

祛风通络方对糖尿病肾脏病模型大鼠足细胞损伤的影响

黄为钧¹, 赵进喜¹, 王世东¹, 肖永华¹, 傅强¹, 张华¹, 吴文静², 申子龙³, 宫晴^{3*}

(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京市东城区海运仓 5 号, 100700; 2. 湖北省中医院; 3. 首都医科大学北京中医医院)

摘要 目的 探讨祛风通络方治疗糖尿病肾脏病的可能作用机制。方法 32 只 GK 大鼠随机分为模型组、假手术组、益气活血组、祛风通络组, 每组 8 只。除假手术组外其余各组大鼠采用高脂高热量喂养加单肾切除术复制糖尿病肾脏病模型。益气活血组给予浓度为 0.75 g/ml 益气活血颗粒灌胃, 祛风通络组给予浓度 0.9 g/ml 祛风通络颗粒灌胃, 模型组和假手术组给予纯净水灌胃, 剂量均为 1 ml/100 g, 共 8 周。观察大鼠一般情况, 检测 24 小时尿蛋白变化以及血糖、肌酐、尿素氮、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平, HE 染色观察肾脏病理情况, 采用免疫组化法检测肾组织中 nephrin、desmin、podocin、podocalyxin 等足细胞标志蛋白表达情况。结果 HE 染色结果显示, 模型组可见到肾小球肥大, 少量肾小球萎缩, 可见肾小管扩张; 益气活血组和祛风通络组未见肾小球萎缩, 系膜细胞增生较轻, 肾小管上皮细胞变性较轻。模型组大鼠肌酐明显高于假手术组 ($P < 0.05$); 益气活血组大鼠 ALT 显著低于模型组以及祛风通络组 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 益气活血组以及祛风通络组均可降低 24 小时尿蛋白 ($P < 0.01$)。益气活血组以及祛风通络组大鼠肾组织 nephrin 表达高于模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 祛风通络组大鼠肾组织 podocin 表达要高于模型组以及益气活血组, 祛风通络组大鼠肾组织 podocalyxin 表达要高于模型组 ($P < 0.05$)。结论 祛风通络方可以缓解足细胞损伤, 可能是其治疗糖尿病肾脏病的机制之一。

关键词 糖尿病肾脏病; 祛风通络方; 足细胞损伤; 肌酐; 24 小时尿蛋白

糖尿病肾脏病 (diabetic kidney disease, DKD) 是临床常见的糖尿病微血管并发症之一, 目前已经引起终末期肾脏病的首要原因^[1]。中医药在治疗 DKD 方面具有一定优势, Meta 分析结果显示, 中草药治疗糖尿病肾脏病, 能够有效降低尿蛋白排泄率 (UAER) 以及 24 小时尿蛋白^[2]。近年来, 我们在长期临床实践的基础上, 结合 DKD 的临床特点, 以及现代医学关于 DKD 免疫炎症学说, 提出了 DKD “伏风致病” 理论假说以及 “从风论治” 的思路^[3-4]。有研究^[5-6] 结果发现, DKD 尿蛋白的产生与足细胞损伤存在密切的联系。因此, 本研究观察祛风通络方治疗 DKD 的疗效, 并基于足细胞损伤探讨其可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 GK 雄性大鼠 32 只, 鼠龄 11 ~ 17 周,

体重 300 ~ 360 g, 购自常州卡文斯实验动物有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (苏) 2011-0003。大鼠饲养在北京中医药大学动物实验室, 自由饮水, 温度 22℃, 相对湿度 60%, 明/暗周期为 12 h。本实验得到了北京中医药大学实验动物伦理委员会的批准 (BUCM-4-2015071701-3001)。

1.2 药物

祛风通络颗粒, 处方: 穿山龙、牛蒡子、蚕砂, 配伍比例为 10 : 5 : 3; 益气活血颗粒, 处方: 黄芪、鬼箭羽, 配伍比例为 10 : 5。中药颗粒剂由北京康仁堂药业有限公司提供。

1.3 主要试剂与仪器

高热量高脂饲料 (蔗糖 5%, 猪油 10%, 胆固醇 2%, 胆酸盐 0.25%, 基础饲料 82.75%)、基础饲料 (糖水化合物 65%, 脂肪 10.3%, 蛋白质 24.2%), 由北京科奥协力饲料有限公司提供 (批号: 11002900018142); 3% 戊巴比妥钠 (批号: P3761, 北京智杰方远科技有限公司); 青霉素钠注射液 (批号: F4092105, 华北制药股份有限公

