

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2008)01-0020-03

压力超负荷大鼠肾组织脂质过氧化物的变化及替米沙坦干预作用

周建光¹, 刘兆川², 沐贤友², 王旭开³(解放军第252医院:¹检验科,²心内科,河北保定071000,³第三军医大学大坪医院心内科,重庆400042)

Change of lipid peroxidation of nephric tissue in pressure-overloaded rat model as well as intervention of telmisartan

ZHOU Jian-Guang¹, LIU Zhao-Chuan², MU Xian-You², WANG Xu-Kai³¹Department of Clinical Laboratory, ²Department of Cardiology, Chinese PLA 252 Hospital, Baoding 071000, China, ³Department of Cardiology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

【Abstract】 AIM: To illustrate the change in lipid peroxidation of pressure-overloaded rat model produced by abdominal aorta constriction as well as the intervention effects of telmisartan.

METHODS: Thirty-six Wistar rats were divided into 3 groups: sham-operation group (SG), abdominal aorta constriction group (operation group, OG), and telmisartan + operation group (TM + OG), with 12 in each group. Pressure-overloaded rat models were established by using abdominal aorta constriction method. The levels of creatinine (Cr) and urea nitrogen (BUN) in the rats' serum as well as those of malonaldehyde (MDA) and glutathion (GSH) of the rats' nephric tissue were measured respectively. **RESULTS:** Compared with SG, the levels of Cr and BUN and that of MDA in the nephric tissue were significantly higher than those in OG and TM + OG. The levels of these indices in TM + OG were lower than that in OG. The level of GSH in OG and TM + OG was lower than that in SG, but higher in TM + OG than in OG. **CONCLUSION:** The change of the lipid peroxidation in the pressure-overloaded rat model is obvious and telmisartan exerts the protective effects against the changes.

【Keywords】 nephridial tissue; pressure overloads; lipid peroxidation; telmisartan

【摘要】目的 探讨腹主动脉缩窄法模拟压力超负荷大鼠模型肾组织脂质过氧化、肾功能改变及替米沙坦干预作用。方法 将36只Wistar大鼠随机等分成3组:假手术组(SG),腹主动脉缩窄组(OG),替米沙坦+腹主动脉缩窄组(TM+OG),每组12只。腹主动脉缩窄组和替米沙坦+腹主动脉缩窄组大鼠0.1 g/mL乌拉坦(0.7 g/kg)腹腔麻醉,左上腹切口,使腹主动脉充分暴露,在双肾动脉上方0.5 cm处将8号针头与腹主动脉共同结扎,拔除针头,造成腹主动脉管腔环形缩窄约50%~

OG),每组12只。采用腹主动脉缩窄法制备压力超负荷大鼠模型,分别测定大鼠血清肌酐(Cr)和尿素氮(BUN)含量及大鼠肾组织匀浆丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)含量。结果 腹主动脉缩窄组(OG)及替米沙坦+腹主动脉缩窄组(TM+OG)血清Cr、BUN含量及肾组织匀浆MDA水平均较假手术组(SG)增高,但TM+OG低于OG;肾组织匀浆GSH水平OG及TM+OG低于SG,但TM+OG高于OG。结论 腹主动脉缩窄法制备压力超负荷大鼠肾脏脂质过氧化物改变明显且替米沙坦有保护作用。

【关键词】 肾脏;压力超负荷;脂质过氧化;替米沙坦

【中图分类号】 R543 **【文献标识码】** A

0 引言

心、肾是压力超负荷重要的靶器官,长期压力超负荷可导致心肌细胞肥大,并最终发生慢性心功能不全,心功能不全时肾功能恶化已成为临床工作中的重要问题。替米沙坦是新一代长效、高效、低毒的新型血管紧张素Ⅱ受体阻滞药。本文通过腹主动脉缩窄法模拟压力超负荷大鼠模型探讨肾脏脂质过氧化物变化以及血管紧张素Ⅱ受体I型拮抗剂替米沙坦对压力超负荷大鼠肾脏损坏的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料 成年雌性Wistar大鼠36只,体质量(220±30)g,由解放军第252医院实验动物中心提供,标准啮齿动物喂养。替米沙坦片(商品名为美卡素)40 mg/片,德国勃林格殷格翰国际公司产品^[1],丙二醛(MDA)测定试剂盒、蛋白质定量(双缩脲法)试剂盒、谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和模型制备 将36只大鼠随机等分成3组:假手术组(SG),腹主动脉缩窄组(operation group, OG),替米沙坦+腹主动脉缩窄组(TM+OG),每组12只。腹主动脉缩窄组和替米沙坦+腹主动脉缩窄组大鼠0.1 g/mL乌拉坦(0.7 g/kg)腹腔麻醉,左上腹切口,使腹主动脉充分暴露,在双肾动脉上方0.5 cm处将8号针头与腹主动脉共同结扎,拔除针头,造成腹主动脉管腔环形缩窄约50%~

