

# 止消通脉宁对实验性糖尿病大鼠 尿白蛋白排泄率的影响

王耀献<sup>1</sup>, 王立<sup>2</sup>, 司银楚<sup>1</sup>, 吕仁和<sup>1</sup>

(1 北京中医药大学, 北京 100029; 2 北京宣武医院, 北京 100053)

**摘要:** 研究中药复方止消通脉宁对实验性糖尿病大鼠尿白蛋白排泄率的影响。采用链脲佐菌素(Streptozocin, STZ)腹腔注射建立实验性糖尿病模型, 分为正常对照组、模型组、中药(大、中、小剂量)组和西药组, 并用放免方法测定大鼠尿白蛋白, 观察止消通脉宁对各组大鼠尿白蛋白排泄率的影响。结果: 止消通脉宁能够明显降低糖尿病大鼠尿白蛋白的排泄率, 与西药洛丁新比有相近疗效, 对糖尿病大鼠肾脏有一定的保护作用。

**关键词:** 止消通脉宁; 糖尿病; 尿白蛋白排泄率

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)01-0057-03

## Effects of the Traditional Chinese Preparation Zhixiaotongmaining on the Urinary Albumin Excretion Rate of the Rats with Experimental Diabetes

WANG Yao-xian<sup>1</sup>, WANG Li<sup>2</sup>, SI Yin-chu<sup>1</sup>, LYU Ren-he<sup>1</sup>

(1 Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2 Beijing Xuamvu Hospital, Beijing 100053, China)

**Abstract:** The effects of the traditional chinese preparation, Zhixiaotongmaining (ZXTMN) on the urinary albumin excretion rate were studied in rats with experimental diabetes. The rats were divided into the model (established by intraperitoneal injection of streptozotocin) group, ZXTMN treating group (large, middle, small), general drug treating group and control group, and the radioimmunoassay was used to detect the urinary albumin excretion rate in all the six groups. The results showed that compared with the general drug treating group, ZXTMN can reduce the urinary albumin excretion rate.

**Key words:** Zhixiaotongmaining; Diabetes; urinary albumin excretion rate

微量白蛋白尿是早期糖尿病肾病的特征性表

现, 测定尿中微量白蛋白对于研究糖尿病早期肾损伤具有重要意义。人尿白蛋白的测定早已广泛应用于临床, 但由于种属差异, 大鼠尿白蛋白的测定方法国内罕见报道。本课题采用王氏建立的大鼠尿白蛋

白放免测定方法<sup>[1]</sup>, 观察了中药复方止消通脉宁对实验性糖尿病大鼠尿白蛋白排泄率的影响, 现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 受试药物** 止消通脉宁, 由黄芪、生地、三七、大黄按 3:2:2:1 比例组成, 其中黄芪用 50% 乙醇提取 2 次, 每次 8 倍量 2h, 提取液合并, 滤过; 生地、三七、大黄用 70% 乙醇提取 2 次, 第一次 10 倍量、2h, 第二次 8 倍量 2h, 提取液合并, 滤过。合并以上乙醇提取液, 回收乙醇, 浓缩成相对密度 1.25~1.30 (55~60℃) 浸膏。以黄芪甲甙含量 0.84mg/g 为质控指标。由北京中医药大学中药学院制剂室提供, 编号 011101。

阳性对照药: (1) 苯那普利(商品名: 洛丁新), 规格 10mg/片, 由瑞士诺华制药有限公司生产, 北京诺华制药有限公司分装, 国药准字(1999)J-16 号, 批号 01063; (2) 格列喹酮(商品名: 糖适平), 规格 30mg/片, 由德国勃林格·殷格翰国际公司、北京万辉药业集团生产, 卫药准字(94)J-08 号, 批号 010814。

**1.1.2 主要试剂** 链脲佐菌素(Streptozocin, STZ), 美国 Sigma 公司提供, 北京邦定生物技术有限公司分装; 大鼠白蛋白抗体, 首都医科大学宣武医院王立博士提供; 大鼠白蛋白, 美国 Sigma 公司提供。

**1.1.3 主要仪器** Accutrend<sup>R</sup> alpha 血糖仪, 宝灵曼(中国)有限公司; 全自动  $\gamma$  放免仪, 中国科技大学实业总公司仪器厂 GC-911 型。

**1.2 受试动物** 用健康雄性 SD 大鼠, 体重 180~200g, 由中国药品生物制品鉴定所实验动物繁育场提供, 合格证号: 京动管质字(1994)第 072 号。适应喂养 1 周, 选取尿糖、尿蛋白阴性的动物作为实验对象。

**1.3 模型制备** 链脲佐菌素(Streptozocin, STZ) 诱导的糖尿病(diabetes mellitus, DM) 模型(STZ-DM 模型): 用 0.1mmol/L 柠檬酸缓冲液(经针头式除菌滤器滤过, pH=4.2, 4℃) 配制的 2% STZ 溶液, 按 50mg/kg 腹腔内注射。72h 后测定空腹血糖 13~25mmol/L 者列入观察<sup>[2]</sup>。

