

· 论 著 ·

2 型糖尿病肾病患者血清 TBIL、SOD、TNF- α 水平分析张 斌, 张 珏, 孟佳丽, 陈建中 Δ

(上海中医药大学附属曙光医院检验科 201203)

摘要:目的 探讨 2 型糖尿病肾病(DN)患者血清总胆红素(TBIL)、血清超氧化物歧化酶(SOD)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的变化及临床意义。方法 123 例 2 型糖尿病(T2DM)患者依据尿清蛋白/肌酐比值(UACR)分成 3 组:正常清蛋白尿(NA)组 40 例,微量清蛋白尿(MA)组 40 例,大量清蛋白尿(OA)组 43 例,另选择 42 例体检健康者为对照(NC)组,检测血清 TBIL、SOD、TNF- α 水平,分析 TBIL、SOD、TNF- α 与 UACR 的相关性。采用多元逐步回归法分析 UACR 的主要影响因素。结果 在 NC 组、NA 组、MA 组、OA 组, TBIL、SOD 依次降低, OA 组 TBIL、SOD 水平明显低于其他 3 组($P < 0.05$), 但其他 3 组间 TBIL、SOD 水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); TNF- α 水平依次升高, OA 组 TNF- α 水平明显高于其他 3 组($P < 0.05$), MA 组和 NA 组 TNF- α 水平明显高于 NC 组($P < 0.05$), 但 MA 组与 NA 组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); Spearman 相关性分析显示, DN 患者 UACR 与 TBIL、SOD 水平呈负相关, 与 TNF- α 水平呈正相关。血清 TBIL 与 SOD 呈正相关, 与 TNF- α 呈负相关, SOD 与 TNF- α 呈负相关($P < 0.05$); 多元逐步回归分析表明, TBIL($\beta = -0.068, P = 0.001$), SOD($\beta = -0.012, P = 0.000$), TNF- α ($\beta = -0.018, P = 0.002$)是 UACR 的独立危险因素。结论 DN 患者早期即存在微炎症反应, 在 OA 组更伴有氧化应激反应, 氧化应激与微炎症互相促进, 与肾功能损伤形成恶性循环。

关键词:糖尿病肾病; 尿清蛋白/肌酐比值; 氧化应激; 微炎症

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.19.016 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)19-2738-03

The analysis of serum TBIL, SOD and TNF- α levels in patients with type 2 diabetic nephropathyZHANG Bin, ZHANG Jue, Meng JiaLi, CHEN Jianzhong Δ

(Department of Clinical Laboratory, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To investigate the changes and clinical significance of serum total bilirubin(TBIL), superoxide dismutase (SOD) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with type 2 diabetic nephropathy(DN). **Methods** A total of 123 type 2 diabetes mellitus(T2DM) patients were recruited and 42 healthy individuals as normal controls(group NC) in this study. According to urinary albumin to creatinine ratio(UACR), the patients were divided into 3 groups, 40 patients with normal albuminuria(group NA), 40 patients with microalbuminuria(group MA) and 43 patients with over-albuminuria(group OA). Serum TBIL, SOD and TNF- α levels were measured and analyzed. The association of UACR and TBIL, SOD and TNF- α were analyzed in 123 T2DM patients. The influencing factors of UACR were investigated by multiple stepwise regression analysis. **Results** The serum levels of TBIL, SOD increased progressively and TNF- α decreased progressively from groups NC, NA, MA to OA. The serum level of TBIL and SOD were significant lower in group OA than in other three groups($P < 0.05$). However, there were no significant difference on TBIL and SOD among other three groups($P > 0.05$). Meanwhile, the serum level of TNF- α in group OA was significant higher than those in other three groups($P < 0.05$). However, there was no significant difference on TNF- α between group MA and group NA ($P > 0.05$). Spearman correlation analysis showed that UACR was positively associated with TBIL and SOD, and negatively associated with TNF- α in DN patients. Meanwhile, TBIL was positively associated with SOD, and negatively associated with TNF- α ($P = 0.001$); SOD was negatively associated with TNF- α . Multiple stepwise regression analysis indicated that TBIL($\beta = -0.068, P < 0.001$), SOD($\beta = -0.012, P = 0.000$) and TNF- α ($\beta = -0.018, P = 0.002$) were independent influencing factors for UACR. **Conclusion** Micro-inflammation existed in the early phase of DN patients and there is even oxidative stress status in OA group. Along with impairment of renal function, oxidative stress and micro-inflammation promote each other and form a vicious circle.

