

文章编号:1671-7554(2009)04-0042-04

姜黄素对糖尿病大鼠肾脏结构和功能的影响

于冬青¹,刘金波²,邓华聪³

(1. 山东大学附属省立医院重症监护室, 济南 250021; 2. 山东大学齐鲁医院内分泌科, 济南 250012;
3. 重庆医科大学附属第一医院内分泌科, 重庆 400016)

摘要:目的 观察姜黄素对糖尿病大鼠肾脏结构和功能的影响。方法 用链脲佐菌素(STZ)诱导制备糖尿病大鼠模型,并随机分为糖尿病组和姜黄素治疗组,另设一正常对照组。治疗组给予姜黄素 200 mg/(kg·d)灌胃,为期 8 周。然后进行肾脏形态学观察和血尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、内生肌酐清除率(Ccr)、尿白蛋白排泄率(UAER)等的检测。**结果** 糖尿病组大鼠 Ccr、UAER、尿白蛋白/肌酐、肾小球平均截面积(MGA)、肾小球平均体积(MGV)均显著高于正常对照组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。光镜和电镜下观察显示,糖尿病组大鼠较正常对照组大鼠肾小球明显增大,细胞数目增多,基底膜节段性增厚,部分足细胞足突融合。姜黄素治疗组上述异常均明显减轻。三组大鼠间血 BUN 和 Scr 两两比较无明显差异($P > 0.05$)。**结论** 姜黄素可明显改善糖尿病大鼠肾脏病理改变,减轻肾脏肥大和高滤过状态,降低尿蛋白,对糖尿病大鼠有肾脏保护作用。

关键词:姜黄素;糖尿病;大鼠,Wistar;肾脏

中图分类号:R282.71; R587.24 文献标志码:A

Influence of curcumin on the structure and function of the kidney in diabetic rats

YU Dong-qing¹, LIU Jin-bo², DENG Hua-cong³

(1. Intensive Care Unit, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Jinan 250021, China;

2. Department of Endocrinology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China;

3. Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To explore the effect of curcumin on the structure and function of the kidney in diabetic rats. **Methods** Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin(STZ) to male Wistar rats at a dose of 60 mg/kg body weight and they were randomly divided into two groups: the diabetes group (group D) and the diabetes treated with curcumin group (group DC). A normal control group (group N) was also designed. Curcumin was given at a dose of 200 mg·kg⁻¹·day⁻¹, the other two groups were given the same quantity of Carboxymethyl-Cellulose(CMC). After a treatment of 8 weeks, renal morphology and blood and urinary biochemistry were evaluated. **Results** Levels of clearance of creatinine(Ccr), urinary albumin excretion rate(UAER), albumin-creatinine ratio(Alb/Cr), mean glomerular area(MGA) and mean glomerular volume(MGV) were all significantly increased in group D as compared with group N($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Large glomeruli, membranes with a thickened glomerular basement, and foot processes confluence into podocytes were found by light microscopy and electron microscopy. All these abnormalities were markedly ameliorated after a curcumin treatment. **Conclusion** Curcumin is effective in improving renal pathological damage, ameliorating hypertrophy and hyperfiltration, and decreasing the urinary albumin excretion rate(UAER) in diabetic Wistar rats.

Key words: Curcumin; Diabetic mellitus; Wistar rats; Kidney

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病的微血管并发症之一,其发病机制目前尚未完全阐明,

对其防治亦缺乏有效的手段。姜黄素(Curcumin, 二阿魏酰基甲烷)是从姜黄属中药姜黄、郁金、莪术

等的块茎中提取出来的一种酚性色素,具有抗炎、抗氧化、清除自由基、降脂、抗肿瘤、抗微生物等多方面的药理作用^[1-2],但姜黄素是否对糖尿病肾病有防治作用,目前尚未见报道。本研究旨在观察姜黄素对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠肾脏结构和功能的影响,观察其对糖尿病大鼠肾脏是否具有保护作用,为其防治糖尿病肾病提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 8周龄清洁级雄性 Wistar 大鼠 35只,购自第三军医大学大坪医院实验动物中心,许可证号为 SCXK(渝)20020003,体质量 175~200 g。饲养条件:温度 18~25℃,湿度 75%,12 h 交替照明。

