

· 临床研究 ·

糖尿病肾病患者血清 VEGF 和 TNF- α 水平表达的临床意义

耿晓仲

(河南省洛阳市洛轴总医院 471039)

摘要:目的 探讨血管内皮生长因子(VEGF)、肿瘤坏死因子(TNF- α)在糖尿病肾病(DN)患者不同阶段的表达水平及相关性。方法 用 ELISA 法测定 81 例糖尿病肾病及 20 例健康者对照组血清中 VEGF 和 TNF- α 水平,并进行分析。结果 (1) VEGF 水平在糖尿病(DM)组、微量蛋白尿(MA)组、临床蛋白尿(ODN)组明显高于健康对照组,差异有统计学意义(均为 $P < 0.01$);血清中 TNF- α 水平在 DM、MA、ODN 3 组明显高于健康对照组,差异有统计学意义(均为 $P < 0.01$)。 (2)在糖尿病组患者,血清中 VEGF 与 TNF- α 浓度呈正相关($r = 0.712, P < 0.01$);血清 VEGF 和 TNF- α 浓度与 UAER 的升高呈正相关($r_1 = 0.801, P < 0.01; r_2 = 0.732, P < 0.01$)。 (3)糖尿病患者血清中 VEGF 水平、TNF- α 浓度与低密度脂蛋白(LDL-C)水平、糖化血红蛋白(HbA1C)呈正相关($r_3 = 0.345, P < 0.05, r_4 = 0.455, P < 0.05$)。结论 血清中 VEGF 和 TNF- α 水平在不同时期 DN 患者中有不同程度的增高,它们与 UAER 也呈正相关关系,有可能成为监测 DN 病情变化的有效指标之一。

关键词:糖尿病肾病;血管内皮生长因子;肿瘤坏死因子- α ;尿清蛋白排泄率

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.21.039

中图分类号:R587.2;R446.61

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)21-2942-02

Clinical significance of VEGF and TNF- α in patients with diabetic nephropathy

GENG Xiao-zhong

(Luozhou General Hospital, Luoyang, Henan 471039, China)

Abstract Objective To explore the significance of vascular endothelia growth factor(VEGF)and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the peripheral blood of the patients with diabetes nephropathy (DN). **Methods** VEGF and TNF- α were measured in eighty-one patients with DN and twenty control subjects (control group) by enzyme-linked immune absorption assay (ELISA), and the correlation was analyzed. **Results** (1)VEGF level was significantly higher in the patients of DM,MA and ODN groups than in the control group; TNF- α level was significantly higher in the patients of DM,MA and ODN than in the control group. (2)The levels of VEGF in peripheral blood were positively correlated with the levels of TNF- α ; the levels of VEGF and TNF- α in peripheral blood were correlated with UAER. (3)The levels of VEGF and TNF- α in peripheral blood were positively correlated with the levels of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and HbA1C. **Conclusion** The levels of VEGF and TNF- α has the varying degree of increase in the different stage DN patients, and show the positive relation with UAER, which is possible to become the effective index to monitor the condition change of DN.

Key words: diabetes nephrosis; vascular endothelia growth factor; tumor necrosis factor- α ; urine albumin excretion rate

糖尿病肾病(diabetes nephropathy, DN)是糖尿病三大并发症之一,与心脏病、脑血管病同为糖尿病的重要死因。其病变累及肾小球、肾血管和肾间质,最终可致终末期肾衰,严重影响患者的生存和生活质量。最近发现血管内皮生长因子(vascular endothelia growth factor, VEGF)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)与糖尿病微血管病变的发生、发展有密切关系,但 DN 患者血清 VEGF 和 TNF- α 的水平及其两者之间的关系研究较少。本试验旨在探讨 VEGF 和 TNF- α 水平与糖尿病肾病患者间的关系,为其发病机制提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 病例组 选择 2005 年 9 月至 2006 年 6 月在本院内分泌科住院及门诊 DN 患者 81 例,男 42 例,女 39 例,年龄为 48~77 岁,平均(54.5 \pm 11.1)岁。81 例患者在 1 个月内未发生糖尿病酮症酸中毒及其他急性并发症;排除其他如发热、剧烈运动等影响蛋白尿的因素;近期末使用对肾脏有害药物;排除心、肺、肝疾病、泌尿系感染及其他肾脏疾病;排除其他内分泌

