

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00183

罗格列酮干预对老年SD大鼠氧自由基及相关生化指标的影响

张颖玮, 时多, 熊锡山, 胡惠民, 梅长林*

第二军医大学长征医院肾内科, 上海 200003

[摘要] **目的:**观察罗格列酮对衰老大鼠血液生化指标及氧自由基的影响,为将来抗衰老的实验研究提供一定的实验依据。**方法:**24个月龄(老年)自然衰老SD大鼠为模型,随机分为正常对照组、罗格列酮组、能量限制组,每组10只。罗格列酮组给予罗格列酮4 mg/(kg·d)灌胃,能量限制组给予正常对照组饮食的60%,第12周治疗结束时处死所有动物并检测各组大鼠的血液生化指标及超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(DA)的酶活性。**结果:**各组大鼠血糖值(GLU)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)无明显差异,均在正常范围内。罗格列酮组血胆固醇(CH)较对照组出现下降,但无统计学差异。罗格列酮组及限食组血三酰甘油(TG)均较对照组出现了明显下降($P < 0.05$)。罗格列酮组及限食组血液SOD及MDA酶活性均较对照组有明显改善。**结论:**罗格列酮具有调节老年大鼠体内脂质代谢紊乱、减轻氧化损伤的作用,可能起到抗衰老的作用。

[关键词] 罗格列酮;衰老;超氧化物歧化酶;丙二醛;三酰甘油

[中图分类号] R 737.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)02-0183-04

Effect of Rosiglitazone on oxygen free radical and biochemical parameters in aged SD rats

ZHANG Ying-wei, SHI Duo, XIONG Xi-shan, HU Hui-min, MEI Chang-lin*

Department of Nephrology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the effect of Rosiglitazone (RGTZ) on oxygen free radical and biochemical parameters of aged rats, so as to establish a basis for anti-aging study. **Methods:** The 24-month-old naturally aged SD rats were randomly divided into the control group (CONT), the RGTZ group and the caloric restriction group (CR). The RGTZ group was given intragastric administration of RGTZ ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and the CR group was given 60% of the diet that of the CONT group. The rats were killed 12 weeks later and the serum malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) activity and the blood biochemistry parameters were examined. **Results:** The blood glucose (GLU), aspartate transaminase (AST), alamine transaminase (ALT), serum creatinine (Scr), and blood urea nitrogen (BUN) were within the normal range in all groups. Compared with the CONT group, blood cholesterol (CH) in RGTZ group was lower, but with no significant difference. The serum triglyceride (TG) of both RGTZ and CR groups decreased markedly than those in the CONT group ($P < 0.05$). The activities of SOD and MDA were improved in RGTZ and CR group compared with the control group. **Conclusion:** RGTZ can regulate the lipid metabolism and attenuate the oxidative damage in aged rats, indicating its anti-aging effect.

[KEY WORDS] rosiglitazone; aging; superoxide dismutase; malondialdehyde; blood biochemistry; triglycerides

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(2):183-186]

罗格列酮(rosiglitazone)属于噻唑烷二酮类化合物(TZDs),它是核受体过氧化物酶增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)的激活物,能调控多种基因的表达,调节多种蛋白质作用,进而影响机体生长和糖、脂质代谢。因其能提高胰岛素敏感性,故临床上主要用于2型

糖尿病的治疗。近年来众多的文献报道TZDs类药物与其他口服降糖药相比,它不仅能够改善2型糖尿病患者和动物模型的3种基本的代谢紊乱状况,同时具有抗氧化的作用,在相同的降糖基础上对肾脏、心脏、脑等重要器官都具有保护作用。衰老个体大多存在胰岛素敏感性下降、糖脂代谢紊乱、抗氧化

[收稿日期] 2008-09-27 **[接受日期]** 2008-11-28

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划("973"计划,2007CB07400)。Supported by the National Basic Research Program("973 Program", 2007CB507400)。

[作者简介] 张颖玮,博士,主治医师。现在济南军区总医院肾内科,济南 250031。E-mail:zyw2118@yahoo.com.cn

* 通讯作者(Corresponding author)。Tel:021-81870386, E-mail:Chlmei@public.star.net.cn

能力下降等状况,罗格列酮对于健康老年个体的抗衰老作用目前国内外报道还很少,我们希望通过本实验观察罗格列酮对衰老大鼠血液生化指标及超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)酶活性的影响,以国际公认的能量限制抗衰老模型作为阳性对照,探讨罗格列酮可能存在的抗衰老机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠购自上海西普尔-必凯(SIPPR/BK)实验动物有限公司,24个月龄,30只,饲养于第二军医大学实验动物中心(清洁级环境)。动物房室温 19~24℃,光照时间为(12±1)h。每周用紫外灯消毒1次,以保持动物房无菌环境。

