

百令胶囊对糖尿病肾病胰岛素抵抗及 VEGF 的影响

郭艳 于磊 赵晓兰

(内蒙古自治区人民医院肾内科,呼和浩特,010010)

摘要 目的:观察早期糖尿病肾病胰岛素抵抗情况、VEGF 表达水平以及百令胶囊的干预治疗效应。方法:选取 2014 年 12 月至 2016 年 12 月内蒙古自治区人民医院收治的早期糖尿病肾病患者 80 例,随机分为对照组和观察组,每组 40 例,2 组均接受控制血糖、调脂、控制血压、抗血小板聚集等综合治疗,观察组在上述基础治疗上加用百令胶囊,2 组患者均以 8 周为疗程,治疗前后比较 2 组患者中医证候积分、血糖、血压、脂代谢、VEGF 浓度变化情况。结果:1) 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($P < 0.05$);2) 治疗前 2 组脂代谢水平相仿,差异无统计学意义($P > 0.05$),经过治疗后 2 组患者 TC、TG、LDL-C 均较治疗前明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),HDL-C 水平有明显提升,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中观察组改善的幅度较对照组明显,差异有统计学意义($P < 0.05$);3) 百令胶囊可明显改善早期糖尿病肾病患者肾功能指标及胰岛素抵抗情况,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);4) 与对照组比较,百令胶囊更可明显下调早期糖尿病肾病机体 VEGF 的水平及足细胞数量,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:百令胶囊可明显纠正糖尿病肾病患者胰岛素抵抗现象,并进一步改善患者肾功能及脂代谢水平,其作用机制可能与下调 VEGF 有关。

关键词 糖尿病肾病;百令胶囊;胰岛素抵抗;脂代谢;VEGF

Effects of Bailing Capsule on Insulin Resistance and the VEGF of Diabetic Nephropathy

Guo Yan, Yu Lei, Zhao Xiaolan

(Department of Nephrology, Inner Mongolia Autonomous Region People Hospital, Hohhot 010010, China)

Abstract Objective: To observe the insulin resistance, VEGF expression level of early diabetic nephropathy and the therapeutic intervention effects of Bailing capsule. **Methods:** A total of 80 patients with early diabetic nephropathy in our hospital from December 2014 to December 2016 were included in the study. They were randomly divided into control group and observation group, 40 cases in each group. Both of two groups received the comprehensive treatment of blood glucose control, lipid regulation, blood pressure control, antiplatelet aggregation and so on. While patients in the observation group additionally took bailing capsule on the basis of treatment above-mentioned. The two groups of patients both had 8 weeks for a treatment course. The changes of TCM syndrome integral, blood glucose, blood pressure, lipid metabolism and VEGF concentration of two groups were compared before and after the treatment. **Results:** 1) TCM syndrome integrals decreased both in two groups after treatment, the downward trend in the observation group was more obvious ($P < 0.05$); 2) The lipid metabolism levels of two groups were similar before treatment and there was no statistically significant difference ($P > 0.05$). The TC, TG, LDL-C of two groups significantly decreased after treatment and the differences were statistical significant ($P < 0.05$). The HDL-C level significantly increased and the differences were statistical significant ($P < 0.05$). Besides, the improvement range of the observation group was more obviously than the control group and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). 3) Bailing capsule could obviously improve the renal function indexes and insulin resistance of patients with early diabetic nephropathy and there were statistically significant differences compared with the control group ($P < 0.05$). 4) Compared with the control group, Bailing capsule could obviously lower the levels of VEGF and podocyte number in early diabetic nephropathy of the body and the differences were statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusion: Bailing capsule can obviously correct insulin resistance of diabetic nephropathy patients, and further improve patients' renal function and lipid metabolism, and its mechanism may associated with the down-regulation of VEGF.

