

[文章编号] 1007-3949(2010)18-01-0029-04

• 实验研究 •

苯那普利与氟伐他汀单用及联用 对阿霉素肾病大鼠血清脂联素的影响

张道友, 崔明春, 吴小冬, 杨利才, 杨沿浪, 徐海红

(皖南医学院附属弋矶山医院肾内科, 安徽省芜湖市 241001)

[关键词] 阿霉素肾病; 苯那普利; 氟伐他汀; 脂联素

[摘要] 目的 探讨苯那普利与氟伐他汀单用及联用对阿霉素肾病大鼠脂联素的影响。方法 雄性 SD 大鼠 120 只, 适应性饲养 2 周后, 随机抽取 18 只为正常对照组, 另外 102 只制作阿霉素肾病模型。84 只造模成功大鼠随机分为四组: 模型组 (等容积生理盐水, $n=21$)、苯那普利组 [苯那普利 $3.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, $n=21$], 氟伐他汀组 [氟伐他汀 $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, $n=21$] 和苯那普利与氟伐他汀联合治疗组 [苯那普利 $3.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ + 氟伐他汀 $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, $n=21$]。分别于 2、6 及 10 周末, 遵循随机化原则, 按 $n=6$ 分层抽取各组样本, 收集 24 h 尿液、血液标本待测。结果 与模型组相比, 苯那普利组、氟伐他汀组及联合治疗组血清甘油三酯、总胆固醇、脂联素浓度均降低, 24 h 尿蛋白减少; 联合治疗组更为明显; 相关分析表明, 蛋白尿、甘油三酯和总胆固醇分别与血脂联素浓度呈明显正相关关系 ($P < 0.01$)。结论 苯那普利与氟伐他汀可减轻阿霉素肾病大鼠蛋白尿、降低血清甘油三酯、总胆固醇及脂联素浓度, 联用时疗效更明显。提示苯那普利与氟伐他汀至少部分通过降低脂联素水平而减轻肾脏损害。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

Influence of Benazepril and Fluvastatin on Adiponectin in Adriamycin-Induced Nephrotic Rats

ZHANG Dao-You, CU Ming-Chun, WU Xiao-Dong, YANG Li-Cai, YANG Yan-Lang and XU Hai-Hong

(Department of Nephrology, Yijishan Hospital, Wannan Medical College, Wuhu 241001, China)

[KEY WORDS] Adriamycin-Induced Nephropathy; Benazepril; Fluvastatin; Adiponectin

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the influence of benazepril alone and in combination with fluvastatin on adiponectin (APN) in adriamycin (ADR)-induced nephrotic rat models. **Methods** Male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly separated into five groups and given different therapies. Normal control group ($n=18$). Nephrotic model was induced by tail intravenously injection of ADR ($6.0 \text{ mg}/\text{kg}$). Eighty-four ADR-induced nephrotic male SD rats were randomly separated into 4 groups without treatment group (normal saline $3 \text{ mL}/\text{d}$, $n=21$), benazepril treatment group (benazepril $3.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$; $n=21$), fluvastatin treatment group (fluvastatin $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$; $n=21$) and combined treatment group (benazepril $3.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ plus fluvastatin $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, $n=21$). After the end of therapies for 2, 6 and 10 weeks, the samples of 24 h urine, serum were collected and assayed (six rats were assigned randomly in every group).

Results Compared with normal control group, 24 h urinary protein excretion, the serum levels of total cholesterol, triglyceride and APN were increased significantly in the other four groups ($P < 0.01$). Treatment with either benazepril or fluvastatin or combined with benazepril and fluvastatin could reduce 24 h urinary protein excretion, reduce the serum levels of total cholesterol, triglyceride and APN ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), especially for combined treatment group.

Proteinuria, total cholesterol, triglyceride were correlated with APN ($P < 0.01$). **Conclusions** Benazepril and fluvastatin can decrease proteinuria, reduce serum triglyceride, total cholesterol and APN in ADR-induced nephrotic rats.

Combination of benazepril and fluvastatin has superiority over monotherapies on renal protection. These results suggest that benazepril and fluvastatin may mediated through, at least partly, decreasing serum APN and attenuating renal damage.

