

## 非诺贝特和罗格列酮对高糖培养肾小球系膜细胞胞外基质产生和氧化应激的抑制作用

倪连松\*, 金洁娜, 郑景晨, 沈飞霞

(温州医学院附属第一医院内分泌科, 浙江温州 325000)

**摘要:** **目的** 探讨非诺贝特(FB)和罗格列酮(RG)对糖尿病肾病的保护机制。**方法** 大鼠肾小球系膜细胞分别培养于正常葡萄糖浓度( $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 正常对照)、高糖浓度(HG,  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、HG + FB  $100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 HG + RG  $20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。比色法检测培养液中的超氧化物歧化酶(SOD)活性和谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量。ELISA法检测培养上清液IV型胶原(Col-IV)及纤连蛋白(FN)含量。**结果** 与正常对照组比较, HG组系膜细胞上清中基质蛋白Col-IV和FN含量增多;总SOD(T-SOD)和Cu, Zn-SOD活性下降;GSH含量下降;MDA含量增加。FB或RG干预后能部分或完全逆转上述变化。与HG组比较, FB或RG干预后, 上清液中Col-IV含量下降[48 h: ( $21.2 \pm 3.2$ ) vs ( $17.7 \pm 2.2$ ), ( $17.0 \pm 3.2$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ], FN含量减少[48 h: ( $13.5 \pm 1.3$ ) vs ( $12.1 \pm 1.0$ ), ( $11.8 \pm 1.1$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ]; GSH含量增加[36 h: ( $94.0 \pm 30.3$ ) vs ( $109.8 \pm 35.6$ ), ( $111.0 \pm 28.5$ )  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ]; T-SOD活性增强[36 h: ( $10.8 \pm 2.2$ ) vs ( $13.3 \pm 2.7$ ), ( $12.8 \pm 3.3$ )  $\text{kNU} \cdot \text{L}^{-1}$ ]; MDA含量下降[36 h: ( $18.6 \pm 20.5$ ) vs ( $11.8 \pm 7.0$ ), ( $11.3 \pm 7.2$ )  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ]。**结论** FB和RG均能减少高糖培养的系膜细胞胞外基质合成, 并显著缓解高糖诱导的氧化应激。

**关键词:** 糖尿病肾病; 氧化应激; 非诺贝特; 罗格列酮

中图分类号: R977.15, R963

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2009)01-0034-05

来稿日期: 2008-05-28 接受日期: 2008-08-25

基金项目: 温州市科技局基金资助(Y20060066); 浙江省留学回国基金资助(2005HG01)

作者简介: 倪连松(1971-), 男, 浙江瑞安人, 副主任医师, 医学硕士, 主要从事糖尿病肾病发病机制及治疗研究。

\* 联系作者 E-mail: nils1014@163.com Tel: 13758876020

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2009.01.007

过氧化物酶增殖体激活受体(peroxisome proliferator activated receptors, PPAR)是一种配体依赖性转录因子, 属于核受体基因家族。PPAR包括PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$ 和PPAR $\gamma$ 三种亚型。噻唑烷二酮类(thiazolidinediones, TZD)化合物是人工合成的PPAR $\gamma$ 配体, 包括罗格列酮(rosiglitazone, RG)和吡格列酮(pioglitazone)等。由于这类药物能明显增强组织对胰岛素的敏感性, 故临床主要用于2型糖尿病的治疗。然而, 随着近年来动物实验<sup>[1-2]</sup>和临床研究<sup>[3]</sup>的深入, 人们发现TZD还能够减少白蛋白尿, 延缓糖尿病肾病的进展。然而又发现, TZD对肾脏的许多保护作用并不依赖于这类药物的降血糖和调节脂质代谢紊乱作用<sup>[1,3]</sup>。最近还发现PPAR $\alpha$ 在肾脏疾病治疗中是一个新的靶点<sup>[4]</sup>。PPAR $\alpha$ 可通过对单核巨噬细胞的影响而发挥其强大的抗炎作用, 因此PPAR $\alpha$ 活性改变可能参与肾脏炎症反应过程<sup>[4]</sup>。贝特类降脂药物是最先发现的PPAR $\alpha$ 合成配体。老药新用, 现已证实这类药物除了对脂代谢的影响外, 尚可起到抗炎及抗动脉硬化的作用<sup>[5]</sup>。目前有关贝特类药物对糖尿病肾病保护作用的研究还很少见。

