

糖脂平颗粒对糖尿病肾病大鼠肾组织 NO, NOS 的影响

李长新¹, 谢东霞^{2*}, 黄显章²

(1. 舞钢市中医院, 河南 舞钢 462500; 2. 南阳理工学院张仲景国医学院, 河南 南阳 473000)

[摘要] 目的: 通过观察糖脂平颗粒对糖尿病肾病大鼠肾组织一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)水平的影响。探讨糖脂平颗粒对糖尿病肾病大鼠肾脏的保护作用。方法: Wistar 大鼠 60 只, 雌雄各半, 采用高脂饲料加小剂量(40 mg·kg⁻¹) ip 链脲佐菌素(STZ)造模, 按体重编号, 以随机数字表法分为 4 组: 模型组、糖脉康颗粒组、糖脂平颗粒高、低剂量组, 分别给与生理盐水、糖脉康颗粒、糖脂平颗粒进行干预, 测定干预后各组大鼠肾组织匀浆 NO 和 NOS, 制备肾组织切片, 观察肾组织形态学改变。结果: 治疗后各治疗组 NO 为(37.24 ± 4.16) ~ (44.74 ± 6.08) μmol·g⁻¹与模型组(30.47 ± 8.33) μmol·g⁻¹比较升高, NOS 各治疗组为(0.44 ± 0.13) ~ (0.61 ± 0.17) U·mg⁻¹与模型组(0.27 ± 0.14) U·mg⁻¹比较亦升高, 均有显著性差异(P < 0.05), 糖脂平颗粒小剂量组与糖脉康颗粒组比较, 指标均没有显著性差异; 而糖脂平颗粒大剂量组与糖脉康颗粒组比较, NO 及 NOS 均有显著性差异糖脂平颗粒高剂量组治疗效果优于低剂量组和糖脉康颗粒组。肾组织切片显示: 糖脂平颗粒 2 个高、低剂量组和糖脉康颗粒组肾脏组织均有不同程度的修复, 糖脂平颗粒高剂量组优于其他各给药组。结论: 糖脂平颗粒可升高糖尿病肾病大鼠肾组织匀浆一氧化氮及 NOS, 同时促进肾脏受损组织的修复, 对糖尿病肾脏具有保护作用

[关键词] 糖脂平颗粒; 糖尿病肾病; 大鼠; 一氧化氮; 一氧化氮合酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0182-03

Effect of Tangzhiping Granules on Nitric Oxide, Nitric Oxide Synthase and Morphological Changes in Kidney in Rats with Diabetic Nephropathy

LI Chang-xin¹, XIE Dong-xia^{2*}, HUANG Xian-zhang²

(1. Wugang Hospital Chinese Medicine, Wugang 462500, China;

2. Zhang zhongjing Chinese Medicine College Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Tangzhiping granules on NO, NOS and morphological changes of kidney tissue in diabetes mellitus (DM) Wistar rats with nephropathy. **Method:** The diabetic nephropathy model of rats with was successfully made by high adipose diet and injection of streptozocin (STZ) in abdominal cavity. Then the rats were intervened with Tangmaikang granules and Tangzhiping granules and the contents of NO and NOS were detected. The morphological changes in kidney tissue were observed. **Result:** After treatment, and the contents of NO and NOS in kidney in the treatment groups were increased significantly compared with that of the model (P < 0.05), The contents of NO and NOS in the Tangzhiping high dose group were increased significantly compared with those in the positive drug group and in the Tangzhiping low dose group (P < 0.05). Morphological slides showed that the Tangzhiping high and low doses and the positive control drug had protective effect on injury caused by diabetic nephropathy. The protection come from the Tangzhiping high dose was the most. **Conclusion:** Tangzhiping granules can increase NO and NOS in rats with diabetic nephropathy and promote the kidney tissue repairs at the same time.

