

基于血清胱抑素 C 检测探讨保元胶囊对早期糖尿病肾病患者肾损伤的干预作用

赵雯红 田俊丽 杨红源 杨一民 辛海利 孙姗姗 李彦竹 张国瑛

【摘要】 目的 探讨血清胱抑素 C 对早期筛查糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)患者肾损伤的意义,及保元胶囊对早期 DN 的防治作用。**方法** 选择石家庄市中医院门诊或住院的 1~3 期 DN 患者,每期患者随机分为 DN 中药治疗组和西药对照组,每组各期 30 例,并选择健康人 20 例作为正常对照组。治疗 3 个月后,检测用药前后各组患者血清胱抑素 C、尿白蛋白排泄率、血肌酐、内生肌酐清除率水平变化。**结果** 与 1 期 DN 组比较:2 期 DN 组患者血清胱抑素 C、血肌酐水平明显升高($P<0.05$),而尿白蛋白排泄率水平无统计学意义($P>0.05$);3 期 DN 组患者血清胱抑素 C、尿白蛋白排泄率、血肌酐水平明显升高($P<0.01$),两组内生肌酐清除率水平明显降低($P<0.01$)。2、3 期 DN 组患者中药治疗后,血清胱抑素 C、尿白蛋白排泄率水平明显降低($P<0.01$),内生肌酐清除率水平明显升高($P<0.01$);与西药对照组比较,2、3 期 DN 组患者中药治疗后血清胱抑素 C 水平明显降低、内生肌酐清除率水平明显升高($P<0.05$)。**结论** 血清胱抑素 C 的检测对筛查早期 DN 患者肾损伤具有重要价值,保元胶囊对早期 DN 患者肾损伤具有良好的保护作用。

【关键词】 血清胱抑素 C; 早期糖尿病肾病; 肾损伤; 保元胶囊

【中图分类号】 R259 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.07.001

Study on the intervention effect of Baoyuan capsule on early diabetic nephropathy based on detection of serum cystatin C ZHAO Wen-hong, TIAN Jun-li, YANG Hong-yuan, et al. Renal Department of Internal Medicine, TCM Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050051, China

【Abstract】 Objective To investigate the meaning of detecting stage 1~3 DN patients serum cystatin C level changes on early screening for diabetic nephropathy (DN) in patients with renal injury, and the prevention effect of Baoyuan capsule on early DN. **Methods** Stage 1~3 DN patients were chosen from our hospital, the patients were randomly divided into DN treatment group, western medicine control group and normal control group. In the third month, the levels of serum cystatin C, UAER, SCr and Ccr were detected before and after treatments in each group. **Results** Compared to the stage 1 DN patients, the levels of serum cystatin C and SCr was elevated significantly in the stage 2 DN patients($P<0.05$), but the results of UAER had no significant differences between the two groups($P>0.05$), the levels of serum cystatin C, UAER and SCr were elevated significantly in the stage 3 DN patients($P<0.01$) and the levels of Ccr in stage 2 and stage 3 were significantly decreased($P<0.01$). The levels of serum cystatin C and UAER of the DN patients in the stage 2 and 3 were decreased significantly($P<0.01$) and the level of Ccr were significantly improved($P<0.01$) after treatment; compared to the western medicine control group, the levels of serum cystatin C were decreased and Ccr were improved significantly($P<0.05$) in stage 2 and 3 patients after the treatments. **Conclusion** Detection of serum cystatin C for screening patients with early DN renal injury has important value and Baoyuan capsule has a good protective effect on patients with early

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展指导计划(12146893)

作者单位: 050051 石家庄市中医院肾内科(赵雯红、辛海利、孙姗姗、李彦竹、张国瑛);石家庄四药有限公司职工医院中医科(田俊丽、杨一民);保定市第一中心医院骨一科(杨红源)

作者简介: 赵雯红(1980-),女,博士,副主任医师。研究方向:肾脏病的临床及实验研究。E-mail:zwzhrc@163.com

DN renal injury.

