

水陆地黄胶囊对糖尿病肾病大鼠的药效学及作用机制研究

苏衍进¹, 王郁金^{1*}, 王惠玲¹, 赵莉², 秦刚新², 杨锦欣¹, 李科¹

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000

摘要:目的 考察水陆地黄胶囊对高脂高糖饮食联合小剂量链脲佐菌素(STZ)致糖尿病肾病大鼠的药效学指标的影响,并初步探讨其机制。方法 通过高脂高糖饮食联合小剂量 STZ 进行 2 型糖尿病肾病动物造模。通过测定空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、尿微量白蛋白(UMA)、肾质量、肾脏指数等指标观察其药效,考察其对肾脏病理改变的影响。通过免疫组化法测定肾脏组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 表达,Western blotting 法检测肾脏组织 Angptl4、Desmin 表达水平;ELISA 法测定血清脂联素(APN)、瘦素(LEP)的水平及尿 Angptl4 水平。结果 与模型组比较,水陆地黄胶囊(9、6 g/kg)各组大鼠肾质量、肾脏指数、血糖、LEP 及肾脏组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 表达明显降低,体质量、血清 APN 水平明显升高,具有统计学意义($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 水陆地黄胶囊可以调节糖尿病肾病大鼠的糖脂代谢,减轻炎症反应,降低肾脏组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 蛋白表达水平,改善肾足细胞损伤,降低尿蛋白,达到延缓肾脏纤维化、硬化作用。其作用机制可能与 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 等通路有关。

关键词: 水陆地黄胶囊; 糖尿病肾病; 脂联素; 瘦素; Angptl4; Desmin; NF- κ B

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)14-3382-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.14.017

Preliminary pharmacodynamics research of Shuiludihuang Capsule on rats with type 2 diabetic nephropathy

SU Yan-jin¹, WANG Yu-jin¹, WANG Hui-ling¹, ZHAO Li², QIN Gang-xin², YANG Jin-xin¹, LI Ke¹

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Shaanxi University of Chinese Medicine Hospital, Xianyang 712000, China

Abstract: **Objective** To study the preliminary pharmacodynamics effect of Shuiludihuang Capsule on rats with type 2 diabetic nephropathy induced by high-fat and sugar diet combined low dose streptozotocin (STZ), and to investigate its mechanism. **Methods** Type 2 diabetic nephropathy animal model was established by feeding with high fat and sugar diet combined with low dose of STZ. The FBS, TC, TG, UMA, kidney weight, the hypertrophy index, etc were measured to study its effects of reducing blood glucose and protecting kidney, and its pharmacodynamic effects were expounded by kidney pathological section. The expressions of Angptl4, Desmin and NF- κ B in kidney tissues were tested by immunohistochemistry, The expressions of Angptl4 and Desmin in kidney tissues were tested by western blotting, and APN, LEP and Urine Angptl4 were tested by ELISA to probe into its mechanism tentatively. **Results** Compared with the model control group, kidney weight, the hypertrophy index, FBG, TC, TG, LEP and the expressions of Angptl4, Desmin and NF- κ B in rats of each group (9, 6 mg/kg) were significantly decreased, and body mass, the serum APN level were significantly increased, with significant difference ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Shuiludihuang capsule can regulate glucose and fat metabolism, reduce inflammation, reduce Angptl4, Desmin and NF- κ B expression levels in renal tissue, improve renal podocyte injury, reduce urinary protein, and delay renal fibrosis and sclerosis. Its mechanism may be related to Angptl4, Desmin and NF- κ B pathways.