1.2 动物分组及给药 大鼠随机分为3组,每组10只。(1)对照组(CONT组),正常饮食。(2)罗格列酮组(RGTZ),以马来酸罗格列酮(购自上海汇瑞生物科技有限公司)溶于含1%的羧甲基纤维素(购自中国医药集团上海生化试剂公司)生理盐水中,剂量为4mg/(kg·d),灌胃,共12周。每天称取体质量计算灌胃量,12周后断头处死全部动物。饲料配方采纳上海实验动物中心啮齿类动物饲料配方。(3)限制饮食组(CR组),每天称量自由摄食组动物实际饲料摄入量,以此计算第2天限食组动物的饲料用量。限食组动物能量摄入为自由组的60%,调整实验组饲料中维生素和无机盐的含量,保证各组动物除能量摄入差异外,无机盐和维生素等微量营养素每天摄入量均一

致。限食组动物单笼喂养,自由饮水。

实验第12周,大鼠空腹16h后称体质量,眶后采血1ml,收集血标本5ml左右,4℃离心(2500×g)5min,取上层血清,分装于Eppendorf管内,保存于-80℃冰箱内,留待检测。以日立7060型全自动生化分析仪(以日立仪器有限公司)检测血生化各项指标:血糖(GLU)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)、三酰甘油(TG)、胆固醇(CH)。按SOD及MDA酶活力检测试剂盒(南京建成生物工程公司)内方法测定SOD和MDA。

1.3 统计学处理 所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据采用Windows SPSS 10.0统计软件进行统计,组间比较用方差分析或参数检验。等级计数资料的比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

检测发现老年各组大鼠血糖值均正常,虽然RGTZ组较CONT组有下降趋势但无统计学差异[(5.29±0.31) vs (5.50±0.41), $P > 0.05$]。血清AST、ALT各组之间也无明显差异,都在正常范围内,提示此药物无肝毒性,血SCr、BUN均在正常范围内,各组间无明显差异,无肾毒性。RGTZ组与CONT组相比血CH出现下降,但差异无统计学意义,RGTZ组及CR组血TG均较对照组出现了明显下降并具有统计学意义($P < 0.05$),但两组之间无统计学差异(表1)。

表1 老年SD大鼠血液生化指标
Tab 1 Biochemical parameters in various groups of aged rats

Index	CONT	RGTZ	CR
GLU $c_B / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	5.50±0.41	5.29±0.31	5.96±0.20
ALT z_B / U	51.75±12.55	61.0 ±18.67	99.75±47.83
AST z_B / U	145.75±67.52	142.4 ±39.25	151.5 ±54.07
BUN($\times 10^{-2}$) $\rho_B / (\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	36.85±2.09	31.37±7.37	30.66±5.85
Scr($\times 10^{-2}$) $\rho_B / (\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	0.32±0.09	0.29±0.05	0.28±0.02
CH($\times 10^{-2}$) $\rho_B / (\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	104.83±49.364	84.89±14.76	107.38±33.99
TG($\times 10^{-2}$) $\rho_B / (\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	192.46±24.24	70.12±19.28*	84.89±13.05*

* $P < 0.05$ vs CONT group. CONT:Control; RGTZ:Rosiglitazone; CR:Caloric restriction

RGTZ组及CR组血液SOD酶活力均较对照组明显上升($P < 0.05$);RGTZ及CR组血液MDA酶活力均较CONT组出现明显下降($P < 0.01$,表2)。

3 讨论

衰老是随年龄增长组织细胞衰老、器官功能下

降引起的不可抗拒的生理变化,是机体各种功能衰退的综合表现^[1]。衰老使机体内环境的稳定被破坏,从而使机体的许多生理指标发生改变,成为许多老年疾病的原因^[2]。在衰老过程中,难以控制的自由基反应是细胞损伤的重要根源,亦是导致衰老的重要原因;衰老的自由基学说是关于衰老学说中很

表 2 治疗后各组老年 SD 大鼠

血液 SOD、MDA 酶活性变化

Tab 2 Activities of SOD and MDA in various groups after treatment

[$n=10, \bar{x} \pm s, z_B / (U \cdot \text{mol protein}^{-1})$]

Group	SOD	MDA
CONT	95.1 ± 5.9	15.1 ± 2.2
RGTZ	112.8 ± 7.9*	8.4 ± 1.2**
CR	115.1 ± 7.9*	7.4 ± 1.3**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs CONT group. CONT: Control; RGTZ: Rosiglitazone; CR: Caloric restriction

