

葛根提取物对糖尿病大鼠肾脏功能的影响

曾 明^{1*}, 郑水庆², 陶凯忠³, 王金萍¹, 边佳明¹, 徐宏发⁴

(1. 北京军区总医院药理科, 北京 100700; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433;
3. 第二军医大学海医系, 上海 200433; 4. 华东师范大学生命科学院, 上海 200062)

[摘要] 目的: 观察葛根提取物对糖尿病大鼠肾功能的影响, 探讨其作用机理。方法: 采用链脲霉素复制糖尿病肾病大鼠模型, 以氨基胍作阳性药物对照, 观察葛根提取物对其空腹血糖、血清果糖胺、尿素氮、肌酐、血浆内皮素及 6-酮-前列腺素的影响。结果: 葛根提取物可降低糖尿病大鼠血糖、血清果糖胺、尿素氮、肌酐、血浆内皮素及 6-酮-前列腺素的水平, 与模型组相比有显著差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论: 葛根提取物具有防治糖尿病大鼠肾病的作用。

[关键词] 葛根提取物; 糖尿病大鼠; 肾脏功能

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)08-0042-03

Effect of Kudzu Extract on Kidney Function of Rats with Diabetes

ZENG Ming^{1*}, ZHENG Shui-qing², TAO Kai-zhong³, WANG Jin-ping¹, BIAN Jia-ming¹, XU Hongfa¹

(1. Department of Pharmacology, General Hospital of Beijing Military Command, Beijing 100700, China;

2. College of Pharmacy, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;

3. Department of Nautical, Medicine of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;

4. Life Academy of East Normal University, Shanghai 200062, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Kudzu extract on kidney function in rats with diabetic nephropathy (DN), and to probe its mechanism. **Methods:** The rat model of diabetic nephropathy was induced by streptozotocin. The effects of TFP on diabetic rats were detected by blood sugar before meal, the concentration of fructosamine, urea nitrogen, creatinine in blood serum, and levels of ET, 6-keto-PGF₁ in plasma, compared with aminoguanidine treatment. **Results:** The Kudzu extract could decrease the level of blood sugar, the concentrations of fructosamine, urea nitrogen, creatinine in blood serum, and levels of ET, 6-keto-PGF₁ in plasma, comparing to that of the diabetic model group ($P < 0.01$, or $P < 0.05$) remarkably. **Conclusion:** The Kudzu extract has preventive and therapeutic effects on DN.

[Key words] kudzu extract; DM rats; kidney function

糖尿病肾病(DN)是糖尿病常见而又难治的慢性微血管并发症,在糖尿病病程达15年的患者中累积有30%~40%发生肾病,DN已成为糖尿病病人的主要死因。因此,对早期DN的治疗,将糖尿病肾病控制在临床期DN之前,可能逆转部分早期DN病人的病变,减慢其向终末期肾病的发展速度。氨基胍

(Aminoguanidine, AG)可抑制糖基化终末产物(AGEs)及糖氧化产物在长寿蛋白器官中积聚,减轻糖尿病慢性并发症。本研究主要观察葛根提取物对糖尿病大鼠的作用,探讨葛根提取物防治早期糖尿病肾病的作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级SD大鼠,体重(200±20)g,雄性,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,沪动合证字152号。

1.2 药物及试剂 葛根总提取物(EPL),野葛

[收稿日期] 2007-02-05

[通讯作者] * 曾明, Tel: (010) 66721604; E-mail: mingzz2001@yahoo.com.cn

(*Pueraria lobata* 采自西安, 拉丁名作者自鉴并由乔传卓教授审核), 70% 乙醇提取得 EPL(0.4 g 浸膏相当于 1 g 生药); 将乙醇提取物过大孔树脂, 除去多糖得到总黄酮 TFP(0.048 g 浸膏相当于 1 g 生药); 氨基胍(AG) Lot m0537、链脲霉素(Streptozotocin, STZ) Lot k0975 均为美国 Sigma 公司产品。果糖胺(Fructosamine) (批号 020405)、肌酐(批号 020403)、尿素氮(批号 020410) 试剂盒, 上海科欣生物技术研究。6-酮-前列腺素($6\text{-ket}\text{-PGF}_{1\alpha}$) (批号 020315)、内皮素(ET) (批号 020305) 放免试剂盒, 解放军总医院科技开发中心东亚放免所。

