

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.20.014

真武汤加味对糖尿病肾病大鼠肾功能及其肾组织中 IGF-1 表达的影响

雷映红, 陈辉*, 王帆, 戴朝博, 李秀娟, 张林英, 刘靖, 张琼

(武汉市第一医院, 湖北省武汉市硚口区中山大道 215 号, 430022)

摘要 目的 探讨真武汤加味治疗糖尿病肾病的可能作用机制。方法 40 只雄性 SD 大鼠随机等分为正常组、模型组、真武汤低剂量组及真武汤高剂量组。除正常组外, 其余各组采用高脂饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素建立大鼠糖尿病肾病模型。造模成功后真武汤低、高剂量组分别给予真武汤 2.45、9.80 g/(kg·d) 灌胃, 正常组及模型组给予等体积蒸馏水灌胃, 均每日 1 次。给药 16 周后观察肾组织病理变化, 测定各组大鼠血尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Scr)、尿肌酐 (Ucr) 水平及 24 h 尿蛋白定量, 并测定肾小球系膜阳性目标积分光密度 (IOD) 及肾组织中胰岛素样生长因子 1 (IGF-1) 蛋白、mRNA 表达。结果 与正常组比较, 模型组 24 h 尿蛋白定量及 BUN、Scr 均显著升高, Ucr 显著降低, IOD 值显著升高, 肾组织基底膜明显增厚, 系膜细胞明显增生及结节状硬化形成, 肾组织中 IGF-1 蛋白及 mRNA 表达量明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤低、高剂量组 24 h 尿蛋白定量、BUN、Scr 均显著降低, Ucr 显著升高, IOD 值显著降低, 肾脏组织病理改变明显减轻, 肾组织中 IGF-1 蛋白及 mRNA 表达量明显降低 ($P < 0.05$); 而真武汤高剂量组变化较真武汤低剂量组更显著。结论 真武汤加味能减少糖尿病肾病大鼠 24 h 尿蛋白定量、降低 Scr 及 BUN 水平, 升高 Ucr 水平, 减轻肾组织病理学改变, 其机制可能与其调节 IGF-1 表达有关。

关键词 糖尿病肾病; 真武汤; 胰岛素样生长因子 1; 肾功能

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病引起的严重性和危害性最大的一种慢性并发症, 其临床主要特征为蛋白尿、渐进性肾功能损害、高血压和水肿, 晚期出现严重肾功能衰竭, 是糖尿病患者主要死亡原因之一。西医针对糖尿病肾病尚缺乏有效的治疗手段。中医个体化治疗方案治疗糖尿病肾病疗效显著^[1]。真武汤具有温脾肾以助阳气、利小便以祛水邪功效, 是治疗脾肾阳虚, 水湿内停的经典方剂。大量临床研究证实, 真武汤能有效改善糖尿病肾病患者肾功能, 减轻蛋白尿, 延缓病情进展^[2-4]。研究证实, 胰岛素样生长因子 1 (IGF-1) 参与糖尿病肾病的发生发展过程^[5]。本研究通过建立糖尿病肾病大鼠模型, 观察真武汤加味对肾小球增生程度的影响, 并测定肾组织 IGF-1 蛋白及 mRNA 表达量的变化, 研究真武汤对糖尿病肾病大鼠肾功能的影响及相关分子机

制, 为真武汤用于临床治疗糖尿病肾病提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 40 只, 3 月龄, 体重 (200 ± 20) g, 购自北京维通利华生物科技有限公司, 实验动物许可证号: SYXK (鄂) 2014-0030。

1.2 药物

真武汤加味方组成: 炮附片 9 g, 茯苓 9 g, 生姜 9 g, 白芍 9 g, 白术 6 g, 生地黄 10 g, 泽泻 10 g, 党参 20 g, 丹参 10 g。将真武汤加味方颗粒剂 (北京康仁堂药业有限公司生产, 武汉市第一医院分装) 配置成生药浓度为 0.245、0.98 g/ml 的低、高剂量。

1.3 主要试剂及仪器

链脲佐菌素 (STZ, 批号: S0130), Sigma 公司; 柠檬酸 (批号: 10007118)、柠檬酸三钠 (批号: 10019418) 均为上海国药集团产品; 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗大鼠 (批号:

基金项目: 武汉市卫生和计划生育委员会医疗卫生科研项目 (WZ15A04)