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的发病机制尚未完全阐明, 其中反应性氧化物过多被认为是造成DN各种损害的共同机制<sup>[6]</sup>。丙二醛(malondialdehyde, MDA)就是最常见的脂质过氧化产物, 可反映脂质氧化所产生的活性氧水平。还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)是一种低分子自由基清除剂, 可中和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 或过氧化物, 对调节细胞的氧化还原稳态起重要作用。抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等, 其中SOD是防御内、外环境中超氧离子损伤的重要酶, 包括以 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 为辅基的Cu, Zn-SOD和以 $\text{Mn}^{2+}$ 为辅基的Mn-SOD。目

前,有关 PPAR $\alpha$  及 PPAR $\gamma$  激动剂对 DN 发病机制中氧化应激途径的影响还未见相关报道。

为进一步阐明 PPAR $\alpha$  及 PPAR $\gamma$  激动剂对 DN 的保护作用,本研究选取大鼠肾小球系膜细胞株为研究对象,观察 PPAR $\alpha$  激动剂非诺贝特 (fenofibrate, FB) 及 PPAR $\gamma$  激动剂 RG 对高糖培养的大鼠肾小球系膜细胞胞外基质产生及氧化应激的影响,为其进一步的临床应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与细胞

大鼠肾小球系膜细胞株 (HBZY-1) (大鼠肾小球系膜细胞 EC, CCTCC 编号: GDC124) 来自武汉大学中国典型培养物保藏中心。RG 为葛兰素史克有限公司产品 (批号: 05060018); FB 为徐州恩华药业集团有限责任公司产品 (批号: 20050501)。SOD、还原型 GSH 和 MDA 测定试剂盒购自南京建成生物工程公司, DMEM 培养液为 Gibco 公司产品。IV 型胶原 (type IV collagen, Col-IV) ELISA 检测试剂盒购自美国 Bionewtrans Pharmaceutical Biotechnology 公司, 纤连蛋白 (fibronectin, FN) ELISA 检测试剂盒购自大连泛邦化工技术开发有限公司 (日本进口分装)。分光光度仪为 Beckman DU460, 酶标仪为美国 Bio-Tek Instruments ELX 800。

### 1.2 大鼠肾小球系膜细胞的培养

HBZY-1 细胞常规培养在含 10% 胎牛血清和葡萄糖浓度  $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DMEM 培养液中, 置  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  孵箱中培养。2~3 d 传代 1 次。

### 1.3 实验分组

已有大量文献报道, 不同浓度 RG 和 FB 对体外培养的各种细胞增殖的抑制作用。参照相关文献, 选用了 RG  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[7]</sup> 和 FB  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[8]</sup> 这一较高的有效浓度。① 正常对照组: 葡萄糖  $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; ② 高糖 (high concentration glucose, HG) 组: 葡萄糖  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; ③ HG + FB 组: 葡萄糖  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  + FB  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 同时加入; ④ HG + RG 组: 葡萄糖  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  + RG  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 同时加入。

### 1.4 ELISA 法检测细胞培养液上清 Col-IV 和 FN 含量

取对数生长期的系膜细胞, 胰酶消化后吹打混匀, 配成  $2.5 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$  细胞悬液, 以每孔  $5 \times 10^4$  细

胞总数接种于 6 孔板中 (每孔 2 mL), 细胞培养贴壁生长至 70% 后更换为含 1% 血清的培养液 (含  $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  葡萄糖) 同步培养 24 h, 按实验分组换为不同的培养液 (1.5 mL), 分别于实验的 24 及 48 h 收集上清液, 分装,  $-20^\circ\text{C}$  保存, 分别用于细胞培养液上清 ELISA 检测 Col-IV 和 FN 含量。

### 1.5 检测高糖和药物对系膜细胞氧化应激影响

细胞处理及收集同 1.4。分别于刺激的 12 和 36 h 收集上清液, 按试剂盒说明书进行 SOD 活性及 MDA 和 GSH 含量检测。其中 SOD 先检测 T-SOD 和 Cu, Zn-SOD, 两者相减即为 Mn-SOD。

