

◆方药研究◆

## 糖肾康方对 db/db 小鼠糖脂代谢及肾脏组织病理的影响

张东鹏, 张定华, 史晓伟, 刘怡, 裴文丽

甘肃省中医院内分泌科, 甘肃 兰州 730050

**[摘要]** 目的: 观察糖肾康方(TSK)对db/db小鼠血糖、血脂、24h尿白蛋白及对肾脏组织形态的影响。方法: 12周龄SPF级雄性db/db小鼠, 随机分为空白组、模型组、TSK给药组(TSK高、中、低剂量组), 连续喂养12周, 记录体质量、血脂、血糖及24h尿白蛋白水平, 观察肾脏病理改变。结果: 与空白组比较, 模型组小鼠体质量增加, 血糖升高, 24h尿白蛋白维持在高水平( $P < 0.05$ ), 肾小球系膜基质增生; 与模型组比较, TSK给药组db/db小鼠体质量降低, 中、高剂量组随治疗时间的延长, 可明显降低血糖、血脂及24h尿白蛋白水平( $P < 0.05$ ), 改善肾组织病理改变。结论: TSK对db/db小鼠肾脏具有保护作用, 其机制与降低血脂、血糖, 改善糖毒性和脂毒性有关, 同时可以改善肾小球系膜增殖。

**[关键词]** 糖肾康方(TSK); 糖尿病肾病; 肾组织病理改变; 动物实验; db/db小鼠

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2018)12-0001-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.12.001

## Tang Shen Kang Prescription Has Effect on Glucose and Lipid Metabolism and Pathology of Kidney Tissues in db/db Mice

ZHANG Dongpeng, ZHANG Dinghua, SHI Xiaowei, LIU Yi, PEI Wenli

**Abstract:** **Objective:** To observe the effect of Tang Shen Kang prescription (TSK) on the blood glucose, blood lipid, 24h urinary protein and morphology of kidney tissues in db/db mice. **Methods:** Twelve-week-old male db/db mice at SPF level were randomly divided into the blank group, the model group (the db/db group), the TSK groups of high, middle and low dose. They were fed for 12 weeks. Recorded the levels of body mass, blood lipid, blood glucose and 24h urinary protein, and observed the pathological changes of kidney. **Results:** Compared with the blank group, in the model group, the levels of body mass and the blood glucose were increased, and the level of 24h urinary protein maintained high ( $P < 0.05$ ); hyperplasia of glomerular mesangial matrix occurred. Compared with the model group, the body weight of db/db mice in the TSK groups were decreased; as the prolongation of treatment time, the levels of blood glucose, blood lipid and 24h urinary protein were significantly decreased in the TSK groups of high and middle dose ( $P < 0.05$ ); pathological changes of kidney tissues were improved. **Conclusion:** TSK can protect the kidney of db/db mice. Its mechanism is related to the reduction of blood lipid and blood glucose and the improvement of glucotoxicity and lipid toxicity, which can improve the proliferation of glomerular mesangium.

**Keywords:** Tang Shen Kang prescription (TSK); Diabetic nephropathy; Pathological changes of kidney tissues; Animal experiment; db/db mice

糖尿病肾病(Diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最常见的难治性慢性并发症之一。在发达国家和地区, DN已成为终末期肾脏疾病的第一位病因(约占35%)和因患糖尿病死亡的主要

原因,在我国DN患者也逐年增长<sup>[1-3]</sup>。DN属中医学水肿、尿浊、胀满、关格、肾消等范畴。DN是由于糖尿病(消渴病)迁延不愈,耗伤肾气,湿浊瘀阻所致。其主要病位在肾,但与

**[收稿日期]** 2018-01-29

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81460699); 甘肃省自然科学基金项目(1308RJZA202); 2015国家中医临床研究基地建设专项项目(JDZX2015240)

**[作者简介]** 张东鹏(1980-),男,副主任医师,研究方向:糖尿病及其并发症的中西医诊治。

**[通信作者]** 张定华, E-mail: zhangdinghua2010@sina.com。

肝、心、脾、肺多脏器密切相关<sup>[4-6]</sup>。张定华等<sup>[7]</sup>认为“肾气亏虚、湿浊瘀阻”为DN的主要病机特点,提出“补肾益气、通络化浊”法,确立治疗DN的中药组方糖肾康方(TSK),其前期研究发现TSK含药血清能够抑制肾小球系膜细胞增殖,高糖诱导的肾小球系膜细胞中Cx43 mRNA表达下降,DAG mRNA、IP3 mRNA和PKC mRNA呈高表达,TSK治疗后Cx43 mRNA表达升高,DAG mRNA、IP3 mRNA和PKC mRNA表达均下降。

