

本文引用:彭亚军,胡淑娟,张伟宁,刘秀,王诚喜,喻嵘. 2型糖尿病肾病Ⅲ期患者气阴两虚、瘀毒互结证与内皮细胞功能障碍相关性分析[J].湖南中医药大学学报,2022,42(1):129-133.

2型糖尿病肾病Ⅲ期患者气阴两虚、瘀毒互结证 与内皮细胞功能障碍相关性分析

彭亚军¹,胡淑娟²,张伟宁¹,刘秀²,王诚喜³,喻嵘^{2*}

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208;

3.衡阳市中医院,湖南衡阳421001)

【摘要】目的 分析2型糖尿病肾病Ⅲ期患者气阴两虚、瘀毒互结证与内皮细胞功能障碍的相关性,为糖尿病肾病早期肾脏损伤的中医辨证提供一定的客观化依据。**方法** 选取2020年10月至2021年4月湖南中医药大学第一附属医院内分泌、肾病门诊及住院就诊的病人,符合纳入标准的2型糖尿病肾病Ⅲ期气阴两虚、瘀毒互结证患者20例,2型糖尿病患者20例,检测两组患者内皮细胞功能障碍相关性指标,并分析两组各项指标的差异。**结果** 两组患者内皮细胞功能障碍相关指标比较,2型糖尿病肾病Ⅲ期气阴两虚、瘀毒互结证组血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)均较2型糖尿病组升高,差异有统计学意义($P<0.05$),内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)及一氧化氮(nitric oxide, NO)较2型糖尿病组稍有下降,但差异无统计学意义($P>0.05$),血管内皮细胞钙粘连蛋白(VE-cadherin)、神经型钙粘连蛋白(N-cadherin)较2型糖尿病组表达下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。内皮细胞功能障碍相关指标与尿微量白蛋白/肌酐比值(urine albumin-to-creatinine ratio, UACR)相关性分析结果显示,UACR与VEGF($r=0.921$)、UACR与ET-1($r=0.852$)、UACR与VE-cadherin($r=0.918$)、UACR与N-cadherin($r=0.884$)具有相关性($P<0.05$)。而UACR与eNOS($r=0.271$)、UACR与NO($r=0.731$)无明显相关性。**结论** 内皮细胞功能障碍且血清学指标变化可能是早期肾损害的敏感指标;内皮细胞功能障碍与中医气阴两虚、瘀毒互结证之间可能存在一定的相关性,可以作为客观辨识2型糖尿病肾病Ⅲ期气阴两虚、瘀毒互结证的部分生物学基础及依据。

【关键词】 2型糖尿病肾病Ⅲ期;气阴两虚;瘀毒互结;内皮细胞功能障碍

【中图分类号】R259

【文献标志码】A

【文章编号】doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.01.025

Analysis of the correlation of the syndrome of deficiency of both Qi and Yin and intertwined blood stasis and toxin with endothelium dysfunction in patients with type 2 diabetic nephropathy—stage III

PENG Yajun¹, HU Shujuan², ZHANG Weining¹, LIU Xiu², WANG Chengxi³, YU Rong^{2*}

(1. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Hengyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hengyang, Hunan 421001, China)

【Abstract】Objective To analyze the correlation of the syndrome of deficiency of both Qi and Yin and intertwined blood stasis and toxin in type 2 diabetic nephropathy (DN)—stage III with endothelium dysfunction and thereby provide a certain objective basis for the traditional Chinese medicine (TCM) syndrome differentiation of early kidney damage in DN. **Methods** Patients with

【收稿日期】2021-09-05

【基金项目】国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项(2018YFC1704400);中国博士后面上资助项目(2020M682579);湖南省中医药科研计划重点项目(2021027);湖南省卫生健康委科研计划项目(202103052112)。

