

[文章编号] 1000- 4718(2006)04- 0824- 02

# 辛伐他汀对糖尿病大鼠肾脏氧化应激的抑制作用

于冬青, 邓华聪, 刘金波

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科, 重庆 400016)

**[摘要]** 目的: 研究辛伐他汀对糖尿病大鼠肾脏氧化应激反应和肾脏功能的影响。方法: 链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠, 给予辛伐他汀治疗 8 周后, 检测辛伐他汀对糖尿病大鼠肾脏氧化应激水平和肾功能的影响。结果: 糖尿病组大鼠血清和肾皮质超氧化物歧化酶(SOD) 和过氧化氢酶(CAT) 活性显著低于正常对照组, 丙二醛(MDA) 含量明显高于正常对照组, 同时血尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、尿蛋白排泄率(UAER)、尿蛋白/肌酐、肾重及肾肥大指数(肾重/体重)均高于对照组。辛伐他汀治疗组 SOD 活性与糖尿病组无明显差异, 其余异常均明显轻于糖尿病组。结论: 辛伐他汀能有效抑制糖尿病大鼠肾脏氧化应激反应, 改善肾脏功能。

**[关键词]** 糖尿病; 肾; 辛伐他汀; 应激

**[KEY WORDS]** Diabetes mellitus; Kidney; Simvastation; Stress

**[中图分类号]** R587. 24 **[文献标识码]** A

他汀类药物是羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂, 是目前广泛用于临床的降脂药, 它不但可降低血浆胆固醇水平, 还具有防止或稳定动脉粥样硬化, 改善肾脏结构和功能等多方面的作用。几项临床试验发现他汀类药物可以减少糖尿病肾病和非糖尿病肾病患者的蛋白尿, 对其防治糖尿病肾病的机制亦进行了大量研究, 已明确它具有许多非依赖降脂的肾脏保护作用, 如抑制肾固有细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 抑制细胞外基质(ECM)合成、分泌, 促进其降解等。但其确切机制尚未完全明了。氧化应激水平增高在糖尿病肾病发生发展中起重要作用, 他汀类药物对糖尿病是否具有抗氧化作用以及这是否是其防治糖尿病肾病的 1 个作用环节, 目前尚未见文献报道。本实验拟以链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠模型, 观察糖尿病大鼠血清及肾脏中抗氧化酶活性和脂质过氧化物含量的变化, 并观察辛伐他汀对其影响, 以进一步探讨他汀类药物对糖尿病肾病的防治作用及其可能机制。

## 材 料 和 方 法

### 1 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, 体重 175- 200 g。饲养条件: 温度 18- 25 ℃, 湿度 75%, 12 h 交替照明。

### 2 药品、试剂与仪器

链脲佐菌素(STZ)购自 Sigma 公司; 辛伐他汀, 每粒 5 mg, 湖北丝宝制药; 血尿素氮(BUN)、血和尿肌酐(Scr、Ucr)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、组织中

蛋白含量测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 尿蛋白测定试剂盒购自中国原子能科学研究院同位素所。微量血糖仪(One Touch II 型, 美国强生公司), 糖化血红蛋白测定仪(德国拜耳公司), 722 光栅分光光度计(重庆川仪九厂)。

### 3 动物模型的复制与分组

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(pH 4.2)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 > 16.65 mol/L 作为糖尿病模型建立标准<sup>[1]</sup>, 共成模 20 只, 未成模的弃去。成模大鼠随机分为糖尿病组和辛伐他汀治疗组, 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。辛伐他汀用 1% 羧甲基纤维素配成混悬液, 治疗组每日以辛伐他汀 5 mg/kg 体重灌胃, 另两组给以等量的羧甲基纤维素, 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。

