基础研究 文章编号:0253-3626(2010)06-0842-03

银杏叶提取物对早期糖尿病肾病患者 IL-6、TNF-a 的影响

毛春谱,李小毅,张红梅,蔡文婷
(苏州大学附属无锡市第四人民医院内分泌科,无锡 214062)

【摘 要】目的:探讨银杏叶提取物(Extract of gingko biloba,EGB)对早期糖尿病肾病(Diabetic nephropathy,DN)患者血清细胞因子的影响。方法:将 39 例早期 DN 患者随机分为对照组(19 例)和治疗组(20 例),对照组为常规西药治疗,治疗组在此基础上加用 EGB。6 个月后,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定两组患者治疗前后血清白细胞介素 -6(Interleukin-6,IL-6)、肿瘤坏死因子 -α(Tumor necrosis factor-α,TNF-α)表达水平,同时观察尿微量白蛋白排泄率、空腹血糖、血肌酐、尿素氮、血脂等指标的变化。结果:与治疗前比较,两组患者治疗后血清 IL-6、TNF-α 水平均下降($P<0.05$),治疗组较对照组下降更为明显($P<0.01$)。经 q 检验显示,治疗组与对照组治疗后同期比较,下降更为明显($P<0.01$)。结论:银杏叶提取物可能通过减低血清 IL-6、TNF-α 的表达,抑制炎症反应,起到对 DN 的保护作用。

【关键词】银杏叶提取物;糖尿病肾病;白细胞介素 -6;肿瘤坏死因子 -α
【中国图书分类法分类号】R587.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-09-03

Extract of gingko biloba on IL-6, TNF-a in patients with early diabetic nephropathy

MAO Chun-pu, et al
(*Department of Endocrinology, the Fourth Affiliated Hospital, Suzhou University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of extract of gingko biloba (EGB) on inflammatory cytokines in patients with early diabetic nephropathy (DN). *Methods*: Thirty-nine patients with early DN were randomly assigned into the control group (n=19) treated by irbesartan alone and the treated group (n=20) treated by EGB combined with irbesartan for 6 months. Serum interleukin-6

作者介绍:毛春谱(1976-),男,主治医师,硕士,研究方向:糖尿病肾病的防治。
通讯作者:李小毅,女,副教授,E-mail:lixiaoyi9915@126.com。
基金项目:无锡市社会发展指导性计划项目(编号:CSZ00833)。

为明确高浓度葡萄糖是否影响成骨细胞功能,本研究应用流式细胞仪检测细胞凋亡,观察不同浓度葡萄糖对 MC3T3-E1 成骨细胞凋亡影响,并用与高糖水平具有相同渗透压的甘露醇作对照培养,结果表明,高浓度的甘露醇可增加 MC3T3-E1 成骨细胞的凋亡,但和正常对照组相比,无显著统计差异($P>0.05$)。而葡萄糖则随着浓度的升高,其诱导 MC3T3-E1 成骨细胞凋亡的作用越明显;同时随着培养时间的延长,MC3T3-E1 成骨细胞凋亡也是显著增加的($P<0.01$,$P<0.05$)。说明葡萄糖是直接作用于成骨细胞而非通过渗透压所致,这和 Balint 等[9]的研究一致。

总之,本研究表明,高浓度的葡萄糖可诱导成骨细胞凋亡,且呈浓度、时间依赖性,证实了高糖环境对成骨细胞功能的毒性作用,为临床工作中严格控制血糖,防止骨质疏松症的发生发展提供了理论依据。

参 考 文 献

[1] Locatto ME, Abranzon H, Caferra D, et al.Growth and development of bone mass in untreated alloxan diabetic rats[J].Bone Miner, 1993, 23(2): 129-144.

[2] Anegla M, Inzerillo E.Osteoporosis and diabetes mellitus[J].J Endocrine and Metabolic Disorders, 2004, 5(2): 261-268.

[3] 廖国荣,罗迎春.105 例 2 型糖尿病患者骨密度分析[J].中国骨质疏松杂志,2003,9(3):247-250.

[4] Krakauer J C, McKenna M J, Buderer N F, et al.Bone loss and bone turnover in diabetes[J].Diabetes, 1995, 44(7): 775-782.

[5] Shyng Y C, Devlin H, Sloan P.The effect of streptozotocin-induced experimental diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat[J].Int J Oral Maxillofac Surg, 2001, 30(1): 70-74.