### 1.6 统计学处理

结果数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS 12.0 统计软件进行分析, Col-IV、FN 组间差异统计分析用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 有显著差异者用 LSD-*t* 检验进行两两比较。组内不同时间比较用两样本 *t* 检验。SOD, MDA, GSH 的统计分析用 univariate 模块下的 two-way ANOVA 分析 (考虑检测批间差异), LSD-*t* 进行两两比较。设  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 非诺贝特和罗格列酮对高糖培养系膜细胞上清液中基质蛋白含量的影响

表 1 结果显示, 与正常对照组相比, 高糖刺激 24 和 48 h 后都可显著增加 HBZY-1 细胞上清液中 FN 的含量。FB 或 RG 干预 24 和 48 h 后对高糖刺激的 FN 含量增加都有明显的抑制作用, 接近正常组水平。48 h 与 24 h 比较各组 FN 含量均显著升高, 说明随着时间的延长, 即使有 FB 或 RG 的干预, 也不能完全阻止 FN 含量的增加。

与正常对照组相比, 高糖刺激 24 和 48 h 也可刺激上清液中 Col-IV 的含量增加, 48 h 较 24 h 增加更为明显。FB 干预 24 h 对高糖刺激的 Col-IV 含量增加的抑制作用不明显, 但干预 48 h 则有显著的抑制作用。RG 干预 24 和 48 h 对高糖刺激的 Col-IV 含量增加都有明显的抑制作用。

### 2.2 非诺贝特及罗格列酮对高糖培养的肾小球系膜细胞上清液 SOD 酶活性的影响

由表 2 可见, 12 和 36 h 高糖组 T-SOD 和 Cu, Zn-SOD 活性都明显低于正常对照组, Mn-SOD 活性则无显著变化, 表明高糖组 T-SOD 活性的下降主要来自于 Cu, Zn-SOD 活性的变化。FB 或 RG 干预后

**Tab 1. Effect of fenofibrate (FB) or rosiglitazone (RG) on contents of fibronectin (FN) and type IV collagen (Col-IV) in supernatant of glomerular mesangial cells cultivated under high concentration of glucose**

Group	FN/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		Col-IV/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	24 h	48 h	24 h	48 h
Normal control	8.7 ± 0.5	10.9 ± 0.5 <sup>△△</sup>	11.0 ± 1.3	12.3 ± 1.9
HG	10.7 ± 0.5 <sup>**</sup>	13.5 ± 1.3 <sup>**△△</sup>	16.5 ± 2.0 <sup>**</sup>	21.2 ± 3.2 <sup>**△</sup>
HG + FB	9.5 ± 0.9 <sup>#</sup>	12.1 ± 1.0 <sup>#△△</sup>	15.7 ± 1.8 <sup>**</sup>	17.7 ± 2.2 <sup>**#</sup>
HG + RG	9.0 ± 1.0 <sup>##</sup>	11.8 ± 1.1 <sup>##△△</sup>	14.2 ± 1.1 <sup>**#</sup>	17.0 ± 3.2 <sup>**##</sup>

The cells were pretreated with 5.5 mmol·L<sup>-1</sup> glucose (containing 1% fetal bovine serum) for 24 h. Then, the cells were treated with 5.5 mmol·L<sup>-1</sup> glucose (as normal control) or 25 mmol·L<sup>-1</sup> glucose (high concentration glucose, HG) for indicated time. For HG + FB group, the cells were treated with 25 mmol·L<sup>-1</sup> glucose and 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  FB for indicated time, simultaneously. For HG + RG group, the cells were treated with 25 mmol·L<sup>-1</sup> glucose and 20  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  RG for indicated time, simultaneously.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ . <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding normal control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding HG group; <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding 24 h group.

