、低血糖昏迷、高血糖高渗状态等;入组前3个月内接受过血管紧张素转化酶抑制剂、利尿剂等治疗者;心、肝等重要器官不全者;肾病综合征;恶性肿瘤者;精神疾患,依从性差者;常发生低血压和难治性高血压患者。

1.2 研究对象

选择2016年1月—2017年4月北京怀柔医院接诊的60例DN患者为研究对象,经本院伦理委员会审核批准。将60例患者按随机数字表法分为两组,对照组30例,其中女12例,男18例;年龄48~82岁,平均年龄(61.42 \pm 5.61)岁;糖尿病病程2~15年,平均病程(6.82 \pm 2.41)年。观察组30例,其中女14例,男16例;年龄48~81岁,平均年龄(61.43 \pm 5.64)岁;糖尿病病程2~14年,平均病程(6.80 \pm 2.39)年。两组对象基本资料比较,差异无统计学意义,具有可对比性。

1.3 方法

入院后,两组患者均严格控制饮食、接受口服降糖药物、适度运动等。给予对照组口服缬沙坦片(北京诺华制药有限公司,国药准字H20173014,规格80 mg)治疗,1次/d,80 mg/次,连续治疗6个月。观察组在此基础上给予口服骨化三醇软胶

囊(青岛正大海尔制药有限公司,国药准字H20143141,规格0.5 μ g)治疗,初始剂量0.25 μ g/次,1次/d,1周后改为至0.5 μ g/次,1次/d。连续治疗6个月。治疗期间隔期对患者的血钾、血钙进行复查,监测患者是否存在高钾血症、高钙血症,若出现则立即停止用药,结束试验。

1.4 观察指标

分别采集两组患者治疗前、治疗6个月后空腹肘静脉血10 mL,在室温下放置30 min后,进行10 min的3 000 r/min离心操作,取上清液,将其放置于-70 $^{\circ}$ C冰箱中保存待用。

1.4.1 血肌酐(Scr)、血管紧张素II(Ang II)、肾素采用酶联免疫吸附法测定Scr,仪器:美国bio-radimark酶标仪;以放射免疫分析法测定Ang II和肾素水平,仪器为购自北京市核海高技术有限公司的 γ 放射免疫分析仪(HH6003)。

1.4.2 糖代谢指标以胶乳凝集法测定糖化血红蛋白(HbA1c),以葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖(FPG),仪器为日立7150全自动生化分析仪。

1.4.3 蛋白尿相关指标留取两组患者治疗前、治疗6个月后24 h尿液,采用免疫比浊法测定24 h尿蛋白、尿蛋白排泄率(UAER)、尿微量白蛋白(mAlb)、尿 $\alpha 1$ 微球蛋白($\alpha 1$ -MG)。仪器为日立7150全自动生化分析仪。

1.4.4 血管紧张素转换酶(ACE)、ACE2水平分别收集两组患者治疗前、治疗6个月后50 mL空腹晨尿,进行15 min的4 000 r/min离心操作,弃上清,再次实施5 min的1 000 r/min离心操作,弃上清,随后在沉淀物加入1 mL Trizol吹打混匀,将其放置于-70 $^{\circ}$ C冰箱中保存待用。采用双抗体夹心法-酶联免疫吸附检测ACE、ACE2水平,仪器:美国bio-radimark酶标仪。试纸盒均购自上海西唐生物科技有限公司。

1.5 统计学方法

采用SPSS19.0统计学软件,使用 $\bar{x}\pm s$ 表示计量资料,组间比较采用 t 检验;计数资料用百分比表示,采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 Scr、Ang II、肾素

两组患者均顺利完成试验。治疗前两组Scr、Ang II、肾素水平比较,差异无统计学意义;治疗后两组Scr、Ang II、肾素水平均明显降低,同组治疗前后比较差异有统计学意义($P < 0.05$);且观察组降低幅度大于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 ACE、ACE2水平

