

詹锐文教授经验方“早肾方”治疗糖尿病肾病 临床效果及部分机制

詹昊冰 林红坤 詹锐文

(湛江市第一中医医院内分泌科, 湛江, 524042)

摘要 目的:观察“早肾方”对糖尿病肾病的临床疗效并探究该汤方部分作用机制。方法:选取2016年1月至2017年1月湛江市第一中医医院收治的糖尿病肾病患者90例,随机分成对照组和观察组,每组45例。2组患者均接受内科常规治疗,观察组在常规治疗基础上加上“早肾方”,均持续治疗8周,疗程结束后比较2组患者中医证候积分、血糖、肾功能、肾段动脉收缩期血流峰值速度(V_{max})、舒张期血流峰值速度(V_{min})、阻力指数(RI)、以及血清抗衰老蛋白水平的变化。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($P < 0.05$)。治疗后2组血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、24 h蛋白尿、尿微量白蛋白(MA)、基化血红蛋白(HbA_{1c})、餐后2 h血糖(FPG)均较治疗前有所下降,观察组下降的幅度较对照组明显($P < 0.05$)。2组治疗后 V_{max} 、 V_{min} 明显高于治疗前,RI均较治疗前降低,观察组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,“早肾方”更可明显上调血清抗衰老蛋白水平,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:“早肾方”可有效治疗糖尿病肾病,其作用机制可能与上调血清抗衰老蛋白有关。

关键词 2型糖尿病;糖尿病肾病;早肾方;肾功能;血糖水平;血流动力学;血清抗衰老蛋白;作用机制

Clinical Observation on Professor Zhan Ruiwen's Experience Prescription "Zaoshen Decoction" in the Treatment of Diabetic Nephropathy and Part of the Mechanism Discussion

Zhan Haobing, Lin Hongkun, Zhan Ruiwen

(Endocrinology Department of Zhanjiang First Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangdong 524042, China)

Abstract Objective: To observe the clinical curative effects of the Zaoshen decoction on diabetic nephropathy and to explore the mechanism of action. **Methods:** A total of 90 cases of diabetic nephropathy in our hospital during January 2016 to January 2017 included into the research were randomly divided into the control group and the observation group, with 45 cases in each group. Both groups were treated with conventional medical treatment, and the observation group was added "Zaoshen decoction" on the basis of conventional treatment. The treatment continued for 8 weeks. After treatment, the changes of TCM syndrome integrals, blood glucose, renal function, renal artery peak systolic velocity (V_{max}), peak diastolic velocity (V_{min}), resistance index (RI), and serum anti-aging protein of two groups were compared. **Results:** 1) TCM syndrome integrals of the two groups decreased after treatment, and the downward trend of the observation group was more significant ($P < 0.05$). 2) Serum creatinine (Scr), urea nitrogen (BUN), 24 h proteinuria, urinary microalbuminuria (MA), hemoglobin (HbA_{1c}), postprandial 2 hours blood glucose (FPG) were decreased in the two groups after treatment. The decrease of the observation group were more significantly than the control group ($P < 0.05$). 3) After treatment, V_{max} and V_{min} of the two groups were significantly higher than before the treatment, and RI was reduced compared before the treatment. There was statistically significant difference between the observation group and control group ($P < 0.05$). 4) Compared with the control group, the "Zaoshen decoction" increased the serum anti-aging protein more significantly, and the differences were with statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion:** "Zaoshen decoction" can effectively treat diabetic nephropathy, whose mechanism may be related to the up-regulation of serum anti-aging protein.

