

葡萄籽原花青素降低糖尿病大鼠氧化应激的作用

Effect of Grape Seed Proanthocyanidin on Reducing Oxidative Stress in Diabetic Rats

马亚兵, 高海青, 周雁, 刘相菊, 毕轶, 沈琳

(山东大学齐鲁医院, 济南 250012)

MA Ya-bing, GAO Hai-qing, ZHOU Yan, LIU Xiang-ju, BI Yi, SHEN Lin

(Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China)

目前, 治疗糖尿病的主要措施是控制血糖 (blood sugar, BS), 但即使严格控制 BS 也不能完全阻断糖尿病慢性并发症的发展。国内外最新研究表明, 糖尿病慢性并发症的形成与糖尿病氧化应激增高、氧自由基积聚过多密切相关^[1,2]。葡萄籽原花青素 (grape seed proanthocyanidin, GSPC) 是葡萄籽中的天然聚多酚类混合物, 我们观察到它具有抗 LDL 氧化修饰^[3]、调节血脂^[4]等作用。本实验观察了 GSPC 对糖尿病大鼠氧化应激水平的影响。

1 材料与方 法

1.1 试剂及仪器

1.1.1 试剂: GSPC, 纯度 96.08%, 天津尖峰天然产物公司; 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ)、氨基胍 (aminoguanidin, AG), 美国 Sigma 公司; 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

1.1.2 仪器: 7170 型全自动生化分析仪, 日立公司; Agilent 8453 型紫外可见光分光光度仪, 惠普公司; 微量移液器, 法国 GILSON 公司; 电子分析天平, 日本 A&D 公司。

1.2 动物

1.2.1 动物分组及处理: 180~220 g 雄性 Wistar 大鼠 120 头, 购自山东大学实验动物中心。按照空腹体重分层随机抽取 20 只作为正常对照 (A) 组, 空腹 12 h 后左腹腔注射柠檬酸钠/柠檬酸缓冲液 6 ml/kg。其余大鼠空腹 12 h 后左腹腔注射

用柠檬酸钠/柠檬酸缓冲液配制的 1% STZ 溶液 6 ml/kg。注射后均给予正常饲料, 72 h 后测大鼠空腹尾静脉 BS, BS>16.7 mmol/L 为糖尿病造模成功。将糖尿病大鼠按照 BS>30、25~30、20~25、16.7~20 mmol/L 分为 4 层, 每层随机分为空白对照 (B)、AG (C)、GSPC 低 (D)、中 (E)、高 (F) 剂量 5 个组, 每组 20 头, 分别用自来水、AG 150 mg/(kg·d)、GSPC 50、150、450 mg/(kg·d) 灌胃, 每日 1 次, 连续 12 w。各组均给予标准饲料常规喂养, 自由进食及饮水, 不使用胰岛素。

1.2.2 标本采集及测定: 于治疗前和治疗后 1、2、4、8、12 w 末取空腹 6 h 血清。用 7170 型全自动生化仪测定 BS。用 Agilent 8453 型紫外可见光分光光度仪比色法测定 SOD、MDA。

1.3 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SAS 8.2 软件包进行混合模型方差分析。

2 结 果

2.1 糖尿病动物模型

与 A 组大鼠相比, 所有糖尿病大鼠 BS 均显著升高, 并立即出现多饮、多食、多尿的表现, 由于消瘦及多食逐渐呈小头大腹的形态, 毛色黯淡无光泽, 尾静脉采血后伤口不易愈合。与治疗前相比, 治疗 12 w 后, B、C、D、E、F 组 BS 分别升高 12.15%、10.78%、10.02%、10.30% 和 8.11%, 但未见统计学差异 ($P>0.05$)。

2.2 各组大鼠血清 SOD 的变化 (表 1)

从表 1 可见糖尿病组 SOD 均比正常对照组显著下降 ($P < 0.01$, $P < 0.0001$)。与空白对照组比较, GSPC 治疗组 SOD 均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.0001$), 并随 GSPC 剂量增加和时间延长而作用增强。GSPC 450 mg/(kg·d) 4 w 可使血清 SOD

升高至正常水平, 与正常对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。上述结果表明, GSPC 可升高血清 SOD 并呈剂量和时间依赖性。

2.3 各组大鼠血清 MDA 的变化(表 2)

Table 1 Serum SOD activity (NU/ml) in different groups ($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