[Key words] Tangzhiping granules; diabetic nephropathy; Wistar rats; nitric oxide; nitric oxide synthase

[收稿日期] 20101227(005)

[第一作者] 李长新, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 糖尿病及其并发症的防治, Tel: 15237567799, E-mail: pdsyxc@sina.com

[通讯作者] * 谢东霞, 医学硕士, 副教授, 主要从事中医内科临床、科研及教学, Tel: 13513776369, E-mail: XDX6369@163.com

糖尿病肾病是糖尿病最严重也是最常见的慢性并发症之一,它引发的终末期肾功能衰竭正在成为威胁糖尿病患者生命的主要原因。据文献报道^[1],病程为7~10年的糖尿病患者22%发展为糖尿病肾病,因此早期控制病情,预防或延缓糖尿病肾病的发展,对提高患者生存率有重要意义。糖脂平颗粒由糖脂平颗粒由甘肃道地药材红芪、西洋参、熟地黄、山药、山茱萸、茯苓、泽泻、丹皮、水蛭、瓜蒌皮、菟蔚子、僵蚕等组成,为甘肃中医学院药学系和科研中心联合研制的制剂。为探讨糖脂平颗粒治疗糖尿病肾病的作用机制进行了本实验研究。

1 材料

1.1 动物 SPF级Wistar大鼠60只,雌雄各半,体重约为(200±20)g,甘肃中医学院科研实验中心提供,实验动物合格证编号SCXK(甘)2004-0006-0000405,动物在SPF条件下饲养,普通饲料或高脂高糖饲料喂养,自由饮水。

1.2 药物及试剂 糖脂平颗粒,甘肃中医学院药学系和科研中心联合制备。糖脉康颗粒,四川成都中汇制药有限公司,批号080811。链脲佐菌素(STZ),美国Sigma公司,批号S8050,临用前用预先高压灭菌的0.1 mol·L⁻¹柠檬酸盐缓冲液(pH 4.4)配成1%的溶液(10 g·L⁻¹ STZ)。一氧化氮测定试剂盒(批号20080725)、一氧化氮合酶测定试剂盒(批号20080728)、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(批号20080728),均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 仪器 721分光光度仪(北京第二光学仪器厂,型号VIS-7220)。电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂生产,型号HS21-4)。低速离心机(北京医疗器械修理厂生产,型号KDC-2044)。光学读数分析天平(湘仪天平仪器厂生产,型号TG328B)。

2 方法

2.1 造模分组及给药 适应性饲养1周,按体重编号,以随机数字表法抽取8只为空白组,用普通饲料喂养;其余大鼠为造模大鼠,以高脂高糖饲料喂养。第6周末开始造模。造模大鼠一次性ip 40 mg·kg⁻¹ STZ^[2];空白组大鼠ip等体积的柠檬酸盐缓冲液(pH 4.4)。第8周末,大鼠禁食不禁水12 h后,按2 g·kg⁻¹体重灌喂葡萄糖,做口服糖耐量试验,凡0 min 血糖≥7.8 mmol·L⁻¹或120 min 血糖≥11.1 mmol·L⁻¹的大鼠为造模成功^[3]。选择造模成功的大鼠,按体重编号并依照随机数字表法进行实验分

组。各组动物分别ig药物或生理盐水10 mL·kg⁻¹,每日1次,给药剂量以人用剂量按大鼠与人体表面积折算成等效剂量。糖脉康组每日ig糖脉康溶液1.35 g·kg⁻¹;糖脂平高、低剂量治疗组分别每日ig等体积糖脂平溶液2.7,0.675 g·kg⁻¹。

2.2 标本采集及检测 第12周末,各组大鼠均禁食不禁水12 h,尾静脉取血测血糖后,ip 2%戊巴比妥钠生理盐水溶液(40 mg·kg⁻¹)麻醉,处死大鼠,取大鼠左肾(0.2~1 g),去除包膜,用冰冷的生理盐水漂洗,除去血液,滤纸拭干,称重,移入小烧杯中,冰浴,用眼科小剪尽快剪碎组织块,按1:9的比例加入预冷的生理盐水,手工匀浆(冰浴),3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,制成10%肾脏组织匀浆,用硝酸还原酶法测定肾组织匀浆中NO含量,应用化学比色法测定NOS活性。另制备肾组织切片,观察肾组织形态学改变。

