

温肾健脾方对糖尿病大鼠肾功能、血液流变性 及微循环的影响

陈霞波¹ 寿旗扬² 龚文波¹ 张利棕² 周卫民² 周开¹ 张业¹ 陈民利^{2*}

(1. 宁波市中医院, 浙江省宁波市丽园北路 819 号, 315010; 2. 浙江中医药大学动物实验研究中心)

基金项目: 宁波市科技计划项目(2009C50002)

* 通讯作者: minlichen01@yahoo.com.cn, (0571)86613553

[摘要] 目的 探讨温肾健脾方治疗糖尿病肾病(DN)的可能作用机制。方法 将链脲佐菌素诱导的 DN 大鼠 36 只随机分为模型对照组、温肾健脾组、缬沙坦组各 12 只, 分别以蒸馏水 10 ml/kg、温肾健脾方 20 g/kg、缬沙坦胶囊 25 mg/kg, 另取 12 只正常大鼠为正常对照组(蒸馏水 10 ml/kg)。连续给药 8 周后, 检测各组大鼠体重、肾功能、血中蛋白水平、肾皮质层血流量及血液流变学指标。结果 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠体重显著降低, 葡萄糖(GLU)、尿素氮(BUN)显著上升, 总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)显著下降($P < 0.01$), 温肾健脾组和缬沙坦组显著改善 BUN 和 TP 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。模型对照组较正常对照组肾脏皮层微循环血流量显著升高($P < 0.01$), 温肾健脾组和缬沙坦组较模型对照组肾脏皮层微循环血流量显著下降($P < 0.01$)。模型对照组较正常对照组全血黏度、血浆黏度、卡松黏度及红细胞聚集指数均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型对照组比较, 温肾健脾组显著降低血浆黏度($P < 0.05$)。结论 温肾健脾方治疗 DN 的机制可能与改善 DN 大鼠肾功能、降低血液黏稠度、改善肾微循环有关。

[关键词] 温肾健脾方; 糖尿病肾病; 肾功能; 血液流变性; 肾脏血流动力学

Effects of Kidney-Warming Spleen-Fortifying Formula on Renal Function, Hemorheology and Microcirculation in Diabetic Rats

CHEN Xiabo¹, SHOU Qiyang², GONG Wenbo¹, ZHANG Lizong², ZHOU Weimin², ZHOU Kai¹, ZHANG Ye¹, CHEN Minli²

(1. Ningbo Municipal Hospital of TCM, Zhejiang Province 315010; 2. Zhejiang Chinese Medical University)

ABSTRACT Objective To observe the effects and possible mechanism of kidney-warming spleen-fortifying formula on diabetic nephropathy (DN) rats. **Methods** Thirty six DN rats induced by Streptozotocin (STZ) were randomized into model control group, kidney-warming spleen-fortifying group and valsartan group, with 12 in each. The rats were given 10 ml/kg distilled water, 20 g/kg kidney-warming spleen-fortifying formula and 25 mg/kg valsartan for 8 weeks respectively. Twelve normal rats were chosen as the normal control group (10 ml/kg distilled water). The body weight, renal function, serum protein level, renal cortex blood flow and hemorheology indexes were detected after 8 weeks. **Results** Comparing with the normal control group, the body weights of DN rats were decreased, the levels of glucose (GLU) and blood urea nitrogen (BUN) were increased and the levels of total protein (TP) and albumin (ALB) were decreased in the model control group ($P < 0.01$). Comparing with the model control group, the levels of BUN were significantly decreased and the levels of TP were significantly increased in all administration groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with the normal control group, the renal cortex microcirculation blood flow was significantly increased in the model control group ($P < 0.01$). Comparing with the model control group, the renal cortex microcirculation blood flow was significantly decreased in all administration groups ($P < 0.01$). Comparing with the normal control group, the whole blood viscosity, plasma viscosity and Casson viscosity was increased in the model control group ($P < 0.01$). Comparing with the model control group, the plasma viscosity was significantly decreased in the kidney-warming spleen-fortifying group ($P < 0.05$). **Conclusion** Kidney-warming spleen-fortifying formula can improve the renal function, reduce the blood viscosity and improve the renal microcirculation in DN rats.

