

阿托伐他汀对 2 型糖尿病患者内皮细胞微粒和颈动脉内膜中膜厚度的影响

马鸿伟¹, 任卫东², 张斌³, 王俊明¹, 刘宏强⁴, 胡利梅², 谷君², 张秋子²

(1. 河北北方学院, 2. 河北北方学院附属第一医院内分泌科, 3. 河北北方学院附属第一医院检验科, 4. 河北北方学院附属第一医院超声科, 河北省张家口市 075000)

[关键词] 阿托伐他汀; 内皮细胞微粒; 流式细胞术; 2 型糖尿病; 颈动脉内膜中膜厚度

[摘要] **目的** 观察阿托伐他汀对 2 型糖尿病患者内皮细胞微粒水平及颈动脉内膜中膜厚度(IMT)的影响。**方法** 选取 2 型糖尿病住院患者 90 例, 年龄 45~75 岁, 随机分为阿托伐他汀组和辛伐他汀组。所有患者均在生活方式干预的同时给予口服降糖药和(或)胰岛素治疗, 肠溶阿司匹林 0.1 g qd, 阿托伐他汀组每晚加服阿托伐他汀片 20 mg, 辛伐他汀组每晚加服辛伐他汀片 20 mg, 总疗程 24 周, 观察治疗前后内皮细胞微粒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及颈动脉 IMT 的变化, 并分析它们之间的相关性。**结果** 与治疗前相比, 阿托伐他汀组和辛伐他汀组 IMT、内皮细胞微粒及 LDL-C 水平均明显下降($P < 0.05$), 阿托伐他汀降低 IMT、内皮细胞微粒及 LDL-C 的作用强于辛伐他汀($P < 0.05$), 两组降低幅度差异有统计学意义($P < 0.05$), 治疗前后两组内皮细胞微粒及 LDL-C 的变化值与 IMT 的变化值呈正相关关系($P < 0.05$)。**结论** 他汀类药物能够降低 2 型糖尿病患者颈动脉 IMT、内皮细胞微粒及 LDL-C 水平, 其抗动脉粥样硬化作用除与降脂作用有关外, 可能还与抑制内皮细胞微粒释放有关。阿托伐他汀不仅在降低 LDL-C 上优于辛伐他汀, 而且在降低内皮细胞微粒上同样优于辛伐他汀, 由此推测阿托伐他汀的抗动脉粥样硬化作用强于辛伐他汀可能与此相关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Effects of Atorvastatin on the Level of Endothelial Microparticles and Carotid Intima Media Thickness in Type 2 Diabetes Mellitus

MA Hong-Wei¹, REN Wei-Dong², ZHANG-Bin³, WANG Jun-Ming¹, LIU Hong-Qiang⁴, HU Li-Mei², GU-Jun², and ZHANG Qiu-Zi²

(1. Hebei North University; 2. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University; 3. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Hebei North University; 4. Department of Ultrasonography, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China)

[KEY WORDS] Atorvastatin; Endothelial Microparticles; Flow Cytometry; Type 2 Diabetes Mellitus; Carotid Intima Media Thickness

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of atorvastatin on the level of endothelial microparticles (EMP) and carotid artery intima-media thickness (IMT) in type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients. **Methods** To select 90 cases of type 2 diabetes mellitus resident patients, aged between 45 and 75 years old, who were randomly classified into the atorvastatin group and simvastatin group. Under the circumstance of the intervention of life style, all patients undertook oral antidiabetic drug and/or insulin therapy simultaneously, and with aspirin 0.1 g qd. Atorvastatin group was given atorvastatin 20 mg more every night, simvastatin group was given simvastatin 20 mg more every night. The entire course of treatment lasted 24 weeks. The level of EMP, low density lipoprotein cholesterol (LDLC), IMT was detected before and after the treatment, and the correlation between them was analyzed statistically. **Results** In the atorvastatin group and simvastatin group, the IMT decreased significantly ($P < 0.05$) after therapy, while the plasma concentration of EMP, LD-

[收稿日期] 2014-09-01

[修回日期] 2015-03-07

[作者简介] 马鸿伟, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为糖尿病及其并发症, E-mail 为 502818912@qq.com。任卫东, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为糖尿病及其并发症, E-mail 为 15530396532@126.com。张斌, 主管检验师, 研究方向为流式细胞术的应用。

LC were decreased ($P < 0.05$), and the ability of atorvastatin lowering IMT, EMP and LDLC was stronger than the effect of simvastatin. There was positive relationship existing in the values of EMP, LDLC and IMT between the two groups before and after the therapy ($P < 0.05$). **Conclusion** Statins was capable of reducing the IMT, LDLC and EMP in patients with T2DM. Its anti-atherogenic ability was not only associated with the lipid-lowering effect, but also might be related to the inhibition of EMP release. Atorvastatin was superior compared with simvastatin on reducing both LDLC and EMP, which might account for the phenomenon of the stronger atherosclerosis resistant of atorvastatin compared with simvastatin.