Key Words Type 2 diabetes; Diabetic nephropathy; Zaoshen decoction; Renal function; Blood glucose level; Hemodynamics; Serum anti-aging protein; Mechanism

中图分类号:R289.5;R587.2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.07.017

詹锐文教授是“湛江市名中医”,长期致力于糖尿病及其并发症的治疗研究,詹老认为糖尿病肾病起病缓慢,随着正气损耗,病证多以虚为主,脏腑多

由脾病及于肾,脾肾两脏受损,脾虚失于统摄,精微外泄,肾脏封藏固摄失常,终致精微物质漏泄、津液代谢紊乱、水湿内聚而出现蛋白尿、消渴、水肿等临

床症状,因此益气健脾、滋肾养阴是治疗本病的主要原则^[1]。詹老临床数十年总结出“早肾方”用于治疗糖尿病肾病取得了理想疗效,临床不乏报道,但其作用机制尚未明了。Klotho 是目前分子生物学领域研究较为热门的调控衰老的基因,广泛参与机体氧化应激环节,并可通过抑制炎症反应效应发挥保护肾功能的作用。基于此,我们设想:“早肾方”获得理想临床疗效的作用机制是否通过 Klotho 蛋白介导的,为此,我们进行系列研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2017 年 1 月收治的早期糖尿病肾病患者 90 例,随机分为对照组和观察组。对照组 45 例中男 24 例,女 21 例,病程(6.27 ± 1.04)年,收缩压(138.4 ± 13.24) mmHg,舒张压(80.42 ± 9.22) mmHg。空腹血糖(13.25 ± 2.46) mmol/L,糖化血红蛋白(11.72 ± 2.25)%。24 h 蛋白尿(2.62 ± 0.26) g/L。观察组 45 例,男 25 例,女 20 例,病程(6.47 ± 1.12)年,收缩压(139.2 ± 14.01) mmHg,舒张压(80.79 ± 9.83) mmHg。空腹血糖(13.18 ± 2.62) mmol/L,糖化血红蛋白(11.36 ± 2.14)%。24 h 蛋白尿(2.58 ± 0.42) g/L。2 组患者在年龄、性别、病程、收缩压、舒张压、空腹血糖、糖化血红蛋白、24 h 蛋白尿等比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准 1) 根据我国于 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。明确有 2 型糖尿病病史患者。2) 超过 2 次 24 h 蛋白尿 ≥ 30 mg,或者超过 2 次随机尿蛋白/肌酐 ≥ 2.5 mg/mmol(男); ≥ 3.5 mg/mmol(女)。中医诊断标准参考 2002 年颁布《中药新药临床研究指导原则》中关于消渴病及水肿病的诊断:主症:口渴多饮、颜面水肿、双下肢浮肿、尿频尿浊、腰膝酸软、纳呆,舌脉:舌淡胖,有齿痕,脉细^[2]。

1.3 纳入标准 1) 参考丹麦学者 Mogensen 学者根据病程及病理生理演变过程设定的 5 期分级中符合早中期者。2) 近半年内未服用过詹老“早肾方”者。3) 无明显心、脑、肝脏、胃肠道、血液系统合并病史。4) 无其他类型肾病、自身免疫性疾病史。5) 知情同意并签署知情同意书者。

1.4 排除标准 1) 合并肾衰竭、心脑血管等重大脏器疾病者。2) 对中药过敏者。3) 存在精神类疾病者。4) 孕妇或哺乳期妇女。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) 不符合纳入标准被误入的患者;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

1.6.1 对照组 所有患者均接受饮食指导;控制血糖,根据血糖水平选择口服药物或胰岛素皮下注射,并对血糖进行监测;合并高血压患者根据血压情况选择降压药物,监测血压变化情况;调节患者血脂代谢,本研究选用他汀类药物,具体如下:阿托伐他汀(Pfizer Ireland Pharmaceuticals,国药准字 J21005200;或瑞舒伐他汀(AstraZeneca UK limited,国药准字 J20120006);抗血小板处理,本研究选用阿司匹林肠溶胶囊(Bayer HealthCare Manufacturing S. r. l.,生产批号 13019202),1 片/次,1 次/d,或者硫酸氢氯吡格雷片(深圳信立泰药业股份有限公司,国药准字 H520120035),1 片/次,1 次/d。