1.3 仪器 UV-265(日本岛津), GC2911 γ 放射免疫计数器, 中国科学技术大学科技实业总公司, ONE TOUCH 血糖仪(Lifescan, USA)。

2 方法

2.1 造模 SD 大鼠, 禁食 12 h 后, STZ 临用前用 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液(pH 4.4) 配成 1% 浓度, 腹腔注射, 剂量 60 mg/kg。72 h 后测定血糖值, 选择血糖水平 13 mmol/L 以上者为合格动物。

2.2 分组与给药 造模动物随机分为 4 组。模型组(Model), 阳性药物氨基胍组(AG, 100 mg/kg), 葛根总提取物组(EPL, 200 mg/kg), 葛根总黄酮组(TFP, 24 mg/kg); 另设正常对照组, (Normal, 生理盐水 1 mL/100 g)。每组 10 只, 灌胃给药, 1 次/d, 连续 2 个月。各组均自由取食、饮水。

2.3 检测指标 药物治疗 2 个月后, 禁食 8 h, 剪鼠尾取血, 测定血糖。用代谢笼收集每只大鼠 24 h 尿液, 用于尿素氮、尿肌酐测定。断头取血, 分取血清检测尿素氮、肌酐, 血浆检测 $6\text{-ket}\text{-PGF}_{1\alpha}$ 和 ET。具体操作按试剂盒说明进行。各实验组间比较采用 SPSS Ver10.0 方差分析。

3 结果

表 2 葛根提取物对糖尿病大鼠 ET、 $6\text{-ket}\text{-PGF}_{1\alpha}$ 、尿素氮、肌酐的影响($\bar{x} \pm s$)

Group	剂量 (mg/kg)	n	ET (pg/mL)	$6\text{-ket}\text{-PGF}_{1\alpha}$ (pg/mL)	U-BUN (mmol/L)	B-BUN (mmol/L)	U-Cr ($\mu\text{mol/L}$)	B-Cr ($\mu\text{mol/L}$)
Normal	—	9	357.36 \pm 62.46 ¹⁾	673.57 \pm 564.75 ²⁾	129.30 \pm 12.57 ²⁾	5.18 \pm 0.54 ²⁾	71.90 \pm 23.70 ²⁾	96.99 \pm 16.94 ²⁾
Model	—	9	479.25 \pm 23.03	2 667.93 \pm 800.62	170.18 \pm 19.37	9.48 \pm 2.10	210.85 \pm 88.63	221.14 \pm 60.93
AG	100	7	353.12 \pm 55.26 ¹⁾	453.62 \pm 393.30 ²⁾	140.87 \pm 10.06 ¹⁾	6.36 \pm 2.51	48.80 \pm 29.71 ²⁾	130.93 \pm 35.12 ¹⁾
EPL	200	10	378.29 \pm 35.36 ²⁾	773.73 \pm 876.74 ²⁾	135.30 \pm 11.87 ²⁾	7.13 \pm 1.03 ¹⁾	37.07 \pm 19.03 ²⁾	123.96 \pm 23.52 ¹⁾
TFP	24	10	359.71 \pm 45.43 ²⁾	557.16 \pm 575.04 ²⁾	128.41 \pm 28.26 ¹⁾	6.13 \pm 0.57 ¹⁾	42.20 \pm 27.27 ²⁾	142.34 \pm 33.53 ¹⁾

