

橄榄苦苷对糖尿病大鼠肾组织的保护作用及其机制

王 昱¹, 王胜青¹, 叶文斌¹, 何九军¹, 祁林林²

(1. 陇南师范高等专科学校生化系, 甘肃成县 742500;

2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101)

摘要:为了探讨橄榄苦苷对糖尿病大鼠肾组织的保护作用及其机制。将雄性 SD 大鼠随机分成正常组、糖尿病模型组、橄榄苦苷组和阳性药物贝那普利组, 采用腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 65 mg/kg 建立糖尿病大鼠模型 1 周后, 给予橄榄苦苷或阳性药物贝那普利治疗 7 周。检测大鼠尿、血液和肾脏的各项指标。结果显示, 与模型对照组相比, 橄榄苦苷明显降低糖尿病大鼠肾脏指数、血糖、血脂、Scr、BUN、UA、UALB、UAER 水平, 降低 MDA 含量 ($p < 0.05$, $p < 0.01$), 提高血清 IgG、IgM 和补体 C3、C4 含量、肾脏端粒酶、SOD、CAT 活性 ($p < 0.05$, $p < 0.01$), 抑制肾脏 TGF- β 1 和 Smad4 的表达 ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。提示橄榄苦苷对 STZ 诱导的糖尿病大鼠肾脏具有明显的保护作用, 其机制可能与其提高了肾脏的抗氧化能力和端粒酶活性及机体的免疫功能, 抑制肾脏 TGF- β 1 和 Smad4 的表达有关。

关键词: 橄榄苦苷, 糖尿病肾病, 抗氧化酶, 转化生长因子 β 1, Smad4

Renal protection of Oleuropein on diabetic rats and relevant mechanism

WANG Yu¹, WANG Sheng-qing¹, YE Wen-bin¹, HE Jiu-jun¹, QI Lin-lin²

(1. Department of Biology and Chemistry, Longnan Teachers College, Chengxian 742500, China;

2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: To investigate the protective mechanism of oleuropein on the kidney of diabetic rats, male SD rats were divided into normal control group, diabetic model group, oleuropein treated group and positive benazepril control group based on their body weights. The diabetic animal model was made by a single intraperitoneal injection of 65 mg/kg streptozotocin (STZ). One week after successful modeling, the diabetic rats were treated with oleuropein or positive benazepril for seven weeks, and then indexes of their urine, blood and kidneys were measured. Results: Compared with diabetic model group, the oleuropein treated rats showed significant decrease in levels of renal index, blood glucose, blood lipid, serum Scr, BUN, UA, UALB, UAER and MDA, increase in levels of serum IgG, IgM and complement C3, C4, telomerase, SOD and CAT, and reduce in content of MDA. Meanwhile, the use of oleuropein resulted in decrease of expression of TGF- β 1 and Smad4 in diabetic rats. These results indicated that oleuropein had a protective effect on the STE-induced renal tissue injury in diabetic rats, due to enhancing renal antioxidant capacity, telomerase activity and immune function, as well as inhibiting expression of TGF- β 1 and Smad4.

Key words: oleuropein; diabetic nephropathy; antioxidant enzyme; TGF- β 1; Smad4

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)21-0353-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.21.065

糖尿病性肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病引起的严重和危害性最大的一种慢性并发症, 是糖尿病全身性微血管病变表现之一, 临床特征为蛋白尿、高血压、水肿、肾功能衰竭等, 也是糖尿病患者死亡最常见的病因之一^[1]。早期干预性治疗对改善 DN 的预后至关重要, 但 DN 确切的病因及发病机制还不清楚, 现代医学尚无有效的方法能够防止其发

生和恶化。近年来研究认为, 糖、蛋白质、脂肪、水和电解质等代谢紊乱、遗传易感性及单核细胞趋化蛋白-1、细胞间黏附分子-1 和转化生长因子 β 1 表达增加等因素在 DN 的发病机制中起重要作用^[2]。目前西医防治糖尿病肾病中, 药物副作用较大, 而且仅通过严格控制血糖来降低 DN 发病的效果不明显、不长久。因此, 寻找新的防治糖尿病肾病的方法和途

收稿日期: 2015-02-12

作者简介: 王昱 (1973-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 细胞与发育生物学, E-mail: gswangyu@126.com。