Key words: Shuiludihuang Capsule; diabetic nephropathy; apn; lep; Angptl4; Desmin; NF- κ B

糖尿病肾病(DN)是糖尿病常见慢性并发症之一,是引起终末期肾病的主要原因,严重威胁患者生命健康。其发病机制复杂,目前认为与多种因素有关,如血糖、血脂代谢紊乱、炎症反应等。上述

收稿日期: 2019-03-27

基金项目: 陕西省中医药管理局项目(LCMS038); 陕西省中医药管理局项目(JCPT005); 陕西中医药大学附属医院(2014-13)

作者简介: 苏衍进(1975—),男,博士,研究方向为慢性肾脏病临床及实验研究。Tel: 15353150315 E-mail: suyanjin2008@126.com

*通信作者 王郁金,女,副教授,研究方向为糖尿病并发症临床及实验研究。Tel: 18791057860 E-mail: wangyujin411@126.com

因素导致肾小球及肾小管结构和功能的微观变化,出现异常蛋白尿。足细胞损伤是 DN 发病机制的超微观结构核心,表现为细胞体积逐渐变小、阴离子电荷减少、足突融合消失,最终脱落并从尿液中排出。目前研究发现,肾脏病时肾小球足细胞分泌大量血管生成素样蛋白 4 (Angptl4)。结蛋白 (Desmin) 是一种细胞骨架中间的丝蛋白成分,可作为足细胞损伤的标志,当足细胞受损时,其表达量可明显增加。核转录因子- κ B (NF- κ B) 是多信号转导通路的交叉点之一,能够调节足细胞表达和炎症因子分泌,在 DN 的发生中起关键作用^[1-2]。

因此目前 DN 治疗方法中有较好研究前景的方向为改善糖脂代谢紊乱,降低炎症反应,改善肾脏足细胞损伤,降低蛋白尿。水陆地黄胶囊(陕西省名中医马居里教授临床经验方)由生黄芪、泽泻、茯苓、熟地黄、丹皮、丹参、山萸肉、芡实、金樱子、山药组成,具有益气养阴、活血化瘀功效,主治证型为气阴不足、瘀血阻络。该胶囊由课题组临床常用的“糖肾一号胶囊”^[3-5]化裁而来,经过临床应用发现,具有明显的改善 DN 临床表现的功效。本研究通过检测血糖、血脂、炎症因子等指标,探讨水陆地黄胶囊降糖作用及对肾脏的保护作用,通过肾脏病理组织学观察进一步说明其药效学作用,通过免疫组化法及 Western blotting 法检测肾组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 表达水平初步探讨其作用机制,为其临床应用提供参考和依据。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠,鼠龄 4~6 周,体质量 200~250 g,动物合格号 SCXK(军)2017005,中国人民解放军空军军医大学(第四军医大学)动物中心提供。饲养环境:陕西中医药大学 SPF 动物饲养观察室,相对湿度 45%~65%,室温 22~25 ℃,自由饮水。中国人民解放军空军军医大学提供常规饲料及高糖高脂饲料(蔗糖 20%、胆固醇 1.5%、蛋黄粉 8%、胆酸钠 0.1%、猪油 10%、普通饲料 60.4%)。

1.2 药物

厄贝沙坦片(批号 1976,规格 0.15 g/片),法国赛诺菲集团公司(杭州分装);水陆地黄胶囊(生黄芪 40 g、泽泻 12 g、茯苓 12 g、熟地黄 15 g、丹皮 12 g、丹参 20 g、山萸肉 10 g、芡实 25 g、金樱子 25 g、山药 12 g,经水煎、浓缩、烘干后制成棕黄色细小颗粒,装于空心胶囊,规格为白色胶囊剂

剂,生药量为 5.4 g/g,批号 201716),陕西中医药大学附属医院提供。水陆地黄胶囊中主要化学成分熊果酸质量分数 > 0.03%、丹皮酚质量分数 > 0.15%。

1.3 主要试剂

链脲佐菌素(STZ, Calbiochem 公司,批号 B56981);免疫组化试剂盒、浓缩型 DAB 试剂盒、Western blotting 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);兔抗大鼠 NF- κ B 抗体、二抗羊抗兔抗体(Abcam 公司,英国);PAS 染液试剂盒(南京建成科技公司);脂联素(APN,上海丰翔生物科技有限公司,批号 DRE20701);大鼠 Desmin、Angptl4 抗体(北京博奥森生物技术有限公司);大鼠瘦素(LEP)检测试剂盒(上海丰翔生物科技有限公司,批号 DRE20613)。

