维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2001)02-0113-00

维生素C对糖尿病大鼠尿白蛋白排泄率的影响

肖 谦，汪恕萍，何 军

（重庆医科大学临床学院内分泌科 重庆 400016）

【摘 要】目的：研究不同剂量维生素C对糖尿病大鼠尿白蛋白排泄的影响。方法：实验大鼠随机分为五组：C组：正常对照；D组：糖尿病组；DT1组：糖尿病+维生素C30mg/kg/d；DT2组：糖尿病+维生素C90mg/kg/d；DT3组：糖尿病+维生素C 270mg/kg/d；分别在第1、2、4、6、8周测定尿白蛋白的排泄率，第9周测定血浆和肾脏维生素C水平。结果：与对照组相比，D组血浆、肾脏维生素C水平显著降低（$P<0.05$）。DT_1、DT_2、和DT_3组无显著性差异。实验4、6、8周DT_1、DT_2、DT_3组尿白蛋白的排泄率显著低于D组（$P<0.05$）。DT_1、DT_2、DT_3组相应各时相点之间尿白蛋白排泄率差异无显著性。结论：补充维生素C可显著降低糖尿病大鼠尿白蛋白的排泄率，维生素C可能对防治糖尿病肾病有一定作用。

【关键词】维生素C；尿白蛋白排泄率；糖尿病大鼠

【中国图书分类法分类号】R797.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2000-10-26

The effects of Vitamin C on urinary albumin excretion rate in rats with streptozotocin-induced diabetes

XIAO Qian, et al

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

【Abstract】 *Objective*: To investigate the effects of the different doses of vitamin C on urinary albumin excretion rate （UAER） in diabetic rats. *Methods*: The rats were randomly divided into following groups: group C,control group; group D,streptozotocin-induced diabetic rats; group DT_1,diabetic rats treated with vitamin C 30 mg /kg/d ; group DT_2, diabetic rats treated with vitamin C 90; and group DT, diabetic rats treated with vitamin C 270 mg/kg/d. UAER were measured at 1,2,4,6 and 8 weeks, respectively. The concentrations of vitamin C in plasma and kidney were determined at 9 week. *Results*: Compared with group C, the levels of vitamin C in the plasma and kidney of group D decreased significantly （$P<0.05$）, which could be normalized by supplementation with vitamin C in group DT_1, DT_2 and DT_3. At 4, 6 and 8 weeks, levels of UAER in the group DT_1, DT_2 and DT_3 had markedly decreared compared with group D （$P<0.05$）, and there were no significant difference among DT_1, DT_2 and DT_3, respectively. *Conclusion*: UAER decreased significantly in diabetic rats that received vitamin C. Administration of vitamin C in diabetic patients may be beneficial in attenuating the progression of diabetic nephropathy.

【Key words】 Vitamin C; Urinary albumin excretion rate; Diabetic rat

尿白蛋白排泄率（urinary albumin excretion rate, UAER）是临床上糖尿病肾病诊断和分期的主要指标。维生素C(抗坏血酸)是体内最重要的水溶性维生素，参与体内多种重要的生理生化过程。糖尿病时体内维生素C水平下降[1]，最近国外报道糖尿病患者补充维生素C可减少尿白蛋白排出[2]。本研究通过不同剂量维生素C干预糖尿病大鼠，旨在探讨糖尿病时维生素C水平下降与UAER的关系，为临床防治糖尿病肾病提供佐证和参考。

作者介绍：肖 谦（1956- ），男，四川成都人，副教授，博士生，主要研究方向：糖尿病慢性并发症防治。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物：Wistar大鼠，雌雄各半，由重庆第三军医大学大坪医院动物中心提供，体重180～220g(195±20g)，预养一周后体重195～270g(225±25g)。

1.1.2 主要试剂与药品：链脲菌素(STZ)购自美国ALEXIS公司，维生素C(抗坏血酸)为郑州化学试剂二厂产品。维生素C测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所，尿白蛋白试剂盒为北京中国原子能科学研究院同位素研究所产品。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备：链脲菌素(STZ)溶于0.1mmol/L pH4.0

维普资讯 http://www.cqvip.com

枸橼酸盐缓冲液，针头式滤器(0.2μm)除菌，按60mg/kg腹腔注射STZ溶液。对照组用等体积缓冲液，72h后取尾静脉血用Sure Step血糖仪测血糖>17mmol/L为造模成功。

1.2.2 动物分组及给药方式

随机分为五组，维生素C用蒸馏水配制成3mg/ml、9mg/ml、27mg/ml三种浓度，每日上午9:00～9:30插管喂饲，对照组和糖尿病组给予同体积蒸馏水，维生素C每周一次新鲜配制，为使D组和DT1、DT2、DT3组血糖和糖基化血红蛋白基线水平无显著差异和避免酮症，每日上午9:00～9:30腹腔注射鱼精蛋白锌胰岛素一次，每次2～4U，剂量根据血糖水平调整，每周一次上午8:30～9:00采尾静脉血，Sure Step血糖仪检测血糖水平，若血糖波动大，增加监测频率。