【第一作者】彭亚军,男,副主任医师,研究方向:中医药防治慢性肾脏病研究。

【通信作者】*喻嵘,女,教授,博士研究生导师,E-mail: yuron@21cn.com。

endocrinology and nephropathy outpatients and inpatients in The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine from October 2020 to April 2021 were selected, including 20 patients with The syndrome of deficiency of both Qi and Yin and intertwined blood stasis and toxin with type 2 DN-stage III, and 20 patients with type 2 diabetes. Endothelium dysfunction-related indicators of two groups of patients were measured, and the difference between two groups were analyzed. **Results** According to comparison of related indicators of endothelial cell dysfunction between the two groups, the syndrome of deficiency of both Qi and Yin and the intertwined blood stasis and toxin with type 2 DN-stage III group showed higher vascular endothelial growth factor (VEGF) and endothelin-1 (ET-1) than the type 2 diabetes group, the difference was statistically significant ($P<0.05$), the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and nitric oxide (NO) were slightly lower than the type 2 diabetes group, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$), the VE-cadherin and N-cadherin expression was lower than the type 2 diabetes group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of correlation analysis between indicators related to endothelial dysfunction and urine albumin-to-creatinine ratio (UACR) showed that, UACR was correlated with VEGF ($r=0.921$), UACR was correlated with ET-1 ($r=0.852$), UACR was correlated with VE-cadherin ($r=0.918$), UACR was correlated with N-cadherin ($r=0.884$) ($P<0.05$). There was no significant correlation between UACR and eNOS ($r=0.271$), UACR and NO ($r=0.731$). **Conclusion** Endothelium dysfunction and changes in serological indicator may be sensitivity indicators of early kidney damage. Endothelium dysfunction shows certain correlation to the syndrome of deficiency of both Qi and Yin and the intertwined blood stasis and toxin according to TCM. Therefore, it may serve as a partial biological basis for the objective identification of the syndrome of deficiency of both Qi and Yin and the intertwined blood stasis and toxin in type 2 DN-stage III.

[**Keywords**] type 2 diabetic nephropathy-stage III; deficiency of both Qi and Yin; intertwined blood stasis and toxin; endothelium dysfunction

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是糖尿病的微血管并发症之一,严重威胁糖尿病患者生命健康。2015年至2017年中华医学会内分泌学分会在全国31个省的糖尿病流行病学调查显示,我国18岁及以上人群糖尿病患病率为11.2%^[1]。其中,21.3%的糖尿病患者伴有慢性肾脏疾病,DKD已超过肾小球肾炎成为我国住院患者慢性肾脏疾病的首要病因^[2]。DKD具有发病隐匿的特点,早期可表现为微量蛋白尿期,一旦进入临床显性蛋白尿期,相对其他肾脏疾病进入终末期肾病进展快且预后更差^[3]。因此,进行早期2型DKD诊断,有利于早期治疗,能够延缓DKD的进展。本课题组在十余年的前期临床、文献调研与实验研究^[4-5]中发现:2型DKD III期的主要病理机制为气阴两虚、瘀毒互结证。本研究通过观察分析2型DKD III期患者气阴两虚、瘀毒互结证与内皮细胞功能障碍的相关性,为糖尿病早期肾脏损伤的中医辨证提供一定的客观化依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

40例患者均来自2020年10月至2021年4月湖南中医药大学第一附属医院内分泌、肾病门诊及住院就诊的病人,按照就诊先后顺序纳入2型

DKD III期气阴两虚、瘀毒互结证组(简称DKD III期组)20例,其中男8例、女12例,年龄(55.93 ± 2.24)岁,病程(5.05 ± 1.24)年;2型糖尿病组(简称T2DM组)20例,其中男11例、女9例,年龄($49.62.85\pm 3.09$)岁,病程(6.05 ± 1.03)年。两组患者性别、年龄及病程比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究获得医院伦理委员会的审核同意(审批号HN-LL-LW-2021-056),所有患者均知情同意,自愿参加本研究。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 2型糖尿病诊断标准符合《中国2型糖尿病防治指南(2020版)》^[6]。DKD III期诊断标准符合《中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南(2019版)》^[7]及Mogensen分期标准^[8]。

1.2.2 中医诊断及辨证标准 参照《糖尿病肾病中医防治指南(2011版)》^[9]气阴两虚、瘀毒互结型。主症:神疲乏力,气短懒言,尿频尿多,手足心热。次症:咽干口渴,尿浊,肢体麻木。舌象:舌体瘦薄,质红或淡红,苔少而干,脉沉细无力;舌色暗,舌下静脉迂曲,瘀点瘀斑,脉沉弦涩。具备以上主症中的2项+次症1项+舌象1项即可确诊。