2.3 数据的统计及处理 采用SPSS 16.0软件统计,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间均数比较采用单因素方差分析检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般状态 正常组大鼠精神状态良好,动作自如,反应灵敏,造模成功的糖尿病大鼠均有不同程度的精神萎靡,体态肥胖,蜷卧眯眼、拱背扎堆、活动迟缓,毛竖无光泽现象。随着实验进展,给药组大鼠体重逐渐下降,与模型对照组大鼠生活习性 & 体重无明显差异。

3.2 糖脂平颗粒对糖尿病胰岛素抵抗大鼠肾脏组织匀浆一氧化氮的影响 模型组大鼠与空白组比较NO含量显著下降($P < 0.01$)。糖脂平颗粒高、低剂量组及糖脉康颗粒组与模型组比较NO含量均显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),其中糖脂平颗粒高剂量NO含量升高更为明显($P < 0.01$)。见表1。

3.3 糖脂平颗粒对糖尿病胰岛素抵抗大鼠肾脏组织匀浆NOS的影响 模型组大鼠与空白组比较NOS含量显著下降($P < 0.01$)。糖脂平颗粒高、低剂量组及糖脉康颗粒组与模型组比较NOS含量均显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),其中糖脂平颗粒大剂量NOS含量升高更为明显($P < 0.01$)。见表2。

3.4 糖脂平颗粒对糖尿病胰岛素抵抗大鼠肾脏组织形态的影响 由肾脏组织切片可以看出,空白组大鼠肾脏组织细胞排列整齐,细胞形态未见异常,肾

表 1 各组大鼠肾脏组织匀浆 NO 比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	NO/ $\mu mol \cdot g^{-1}$
空白	-	55.08 \pm 7.49 ²⁾
模型对照	-	30.47 \pm 8.33
糖脉康颗粒	1.35	37.24 \pm 4.16 ¹⁾
糖脂平	2.7	44.74 \pm 6.08 ²⁾
	0.675	37.75 \pm 5.57 ¹⁾

注:与模型组相比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 各组大鼠肾脏组织匀浆 NOS 比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	NOS/ $U \cdot mg^{-1}$
空白	-	0.79 \pm 0.15 ¹⁾
模型对照	-	0.27 \pm 0.14
糖脉康颗粒	1.35	0.44 \pm 0.13 ¹⁾
糖脂平	2.7	0.61 \pm 0.17 ²⁾
	0.675	0.44 \pm 0.22 ¹⁾

小球和肾小管结构形态完整,未见扩张。模型组大鼠肾小球系膜明显扩张,肾小管上皮细胞颗粒样变性,有少量脂肪滴,肾小管扩张明显。与模型组相比,糖脂平颗粒高、低剂量组及糖脉康颗粒组大鼠肾脏细胞排列整齐,部分肾小球及肾小管轻度扩张,肾小管上皮细胞无颗粒样及空泡样变性,其中糖脂平颗粒大剂量组效果更好。结果见图 1。

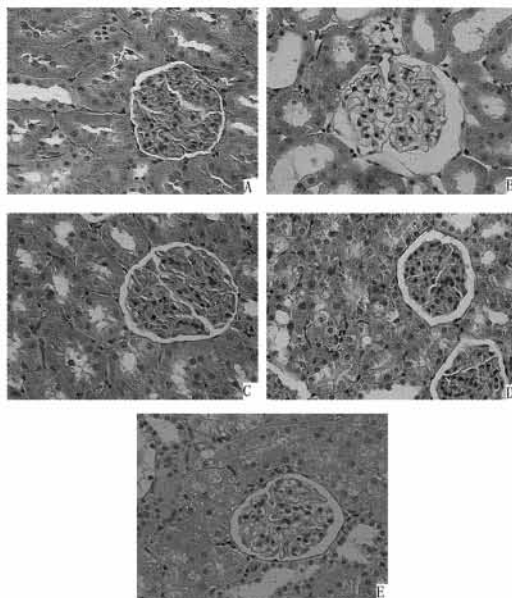


图 1 各组大鼠肾脏组织病理变化 (HE, $\times 40$)