糖尿病是加速动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的重要危险因素,相关的并发症是患者致残和致死的主要原因,而内皮功能障碍是促进糖尿病患者 As 发生、发展的关键环节。内皮细胞微粒(endothelial microparticles, EMP)是内皮细胞在活化或凋亡时释放的一种直径约 $0.1 \sim 1 \mu\text{m}$ 的微粒,可反映动脉内皮炎症反应和损伤的程度,是评估内皮功能障碍的有效指标^[1]。颈动脉粥样硬化(carotid artery atherosclerosis, CAS)可反映全身动脉粥样硬化情况,颈动脉内膜中膜厚度(intima-media thickness, IMT)增厚是 As 的早期指征,并且其进展程度与速度更能预示着 As 及相关的心血管事件的发生^[2],并可以作为评价药物疗效的指标。国内外对 EMP 影响糖尿病血管病变的发生、发展的机制及以 EMP 为靶点的治疗尚处于探索阶段,在应用他汀类药物后 EMP 的变化方面仍存在争论,为此笔者通过观察 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者应用他汀类药物前后 EMP、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)与 IMT 的变化及三者之间是否具有相关性做一探讨。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2013 年 1 月~2014 年 1 月在河北北方学院附属第一医院内分泌科住院的 T2DM 患者 100 例,中途有 10 例因失访退出本研究。诊断依据参考 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准, $\text{IMT} \geq 1.0 \text{ mm}$ 和(或)有明显斑块,年龄 $45 \sim 75$ 岁。所有病例均排除:1 型糖尿病;恶性肿瘤;继发性高血压;糖尿病酮症、酮症酸中毒、高渗高血糖综合征;已有明确的大血管病变者(包括脑梗死、心绞痛和心肌梗死、间歇性跛行等);2 周内患有感染性疾病;6 个月内有外伤、手术、精神刺激等。随机分为两组,阿托伐他汀组 45 例,辛伐他汀组 45 例。

1.2 临床资料的采集

记录入选患者的性别、年龄、糖尿病病程、既往

病史(有无高血压病史),坐位测量血压,常规测定患者空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)、LDLC、体质指数(body mass index, BMI)。

1.3 治疗方法

所有患者均在生活方式干预的同时给予口服降糖药和(或)胰岛素治疗,肠溶阿司匹林 0.1 g qd 口服。高血压患者均给予苯磺酸氨氯地平片(辉瑞制药有限公司) 5 mg qd 口服。阿托伐他汀组在上述治疗基础上每晚加服阿托伐他汀 20 mg (辉瑞制药有限公司生产,商品名立普妥);辛伐他汀组每晚加服辛伐他汀 20 mg (默沙东制药有限公司生产,商品名舒降之)。总疗程 24 周,每 4 周至少随访 1 次。所有受试者均于治疗前、后作相关血液检查并由同一操作者对所有患者使用同一方法测定双侧颈动脉 IMT 值。

1.4 血浆 EMP 检测

采用 FACS Calibur 流式细胞仪进行检测;试剂鼠抗人 CD31-藻红蛋白荧光素(phycoerythrin, PE)及鼠抗人 CD42b-异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)均购自美国 BD 公司。(1)含有柠檬酸钠的真空采血管采集清晨空腹静脉血 2 mL ,采血后立即处理标本。(2) 150 g 离心 10 min 获血小板丰富血浆, 1000 g 离心 2 min 获去血小板的血浆(platelet-poor plasma, PPP)。(3) EMP 分析:取 $50 \mu\text{L}$ PPP 与 $4 \mu\text{L}$ PE 标记 CD31 单抗及 $4 \mu\text{L}$ FITC 标记 CD42b 单抗混合并室温下避光放置 20 min , 0.5 mL PBS 稀释后,流式细胞仪上机进行分析。样本检测前以直径为 $1.0 \mu\text{m}$ 的标准微球于前向角定门,门内收集的微粒直径均 $< 1.0 \mu\text{m}$ 。EMP 被定义为 $\text{CD31}^+/\text{CD42b}^-$ 的直径 $< 1.0 \mu\text{m}$ 的粒子,收集 10000 个微粒时停止计数,获得 $\text{CD31}^+/\text{CD42b}^-$ 的 EMP 百分比,10000 与 EMP 百分比相乘得到 EMP 的绝对值。

