基础研究 文章编号:0253-3626(2011)02-0171-03

普罗布考对D-半乳糖致衰老大鼠肾脏的保护作用研究

李 垚[1],冯 欣[2],王雪鹰[3]

(1. 辽宁医学院基础学院生理学教研室,锦州 121000;2. 辽宁医学院附属第一医院肾内科,锦州 121000;
3. 锦州市中心医院内分泌内科,锦州 121000)

【摘 要】目的:本实验主要研究抗氧化剂普罗布考对D-半乳糖致衰老大鼠肾脏的保护作用及可能机制。方法:将36只大鼠随机分为3组,正常对照组12只;衰老模型组12只;普罗布考治疗组12只。大鼠每日腹腔注射D-半乳糖,按每只小鼠100 mg/kg的剂量给药,连续42 d,形成亚急性衰老模型。做组织学检查,观察肾组织病理改变,测定肾组织超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase,GSH-Px)的活性及丙二醛(Malondialdehyde,MDA)含量。结果:组织学检查发现模型组出现了肾小球体积增大,分布稀疏,不同程度的局灶节段性肾小球硬化,肾小管的管腔扩大,灶状小管萎缩,间质纤维化,而给药组肾组织改变与模型组相比有所减轻。模型组肾组织SOD和GSH-Px的活性明显降低,给药组比模型组有所增高。模型组MDA的含量明显增高,给药组比模型组降低($P<0.05$)。结论:普罗布考能有效地抑制脂质过氧化产物MDA的产生,并提高抗氧化酶SOD、GSH-Px的活性,抑制氧化损伤过程,从而起到延缓肾脏衰老的作用。

【关键词】普罗布考;衰老;超氧化歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;丙二醛

【中国图书分类法分类号】R692.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-06-03

Protective effect of probucol on the kidney of aging rats induced by D-galactose

LI Yao, et al

(*Department of Physiology, Basic College, Liaoning Medical University*)

【Abstract】*Objective:* To evaluate protective effects and possible mechanism of probucol on the kidney of aging rats induced by D-galactose. *Methods*: 36 rats were divided randomly into 3 groups : negative control group(12 rats), aging group(12 rats), and probucol treatment group (12 rats). The sub-acute aging model rats were made by injecting D-gal into abdomen continuously (100 mg/kg, 42 d). The morphological changes were observed. The activities of superoxide dismutase (SOD) and GSH-Px and the concentration of malondialdehyde (MDA) in the kidney were examined. *Results*: There were obvious glomerular dilatation, focal glomeru-lonephritis, tubular dilatation, part of the tubular atrophy and tubulointerstitial fibrosis in model groups. These changes were remarkably relieved in probucol treatment group. The activities of SOD and GSH-Px in model group were decreased, and the concentration of MDA was increased. In comparison, the activities of SOD and GSH-Px in treatment group were significantly increased, and the concentration of MDA was decreased ($P<0.05$). *Conclusion*: Probucol can decrease the level of MDA and increase the activities of SOD and GSH-Px, and suppress oxidative stress injury, so it has anti-aging effects.

【Key words】probucol; aging; superoxide dismutase; glutathione peroxidase; malondialdehyde

作者介绍:李 垚(1975-),男,讲师,博士,
研究方向:生理学。

[9] Heidkamp M C, Bayer A L, Scully B T, et al. Activation of focal adhesion kinase by protein kinase C epsilon in neonatal rat ventricular myocytes[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285(4): H1684-1696.

[10] Oktay M, Wary K K, Dans M, et al. Integrin-mediated activation of focal adhesion kinase is required for signaling to Jun NH_2-terminal kinase and progression through the G1 phase of the cell cycle[J]. J Cell Biol, 1999, 145(7): 1461-1469.

[11] Zhao J H, Reiske H, Guan J L. Regulation of the cell cycle by focal adhesion kinase[J]. J Cell Biol, 1998, 143(7): 1997-2008.

[12] Hill C S, Wynne J, Treisman R. The Rho family GTPase RhoA, Rac1, and CDC42-Hs regulate transcriptional activation by SRF[J]. Cell, 1995, 81(7): 1159-1170.

(责任编辑:关蕴良)

肾脏功能随年龄增长逐渐下降,老年人终末期肾脏疾病(End-stage renal disease,ESRD)的发生率高,且治疗有效率低,死亡率高,医疗花费巨大,因此研究肾脏衰老的机制和延缓肾脏衰老的策略有重要意义。

在衰老过程中,肾脏可出现各种形态、结构和功能上的变化,其改变主要是由于结构正常的肾小球及肾小管数量随增龄而进行性减少及其功能进行性减退所致。病理学特征是肾小球硬化、肾小管萎缩、肾间质纤维化和动脉内膜纤维性增厚。在临床上可表现为肾功能减退,肾储备能力下降及对应激的耐受能力降低等。

目前导致肾脏衰老的确切的机制还不完全清楚,普遍认为衰老的病理机制主要是随年龄增长机体损伤的积累所致。外源性的损伤包括紫外线的照射及环境中有毒物质的损害,而内源性的刺激主要是反应氧族(Reactiveoxygenspecies,ROS)诱发的氧化应激的损伤作用。氧化应激在衰老机制中的作用已经得到普遍共识。