1.1.2 试剂与仪器 链脲佐菌素(STZ)购自 Sigma 公司,姜黄素,分析纯,5 g/瓶,购自上海三爱思试剂有限公司,批号 20031216。羧甲基纤维素 800~1200 购自上海试剂总厂,批号:F 20030405。血尿素氮和血、尿肌酐测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,尿白蛋白测定试剂盒购自中国原子能科学研究院同位素所。CMISA 彩色图像处理系统(北京航空航天大学),HITACH-H600 型透射电子显微镜(日本)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立与分组 所有大鼠适应性喂养 1 周,禁食 10 h 后,随机选取 25 只,链脲佐菌素溶于 0.1 mol/L 枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液(pH4.2)中配成 0.5% 的溶液,以 60 mg/kg 体重单次腹腔注射,72 h 后尾静脉采血测血糖,以血糖浓度 > 16.67 mmol/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 只大鼠给以等体积的枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液腹腔注射,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 200 mg/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。

1.2.2 标本收集 在用药 8 周末,尾静脉采血测血糖,用代谢笼准确收集 24 h 尿量,新鲜尿样以 3 000 r/min 速度离心 15 min,去沉渣 -20℃ 保存。然后以 7 mL/kg 的剂量腹腔注射 20% 乌拉坦麻醉大鼠,取双肾,去除肾包膜,称重后迅速取约 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小的肾皮质,4% 戊二醛固定以备电镜观察,余肾用 4% 多聚甲醛固定,做病理切片行 HE 和 PAS 染色。

1.2.3 观察指标和测定方法 采用二乙酰-胍法检测血尿素氮,除蛋白苦味酸法检测血肌酐和尿肌酐,放免法检测尿白蛋白。

1.2.4 肾脏形态学观察 肾组织经固定,常规脱水,石蜡包埋,切成 4 μm 厚切片,行 HE 和 PAS 染色。用 CMISA 彩色图像处理系统进行病理分析,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 [$MGV = 1.25 \times (MGA)^{3/2}$] 计算 MGV。另取约 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小的肾组织用 4% 戊二醛前固定,2% 锇酸(pH7.4)后固定(4℃),乙醇丙酮梯度脱水,EDPON-816 环氧树脂包埋,LKB III 型切片机超薄切片,铀-铅双重染色,透射电镜下观察肾超微结构变化。

1.3 统计学处理 实验所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 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 各组大鼠肾脏各生化指标的变化 见表 1。糖尿病组大鼠的 Ccr、UAER 和尿白蛋白/肌酐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($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);三组大鼠间血 BUN 和 Scr 两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 8 周末各组大鼠肾功能相关指标的水平($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	血尿素氮 (<i>c</i> /mmol·L ⁻¹)	血肌酐 (<i>c</i> /μmol·L ⁻¹)	内生肌酐清除率 [mL/(min·kg)]	尿白蛋白排泄率 (μg/24 h)	尿白蛋白/肌酐 (μg/μmol)
正常对照组	10	7.60 ± 3.56	51.54 ± 7.67	2.79 ± 0.98	23.74 ± 3.57	0.39 ± 0.13
糖尿病组	9	11.30 ± 3.97	60.13 ± 10.72	4.87 ± 1.25**	107.21 ± 7.36**	2.52 ± 0.78**
姜黄素治疗组	9	9.42 ± 3.25	52.46 ± 8.04	3.25 ± 1.04 [△]	66.32 ± 5.46*** ^{△△}	1.31 ± 0.42*** ^{△△}

** $P < 0.01$ vs 正常对照组; [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ vs 糖尿病组

2.2 各组大鼠肾脏组织病理学的特点 见图 1,图 2,表 2。与正常对照组相比,光镜下 HE 染色切片可见糖尿病组大鼠肾小球体积显著增大,PAS 染色示肾小球 PAS 红染区扩大,颜色加深,系膜区增宽,毛

细血管管腔受压;而姜黄素治疗组上述改变明显轻于糖尿病组。病理图像分析显示,糖尿病组大鼠 MGA 和 MGV 均显著高于正常对照组(P 均 < 0.01),姜黄素治疗组较糖尿病组上述指标均明显降

