

柴芪汤对代谢综合征性肾损害大鼠的干预作用研究

张嘉琰 张立平 陈丽如 彭龙

【摘要】 目的 观察柴芪汤对饮食诱导的代谢综合征大鼠糖脂代谢紊乱及代谢综合征性肾损害的干预效果。**方法** 将40只SPF级雄性SD大鼠随机分成正常组、模型组、中药组、西药组,除正常组外其余各组用高盐高脂高糖饲料喂养。中药组从造模第一天开始给予柴芪汤[5.71 g/(kg·d)]灌胃,西药组从造模第一天开始给予盐酸吡格列酮混悬液[2.7 mg/(kg·d)]灌胃,正常组和模型组给予生理盐水灌胃做对照,共16周。第16周末检测大鼠血清血糖、血脂、胰岛素,评价胰岛素抵抗。同时检测血清肌酐、尿素氮,比色法检测24小时尿蛋白定量,评价肾损害程度。并测量大鼠血压,HE染色观察肾脏病理改变。**结果** 模型组大鼠血糖、胰岛素、胰岛素抵抗指数、血脂、肌酐、尿素氮、尿酸、24小时尿蛋白定量、血压水平均明显高于正常组($P<0.05$)。中药柴芪汤、西药盐酸吡格列酮干预组各项指标均低于模型组,仍高于正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 柴芪汤可改善代谢综合征大鼠的糖脂代谢紊乱,减轻代谢综合征性肾损害的程度,延缓其进展。

【关键词】 代谢综合征; 肾损害; 健脾疏肝; 柴芪汤

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.11.004

Effects of *Chaiqi* decoction on metabolic syndrome of rats with renal damage ZHANG Jiayan, ZHANG Liping, CHEN Liru, et al. *Department of spleen and stomach, Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100078, China*
Corresponding author: ZHANG Liping, E-mail: lpzhang2005@126.com

基金项目: 国家自然科学基金(81273695)

作者单位: 100078 北京中医药大学东方医院脾胃肝胆科 [张嘉琰(博士研究生)、陈丽如、彭龙]; 北京中医药大学研究生院(张立平)

作者简介: 张嘉琰(1989-), 女, 2015级在读博士研究生。研究方向: 中医内科学脾胃肝胆。E-mail: 463163698@qq.com

通信作者: 张立平(1963-), 女, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师。研究方向: 中医内科学脾胃肝胆。E-mail: lpzhang2005@126.com

【Abstract】 Objective To observe the intervention effects of *Chaiqi* decoction on glucose and lipid metabolism and renal injury induced by metabolic syndrome in metabolic syndrome rats induced by diet. **Methods** The forty SPF male SD rats were randomly divided into normal group, model group, traditional Chinese medicine group, western medicine group. The rat model was established by feeding high fat, high sugar and high salt diet. The Chinese medicine group was given *Chaiqi* decoction [5.71 g/(kg·d)] from the beginning of modeling, and western medicine group was given Pioglitazone hydrochloride suspension from the beginning of modeling. The blood glucose, blood lipids and insulin were detected at 16th week, the insulin resistance was evaluated. At the same time, the serum creatinine, urea nitrogen was detected, 24h urinary protein quantification was detected by colorimetric assay to evaluate the extent of damage of renal impairment. Blood pressure was measured and HE staining was used to observe the pathological changes of the kidneys. **Results** Compared with normal group, the blood glucose, blood lipids, insulin, insulin resistance index, serum creatinine, urea nitrogen, 24h urinary protein quantification were significantly increased in model group ($P<0.05$). All the index of the Chinese medicine *Chaiqi* decoction, western medicine group were lower than those of model group, the difference was statistically significant ($P<0.05$), but still higher than the normal group. **Conclusion** *Chaiqi* decoction can improve metabolic syndrome in rats with glucose and lipid metabolism disorders, and reduce the extent of damage of renal impairment induced by metabolic syndrome, delay the development.