Key words: diabetic nephropathy; urinary albumin to creatinine ratio; oxidative stress; micro-inflammation

糖尿病肾病(DN)是糖尿病的主要并发症之一,在 2 型糖尿病(T2DM)的并发症中, DN 的严重性仅次于心、脑血管病,多发生于病程 10 年以上者,是其致残与死亡的重要原因^[1]。积极探索 DN 病因,阐明其相关机制具有重要意义。有文献报道氧化应激、微炎症是慢性肾脏病发生、发展的重要原因^[2]。本文通过检测 T2DM 患者在不同尿清蛋白/肌酐比值(UACR)情况下血清总胆红素(TBIL)、血清超氧化物歧化酶(SOD)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的变化,探讨氧化应激

反应及微炎症在 DN 发生、发展中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院内分泌科和肾病科 2014 年 1 月至 2015 年 12 月 123 例 T2DM 患者纳入 T2DM 组,均符合 2007 年版《中国 2 型糖尿病防治指南》制定的诊断标准^[3],并排除合并恶性肿瘤、血液系统疾病,其他急性慢性肾脏疾病、肝功能不全等。并根据美国糖尿病协会(ADA)对 UACR 不同程度的划分将 123 例 T2DM 患者分为 3 组^[1]:正常清蛋白尿(NA)组

(UACR<30 mg/g) 40 例,微量清蛋白尿(MA)组(UACR 为 30~<300 mg/g)40 例、大量清蛋白尿(OA)组(UACR≥300 mg/g)43 例;同时以 42 例体检健康者为对照(NC)组,均无急性慢性感染、肝肾功能不全、糖尿病、高血压等疾病。

1.2 检测方法 所有研究对象均在清晨空腹状态下抽血检测。TBIL 采用重氮法检测,SOD 采用胶乳邻苯三酚比色法检测,总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、肌酐(Cr)均采用酶法检测,尿清蛋白(UAlb)采用免疫透射比浊法,通过贝克曼 AU5800 型全自动生化分析仪进行检测;糖化血红蛋白(HbA1c)采用高压液相法,通过 Bio-Rad VARIANT II 进行检测。TNF-α 采用化学发光法,通过 Immulite1000 化学发光仪进行检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布数据采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示。正态分布的数据多组间比较采

用单因素方差分析,组内两两比较采用 SNK 检验;非正态分布的数据多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,组内两两比较采用 Mann-Whitney U 检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Spearman 相关分析,采用多元逐步回归分析 UACR 的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组研究对象一般资料比较 各组 T2DM 患者年龄、性别、TC、LDL-C 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),其余各项临床资料多组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与 NC 组和 NA 组比较,MA 和 OA 组 TG 均升高($P < 0.05$);与 NC 组、NA 组和 MA 组比较,OA 组 Cr 升高($P < 0.05$);与 NC 组比较,NA 组、MA 和 OA 组 HbA1c 均升高($P < 0.05$);MA 和 OA 组 UACR 高于 NA 组,OA 组高于 MA 组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组研究对象一般资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	男/女 (<i>n</i> / <i>n</i>)	HbA1c ($\bar{x} \pm s$, %)	TC ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	TG ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	LDL-C ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	Cr ($\bar{x} \pm s$, μ mol/L)	UACR [$M(P_{25} \sim P_{75})$]
NC 组	42	57 ± 12	21/21	5.37 ± 0.25	4.67 ± 0.71	1.34 ± 0.28	2.54 ± 0.42	61.19 ± 11.31	—
NA 组	40	59 ± 9	21/19	8.18 ± 0.26*	4.59 ± 1.11	1.58 ± 0.8	2.52 ± 0.80	68.15 ± 17.63	9.10(6.00~13.23)
MA 组	40	60 ± 11	21/19	7.70 ± 1.80*	4.88 ± 1.25	2.03 ± 1.04*#	2.79 ± 0.98	71.05 ± 11.31	73.50(41.50~163.25)#
OA 组	43	60 ± 13	22/21	9.97 ± 1.23*	5.00 ± 1.50	2.06 ± 1.09*#	2.96 ± 1.32	235.40 ± 230.01*#△	1 563.00(493.00~2 470.00)#△