1.4 仪器

LKBNOVA 型超薄切片机(瑞典 LKB 公司);CM100 型射透电子显微镜(荷兰 Philips 公司);5430R 型离心机(德国 Eppendorf 公司);7600 型全自动生化分析仪(日本日立公司);MD30-2 型光学显微镜(日本 Olympus 公司);680 型酶标仪(美国 BIO-RAD 伯乐,上海君翼仪器设备有限公司);A2000S 电子分析天平(德国赛多利斯北京有限公司)。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药

100 只 SD 大鼠,适应性喂养 1 周,随机选取 15 只作为对照组,给予普通饲料喂养,其余大鼠给予高糖高脂饲料喂养,4 周后一次性 ip 给予 STZ (35 mg/kg),72 h 后测尾静脉随机血糖,若血糖 ≥ 16.7 mmol/L,则为糖尿病造模成功^[6]。继续予 4 周高糖高脂饲料喂养,查尿糖 $\geq ++$,24 h 尿微量蛋白定量(UMA) ≥ 30 mg 判定为 DN 造模成功,共造模成功 75 只,随机分为 5 组:模型组、厄贝沙坦组(1.04 g/kg)及水陆地黄胶囊低、中、高剂量(3、6、9 g/kg,分别取水陆地黄胶囊内容物 15、30、45 g,分别溶于 100 mL 蒸馏水中,摇匀至完全溶解,于 4 ℃冰箱冷藏备用)组,每组 15 只。水陆地黄胶囊各组分别 ig 给予相应药物,厄贝沙坦组 ig 给予厄贝沙坦片水溶液,给药体积为 20 mL/kg,对照组和模型组 ig 等量生理盐水,每天给药 1 次,共给药 8 周。

2.2 标本收集

第 8 周末次给药后,称大鼠体质量;用代谢笼收集大鼠 24 h 尿液;取尾静脉血,测量血糖;用 3.5%

水合氯醛 ip 麻醉, 取其双侧肾脏, 用 4 °C 0.9% 氯化钠冲洗, 滤纸吸干后称质量; 取新鲜右肾组织 100 mg, 加 0.9% 氯化钠 1 mL 进行匀浆, 取上清液得 10% 肾组织匀浆, 置于 -80 °C 冰箱保存备用。

2.3 观察指标和测定方法

全自动生化分析仪检测 UMA、血脂 [总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)]、血糖; 免疫组化法检测肾脏组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 蛋白表达。Western blotting 法检测肾组织 Angptl4、Desmin 表达水平; ELISA 法检测血清 APN、LEP 的水平、尿

Angptl4 水平; 肾组织进行光镜及电镜检查。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行分析, 所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 对 DN 大鼠血糖、血脂、UMA 水平的影响

模型组大鼠空腹血糖、血脂、UMA 水平均显著高于对照组 ($P < 0.01$); 水陆地黄胶囊高、中剂量组大鼠空腹血糖、血脂、UMA 水平均显著低于模型组 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 1。

表 1 各组大鼠血糖、血脂及 UMA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

Table 1 Comparison on fasting blood glucose, blood lipid and 24h urinary trace albumin levels of diabetic nephropathy rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血糖/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	UMA/(μ g·mL ⁻¹)
对照	—	5.18 ± 0.05	1.58 ± 0.22	1.46 ± 0.18	8.6 ± 0.4
模型	—	26.73 ± 0.36 ^{##}	3.76 ± 0.45 ^{##}	9.64 ± 0.22 ^{##}	146.3 ± 0.8 ^{##}
厄贝沙坦	1.04	24.86 ± 0.42	3.24 ± 0.32	9.28 ± 0.36	37.9 ± 1.4 [*]
水陆地黄胶囊	9	12.92 ± 0.63 ^{**}	2.11 ± 0.16 ^{**}	4.26 ± 0.15 ^{**}	20.4 ± 0.7 ^{**}
	6	14.64 ± 0.87 [*]	2.18 ± 0.12 [*]	4.49 ± 0.52 [*]	23.7 ± 1.6 [*]
	3	21.78 ± 0.52 [*]	3.15 ± 0.24	8.46 ± 0.38 [*]	34.9 ± 2.2 [*]