【Key words】 Metabolic syndrome; Kidney damage; Invigorating spleen and soothing liver; *Chaiqi* decoction

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是一组代谢异常性疾病,主要包括中心性肥胖、胰岛素抵抗、糖代谢异常、高血压、脂代谢异常及高尿酸血症等,其中肥胖是 MS 的启动因素,而胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是其中心环节^[1]。MS 对大血管和肾脏损害最明显^[2],是引起慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)的一个重要原因。高血糖、高血压、血脂异常、IR 等单一因素就可造成肾脏损害,MS 为多种异常因素并存,有更高的风险进展成 CKD^[3]。Chen 等^[4]研究表明,MS 患者发生微量白蛋白尿(microalbuminuria, MAU)和 CKD 的危险性分别增加 5.85 倍和 3.19 倍。本研究拟采用高脂高糖高盐饮食诱导 MS 大鼠模型,检测糖脂代谢指标及肾损害相关指标,探讨具有健脾疏肝功效的柴芪汤对 MS 大鼠肾损害及糖脂代谢紊乱的调节作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 6~8 周龄,体重(180±20)g,共 40 只,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.2 药物及试剂

中药柴芪汤颗粒(黄芪 30 g、柴胡 10 g、白术 10 g、枳实 10 g、三七粉 3 g,购自北京康仁堂药业有限公司),西药盐酸吡格列酮(生产厂家:北京太

洋药业股份有限公司,批号:H20063525),高盐高脂高糖饲料(北京科澳协力饲料有限公司提供,由 52.5% 基础饲料、20% 熟猪油、2% 胆固醇、10% 奶粉、10% 果糖、5% 食用盐、0.5% 胆盐组成),空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、肌酐(creatinine, Cre)、尿素氮(urea nitrogen, Urea)生化试剂盒(均购自上海科华生物工程股份有限公司),空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)放免检测试剂盒(购自北京北方生物技术研究所有限公司,批号:20170101),24 小时尿蛋白测定试剂盒(购自北京世纪沃德生物科技有限公司,批号:20142400219)。

1.3 实验方法

分组:将 40 只大鼠适应性喂养 1 周后,按随机数字表法随机分为 4 组:正常组、模型组、中药组、西药组,每组 10 只。

造模:除正常组给予普通饲料外,其余 3 组均给予高盐高脂高糖饲料喂养,共 16 周,建立代谢综合征性肾损害模型。

给药:自造模第 1 天起持续灌胃 16 周,每次灌胃前,将一付柴芪汤颗粒(约 14 g)按照 1.142 g/mL

浓度使用生理盐水配置成中药汤剂,大鼠给药量按照“人和动物体表面积折算的等效剂量比值表”计算,每只 5.71 g/(kg·d),西药组按照 0.54 mg/mL 浓度将每片 30 mg 的盐酸吡格列酮使用生理盐水配置成混悬液,给予每只 2.7 mg/(kg·d)灌胃,同期正常组与模型组予 5 mL/(kg·d)生理盐水灌胃对照。

检测:第 16 周使用代谢笼留取大鼠尿液,记录尿量,比色法检测 24 小时尿蛋白定量。使用 Softron BP-98A 智能无创血压计测量并记录大鼠收缩压(systolic blood pressure, SBP),舒张压(diastolic blood pressure, DBP),平均动脉压(mean arterial blood pressure, MBP)。

取材:第 16 周末禁食不禁水 12 小时,称重后以 10% 水合氯醛溶液(4 mL/kg)腹腔注射麻醉,于腹主动脉取血,静置 1 小时,置于离心机 4℃, 4000 r/min 离心 15 分钟,分离上层血清,分装冻存待测。取血后迅速摘取肾脏,用冰生理盐水冲洗,左肾称重置于 4% 多聚甲醛溶液中,待做病理学观察。