脂联素是一种主要由脂肪细胞分泌的内源性生物活性因子, 参与人体复杂的代谢过程及疾病的

发生、发展^[1]。脂联素与糖尿病及糖尿病肾病研究较多, 与血糖、血脂、尿蛋白等密切相关^[2], 但和原发性肾脏疾病的关系研究较少, 且苯那普利与氟伐他汀联用对脂联素浓度的影响目前尚未见报道。为此本研究制备阿霉素肾病大鼠模型, 观察苯那普利与氟伐他汀单用及联用对大鼠血清脂联素浓度的影响, 并探讨肾脏保护作用的可能机制。

[收稿日期] 2009-11-05 [修回日期] 2009-12-02

[基金项目] 安徽省学术技术带头人科学研究基金 (2002HBL25)

[作者简介] 张道友, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事慢性肾小球疾病及慢性肾功能衰竭研究, Email为 zhangdaoyou_21st@sina.com; 崔明春, 硕士, 住院医师, 主要从事慢性肾小球疾病及慢性肾功能衰竭研究; 吴小冬, 硕士, 住院医师, 主要从事慢性肾小球疾病及慢性肾功能衰竭研究。

1 材料和方法

1.1 动物

雄性 SD 大鼠 120 只, 10 周龄, 体重 180~220 g 购自浙江省实验动物中心, 合格证号 SCXK(浙) 2003-0001。

1.2 动物模型的建立及分组

120 只大鼠适应性喂养 2 周后随机抽取 18 只作为正常对照组, 予以大鼠尾静脉注射等容积生理盐水; 余 102 只施以阿霉素 60 mg/kg 尾静脉注射制备阿霉素肾病模型, 造模期间 10 只死亡, 另 8 只 24 h 尿蛋白未达标准 (24 h 尿蛋白 > 100 mg) 视为造模失败剔除, 造模成功的 84 只大鼠随机分为四组: 模型组 ($n=21$)、苯那普利组 ($n=21$)、氟伐他汀组 ($n=21$)、苯那普利与氟伐他汀联合治疗组 ($n=21$)。正常对照组和模型组给予等容积生理盐水灌胃; 苯那普利组给予苯那普利 3.5 mg/(kg·d); 氟伐他汀组给予氟伐他汀 10 mg/(kg·d); 联合治疗组给予苯那普利与氟伐他汀, 剂量同苯那普利组和氟伐他汀组。分别在 2 周、6 周、10 周末分批处死大鼠。

1.3 标本收集

代谢笼收集各组动物 24 h 尿液, 3 000 r/min 离心, 取上清液, 置 -20℃ 冰箱中保存待测。继以 3% 戊巴比妥 15 mg/kg 腹腔注射, 剖腹进入腹腔, 自腹主动脉抽取 5 mL 血液, 置入 -20℃ 冰箱保存待测。

1.4 标本检测

采用全自动生化分析仪检测 24 h 尿蛋白、血白蛋白、甘油三酯和总胆固醇, 采用双抗体夹心法测定血清脂联素含量。

1.5 统计学方法

数据由 SPSS13.0 统计分析软件完成。所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析和 SNK- q 检验及相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 24 h 尿蛋白的变化

正常对照组大鼠尿蛋白在第 2、6 及 10 周末无明显变化, 模型组、苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组尿蛋白明显高于正常对照组 ($P < 0.01$), 苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组尿蛋白均低于模型组, 以联合治疗组最为明显 ($P < 0.05$ 表 1)。

2.2 大鼠血甘油三酯水平的变化

正常对照组大鼠甘油三酯水平在第 2、6 及 10 周基本无变化, 模型组、苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组大鼠甘油三酯水平明显高于正常对照组

($P < 0.01$), 苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组甘油三酯水平均明显低于模型组 ($P < 0.05$ 表 2)。

表 1 各组大鼠 24 h 尿蛋白的变化 ($\bar{x} \pm s$, mg)