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下同

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

3.2 对 DN 大鼠血清 APN、LEP 的水平的影响

模型组大鼠血清 APN、LEP 的水平与对照组比较, APN 水平明显降低 ($P < 0.01$), LEP 的水平明显升高 ($P < 0.01$)。水陆地黄胶囊高、中、低剂量组血清 APN 水平与模型组比较, 升高明显 ($P < 0.05$ 、 0.01), LEP 的水平与模型组比较, 明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。水陆地黄胶囊高与中剂量组大鼠血清 APN、LEP 的水平比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

表 2 各组大鼠血清 APN、LEP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

Table 2 Comparison of levels of APN and LEP in serum of diabetic nephropathy rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	APN/(μ g·L ⁻¹)	LEP/(μ g·L ⁻¹)
对照	—	10.89 ± 0.52	4.25 ± 0.36
模型	—	4.12 ± 0.33 ^{##}	7.83 ± 0.49 ^{##}
厄贝沙坦	1.04	5.64 ± 0.42	6.25 ± 0.61 [*]
水陆地黄胶囊	9	9.24 ± 0.52 ^{**}	5.52 ± 0.27 ^{**}
	6	8.72 ± 0.46 [*]	5.68 ± 0.51 [*]
	3	6.96 ± 0.61 [*]	6.17 ± 0.42 [*]

3.3 对 DN 大鼠尿 Angptl4 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠尿 Angptl4 水平显著升高 ($P < 0.01$); 水陆地黄胶囊高、中剂量组大鼠尿 Angptl4 水平与模型组比较, 显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 结果见表 3。

3.4 对 DN 大鼠肾脏组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 表达水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肾组织 Angptl4、

表 3 各组大鼠尿 Angptl4 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

Table 3 Comparison on levels of Angptl4 in urine of diabetic nephropathy rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	Angptl4/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	3.18 ± 0.30
模型	—	9.36 ± 0.32 ^{##}
厄贝沙坦	1.04	8.14 ± 0.35 [*]
水陆地黄胶囊	9	4.82 ± 0.27 ^{**}
	6	5.14 ± 0.54 [*]
	3	7.35 ± 0.43

Desmin 及 NF- κ B 表达水平均升高 ($P<0.01$); 水陆地黄胶囊高、中、低剂量组肾组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 蛋白表达水平与模型组比较均显著下降 ($P<0.05$ 、 0.01); 免疫组化法与 Western

