

三黄活络方对早期糖尿病肾病大鼠血糖, 肾功能, SREBP-1c, SREBP-2c 的影响

姚玉红

(河南省中医院, 郑州 450002)

[摘要] **目的:**观察三黄活络方对早期糖尿病肾病大鼠血糖, 肾功能, 固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c), SREBP-2c 的影响。**方法:**采用链脲佐菌素诱导的方法建立大鼠糖尿病模型, 将糖尿病模型成功的大鼠随机分为模型组、阳性药组及三黄活络方低、中、高剂量组, 其它组行切除大鼠右侧肾脏术后 *ig*, 阳性药组给予 1.3 mg·kg⁻¹ 盐酸贝那普利, 三黄活络方低剂量组、中剂量组和高剂量组均给予中药颗粒, 剂量分别为 5, 15, 30 g·kg⁻¹。正常组和模型组均 *ig* 给予蒸馏水, 所有组均连续 *ig* 8 周。观察大鼠血糖(GLU), 糖化血红蛋白(HbA1c), 血尿素氮(BUN), 肌酐(SCr), 尿蛋白(Pro), SREBP-1c, SREBP-2c 的水平。**结果:**与正常组比较, 模型组的 GLU 和 HbA1c 均显著性升高($P < 0.01$), 阳性药组、各三黄活络组的 GLU 和 HbA1c 也均显著性升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性药组、各三黄活络组的 GLU 均降低($P < 0.01$), 阳性药组、中、高剂量组的 HbA1c 均降低($P < 0.01$), 低剂量组的 HbA1c 降低($P < 0.05$)。与正常组比较, 模型组的 SCr, BUN, Pro, SREBP-1c 及 SREBP-2c 均显著性升高($P < 0.01$), 阳性药组和各三黄活络组的 SCr, BUN, Pro, SREBP-1c 及 SREBP-2c 也均显著性升高($P < 0.01$)。与模型组对比, 阳性药组、各三黄活络组的 SCr, BUN, Pro, SREBP-1c 及 SREBP-2c 均较低($P < 0.01$)。与阳性药组对比, 低剂量组的 SCr, BUN, Pro, SREBP-1c 及 SREBP-2c 均较高($P < 0.01$), 中剂量组的 SCr, BUN, Pro, SREBP-1c 及 SREBP-2c 均较高($P < 0.05$)。**结论:**三黄活络方能改善糖尿病肾病大鼠 SCr, BUN, Pro, SREBP-1c 及 SREBP-2c 水平, 对糖尿病肾病大鼠肾损伤有一定的保护作用。

[关键词] 糖尿病肾病; 三黄活络方; 肾功能

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0155-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180155

Effect of Sanhuang Huoluo Formula on Blood Glucose, Renal Function, SREBP-1c and SREBP-2c of Diabetic Nephropathy Rats YAO Yu-hong (Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Sanhuang Huoluo formula on blood glucose, renal function, sterol regulating element binding protein-1c (SREBP-1c) and SREBP-2c of diabetic nephropathy rats. **Method:** The diabetic model was induced by streptozotocin. The rats in the successfully established diabetic model were randomly divided into the model group, the positive drug group and Sanhuang Huoluo formula low, medium and high doses groups. After other groups took the resection of the right kidney, the positive drug group was given 1.3 mg·kg⁻¹ of benazepril hydrochloride, Sanhuang adjustable low dose group, middle dose group and high dose group were orally given Chinese medicine granules with doses of 5, 15, 30 g·kg⁻¹, respectively. Both of the normal group and the model group mice were orally given distilled water, and all of the groups orally given drugs for 8 weeks in a row. Blood glucose (GLU), glycosylated hemoglobin (HbA1c), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (SCr), urine protein (Pro), SREBP-1c, SREBP-2c in rats were observed. **Result:** Compared with the normal group, GLU and HbA1c of the model group were significantly higher ($P < 0.01$), GLU and HbA1c of the positive drug group and Sanhuang Huoluo formula low, medium and high doses groups were also significantly higher ($P < 0.01$). Compared with the model group, GLU of the positive drug group and Sanhuang Huoluo formula low,