基金项目: 国家自然科学基金 (81473664); 北京中医药大学 2017 年度基本科研业务费项目 (2017-JYB-JS-484)

* 通讯作者: sunny662@163.com, (010) 84013293

司); 尿蛋白试剂盒 (批号: 20150928, 南京建成生物工程研究所); DAB 显色液 (批号: 20044442, 丹麦 DAKO 公司); podocalyxin 抗体 (批号: ab205350)、抗 podocin 抗体 (批号: ab50339)、抗 desmin 抗体 (批号: ab32362), Abcam 公司; nephrin 抗体 (批号: sc-376522, 圣克鲁斯生物技术公司); 免疫组化二抗 (批号: PV-9004, 北京中杉金桥生物技术有限公司); 尿蛋白定量试剂盒 (批号: 20150928, 南京建成生物工程研究所); REALTM EnVisionTM Detection System, Peroxidase/DAB+ (丹麦 DAKO 公司)。

DU800 紫外-可见分光光度计 (美国 Beckman 公司); AU5800 型全自动生化分析仪 (贝克曼库尔特公司); EX30 型显微镜 (宁波舜宇仪器有限公司)。

1.4 动物分组及模型建立^[7-8]

大鼠适应性喂养 1 周后, 用高脂高热量饲料喂养 8 周。然后对所有大鼠进行简易 OGTT 试验^[9] (空腹 12 h 后, 灌服 2 g/kg 体重的葡萄糖溶液), 检测口服葡萄糖后 1 h、2 h 尾尖血血糖。以餐后 2 h 血糖 (2hPG = 11.1 mmol/l) 为分层因素, 将大鼠分为血糖 ≥ 11.1 mmol/L 及 < 11.1 mmol/L 两层, 分别对各层大鼠进行随机分组, 分为模型组、假手术组、益气活血组、祛风通络组, 将两层中同一组的大鼠合并为一组, 每组 8 只, 最终保证各组中大鼠血糖水平相当。模型组、益气活血组、祛风通络组行单侧肾切除术, 假手术组只切开皮肤、肌肉, 不切除肾脏。手术在 3% 戊巴比妥钠 1.6 ml/kg 腹腔注射麻醉下进行。手术后连续 3 天腹腔注射青霉素钠注射液 40 单位/只, 预防伤口感染。此后整个实验过程均给予高脂高热量饮食。

1.5 给药方法

各组大鼠在术后恢复性饲养 1 周后, 开始进行为期 8 周的药物干预, 以 1 ml/100 g 剂量灌胃。结合前期预实验结果, 选用人体临床等效剂量的 10 倍。益气活血组给予浓度为 0.75 g/ml 益气活血颗粒灌胃, 祛风通络组给予 0.9 g/ml 祛风通络颗粒灌胃。模型组和假手术组给予纯净水 1 ml/100 g 灌胃。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 一般情况 每日观察大鼠的精神、活动、皮毛、饮水、进食等一般情况。如有大鼠死亡, 及时记录大鼠死亡时的姿态、皮毛状况以及其他异常情况, 并分析其死亡原因。

1.6.2 24 小时尿蛋白定量 检测干预前后 24 小

时尿蛋白定量, 具体方法参考尿蛋白试剂盒说明书, 使用 DU800 紫外-可见分光光度计, 采用考马斯亮蓝法进行检测。最终对干预前后的 24 小时尿蛋白定量之差进行统计分析。

1.6.3 生化指标 干预后腹主动脉取血, 分离血清后, 由北京中医药大学东直门医院检验科使用全自动生化分析仪检测血清中血糖、肌酐、尿素氮、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST)。

1.6.4 肾脏组织 HE 染色 将切片用二甲苯浸泡 15 min $\times$ 3 次脱蜡。脱蜡完成后, 将切片进行水化。滴加苏木素染液 10 min, 自来水冲去多余的染液。用 1% 盐酸乙醇分化 10 s, 自来水冲洗。用 1% 氨水返蓝 10 s, 自来水冲洗。滴加 1% 伊红 6 min, 自来水冲洗。梯度乙醇脱水, 二甲苯 (15 min $\times$ 3 次) 透明, 树胶封片, 显微镜观察。

