维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2005)03－0398－04

姜黄素对糖尿病大鼠肾脏一氧化氮水平的影响

于冬青，邓华聪

(重庆医科大学临床学院内分泌科，重庆 400016)

【摘 要】目的:研究姜黄素(Curcumin,Cur)对糖尿病大鼠肾组织一氧化氮水平的影响及对肾脏的保护作用。方法:链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病大鼠模型,并随机分为糖尿病组和姜黄素治疗组,另设一正常对照组。治疗组组予姜黄素 200mg/(kg·d)灌胃,为期 8 周。然后观察肾脏结构和功能及肾皮质一氧化氮(NO)水平的变化。结果:与正常对照组大鼠比较,糖尿病组大鼠、尿白蛋白排泄率(UAER)、尿白蛋白/肌酐(Alb/Cr)、肾重(KW)及肾肥大指数(KW/BW)明显升高;光镜示肾小球体积明显增大,肾小球平均截面积(MGA)和肾小球平均体积(MGV)明显增加;肾皮质 NO 水平明显增加。而姜黄素治疗组上述异常均明显减轻。结论:姜黄素能降低早期糖尿病大鼠肾组织 NO 水平,减轻肾小球高滤过和肾脏肥大,降低尿白蛋白,改善肾功能。

【关键词】糖尿病;大鼠;姜黄素;一氧化氮;肾脏

【中国图书分类法分类号】R587.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2004－09－08

Effect of curcumin on the level of nitric oxide in kidney of diabetic rats

YU Dongqing, et al

(*Department of Endocrinology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the influence of curcumin on the level of nitric oxide in kidney and the renal protective effect in diabetic rats. *Methods*: Diabetic models were induced by a single intraperitoneal injection of streptozoticin(STZ)into male Wistar rats at a dose of 60mg/kg body weight and was randomly divided into two groups: untreated diabetes group(group DM, $n = 10$) and diabetes group treated with curcumin 200mg·kg^{-1}·d^{-1}(group Cur, $n = 10$). A normal contral group(group N, $n = 10$) was also designed, After treated for eight weeks, the level of NO in kidney, renal structure and function were evaluated. *Results*: The levels of urinary albumin excretion rate (UAER), albumin－creatinine ratio(Alb/Cr), kidney weight(KW), profile of kidney hypertrophy(KW/BW), mean glomerular area (MGA) and mean glomerular volume(MGV) were all significantly increased in dialetic rats as compared with normal rats (all $P<0.01$); larger glomeruli could be found by light microscopy; the level of nitric oxide(NO) in renal cortex of diabetic rats was much higher than that in normal rats. All these abnormalities were markedly ameliorated when treated with curcumin. The levels of blood urea nitrogen(BUN) and serum creatinine(Scr) have no significant difference among the three groups. *Conclusion*: Curcumin may decrease the level of NO in kidney of diabetic rats at early stage, alleviate kidney hyperfiltration and hypertrophy, and decline UAER.

【Key words】Diabetic mellitus; Rats; Curcumin; Nitric oxide; Kidney

糖尿病肾病(DN)是糖尿病(DM)主要微血管并发症之一,亦是 DM 患者死亡的主要原因。肾脏肥大和肾小球高滤过是 DN 早期突出的病理生理改变,亦是后期发展至肾小球硬化的一个主要原因。一氧化氮是血管内皮分泌的重要活性因子,在早期 DM 肾脏血流动力学异常形成中起重要作用。姜黄素(Curcumin,二阿魏酰基甲烷)是从姜黄、郁金、莪术等的块茎中提取出来的一种酚性色素,它有多方面的药理作用,有报道它能减轻糖尿病大鼠的肾脏损害[1,2],但它发挥肾脏保护作用的确切机制尚未明确,本实验观察了姜黄素对早期实验性 DM 大鼠肾脏肥大和高滤过的疗效以及对肾组织 NO 水平的影响,探讨该药的作用机理,寻求早期防治 DN 的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料、试剂与仪器