1.6.2 观察组 在对照组治疗方案基础上加用詹老“早肾方”:黄芪 20 g、茯苓 15 g、白术 15 g、薏苡仁 30 g、苍术 10 g、山茱萸 12 g、枸杞 12 g、玄参 15 g、丹参 12 g、当归 12 g、川芎 12 g、芡实 15 g、金樱子 12 g、沙苑子 12 g、甘草 6 g。水煎服,2 次/d,100 mL/次,温服,早晚各 1 次。2 组均持续治疗 8 周。

1.7 观察指标

1.7.1 中医证候评分量表 对患者常见症状进行量化评分,每个症状均有 4 项备选结果,根据患者实际情况勾选其中 1 个,并记录相应的分值。总分 30 分,根据得分情况进行程度分级,具体如下:轻度:7~14 分;中度:15~22 分;重度:≥ 23 分。

1.7.2 生化指标 2 组患者治疗前后利用日立 HITACHI7600 型全自动生化仪检测空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、肌酐(SCr)、24 h 蛋白尿(UTP)、尿素氮(BUN)、尿微量白蛋白(MA)。

1.7.3 血流动力学 2 组患者治疗前后利用彩色多普勒超声仪对肾段动脉血流频谱进行测定,仪器型号:Philips IU22,参数设置:探头 c5-1 频率 30HZ。所有患者在空腹状态下采取侧卧位,保持检测探头与肾动脉夹角不超过 30°,测量时嘱患者保持屏气状态,同时检测者记录收缩期血流峰值速度(V_{max})、舒张期血流峰值速度(V_{min})、阻力指数(RI),所有指标均重复检测 3 次,取其平均值作为本研究的数值。

1.7.4 血清抗衰老蛋白(Klotho)水平变化 采用 Western blotting 对患者治疗前后血清抗衰老蛋白水平进行检测,具体过程:收集蛋白样品:抽取空腹外周肘静脉血 10 mL,低温高速离心后提取血清,加入人淋巴细胞分离液将单核细胞分离出来,加 IP 细胞

裂解液进行细胞裂解,再次低温高速分离,收集蛋白样品,并用BCA试剂盒进行蛋白浓度测定,并计算上样量。电泳、转膜:事先准备SDS-PAGE凝胶,根据计算好的上样量将样本加入凝胶中,进行电泳,电压设置在100 V,然后设定电泳时间为90 min,利用Bio-Rad转膜装置将蛋白转膜至PVDF膜。3)封闭:转膜完毕后,把蛋白膜放置到预先准备好的,漂洗1 min,以洗去膜上的转膜液。4)抗孵育:等封闭后加入1:500稀释的一抗(Klotho)及内参抗体(β -actin, 1:3 000)室温孵育2 h,5)二抗孵育:一抗孵育后加入辣根过氧化物酶HRP-二抗,最后进行显影、拍照、统计分析。

1.8 统计学方法 采用SPSS 16.0统计软件对本研究的相关数据进行分析,计数资料以率表示,使用 χ^2 检验,计量资料均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较则使用 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 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($P < 0.05$)。见表1。

表1 2组中医证候积分比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	积分
对照组($n = 45$)	
治疗前	27.34 \pm 2.03
治疗后	20.11 \pm 1.21*
观察组($n = 45$)	
治疗前	26.72 \pm 2.24
治疗后	16.31 \pm 1.05* Δ

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组治疗后比较, $\Delta P < 0.05$

2.2 2组生化指标比较 治疗后2组Scr、BUN、24 h蛋白尿、HbA_{1c}、FPG均较治疗前有所下降,其中观察组下降的幅度较对照组明显($P < 0.05$)。见表2。