重要的一个理论体系。1990 年 Issemann 等^[3]克隆了第 1 个 PPARs, 人们逐渐认识到 PPARs 作为核受体家族成员在多种器官均有表达, PPARs 包括 PPAR α 、PPAR γ 和 PPAR β/δ 三种表型, 其中对于 PPAR γ 的研究最为深入, 其目的基因参与调控过氧化物酶体及线粒体的 β 氧化、酮体合成等过程, 在脂肪代谢、糖代谢及内环境稳定方面起着重要作用^[4]。PPAR γ 活化后诱导乙酰 CoA 合成酶、脂肪酸转运蛋白酶脂蛋白脂酶和脂肪酸结合蛋白的表达增加, 使转运至肌肉和肝脏的脂肪酸减少, 最终导致 TG 在外周组织的分解增加^[5]。罗格列酮是临床治疗 2 型糖尿病最为常见的 TZDs 类药物, 也是 PPAR γ 的高亲和力药物型配体^[6], 我们连续 12 周以罗格列酮干预老年大鼠, 检测老年大鼠血生化指标, 结果显示罗格列酮组老年大鼠的血各项生化指标仍在正常范围内, GLU 值轻度下降, 虽然无统计学意义, 但说明它一定程度上可以缓解随年龄出现的老年大鼠血糖的增高趋势, 同时不伴有肝肾功能指标的异常, 证明了 4 mg/(kg · d) 剂量的罗格列酮可以安全用于延缓大鼠衰老的实验研究, 更为重要的是, 实验结果还显示罗格列酮同限制饮食组一样可以降低老年大鼠的高血清 TG、CH, 这与文献^[7-8]报道相一致。类似动物实验发现, 应用 PPAR γ 激动剂 TZDs, 可使血高密度脂蛋白 (HDL) 升高, 低密度脂蛋白 (LDL)、TG 降低, 起到纠正至代谢紊乱的作用^[9]。大量体内外实验证明限制饮食延缓衰老的重要途径就是降低老年个体的血脂、血糖, 减少心脑血管疾病的发生^[10]。老年大鼠体内存在着随龄 PPAR γ 的表达下降, 体内脂肪代谢缺乏有效的调节而不可避免的导致一定程度的脂质代谢紊乱^[11], 我们的实验结果表明罗格列酮干预可诱导老年大鼠体内 PPAR γ 的表达激活, 有助于脂肪细胞分化, 并发挥了降血糖、血脂及增加胰岛素敏感性的作用, 增加了体内 TG、CH 的降解; 有效地纠正了老年动物体内的脂质代

谢紊乱, 加强了血清 TG 等过剩物质的清除, 从而避免了肾脏、心脏、脑血管等重要脏器血管粥样硬化的发生, 与限制饮食延缓衰老的途径类似。

能量限食作为近年来公认的延缓衰老的唯一有效方式, 一直是衰老研究的热点, 其中减轻氧化损伤是解释其作用机制的主要理论之一^[12]。实验中, 我们发现罗格列酮干预使老年大鼠体内的 MDA 与 SOD 的酶活性明显增强, 其治疗效果接近能量限食组。SOD 作为体内的一种抗氧化剂, 对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用, 此酶能清除体内超氧阴离子自由基, 治疗超氧阴离子自由基引起的疾病, 保护细胞免受自由基的损伤, SOD 活力的高低反应了抗自由基的能力^[13]; MDA 是氧自由基作用于生物膜中的多不饱和脂肪酸引发脂质过氧化反应的终产物, MDA 的高低反映了受自由基攻击的严重程度, 可作为评价脂质过氧化反应强弱的指标; MDA 与 SOD 对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用, MDA 的测定常常与 SOD 的测定相互配合^[14]。老龄动物机体内由于抗氧化酶活力不足, 细胞生命活动过程中产生的自由基不能得到有效的清除, 自由基不断损伤细胞的结构, 损伤的不断积累最终导致细胞衰亡和机体的衰老^[15]。本实验结果表明了罗格列酮能够减轻老年大鼠体内脂质过氧化损伤, 使老年大鼠体内抗氧化酶活性增强, 对氧自由基的清除能力增加, 采取小剂量的罗格列酮干预可改善老年大鼠体内的抗氧化功能, 提示老年大鼠抗氧化功能增强可能是罗格列酮延缓衰老的重要作用机制之一。

综上, 本实验证明罗格列酮干预可能与限制饮食一样通过一定的途径、在一定程度上发挥了调整老年大鼠体内的脂质代谢紊乱, 减轻氧化损伤的作用。目前罗格列酮的抗衰老研究仅限于动物模型, 我们的研究结果也只是初步证实了给予老年大鼠小剂量的罗格列酮干预抗衰老的安全有效性。鉴于在人体研究、临床科研方面累积资料尚少, 有关机制还有待于进一步探索。

[参考文献]

- [1] Martin J, Sheaff M. Renal ageing[J]. J Pathol, 2007, 211: 198-205.
- [2] Kenyon C. The plasticity of aging: insights from long-lived mutants [J]. Cell, 2005 120: 449-460.
- [3] Sasaki M, Jordan P, Welbourne T, Minagar A, Joh T, Itoh M, et al. Troglitazone, a PPAR-gamma activator prevents endothelial cell adhesion molecule expression and lymphocyte adhesion mediated by TNF-alpha[J]. BMC Physiol, 2005, 5: 3.