收稿日期 2007-05-24; 接受日期 2007-09-04

通讯作者:刘兆川, Tel (0312)2058252 Email zhaochuan-26@163.com

作者简介:周建光, 学士, 技师, Tel (0312)2058552 Email tianya33@

163.com

60%。假手术组同期开腹不结扎作对照。术后青霉素 50000 U/只肌肉注射 1 wk, 预防感染^[2-3]; TM + OG 每天灌胃给药 3 mg/kg^[4], 余两组灌等量生理盐水。

1.2.2 大鼠血清肌酐(Cr)和尿素氮(BUN)含量测定 断头处死大鼠, 取全血标本 3000 r/min 离心 15 min, 生化自动分析仪检测血清 Cr 和 BUN 含量。

1.2.3 肾组织匀浆蛋白含量测定 取新鲜肾脏皮质组织 300 mg, 置于玻璃匀浆器内, 按 1:9 比例加入冰生理盐水后, 研磨成 100 mg/L 组织匀浆, 3000 r/min 离心 10 min, 取其上清液待测; 按试剂盒操作制备空白管、标准管和各测定管; 将各管混匀, 37℃ 水浴 10 min, 流水冷却后, 波长 540 nm, 光径 1 cm, 空白管调零, 测各管吸光度值($A_{540\text{nm}}$), 按公式计算肾组织匀浆蛋白质含量。

1.2.4 肾组织匀浆 MDA 含量测定 按试剂盒操作制备空白管、标准管和各测定管, 旋涡混匀器混匀, 试管口用保鲜薄膜扎紧, 用针头刺一小孔, 95℃ 水浴, 40 min, 取出后流水冷却, 3500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 532 nm 处, 1 cm 光径, 蒸馏水调零, 测各管吸光度值($A_{532\text{nm}}$), 按公式计算各管肾组织匀浆中 MDA 含量, 以 nmol/mg 表示。

1.2.5 肾组织匀浆 GSH 含量测定 按试剂盒操作制备空白管、标准管和各测定管, 充分混匀, 室温静置 5 min, 于 412 nm 处, 0.5 cm 光径, 蒸馏水调零, 测定各管吸光度值($A_{412\text{nm}}$), 按公式计算各管肾组织匀浆中 GSH 含量, 以 mg/g prot 表示。

统计学处理: 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS10.0 统计软件进行随机区组设计多个样本比较的 Friedman M 检验及多相关样本两两比较的 q 检验。

2 结果

2.1 一般情况 OG 组和 TM + OG 组在腹主动脉缩窄术后第一天即出现进食量下降, 以后逐渐出现毛发无光泽, 活动减少, 不同程度呼吸急促, 四肢及口唇发绀, 尿量减少, 肛周毛发较湿脏乱, 部分大鼠甚至出现拒食。两组大鼠体质量下降, 各有两只大鼠死亡。而 SG 组一般情况正常, 无大鼠死亡。

2.2 大鼠血清 Cr 和 BUN 含量 OG 血清 Cr, BUN 含量明显升高, 与 SG 相比, 存在统计学差异($P < 0.01$) 表明腹主动脉缩窄模拟压力超负荷大鼠模型成功建立; TM + OG 血清 Cr, BUN 含量虽然也高于 SG, 但低于 OG, 且有统计学差异($P < 0.01$) 表明替米沙坦能减轻压力超负荷肾脏损坏作用(表 1)。