1.4 指标检测及计算

使用全自动生化分析仪(型号科华 ZY KHB-1280)测定大鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、FBG、Cre、Urea、UA,使用 GC-1200 全自动放免计数仪测定 FINS,操作步骤严格按试剂盒说明进行。使用稳态模型 HOMA,计算胰岛素抵抗指数(IRI)=(FBG×FINS)/22.5。

石蜡切片:将固定好的肾脏组织从多聚甲醛中取出,流水过夜后脱水机梯度脱水,常规石蜡包埋,以 4 μm 连续切片行 HE 染色,光镜下观察大鼠肾脏病变情况。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计学软件进行处理,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用 LSD 检验,非参数检验比较组间差异, $P < 0.05$ 为存在统计学差异。

2 结果

在造模及药物干预过程中,大鼠存在一定死亡率,至第 16 周末,模型组样本只数为 10,正常组为 8,中药、西药组样本数均为 7。经模型评价,第 16 周末,模型组大鼠血糖、血脂、IR、血压均明显高于正常组,24 小时尿蛋白定量、肌酐、尿素氮明显高于

正常组,代谢综合征性肾损害模型造模成功。

2.1 各组大鼠血清 FBG、FINS 及 IRI 比较

第 16 周末,模型组大鼠血清 FBG、FINS 明显高于正常组($P < 0.05$),中药、西药干预后 FBG、FINS 较模型组显著下降($P < 0.05$),但仍显著高于正常组水平($P < 0.05$)。模型组胰岛素指数 IRI 明显高于正常组($P < 0.05$),中药、西药干预组 IRI 明显低于模型组($P < 0.05$),仍高于正常组($P < 0.05$),且中药组 IRI 较西药组下降更明显($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血清 FBG、FINS 及 IRI($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FBG (mmol/L)	FINS (uIU/mL)	IRI
正常组	8	6.35±0.45	7.88±1.13	2.21±0.28
模型组	10	10.51±0.73 ^a	12.86±1.01 ^a	6.00±0.59 ^a
中药组	7	8.20±1.34 ^{ab}	9.64±1.09 ^{ab}	3.54±0.77 ^{ab}
西药组	7	9.56±0.51 ^{ab}	10.41±1.08 ^{ab}	4.42±0.52 ^{abc}

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与中药组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠血清血脂水平的比较

中、西药干预后,TG、TC、LDL-C 均较模型组明显降低($P < 0.05$)。HDL-C 明显低于正常组,中、西药干预后显著升高,仍低于正常($P < 0.05$)。中、西药干预后,TG 与正常组之间无明显差异($P > 0.05$)。TG、TC、LDL-C、HDL-C 各指标在中、西药组之间差异不明显($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 各组大鼠肾损害程度的比较

模型组大鼠 Cre、Urea、UA 水平明显高于正常组($P < 0.05$),中药干预后 Cre、Urea、UA 较模型组显著下降,但仍高于正常组,差异有统计学意义。西药干预后 Cre 水平较模型组略低($P > 0.05$),仍明显高于正常组($P < 0.05$),Urea 较模型组明显下降($P < 0.05$),与正常组比较差异不显著($P > 0.05$),UA 较模型组下降,仍高于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

模型组大鼠 24 小时尿蛋白定量显著高于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$),中药、西药干预后 24 小时尿蛋白定量均较模型组显著减少,仍高于正常组,差异有统计学意义。见表 3。

2.4 各组大鼠血压比较

模型组大鼠 SBP、DBP、MBP 均明显高于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$),中、西药干预后 SBP、DBP、MBP 较模型组显著下降,仍高于正常组,差异有统计学意义,见表 4。与正常组相比,模型组大鼠肾小球表面积明显增大,细胞数量增多,