### 4 样本收集、指标观察和测定方法

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<sup>-1</sup> 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, 心脏穿刺抽血, 取 0.5 mL 血 EDTA 抗凝, 亲和层析微柱法测糖化血红蛋白(HbA1c), 其余血清分离血清, - 20 ℃ 保存。取双肾, 去除肾包膜, 迅速称重后, 取少许肾皮质制成 10% 的匀浆, 余肾置液氮中保存。二乙酰- 脲法测血尿素氮, 除蛋白苦味酸法测血肌酐和尿肌酐, 放免法测尿蛋白, 比色法测血清和肾皮质超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性和丙

[收稿日期] 2004- 09- 07 [修回日期] 2004- 11- 19

Tel: 023- 68573596; E- mail: dongqingyu@21cn.com

二醛水平, 双缩脲法测组织匀浆中的蛋白水平。

### 5 统计学处理

实验所得数据用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )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。

## 结 果

### 1 各组大鼠的血糖、糖化血红蛋白水平

糖尿病组和辛伐他汀治疗组大鼠在实验结束前各死亡 1 只, 正常对照组大鼠无死亡。糖尿病组和辛伐他汀治疗组血糖和糖化血红蛋白水平显著高于正常对照组(均  $P < 0.01$ ), 辛伐他汀治疗组血糖和糖化血红蛋白水平与糖尿病组相比无显著差异(均  $P > 0.05$ ), 结果见表 1。

### 2 各组大鼠肾功能各指标的水平

糖尿病组大鼠的血尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、尿白蛋白排泄率(UAER)、尿白蛋白/肌酐、肾重及肾肥大指数(肾重/体重)均明显高于正常对照组(均  $P < 0.01$ ); 辛伐他汀治疗组上述各指标均明显低于糖尿病组, 但仍高于正常对照组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结果见表 1。

### 3 各组大鼠血清和肾皮质 SOD、CAT 活性及 MDA 含量

糖尿病组大鼠血清和肾皮质 SOD 和 CAT 活性明显低于正常组, 而 MDA 含量明显高于正常组(均  $P < 0.01$ ); 辛伐他汀治疗组血清和肾皮质 CAT 活性明显高于糖尿病组, MDA 含量明显低于糖尿病组(均  $P < 0.01$ ), 两组间 SOD 活性无明显差异( $P > 0.05$ )。结果见表 1。

表 1 8 周末各组大鼠血糖、肾功能、抗氧化酶及丙二醛水平

Tab 1 The levels of BS, renal function, antioxidant enzymes and MDA in different group after 8 weeks ( $\bar{x} \pm s$ )

Index	Normal control	Diabetic mellitus	Simvastatin treated
n	10	9	9
BS(mmol/L)	4.95 ± 0.18	29.67 ± 3.75**	27.89 ± 4.06**
HbA1c(%)	4.33 ± 0.21	14.16 ± 0.89**	13.64 ± 0.75**
BUN(mmol/L)	6.95 ± 0.27	11.23 ± 0.16**	8.79 ± 0.92* △
Scr(μmol/L)	51.28 ± 4.37	78.54 ± 6.72**	55.97 ± 6.85 △ △
UAER(μg/24h)	23.74 ± 3.57	107.21 ± 7.36**	65.97 ± 6.89** △ △
Alb/Cr(g/mol)	0.39 ± 0.13	2.52 ± 0.78**	1.20 ± 0.52** △ △
KW(g)	1.95 ± 0.18	3.45 ± 0.37**	2.31 ± 0.19** △ △
KW/BW(×10 <sup>-2</sup> )	0.78 ± 0.04	1.18 ± 0.13**	0.98 ± 0.17** △
Serum SOD(10 <sup>3</sup> NU/L)	172.54 ± 45.91	89.75 ± 20.11**	91.21 ± 25.78**
Serum CAT(10 <sup>3</sup> U/L)	28.41 ± 1.95	19.35 ± 2.56**	24.09 ± 2.81** △ △
Serum MDA(μmol/L)	8.96 ± 2.54	85.57 ± 14.69**	39.54 ± 16.52** △ △
KidneySOD(10 <sup>3</sup> NU/g protein)	26.75 ± 1.91	20.94 ± 1.89**	21.09 ± 1.74**
KidneyCAT(10 <sup>3</sup> U/g protein)	6.53 ± 0.83	4.96 ± 0.75**	5.83 ± 0.62* △
KidneyMDA(μmol/g protein)	2.35 ± 0.85	5.41 ± 0.69**	4.21 ± 0.89** △ △

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs normal control; △  $P < 0.05$ , △ △  $P < 0.01$  vs diabetic mellitus.

