

· 论著 ·

# 糖肾宁对早期糖尿病肾病大鼠 微量白蛋白尿的作用及其机制研究

何立群, 曹和欣, 沈雅静

(上海中医药大学附属曙光医院肾内科, 上海 200021)

**[摘要]** 目的 研究中药复方糖肾宁对早期糖尿病肾病(DN)大鼠微量白蛋白尿的影响及其作用机制。方法 雄性 Wistar 大鼠随机分为正常组(8 只)、造模组(24 只),造模组大鼠采用 3 次(每周 1 次)腹腔内注射链脲佐菌素(STZ)加福氏完全佐剂(CFA)诱导建立糖尿病模型,3 周以后测造模组各只大鼠 24 h 尿微量白蛋白(24 h U-Alb),彼此无显著性差异,将造模组大鼠分为模型组(8 只)、蒙诺组(8 只)、糖肾宁组(8 只),8 周后分别用放免法和比色法测定各组大鼠的肾血液动力学指标和肾组织的超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)。结果 模型组大鼠血栓素 B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>)、TXB<sub>2</sub> 与 6-酮-前列腺素(6-keto-PGF<sub>1</sub>) 的比值以及降钙素基因相关肽(CGRP)显著高于正常组,内皮素(ET)显著低于正常组( $P < 0.05$ ),肾组织 SOD 显著下降,MDA 明显升高;糖肾宁组和蒙诺组血浆 TXB<sub>2</sub>、TXB<sub>2</sub> 与 6-keto-PGF<sub>1</sub> 的比值显著低于病理组,且糖肾宁组的效果优于蒙诺组;与病理组比较,糖肾宁组的肾组织 SOD 含量显著升高,而 MDA 显著下降( $P < 0.05$ )。结论 糖肾宁可降低早期 DN 大鼠的尿微量白蛋白,其作用机制可能与改善糖代谢、调节 TXB<sub>2</sub> 与 6-keto-PGF<sub>1a</sub> 的动态平衡并降低血浆 CGRP、改善肾脏脂质过氧化损伤有关。

**[关键词]** 糖肾宁;糖尿病肾病;尿微量白蛋白

**[中图分类号]** R587.24 **[文章标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2003)02-0119-03

## Effect and mechanism of Tangshenning Recipe on micro-albuminuria in rats with early diabetic nephropathy

HE Li-Qun, CAO He-Xin, SHEN Ya-Jing

(Department of Nephrology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To study the modifying effect and mechanism of Tangshenning Recipe on micro-albuminuria in rats with early diabetic nephropathy (DN). **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into the normal group ( $n = 8$ ) and model group ( $n = 24$ ). Intraperitoneal injecting of streptozotocin (STZ) plus complete Freund's adjuvant (CFA) was applied once a week for 3 times to induce the DN rats model. Three weeks later, the model group rats were randomly divided into pathologic group ( $n = 8$ ), monopril group ( $n = 8$ ) and Tangshenning Recipe group ( $n = 8$ ) according to the 24 h U-Alb. Each group's renal hemodynamics index and SOD, GSH, MDA in renal tissue were determined by radioimmunoassay (RIA) and colorimetric method respectively. **Results** The levels of plasmatic TXB<sub>2</sub>, the ratio of TXB<sub>2</sub> and 6-keto-PGF<sub>1</sub>, and the CGRP in pathologic group were significantly higher than those in normal group. The levels of plasmatic ET decreased obviously, SOD decreased and MDA increased significantly in the rats' renal tissue of pathologic group. The levels of plasmatic TXB<sub>2</sub>, the ratio of TXB<sub>2</sub> and 6-keto-PGF<sub>1</sub> decreased significantly in both Tangshenning Recipe group and monopril group, and the therapeutic effect of Tangshenning Recipe group was better than that of monopril group. SOD was higher and MDA was lower in Tangshenning Recipe group than that in pathologic group. **Conclusion** The results indicates that Tangshenning Recipe can lower the micro-albuminuria in early DN rats, the mechanism of which probably lies in the modification of glycometabolism, the ratio of TXB<sub>2</sub> and 6-keto-PGF<sub>1</sub>, the plasmatic CGRP and the renal lipid preoxidation.