【Key Words】 Serum cystatin C; Early diabetic nephropathy; Renal damage; Baoyuan capsule

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病微血管并发症之一,是导致终末期肾病的最重要原因^[1]。在国内随着人们生活水平的提高和人口的老齡化, DN 发病率呈逐年迅速上升趋势,给人民的生命健康带来严重危害。因此,预防 DN 的发生发展,提高 DN 早期诊断与治疗水平为目前 DN 研究的重点。血清胱抑素 C(cystatin C)是一种非糖基化的半胱氨酸蛋白酶抑制因子,其蛋白分子量为 13KDa,广泛表达于各种组织细胞,并能被肾小球自由滤过。一项前瞻性队列研究表明血清 cystatin C 比肌酐估测的肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)在预测终末期肾病方面更具优势^[2]。本研究通过检测 1~3 期 DN 患者血清 cystatin C 水平变化,探讨其对早期筛查 DN 患者肾损伤的意义;检测应用中成药保元胶囊干预后, DN 患者血清 cystatin C 等指标的变化,探讨保元胶囊对早期 DN 的防治作用,为进一步临床应用提供实验依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 2012 年 6 月~2013 年 6 月石家庄市中医院门诊或住院的符合入选标准的 1~3 期 DN 患者,各期 60 例。其中 1 期 DN 患者男性 27 例,女性 33 例,年龄 43~71 岁,平均 (58.02 ± 7.84) 岁,病程 2~5 年,平均 (3.48 ± 1.16) 年;2 期 DN 患者男性 25 例,女性 35 例,年龄 52~78 岁,平均 (64.43 ± 7.40) 岁,病程 5~10 年,平均 (7.28 ± 1.85) 年;3 期 DN 患者男性 22 例,女性 38 例,年龄 59~75 岁,平均 (68.43 ± 4.37) 岁,病程 5~10 年,平均 (6.97 ± 1.77) 年。每期患者通过随机数字表随机分为 1~3 期 DN 中药治疗组、1~3 期西药对照组,每组各期 30 例。

同时选择同期本院健康志愿者 20 例为正常对照组,男性 10 例,女性 10 例,年龄 50~72 岁,平均 (63.40 ± 7.58) 岁。

入组患者均知情同意并签署了知情同意书。(本课题符合石家庄市中医院人体试验委员会制定的伦理学标准。批号:201205)

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:符合 2004 年美国糖尿病学会糖尿病诊断标准及 Mogenson 分期标准属于 1~3 期 DN 患者, I 期:尿白蛋白排泄率(urinary albumin excretion

rate, UAER): $<10 \mu\text{g}/\text{min}$; II 期:UAER $10 \sim 20 \mu\text{g}/\text{min}$; III 期:UAER $20 \sim 200 \mu\text{g}/\text{min}$ 且肾功能正常(血肌酐小于 $133 \mu\text{mol}/\text{L}$)。

排除标准:排除合并高血压性肾病等其他继发性肾病及原发性肾小球疾病、急性感染、酮症酸中毒、急性肾损伤、肿瘤、已应用血管紧张素转化酶抑制剂(angiotension converting enzyme inhibitors, ACEI)或血管紧张素受体阻滞剂(angiotensin receptor blocker, ARB)类药物、严重心脑血管疾病的患者。

1.3 治疗方法

1.3.1 一般治疗 优质低蛋白糖尿病饮食,蛋白质摄入小于 $1.0 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,根据患者个体情况应用相应胰岛素或药物严格控制血糖、血压及血脂水平,空腹血糖: $6 \sim 7 \text{ mmol}/\text{L}$,餐后 2 小时血糖: $9 \sim 10 \text{ mmol}/\text{L}$,血压: $130 \sim 140/80 \sim 90 \text{ mmHg}$,血脂:总胆固醇 $<5.8 \text{ mmol}/\text{L}$ 、甘油三酯 $<1.7 \text{ mmol}/\text{L}$,使各组患者应用药物治疗前后血糖、血压及血脂水平无明显变化。

1.3.2 药物治疗 1~3 期 DN 中药治疗组口服保元胶囊(药物组成:黄芪、白花蛇舌草、白茅根、茯苓、丹参各 30 g,生地黄、山药各 20 g,当归、山茱萸、生山楂各 15 g,地龙 12 g,水蛭 6 g,冬虫夏草 3 g。上药研末,加工为胶囊,由本院制剂室制备,每粒 0.3 g),每次 5 粒,每天 3 次。1~3 期 DN 西药对照组口服厄贝沙坦 0.15 g,每天 1 次。均治疗 3 个月。

1.4 指标检测

1.4.1 血清 cystatin C 测定 抽取受试者空腹静脉血 5 mL,采用全自动生化分析仪(美国贝克曼公司)进行血清 cystatin C 测定。

1.4.2 肾功能、尿白蛋白排泄率测定 采血方法同上,采用全自动生化分析仪(美国贝克曼公司)检测各组血清肌酐(serum creatinine, SCr)水平。并按照 Cockcroft 公式计算内生肌酐清除率(endogenous creatinine clearance rate, Ccr), $\text{Ccr}(\text{mL}/\text{min}) = (140 - \text{年龄}) \times \text{体重}(\text{kg}) / 72 \times \text{Scr}(\text{mg}/\text{dL})$,女性按计算结果 $\times 0.85$ 。放射免疫法检测各组 24 小时尿蛋白定量,并换算成 UAER($\mu\text{g}/\text{min}$),取 3 次结果的平均值。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 17.0 进行统计分析,数值采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,组间两