Key Words Diabetic nephropathy; Bailing capsule; Insulin resistance; Lipid metabolism; VEGF

中图分类号:R255.4;R256.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.09.011

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)是临床糖尿病主要的慢性并发症之一,随着发病率的逐年增长, DN 已然成为我国终末期肾病的单一病凶。

DN 并发复杂的代谢紊乱,其发病机制目前尚无统一一定论,但随着研究的逐渐深入研究人员认为患者内皮细胞功能障碍在 DN 中占据重要环节,因此改善

内皮细胞功能可能在调节 DN 及其并发症的发生发展中发挥核心作用^[1-3]。

DN 属于中医学“消渴”“水肿”“虚劳”等范畴,古代医者认为此病多为先天禀赋不足后天饮食、情志不节,过违其度,病久伤津耗气,气损及阴阳,随后肺主治节、肾关开阖失常,终致津液代谢紊乱、水湿内聚而出现消渴、水肿、尿浊等临床症状。病位虽在五脏,但主要与肺肾关系密切。百令胶囊是冬虫夏草的中成药提取物,是具有补肺肾,益精气之功效的补益剂,现代药理学亦证实百令胶囊具有多重药理活性。本团队利用百令胶囊对早期 DN 患者进行治疗,证实其对早期 DN 有理想疗效,并且进一步对其作用机制进行分析,具体情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2014年12月至2016年12月内蒙古自治区人民医院收治的早期 DN 患者80例,随机分为对照组和观察组,每组40例。2组患者在年龄、性别、病程和血肌酐等资料方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。

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。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》^[4]。

1.3 纳入标准 1)根据 Mogensen 关于 DN 的分期:将 UAER 波动于 20 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ 设定为 DN 早期患者;2)近3个月内均无服用百令胶囊史;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)合并明显心、脑、肝脏、血液系统等疾病者;2)有明显感染症状者;3)其他原因导致肾功能损害者;4)哺乳期及孕妇;5)不予签署知情同意书者。

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 2组患者均接受 DN 内科常规治

疗,主要有:均进行糖尿病饮食,根据体重及活动量计算碳水化合物、脂肪及蛋白质的摄入量,并维持电解质平衡。使用口服或者胰岛素皮下注射进行血糖控制,监测血压发现合并高血压者根据患者自身情况选用 ACEI、ARB 或者钙离子拮抗剂进行控制血压。选用阿托伐他汀钙(Pfizer Ireland Pharmaceuticals 生产,国药准字 ZJ1005200)进行血脂调控,20 mg/片,1片/次,1次/d。使用阿司匹林肠溶胶囊(Bayer HealthCare Manufacturing S. r. l. 生产,批准文号 13019202)100 mg/片,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生产,国药准字 H520120035)75 mg/片,1片/次,1次/d,进行抗血小板聚集。观察组在上述内科基础治疗上加用百令胶囊(杭州中美华东制药有限公司生产,国药准字 Z10910036),3粒/次,3次/d。2组均以8周为1个疗程。

1.7 观察指标

1.7.1 观察2组中医证候积分变化 每一症候得分是将诊断这一证候的各项所得最高分相加而成。满分均为30分。轻度7~14分;中度15~22分;重度 ≥ 23 分。

1.7.2 观察2组肾功能、血脂代谢及血糖指标的变化 检测治疗前后血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、尿蛋白排泄率(UAER)、糖基化血红蛋白(HbA1c)、餐后2h血糖(FPG)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)、三酰甘油(TG)的水平。

1.7.3 Western blotting 血 VEGF 水平 2组患者都需采集10 mL 空腹外周肘静脉血进行分析。静置患者的外周静脉血0.5 h后放置在离心机中离心,速度为3 000 r/min,时间为10 min,最后分离血清。加入 Ficoll 人淋巴细胞分离液分离出单核细胞,随后进行细胞裂解,并再次将裂解液放置在离心机中离心,速度为3 000 r/min,时间为10 min,摒弃上清液后利用碧云天 BCA 试剂盒进行蛋白浓度测定,并计算上样量。随后用电泳进行蛋白跑胶,转膜,封闭等程序后加入1:500稀释的一抗(VEGF)及内参抗体(β -actin,1:3 000)室温孵育2 h,后加入辣根过氧化酶 HRP-二抗,最后进行显影、拍照、统计分析。

