

糖肾芪(齐)对链脲佐菌素致糖尿病肾病模型大鼠的影响

王天文, 钟代华, 黄文涛, 张莉*
(重庆市中药研究院, 重庆 400065)

[摘要] **目的:**研究糖肾芪(齐)对糖尿病肾病(DN)模型大鼠的保护作用。**方法:**SD大鼠一次性尾静脉注射链脲佐菌素(STZ),建立DN模型大鼠。成模后随机分为模型对照组、糖肾芪(齐)高、中、低剂量(生药28.0, 14.0, 7.0 g·kg⁻¹)组、糖脉康颗粒组及糖适平+卡托普利组,连续给药12周,观察动物一般状况;定期检测动物的体重、饮食、饮水、尿液指标(尿糖和尿蛋白)、血液指标(空腹血糖、肌酐、尿素、糖化血红蛋白),给药结束后,进行肾脏质量及指数、PAS染色肾小球阳性区域面积测定以及肾脏组织病理学检查。**结果:**糖肾芪(齐)能降低DN模型大鼠血糖,调节糖代谢异常,促进肝糖元的转化;同时减少尿量,降低尿糖及尿蛋白含量,提高肾小球滤过率;抑制肾脏肥大,降低肾脏病变发生率及改善和修复病变程度。**结论:**糖肾芪(齐)对DN模型大鼠有较好的保护作用。

[关键词] 糖肾芪(齐); 糖尿病肾病; 尿蛋白; 肾小球; 组织病理学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0295-08

[doi] 10.11653/syjf2013190295

Influences of Tangshenqi on Diabetic Nephropathy in Rats Induced by STZ Injection

WANG Tian-wen, ZHONG Dai-hua, HUANG Wen-tao, ZHANG Li*
(Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of Tangshenqi on diabetic nephropathy (DN) in rats. **Method:** The DN model was built by intravenous injection of streptozotocin (STZ) once in sprague dawley (SD) rats. The model rats were randomly divided into six groups: model control group, high-dosage Tangshenqi group (crude drug, 28.0 g·kg⁻¹), middle-dosage Tangshenqi group (crude drug, 14.0 g·kg⁻¹), low-dosage Tangshenqi group (crude drug, 7.0 g·kg⁻¹), Tangmaikang granule group, and gliquidone + captopril group. The rats were continuously administrated for 12 weeks, in the same time, the general situations in rats were observed, and body weight, food intake, water intake, urine index (urine sugar and urine protein), blood index (fasting glucose, creatinine, urea, glycosylated hemoglobin) were regularly tested. After the last administration, kidney weight, kidney index, and area of glomerular positive region by PAS staining were measured, while the examination of kidney histopathology was carried out. **Result:** Tangshenqi could reduce blood glucose in DN rats, regulate abnormal glucose metabolism, and promote the transformation of hepatic glycogen. It could also reduce urinary volume, as well as the content of urine sugar and urine protein, and increase glomerular filtration rate. Moreover it could inhibit kidney hypertrophy, reduce incidence of kidney disease, as well as improve and repair the degree of lesions. **Conclusion:** Tangshenqi could have a good protective effect on diabetic nephropathy (DN) in rats.

[Key words] Tangshenqi; diabetic nephropathy; urine protein; glomeruli; histopathology

[收稿日期] 20130503(004)

[基金项目] 国家科技重大新药创制项目(2009ZX09103-311)

[第一作者] 王天文, 硕士, 助理研究员, 从事新药研发和药物安全性评价工作, Tel:023-89029153, E-mail: wanghua101@126.com

[通讯作者] * 张莉, 研究员, 从事新药研发和药物安全性评价工作, Tel:023-89029123, E-mail: zhangli77931@126.com

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是一种以血管损害为主的肾小球病变, 是糖尿病最严重和最常见的慢性并发症之一, 其发病率可达 47.66%, 占糖尿病患者死亡率的 60%^[1]。迄今为止尚无有效方法能够控制 DN 功能损害自然进程, 如何有效防治糖尿病肾病, 是世界医药研究的热点和难题。为此, 科技部将糖尿病列为“重大新药创制”科技重大专项中的 10 种严重危害人民健康的重大疾病之一^[2]。