1.3 纳入标准

(1)符合2型糖尿病诊断标准;(2)DKD III期诊

断标准:3个月内至少2次随机晨尿尿蛋白(urine albumin creatine ratio, UACR) 30~300 mg/g,中医辨证为气阴两虚、瘀毒互结证;(3)既往无高血压病史;肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR) ≥ 90 mL/(min \cdot 1.73 m²);(4)年龄30~70岁;(5)空腹血糖控制在6~8 mmol/L,餐后2 h血糖控制在8~10 mmol/L。

1.4 排除标准

(1)妊娠或哺乳期妇女;(2)近一个月有糖尿病酮症酸中毒及严重感染者;(3)有严重的心脑血管病、肝脏及造血系统等并发症;(4)其他原因继发性肾脏病。

1.5 观察指标

1.5.1 尿液检测 使用一次性尿液采集管收集中段随机尿标本5 mL,标本采集后2 h内采用速率散射比浊法分别测定随机尿中微量白蛋白与肌酐水平并计算UACR值。

1.5.2 生化检测 患者血液标本均为空腹静脉血,由湖南中医药大学第一附属医院检验科自动生化仪检测糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FG)、餐后2 h血糖(2hPBG),以及肝功能[谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、总胆固醇(CH)]、肾功能[血尿素氮(BUN)、肌酐(CREA)、尿酸(UA)、肾小球滤过率(eGFR)]、血脂[甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)]检测。

1.5.3 内皮细胞功能障碍相关指标检测 患者清晨空腹状态下取静脉血5 mL,血液用离心机4℃,2 500 r/min离心5 min,取上层清液,与受检者血清存于-20℃冰箱保存,收集完毕后,统一采用酶联免疫吸附法

检测血清血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)(批号:YD-11554)、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)(批号:YD-11095)、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)(批号:YD-13667)、一氧化氮(nitric oxide, NO)(批号:YD-11627)、血管内皮细胞钙粘连蛋白(VE-cadherin)(批号:YD-12196)、神经型钙粘连蛋白(N-cadherin)(批号:YD-12432)表达。试剂均来自厦门仑昌硕生物科技有限公司,操作严格按照说明书完成。

1.6 统计学方法

所有数据均使用SPSS 23.0软件包进行统计学分析。计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。两组间比较,计量资料符合正态分布的采用 t 检验,方差不齐时采用校正 t 检验;不符合正态分布的采用非参数检验。采用Pearson进行相关性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者生化检测及UACR比较

两组患者的ALB、AST、ALT、CREA、BUN、FG、2hPBG、HbA1c、eGFR、UA、TG、CH、HDL、LDL比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与T2DM组相比,DKDⅢ期组UACR增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 两组患者内皮细胞功能障碍相关指标比较

两组患者内皮细胞功能障碍相关指标比较,DKDⅢ期组VEGF、ET-1均较T2DM组有升高,差异有统计学意义($P<0.05$),eNOS及NO较T2DM组稍有下降,但差异无统计学意义($P>0.05$),VE-cad-

表1 两组患者生化检测及UACR比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	ALB/(g/L)	AST/(U/L)	ALT/(U/L)	CREA/(μ mol/L)	BUN/(mmol/L)
T2DM组	20	41.77 \pm 1.58	19.56 \pm 10.57	20.54 \pm 15.41	61.80 \pm 18.31	5.22 \pm 1.62
DKDⅢ期组	20	40.13 \pm 1.69	28.59 \pm 22.67	29.78 \pm 29.33	72.86 \pm 11.64	5.34 \pm 1.59
<i>t</i> 值		0.706	-0.1398	-1.080	-1.975	-0.204
<i>P</i> 值		0.486	0.173	0.289	0.060	0.840
组别	<i>n</i>	FG/(mmol/L)	2hPBG/(mmol/L)	HbA1c/%	eGFR/(mL/min)	UACR/(mg/g)
T2DM组	20	6.55 \pm 0.89	9.37 \pm 1.09	7.20 \pm 0.70	99.38 \pm 14.95	8.52 \pm 4.92
DKDⅢ期组	20	6.33 \pm 0.78	8.84 \pm 0.84	7.23 \pm 0.62	95.20 \pm 16.73	155.26 \pm 130.49*
<i>t</i> 值		0.717	1.497	-0.136	0.722	-4.352
<i>P</i> 值		0.479	0.146	0.892	0.476	0.001
组别	<i>n</i>	UA/(μ mol/L)	TG/(mmol/L)	CH/(mmol/L)	HDL/(mmol/L)	LDL/(mmol/L)
T2DM组	20	233.53 \pm 89.0	1.30 \pm 0.70	3.91 \pm 0.89	1.13 \pm 0.36	2.62 \pm 0.96
DKDⅢ期组	20	303.66 \pm 99.73	1.77 \pm 0.68	4.80 \pm 1.74	0.87 \pm 0.39	2.83 \pm 1.46
<i>t</i> 值		-0.2002	-0.1855	-1.767	1.823	-4.454
<i>P</i> 值		0.055	0.074	0.088	0.079	0.079

