

吴运斗,袁新科,李大勇,等. 喹磺环己酮对大鼠糖尿病肾病的作用及对肾脏 Ang II、VEGF 表达的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 98-104.

Wu YD, Yuan XK, Li DY, et al. Effect of quinocyclohexanone on diabetic nephropathy and the expression of angiotensin II and vascular endothelial growth factor in the kidneys of rats [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(10): 98-104.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.017

喹磺环己酮对大鼠糖尿病肾病的作用及对肾脏 Ang II、VEGF 表达的影响

吴运斗,袁新科,李大勇,彭琳,田俊玮

(长沙市第一医院肾内科,长沙 410005)

【摘要】 目的 研究喹磺环己酮对大鼠糖尿病肾病的作用及对肾脏血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响。**方法** 选取 40 只 8 周龄 SD 健康大鼠,随机选取其中 10 只作为正常组,其余 30 只建立糖尿病肾病大鼠模型。模型成功后随机将两组糖尿病肾病大鼠分为模型组 10 只和给药组 20 只,给药组每 5 只大鼠注射相同剂量,分别使用 5、10、15、30 mg/kg 的喹磺环己酮灌胃,对照组和模型组大鼠给予等剂量的生理盐水灌胃。检测给药组、正常组大鼠尿白蛋白排泄率(Uaer)、肾小球滤过率(GFR)。对三组大鼠空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、24 h 尿微量白蛋白(24hU-mAlb)、β2 微球蛋白(β2-MG)、血尿素氮(BUN)水平进行检测,对大鼠肾脏组织中单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)mRNA、凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体(LOX-1)mRNA 及 Ang II、VEGF 表达水平,并作组间比较。**结果** 其中剂量为 15 mg/kg 时大鼠 Uaer、GFR 水平趋近于正常 Uaer、GFR 水平,因此认为 15 mg/kg 为适宜给药剂量,下文研究均以 15 mg/kg 的剂量进行研究。模型组、给药组大鼠 FBG、HbA1c、HOMA-IR、24hU-mAlb、β2-MG、BUN 水平均高于正常组($P<0.05$);模型组、给药组大鼠肾脏组织中 MCP-1 mRNA、LOX-1 mRNA、肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平均高于正常组($P<0.05$);给药组大鼠 FBG、HbA1c、HOMA-IR、24hU-mAlb、β2-MG、BUN 水平均低于模型组($P<0.05$)。给药组大鼠肾脏组织中 MCP-1 mRNA、LOX-1 mRNA、Ang II、VEGF 表达水平均低于模型组,具有统计学差异($P<0.05$)。**结论** 喹磺环己酮可能是通过抑制糖尿病肾病大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 的表达,改善大鼠肾功能和肾脏病变,最终起到肾脏保护的效果。

【关键词】 喹磺环己酮;糖尿病肾病;血管紧张素 II;血管内皮生长因子;大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 10-0098-07

Effect of quinocyclohexanone on diabetic nephropathy and the expression of angiotensin II and vascular endothelial growth factor in the kidneys of rats

WU Yundou, YUAN Xinke, LI Dayong, PENG Lin, TIAN Junwei
(Departments of nephrology, The First Hospital of Changsha, Changsha 410005, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of quinocyclohexanone on diabetic nephropathy and the expression of angiotensin II (Ang II) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the kidneys of rats. **Methods** Forty 8-week-old