针对 DN 临床治疗中的难点和重点, 笔者采用临床上多年治疗 DN 的经验方——糖肾芪 (齐), 该药由黄芪、生地黄、水蛭、土鳖虫、匙羹藤叶、青风藤等 10 味药材组成, 处方中黄芪为君药、生地黄为臣药、女贞子和水蛭为佐药、车前子为使药。该药主治肾气阴两虚兼血瘀证, 临床上用于早期 DN (DN 第 III 期) 和临床 DN (DN 第 IV 期)^[3] 患者。由临床所用的科名加主要药材——黄芪而命名为糖肾芪 (齐), 又名芪黄。通过科学、合理的工艺以及药效学实验筛选最终确定为胶囊剂以及给药剂量。本实验拟借助大鼠 DN 模型, 观察糖肾芪 (齐) 对 DN 大鼠的治疗作用, 为临床用药提供参考依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠, 体重 250 ~ 280 g, 雌性, SPF 级, 由重庆市中药研究院实验动物研究所提供, 实验动物生产合格证号为 0001250 号。

1.2 药物 糖肾芪 (齐), 由重庆市中药研究院药物化学研究所提供, 批号 060326; 糖脉康颗粒, 成都中汇制药有限公司生产, 批号 050709; 糖适平, 北京万辉双鹤药业有限责任公司产品, 批号 060205; 卡托普利, 湖北华中药业有限公司产品, 批号 20060104。

1.3 试剂与仪器 STZ, 由 Sigma 公司提供, 批号 038K0411; 血糖试纸, 美国进口强生生产; 尿液试纸: 广州市花都高尔宝生物技术有限公司, 批号 20060213; 糖化血红蛋白等试剂盒, 购于南京建成生物工程研究所, 批号 20050727; 尿素氮、肌酐、白蛋白等试剂盒, 由四川迈克公司提供; 自动血糖仪, 美国强生医疗器材有限公司生产; 生化测定仪, BASIC 公司生产; 72 II 型分光光度检测仪, 重庆川仪九厂生产; SPSS 13.0 软件进行统计学分析。

2 方法^[4-6]

2.1 动物模型复制 取雄性 SD 大鼠 120 只, 适应性饲养 3 d, 随机抽取 10 只为正常对照组; 其余大鼠为造模大鼠: 造模大鼠一次性尾静脉 iv 37 mg·kg⁻¹

STZ; 空白组大鼠 iv 等体积的柠檬酸盐缓冲液 (pH 4.0)。注射后 72 h, 分别检测大鼠血糖 (禁食 3 h) 和 24 h 尿糖, 血糖 $\geq 16.67 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和尿糖 $\geq \text{卅}$ 的动物为造模成功。

2.2 动物分组及给药 选取造模成功的大鼠, 随机分为 6 组: 模型对照组, 糖肾芪 (齐) 高、中、低剂量组 (生药 28.0, 14.0, 7.0 g·kg⁻¹), 糖脉康组 (2.5 g 颗粒·kg⁻¹), 糖适平 + 卡托普利组 [(30 + 20) mg·kg⁻¹]。每天按组 ig 相应受试物 1.0 mL·100 g⁻¹ 体重, 每天 1 次, 模型对照组和正常对照组 ig 等体积蒸馏水, 连续给药 12 周。

2.3 标本采集及检测

2.3.1 一般状况及尿液指标 每天观察动物的外观体征、自主活动, 饮食、饮水、尿液等情况, 每周测定动物体重, 分别于给药 4, 8, 12 周测定动物的摄食量、饮水量, 用代谢笼测定大鼠 24 h 尿量和尿糖定性测定, 记录总尿量后留取 5 mL, 待测 24 h 尿蛋白含量。

2.3.2 生化指标 在造模前、注射 STZ 72 h、给药 4, 8, 12 周后取血测血糖值, 其中前 4 次为剪尾取血, 给药 12 周为麻醉后腹主动脉取血, 造模前、造模后 72 h 只测定血糖, 其余时间点测定检测血糖 (Glu)、肌酐 (Crea)、尿素氮 (BUN) 等指标, 末次给药后增加检测糖化血红蛋白。

2.3.3 组织病理学检查 放血处死动物后, 取肾脏, 称量, 固定, 作组织病理学检查。

2.4 数据的统计及处理 采用 SPSS 10.0 软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用单因素方差分析, 等级资料采用 Ridit 分析。P < 0.05 为具有统计学意义。

3 结果

3.1 对一般状况的影响 正常对照组大鼠的一般状况良好, 而 DN 模型大鼠明显出现皮毛粗糙、精神萎靡、自主活动减少、易怒, 且饮食、饮水和尿量明显增加, 体重增长明显偏小等; 通过药物干预后, 糖肾芪 (齐) 高、中剂量组及糖脉康组能够改善 DN 模型大鼠的上述异常状况。

各药物组动物的饮食和饮水较模型对照组降低, 但无统计学差异; 而糖肾芪 (齐) 高、低剂量和阳性药在给药 8 周均能显著降低大鼠尿量 (P < 0.05), 高剂量组在药后 12 周尿量明显减少 (P < 0.05); 糖肾芪 (齐) 中剂量组在药后 8, 12 周对 DN 模型大鼠体重降低有显著抑制作用 (P < 0.05)。见表 1 ~ 3。

