药 学 文章编号:0253-3626(2009)01-0322-04

# 普罗布考与福辛普利对 2 型糖尿病大鼠肝脏组织学改变的影响

李中专,张 霞,刘东方,梅浙川,沈 薇
(重庆医科大学附属第二医院消化内科,重庆 400010)

【摘 要】目的:观察普罗布考和福辛普利对高脂高糖饮食所致 2 型糖尿病大鼠肝脏组织学改变的影响。方法:清洁级雄性 Wistar 大鼠,体重 140~160 g,普通饲料喂养 1 周后,随机分为对照组(C,12 只)和实验组(36 只)。对照组喂养普通饲料,实验组喂养高脂高糖饲料。4 周后实验组大鼠成功构建 2 型糖尿病模型,将其随机分为 3 组,每组 12 只:普罗布考组(P)喂养高脂高糖饲料加普罗布考灌胃(剂量为 500 mg/(kg·d)),持续 6 周;福辛普利组(F)喂养高脂高糖饲料加福辛普利灌胃(剂量为 5.0 mg/(kg·d)),持续 6 周;高脂组(HD)喂养高脂高糖饲料加水灌胃(2 ml/(只·d)),持续 6 周。6 周末比较各组大鼠体重、肝重及肝重/体重指数,血清谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase,ALT)、谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)、甘油三酯(Triglycerides,TG)、总胆固醇(Total cholesterol,TCHO)、高密度脂蛋白(High-density lipoprotein,HDL),血清丙二醛(Malondialdehyde,MDA)和超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD),肝组织病理改变。结果:普罗布考明显减轻肝重/体重指数($P<0.05$),降低血清 ALT($P<0.05$),降低血清 TCHO($P<0.05$),升高 HDL($P<0.05$),增加 SOD 活性($P<0.001$),减少肝小叶炎症病灶数。福辛普利同样降低血清 ALT($P<0.01$),升高 HDL($P<0.05$),增加 SOD 活性($P<0.001$),减少小叶炎症病灶数。福辛普利不仅不降低肝重/体重指数,反而加重肝重/体重指数($P<0.001$),对 TG、TCHO 无明显影响($P$ 均 $>0.05$)。结论:普罗布考可改善脂质代谢及降低氧化应激,从而减轻肝肿大程度及肝脏炎性损伤。福辛普利亦可降低氧化应激并减轻肝脏炎性损伤,其降低 TCHO 的作用不明显。而福辛普利加重高脂高糖饮食所致 2 型糖尿病大鼠肝肿大的原因有待进一步研究。

【关键词】2 型糖尿病;普罗布考;福辛普利;氧化应激
【中国图书分类法分类号】R587.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-04-29

# Effects of probucol and fosinopril on liver histology changes in type 2 diabetes rats

*LI Zhong-zhuan, et al*
(*Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effects of Probucol and Fosinopril on liver histological changes in type 2 diabetes mellitus. *Methods*: Male Wistar rats, weighing 140 ~ 160 g, were fed with chow diet for one week, and then randomly divided into two groups: the control group (C, twelve rats) was fed with chow diet, while another group (thirty-six rats) was fed with high-fat diet. The rats in high-fat diet group were successfully established as type 2 diabetes model four weeks later (fasting serum glucose ≥7.8 mmol/l) through streptozocin (STZ) (35 mg/kg) intraperitoneal injecting, then randomly divided into three groups (twelve rats each group): Rats in Probucol group were fed with high-fat diet and Probucol (500 mg/(kg·d), lavage); Rats in Fosinopril group were fed with high-fat diet and Fosinopril (5.0 mg/(kg·d), lavage); Rats in simple high-fat diet group were fed with high-fat diet and water (2 ml/(one·d), lavage). Six weeks later, ratio of liver to body weight, serum ALT, AST, TG, TCHO, HDL, MDA and SOD activity, histological scoring for Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) were measured respectively. *Results*: TCHO and ALT were significantly reduced by Probucol treatment compared with HD group ($P<0.05$, $P<0.05$), while HDL level and SOD activity were elevated ($P<0.05$, $P<0.001$). Serum ALT was significantly reduced ($P<0.01$), whereas HDL level and SOD activity were elevated by Fosinopril treatment ($P<0.05$, $P<0.001$). Fosinopril had no effect on TG and TCHO. Liver weight/Body weight was reduced by Probucol treatment ($P<0.05$), but aggravated by Fosinopril treatment ($P<0.001$) compared with HD group. Liver lobular inflammation score was lessened in Probucol and Fosinopril treated groups. *Conclusion*: Probucol can improve liver inflammation by decreasing TCHO level and oxidative stress. And Fosinopril can improve liver inflammation only by decreasing oxidative stress, while no effect on TCHO. Hepatomegaly was reduced by Probucol treatment, but aggravated by Fosinopril treatment.