blotting 法结果基本一致。免疫组化结果见图 1 和表 4, Western blotting 结果见图 2 和表 5。

3.5 对 DN 大鼠体质量、肾脏质量、肾脏指数的影响
与对照组比较, 模型组大鼠体质量显著降低

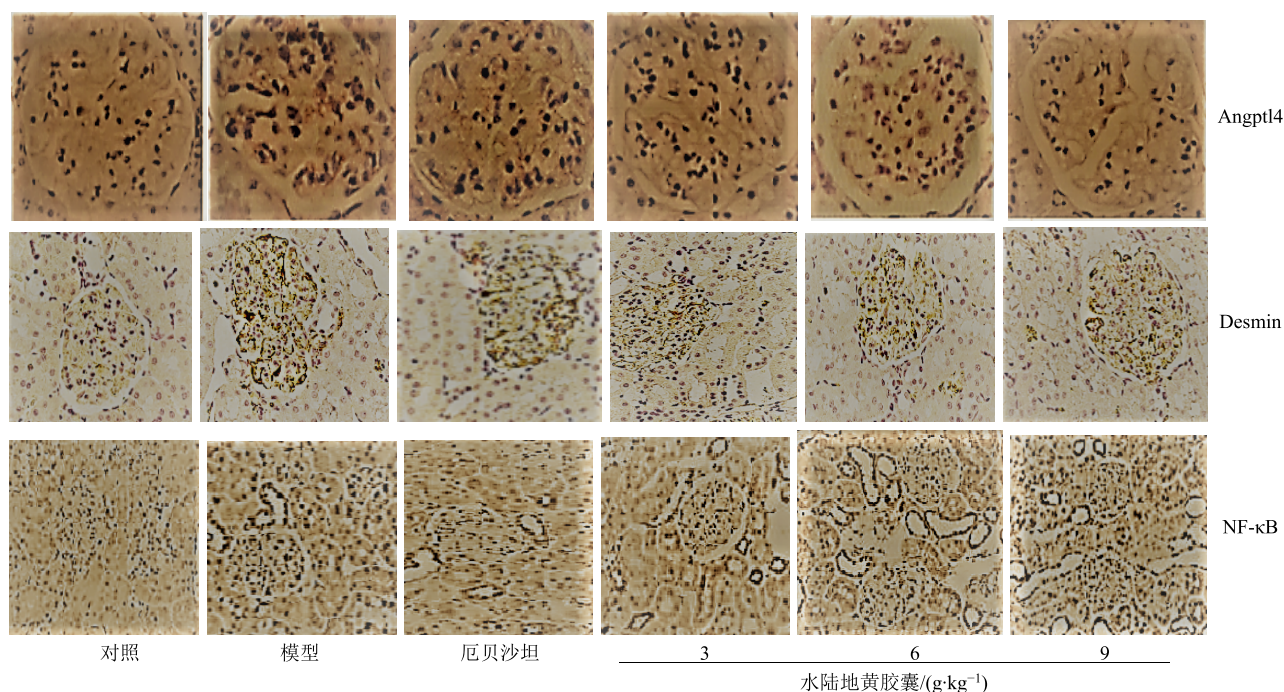


图 1 各组大鼠肾组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 免疫组化结果 ($\times 400$)

Fig. 1 Immunohistochemical staining of expression of Angptl4, Desmin and NF- κ B in renal tissue of rats in each group ($\times 400$)

表 4 各组大鼠肾组织 Angptl4、Desmin 及 NF- κ B 表达水平比较 (免疫组化法, $\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

Table 4 Comparison of expression levels of Angptl4, Desmin and NF- κ B in renal tissue of diabetic nephropathy rats in each group (immunohistochemistry, $\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量		
		Angptl4	Desmin	NF- κ B
对照	—	2.14 $\pm$ 0.89	1.43 $\pm$ 0.08	0.462 $\pm$ 0.156
模型	—	5.86 $\pm$ 0.37 ^{##}	1.96 $\pm$ 0.11 ^{##}	0.862 $\pm$ 0.144 ^{##}
厄贝沙坦	1.04	5.42 $\pm$ 0.39 [*]	1.82 $\pm$ 0.09 [*]	0.734 $\pm$ 0.628 [*]
水陆地黄胶囊	9	3.29 $\pm$ 0.41 ^{**}	1.44 $\pm$ 0.09 ^{**}	0.518 $\pm$ 0.432 ^{**}
	6	3.24 $\pm$ 0.39 ^{**}	1.59 $\pm$ 0.06 ^{**}	0.564 $\pm$ 0.226 ^{**}
	3	5.15 $\pm$ 0.41 [*]	1.76 $\pm$ 0.08 [*]	0.628 $\pm$ 0.822 [*]

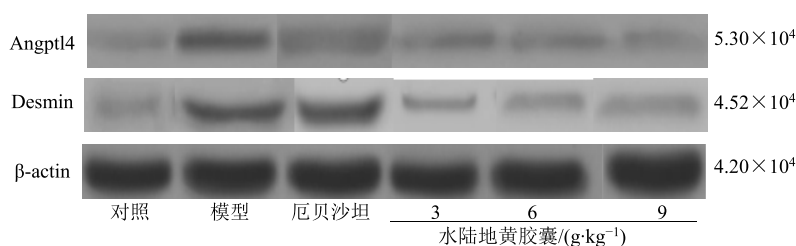


图 2 各组大鼠肾组织 Angptl4、Desmin 表达水平 (Western blotting)

Fig. 2 Expression levels of Angptl4 and Desmin in rat kidney tissues of each group (Western blotting)