注:与T2DM组比较,* $P<0.05$

表2 两组患者内皮细胞功能障碍相关指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	VEGF/(pg/mL)	ET-1/(pg/mL)	eNOS/(U/mL)	NO/(μ mol/L)	VE-cadherin/(μ g/mL)	N-cadherin/(μ g/mL)
T2DM 组	20	58.89 \pm 32.72	89.25 \pm 16.99	9.66 \pm 1.92	120.01 \pm 28.22	10.11 \pm 2.06	467.79 \pm 72.92
DKD III 期组	20	138.58 \pm 45.19*	106.46 \pm 25.74	9.21 \pm 1.73	117.22 \pm 28.41	9.82 \pm 2.11*	413.09 \pm 88.25*
t 值		-1.410	-2.160	-0.676	-0.362	-0.380	-1.876
P 值		0.017	0.039	0.505	0.720	0.007	0.041

注:与 T2DM 组比较,* $P<0.05$

herin、N-cadherin 较 T2DM 组表达下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 内皮细胞功能障碍相关指标与 UACR 相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示,UACR 与 VEGF ($r=0.921$)、UACR 与 ET-1 ($r=0.852$)、UACR 与 VE-cadherin($r=0.918$)、UACR 与 N-cadherin($r=0.884$)具有相关性($P<0.05$)。而 UACR 与 eNOS($r=0.271$)、UACR 与 NO($r=0.731$)无明显相关性($P>0.05$)。见图1。

3 讨论

DKD 归属于中医学“消渴”之“下消”范畴,国医大师吕仁和认为当为“消渴病肾病”^[10]。本课题组在十余年的前期研究中发现:2 型 DKD 的主要病理机制为气阴两虚,夹热毒瘀血(虚、毒、瘀),病由脾主运化转输功能失司,机体气机代谢失常,“五脏之伤,穷必及肾”,久病及肾而肾元亏虚(此为脾肾亏虚、气阴

两虚的本虚证);同时阴虚燥热、血中伏火,浊毒壅滞成瘀(此为毒、瘀蕴积的标实证)。已有研究表明^[11],高血糖、高胰岛素血症、脂质代谢障碍等所致的炎症反应、氧化应激、内质网应激与 2 型糖尿病及其肾脏并发症“毒瘀蕴积”病机具有一致性,而毒、瘀作为病变过程中的病理性产物则可进一步损伤肾体,肾元亏虚则肾失固摄,精微下泄,而出现蛋白尿。

血管内皮细胞功能障碍是病理性血管重构的始动环节^[12]。同样也是糖尿病血管并发症发生的起始因素之一^[13]。内皮细胞暴露于循环高血糖状态,特别容易受到高血糖的损伤,以致细胞表型转换,细胞内信号改变,导致其功能障碍^[14]。微血管内皮功能受到 VEGF、ET、血管生成素及 NO 等的共同调节^[15]。DKD 是糖尿病患者的微血管并发症之一,内皮细胞功能障碍可引起蛋白尿,最终导致肾小球硬化及肾间质纤维化^[16]。DKD 患者的高糖状态以及糖基化的终末产物等因素导致血管内皮细胞损伤,循环血中