作者介绍:李中专(1981- ),男,硕士,
研究方向:肝脏疾病与内分泌疾病。
通讯作者:张 霞,女,副教授,
E-mail: sunnyzhangx@gmail.com。

The adverse effect of Fosinopril on aggravating hepatomegaly should be furtherly investigated.

【Key words】Type 2 diabetes; Probucol; Fosinopril; Oxidative stress

据统计 34%~74%的 2 型糖尿病患者伴有非酒精性脂肪性肝病 (Nonalcoholic fatty liver disease NAFLD)[1]。流行病学资料显示肥胖、2 型糖尿病、NAFLD 患者的氧化应激水平高于正常人群。这提示氧化应激在上述疾病的发病机制中起重要作用。因此任何抗氧化的方法都可能使上述疾病得以改善。普罗布考最初仅用于降低血脂,且以降低胆固醇为主,后经研究发现其还具有抗氧化作用。福辛普利是一种血管紧张素转换酶抑制剂(Angiotension converting enzyme inhibitors, ACEI), 常用于降血压、治疗肾病及改善心肌重构。本实验旨在观察普罗布考和福辛普利对 2 型糖尿病大鼠肝脏组织学改变的影响机制方面的异同。

## 1 材料与方法

### 1.1 药物

普罗布考(之乐)购于北京诺美医药科技有限公司,福辛普利(梦诺)购于中美上海施贵宝制药有限公司。

### 1.2 动物和实验设计

清洁级雄性 Wistar 大鼠,体重 140~160 g,购于重庆医科大学动物试验中心。普通饲料喂养 1 周后,随机分为对照组(C)12 只和实验组 36 只,对照组喂养普通饲料,实验组喂养高脂高糖饲料(熟猪油 15%,蔗糖 15%,胆酸盐 0.5%,胆固醇 1.0%,普通饲料 68.5%)。4 周后对照组腹腔注射生理盐水,而实验组大鼠腹腔注射链脲佐菌素(STZ, 35 mg/kg),成功后(空腹血糖水平≥7.8 mmol/l)随机分为普罗布考组 12 只(P:高脂高糖饲料加普罗布考灌胃,剂量为 500 mg/(kg·d),持续 6 周),福辛普利组 12 只(F:高脂高糖饲料加福辛普利灌胃,剂量为 5.0 mg/(kg·d),持续 6 周)和高脂组 12 只(HD:高脂高糖饲料加水灌胃,2 ml/(只·d),持续 6 周)。

### 1.3 标本收集与处理

造模结束,大鼠称重后以 1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉处死,下腔静脉取血,分离血清,-20℃ 储存。取下肝脏,冷生理盐水冲洗后称重,一部分肝组织迅速放入液氮中冷冻 48 h 后 -80℃储存,另一部分肝组织切成小于 0.5 cm 厚度,10%福尔马林固定 48 h。

### 1.4 生物化学指标测定

应用生化试剂盒(Olympus),通过生化自动分析仪(Olympus)测定血清 ALT、AST、TG、TCHO 及 HDL 测定。

### 1.5 血清 SOD 和 MDA 测定

用 SOD 和 MDA 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),通过紫外线分光光度计(Shimadzu, Kyoto, Japan),按说明书操作,测定 MDA 含量和 SOD 活性。

### 1.6 病理学检查

石蜡包埋,切片(5 μm)经 HE 染色后,光镜下观察炎症细胞浸润、肝细胞脂肪变性及气球样变,并进行组织病理学评分。

### 1.7 统计分析

数据分析用 SPSS13.0 软件,多组之间的比较采用方差分析多重比较。$P<0.05$ 差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 肝重、体重及肝重/体重指数

HD 组大鼠肝重及肝重/体重比值显著高于 C 组($P<0.001$),P 组肝重及肝重/体重比值较 HD 组显著下降($P<0.05$),而 F 组大鼠肝重/体重比值较 HD 组显著增加($P<0.001$)(表 1)。