表1 2组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	年龄(岁)	性别(例男/女)	病程(年)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	血肌酐($\mu\text{mol}/\text{L}$)	24 h 蛋白尿(g/L)	餐后2 h 血糖(mmol/L)	空腹血糖(mmol/L)	糖基化血红蛋白(%)
观察组($n=40$)	52.47 \pm 2.47	25/15	6.62 \pm 1.15	139.01 \pm 13.26	82.23 \pm 11.69	98.14 \pm 9.01	2.61 \pm 0.18	14.03 \pm 2.12	14.02 \pm 1.82	12.14 \pm 1.79
对照组($n=40$)	51.24 \pm 2.35	24/16	6.25 \pm 1.03	137.23 \pm 12.42	80.11 \pm 12.63	97.25 \pm 9.28	2.56 \pm 0.27	13.92 \pm 2.93	13.88 \pm 2.03	11.75 \pm 2.02

表2 2组肾功能、血脂代谢及血糖指标的变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	平均动脉压 (mmHg)	Ser ($\mu\text{mol/L}$)	BUN (mmol/L)	UAER (g/L)	HbA1c (%)	FPG (nmpl/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	TG (mmol/L)
观察组($n=40$)									
治疗前	134.2 ± 15.9	98.14 ± 9.01	8.23 ± 1.31	2.61 ± 0.18	12.14 ± 1.79	9.42 ± 2.65	3.88 ± 0.39*	0.31 ± 0.01	3.11 ± 0.16
治疗后	98.2 ± 8.15* Δ	66.5 ± 3.83* Δ	5.36 ± 1.82* Δ	1.47 ± 0.11* Δ	7.01 ± 1.24* Δ	6.19 ± 1.57* Δ	1.42 ± 0.15* Δ	0.08 ± 0.01* Δ	1.25 ± 0.16* Δ
对照组($n=40$)									
治疗前	138.5 ± 12.4	97.25 ± 9.28	8.16 ± 1.28	2.56 ± 0.27	11.75 ± 2.02	9.45 ± 2.54	3.87 ± 0.42	0.26 ± 0.04	3.04 ± 0.25
治疗后	109.6 ± 9.24*	82.5 ± 6.23*	6.5 ± 2.11*	2.01 ± 0.12*	9.24 ± 2.13*	7.22 ± 2.23*	2.13 ± 0.64*	0.11 ± 0.04*	1.73 ± 0.23*

注:与治疗前对照组比较* $P < 0.05$,与对照组治疗后比较 $\Delta P < 0.05$

1.7.4 检测尿足细胞数的变化 收集2组患者晨尿中段尿50 mL,利用免疫组化法进行足细胞蛋白PCx的测定,将待染玻片用PBS冲洗后浸泡于1% Tritonx-100 5 min,随后用1%牛血清白蛋白进行封闭,室温条件下静置30 min,后加入1:100稀释的一抗(PCx)及内参抗体(β -actin, 1:3 000)室温孵育过夜,后加入标记的二抗,最后显微镜下进行拍照,棕色显影为阳性组细胞,每张玻片随机拍照5个视野,记录完整玻片内的足细胞数。

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,计量资料均以($\bar{x} \pm s$)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 经过为期8周的治疗,2组患者的中医证候积分均较治疗前有所下降,对照组:治疗前(32.34 ± 2.1)分,治疗后(16.24 ± 1.5)分,组内比较 $t = 3.27$, $P = 0.034$ 。观察组:治疗前(31.83 ± 1.9)分,治疗后(11.33 ± 1.1)分,组内比较 $t = 2.91$, $P = 0.028$ 。治疗后2组比较 $t = 2.37$, $P = 0.011$ 。