表 2 各组大鼠血清血脂水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
正常组	8	0.47±0.21	1.48±0.20	1.11±0.21	0.78±0.14
模型组	10	2.02±0.76 ^a	3.18±0.67 ^a	0.55±0.07 ^a	1.63±0.58 ^a
中药组	7	0.48±0.13 ^b	2.42±0.55 ^{ab}	0.77±0.16 ^{ab}	1.10±0.26 ^{ab}
西药组	7	0.75±0.80 ^b	2.10±0.47 ^{ab}	0.72±0.20 ^{ab}	1.07±0.16 ^{ab}

注：与正常组比较，^a $P<0.05$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠肾损害指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CRE (μ mol/L)	UREA (mmol/L)	24h 尿蛋白定量 (mg/24h)	UA (μ mol/L)
正常组	8	45.18±6.79	5.75±0.98	6.41±2.16	107.55±9.03
模型组	10	58.41±6.67 ^a	7.67±0.73 ^a	83.96±31.98 ^a	150.83±20.39 ^a
中药组	7	51.71±4.45 ^{ab}	6.58±0.63 ^{ab}	30.72±6.31 ^{ab}	130.05±18.68 ^{ab}
西药组	7	55.38±7.26 ^a	6.36±1.08 ^b	33.84±5.02 ^{ab}	125.83±15.82 ^{ab}

注：与正常组比较，^a $P<0.05$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$ 。

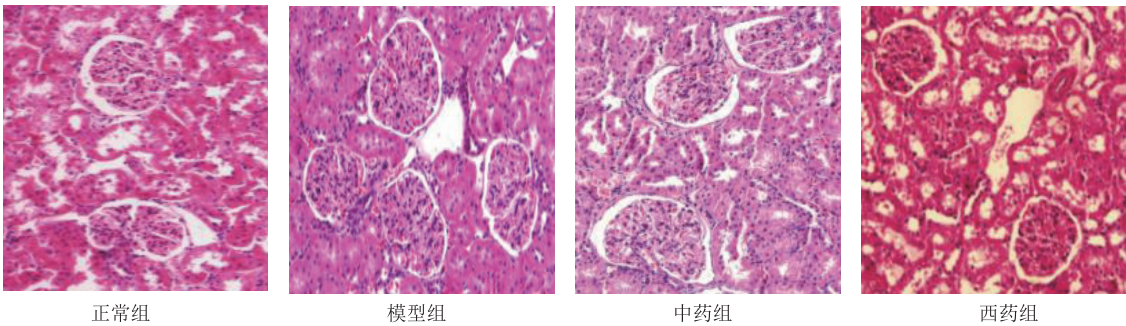


图 1 大鼠肾脏 HE 染色图($\times 400$)

肾小球系膜区增宽，系膜细胞增生，肾小球基底膜增厚，部分肾小球局灶节段性硬化，部分肾小管上皮细胞呈空泡状或颗粒状变性。中药、西药组肾小球系膜细胞增生减轻，基底膜增厚程度有所减轻，肾小球局灶节段性硬化程度减轻，见图 1。

表 4 各组大鼠血压水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	MBP (mmHg)
正常组	8	110.63±13.16	84.63±11.59	93.50±11.90
模型组	10	155.30±12.17 ^a	118.30±12.51 ^a	130.70±10.93 ^a
中药组	7	136.86±7.36 ^{ab}	102.71±13.59 ^{ab}	114.14±10.57 ^{ab}
西药组	7	129.57±7.30 ^{ab}	98.86±5.73 ^{ab}	109.29±4.31 ^{ab}

注：与正常组比较，^a $P<0.05$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$ 。

3 讨论

MS 发病机制复杂，课题组创立了具有健脾疏肝功效的柴芪汤，通过大样本临床观察及动物实验得出柴芪汤对上述疾病有确切防治作用。柴芪汤中黄芪补中益气，柴胡疏肝解郁、调畅气机，合为君药；白术补脾益气、燥湿利水，配合黄芪行补