注:与 NC 组比较,* $P < 0.05$;与 NA 组比较,# $P < 0.05$;与 MA 组比较,△ $P < 0.05$;—表示无数据。

2.2 各组研究对象 TBIL、SOD、TNF-α 比较 各组间 TBIL、SOD、TNF-α 比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在 NC 组、NA 组、MA 组、OA 组,TBIL、SOD 依次降低,OA 组 TBIL、SOD 水平明显低于其他 3 组($P < 0.05$),但其他 3 组间 TBIL、SOD 水平差异无统计学意义($P > 0.05$);TNF-α 水平依次升高,OA 组 TNF-α 水平明显高于其他 3 组($P < 0.05$),NA 和 MA 组 TNF-α 水平明显高于 NC 组($P < 0.05$),但 MA 组与 NA 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组研究对象 TBIL、SOD、TNF-α 比较

组别	<i>n</i>	TBIL($\bar{x} \pm s$, μ mol/L)	SOD($\bar{x} \pm s$, U/ml)	TNF-α [$M(P_{25} \sim P_{75})$, pg/ml]
NC 组	42	15.26 ± 3.62	162.79 ± 14.87	8.65(6.65~10.75)
NA 组	40	12.59 ± 3.09	148.40 ± 18.09	9.80(8.43~12.63)*
MA 组	40	12.35 ± 3.35	134.70 ± 19.88	11.25(8.58~12.85)*
OA 组	43	8.50 ± 2.30*#△	110.71 ± 29.60*#△	19.00(15.60~25.00)*#△

注:与 NC 组比较,* $P < 0.05$;与 NA 组比较,# $P < 0.05$;与 MA 组比较,△ $P < 0.05$ 。

2.3 T2DM 患者各组 TBIL、SOD、TNF-α 与 UACR 的相关分析 UACR 与 TBIL、SOD、TNF-α 均呈显著相关,见表 3。

表 3 T2DM 患者各组 TBIL、SOD、TNF-α 与 UACR 的相关分析

项目	TBIL		SOD		TNF-α	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
UACR	-0.649	0.001	-0.574	0.001	0.601	0.001
TBIL	—	—	0.427	0.001	-0.490	0.001
SOD	—	—	—	—	-0.302	0.000

注:—表示无数据。

2.4 多元逐步回归分析 将 UACR 进行对数转换,以 log(UACR)为因变量,年龄、性别、HbA1c、TC、TG、LDL-C、Cr/TBIL、SOD、TNF-α 为自变量,进行多元逐步回归分析,结果表明 TBIL($\beta = -0.068, P = 0.001$),SOD($\beta = -0.012, P = 0.000$),TNF-α($\beta = -0.018, P = 0.002$)是 UACR 的独立危险因素。