1.2.3 标本采集与检测：分别于实验1、2、4、6、8周将各组大鼠依次单只置代谢笼饲养，收集24小时尿液，甲苯防腐，－20℃保存待测。实验第9周按1mg/kg体重腹腔注射10%水合氯醛麻醉，心腔穿刺取血，肝素抗凝，测血浆维生素C、血糖和糖基化血红蛋白，4℃生理盐水经主动脉彻底灌流后取肾，匀浆后测维生素C。

血糖测定用葡萄糖氧化酶法，糖基化血红蛋白测定用微柱法；组织匀浆蛋白质含量测定以牛血清白蛋白为标准用Lowry氏法，尿白蛋白、血浆和肾组织维生素C测定均按试剂盒说明操作。

1.3 统计学方法

结果以平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，组间比较用方差分析，检验水平$\alpha=0.05$，所有处理用SAS6.12软件进行。

2 结 果

2.1 各组实验终点时血糖、糖基化血红蛋白(HbA_{1c})、血浆维生素C、肾脏维生素C水平

见表1。结果显示D、DT_1、DT_2、DT_3组各组间血糖、糖基化血红蛋白水平差异无显著性（$P>0.05$）。D组血浆维生素C、肾脏组织维生素C水平显著低于C、DT_1、DT_2、DT_3组（$P<0.05$）。C、DT_1、DT_2、DT_3各组间血浆、肾脏组织维生素C水平差异无显著性($P>0.05$)。

2.2 各组各时相点尿白蛋白排泄率

见表2，可见D、DT_1、DT_2、DT_3各组在4、6、8周UAER均显著高于C组($P<0.01$)，且分别显著高于各自组1、2周水平($P<0.05$)，D组在4、6、8周时UAER显著高于DT_1、DT_2、DT_3组相应时相点($P<0.05$)，DT_1、DT_2、DT_3组相应各时相点之间UAER差异无显著性($P>0.05$)。

3 讨 论

3.1 研究表明糖尿病时维生素C代谢异常，血浆、各组织器官维生素C水平显著降低，本实验结果与国外报道一致[3]。我们的研究还显示不同剂量组血浆和肾脏组织维生素C水平与对照组无显著差异，这可能与维生素C的吸收和肾脏排泄阈值有关。糖尿病时体内维生素C水平降低的机制未完全明了，有人认为与糖尿病时机体氧化应激增加有关[3]。作

表1 各组实验终点时血糖(PG)、糖基化血红蛋白(HbA1c)、血浆维生素C、肾脏维生素C水平($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	PG(mmol/L)	HbA1c(%)	血浆维生素C(μg/ml)	肾脏维生素C(μg/mgpr)
C	7	5.63±1.28	4.66±0.58	24.4±4.27	1.54±0.25
D	6	24.40±4.01△	10.60±1.44△	18.6±2.31△*	1.12±0.21△*
DT1	6	20.30±0.73△	10.20±1.03△	24.5±2.58	1.55±0.35
DT2	7	22.70±2.00△	11.10±0.76△	25.2±2.62	1.70±0.62
DT3	7	21.70±2.57△	9.51±0.89△	25.1±3.06	1.57±0.19

△与对照组比较$P<0.05$；*与治疗组比较$P<0.05$

表2 各组各时相点尿白蛋白排泄率($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	尿白蛋白排泄率(ng/24h)				
		1周	2周	4周	6周	8周
C	7	2.36±0.41	2.33±0.73	2.54±0.51	2.21±0.61	2.20±0.83
D	6	1.92±0.29	2.60±0.37	6.51±0.81△*	8.75±1.23△*	11.50±0.87△*
DT1	6	2.41±0.77	2.28±1.21	5.77±0.73△*	5.88±0.82△*	4.85±1.04△*
DT2	7	2.11±0.76	2.64±0.42	4.62±0.66△*	5.93±1.08 *	4.46±0.52△*
DT3	7	2.45±0.62	2.89±0.72	4.71±0.68△*	5.83±1.48△*	5.61±1.07△*

△与对照组比较$P<0.05$；*与本组第1周比较$P<0.05$；▲与治疗组比较$P<0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

为体内最主要的水溶性抗氧化剂，糖尿病时机体的高氧化应激状态必然使维生素C消耗增多。另有研究提示糖尿病时葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6PD)活性降低使还原型辅酶Ⅱ(NADPH)产生减少[4]，而维生素C循环再生时需NADPH供氢。最新的研究显示组织细胞逆浓度梯度摄取还原型和氧化型维生素C主要依靠葡萄糖转运子(GLUT)[5,6]，而糖尿病时葡萄糖转运子mRNA表达下调，活性下降[7]，致维生素C进入细胞障碍可能是组织器官维生素C水平下降的重要原因。