脾燥湿之力，为臣药；枳实行气化痰、消积导滞，三七活血化瘀，共为佐使，共奏活血化瘀、理气导滞之功。

现代药理研究表明：黄芪的主要生物活性成分黄芪多糖、黄芪甲苷具有降低大鼠血糖^[5-6]、改善胰岛素抵抗^[7]、降血脂^[8]、改善微循环、降压^[9]等作用；研究表明，黄芪可使高脂血症小鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平降低，HDL-C 水平升高，通过抑制胆固醇与载脂蛋白结合发挥血脂调节作用^[10]。黄芪可扩血管、改善血管内皮功能、增加肾血流量、改善微循环，对肾小球基底膜电荷屏障和机械屏障起到保护作用，减少尿蛋白的排出^[11]。柴胡中的有效成分柴胡皂苷-d 可抑制尿蛋白的排泄、肾小球形态学的改变和炎症细胞浸润，通过抑制纤维化相关因子 TGF-1 β 、I 型胶原纤维等在肾脏的表达^[12]，抑制肾纤维化的发生发展。白术多糖具有抗炎、抗氧化作用^[13]，可改善肾病综合征，对蛋白尿、低蛋白血症和高脂血症的疗效最佳^[14]。三七主要活性成分三七皂苷有抗凝、抑制血小板聚集、改善微循环、降血脂和抗纤维化等功能，可

明显降低糖尿病肾病模型大鼠血糖、肌酐、尿素氮,改善肾纤维化程度^[15]。

在本实验中,柴芪汤能够调节大鼠脂质代谢紊乱,降低 FINS、FBG 水平,改善胰岛素抵抗,降低模型大鼠血压。高血糖、高血压、血脂异常、IR 均可造成肾脏损害,柴芪汤干预后可显著减轻这些危险因素的侵袭,从而减轻或延缓肾损害的进程。柴芪汤干预后,大鼠 24 小时尿蛋白定量、Cre、Urea、UA 均明显低于模型组,中药组肾脏病理改变程度明显轻于模型组,说明柴芪汤干预可延缓代谢综合征大鼠肾损害的病情进展。盐酸吡格列酮对大鼠糖脂代谢紊乱、血压、肾损害的干预作用与柴芪汤相似,两者的干预效果无明显差异性。盐酸吡格列酮为噻唑烷二酮类胰岛素增敏剂,通过与组织细胞过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR- γ) 结合,增强外周组织对葡萄糖的转运,促进组织对葡萄糖的利用增加和减少肝糖输出,显著降低骨骼肌、肝脏和脂肪组织的胰岛素抵抗,改善胰岛素敏感性^[16]。盐酸吡格列酮可通过多种途径对代谢性肾病起保护作用^[17],但是,长期服用会产生上呼吸道感染、腹泻、水肿、头痛等不良反应,考虑可能与噻唑烷二酮类药物具有轻度的血管扩张作用和体液潴留有关^[18]。

脾主升清,运化水谷精微,机体精微物质的化生与敷布均需依赖于脾,若脾气虚弱则升清摄精无权,精微物质失却固摄出现蛋白尿。脾为后天之本,肾为先天之本,肾中精气的充盛与成熟有赖于脾所运化水谷精微的培育和充养。脾主运化功能健旺,则肾气有所充盛。有学者从临床实践中认识到,慢性肾脏病的基本病机是脾气虚弱,由此导致机体免疫功能失调,诱发其异常免疫反应^[19]。临床所见肾脏病的发病与愈后复发也大多与气虚、抵抗力低下密切相关,由此认为以健脾论治肾脏疾病,可获良效。肾病与肝相关主要表现在肝的调血、调气功能,“肝主疏泄”,肝藏血,因血运周身,所以肝藏之血必运于诸经,肾之血络受血才得以发挥正常作用。若肝失疏泄,则血行不畅致使肾络瘀血^[20],所以疏肝亦有助于调肾。

