

六味地黄丸对早期糖尿病肾病患者红细胞醛糖还原酶活性的影响

宋晓燕¹ 陈 蔷² 齐晓燕³

摘要 目的 观察中药六味地黄丸对早期糖尿病肾病(DN)患者红细胞醛糖还原酶(AR)活性的抑制作用,以探讨六味地黄丸作为醛糖还原酶抑制剂防治 DN 的临床意义。**方法** 选用我院诊断为早期 DN 且中医辨证为气阴两虚证的患者 72 例,按随机对照原则分为对照组(31 例,常规治疗,即口服糖适平或注射胰岛素)和治疗组(41 例,常规治疗加六味地黄丸),3 个月为 1 个疗程,观察治疗前后 DN 的症状与体征;测定空腹血糖(FBG)、早餐后 2 小时血糖(2hPBG)、血胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、红细胞 AR 活性、尿白蛋白排泄率(UAER)、血、尿 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)的改善情况。**结果** (1)六味地黄丸可使 DN 患者的症状与体征改善;(2)六味地黄丸使红细胞 AR 活性受到抑制,明显低于对照组($P<0.05$);UAER,血 β_2 -MG 明显低于对照组($P<0.05$);(3)对血糖、血脂、平均动脉血压无明显影响($P>0.05$)。**结论** 六味地黄丸可明显抑制早期 DN 红细胞 AR 活性,改善 DN 各项指标,有助于早期 DN 的治疗。

关键词 糖尿病;糖尿病肾病;醛糖还原酶;六味地黄丸

Effect of Liuwei Dihuang Pill on Erythrocyte Aldose Reductase Activity in Early Diabetic Nephropathy Patients SONG Xiao-yan, CHEN Qiang, QI Xiao-yan *Department of Endocrinology, the Fifth People's Hospital, Shenyang (110023)*

Objective To observe the inhibitory effect of Liuwei Dihuang Pill (LDP) on erythrocyte aldose reductase (EAR) activity in early diabetic nephropathy (DN) patients and to explore the clinical significance of applying LDP in prevention and treatment of DN as an inhibitor of aldose reductase. **Methods** Seventy-two patients diagnosed as early DN with TCM Syndrome of both Qi-yin deficiency were randomly divided into the control group (31 patients) treated by conventional therapy (orally taken Gliquidone or injection of insulin) and the treated group (41 patients) treated by conventional therapy plus LDP for 3 months as one therapeutic course. Changes of symptoms, physical signs, fasting blood glucose (FBG), blood glucose 2 hrs post breakfast (2hPBG), blood total cholesterol (TC), triglyceride (TG), EAR activity, urinary albumin excretion rate (UAER), blood and urinary β_2 -microglobulin (β_2 -MG) in patients before and after treatment were observed. **Results** LDP could improve the symptoms and signs of patients with DN, it could significantly inhibit EAR activity, to make it significantly lower than that in the control group ($P<0.05$), and the levels of UAER, β_2 -MG in blood and urine in the treated group after treatment were obviously lower than those in the control group ($P<0.05$), and LDP showed no apparent effect on blood glucose, lipids and mean arterial pressure ($P<0.05$). **Conclusion** LDP could obviously inhibit the activity of EAR in patients with early DN, improve various indexes of DN, so as to be helpful for its treatment.

Key words diabetes mellitus; diabetic nephropathy; aldose reductase; Liuwei Dihuang pill

糖尿病的主要危险是糖尿病慢性并发症(diabetic chronic complications, DCC)的发生,这些并发症常累

作者单位:1. 辽宁省沈阳市第五人民医院内分泌科(沈阳 110023);2. 吉林大学第一临床医院内分泌科;3. 吉林省梅河口市中医院

通讯作者:宋晓燕, Tel: 024-25403783 转 2153 或 2125, E-mail: chenqiang3167@sina.com

及视网膜、神经、肾脏、心脏等,是糖尿病致死、致残的主要原因。大量动物及人类的研究业已证明,DCC 的发生、发展与多元醇通路的代谢密切相关^[1],该通路的关键酶—醛糖还原酶(aldose reductase, AR)在高糖条件下将葡萄糖转化为大量不易透过细胞膜的山梨醇,引起细胞的渗透性损伤,是发生 DCC 的重要原因,使用醛糖还原酶抑制剂(aldose reductase inhibitor,