低(P 均 <0.01),但仍高于正常对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

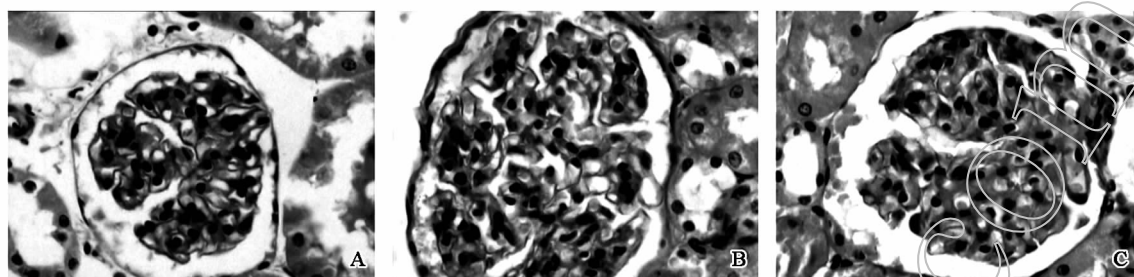


图1 各组大鼠肾小球光镜下的形态变化(HE, $\times 400$)

A:正常对照组,肾小球体积正常;B:糖尿病组,肾小球体积增大,细胞数目增多;C:姜黄素治疗组,肾小球体积和细胞数目较糖尿病组明显减轻

Fig.1 Light microscopy of glomerulus in different rats (HE, $\times 400$)

A: normal rats, Showing normal glomerulus; B: diabetic rats, Showing Large glomerulus and increased cellularity; C: Cur-treated rats, Showing the change was much lighter than that in diabetic rats

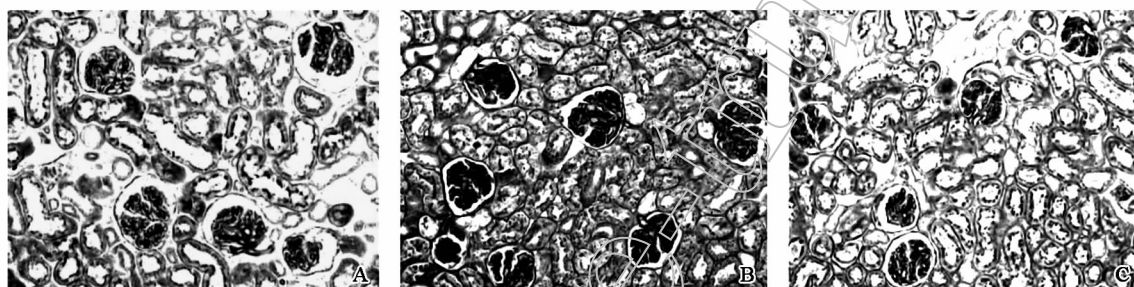


图2 各组大鼠肾小球光镜下的形态变化(PAS, $\times 100$)

A:正常对照组,PAS轻度红染;B:糖尿病组,PAS红染区扩大,颜色加深;C:姜黄素治疗组,PAS红染区较糖尿病组减少,颜色减轻

Fig.2 Light microscopy of glomerulus in different rats(PAS, $\times 100$)

A: normal rats, Showing PAS light staining; B: diabetic rats, Showing PAS heavy staining and extended area; C: Cur-treated rats, Showing PAS staining degree and area much lighter than that in diabetic rats

表2 8周末各组大鼠MGA和MGV的水平($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MGA($\times 10^{-3} \mu\text{m}^2$)	MGV($\times 10^{-4} \mu\text{m}^3$)
正常对照组	10	6.26 ± 0.44	62.15 ± 6.56
糖尿病组	9	$9.52 \pm 0.97^{**}$	$116.61 \pm 17.48^{**}$
姜黄素治疗组	9	$7.65 \pm 0.53^{*\Delta}$	$83.74 \pm 8.86^{**\Delta\Delta}$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 正常对照组; $\Delta P < 0.01$ vs 糖尿病组

2.3 各组大鼠肾脏超微结构的特点 见图3。透射电镜下观察显示,正常对照组大鼠肾小球血管袢结构清晰,内皮细胞、基底膜及足细胞等结构均正常;糖尿病组大鼠肾小球基底膜节段性增厚,增厚处基膜的三层细微结构不清楚,呈均质状,部分足细胞足突融合;而姜黄素治疗组上述改变明显轻于糖尿病组。