[收稿日期] 20141030(018)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81001632)

[通讯作者] *姚玉红, 副主任护师, 从事内分泌疾病的诊断与治疗, Tel:13674993699, E-mail:yaoyuhong001122@126.com

medium and high doses groups were lower ($P < 0.01$), HbA1c of the positive drug group and Sanhuang Huoluo formula medium and high doses groups were lower ($P < 0.01$), HbA1c of the Sanhuang Huoluo formula low dose group was lower ($P < 0.05$). Compared with the normal group, SCr, BUN, Pro, SREBP-1c and SREBP-2c of the model group were significantly higher ($P < 0.01$), and SCr, BUN, Pro, SREBP-1c and SREBP-2c of the positive drug group and Sanhuang Huoluo formula low, medium and high doses groups were also significantly higher ($P < 0.01$). Compared with the model group, SCr, BUN, Pro, SREBP-1c and SREBP-2c of the positive drug group and Sanhuang Huoluo formula low, medium and high doses groups were lower ($P < 0.01$). Compared with the positive drug group, SCr, BUN, Pro, SREBP-1c and SREBP-2c of the Sanhuang Huoluo formula low dose group were higher ($P < 0.01$), and SCr, BUN, Pro, SREBP-1c and SREBP-2c of the Sanhuang Huoluo formula medium dose group were higher ($P < 0.05$). **Conclusion:** Sanhuang Huoluo formula can improve level of SCr, BUN, Pro, SREBP-1c and SREBP-2c in diabetes nephropathy rats, with a certain protective effect on renal damage in rats of diabetic nephropathy rats.

[**Key words**] diabetic nephropathy; Sanhuang Huoluo formula; renal function

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 属于糖尿病最多见和最严重的微血管并发症之一, 由多因素参与所致, 如遗传因素、肾脏血流动力学异常、高血糖造成的代谢异常、高血压、血管活性物质代谢异常等因素共同作用下致病^[1-2]。DN 的病理主要特征是细胞外基质在肾小球基底膜的积聚, 肾小球逐步硬化。另外, 固醇元件结合蛋白 (sterol regulatory element-binding protein, SREBPs) 在介导糖尿病脂质性肾损害方面起着重要作用, 它直接参与调节脂肪酸、甘油三酯合成和葡萄糖代谢相关酶基因的表达^[3]。中医认为糖尿病肾病病位在肾络, 气阴两虚为本, 毒损肾络为标, 三黄活络方正是采用益气养阴为治本, 解毒活络为治标对糖尿病肾病进行干预。本文以早期糖尿病肾病大鼠为研究对象, 观察三黄活络方对其肾功能, SREBP-1c, SREBP-2c 的影响。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 SD 健康大鼠, 体重 (200 ± 20) g, 级别 SPF, 购于河南省实验动物中心, 合格证号 SCXK(豫)2012-A052。

1.2 药物及试剂 三黄活络中药复方的药物组成: 黄芪 40 g, 黄精 40 g, 黄连 6 g, 虎杖 30 g, 泽兰 20 g, 水蛭粉 6 g (免煎中药配方颗粒, 自制), 盐酸贝那普利片 (北京诺华制药有限公司, 批号 0804X1077)。实验药物配制均采用蒸馏水配制成溶液。链脲佐菌素 (STZ, 美国 Sigma 公司, 批号 040M1367), 血糖 (GLU, 批号 20130513), 糖化血红蛋白 (HbA1c, 批号 20130415), 血尿素氮 (BUN, 批号 20130921), 肌酐 (SCr, 批号 20131119), 尿蛋白 (Pro, 批号 20051128), 以上试剂均购自南京建成生物工程研究所; SREBP-1c (批号 E13C2521), SREBP-2c (批号

E13C2525), 均购自美国 R&D 公司。

1.3 仪器 稳捷易™ 血糖仪及血糖试纸 (强生中国医疗器材有限公司), 2000 型自动生化分析仪 (美国 Humalyzer 公司)。

2 方法

2.1 糖尿病模型的建立^[4] 大鼠适应性喂养 2 周后, 禁食 12 h, 单次腹腔内注射 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ STZ, 72 h 后, 取大鼠尾静脉血液, 通过血糖仪测定血糖水平, 并用尿糖试纸测大鼠随意尿糖, 模型成功指标为 ①血糖浓度 $\geq 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; ②尿糖定性 $> \text{++}$ 。