**[KEY WORDS]** Tangshenning Recipe; diabetic nephropathy; micro-albuminuria

[J Chin Integr Med, 2003, 1(2): 119-121]

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病的常见微血管并发症,其病因及发病机制十分复杂,涉及到遗传、代谢、生长因子、细胞因子等多种因素。本实验通过反复小剂量腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)加福氏完全佐剂(complete

Freund's adjuvant, CFA)诱导大鼠糖尿病模型,观察中药复方糖肾宁对早期 DN 大鼠微量白蛋白尿的

影响,旨在评估其对 DN 的疗效并探讨其作用机制。

## 1 材料与方 法

1.1 动物模型的建立与分组 选用雄性 Wistar 大鼠 32 只,体重 160 g 左右,由上海必凯实验动物中心提供。大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为正常组(8 只)和糖尿病造模组(24 只)。造模方法参照文献<sup>[1]</sup>。大鼠禁食 12 h 后,每只大鼠先腹腔内注射 CFA 0.5 ml,第 2 天再按 25 mg/kg 体重腹腔内注射 STZ(美国 Sigma 公司产品),每周 1 次,连续 3 周重复上述步骤,每周尾静脉采血 1 次,分离血清测定血糖。以血糖大于 16.7 mmol/L 作为糖尿病造模成功。正常组腹腔注射等量枸橼酸缓冲液作对照。血糖符合标准的大鼠再放入代谢笼内留取 24 h 尿液,测定 24 h 尿微量白蛋白(24 h U-Alb),各大鼠之间无显著性差异。将糖尿病大鼠随机分为模型组(8 只),糖肾宁组(8 只)和蒙诺组(8 只)。各组大鼠分笼喂养,随意饮水。糖肾宁组和蒙诺组分别给予相应药物灌胃,正常组和模型组给予等量蒸馏水灌胃。连续 8 周后腹主动脉取血并取肾皮质加 0.9% 氯化钠制成 10% 组织匀浆,取上清液备测以下指标,标本不合格者删除。

1.2 药物 糖肾宁和蒙诺用量均为临床成人每 kg 体重用量的 20 倍。糖肾宁由太子参 30 g、生黄芪 30 g、生地 15 g、泽兰 12 g、鹿角片 12 g、黄连 6 g 组

成,水煎浓缩(含生药 3.5 g/ml),按生药 35 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃;蒙诺(福辛普利,10 mg/片,上海施贵宝药厂生产)溶于蒸馏水中配成浓度为 0.33 mg/ml 的溶液,按蒙诺 3.3 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃。

1.3 观测指标 血糖采用本院 BECKMAN CX4 生化自动仪测定。内皮素(ET)、降钙素基因相关肽(CGRP)、24 h U-Alb 用放射免疫法检测,试剂盒由中国原子能科学研究所同位素研究室提供。血栓素 B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)和 6-酮-前列腺素(6-keto-PGF<sub>1</sub>)用放射免疫法检测,试剂盒由苏州医学院提供。肾组织超氧化物歧化酶(SOD)采用黄嘌呤氧化酶法、丙二醛(MDA)采用硫代巴比妥酸法,试剂盒均购自南京聚力生物医学工程研究所。

1.4 统计方法 用 SPSS 软件包统计分析处理,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异检验采用单因素方差分析。

## 2 结 果

2.1 血糖、24 h U-Alb、ET、CGRP 的变化 各糖尿病组大鼠血糖均明显高于正常组,糖肾宁组血糖较模型组下降( $P < 0.05$ );模型组大鼠的 24 h U-Alb 明显升高,糖肾宁组和蒙诺组与正常组比较无统计学意义( $P > 0.05$ );各糖尿病组血浆 ET 均降低,模型组 CGRP 升高,糖肾宁组 CGRP 下降,与正常组比较无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠血糖、24 h U-Alb、ET、CGRP 的变化