[6] 程 荫,陈德才,卢春燕.不同浓度葡萄糖对人成骨肉瘤细胞株 MG63 活性的影响[J].四川大学学报(医学版),2008,39(2):239-242.

[7] Qi J S, Li Yn, Zhang B S, et al.Peroxynitrite mediates high glucose-induced osteoblast apoptosis[J].J Endocrinol Invest, 2008, 31(4): 314-320.

[8] Mani A, Zoubin A, Coy B, et al.Advance glycation end products stimulate osteoblast apoptosis via the MAP Kinase and cytosolis apotosic pathways[J].Bone, 2007, 40(4): 345-353.

[9] Balint E, Szabo P, Mashall C F, et al.Glucose-induced inhibition of in vitro bone mineralization[J]. Bone, 2001, 28(1): 21-28.

(责任编辑:关蕴良)

(IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) were determined with ELISA before and after treatment, and urinary albumin excretion rate, fasting blood glucose, serum creatinine, blood urea nitrogen and lipid profiles, were examined as well. *Results*: The levels of IL-6 and TNF-α were significantly lower in both groups after treatment than those before treatment ($P<0.01$). After treatment, IL-6 and TNF-α levels in the treated group were more noticeably reduced than those in the control group according to q test ($P<0.01$). *Conclusion*: EGB could retard the development of early DN, through decreasing concentration of serum IL-6 and TNF-α, regulating the production of inflammatory cytokins and inhibiting inflammatory reaction.

【Key words】Extract of gingko biloba; Diabetic nephropathy; Interleukin-6; Tumor necrosis factor-α

糖尿病肾病(Diabetic nephropathy,DN)是糖尿病最常见的微血管并发症之一，也是导致终末期肾衰最主要的原因。其发病机制复杂,除了血糖、血脂代谢紊乱和血液动力学异常参与外,近年来研究表明炎性细胞因子[1,2]在 DN 发生、发展中的起着重要作用。白细胞介素 -6(Interleukin-6,IL-6)、肿瘤坏死因子 -α(Tumor necrosis factor-α,TNF-α)是细胞因子的重要指标。银杏叶提取物 (Extract of ginkgo biloba, EGB) 主要含有黄酮苷和特有的萜烯,药理活性广泛,能清除氧自由基、改善微循环及保护肾脏[3,4]等作用。本研究采用 EGB 观察患者血清中细胞因子(IL-6、TNF-α)指标的表达变化,旨在探讨 EGB 对早期 DN 的可能保护机制。

1 对 象

1.1 研究对象

1.1.1 病例纳入标准 按照 1999 年 WHO 推荐的 2 型糖尿病的诊断标准,且根据国际通用的 Mogensen 的 DN 分期方法选择尿微量白蛋白排泄率 (Urinary albumin excretion rate, UAER) 为 30~300 mg/24 h 的Ⅲ期患者，即尿微量白蛋白阳性,且尿常规蛋白测定为阴性。

1.1.2 病例剔除标准 (1)各类非糖尿病性肾炎、尿路梗阻、肾血管病、高血压肾病等肾脏疾患;(2)合并有心、肝、造血系统等原发性疾病;(3)合并有糖尿病酮症酸中毒、乳酸酸中毒等急性并发症;(4)妊娠或哺乳期妇女;(5)精神病及其他不合作者;(6)研究前 1 月内服用抗氧化剂。

1.2 一般资料

所有病例均来自 2008 年 1 月 ~ 2008 年 12 月我院门诊及住院患者。39 例患者随机分为 2 组。对照组 19 例，男 8 例,女 11 例;年龄 37~65 岁,平均(51.3 ± 12.9)岁;病程 2~11 年,平均(6.8 ± 3.7)年;治疗组 20 例,男 11 例,女 9 例;年龄 35~70 岁,平均(50.5 ± 14.7)岁;病程 3~12 年,平均(6.6 ± 4.2)年。2 组患者的年龄、性别、病程无统计学差异($P>0.05$),资料具有可比性。