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目 (1107RJJK243); 甘肃省高等学校科研资助项目 (1128B-01)。

径已成为重要的研究课题。

油橄榄,俗称洋橄榄(*Olea europaea* L.),系木犀科植物,油橄榄是以“高产、优质、高效”为特征的世界名贵常绿木本油料和果用树种。有多篇文献报道过橄榄油和橄榄叶的粗提物中含大量的多酚、黄酮类天然活性物质,有降血糖、抗高血压、抗氧化及抗微生物作用,还有促进骨骼钙化、防治骨质疏松、预防钙质流失等作用^[3-4]。橄榄苦苷是油橄榄中最主要的含量最多的成分,但关于橄榄苦苷的药理作用研究较少。本实验建立了链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠模型,给药后观察大鼠尿、血液、肾组织生化指标的变化,以此研究橄榄苦苷对STZ诱导的肾损伤是否有效果,同时探讨橄榄苦苷对STZ诱导的糖尿病大鼠肾脏保护的可能机制,为油橄榄的基础研究和临床应用提供更多的实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

橄榄苦苷(纯度 $\geq 98\%$) 陇南田园油橄榄科技开发有限公司;链脲佐菌素(STZ) 美国Sigma公司;超氧化物歧化酶试剂盒、过氧化氢酶试剂盒、丙二醛试剂盒 南京建成生物工程研究所;贝那普利片(10 mg/片,批号:0804X107) 北京诺华制药有限公司生产;端粒酶PCR检测ELISA试剂盒 上海嵘崑达实业有限公司;白蛋白(ALB)放射免疫试剂盒 天津协和医学科技有限公司;NN-GS575M微波炉 日本松下公司。

One Touch II型自动血糖分析仪 美国强生公司;U-1800型UV-VIS全自动分光光度计 日本岛津公司;SpectraMax M5型酶标仪 美国Molecular Devices公司;全自动生化分析仪、TGL-16M高速台式冷冻离心机 美国Beckman-coulter公司;DKZ系列恒温水浴箱 上海一恒科技有限公司;Nikon FX-35WA显微镜 日本Nikon公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型建立与给药 雄性SD大鼠40只(清洁级,购于兰州大学实验动物中心),在光-暗周期12 h、温度(22 \pm 4) $^{\circ}$ C的环境下饲养一周后,按体重随机分正常组、糖尿病模型组、橄榄苦苷组和阳性药物贝那普利组,每组10只。除正常组外,其余各组动物单次腹腔注射STZ 65 mg/kg,72 h后尾静脉取血,测全血空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L,确定为DM模型,血糖稳定1周后列入观察对象^[2]。模型建立后第2 d起,橄榄苦苷组每天灌胃100 mg/kg的橄榄苦苷^[5],阳性药物组每天灌胃10 mg/kg贝那普利,每日于上午9:00给药1次,连续灌胃7周,正常组和糖尿病模型组每天灌胃等体积的生理盐水。末次给药后次日以代谢笼收集24 h尿液,之后将4组大鼠全部处死,采用主动脉取血,再迅速剥离出双侧肾脏,精确称重后,计算肾脏指数。公式为肾脏指数=大鼠肾脏重量/大鼠体重 $\times 1000$ 。

1.2.2 血糖、血脂、肾功能、24 h尿白蛋白定量及尿白蛋白排泄率的检测 用放免法测定尿微量尿白蛋白(UALB),并计算24 h尿微量白蛋白排泄率

(UAER)。用One Touch II自动血糖仪测定血糖,用全自动生化分析仪测定血甘油三酯(TG)、胆固醇(CHO)、高密度脂蛋白(HDL)、血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)。

1.2.3 血清IgG、IgM和补体C3、C4含量及肾脏端粒酶活性的测定 取大鼠动脉血浆离心10 min(3000 r/min),取上层血清,按照ELISA检测试剂盒说明书的方法测定IgG、IgM和补体C3、C4含量。取大鼠肾脏按照PCR-ELISA试剂盒操作步骤测定端粒酶活性,酶标仪450 nm处测定吸光度值。