2.2 分组及给药处理 将造模成功的大鼠随机分为模型组、阳性药组及三黄活络方低剂量组、中剂量组和高剂量组。模型组、阳性药组及三黄活络方低、中、高剂量组行切除大鼠右侧肾脏, 术后 2 周, 阳性药组给予 $1.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 盐酸贝那普利 *ig*, 三黄活络方低、中、高剂量组均给予中药颗粒 *ig*, 剂量分别为 5, 15, 30 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。另取正常大鼠作为正常组, 正常组和模型组均 *ig* 给予每日 2 mL 蒸馏水。

2.3 观察指标 ①待连续 *ig* 8 周末, 代谢笼收集 24 h 尿液, 并对大鼠眶下静脉取血, 采用全自动生化分析仪测定血生化水平: GLU, HbA1c, BUN, SCr, Pro, 并采用 ELISA 法检测 SREBP-1c, SREBP-2c。②大鼠肾组织病理形态学变化: 快速摘取大鼠双肾 (在低温环境下处理), 取右肾, 并以多聚甲醛固定, 采用 HE 染色切片, 观察肾组织病理形态学变化。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件处理数据, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以单因素方差分析法考查显著性, 组间两两比较采用 LSD 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠血糖的影响 与正常组比较,模型组的 GLU 和 HbA1c 均显著性升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,盐酸贝那普利组、各三黄活络组的 GLU 均降低 ($P < 0.01$),盐酸贝那普利组、三黄活络中剂量组和高剂量组的 HbA1c 均降低 ($P < 0.01$),三黄活络低剂量组的 HbA1c 降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 对大鼠肾功能的影响 与正常组比较,模型组的 SCr, BUN 及 Pro 均显著性升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,盐酸贝那普利组、各三黄活络组的 SCr, BUN 及 Pro 均较低 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 三黄活络方对大鼠 SCr, BUN 及 Pro 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 2 Effects of Sanhuang Huoluo formula on SCr, BUN and Pro in rats ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	SCr/ $\mu mmol \cdot L^{-1}$	BUN/ $mmol \cdot L^{-1}$	Pro/ $mg \cdot L^{-1}$
正常	-	25.35 \pm 3.23	8.35 \pm 0.98	355.31 \pm 21.53
模型	-	49.51 \pm 2.41 ²⁾	14.54 \pm 0.61 ²⁾	512.53 \pm 42.12 ²⁾
盐酸贝那普利	0.001 3	33.52 \pm 3.35 ⁴⁾	10.32 \pm 0.85 ⁴⁾	395.35 \pm 32.52 ⁴⁾
三黄活络方	5	39.31 \pm 3.13 ⁴⁾	13.55 \pm 0.66 ³⁾	487.66 \pm 31.78 ³⁾
	15	35.62 \pm 2.16 ⁴⁾	11.23 \pm 0.71 ⁴⁾	438.05 \pm 28.57 ⁴⁾
	30	33.87 \pm 2.36 ⁴⁾	10.57 \pm 0.95 ⁴⁾	402.62 \pm 35.16 ⁴⁾

3.3 对大鼠血清 SREBP-1c, SREBP-2c 的影响 与正常组比较,模型组的 SREBP-1c, SREBP-2c 均显著性升高 ($P < 0.01$);与模型组对比,盐酸贝那普利组、各三黄活络组的 SREBP-1c, SREBP-2c 均较低 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 三黄活络方对大鼠血清中 SREBP-1c, SREBP-2c 变化 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 3 Effects of Sanhuang Huoluo formula on SREBP-1c and SREBP-2c in rats ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	SREBP-1c/ $mg \cdot L^{-1}$	SREBP-2c/ $mg \cdot L^{-1}$
正常	-	5.85 \pm 0.13	3.43 \pm 0.07
模型	-	9.16 \pm 0.14 ²⁾	5.02 \pm 0.13 ²⁾
盐酸贝那普利	0.001 3	6.59 \pm 0.23 ⁴⁾	3.82 \pm 0.10 ⁴⁾
三黄活络方	5	7.24 \pm 0.24 ⁴⁾	4.12 \pm 0.09 ⁴⁾
	15	6.78 \pm 0.11 ⁴⁾	3.99 \pm 0.16 ⁴⁾
	30	6.62 \pm 0.16 ⁴⁾	3.87 \pm 0.22 ⁴⁾

