

# 利拉鲁肽对高糖环境下脐静脉内皮细胞的影响

张蕾<sup>1</sup>, 梁立峰<sup>2</sup>, 廖占林<sup>3</sup>

1. 西宁市第一人民医院内分泌科, 青海 西宁 810000; 2. 青海大学附属医院内分泌科, 青海 西宁 810000;  
3. 南平市第一人民医院, 福建 南平 353000

**摘要:** **目的** 研究利拉鲁肽对高糖环境下人脐静脉内皮细胞氧化应激损伤的保护作用,为糖尿病心脑血管并发症在临床上的预防、治疗提供新思路。**方法** 人脐静脉内皮细胞 (HUVECs),体外培养至 4~6 代细胞用于实验,按不同处理方法分为正常对照组 (NC 组,培养基糖浓度 5.5 mmol/L)、高糖损伤组 (HG 组,培养基糖浓度 45 mmol/L)、高糖 + 不同浓度利拉鲁肽组 (糖浓度均同 HG 组,加利拉鲁肽为 5、10、25、50、100 nmol/L 五个浓度组)。用四氮唑蓝盐化合物 (MTS) 法检测利拉鲁肽对正常 HUVECs 增殖能力的影响;检测 NC、HG、高糖 + 不同浓度利拉鲁肽组各组的细胞活力。用 WST-1 法、TBA 法检测 NC 组、HG 组及高糖 + 5、10、25、50 和 100 mmol/L 浓度利拉鲁肽各组细胞内氧化应激指标超氧化物歧化酶 (SOD) 活力、丙二醛 (MDA) 含量。**结果** (1) MTS 实验结果显示:HUVECs 体外培养 24、48 h 时,实验所用利拉鲁肽 (浓度 5、10、25、50、100 nmol/L) 对正常 HUVECs 增殖能力无影响 ( $F = 0.244, 0.103, P$  均  $> 0.05$ );在同一时间段内,HG 组 HUVECs 细胞活力较 NC 组显著降低,但在高糖培养基中加入利拉鲁肽 (5、10、25、50、100 nmol/L) 共孵后,细胞活力较 HG 组均升高,且当利拉鲁肽浓度为 25、50、100 nmol/L 时,其细胞活力与 HG 组相比存在统计学差异 ( $F = 10.349, 23.249, P$  均  $< 0.01$ )。(2) 细胞内 SOD 活性及 MDA 含量测定:HUVECs 体外培养 24、48 h 时,同一时间段内 HG 组 HUVECs 细胞内 SOD 活性较 NC 组明显降低,高糖培养基中加入利拉鲁肽后其细胞内 SOD 活性较 HG 组增高,当利拉鲁肽浓度为 25、50、100 nmol/L 时,其差异有统计学意义 ( $F = 92.170, 167.720, P$  均  $< 0.01$ );同一时间段内 HG 组细胞内 MDA 含量较 NC 组明显升高,在高糖培养基中加入利拉鲁肽后,细胞内 MDA 含量较 HG 组降低,当利拉鲁肽浓度为 25、50、100 nmol/L 时,其差异有统计学意义 ( $F = 37.670, 125.300, P$  均  $< 0.01$ )。**结论** 利拉鲁肽可以通过改善高糖所致 HUVECs 的氧化应激状态,从而降低高糖对 HUVECs 的损伤。

**关键词:** 高糖环境; 人脐静脉内皮细胞; 利拉鲁肽; 氧化应激

**中图分类号:** R-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)07-0884-05

## Effect of liraglutide on umbilical vein endothelial cells in high glucose environment

ZHANG Lei\*, LIANG Li-feng, LIAO Zhan-lin

\* Department of Endocrinology, Xining First People's Hospital, Xining, Qinghai 810000, China