db/db小鼠是因位于小鼠4号染色体上的瘦素受体基因突变导致瘦素缺乏的先天肥胖性2型糖尿病小鼠。db/db小鼠8周龄时出现明显高血糖,12~14周龄出现肾小球肥大、系膜细胞增殖、肾小球基底膜增厚,是目前国际公认的糖尿病肾病动物模型。本研究将观察TSK对db/db小鼠的血脂、血糖、24h尿蛋白及肾脏病理的影响,探讨TSK对其肾脏保护作用的可能机制,为TSK的临床应用提供科学依据。

## 1 材料与方

### 1.1 试验药物

杜仲、黄芪各30g(甘肃康乐药业有限公司),芡实、泽泻(兰州方正医药有限公司)、金樱子(甘肃雍合堂药业有限公司)各20g,大黄(甘肃雍合堂药业有限公司)、水蛭(甘肃康乐药业有限公司)各10g,桃仁(兰州方正医药有限公司)15g,所有饮片均购自甘肃省中医院门诊中药房(鉴定人:李继文;质控状态:标准)。将以上药物按原方比例常规煎煮、过滤、水浴蒸发,制成TSK,按成人与小鼠体表面积折算的等效剂量(等效系数:6.25)为中剂量<sup>[8]</sup>,该组方已申请国家专利,专利证号:ZL201210311984.6。药物经过常规煎煮、过滤、水浴蒸发至含生药材2.21g/mL,每组小鼠按10mL/kg灌胃,70kg成人每天服用生药155g,按体质量换算后小鼠等效灌胃量为22.14g/(kg·d),灌药浓度即2.21g/mL,置于4℃冰箱保存备用。罗格列酮钠片(规格:4mg×15片/盒,由太极集团重庆涪陵制药厂有限公司提供,批号:15090049)。

TSK低、中、高剂量组给药量为成人剂量的5倍、10倍、20倍,每组小鼠按10mL/kg灌胃,实验中TSK低、中、高剂量组具体灌胃剂量分别为11.07、22.14、44.28g/(kg·d),模型组灌服相同体积0.9%的生理盐水,每天1次,连续12周,空白组不做其他处理。

### 1.2 实验动物

12周龄SPF级雄性db/db小鼠100只,由南京大学动物模式研究所提供,实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2016-1124。随机分为空白组、模型组、TSK高、中、低剂量组,每组20只,共5组。

### 1.3 观察小鼠一般状况,检测体质量和随机血糖

灌胃12周后,股动脉采血,分离血清,-20℃保存。取各组db/db小鼠肾脏组织,置于4%多聚甲醛中固定,液氮储存,备检。

### 1.4 各组小鼠肾脏病理组织变化及各检测指标测定

免疫荧光多重标记后,在电子显微镜下观察小鼠肾脏病理切片。用全自动生化分析仪检测血糖、甘油三脂(TG)、总胆固醇(TC)、高

密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。各组分别用代谢笼收集24h尿液,并记录尿量,离心尿液后取上清液,-20℃储存,采用双缩脲法测定大鼠24h尿蛋白定量。肾组织切片,过碘酸雪夫(Periodic Acid-Schiff stain, PAS)染色法染色,每张切片从肾皮质外侧向内,自上而下随机取2个(×40)视野,在电子显微镜下观察小鼠肾脏病理切片。

### 1.5 统计学方法

数据采用SPSS13.0统计软件处理,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠一般情况

空白组小鼠精神状况良好,毛色光泽,活动自如,反应灵敏,摄食、饮水正常;其余各组小鼠精神萎靡,反应迟钝,嗜卧、懒动。随实验进程,空白组小鼠一般状态未见明显变化;模型组小鼠精神萎靡,毛色晦暗无光泽,懒动;TSK低、中、高剂量组上述症状较模型组均有不同程度的改善,以TSK高剂量组改善最为显著。

### 2.2 各组小鼠体质量检测结果比较

见表1。治疗前,与空白组比较,模型组小鼠体质量显著增加( $P < 0.05$ );与模型组比较,TSK低、中、高剂量无显著差异。治疗后,与空白组比较,模型组小鼠体质量显著增加( $P < 0.05$ );与模型组比较,TSK中、高剂量组体质量减小( $P < 0.05$ )。