Keywords kidney-warming spleen-fortifying formula; rat; diabetic nephropathy; renal function; hemorheology; renal hemodynamics

糖尿病肾病(DN)是糖尿病常见的并发症,是糖尿病微血管病变之一,其发生首先以微血管的血流动力学变化为起点,继而出现以毛细血管基底膜增厚和系膜基质扩展为特点的肾小球硬化^[1]。属中医学“消渴”、“水肿”、“虚劳”范畴。其病机为本虚标实,虚实并重。早期病机以气阴两虚为本,燥热为

标。消渴日久,气阴两伤,阴损及阳,脾肾阳气不足,决渎无能,痰瘀肾络,凝滞脉道是其主要的病理变化^[2]。我们采用温肾健脾方治疗脾肾阳虚型 DN 取得了良好疗效,为进一步探讨其药理作用机制,本研究建立 DN 大鼠模型,以观察温肾健脾方对 DN 大鼠肾功能、血液流变性、肾脏微循环的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 75 只, 体重为 280 ~ 320 g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 动物许可证号: SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药物

温肾健脾方: 附子 6 g、干姜 5 g、党参 15 g、白术 15 g、茯苓 15 g、白芍 15 g、甘草 3 g, 由宁波市中医院中药房提供, 水煎, 浓缩成每毫升含生药 2 g, 4℃ 保存。缙沙坦胶囊(北京诺华制药有限公司, 80 mg/粒, 批号: X0919)。

1.3 主要仪器和试剂

ACCU-CHEK Advantage 血糖仪(德国罗氏); 7020 型全自动生化分析仪(日本日立); 激光多普勒微循环血流仪(英国 Moor); FASCO-3020B 全自动血液流变仪(重庆大学维多生物); EHK 红细胞沉降压积仪(天津市亚坤电子)。

链脲佐菌素(STZ, Calbiochem 公司, 批号: B56981)。葡萄糖(GLU)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、尿素氮(BUN)检测试剂盒, 由上海申能—德赛诊断技术有限公司生产。肝素钠注射液(南京新百药业有限公司, 12500 U/支, 批号: 030411); 戊巴比妥钠(上海化学试剂公司, 批号: F20021216)。

1.4 造模与分组方法

采用 STZ 诱导 2 周建立 DN 大鼠模型^[3], 模型建立后大鼠禁食不禁水 10 h, 选取微量白蛋白(U-ALB)排泄率 > 1.00 μg/min, GLU 为 17 ~ 29 mmol/L 大鼠 36 只, 按随机数字表法分成 3 组, 即模型对照组(蒸馏水 10 ml/kg)、温肾健脾组(温肾健脾方 20 g/kg)和缙沙坦组(缙沙坦胶囊 25 mg/kg), 每组 12 只; 另按随机数字表法选取 12 只正常大鼠为正常对照组(蒸馏水 10 ml/kg)。各组连续灌胃 8 周。

1.5 检测指标与方法

给药结束后, 大鼠禁食不禁水 10 h, 称取体重, 尾静脉取血测定 GLU、BUN、TP、ALB。用 3% 戊巴比妥钠(45 mg/kg)腹腔注射麻醉, 从腹中线打开

腹腔, 暴露两侧肾脏, 用激光多普勒血流仪测定大鼠肾皮层微循环血流量; 心脏取血 4.5 ml, 置于含肝素的抗凝管中, 混匀, 用于测定血液流变学指标: 血液黏滞性(不同切变率下全血黏度和全血还原黏度、血浆黏度、卡松黏度)、红细胞流变性(红细胞聚集指数、红细胞变形指数、红细胞刚性指数、红细胞电泳时间、红细胞压积、红细胞计数)。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析, 计量数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 检验方法采用 One-way ANOVA 分析和 *t* 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠肾脏皮层微循环血流量比较