8 周龄清洁级雄性 Wistar 大鼠,体重 175～200g,购自第

作者介绍:于冬青(1972－),女,博士,
主要研究方向:糖尿病肾病病因及防治。

维普资讯 http://www.cqvip.com

三军医大学大坪医院实验动物中心。链脲佐菌素(Sigma 公司),姜黄素(上海三爱思试剂有限公司),尿素氮、肌酐、一氧化氮及组织蛋白含量测定试剂盒(南京建成生物工程研究所),尿白蛋白测定试剂盒(中国原子能科学研究院同位素所)。微量血糖仪(One Touch Ⅱ型,美国强生公司),糖化血红蛋白测定仪(德国拜耳公司),722 光栅分光光度计(重庆川仪九厂),CMISA 彩色图像处理系统(北京航空航天大学)。

1.2 动物模型的建立与分组

所有大鼠适应性喂养 1 周,禁食 10h 后,随机先取 25 只,以 60mg/kg 体重单次腹腔注射 0.5% 的链脲佐菌素溶液,72h 后尾静脉采血测血糖,以血糖浓度 > 16.65mmol/L 作为糖尿病模型建立标准[3],共成模 20 只,未成模的剔除。成模大鼠随机分为糖尿病组和姜黄素治疗组,每组 10 只。另 10 只大鼠作为正常对照组。姜黄素用 1% 羧甲基纤维素配成混悬液,治疗组每日以姜黄素 200mg/kg 体重灌胃,另两组给以等量的羧甲基纤维素灌胃,为期 8 周。实验期间动物自由进食进水,未使用胰岛素及其它降糖药物。

1.3 观察指标和测定方法

在用药 8 周末,尾静脉采血测血糖,用代谢笼准确收集 24h 尿液,-70℃ 保存,待测尿白蛋白排泄率(放免法);腹腔注射 20% 乌拉坦麻醉大鼠,心脏穿刺抽血,取 0.5ml 血 EDTA 抗凝待测糖化血红蛋白(HbA1c),其余血分离血清,严格按度剂盒说明书操作,测定血尿素氮、血肌酐和尿肌酐水平。取双肾,去除肾包膜,迅速称重,左肾用 4% 多聚甲醛固定,做石蜡切片行 HE 染色,用 CMISA 彩色图像处理系统,在 200 倍下进行病理分析,每张切片随机选择 10 个正切的肾小球,测肾小球平均截面积(MGA),取其平均值作为每个标本的 MGA,根据肾小球平均体积(MGV)公式[MAV = 1.25 × $(MGA)^{3/2}$]计算 MGV。另取少需肾皮质制成 10% 的匀浆待测一氧化氮。

1.4 统计学处理

实验所得数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SAS 软件进行组间方差分析,每两组间均数的比较用 q 检验,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠的血糖和糖化血红蛋白水平

糖尿病组和姜黄素治疗组大鼠在实验结束前各死亡 1 只,正常对照组大鼠无 1 只死亡。糖尿病组和姜黄素治疗组血糖治疗组血糖和糖化血红蛋白显著高于正常对照组($P < 0.01$),姜黄素治疗组血糖和糖化血红蛋白与糖尿病组相比有一定降低,但差异无显著性($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠肾功能各指标的变化

糖尿病组和姜黄素治疗组大鼠的尿白蛋白排泄率(UAER)、尿白蛋白/肌酐(Alb/Cr)均明显高于正常对照组(均 $P < 0.01$),姜黄素治疗组较糖尿病组上述各指标均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),三组间血尿素氮(BUN),血肌酐(Scr)两两比较均无显著性差异($P > 0.05$),见表 2。