2.2 2组治疗后肾功能、血脂代谢及血糖指标的变化 治疗前2组脂代谢水平相仿,差异无统计学意义($P > 0.05$),经过治疗后2组患者TC、TG、LDL-C均较治疗前明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),HDL-C水平有明显提升,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中观察组改善的幅度较对照组明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。此外,百令胶囊可明显改善早期DN患者肾功能指标及胰岛素抵抗情况,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浓度变化比较 与对照组比较,百令胶囊更可明显下调早期DN机体VEGF水平及足细胞数量,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图1、表3。



图1 2组治疗前后VEGF浓度变化比较

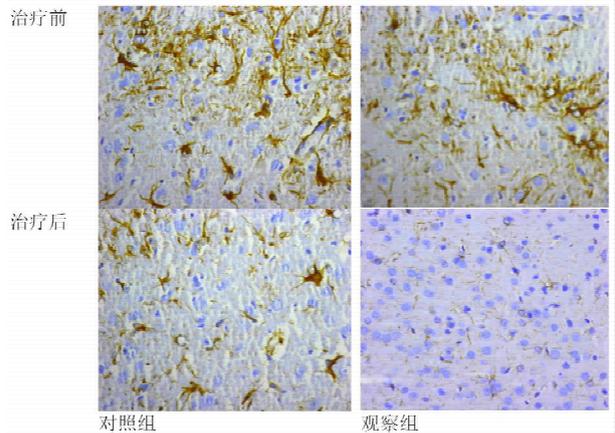


图2 2组PCx蛋白的免疫组化结果

表3 2组患者治疗前后VEGF/内参IOD比值变化($\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF/内参 IOD 比值
对照组($n=40$)	
治疗前	2.28 ± 0.14
治疗后	0.72 ± 0.02*
观察组($n=40$)	
治疗前	2.57 ± 0.11
治疗后	0.33 ± 0.09* Δ

注:与治疗前比较* $P < 0.05$;与对照组比较 $\Delta P < 0.05$

3 讨论

中医学认为先天禀赋不足,后天饮食、情志不节或劳欲过度是DN的主要发病病因,本虚标实是本病病性,所谓的本虚乃气血阴阳之虚,而标实则体现为痰浊、水湿等病理产物。多数学者认为气阴两虚贯穿DN及其并发症发生发展的全过程,其他均为气阴两虚变证转变而来。正如隋代医家巢元方在其著作《诸病源候论》一书中指出:“消渴其久病变,或发痲疽,或成水疾”,宋朝赵佶在《圣济总录》一书中提出“消肾”之病名,“消渴病久,肾气受伤,肾主水,肾气虚衰,气化失常,开阖不利,能为水肿”。故我们有理由相信DN是糖尿病病久所致,中医认为“久病入络”,而肾脏是络脉丛集之处,肾脏是DN的主

要病位,因此治疗 DN 的关键是补肾。五行学说中指出肺属金,肾属水,肺肾乃母子关系,故有金水相生之说,不论是在生理还是病理方面两脏均相互影响。肺主治节,是水上之源,肾主水,是水之下源,因此肺肾两脏是参与津液水液代谢的主要脏腑。《类证治裁》一书中描述到:“肺为气之主,肾为气之根,肺主出气,肾主纳气,阴阳相交,呼吸乃和”,因此古代即有“肺肾同源”一说,诸多疾病则应肺肾同治^[5-11]。故我们认为补肺益肾的角度治疗 DN 将是可行的,基于此,本团队利用百令胶囊对 DN 患者进行治疗,结果显示百令胶囊对 DN 有理想的疗效,其不但可以改善 DN 患者的中医证候积分,还可明显纠正 DN 患者胰岛素抵抗现象,并进一步改善患者肾功能及脂代谢水平,因此我们有理由相信肺肾两脏是 DN 的主要病位所在,而百令胶囊则是治疗 DN 的有效手段。冬虫夏草是我国广泛运用的中药,其性味甘平,可保肺肾,补精髓,对于肺肾两虚及精血不足的病症有理想的治疗作用。而百令胶囊是由冬虫夏草菌种经低温发酵制成,因此百令胶囊具有明显补肺肾,益精气之功效^[12-15]。