**Tab 2. Effect of FB or RG on superoxide dismutase (SOD) activity in supernatant of glomerular mesangial cells cultivated under high concentration of glucose**

Group	T-SOD/kNU·L <sup>-1</sup>		Cu, Zn-SOD/kNU·L <sup>-1</sup>		Mn-SOD/kNU·L <sup>-1</sup>	
	12 h	36 h	12 h	36 h	12 h	36 h
Normal control	14.7 ± 1.3	13.5 ± 1.1	8.3 ± 3.3	8.7 ± 3.3	6.3 ± 2.3	4.8 ± 2.4
HG	11.6 ± 1.9 <sup>**</sup>	10.8 ± 2.2 <sup>**</sup>	6.5 ± 2.3 <sup>**</sup>	6.5 ± 2.2 <sup>**</sup>	5.2 ± 1.8	4.3 ± 1.3
HG + FB	11.8 ± 3.6 <sup>**</sup>	13.3 ± 2.7 <sup>##</sup>	6.4 ± 1.1 <sup>**</sup>	8.8 ± 3.2 <sup>##△△</sup>	5.4 ± 1.7	4.5 ± 1.6
HG + RG	11.5 ± 3.8 <sup>**</sup>	12.8 ± 3.3 <sup>##</sup>	6.3 ± 3.0 <sup>**</sup>	7.9 ± 2.8 <sup>**△</sup>	5.2 ± 2.8	5.1 ± 1.5

See Tab 1 for the treatment. NU; nitrite unit.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ . <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding normal control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding HG group; <sup>△</sup> $P < 0.05$ ; <sup>△△</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding 12 h group.

T-SOD 及 Cu, Zn-SOD 活性在 12 h 时与高糖组相比无明显变化, 但于 36 h 时 T-SOD 及 Cu, Zn-SOD 的活性则显著增强, 甚至接近正常对照组水平, 而各组 Mn-SOD 活性则没有明显改变。FB 与 RG 组 36 h 的 Cu, Zn-SOD 活性较 12 h 有显著增强。

**2.3 非诺贝特及罗格列酮对高糖培养的肾小球系膜细胞上清液中 MDA 及 GSH 含量的影响**

表 3 结果显示, 高糖刺激下上清液中 MDA 含量显著增加, 12 和 36 h 高糖组 MDA 含量都高于正常对照组; FB 或 RG 干预 12 或 36 h 都能显著减少高

糖刺激下 MDA 的生成。FB 或 RG 干预 36 h 后 MDA 含量较干预 12 h 显著升高, 说明随着时间的延长, 即使有 FB 或 RG 的干预, 也不能完全阻止 MDA 的生成。与正常对照组相比, 高糖刺激 12 和 36 h 上清液中 GSH 均显著减少; FB 或 RG 干预 12 和 36 h 后 GSH 含量显著升高, 提示 FB 或 RG 可直接或间接通过增加 GSH 含量而增强系膜细胞的抗氧化防御能力。各组 36 h GSH 含量与 12 h 相比均明显升高, 可能与系膜细胞随着时间延长代偿性地升高 GSH 含量而增加抗氧化能力有关。

**Tab 3. Effect of FB or RG on contents of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in supernatant of glomerular mesangial cells cultivated under high concentration of glucose**

Group	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		GSH/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	12 h	36 h	12 h	36 h
Normal control	9.4 ± 6.7	9.7 ± 8.3	98.2 ± 29.4	106.3 ± 36.4 <sup>△</sup>
HG	14.5 ± 10.7 <sup>**</sup>	18.6 ± 20.5 <sup>**</sup>	75.5 ± 35.92 <sup>**</sup>	94.0 ± 30.3 <sup>*△</sup>
HG + FB	6.6 ± 2.7 <sup>##</sup>	11.8 ± 7.0 <sup>**#△△</sup>	90.8 ± 27.3 <sup>**##</sup>	109.8 ± 35.6 <sup>#△</sup>
HG + RG	7.3 ± 3.7 <sup>##</sup>	11.3 ± 7.2 <sup>##△△</sup>	95.4 ± 30.9 <sup>##</sup>	111.0 ± 28.5 <sup>#△</sup>

See Tab 1 for the treatment.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 11$  (MDA), 8 (GSH). <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding normal control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding HG group; <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ , compared with corresponding 12 h group.