3.4 对大鼠肾组织病理形态学的影响 正常组大鼠肾组织形态正常,肾小球管壁薄厚,管腔大小正常,无明显的病理变化;模型组大鼠肾组织形态异常,肾小球管壁薄肿胀,呈现无规则,管腔大小不均匀,血管萎缩,肾小管上皮细胞空泡变性。盐酸贝那

表 1 三黄活络方对大鼠 GLU 和 HbA1c 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 1 Effects of Sanhuang Huoluo formula on GLU and HbA1c in rats ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	GLU/ $mmol \cdot L^{-1}$	HbA1c/%
正常	-	10.35 \pm 2.23	4.43 \pm 1.43
模型	-	33.51 \pm 1.41 ²⁾	15.38 \pm 3.26 ²⁾
盐酸贝那普利	0.001 3	23.12 \pm 1.46 ⁴⁾	9.58 \pm 1.72 ⁴⁾
三黄活络方	5	24.91 \pm 2.13 ⁴⁾	11.16 \pm 3.28 ³⁾
	15	24.19 \pm 1.16 ⁴⁾	9.67 \pm 2.26 ⁴⁾
	30	23.23 \pm 1.62 ⁴⁾	7.73 \pm 1.27 ⁴⁾

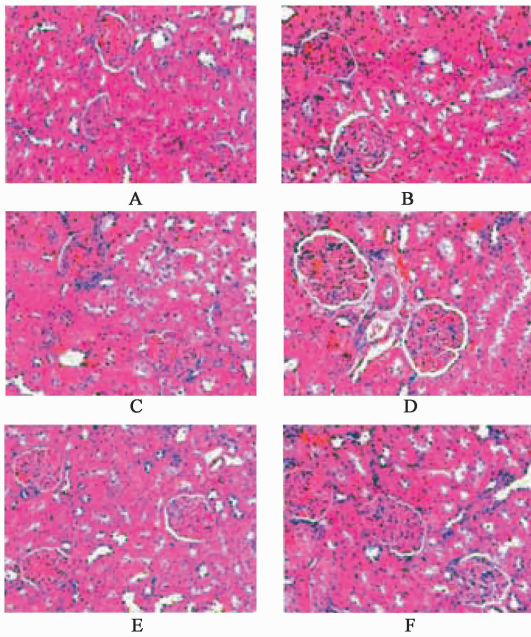
注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2, 3 同)。

普利组、低剂量组、中剂量组和高剂量组的以上病理变化明显改善。见图 1。

4 讨论

早期 DN 病理变化主要为肾小球肥大、基底膜增厚,ECM 蛋白积聚致系膜区扩张,导致弥漫性或结节性肾小球硬化及肾小管间质纤维化,一旦出现持续大量蛋白尿,病情往往不可逆转,直至终末期肾衰竭^[5-7]。因此,糖尿病肾病的诊断和治疗宜早不宜晚,应该在肾脏病变处在代偿期时予以干预,延缓其进展到失代偿期。本研究通过观察三黄活络方对早期糖尿病肾病大鼠肾功能, SREBP-1c, SREBP-2c 的影响,旨在探索三黄活络方降低糖尿病肾病大鼠肾损伤的干预作用。