[基金项目] 湖南省卫生健康委科研计划课题(C2019128)。

[作者简介] 吴运斗(1977—),男,硕士,副主任医师。研究方向:内科学。E-mail: pqqdmy86@163.com

healthy Sprague-Dawley rats were allocated to a control group ($n=10$) or used to establish model of diabetic nephropathy (DN) ($n=30$). Having confirmed the presence of DN, $n=10$ rats with DN were randomly allocated to a model group and $n=20$ rats were administered quincyclohexanone at 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, or 30 mg/kg, respectively. The control and the model groups were administered the same volume of saline. Urinary albumin excretion rate (UAER), glomerular filtration rate (GFR), fasting blood glucose (FBG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), insulin resistance index (HOMA-IR), 24-hour urinary microalbumin (24hU-mAlb), beta-2 microglobulin (beta-2-MG), blood urea nitrogen (BUN), renal mononuclear chemoattractant protein-1 (MCP-1) mRNA and agglutinin proteins, expression levels of oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) mRNA, Ang II and VEGF were compared among the groups. **Results** When the dose was 15 mg/kg, the levels of Uaer and GFR in rats approached the normal levels of UAER and GFR. Therefore, it was considered that 15 mg/kg was the appropriate dose. The following studies were conducted at the dose of 15 mg/kg. FBG, HbA1c, HOMA-IR, 24hU-mAlb, beta 2-MG, and BUN values in the model and quincyclohexanone groups were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The renal expressions of MCP-1, LOX-1, Ang II, and VEGF in the model and quincyclohexanone groups was also higher than in the control group ($P < 0.05$). However, FBG, HbA1c, HOMA-IR, 24hU-mAlb, beta 2-MG, and BUN in the quincyclohexanone group were lower than in the model group ($P < 0.05$), as well the renal expression levels of MCP-1, LOX-1, Ang II, and VEGF ($P < 0.05$). **Conclusions** Quincyclohexanone may ameliorate pathologic changes and defects in renal function in rats with dibetic nephropathy by inhibiting the expression of Ang II and VEGF. It appears to be renoprotective.

[Keywords] quincyclohexanone; diabetic nephropathy; angiotensin II; vascular endothelial growth factor; rat

目前认为威胁人类生命的三大慢性非传染病为糖尿病、肿瘤、心血管疾病,糖尿病的发生不仅会使血糖升高,还会引发一系列的并发症,如肾病、心脑血管疾病,其中糖尿病肾病是临床最为常见的糖尿病并发症,且发病率逐渐上升,已经成为终末期肾脏病的主要危险因素^[1-2]。喹磺环己酮属于一种第二代磺脲类降糖药物,其 95% 的代谢产物不会经过肾脏途径进行排泄,可对肾脏组织进行保护,此药为高活性的胰岛 β 细胞激动剂,能够通过和胰岛 β 细胞膜上的特异性磺脲类受体的结合作用,对胰岛细胞进行诱导,使其产生适量的胰岛素,进而对高血糖浓度进行降低,具备较好的降糖功效^[3-4]。因此在本文研究中为验证喹磺环己酮降糖、保护肾脏组织的作用,建立糖尿病肾病大鼠模型,研究喹磺环己酮对糖尿病肾病大鼠的作用及对大鼠肾脏肾脏血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选取 40 只 8 周龄 SPF 级 SD 健康雄性大鼠,体重 200~250 g,平均体重(224.6 ± 6.5)g,由长沙市第一医院肾内科实验室所提供动物生产许可证号 [SCXK(湘)2019-0005],动物的使用许可证号 [SYXK(湘)2019-00179]。所有大鼠均养殖在长沙

市第一医院肾内科实验室中的干净笼子里,室温在 (22.1 ± 1.8) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 35%~40%,每天光照 12 h,喂饮净化水,饲养时间为一周。本文研究实验获得我院伦理委员会批准,IACUC 审批号:IACUC-01-2019。

1.2 主要试剂与仪器

喹磺环己酮(江西汇仁药业有限公司,国药准字 H20058903)、小鼠抗大鼠空腹血糖(Fasting blood glucose,FBG)抗体(北京华夏远洋科技有限公司,货号:PA123512)、小鼠抗大鼠糖化血红蛋白(Glycosylated hemoglobin,HbA1c)抗体(上海科敏生物科技有限公司,货号:MAB7186)、24 h 尿微量白蛋白(24-hour urinary microalbumin,24hU-mAlb)试剂盒(上海远慕生物科技有限公司,货号:YE01886)、小鼠抗大鼠 $\beta 2$ 微球蛋白($\beta 2$ microglobulin, $\beta 2$ -MG)抗体(上海江莱生物科技有限公司,货号:KAY0004)、小鼠抗大鼠血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)抗体(武汉华联科生物技术有限公司,货号:MU30802)、兔抗大鼠 Ang II 抗体(上海恒斐生物科技有限公司,货号:K002826P)、VEGF 抗体(上海恒斐生物科技有限公司,货号:bs-0279R-1);兔抗人单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1,MCP-1)抗体(上海恒斐生物科技有限公司,货号:bs-1955R-1)、兔抗人凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体(lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor,LOX-1)抗体(武汉博欧