两比较采用 SNK-q 检验,相关性判断采用 Pearson 相关性分析,绘制 ROC 曲线,计算 ROC 曲线下面积,评估血清 cystatin C 筛查早期 DN 的准确性,自身前后比较采用配对 t 检验,均以 $P<0.05$ 为差异有显著性意义, $P<0.01$ 为差异有非常显著性意义。

2 结果

2.1 各组患者治疗前血清 cystatin C、UAER、SCr、Ccr 水平比较

与正常对照组比较:1 期 DN 组患者各项指标无统计学意义 ($P>0.05$);2 期 DN 组患者血清 cystatin C 水平明显升高 ($P<0.01$),Ccr 水平明显降低 ($P<0.01$),而 UAER 和 SCr 水平无统计学意义 ($P>0.05$);3 期 DN 组患者血清 cystatin C、SCr、UAER 水平均明显升高 ($P<0.01$),Ccr 水平明显降低 ($P<0.01$)。与 1 期 DN 组比较:2 期 DN 组患者血清 cystatin C、SCr 水平均明显升高 ($P<0.05$),Ccr 水平明显降低 ($P<0.01$),而 UAER 水平无统计学意义 ($P>0.05$);3 期 DN 组患者血清 cystatin C、UAER、SCr 水平均明显升高 ($P<0.01$),Ccr 水平明显降低 ($P<0.01$)。与 2 期 DN 组比较:3 期 DN 组

患者血清 cystatin C、UAER、SCr 水平均明显升高 ($P<0.05$),Ccr 水平明显降低 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 各组患者治疗前后血清 cystatin C、UAER、SCr、Ccr 水平比较

1 期 DN 中药治疗组患者治疗前后,UAER 水平明显降低 ($P<0.01$),余指标无统计学意义 ($P>0.05$);2 期 DN 中药治疗组患者治疗前后,血清 cystatin C、UAER 水平均明显降低 ($P<0.01$),Ccr 水平明显升高 ($P<0.01$),SCr 水平无统计学意义 ($P>0.05$);3 期 DN 中药治疗组患者治疗前后,血清 cystatin C、UAER、SCr 水平均明显降低 ($P<0.01$),Ccr 水平明显升高 ($P<0.01$)。与 1~3 期 DN 西药对照组比较,2、3 期 DN 中药治疗组患者治疗后血清 cystatin C 水平明显降低、Ccr 水平明显升高 ($P<0.05$),余无统计学意义 ($P>0.05$)。且 1 期 DN 中药治疗组患者脱落 4 例,其中 2 例为服药依从性差,2 例为合并其他心脑血管严重疾病;3 期 DN 中药治疗组患者脱落 3 例,均为服药依从性差;3 期 DN 西药对照组脱落 1 例,为治疗过程中出现肺部感染,故均剔除。见表 2。

表 1 各组患者治疗前血清 cystatin C、UAER、SCr、Ccr 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	cystatin C (mg/L)	UAER ($\mu\text{g}/\text{min}$)	SCr ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Ccr (mL/min)
正常对照组	20	0.71 \pm 0.08	7.15 \pm 2.23	75.94 \pm 11.50	106.76 \pm 9.99
1 期 DN 组	60	0.73 \pm 0.09	8.29 \pm 0.94	72.17 \pm 10.54	109.25 \pm 11.76
2 期 DN 组	60	1.17 \pm 0.30 ^{b,d}	16.36 \pm 2.74	76.83 \pm 8.47 ^c	91.86 \pm 8.50 ^{bd}
3 期 DN 组	60	1.32 \pm 0.2 ^{bde}	111.28 \pm 43.7 ^{bdf}	80.83 \pm 10.99 ^{ade}	86.82 \pm 12.62 ^{bde}

注:与对照组比较:^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与 1 期 DN 组比较:^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;与 2 期 DN 组比较:^e $P<0.05$,^f $P<0.01$ 。