1.5 超声测定 IMT 值

采用 Aloka Prosound F75 彩超仪,探头频率为 $5 \sim 13 \text{ MHz}$,测量入选患者治疗前后双侧颈动脉窦、

颈总动脉远端距分叉处 10 mm、颈内动脉起始端 10 mm,共 6 处 IMT 值,取其平均值。为保证测得 IMT 值的准确性,所有患者治疗前后均由同一位能够熟练操作并准确测量 IMT 值的超声科医师测量。

1.6 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件对数据进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 描述,治疗前两组各项指标的比较和治疗后两组各指标变化比较均采用两独立样本 t 检验,每组内治疗前后各项指标变化采用配对设计 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;EMP、LDLC、HbA1c 变化值与 IMT 变化值之间的相关性采用直

线相关分析;检验水准取值均为 0.05。

2 结果

2.1 基线资料

两组临床特征如性别、年龄、病程、BMI 等差异均无显著性($P > 0.05$;表 1),具有可比性。阿托伐他汀组口服降糖药治疗 11 例、胰岛素治疗 15 例、降糖药联合胰岛素治疗 19 例,辛伐他汀组口服降糖药治疗 9 例、胰岛素治疗 16 例、降糖药联合胰岛素治疗 20 例(χ^2 值分别为 0.257、0.049、0.045),降糖方式差异无显著性($P > 0.05$),具有可比性。

表 1. 两组间一般临床资料比较

Table 1. Comparison of basic clinical characteristics in the two groups

临床资料	阿托伐他汀组($n=45$)	辛伐他汀组($n=45$)	$t(\chi^2)$ 值	P 值
男/女(例)	23/22	20/25	0.401	>0.05
年龄(岁)	57.00 ± 8.19	57.69 ± 8.34	0.396	>0.05
病程(年)	8.20 ± 3.62	8.42 ± 2.82	0.322	>0.05
高血压(例)	20(44.4%)	18(40.0%)	0.182	>0.05
收缩压(mmHg)	135.11 ± 13.72	134.47 ± 13.40	0.223	>0.05
舒张压(mmHg)	76.93 ± 7.58	74.33 ± 9.48	1.437	>0.05
BMI(kg/m^2)	25.42 ± 1.77	25.69 ± 1.36	0.811	>0.05
FBG(mmol/L)	10.75 ± 2.78	11.45 ± 2.61	1.231	>0.05
LDLC(mmol/L)	3.40 ± 0.61	3.16 ± 0.69	1.748	>0.05
HbA1c	$9.54\% \pm 1.58\%$	$9.93\% \pm 1.87\%$	1.069	>0.05
IMT(mm)	0.91 ± 0.77	1.07 ± 0.84	0.942	>0.05
EMP(个)	1510.80 ± 279.45	1534.96 ± 265.75	0.420	>0.05

2.2 两组治疗后各项指标变化值

两组在治疗 24 周后 FBG、LDLC、HbA1c、IMT 及 EMP 均有明显下降($P < 0.05$),两组间 FBG、HbA1c

及血压水平变化比较无明显差异($P > 0.05$);与辛伐他汀组比较,阿托伐他汀组 LDLC、IMT 及 EMP 的水平下降更为明显($P < 0.05$;表 2)。

表 2. 治疗后两组各项指标变化值比较($\bar{d} \pm s$)

Table 2. Comparison of the index before and after therapy($\bar{d} \pm s$)

指标	阿托伐他汀组	辛伐他汀组	t 值	P 值
收缩压(mmHg)	7.71 ± 9.01	6.13 ± 9.43	0.298	>0.05
舒张压(mmHg)	5.42 ± 10.60	5.07 ± 12.25	0.145	>0.05
FBG(mmol/L)	3.62 ± 2.69	4.51 ± 2.54	-1.614	>0.05
LDLC(mmol/L)	1.36 ± 0.65	0.52 ± 0.74	5.721	<0.05
HbA1c	$2.74\% \pm 1.43\%$	$3.08\% \pm 1.83\%$	-0.988	>0.05
IMT(mm)	0.17 ± 0.06	0.14 ± 0.07	2.182	<0.05
EMP(个)	264.49 ± 131.66	140.36 ± 126.89	4.55	<0.05