特生物科技有限公司,货号:orb192272);苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色剂(上海樊克生物科技有限公司,货号:FK-F1618)、糖原染色液(Glycogen dye,PAS)染色剂(上海恒斐生物科技有限公司,货号:G2450)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline,PBS)(上海恒斐生物科技有限公司,货号:P1010)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组、建模

随机选取 40 只大鼠中 10 只作为正常组,其余 30 只建立糖尿病肾病大鼠模型。参照 Elsherbiny 等^[5]研究中糖尿病肾病模型的建立方法,建立糖尿病肾病模型大鼠,对所有大鼠隔夜禁食 16 h,之后一次性腹腔注射 60 mg/kg 链脲佐菌素(streptozotocin,STZ),正常组大鼠注射柠檬酸缓冲液,注射方法和注射量与其余两组大鼠保持一致。3 d 之后采集建模大鼠尾部静脉血,对血糖水平进行检测,血糖>16.7 mmol/L 为糖尿病模型建模成功标准。糖尿病模型建模成功后继续喂养 2 周,收集糖尿病大鼠 24 h 尿量,并对 24 h 尿蛋白水平进行检测,24 h 尿量>建模前 150%;24 h 尿蛋白≥30 mg 视为糖尿病肾病模型建立成功。模型成功后随机将两组糖尿病肾病大鼠分为模型组 10 只和给药组各 20 只。

1.3.2 给药干预

给药组每 5 只大鼠注射相同剂量,分别使用 5、10、15、30 mg/kg 的喹磺环己酮灌胃,对照组和模型组大鼠给予等剂量的生理盐水灌胃,连续治疗 12 周后,观察大鼠变化。

1.3.3 Uaer、GFR 检测

采集正常组、给药组大鼠尾部静脉血 2 mL,使用 3000 r/min 离心机离心处理 20 min 后,分离出上层血清,保存待检;并留取两组大鼠 24 h 尿液,使用 3000 r/min 离心机离心处理 20 min 后,分离出上清液,保存待检。对正常组、给药组大鼠 Uaer、GFR 水平进行检测,其中 $GFR = (\text{尿肌酐} / \text{血肌酐}) \times \text{尿量} / \text{体重}$ 。

1.3.4 一般指标检测

抽取三组大鼠尾部静脉血 2 mL,使用全自动生化分析仪对三组大鼠 FBG、HbA1c、HOMA-IR 水平进行检测。采用稳态评模型评估法(HOMA)检测胰岛素抵抗指数,胰岛素抵抗指数($\text{Insulin resistance index, HOMA-IR}$)=空腹胰岛素(国际单位/L)×空腹葡萄糖(mmol/L)/22.5。取三组大鼠尾部静脉血

2 mL,使用 3000 r/min 离心机离心处理 20 min 后,分离出上层血清,保存待检。使用免疫透射比浊法检测 24hU-mAlb、 β 2-MG、BUN 水平,取三个试管,分别标记为空白管、标准管以及测定管。空白管中加入 15 μ L 生理盐水和 350 μ L Tris 缓冲液,标准管中加入 15 μ L 定标液和 350 μ L Tris 缓冲液,测定管中加入 15 μ L 待测标本和 350 μ L Tris 缓冲液,对三个试管分别摇晃混匀后,在 37℃ 的环境中保存 5 min,在波长 340~700 nm 处读各管吸光度。之后在三个试管中分别加入羊抗人 24hU-mAlb、 β 2-MG、BUN 抗血清,分别摇晃混匀后在 37℃ 的环境中保存 5 min,在波长 340~700 nm 处读各管吸光度,并对血清 β 2-MG、BUN 水平进行计算。

1.3.5 样本采集

对 3 组大鼠进行全麻处理后,采用断头法处死,摘取 3 组大鼠左侧肾脏去除被膜,左侧肾脏,浸泡于 4%多聚甲醛溶液中,固定,4℃ 保存备用以作病理;右侧肾脏放置于冷冻管中,置于液氮罐中冻存备用。