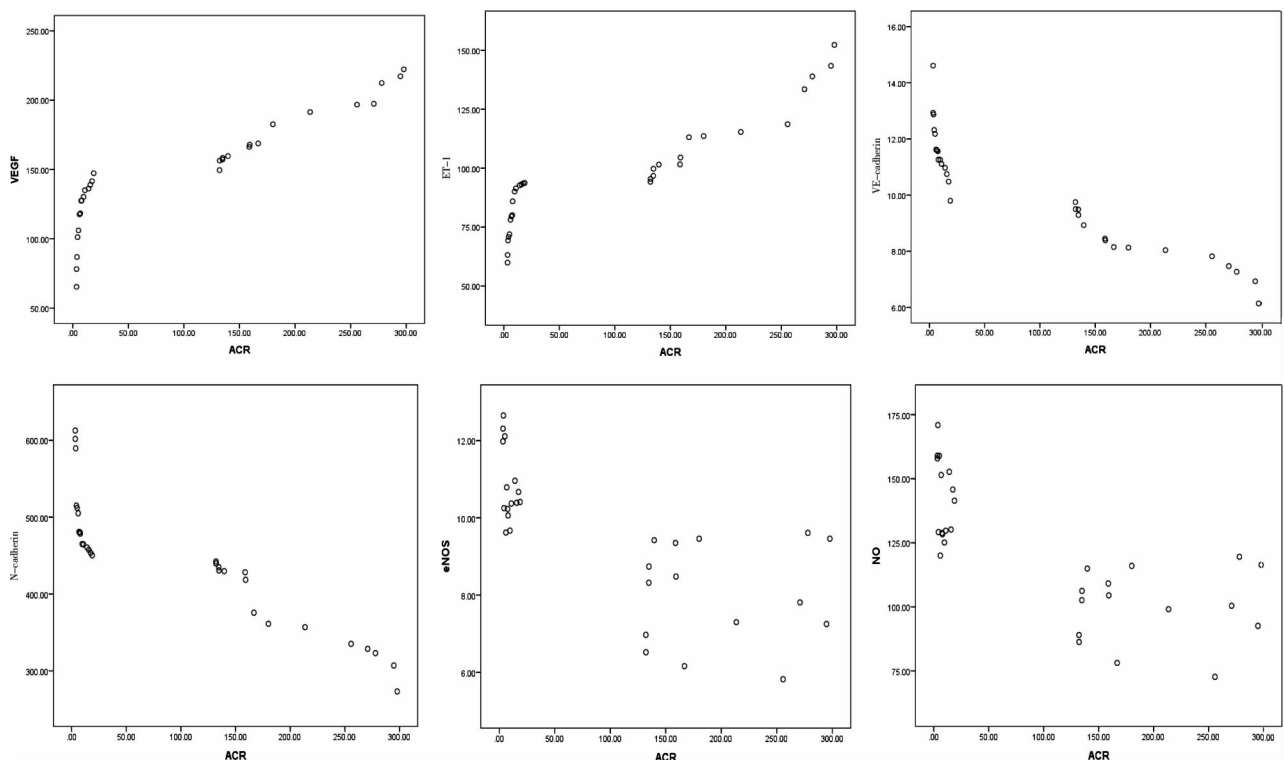


图1 内皮细胞功能障碍相关指标与 UACR 相关性分析散点图

VEGF表达增加,VEGF与肾小球基底膜具有较高亲和力,以致肾小球的基底膜通透性升高,从而促使产生ET等,肾脏血流动力学也相应发生改变,出现蛋白尿而发展为DKD^[17]。本研究中2型DKDⅢ期气阴两虚、瘀毒互结证组VEGF、ET-1均较T2DM组有升高,提示DKD微量蛋白尿期气阴两虚、瘀毒互结证已经出现了内皮细胞功能损伤。eNOS释放基础量的NO可调节正常的血管张力及血栓阻力,维持内皮细胞的稳态^[18],本研究结果显示,2型DKDⅢ期气阴两虚、瘀毒互结证组eNOS、NO均较糖尿病组表达有所下降,但差异无统计学意义($P>0.05$),可能存在早期DKD VEGF-NO失偶联的原因^[19]。

钙粘蛋白是内皮细胞-细胞黏附连接的一个组成部分,在维持血管完整性方面起着关键作用^[20]。本研究结果显示,2型DKDⅢ期气阴两虚、瘀毒互结证组较T2DM组VE-cadherin、N-cadherin表达有所下降($P<0.05$)。同样EL-Dawla等^[21]研究表明,DKD患者中UACR与VE-cadherin呈负相关且血清E-钙粘蛋白被认为是参与DKD发病机制并与其阶段相关的可靠生物标志物。Feng C L^[22]研究提示,在高血糖可引起的内皮细胞中N-cadherin减少,可能导致内皮功能障碍,进而导致内皮细胞死亡。