2.3 2组肾动脉血流动力学比较 2组治疗后 V_{max} 、 V_{min} 明显高于治疗前,RI均较治疗前降低,观察组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表2 2组生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	Scr(μ mol/L)	BUN(mmol/L)	UAER(g/L)	HbA _{1c} (%)	FPG(nmol/L)	24 h蛋白尿(mg)
对照组($n = 45$)						
治疗前	98.11 \pm 9.16	8.16 \pm 1.28	2.55 \pm 0.28	12.48 \pm 1.98	9.27 \pm 2.63	213.04 \pm 0.25
治疗后	83.11 \pm 5.93*	6.5 \pm 2.11*	2.02 \pm 0.11*	9.17 \pm 2.08*	9.17 \pm 2.08*	84.73 \pm 0.23*
观察组($n = 45$)						
治疗前	97.93 \pm 8.93	8.23 \pm 1.31	2.58 \pm 0.23	12.51 \pm 1.79	9.42 \pm 2.25	6.05 \pm 1.42* Δ
治疗后	67.11 \pm 3.26* Δ	5.36 \pm 1.82* Δ	1.32 \pm 0.14* Δ	7.11 \pm 1.14* Δ	6.05 \pm 1.42* Δ	29.25 \pm 0.16* Δ

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组治疗后比较, $\Delta P < 0.05$

见表3。

2.4 2组OPN灰度值比较 与对照组比较,“早肾方”更可明显上调Klotho水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

糖尿病肾病属于中医学“消渴”“水肿”等范畴,其重要原因是“消渴”未予以及时调治,或因误治而导致脏腑功能平衡受破坏,气血阴阳亏虚,最终出现本病。詹锐文教授认为治疗糖尿病肾病不可拘泥于肾^[3-5],以从肾着手治疗此病获得理想疗效^[6-9]。詹老认为,古人因历史或生活条件局限,对糖尿病肾病的认识较为狭隘与粗略,多从外观形态去阐述此病,正如《圣济总录》一书中描述:“消渴病久,肾气受伤,肾主水,肾气虚衰,开阖不利,能为水肿”。故此时古人认为治疗糖尿病肾病是按“水肿”论治的。詹老认为此时多数患者已错过治疗的最佳时机,然而此治疗思维影响至今,多数现代医家在治疗糖尿病肾病时仍以肾脏为主,其理法方药与原发性肾病相同,此观点在一定程度上虽并不违背异病同治的中医理念,但两者病因病机存在差异性 & 特殊性,故治疗上应有所侧重及区别。脾为后天之本,是气血生化之源,《素问·经脉别论》一书中指出:“饮入于胃,游溢精气,上输于脾,脾气散精,上归于肺,通调水道,下输膀胱,水精四布,五经并行”。这充分体现了脾脏是水谷精华散步的枢纽。现代社会人们饮食不节,各类不良生活习惯导致脾胃亦受损,正如《古今名医荟萃·三消》一书中认为:“饮食失节,胃肠干涸,精液不得输布,久嗜咸物,恣食炙烤,致气损而血液衰竭”。故脾胃受损则严重影响机体气血精液输布至其他脏腑、四肢,一旦此过程受破坏,精液积蓄过多则从小便漏出,而发为消渴。詹老认为调节脾胃运化,重新运行水谷精微,使瘀滞气血得畅,是治疗糖尿病肾病的关键,在“见脾之病,知脾传肾,当先固肾”的经典中医理论指导下得出,“消渴”如若控制不佳,病久必损肾。正如张仲景的著作“其言精

表 3 2 组肾动脉血流变学比较($\bar{x} \pm s$)

组别	V _{max} (m/s)	V _{min} (m/s)	RI
对照组 (n = 45)			
治疗前	103.87 ± 10.42	66.26 ± 8.04	7.04 ± 2.15
治疗后	72.13 ± 10.64*	50.11 ± 5.04*	1.15 ± 0.16*
观察组 (n = 45)			
治疗前	103.88 ± 10.39	70.31 ± 7.01	7.12 ± 1.13
治疗后	41.42 ± 10.15* [△]	36.08 ± 4.01* [△]	0.87 ± 0.02* [△]

注:与本组治疗前比较,*P<0.05;与对照组治疗后比较,[△]P<0.05

表 4 2 组 OPN 灰度值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	OPN 灰度值/ β -actin 灰度值
对照组 (n = 45)	
治疗前	0.58 ± 0.64
治疗后	1.47 ± 0.25*
观察组 (n = 45)	
治疗前	0.55 ± 0.72
治疗后	2.59 ± 0.44* [△]