1.3.6 染色处理

将预先固定好的左侧肾脏组织切片取出行脱水透明,浸蜡包埋,脱蜡、染色(HE 染色、PAS 染色),之后脱水、透明,待封片晾干后在显微镜下观察大鼠肾脏组织病理学表现。

1.3.7 肾脏组织匀浆处理

取 200 mg 的肾脏组织进行剪碎处理,使用 PBS 缓冲液进行漂洗,将血液除去,使用滤纸拭干,称重。将组织块研碎并加入组织块质量 9 倍的 PBS 缓冲液,和匀制成 10% 肾组织匀浆。将制备好的肾组织匀浆用低速离心机 3000 r/min 离心 15 min,弃沉淀留上清,-80℃ 保存待用

1.3.8 MCP-1 mRNA、LOX-1 mRNA 检测

肾脏组织用 RNA 试剂盒提取后,定量,并行逆转录扩增反应,扩增条件如下:94℃ 预变性;2 min,1 个循环;94℃ 变性 30 s,50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 2 min,共 30 个循环;72℃ 总延伸 6 min。反应结束后,70℃~95℃ 进行 20 s(步进 0.5℃/s)熔解曲线分析,鉴定 PCR 产物的特异性。使用 SDS 软件分析 PCR 过程各检测样本的循环阈值(cycle threshold,CT)。MCP-1 引物序列:上游引物:5'-TCTGGGCCTGTTGTTTCACAGT-3'(21 bp)、下游引物:5'-TGCTGCTGGTGATTCTCTTGTAGT-3'(24 bp);LOX-1 引物序列:上游引物:5'-GGTATGGGTTGATGTTGAGGA-3'(20 bp)、下游引

物;5'-TGTGATGGGGTGTGTTGTGAAT-3' (25 bp); β -actin 引物序列;上游引物:5'-CATGGTGGCTGTG GTCACCTCG-3'、下游引物:5'-GCCCACGCTGT ATCTCCTGGTCG-3';扩增产物:602 bp。

1.3.9 Ang II、VEGF 水平检测

使用酶联免疫吸附试验法检肾脏组织中 Ang II、VEGF 水平,采用 50 mmol/L 碳酸盐包被缓冲液将抗原进行溶解,浓度为 10~20 μ g/mL,在 96 孔酶标板中加入每孔 100 μ L,4℃ 过夜保存。第 2 天舍弃包被液,采用 PBST 洗涤 3 次,每孔中加入 1%的 150 μ L BSA,在 37℃ 环境中封闭 1 h。之后采用 PBST 洗涤 3 次,在每孔中加入 100 μ L 不同倍比稀释度的血清,加入对照样品,37℃ 孵育 2 h。采用 PBST 洗涤 5 次,加入 100 μ L,稀释后的 HRP 标记的二抗,37℃ 孵育 1 h。PBST 洗涤 5 次,之后,使用显色剂显色 20 min 后,在酶标仪上读取 A405 吸收值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS19.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,多组间比较采用单因素方差分析,多组间比较采用 F 值检验,两组间比较采用独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 正常组大鼠、给药组大鼠 Uaer、GFR 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Uaer and GFR levels between the normal rats and drug-treated rats			
组别 Groups	<i>n</i>	Uaer (ng/24 h)	GFR (mL/g·d)
正常组 Normal group	10	3.46 $\pm$ 0.25	7.12 $\pm$ 0.26
给药组 Drug administration group	5 mg/kg	18.59 $\pm$ 2.46*	30.26 $\pm$ 2.45*
	10 mg/kg	9.26 $\pm$ 1.21* Δ	23.58 $\pm$ 1.58* Δ
	15 mg/kg	4.10 $\pm$ 0.13* Δ $\blacktriangle$	8.62 $\pm$ 0.34* Δ $\blacktriangle$
	30 mg/kg	1.05 $\pm$ 0.12* Δ $\blacktriangle$ $\circ$	5.35 $\pm$ 0.12* Δ $\blacktriangle$ $\circ$
<i>F</i>		30.22	21.42
<i>P</i>		<0.05	<0.05

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与 5 mg/kg 剂量给药组比较, $\Delta P < 0.05$;与 10 mg/kg 剂量给药组比较, $\blacktriangle P < 0.05$;与 15 mg/kg 剂量给药组比较, $\circ P < 0.05$ 。
Note. Compared with the normal group, * $P < 0.05$. Compared with the 5 mg/kg dose group, $\Delta P < 0.05$. Compared with the 10 mg/kg dose group, $\blacktriangle P < 0.05$. Compared with the 15 mg/kg dose group, $\circ P < 0.05$.