1.6.5 肾脏组织中 nephrin、desmin、podocin、podocalyxin 表达情况 采用免疫组化法, 首先对所有切片进行脱蜡入水处理, 切片经过抗原修复后恢复室温, 使用 PBS 泡洗 2 min $\times$ 3 次。在切片的组织上滴加 3% H_2O_2 , 室温放置 10 min (避光)。结束后使用 PBS 泡洗, 3 min $\times$ 3 次。按照抗体说明书对一抗进行稀释, 在肾脏组织上滴加适量的稀释后一抗溶液, 将带有一抗的切片放入 4℃ 冰箱, 孵育过夜。使用 PBS 洗掉多余的一抗溶液, 3 min $\times$ 3 次。以同样的方法滴加 100 μ l 二抗溶液, 在室温下孵育 30 min。用 PBS 洗掉多余的二抗溶液, 3 min $\times$ 2 次。室温下, 在组织上滴加 DAB 显色液, 显微镜下观察目标, 等待出现阳性反应后, 用蒸馏水将显色液冲洗掉, 终止反应。然后, 滴加苏木素衬染, 盐酸酒精分化, 氨水返蓝。使用常规梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片。应用 Image-pro Plus 6.0 图像分析系统分析图像, 对比各组 nephrin、desmin、podocin、podocalyxin 表达水平。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计。计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 若各组均符合正态分布, 使用单因素方差分析; 两两对比时, 若组间方差齐, 使用 Dunnett 检验以及 LSD 法; 若组间方差不齐, 使用 Dunnett T^3 检验。若有数据不符合正态分布, 则使用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况

各组大鼠整体状态较好, 皮毛整齐有光泽, 活

动灵活, 饮食正常。实验期间假手术组、益气活血组各有 1 只大鼠在进行单肾切除术后死亡, 考虑为手术过程中出血过多导致。益气活血组有 1 只大鼠在手术前麻醉时死亡, 考虑为进行腹腔注射时, 注射器针头刺破腹腔大血管, 导致大量出血死亡。

2.2 各组大鼠 HE 染色病理情况

HE 染色结果显示, 模型组可见到肾小球肥大, 毛细血管迂曲扩张, 少量肾小球萎缩, 系膜细胞及基质增生, 毛细血管闭塞, 球囊间隙变窄; 肾小管上皮细胞呈空泡样变及少数颗粒样变, 可见肾小管扩张, 管腔内可见管型; 间质少量炎症细胞浸润及纤维组织增生。假手术组与模型组病理变化相近, 但未见小管颗粒变性以及管型。与模型组对比, 益气活血组与祛风通络组均未见肾小球萎缩, 系膜细胞增生较轻, 肾小管上皮细胞变性较轻, 管腔内未见管型。

2.3 各组大鼠 24 小时尿蛋白定量差值比较

表 1 示, 模型组与假手术组比较, 24 小时尿蛋白差值无统计学意义 ($P=0.079$)。与模型组比较, 益气活血组以及祛风通络组 24 小时尿蛋白定量差值差异具有统计学意义 ($P<0.001$); 而祛风通络组与益气活血组 24 小时尿蛋白定量差值差异无统计学意义 ($P=0.724$)。

表 1 各组大鼠 24 小时尿蛋白定量差值比较 (mg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	24 小时尿蛋白差值
模型组	8	5.44 ± 10.53
假手术组	7	-2.74 ± 5.20
益气活血组	6	-17.79 ± 9.36*
祛风通络组	8	-24.07 ± 8.32*

注: 与模型组比较, * $P<0.01$

2.4 各组大鼠生化指标比较

表 2 示, 各组大鼠血糖、尿素氮及 AST 水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)。模型组大鼠肌酐要明显高于假手术组 ($P=0.019$)、益气活血组 ($P=0.043$), 差异有统计学意义; 模型组与祛风通络组 ($P=0.052$)、祛风通络组与益气活血组 ($P=1.000$) 肌酐比较差异无统计学意义。益气活血组大鼠 ALT 显著低于模型组 ($P=0.041$) 以及祛风通络组 ($P=0.043$), 差异具有统计学意义。祛风通络组 ($P=0.721$)、假手术组 ($P=0.873$) 与模型组 ALT 水平差异无统计学意义。