表 1 8 周末各组大鼠 BS、HbA1c 及肾皮质 NO 水平($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(n)	BS(mmol/L)	HbAlc(%)	肾 NO(μmol/g.prot)
正常对照组	10	4.95 ± 0.18	4.33 ± 0.21	0.70 ± 0.35
糖尿病组	9	29.67 ± 3.75**	14.16 ± 0.89**	1.93 ± 0.48**
姜黄素治疗组	9	27.54 ± 3.63**	13.57 ± 0.63**	1.21 ± 0.42**△

与正常对照组比较,**$P < 0.01$;与糖尿病组比较,△$P < 0.05$

表 2 8 周末各组大鼠肾功能各指标的水平($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(n)	BUN(mmol/L)	Scr(μmol/L)	UAER(μg/24h)	Alb/Cr(μg/μmol)
正常对照组	10	7.60 ± 3.56	51.54 ± 7.67	23.74 ± 3.57	0.39 ± 0.13
糖尿病组	9	11.30 ± 3.97**	60.13 ± 10.72**	107.21 ± 7.36**	2.52 ± 0.78**
姜黄素治疗组	9	9.42 ± 3.25*△	52.46 ± 8.04*△△	66.32 ± 5.46**△△	1.31 ± 0.42**△

与正常对照组比较,*$P < 0.05$,**$P < 0.01$;与糖尿病组比较,△$P < 0.05$,△△$P < 0.01$。

表 3 8 周末各组大鼠肾重、肾重/体重、肾小球平均截面积(MGA)肾小球平均体积(MGV)水平($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(n)	肾重(g)	肾重/体重(×10^2)	MGA(×$10^{-3}\mu m^2$)	MGV(×$10^{-4}\mu m^3$)
正常对照组	10	1.95 ± 0.18	0.78 ± 0.04	6.26 ± 0.44	62.15 ± 6.56
糖尿病组	9	3.45 ± 0.37**	1.18 ± 0.13**	9.52 ± 0.97**	116.61 ± 17.48**
姜黄素治疗组	9	2.38 ± 0.25*△△	1.01 ± 0.09*△	7.65 ± 0.53*△△	83.74 ± 8.86**△△

与正常对照组比较,*$P < 0.05$,**$P < 0.01$;与糖尿病组比较,△$P < 0.05$,△△$P < 0.01$。

维普资讯 http://www.cqvip.com

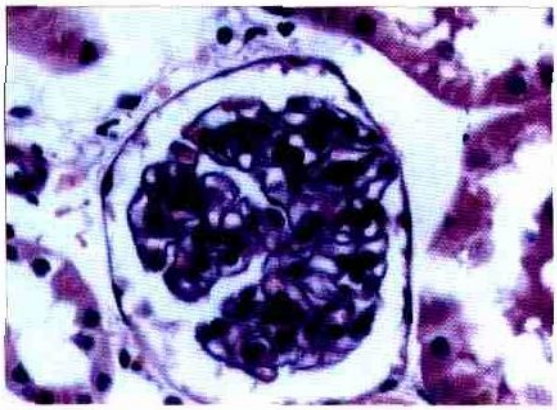


图 1 正常对照组大鼠肾小球 (HE 染色×400)

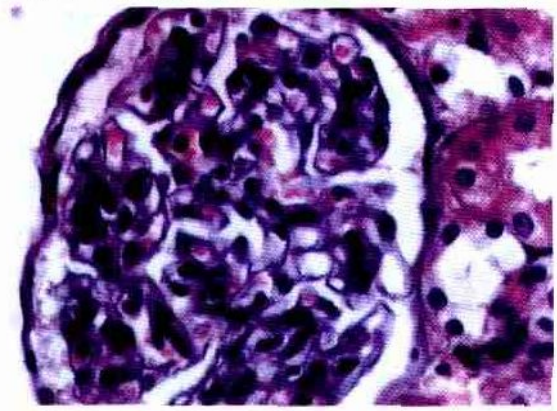


图 2 糖尿病组大鼠肾小球,示肾小球体积明显增大,细胞数目增多 (HE 染色×400)