疾病、结缔组织病和肿瘤。根据尿清蛋白排泄率(UAER)分为 3 组:(1)单纯 DN 组 UAER $<20 \mu\text{g}/\text{min}$ 34 例,其中男 20 例,女 14 例;(2)微量蛋白尿组(microalbuminurias groups, MA)组 UAER 20~200 $\mu\text{g}/\text{min}$ 27 例,男 14 例,女 13 例;(3)临床蛋白尿组(clinical albuminurias groups, ODN)组 UAER $>200 \mu\text{g}/\text{min}$ 20 例,男 10 例,女 10 例。

1.1.2 健康对照组 20 例,男 11 例,女 9 例,平均(52.13 \pm 9.51)岁,均除外高血压、糖尿病、高血脂和心、肺、肝、肾疾病及外伤等情况。各组在年龄、性别、体质量、经济状况、居住条件等各方面均匹配。

1.2 研究方法

1.2.1 标本留取 受试者均于空腹抽静脉血 6 mL 加入试管,室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,留待测定 VEGF 和 TNF- α , $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存;检测低密度脂蛋白(LDL-C)和糖化血红蛋白(HbA1c)。同时留取 24 h 尿,二甲苯防腐,以备检测 UAER。

1.2.2 VEGF 和 TNF- α 测定 采用双抗体夹心 ELISA 法,严格按照试剂盒说明书进行操作,试剂盒购于深圳晶美生物工程

公司。应用放射免疫法检测 24 h UAER; HbA1c 采用德国 Bayer 公司 DCA2000 仪器及试剂盒测定; LDL-C 由本院生化室检测。

1.3 统计学方法 所有数据用 SPSS 统计软件处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,两组以上比较采用方差分析,相关分析采用二元变量相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 糖尿病各组与对照组间外周血 VEGF 和 TNF- α 水平比较见表 1。与对照组相比,血清 VEGF 在 DM、MA、ODN 3 组中明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$); MA、ODN 组高于 DM 组($P < 0.01$); ODN 组高于 MA 组($P < 0.01$)。血清 TNF- α 水平在 DM、MA、ODN 3 组明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$); MA 组患者高于 DM 组患者,但差异无统计学意义($P > 0.05$); ODN 组较 DM、MA 均增高,但差异无统计学意义(均为 $P > 0.05$)。

表 1 各组血清细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF(pg/mL)	TNF- α (μ g/L)
ODN 组	20	560.23 \pm 55.33* \blacktriangle Δ	12.12 \pm 3.87*
MA 组	27	437.28 \pm 58.87p* \blacktriangle	10.53 \pm 3.38*
DM 组	34	368.84 \pm 50.32*	7.21 \pm 3.52*
对照组	20	281.181 \pm 45.44	5.38 \pm 1.36

*:与对照组比较, $P < 0.01$; \blacktriangle :与 DM 组比较, $P < 0.01$; Δ :与 MA 组比较, $P < 0.01$ 。

2.2 糖尿病组患者血清中 VEGF 与 TNF- α 浓度呈正相关($r = 0.712, P < 0.01$);血清 VEGF 浓度、TNF- α 浓度均与 UAER 的升高呈正相关($r_1 = 0.801, P < 0.01; r_2 = 0.732, P < 0.01$)。

2.3 血清 VEGF 和 TNF- α 水平与 LDL 及 HbA1c 值呈正相关,相关系数分别为($r_3 = 0.345, P < 0.05; r_4 = 0.455, P < 0.05$)。