注:与本组治疗前比较,*P<0.05;与对照组治疗后比较,[△]P<0.05

而奥,其法简而详”,举一反三才有可能登堂入室^[10]。基于此,詹老总结出“早肾方”对糖尿病肾病进行治疗,在临床大量使用后我们证实该汤方确实对此病有理想疗效,方中黄芪、茯苓、白术、薏苡仁是益气健脾,补气升阳的理想搭配,即可固护生化之源,又可兼保后天之本,气血津液旺盛以祛疲劳。山茱萸、枸杞滋补肝肾,丹参、当归、川芎行气活血,瘀除则气血畅通。芡实、金樱子、沙苑子有固脱收涩,封藏固精之功效,实现减少蛋白排泄的目的。整方共奏益气养阴,健脾补肾之功,通过多脏兼顾,实现治疗目的。

在对作用机制的进一步研讨中,我们发现经过一定手段的干预,患者血清抗衰老蛋白水平有一定上调,且加用早肾方的患者上调的趋势更为明显。

Klotho 属于抗衰老基因的重要因子,主要分布于肾脏远曲小管上皮细胞和脑脉络膜^[11-12]。已有动物实验证实^[13],当机体处于氧化应激状态时集合管内 Klotho 水平下降,而上调 Klotho 水平是发挥肾脏保护的重要途径,因此我们认为“早肾方”可有效治疗糖尿病肾病,其作用机制可能与上调血清抗衰老蛋白有关。

参考文献

[1] 林子桐,张超,沈雪梅,等. 糖尿病肾病发病机制研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2014,28(5):765-773.

[2] 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.

[3] 吕仁和,赵进喜,王越. 糖尿病肾病临床研究述评[J]. 北京中医药大学学报,1994,7(2):2.

[4] 钱荣立. 加强对糖尿病慢性并发症的防治研究[J]. 中国糖尿病杂志,2003,11(4):231.

[5] 袁钟. 中医辞海·古今度量衡比较表[M]. 北京:中国医药科技出版社,1999:1406.

[6] 何堂钧. 糖尿病肾病的中医防治思路[J]. 河南中医,2008,28(3):41-42.

[7] 施进宝,黄宝英. 糖尿病肾病的中医药治疗进展[J]. 中国中医药现代远程教育,2010,8(23):165-166.

[8] 赵进喜,邓德强,李靖. 糖尿病肾病相关中医病名考辨[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版,2005,21(5):288-289.

[9] 任爱华,阚方旭. 糖尿病肾病三焦辨治[J]. 山东中医杂志,2000,19(6):328-329.

[10] 南征. 消渴肾病(糖尿病肾病)研究[M]. 长春:吉林科学出版社,2001:3.

[11] 鲁勤波,高艳青. 糖尿病肾病患者血清抗衰老蛋白 Klotho 表达变化及意义[J]. 山东医药,2017,57(4):85-87.

[12] 吴灿,王秋月,吕川,等. 2 型糖尿病患者血清抗衰老蛋白 Klotho 的临床意义[J]. 中华糖尿病杂志,2015,7(3):177-181.

[13] 沈玥,严玉澄,路丽明,等. H₂O₂ 抑制小鼠肾小管上皮细胞 Klotho 的表达[J]. 中华肾脏病杂志,2015,31(8):598-603.

(2017-07-25 收稿 责任编辑:杨觉雄)

(上接第 1628 页)

[18] 邢桂学. 浅谈细辛脑的临床应用[J]. 求医问药:学术版,2012,10(2):420.

[19] 薛永波. 五味子和翼梗五味子的化学成分及其生物活性研究

[D]. 北京:中国科学院研究生院/中国科学院大学,2011.

[20] 单靖珊,李军霞,闫彩珍,等. 复方半夏水提取物药理作用研究[J]. 中国药师,2010,13(5):651-653.

(2018-01-16 收稿 责任编辑:杨觉雄)