ARIs)控制 DCC 的发生、发展已引起广泛重视^[2,3],本研究观察了六味地黄丸对早期糖尿病肾病(DN)患者红细胞醛糖还原酶活性以及尿白蛋白排泄率(UAER),血、尿 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)的影响,现报告如下。

资料与方法

1 病例来源 选择本院 2002 年 3 月—2003 年 3 月住院与门诊的早期 DN 属气阴两虚证患者。

2 诊断标准

2.1 糖尿病西医诊断符合 WHO(1999)标准^[1],并按 Mogensen 等^[4,5]的 DN 分期方法判定为Ⅲ期,即:(1)UAER 20 300 μ g/min(相当于 30~300mg/24h);(2)肾小球滤过率>20%;(3)常规尿蛋白检测阴性。

2.2 早期 DN 气阴两虚证诊断标准 主症:(1)疲困乏力;(2)口干口渴而不多饮,夜晚及晨起口干明显;(3)舌质红少苔,舌体胖大;(4)脉弦细数。次症:(1)自汗或盗汗;(2)气短懒言;(3)心悸失眠。主症(1)、(4)必备,(2)、(3)中有 1 项或 2 项兼有次症 1 项以上者可诊断为本证。

3 排除标准 (1)年龄在 18 岁以下,孕妇及哺乳期妇女;(2)原发性肾脏疾病;(3)严重的心血管与肝脏原发性疾病;(4)严重的脂代谢异常;(5)不符合纳入标准,不能按规定用药或服药治疗不满疗程,无法判定疗效或资料不全等,影响疗效或安全性判断者。

4 一般资料 入选病例为 72 例,糖尿病病程平均(5.8 $\pm$ 2.6)年,糖尿病肾病病程平均(1.9 $\pm$ 1.6)年;血压<150/90 mmHg;空腹血糖为(10.11 $\pm$ 1.36)mmol/L。胆固醇(0.35 $\pm$ 0.06)mmol/L,甘油三酯(4.14 $\pm$ 1.21)mmol/L。采用随机数字表法将 72 例患者分为对照组和治疗组,其中对照组 31 例,男 20 例,女 11 例;年龄 22~68 岁,平均(40.7 $\pm$ 19.9)岁;体重指数为 24.6 $\pm$ 2.5。治疗组 41 例,男 28 例,女 13 例;年龄 25~66 岁,平均(39.9 $\pm$ 17.5)岁;体重指数为 26.3 $\pm$ 2.4。两组性别、年龄、体重指数及每日摄取热量[蛋白质摄入 1.0~1.2g/(kg·d)]经统计学处理差异无显著性($P>0.05$),具有可比性。

5 治疗方法 对照组治疗措施包括:糖尿病防治教育,饮食控制,包括低蛋白饮食,控制血糖应用胰岛素或口服降糖药物糖适平。治疗组在上述治疗的基础上加服六味地黄丸,每丸重 9g,每次 1 丸,每日 3 次温开水送服[方剂组成为熟地黄 160g 淮山药 80g 山茱萸(制)80g 牡丹皮 60g 茯苓(去皮)60g 泽泻 60g,沈阳中药厂提供,批号:990607]。治疗期间除降

糖药物外,两组未用其他药物,以 3 个月为 1 个疗程,1 个疗程后观察疗效。

6 观察项目与检测方法 观察治疗前后两组患者中医症状与体征并记分,包括疲乏、口干或口渴、自汗或盗汗、腰膝痠软,舌质与脉象,记分标准见表 1;同时检测治疗前后的空腹血糖(FBG)、早餐后 2h 血糖(2hPBG);甘油三酯,胆固醇;24h UAER 与血、尿 β_2 -MG;红细胞 AR。其中血糖、血脂测定由 Backman 全自动生化分析仪完成;24h UAER,血、尿 β_2 -MG,测定采用放免法,试剂盒由中国原子能科学院提供。红细胞 AR 测定采用荧光法^[6],AR 活性测定的反应体系包括以下成分(最终浓度):67mmol/L 的钠-钾磷酸缓冲液(pH7.0),0.2mmol/L 的硫酸铵,0.1mmol/L 的 NADPH,10mmol/L 的 DL-甘油醛和红细胞溶血液 10 μ L,总体积 1.0ml。用日立 850 型荧光分光光度计在 367/455nm 条件下测定相对荧光强度,再从事先绘制的 NADP 荧光测定工作曲线上读出 NADP 含量。1 个单位(U)酶活性表示 1mm 内 1 μ mol NADPH 被氧化的酶量,每份标本的 AR 活性,用 U/gHb 表示。