### 3 讨论

DN的病理表现主要为肾小球系膜细胞增生、基底膜增厚及细胞外基质进行性积聚。Col-IV与FN是构成细胞外基质的主要结构蛋白。Park等<sup>[9]</sup>报道了FB能显著改善db/db小鼠的高血糖、胰岛素抵抗、尿微量白蛋白及肾小球纤维化;Park等<sup>[10]</sup>还报道16周PPAR $\alpha$ 基因敲除的糖尿病小鼠较野生型糖尿病小鼠有着更为严重的微量白蛋白尿、肾小球硬化及系膜基质的扩张;体外研究表明FB可明显下调高糖培养肾小球系膜细胞IV型胶原及TGF- $\beta_1$ 的合成<sup>[10]</sup>。也有报道,吡格列酮及L-805645(PPAR $\gamma$ 激动剂)可抑制高糖培养的人肾成纤维细胞Col-IV及FN的合成<sup>[11]</sup>。Bakris等<sup>[3]</sup>还发现,RG能够显著减少2型糖尿病患者尿白蛋白的排泄,而这一保护作用并不依赖于RG的降血糖和调节脂质代谢紊乱作用。本研究也发现,FB及RG干预除了明显抑制高糖培养的系膜细胞增殖,还能明显减少高糖培养的系膜细胞胞外基质成分Col-IV和FN的合成,同上述报道基本一致。

已有报道糖尿病状态或高糖可通过多种途径刺激系膜细胞诱发氧化应激<sup>[12-13]</sup>。本研究发现,HBZY-1在高糖刺激下培养上清中MDA含量增加,GSH含量、T-SOD及Cu,Zn-SOD活性都有所下降。提示高糖环境能诱导系膜细胞发生氧化应激,自由基产生的增多消耗了过多的GSH,使其含量和保护作用下降,而SOD的下降显示存在抗氧化防御能力的代偿不足,最终导致了氧化应激的发生,生物膜的脂质过氧化增加,使MDA含量升高。

迄今为止,有关PPAR $\alpha$ 和PPAR $\gamma$ 激动剂对DN发病机制中氧化应激途径的影响还未见相关报道。本研究发现,经FB或RG干预,高糖培养的系膜细胞GSH含量增加,T-SOD和Cu,Zn-SOD活性显著增加,MDA含量明显降低。本文表明,FB或RG可通过升高GSH含量和增加Cu,Zn-SOD活性而提高细胞的抗氧化能力,进而减轻高糖所诱发的氧化应激。因此推测,PPAR $\alpha$ 和PPAR $\gamma$ 激动剂对DN的保护作用还与缓解糖尿病状态所诱发的氧化应激有关。

### 4 参考文献:

- [1] Yamashita H, Nagai Y, Takamura T, Nohara E, Kobayashi K. Thiazolidinedione derivatives ameliorate albuminuria in streptozotocin-induced diabetic spontaneous hypertensive rat [J]. *Metabolism*, 2002, **51**(4): 403-408.
- [2] Ko GJ, Kang YS, Han SY, Lee MH, Song HK, Han KH, et al. Pioglitazone attenuates diabetic nephropathy through an anti-inflammatory mechanism in type 2 diabetic rats [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, **23**(9):2750-2760.
- [3] Bakris G, Viberti G, Weston WM, Heise M, Porter LE, Freed MI. Rosiglitazone reduces urinary albumin excretion in type II diabetes [J]. *J Hum Hypertens*, 2003, **17**(1):7-12.
- [4] Varghese Z, Moorhead JF, Ruan XZ. The PPARalpha ligand fenofibrate: meeting multiple targets in diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2006, **69**(9):1490-1491.
- [5] Staels B, Fruchart JC. Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists [J]. *Diabetes*, 2005, **54**(8):2460-2470.
- [6] Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes [J]. *Endocr Rev*, 2002, **23**(5):599-622.
- [7] Li H, Zou DJ, Jia YT, Wei D, Ji JJ, Peng L. Inhibitory effects of rosiglitazone on activation of NF- $\kappa$ B and expression of MCP-1 induced by high glucose in rat mesangial cells[J]. *Chin J Endocrinol Metab* (中华内分泌代谢杂志), 2005, **21**(5):469-470.
- [8] Zhao SP, Li JQ, Li QZ, Nie S, Zhou HN, Wu J. Fenofibrate inhibits thrombogenic and fibrinolytic factors expression in cultured adipocytes from rabbits [J]. *Chin J Modern Med*(中国现代医学杂志), 2004, **14**(22):49-54.
- [9] Park CW, Zhang Y, Zhang X, Wu J, Chen L, Cha DR, et al. PPARalpha agonist fenofibrate improves diabetic nephropathy in db/db mice [J]. *Kidney Int*, 2006, **69**(9):1511-1517.
- [10] Park CW, Kim HW, Ko SH, Chung HW, Lim SW, Yang CW, et al. Accelerated diabetic nephropathy in mice lacking the peroxisome proliferator-activated receptor alpha[J]. *Diabetes*, 2006, **55**(4):885-893.
- [11] Zafiriou S, Stanners SR, Saad S, Polhill TS, Poronnik P, Pollock CA. Pioglitazone inhibits cell growth and reduces matrix production in human kidney fibroblasts [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, **16**(3):638-645.
- [12] Catherwood MA, Powell LA, Anderson P, McMaster D, Sharpe PC, Trimble ER. Glucose-induced oxidative stress in mesangial cells [J]. *Kidney Int*, 2002, **61**