普罗布考是一种降脂抗氧化剂,具有重要的机体保护作用。本实验观察了普罗布考对D-半乳糖致大鼠衰老模型的影响,观察大鼠肾脏的组织形态变化,并测定大鼠肾组织超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase,GSH-Px)活性和丙二醛(Malondialdehyde,MDA)含量,以探讨普罗布考的延缓肾脏衰老的作用机理。

1 材料和方法

1.1 实验对象

成年SD大鼠36只,体重250 ~ 300 g(由辽宁医学院实验动物中心提供)。

1.2 实验方法

1.2.1 衰老动物模型的建立 大鼠每日腹腔注射D-半乳糖,按每只小鼠100 mg/kg的剂量给药,连续42 d,形成糖代谢紊乱所致的亚急性衰老模型。

1.2.2 实验分组 将36只小鼠随机分为正常对照组、衰老模型组、普罗布考治疗组,每组12只。普罗布考治疗组每天在注射D-半乳糖的同时给予普罗布考500 mg/kg灌胃,正常对照组、衰老模型组各鼠每天予等量生理盐水灌胃。连续给药42 d,最后1次灌胃后4 h处死大鼠。

1.2.3 实验试剂 普罗布考:齐鲁制药;SOD、GSH-Px、MDA试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.2.4 组织学检查 肾组织常规脱水、透明、浸腊、包埋。3 μm石蜡切片用于HE、Masson染色,光镜下观察。

1.2.5 肾组织SOD、GSH-Px酶活性及MDA含量测定 取出部分肾皮质用预冷的生理盐水按1:4的比例放入玻璃匀浆器中制成匀浆,3 000 r/min,离心5 min,上清液用于测定肾组织SOD、GSH-Px酶活性和MDA含量。

1.3 统计学方法

实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用SPSS11.0统计软件分析,数据经过对数转换改善方差齐性之后,各组间用LSD方法进行组间单因素方差分析。

2 结 果

2.1 大鼠肾组织标本HE、Masson染色结果

光镜下可见:正常对照组大鼠肾小球分布密集,呈圆形或椭圆形,外周规整,肾小囊的囊腔正常,肾小管的管腔规整。衰老模型组大鼠肾小球体积增大,肾小球分布稀疏,不规整,不同程度的局灶节段性肾小球硬化,肾小囊的囊腔明显扩大,肾小管的管腔扩大,上皮细胞变性而且大小不均,灶状小管萎缩,间质纤维化,及少量单核细胞浸润。普罗布考组大鼠肾小球数量与衰老模型组相比明显增多、肾间质纤维化程度明显减轻,肾小管灶状上皮细胞空泡变性,无萎缩和代偿性肥大,未见间质水肿(图1、2)。

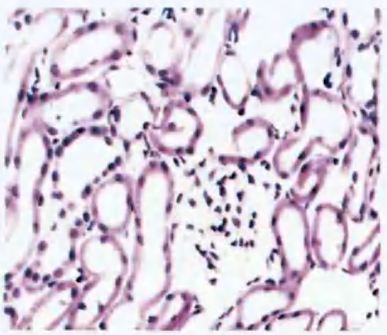


图1 模型组肾组织HE染色(×100)

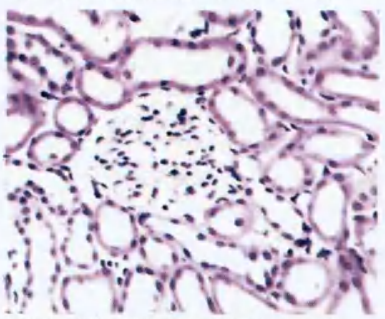


图2 给药组肾组织HE染色(×100)

2.2 肾皮质SOD、GSH-Px活性

衰老组大鼠肾组织SOD、GSH-Px活性比正常对照组降低,普罗布考肾组织的SOD、GSH-Px的酶活力与衰老对照组相比有所提高($P< 0.05$),但仍低于正常对照组。

表1 各组大鼠肾脏肾皮质SOD活性的影响

组别	例数	SOD(U/mgprot)	GSH-Px(U/mgprot)
正常对照组	12	834.00 ± 22.01	15.96 ± 0.64
模型组	12	423.00 ± 17.02*	14.05 ± 3.55*
给药组	12	637.00 ± 8.04▲	15.06 ± 0.12▲

注:与对照组相比,*$P<0.05$;与模型组比较,▲$P<0.05$

2.3 肾皮质MDA含量

衰老大鼠肾组织MDA含量升高,普罗布考组肾组织的

表2 各组大鼠肾脏肾皮质MDA含量的影响

组别	例数	MDA(nmol/mgprot)
正常对照组	12	2.60 ± 1.11
模型组	12	10.15 ± 7.85*
给药组	12	6.54 ± 2.23▲

注:与对照组相比,*P<0.05 ;与模型组比较,▲P<0.05

MDA含量与衰老对照组相比有所降低(P<0.05)。

3 讨 论

随着老龄化人口的增多,世界将步入老龄化社会。肾脏是人体出现老化比较明显的脏器,肾脏衰老是机体衰老的重要组成部分。肾小球硬化,肾小管萎缩及肾间质纤维化是老年人肾脏的主要病理改变[1,2]。