1.2.4 抗氧化酶活性测定 取大鼠肾脏,在预冷的生理盐水中漂洗,滤纸吸干,精确称重后,滴加组织重量9倍的生理盐水,置入匀浆器中在冰水中匀浆(5 min),再3000 r/min离心(10 min),用微量移液器吸取上清液按试剂盒的操作要求分别测定SOD、CAT的活性及MDA的含量。

1.2.5 免疫组化SP法检测肾脏TGF- β 和Smad4的表达 取大鼠肾脏数块,迅速投入15%的中性福尔马林液固定24 h,常规石蜡包埋切片(6 μ m)。石蜡切片脱蜡至水,微波(先用高档火加热沸腾后改用中低档加热10 min)处理进行抗原修复,用3% H₂O₂室温孵育10 min,正常兔血清室温封闭30 min,然后用兔抗鼠Smad4和TGF β 1多克隆抗体(均为1:100),4 $^{\circ}$ C过夜,PBS洗涤,滴加生物素二抗羊抗兔IgG 30 min,SABC工作液孵育30 min,最后DAB显色,苏木素复染,空白对照以PBS代替一抗。常规乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片,在显微镜下观察并拍照。

1.2.6 数据处理 用SPSS 13.0软件进行统计学分析处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用one-way ANOVA分析,以 $p < 0.05$ 和 $p < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 橄榄苦苷对大鼠肾脏指数的影响

糖尿病模型大鼠肾脏出现肿大等病理现象,造成肾脏重量较正常对照组大鼠显著增加($p < 0.01$),肾脏指数变大(表1)。橄榄苦苷可以降低STZ对肾脏造成的影响,肾脏的肿大情况较糖尿病模型组有所缓解,肾脏指数显著降低($p < 0.01$)。肾损伤出现后肾脏重量会明显变重,出现肿大,造成肾脏指数增加,在临床诊疗中已经作为判断肾脏损伤的重要指标^[2]。由表1可以看出,橄榄苦苷可以降低糖尿病模型大鼠的肾脏重量和肾脏指数,具有缓解肾脏损伤的效果。在减少肾脏指数方面,橄榄苦苷的效果显著优于阳性药物贝那普利($p < 0.05$)。

2.2 橄榄苦苷对大鼠血糖、血脂的影响

由表2可见,STZ诱导大鼠肾损伤后,糖尿病模型组大鼠的血糖、CHO和TG水平最高、HDL水平最低,正常组大鼠血糖、CHO和TG水平最低、HDL水平最高。阳性药物组和橄榄苦苷组血糖、CHO和TG的水平较糖尿病模型组显著下降($p < 0.05$, $p < 0.01$),HDL的水平较糖尿病模型组显著升高($p < 0.05$, $p < 0.01$),但与正常组有差异。橄榄苦苷处理

大鼠的血糖、血脂水平更为接近正常组,且与阳性药物对照组没有统计学差异($p > 0.05$)。血糖、血脂是诊断肾实质损害的重要检测指标,其含量的高低可反映肾组织和糖脂代谢的改变^[3]。当肾脏处于病理状态时,肾脏的结构和功能发生变化,血糖、血脂的变化是最直观的体现。橄榄苦苷能明显降低糖尿病模型大鼠的血糖、CHO 和 TG 含量,升高 HDL 的含量,可见橄榄苦苷调整并改善了糖尿病模型大鼠的血糖和血脂水平。

表1 橄榄苦苷对糖尿病大鼠体重、肾脏重量和肾脏指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of oleuropein on body weight, kidney weight and renal index of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体重 (g)	肾脏重量 (g)	肾脏指数
正常组	430.23 ± 23.55	1.39 ± 0.05	3.22 ± 0.16
糖尿病模型组	306.41 ± 20.39 ^b	1.97 ± 0.06 ^b	6.44 ± 0.19 ^b
阳性药物组	364.74 ± 15.66 ^{bc}	1.52 ± 0.04 ^{bc}	4.61 ± 0.14 ^{bd}
橄榄苦苷组	416.42 ± 26.87 ^{de}	1.48 ± 0.03 ^{ad}	3.56 ± 0.15 ^{de}

注:与正常组比较:^a $p < 0.05$,^b $p < 0.01$;与糖尿病模型组比较:^c $p < 0.05$,^d $p < 0.01$;与阳性药物组比较:^e $p < 0.05$ 。同表 2~表 6 同。