[1] Yamashita H, Nagai Y, Takamura T, Nohara E, Kobayashi K. Thiazolidinedione derivatives ameliorate

(2):599-608.

- [13] Ha H, Lee HB. Reactive oxygen species as glucose signaling molecules in mesangial cells cultured under

high glucose[J]. *Kidney Int Suppl*, 2000, 77:S19-S25.

## Inhibition of fenofibrate or rosiglitazone on production of extracellular matrix and oxidative stress of glomerular mesangial cells incubated with high concentration of glucose

NI Lian-Song\*, JIN Jie-Na, ZHENG Jing-Chen, SHEN Fei-Xia

( Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)

**Abstract: AIM** To investigate the protection mechanism of fenofibrate (FB) and rosiglitazone (RG) on diabetic nephropathy. **METHODS** Rat mesangial cells (HBZY-1) were incubated in media with normal concentration glucose ( $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), high concentration glucose (HG,  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), HG + FB  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  and HG + RG  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively. The activity of superoxide dismutase (SOD) and the levels of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) in supernatant were assayed using chromatometry. The levels of fibronectin (FN) and type IV collagen (Col-IV) in supernatant were determined by ELISA method. **RESULTS** Compared with normal control group, HBZY-1 cells in HG group showed increased contents of Col-IV and FN; their supernatant had significantly reduced GSH level, decreased activity of total-SOD (T-SOD), Cu,Zn-SOD and elevated MDA level. These changes could be partly or fully reversed by FB or RG treatment. Compared with HG group, HG + FB or HG + RG group showed decreased contents of Col-IV

[48 h: ( $21.2 \pm 3.2$ ) vs ( $17.7 \pm 2.2$ ), ( $17.0 \pm 3.2$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ] and FN [48 h: ( $13.5 \pm 1.3$ ) vs ( $12.1 \pm 1.0$ ), ( $11.8 \pm 1.1$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ]; their supernatant had significantly elevated GSH level [36 h: ( $94.0 \pm 30.3$ ) vs ( $109.8 \pm 35.6$ ), ( $111.0 \pm 28.5$ )  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ], increased activity of T-SOD [36 h: ( $10.8 \pm 2.2$ ) vs ( $13.3 \pm 2.7$ ), ( $12.8 \pm 3.3$ )  $\text{kU} \cdot \text{L}^{-1}$ ] and decreased MDA level [36 h: ( $18.6 \pm 20.5$ ) vs ( $11.8 \pm 7.0$ ), ( $11.3 \pm 7.2$ )  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ]. **CONCLUSION** FB or RG can decrease synthesis of extracellular matrix in glomerular mesangial cells cultivated with high concentration of glucose, and attenuate oxidative stress obviously induced by high glucose.

**Key words:** diabetic nephropathy; oxidative stress; fenofibrate; rosiglitazone

**Foundation item:** The project supported by Wenzhou Municipal Technology Bureau Funds (Y20060066); and Zhejiang Returning from Overseas Funds (2005HG01)

\* Corresponding author.

(本文编辑 乔虹)