Corresponding author: LIANG Li-feng, E-mail: 1051985198@qq.com

**Abstract: Objective** To study the protective effect of liraglutide on oxidative stress injury of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) in high glucose environment to provide new ideas for clinical prevention and treatment of diabetic cardiovascular and cerebrovascular complications. **Methods** HUVECs were cultured in vitro for experiment and were divided into normal control group (NC group, medium sugar concentration 5.5 mmol/L), high glucose injury group (HG group, medium sugar concentration 45 mmol/L), high glucose + liraglutide group that was divided into five subgroups according to different liraglutide concentrations (HG and 5, 10, 25, 50 and 100 nmol/L liraglutide). The effect of liraglutide on the proliferation of normal HUVECs was detected by MTS method, and the cell viability in each group was measured by MTS method. The activity of superoxide dismutase (SOD) and the content of malondialdehyde (MDA) were measured respectively by water soluble tetrazoliums salt (WST-1) method and TBA method in each group. **Results** (1) MTS results showed that the liraglutide of different concentrations (5, 10, 25, 50, 100 nmol/L) had no effect on the proliferation of normal HUVECs ( $F = 0.244, 0.103, all P > 0.05$ ) after HUVECs were cultured in vitro for 24 and 48 hours. At the same period, the cell viability of HUVECs in HG group was significantly lower than that in NC group, but it increased after co-

incubation with different concentrations of liraglutide (25, 50 and 100 nmol/L) and high glucose medium ( $F = 10.349, 23.249, \text{all } P < 0.01$ ). (2) After HUVECs were cultured in vitro for 24 and 48 hours, SOD activity in HG group was significantly lower than that in NC group. When liraglutide concentration was 25, 50 and 100 nmol/L in high glucose medium, SOD activity statistically increased compared with HG group ( $F = 92.170, 167.720, \text{all } P < 0.01$ ). At the same time, MDA content in HG group was significantly higher than that in NC group and decreased when liraglutide was added to high glucose medium. MDA content statistically decreased when the concentrations of liraglutide were 25, 50 and 100 nmol/L compared with HG group ( $F = 37.670, 125.300, \text{all } P < 0.01$ ). **Conclusion** Liraglutide can reduce the injury of high glucose to HUVECs by improving the oxidative stress state of HUVECs caused by high glucose.

**Key words:** High glucose environment; Human umbilical vein endothelial cells; Liraglutide; Oxidative stress

**Fund program:** Scientific Research Guiding Project of Health and Family Planning in Qinghai Province (2015-78)

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一种以血糖持续升高为特征的代谢综合征。相关流行病学调查显示,截至 2016 年,在全球人口年龄结构变化的情况下,成人 DM 的患病率为 8.5%<sup>[1]</sup>,其中 2 型糖尿病 (T2DM) 约占 90%<sup>[2]</sup>。持续的高血糖可以引起多尿、多饮等临床表现,亦可引起酮症酸中毒、高渗高血糖综合征等急性并发症及心脑血管疾病等慢性并发症。洪天配等<sup>[3]</sup>研究指出,我国 T2DM 患者合并动脉粥样硬化性血管疾病的情况非常普遍,这对 DM 的临床管理形成了一个不可忽视的挑战。目前相关流行病学研究亦指出,餐后血糖升高不仅是 T2DM 患者心血管死亡的独立危险因素,亦是预测因素<sup>[4]</sup>。高糖状态可导致血管内皮功能障碍 (ECD)<sup>[5-7]</sup>,而 ECD 是 DM 心脑血管并发症病理基础——动脉粥样硬化 (AS) 发生的始动因素,因此,高血糖导致的 ECD 在 DM 心脑血管并发症的病程中有着举足轻重的影响<sup>[8]</sup>。此外,2008 年美国食品药品监督管理局 (FDA) 发出强制指导意见,为评估降血糖药物的心血管安全性,全球开展了降血糖药物的心血管结局研究 (CVOT)。研究结果显示,在中国目前上市的降血糖药物中,利拉鲁肽是唯一一种被证实具有心血管获益的降血糖药物。2016 年美国糖尿病协会 (ADA) 揭晓的 LEADER 研究<sup>[9]</sup>发现,利拉鲁肽在同样血糖控制的情况下,心脑血管并发症发生率及全因死亡率均明显下降。但是,目前对利拉鲁肽在降血糖的同时达到心血管保护作用的研究较少,结合 ECD 在 DM 血管并发症中的重要地位,本实验采用体外研究方法,观察利拉鲁肽在高糖环境下对内皮细胞的保护作用,以期对 DM 心脑血管并发症在临床上的预防、治疗提供新思路。