表 1 替米沙坦对压力超负荷大鼠肾功能的影响

(n = 10, $\bar{x} \pm s$)		
组别	Cr($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)
SG	49 ± 7	6.8 ± 0.7
OG	151 ± 36 ^b	40.5 ± 7.9 ^b
TM + OG	85 ± 18 ^{ab}	14.4 ± 4.1 ^{ab}

^b $P < 0.01$ vs SG; ^a $P < 0.01$ vs OG. SG: 假手术组; OG: 腹主动脉缩窄组; TM + OG: 替米沙坦 + 腹主动脉缩窄组。

2.3 大鼠肾组织匀浆 MDA 和 GSH 含量 OG 和 TM + OG 肾组织 MDA 含量均高于 SG ($P < 0.01$), 肾组织 GSH 含量, 两组也低于 SG ($P < 0.01$), 表明压力超负荷对大鼠肾组织可造成明显的过氧化损伤。但与 OG 相比, TM + OG 肾组织中 MDA 含量低于 OG ($P < 0.01$), GSH 含量高于 OG ($P < 0.05$) 表明替米沙坦能抑制压力超负荷引起的肾脏组织中 MDA 含量升高和 GSH 含量下降(表 2)。

表 2 替米沙坦对压力超负荷大鼠肾脏脂质过氧化的影响

(n = 10, $\bar{x} \pm s$)		
组别	MDA(nmol/mg)	GSH(mg/mg)
SG	2.6 ± 0.4	62 ± 8
OG	5.4 ± 0.8 ^b	36 ± 7 ^b
TM + OG	4.2 ± 0.6 ^{ab}	47 ± 8 ^{ab}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs OG; ^b $P < 0.01$ vs SG. SG: 假手术组; OG: 腹主动脉缩窄组; TM + OG: 替米沙坦 + 腹主动脉缩窄组。

3 讨论

研究发现, 老年鼠血清以及骨骼肌线粒体中抗氧化酶如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶, 非酶抗氧化剂如还原型谷胱甘肽、维生素 C、维生素 E 等水平可明显减少^[5]。MDA 是脂质过氧化反应的产物之一, 组织中 MDA 含量可反映脂质氧化的程度, 并间接反映该组织损伤情况。脂质是生物膜的主要成分, 当自由基与活性氧攻击生物膜时, 对生物膜易造成过氧化损害, 同时产生脂质过氧化产物 MDA。生物膜的过氧化损伤会导致其通透性增加、流动性下降、膜蛋白功能异常等变化, 影响和破坏生物膜正常的生理功能, 从而对细胞造成损伤^[6-7]。

GSH 是一种自由基清除剂, 它可清除 LOOH, H_2O_2 , O_2^- 。GSH 通过与 GSH-Px 酶共同抑制脂质氧化的启动或终止脂质过氧化的发展, 从而阻断新自由基产生, 间接清除自由基。GSH 亦可直接清除自由基, GSH 可在 GSH-Px 的作用下从 H_2O_2 处接受电子, 发生自身氧化, 从而阻断 OH 生成; GSH 还可将一些

脂质自由基、脂质过氧化自由基直接还原,从而清除有害的过氧化物代谢产物,阻断脂质过氧化链锁反应,从而起到保护细胞膜结构和功能完整的作用^[8-9]。谷胱甘肽是蛋氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成的一种三肽,是组织中主要的非蛋白质巯基化合物,并且是 GSH-PX 和 GST 两种酶的底物,为这两种酶分解过氧化物所必需,它能稳定含巯基的酶和防止血红蛋白及其它辅助因子受氧化损伤。缺乏或耗竭 GSH 会促使许多化学物质或环境因素产生中毒作用或加重其中毒作用,这可能与增强过氧化损伤有关^[10],因此,GSH 含量是衡量机体抗氧化能力大小的重要因素。