A. 空白组; B. 模型组; C. 糖脉康颗粒 $1.35 g \cdot kg^{-1}$ 组;
D. 糖脂平 $2.7 g \cdot kg^{-1}$ 组; E. 糖脂平 $0.675 g \cdot kg^{-1}$ 组

4 讨论

NO 是近年来发现的一种结构简单,半衰期短且化学性质极其活泼的气体信息分子,兼有信使、神经

递质和细胞毒性等多种作用,广泛参与体内多种生理活动,与许多疾病的发生、发展有密切关系^[4]。糖尿病肾病 NO 合成减少,使其正常的生理功能,如促进细胞外基质分解和抑制细胞外基质蛋白积聚等的作用无法发挥,加速了肾小球基底膜和系膜的增生,促进了糖尿病肾小球硬化的形成^[5]。NOS 是 NO 合成的限速酶,由 N 端氧化酶区和 C 端的还原酶区组成,其氧化酶区有一个能与底物(精氨酸、 Fe^{+3} 和四氢生物喋呤)结合的核心区,NO 的合成就在这一核心区进行。NOS 可利用 L-精氨酸合成 NO,故其表达增加提示 NO 产生增加^[6]。

祖国医学认为,本病属于“消渴病”的范畴。一般认为与禀赋不足、饮食不节、情志失调、劳欲过度等因素有关,最有影响的病机理论是阴虚燥热学说,并与痰、虚、瘀等密切相关。糖脂平颗粒由红芪、西洋参、熟地黄、山药、山茱萸、茯苓、泽泻、丹皮、水蛭、瓜蒌皮、芫薹子、僵蚕等药物组成。方中内含六味地黄汤补肝肾之阴,又配伍红芪、西洋参补气,配伍芫薹祛瘀利水,配伍水蛭破瘀血而不伤新血,配伍僵蚕、瓜蒌皮清热化痰、祛瘀散结,全方合用,共达滋阴益气、活血化瘀散结之功。临床疗效亦表明,糖脂平颗粒为符合糖尿病病机、治法的有效组方。本研究结果显示,糖脂平颗粒可抑制糖尿病肾病大鼠肾组织 NO 的降低、升高 NOS 活性,肾脏组织病理切片亦显示应用该药后肾脏组织均有不同程度的修复,说明糖脂平颗粒可阻止或延缓糖尿病大鼠糖尿病肾病的进展,从而起到对肾脏的保护作用。

[参考文献]

- [1] 魏吉林. 葛根素与依那普利合用治疗糖尿病肾病疗效观察[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2007, 8(2): 107.
- [2] 郭啸华, 刘志红, 李恒, 等. 高糖高脂饮食诱导的 2 型糖尿病大鼠模型及其肾病特点[J]. 中国糖尿病杂志, 2002, 10(5): 290.
- [3] 赵宝珍, 白秀平, 荣青峰. 实验性 2 型糖尿病大鼠模型的研究[J]. 中国药物与临床, 2002, 2(6): 383.
- [4] 刘敬, 任钰雯. 一氧化氮及其在现代医学中的地位[J]. 国外医学·临床生物化学与检验学分册, 1996, 17(3): 100.
- [5] 董矜, 田亚平. 一氧化氮代谢异常和糖尿病[J]. 军医进修学院学报, 2004, 25(1): 75.
- [6] 王欣欣. 一氧化氮及其合酶在糖尿病肾病中的作用[J]. 西部医学, 2010, 22(2): 343.

[责任编辑 聂淑琴]