治疗前两组ACE、ACE2水平比较,差异无统计学意义;治疗后两组ACE、ACE2水平均明显降低,

同组治疗前后比较差异有统计学意义($P < 0.05$);观察组ACE水平低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);两组ACE2水平比较差异无学意义。见表2。

表1 两组Scr、Ang II、肾素水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison on Scr, Ang II and renin levels between two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	Scr/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)		Ang II/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)		肾素/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照	30	107.05 \pm 8.34	83.64 \pm 7.43*	100.56 \pm 12.36	86.36 \pm 10.09*	131.45 \pm 7.32	117.69 \pm 8.75*
观察	30	107.02 \pm 8.31	72.15 \pm 7.19#	100.53 \pm 12.41	81.24 \pm 9.12#	131.42 \pm 7.39	104.32 \pm 10.37#

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表2 两组ACE、ACE2水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison on ACE and ACE2 levels between two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	ACE/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)		ACE2/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照	30	50.98 \pm 12.43	14.82 \pm 4.56*	24.16 \pm 2.89	22.51 \pm 3.41*
观察	30	50.96 \pm 12.38	7.79 \pm 2.31#	24.19 \pm 2.91	22.18 \pm 3.79*

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

2.3 蛋白尿相关指标

治疗前两组24 h尿蛋白、UAER、mAlb、 α 1-MG水平比较,差异无统计学意义;治疗后两组24 h尿蛋白、UAER、mAlb、 α 1-MG水平均明显降低,同组治疗前后比较差异有统计学意义($P < 0.05$);观察组

降低幅度大于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 糖代谢指标

两组治疗前、后HbA1c、FPG水平比较,差异无统计学意义。见表4。

表3 两组24 h尿蛋白、UAER、mAlb、 α 1-MG水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison on 24-hour urinary protein, UAER, mAlb and α -1-MG levels between two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	24 h尿蛋白/($\text{mg} \cdot 24\text{h}^{-1}$)		UAER/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)		mAlb/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)		α 1-MG	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照	30	525.36 \pm 47.16	362.28 \pm 26.41*	158.31 \pm 14.56	130.42 \pm 10.06*	231.56 \pm 29.46	136.82 \pm 19.41*	109.42 \pm 26.34	96.43 \pm 17.59*
观察	30	525.37 \pm 47.12	163.35 \pm 19.46#	158.29 \pm 14.54	101.06 \pm 8.19#	231.78 \pm 29.52	83.64 \pm 21.25#	109.51 \pm 26.37	75.73 \pm 12.66#

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表4 两组糖代谢指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison on glycometabolism indicators between two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	HbA1c/%		FPG/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照	30	6.57 \pm 0.62	6.48 \pm 0.55	7.26 \pm 0.67	7.21 \pm 0.66
观察	30	6.56 \pm 0.59	6.52 \pm 0.51	7.27 \pm 0.65	7.23 \pm 0.67

3 讨论

DN是由慢性高血糖所致的肾损伤,早期表现

为微量白蛋白尿,后逐渐发展为蛋白尿,合并肾功能损伤,进而发展为终末期肾功能损伤,是糖尿病患者主要的死亡因素。临床针对DN患者的治疗,除控制血压、血糖外,最基本的治疗手段为降低蛋白尿,以延缓病情发展。肾脏血流动力学异常、炎症、氧化应激、肾脏病理结构改变等与DN尿蛋白的产生机制有关,其中血流动力学异常起到关键作用,以肾小球高灌注、高压、高滤过等为主要表现^[6]。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAS)在血流动力学改变中发挥关键性作用,参与肾病的病理过