## 1 材料与方法

1.1 材料 (1) 细胞株:人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) (来源:上海中乔新舟生物科技)。(2) 实验主要试剂:低糖 DMEM (BI, 美国);胰蛋白酶-EDTA 消化液 (Solarbio,

北京);青链霉素混合液 (100 ×, Solarbio, 北京);FBS (BI, 美国);PBS 缓冲液 (Solarbio, 北京);四氮唑蓝盐化合物 (MTS, Promega, 美国);D-葡萄糖 (红岩化学试剂厂, 天津);利拉鲁肽 (诺和诺德, 德国);超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒 (WST-1 法, 南京建成生物);丙二醛 (MDA) 试剂盒 (TBA 法, 南京建成生物);BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (南京建成生物)。试验主要仪器:细胞培养瓶 (25 cm<sup>2</sup>, Corning);96 孔板 (NEST);超净工作台 (名牌之星, 江苏);电热恒温干燥箱 (琅轩, 上海);多功能酶标仪 (TECAN);细胞恒温培养箱 (Thermo Scientific);光学显微镜 (Zeiss)。

1.2 实验主要试剂配制 (1) 细胞完全培养基配制:低糖 (5.5 mmol/L) 改良培养基 (DMEM) + 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) + 1% 青链霉素。(2) 高糖原液 (1 mol/L) 配制:用分析天平称取 9 g D-葡萄糖粉加入 PBS 溶液定容至 50 ml,待葡萄糖粉溶解完全,混匀溶液后用 0.22 μm 滤泡过滤除菌,储存于 4℃ 的冰箱中。(3) 高糖培养基 (45 mmol/L) 配制:取 800 μl 上述配制好的 1 mol/L 高糖原液加入 19.2 ml 含有 2% FBS 的低糖 DMEM 培养基。

1.3 细胞培养及传代 参照相关文献中介绍的实验方法<sup>[10-11]</sup>进行实验。(1) 复苏所购的 HUVECs 细胞株。(2) 每天更换细胞培养液,镜下观察其生长情况,当贴壁细胞数量达 70% ~ 80% 时,说明细胞处于生长状态良好的对数期,若此时细胞无污染迹象,可进行传代。(3) 消化贴壁细胞,培养瓶喷洒酒精后置于超净工作台中,弃去原有培养基,加入 5 ml PBS 液后轻轻晃动瓶身以清洗细胞,清洗 2 次后弃去 PBS 溶液,加入 0.25% 胰蛋白,20 s 后光镜下观察细胞形态,当细胞变皱变圆,轻敲击培养瓶身,细胞可从瓶底脱落,此时迅速加入 4 ml 完全 DMEM 培养基终止消化。(4) 终止消化后用移液器轻轻吹打消化下来的细胞,将混匀的细胞悬液按 1:3 接种于同等大小的培养瓶中 (瓶中预先入 5 ml 预热的新鲜低糖完全培养基)。(5) 标记传代细胞的相关信息后将其移至细胞

培养箱(37 ℃,含 5% CO<sub>2</sub>)中继续培养。(6)数小时后观察细胞贴壁情况,若细胞已贴壁,则需立即换取新鲜低糖 DMEM 培养基。取 4~6 代细胞进行实验,按不同处理方法分为正常对照组(NC 组,培养基糖浓度 5.5 mmol/L)、高糖损伤组(HG 组,培养基糖浓度 45 mmol/L)、高糖+不同浓度利拉鲁肽组(糖浓度均同 HG 组,分别加利拉鲁肽为 5、10、25、50 和 100 nmol/L 五个浓度组)。

