

葛根芩连汤加减对糖尿病肾病血管内皮细胞因子及尿蛋白排泄率的影响

邓妍妍 张立波 叶婷婷 沈建明

(湖北医药学院附属人民医院肾病内科, 十堰, 442000)

摘要 目的:探讨葛根芩连汤加减对湿热型糖尿病肾病的临床疗效,同时观察其对患者血管内皮细胞因子及尿蛋白排泄率的影响。方法:选取 70 例湿热型糖尿病肾病者,随机分为对照组及观察组,各 35 例。2 组患者均接受内科常规治疗,观察组在对照组治疗基础上加用葛根芩连汤加减,2 组均连续治疗 8 周,治疗前后均对 2 组患者中医证候积分、尿微量白蛋白排泄率(mAlb)、24 h 尿蛋白定量(Upro/24 h)、肌酐(Scr)、糖基化血红蛋白(HbA_{1c})、尿素氮(BUN)、餐后 2 h 血糖(FPG)、三酰甘油(TG)以及外周血管内皮生长因子(VEGF)水平进行检测。结果:治疗后 2 组患者中医证候积分均有所下降,其中观察组下降的趋势更为明显($P < 0.05$);葛根芩连汤加减能够更明显得下调糖尿病肾病患者 mAlb、Upro/24 h、Scr、BUN、HbA_{1c}、FPG、TG 的水平,2 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);2 组治疗后 VEGF 均较治疗前下降,其中加用观察组患者下降的幅度更大($P < 0.05$)。结论:葛根芩连汤加减对湿热型糖尿病肾病有理想疗效,可明显改善患者临床症状,纠正脂代谢紊乱,且通过阻断 VEGF 的分泌可能可以实现治疗糖尿病肾病的目的。

关键词 糖尿病肾病;葛根芩连汤;血管内皮细胞因子

Effects of Modified Gegen Qinlian Decoction on Vascular Endothelial Growth Factor and Urinary Albumin Excretion Rate in the Treatment of Diabetic Nephropathy

Deng Yanyan, Zhang Libo, Ye Tingting, Shen Jianming

(Department of Nephrology, People's Hospital of Hubei Medical College, Shiyan 442000, China)

Abstract Objective: To discuss the clinical curative effects of modified Gegen Qinlian Decoction on damp-heat type diabetic nephropathy, and observe the effects on vascular endothelial growth factor and urinary albumin excretion rate of the patients. **Methods:** A total of 70 patients with damp-heat type diabetic nephropathy who were admitted and treated in People's Hospital of Hubei Medical College from April 2011 to April 2016 were selected into the study. All patients were randomly divided into control group and observation group, 35 cases in each group. The two groups of patients were treated with conventional treatment, and the observation group was treated with modified Gegen Qinlian Decoction based on the conventional treatment. Both of the two groups were continuously treated for 8 weeks. Levels of TCM syndrome integration, urine trace albumin excretion rate (mAlb), 24 hour urine protein quantitation (Upro/24 h), serum creatinine (Scr), glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}), urea nitrogen (BUN), 2 hour postprandial blood glucose (FPG), triglycerides (TG) and peripheral blood vascular endothelial growth factor (uVEGF) of two groups were detected before and after treatment. **Results:** TCM syndrome integration in the two groups both declined after treatment, and it was more significantly in the observation group ($P < 0.05$). The modified Gegen Qinlian Decoction can evidently decrease the levels of mAlb, Upro/24 h, Scr, BUN, HbA_{1c}, FPG, TG, which had statistical significance compared with the two groups ($P < 0.05$). VEGF level of the two groups both declined after treatment, and the decrease of observation group was more sharply ($P < 0.05$). **Conclusion:** Modified Gegen Qinlian Decoction has ideal curative effect on damp-heat type diabetic nephropathy, which can significantly improve the patients' clinical symptoms and correct the lipid metabolism disorders, and may achieve the goal of treatment for diabetic nephropathy by blocking uVEGF secretion.