2.3 橄榄苦苷对大鼠肾功能和尿蛋白的影响

Scr 是肌肉内磷酸肌酸经水解产生的,正常动物体内 Scr 产生速度比较稳定,但当肾小球滤过率降低时,Scr 的含量会明显高于正常状态。BUN 是人体蛋白质代谢的终末产物,血液中尿素全部从肾小球滤过,正常情况下大部分被肾小管重吸收,肾脏受损时,尿酸排出减少,从而使血液中的 BUN 升高^[6]。故血清中 Scr、BUN 的含量若是增高则可以在一定程度上反映肾小管细胞损害的程度。UA 是动物体内嘌呤核苷酸分解代谢的近终末产物,正常情况下人体的尿酸生成与排泄是平衡的,如果体内产生过多来不及排泄或者尿酸排泄机制受损,则体内尿酸滞留过多,血液中尿酸浓度会升高^[7]。UALB 是目前临床上 DN 的主要临床表现之一,并且与 DN 的肾脏损伤程度密切相关,而肾小球滤过屏障结构和功能的改

变是引起 DN 蛋白尿的主要病理生理基础^[8]。因此,选用 Scr、UA、BUN、UALB 和 UAER 五个指标来反应肾损伤的情况。

由表 3 数据可以得出,与正常组相比,糖尿病模型组大鼠血清的 Scr、UA、BUN 和尿 UALB、UAER 水平显著增高($p < 0.01$),表明模型组的肾功能异常、肾组织严重损伤。橄榄苦苷大鼠血清 Scr、UA、BUN 和尿 UALB、UAER 水平明显低于模型组($p < 0.05, p < 0.01$),可见橄榄苦苷可以减小肾损伤对 Scr、UA、BUN、UALB 和 UAER 水平的影响,起到对肾脏的保护作用。

2.4 橄榄苦苷对大鼠肾脏 SOD、CAT 的活性及 MDA 含量的影响

SOD 是一种以自由基为底物的抗氧化酶,在清除活性氧自由基、减轻脂质过氧化作用和膜伤害等方面起着重要作用,从而保护机体免受自由基伤害^[9]。CAT 存在于红细胞及某些组织细胞的微体中,催化 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 而使机体免受 H_2O_2 的损伤。MDA 是超氧化物阴离子自由基作用于生物膜磷脂结构不饱和脂肪酸所形成的终产物之一,机体组织 MDA 含量可间接反映机体细胞受自由基攻击的严重程度^[4]。在糖尿病动物模型中,肾脏 SOD 和 CAT 活性显著下降、MDA 含量显著升高,机体清除自由基的能力下降^[10]。因此,检测肾组织中 SOD、CAT、MDA 指标可以预测肾氧化损伤的程度。

由表 4 可知,糖尿病模型组与正常组相比,SOD、CAT 的活力显著降低($p < 0.01$),橄榄苦苷组的 SOD、CAT 活力与糖尿病模型组相比较明显升高($p < 0.05, p < 0.01$)。说明橄榄苦苷能增强肾脏的抗氧化功能,对肾损伤有一定的治疗作用。而糖尿病模型组的 MDA 含量相较于正常组显著增高($p < 0.01$),橄榄苦苷组的 MDA 含量与糖尿病模型组相比较明显降低($p < 0.01$),表明橄榄苦苷可抑制 MDA 的产生,从而可减小细胞损伤,这同时也说明橄榄苦苷有助于提高肾脏的抗氧化功能。在提高肾脏 SOD、CAT 活力、降低 MDA 含量方面,橄榄苦苷的效果显著优于阳性药物贝那普利($p < 0.05$)。

表2 橄榄苦苷对糖尿病大鼠血糖和血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of oleuropein on blood glucose and lipid of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	血糖 (mmol/L)	HDL (mmol/L)	CHO (mmol/L)	TG (mmol/L)
正常组	10.13 ± 1.72	0.94 ± 0.15	1.32 ± 0.08	0.62 ± 0.05
糖尿病模型组	36.46 ± 3.39 ^b	0.34 ± 0.04 ^a	2.79 ± 0.12 ^a	3.05 ± 0.09 ^b
阳性药物组	14.09 ± 2.11 ^{ad}	0.80 ± 0.11 ^c	1.86 ± 0.21 ^c	1.69 ± 0.17 ^{ad}
橄榄苦苷组	13.21 ± 1.52 ^d	0.75 ± 0.12 ^c	1.77 ± 0.24 ^{ac}	1.43 ± 0.22 ^{ad}