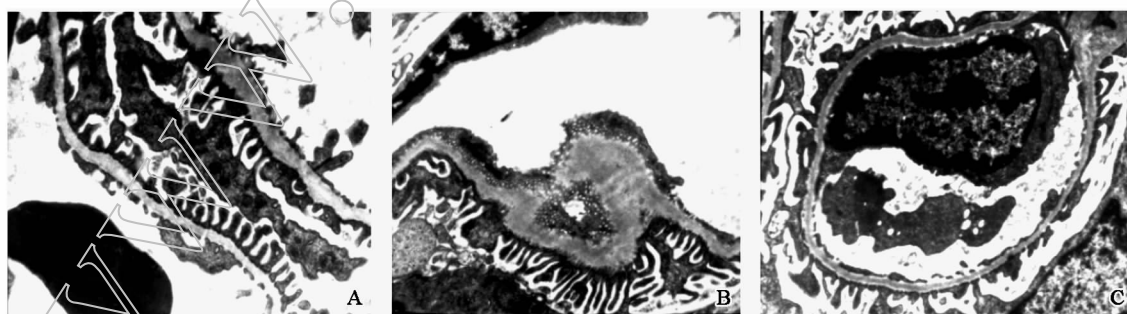


图3 各组大鼠肾小球电镜下的特点($\times 15000$)

A:正常对照组,基底膜正常,足突正常;B:糖尿病组,基底膜局限性节段性增厚,足突融合;C:姜黄素治疗组,基底膜大致正常,足突轻度融合

Fig.3 Electron Microscopy of glomerulus in different rats($\times 15000$)

A: normal rats, Showing normal glomerular basement membrane and foot processes; B: diabetic rats, Showing thickening glomerular basement membrane and foot processes confluence; C: Cur-treated rats, Showing mild foot processes confluence and normal glomerular basement membrane

3 讨 论

一次足量给予动物链脲佐菌素可造成 β 细胞大量破坏,胰岛素合成和分泌减少,引起糖代谢紊乱,从而导致糖尿病。该速发型模型的发生发展变化类似于人类1型糖尿病。虽然其肾脏病理改变较缓慢轻微,但成模2周后肾小球滤过率和肾血流量即增加,出现高滤过现象,所以通常用来做糖尿病肾病方面的研究^[4]。本实验造模成功,且在整个实验期间,血糖稳定在较高的水平,无胰岛功能恢复模型。

DN可分为5期,I~III期基本为早期DN,主要表现为肾脏肥大和肾小球高滤过,肾小球结构出现改变,基底膜增厚和系膜基质增多,尿白蛋白排泄率正常或出现微量白蛋白尿;IV期出现大量白蛋白尿,肾小球滤过率开始下降,基底膜增厚和系膜基质增加较前更加明显,临床出现进行性增加的非选择性蛋白尿,可伴双下肢浮肿和高血压,肾功能逐渐减退;V期为尿毒症期,多数肾单位闭锁,血尿素氮、肌酐升高,血压升高^[5]。本实验结束时,糖尿病组大鼠肾脏重量和肾肥大指数及内生肌酐清除率均较正常对照组明显增加,电镜下见基底膜节段性增厚和部分足细胞足突融合,同时尿白蛋白排泄率及尿蛋白/肌酐较正常对照组均明显增高,表明糖尿病大鼠成模8周时已进入早期DN阶段,而姜黄素治疗组上述肾脏病理改变明显减轻,内生肌酐清除率和尿白蛋白排泄率亦显著低于糖尿病组,表明姜黄素对糖尿病大鼠有肾脏保护作用,能减轻肾脏高滤过状

态和肾脏肥大、基底膜增厚等早期糖尿病肾病病理改变,降低尿白蛋白,从而延缓糖尿病肾病的进展和恶化。

已知姜黄素是一多效的多环酚类化合物,且其来源广泛、价格低廉,副作用小,因而积极地研究姜黄素治疗糖尿病肾病的作用和机制具有重要的意义,推测姜黄素在临床防治糖尿病肾病方面具有广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] Murakami Y, Ishii H, Takada N, et al. Comparative anti-inflammatory activities of curcumin and tetrahydrocurcumin based on the phenolic O-H bond dissociation enthalpy, ionization potential and quantum chemical descriptor[J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(2A):699-707.
- [2] Dairam A, Fogel R, Daya S, et al. Antioxidant and iron-binding properties of curcumin, capsaicin, and S-allylcysteine reduce oxidative stress in rat brain homogenate[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(9):3350-3356.
- [3] 于德民,吴锐,尹淮,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] Gross M L, Ritz E, Schoof A, et al. Comparison of renal morphology in the streptozotocin and the SHR/N-cp models of diabetes[J]. *Lab Invest*, 2004, 84(4):452-464.
- [5] Zerbini G, Gabellini G, Maestroni S, et al. Early renal dysfunctions in type 1 diabetes and pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. *J Nephrol*, 2007, 20(suppl 12):S19-22.

(编辑:孙玉芝)