Key Words Diabetic nephropathy; Gegen Qinlian Decoction; Vascular endothelial growth factor; Damp-heat type; Urine protein

中图分类号:R289.5;R587.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.01.027

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)是糖尿病在临床常见的慢性并发症之一^[1],2010 年中华医学会对中国 14 个省份进行流行病学调查后发现,超过 9 200 万人患有糖尿病,其中约 35% 发展成 DN^[2],给社会及家庭带来沉重的经济负担。现代医

学治疗 DN 的途径主要有控制血糖保肾、降压等处理,但根据目前的研究西医手段尚无法延缓 DN 的进展。DN 属于中医学“消渴”“水肿”“关格”等范畴,湿热体质是糖尿病肾病的发病基础,并决定该病的归属,湿热证型是 DN 的发病率最高的证型,基于

基金项目:湖北省卫生和计划生育委员会科研项目(WJ2015MB115)

作者简介:邓妍妍(1982.05—),女,硕士研究生,主治医师,研究方向:肾脏病治疗,E-mail:sy_dyy@163.com

通信作者:张立波(1969.05—),男,本科,副主任医师,研究方向:中西医结合治疗慢性肾脏病及糖尿病,E-mail:9230832@qq.com

此清热利湿是治疗 DN 的重要原则,葛根芩连汤是清热利湿的经典方^[3-6]。我们应用葛根芩连汤加减对 DN 进行治疗,获得较理想疗效,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 4 月至 2016 年 4 月我院门诊及内科收治的早期糖尿病肾病患者 70 例,随机分为对照组及观察组。对照组 35 例,男 21 例,女 14 例,年龄 40 ~ 77 岁,平均年龄(59.2 ± 3.8)岁,病程 4.5 ~ 12 年,平均病程(6.8 ± 3.5)年。平均体质质量指数(25.58 ± 2.61) kg/m²。观察组 35 例,男 20 例,女 15 例,年龄 42 ~ 76 岁,平均年龄(58.7 ± 3.8)岁,病程 5 ~ 13 年,平均病程(7.1 ± 3.7)年,平均体质质量指数(26.01 ± 2.59) kg/m²。2 组在年龄、性别、体质质量指数、病程等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准 所有患者诊断符合我国于 2000 年制定《中国 2 型糖尿病防治指南》中关于糖尿病的诊断标准^[3]。

中医证型诊断标准:参照中华医学会与 2000 年颁布的《慢性肾病中医辨证分型诊断准》。

1.3 纳入标准 1)符合 1.2 诊断标准者;2)糖尿病发病时间≥5 年者;3)近 3 个月内连续 2 次尿蛋白排泄率 20 ~ 200 μg/min,且 24 h 尿蛋白定量 <0.5 g。

1.4 排除标准 1)非糖尿病导致的肾功能受损者;2)糖尿病合并严重急性并发症者;3)哺乳期或妊娠期妇女;4)既往服用过葛根芩连汤者;5)不签署知情同意书者。

1.5 脱落与剔除标准 1)正在参加其他临床试验的患者;2)取得随机号,但未接受全部疗程治疗的患者;3)不符合纳入标准者;4)研究过程中出现严重并发症或出现病情恶化,需采取紧急措施者。

1.6 治疗方法 对照组:所有患者均接受饮食调节,调节血脂、维持电解质平衡等基础治疗,选用口服药或胰岛素皮下注射进行血糖控制。0.9% 生理盐水 10 mL + 10 μg 前列地尔(北京泰德制药股份有限公司,国药准字号:H10980023),10 μg/支,静脉注射,1 次/d,连续使用 14 d。合并高血压者加用缬沙坦(北京诺华制药有限公司,国药准字号:H200140127),80 mg/片,1 片/次,1 次/d。

观察组在对照组治疗基础上加用葛根芩连汤加减:葛根 12 g、黄芩 9 g、黄连 6 g、炙甘草 6 g、萆薢 9 g、车前子 9 g、泽泻 9 g。阴虚明显者加麦冬 9 g、百合 9 g。热象明显者加黄柏 9 g。便秘明显者加大黄