2.5 各组大鼠肾组织 nephrin、desmin、podocin、podocalyxin 表达比较

表 3 示, 假手术组和模型组比较, 大鼠肾组织 nephrin、desmin、podocin、podocalyxin 表达差异均无统计学意义 (P 值分别为 0.11, 0.165, 0.674, 0.298)。益气活血组以及祛风通络组 nephrin 表达高于模型组 ($P=0.044$, $P=0.008$), 而祛风通络组与益气活血组之间差异无统计学意义 ($P=0.366$)。各组大鼠肾组织 desmin 表达比较差异无统计学意义 ($\chi^2=5.621$, $P=0.132$)。祛风通络组大鼠肾组织 podocin 表达高于模型组 ($P=0.006$) 以及益气活血组 ($P=0.032$)。祛风通络组大鼠肾组织 podocalyxin 表达要高于模型组 ($P=0.021$)。

3 讨论

DKD 为常见的糖尿病慢性并发症之一, 以水肿、蛋白尿为主要临床表现, 严重者可形成肾病综

表 2 各组大鼠生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	血糖 (mmol/l)	肌酐 ($\mu\text{mol/l}$)	尿素氮 (mmol/l)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
模型组	8	9.66 ± 2.71	72.26 ± 14.32	6.27 ± 3.30	38.45 ± 8.94	172.35 ± 28.20
假手术组	7	10.33 ± 1.80	56.36 ± 6.85*	4.86 ± 0.42	37.79 ± 6.46	181.94 ± 32.99
益气活血组	6	7.93 ± 0.62	60.48 ± 6.52*	6.44 ± 0.58	29.00 ± 5.34*	163.00 ± 17.80
祛风通络组	8	7.98 ± 1.31	60.66 ± 5.74	6.11 ± 0.70	36.73 ± 9.32 [△]	162.19 ± 31.06

注: ALT, 丙氨酸氨基转移酶; AST, 门冬氨酸氨基转移酶; 与模型组比较, * $P<0.05$; 与益气活血组比较, $\Delta P<0.05$

表 3 各组大鼠肾组织 nephrin、desmin、podocin、podocalyxin 表达比较 (灰度值, $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	nephrin	desmin	podocin	podocalyxin
模型组	8	655.73 ± 614.77	105.88 ± 85.01	980.48 ± 826.05	54.44 ± 117.85
假手术组	7	1606.30 ± 1427.42	309.19 ± 373.18	1129.38 ± 418.13	229.02 ± 337.93
益气活血组	6	1364.40 ± 540.16*	54.06 ± 95.03	1604.33 ± 1698.03*	203.69 ± 310.30
祛风通络组	8	2244.08 ± 1700.18**	248.00 ± 334.35	2956.10 ± 1458.45* [△]	516.68 ± 431.73*

注: 与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与益气活血组比较, $\Delta P<0.05$

合征,最终发展为慢性肾功能不全、尿毒症。益气活血法是目前中医药治疗 DKD 应用最为广泛的治法,其有效性也得到多个临床研究的证实^[2]。吕仁和教授认为,气虚血瘀是贯穿 DKD 病程始终的基本病机,因此,益气化瘀散结应贯穿 DKD 治疗的全过程^[10]。有研究结果显示,益气化瘀散结法在有效率、24 小时尿蛋白定量、尿微量白蛋白排泄率、血肌酐等方面具有优于或非劣于西药 ARB 类药物的疗效,甚至在终点事件方面明显优于西药厄贝沙坦组^[11-13]。因此,在本次研究中,我们将益气活血法作为阳性对照,来探讨祛风通络法治疗 DKD 的有效性及其作用机制。

对于 DKD,大量蛋白尿的出现往往意味着肾功能的急速下降^[14],因此,降低尿蛋白是治疗 DKD 的关键点之一。越来越多的中医学者观察到了“风药”治疗 DKD 的有效性,尤其是在降低尿蛋白方面^[17-19]。我们在临床治疗 DKD 时,在益气活血散结法的基础上,加上祛风通络药物,轻者可加防风、紫苏叶、鬼箭羽、穿山龙、威灵仙、鸡血藤、青风藤、海风藤、忍冬藤、络石藤等,病情较重者也可选用虫类搜风通络药,如蝉蜕、僵蚕、地龙、全蝎、蜈蚣、炮山甲等^[4],往往能取得较好的疗效。本研究所使用的祛风通络颗粒包括了穿山龙、牛蒡子、蚕砂,穿山龙具有舒筋活络、祛风止痛之效,可以祛除肾络中伏风,牛蒡子可以疏风清热以除外风,蚕砂亦为祛风除湿之要药,三者相须为用,共奏祛风通络之效。