中药具有毒副作用小、成本低、多靶点作用等优势,使用疏肝健脾的柴芪汤早期干预代谢综合征性肾损害,可显著减轻肾损害程度,延缓肾损害进程,为临床治疗代谢综合征性肾损害提供了可靠的思路和借鉴。

参 考 文 献

- [1] 王伟,李宏亮. 代谢综合征与肾损害研究进展[J]. 国外医学·老年医学分册,2007,28(5):230-233.
- [2] 刘滨松,曹中朝. 代谢综合征的肾损害[J]. 内蒙古医学杂志,2007,39(7):845-847.
- [3] Locatelli F, Pozzoni P, Del Vecchio L. Renal manifestations in the metabolic syndrome[J]. J Am Soc Nephrol, 2006,17:81-85.
- [4] Chen J, Muntner P, Hamm LL, et al. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in US adults[J]. J Ann Intern Med, 2004,140:167-174.
- [5] 熊凡,熊伟,孙静. 黄芪对糖尿病大鼠血糖及脂质过氧化物作用的影响[J]. 湖北中医学院学报,2003,5(2):20-21.
- [6] 谢春英. 黄芪甲苷降血糖作用的实验研究[J]. 中药材,2010,33(8):1319-1320.
- [7] 刘洪凤,郭新民,王桂云,等. 黄芪多糖对 2-DM 胰岛素抵抗大鼠血糖及血脂的影响[J]. 牡丹江医学院学报,2007,28(5):28-20.
- [8] 童红莉,田亚平,汪德清,等. 黄芪多糖对高脂血症大鼠血脂的调节[J]. 中国临床康复,2006,10(11):68-70.
- [9] 陈志奎. 黄芪对自发性高血压大鼠的抗高血压效应及其机制的初步研究[D]. 杭州:浙江大学医学院,2003:1-56.
- [10] 金光显,张学武. 黄芪对高脂血症小鼠血脂及脂质过氧化的影响[J]. 延边大学医学学报,2006,29(3):178-180.
- [11] 张宁,李同侠,刘世巍,等. 益气养阴活血法综合方案对糖尿病肾病患者尿微量蛋白排泄率及中远期疗效的影响[J]. 北京中医药大学学报,2012,35(2):209-216.
- [12] Li Ping, Gong Yue-wen, Zhao Shi-ping, et al. Experimental Investigation of Suppressive Effect of Saikosaponin-d on the Progression of Glomerulosclerosis[J]. J Science and Technology Review, 2006,24:37-41.
- [13] 彭敏,顾施健,余尚工. 白术提取物降血脂作用的有效部位研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(10):2363-2365.
- [14] 郑晓珂,于洋,周静,等. 白术各化学拆分组分及其配伍对大鼠肾病综合征的影响[J]. 中药新药与临床药理,2016,27(4):467-474.
- [15] 杜月光,柴可夫,杨明华,等. 三七皂苷对糖尿病大鼠肾脏保护作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2010,17(1):40-41.
- [16] 孙文佳,叶山东,刘皆,等. 盐酸吡格列酮对高糖培养的肾小球 MCs 氧化应激的影响[J]. 中华疾病控制杂志,2013,17(4):295-298.
- [17] 王萍. 盐酸吡格列酮对糖尿病肾病微量白蛋白及血清 IV 型胶原的影响[D]. 苏州:苏州大学,2007:1-29.
- [18] 汪艳芳,马书平,赵志刚,等. 罗格列酮治疗 2 型糖尿病多项目临床观察[J]. 实用诊断与治疗杂志,2004,18(3):166-167.
- [19] 杨栋,杨曙栋. 李顺民教授从脾论治肾病经验[J]. 新中医,2014,46(6):22-23.
- [20] 张冰,张辉. 从调肝理脾法论治慢性肾病[J]. 中国中医基础医学杂志,2013,19(8):875-876.

(收稿日期:2017-04-17)

(本文编辑:董历华)