**1.4 实验分组** 分为 6 组: 正常对照组、模型组、中药(大、中、小剂量)组、西药组, 每组动物数均为 12 只。中药三个剂量组分别予止消通脉宁(按生药 20、10、5g/kg·d, 分别为临床人用量 22.24 倍、11.12 倍、5.56 倍)灌胃, 西药组予洛丁新 1.5mg/kg·d、糖适平 15mg/kg·d(均为临床人用量 6.25 倍)灌胃, 正常对照组、模型组予同等体积生理盐水灌胃。观察期为 12 周。

### 1.5 观察项目

**1.5.1 血糖** 于 0、2、4、8、12 周末, 禁食 10h, 尾部取血, 用宝灵曼(中国)有限公司生产的 Accutrend<sup>R</sup> alpha 血糖仪及试纸条测定空腹血糖。

**1.5.2 24h 尿白蛋白排泄率(UAE)** 将所有大鼠于 0、2、4、8、12 周末置于代谢笼中, 收集 24h 尿液, 记录尿量, 离心 3500rpm, 15min 后取上清, 经叠氮钠处理后, 置于-30℃冰箱中保存待测, 由华英放射免疫技术研究所标记并检测, 用首都医科大学宣武医院内分泌科建立的大鼠尿白蛋白放免测定方法<sup>[1]</sup>。

**1.6 统计学方法** 以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ ) 表示结果, 组间显著性差异用 *t* 检验, 用 SPSS10.0 统计软件处理。

## 2 结果

**2.1 血糖** 各组糖尿病大鼠血糖在各时间点均明显高于正常对照组, 干预治疗后中药各剂量组和西药组与模型组比较有不同程度下降, 其中以中药大剂量组、中药中剂量组和西药组最为明显。见表 1。

表 1 给药后不同时间各组大鼠空腹血糖的比较( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

组别	0 周	2 周	4 周	8 周	12 周
正常对照组	4.81 $\pm$ 0.55	4.74 $\pm$ 0.62	4.77 $\pm$ 0.74	4.67 $\pm$ 0.66	4.94 $\pm$ 0.75
(n)	(12)	(12)	(12)	(12)	(11)
模型组	16.23 $\pm$ 2.17	16.90 $\pm$ 2.11 <sup>1)</sup>	16.54 $\pm$ 2.15 <sup>1)</sup>	16.46 $\pm$ 1.76 <sup>1)</sup>	16.51 $\pm$ 2.07 <sup>1)</sup>
(n)	(12)	(10)	(10)	(9)	(8)
中药大剂量组	16.60 $\pm$ 2.60	11.94 $\pm$ 2.43 <sup>1,2)</sup>	11.14 $\pm$ 2.62 <sup>1,2)</sup>	11.01 $\pm$ 2.48 <sup>1,2)</sup>	10.33 $\pm$ 2.38 <sup>1,2)</sup>
(n)	(12)	(12)	(11)	(11)	(9)
中药中剂量组	16.53 $\pm$ 2.53	12.92 $\pm$ 2.48 <sup>1,2)</sup>	12.40 $\pm$ 2.50 <sup>1,2)</sup>	12.15 $\pm$ 2.78 <sup>1,2)</sup>	11.51 $\pm$ 2.46 <sup>1,2)</sup>
(n)	(12)	(12)	(11)	(10)	(9)
中药小剂量组	16.65 $\pm$ 2.94	14.85 $\pm$ 3.08 <sup>1)</sup>	14.62 $\pm$ 3.17 <sup>1)</sup>	13.83 $\pm$ 3.47 <sup>1,2)</sup>	13.58 $\pm$ 3.11 <sup>1)</sup>
(n)	(12)	(11)	(10)	(9)	(8)
西药组	16.40 $\pm$ 2.71	11.04 $\pm$ 3.69 <sup>1,2)</sup>	10.23 $\pm$ 2.42 <sup>1,2)</sup>	10.27 $\pm$ 2.56 <sup>1,2)</sup>	9.89 $\pm$ 2.23 <sup>1,2)</sup>
(n)	(12)	(12)	(11)	(11)	(10)