表1 糖肾芪(齐)对DN模型大鼠摄食量的影响($\bar{x} \pm s$)

g

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	药后4周	药后8周	药后12周
正常对照	10	-	13.58 ± 7.71 ¹⁾	15.7 ± 7.9 ¹⁾	8.6 ± 9.3
模型对照	14	-	34.47 ± 14.13	39.0 ± 13.3	31.3 ± 11.6
糖肾芪(齐)	13	7.0	34.81 ± 12.98	39.8 ± 15.1	27.0 ± 13.4
	13	14.0	32.80 ± 15.66	33.1 ± 14.8	21.2 ± 16.1
	13	28.0	28.25 ± 9.74	30.1 ± 15.8	19.7 ± 17.1
糖脉康	13	2.5	34.47 ± 13.16	34.6 ± 14.9	24.8 ± 15.2
糖适平 + 卡托普利	13	0.03 + 0.02	16.49 ± 10.84	32.9 ± 14.7	24.1 ± 16.4

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05。表2 糖肾芪(齐)对DN模型大鼠饮水量的影响($\bar{x} \pm s$)mL·d⁻¹

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	药后4周	药后8周	药后12周
正常对照	10	-	17.1 ± 7.2 ²⁾	42.0 ± 57.4 ²⁾	15.0 ± 5.0 ²⁾
模型对照	14	-	133.6 ± 51.6	119.4 ± 53.1	115.0 ± 61.3
糖肾芪(齐)	13	7.0	103.1 ± 46.8	101.9 ± 63.8	110.9 ± 56.6
	13	14.0	102.3 ± 55.4	93.0 ± 22.4	103.9 ± 62.3
	13	28.0	91.9 ± 69.0	84.9 ± 26.0	71.7 ± 63.1
糖脉康	13	2.5	92.9 ± 53.1	97.0 ± 34.8	89.4 ± 76.5
糖适平 + 卡托普利	13	0.03 + 0.02	76.1 ± 27.3 ¹⁾	90.9 ± 36.3	68.3 ± 67.9

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05,²⁾P < 0.01(表3同)。表3 糖肾芪(齐)对DN模型大鼠尿量的影响($\bar{x} \pm s$)mL·d⁻¹

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	药后4周	药后8周	药后12周
正常对照	10	-	28.6 ± 25.3 ²⁾	16.8 ± 4.5 ²⁾	17.4 ± 9.3 ²⁾
模型对照	14	-	96.5 ± 37.3	103.6 ± 17.0	95.9 ± 28.4
糖肾芪(齐)	13	7.0	73.9 ± 48.0	85.4 ± 17.0 ¹⁾	81.3 ± 28.8
	13	14.0	81.4 ± 41.6	90.7 ± 28.4	82.4 ± 24.5
	13	28.0	80.7 ± 34.2	84.9 ± 26.0 ¹⁾	72.7 ± 28.1 ¹⁾
糖脉康	13	2.5	75.2 ± 28.5	78.9 ± 22.2 ¹⁾	72.0 ± 16.1 ¹⁾
糖适平 + 卡托普利	13	0.03 + 0.02	74.9 ± 28.3	81.3 ± 17.9 ¹⁾	72.5 ± 24.5 ¹⁾

3.2 对尿液指标的影响

3.2.1 对大鼠尿糖的影响 选取DN模型大鼠(尿糖在卅以上),给药12周后,仅糖肾芪(齐)高剂量能够降低DN模型动物尿糖在卅以上的发生率($P < 0.05$),其余各药物组(包括阳性药组)作用不显著性,见表4。

3.2.2 对24 h尿蛋白含量的影响 与模型对照组大鼠比较,糖肾芪(齐)高剂量组和糖脉康组给药8周24 h尿蛋白含量均能显著降低($P < 0.05$),高、中剂量组和糖脉康组在给药12周DN大鼠24 h尿蛋白含量明显减少($P < 0.05$),其余各剂量组作用不

明显,见表5。

3.3 对血清生化指标的影响

3.3.1 对空腹血糖的影响 糖肾芪(齐)高、中剂量及两个阳性药组DN大鼠空腹血糖在给药4,8,12周均有显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示该药能够降低DN模型大鼠空腹血糖,见表6。

3.3.2 对DN模型大鼠血液中肌酐(Crea)的影响 与模型对照组比较,糖肾芪(齐)高、中剂量组及阳性药均能够显著降低DN大鼠血清Crea含量($P < 0.05$),见表7。