肾素-血管紧张素(RAS)对于血压和水电解质平衡的调节起重要作用。它通过一系列酶促反应将血管紧张素(Ang)I 转化为 AngII,AngII 与细胞表面的血管紧张素受体结合而发挥生物学作用,替米沙坦是血管紧张素 II 受体阻滞药。本研究通过测定肾组织匀浆中 MDA 和 GSH 含量,分析压力超负荷对大鼠肾组织脂质过氧化的影响及替米沙坦对其的保护作用。我们的研究结果显示,腹主动脉缩窄法模拟压力超负荷大鼠模型,OG 肾脏组织中 MDA 含量升高,GSH 含量下降,与 SG 相比,有统计学差异($P < 0.01$)。这证实了 OG 确实可促进肾脏组织脂质过氧化形成,产生了大量的 MDA,同时肾组织中 GSH 含量下降,使体内抗氧化能力降低,体内不能清除过多的自由基,从而促进了氧化应激,加重了肾损伤。而给予 TM 后,TM + OG 肾组织中 MDA 含量虽然也高于 SG,GSH 含量低于 SG,但 MDA 含量低于 OG ($P < 0.01$),GSH 含量高于 OG ($P < 0.05$)。这表明用 TM 预处理后,能抑制 OG 所致的脂质过氧化,减少 MDA 生成,同时

也明显抑制 GSH 耗损,改善了体内的抗氧化能力。TM 可能就是通过减少 MDA 生成和 GSH 的消耗,发挥其抗氧化作用,减轻了 OG 对肾脏的氧化损伤。TM 的抗氧化作用可能是 TM 对 OG 损伤大鼠肾脏保护作用的重要机制之一。

【参考文献】

- [1] 黄鹏,张红,徐文炜,等.替米沙坦片的人体药动学和生物等效性[J].第四军医大学学报,2006,27(18):1723-1725.
- [2] 周泉,李志梁,胡高频,等.慢性压力负荷性大鼠肾脏细胞凋亡[J].第四军医大学学报,2002,23(7):586-588.
- [3] 胡咏梅,李法琦,罗羽慧,等.腹主动脉缩窄大鼠模型制作及临床意义[J].重庆医科大学学报,2004,29(3):322-324.
- [4] 余江恒,李法琦,胡咏梅,等.替米沙坦对压力超负荷性大鼠心室重构及心肌营养素-1 表达的影响[J].中国心血管病研究杂志,2005,3(11):850-853.
- [5] Savitha S, Tamilselvan J, Anusuyadevi M, et al. Oxidative stress on mitochondrial antioxidant defense system in the aging process: role of DL-alpha-lipoic acid and L-carnitine[J]. Clin Chim Acta, 2005, 355(1-2):173-180.
- [6] Kurien BT, Scofield RH. Free radical mediated peroxidative damage in systemic lupus erythematosus[J]. Life Sci, 2003, 73(13):1655-1666.
- [7] Malarkodi KP, Balachandar AV, Sivaprasad R, et al. Prophylactic effect of lipoic acid against adriamycin-induced peroxidative damages in rat kidney[J]. Ren Fail, 2003, 25(3):367-377.
- [8] Forman HJ, Dickinson DA. Oxidative signaling and glutathione synthesis[J]. Biofactors, 2003, 17(1-4):1-12.
- [9] Mytilineou C, Kramer BC, Yabut JA. Glutathione depletion and oxidative stress[J]. Parkinsonism Relat Disord, 2002, 8(6):385-387.
- [10] Chiou TJ, Tzeng WF. The roles of glutathione and antioxidant enzymes in menadione-induced oxidative stress[J]. Toxicology, 2000, 154(1-3):75-84.

编辑 王雪萍

欢迎投稿 欢迎订阅

《第四军医大学学报》是国内外公开征稿和发行的高级综合性医学学术期刊,曾荣获首届国家期刊奖,第二届国家期刊奖提名奖,百种中国杰出学术期刊,全国高校优秀期刊和陕西省编辑出版优秀期刊,是中国各大检索系统源期刊,《中文核心期刊要目总览》收入期刊,美国化学文摘(CA),俄罗斯文摘杂志(AJ)和哥白尼索引(IC)源期刊。本刊主要刊载基础医学、临床医学、预防医学、军事医学、口腔医学、航空航天医学、中医中药学、生物医学工程学方面的研究原著、研究快报、经验交流、病例报告、综述和述评等各类学术性中文文稿。

地址(710033)西安市长乐西路169号

电话(029)84774674,84773456,84773804,84773814

传真(029)84774499

http://journal.fmmu.edu.cn

Email:edjfmumu@fmmu.edu.cn