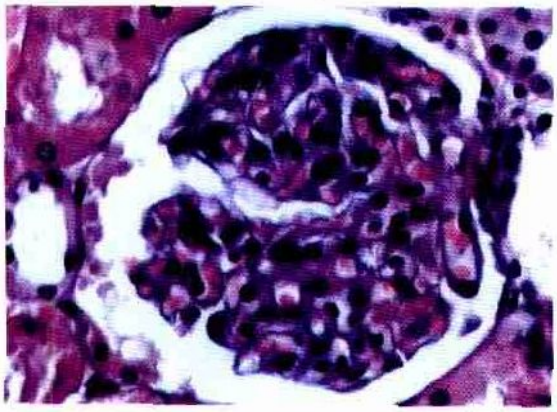


图 3 姜黄治疗组大鼠肾小球,示肾小球体积增大,细胞数目增多,但较糖尿病组明显减轻。 (HE 染色×400)

2.3 各组大鼠肾脏重量及肾肥大指数的变化

糖尿病组大鼠的肾脏重量(KW)、肾脏肥大指数(KW/BW)均明显高于正常对照组($P<0.01$),姜黄素治疗组较糖尿病组上述各指标明显降低($P<0.01$, $P<0.05$),但仍高于正常组(均 $P<0.05$)见表 3。

2.4 各组大鼠肾脏组织病理学的特点

与正常对照组相比,光镜下 HE 染色切片可糖尿病组大鼠肾小球体积显著增大,系膜区增宽。见图 1~3。用 CMISA 彩色图像处理系统进行分析,示肾小球平均截面积(MGA)和肾小球平均体积(MGV)均明显高于正常对照组(均 $P<0.01$),而姜黄素组上述改变明显轻于糖尿病组。见表 3。

2.5 各组大鼠肾皮质一氧化氮水平

糖尿病组大鼠肾皮质 NO 水平明显高于正常组($P<0.01$),姜黄组组与糖尿病组相比,NO 水平明显降低($P<0.05$),但仍高于正常组($P<0.01$)。见表 1。

3 讨 论

肾小球高滤过和肾肥大是早期糖尿病肾病的特点,进一步发展则基底膜增厚、细胞外基质积聚、肾小球硬化和小管间质纤维化,最终致末期肾功能衰竭[4]。本实验结束时,糖尿病模型组大鼠肾重、肾肥大指数、肾小球平均截面积和肾小球平均体积明显增加,光镜观察亦示肾小球体积增大,系膜区增宽,表明已出现了明显的肾小球高滤过和肾脏肥大;同时 24h 尿白蛋白排泄率及尿白蛋白/肌酐较正常组均明显增高。而姜黄素治疗组上述异常均明显减轻,表明姜黄素对糖尿病大鼠肾脏有保护作用,能减轻肾小球高滤过和肾脏肥大,降低尿白蛋白,延缓糖尿病肾病的发展。

一氧化氮(NO)是在一氧化氮合成酶(NOS)作用下,将 L-精氨酸转变为 L-胍氨酸过程中的氧化产物。它是血管内皮分泌的一重要活性因子,可通过激活可溶性鸟苷酸环化酶,升高 cGMP 水平发挥多种生理效应,如舒张血管、抑制血小板聚集、抗平滑肌细胞增殖、调节神经递质传递等。多项研究表明糖尿病早期,由于高血糖状态促进肾脏 NOS 表达增加因素,肾脏 NO 生成是增多的[5]。本实验亦发现糖尿病大鼠肾脏 NO 水平明显增加,与文献报道相符合。

肾内 NO 生成增多是引起糖尿病肾病早期高灌注、高滤过的主要原因。NO 是一种具有强烈扩血管作用的物质,由于出入球小动脉对 NO 敏感性不同,局部产生的 NO 只控制入球小动脉的阻力和超滤系数,而出球小动脉对 NO 不甚敏感。因此,局部大量生成的 NO 强力舒张入球小动脉而出球小动脉舒张甚弱,致使肾小球内压升高,肾小球高滤过形成[6]。另外过多的 NO 还可增加球管反馈机制,这