表 4 糖肾芪(齐)对 DN 模型大鼠尿糖的影响

只

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	检测时间	动物数/只	-	±	+	++	+++	####
正常	-	给药前	10	10	0	0	0	0	0
		药后 4 周		10	0	0	0	0	0
		药后 8 周		10	0	0	0	0	0
		药后 12 周		10	0	0	0	0	0
模型	-	给药前	14	0	0	0	0	3	11
		药后 4 周		0	0	0	0	3	11
		药后 8 周		0	0	0	0	4	10
		药后 12 周		0	0	0	0	4	10
糖肾芪(齐)	7	给药前	13	0	0	0	0	2	12
		药后 4 周		0	0	0	1	4	8
		药后 8 周		0	0	0	2	5	8
		药后 12 周		0	0	0	2	6	5
	14	给药前	13	0	0	0	0	3	10
		药后 4 周		0	0	0	0	2	11
		药后 8 周		0	0	0	3	6	4
		药后 12 周		0	0	1	3	6	3
	28	给药前	13	0	0	0	0	2	11
		药后 4 周		0	0	0	1	4	8
		药后 8 周		0	0	0	3	6	4
		药后 12 周		0	1	3	5	4	0 ¹⁾
糖脉康	2.5	给药前	13	0	0	0	0	3	10
		药后 4 周		0	0	0	0	4	9
		药后 8 周		0	0	0	2	3	8
		药后 12 周		0	0	1	4	5	3
糖适平 + 卡托普利	0.03 + 0.02	给药前	13	0	0	0	0	2	11
		药后 4 周	13	0	0	0	2	4	7
		药后 8 周		0	0	0	1	7	6
		药后 12 周		0	1	1	4	4	3

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05。

表 5 糖肾芪(齐)对 DN 模型大鼠 24 h 尿蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s$)

g·L⁻¹·24 h⁻¹

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	药后 4 周	药后 8 周	药后 12 周
正常对照	10	-	0.41 ± 0.17 ¹⁾	0.37 ± 0.06 ²⁾	0.36 ± 0.05 ²⁾
模型对照	14	-	0.82 ± 0.20	0.99 ± 0.16	0.95 ± 0.20
糖肾芪(齐)	13	7.0	0.80 ± 0.14	0.86 ± 0.14	0.79 ± 0.14
	13	14.0	0.78 ± 0.14	0.86 ± 0.18	0.76 ± 0.21 ¹⁾
	13	28.0	0.67 ± 0.23	0.80 ± 0.14 ¹⁾	0.73 ± 0.11 ¹⁾
糖脉康	13	2.5	0.78 ± 0.19	0.75 ± 0.17 ¹⁾	0.71 ± 0.20 ¹⁾
糖适平 + 卡托普利	13	0.03 + 0.02	0.68 ± 0.22	0.87 ± 0.16	0.79 ± 0.18

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01。

表6 糖肾芪(齐)对DN模型大鼠血糖(Glu)的影响($\bar{x} \pm s$)mmol·L⁻¹

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	造型前	造型后	药后4周	药后8周	药后12周
正常对照	10	-	4.91 ± 0.32	5.00 ± 0.50 ²⁾	5.03 ± 0.46 ²⁾	5.38 ± 0.76 ²⁾	4.72 ± 0.31 ²⁾
模型对照	14	-	4.98 ± 0.32	22.60 ± 4.50	33.24 ± 7.69	31.51 ± 7.27	28.12 ± 6.03
糖肾芪(齐)	13	7.0	5.05 ± 0.35	22.80 ± 4.60	32.04 ± 8.41	26.27 ± 8.16	23.63 ± 6.69
	13	14.0	4.93 ± 0.43	22.70 ± 3.80	29.56 ± 8.38 ¹⁾	25.64 ± 8.47 ¹⁾	19.92 ± 7.30 ¹⁾
	13	28.0	5.03 ± 0.31	22.20 ± 3.90	28.18 ± 7.20 ¹⁾	24.92 ± 8.08 ¹⁾	20.34 ± 8.05 ¹⁾
糖脉糖	13	2.5	5.08 ± 0.44	22.40 ± 3.00	29.26 ± 5.71 ¹⁾	24.53 ± 7.83 ¹⁾	17.50 ± 6.88 ¹⁾
糖适平+卡托普利	13	0.03+0.02	4.96 ± 0.52	22.50 ± 3.90	24.80 ± 6.40 ²⁾	21.50 ± 6.96 ²⁾	16.53 ± 6.34 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01。

