

· 论 著 ·

## 吡格列酮对高脂血症大鼠 SOD 活性和 MDA 水平的影响

蔡 辉, 赵凌杰, 董晓蕾, 赵智明, 郁 郁

**[摘要]** 目的 观察吡格列酮对高脂血症大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)水平的影响。方法 复制高脂血症大鼠模型,造模成功后随机分为对照组(8只)和治疗组[9只,吡格列酮 10 mg/(kg·d)],干预4周后测量各组大鼠的SOD活性和MDA水平。结果 高脂饮食喂养12周后,高脂饮食组TG、TC、LDL水平分别为1.74、3.50、0.45 mmol/L,均明显高于正常组(分别为0.93、1.83、0.20 mmol/L),且 $P$ 值均小于0.01,提示造模成功。干预4周后治疗组的SOD活性为640.72 U/ml,较对照组247.40 U/ml明显升高( $P<0.01$ )。治疗组的MDA水平为2.46 nmol/ml,较对照组4.11 nmol/ml明显降低( $P<0.01$ )。结论 吡格列酮能够提升高脂血症大鼠的SOD活性,降低MDA水平。

**[关键词]** 高脂血症;吡格列酮;超氧化物歧化酶;丙二醛

**[中图分类号]** R589.21 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2011)02-0097-03

### The influence of total pioglitazone on the activity of serum superoxide dismutase and level of malonaldehyde in hyperlipemia rats

CAI Hui, ZHAO Ling-jie, DONG Xiao-lei, ZHAO Zhi-ming, YU Yu. Department of Integrated Traditional and Western Medicine, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the influence of pioglitazone on the activity of serum superoxide dismutase and level of malonaldehyde in hyperlipemia rats. **Methods** 26 male SD rats were randomly divided into the high-fat diet group (17) and full diet group (9). High-fat diet group were fed for 12 weeks, then 17 male SD rats were randomly divided into two groups: the hyperlipemia group (8), group of high hyperlipemia with pioglitazone (9). The group of pioglitazone was lavaged with pioglitazone 10 mg/kg every day. After 4 weeks of intervention with pioglitazone, the activity of serum superoxide dismutase and level of malonaldehyde were measured. **Results** The levels of TG, TC and LDL in hyperlipemic group (1.74 mmol/L, 3.50 mmol/L, 0.45 mmol/L) were significantly increased compared with full diet group (0.93 mmol/L, 1.83 mmol/L, 0.20 mmol/L) after 12 weeks ( $P<0.01$ ), which indicates that the model of hyperlipemia has been established. Compared with the controls (247.40 U/ml), the activity of serum superoxide dismutase (640.72 U/ml) was elevated after the intervention with pioglitazone, while the level of malonaldehyde (2.46 nmol/ml) was decreased. **Conclusion** Pioglitazone plays an important role in protecting the function of endothelial cells by elevating the activity of serum superoxide dismutase and decreasing the level of malonaldehyde in hyperlipemia rats.

**[Key words]** hyperlipemia; pioglitazone; superoxide dismutase; malonaldehyde

高胆固醇血脂及氧化修饰的低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)可以导致血管内皮细胞功能受损,是动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的危险因素。氧化应激是动脉粥样硬化的发病机制之一,活性氧(reactive oxygen species, ROS)的蓄积对血管内皮细胞造成损害,有明确的致

AS作用。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)作为体内能够特异性清除超氧阴离子( $O_2^-$ )的抗氧化酶,可以平衡机体的氧自由基,减少氧化应激引起的损伤。丙二醛(malonaldehyde, MDA)作为脂质过氧化的终产物,可以从脂质过氧化的角度反映机体氧化应激水平。本研究通过检测吡格列酮对高脂血症大鼠SOD活性和MDA水平的影响,探讨吡格列酮对血管内皮细胞可能的保护机制,现报告如下。

基金项目: 中国博士后基金资助课题(20090461491)

作者简介: 蔡 辉(1959-),男,江苏启东人,博士,主任医师,从事中西医结合心血管疾病研究

作者单位: 210002 江苏南京,南京军区南京总医院中西医结合科

1 材料与方 法

1.1 实验动物 刚断乳的 SD 雄性健康大鼠 26 只,体重 54 ~ 69 g,由南京军区南京总医院动物实验中心提供[实验动物使用许可证号 SYXK(苏)2003-0032],常规条件饲养。

1.2 实验药品及试剂 吡格列酮,10 mg/片,批号 081103,杭州中美华东制药公司生产。检测试剂盒有总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)等,均由北京北化康泰临床试剂公司提供。TC 用 CHOD-PAP 法;TG 用 TPO-PAP 法;HDL-C 和 LDL-C 用选择性沉淀法。SOD 测定采用黄嘌呤氧化酶法,MDA 采用 TBA 法测定,均由南京凯基生物科技公司提供。