3 讨 论

DN 是糖尿病的三大并发症之一,严重威胁人们身体健康。其主要病理改变为肾小球毛细血管基底膜增厚,肾小球系膜区微血管病变及肾小球毛细血管通透性增高。近年研究表明,血管内皮细胞生长因子在糖尿病肾病的发生和发展过程中起到非常重要的作用。

VEGF 是一种特异性极强的内皮细胞生长因子,也称为血管通透因子(VPF),可强烈地刺激内皮细胞分裂与增殖,增加内皮细胞通透性,促进细胞外基质堆积、内皮细胞增殖、迁移,参与糖尿病肾病的病理生理过程^[1]。VEGF 与其受体结合后,可发挥不同的生物学效应。VEGF 受体主要表达于肾小球内皮细胞、管旁毛细血管和皮质间质细胞中。在大鼠系膜细胞培养中,高糖可以在 3 h 内增加 VEGF mRNA 的表达及蛋白质产量^[2]。人体研究结果表明,在轻、中度 DN 患者的肾脏中肾小球足突细胞和远曲小管细胞均存在 VEGF mRNA 表达的显著增加,在肾小管(特别是近曲小管)处,晚期 DN 的 VEGF 表达明显多于早期 DN^[3]。糖尿病发病的相关因素如高血糖、血管紧张素 II、转化因子 β 、血小板源性生长因子、机械牵拉等均可上调 VEGF^[4]。缺氧也可导致 VEGF 强烈表达,可能与低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)的形成从而促进 VEGF 转录增加有关^[5]。本实验研究结果表明,在 DN 的早期患者血中的 VEGF 水平就已明显增高,并且随着 DN

病程的进展,患者血中 VEGF 的含量逐渐增加,与上述研究观点一致。VEGF 水平和糖化血红蛋白浓度呈正相关,支持了糖尿病患者持续的高血糖状态对 VEGF 具有上调作用的观点。

本文结果同样明, DN 患者 VEGF 与 UAER 呈显著的正相关, VEGF 升高与 UAER 变化一致,推测糖尿病患者尿蛋白增加可能与 VEGF 改变肾小球通透性有关。有研究表明,循环血中高于生理浓度的 VEGF 可促进肾小球毛细血管内皮细胞增殖、分裂,同时促进内皮细胞释放纤溶酶原、前列环素、胶原酶等血管活性物质,溶解微血管基膜,改变内皮细胞窗孔及诱导肾脏血流动力学,引起血管床重建,增高微血管的通透性^[6]。VEGF 在肾小球脏层上皮细胞的持续表达,可以通过旁分泌形式穿过肾小球基底膜作用于内皮细胞,调节滤过膜的通透性,也可能是通过旁分泌形式作用,增加管周毛细血管的通透性^[7]。

高脂血症是糖尿病代谢紊乱的一个突出表现,高脂血症不仅直接参与糖尿病大血管病变,而且 LDL 还可以通过作用于肾小球系膜上的 LDL 受体,导致系膜细胞和足细胞损伤,加重蛋白尿和肾小球及肾小管间质纤维化的进展^[8]。本研究亦发现 DN 组中 UAER、LDL 与 VEGF 有正相关性,说明 LDL 及 VEGF 共同参与了 DN 的发生发展。

本研究显示,糖尿病患者血清 TNF- α 水平与 VEGF 水平、LDL 及 UAER 的升高呈正相关,说明 TNF- α 也参与糖尿病肾病的发生。TNF- α 是一种潜在的致纤维化因子,作为炎症介质在炎症急性期和硬化过程中起重要作用。TNF- α 介导了白细胞与内皮细胞黏附,导致内皮细胞损伤,同时促使白细胞(主要由单核/巨噬细胞组成)在肾小球和肾间质浸润,加速肾小球硬化^[9]。有研究证实 TNF- α 也可上调 VEGF 水平^[4,10-11]。