表3 橄榄苦苷对糖尿病大鼠 Scr、UA、BUN、UALB 和 UAER 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of oleuropein on Scr, UA, BUN, UALB and UAER of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	Scr (μmol/L)	UA (μmol/L)	BUN (mmol/L)	UALB (mg/L)	UAER (mg/24 h)
正常组	39.98 ± 3.37	44.33 ± 5.31	6.37 ± 0.42	23.73 ± 1.44	5.82 ± 0.53
糖尿病模型组	53.06 ± 4.16 ^b	68.88 ± 7.02 ^b	16.11 ± 0.57 ^b	102.18 ± 11.55 ^b	29.49 ± 3.33 ^b
阳性药物组	40.44 ± 2.66 ^c	49.27 ± 5.71 ^d	10.06 ± 0.44 ^{ad}	34.52 ± 9.16 ^{ad}	11.61 ± 2.44 ^{ad}
橄榄苦苷组	41.51 ± 3.08 ^c	51.67 ± 4.93 ^c	9.61 ± 0.51 ^{ac}	32.37 ± 8.07 ^{ad}	10.74 ± 2.38 ^{ad}

表4 橄榄苦苷对糖尿病大鼠肾脏 SOD、CAT 的活性及 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Changes of renal SOD, CAT activities and MDA content of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	SOD 活性 (U/mg)	CAT 活性 (U/mg)	MDA 含量 (nmol/mg)
正常组	68.61 ± 5.33	10.24 ± 1.17	4.35 ± 0.29
糖尿病模型组	43.44 ± 2.96 ^b	6.48 ± 1.02 ^b	9.74 ± 1.14 ^b
阳性药物组	52.19 ± 3.84 ^{ad}	7.81 ± 1.31 ^{ac}	7.92 ± 0.65 ^{bd}
橄榄苦苷组	63.67 ± 4.55 ^{de}	9.11 ± 0.42 ^{ce}	5.17 ± 0.55 ^{de}

2.5 橄榄苦苷对大鼠免疫功能和肾脏端粒酶活性的影响

免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) 是评价机体体液免疫状况的常用指标,其中 IgG、IgM 是血清抗体的主要成分,其含量的多少,可反映机体的免疫应答能力和体液免疫的水平,补体 (C3、C4) 在人体的免疫应答及免疫适应中起着调理、免疫附着、吞噬、白细胞的化学趋化及中和病毒等重要作用。糖尿病患者的体液免疫出现异常, IgG、IgM 和补体 C3、C4 水平下降^[11]。端粒酶是基本的核蛋白逆转录酶,可将端粒 DNA 加至真核细胞染色体末端,使因每次细胞分裂而逐渐缩短的端粒长度得以补偿,进而稳定端粒长度。端粒 DNA 作为细胞的“生命钟”,端粒长短和稳定性决定细胞的寿命^[12]。表 5 结果表明,与糖尿病模型组相比,橄榄苦苷组大鼠血清 IgG、IgM 和补体 C3、C4 含量及肾脏端粒酶活性明显升高 ($p < 0.05, p < 0.01$),且橄榄苦苷组与阳性药物组大鼠肾脏端粒酶活性差异明显 ($p < 0.05$),更为接近正常大鼠。说明橄榄苦苷可通过提高糖尿病模型大鼠血清中 IgG、IgM 和补体 C3、C4 含量及肾脏端粒酶活性,增强机体的免疫功能,延缓肾脏衰老。