目前导致肾脏衰老的机制还不完全清楚。衰老的自由基理论由Harman在1955年提出,认为衰老是自由基对细胞成分的有害进攻造成的。D-半乳糖所致小鼠亚急性衰老模型的致衰老原理主要是半乳糖过量时,经半乳糖氧化酶催化生成醛糖和过氧化氢,此物质不能被组织代谢而堆积在细胞内,影响细胞正常渗透压,进而导致细胞功能障碍,产生超氧阴离子自由基,最终导致机体衰老[3]。本实验发现:经注射D-半乳糖的衰老小鼠,从组织形态学观察到肾小球横截面积普遍较大,血管球体积相应缩小,肾小囊腔扩大;可见部分萎缩的肾小球,肾小管管壁变薄,间质纤维化,这些现象符合老年肾脏组织形态学的特征。

氧自由基造成的肾损害,一方面取决于肾脏氧自由基的产生,另一方面氧自由基的清除也起重要作用[4]。当自由基代谢发生紊乱时,导致自由基过剩,活性氧增多,引起脂质过氧化,并降解为MDA,它是判断体内脂质过氧化反应程度的特征指标[5,6],不仅能用以评价衰老程度,更重要的是可以反映组织氧化的程度,其含量高低是组织细胞损伤的重要标志,可直接反映自由基水平。从表2 看出MDA 含量模型组明显高于正常对照组(P<0.05),说明膜结构中的不饱和脂肪酸随着机体衰老更易发生过氧化作用,使MDA生成增多,这就加剧膜结构的破坏,另一方面过多MDA 的生成直接破坏蛋白质和DNA分子的完整性,进一步加速衰老。

各种抗氧化酶类在抗氧化系统中起了重要作用。GSH-Px是体内广泛存在的一种重要的抗氧化酶,可以特异催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应,起到保护细胞膜结构和功能完整性的作用。SOD是体内催化歧化反应的一种抗氧化保护酶,是超氧阴离子自由基的清除剂,能歧化超氧阴离子自由基(O_2^-)生成H_2O_2,保护细胞免受损伤。SOD活性的高低可间接反应机体清除氧自由基的能力。本实验中显示肾组织SOD、GSH-Px活性模型组明显低于正常对照组(P<0.05),其活性降低可能是由于 D-半乳糖导致小鼠衰老,使小鼠体内自由基水平增高,消耗了SOD、GSH-Px。

普罗布考为临床上常用的血脂调节药,同时也是一种强有力的抗氧化剂,其结构包括2个丁基一羟基甲苯部分,相互之间由S-C-S-键连接,2个酚结构决定其作为断链氧化剂的性能。酚羟基是很易被氧化的化学基团,氧化后发生断链,捕捉氧离子并与之结合后形成稳定的酚氧基,有效降低血浆氧自由基浓度,因而消耗了体内过氧游离基,氧自由基等氧化物质,避免或减少了低密度脂蛋白(Low-density lipoprotein, LDL)等脂质被氧化,起到了抗氧化作用。

本实验中观察到经普罗布考治疗后大鼠肾组织匀浆MDA显著低于模型组,SOD、GSH-Px活性显著高于模型组,提示普罗布考能有效地抑制MDA的产生,提高SOD、GSH-Px的活性,抑制氧化损伤过程,从而起到延缓肾脏衰老的作用。本实验为今后研究普罗布考延缓衰老的作用提供新的理论依据。

参 考 文 献

[1] Fred G, Silva.The aging kidney[J].International Urology and Nephrology, 2005, 37(2): 185-205.

[2] Zhou X J, Saxena R, Liu Z, et al. Renal senescence in 2008: progress and challenges[J]. Int Urol Nephrol, 2008, 40(3): 823-839.

[3] Wei H F, Li L, Song Q J, et al.Behavioural study of the D-galactose induced aging model in C57BL/6J mice[J]. Behavioural Brain Research, 2005, 157 (2): 245-248.

[4] 唐 政, 黎磊石.氧自由基及抗氧化酶与慢性肾脏疾病的进展[J].国外医学:泌尿系统分册, 1999, 19(4): 56-59.

[5] 钱 进, 毛 缜, 杨 敏.大豆异黄酮改善衰老小鼠肾脏抗氧化作用的研究[J].徐州师范大学学报:自然科学版, 2008, 26(1): 52-55.

[6] Zalups R K.Molecular interactions with mercury in the kidney[J].J Pharmacol Rev, 2001, 52(1): 114-117.

[7] 田庆印, 刘同涛, 李伯勤. 普罗布考对溶血磷脂酰胆碱致培养人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用[J].中国动脉硬化杂志, 2003, 11(3): 211-213.

[8] 王 哲, 刘政操, 崔 丹. 糖基化终末产物对大鼠肾脏微血管内皮细胞的损伤及普罗布考的保护作用[J].中国动脉硬化杂志, 2008, 16 (2): 111-116.

(责任编辑:张学颖)