6 g。1 剂/d,100 mL 浓煎,早晚温服。2 组均连续治疗 8 周。

1.7 观察指标 1)治疗前后用日立 HITACHI7600 型全自动生化仪测定空尿微量白蛋白排泄率(mAlb)、24 h 尿蛋白定量(Upro/24 h)、血肌酐(Scr)、糖基化血红蛋白(HbA_{1c})、尿素氮(BUN)、餐后 2 h 血糖(2 hFPG)、三酰甘油(TG)水平。2)使用 Western blot 检测外周血管内皮生长因子(VEGF)变化,具体操作如下:嘱 2 组患者保持舒适坐位,取空腹状态下肘静脉血 10 mL 置于肝素钠包被的抗凝管中,加入 Ficoll 人淋巴细胞分离液将单核细胞梯度离心分离出来,随后使用无血清培养液洗涤 2 次,加入 100 μL 裂解液进行细胞分裂,反复震荡充分混匀,随后将含有细胞的裂解液置于离心管中在 4 ℃ 条件下以 3 000 r/min 进行离心 15 min,去除上清液,利用碧云天 BCA 试剂盒对蛋白浓度进行测定,计算上样量,随后将样本置于 100 ℃ 金属浴中进行蛋白变性约 10 min,根据事先计算好的各组上样量将样本加入事先配制好 SDS-PAGE 胶体进行电泳,随后将蛋白转膜至 PVDF 膜,随后用碧云天封闭液进行 PVDF 膜封闭约 2 h,随后用 PBS 清洗 3 次,3 min/次,加 1:500 稀释的一抗(VEGF)及内参抗体(β-actin, 1:3 000)室温孵育 2 h,用 PBS 清洗 2 次,10 min/次,随后加入辣根过氧化物酶 HRP-二抗,室温下轻摇 2 h 取出继续 PBS 清洗 2 次,每次 10 min,最后利用 ECL 显影,拍照,统计分析。

1.8 统计学方法 运用 SPSS 16.0 统计软件对本研究的相关数据进行分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料使用 χ^2 检验。组间比较则使用方差分析或秩和检验;组内比较 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组中医证候积分比较 2 组治疗后中医证候积分均有所下降,其中观察组下降的趋势更为明显($P<0.05$)。见表 1。

表 1 2 组中医证候积分比较($\bar{x} \pm s$,分)	
组别	中医证候积分
观察组($n=35$)	
治疗前	34.5 ± 9.2
治疗后	11.5 ± 3.2 * [△]
对照组($n=35$)	
治疗前	33.6 ± 9.8
治疗后	20.1 ± 2.9 *

注:与同组治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组比较,[△] $P<0.05$

表 2 2 组理化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	FPG (mmol/L)	2 hPG (mmol/L)	HbA (%)	Scr (mmol/L)	BUN (mmol/L)	TG (mmol/L)	Upro/24 h
观察组(n = 35)							
治疗前	9.44 ± 2.52	12.52 ± 2.36	7.51 ± 0.64	93.52 ± 19.84	8.16 ± 1.28	3.03 ± 0.26	194.5 ± 19.2
治疗后	6.21 ± 1.58 * [△]	7.23 ± 2.14 * [△]	6.02 ± 0.23 * [△]	66.35 ± 11.53 * [△]	5.13 ± 1.15 [△]	1.27 ± 0.17 * [△]	111.5 ± 13.2 * [△]
对照组(n = 35)							
治疗前	9.42 ± 2.61	12.49 ± 2.41	7.49 ± 0.78	95.48 ± 18.89	8.23 ± 1.31	3.10 ± 0.17	203.6 ± 19.8
治疗后	7.23 ± 2.21 *	8.17 ± 2.48 *	6.75 ± 0.45 *	81.62 ± 19.89 *	6.38 ± 1.18 *	1.74 ± 0.22 *	158.1 ± 12.9 *

注:与同组治疗前比较,* P < 0.05;与对照组比较,[△] P < 0.05

2.2 2 组理化指标比较 治疗后,2 组 mAlb、Upro/24 h、Scr、BUN、HbA_{1c}、FPG、TG 水平明显下降,观察组与对照组比较,差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 2。

2.3 2 组治疗前后 VEGF 水平比较 治疗后 2 组 VEGF 浓度均较治疗前明显下降,其中观察组下降的趋势更为明显(P < 0.05)。见图 1。



图 1 2 组 VEGF 浓度比较

3 讨论

中医学是我国临床医学的瑰宝,在关于糖尿病肾病的治疗中中医药发挥了重要作用,临床报道亦屡见不鲜。奚悦和李敬林^[4]利用中药方对早期糖尿病肾病患者进行干预,结果发现可有效降低患者 24 h 微量尿蛋白,孙毅和张勉之^[5]以中药方联合依那普利可明显改善 DN 的临床症状。熊艳文等^[6]亦在其临床研究中证实中药干预可以更理想控制 DN 患者的血糖水平,减少蛋白尿并且延缓肾功能恶化进程。本研究发现加用中药干预的观察组患者不论是在临床症状积分、改善患者理化指标等方面与单纯西药组比较效果更为明显,这就进一步证实了中药在治疗 DN 确有理想效果。