表 2 三组大鼠一般指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of general index level among the three groups of rats							
组别 Groups	<i>n</i>	FBG (mmol/L)	HbA1c (%)	HOMA-IR	24hU-mAlb (mg/d)	β 2-MG (mg/L)	BUN (mmol/L)
正常组 Normal group	10	7.38 $\pm$ 1.12	6.23 $\pm$ 1.25	1.62 $\pm$ 0.25	7.49 $\pm$ 1.62	0.05 $\pm$ 0.01	8.46 $\pm$ 1.26
模型组 Model group	10	30.23 $\pm$ 4.56*	23.89 $\pm$ 3.28*	13.58 $\pm$ 2.16*	48.68 $\pm$ 5.49*	0.15 $\pm$ 0.09*	15.98 $\pm$ 3.58*
给药组 Drug administration group (15 mg/kg)	5	18.25 $\pm$ 2.46* $\#$	12.16 $\pm$ 2.48* $\#$	5.49 $\pm$ 1.16* $\#$	23.16 $\pm$ 2.59* $\#$	0.10 $\pm$ 0.05* $\#$	10.27 $\pm$ 2.26* $\#$
<i>F</i>		18.02	9.42	15.67	21.78	4.73	3.03
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\# P < 0.05$ 。
Note. Compared with the normal group, * $P < 0.05$. Compared with the model group, $\# P < 0.05$.

2 结果

2.1 正常组大鼠、给药组大鼠 Uaer、GFR 水平比较

如表 1 所示,5、10、15 mg/kg 剂量给药大鼠 Uaer、GFR 水平均高于正常水平,30 mg/kg 剂量给药大鼠 Uaer、GFR 水平低于正常水平,其中剂量为 15 mg/kg 时大鼠 Uaer、GFR 水平趋近于正常 Uaer、GFR 水平,因此认为 15 mg/kg 为适宜给药剂量,下文研究均以 15 mg/kg 的剂量进行研究。

2.2 三组大鼠一般指标水平比较

如表 2 所示,模型组、给药组大鼠 FBG、HbA1c、HOMA-IR、24hU-mAlb、 β 2-MG、BUN 水平均高于正常组,具有统计学差异($P < 0.05$);给药组大鼠 FBG、HbA1c、HOMA-IR、24hU-mAlb、 β 2-MG、BUN 水平均低于模型组,具有统计学差异($P < 0.05$)。

2.3 三组大鼠病理组织学观察

如图 1、图 2 所示,为三组大鼠肾脏组织 HE、PAS 染色图,由 HE 染色图可见,正常组大鼠肾小管、肾小球、系膜基质无病理变化,肾脏组织正常;模型组大鼠出现系膜基质增生、系膜细胞增多以及肾小球硬化,肾小管上皮细胞发生空泡变性;给药

组大鼠肾脏病理变化逐渐减轻,肾小管、肾小球体积与正常组大鼠肾小管、肾小球体积大小相当。由 PAS 染色图可见,正常组大鼠肾脏组织正常,无阳性物质,模型组大鼠肾脏组织中小叶中央部出现大量的 PAS 阳性物质,肾小球发生弥漫性的病变,出现较多的系膜基质,肾小球基底膜异常增厚,出现小动脉玻璃样的病变,肾小球出现结节;给药组大鼠肾小球基底膜、肾小管病变均消失,但仍由增多的肾小球基质、系膜细胞。

2.4 三组大鼠肾脏组织中 MCP-1 mRNA、LOX-1mRNA 表达水平比较

如表 3 所示,模型组、给药组大鼠肾脏组织中

MCP-1 mRNA、LOX-1mRNA 表达水平均高于正常组,具有统计学差异($P<0.05$);给药组大鼠肾脏组织中 MCP-1 mRNA、LOX-1mRNA 表达水平均低于模型组,具有统计学差异($P<0.05$)。