表 2 各组患者治疗前后血清 cystatin C、UAER、SCr、Ccr 水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	cystatin C (mg/L)	UAER ($\mu\text{g}/\text{min}$)	SCr ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Ccr (mL/min)
1 期 DN					
中药治疗前	30	0.72 \pm 0.09	8.27 \pm 0.96	68.82 \pm 10.58	107.82 \pm 9.85
中药治疗后	26	0.70 \pm 0.10	7.55 \pm 1.23 ^b	68.57 \pm 10.77	106.90 \pm 7.83
西药治疗前	30	0.73 \pm 0.09	8.32 \pm 0.94	75.52 \pm 9.53	110.35 \pm 13.55
西药治疗后	30	0.71 \pm 0.12	7.65 \pm 1.03 ^d	76.43 \pm 9.68	107.77 \pm 8.64
2 期 DN					
中药治疗前	30	1.13 \pm 0.28	16.60 \pm 2.53	76.58 \pm 8.15	91.33 \pm 7.90
中药治疗后	30	0.90 \pm 0.20 ^{bd}	14.43 \pm 2.31 ^b	75.55 \pm 7.74	95.89 \pm 5.38 ^{bc}
西药治疗前	30	1.17 \pm 0.26	16.11 \pm 2.96	77.08 \pm 8.92	92.39 \pm 9.17
西药治疗后	30	1.15 \pm 0.28	15.04 \pm 3.03 ^d	77.64 \pm 9.33	90.22 \pm 10.63 ^a
3 期 DN					
中药治疗前	30	1.30 \pm 0.27	113.47 \pm 45.62	81.97 \pm 11.09	86.17 \pm 11.34
中药治疗后	27	1.01 \pm 0.20 ^{bd}	89.03 \pm 34.70 ^d	78.66 \pm 8.88 ^b	95.03 \pm 7.43 ^{bd}
西药治疗前	30	1.32 \pm 0.30	109.10 \pm 42.43	79.68 \pm 10.97	87.46 \pm 13.94
西药治疗后	29	1.30 \pm 0.33	84.26 \pm 27.98 ^b	81.24 \pm 12.91	87.25 \pm 14.05

注:自身前后比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$,与西药组比较;^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

2.3 血清 cystatin C 与 UAER、SCr 及 Ccr 相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示:血清 cystatin C 与 UAER 呈显著正相关($r=0.530, P<0.01$),与 SCr 呈显著正相关($r=0.303, P<0.01$),与 Ccr 呈显著负相关($r=-0.735, P<0.01$)。

2.4 血清 cystatin C 筛查 DN 肾损伤的 ROC 曲线分析

以血清 cystatin C 为检验变量,以 Ccr 是否异常为状态变量,取状态变量值为 1,建立 ROC 曲线,应用 SPSS 17.0 统计软件计算出血清 cystatin C 筛查 DN 肾损伤的 ROC 曲线下面积为 0.865。见图 1。

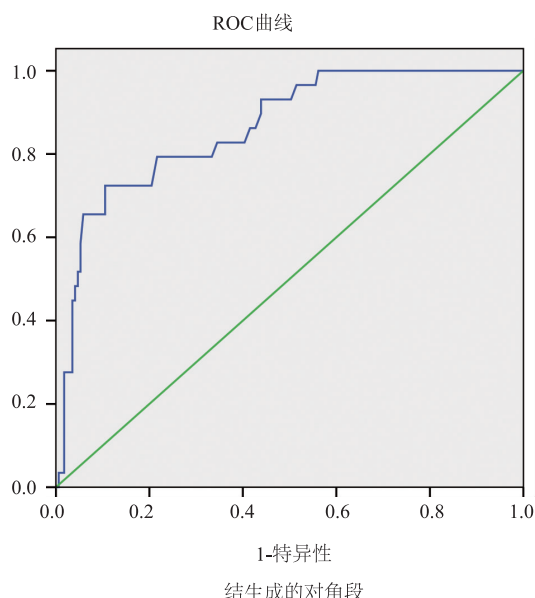


图1 血清 cystatin C 筛查 DN 肾损伤的 ROC 曲线

3 讨论

尽管目前临床普遍以微量白蛋白尿作为 DN 诊断的早期线索,然而研究表明,尿微量白蛋白对肾小球硬化的预后不敏感,且可能受其他疾病的影响而干扰诊断^[3],所以寻找与肾脏损伤相关性更高的、且更早出现的新的诊断指标是 DN 临床研究广泛关注的热点问题。并且随着认识的深入,单独血肌酐的测定亦不足以说明肾功能受损情况,所以一些更有价值的血清标志物应运而生。与目前临床上常用的估测肾小球滤过率的血清肌酐、尿素氮相比,血清 cystatin C 的合成分泌比较稳定,受年龄、体重、种族、蛋白摄入或炎症的影响较小^[4]。研究表明,根据血清 cystatin C 得出的 GFR 在预测 DN 的微量蛋白尿阶段方面,优于根据血清肌酐得出的