分 组	2周	6周	10周
正常对照组	6.42 ± 2.10	5.75 ± 2.14	5.56 ± 2.03
模型组	263.34 ± 29.63 ^a	316.75 ± 37.00 ^a	342.16 ± 40.04 ^a
苯那普利组	147.66 ± 13.25 ^{ab}	198.87 ± 22.51 ^{ab}	165.57 ± 19.25 ^{ab}
氟伐他汀组	162.73 ± 15.27 ^{ab}	221.53 ± 27.80 ^{ab}	192.52 ± 17.44 ^{ab}
联合治疗组	91.81 ± 16.48 ^{abc}	122.00 ± 18.57 ^{abc}	106.70 ± 19.52 ^{abc}

a 为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 与模型组比较; c 为 $P < 0.05$ 与苯那普利组或氟伐他汀组比较。

表 2 各组大鼠甘油三酯水平的变化 ($\bar{x} \pm s$, mol/L)

分 组	2周	6周	10周
正常对照组	0.86 ± 0.07	0.86 ± 0.09	0.85 ± 0.09
模型组	3.76 ± 1.9 ^a	3.77 ± 2.0 ^a	3.88 ± 2.0 ^a
苯那普利组	3.25 ± 0.24 ^{ab}	3.56 ± 0.16 ^{ab}	2.92 ± 0.28 ^{ab}
氟伐他汀组	2.87 ± 0.21 ^{ab}	3.15 ± 0.18 ^{ab}	2.46 ± 0.29 ^{ab}
联合治疗组	2.81 ± 0.15 ^{abc}	2.83 ± 0.12 ^{abc}	2.14 ± 0.22 ^{abc}

a 为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 与模型组比较; c 为 $P < 0.05$ 与苯那普利组或氟伐他汀组比较。

2.3 大鼠血总胆固醇水平的变化

正常对照组大鼠总胆固醇水平在第 2、6 及 10 周基本无变化, 模型组、苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组大鼠总胆固醇水平明显高于正常对照组 ($P < 0.01$), 苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组总胆固醇水平明显低于模型组 ($P < 0.05$ 表 3)。

表 3 各组大鼠总胆固醇水平的变化 ($\bar{x} \pm s$, mol/L)

分 组	2周	6周	10周
正常对照组	1.35 ± 0.03	1.35 ± 0.04	1.37 ± 0.08
模型组	2.47 ± 0.10 ^a	2.61 ± 0.44 ^a	2.85 ± 0.54 ^a
苯那普利组	2.32 ± 0.16 ^{ab}	2.27 ± 0.16 ^{ab}	2.19 ± 0.13 ^{ab}
氟伐他汀组	2.23 ± 0.16 ^{ab}	2.05 ± 0.15 ^{ab}	1.85 ± 0.18 ^{ab}
联合治疗组	2.08 ± 0.16 ^{abc}	1.78 ± 0.14 ^{abc}	1.62 ± 0.12 ^{abc}

a 为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 与模型组比较; c 为 $P < 0.05$ 与苯那普利组或氟伐他汀组比较。

2.4 大鼠血清脂联素水平的变化

正常对照组血清脂联素在第 2、6 及 10 周无明显变化, 模型组、苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组脂联素水平均明显增高 ($P < 0.01$), 随着干预时间延长脂联素水平逐渐下降; 苯那普利组、氟伐他汀组和联合治疗组脂联素水平与模型组比较显著减少 ($P < 0.05$ 图 1)。