2.5 三组大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平比较

如表 4 所示,模型组、给药组大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平均高于正常组,具有统计学差异($P<0.05$);给药组大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平均低于模型组,具有统计学差异($P<0.05$)。

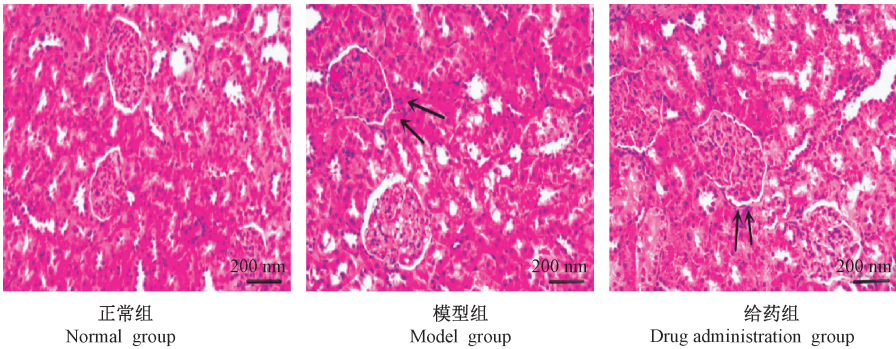


图 1 三组大鼠肾脏组织的病理改变(HE 染色)
Figure 1 Pathological changes in kidney tissues of the three groups of rats(HE staining)

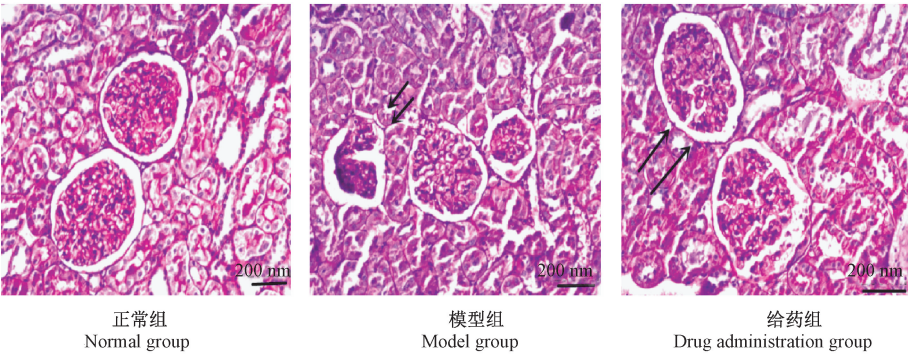


图 2 三组大鼠肾脏组织 PAS 染色观察图
Figure 2 Pathological changes in kidney tissues of the three groups of rats(PAS staining)

表 3 三组大鼠肾脏组织中 MCP-1 mRNA、LOX-1 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of expression levels of MCP-1 and LOX-1 in kidney tissues of the three groups of rats			
组别 Groups	<i>n</i>	MCP-1	LOX-1
正常组 Normal group	10	0.52±0.01	0.40±0.01
模型组 Model group	10	0.92±0.04 *	0.89±0.11 *
给药组 Drug administration group(15 mg/kg)	5	0.83±0.07 *#	0.51±0.07 *#
<i>F</i>		21.38	7.59
<i>P</i>		<0.05	<0.05

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。
Note.Compared with the normal group,* $P<0.05$. Compared with the model group,# $P<0.05$.

表 4 三组大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of Ang II and VEGF expression levels in kidney tissues of three groups of rats

组别 Groups	n	Ang II (ng/g)	VEGF(pg/mL)
正常组 Normal group	10	6. 89±1. 62	58. 62±5. 53
模型组 Model group	10	24. 58±4. 59 *	101. 26±12. 58 *
给药组 Drug administration group(15 mg/kg)	5	13. 57±2. 43 *#	81. 23±8. 65 *#
F		9. 60	9. 31
P		<0. 05	<0. 05

注：与正常组比较，* $P<0. 05$ ；与模型组比较，# $P<0. 05$ 。
Note.Compared with the normal group, * $P<0. 05$. Compared with the model group, # $P<0. 05$.