2 方 法

2.1 分组

所有患者均给予常规治疗,包括糖尿病饮食、适量体力活动，接受糖尿病知识的教育及应用降糖药物或胰岛素,使病情稳定，空服血糖控制在 7.0 mmol/L 以下后 2 周进入实验。39 例患者随机分为对照组(A 组)和治疗组(B 组)。A 组给予降压药物厄贝沙坦片(商品名:安博维,杭州赛诺菲安万特民生制药有限生产)150 mg/d。B 组在对照组的用药基础上加用 EGB (每片含总黄酮醇苷 9.6 mg 和萜类内酯 2.4 mg,江苏扬子江药业集团生产)28.8 mg/d,分 3 次口服。两组疗程均为 6 个月。

表 1 两组治疗前后临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

分组	分期	FBG(mmol/L)	HbA1c(%)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	BUN(mmol/L)	Scr(μmol/L)	UAER(mg/24 h)
A 组	治疗前	6.92 ± 0.90	8.29 ± 1.67	2.12 ± 0.34	6.04 ± 0.75	5.84 ± 1.38	64.22 ± 19.34	168.94 ± 74.51
	治疗后	6.86 ± 0.84	8.15 ± 1.82	2.09 ± 0.27	6.11 ± 0.93	5.94 ± 1.42	58.56 ± 23.12	109.38 ± 60.22△
B 组	治疗前	6.88 ± 0.79	8.23 ± 1.77	2.05 ± 0.41	5.94 ± 0.82	5.86 ± 1.12	60.57 ± 20.11	162.14 ± 72.31
	治疗后	6.93 ± 0.71	8.21 ± 1.91	1.72 ± 0.25△*	4.56 ± 0.64△*	5.91 ± 1.25	62.68 ± 27.54	62.52 ± 32.21△*

△$P<0.01$,与本组治疗前比较;*$P<0.01$,与 A 组同期比较

表 2 两组治疗前后血清 IL-6、TNF-α 比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	分期	IL-6 (ng/L)	TNF-α (ng/L)
A 组	17	治疗前	81.65 ± 24.89	75.33 ± 27.87
		治疗后	55.72 ± 10.23△	54.05 ± 15.46△
B 组	19	治疗前	80.44 ± 28.52	77.78 ± 30.99
		治疗后	32.94 ± 11.58△□	28.10 ± 10.33△□

△$P<0.01$,与本组治疗前比较;□$P<0.01$,与 A 组同期比较

2.2 观察指标

受试者清晨空腹采集静脉血 5 ml,室温静置 1 h 后 3 000 r/min 离心 10 min,取血清保存于 -70℃冰箱待测,所有标本一次测定。空腹血糖(Fasting blood glucose,FBG)采用葡萄糖氧化酶法检测,UAER 采用胶体金双抗体夹心法检测(试剂盒购自南京建成生物工程公司),糖化血红蛋白 A1c(Human glycated hemoglobin A1c,HbA1c)采用亲和层析法检测,尿素氮(Blood urea nitrogen,BUN)、血肌酐(Serum creatinine,Scr)、总胆固醇(Total cholesterol,TC)、甘油三脂(Triglyceride,TG)由日立 7600 型全自动生化分析仪检测。血清 IL-6、TNF-α 试剂盒购自北京北方生物技术研究所,严格按照说明书进行操作测定。

2.3 统计学处理

计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,各组给药前后比较采用配对比较 t 检验,组间差异用两两比较 q 检验。

3 结 果

3.1 临床资料比较

对照组 19 例,失访 2 例,完成 17 例;治疗组 20 例,失访 1 例,完成 19 例。2 组患者治疗前的 FBG、HbA1c、BUN、Scr、TG、TC、UAER 无明显差异($P>0.05$)。6 个月,2 组 UAER 较治疗前有明显改善,且 B 组较 A 组上述指标进一步降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。TG、TC 经 EGB 治疗后与 A 组同期比较显著降低($P<0.01$)。2 组 FBG、HbA1c、Scr、BUN 治疗前后差异无统计学意义,($P>0.05$)。2 组各项生化指标的比较见表 1。

3.2 血清 IL-6、TNF-α 水平的比较

治疗前 2 组 IL-6、TNF α - 指标无统计学意义($P>0.05$)。治疗后 2 组 IL-6、TNF-α 均有明显下降($P<0.01$),且 B 组比 A 组下降更明显,2 组间治疗后比较差异有统计学意义($P<0.01$)。2 组患者血清 IL-6、TNF-α 水平的变化见表 2。