表1 各组小鼠体质量检测结果比较 g

组别	n	治疗前	治疗后
空白组	20	38.16 ± 5.21	39.53 ± 5.02
模型组	20	51.40 ± 4.02 <sup>①</sup>	50.82 ± 6.59 <sup>①</sup>
TSK低剂量组	20	51.49 ± 3.86	49.53 ± 5.77
TSK中剂量组	20	51.17 ± 4.31	42.48 ± 4.70 <sup>②</sup>
TSK高剂量组	20	51.17 ± 3.98	42.85 ± 5.99 <sup>②</sup>

与空白组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$

### 2.3 各组小鼠血糖检测结果比较

见表2。与空白组比较,模型组小鼠血糖显著升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,TSK高剂量组血糖显著下降( $P < 0.05$ )。

表2 各组小鼠血糖检测结果比较 mmol/L

组别	n	2周	4周	6周	8周
空白组	20	5.32 ± 1.25	5.03 ± 1.14	4.98 ± 1.21	5.01 ± 1.03
模型组	20	31.15 ± 3.46 <sup>①</sup>	32.44 ± 2.60 <sup>①</sup>	32.35 ± 1.51 <sup>①</sup>	30.09 ± 2.98 <sup>①</sup>
TSK低剂量组	20	32.51 ± 1.99	31.88 ± 2.21	30.08 ± 2.89	26.91 ± 2.92
TSK中剂量组	20	30.90 ± 3.28	30.14 ± 3.57	29.44 ± 4.18	27.34 ± 3.24
TSK高剂量组	20	28.32 ± 4.53 <sup>②</sup>	27.19 ± 4.87 <sup>②</sup>	26.42 ± 4.67 <sup>②</sup>	23.80 ± 4.16 <sup>②</sup>

与空白组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$

### 2.4 各组小鼠TC、TG、HDL-C、LDL-C检测结果比较

见表3。与空白组比较,模型组小鼠TC、TG、LDL-C显著升高,HDL-C显著降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组

比较, TSK 中、高剂量组 TC、TG、LDL-C 显著降低, HDL-C 显著升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表3 各组小鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 检测结果比较

组别	n	TC(mmo/L)	TG(mmo/L)	HDL-C(mmo/L)	LDL-C(mmo/L)
空白组	20	1.02±0.25	0.93±0.12	1.08±0.21	0.39±0.15
模型组	20	1.89±0.31 <sup>①</sup>	1.93±0.18 <sup>①</sup>	0.45±0.08 <sup>①</sup>	0.71±0.15 <sup>①</sup>
TSK 低剂量组	20	1.43±0.24	1.29±0.10	0.98±0.11	0.59±0.10
TSK 中剂量组	20	1.34±0.12 <sup>②</sup>	1.04±0.15 <sup>②</sup>	1.14±0.13 <sup>②</sup>	0.56±0.07 <sup>②</sup>
TSK 高剂量组	20	1.23±0.27 <sup>②</sup>	0.81±0.10 <sup>②</sup>	1.28±0.15 <sup>②</sup>	0.47±0.06 <sup>②</sup>

与空白组比较, ① $P < 0.05$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

2.5 各组小鼠 24 h 尿蛋白检测结果比较 见表 4。与空白组比较, 模型组小鼠 24 h 尿蛋白显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, TSK 高剂量组第 2、4、6、8 周和中剂量组第 6、8

周及低剂量第 8 周 24 h 尿蛋白显著降低( $P < 0.05$ )。

表4 各组小鼠 24 h 尿蛋白检测结果比较

组别	n	2周	4周	6周	8周
空白组	20	7.02±2.14	7.13±2.40	7.20±2.01	7.12±2.05
模型组	20	31.15±3.46 <sup>①</sup>	32.44±2.60 <sup>①</sup>	32.35±1.51 <sup>①</sup>	30.09±2.98 <sup>①</sup>
TSK 低剂量组	20	31.51±1.99	31.88±2.21	30.08±2.89	26.91±2.92 <sup>②</sup>
TSK 中剂量组	20	30.90±3.28	30.14±3.57	29.44±4.18 <sup>②</sup>	27.34±3.24 <sup>②</sup>
TSK 高剂量组	20	28.32±4.53 <sup>②</sup>	27.19±4.87 <sup>②</sup>	26.42±4.67 <sup>②</sup>	23.80±4.16 <sup>②</sup>