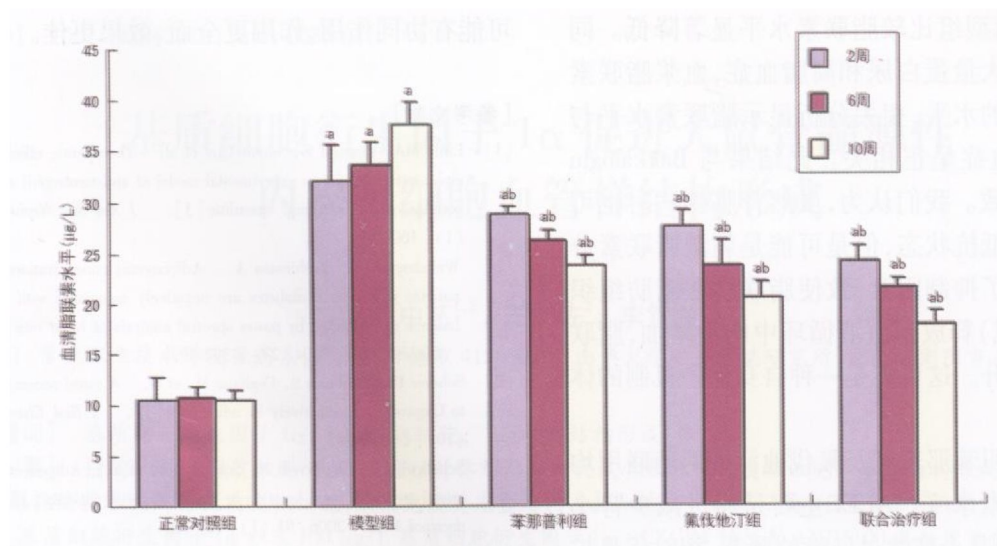


图 1 各组大鼠血清脂联素的变化 ($\bar{x} \pm s$) a为 $P < 0.01$ 与正常对照组比较; b为 $P < 0.05$ 与模型组比较。

2.5 相关性分析

对模型组 18 例大鼠实验数据进行相关性分析发现, 24 h 尿蛋白、甘油三酯和总胆固醇分别与血脂联素水平呈明显正相关关系 (r 分别为 0.707、0.645 和 0.673, $P < 0.01$; 图 2)。

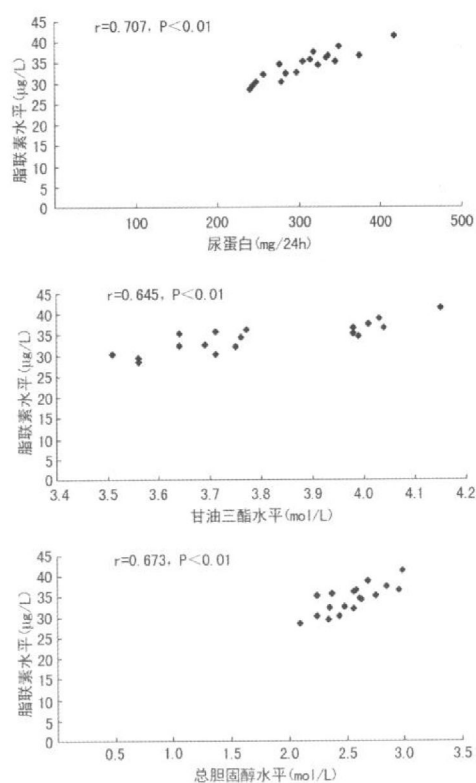


图 2 相关性分析

3 讨论

脂联素由 Scherer 等^[3]从脂肪细胞分化克隆而发现的一种具有广泛生物学作用的蛋白质, 属于可

溶性防御性胶原家族成员。其相对分子质量为 30 000 由 244 个氨基酸残基组成, 在人体血浆脂联素的浓度可达到 10 mg/L 左右, 占血浆总蛋白的 0.01%, 主要存在形式是高分子量的多聚体结构。脂联素为一种重要的代谢调节蛋白, 当机体代谢紊乱和免疫功能变化时, 其水平也会随之发生变化。

阿霉素肾病为免疫-炎症反应所介导性疾病, 当肾小球内皮细胞受到损伤时, 来自血液中的炎症细胞向肾内聚集, 同时肾脏局部固有细胞也被激活, 它们均可释放炎症因子如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、核因子 κB (NF- κB) 等造成一系列的炎症反应^[4]。脂联素可以通过两方面调节炎症反应减少内皮细胞的损伤: 一方面通过下调一些抗凋亡基因, 诱导细胞死亡而抑制巨噬细胞前体细胞的生长, 起到防止炎症的慢性持续作用。肾脏疾病时血浆脂联素水平改变还与尿蛋白、血脂、血清白蛋白等有着密切的关系。Schalkwijk 等^[4]在 543 例 1 型糖尿病患者的研究中, 依照尿蛋白排泄率分为正常蛋白尿组 ($< 20 \mu g/m in$)、微量蛋白尿组 ($20 \sim 200 \mu g/m in$) 及大量蛋白尿组 ($> 200 \mu g/m in$)。结果发现, 脂联素水平与尿蛋白及肾小球滤过率 (GFR) 呈显著正相关。Camme 等^[5]在慢性肾病患者中, 尿蛋白是循环脂联素水平的主要决定因素, 脂联素可能减轻慢性肾脏病患者脂代谢紊乱及其他危险因素所引起的内皮损害, 此时循环脂联素水平升高的原因可能是刺激脂联素分泌的因素超过了抑制因子, 使脂联素水平显著上升。