DN 属于中医学“消渴”“水肿”“关格”等范畴。湿热体质是糖尿病肾病的发病基础^[7-9]。基于此我们利用经典方葛根芩连汤加减对 DN 患者进行治疗。脾虚湿盛、肾失蒸化是 DN 的基本病机,脾虚无法运化水湿,水湿内聚成痰瘀,至此,湿热、痰瘀是本病的致病病理产物,本虚标实。针对湿热证型患者,紧扣“痰湿”是治疗的根本。葛根芩连汤源自张仲景《伤寒论》,有解表清里的功用,方中葛根为君药,甘辛而凉,如脾胃经,可升发脾胃清阳之气,苦寒的黄连、黄芩为臣药,清热燥湿;甘草甘缓和中,调和诸药药性。4 药合用,外疏内清,表里兼治。本方功用

是解表清里,但从药物配伍看来以清里热为主,正如尤怡曰:“其邪陷于里者十之七,而留于表者十之三。”方中除葛根芩连汤原先 4 味外加用草薢、车前子、泽泻加强清热利湿之功,从而给湿邪以去路而取效。

本研究发现葛根芩连汤可下调外周血 VEGF 水平,VEGF 是与血管生长密切相关的细胞因子,其受体主要分布于肾脏血管内皮细胞。VEGF 受体的初始介导物质是蛋白激酶 C (Proteinkinase C, PKC),正常生理状况下,PKC 的活化程度受多种细胞因子的监控,机体糖酵解过程中产生磷酸二羟丙酮,磷酸二羟丙酮通过脱磷酸效应后产生二酰甘油,生理量的二酰甘油可被葡萄糖代谢,此外,磷酸二羟丙酮对机体亦无损害作用,但是如若机体处于高糖状态下,过多的葡萄糖可导致磷酸二羟丙酮水平上调,与此同时二酰甘油随之增加,最终导致 PKC 过度激活,从而使 VEGF 过多表达,从而不断刺激肾脏血管组织,引起了功能障碍^[10-13]。本研究中 2 组 DN 患者外周血 VEGF 水平均较正常水平高,经过一定手段干预后表达均下调,其中观察组下调的幅度更为明显,因此我们有理由相信葛根芩连汤加减可通过抑制 VEGF 的表达而实现治疗 DN 的目的。

总之,葛根芩连汤加减对湿热型糖尿病肾病有理想疗效,可明显改善患者临床症状,纠正脂代谢紊乱,且通过阻断 VEGF 的分泌可能可以实现治疗糖尿病肾病的目的。

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] Ahn JH, Yu JH, Ko SH, et al. Prevalence and determinants of diabetic nephropathy in Korea; Korea national health and nutrition examination survey[J]. Diabetes Metab J, 2014, 38(2):109-119.

[3] 中华中医药学会肾病分会. 糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准(试行方案)[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(7):7-8.

理中焦、疏通经络、化痰消滞;揉阳陵泉则是筋之会穴,有活血舒筋、疏调经脉之功。总之,诸穴配伍,以攻为主,主在通腑,起到清热利湿、疏通筋络之效。

本研究结果显示,消黄汤经验方、穴位按摩联合蓝光照射辨治的患儿疗效确切,利于缓解临床症状,降低胆红素水平,促进黄疸消退,其机制与改善肝肾功能、提高机体免疫力有一定相关性,但是具体组方药物的相关起效机制需后期大样本实验研究证实。