**1.4 MTS 法检测细胞活力** (1)HUVECs 细胞培养至 4~6 代,镜下观察细胞,选择生长状态良好的对数期 HUVECs,将选取的贴壁细胞消化下来,进行细胞计数。(2)根据细胞计数结果,将细胞按比例稀释至  $3 \times 10^4$  个/ml,按顺序接种至 96 孔板中,每孔接种 100  $\mu$ l 细胞悬液,约  $3 \times 10^3$  个细胞/孔。(3)24 h 后观察 96 孔板每孔内细胞贴壁状态,若细胞贴壁良好,可进行同步化。(4)同步化结束后,按实验分组,将配制好的含不同浓度药物的培养基依次加入 96 孔板每孔中,每组设 6 个复孔。(5)各实验组细胞培养结束后,将各孔中原有培养基吸去,加入含 2% FBS 新鲜培养基,再按顺序在每孔中避光加入 10  $\mu$ l MTS 溶液,将加入 MTS 溶液的 96 孔板置于培养箱中,使各孔存活细胞与 MTS 反应、显色。(6)2 h 后打开酶标仪,选择单波长为 490 nm,轻轻震荡 96 孔板后按顺序测定每孔 OD 值,记录实验结果。实验所得 OD 值即可间接反映细胞增殖情况及细胞活力。

**1.5 SOD 及 MDA 检测** (1)细胞处理:按照实验分组,在 6 孔板中培养不同组别所需细胞,每孔约  $1 \times 10^5$  个细胞。(2)收集细胞:培养结束后,用 4 ℃ 预冷 PBS 清洗细胞 3 次。清洗完毕后每孔加入 1 ml PBS 溶液,将细胞用干净的细胞刮沿同一个方向刮下,注意操作时动作需轻柔。用移液器将刮下的细胞移至 1.5 ml EP 管中,离心,收集细胞沉淀。(3)破碎细胞:为避免化学试剂对本实验结果造成影响,选择物理方法(研磨破碎法)破碎细胞。用电动研磨器冰水浴研磨 3~5 min,研磨后所得样本即为待测样本。(4)按 MDA 试剂盒(TBA 法)、SOD 试剂盒(WST-1 法)的操作说明完成实验样本 SOD 及 MDA 的检测。

**1.6 统计学方法** 所得数据采用统计学软件 SPSS 17.0 进行处理及分析。计量资料呈正态分布者以  $\bar{x} \pm s$  描述,多组间均数的比较采用单因素方差分析、两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 正常 HUVECs 的培养** 如图 1 所示,倒置显微镜下,正常 HUVECs 单层贴壁生长,细胞呈短梭形或

多角形,呈“铺路石”样。

**2.2 利拉鲁肽对正常 HUVEC 活力的影响** 本实验对 NC 组也加了利拉鲁肽 5、10、25、50、100 nmol/L 五个浓度,用 MTS 法检测非高糖环境正常 HUVECs 增殖情况,如表 1 所示,含不同浓度利拉鲁肽培养基中细胞的 OD 值与不含利拉鲁肽培养基中细胞 OD 值相近,差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。

**2.3 利拉鲁肽对高糖环境下 HUVECs 活力的影响** 如图 2 所示,倒置显微镜下,高糖损伤组 HUVECs 的形态皱缩,细胞的数目减少,细胞间缝隙变大。当在高糖培养基中加入高浓度利拉鲁肽共孵后,可见细胞形态大致可恢复正常。MTS 法检测各组细胞增殖情况如表 2 所示,同一时间段内,HG 组 OD 值较 NC 组显著降低( $P < 0.05$ )。高糖+5、10、25、50、100 nmol/L 利拉鲁肽组与同时间段 HG 组相比,OD 值均升高,且当利拉鲁肽浓度升至 25 nmol/L 及其以上时,其 OD 值即与同时间段 HG 组的 OD 值存在统计学差异( $P$  均  $< 0.05$ )。