3.3.3 对DN模型大鼠血液中尿素氮(BUN)的影响 与模型动物比较,除了糖适平+卡托普利组显

著性降低DN大鼠血清BUN外(P<0.05),其余各剂量组均未见统计学差异,见表8。

表7 糖肾芪(齐)对DN模型大鼠血清Crea的影响($\bar{x} \pm s$)μmol·L⁻¹

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	药后4周	药后8周	药后12周
正常对照	10	-	77.28 ± 9.46	75.96 ± 1.92 ¹⁾	75.52 ± 3.17 ¹⁾
模型对照	14	-	85.64 ± 13.81	92.50 ± 6.10	92.45 ± 6.51
糖肾芪(齐)	13	7.0	85.78 ± 12.64	88.17 ± 5.67	84.14 ± 6.72
	13	14.0	85.43 ± 7.67	85.28 ± 3.86 ¹⁾	82.79 ± 5.74 ¹⁾
	13	28.0	82.45 ± 5.54	81.33 ± 5.83 ¹⁾	81.48 ± 3.32 ¹⁾
糖脉糖	13	2.5	84.53 ± 7.03	85.95 ± 4.65	84.97 ± 4.13 ¹⁾
糖适平+卡托普利	13	0.03+0.02	81.37 ± 7.40	84.68 ± 4.93	80.11 ± 4.09 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾P<0.05。表8 糖肾芪(齐)对DN模型大鼠血清BUN的影响($\bar{x} \pm s$)mmol·L⁻¹

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	药后4周	药后8周	药后12周
正常对照	10	-	7.99 ± 1.92	6.46 ± 0.63 ²⁾	6.63 ± 1.15 ¹⁾
模型对照	14	-	8.98 ± 1.52	10.25 ± 0.81	9.79 ± 3.13
糖肾芪(齐)	13	7.0	9.17 ± 1.93	9.63 ± 2.15	8.82 ± 1.06
	13	14.0	9.00 ± 1.53	9.24 ± 1.68	7.02 ± 1.02
	13	28.0	8.20 ± 1.15	8.35 ± 1.89	8.31 ± 1.38
糖脉糖	13	2.5	8.60 ± 1.20	9.24 ± 1.65	8.30 ± 2.06
糖适平+卡托普利	13	0.03+0.02	8.26 ± 1.74	8.56 ± 1.35 ¹⁾	7.01 ± 0.49 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01。

3.3.4 对DN模型大鼠糖化血红蛋白的影响 DN模型大鼠糖化血红蛋白明显高于正常对照组动物。与DN模型对照组比较,连续给药12周,糖肾芪(齐)各剂量组及阳性药均能显著降低DN模型大鼠糖化血红蛋白含量(P<0.05,P<0.01),见表9。

3.4 对DN模型大鼠脏器质量及指数的影响 与正常对照组比较, DN大鼠肾脏指数明显增加。与模型对照组比较,糖肾芪(齐)高剂量大鼠肾脏指数明显偏小(P<0.05),其余各剂量组均未见统计学意义,见表10。

表9 糖肾芪(齐)对DN模型大鼠糖化血红蛋白的影响($\bar{x} \pm s$) %

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	糖化血红蛋白
正常对照	10	-	2.90 ± 0.58 ²⁾
模型对照	14	-	6.52 ± 1.08
糖肾芪(齐)	13	7.0	4.73 ± 0.43 ¹⁾
	13	14.0	4.35 ± 0.48 ¹⁾
	13	28.0	3.76 ± 0.42 ²⁾
糖脉糖	13	2.5	3.74 ± 0.40 ²⁾
糖适平+卡托普利	13	0.03+0.02	3.82 ± 0.47 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01。

表 10 糖肾芪(齐)对 DN 大鼠脏器质量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	肾质量/g	肾指数/g·100 g ⁻¹ 体重
正常对照	10	-	2.99 ± 0.17 ¹⁾	0.570 ± 0.052 ¹⁾
模型对照	14	-	3.61 ± 0.41	0.982 ± 0.188
糖肾芪(齐)	13	7.0	3.86 ± 0.36	0.962 ± 0.153
	13	14.0	3.56 ± 0.45	0.970 ± 0.216
	13	28.0	3.75 ± 0.48	0.727 ± 0.176 ¹⁾
糖脉糖	13	2.5	3.37 ± 0.36	0.871 ± 0.193
糖适平 + 卡托普利	13	0.03 + 0.02	3.63 ± 0.47	0.853 ± 0.241