3 讨论

糖尿病肾病属于一种糖尿病并发的微血管病变,此病发生后一般病情比较严重,严重者会导致患者死亡^[6]。因此寻找治疗糖尿病肾病的有效药物尤为重要,在本文研究实验中基于寻找糖尿病肾病的治疗药物来研究喹磺环己酮在糖尿病肾病中的作用及对肾脏中 Ang II、VEGF 表达的影响。

喹磺环己酮又被称为格列喹酮,属于磺脲类药物,此类药物能够减少血容量不足多导致的肾脏局部缺氧现象,能够对肾脏功能进行改善和保护,并且此类药物仅有 5% 的代谢产物经过肾脏途径进行排泄,不会对肾脏产生较大的负担,会对肾脏组织起到保护作用^[7-8]。在本文研究中建立糖尿病肾病大鼠模型,给予大鼠喹磺环己酮进行干预治疗,给药组大鼠分别使用不同剂量的喹磺环己酮灌胃,研究喹磺环己酮适宜浓度,对比正常组大鼠与给药组大鼠 Uaer、GFR 水平,结果显示 30 mg/kg 剂量给药大鼠 Uaer、GFR 水平低于正常水平,其中剂量为 15 mg/kg 时大鼠 Uaer、GFR 水平趋近于正常 Uaer、GFR 水平,因此认为 15 mg/kg 为适宜给药剂量,下文研究均以 15 mg/kg 的剂量进行研究。鲁怡然等^[9]在其研究中建立糖尿病肾病大鼠,给予大鼠格列喹酮治疗,研究结果显示,格列喹酮可有效改善肾脏组织病变,且可有效改善高血糖水平,与本文研究结果认为喹磺环己酮保护肾脏组织一致。糖尿病肾病是在糖尿病的基础上发展而来的,因此此类患者血糖会出现异常的升高^[10]。

糖尿病肾病发生后,肾脏组织中 MCP-1、LOX-1 呈现高表达。MCP-1 能够诱导单核巨噬细胞中的钙离子浓度升高,对其表面黏附因子的表达和细胞因子的产生进行调节^[13]。LOX-1 属于氧化低密度脂蛋白的新型受体,对氧化低密度脂蛋白具有特异性的结合、吞噬、降解的作用^[14]。在本文研究中,对

三组大鼠肾脏组织中 MCP-1、LOX-1mRNA 表达水平进行检测,结果显示,模型组、给药组大鼠肾脏组织中 MCP-1、LOX-1mRNA 表达水平均高于正常组,而给药组大鼠肾脏组织中 MCP-1、LOX-1mRNA 表达水平均低于模型组,此结果说明,喹磺环己酮可改善糖尿病肾病大鼠肾脏组织中 MCP-1、LOX-1mRNA 表达水平,进而对大鼠肾脏组织进行保护。

血管紧张素参与糖尿病肾病早期肾脏血管的重建,其中 Ang II 是肾素-血管紧张素系统中较为重要的一种活性物质,其收缩出球小动脉的能力与收缩入球小动脉的能力相比,其收缩出球小动脉的能力较强,此现象可致使肾小球内出现压力差,让肾小球长时间的处于高压、高滤过的状态,进而增加蛋白滤过^[15-17]。有研究认为,由于糖尿病肾病发生后,体内持续的高血糖会将蛋白酶 C 进行激活,进而促进 VEGF 基因发生转录作用,导致肾小球系膜上的 VEGF 表达水平上升^[18]。机体长期处于高血糖的状态下会使得血管紧张素转化成酶基因,并且呈现出高表达的状态,进一步导致 Ang II 表达水平的异常表达,对蛋白激酶 β 亚型起到活化作用,最终导致 VEGF 表达水平上升^[19-20]。在本文研究中,对 3 组大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平进行检测,结果显示,模型组、给药组大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平均高于正常组,而给药组大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 表达水平均低于模型组,此结果提示着糖尿病肾病可改善肾脏组织中 Ang II、VEGF 的表达,进而对糖尿病肾病大鼠肾功能和肾脏病变进行改善。