血清中 VEGF 和 TNF- α 水平在不同时期 DN 患者中有不同程度的增高,且具有相关性,提示 VEGF 和 TNF- α 共同作用参与了 DN 的发生发展,并有可能成为监测 DN 病情变化的有效指标之一;但因 DN 机制复杂,VEGF 和 TNF- α 与其关系尚需更多临床研究证实。

参考文献:

[1] Belgore FM, Blann AD, LI-Saw-Hee FL, et al. Plasma levels of vascular endothelial growth factor and its soluble receptor(sFlt-1) in essential hypertension[J]. Am J Cardiol, 2001, 87(6): 805.
 [2] Thomas S, Vanuytelj J, Gruden G, et al. Vascular endothelial growth factor receptors in human me-sangium in vitro and in glomerular disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 11: 1236.
 [3] Matsumoto K, Kanmatsuse K. Elevated vascular endothelial growth factor levels in the urine of patients with minimal-change nephritic syndrome[J]. Clin Nephrol, 2001, 55: 269.
 [4] Chen S, Kasama Y, Lee JS, et al. Podocyte-derived vascular endothelial growth factor mediates the stimulation of alpha 3(IV) collagen production by transforming growth factor-beta 1 in mouse podocytes[J]. Diabetes, 2004, 53(11): 2939.

表 1 各药耐药情况

	INH	SM	RFP	EMB	PAS	KM	RFT	1321TH	DPC	CPM	LFX
n	22	30	33	10	9	8	31	6	11	5	7
百分比(%)	21.5	29.4	32.3	9.8	8.8	7.8	30.4	5.9	10.8	4.9	6.9

2.2 耐 2 药率 同时耐 RFP、SM 者占 14 例,占 13.7%,耐 INH、RFP 12 例(11.8%),INH、SM 8 例(7.8%),INH、EMB、RFP、EMB 各 3 例(2.9%)。耐 2 药顺位由高到低依次为 RFP + SM > INH + RFP > INH + SM > INH + EMB (RFP + EMB)。

2.3 耐 3 药及 4 药率 耐 3 药和 4 药情况及百分率为 HSR (INH + RFP + SM) 7 例(6.9%),SRE(SM + RFP + EMB) 3 例(2.9%),HSE(INH + SM + EMB) 2 例(2.0%),HSRE(INH + SM + RFP + EMB) 2 例(2.0%)。耐 HSR 最多,耐 HSE 及耐 HSRE 相同。

3 讨 论

资料显示,初治患者耐药率为 45.1%,高于有关报道^[3-4],与王稳才等^[5]报道的相近。本组病例耐药率高,其原因可能与以下因素有关:(1)本院收治初治病例多来自边远贫困山区及低收入人群,且多由既往住院患者介绍而来,原发性耐药率高;(2)不排除含有少部分隐瞒或隐藏的获得性耐药。

耐单药频度显示,RFP、RFT 耐药率均较高,其次是 SM,再次是 INH,而 EMB、DPC、PAS 和 TH1321 的耐药率较低;LFX 也出现耐药,与有关报道比较有差异^[6-7]。因为氟喹诺酮类(FQs)药物作为广谱抗生素,临床广泛应用于治疗各系统的感染,是治疗社区获得性肺炎及泌尿系统的首选药物。尤其是近年来 FQs 不规范广泛应用于结核病治疗,存在于结核专科和非结核专科随意使用 FQs 的现象,使得 FQs 耐药增加。

耐多药率显示,不同药物组合的初治耐药率以 RS、HR、RSH 组合较高;耐药性的发生更趋向于对 INH、SM、RFP 等主要一线抗结核药耐药,更趋向于对多种药物同时耐药,尤其是对 RFP、INH、SM 同时耐药的 MDR-TB 发生率较高。证明耐药与药物使用频率有相关性。