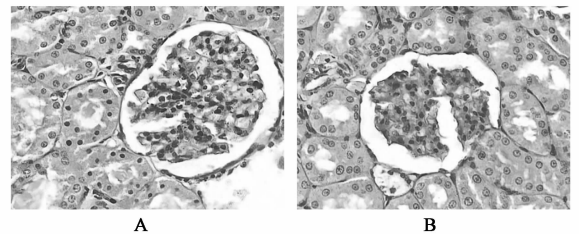
注:与模型组比较¹⁾P < 0.05。

3.5 对 DN 大鼠脏器病理组织学的影响

3.5.1 大体检查分析 所有 DN 模型大鼠肾脏较正常大鼠体积增大、表面及皮质变灰白、髓质更红、与皮质分界清楚,其余各主要脏器大小、形状、外表、切面、质地等均未见明显异常。通过药物干预治疗后,各药物组大鼠肾脏大体观察上述异常情况有所改善,见图 1。

3.5.2 对 DN 大鼠肾小球面积和 PAS 阳性区域面积的影响 所有 DN 大鼠 PAS 阳性区域面积及其占肾小球面积的百分比均比正常对照组高(P < 0.05 或 P < 0.01),肾小球系膜区显著增厚增宽,说明 DN 模型肾脏有明显病理性损害。而糖肾芪(齐)高、中剂量、2 个阳性药组大鼠 PAS 阳性区域占肾小球面积百分比均较模型对照组降低,其中糖肾芪(齐)高

剂量作用较强。提示连续长时间给予糖肾芪(齐)高、中剂量组能够抑制和降低 STZ 所致 DN 大鼠的系膜增宽增厚,对 DN 大鼠肾脏有较好的保护作用,见表 11。



A. 正常动物; B. DN 模型动物

图 2 糖肾芪(齐)对 DN 大鼠肾小球面积和 PAS 阳性区域面积的影响(×100)

表 11 对 PAS 染色肾小球面积和 PAS 阳性区域面积的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	肾小球面积/μm ²	PAS 阳性区域面积/μm ²	PAS 阳性区域占肾小球面积比/%
正常	10	-	5 626 ± 714	2 257 ± 370 ²⁾	40.36 ± 6.02 ²⁾
模型	14	-	5 951 ± 803	3 052 ± 474	51.46 ± 5.96
糖肾芪(齐)	13	7.0	5 958 ± 1 049	2 693 ± 684	45.06 ± 7.97 ¹⁾
	13	14.0	5 728 ± 961	2 395 ± 589 ²⁾	41.61 ± 6.06 ²⁾
	13	28.0	5 962 ± 891	2 407 ± 514 ²⁾	40.46 ± 6.81 ²⁾
糖脉康	13	2.5	6 224 ± 725	2 710 ± 399	43.80 ± 6.17 ²⁾
糖适平 + 卡托普利	13	0.03 + 0.02	6 356 ± 997	2 791 ± 552	44.14 ± 6.70 ²⁾

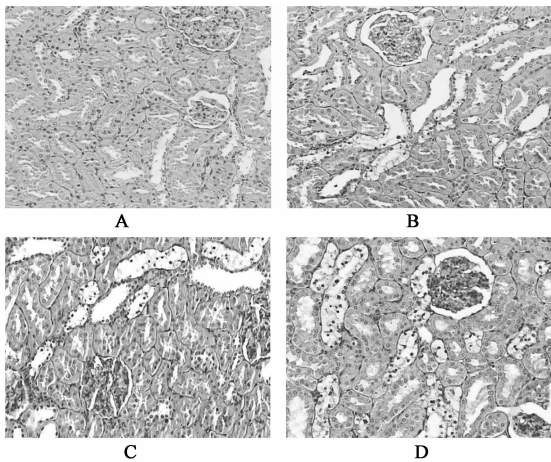
注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01。

3.5.3 对肾脏组织病理学的影响 实验结束后, DN 模型大鼠的肾脏组织病理学主要表现为较多或大量皮质远曲小管糖原贮积,其发生率达 73%,通过药物干预治疗后,糖肾芪(齐)高、中剂量和阳性药均能够缓解病变发生率(较多或大量皮质远曲小管糖原贮积发生率约 33%)和改善病变程度,相对于 DN 模型大鼠肾脏病变发生率降低约 40%。提

示糖肾芪(齐)对缓解、抑制 DN 大鼠肾脏病变程度有非常明显的的作用,能对抗 DN 模型大鼠的肾脏病理损害,起到保护 DN 大鼠肾脏的作用,见图 2。

4 讨论

DN 是糖尿病最常见并发症,通常是指糖尿病引起的肾小球硬化症,病理改变为肾小球毛细血管基底膜增厚和系膜区扩张。其发病机制主要与肾小



A. 肾脏组织结构正常;B. 较多皮质远曲小管糖原贮积;
C. 少量皮质远曲小管糖原贮积;D. 大量皮质远曲小管糖原贮积

图3 对DN模型大鼠肾脏组织病理学的影响($\times 400$)