表 1 中医证候量化记分标准

症状体征	1 分	2 分	3 分	4 分
乏力	易疲劳,可胜任工作	四肢乏力,耐持久工作	身体疲倦,不耐重工作	精神不振,不胜任工作
口干口渴	偶有,饮水后 1h 内缓解	偶有,饮水后 1~2h 内缓解	每日晨起口干,渴持续 1~2h	整日觉口干、渴
自汗盗汗	偶有	进食时或夜间	经常	整日
腰膝痠软	偶有	有	经常,休息后可缓解	经常,休息后也不缓解
舌质	略红	红	暗红	紫红
脉象	平	微弦	细弦	细弦,弱

注:无该症状则该症状记分为 0

7 统计学方法 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,每组治疗前后疗效的比较以秩和检验,组内治疗前后检测项目比较采用配对 t 检验;两组间检测项目比较以成组 t 检验。经 SAS10.0 统计软件处理。

结 果

1 疗效判定标准 显效:中医证候积分值治疗后较治疗前下降 $\geq 60\%$;FBG<7.0 mmol/L,2hPBG<8.3 mmol/L;有效:中医证候积分值下降 30%~59%;FBG<8.3 mmol/L,2hPBG<10.0 mmol/L;无效:未达到有效标准。

2 各组疗效比较 治疗组 41 例,显效 26 例(63.4%),有效 8 例(19.5%),无效 7 例(17.1%),总有效率 82.9%;对照组 31 例,显效 5 例(16.1%),有效 7 例(22.7%),无效 19 例(61.3%),总有效率为 38.7%。两组比较,差异有显著性($P<0.05$)。

表 2 两组治疗前后中医证候积分以及平均动脉血压、血脂、血糖测定值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	中医证候积分(分)	MAP(mmHg)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	FBG(mmol/L)	2hPBG(mmol/L)
治疗	41	治前	19.50 ± 4.82	102.8 ± 3.5	4.42 ± 1.56	1.91 ± 0.84	9.6 ± 0.4	13.4 ± 0.6
		治后	9.05 ± 4.58*	100.1 ± 2.8	4.53 ± 1.29	2.12 ± 0.92	5.6 ± 0.5*	8.1 ± 0.6*
对照	31	治前	18.29 ± 5.12	105.5 ± 3.2	4.60 ± 1.32	2.10 ± 0.95	9.4 ± 0.3	13.9 ± 0.7
		治后	13.76 ± 5.83* [△]	104.8 ± 2.7	4.58 ± 1.36	2.04 ± 0.89	5.8 ± 0.4*	9.2 ± 0.5*

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$;与治疗组治疗后比较,[△] $P < 0.05$

3 两组治疗前后中医证候积分值以及平均动脉血压、血糖、血脂的比较 见表 2。两组治疗前证候积分值比较差异无显著性($P > 0.05$),治疗后较治疗前均有显著下降($P < 0.05$)。治疗组治疗后 MAP 较治疗前有下降趋势,但差异无显著性($P > 0.05$);对照组治疗前后 MAP 相似,差异无显著性($P > 0.05$);两组治疗前后差异均无显著性($P > 0.05$)。两组治疗后与治疗前 TC 与 TG 比较,差异无显著性($P > 0.05$),治疗后组间比较差异亦无显著性($P > 0.05$)。治疗前两组的 FBG 与 2hPBG 相似,治疗后均明显低于本组治疗前血糖水平($P < 0.05$),但两组间比较 FBG 与 2hPBG 差异均无显著性($P > 0.05$),提示六味地黄丸对血糖影响不大。

4 两组治疗前后红细胞 AR 活性、UAER 及血、尿 β_2 -MG 的变化比较 见表 3。治疗前两组糖尿病患者红细胞 AR 活性相似($P > 0.05$),治疗后,治疗组 AR 活性受到明显抑制($P < 0.01$),对照组 AR 活性亦有下降($P < 0.05$),但不及治疗组明显,两组治疗后 AR 活性比较差异有显著性($P < 0.05$)。治疗前两组 UAER、血 β_2 -MG 相似,治疗后两组 UAER、血 β_2 -MG 下降,但治疗组更为明显($P < 0.01$);两组尿 β_2 -MG 治疗后较同组治疗前亦明显下降($P < 0.05$),两组治疗后比较,差异无显著性($P > 0.05$)。