注: 与正常对照组比 <sup>1)</sup> *P* < 0.01; 与模型组比 <sup>2)</sup> *P* < 0.01(下同)。

**2.2 尿白蛋白排泄率** 各组糖尿病大鼠从第 2 周起尿白蛋白排泄率明显增加, 干预治疗后中药大剂量组、中药中剂量组和西药组与模型组比较明显减少, 其中以中药大剂量组和西药组的作用最为突出。见表 2。

### 3 讨论

**3.1 临床测定人尿白蛋白排泄率的意义** 当糖尿病时肾小球处于高滤过状态, 加之基底膜的损伤, 更多白蛋白被漏出并超过了肾小管重吸收能力, 可导

致尿中白蛋白排泄的增加, 因此测定尿中微量白蛋白可以了解肾小球早期损伤的情况。人尿白蛋白的测定早已广泛应用于临床, 尤其是为糖尿病肾病的早期诊断提供了重要依据。临床上微量白蛋白尿的定义是尿中白蛋白的排出量高于正常人水平 ( $\geq 20\mu\text{g}/\text{min}$ ), 但低于用常规尿蛋白检测方法所能检出的水平 ( $\leq 200\mu\text{g}/\text{min}$ ), 将这一阶段的糖尿病肾病称为早期糖尿病肾病<sup>[3]</sup>。因此, 测定人尿白蛋白排泄率对早期糖尿病肾病的诊断具有决定性的意义。

表 2 给药后不同时间各组大鼠尿白蛋白排泄率的比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{mg}/24\text{h}$ )

组别	0 周	2 周	4 周	8 周	12 周
正常对照组	0.25 ± 0.06	0.26 ± 0.06	0.27 ± 0.07	0.30 ± 0.08	0.34 ± 0.09
(n)	(12)	(12)	(12)	(12)	(11)
模型组	0.26 ± 0.05	0.72 ± 0.11 <sup>1)</sup>	1.17 ± 0.25 <sup>1)</sup>	1.53 ± 0.46 <sup>1)</sup>	1.67 ± 0.43 <sup>1)</sup>
(n)	(12)	(10)	(10)	(9)	(8)
中药大剂量组	0.25 ± 0.06	0.64 ± 0.10 <sup>1)</sup>	0.72 ± 0.11 <sup>1,2)</sup>	0.77 ± 0.16 <sup>1,2)</sup>	0.86 ± 0.24 <sup>1,2)</sup>
(n)	(12)	(12)	(11)	(11)	(9)
中药中剂量组	0.27 ± 0.07	0.65 ± 0.15 <sup>1)</sup>	0.90 ± 0.17 <sup>1,2)</sup>	1.00 ± 0.21 <sup>1,2)</sup>	1.07 ± 0.31 <sup>1,2)</sup>
(n)	(12)	(12)	(11)	(10)	(9)
中药小剂量组	0.27 ± 0.06	0.72 ± 0.10 <sup>1)</sup>	1.11 ± 0.29 <sup>1)</sup>	1.27 ± 0.39 <sup>1)</sup>	1.47 ± 0.42 <sup>1)</sup>
(n)	(12)	(11)	(10)	(9)	(8)
西药组	0.27 ± 0.06	0.63 ± 0.11 <sup>1)</sup>	0.69 ± 0.10 <sup>1,2)</sup>	0.72 ± 0.10 <sup>1,2)</sup>	0.79 ± 0.11 <sup>1,2)</sup>
(n)	(12)	(12)	(11)	(11)	(10)

**3.2 大鼠尿白蛋白排泄率的测定方法及意义** 大鼠白蛋白相对分子质量约为 68000, 是一种中分子蛋白。在正常情况下, 尿中只有微量白蛋白。但由于种属差异, 大鼠尿白蛋白的测定方法国内罕见报道, 也缺乏糖尿病大鼠肾病模型早期诊断的指标, 检测尿白蛋白对糖尿病大鼠肾病的早期诊断具有重要价值。首都医科大学宣武医院内分泌科建立的大鼠尿白蛋白测定方法<sup>[1]</sup>, 为糖尿病大鼠肾病模型和其它肾病的研究工作提供了一个较为客观的、灵敏的早期诊断指标。本实验得到的数据再次显示出这种大鼠尿白蛋白测定方法具有很好的重复性、稳定性。

**3.3 止消通脉宁对大鼠尿白蛋白排泄率的影响** 止消通脉宁在以往临床研究中证实能够减少早期糖尿病肾病的尿微量白蛋白排泄率。本试验结果显示

糖尿病大鼠在成模 2 周时尿白蛋白排泄率明显增高, 并且随时间推移有增高的趋势, 止消通脉宁从第 4 周开始能够明显降低糖尿病大鼠尿白蛋白的排泄率, 与西药组比有相近疗效, 对糖尿病大鼠肾脏有一定的保护作用。

#### 参考文献:

[1] 王立, 潘长玉, 黄兆坚, 等. 大鼠尿白蛋白放免测定方法的建立及血管紧张素转换酶抑制剂对其排泄率的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1996, 15(3): 164-167.

[2] Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in experimental diabetes [J]. Kidney Int, 1983, 23: 643-653.

[3] Mogensen CE, Schmitz A, Christensen CK. Comparative renal pathophysiology relevant to IDDM and NIDDM patients [J]. Diabetes Metabolism Rev, 1998, 4: 453-464.