**2.4 利拉鲁肽对高糖环境下 HUVECs 氧化应激反应的影响** 检测各组细胞内氧化应激反应指标 SOD 活性、MDA 含量,如表 3、表 4 所示,HG 组与 NC 组比较,同一时间段内,HG 组细胞内 SOD 活性较 NC 组明显下降,细胞内 MDA 含量明显上升( $P$  均  $< 0.05$ );高糖+利拉鲁肽组细胞内 SOD 活性较 HG 组

表 1 利拉鲁肽对正常 HUVEC 活力(OD 值)的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

利拉鲁肽浓度(nmol/L)	24 h(n=6)	48 h(n=6)
0	0.752 ± 0.034	0.761 ± 0.034
5	0.756 ± 0.095	0.769 ± 0.046
10	0.764 ± 0.066	0.770 ± 0.043
25	0.755 ± 0.023	0.762 ± 0.027
50	0.753 ± 0.027	0.772 ± 0.033
100	0.760 ± 0.046	0.767 ± 0.015
F 值	0.244	0.103
P 值	0.094	0.991

表 2 利拉鲁肽对高糖环境下 HUVECs 活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	OD 值	
	24 h(n=6)	48 h(n=6)
NC 组	0.754 ± 0.031	0.767 ± 0.030
HG 组	0.640 ± 0.040 <sup>a</sup>	0.623 ± 0.036 <sup>a</sup>
高糖+5 nmol/L 利拉鲁肽组	0.645 ± 0.033 <sup>a</sup>	0.640 ± 0.035 <sup>a</sup>
高糖+10 nmol/L 利拉鲁肽组	0.648 ± 0.040 <sup>a</sup>	0.653 ± 0.033 <sup>a</sup>
高糖+25 nmol/L 利拉鲁肽组	0.698 ± 0.045 <sup>abcd</sup>	0.718 ± 0.016 <sup>abcd</sup>
高糖+50 nmol/L 利拉鲁肽组	0.726 ± 0.027 <sup>bed</sup>	0.744 ± 0.024 <sup>bed</sup>
高糖+100 nmol/L 利拉鲁肽组	0.748 ± 0.046 <sup>bede</sup>	0.761 ± 0.037 <sup>bede</sup>
F 值	10.349	23.249
P 值	0.000	0.000

注:同一时间段内,与 NC 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 HG 组对比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与高糖+5 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与高糖+10 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>d</sup> $P < 0.05$ ;与高糖+25 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>e</sup> $P < 0.05$ 。

**表 3 利拉鲁肽对高糖环境下 HUVECs 细胞内 MDA 含量的影响** ( $\bar{x} \pm s$ )

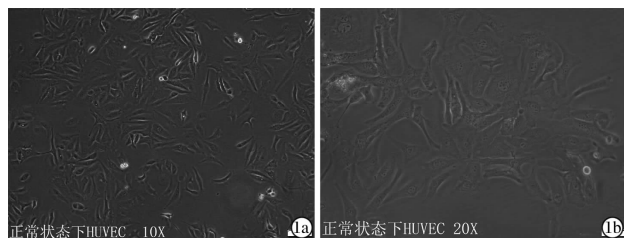
组别	MDA (nmol/mgprot)	
	24 h (n=3)	48 h (n=3)
NC 组	7.064 ± 0.199	8.765 ± 0.626
HG 组	12.749 ± 1.556 <sup>a</sup>	14.777 ± 0.568 <sup>a</sup>
高糖 + 5 nmol/L 利拉鲁肽组	12.545 ± 0.740 <sup>a</sup>	14.551 ± 0.278 <sup>a</sup>
高糖 + 25 nmol/L 利拉鲁肽组	9.867 ± 0.277 <sup>abc</sup>	11.453 ± 0.206 <sup>abc</sup>
高糖 + 50 nmol/L 利拉鲁肽组	8.492 ± 0.252 <sup>abcd</sup>	9.712 ± 0.214 <sup>abcd</sup>
高糖 + 100 nmol/L 利拉鲁肽组	7.436 ± 0.317 <sup>bed</sup>	9.006 ± 0.401 <sup>bed</sup>
F 值	37.670	125.300
P 值	0.000	0.000