表 5 各组大鼠肾组织 Angptl4、Desmin 表达水平比较 (Western blotting 法, $\bar{x} \pm s$, $n = 15$)Table 5 Comparison on expression levels of Angptl4 and Desmin in renal tissue of diabetic nephropathy rats in each group (Western blotting, $\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	Angptl4/ β -actin	Desmin/ β -actin
对照	—	0.638 $\pm$ 0.014	0.486 $\pm$ 0.012
模型	—	1.882 $\pm$ 0.016 ^{##}	1.352 $\pm$ 0.018 ^{##}
厄贝沙坦	1.04	1.644 $\pm$ 0.028*	1.148 $\pm$ 0.032*
水陆地黄胶囊	9	0.847 $\pm$ 0.064**	0.742 $\pm$ 0.029**
	6	0.984 $\pm$ 0.022*	0.865 $\pm$ 0.012*
	3	1.486 $\pm$ 0.015	1.082 $\pm$ 0.014

表 6 各组大鼠体质量、肾脏质量、肾脏指数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)Table 6 Comparison on body mass, kidney mass and index of diabetic nephropathy rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g	肾脏质量/g	肾脏指数/%
对照	—	426.28 $\pm$ 5.72	1.43 $\pm$ 0.08	0.335 $\pm$ 0.015
模型	—	238.14 $\pm$ 5.24 ^{##}	1.96 $\pm$ 0.11 ^{##}	0.823 $\pm$ 0.021 ^{##}
厄贝沙坦	1.04	244.18 $\pm$ 5.78*	1.82 $\pm$ 0.09*	0.745 $\pm$ 0.013*
水陆地黄胶囊	9	402.53 $\pm$ 4.86**	1.64 $\pm$ 0.09**	0.407 $\pm$ 0.011**
	6	398.64 $\pm$ 5.39*	1.59 $\pm$ 0.06*	0.399 $\pm$ 0.009*
	3	252.45 $\pm$ 4.43	1.76 $\pm$ 0.08	0.687 $\pm$ 0.014

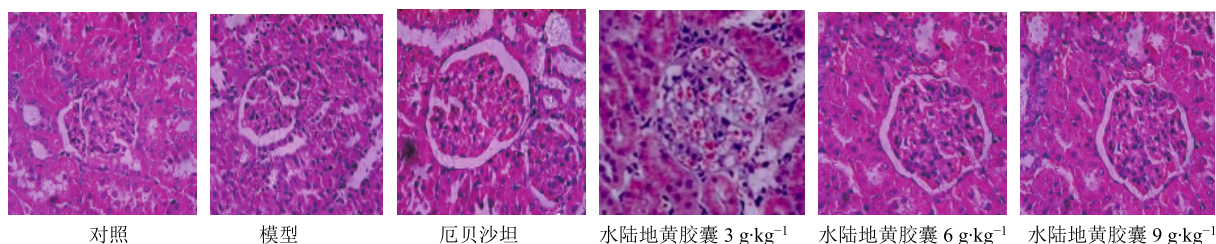


图 3 各组大鼠肾组织 HE 染色结果 (×400)

Fig. 3 HE staining results of kidney tissue of diabetic nephropathy rats in each group (×400)

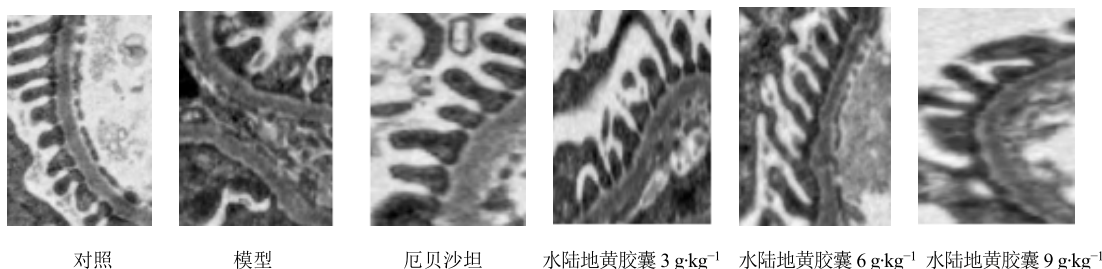


图 4 各组大鼠肾组织超微结构 (×20 000)

Fig. 4 Ultrastructure of renal tissue of diabetic nephropathy rats in each group (×20 000)

($P < 0.01$), 肾脏质量、肾脏指数明显升高 ($P < 0.01$)。水陆地黄胶囊高、中剂量组大鼠体质量、肾脏质量、肾脏指数的水平与模型组比较均显著改善 ($P < 0.05$ 、 0.01); 结果见表 6。