3 讨 论

生理情况下肾脏的抗氧化能力与氧自由基(ROS)的氧化能力平衡,保持细胞的正常功能。随着肾脏清除能力逐步下降,毒性代谢物在体内蓄积致使抗氧化应激能力减退,大量 ROS 在体内蓄积,最终导致细胞功能障碍,这种状态称为氧化应激状态。其可能的机制包括:(1)直接作用于肾组织细胞膜的多不饱和脂肪酸,引起脂质过氧化,破坏细胞膜的正常生理状态;(2)直接损伤细胞线粒体 DNA;(3)使肾小球毛细血管基底膜磷脂发生过氧化,导致肾小球基膜通透性升高;(4)减少结缔组织的透明质酸,破坏细胞间黏合,微血管通透性增加;(5)诱导肾小球足细胞凋亡;(6)多种 TNF-α 抑制系膜细胞基质降解,加重细胞外基质沉积;(7)参与内皮间质转化,引起小管间质纤维化^[4-5]。除此之外,大量积聚体内的尿毒症毒素不仅加重氧化应激,而且某些尿毒症毒素既是氧化应激的产物,本身还可以继续诱导或刺激产生氧化应激反应^[6-8]。

研究发现,许多患者在肾功能减退的同时,肾病导致的贫血、脂代谢紊乱等日趋严重,这些因素均能加重氧化应激反应。Siems 等^[9]指出,人体红细胞内含有大量 SOD,此酶是高效的自由基清除剂,能保护细胞膜免受 ROS 的损伤,当出现肾性贫血可直接导致有效的活性自由基清除剂减少,从而造成氧化与抗氧化之间的失衡。而脂代谢紊乱造成的高血脂环境使体内还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶活性增强,导致血管局部生成 ROS^[10]。有关氧化应激反应与 DN 肾

性贫血及肾小管损伤的关系值得进一步探讨。

同时,炎症反应在 DN 的进展中起着重要作用^[11],其不仅是机体针对肾功能进行性衰竭所产生的一系列复杂的细胞、生化反应^[12],而且还是 TNF- α 驱动的,以促氧化为特征的全身慢性炎症^[13],即微炎症,其本质是免疫性炎症。它与动脉粥样硬化、营养不良、感染等密切相关,严重影响患者生活质量和生存率^[14]。导致 DN 患者出现微炎症的主要发生机制有:(1) DN 本身相关因素,如免疫功能异常、代谢紊乱、酸中毒、毒素排泄障碍、晚期糖基化终末产物及氧化蛋白产物蓄积。(2) 透析相关因素,如透析膜的生物不相容性,透析液污染、透析血管通路的隐匿性及慢性感染,透析间期容量负荷过大,透析导致的抗氧化物质丢失。(3) 脂质代谢紊乱、代谢性酸中毒、基因多态性,以及铁剂的应用均在一定程度上影响微炎症状态的发生。微炎症形成涉及多方面因素,及时监测影响微炎症的上述各项因素并积极处理,被认为是控制慢性肾脏病包括 DN 发生发展的有效途径。

本研究以 TBIL、SOD、TNF- α 为检测指标,其中胆红素是人体的一种毒性代谢产物,主要应用于肝胆疾病,近年来随着人们对胆红素系统——血红素氧和酶(HO)/一氧化碳(CO),以及胆红素代谢的关键酶——血红素加氧酶等研究的不断深入,发现胆红素不仅是人体的代谢产物,在生理浓度范围内还是一种天然抗氧化剂,具有抗氧化、抗炎、抗增殖及免疫调节等效应^[13]。SOD 是体内清除 ROS 的重要酶,也是对抗 ROS 的第一道防线,可促发产生过氧化脂质的链式反应,保护细胞不受自由基的损伤,是反映氧化应激状态的敏感指标之一。TNF- α 作为细胞因子网络中重要的促炎性因子,除直接作用于组织细胞,促进内皮细胞的损伤,加重肾脏缺血,促进肾小球内微血栓的形成外,还可激活其他炎症介质发挥作用,致肾小球系膜细胞增殖、硬化及肾脏疾病恶化,并通过抑制体内氧化亚氮的合成,使其抗凝和抗血小板黏附能力下降,以及通过刺激白细胞介素(IL)-1 的生成,加重凝血功能^[15],所以能较好地反映微炎症状态。