### 2.2 血清 ALT、AST

HD 组大鼠血清 ALT 显著高于 C 组($P<0.001$)。P 组、F 组血清 ALT 显著低于 HD 组($P<0.05$, $P<0.01$)。而 P 组与 F 组血清 ALT 无显著差异。各组血清 AST 差异无统计学意义($P$ 均>0.05)(图 1)。

### 2.3 血清 TG、TCHO 和 HDL

HD 组大鼠血清 TG、TCHO 显著高于 C 组 ($P<$

**表 1 各组大鼠肝重、体重及肝重/体重指数比较 ($\bar{x}\pm s$)**

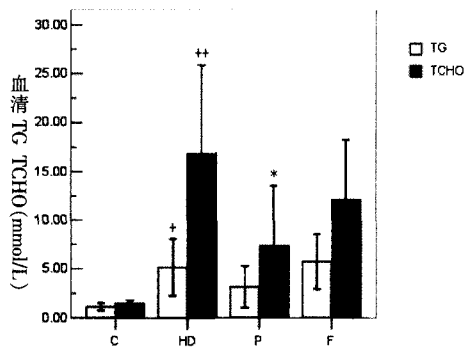
| 处理组 | 动物数(只) | 肝重(g) | 体重(g) | 肝重/体重指数 |
|---|---|---|---|---|
| P | 12 | 14.94 ± 2.90* | 249.00 ± 49.85 | 0.062 ± 0.015* |
| F | 12 | 20.73 ± 3.24 | 212.17 ± 45.33 | 0.099 ± 0.013** |
| C | 12 | 11.33 ± 0.69 | 343.83 ± 23.93 | 0.033 ± 0.019 |
| HD | 12 | 19.27 ± 3.73+ | 241.57 ± 1.58 | 0.075 ± 0.028+ |

注:与 C 组相比,+$P<0.001$,与 HD 相比,*$P<0.05$,**$P<0.001$

0.01，$P<0.001$），血清 HDL 低于 C 组（$P<0.05$）。P 组血清 TCHO 低于 HD 组（$P<0.05$），血清 HDL 高于 HD 组（$P<0.05$）。F 组血清 HDL 高于 HD 组（$P<0.05$），TG 及 TCHO 与 HD 组差异无统计学意义（$P$ 均>0.05）（图 2、3）。

### 2.4 血清 MDA 水平和 SOD 活性

HD 组大鼠血清 MDA 显著高于 C 组（$P<0.01$），而 SOD 活性显著低于 C 组（$P<0.001$）。P 组、F 组 SOD 活性显著高于 HD 组（$P<0.001$，$P<0.001$），而 MDA 无显著差异（$P$ 均>0.05）。P 组与 F 组 MDA 及 SOD 均无显著差异（$P$ 均>0.05）（见表 2）。




注：与 C 相比 $^{+}P<0.01$，$^{++}P<0.001$，与 HD 相比 $^{*}P<0.05$

**图 2 各组大鼠血清 TG、TCHO 水平比较（$\bar{x}\pm s$）**

**表 2 各组大鼠血清 MDA 水平及 SOD 活性比较（$\bar{x}\pm s$）**

| 处理组 | 动物数（只） | MDA（mmol/l） | SOD（U/ml） |
|---|---|---|---|
| C | 12 | 2.19 ± 1.60 | 409.29 ± 57.42 |
| HD | 12 | 8.97 ± 0.98$^{+}$ | 102.39 ± 39.82$^{++}$ |
| P | 12 | 8.76 ± 3.94 | 258.79 ± 64.19$^{*}$ |
| F | 12 | 8.09 ± 3.38 | 291.44 ± 109.70$^{**}$ |

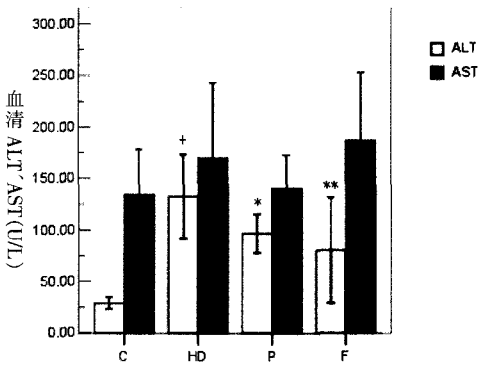
注：与 C 相比，$^{+}P<0.01$，$^{++}P<0.001$；HD 相比，$^{*}P<0.01$，$^{**}P<0.001$