3.6 对大鼠肾组织病理形态学的影响

HE 染色结果显示, 对照组大鼠肾组织形态正常, 肾小球形态规则, 肾小管上皮细胞形态正常。模型组大鼠肾小球体积肥大, 肾小囊腔狭窄, 肾小管上皮细胞排列紊乱、肥大。厄贝沙坦组、水陆地黄胶囊低、中、高剂量组大鼠肾组织病理变化明显改善。结果见图 3。

电镜下观察显示, 对照组肾小球基底膜无增厚, 足状突起清晰, 排列有序; 模型组局部足突排列紊乱、平坦、节段性融合, 呈带状结构, 贴敷于基底膜, 局部基底膜增厚, 各给药组上述病理改变均不同程度地减轻。水陆地黄胶囊高剂量组作用最明显。见图 4。

4 讨论

DN 是糖尿病致死、致残的重要原因,其主要特征为持续蛋白尿、肾功能进行性下降、高死亡率。DN 发病机制多与糖脂代谢紊乱、炎症反应、氧化应激等因素有关,其特异性标志为蛋白尿^[7]。

APN 主要由脂肪组织分泌,可调节脂肪和糖类代谢,目前研究发现具有胰岛素增敏激素功能。有实验研究提示,APN 基因缺失的 *Ins2* (+/C96Y) 小鼠被发现加速 DN 的进展^[8-10]。本实验研究发现 DN 大鼠血清内 APN 较对照组明显降低,这可能与 DN 复杂的激素代谢机制有关,而水陆地黄胶囊中、高剂量组的血清内 APN 含量较模型组明显升高,说明水陆地黄胶囊可能通过增加 APN 的含量干预脂肪因子,参与糖脂代谢,延缓 DN 的进展。

LEP 被视为炎性标志物^[11],其性质为一种激素样蛋白质,可调控肾小球内皮细胞生长,从而促进肾小球硬化。本研究发现,模型组大鼠血清内 LEP 水平,较对照组升高,提示大鼠血清 LEP 含量的变化与 DN 相关。而水陆地黄胶囊中、高剂量组的血清内 LEP 的含量与模型组比较显著下降,厄贝沙坦组血清内 LEP 含量也有所下降,但下降幅度明显低于水陆地黄胶囊组(中、高剂量组),说明水陆地黄胶囊可通过明显降低炎性标志物 LEP,调节肾小球内皮细胞生长,达到延缓肾小球硬化。

Angptl4^[12-13]是一种分泌蛋白,被认为是参与糖和脂质代谢的蛋白。*Desmin* 是一种细胞骨架中间的丝蛋白成分,可作为足细胞损伤的标志。最近研究发现,在 DN 肾小球足细胞损伤后,Angptl4、*Desmin* 表达更明显。本研究发现,模型组大鼠肾组织 Angptl4、*Desmin* 表达明显上调,尿中 UMA 含量明显升高。水陆地黄胶囊中、高剂量组尿 UMA 含量及肾组织 Angptl4、*Desmin* 表达明显下降,厄贝沙坦组尿 UMA 含量及肾组织 Angptl4、*Desmin* 表达虽然有所下降,但下降幅度不如水陆地黄胶囊中、高剂量组明显,说明水陆地黄胶囊具有明显降低肾组织 Angptl4、*Desmin* 表达,降低尿蛋白作用。

现代研究发现,高血糖可激活 NF- κ B^[14-15],被激活的 NF- κ B 是多信号转导通路的交叉点之一,能够调节包括足细胞表达和分泌炎症因子,在 DN 发生中起关键作用。本研究发现,模型组大鼠肾组织 NF- κ B 表达明显上调。经给予水陆地黄胶囊治疗后各组肾组织 NF- κ B 表达明显下降,厄贝沙坦组肾组织 NF- κ B 表达亦下降,但不如水陆地黄胶囊组下降