1.3 实验方法 所有 SD 大鼠均适应性喂养 1 周,根据体重用随机数字表法将 26 只大鼠随机分为高脂饲料组(17 只)和普通饲料组(简称正常组)9 只。高脂饲料组给予高脂饲料(配方为:标准粉 21%、麦麸皮 7.1%、大豆粉 12.6%、玉米粉 12%、鱼粉 3%、猪油 12%、蔗糖 5%、鸡蛋 10%、花生 5%、奶粉 5%、麻油 2%、酵母粉 0.6%、食盐 2%、胆固醇 2%、胆酸盐 0.5% 及甲基硫氧嘧啶 0.2%)喂养。所有大鼠喂养 12 周,空腹过夜,球后静脉取血 3 ml,室温静置 1 h 后,3000 r/min 离心 5 min(离心半径 8 cm),分离

血清后置 - 20℃ 冰箱保存,测定 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平,根据血脂水平判断造模是否成功。根据体重将高脂饲料组大鼠随机分为对照组(8 只)和治疗组(9 只),治疗组以吡格列酮 10 mg/(kg · d)灌胃,1 次/d,干预 4 周。实验期间所有大鼠均给予自由摄食和饮水,每周测一次身长、体重。

1.4 观察指标 实验结束后,禁食 24 h,于次日上午 8 时,麻醉后,剪开胸腹腔,暴露心脏,心脏采血 3 ml,室温静置 1 h 后,3000 r/min 离心 5 min(离心半径 8 cm),分离血清后置于 - 20℃ 冰箱保存,测定 TC、TG、HDL-C、LDL-C 和 SOD 及 MDA 水平。

1.5 主动脉病理检测 大鼠主动脉弓与胸主动脉交界处取材,10% 甲醛固定,制备石蜡切片,厚度 4 μm,苏木精-伊红(HE)染色,100 倍光镜观察。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学分析,正态分布的计量数据采用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较用独立样本 *t* 检验,*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 干预前正常组和高脂饲料组大鼠血脂水平比较 见表 1。

2.2 三组大鼠血脂谱比较 见表 2。

2.3 三组大鼠 SOD 活性与 MDA 水平比较 见表 3。

表 1 干预前两组大鼠血脂谱比较 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	TG	TC	HDL-C	LDL-C
正常组	9	0.93 ± 0.15	1.83 ± 0.23	1.26 ± 0.09	0.20 ± 0.05
高脂饲料组	17	1.74 ± 0.41 *	3.50 ± 1.09 *	1.33 ± 0.21	0.45 ± 0.33 *

注:与正常组比较, \* *P* < 0.01

表 2 三组大鼠血脂谱比较 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	TG	TC	HDL-C	LDL-C
正常组	9	0.798 ± 0.195	1.690 ± 0.293	1.187 ± 0.148	0.153 ± 0.050
对照组	8	1.533 ± 0.172 *	3.084 ± 0.984 *	1.168 ± 0.065	0.244 ± 0.132
治疗组	9	0.731 ± 0.319 <sup>▲</sup>	1.720 ± 0.249 <sup>▲</sup>	1.204 ± 0.206	0.230 ± 0.079

注:与正常组比较, \* *P* < 0.01;与对照组比较, <sup>▲</sup> *P* < 0.01

表 3 三组大鼠 SOD 活性与 MDA 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	SOD (U/ml)	MDA (nmol/ml)
正常组	6	415.82 ± 30.41	1.80 ± 0.58
对照组	5	247.40 ± 49.56 *	4.11 ± 0.34 *
治疗组	7	640.72 ± 84.89 <sup>▲</sup>	2.46 ± 0.78 <sup>▲</sup>

注:与正常组比较, \* *P* < 0.01;与对照组比较, <sup>▲</sup> *P* < 0.01

2.4 主动脉病理形态改变 正常组主动脉内皮未见明显改变,内皮保持连续性、内膜完整、未见平滑肌增厚;对照组出现部分内膜增厚,平滑肌紊乱、增生,内皮断裂,缺如,内膜增厚;治疗组内膜有少部分缺损,内皮尚完整,平滑肌排列无明显紊乱。见图 1。

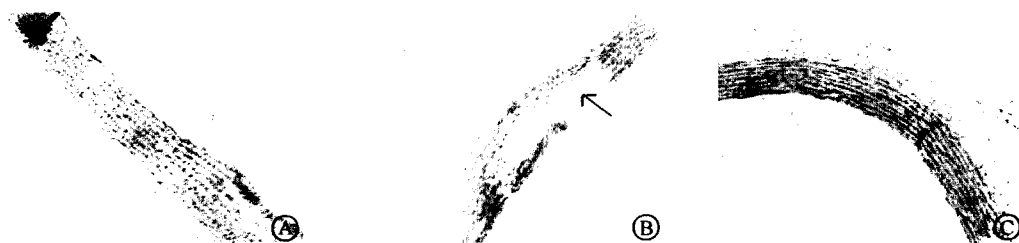


图 1 主动脉病理形态图(HE ×100)