表 1 示, 与正常对照组比较, 模型对照组肾脏皮层微循环血流量显著升高($P < 0.01$); 与模型对照组比较, 温肾健脾组和缙沙坦组显著降低肾脏皮层微循环血流量($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠肾脏皮层微循环血流量比较[ml/(min·100g), $\bar{x} \pm s$]

组别	鼠数	肾脏皮层血流量
正常对照组	12	12.38±2.20
模型对照组	12	22.90±4.24*
温肾健脾组	12	13.78±1.88△
缙沙坦组	12	15.12±2.91△

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型对照组比较, $P < 0.01$

2.2 各组大鼠体重、GLU、BUN、TP、ALB 比较

表 2 示, 与正常对照组比较, 模型对照组体重显著降低, GLU、BUN 显著上升, 而 TP 和 ALB 显著下降($P < 0.01$)。与模型对照组比较, 温肾健脾组和缙沙坦组 BUN 显著下降, TP 显著上升($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠血液黏滞性比较

表 3 示, 与正常对照组比较, 模型对照组全血黏度、血浆黏度和卡松黏度均显著升高($P < 0.01$)。与模型对照组比较, 温肾健脾组显著降低血浆黏度($P < 0.05$), 缙沙坦组显著降低高、中切全血黏度和血浆黏度($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠体重、GLU、BUN、TP、ALB 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	体重(g)	GLU(mmol/L)	BUN(mmol/L)	TP(μmol/L)	ALB(μmol/L)
正常对照组	12	533.2±44.4	7.23±1.29	5.55±0.89	78.16±5.44	36.61±1.78
模型对照组	12	318.9±38.1*	31.34±2.85*	18.73±3.18*	61.26±2.85*	26.78±2.15*
温肾健脾组	12	323.9±47.3	32.81±3.60	9.67±1.71△△	64.12±2.64△	27.28±1.19
缙沙坦组	12	331.3±41.3	32.68±3.52	10.25±1.00△△	66.26±2.98△△	28.30±1.39

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型对照组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$

表3 各组大鼠血液黏滞性比较(mPa/s, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	高切	全血黏度 中切	低切	血浆黏度	高切	全血还原黏度 中切	低切	卡松黏度
正常对照组	12	4.96±0.40	5.86±0.48	11.82±0.85	1.29±0.08	6.08±0.91	7.57±1.10	17.46±2.25	2.28±0.21
模型对照组	12	5.77±0.46**	6.82±0.57**	13.81±0.92**	1.43±0.20*	6.66±1.12	8.34±1.32	19.01±2.24	2.68±0.17**
温肾健脾组	12	5.48±0.56	6.53±0.70	13.34±1.29	1.26±0.14 [△]	6.61±0.86	8.25±1.04	18.94±2.21	2.63±0.21
缬沙坦组	12	5.24±0.34 [△]	6.24±0.43 [△]	12.80±0.87	1.27±0.23 [△]	6.38±1.17	7.96±1.41	18.45±3.03	2.54±0.18

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较, $\Delta P<0.05$

表4 各组大鼠红细胞流变性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	红细胞压积(L/L)	红细胞聚集 指数	红细胞变形 指数	红细胞刚性 指数	红细胞计数 ($\times 10^{12}/L$)	红细胞电泳 时间(s)
正常对照组	12	0.47±0.02	8.85±0.72	0.88±0.06	6.08±0.91	5.09±0.22	18.60±1.51
模型对照组	12	0.49±0.05	11.07±1.16*	0.89±0.05	6.66±1.12	5.30±0.50	21.44±1.77**
温肾健脾组	12	0.51±0.02	10.67±1.13	0.87±0.05	6.61±0.86	5.52±0.24	20.53±2.12
缬沙坦组	12	0.51±0.01	10.36±1.60	0.86±0.07	6.38±1.17	5.48±0.16	19.64±1.30 [△]

注:与正常对照组比较,* $P<0.01$;与模型对照组比较, $\Delta P<0.05$

2.4 各组大鼠红细胞流变性比较

表4示,与正常对照组比较,模型对照组红细胞聚集指数显著增高($P<0.01$)、红细胞电泳时间显著延长($P<0.01$)。与模型对照组比较,缬沙坦组显著缩短红细胞电泳时间($P<0.05$)。