2.3 EMP、LDLC 和 HbA1c 与 IMT 相关性分析

直线相关分析表明,研究结束时两组治疗前后 EMP 变化值与 IMT 变化值均呈正相关(阿托伐他汀

组; $r=0.483, P < 0.05$;辛伐他汀组; $r=0.423, P < 0.05$),LDLC 变化值与 IMT 变化值呈正相关(阿托伐他汀组; $r=0.512, P < 0.05$;辛伐他汀组; $r=$

0.483, $P < 0.05$), HbA1c 变化值与 IMT 变化值亦呈正相关(阿托伐他汀组: $r = 0.326, P < 0.05$; 辛伐他汀组: $r = 0.313, P < 0.05$)。

2.4 不良反应

阿托伐他汀组肌酸激酶升高,但小于3倍1例,丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶升高大于1.5倍2例;辛伐他汀组丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶升高大于1.5倍2例,均未停药,在严密观察下继续用药后上述不良反应消失。两组均无横纹肌溶解的病例出现。

3 讨论

内皮细胞功能障碍是糖尿病患者 As 发生、发展的始动因素,而 IMT 增厚是 As 的早期指征。内皮细胞在受到损伤、缺氧或炎症的刺激时能够释放出 EMP,其通过减弱乙酰胆碱介导的血管舒张功能,阻断内皮细胞一氧化氮(NO)信号的传导通路,其产物由 NO 转变为过氧化物,导致血管内皮损伤,从而启动 As 的进程。通过分组研究发现 T2DM 患者合并 CAS 组的 EMP 水平较 T2DM 无 CAS 组明显升高,表明 EMP 的定量检测可以作为预测、评估糖尿病合并 As 风险的敏感指标^[3]。Feng 等^[4]发现 T2DM 患者 EMP 水平明显增加,并通过观察 HbA1c、血管内皮依赖性舒张功能(flow-mediated endothelium dependent vascular diastolic function, FMD)与脉搏波传导速度(pulse wave velocity, PWV)的关系,证实 EMP 水平与 T2DM 患者血管功能障碍密切相关。EMP 作为糖尿病早期内皮细胞损伤标志物不仅是内皮细胞功能障碍的标志,其还具有损伤内皮细胞的功能,所以稳定细胞膜降低 EMP 的释放被认为是 As 等血管疾病治疗的一个新途径^[5]。

血压、血糖等代谢因素也影响 As 的进展^[6],血糖波动可通过不同代谢途径产生的活性氧,诱导细胞内氧化应激发生,导致血管内皮的损伤,最终加速 As 的发展^[7],本研究校正了年龄、性别、血糖、血压等相关危险因素后,经降糖、降脂治疗,EMP、HbA1c、LDLC 及 IMT 均有效降低,IMT 的降低不仅与 LDLC、EMP 有关,还与 HbA1c 相关,可能与血糖下降后对血管内皮功能损害减轻,内皮激活状态得到改善,导致 EMP 产生减少有关,同时 EMP、LDLC 对于 IMT 的影响仍大于 HbA1c 对 IMT 的影响,可能因为本研究时间较短,尚不能排除长期血糖对 IMT 的影响。另外,近年来国外学者还发现他汀类药物

可导致血糖控制恶化、新发糖尿病风险升高^[8],但本研究未发现明显的血糖波动,可能与应用剂量较小、研究时间较短有关,长期应用仍需密切监测血糖。本研究结果提示在去除 FBG、HbA1c、血压变化等影响因素的情况下,两组 LDLC、IMT 及 EMP 均明显下降,推测他汀类药物有助于 T2DM 患者减轻 IMT 厚度,逆转早期的 As,不仅与降脂作用有关,还与 EMP 减少有关。

他汀类药物降脂以外的作用越来越受到重视,研究证实阿托伐他汀具有独立于降脂之外的抑制内皮炎症、保护内皮细胞、延缓 As 进展的作用^[9]。已有动物实验表明,阿托伐他汀能明显抑制 As 早期巨噬细胞迁移,抑制体内氧化应激反应,稳定高脂血症状态下的内皮功能,从而抑制实验小鼠 As 的形成^[10]。阿托伐他汀和辛伐他汀均属胆固醇合成过程中的限速酶羟甲戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂,阿托伐他汀具有对 HMG-CoA(3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A)还原酶有抑制作用的药效基团(二羟基庚酸基团),但辛伐他汀分子结构中无该药效基团(仅有内酯结构),需要经过肝脏代谢后才能生成该药效基团,因此,辛伐他汀起效慢。另外,阿托伐他汀在体内的吸收率、排泄率、功能性生物利用度均高于辛伐他汀,在本研究中,阿托伐他汀组降低 LDLC 的作用强于辛伐他汀组,与早前研究结果一致^[11]。相互比较药物调脂作用的研究结果显示^[12],他汀类药物相同剂量下,降低 LDLC 作用阿托伐他汀大于辛伐他汀,所以如果增加辛伐他汀的治疗剂量,结果可能不同,但其不良反应可能也会有一定程度的增加。