A: 正常组; B: 对照组(箭头处为内膜缺如); C: 治疗组

### 3 讨论

高脂血症为 AS 重要的独立危险因素, 高脂血症状态下的 AS 的发生、发展与机体的脂质过氧化所造成的损伤有关。Osto 等<sup>[1]</sup>的实验证明长期高脂血症情况下, 产生大量氧化应激产物, 血管内皮受损, 直接导致 AS 的形成。同时, 高脂血症时易伴发高尿酸血症, 两者相互影响, 促进代谢综合征的形成, 进一步增加 AS 发生的风险<sup>[2]</sup>。

机体脂质代谢失调会产生大量的自由基, 具有强烈的引发脂质过氧化作用。MDA 水平可反映机体内脂质过氧化的程度。SOD 是机体活性氧清除反应过程中发挥重要作用的抗氧化酶。研究发现: SOD 活性与体质指数、血压、血浆三酰甘油浓度、血糖浓度呈负相关, 并且认为低浓度的 SOD 是动脉内膜增厚发生的独立危险因素<sup>[3]</sup>。血脂升高时, 氧自由基生成增加, 脂质过氧化作用增强, MDA 产生增多, SOD 消耗增多, 活力降低, 造成氧自由基堆积。本实验中, 高脂血症模型组大鼠血清 SOD 活性降低, MDA 水平增高, 与正常组相比具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 反映了高脂血症大鼠体内清除自由基、抗氧化能力减弱。

吡格列酮作为噻唑烷二酮类胰岛素增敏剂, 能增加胰岛素敏感性, 具有降低血糖的作用。近年研究发现, 吡格列酮还能通过改善血脂谱, 调节脂肪细胞因子的表达, 降低血压和减少血管炎症, 预防血管病变, 降低心血管事件发生率<sup>[4]</sup>。还有研究发现吡格列酮可以直接减轻高脂血症引起的血管内皮功能障碍<sup>[5]</sup>。本研究结果提示治疗组的血清 TG、TC 水平低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 与赵红梅等<sup>[4]</sup>研究结果相近。

国外研究发现 SOD 表达增加在对抗氧化应激损伤方面起重要作用, 主要通过抑制 JNK(丝裂原激活蛋白激酶家族成员)信号通路, 降低 AP-1(激活蛋

白-1) 和 NF- $\kappa$ B(核因子- $\kappa$ B) 活性来实现的<sup>[6]</sup>。李兰芳等<sup>[7]</sup>的研究证明吡格列酮可以抑制 JNK 信号通路, 降低氧化应激水平。

综合本实验结果, 吡格列酮对血管内皮保护作用的可能机制是提高体内 SOD 水平<sup>[8]</sup>, 清除氧自由基, 减少 MDA 生成, 改善氧化应激对血管内皮的损伤, 并且抑制胆固醇在体内的蓄积。

### 【参考文献】

- [1] Osto E, Matter CM, Kouroedov A, et al. C-jun N-terminal kinase 2 deficiency protects against hypercholesterolemia induced endothelial dysfunction and oxidative stress [J]. *Circulation*, 2008, 118(20): 2073-2080.
- [2] 徐冬娥. 高尿酸血症和血脂紊乱对代谢综合征的影响[J]. *东南国防医药*, 2006, 8(3): 194-195.
- [3] Isogawa A, Yamakado M, Yano M, et al. Serum superoxide dismutase activity correlates with the components of metabolic syndrome or carotid artery intima media thickness [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009, 86(3): 213-218.
- [4] 赵红梅, 吴 铿. 吡格列酮在抗动脉粥样硬化中的作用 [J]. *中国全科医学*, 2010, 13(2): 555-557.
- [5] 燕子, 武 烨, 牛龙刚, 等. 吡格列酮对高脂血症大鼠血管内皮功能的保护作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(11): 2086-2090.
- [6] Lin SJ, Shyue SK, Shih MC, et al. Superoxide dismutase and catalase inhibit oxidized low density lipoprotein induced human aortic smooth muscle cell proliferation: role of cell cycle regulation, mitogen activated protein kinases, and transcription factors [J]. *Atherosclerosis*, 2007, 190(1): 124-134.
- [7] 李兰芳, 黄秀清, 原慧萍, 等. 吡格列酮改善胰岛素抵抗状态下氧化应激水平及分子机制探讨 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2009, 14(3): 245-249.
- [8] Dorafshar AH, Moodley K, Khoe M, et al. Pioglitazone improves superoxide dismutase mediated vascular reactivity in the obese Zucker rat [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2010, 7(1): 20-27.

(收稿日期: 2010-10-28; 修回日期: 2011-01-24)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)