3.2 本研究显示糖尿病4周后大鼠UAER显著增高，且有随时间增加趋势，三种剂量维生素C治疗后各时相点UAER均有显著降低。维生素C降低UAER的机制尚未完全阐明，推测与多方面的因素有关。维生素C缺乏影响胶原蛋白的加工修饰可能是原因之一。Ⅳ型胶原是肾小球基底膜的重要结构成分，其多肽链中的脯氨酸和赖氨酸羟化分别由脯氨酸羟化酶和赖氨酸羟化酶催化进行，此二种羟化作用均以维生素C为辅因子。维生素C缺乏可妨碍此二种氨基酸的羟化[8]，进而影响胶原三股螺旋的结构稳定和胶原微纤维的生成。另有研究发现维生素C可增加肾小球基底膜中硫酸乙酰肝素的硫酸化[9]，此为维持肾小球滤过膜电荷屏障的重要条件。多元醇通路激活作为糖尿病慢性并发症的主要发病机制之一已得到广泛认同。在此通路中，醛糖还原酶(aldose reductase,AR)以NADPH为辅酶将葡萄糖还原为山梨醇，糖尿病时AR与谷胱甘肽还原酶竞争利用NADPH，使还原型谷胱甘肽生成减少、自由基清除能力下降。多元醇通路中间代谢衍生物3-脱氧葡萄糖醛酮是蛋白非酶糖基化过程中的前期产物[10]，该通路激活可增加机体氧化应激和蛋白非酶糖基化，此二点正是糖尿病慢性并发症发生发展的重要机制。有学者认为维生素C即是一种醛糖还原酶抑制剂，生理剂量的维生素C可使糖尿病病人红细胞内山梨醇水平下降25～45%[11]，用AR抑制剂可明显减少糖尿病病人终末糖基化产物(AGE)的生成[12]。维生素C可能正是通过抑制AR，进而阻抑了导致糖尿病肾病发生发展的其他因素。

本研究还初步探讨了不同剂量维生素C对UAER的影响，结果显示三种剂量差异无显著性，与不同剂量组血浆、肾脏维生素C水平差异无显著性吻合。实验中DT2组剂量按文献报道设定[2]，相当于人65kg体重每日1g，为临床普通常用剂量，更小剂量有无降低糖尿病病人UAER效应有待临床进一步探讨。但考虑到大鼠可利用葡萄糖的碳链自身合成部分维生素C，而人体内缺乏合成维生素C的酶类，必须全部由食物提供，此剂量或许是适当的。由于维生素C在体内存在饱和现象，大剂量补充也未必有更好效果。

参 考 文 献

[1] Som S, Basu D, Mukherjee S, et al. Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus[J].Metabolism,1981;30:572-577.

[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 [J]. Nephron,1998; 80:277-284.

[3] Sun F, Iwagchi K, Sbudo R, et al. Change in tissue Concentration of lipid hydroperoxides, Vitamin C and Vitamin E in rats with streptozotocin-induced diabetes [J]. Clin Sci, 1999; 96:185-190.

[4] Bode AM, Yavarow CR, Fry DA, et al. Enzymatic basis for altered ascorbic acid and dehydroascorbic acid levels in diabetes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1993;191:1347-1353.

[5] Welch RW, Wang Y, Crossman A, et al. Accumulation of Vitamin C (ascorbate) and its oxidized metabolite dehydroascorbic acid occurs by separate mechanisms [J]. J Biol Chem, 1995;270:12584-12592.

[6] Rumsey SC, Daruwals R, Al-Hasani H, et al. Dehydroascorbic acid transport by GLUT4 in xenopus oocytes and isolated rat adipocytes [J]. J Biol Chem, 2000;275:28246-28253.

[7] Marette A, Dimitrakoudis D, Shi Q, et al. Glucose rapidly decreases plasma membrane GLUT4 content in rat skeletal muscle [J]. Endocrine, 1999;10:13-18.

[8] Mclennan S, You DK, Fisher E, et al. Deficiency of ascorbic acid in experimental diabetes [J]. Diabetes, 1988;37:359-361.

[9] McAuliffe AV, Fisher EJ, Mclennan SV, et al. High glucose inhibits effect of ascorbec acid on [35S] sulphate incorporation in mesangial cell and matrix proteoglycan [J]. Diabetes Res Clin Pract, 1997;37:101-108.

[10] Hamada Y, Araki N, Horiuchi S, et al. Role of polyol pathway in nonenzymatic glycation [J]. Nephrol Dial Transplant, 1996;11:(s)5 95-98.

[11] Vincent TE, Mendiratte S, May JM. Inhibition of aldose reductase in human erythrocytes by Vitamin C [J]. Diabetes Res Clin Pract, 1999;43:1-8.

[12] Tsukushi S, Katsnzaki T, Aoymama I, et al. Increased erythrocyte 3-DG and AGEs in diabetic hemodialysis patients: role of the polyol pathway [J]. Kidney Int, 1999;55:1970-1976.