## 讨 论

糖尿病时, 由于糖代谢紊乱导致机体葡萄糖自身氧化、蛋白非酶糖化、肾素-血管紧张素系统激活及代谢应激等, 从而使机体产生大量活性氧<sup>[2]</sup>; 同时抗氧化酶发生糖化或氧

化, 导致机体抗氧化酶活性下降, 清除自由基的能力下降, 而反映氧化应激水平的物质, 如脂质过氧化的终末产物丙二醛(MDA)含量明显升高<sup>[3]</sup>。故糖尿病时机体氧化应激水平明显升高。

本实验糖尿病组大鼠血清和肾皮质 SOD 和 CAT 活性较正常组大鼠明显降低, 而 MDA 含量明显增加, 这表明糖尿病大鼠的抗氧化体系遭到破坏, 脂质过氧化物生成增多。有研究表明他汀类药物具有内在抗氧化特性, 但由于化学结构的差异, 抗氧化作用的强度和清除自由基的能力有很大差异, 其中辛伐他汀清除羟自由基的作用最强<sup>[4]</sup>。另外他汀类药物还可通过上调内在抗氧化酶如 SOD、CAT 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等的表达, 增加他们的活性而发挥抗氧化作用<sup>[5]</sup>。本实验发现经辛伐他汀治疗, 糖尿病大鼠血清和肾皮质 SOD 活性无明显变化, 但 CAT 活性明显升高, 且 MDA 含量明显降低。表明辛伐他汀可能通过自身内在的抗氧化特性清除自由基和增加 CAT 的活性而提高机体抗氧化能力, 从而减轻脂质过氧化。关于辛伐他汀对抗氧化酶的影响, 尚未有文献报道, 本实验未观察到其对 SOD 活性的影响, 可能因为辛伐他汀本身不增加 SOD 的表达, 或者其增加 SOD 表达的能力较弱, 而我们观察的时间较短, 所以没能看到其显著的升高血清和肾脏 SOD 的作用。故对此尚需进一步的实验去证实。

本实验还发现与正常对照组相比, 辛伐他汀治疗组大鼠的肾功能指标显著好转: 血尿素氮、血肌酐、尿白蛋白排泄率(UAER)、尿白蛋白/肌酐、肾重及肾肥大指数(肾重/体重)均较糖尿病组明显减少, 表明辛伐他汀对糖尿病大鼠的肾脏具有保护作用, 能减轻肾脏肥大, 改善肾功能, 延缓糖尿病肾病的发生、发展。而其发挥肾脏保护作用的机制可能与其抗氧化、保护抗氧化酶活性、抑制脂质过氧化密切相关, 值得进一步深入探讨。

### [参 考 文 献]

[1] 于德民, 吴锐, 尹潍, 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.

[2] Onozato ML, Tojo A, Goto A, et al. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy, effect of ACEI and ARB[J]. Kidney Int, 2002, 61(1): 186-194.

[3] 李才, 邓义斌, 王丽娟, 等. 实验性糖尿病大鼠肾脏自由基防御机能的改变及其意义[J]. 中国病理生理杂志, 1995, 11(6): 638-641.

[4] Franzoni F, Quinones-Galvan A, Regoli F, et al. A comparative study of the *in vitro* antioxidant activity of statins[J]. Int J Cardiol, 2003, 90(2-3): 317-321.

[5] Wassmann S, Laufs U, Baumer AT, et al. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in noncholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species[J]. Hypertension, 2001, 37(6): 1450-1457.