2.6 橄榄苦苷对大鼠肾脏 TGFβ1 和 Smad4 表达的影响

表5 橄榄苦苷对糖尿病大鼠血清 IgG、IgM 和补体 C3、C4 含量及肾脏端粒酶活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of oleuropein on the levels of serum IgG, IgM and complement C3, C4 and renal telomerase activity of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IgG (μg/mL)	IgM (μg/mL)	C3 (μg/mL)	C4 (μg/mL)	telomerase activity
正常组	14.63 ± 2.11	1.24 ± 0.15	1.88 ± 0.55	2.23 ± 0.36	20.14 ± 2.08
糖尿病模型组	3.97 ± 0.06 ^b	0.18 ± 0.02 ^a	0.39 ± 0.07 ^a	0.71 ± 0.08 ^b	8.81 ± 2.56 ^b
阳性药物组	6.12 ± 1.06 ^{bd}	0.87 ± 0.24 ^{ac}	1.01 ± 0.14 ^{ac}	1.54 ± 0.44 ^{ad}	11.66 ± 2.83 ^{bc}
橄榄苦苷组	6.89 ± 1.28 ^{bd}	1.18 ± 0.37 ^c	1.51 ± 0.31 ^c	2.21 ± 0.56 ^d	18.86 ± 3.71 ^{de}

表6 TGFβ1 和 Smad4 在肾脏表达的平均光密度和积分光密度($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 The average optical density and integral optical density of TGFβ1 and Smad4 in the kidney ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	TGFβ1		Smad4	
	平均光密度	积分光密度	平均光密度	积分光密度
正常组	0.0372 ± 0.0023	389.628 ± 70.245	0.0296 ± 0.0017	263.282 ± 77.555
糖尿病模型组	0.0861 ± 0.0057 ^b	765.302 ± 60.414 ^b	0.0677 ± 0.0026 ^b	684.507 ± 70.710 ^b
阳性药物组	0.0515 ± 0.0029 ^{bd}	602.733 ± 48.966 ^{ac}	0.0414 ± 0.0027 ^{bd}	511.541 ± 36.241 ^{bc}
橄榄苦苷组	0.0422 ± 0.0021 ^{ade}	477.111 ± 51.424 ^{de}	0.0352 ± 0.0044 ^{ade}	373.130 ± 45.521 ^{ade}

在 DN 的发生和发展中,有多种细胞因子、生长因子以及黏附分子参与了 DN 的形成,其中 TGFβ1 和 Smad4 起关键作用。TGF-β1 属于 TGF-β 超家族,是目前公认的致纤维化的重要细胞因子,通过自分泌和旁分泌方式直接作用于肾小管细胞,导致肾脏肥大,而 TGFβ1 生物效应的发挥必须通过特定的信号分子 Smad4 转导过程。Smad4 属于 Smads 家族,是 TGFβ1 的唯一底物,它们可将 TGFβ1 信号直接从细胞膜导入细胞核内^[13]。在 DN 大鼠模型中, TGFβ1 和 Smad4 的表达增加导致 TGFβ1/Smad4 途径下游靶基因的转录调控,从而促进糖尿病大鼠肾脏纤维化的进展^[14]。因此,抑制 TGFβ1 的产生及阻断其特定的信号转导过程是糖尿病肾病治疗的重要途径之一。

由表 6 可知,STZ 诱导大鼠肾损伤后,糖尿病模型组大鼠肾脏 TGFβ1 和 Smad4 表达最强烈、阳性细胞数最多,正常组大鼠肾脏 TGFβ1 和 Smad4 表达最弱、阳性细胞数最少。阳性药物组和橄榄苦苷组肾脏 TGFβ1 和 Smad4 表达水平明显下降 ($p < 0.05, p < 0.01$),与正常组有差异。但橄榄苦苷处理大鼠肾脏 TGFβ1 和 Smad4 表达水平更为接近正常组,与阳性药物对照组差异明显 ($p < 0.05$)。实验结果表明,橄榄苦苷可以通过抑制糖尿病模型大鼠肾脏 TGFβ1 的表达直接抑制肾脏的损害,或通过抑制 Smad4 的表达来阻断 TGFβ1 信号转导通路,从而延缓 DN 的进程。结果见图 1。

3 结论

橄榄苦苷是油橄榄提取物中含量最多的成分,具有很高的生物活性。本文为探究橄榄苦苷是否对 STZ 诱导的肾损伤有影响,进行了动物模型实验,结果显示橄榄苦苷对糖尿病模型大鼠的肾脏具有一定的保护作用,其机制与可能与改善肾功能、提高端粒酶活性和抗氧化能力、增强免疫功能、抑制 TGFβ1 和 Smad4 的表达有关。橄榄苦苷作为一种天然产物,可作为预防和