组别	n	血糖(mmol/L)	U-Alb( $\mu$ g/24 h)	ET(ng/L)	CGRP(ng/L)
正常组	8	6.21 ± 1.38	6.32 ± 0.68	100.23 ± 44.70	8.89 ± 1.23
模型组	7	26.89 ± 1.79*	21.63 ± 20.76*	45.14 ± 14.36*	12.80 ± 1.40*
糖肾宁组	7	20.39 ± 7.39*	9.77 ± 3.72	57.62 ± 35.09*	9.26 ± 2.33
蒙诺组	7	23.73 ± 6.88*	10.45 ± 5.18	28.72 ± 13.02*	11.06 ± 2.68

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $P < 0.05$

2.2 血浆 TXB<sub>2</sub>、6-keto-PGF<sub>1</sub> 的变化 模型组大鼠血浆 TXB<sub>2</sub>、TXB<sub>2</sub> 与 6-keto-PGF<sub>1</sub> 的比值均升高,而糖肾宁组两者都有所下降,与正常组比较无显

著差别( $P > 0.05$ );蒙诺组的 TXB<sub>2</sub> 较模型组下降( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠血浆 TXB<sub>2</sub>、6-keto-PGF<sub>1</sub> 及其比值的变化

组别	n	TXB <sub>2</sub> (ng/L)	6-keto-PGF <sub>1</sub> (ng/L)	TXB <sub>2</sub> /6-keto-PGF <sub>1</sub>
正常组	8	50.74 ± 26.97	6.93 ± 2.12	8.39 ± 5.55
模型组	6	139.42 ± 18.99*	7.02 ± 1.63	20.49 ± 4.19*
糖肾宁组	6	88.01 ± 33.64	7.57 ± 2.88	9.91 ± 4.46
蒙诺组	6	93.78 ± 40.16*	5.63 ± 2.12	14.41 ± 6.76

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $P < 0.05$

2.3 肾组织 SOD、MDA 的变化 模型组和蒙诺组大鼠的肾组织 SOD 下降,MDA 升高,与正常组比较差异显著( $P < 0.05$ );糖肾宁组 SOD 升高,MDA 降低,但 SOD 仍低于正常( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 各组大鼠肾组织 SOD、MDA 的变化  
( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	SOD( $\mu\text{U/L}$ )	MDA( $\text{pmol/L}$ )
正常组	8	362.54 ± 25.03	18.50 ± 5.71
模型组	7	282.75 ± 24.10*	33.77 ± 9.66*
糖肾宁组	7	321.63 ± 24.10*	23.31 ± 8.07
蒙诺组	7	303.07 ± 15.66*	29.70 ± 10.34*

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $P < 0.05$

### 3 讨论

目前尿微量白蛋白的检测已成为早期诊断 DN 的一个重要指标。本实验利用国际上常用的腹腔注射 STZ 方法建立大鼠糖尿病模型,造模成功后大鼠的 24 h U-A1b 高于正常组,提示可能存在肾脏损害。糖肾宁给药后,大鼠的血糖和 24 h U-A1b 都明显降低,说明糖肾宁可显著降低早期 DN 大鼠尿微量白蛋白的排泄,降低血糖,保护肾功能。

已知蛋白从肾小球滤出决定于肾小球毛细血管内压和基底膜对蛋白的通透性,因此减轻肾组织损害和降低肾小球内压可降低蛋白尿。糖肾宁改善早期 DN 大鼠微量白蛋白尿的可能机制为:(1)通过改善糖代谢来减轻肾组织损伤。有研究表明在高血糖状态下肾小球基底膜带阴离子的硫酸乙酰肝素含量减少,电荷屏障功能减弱<sup>[2]</sup>;高血糖引起的蛋白酶糖化可使肾小球基底膜成分异常交联增加,滤过膜孔径改变;高血糖还可通过影响多种生长因子的分泌来刺激肾脏肥大,导致肾小球高滤过。本研究中糖肾宁可显著降低糖尿病大鼠血糖,因而可缓解高血糖对肾脏的损伤,降低尿微量白蛋白。(2)通过调节血管活性物质代谢来改善血流动力学。肾小球内压主要由入球、出球小动脉的血管舒缩平衡来决定,许多研究表明,DN 早期存在肾小球高滤过<sup>[3]</sup>,TXA<sub>2</sub>/PGL<sub>2</sub> 的动态平衡以及 ET、CGRP 在肾脏高滤过中起重要作用。TXA<sub>2</sub> 是强烈的血管收缩剂,主要作