与空白组比较, ① $P < 0.05$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

2.6 各组小鼠肾脏病理改变结果 见图 1。PAS 染色, 空白组小鼠肾小球结构完整, 系膜区、基底膜未见明显异常, TSK 低剂量和中剂量组小鼠肾小球体积增大, 系膜基质增生、基底膜增厚明显, 部分小球出现分叶, TSK 高剂量组小鼠系膜基质增生及基底膜增厚显著改善, 系膜基质百分比显著降低。

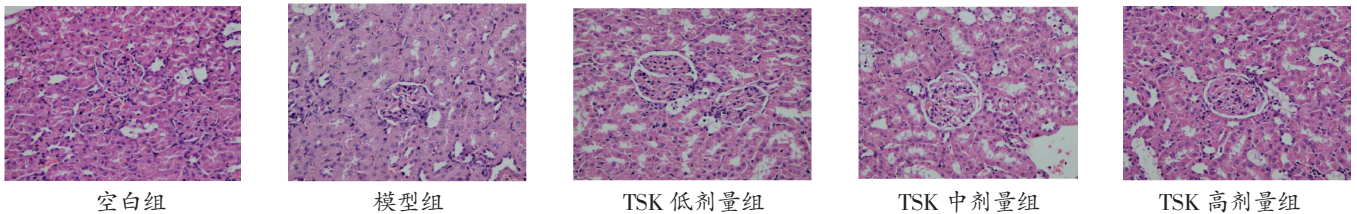


图1 各组小鼠肾脏病理改变结果 (×400)

### 3 讨论

肾小球硬化是 DN 晚期的主要病理表现, 活化后的肾小球系膜细胞异常增生, 释放多种炎症介质, 如白细胞介素-1、白细胞介素-6 等, 促进细胞外基质的积聚, 肾小球逐步硬化, 而细胞外基质的合成和降解异常加剧了这一过程的发生<sup>[9-10]</sup>。同时, 脂代谢紊乱在糖尿病病程的发生、发展过程中发挥了很重要的作用<sup>[11]</sup>。因此, DN 患者不仅血糖异常, 脂代谢也紊乱。在治疗过程中, 降糖的同时要保证血脂在比较理想的范围内, 以延缓并发症的发生。

张定华等<sup>[12]</sup>结合前人的理论和自己的多年临床及实验研究, 认为“肾气亏虚, 湿浊瘀阻”为 DN 基本病机, 针对这一病机, 以“补肾益气、通络化浊”为治法, 筛选组方, 不断优化, 确定了 TSK 的组方。方中杜仲补中, 益精气, 坚筋骨, 补益先天之肾精, 黄芪补益中土, 温养脾胃, 补益后天之气, 与杜仲相配, 达到先后天同补, 固摄精气、消除尿中蛋白之效; 水蛭、大黄、桃仁相伍, 取桃仁承气之意, 化瘀通络, 治疗下焦瘀热互结; 金樱子与芡实相配, 取水陆二仙丹之意, 进一步固肾涩精、缩尿止遗, 加强固摄之效, 协助减少尿中蛋白; 另加一味泽泻, 利水, 渗湿, 泄热, 通调水道, 下输膀胱, 使补而不滞。全方先后天同治、气精同补、补消相配, 起到补肾益气、通络化浊之效, 达到消除蛋白、降糖、调脂之临床疗效。方中采用虫类药物也是一大特点, 虫类入络搜剔, 有攻

冲之性, 善入细微孔隙。水蛭“主逐恶血、瘀血、月闭、破血瘕积聚、利水道”。现代药理学研究提示水蛭中含有水蛭素等多种活性多肽, 具有调血脂、抗血栓等作用<sup>[12]</sup>, 近年来较多文献报道单独应用水蛭可以降低尿蛋白, 减轻肾脏病变<sup>[7]</sup>。本实验中, TSK 中、高剂量组, 明显可以减少 24 h 尿蛋白, 调节血脂, 协助降血糖, 明显减轻肾小球系膜基质增生及基底膜增厚。其原理与影响血脂、血糖代谢有关, 同时可能通过促进过度增殖细胞凋亡而实现对 DN 的治疗作用<sup>[13]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 李能娟, 李红. 肾小管上皮细胞表型转化与糖尿病肾病[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2006, 26(4): 277-279.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2010 版)[J]. 中国医学前沿杂志, 2011, 3(6): 54-104.
- [3] 吕高虹, 惠琴. 肾系膜细胞与糖尿病肾病变的相关性研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(12): 48-50.
- [4] 陈有源, 张定华. 糖尿病肾病中医治疗经验摘要[J]. 甘肃中医, 2011, 24(1): 6-8.
- [5] 张定华. 糖肾康对糖尿病患者血脂、血液流变学的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(3): 71.
- [6] 张定华, 王坤锋, 杨丽霞. 糖肾康胶囊治疗糖尿病肾病 113 例临床观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(7):



77-78.