本研究结果发现, 在研究期间正常对照组血清脂联素水平无明显变化, 模型组及药物干预组脂联素水平均明显增高, 随干预时间增长脂联素水平逐

渐下降,且与模型组比较脂联素水平显著降低。同时模型组出现大量蛋白尿和高脂血症,血浆脂联素亦处于比较高的水平,相关分析显示脂联素水平与蛋白尿、高脂血症呈正相关。此结果与 Bakaloglu 等^[6]报道相一致。我们认为,虽然肾脏疾病时也可能存在胰岛素抵抗状态,但是可能是刺激脂联素分泌的因素超过了抑制因素,致使脂联素在脂肪组织中的合成和(或)释放至血液循环中的量增加,脂联素水平显著上升。这可能是一种自身保护机制的体现。

本研究表明苯那普利及氟伐他汀或两药联用均可以调节脂联素水平。ACEI主要是通过减少肾小球膜滤过,参与肾小球滤过屏障的调节,相对优势扩张出球小动脉,降低肾小球的内压,改善肾小球内血流动力学等,从而减少蛋白尿和炎症因子的分泌从而影响脂联素水平。氟伐他汀可以利用其降脂和非降脂作用^[7]降低蛋白尿,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;还可以灭 NF- κ B,减少炎症因子的产生,减少氧化应激等,从宏观上调节脂联素水平。另外他汀类药物还可通过转导途径影响脂联素受体的表达而改变血浆脂联素水平^[8]。本研究表明联合用药

可能有协同作用,作用更全面,效果更佳。

[参考文献]

- [1] Little MA, Bhargava G, Smyth CL, et al. Therapeutic effect of anti-TNF- α antibodies in an experimental model of antineutrophil cytoplasm antibody-associated systemic vasculitis [J]. *J Am Soc Nephrol* 2006; **17** (1): 160-169.
- [2] Wakabayashi S, Yoshimasa A. Adiponectin concentrations in sera from patients with type 2 diabetes are negatively associated with sympathovagal balance as evaluated by power spectral analysis of heart rate variation [J]. *Diabetes Care* 2004; **27**: 2392-397.
- [3] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al. A novel serum protein similar to C1q produced exclusively in adipocytes [J]. *J Biol Chem* 1995; **270** (10): 26746-747.
- [4] Schalkwijk G, Chaturvedi N, Schram MT, et al. Adiponectin is inversely associated with renal function in Type 1 diabetic patients [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91** (1): 129-135.
- [5] Carmine Z, Francesca M, Vincenzo P, et al. Adiponectin is markedly increased in patients with nephrotic syndrome and is related to metabolic risk factors [J]. *Kidney Int* 2003; **63** (Suppl): 98-102.
- [6] Bakaloglu SA, Buyan N, Funahashi T, et al. Adiponectin levels and atherosclerotic risk factors in pediatric chronic peritoneal dialysis patients [J]. *Perit Dial Int* 2005; 357-361.
- [7] Vieira JM, Rodrigues E. Statin monotherapy attenuates renal injury in a salt sensitive hypertension model of renal disease [J]. *Nephron Physiol* 2005; **101**: 82-91.
- [8] Yukio Saito, Daisuke Fujioka, Ken-ichi Kawabata, et al. Statin reverses reduction of adiponectin receptor expression in infarcted heart and in TNF- α -treated cardiomyocytes in association with improved glucose uptake [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; **293**: 3490-497.

(此文编辑 文玉珊)

• 读者 • 作者 • 编者 •

更正启示

发表在 2009 年第 10 卷第 11 期韩艺等发表的论文《雌激素减弱晚期糖基化终末产物对内皮型一氧化氮合酶的抑制作用》中,图 2 中 β -actin (60 kDa) 应改为 β -actin (45 kDa),图 3 中 NOS-3 (598 kDa) 应改为 NOS-3 (140 kDa),特此更正。