用于肾出球小动脉,而 PGL<sub>2</sub> 可舒张血管,其在肾脏的血管优势效应在入球小动脉,TXA<sub>2</sub>/PGL<sub>2</sub> 的动态平衡对维持正常的血管张力具有重要作用。TXB<sub>2</sub> 和 6-keto-PGF<sub>1</sub> 为 TXA<sub>2</sub> 和 PGL<sub>2</sub> 的终末代谢产物,可反映 TXA<sub>2</sub> 和 PGL<sub>2</sub> 的水平。ET 是强烈的血管收缩剂,而 CGRP 则有明显的扩血管作用。我们的研究发现,糖肾宁组大鼠的血浆 TXB<sub>2</sub>、TXB<sub>2</sub> 与 6-keto-PGF<sub>1</sub> 的比值以及 CGRP 较模型组明显降低,而血管紧张素转换酶抑制剂蒙诺虽也能降低 TXB<sub>2</sub>,但作用弱于糖肾宁,提示糖肾宁可通过调节血栓素与前列腺素之间平衡并降低血浆 CGRP 来改善血管舒缩功能,这也可能是其降低尿微量白蛋白的机制之一。(3)通过调节氧自由基的生成与清除平衡来改善肾脏脂质过氧化损伤。近年来,氧自由基在发病中的作用越来越引起人们的重视。杨俊伟等<sup>[4]</sup>运用离体肾灌注技术,观察到 STZ 诱导的糖尿病大鼠肾组织氧耗量明显增加。本实验中,模型组大鼠的肾组织 SOD 活性降低,而代表氧自由基产生的 MDA 却明显增加,以上结果提示大鼠体内氧自由基的生成和清除失去平衡。其机制可能是一方面由于糖尿病的高糖状态及高氧耗量,促使机体生成自由基过多;另一方面,机体局部组织内在清除自由基的酶类缺乏,导致自由基在体内蓄积,进而引起细胞组织的严重损伤。糖肾宁组大鼠的肾组织 SOD 升高,MDA 降低,由此推测糖肾宁可能具有增强体内抗氧化酶活力、清除氧自由基的作用,减轻肾脏脂质过氧化损伤,因而可降低尿微量白蛋白。

#### [参考文献]

- 1 于德民,吴锐,尹潍,等.实验性链脲佐菌素糖尿病动物模型的研究[J].中国糖尿病杂志,1995,3(2):105-109.
- 2 Cohen MP, Surma ML. Effect of diabetes on in vivo metabolism of S-labeled glomerular basement membrane[J]. Diabetes, 1984, 33(1):8-12.
- 3 李建生,郑士荣.糖肾安对糖尿病肾脏高滤过因素影响的实验研究[J].辽宁中医杂志,1998,25(1):43-45.
- 4 杨俊伟,黎磊石,张真,等.大黄治疗糖尿病肾病的实验研究[J].中华内分泌代谢杂志,1993,9(4):222-224.

[收稿日期] 2003-03-07 [本文编辑] 周庆辉 黄文华

## 《中西医结合学报》赠阅杂志的启事

《中西医结合学报》杂志社对 2003 年在本刊任何一期杂志发表的论文,将赠送第一作者和通讯作者本刊 2003 年全年期刊一份。如系基金形成的论文,杂志社另将赠送第一作者和通讯作者本刊 2004 年全年期刊一份。获赠期刊将由杂志社每期按时寄送。