参考文献

- [1] Moreno MA. Common questions about neonatal jaundice[J]. JAMA Pediatr, 2015, 169(3):296.
- [2] Scrafford CG, Mullany LC, Katz J, et al. Incidence of and risk factors for neonatal jaundice among newborns in southern Nepal[J]. Trop Med Int Health, 2013, 18(11):1317-1328.
- [3] 李雪, 黄道连. 642 例足月新生儿高胆红素血症实验室检测结果与病因分析[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(4):495-498.
- [4] Del OBR, Arrizabalaga B, de la Hoz AB, et al. Severe neonatal jaundice due to a de novo glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient mutation[J]. Int J Lab Hematol, 2016, 38(2):e27-29.
- [5] de Castro López MJ, Fraga BJM, Couce PML. A rare cause of neonatal obstructive jaundice[J]. Gastroenterology, 2015, 148(3):e12-13.
- [6] Sato H, Uchida T, Toyota K, et al. Association of neonatal hyperbilirubinemia in breast-fed infants with UGT1A1 or SLCOs polymorphisms[J]. J Hum Genet, 2015, 60(1):35-40.
- [7] 王玉蛟, 王立新. 中医防治新生儿黄疸的研究进展[J]. 中国医药科学, 2016, 6(1):26-34.
- [8] 金汉珍, 王德珉, 官希吉. 实用新生儿学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003:269-270.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则第一辑[S]. 北京: 中国医药科技出版社 1993:118-119.
- [10] 郭其裕, 陈建能, 郑瑞丹. 中医药治疗黄疸型肝炎的临床研究现状[J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(5):833-837.
- [11] 谷丙亚. 茵陈方剂在黄疸病中的应用[J]. 中医学报, 2016, 31(3):416-418.
- [12] 章林平, 孙倩, 王威, 等. 茵陈有效成分的药理作用及其临床应用的研究进展[J]. 抗感染药学, 2014, 11(1):28-30.
- [13] 辛文好, 宋俊科, 何国荣, 等. 黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(06):647-653, 659.
- [14] 孙付军, 陈慧慧, 王春芳, 等. 柴胡、黄芩药对利胆作用研究[J]. 中成药, 2011, 33(8):1418-1420.
- [15] 熊小丽, 鄢素琪, 秦欢, 等. 大黄素预处理对幼龄大鼠肝内胆汁淤积的保护作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(2):165-168.
- [16] 王琳, 郝晓芳, 张荣花, 等. 赖氨大黄酸对胆汁淤积性肝纤维化大鼠 Smad2、Smad3 表达的影响[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(16):2233-2235.

(2017-02-22 收稿 责任编辑:杨觉雄)

(上接第 111 页)

- [4] 奚悦, 李敬林. 益气活络方对早期 2 型糖尿病肾病患者的临床疗效[J]. 中国医科大学学报, 2013, 42(6):485-487, 492.
- [5] 孙毅, 张勉之. 补肾活血法治疗糖尿病肾病临床期的疗效观察[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(5):353-356.
- [6] 熊艳文, 金周慧, 陈以平. 补肾消渴方结合西医常规疗法治疗肾虚络瘀型糖尿病肾病临床研究[J]. 上海中医药杂志, 2013, 47(7):60-62.
- [7] 于敏, 史耀勋, 田谧, 等. 黄葵胶囊治疗糖尿病肾病机制探讨[J]. 吉林中医药, 2012, 32(8):829-31.
- [8] Bhatti AB, Usman M. Drug Targets for Oxidative Podocyte Injury in Diabetic Nephropathy[J]. Cureus, 2015, 7(12):e393.
- [9] Klettner A, Roeder J. Constitutive and oxidative-stress-induced expression of VEGF in the RPE are differently regulated by different Mitogen-activated protein kinases[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2009, 247(11):1487-1492.
- [10] Frombaum M, Therond P, Djelidi R, et al. Piceatannol is more effective than resveratrol in restoring endothelial cell dimethylarginine dimethylaminohydrolase expression and activity after high-glucose oxidative stress[J]. Free Radic Res, 2011, 45(3):293-302.
- [11] Dieterich LC1, Huang H, Massena S, et al. α B-crystallin/HspB5 regulates endothelial-leukocyte interactions by enhancing NF- κ B-induced up-regulation of adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin[J]. Angiogenesis, 2013, 16(4):975-983.
- [12] Okada S, Shikata K, Matsuda M, et al. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are resistant against renal injury after induction of diabetes[J]. Diabetes, 2003, 52(10):2586-2593.
- [13] Lin J, Glynn RJ, Rifai N, et al. Inflammation and progressive nephropathy in type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial[J]. Diabetes Care, 2008, 31(12):2338-2343.

(2017-07-25 收稿 责任编辑:杨觉雄)