表 3 两组治疗前后红细胞 AR 活性、UAER 及血、尿 β_2 -MG 的变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	红细胞 AR 活性	UAER	血 β_2 -MG	尿 β_2 -MG
			(U/gHb)	(μ g/min)	(μ g/ml)	(μ g/ml)
治疗	41	治前	5.50 ± 2.79	130.2 ± 72.3	3.8 ± 1.8	63.8 ± 21.2
		治后	1.12 ± 0.34** [△]	81.4 ± 3.9** [△]	1.5 ± 1.1** [△]	35.5 ± 13.2*
对照	31	治前	5.12 ± 3.12	125.3 ± 62.2	3.7 ± 1.2	66.8 ± 18.9
		治后	3.02 ± 2.13*	125.8 ± 5.2*	2.5 ± 1.2*	35.2 ± 10.9*

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与对照组治疗后比较,[△] $P < 0.05$

讨 论

在糖尿病高糖状态下,导致糖代谢反应第一个己糖激酶饱和,激活糖代谢旁路的醛糖还原酶,在细胞内将过高葡萄糖转变为山梨醇,细胞膜缺少山梨醇转运系统,故山梨醇在细胞内积聚,山梨醇的升高,导致细胞渗透压升高,使细胞内水分增多、肿胀,影响很多酶

的正常功能,使细胞内肌醇耗竭,ATP 酶活性下降,自由基产生增多等,细胞膜代谢障碍而通透性增加,使渗出增加。这种情况发生在肾脏,使肾小球渗出增加,造成肾小球血管内皮细胞、基底膜及上皮细胞结构破坏和功能下降,肾小管浊肿、变性,出现蛋白尿,这是糖尿病肾病的重要发病机制之一。国内外研究^(7~9)表明,针对这一代谢异常,使用醛糖还原酶抑制剂(ARIs)就有可能预防、控制糖尿病肾病的发生与发展。目前国内已合成了 4 大类、10 种 ARIs,但因副反应较多,绝大部分尚在动物研究和临床试用阶段,没有作为正式商品药物生产。中药具备多靶点、多层次结合治疗作用和功能调节作用,对糖尿病的治疗不仅仅针对降低血糖,其突出优势在于能有效地阻止和延缓 DCC 的发生和发展,改善口渴多饮、多食、多尿、乏力等症状,提高患者的生活质量。且具有不良反应少、毒性低的优点。DCC 病变呈慢性经过,使用 ARIs 是长期的,应用不良反应较少的中药作为 ARIs 尤为重要,因此有必要对其进行大量的筛选,从中找出有效的中药以用于 DCC 的防治。日本研究者曾通过动物实验证实六味地黄方剂可抑制醛糖还原酶活性,减少山梨醇在红细胞的蓄积⁽¹⁰⁾。国内刘长山等⁽⁹⁾也证实多种中药具有抑制 AR 活性作用,对实验性糖尿病动物的多种并发症具有明显的防治效果。本研究在此基础上,观察了六味地黄丸对早期 DN 患者红细胞 AR 活性的影响,结果表明,六味地黄丸可使 AR 活性明显下降、UAER、血、尿 β_2 -MG 明显改善,而对血糖、血压、血脂没有明显影响,这提示六味地黄丸对早期 DN 有一定疗效,且不依赖于降糖、降压与降脂作用,而很可能是直接降低了 AR 活性的结果。

β_2 -MG 产生于除滋养层细胞、成熟红细胞以外的所有有核细胞,肾小球滤过后,绝大部分(99.9%)经肾小管分解代谢排出体外,因此肾小球功能障碍将导致 β_2 -MG 滤过下降而使血 β_2 -MG 升高,肾小管功能障碍将导致 β_2 -MG 分解下降使尿 β_2 -MG 升高。本研究两组患者治疗后血 β_2 -MG 下降,而以治疗组更为明显;两组尿 β_2 -MG 亦明显下降,但两组下降程度比较差异无显著性,提示六味地黄丸的 AR 抑制作用主要发生在肾小球。本研究的对照组治疗后随血糖降低亦有一