* 通讯作者: 1452765030@qq.com

GB23302)、HRP 标记山羊抗小鼠(批号:GB23301)、HRP 标记山羊抗兔(批号:GB23303)、二喹啉甲酸法(BCA)蛋白定量检测试剂盒(批号:G2026)、聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒(批号:G2003)、显影定影试剂(批号:G2019)均为 Servicebio 公司产品;HE 染色试剂盒(批号:AB1180),BOSTER 公司;PASM 染色试剂盒(批号:M052),上海歌凡生物科技有限公司;ECL Plus 发光试剂盒(批号:G2014),Servicebio 公司。

电子天平(型号:SW-CJ-4FD),Sartorius 公司;血糖仪(型号:艾科·精益),艾康生物技术有限公司;全自动生化分析仪(型号:Chemray 240),深圳雷杜生命科技公司;灰度分析软件 v3.0(型号:alphaEaseFC),Alpha Innotech 公司;Image-pro plus 6.0(型号:Adobe PhotoShop),Media Cybernetics 公司;扫描仪(型号:Pannoramic DESK/MIDI/SCAN/250),3DHISTECH 公司;台式高速冷冻离心机(型号:D3024R),Dragon-Lab 公司;脱色摇床(型号:TSY-B),Servicebio 公司;凝胶成像分析仪(型号:WD-9413C),北京六一生物科技有限公司;紫外分光光度计(型号:NanoDrop2000),Thermo 公司。

1.4 动物造模、分组及给药

40 只大鼠适应性喂养 3 天后,根据 Excel 2007 进行随机分组^[8],分为正常组、模型组、真武汤低剂量组、真武汤高剂量组,每组 10 只。正常组正常饮食喂养,不做特殊处理。除正常组外其余各组大鼠给予高脂饲料喂养连续 8 周后,将 100 mg STZ 溶于 20 ml 柠檬酸缓冲液中配置成 5 mg/ml 溶液,按 15 mg/kg 剂量腹腔注射。72 h 后尾静脉取血测血糖,当血糖值 > 16.7 mmol/L 时,认为糖尿病模型成功。3 周后测 24 h 尿蛋白定量 > 30 mg,认为糖尿病肾病模型成功^[9]。造模成功大鼠模型组 9 只,真武汤低剂量组 8 只,真武汤高剂量组 9 只。造模成功后真武汤低剂量组给予真武汤 2.45 g/(kg·d)灌胃,真武汤高剂量组给予真武汤 9.80 g/(kg·d)灌胃,分别相当于成人标准剂量的 3.5 倍和 14 倍^[8]。正常组及模型组给予等体积蒸馏水灌胃,每天 1 次,上午 10:00 灌胃,持续 16 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 生化指标 给药结束后,通过代谢笼收取各组大鼠 24 h 尿液,统计尿量并留取部分标本,

-20℃ 冰箱冻存用于 24 h 尿蛋白检测。取各组大鼠晨起空腹的尾静脉血 2 ml,3000 r/min 离心,取血清,-20℃ 冰箱冻存。通过生化分析仪测定尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、尿肌酐(Ucr)及 24 h 尿蛋白定量。

1.5.2 肾组织病理学 剖取各组肾组织,经 4% 多聚甲醛溶液固定,常规取材,脱水,石蜡包埋,制片(4 μm 厚),行 HE 染色及 PASM 染色,全景扫描仪扫描后观察大鼠肾组织染色的病理形态学改变。并在每组 HE 染色及 PASM 染色切片包含肾小球的区域,随机选取 400 倍的光镜下 10 个视野,用 Image-pro plus 6.0 图像分析软件对所选取视野中 PASM 染色肾小球系膜阳性目标光密度值进行测定,分别计算每组 PASM 染色肾小球系膜阳性目标积分光密度(IOD),再进行统计分析,以反映肾小球系膜增生程度。

1.5.3 肾组织中 IGF-1 蛋白定量 采用 Western blot 法检测。提取各组肾组织的总蛋白,按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒的说明书进行蛋白定量。每组蛋白上样量为 50 μg,经 SDA-PAGE 电泳分离后取出凝胶后进行蛋白质电转印,将转好的膜于室温下脱色摇床上用 5% 的脱脂牛奶(0.5% TBST 配)封闭 1 h。加入相应的一抗 4℃ 过夜,次日取出,TBST 洗膜 5 min,3 次,与辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h,TBST 洗膜 5 min,3 次,按照 ECL Plus 发光试剂盒说明书配制发光液,进行显色,移入凝胶成像分析仪进行曝光显影,灰度分析软件处理系统分析目标带的光密度值。