注:同一时间段内,与 NC 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 HG 组对比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与高糖 + 5 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与高糖 + 25 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

**表 4 利拉鲁肽对高糖环境下 HUVECs 细胞内 SOD 活力的影响** ( $\bar{x} \pm s$ )

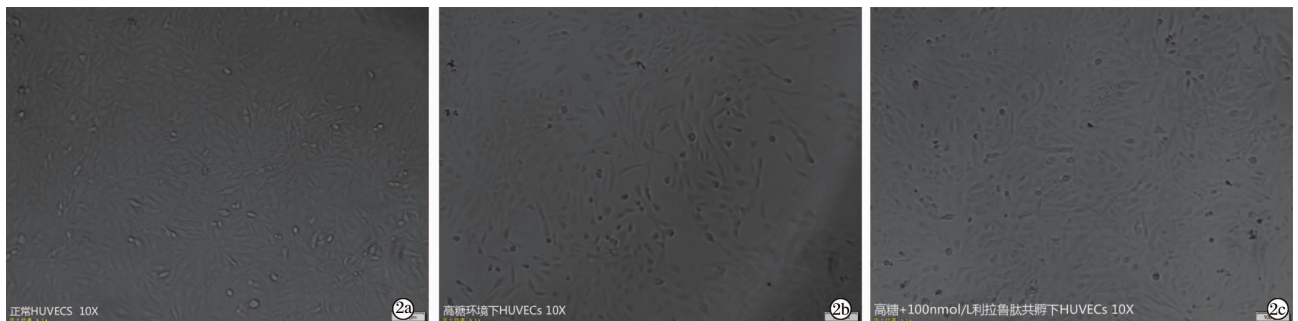
组别	SOD(U/mg prot)	
	24 h (n=3)	48 h (n=3)
NC 组	46.502 ± 1.527	43.643 ± 1.221
HG 组	28.966 ± 0.676 <sup>a</sup>	23.671 ± 0.632 <sup>a</sup>
高糖 + 5 nmol/L 利拉鲁肽组	29.810 ± 1.024 <sup>a</sup>	24.026 ± 1.566 <sup>a</sup>
高糖 + 25 nmol/L 利拉鲁肽组	37.596 ± 1.880 <sup>abc</sup>	33.629 ± 0.881 <sup>abc</sup>
高糖 + 50 nmol/L 利拉鲁肽组	41.755 ± 1.912 <sup>abcd</sup>	38.163 ± 1.482 <sup>abcd</sup>
高糖 + 100 nmol/L 利拉鲁肽组	45.690 ± 0.658 <sup>bede</sup>	42.743 ± 1.171 <sup>bede</sup>
F 值	92.170	167.720
P 值	0.000	0.000

注:同一时间段内,与 NC 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 HG 组对比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与高糖 + 5 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与高糖 + 25 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>d</sup> $P < 0.05$ ;与高糖 + 50 nmol/L 利拉鲁肽组对比,<sup>e</sup> $P < 0.05$ 。



注:1a:正常状态下 HUVEC (×10);1b:正常状态下 HUVEC (×20)。

**图 1 正常人脐静脉内皮细胞(HUVECs)的培养倒置显微镜下所见**



注:2a:正常 HUVECs (×10);2b:高糖环境下 HUVECs (×10);2c:高糖 + 100 nmol/L 利拉鲁肽共孵下 HUVECs (×10)。

**图 2 高糖环境下 HUVECs 细胞形态变化及高浓度利拉鲁肽(100 nmol/L)对其影响倒置显微镜下所见**

增高,MDA 含量较 HG 组下降,且当利拉鲁肽浓度升至为 25 nmol/L 及其以上时,其 SOD 活性、MDA 值与同一时间段 HG 组比较,差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ )。