GFR,同时也似乎提示了肾功能的下降早于蛋白尿的出现^[5-6]。可见,血清 cystatin C 的检测在筛查早期 DN 患者肾损伤方面更有意义。

有关 DN 的防治,与西药的单纯控制血糖、血压、血脂及应用 ACEI 或 ARB 类药物不同,中医可根据患者的自身临床表现辨证施治,各种中药经过配伍,在体内可对多系统、多靶点发挥药效,最终达到整体治疗的目的,故可弥补西药治疗的不足,甚至在综合治疗效果方面更具优势(如 ACEI 或 ARB 类药物能降低肾小球滤过率)。中医认为 DN 的病因病机主要为气阴两虚、瘀血阻络,最终形成“癥积”,即肾脏纤维化。本课题所用保元胶囊具有补气滋阴、活血通络的功效,临床应用近 20 年,患者反应良好。临床及动物实验研究表明,保元胶囊能够降低尿蛋白、血肌酐等,并对 TGF- β 1/Smads 通路具有干预作用^[7-8],从而保护肾功能,延缓 DN 进展。本研究以血清 cystatin C 为切入点,旨在明确保元胶囊对早期 DN 患者肾损伤的干预作用。

本研究结果表明:1 期 DN 组患者肾小球仅处于高灌注、高滤过状态,纤维化程度不明显。与对照组比较,从 2 期 DN 组患者开始,血清 cystatin C 显著升高,而 UAER 无显著变化,3 期 DN 组患者 UAER 明显升高,且组间比较,血清 cystatin C 显著升高亦较早,并与 SCr 呈显著正相关,与 Ccr 呈显著负相关。故血清 cystatin C 在 DN 患者尚无明显微量蛋白尿时就可提示肾损伤,从而对早期筛查 DN 患者肾损伤具有重要价值。ROC 曲线分析可评估临床诊断方法价值的大小,一般 ROC 曲线下面积大于 0.8 提示诊断价值较高,本项研究中血清 cystatin C 筛查 DN 肾损伤的 ROC 曲线下面积为 0.865,表明血清 cystatin C 筛查 DN 肾损伤的临床诊断价值较高。应用保元胶囊治疗后,2、3 期 DN 患者血清 cystatin C、UAER 水平均显著下降,Ccr 水平均明显升高,肾功能保护作用显著,且优于厄贝沙坦治疗组($P<0.01$),因为 ARB 类药物虽能降低尿蛋白,但对肾小球滤过率有降低作用,故限制了其临床应用,而保元胶囊在降尿蛋白的同时又提高肾小球滤过率,这正是中药多靶点、多途径作用的优势所在。以上结果表明血清 cystatin C 可作为筛查早期 DN 患者肾损伤的标志物,保元胶囊对早期 DN 患者肾损伤显示出良好的保护作用。

参考文献

- [1] Dabla PK. Renal function in diabetic nephropathy[J]. World J

- Diabetes, 2010, 1(2):48-56.
- [2] Krolewski AS, Warram JH, Forsblom C, et al. Serum concentration of cystatin C and risk of end-stage renal disease in diabetes [J]. Diabete Care. 2012, 35(11): 2311-2316.
- [3] Rosolowsky ET, Niewczas MA, Ficociello LH, et al. Between hyperfiltration and impairment: Demystifying early renal functional changes in diabetic nephropathy [J]. Diabetes research and clinical practice, 2008, 82:46-53.
- [4] Wang T, Wang Q, Wang Z, et al. Diagnostic value of the combined measurement of serum hcy, serum cystatin C, and urinary microalbumin in type 2 diabetes mellitus with early complicating diabetic nephropathy[J]. ISRN Endocrinol, 2013, 9:1-5
- [5] Assal HS, Tawfeek S, Rasheed EA, et al. Serum cystatin and tubular urinary enzymes as biomarkers of renal dysfunction in type 2 diabetes mellitus [J]. Clin Med Insights Endocrinol Diabetes, 2013, 6(7):7-13.
- [6] Chae HW, Shin JI, Kwon AR, et al. Spot urine albumin to creatinine ratio and serum cystatin C are effective for detection of diabetic nephropathy in childhood diabetic patients[J]. J Korean Med Sci, 2012, 27(7):784-787.
- [7] 李青, 张国瑛, 闫慧明, 等. 保元胶囊治疗糖尿病肾病的临床研究[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(11):685-686.
- [8] 李青, 张鹤, 丁振华, 等. 保元Ⅱ号对糖尿病大鼠肾脏中 Smad 蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(3):370-372.
- (收稿日期: 2015-10-30)
- (本文编辑: 蒲晓田)