Group	Before treatment	After treatment				
		1 w	2 w	4 w	8 w	12 w
A	135.42±24.39	135.96±24.35	135.80±23.84	135.75±23.23	135.24±23.25	135.74±23.65
B	80.65±22.22 ^b	74.26±22.14 ^c	69.69±22.73 ^c	64.93±22.72 ^c	59.68±22.56 ^c	54.55±22.68 ^c
C	83.36±23.66 ^b	82.13±23.40 ^b	81.13±23.65 ^b	80.13±23.69 ^b	79.42±23.66 ^b	78.92±23.52 ^b
D	79.72±23.77 ^b	80.98±23.91 ^b	82.11±23.88 ^b	83.49±23.91 ^b	84.56±24.25 ^b	85.84±24.44 ^{bd}
E	83.43±24.24 ^b	88.21±24.17 ^b	91.27±24.77 ^b	94.17±24.51 ^b	97.26±24.79 ^{ad}	99.36±25.02 ^{ae}
F	82.82±24.36 ^b	89.65±22.17 ^b	102.90±23.99 ^{ad}	117.81±23.41 ^{eg}	121.18±23.95 ^{hi}	123.94±23.89 ^{hi}

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.0001$, compared with the group A; d: $P < 0.05$, e: $P < 0.01$, f: $P < 0.0001$, compared with the group B; g: $P < 0.05$, h: $P < 0.01$, compared with the group C; i: $P < 0.05$, compared with the group D

Table 2 Serum MDA concentration (nmol/mL) in different groups ($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

Group	Before treatment	After treatment				
		1 w	2 w	4 w	8 w	12 w
A	5.29±1.54	5.29±1.61	5.27±1.66	5.28±1.56	5.26±1.53	5.26±1.55
B	11.46±3.26 ^b	11.57±3.23 ^b	11.58±3.00 ^b	11.71±3.08 ^b	11.84±3.07 ^c	12.00±3.07 ^c
C	11.49±2.94 ^b	11.32±2.95 ^b	11.05±2.98 ^b	10.78±3.02 ^b	10.46±3.01 ^b	10.12±2.85 ^b
D	11.52±2.75 ^b	11.00±2.66 ^b	10.41±2.52 ^b	9.63±2.50 ^b	9.02±2.40 ^a	8.51±2.13 ^{ad}
E	11.25±2.80 ^b	10.54±3.15 ^b	10.05±3.14 ^b	9.27±2.71 ^a	8.58±2.58 ^{ad}	8.05±2.29 ^d
F	11.33±3.49 ^b	10.60±3.22 ^b	9.98±3.03 ^b	9.07±3.02 ^a	8.29±2.71 ^d	7.59±2.48 ^c

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.0001$, compared with the group A; d: $P < 0.05$, e: $P < 0.01$, compared with the group B

[参考文献]

从表 2 可见, 糖尿病组 MDA 均比正常对照组显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.0001$)。与空白对照组相比较, GSPC 剂量越大, MDA 下降越明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。而 GSPC 150 mg/(kg·d) 12 w、450 mg/(kg·d) 8 w 均可使 MDA 下降至正常水平, 与正常对照组无显著性差异 ($P > 0.05$)。表明 GSPC 可降低血清 MDA 并呈剂量效应关系。

3 结论

GSPC 具有降低糖尿病体内氧化应激水平的作用, 该作用呈剂量和时间依赖性。

关键词: 葡萄籽原花青素; 糖尿病; 氧化应激

Key words: grape seed proanthocyanidin; diabetic mellitus; oxidative stress

- [1] Ishii N, Patel KP, Lane PH, *et al.* Nitric oxide synthesis and oxidative stress in the renal cortex of rats with diabetes mellitus[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12: 1630-1639.
- [2] West, IC. Radicals and oxidative stress in diabetes [J]. *Diabetic Med*, 2000, 17:171-180.
- [3] 马亚兵, 高海青, 由倍安, 等. 葡萄籽原花青素抗 LDL 氧化修饰作用的研究. 中华医药杂志, 2003, 3: 961-963.
- [4] 马亚兵, 高海青, 由倍安, 等. 葡萄籽原花青素对动脉粥样硬化免血脂的调节作用. 中国药理学通报 2004, 20:325-329.

收稿日期: 2004-08-29

基金项目: 山东省医药科技发展项目 (No: HW067)

作者简介: 马亚兵(1967-), 男, 医学硕士

中图分类号: R151.2 文献标识码: B

文章编号: 0512-7955(2005)02-0173-02