阿托伐他汀能够促进内皮细胞 NO 的合成,有效改善内皮细胞功能,体外研究通过观察阿托伐他汀对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)EMP 释放和细胞凋亡的影响,证实阿托伐他汀对高糖诱导的 HUVEC 释放 EMP 有确切的调节作用,其机制可能与其调节血管内皮细胞内皮型一氧化氮合酶的活性,抑制氧化应激对细胞膜及线粒体的损伤,并通过核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)通路减轻高糖及其代谢产物对内皮细胞的直接损伤作用等有关^[13]。但目前国内外鲜有关于辛伐他汀对 EMP 影响的研究,阿托伐他汀、辛伐他汀二者对 EMP 的影响是否有差别也无定论。本研究发现两组患者治疗后 EMP 和 IMT、LDLC 均较治疗前下降,与辛伐他汀组比较阿托伐他汀组 IMT、LDLC 下降更为明显,与先前研究结果一致,同时也发现对于 EMP 的影响,阿

托伐他汀同样优于辛伐他汀,提示其抗 As 作用及治疗后内皮功能损害减轻除了可能与降低 LDLC 更强有关外,也可能与更多的降低了 EMP 有关。

综上所述,阿托伐他汀和辛伐他汀都有良好的调脂、抗 As 及降低 EMP 的作用,但通过比较发现,阿托伐他汀不仅在降低 IMT、LDLC 上优于辛伐他汀,而且在降低 EMP 上同样优于辛伐他汀,由此推测阿托伐他汀的抗 As 作用强于辛伐他汀可能与此有关。由于本研究样本量较小,观察时间较短,今后尚需进一步增加样本量及延长观察时间,作进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, et al. Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease [J]. *Am Coll Cardiol*, 2009, 54: 601-608.
- [2] Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, et al. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis[J]. *Circulation*, 2007, 115(4): 459-467.
- [3] 胡利梅,任卫东,张斌,等. 影响 2 型糖尿病患者动脉硬化的多因素分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(4): 391-394.
- [4] Feng B, Chen Y, Luo Y, et al. Circulating level of micro-particles and their correlation with arterial elasticity and endothelium-dependent dilation in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 208: 264-269.
- [5] Inzhutova AI, Larionov AA, Petrova MM, et al. Stabiliza-

tion of cellular membranes as a target of vascular therapy [J]. *Kardiologia*, 2011, 51(4): 52-55.

- [6] 杨娉婷,袁洪,翁春燕,等. 高血压患者颈动脉硬化与估测肾小球滤过率的相关性分析[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2014, 39(5): 465-470.
 - [7] 王燕燕. 血糖波动性的临床意义及其干预研究[J]. *医学研究生学报*, 2007, 20: 766-769.
 - [8] Waters DD, Ho JE, Boekholdt SM, et al. Cardiovascular event reduction versus new-onset diabetes during atorvastatin therapy: effect of baseline risk factors for diabetes[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 61(2): 148-152.
 - [9] Bot I, Jukema JW, Lankhuizen IM, et al. Atorvastatin inhibits plaque development and adventitial neovascularization in ApoE deficient mice independent of plasma cholesterol levels [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 214(2): 295-300.
 - [10] 郭玉军,杜纪兵,陈树涛,等. 阿托伐他汀钙及福辛普利在鼠颈动脉粥样硬化形成中的干预作用[J]. *中华高血压杂志*, 2010, 18(11): 1071-075.
 - [11] Jones P, Kafonek S, Laurora I, et al. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study) [J]. *Am J Cardiol*, 1998, 81(5): 582-587.
 - [12] 鄢琳,曹立亚,雷建军,等. 9 种调血脂药物有效性及安全性评价[J]. *中国循证医学杂志*, 2005, 5(1): 8-21.
 - [13] 田刚,任燕,卢群,等. 阿托伐他汀钙抑制高糖诱导的人脐静脉内皮细胞内皮微粒释放及细胞凋亡[J]. *第四军医大学学报*, 2009, 30(19): 1883-886.
- (此文编辑 许雪梅)