以上结果提示对于结核患者的治疗管理尚不十分规范,不规则化疗、滥用抗结核药等问题仍然严重,应引起相关部门的重视。建议切实加强对肺结核患者的归口管理和治疗,加强结防机构与综合医疗机构的合作,充分发挥三级防痨网的督导作

用^[8]。在临床用药方面,对于疑似肺结核患者,予以抗炎治疗时,应避免选用有抗结核作用的抗生素;在化疗方案制订上,应严格遵守早期、联用、规律、适量、全程的原则。虽然 INH、FRP 的耐药率较高,但因其具有较强的杀菌作用且耐药稳定性不强,因此,首选含 INH、FRP 在内的 3、4 种以上敏感药物组成化疗方案,防止盲目逐个加药,避免“单药综合征”的不良后果。同时,应根据实验室提供的数据制订合理的临床治疗方案,减少获得性耐药菌的产生和流行,降低结核患者的消耗,使患者早日康复。

参考文献:

- [1] 廖传玉,蒋克珉,高万.痰分支杆菌快速培养和药敏试验分析[J].临床肺科杂志,2005,10(1):115.
- [2] 中华医学会结核病学分会.肺结核诊断和治疗指南[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(1):70.
- [3] 刘宇红,姜广路,赵立平等.第 4 次全国结核病流行病学抽样调查——结核分支杆菌耐药性分析与评价[J].中华结核和呼吸杂志,2002,25(4):224.
- [4] 林辉,刘洁,陈林,等.重庆市 2003~2006 年肺结核病耐药情况分析[J].第三军医大学学报,2008,30(12):1183.
- [5] 王稳才,刘道恒,张喜平.136 例初治肺结核药敏结果分析[J].临床肺科杂志,2008,13(5):643.
- [6] 李秋艳.左氧氟沙星治疗结核分支杆菌耐药分析[J].中国现代药物应用,2009,39(13):108.
- [7] 肖和平.结核分支杆菌耐氟喹诺酮类药物的严重性及其特点[J].结核病健康教育,2008,2(26):283.
- [8] 范春,刘英,汪清雅,等.重庆市复发涂阳肺结核患者的初治化疗情况分析[J].重庆医学,2007,36(3):243.

(收稿日期:2009-12-02 修回日期:2010-03-26)

(上接第 2943 页)

- [5] Tsuzuki Y, Fukumura D, Oosthuyse B, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) modulation by targeting hypoxia-inducible factor-1 a hypoxia response element VEGF cascade differently regulates vascular response and growth rate in tumors[J]. Cancer Res, 2000, 60(22): 6248.
- [6] Senthil D, Choudhury GG, Mclaurin C, et al. Vascular endothelial growth factor induces protein synthesis in renal epithelial cells; a potential role in diabetic nephropathy [J]. Kidney Int, 2003, 64(2): 468.
- [7] Santilli F, Spagnoli A, Mohn A, et al. In-creased vascular endothelial growth factor serum concentrations may help to identify patients with onset of type 1 diabetes during

- childhood at risk for developing persis-tent microalbuminuria[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(8): 3871.
- [8] 殷培,袁俊杰,叶表斌,等.低密度脂蛋白对大鼠系膜细胞产生血管内皮生长因子的影响[J].中华肾脏病杂志,2003,19(5):324.
- [9] 周燕.血清肿瘤坏死因子 α 与糖尿病肾病的相关性[J].医学理论与实践,2005,11(1):1263.
- [10] 戎健,邱鸿鑫,汪恕萍.糖尿病大鼠肾小球晚期糖基化终末产物对肾脏改变的影响[J].重庆医学,2001,30(6):492.
- [11] 魏倩萍,邓华聪,赵劼.亚硒酸钠对大鼠肾小球系膜细胞表达 VEGF 的调控[J].重庆医学,2006,35(10):871.

(收稿日期:2010-01-30 修回日期:2010-04-08)