1.5.4 肾组织中 IGF-1 mRNA 表达 采用实时荧光定量 PCR 检测法。1) 总 RNA 抽提:采用异硫氰酸胍法提取组织总 RNA,紫外分光光度计 260/280 nm 测 RNA 浓度,在甲醛-MOPS 凝胶电泳缓冲液中 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 质量。2) 反转录:于冰浴的去酶 EP 管中配置反转录反应液,反转录反应条件:25℃ 10 min,42℃ 60 min,85℃ 5 min,终止反应,冰浴 5 min。3) PCR 引物设计:检测所需引物均根据标准实时 PCR 引物设计原则,由武汉谷歌生物科技有限公司设计并合成,IGF-1:上游 TGCTATGTTGCCCTAGACTTCG,下游 GTTG-GCATAGAGGTCCTTTACGG,目的条带 240bp;β-action:上游 TGCTATGTTGCCCTAGACTTCG,下游 TAGGCTTCAGCGGAGCACAGTA,目的条带 172 bp。4) 定量 PCR:取 0.2 ml PCR 管,配制如下反应体系,每个反转录产物配制 3 管:2 × qPCR Mix 12.5 μl,7.5 μmol/L 基因引物 2.0 μl,反转录

产物 2.5 μl 、ddH₂O 8.0 μl 。PCR 扩增: 预变性 95℃, 10 min; 循环 (40 次) 95℃, 15 s $\rightarrow$ 60℃, 60 s; 熔解曲线 60℃ $\rightarrow$ 95℃, 每 15 s 升温 0.3℃。结果处理用 $\Delta\Delta\text{CT}$ 法: $A = \text{CT}$ (目的基因, 待测样本) - CT (内标基因, 待测样本), $B = \text{CT}$ (目的基因, 对照样本) - CT (内标基因, 对照样本), $K = A - B$, 表达倍数 $= 2^{-K}$ 。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件。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, 方差齐性则用 LSD- t 法两两比较, 方差不齐则采用 Dunnett's T3 法两两比较。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠生化指标比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组及真武汤高、

低剂量组大鼠 24 h 尿蛋白定量、BUN、Scr 均显著升高, Ucr 显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤高、低剂量组 24 h 尿蛋白定量、BUN、Scr 均显著降低, Ucr 显著升高 ($P < 0.05$); 与真武汤低剂量组比较, 真武汤高剂量组 24 h 尿蛋白定量、BUN、Scr 均显著降低, Ucr 显著升高 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠肾组织病理学比较

图 2 示, HE 及 PASM 染色 400 倍光镜下可见, 正常组大鼠肾组织结构大致正常, 模型组基底膜明显增厚, 系膜区域增宽, 有系膜细胞增生及结节状硬化形成, 可见囊内小滴及新月体, 肾小管上皮细胞肿胀、空泡样变, 出入球动脉可见透明样变, 肾间质有炎症细胞浸润; 而真武汤高、低剂量组肾脏组织病理改变较模型组明显减轻, 但仍可见肾小球基底膜增厚, 系膜细胞轻度增生。PASM 染色肾小

表 1 各组大鼠生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	24 h 尿蛋白定量 (mg)	BUN (mmol/l)	Scr ($\mu\text{mol/l}$)	Ucr ($\mu\text{mol/l}$)
正常组	10	4.8 $\pm$ 0.8	8.9 $\pm$ 0.3	119.0 $\pm$ 10.6	3908.7 $\pm$ 234.4
模型组	9	27.3 $\pm$ 4.9*	25.2 $\pm$ 1.5*	317.9 $\pm$ 12.1*	1342.6 $\pm$ 533.7*
真武汤低剂量组	8	15.9 $\pm$ 3.1* Δ	16.2 $\pm$ 1.5* Δ	249.5 $\pm$ 13.2* Δ	2055.0 $\pm$ 141.2* Δ
真武汤高剂量组	9	10.6 $\pm$ 1.5* $\Delta\Delta$	11.8 $\pm$ 1.2* $\Delta\Delta$	209.5 $\pm$ 9.6* $\Delta\Delta$	3003.1 $\pm$ 242.7* $\Delta\Delta$