4 讨论

4.1 葛根提取物对蛋白质非酶糖化的抑制作用

3.1 葛根提取物对大鼠血糖、果糖胺的影响 从表 1 可看出, 造模后各组大鼠血糖比正常组大鼠明显升高, 有显著差异($P < 0.01$), 说明造模成功。EPL 和 TFP 可降低糖尿病大鼠血糖, 与糖尿病模型组相比有显著差异($P < 0.05$)。模型大鼠果糖胺明显高于正常大鼠($P < 0.01$)。各治疗组果糖胺均显著低于模型组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 各治疗组间无显著性差异。

表 1 葛根提取物对糖尿病大鼠血糖、果糖胺的影响($\bar{x} \pm s$)

Group	剂量 (mg/kg)	n	血糖 (mmol/L)			果糖胺 (mmol/L)
			建模前	建模后	治疗后	
Normal	—	9	3.4 \pm 0.22	3.6 \pm 0.33 ²⁾	3.4 \pm 0.41 ²⁾	1.30 \pm 0.13 ²⁾
Model	—	9	3.5 \pm 0.21	20.5 \pm 2.44	21.5 \pm 2.42	2.19 \pm 0.29
AG	100	7	3.5 \pm 0.30	21.0 \pm 2.67	19.8 \pm 3.97	1.67 \pm 0.23 ¹⁾
EPL	200	10	3.4 \pm 0.25	20.1 \pm 2.60	18.4 \pm 2.70 ¹⁾	1.69 \pm 0.15 ²⁾
TFP	24	10	3.5 \pm 0.25	20.4 \pm 2.50	18.7 \pm 3.05 ¹⁾	1.60 \pm 0.21 ²⁾

注: 与 Model 组相比, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 下同。

3.2 葛根提取物对糖尿病大鼠 ET、 $6\text{-ket}\text{-PGF}_{1\alpha}$ 、尿素氮及肌酐的影响 从表 2 可看出, 模型组的尿或血清中的尿素氮均明显高于正常组($P < 0.01$)。各治疗组可显著降低糖尿病模型大鼠尿中的尿素氮($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 各治疗组可显著降低模型大鼠血中的尿素氮($P < 0.05$); EPL 和 TFP 降低尿素氮的作用与阳性对照药 AG 无显著差异。

模型组的尿或血清中的肌酐明显高于正常组($P < 0.01$)。各治疗组均可显著降低模型大鼠尿肌酐($P < 0.01$), 同时各治疗组均可显著降低大鼠血肌酐($P < 0.05$)。

模型大鼠血浆 $6\text{-ket}\text{-PGF}_{1\alpha}$ 、ET 水平显著高于正常组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$) 各治疗组的血浆 $6\text{-ket}\text{-PGF}_{1\alpha}$ 、ET 水平均显著低于模型组($P < 0.01$)。

AGEs 在糖尿病慢性并发症的发病机制起重要作用

用^[1]。因此,有效阻断非酶促糖化反应和抑制 AGEs 形成是防治糖尿病慢性并发症的重要途径。果糖胺是血清葡萄糖与白蛋白及其他血清蛋白分子末端的氨基发生非酶促糖化反应而形成的高分子酮胺结构。氨基胍可与早期糖基化蛋白形成一种十分稳定的物质,取代 AGEs 的形成。从实验结果可看出,AG 可有效地抑制模型大鼠果糖胺的生成,而 EPL 和 TFP 的作用可与之相仿。葡萄糖与血红蛋白发生非酶促糖化反应形成糖化血红蛋白(HBALC)。我们前期的实验结果^[2]显示,葛根提取物可降低模型大鼠的 HBALC 水平,结合文献报道^[3,4]葛根黄酮对蛋白质非酶糖化的体外抑制实验结果,提示葛根黄酮是蛋白质非酶糖化的有效抑制剂。