综上所述,喹磺环己酮可能是通过抑制糖尿病肾病大鼠肾脏组织中 Ang II、VEGF 的表达,改善大鼠肾功能和肾脏病变,最终起到肾脏保护的效果。

参考文献：

[1] 张利. 糖尿病肾病的诊断策略 [J]. 西部医学, 2019, 31(2):

- 170-174.
- [2] 谢洁. 糖尿病肾病的发病机制及诊疗进展 [J]. 医药前沿, 2018, 8(27): 5-6.
- [3] 周美琴. 格列喹酮治疗早期糖尿病肾病的临床观察 [J]. 世界临床医学, 2015, 9(11): 289.
- [4] 赵大坤, 王婧, 刘丽, 等. 格列喹酮联合阿托伐他汀治疗早期糖尿病肾病的疗效观察 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(5): 580-582.
- [5] Elsherbiny NM, El-Sherbiny M, Said E. Amelioration of experimentally induced diabetic nephropathy and renal damage by nilotinib [J]. J Physiol Biochem, 2015, 71(4): 635-648.
- [6] Flyvbjerg A. The role of the complement system in diabetic nephropathy [J]. Nat Rev Nephrol, 2017, 13(5): 311-318.
- [7] 张慧儒, 吕会新. 格列喹酮对老年糖尿病肾病患者肾脏的保护作用? [J]. 医药导报, 2016, 35(21): 27-28.
- [8] 高爱滨, 魏兆丽. 格列喹酮联合胰激肽原酶对糖尿病肾病患者胱抑素 C 的影响及临床意义 [J]. 中国老年保健医学, 2018, 16(2): 27-30.
- [9] 鲁怡然, 李婧娴, 赵汝星, 等. 格列喹酮对糖尿病肾脏疾病改善作用的效果观察 [J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(10): 869-873.
- [10] 黄晓雯, 张雪, 叶红波. 糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、空腹血糖与糖尿病肾病的关系 [J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(1): 83-85, 106.
- [11] 贾丽艳, 曹小会, 胡艳云, 等. TNF-R、MCP-1 在 2 型糖尿病肾病患者不同分期中的表达水平及临床意义分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(16): 2015-2017, 2021.
- [12] Luo B, Wen S, Chen YC, et al. LOX-1-targeted iron oxide nanoparticles detect early diabetic nephropathy in db/db mice [J]. Mol Imaging Biol, 2015, 17(5): 652-660.
- [13] 梁洁, 宋文琦. MCP-1、血清铁与老年糖尿病肾病的相关性分析 [J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(13): 118-119.
- [14] 杜月光, 钱俊文, 宋光明, 等. LOX-1 在 2 型糖尿病大鼠肾小管间质中的表达及其意义 [J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(1): 50-55.
- [15] 王峥, 莫楠, 李建鹏, 等. 积芎解毒方对糖尿病肾病模型大鼠肾脏组织 NF- κ B、TGF- β 1、Ang II 水平的影响 [J]. 中医学报, 2018, 33(12): 2383-2386, 2410.
- [16] 丁文飞, 李雪, 吴蔚桦, 等. 阿利吉仑抑制糖尿病肾病大鼠血管紧张素 II/血管紧张素 1-7 (Ang II/Ang1-7) 信号途径 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(10): 891-895.
- [17] Zhang YY, Wang WN, Su SS, et al. Roles of 12-lipoxygenase and its interaction with angiotensin II on p21 and p27 expression in diabetic nephropathy [J]. Nephron, 2019, 142(1): 61-70.
- [18] 张伊娜, 兰健, 谢来娣, 等. VEGF 与糖尿病肾病的关系探讨及中药的干预作用 [J]. 浙江临床医学, 2018, 20(10): 1756-1758.
- [19] 毛黎明, 朱斌, 富佳杰, 等. 糖尿病肾病 IV 期患者血清 ADPN、VEGF 的水平及其与尿蛋白、eGFR 的相关性分析 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2018, 19(12): 1064-1067.
- [20] 朱晓娜, 王玉环, 吴娟娟, 等. VEGF 及 TRPC6 的表达与糖尿病肾病大鼠足细胞损伤的相关机制 [J]. 南方医科大学学报, 2018, 38(3): 296-304.

[收稿日期] 2019-05-16