3 讨论

DN的发生是多因素综合作用的结果,包括糖代谢紊乱、脂代谢紊乱、血流动力学改变、氧化应激、血管活性物质、细胞因子、某些酶的作用、遗传作用等因素,导致不可逆性肾组织结构损害^[4]。本研究结果显示,模型对照组DN大鼠体重和血清TP、ALB显著降低($P<0.01$),血清BUN、GLU显著升高($P<0.01$),说明DN大鼠的症状与临床DN特点相符^[5-6];温肾健脾组大鼠BUN、TP显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$),表明温肾健脾方可有效改善DN大鼠肾功能及蛋白代谢紊乱。

肾脏血流动力学改变与肾病进程关系密切。早期的DN存在高滤过、高灌注、高内压的肾脏血流动力学异常,是造成尿蛋白漏出及肾小球硬化的重要原因^[7]。用激光多普勒测定肾包膜的肾皮质区域,可以准确反映肾脏末梢血管循环血流灌注情况;正常肾脏皮质层内血管血流量依叶间动脉、弓状动脉、小叶间动脉为序逐级递减,越近末梢的皮质部位,其血流量越低^[8]。本研究发现,模型对照组DN大鼠的肾脏皮质层微循环血流量显著升高($P<0.01$),说明DN大鼠出现肾小球高滤过、高灌注的血流动力学异常;温肾健脾组可有效降低DN大鼠肾脏皮质层血流量,纠正DN大鼠的肾脏血流动力学异常。

高凝、高黏、血流缓慢等血液流变学变化可加速肾功能损害,且微循环异常程度越重,DN患病率越高^[9]。本研究结果显示,模型对照组DN大鼠全血黏

度、血浆黏度和卡松黏度和红细胞聚集指数明显增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)、红细胞电泳时间显著延长($P<0.01$),温肾健脾方可降低DN大鼠的血液黏度。

温肾健脾方由附子理中丸合真武汤加减而成,以附子、党参温阳益气;干姜、白术、茯苓健脾化浊,白芍、甘草酸甘化阴以阴中求阳,制附子之燥共奏健脾温肾之功。本研究结果显示,温肾健脾方可有效地改善DN大鼠肾功能及蛋白代谢紊乱,其作用机制可能与降低血液黏稠度,改善微循环障碍有关。

参考文献

- [1] 张学亮. 糖尿病肾病血液流变学变化及意义[J]. 中华肾脏病杂志, 1993, 9(6): 348.
- [2] 宋淑菊, 牟宗秀. 糖尿病肾病病因病机及诊治探讨[J]. 山东中医杂志, 1999, 18(4): 147-148.
- [3] 雷作熹, 罗仁, 董晓蕾, 等. STZ诱导糖尿病肾病大鼠模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 2005, 13(3): 163-165.
- [4] Qian Y, Feldman E, Pennathur S, et al. From fibrosis to sclerosis: mechanisms of glomerulosclerosis in diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2008, 57(6): 1439-1445.
- [5] 吴学飞, 巢国祥, 杨立坤. 尿微量白蛋白的测定及其临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(12): 7.
- [6] 鲍红娟. 中药联用厄贝沙坦治疗糖尿病肾病微量白蛋白尿期的疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(3): 541-542.
- [7] Sebeková K, Eifert T, Klassen A, et al. Renal effects of S18886 (Terutroban), a TP receptor antagonist, in an experimental model of type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2007, 56(4): 968-974.
- [8] 姬冰, 刘明辉, 谢娟娟. 超声动态评估组织灌注技术评价糖尿病患者肾脏皮质血流灌注[J]. 中国医学影像技术, 2011, 27(1): 353-356.
- [9] 王义, 行利. 灯盏花素注射液对糖尿病肾病血液流变学及微循环的影响[J]. 中国中医急症, 2005, 14(10): 963.

(收稿日期: 2012-05-07; 修回日期: 2012-08-25)

[编辑: 洪涛]