在进一步对百令胶囊作用机制的进一步探析中我们对 2 组患者外周血 VEGF 及尿足细胞数量进行检测,结果显示经过为期 8 周的治疗 2 组患者的 VEGF 浓度即足细胞数量均有不同程度的下调,其中加服百令胶囊的观察组患者较对照组下降幅度更为明显,因此我们认为百令胶囊可有效干预 DN 的作用机制可能与下调 VEGF 及足细胞数量表达有关。VEGF 属于内皮细胞生长因子,在正常情况下 VEGF 可以较低的浓度维持机体血管的完整性,VEGF 与血管内皮细胞上酪氨酸激酶受体产生酶效应后发挥维持血管细胞生物活性,但 DN 发生时机体产生微血管病变,则可刺激 VEGF 浓度上调,而该因子的过表达则可导致血管通透性增加,从而出现蛋白尿的出现,随着疾病的进展则可能导致肾功能受损,而这一病理患者已在动物模型研究得到证实^[16-17],故降低 VEGF 的表达将是改善 DN 病情的关键。足细胞的损伤及脱落是早期 DN 病理变化的特征,足细胞的受损可导致肾小球基底膜黏附性下降,从而足细胞大量进入原尿,PCx 是标志足细胞的蛋白,主要表达于足突顶膜区,是维持肾小球电荷屏障的关键蛋白因子之一,本研究亦用 PCx 标记足细

胞,在本研究中我们发现 2 组 DN 患者治疗前尿中有高表达的 PCx,说明 DN 尿中存在大量足细胞,干预后 2 组患者尿中足细胞均减少,其中百令胶囊可进一步减少 DN 患者尿中足细胞的表达,说明百令胶囊可抑制足细胞的脱落,减少蛋白分子漏入原尿。

综上所述,百令胶囊对于治疗 DN 有积极价值,其作用机制可能通过下调 VEGF 及抑制足细胞表达实现,临床建议推广运用。

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] 常俊佩,戴卫,辛宁,等. 2 型糖尿病患者糖尿病肾病与血脂相关性临床研究[J]. 当代医学,2012,18(25):100-101.
- [3] 李军辉,程东生,王锋,等. 糖尿病肾病血脂异常与尿蛋白关系[J]. 上海交通大学学报,2016,50(3):478-482.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 郝东. 糖尿病肾病中医证治思路浅析[J]. 实用中医内科杂志,2011,25(1):71-72.
- [10] 朴春丽,王秀阁,杨世忠. 龙胆泻肝汤加减治疗 IV 期糖尿病肾病 30 例临床研究[J]. 山东中医杂志,2004,23(12):714-716.
- [11] 王秀珍. 健脾固肾汤治疗早期糖尿病肾病 40 例[J]. 浙江中医杂志,2004,39(8):332-332.
- [12] 丁宝金,邱相君. 虫草真菌对机体的免疫漏节作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9(1):17.
- [13] 程威英,是俊风,蒋更加. 百令胶囊对慢性肾功能衰竭患者蛋白质代谢的影响[J]. 上海中医药杂志,2009,10(7):39.
- [14] 王苏娅,孟雪芹,陈江华,等. 人工培养冬虫夏草(百令胶囊)免疫抑制作用细胞因子及可溶性细胞间黏附因子-1 调控机制探讨[J]. 中国中西医结合杂志,2001,6(21):152-153.
- [15] 潘慧娟. 百令胶囊治疗慢性肾衰竭临床观察[J]. 现代医药卫生,2007,23(3):345-346.
- [16] 徐刚,刘茂林,付珍春,等. 血栓通联合氨基胍治疗对糖尿病大鼠肾组织血管内皮细胞生长因子表达的影响[J]. 中华内科杂志,2009,48(7):586-588.
- [17] 万长春. 糖尿病肾病早期诊断的实验室研究进展[J]. 临床检验杂志,1998,16(3)185-186.

(2017-06-28 收稿 责任编辑:王明)