本研究结果显示, DN 患者早期即存在微炎症反应,在 OA 期更伴有明显的氧化应激反应, TBIL、SOD、TNF- α 与 UACR 密切相关, TBIL、SOD、TNF- α 之间也有相关性,提示肾功能损伤与氧化应激反应、微炎症三者互为因果,关系密切。据报道慢性肾脏病患者体内脂质过氧化物增多、抗氧化物质减少均造成氧化应激反应增强,而积聚体内的代谢毒素更加速机体抗氧化物质的摄取减少和(或)生物利用度下降,从而改变正常脂质及脂蛋白结构功能,产生特征性的晚期氧化蛋白产物,如氧化型低密度脂蛋白。该物质造成细胞氧化损伤和脂质氧化改变,进而引起微炎症发生。同时微炎症活化后产生的炎症因子通过白细胞膜上还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸复合物的氧化作用放大氧化应激反应,诱导炎症介质和生长因子的生成,造成恶性循环。

参考文献

- [1] 陆再英,钟南山. 内科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:722-723.
- [2] 王荣珍,梁昭红,刘天喜. 慢性肾脏病患者肾功能与微炎

症及氧化应激的相关性[J]. 兰州大学学报医学版, 2011, 37(1):63-65.

- [3] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2007 年版)[J]. 中华医学杂志, 2008, 88(18): 1227-1245.
- [4] Djmal A. Oxidative stress as a common pathway to chronic tubulointerstitial injury in kidney allografts[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007, 293(2): F445-F455.
- [5] Suszta K, Raft AC, Schiffer M, et al. Uluose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2006, 55(1): 225-233.
- [6] 余月明,侯凡凡,张训,等. 慢性肾衰竭患者高同型半胱氨酸血症、氧化应激和微炎症反应间的关系及其在动脉粥样硬化中的作用[J]. 中华内科学杂志, 2004, 3(4): 292-295.
- [7] Aydm E, Yildiz A, Sahbettense K. Oxidative stress, inflammation and early cardiovascular disease in children with chronic renal failure[J]. Pediatr Nephrol, 2006, 21(4): 545-552.
- [8] 王荣珍,梁昭红,刘天喜,等. 左-卡尼汀对终末期肾病患者微炎症和氧化应激状态的影响[J]. 兰州大学学报医学版, 2010, 36(3): 29-32.
- [9] Siems W, Quast S, Carluccio F, et al. Oxidative stress in cardio renal anemia syndrome: correlations and therapeutic possibilities[J]. Clin Nephrol, 2003, 60(Suppl 1): S22-S30.
- [10] Goglia F, Skulachev VP. A function for novel uncoupling proteins: antioxidant defense of mitochondrial matrix by translocating fatty acid peroxides from the inner to the outer membrane leaflet[J]. Faseb J, 2003, 17(12): 1585-1591.
- [11] Riella MC. Malnutrition in dialysis: malnourishment or uremic inflammatory response[J]. kidney Int, 2000, 57(3): 1211-1232.
- [12] Ramirez R, Carracedo J, Merino A, et al. Microinflammation induces endothelial damage in hemodialysis patients: the role of convective transport[J]. Kidney Int, 2007, 72(1): 108-113.
- [13] 程友琴,尹秋生,崔吉君. 对胆红素的再认识[J]. 中华内科杂志, 2001, 40(5): 350-351.
- [14] Geller DA. Differential induction of nitric oxide synthase in hepatocytes during endotoxemia and the acute-phase response[J]. Arch Surg, 1994, 129(2): 165.
- [15] Meuwese CL, Stenvinkel P, Dekker FW, et al. Monitoring inflammation in patients on dialysis: forewarned is forearmed[J]. Nat Rev Nephrol, 2011, 7(3): 166-176.

(收稿日期:2016-03-09 修回日期:2016-05-15)