明显,说明水陆地黄胶囊具有明显降低肾组织 NF- κ B 表达,减少尿中蛋白作用。

DN 属于中医学“消渴”“水肿”范畴,病位在肺、脾、肾,关键在肾,其重要病机由消渴阴虚燥热为基础发展而来。消渴日久,耗气伤阴,致“气阴两虚”。水陆地黄胶囊组成:生黄芪、泽泻、茯苓、熟地黄、丹皮、丹参、山萸肉、芡实、金樱子、山药。生黄芪为方中君药,具有益气之功;泽泻、茯苓、丹皮为臣药利水消肿,熟地、山药、山萸肉补肝肾;芡实、金樱子为佐药,固精缩尿;丹参活血化瘀。

综上所述,水陆地黄胶囊具有明确的降血糖、降血清 LEP,升高血清 APN,降低肾组织 Angptl4、*Desmin*、NF- κ B 表达及尿中微量白蛋白含量,改善肾脏纤维化,延缓肾脏衰竭的作用。其机制可能为改善血脂代谢,降低炎症反应,减少尿中微量白蛋白排出;降低肾组织 Angptl4、*Desmin*、NF- κ B 表达,改善肾足细胞损伤,延缓肾脏纤维化,其确切机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Samra Y A, Said H S, Elsherbiny N M, et al. Cepharanthine and piperine ameliorate diabetic nephropathy in rats: Role of NF- κ B and NLRP3 inflammasome [J]. *Life Sci*, 2016, 15(157): 187-199.
- [2] Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Clin Sci*, 2013, 124(3): 139-152.
- [3] 苏衍进,王惠玲,王郁金,等.糖肾一号胶囊治疗早期糖尿病肾病 30 例 [J]. *中医杂志*, 2010, 51(12): 1106-1107.
- [4] 苏衍进,马居里,王郁金.糖肾一号胶囊对早期糖尿病肾病患者血浆 AngII 及 GMP140 影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(2): 227-228.
- [5] 苏衍进,王郁金,王琴,等.糖肾一号胶囊对糖尿病肾病大鼠的作用及其机制研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(19): 4011-4016.
- [6] 肖艳红,谷佳琦,杨晔娟,等.高脂高糖饲料联合 STZ 诱导 2 型糖尿病大鼠模型 STZ 最佳剂量探讨 [J]. *承德医学院学报*, 2015, 132(5): 376-378.
- [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(22): 344-349.
- [8] Fang F, Bae E H, Hu A, et al. Deletion of the gene for adiponectin accelerates diabetic nephropathy in the *Ins2* (+/C96Y) mouse [J]. *Diabetologia*, 2015, 58(7): 1668-1678.

- [9] Kacso I M, Bondor C I, Kacso G. Plasma adiponectin is related to the progression of kidney disease in type 2 diabetes patients [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2012, 72(4): 333-339.
- [10] 田俊玮, 刘映红, 袁 芳, 等. 重组脂联素对糖尿病肾病大鼠氧化应激的影响 [J]. *中国血液净化*, 2009, 8(3): 158-162.
- [11] Gholamin S, Razavi S M, Taghavi-Garmestani S M, *et al.* Lovastatin for reduction of leptin in nondialysis patients with type 2 diabetic nephropathy [J]. *Iran J Kidney Dis*, 2014, 8(3): 201-206.
- [12] 吴义超, 刘志红, 曾彩虹, 等. 糖尿病患者肾小球基因表达谱及其与病情进展的关系 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2004, 13(6): 503-511.
- [13] 王 艳, 李柯帧, 胡明明, 等. 血管生成素样蛋白 2 对糖尿病肾病足细胞损伤的影响及雷公藤甲素干预研究 [J]. *中华临床医师杂志*, 2013, 7(23): 10746-10751.
- [14] Samra Y A, Said H S, Elsherbiny N M, *et al.* Cepharanthine and piperine ameliorate diabetic nephropathy in rats: Role of NF- κ B and NLRP3 inflammasome [J]. *Life Sci*, 2016, 15(157): 187-199.
- [15] 周谊霞, 李 龙, 于燕妮, 等. 糖原合酶激酶-3 β 抑制剂对糖尿病肾病大鼠 Wnt 和核因子- κ B 信号通路的影响 [J]. *中华病理学杂志*, 2015, 44(11): 783-787.