注: BUN, 尿素氮; Scr, 血肌酐; Ucr, 尿肌酐; 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤低剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

表 2 各组大鼠肾小球系膜 IOD 值、IGF-1 蛋白及 mRNA 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IOD	IGF-1 蛋白 (/actin)	IGF-1 mRNA
正常组	10	2589.64 $\pm$ 329.13	0.10 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.00
模型组	9	55480.49 $\pm$ 3974.01*	0.62 $\pm$ 0.04*	3.06 $\pm$ 0.11*
真武汤低剂量组	8	45004.31 $\pm$ 2755.55* Δ	0.40 $\pm$ 0.03* Δ	2.04 $\pm$ 0.08* Δ
真武汤高剂量组	9	34755.14 $\pm$ 1910.43* $\Delta\Delta$	0.26 $\pm$ 0.02* $\Delta\Delta$	1.70 $\pm$ 0.06* $\Delta\Delta$

注: IGF-1, 胰岛素样生长因子 1; 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤低剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

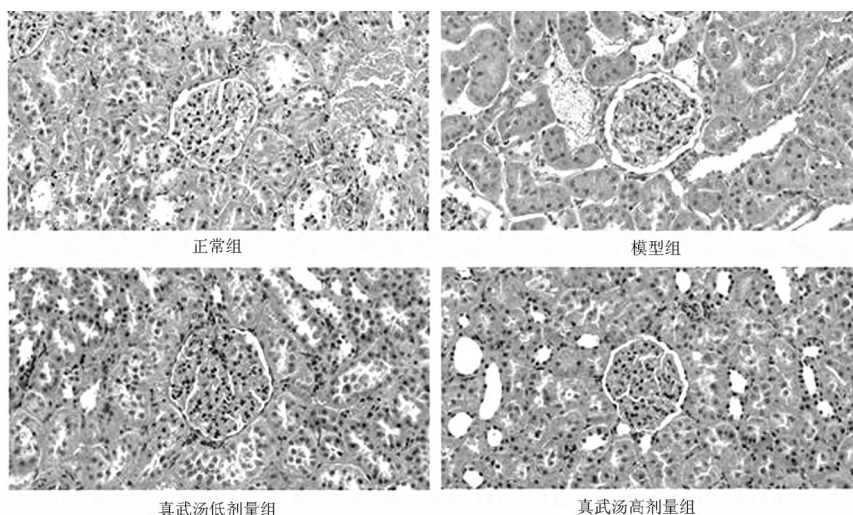


图 1 各组大鼠肾组织 HE 染色 ($\times 400$)

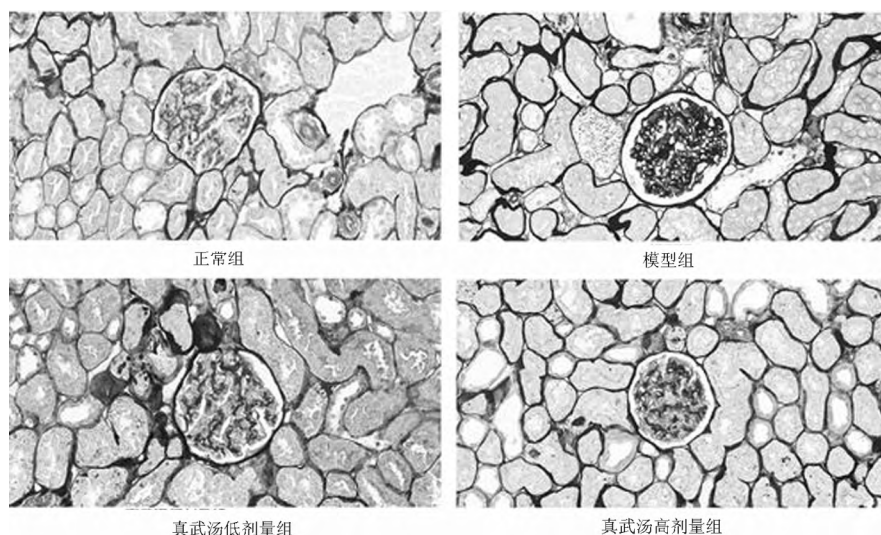
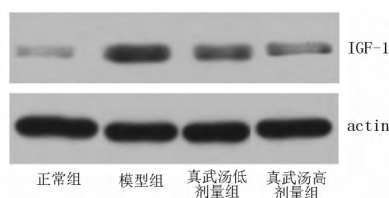