4.2 葛根提取物对模型大鼠尿素氮和肌酐的影响

糖尿病肾病(DN)为糖尿病性微血管病变引起,早期表现为尿中排出微量白蛋白,继之出现临床蛋白尿,最后进展为慢性肾功能不全。肾功能不全期,血中氮质潴留、血尿素氮和肌酐开始升高。EPL 和 TFP 可有效降低模型大鼠血和尿中的尿素氮和肌酐,说明 EPL 和 TFP 具有减少尿蛋白、保护肾功能,延缓 DN 病程进展的作用。

4.3 葛根提取物对血管活性物质的影响

ET 主要产生于血管内皮细胞^[5],肾脏既是 ET 合成代谢的重要场所,又是主要的靶器官,因此,血浆 ET 水平可反映肾脏受损时严重程度。本实验中糖尿病模型组 ET 水平显著高于正常组,其原因除高血糖本身刺激外,血管紧张素 II 水平增加,体内存在的高血流动力、组织缺氧^[6]都可引起血管内皮细胞的破坏和增生,刺激其增加分泌 ET,ET 的增高引起肾血管强烈收缩,肾血流减少,肾小球滤过率降低,肾小球系膜细胞增生,基底膜增厚,引起糖尿病微血管病变和肾小球硬化的病理过程。ET 的升高在一定程度上反映了内皮细胞损伤的程度。AG, EPL 和 TFP 均可调整模型大鼠的 ET 水平。PGI₂ 是由血管壁内皮细胞合成和释放的一种抗血小板聚集和舒张血管的生物

活性物质,生物半衰期约 3 min,迅速代谢成 6-keto-PGF_{1α}。高血糖引起前列环素代谢紊乱^[7,8],导致血管的舒缩及血小板功能失衡,微循环障碍,造成一些毛细血管无灌注区局限性缺氧,内皮功能紊乱进一步加重。EPL 和 TFP 可显著降低模型大鼠的 6-keto-PGF_{1α},纠正血栓素(TXA₂)和 PGI₂ 平衡失调而造成的血小板聚集,血管痉挛收缩或血栓形成。实验结果表明葛根提取物对高血糖造成的内皮细胞损害有保护作用。

本实验研究表明,葛根提取物和葛根黄酮有防治糖尿病肾病发生发展的作用,值得对其进行再深入的研究和开发。

[参考文献]

- [1] Vlassara H, Bucala R, Striker L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: Biochemical, biologic, and clinical implication for diabetes and aging[J]. *Lab Invest*, 1994, 70(2): 138-151.
- [2] 曾明,张汉明,郑水庆,等.葛根提取物对糖尿病大鼠血糖和血液动力学的影响. *解放军药学杂志*[J], 2004, 20(4): 293-294.
- [3] 段有金,王韶颖,王晓颖,等.葛根对蛋白质非酶糖化的抑制作用[J]. *沈阳药科大学学报*. 2000; 17(1): 61-62.
- [4] 王坚,陈敏,曹宜,等.葛根素、银杏黄酮蛋白质非酶糖化的影响[J]. *中药药理与临床*. 2000, 16(1): 13-14.
- [5] Hoban D E. Endothelins in the kidney: physiology and pathophysiology[J]. *Am J Kidney*, 1993, 22(4): 493-494.
- [6] 王秋月,刘国良,王春义,等.早期糖尿病肾病患者血浆内皮素,心钠素,血管紧张素 II 的变化及意义[J]. *中国实用内科杂志*, 1998, 18(12): 722-723.
- [7] 周智,杨健明,李艳君,等.血浆血管内皮生长因子及血管紧张素 II 与糖尿病肾病的关系[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(5): 551-552.
- [8] Niskanen L, Turpeinen A, Uusitupa MI, et al. Hyperglycemia and compositional lipoprotein abnormalities as predictors of cardiovascular mortality in type 2 diabetes: 15-year follow-up from the time of diagnosis[J]. *Diabetes Care* 1998, 21: 1861.