### 3 讨论

DM 心脑血管并发症是 DM 患者最常见的慢性并发症之一,而血管内皮细胞结构受损及其功能障碍不仅是 AS 的始动因素,亦是 DM 心脑血管并发症的病理学基础。但是,由于受到医学伦理及相关法律法规的制约,人体血管内皮的研究绝大多数是不能进行在体实验的,而 HUVECs 凭借其取材方便、其生物学特性与动脉内皮细胞相似等优点,已经成为血管内皮细胞体外培养的主要来源<sup>[10-11]</sup>。本实验体外培养所得正常 HUVECs 在镜下观察可见其呈多角形或短梭形,呈单层“铺路石”样排列,这与相关文献<sup>[10-11]</sup>中描述的体外培养的 HUVECs 形态相符。

AS 是 DM 血管病变的发病基础,Ross<sup>[12]</sup>在动脉硬化机制研究中最早提出了内皮损伤在 AS 发生发展过程中的始动作用,这一经典学说为后来心脑血管疾病的研究奠定了基础,而 T2DM 患者长期高血糖状态恰恰是血管内皮细胞结构损伤、功能紊乱的主要原因之一。相关研究已经证实,高糖可以干预内皮细胞周期、增加内皮细胞损伤、延迟内皮细胞修复并造成细胞过度死亡<sup>[13]</sup>,亦有研究表明随着血糖的升高,血管舒张功能下降<sup>[14]</sup>。因此,高糖损伤血管内皮细胞,引起细胞功能紊乱,这在 DM 心脑血管并发症的病程中发挥着重要作用。本实验结果亦证明在高糖环境下,HUVECs 细胞形态皱缩、细胞数目减少,细胞间缝隙变大。MTS 法检测高糖环境下 HUVECs 细胞活力明显下降。

随着相关研究的不断深入,氧化应激反应已被证实参与 DM 并发症的形成<sup>[15-16]</sup>。而 SOD 能够清除活性氧,保护细胞免受损伤,故 SOD 活性可以作为检

测抗氧化能力的指标;MDA 是自由基脂质过氧化反应最终代谢产物,其含量的变化可反映机体内自由基的活性和脂质过氧化状态,从而间接反映细胞氧化应激损伤的程度。本实验结果显示,无论体外培养 24 h 还是培养 48 h, HG 组 HUVECs 内 SOD 活性均较同一时间段正常对照组明显下降,而 HG 组细胞内 MDA 含量较同一时间段 NC 组明显上升,说明高糖环境下 HUVECs 抗氧化能力减弱、氧化及抗氧化体系失衡、氧化应激水平升高。而在高糖培养基中加入利拉鲁肽后,细胞内的抗氧化物质 SOD 活力升高,氧化反应最终代谢产物 MDA 含量下降,说明利拉鲁肽可以通过改善高糖环境下内皮细胞的氧化应激反应。

利拉鲁肽与天然人体内产生的胰高糖素样肽-1 (GLP-1) 有高度同源性,天然的 GLP-1 作为一种肠源性激素,除了具有葡萄糖浓度依赖性降糖作用,其还具有心血管保护作用,并且这种保护作用可以独立于其降糖作用存在<sup>[17-18]</sup>。黎起云等<sup>[19]</sup>发现利拉鲁肽治疗后的 DM 合并冠心病患者体内氧化应激指标较对照组明显减低。Shiraki 等<sup>[20]</sup>发现,利拉鲁肽可以抑制 TNF- $\alpha$  诱导 HUVECs 产生活性氧,且可以抑制细胞烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶的表达,从而抑制氧化应激反应,起到细胞保护作用。本实验亦证明利拉鲁肽可以通过抑制氧化应激反应来逆转被高糖损伤的 HUVECs 活性,对抗高糖引起的细胞损伤,这为临床应用利拉鲁肽防治 DM 心脑血管并发症提供了更多实验性参考依据。