### 2.5 肝组织病理学检查及评分

采用肝组织病理学评分表示肝组织病变程度[2]，包括肝细胞脂肪变性、气球样变性程度、小叶炎症病灶数。HD 组大鼠肝细胞脂肪变性、气球样变程度及小叶炎症病灶数显著高于 C 组（$P<0.001$，$P<0.001$，$P<0.01$）。与 HD 组相比，P 组及 F 组小叶炎症病灶数明显降低（$P<0.001$），而肝细胞脂肪变性和气球样变程度无明显差异（$P$ 均>0.05）（表 3、图 5）。

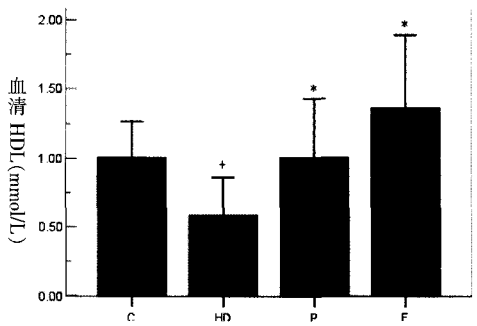
## 3 讨 论

NAFLD 与肥胖、2 型糖尿病有明显相关性，临床和动物模型中均得到证实。本次实验中与对照组大鼠相比，非干预组大鼠肝重/体重比值，血清 ALT、TCHO 及 TG 明显升高，而 HDL 下降，肝组织病理检查发现有明显脂肪变性，炎症细胞浸润及肝细胞气球样变性。




注：与 C 相比 $^{+}P<0.001$，与 HD 相比 $^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$

**图 1 各组大鼠血清 ALT、AST 水平比较（$\bar{x}\pm s$）**




注：与 C 组相比 $^{+}P<0.05$，与 HD 相比 $^{*}P<0.05$

**图 3 各组大鼠血清 HDL 水平比较（$\bar{x}\pm s$）**

氧化应激和脂质过氧化是 NAFLD 重要发病机制，也是由单纯性脂肪肝进展成为脂肪性肝炎、肝纤维化的重要因素。氧化应激可造成体内抗氧化酶活性下降及脂质过氧化产物增加。本实验中我们发现，普罗布考与福辛普利能明显增加 2 型糖尿病 NAFLD 大鼠血清 SOD 活性，而对血清 MDA 水平无显著影响，考虑可能是由于用药时间短或其他脂质过氧化产物未予测定有关。因此我们推测普罗布考与福辛普利有明显抗氧化作用，能促进内源性抗氧化剂的产生，在体内起自由基清除剂作用。这与普罗布考在糖尿病心肌病中发挥抗氧化作用的研究及 ACEI 减弱糖尿病大鼠肾脏和血液中氧化应激的研究一致[3,4]。脂肪肝内主要的促氧化物有单态氧，超氧负离子，过氧化氢和羟基，他们统称为活性氧族（Reactive oxygen species，ROS）[5]，线粒体内脂肪酸氧化是脂肪肝内 ROS 的主要来源，ROS 进而引起多不饱和脂肪酸的损伤及诱发细胞内的脂质过氧

表 3 各组大鼠肝组织病理学评分的比较（$\bar{x}\pm s$）

| 分组 | 动物数（只） | 脂肪变性 | 气球样变 | 小叶炎症 |
|---|---|---|---|---|
| C | 12 | 0.000 ± 0.000 | 0.000 ± 0.000 | 0.000 ± 0.000 |
| HD | 12 | 3.000 ± 0.000$^{++}$ | 0.889 ± 0.928$^{+}$ | 1.889 ± 0.782$^{++}$ |
| P | 12 | 2.500 ± 0.837$^{*}$ | 0.500 ± 0.548$^{*}$ | 0.333 ± 0.516$^{**}$ |
| F | 12 | 2.830 ± 0.408$^{*}$ | 0.333 ± 0.516$^{*}$ | 0.833 ± 0.753$^{**}$ |

注：与 C 组相比，$^{+}P<0.01$，$^{++}P<0.001$；与 HD 相比，$^{*}P>0.05$，$^{**}P<0.001$；与 P 组相比，$^{*}P>0.05$，$^{**}P>0.05$