HE 染色结果可见,益气活血组以及祛风通络组病理改变均要比模型组大鼠病理改变轻,可见两种干预措施均可有效地改善糖尿病肾病的病情。并且祛风通络组以及益气活血组 24 小时尿蛋白定量较模型组下降明显,说明祛风通络法在降低尿蛋白方面的效果非劣于益气活血法。生化指标结果显示,祛风通络法治疗 DKD 对血糖、肝功能、肾功能均无明显影响,而益气活血组血肌酐以及 ALT 水平要显著低于模型组。可见,益气活血法在保护肝、肾功能方面可能要优于祛风通络组。

研究显示,DKD 蛋白尿的产生与足细胞损伤存在密切的关系^[5-8]。nephrin 蛋白是足细胞裂隙膜的重要组成部分,nephrin 同时也参与影响足细胞凋亡的信号传导^[20]。与 nephrin 一样,desmin、podocin 以及 podocalyxin 也是足细胞的重要组成部分,在足细胞的实验研究中,经常被用作足细胞损伤的标志^[21-23]。本次研究中,虽然祛风通络法和益气活血

法均对 desmin 的表达无明显调节作用,但均可显著地上调 nephrin 表达。在 podocin 以及 podocalyxin 方面,祛风通络法仍然可以起到上调表达水平的作用,而活血化瘀法并没有显示出具有上调 podocin 和 podocalyxin 的效果,说明祛风通络法与益气活血法均可以在一定程度上起到缓解足细胞损伤的作用,且祛风通络法的作用略强于益气活血法。

综上,祛风通络法与益气活血法均可以缓解足细胞损伤,从而起到降蛋白的效果,祛风通络法在保护足细胞方面优于益气活血法,而在保护肾功能方面弱于益气活血法。

参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 糖尿病肾病防治专家共识(2014 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(11): 792-801.
- [2] 崔赵丽, 缪娟, 王立强, 等. 益气活血法治疗糖尿病肾病的 meta 分析 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2014, 15(2): 156-159.
- [3] 黄为钧, 赵进喜, 王世东, 等. 基于“伏邪学说”试论糖尿病肾病的发病机制 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(11): 4428-4430.
- [4] 黄学民, 赵进喜, 张亚欣. 论糖尿病肾病疏风通络治法及其抗炎免疫损伤作用 [J]. 北京中医药大学学报(中医临床版), 2012, 19(1): 44-46.
- [5] DAI H, LIU Q, LIU B. Research progress on mechanism of podocyte depletion in diabetic nephropathy [J]. J Diabetes Res, 2017, 2017: 2615286. doi: 10.1155/2017/2615286.
- [6] YASUDA-YAMAHARA M, KUME S, TAGAWA A, et al. Emerging role of podocyte autophagy in the progression of diabetic nephropathy [J]. Autophagy, 2015, 11(12): 2385-2386.
- [7] 徐孝平, 寿旗扬, 陈方明, 等. 高热量高蛋白饮食诱导 GK 大鼠糖尿病肾病模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(4): 53-57.
- [8] 孙惠力, 程小燕, 戈娜, 等. 两种糖尿病肾病大鼠模型的对比研究 [J]. 中国医药指南, 2010, 8(20): 244-246.
- [9] GOTO Y, KAKIZAKI M, MASAKI N. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding [J]. Tohoku J Exp Med, 1976, 119(1): 85-90.
- [10] 赵进喜. 糖尿病肾病规范化中医诊疗方案及其研究 [J]. 药品评价, 2012, 9(28): 31-35, 40.
- [11] 王颖辉, 赵进喜, 王世东, 等. 中医药干预对早期糖尿病肾病证素演变的影响 [J]. 中医杂志, 2012, 53(20): 1759-1763.
- [12] 李景, 赵进喜, 王世东, 等. 中医药综合治疗方案全程干预对糖尿病肾病终点事件的影响 [J]. 中医杂志,