图2 各组大鼠肾组织 PASM 染色 (×400)

球系膜阳性目标积分光密度 (IOD) 值反映肾小球系膜增生程度, 表 2 示, 与正常组比较, 模型组及真武汤高、低剂量组 IOD 值均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤高、低剂量组 IOD 值均显著降低, 且真武汤高剂量组 IOD 值低于真武汤低剂量组 ($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠肾组织 IGF-1 蛋白及 mRNA 表达比较

各组大鼠肾组织 IGF-1 蛋白电泳图见图 3。表 2 示, 与正常组比较, 模型组及真武汤高、低剂量组大鼠肾组织 IGF-1 蛋白及 mRNA 表达均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤高、低剂量组大鼠肾组织 IGF-1 蛋白及 mRNA 表达均显著降低, 且真武汤高剂量组均低于真武汤低剂量组 ($P < 0.05$)。



注: IGF-1, 胰岛素样生长因子 1

图3 各组大鼠肾组织 IGF-1 蛋白电泳图

3 讨论

糖尿病肾病属于中医学“消渴”“水肿”范畴, 病位在肺、脾、肾, 关键在肾。肾主水, 水液的输化有赖于肾阳的蒸化开阖作用。消渴病燥热偏盛, 阴津亏耗, 以阴虚为本、燥热为标, 随着病程的迁延, 则会出现阴损及阳, 甚则会表现肾阳虚衰之候, 肾失蒸化, 开阖不利, 水液泛滥肌肤, 则为水肿^[8]。真武汤中附子辛热, 温肾中之阳, 补水

中之火, 使水有所主; 白术燥湿健脾, 使水有所制; 茯苓淡渗, 佐白术健脾, 于制水中有利水之用; 生姜宣散, 佐附子之助阳, 于主水中有散水之意; 白芍既可敛阴和营, 又可制附子刚烈之性^[14]。故真武汤有温脾肾以助阳气、利小便以祛水邪之功效。本研究中真武汤加味是在原方剂的基础上加生地、泽泻、党参、丹参组成。加生地助白芍养阴之功, 阴中求阳; 本病病程较长, 肾阳虚衰, 气化乏权, 水液潴留而泛滥肌肤, 故在温肾助阳的基础上, 加用利水消肿之泽泻; 糖尿病肾病之血瘀乃久治不愈、久病入络的病变, 党参、丹参益气活血化瘀, 促使血脉通畅, 以加强利水消肿之功。如此补肾祛邪相兼, 化瘀行水并用, 两者相得益彰, 以获邪去正安之效。

本研究结果显示, 真武汤加味能减少糖尿病肾病大鼠 24 h 尿蛋白、降低 Scr 及 BUN 水平, 增加 Ucr 水平; 减轻肾组织基底膜增厚、系膜区域增宽、系膜细胞增生及结节状硬化形成等病理改变, 有效改善糖尿病肾病大鼠肾功能。

IGF-1 与糖尿病肾病病变关系密切, 是促进细胞生长、具有胰岛素样代谢效应的细胞因子, 其可通过内分泌、旁分泌等形式在细胞的分化、增殖、生长发育中发挥重要的促进作用^[11-12]。糖尿病肾病中, 高血糖致肾小球系膜细胞缺氧损伤, 导致肾脏局部 IGF-1 旁分泌合成代偿性增高, 同时降解减少, 最终导致肾脏 IGF-1 水平升高^[13]。IGF-1 具有胰岛素样作用, 能促进细胞内葡萄糖的运输, 增加糖环境下系膜细胞对葡萄糖的摄取, 使系膜细胞代偿性增生, 并刺激系膜细胞合成层黏蛋白、纤维连接蛋白和 IV 型胶原蛋白, 使细胞外基质成分堆积, 加