综上所述,2型DKDⅢ期患者内皮细胞功能出现障碍且血清学指标变化可能是早期肾损害的敏感指标,内皮细胞功能障碍与中医气阴两虚、瘀毒互结证之间可能存在一定的相关性,可以作为客观辨识2型DKDⅢ期气阴两虚、瘀毒互结证的部分生物学基础及依据。

参考文献

- [1] LI Y, TENG D, SHI X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study[J]. *British Medical Journal*, 2020, 369: 997.
- [2] ZHANG L, LONG J, JIANG W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2016, 375: 905-906.
- [3] 苏小惠,罗金国,戴秀娟,等.芪须四味汤对2型糖尿病肾病Ⅲ期微量蛋白尿与炎症的临床研究[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2020, 21(11): 991-993.
- [4] 刘秀,武明珠,喻嵘,等.滋阴益气、活血解毒法在糖尿病肾病治疗中的应用[J]. *中国中医急症*, 2017, 26(9): 1566-1568.
- [5] 喻嵘.紧扣糖尿病病机辨病辨证结合诊治[J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(3): 267-269.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会.中国2型糖尿病防治指南(2020年版)(上)[J]. *中国实用内科杂志*, 2021, 41(8): 668-695.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组.中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南[J]. *中华糖尿病杂志*, 2019, 11(1): 15-28.
- [8] MOGENSEN C E, CHRISTENSEN C K, VITTINGHUS E. The stages in diabetic renal disease: With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 1983, 32 (Supplement_2): 64-78.
- [9] 高彦彬,刘铜华,李平.糖尿病肾病中医防治指南[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2011, 9(4): 151-153.
- [10] 吕仁和,赵进喜,王越.糖尿病肾病临床研究述评[J]. *北京中医药大学学报*, 1994, 17(2): 2-6.
- [11] 喻嵘.2型糖尿病“虚、毒、瘀”中医病机与炎症状态的相关性探讨[C]//全国中西医结合内分泌代谢病学术大会暨糖尿病论坛论文集.北京, 2012: 229-232.
- [12] 刘彩霞,邓常清.中药及复方改善血管内皮细胞氧化应激损伤的研究进展[J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(1): 151-158.
- [13] SHI Y, VANHOUTTE P M. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes[J]. *Journal of Diabetes*, 2017, 9(5): 434-449.
- [14] LASSÈN E, DAEHN I S. Molecular mechanisms in early diabetic kidney disease: Glomerular endothelial cell dysfunction[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(24): E9456.
- [15] JEANSSON M, GAWLIK A, ANDERSON G, et al. Angiopoietin-1 is essential in mouse vasculature during development and in response to injury [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2011, 121: 2278-2289.
- [16] JOURDE-CHICHE N, FAKHOURI F, DOU L, et al. Endothelium structure and function in kidney health and disease[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2019, 15(2): 87-108.
- [17] 何美艳,林百润,李远,等.血管内皮生长因子(VEGF)与2型糖尿病肾病相关性分析[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2019, 6(69): 1,4.
- [18] HAN K H, LIM J M, KIM W Y, et al. Expression of endothelial nitric oxide synthase in developing rat kidney [J]. *Renal physiology*, 2005, 288: F694-F702.
- [19] NAKAGAWA T, SATO W, SAUTIN Y Y, et al. Uncoupling of vascular endothelial growth factor with nitric oxide as a mechanism for diabetic vasculopathy[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, 17(3): 736-745.
- [20] GIANNOTTA M, TRANI M, DEJANA E. VE-cadherin and endothelial adherens junctions: Active guardians of vascular integrity[J]. *Developmental Cell*, 2013, 26(5): 441-454.
- [21] EL-DAWLA N M Q, SALLAM A M, EL-HEFNAWY M H, et al. E-cadherin and periostin in early detection and progression of diabetic nephropathy: Epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Clinical and Experimental Nephrology*, 2019, 23(8): 1050-1057.
- [22] FENG C L, CHOU H C. Hyperglycemia initiates N-cadherin rearrangement and diabetic monocytes promote inflammatory responses in human microvascular endothelial cells[J]. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 2014, 6(4): 175-179.