- 2012, 53(7): 568-571, 580.
- [3] 王世东, 黄允瑜, 李靖, 等. 中医防治方案对糖尿病肾病肾功能不全代偿期肾功能和血脂代谢的影响 [J]. 北京中医, 2007, 26(4): 211-214.
- [4] 张丽芬, 赵进喜, 吕仁和, 等. 糖尿病肾病肾功能不全防治优化方案的有效性和安全性研究 [J]. 中医杂志, 2006, 47(10): 755-758.
- [5] 张丽芬, 吕仁和, 赵进喜, 等. 中医辨证治疗方案对糖尿病肾病肾功能不全患者生存质量的影响: 多中心临床研究 [J]. 中医杂志, 2008, 49(2): 119-122.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 糖尿病肾病防治专家共识(2014 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(11): 792-801.
- [7] 陈剑飞. 风药治疗早期糖尿病肾病蛋白尿的临床观察 [J]. 中医临床研究, 2013, 5(9): 4-6.
- [8] 吴蔚桦, 汪汉, 张茂平. 雷公藤多甙治疗糖尿病肾病的系统评价 [J]. 中国循证医学杂志, 2010, 10(6): 693-699.
- [9] 唐红. 陈以平运用牛蒡子治疗糖尿病肾病经验 [J]. 上海中医药杂志, 2013, 47(7): 27-28.
- [20] ZHA D, CHEN C, LIANG W, et al. Nephron phosphorylation regulates podocyte adhesion through the PINCH-1-ILK- α -parvin complex [J]. BMB Rep, 2013, 46(4): 230-235.
- [21] YAOITA E, KAWASAKI K, YAMAMOTO T, et al. Variable expression of desmin in rat glomerular epithelial cells [J]. Am J Pathol, 1990, 136(4): 899-908.
- [22] NAKATSUE T, KOIKE H, HAN GD, et al. Nephron and podocin dissociate at the onset of proteinuria in experimental membranous nephropathy [J]. Kidney Int, 2005, 67(6): 2239-2253.
- [23] KANG HG, LEE M, LEE KB, et al. Loss of podocalyxin causes a novel syndromic type of congenital nephrotic syndrome [J]. Exp Mol Med, 2017, 49(12): e414.

Effects of *Qufeng Tongluo Recipe* (祛风通络方) on Podocyte Injury in Diabetic Nephropathy Model Rats

HUANG Weijun¹, ZHAO Jinxi¹, WANG Shidong¹, XIAO Yonghua¹, FU Qiang¹, ZHANG Hua¹, WU Wenjing², SHEN Zilong³, GONG Qing¹

(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700; 2. Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine; 3. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Qufeng Tongluo Recipe* (祛风通络方) in the treatment of diabetic nephropathy. **Methods** A total of 32 GK rats were randomly divided into model group, sham operation group, Yiqi Huoxue group and *Qufeng Tongluo* group, with 8 rats in each group. Except the sham operation group, rats were treated with high-fat, high-calorie feeding plus single nephrectomy to replicate the diabetic kidney disease model. Yiqi Huoxue group was given *Yiqi Huoxue Granules* at a concentration of 0.75 g/ml by gavage, and the *Qufeng Tongluo* group was given a concentration of 0.9 g/ml *Qufeng Tongluo Granules* by gavage. The model group and the sham operation group were given pure water by gavage. The dose of all groups was 1 ml/100 g for 8 weeks. The general condition of rats was observed, and the 24-hour urine protein changes, levels of blood glucose, creatinine, urea nitrogen, alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) were detected. HE staining was used to observe renal pathology. The expression of podocyte marker proteins of nephrin, desmin, podocin and podocalyxin was detected by immunity histochemistry. **Results** The results of HE staining showed that the model group showed glomerular hypertrophy, a small amount of glomerular atrophy, and renal tubular dilatation. There was no glomerular atrophy in the Yiqi Huoxue group and *Qufeng Tongluo* group, and the mesangial cells proliferated lightly. Renal tubular epithelial cells were less degenerative. The creatinine of the model group was significantly higher than that of the sham operation group ($P < 0.05$). The ALT of the Yiqi Huoxue group was significantly lower than that of the model group and the *Qufeng Tongluo* group ($P < 0.05$). Compared with the model group, Yiqi Huoxue group and *Qufeng Tongluo* group could reduce 24-hour urine protein ($P < 0.01$). The expression of nephrin in the kidney of Yiqi Huoxue group and *Qufeng Tongluo* group was higher than that in the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The expression of podocin in the kidney of the rats in the *Qufeng Tongluo* group was higher than that in the model group and Yiqi Huoxue group. The expression of podocalyxin in the kidney tissue of the rats in the *Qufeng Tongluo* group was higher than that in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** *Qufeng Tongluo Recipe* can alleviate podocyte injury and that may be one of the mechanisms for its treatment of diabetic nephropathy.

Keywords diabetic nephropathy; *Qufeng Tongluo Recipe* (祛风通络方); podocyte injury; creatinine; 24-hour urine protein

(收稿日期: 2018-07-02; 修回日期: 2018-10-17)

编辑: 邓 媛