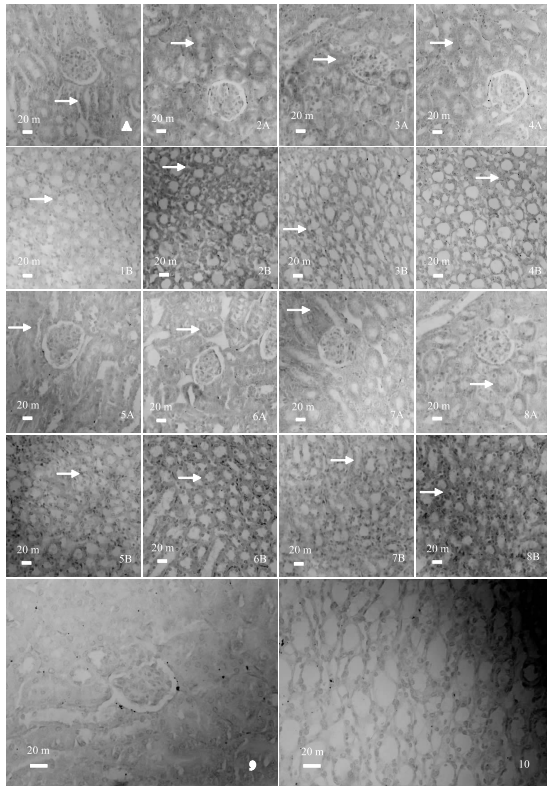


图1 橄榄苦苷对大鼠肾脏 TGFβ1 和 Smad4 表达的影响

Fig.1 Effect of oleuropein on expression of TGF-β1 and Smad4 in rat kidney

注:1:正常组中 TGFβ1 的表达,→示阳性产物,A.肾皮质,B.肾髓质,标尺示 20 μm(2~10 同);2:糖尿病模型组中 TGFβ1 的表达;3:橄榄苦苷组中 TGFβ1 的表达;4:阳性药物组中 TGFβ1 的表达;5:正常组中 Smad4 的表达;6:糖尿病模型组中 Smad4 的表达;7:橄榄苦苷组中 Smad4 的表达;8:阳性药物组中 Smad4 的表达;9:肾皮质阴性对照;10:肾髓质阴性对照。

治疗的良好保健品和药物,进一步开发其之前所不为人知的利用价值,可以产生很好的经济效益。

参考文献

[1]肖炜.肾康丸对糖尿病肾病 TGF-β1/Smad 信号通路的影响[D].广州:第一军医大学,2006.

[2]钱燕,李素梅,叶山东,等.辛伐他汀对糖尿病大鼠的肾脏保护作用及其抗炎机制探讨[J].中国新药杂志,2008,17(14):1212-1215.

[3]Badawi S,Ahmed S,Al-Ani N.Effect of ethanol olive leaf and its callus ethanol extracts in alloxan-induced diabetic mice(blood glucose and lipid profiles) [J].Journal of Biotechnology Research Center,2013,7(2):62-66.

[4]Wang Y,Wang SQ,Cui WH, et al.Olive leaf extract inhibits lead poisoning-induced brain injury[J].Neural Regen Res,2013,8(22):2021-2029.

[5]尹营松,苏占辉,刘丽艳,等.橄榄苦苷在大鼠体内药代动力学研究[J].时珍国医国药,2012,23(8):1896-1898.

[6]Orchard TJ,Forrest KY,Kuller LH, et al.Lipid and blood pressure treatment goals for type 1 diabetes: 10-year incidence data from the pittsburgh epidemiology of diabetes complications study[J].Diabetes Care,2001,24(6):1053-1059.

[7]张媛媛,张日华,杜新丽,等.血清尿酸水平与糖尿病各代谢因子的相关性研究[J].南京医科大学学报:自然科学版,2013,33(1):62-67.

[8]Fioretto PB,ruseghin M,Barzon I, et al.Diabetic nephropathy: an update on renal structure [J].Int Congr Ser, 2007, 1303: 51-59.

[9]刘红芳,邓泽元,徐靓,等.乳酸菌源纳米硒对小鼠抗氧化性能的影响[J].食品工业科技,2014,35(23):360-365.

[10]Li W,Wang GG,Lu XH, et al.Lycopene ameliorates renal function in rats with streptozotocin-induced diabetes [J].Int J Clin Exp Pathol,2014,7(8):5008-5015.