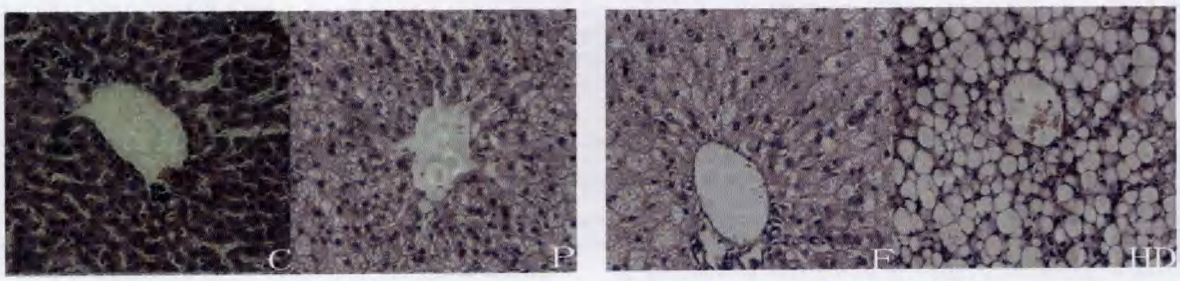



图 5 光镜下大鼠肝组织学改变（HE 染色，×200 倍）

化。超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase，SOD），是一种抗氧化酶，催化超氧阴离子基团生成过氧化氢，在预防脂质过氧化和维持生物膜结构和功能中发挥重要作用。一些抗氧化剂，如维生素 E，维生素 C，能明显降低 NAFLD患者血清转氨酶，改善肝组织病理变化[6]。因此，普罗布考与福辛普利可通过抗氧化应激发挥肝脏保护作用。普罗布考抗氧化作用，与其抑制低密度脂蛋白（Low density lipoprotein，LDL）氧化有关，而福辛普利可能通过直接降低血管紧张素 2 及降低血压来降低氧化应激[2,3]，虽然两者抗氧化应激机制不同，但本实验中未发现两者在改善氧化应激方面有显著差异。

脂质代谢紊乱是 2 型糖尿病及 NAFLD 一个重要特点。脂质代谢紊乱可加重胰岛素抵抗及氧化应激，而胰岛素抵抗、氧化应激又可引起脂质代谢紊乱，因而形成恶性循环，导致脂肪肝的形成。本实验发现普罗布考能显著降低 2 型糖尿病 NAFLD 大鼠血清 TCHO，虽对 TG 影响无统计学意义但仍有降低 TG 趋势，而福辛普利对血脂无明显影响。在普罗布考临床实验中，普罗布考能显著改善脂质代谢、降低血清转氨酶水平及减轻肝组织病变程度[7]。本实验同样证实普罗布考能显著降低血清 ALT 水平，降低肝肿大程度，减少小叶炎症病灶数。福辛普利同样能明显减低血清 ALT 水平，减少小叶炎症病灶数，但却增加肝肿大程度，其机制不明确。

在本研究中我们发现普罗布考可改善高脂高糖饮食所致 2 型糖尿病大鼠的脂质代谢，减轻氧化应激，从而减轻肝肿大程度及肝脏炎性损伤。福辛普利亦可降低氧化应激并减轻肝脏炎性损伤。为普罗布考及福辛普利在临床治疗 2 型糖尿病伴 NAFLD 患者提供一定的实验依据。然而本实验发现福辛普利对脂质代谢的影响不明显并且可加重高脂高糖饮食所致 2 型糖尿病大鼠肝肿大程度，因此其副作用有待进一步实验研究。

## 参 考 文 献

[1] Pinto H C，Baptista A，Camilo M E，et al. Nonalcoholic steatohepatitis. Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients[J]. Dig Dis Sci，1996，41(1)：172-179.

[2] Kleiner D E，Brunt E M，Van Natta M，et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology，2005，41(6)：1313-1321.

[3] Kaul N，Siveski-Iliskovic N，Thomas T P，et al. Probucol improves antioxidant activity and modulates development of diabetic cardiomyopathy [J]. Nutrition，1995，11 (5 suppl)：551-554.

[4] De Cavanagh E M，Inserra F，Toblli J，et al. Enalapril attenuates oxidative stress in diabetic rats[J]. Hypertension，2001，38(5)：1130-1136.

[5] Lieber S C，Leo M A，Mak K M，et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. Am J Clin Nutr，2004，79(3)：502-509.

[6] Harrison S A，Torgerson S，Hayashi P，et al. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. Am J Gastroenterol，2003，98(11)：2485-2490.

[7] Merat S，Aduli M，Kazemi R，et al. Liver histology changes in nonalcoholic steatohepatitis after one year of treatment with probucol[J]. Dig Dis Sci，2008，53(8)：2246-2250.

（责任编辑：关蕴良）