定程度的 AR 活性下降和早期 DN 的指标改善,提示高血糖在激活多元醇代谢途径、肾脏病变的发生与发展中的始发与关键作用,因而也强调了控制血糖作为糖尿病肾病基础治疗的重要性。六味地黄丸除具有益气养阴、清热生津、补肾涩精的功效,其能够治疗糖尿病肾病的其他机制可能还有该方通过促进胰岛素分泌和增强机体对葡萄糖利用的作用,因熟地、山茱萸、茯苓、山药有降低血糖作用,泽泻、牡丹皮能抑制脂肪分解,泽泻、牡丹皮、茯苓有抑制血液凝固及抗血栓的作用。故有效的控制血糖是治疗糖尿病肾病的基础。在降糖治疗的基础上加服具有抑制 AR 作用的六味地黄丸将有助于糖尿病肾病病情的改善。另据报道,六味地黄丸可以降低肾组织中的过氧化脂质的含量,提高超氧化物歧化酶的活性,减轻肾脏肥大及降低其高滤过率^[11,12]可能也是其治疗糖尿病肾病的重要机制,有关六味地黄丸可以抑制醛糖还原酶活性的深入研究将为其作为一种 ARIs 药物提供科学依据,并从另一侧面诠释糖尿病肾病的发病机制。

参 考 文 献

- 1 胡仁明主编. 内分泌代谢病临床新技术. 北京:人民军医出版社,2002:465—467,383—384.
Hu RM, editor. New clinical technique of endocrinopathy and metabolic diseases. Beijing: People's Military Medical Publisher,2002:465—467,383—384.
- 2 McAuliffe AV, Brooks BA, Fisher EJ, et al. Administration of ascorbic acid and an aldose reductase inhibitor (tolrestat) in diabetes: Effect on urinary albumin excretion. *Nephron* 1998; 80(3):277—284.
- 3 Crabbe MJ, Goode D. Aldose reductase: a window to the treatment of diabetic complications. *Prog Retin Eye Res* 1998; 17(3):313—383.
- 4 Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983;32(Suppl 2):64—78.
- 5 Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N Engl J Med* 1984; 310(6):356—360.
- 6 刘长山. 红细胞 AR 荧光测定法的建立及其意义. *实用糖尿病杂志* 1999;7(9):20—23.
- Liu CS. Foundation and significance of erythrocyte aldose reductase (AR) fluorimetry. *J Pract Diabetes* 1999;7(9):20—23.
- 7 Rosemary J, Marjorie E, Richard. Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C, and phospholipase A₂ activation. *Metabolism* 1997;46:41—47.
- 8 Pedersen MM, Christiansen JS, Mogensen CE. Reduction of glomerular hyperfiltration in normoalbuminuric IDDM patients by 6 mo of aldose reductase inhibition. *Diabetes* 1991;40(5):527—531.
- 9 刘长山,朱禧星. 7 种药物对醛糖还原酶的抑制作用. *中国中药杂志* 1997;22(6):372—373.
Liu CS, Zhu XX. Inhibitory effect of seven agents on bovine testis aldose reductase. *Chin J Materia Medica* 1997;22(6):372—373.
- 10 佐藤佑造. 内分泌代谢疾患と汉方. 第 23 回日本医学会纪念会. サテライメシボツウム日本东洋医学会临床汉方研究会讲演内容集. 转换期の医療と汉方制剂の役割. 东京:日本アキュアル・シエアワケカ〜出版株式会社,1992;原桃介. 補足および解説:194.
Hansuke Kiyokawa. Chinese medicines recipes of endocrinopathy and metabolic diseases. The 23th exchange conference of Japan medicine association, Chinese medicines recipes actions on diabetic complications. Tokyo: Japan Science and Technique Publishing House, 1992; Ushitora Kosugi. Supplementary and explanation:194.
- 11 袁咏,曲竹秋,周云岩,等. 六味地黄汤对糖尿病大鼠肾脏抗氧化损伤的影响. *新中医* 1999;31(6):36—37.
Yuan Y, Qu ZQ, Zhou YY, et al. Influence of Liuwei Deihuang Tang on lipid peroxide damage of kidney in diabetic rats. *New J TCM* 1999;31(6):36—37.
- 12 朴元林,洪英杰,葛光岩. 六味地黄汤对实验性糖尿病大鼠心、肝、肾组织中过氧化氢酶活性和过氧化脂质含量的影响. *延边大学医学学报* 1998;21(3):156—160.
Piao YL, Hong YJ, Ge GY. Effects of Liuwei Dihuang Tang on catalase activity and lipid peroxide level in heart, liver and kidney tissues in experimental diabetic rats. *J Med Sci Yanbian Univ* 1998;21(3):156—160.

(收稿:2004-05-08 修回:2004-09-05)