[11]景洪江,刘英华,王靓,等.补充微量营养素对2型糖尿病患者免疫功能和感染的影响[J].营养学报,2010,32(1):11-16.

[12]Harman D.Free radical theory of aging:an update:increasing the functional life span [J].Ann NY Acad Sci, 2006, 1067: 10-21.

[13]Lan XY.Transforming growth factor-β/Smad signalling in diabetic nephropathy [J].Clin Exp Pharmacol Physiol, 2012, 39(8):731-738

[14]Shen N, Li X, Zhou T, et al. Shensong yangxin capsule prevents diabetic myocardial fibrosis by inhibiting TGF-β1/Smad signaling[J].J Ethnopharmacol,2014,18(157):161-170.

[15]肖炜,李素梅,叶山东,等.辛伐他汀对糖尿病大鼠的肾脏保护作用及其抗炎机制探讨[J].中国新药杂志,2008,17(14):1212-1215.

[16]Badawi S,Ahmed S,Al-Ani N.Effect of ethanol olive leaf and its callus ethanol extracts in alloxan-induced diabetic mice(blood glucose and lipid profiles) [J].Journal of Biotechnology Research Center,2013,7(2):62-66.

[17]Wang Y,Wang SQ,Cui WH, et al.Olive leaf extract inhibits lead poisoning-induced brain injury[J].Neural Regen Res,2013,8(22):2021-2029.

[18]尹营松,苏占辉,刘丽艳,等.橄榄苦苷在大鼠体内药代动力学研究[J].时珍国医国药,2012,23(8):1896-1898.

[19]Orchard TJ,Forrest KY,Kuller LH, et al.Lipid and blood pressure treatment goals for type 1 diabetes: 10-year incidence data from the pittsburgh epidemiology of diabetes complications study[J].Diabetes Care,2001,24(6):1053-1059.

[20]张媛媛,张日华,杜新丽,等.血清尿酸水平与糖尿病各代谢因子的相关性研究[J].南京医科大学学报:自然科学版,2013,33(1):62-67.

[21]Fioretto PB,ruseghin M,Barzon I, et al.Diabetic nephropathy: an update on renal structure [J].Int Congr Ser, 2007, 1303: 51-59.

[22]刘红芳,邓泽元,徐靓,等.乳酸菌源纳米硒对小鼠抗氧化性能的影响[J].食品工业科技,2014,35(23):360-365.

[23]Li W,Wang GG,Lu XH, et al.Lycopene ameliorates renal function in rats with streptozotocin-induced diabetes [J].Int J Clin Exp Pathol,2014,7(8):5008-5015.

[24]景洪江,刘英华,王靓,等.补充微量营养素对2型糖尿病患者免疫功能和感染的影响[J].营养学报,2010,32(1):11-16.

[25]Harman D.Free radical theory of aging:an update:increasing the functional life span [J].Ann NY Acad Sci, 2006, 1067: 10-21.

[26]Lan XY.Transforming growth factor-β/Smad signalling in diabetic nephropathy [J].Clin Exp Pharmacol Physiol, 2012, 39(8):731-738

[27]Shen N, Li X, Zhou T, et al. Shensong yangxin capsule prevents diabetic myocardial fibrosis by inhibiting TGF-β1/Smad signaling[J].J Ethnopharmacol,2014,18(157):161-170.

(上接第 352 页)

用的分子机制[J].中国微生物学杂志,2005,17(1):79-81.

[17]薛超辉,张兰成,张迎春,等.筛选具有抑制引起腹泻致病菌黏附功能的益生菌[J].食品工业科技,2015,36(2):227-230.

[18]张娟,杨彩梅,曹广添,等.解淀粉芽孢杆菌及其作为益生菌的应用[J].动物营养学报,2014,26(4):863-867.

[19]陈佩,党辉,张秋香,等.1株具有潜在降糖作用的益生菌的筛选[J].中国食品学报,2014,14(11):27-33.

[20]Miller D D, Schricker B R, Rasmussen R R, et al. An in-vitro method for estimation of iron availability form meals[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1981, 34(10):2248-2256.

[21]徐丽丹,邹积宏,袁杰利.一株降血压功能乳酸菌在模拟胃肠环境中抗性的研究[J].中国微生物学杂志,2011,23(2):112-114.