程^[7]。肾小球高滤过能增加肾小球毛细血管压力,导致内皮细胞稳态失衡,对其功能和形态造成影响,内皮细胞稳态失衡会导致血流异常加重,形成恶性循环^[8]。毛细血管处于扩张状态,会作用于上皮细胞和系膜细胞,促进细胞外基质生成,导致基底膜增厚和系膜区增宽;毛细血管扩张会减少其黏附的足细胞数量,造成细胞凋亡速度加快,进而造成蛋白尿、肾小球硬化^[7]。DN患者的RAS激化与细胞外基质积聚、肾小球毛细血管通透性增加和基底膜增厚以及肾小球高滤过等有密切联系。因此治疗DN的关键在于抑制RAS系统。

DN的发生与发展与Ang II的1型受体(AT1)、ACE、醛糖还原酶等基因多态性有关。Ang II的生物学效应和冠心病、高血压、糖代谢紊乱、心力衰竭等多种心血管疾病关系密切,是RAS的主要活性肽,其能结合细胞膜上的特异性受体发挥生理作用。ACE是RAS的重要活性因子,能促进Ang II形成,经非血流动力学和血流动力学效应引起肾小球间质纤维化及硬化。此外,ACE还能通过收缩小动脉平滑肌,增加外周阻力;增高交感神经兴奋性,增加儿茶酚胺分泌,能刺激肾上腺皮质醛固酮分泌^[9]。因此,Ang II和ACE的表达生成过量是DN发生、发展的重要因素。本研究结果显示,联合缬沙坦、骨化三醇治疗DN在降低Scr、Ang II、肾素、24 h尿蛋白、UAER、mAlb、 α 1-MG、ACE水平等方面效果均明显优于缬沙坦单一用药。ARBs能作用于Ang II而阻断AT1使肾小球灌注、高压、高滤过降低,能延缓小管间质纤维化和系膜细胞增生,使滤过膜通透性降低,进而降低机体尿蛋白水平^[10]。ARBs可使产生Ang II的非ACE途径和ACE途径完全阻断,避免Ang II与AT₁R相结合,能使RAS的末端阻断,抑制心脏、肾上腺和血管的醛固酮基因表达与合成,不会造成醛固酮逃逸,能发挥全面抵抗Ang II的作用^[11]。缬沙坦为非肽类血管紧张素II(AT)受体拮抗剂,可从结合部位将Ang II解离,对肾功能起到保护作用,对AT1受体介导的肾上腺球细胞释放醛固酮可起到抑制作用^[12]。

维生素D属类固醇激素,能经阻滞肾素基因转录,抑制RAS系统;而维生素D受体能经调节维生素D活动,发挥抑制血管紧张素和肾素的作用^[13]。维生素D可抑制如肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6等炎症介质和炎症因子分泌、功能,改善肾脏病理结构,进而保护肾脏功能;能抑制核因子 κ B活性而阻滞高糖介导的血管紧张素、单核细胞趋化因子-1,

对炎症诱导的纤溶酶原激活物抑制剂-1表达起到抑制作用,保护肾脏^[14]。维生素D能使抗纤维化因子的表达增加,抑制TGF- β 表达和其诱导的上皮-间质细胞转变,可促进细胞外基质合成,减慢肾脏纤维化^[15]。骨化三醇是维生素D3的重要代谢活性产物,其可阻滞炎症因子分泌,调节免疫功能,抑制RAS系统活性,保护肾脏功能;能减少尿蛋白排泄,同时具有改善胰岛素抵抗作用。此外,骨化三醇还具有促进细胞分化、抑制细胞增殖、抗氧化应激等作用,进而改善患者病情^[16]。缬沙坦与骨化三醇联合治疗能发挥协同作用,缬沙坦可减少肾小球内高压、高滤过与高灌注,使肾小球滤过膜通透性得以改善,保护足细胞,使细胞外基质的蓄积减少。在此其治疗的基础上给予骨化三醇治疗,其能进一步发挥抑制系膜细胞增生和免疫调节,还是肾小管和肾小球间质纤维化等多种抑制,对肾脏发挥更好的保护作用。本研究因研究时间和精力有限仍存在一定的不足之处,如纳入样本量较少,观察时间较短,未对两组用药安全性进行统计分析,未分析两组炎症因子水平,未与他人研究进行对比分析等,后期仍需进一步研究。