## 参考文献

- [1] WHO(2016). Global Report on Diabetes[EB/OL]. World Health Organization[2018-09-27]. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257>.
- [2] Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1 160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010[J]. *Lancet*, 2012, 380(9859): 2163-2196.
- [3] 洪天配, 母义明, 纪立农, 等. 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化性心血管疾病患者降糖药物应用专家共识[J]. *中国糖尿病杂志*, 2017, 25(6): 481-492.
- [4] 母义明, 纪立农, 杨文英, 等. 中国 2 型糖尿病患者餐后高血糖管理专家共识[J]. *药品评价*, 2016, 13(7): 5-12.
- [5] 廖洁, 雷闽湘, 陈雄, 等. 波动性高糖对人脐静脉内皮细胞中 NO 合成的影响及作用机制[J]. *中南大学学报医学版*, 2010, 35(4): 295-300.
- [6] Xiao XH, Dong YY, Zhong J, et al. Adiponectin protects endothelial cells from the damages induced by the intermittent high level of glucose[J]. *Endocrine*, 2011, 40(3): 386-393.
- [7] Azuma K, Kawamori R, Toyofuku Y, et al. Repetitive fluctuations in blood glucose enhance monocyte adhesion to the endothelium of rat thoracic aorta[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(10): 2275-2280.
- [8] Menegazzo L, Albiero M, Avogaro A, et al. Endothelial progenitor cells in diabetes mellitus[J]. *Biofactors*, 2012, 38(3): 194-202.
- [9] Chamberlain JJ, Rhinehart AS, Shaefer CF Jr, et al. Diagnosis and management of diabetes: synopsis of the 2016 american diabetes association standards of medical care in diabetes[J]. *Ann Intern Med*, 2016, 164(8): 542-552.
- [10] 阎江洪, 吴情怡, 罗素新, 等. 人脐静脉内皮细胞原代培养及鉴定[J]. *新疆医科大学学报*, 2016, 39(5): 555-559.
- [11] 王立岩, 佟晓红, 宫桂兰, 等. 人脐静脉内皮细胞的体外培养、鉴定及形态观察[J]. *白求恩医科大学学报*, 2000, 26(1): 26-28.
- [12] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s[J]. *Nature*, 1993, 362(6423): 801-809.
- [13] 王月琴, 戴敏. 高糖诱导内皮细胞损伤致动脉粥样硬化的分子机制研究进展[J]. *安徽医药*, 2012, 16(5): 564-567.
- [14] Iwata M, Miyashita Y, Kumagai H. Seasonal variation of endothelium-dependent flow-mediated vasodilation measured in the same subjects[J]. *Am J Cardiovasc Dis*, 2012, 2(2): 111-115.
- [15] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism[J]. *Diabetes*, 2005, 54(6): 1615-1625.
- [16] Weidig P, McMaster D, Bayraktutan U. High glucose mediates prooxidant and antioxidant enzyme activities in coronary endothelial cells[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2004, 6(6): 432-441.
- [17] Piotrowski K, Becker M, Zugwurst J, et al. Circulating concentrations of GLP-1 are associated with coronary atherosclerosis in humans[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12: 117.
- [18] 牛婕斐, 吴鸿洋, 高月琴. 利拉鲁肽与心血管获益[J]. *临床医药实践*, 2018, 27(7): 534-537.
- [19] 黎起云, 韦金儒. 利拉鲁肽对糖尿病合并冠心病患者血管微环境影响研究[J]. *心血管病防治知识(学术版)*, 2018(5): 45-47.
- [20] Shiraki A, Oyama J, Komoda H, et al. The glucagon-like peptide 1 analog liraglutide reduces TNF- $\alpha$ -induced oxidative stress and inflammation in endothelial cells[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 221(2): 375-382.

收稿日期: 2018-10-27 修回日期: 2018-11-20 编辑: 周永彬