[7] 张定华, 史晓伟, 张东鹏, 等. 糖肾康含药血清对高糖诱导小鼠肾小球系膜细胞增殖及周期的影响[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(4): 118-121.

[8] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 333-335.

[9] 于小函, 邸波. 肾小球系膜细胞与糖尿病肾病[J]. 医学研究杂志, 2015, 44(9): 7-9.

[10] 王亚军, 孟建国, 黄淑凤, 等. 芪药消渴胶囊对高糖诱导肾小球系膜细胞增殖的抑制作用[J]. 河北中医, 2012, 34(3): 434-436.

[11] 陈靖. 糖尿病肾病早期诊断及肾活检指征[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2011, 20(4): 349-351.

[12] 王雪英. 水蛭、地龙注射液治疗糖尿病肾病血流变学的评价[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2002, 3(1): 47.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)

# 不同组方艾康片对细菌性和急性血清病肾炎的疗效研究

徐玉辉<sup>1</sup>, 高英杰<sup>1</sup>, 时宇静<sup>1</sup>, 孙静<sup>1</sup>, 毛鑫<sup>1</sup>, 王彦礼<sup>1</sup>, 曲天歌<sup>2</sup>, 崔晓兰<sup>1</sup>

1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700

**[摘要]** 目的: 研究不同组方的艾康片在实验动物肾炎模型中的疗效, 以获得更优药物组方。方法: SD大鼠随机分为假手术组、模型组、阿莫西林组、原方大剂量组、原方小剂量组、缺苦参大剂量组、缺苦参小剂量组, 每组10只; 膀胱内注射大肠杆菌(E. coli)制备细菌性肾炎模型, 治疗后培养膀胱穿刺液; 日本大耳白兔随机分为正常组、模型组、雷公藤片组、原方大剂量组、原方小剂量组、缺苦参大剂量组、缺苦参小剂量组, 每组6只, 注射牛血清白蛋白制备急性血清病肾炎模型, 检测循环系统免疫复合物(Circulating immune complexes, CIC)、血肌酐(Creatinine, Cr)和尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)。结果: 在感染性细菌性肾炎模型中, 与假手术组比较, 模型组大鼠的膀胱穿刺液全部有细菌生长, 提示造模成功; 与模型组比较, 阿莫西林组、原方小剂量组、缺苦参小剂量组大肠杆菌培养阳性的大鼠比例均明显下降( $P < 0.05$ )。在急性血清病肾炎模型中, 与模型组比较, 所有给药组的血清CIC含量均明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论: 艾康片2种组方的较小剂量对于E. coli感染性大鼠模型具有较为显著的疗效; 在急性血清病肾炎模型中2种组方在降低CIC方面都显示出了有效性。综合2种疾病模型来看, 原方药效更优。

**[关键词]** 艾康片; 肾炎; 循环系统免疫复合物(CIC); 血肌酐(Cr); 尿素氮(BUN); 动物实验; 大鼠; 日本大耳白兔

**[中图分类号]** R692.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 12-0004-04

**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2018.12.002

## Study of Effect of Different Prescriptions of AiKang Tablets for Bacterial and Acute Serum Nephritis

XU Yuhui, GAO Yingjie, SHI Yujing, SUN Jing, MAO Xin, WANG Yanli, QU Tian'ge, CUI Xiaolan

**Abstract:** **Objective:** To observe the effect of different prescriptions of AiKang tablets in the models of experimental animal nephritis. **Methods:** Divided SD rats randomly into the sham operation group, the model group, the amoxicillin group, the high-dose group of the original prescription, the small-dose group of the original prescription, the high-dose group lacking Kushen, and the small-dose group lacking Kushen, 10 rats in each group. Made acute pyelonephritis models by means of intravesical injection of Escherichia coli (E. coli) and cultured bladder puncture drainage after treatment. Divided Japanese white rabbits randomly into the normal group, the model group, the tripterygium tablets group, the high-dose

**[收稿日期]** 2018-06-04

**[基金项目]** “重大新药创制”科技重大专项项目 (2014ZX09304306-006)

**[作者简介]** 徐玉辉 (1980-), 女, 助理研究员, 研究方向: 中药药理学。

**[通信作者]** 崔晓兰, E-mail: cuixiaolan2812@126.com。