4 讨 论

TNF-α 是一种具有多种生物学效应的多肽激素,主要由单核、巨噬细胞产生,具有双重的生物学作用,在正常情况下主要表现为抗肿瘤、抗感染等免疫调节作用,如持续释放或浓度高时则会破坏机体的免疫平衡,引起病理损伤,是体内炎性反应和一系列病理生理过程的重要介质。

糖尿病时,持续的高血糖状态可迅速形成晚期糖化终产物,刺激肾脏固有细胞表达和释放 TNF-α 增多,进而刺激肾小球系膜细胞收缩、增生,诱导 IL-6 等细胞因子的分泌,通过释放继发性细胞因子或活化宿主细胞免疫,促进肾组织细胞增殖或肥大,导致肾脏肥大,细胞外基质堆积及肾小球基底膜增厚,引起 DN 的发生与发展。TNF-α 可通过以下途径损伤肾组织:①刺激机体的氧化应激系统,使系膜细胞产生氧自由基,直接损伤肾小球内皮细胞及基底膜,另外可诱导炎症递质和生长因子的生成,增加单核细胞对血管内皮的黏附和浸润,使细胞外基质合成增加,加速肾小球硬化;②TNF-α 促进系膜细胞合成前列腺素和血小板活化因子等炎症递质,抑制抗凝血功能,促进血栓形成[5];③TNF-α 能提高单核细胞趋化蛋白 -1(MCP-1)的分泌,使系膜区单核细胞数量增多而诱导细胞外基质增加,产生肾脏慢性炎症和纤维化;④直接诱导细胞凋亡[6]。

本研究结果显示,39 例早期 DN 患者治疗前 IL-6、TNF-α 处于较高水平[7,8],经过 6 个月的治疗后,血清炎性细胞因子含量显著降低,IL-6、TNF-α 均较治疗前明显改善($P<0.01$),提示厄贝沙坦能抑制糖尿病炎症状态。结果还显示,在 EGB 联合厄贝沙坦组疗效明显优于单纯西药组,因此推测 EGB 在改善肾脏功能和提高抗炎指标活性方面作用更为突出($P<0.01$),与文献报道相似[7,8]。同时 TG、TC 与 A 组比较治疗后显著降低($P<0.01$),脂质代谢紊乱也得到改善。

综上所述,炎症反应贯穿 DN 整个过程,EGB 可显著抑制炎症反应,降低 IL-6、TNF-α 水平,减少糖尿病肾病患者 UAER,因此对早期 DN 患者及早使用 EGB 进行干预治疗可以有效减轻 UAER,改善肾功能。

参 考 文 献

[1] Choudhary N,Ahlawat R S.Interleukin-6 and C-reactive protein inpathogenesis of diabetic nephropathy:newevidencelinkinginfla mmation, glycemic control,and microalbuminuria[J].Iran J Kidney Dis,2008,2(2):72-79.

[2] Navarro-Gonz á lez J F,Jarque A,Muros M,et al.Tumor necrosis factor-alpha as a therapeutic target for diabetic nephropathy[J].Cytokine Growth Factor Rev,2009,20(2):165-173.

[3] 毛春谱,李小毅,张红梅,等.银杏叶提取物治疗早期糖尿病肾病的临床研究[J].中国综合临床,2009,25(3):299-301.

[4] Tang D,Zhang Z,Gao Y,et al.Protective effects of serum containing Ginkgo biloba extract on glomerulosclerosis in rat mesangial cells [J].J Ethnopharmacol,2009,124(1):26-33.

[5] Askari B,Ferreri N.Regulation of prostacyclin synthesis by angiotensin Ⅱ and TNF alpha in vascular smooth muscle[J].Prostaglandins Other Lipid Mediat,2001,63(4):175-187.

[6] Kuhad A,Chopra K.Attenuation of diabetic nephropathy by tocotrienol: involvement of NFkB signaling pathway[J].Life Sci,2009,84(9-10):296-301.

[7] 王 琳,徐西振,徐 玲,等.银杏叶提取物抗肿瘤坏死因子 -a 诱导的人肾小管上皮细胞凋亡及机制[J].华中科技大学学报(医学版),2008,37(2):181-184.

[8] Grunenfelder J,Nminiati D,Murata S,et al.Up-regulation of Bcl-2 through hyperbaric pressure transfection of TNF-a ameliorates is chemiare perfusion injury in rat nephropathy[J].Nephrol Dial Transplant,2004,21(2):244-250.

(责任编辑:关蕴良)