三黄活络方中药复方是由黄芪、黄精、黄连、虎杖、泽兰、水蛭粉等中药由现代制剂工艺制成的颗粒,近代的医学实验证明^[8-11],黄芪能调节血糖含量的作用,保护肝功能,改善肾功能的作用,黄精能明显对抗肾上腺素所引起的血糖升高,对肾上腺皮质功能亢进所引起的脂肪、糖代谢紊乱有一定的改善作用。黄连可降糖、降脂、促进高糖状态下胰岛 β 细胞分泌胰岛素、抗炎、降压及抑制血小板聚集的作用。水蛭可减少蛋白尿、抑制血小板聚集、抗凝、促纤溶、抗栓、降血脂及改善血液流变和高凝状态。



A. 正常组; B. 模型组; C. 盐酸贝那普利; D. 三黄活络方 5 g·kg⁻¹组; E. 三黄活络方 15 g·kg⁻¹组; F. 三黄活络方 30 g·kg⁻¹组

图1 三黄活络方对大鼠大鼠肾组织病理形态学的影响(HE, ×400)
Fig.1 Effects of Sanhuang Huoluo formula on kidney pathological morphology in rats (HE, ×400)

SREBP-1c, SREBP-2C 的途径,可能参与了糖尿病肾病脂质沉积的发生和发展。由 SREBPs 介导的脂质异常参与糖尿病肾病的发病, SREBP-1 的表达增强,促进肾脏 TG 的沉积和脂肪酸的合成; SREBP-2 是重要的胆固醇合成调节因子,其表达增强,促进肾脏 TC 的沉积和胆固醇的合成。本文实验结果显示,与正常组比较,模型组的 SCr, BUN, ProSREBP-1c 及 SREBP-2c 均显著性升高,说明糖尿病肾病大鼠的肾功能异常,存在着一定程度的肾损伤。盐酸贝那普利组和各三黄活络组的 SCr, BUN, ProSREBP-1c 及 SREBP-2c 也均显著性升高,且与模型组对比,盐酸贝那普利组、各三黄活络组的 SCr, BUN, ProSREBP-1c 及 SREBP-2c 均较低,提示通过药物干预后, DN 大鼠的肾功能得到一定的改善。

综上所述,三黄活络方能改善糖尿病肾病大鼠

SCr, BUN, Pro, SREBP-1c 及 SREBP-2c 水平,对糖尿病肾病大鼠肾损伤有一定的保护作用,但具体的作用机制还需要对其他指标等观察,有待进一步的研究证实。

[参考文献]

[1] 黄娟,袁伟杰,王嘉琳,等. 糖尿病肾病大鼠骨骼肌自噬-溶酶体途径水平变化及低蛋白联合 α -酮酸饮食对其作用[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(44): 3551-3555.

[2] Fukami K, Yamagishi S, Coughlan M T, et al. Ramipril inhibits ACE-RAGE-induced matrix metalloproteinase-2 activation in experimental diabetic nephropathy [J]. Diabetol Metab Syndr, 2014, 6(1): 86.

[3] Wen X, Zeng Y, Liu L, et al. Zhenqing recipe alleviates diabetic nephropathy in experimental type 2 diabetic rats through suppression of SREBP-1c [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 142(1): 144-150.

[4] 高苹,贾汝汉. 2 型糖尿病肾病大鼠模型的建立[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2007, 8(6): 316-319.

[5] 马兴杰,杨丽霞. 糖尿病肾病蛋白尿形成机制[J]. 重庆医学, 2011, 40(20): 2064-2067.

[6] 赵巧玲,谢新荣,赵妮,等. 2 型糖尿病患者足部自主神经功能与糖尿病肾病关系的研究[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(24): 4009-4011.

[7] 李沛霖,杨锐,周勇,等. 糖尿病肾病患者糖化血清蛋白测定的意义[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(6): 1093-1094.

[8] 穆鑫,袁霞,康白,等. 糖尿病大鼠肾脏水通道蛋白-2 mRNA 的表达及黄芪的调节作用[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(9): 1176-1179.

[9] 陈晔,孙晓生. 黄精的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(3): 328-330.

[10] 田智勇,李振国. 黄连的研究新进展[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(10): 704, 705-706.

[11] 莫可元,张桂英,莫志江,等. 水蛭的药理研究进展[J]. 中成药, 2003, 25(5): 408-410.

[责任编辑 周冰冰]