球血流动力学改变、生化代谢紊乱、血液流变学异常及遗传易感性等因素有关^[7]。

DN早期表现为肾脏肥大、蛋白尿和肾小球滤过率升高^[8]。此时采用适当治疗措施,肾功能尚可逆转或部分逆转。西医主要是控制饮食,减少尿中微量蛋白和尿白蛋白的排泄,降低肌酐和尿素氮、降低血糖和尿糖,调节血脂,改善血液流变及肾功能,延缓肾小球病变^[9]。中医将其归“消渴”范畴,属消渴日久引起的气阴两虚、瘀血内阻,宜采用“益气、养阴生津加活血化瘀”的治则^[10],通过益气活血、降浊利尿等改善DN相关症状。

目前多数学者认为DN以气阴两虚为主,兼有瘀水湿痰浊等实邪,是正虚邪实,多脏腑受损的共同结果,与瘀毒阻络相关。于文平等^[11]学者认为气阴两虚为DN的基本病因病机,其病变是由消渴的阴虚燥热为基础演变而成,其中阴虚为本,燥热为标,瘀痰阻络是其基本病理改变,湿邪困阻是促进DN进展的重要条件,其中气阴两虚为最根本的条件,贯穿于DN病程始终。

尿蛋白排泄率是诊断早期DN的重要指标^[12],当24 h尿蛋白定量 >0.5 g即诊断为糖尿病肾病,同时也是临床观察疗效和判断预后的重要标志。本试验采用大鼠尾静脉注射STZ复制DN模型,其基本原理是通过注射STZ后破坏动物胰岛 β 细胞,导致机体胰岛素分泌缺乏,胰岛素水平明显低下,进而引起血糖急剧升高,体重急剧下降,并伴随着高滤过、肾功能异常、肾小球结构出现改变和尿白蛋白排泄明显升高等,在试验中后期,测得24 h尿蛋白含量为 $0.5 \sim 1.0$ g,表明该模型为早期糖尿病肾病(糖尿病肾病第III期患者)和临床糖尿病肾病(糖尿病

肾病第IV期),造模成功。

糖肾芪(齐)功能主治定位为气阴两虚兼血瘀证候者,适用于早期糖尿病肾病(糖尿病肾病第III期患者)和临床糖尿病肾病(糖尿病肾病第IV期)患者(无低蛋白血症,无浮肿症状,24 h尿蛋白定量 $>0.5 \sim 1$ g)。SD大鼠造模后,通过药物干预8周后,于模型动物组比较,中药阳性药(糖脉康)和糖肾芪(齐)高剂量显著降低;给药12周,中药阳性药(糖脉康)和糖肾芪(齐)高、中剂量均显著降低模型大鼠24 h尿蛋白含量,降低动物尿蛋白排泄率。

组织病理学结果显示模型组PAS阳性区域占肾小球面积的百分比增大,且肾皮、髓质分界不甚清晰,肾小球弥漫性增大,肾小球毛细血管充血,肾小囊变窄,肾小球毛细血管基底膜增厚,系膜增宽,系膜细胞增生,足细胞明显肿胀。部分肾小管出现上皮细胞水肿,管腔变窄。肾间质轻度增生,部分出现水肿,大量皮质远曲小管糖原贮积,提示模型出现DN早期病变。通过该药对DN模型大鼠的干预,实验结果表明糖肾芪(齐)能够抑制肾小球系膜增厚增宽,降低皮质远曲小管糖原贮积,有效的保护肾脏功能。

除了检查尿蛋白和肾脏病理改变外,早期控制糖代谢紊乱至关重要,糖肾芪(齐)在给药4,8,12周能明显降低DN大鼠血糖,肾功能也得到较好的改善;同时糖肾芪(齐)高剂量能显著降低DN大鼠的肾脏指数;中剂量或高剂量能不同程度增加24 h尿液肌酐和尿素氮的含量;降低血清肌酐及糖化血红蛋白含量;降低肾脏及胰腺病变发生率及病变程度;抑制和降低STZ所致DN大鼠肾小球系膜区增厚增宽和PAS阳性区域占肾小球面积的百分比,对DN大鼠肾脏有较好的保护作用,可缓解大鼠糖尿病肾病的进程。

上述表明糖肾芪(齐)通过控制血糖、减少24 h尿量、降低24 h尿蛋白量和尿蛋白排泄率、降低血清肌酐,;在肾组织病变过程中,阻碍肾脏病变的发生,保护肾脏功能,延缓DN的进展,结果提示对糖尿病肾病模型大鼠有较好的保护作用,但其作用机制还不清楚,有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 单宝霞. 中医药治疗糖尿病肾病的研究[J]. 长春中医药大学学报, 2008, 24(5): 50.
- [2] 国家科技重大专项.“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项“十一五”计划第一批课题申报指南[G]. 2008:2.