速肾小球硬化^[4]。同时,在高浓度葡萄糖环境下,IGF-1 能促进系膜细胞中一氧化氮(NO)的产生,而 NO 在糖尿病肾病肾组织细胞外基质的堆积及肾小球血流动力学变化中起着重要作用^[5]。IGF-1 还可通过诱导肾脏激肽释放酶-激肽系统激活,导致肾小球血流动力学改变^[6]。因此,IGF-1 在糖尿病肾病发生发展过程中起着决定性作用。本研究结果显示,真武汤高、低剂量组大鼠肾组织中 IGF-1 蛋白及 mRNA 量较模型组均显著降低,提示 IGF-1 可能是真武汤改善糖尿病肾病肾功能分子机制中的重要通路。

综上所述,真武汤加味能减少糖尿病肾病大鼠 24 h 尿蛋白、降低 Scr 及血 BUN 水平,增加 Ucr 水平,改善肾组织病理学改变,其机制可能与真武汤加味调节 IGF-1 表达从而改善糖尿病肾病大鼠肾功能。

参考文献

- [1] 姚蓝,张雨洁,王健,等.高脂高糖与低剂量链脲佐菌素诱导的糖尿病肾病大鼠模型的建立[J].中国医药导报,2017,14(17):12-15,181.
- [2] 姜岳,邱模炎,孙慧,等.真武汤对慢性肾衰竭大鼠肾功能影响的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(11):42-44.
- [3] 全小林,周强,赵林华,等.糖尿病肾病的中医辨治经验[J].中华中医药杂志,2014,29(1):144-146.
- [4] 王东升,赵鸣芳.也谈真武汤中芍药的意义[J].中华中医药杂志,2018,33(1):53-55.
- [5] WIT JM, WALENKAMP MJ. Role of insulin-like growth factors in growth, development and feeding [J]. World Rev Nutr Diet, 2013, 106: 60-65. doi: 10. 1159/000342546.
- [6] DUAN C, REN H, GAO S. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins: roles in skeletal muscle growth and differentiation [J]. Gen Comp Endocrinol, 2010, 167(3): 344-351.
- [7] GACKA M, ADAMIEC R. IGF-1 and development of diabetic nephropathy [J]. Pol Arch Med Wewn, 2003, 109(1): 79-85.
- [8] KAMENICKÝ P, MAZZIOTTI G, LOMBÈS M, et al. Growth hormone, insulin-like growth factor-1, and the kidney: pathophysiological and clinical implications [J]. Endocr Rev, 2014, 35(2): 234-281.
- [9] LEVIN-IAINA N, IAINA A, RAZ I. The emerging role of NO and IGF-1 in early renal hypertrophy in STZ-induced diabetic rats [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2011, 27(3): 235-243.
- [10] ALRIC C, PECHER C, CELLIER E, et al. Inhibition of IGF-1-induced Erk 1 and 2 activation and mitogenesis in mesangial cells by bradykinin [J]. Kidney Int, 2002, 62(2): 412-421.
- [11] 向少伟,黄露.糖尿病肾病的炎症作用机制与中西医结合防治进展[J].中国中西医结合肾病杂志,2013,14(8): 750-752.
- [12] 郭娟英,吕继宏,尚粉青,等.真武汤加味治疗糖尿病肾病脾肾气虚证临床研究[J].中医学报,2016,31(12): 1885-1888.
- [13] 胡昌珍,姬水英,王东.真武汤治疗糖尿病肾病 68 例[J].中国老年学杂志,2012,32(24): 5565-5566.
- [14] 陈辉,李秀娟,刘菊,等.真武汤加减改善老年 2 型糖尿病微血管病变的疗效观[J].湖北中医杂志,2010,32(2): 10-12.
- [15] BACH LA, HALE LJ. Insulin-like growth factors and kidney disease [J]. Am J Kidney Dis, 2015, 65(2): 327-336.
- [16] 周一平.用 Excel 软件进行药物毒理实验的随机分组[J].药学进展,2005,29(9): 425-427.