[4] 章慧娣,王伟铭,陈楠. PPAR- γ 与肾脏炎症调节进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2007,5:255-260.

[5] Ling W, Loughheed M, Suzuki H, Buchan A, Kodama T, Steinbrecher U P. Oxidized or acetylated low density lipoproteins are rapidly cleared by the liver in mice with disruption of the scavenger receptor class A type I / II gene[J]. J Clin Invest, 1997, 100:244-252.

[6] 周芳. 有关噻唑烷二酮类药物应用的思考[J]. 医学与社会, 2007,20:27-29.

[7] Rebrin I, Kamzalov S, Sohal R S. Effects of age and caloric restriction on glutathione redox state in mice [J]. Free Radical Biol Med, 2003,35:626-635.

[8] Pohl J, Ring A, Eehalt R, Schulze-Bergkamen H, Schad A, Verkade P, et al. Long-chain fatty acid uptake into adipocytes depends on lipid raft function[J]. Biochemistry, 2004, 43:4179-4187.

[9] Klopotek A, Hirche F, Eder K. PPAR gamma ligand troglitazone lower cholesterol synthesis in HepG2 and Caco-2 cells via a reduced concentration of nuclear SREBP-2 [J]. Exp Biol Med, 2006,231:1365-1372.

[10] Corton J C, Brown-Borg H M. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 in caloric restriction and other models of longevity [J]. J Gerontol Series A: Biol Sci Med Sci, 2005,60:1494-1509.

[11] Barbier O, Torra I P, Duguay Y, Blanquart C, Fruchart J C, Glineur C, et al. Pleiotropic actions of peroxisome proliferator-activated receptors in lipid metabolism and atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002,22:717-726.

[12] Masoro E J. Overview of caloric restriction and ageing[J]. Mechan Aging Dev, 2005,126:913-922.

[13] Van Remmen H, Ikeno Y, Hamilton M, Pahlavani M, Wolf N, Thorpe S R, et al. Life-long reduction in MnSOD activity results in increased DNA damage and higher incidence of cancer but does not accelerate aging[J]. Physiol Genomics, 2003, 16:29-37.

[14] Orr W C, Mockett R J, Benes J J, Sohal R S. Effects of overexpression of copper-zinc and manganese superoxide dismutase, catalase, and thioredoxin reductase genes on longevity in *Drosophila melanogaster* [J]. J Biol Chem, 2003,278:26418-26422.

[15] Shigenaga M K, Hagen T M, Ames B N. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994,91:10771-10778.

[本文编辑] 邓晓群,尹茶

• 书 讯 •

《现代临床骨科学丛书》已出版

本套丛书由中山大学附属二院刘尚礼教授担任总主编,第二军医大学出版社2009年1月出版,共6册,总订价:501.00元。包括:

- 《脊柱外科学》,ISBN 978-7-81060-895-4,由贾连顺、李健、林本丹任主编,16开,定价:98.00元;
- 《骨病与骨肿瘤》,ISBN 978-7-81060-894-7,由林建华、杨迪生、杨建业任主编,16开,定价:118.00元;
- 《小儿骨科学》,ISBN 978-7-81060-896-1,由贾卫斗、程开明、宋洁富任主编,16开,定价:65.00元;
- 《创伤骨科学》,ISBN 978-7-81060-893-0,由张铁良、刘兴炎、李继云任主编,16开,定价:85.00元;
- 《骨科学总论》,ISBN 978-7-81060-892-3,由刘尚礼、勘武生、庄洪、马少云、王静成任主编,16开,定价:80.00元;
- 《关节外科学》,ISBN 978-7-81060-897-8,由刘尚礼、勘武生、庄洪、马少云、王静成任主编,16开,定价:55.00元。

本丛书全面、系统地介绍了现代骨科学的基础和临床研究新进展、新理论、新技术、新方法,是一套理论紧密结合实际的专业性学术著作,书中展示了丰富的典型病例及图片,对初级骨科医师有较大的参考价值。

本书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通讯地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

<http://www.smmup.com>