秦艽醇提物对胶原诱导性关节炎大鼠血清抗-CCP及TNF- α 的影响

王钢¹, 王丽琴^{2*}, 王佳¹, 王涛¹, 刘卓²

(1. 甘肃中医学院附属医院风湿骨病科, 兰州 730000; 2. 甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的:研究大叶秦艽醇提取物对胶原诱导性关节炎大鼠的防治作用,并初步探讨其作用机制。方法:随机将96只大鼠分为正常组、模型组、白芍组及秦艽组。除正常组外,余各组用胶原乳液多点皮内注射建立关节炎模型。模型建立后第9天开始秦艽组以秦艽乙醇提取物 900 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,白芍组给予白芍总苷胶囊内容物 108 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,模型组给予蒸馏水 0.5 mL·kg⁻¹·d⁻¹灌胃。造模后 14, 21, 28 d 观察各组大鼠一般情况、关节肿胀程度、ELISA 法检测血清抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。结果:模型组大鼠的踝关节及足趾关节肿胀明显且血清中抗-CCP 抗体及 TNF- α 水平明显升高,秦艽组及白芍组与模型组比较关节肿胀程度明显减轻,血清中抗-CCP 抗体及 TNF- α 水平明显降低,有统计学意义($P < 0.05$);免疫后 28 d 秦艽组与白芍组比较,大鼠关节肿胀程度明显减轻且 TNF- α 表达降低明显有统计学意义($P < 0.05$)。结论:大叶秦艽醇提取物能够在早期抑制胶原诱导性关节炎大鼠血清中抗-CCP 抗体及 TNF- α 水平,减轻关节肿胀程度,改善滑膜炎症状,保护关节,体现治疗早期类风湿关节炎(RA)的优势。

[关键词] 大叶秦艽醇提取物; 胶原诱导性关节炎大鼠; 抗-CCP 抗体; 肿瘤坏死因子- α

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0302-04

[doi] 10.11653/syfy2013190302

Effect of Alcohol Extractive from *Gentianae Macrophyllae Radix* on Serum Anti-CCP and TNF- α in Collagen Induced Arthritis Rats

WANG Gang¹, WANG Li-qin^{2*}, WANG Jia¹, WANG Tao¹, LIU Zhuo²

(1. Gansu College of Traditional Chinese Medicine (TCM) Hospital, Rheumatism Bone Disease Families, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu College of TCM, Lanzhou 730000, China)

[收稿日期] 20121011(018)

[基金项目] 甘肃省中医药管理局基金项目(GZK-2010-3)

[第一作者] 王钢, 硕士生导师, 主任医师, 从事中医药对骨关节疾病及风湿免疫系统疾病的研究, Tel: 13519317314, E-mail: wanggangyisheng@sina.com

[通讯作者] * 王丽琴, 在读硕士, 从事中医药对骨关节疾病及风湿免疫系统疾病的研究, Tel: 15002694294, E-mail: wlq6644@163.com

[3] 薛晓彤, 李遼, 赵静. 糖尿病肾病辨证分型与客观指标研究概述[J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(12): 923.

[4] 徐叔云, 卞如廉, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1239.

[5] 高双荣, 孙翠英, 郑燕飞, 等. 糖肾清对 DN 模型大鼠肾组织形态学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 156.

[6] 王辉, 李伟, 崔书克, 等. 虎杖总蒽醌对糖尿病肾病早期大鼠肾脏的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 17(4): 169.

[7] 李敏州, 高彦彬, 马鸣飞, 等. 糖尿病肾病发病机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 344.

[8] 邹琦, 郑祥雄. 雷帕霉素对糖尿病肾病大鼠肾脏保护

作用的实验研究[J]. 福建医药杂志, 2012(5): 39.

[9] 刘月娇, 徐雷雷, 柳东, 等. 海参磷脂型二十碳五烯酸对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠肾脏功能改善作用的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 331.

[10] 罗静, 沈慧平, 王韶军, 等. 益气养阴活血通络方对糖尿病肾病大鼠肾脏的作用研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(8): 707.

[11] 于文平, 秦艾琳. 糖尿病肾病的病因病机探讨[J]. 吉林中医药, 1999, 19(5): 49.

[12] 黄波, 刘学政, 庞东渤. 不同途径注射链脲佐菌素致大鼠糖尿病模型的研究[J]. 锦州: 医学院学报, 2003, 24(1): 19.

[责任编辑 邹晓翠]