综上所述,对DN患者采用骨化三醇联合缬沙坦治疗效果显著,能有效抑制肾脏ACE表达,降低Ang II、肾素水平,改善蛋白尿症状,提高肾功能,对延缓DN病情发展起到重要的作用,值得临床推广。

参考文献

- [1] 胡俊华, 杨 朔, 王亚娟, 等. 加味地黄汤联合缬沙坦片治疗早期糖尿病肾病的临床疗效观察 [J]. 中华全科医师杂志, 2017, 16(7): 545-547.
- [2] 曹 鑫. 前列地尔联合缬沙坦治疗糖尿病肾病患者的疗效 [J]. 医疗装备, 2017, 30(15): 107-108.
- [3] 熊 盈, 孙 艳, 李 英, 等. 来氟米特联合缬沙坦治疗早期糖尿病肾病的临床疗效及其对肾功能的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(3): 119-122.
- [4] 何立芳, 李青科, 张秀香, 等. 骨化三醇对糖尿病肾病患者尿白蛋白排泄率影响的研究 [J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(2): 142-145.
- [5] 陆菊明, 潘长玉. 糖尿病肾病的流行病学和诊断标准 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2002, 1(3): 163-165.
- [6] 周美兰, 景 蕊, 赵丽娟, 等. 雷公藤多苷联合缬沙坦治疗糖尿病肾病97例疗效观察 [J]. 陕西医学杂志, 2017, 46(9): 1266-1267, 1272.
- [7] 张 凌, 崔光淑, 黄金华, 等. 贝前列素钠联合缬沙坦治疗早期糖尿病肾病的疗效观察 [J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2017, 14(5): 63-66.

- [8] 赵 静, 王奇金, 魏 苏, 等. 硫辛酸联合缬沙坦治疗早期糖尿病肾病的疗效及安全性分析 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(10): 1931-1933, 1937.
- [9] 王 彦, 唐 琳. 舒洛地特注射液联合缬沙坦胶囊治疗糖尿病肾病的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(21): 1953-1956.
- [10] Zhou G Y, Cheung A K, Liu X, et al. Valsartan slows the progression of diabetic nephropathy in db/db mice via a reduction in podocyte injury, and renal oxidative stress and inflammation [J]. Clin Sci, 2014, 126(10): 707-720.
- [11] 唐 俊, 左满花. 前列地尔联合缬沙坦治疗早期糖尿病肾病肾功能及氧化应激反应评估 [J]. 海南医学院学报, 2017, 23(5): 717-720.
- [12] Wang W D, Qiu L R, Howard A, et al. Protective effects of aliskiren and valsartan in mice with diabetic nephropathy [J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2014, 15(4): 384-395.
- [13] 刘翠兰, 刘 华, 程锦绣, 等. 骨化三醇联合羟苯磺酸钙对糖尿病腹膜透析患者微炎症及营养状态的影响 [J]. 中国临床医生杂志, 2017, 45(3): 67-70.
- [14] Nakai K, Fujii H, Kono K, et al. Vitamin D activates the nrf2-keap1 antioxidant pathway and ameliorates nephropathy in diabetic rats [J]. Am J Hypertens, 2014, 27(4): 586-595.
- [15] Yu R, Mao J F, Yang Y, et al. Protective effects of calcitriol on diabetic nephropathy are mediated by down regulation of TGF- β 1 and CIP4 in diabetic nephropathy rat [J]. Int J Clin Exp Patho, 2015, 8(4): 3503-3512.
- [16] 王文菊, 孔云龙. 二甲双胍联合骨化三醇对2型糖尿病患者肾功能及视网膜的保护作用 [J]. 中国药房, 2016, 27(30): 4227-4229, 4230.