Effects of Modified *Zhenwu Decoction* (真武汤) on Kidney Function and IGF-1 Expression in Renal Tissue of Diabetic Nephropathy Model Rats

LEI Yinghong, CHEN Hui, WANG Fan, DAI Chaobo, LI Xiujuan, ZHANG Linying, LIU Jing, ZHANG Qiong

(First Hospital of Wuhan City, Wuhan, 430022)

ABSTRACT Objective To observe the possible mechanism of Modified *Zhenwu Decoction* (真武汤) in treating diabetic nephropathy (DN). **Methods** A total of 40 male SD rats were selected and randomly and equally divided into normal control group (NC group), model control group (DN group), low dose of *Zhenwu Decoction* (真武汤) group (EL group), high dose of *Zhenwu Decoction* group (EH group). The rat models of DN were established by the single injection of streptozotocin (STZ). The rats in EL group and EH group were respectively administered with *Zhenwu Decoction* 2.45 g/(kg · d) and 9.8 g/(kg · d), while NC group and DN group were administered with equal volume distilled water once a day. After 16 weeks' administration, the blood urea nitrogen (BUN), serum cre-

atinine (Scr), urine creatinine (Ucr) levels and 24h urine protein quantitation in rats of each group were determined, and mesangial positive target integrated optical density (IOD), the expressions of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) protein and mRNA in renal tissue were detected. **Results** Compared with NC group, the 24 hours urinary protein quantitative, levels of BUN and serum Scr in DN group were significantly increased, and the level of Ucr was significantly decreased, and the IOD was significantly increased. The kidney basement membrane was thickened obviously, mesangial cells were obviously proliferated and nodular sclerosis was formed. The IGF-1 protein and mRNA expressions were increased significantly in DN group ($P < 0.05$). Compared with the DN group, the levels of 24 hours urinary protein quantitative, BUN and Scr in EL and EH groups were significantly decreased, and the level of Ucr was significantly increased. The IOD was significantly decreased, and the pathological damage of kidney tissue was significantly alleviated. The IGF-1 protein and mRNA expressions were decreased significantly ($P < 0.05$). The changes of EH group were more obviously than EL group. **Conclusion** Modified Zhenwu Decoction can reduce the levels of 24-hour urine protein, BUN and Scr, increase the levels of Ucr, and alleviate the pathological damage of kidney tissue in diabetic nephropathy rats. The molecular mechanism may be related to the regulation of Zhenwu Decoction on IGF-1 expression.

Keywords diabetic nephropathy; Zhenwu Decoction; insulin-like growth factor 1; kidney function

(收稿日期: 2018-03-01; 修回日期: 2018-07-10)

编辑: 王利芬

(上接第 1765 页)

Effects of Traditional Chinese Medicine Fumigation Combined with Conventional Treatment on Healing of Diabetic Foot Ulcer and VEGF, MMP-2 and TIMP-1 in Wound Exudation

BAI Xianhua, YIN Lanying, YANG Haiqing, GAO Junxiang, LI Lian, SONG Denghao, GAO Duo

(The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050000)

ABSTRACT Objective To explore the clinical efficacy and mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) fumigation combined with conventional treatment on healing of diabetic foot ulcer. **Methods** A total of 64 patients with diabetic foot ulcer were randomly divided into control group and observation group, with 32 cases in each group. Control group was treated with conventional method while observation group was additionally treated with TCM fumigation on the basis of the same treatment for 14 days. The wound exudation was collected before and after treatment, and the vascular endothelial growth factor (VEGF), matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP-1) were detected before and after treatment on the 7th day and the 14th day of treatment, and the wound healing rate of both groups after treatment were compared. **Results** The wound healing rate of both groups on the 7th day treatment was higher than that on the 14th day of treatment ($P < 0.05$), and the healing rate of observation group was higher than that of control group on the 7th day and 14th day treatment ($P < 0.05$). After 7 and 14 days of treatment, the levels of VEGF and TIMP-1 in the control group were decreased ($P < 0.05$), and the content of MMP-2 was increased ($P < 0.05$). The VEGF and TIMP-1 levels in the observation group were increased more than that in the observation group ($P < 0.05$), and the content of MMP-2 was decreased ($P < 0.05$). The levels of VEGF and TIMP-1 in the observation group were increased more than those in the control group at 7th and 14th day treatment ($P < 0.05$), and the content of MMP-2 decreased more than that of the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the levels of VEGF, MMP-2 and TIMP-1 between the 2 groups at 14 days after treatment ($P > 0.05$). **Conclusion** TCM fumigation treatment can effectively promote the healing of diabetic foot ulcer wounds, which may be related to reducing MMP-2 content and increasing VEGF and TIMP-1 levels in wound exudation.

Keywords diabetic foot; Chinese medicine fumigation; ulcer; wound healing; vascular endothelial growth factor; matrix metalloproteinase

(收稿日期: 2018-01-25; 修回日期: 2018-08-16)

编辑: 侯建春