维普资讯 http://www.cqvip.com

亦参与了肾脏高灌注、高滤过的形成[7]。本实验姜黄素治疗组大鼠肾脏 NO 含量较糖尿病组明显降低,表明姜黄素能降低早期糖尿病大鼠肾脏 NO 水平,这可能在其减轻糖尿病大鼠肾脏高滤过和肾脏肥大、改善肾脏结构和功能中发挥一定作用。已知姜黄素是一种 iNOS 抑制剂,同时它又是一种天然抗氧化剂,能清除各种自由基,Sreejayan 等报道它对超氧阴离子、NO 等都有很强的清除能力[8,9],所以姜黄素可能通过抑制 NO 合成或加速其清除从而使其在肾脏中含量降低。

另外,本研究发现,姜黄素治疗组大鼠与糖尿病组大鼠间血糖和糖化血红蛋白水平无明显差异,这表明姜黄素不能纠正糖尿病大鼠的糖代谢紊乱,它对糖尿病大鼠的肾脏保护作用与血糖水平无关。

总之,本研究表明姜黄素使早期糖尿病大鼠肾脏 NO 水平降低,这可能是其纠正糖尿病早期肾血流动学紊乱,减轻肾脏肥大,降低蛋白尿,改善肾功能的作用机制。

参 考 文 献

[1] Suresh Babu P, Srinivasan K. Amelioration of renal lesions associated with diabetes by curcumin in streptozocin diabetic rats [J]. Mol Cell Biochem, 1998; 181(1-2): 87-96.

[2] Suresh Babu P, Srinivasan K. Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat[J]. Mol Cell Biochem, 1995; 152(1): 13-21.

[3] 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.

[4] Wolf G, Ziyadeh FN. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy[J]. Kidney Int, 1999; 56(2): 393-340.

[5] Chiarelli F, Cipollone F, Romano F, et al. Increased circulating nitric oxide in young patients with type 1 diabetes and persistent microalbuminuria: relation to glomerular hyperfiltration[J]. Diabetes, 2000; 49(7): 1258-1263.

[6] Veelken R, Hilgers KF, Hartner A, et al. Nitric oxide synthase isoforms and glomerular hyperfiltration in early diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2000; 11(1): 71-79.

[7] Thorup C, Ollerstam A, Persson AE, et al. Increased tubuloglomerular feedback reactivity is associated with increased NO production in the streptozotocin-diabetic rat[J]. J Diabet Complic, 2000; 14(1): 46-52.

[8] Zheng M, Ekmekcioglu S, Walch ET, et al. Inhibition of nuclear factor-kappaB and nitric oxide by curcumin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human melanoma cells [J]. Melanoma Res, 2004; 14(3): 165-171.

[9] Sreejayan, Rao IN. Nitric Oxide scavenging by curcuminoids[J]. J Pharm Pharmacol, 1997; 49(1): 105-107.

(上接第 355 页)

neurons and astrocytes[J]. Neurosci, 1992; 12(11): 4565-4574.

[15] Reynold BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian nervous system [J]. Science, 1992; 255(5052): 1707-1710.

[16] Clarke SR, Shetty AK, Bradley JL, et al. Reactive astrocytes express the embryonic intermediate neurofilament nestin [J]. Neuroreport, 1994; 5(15): 1885-1888.

[17] Frise´n J, Johansson CB, To ro k C, et al. Rapid, widespread, and longlasting induction of nestin contributes to the generation of glial scar tissue after CNS injury[J]. Cell Biol 1995; 131(2): 453-464.

[18] Johansson CB, Momma S, Clarke DL, et al, Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system[J]. Cell, 1999; 96(1): 25-34.