

## 灯盏花素对小鼠顺铂肾损害的防治作用

任亮<sup>1\*</sup>, 张印坡<sup>1</sup>, 徐华<sup>2</sup>, 马天江<sup>2</sup>, 刘亚丽<sup>2</sup>

(1. 漯河医学高等专科学校, 河南 漯河 462002; 2. 漯河市第一人民医院, 河南 漯河 462001)

**[摘要]** 目的: 观察灯盏花素对小鼠顺铂肾损害的防治作用及可能的作用机制。方法: 将昆明小鼠随机分为空白组、模型对照组、灯盏花素 25, 50 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组共 4 组。除空白组外, 其余各组以顺铂 8 mg·kg<sup>-1</sup> 单次 ip 制备小鼠肾脏损害模型, 两个治疗组随即分别给予 25, 50 mg·kg<sup>-1</sup> 的灯盏花素 ig, 1 次/d, 连续给药 7 d。观察小鼠肾脏的改变及检测血清中肌酐 (SCr)、尿素氮 (BUN) 的变化, 检测血清及肾皮质中丙二醛 (MDA) 含量及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性。结果: 与空白组对照比较, 模型对照组肾脏损害严重, SCr 及 BUN 含量升高 ( $P < 0.01$ ), 血清及肾皮质 MDA 升高而 SOD 降低 ( $P < 0.01$ )。而各灯盏花素组小鼠肾脏病变较模型对照组明显改善, 剂量依赖性降低 SCr 及 BUN 含量 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 使血清及肾皮质 MDA 含量降低而 SOD 活性升高 ( $P < 0.05$ )。结论: 灯盏花素可减轻顺铂引起的肾毒性, 其机制可能与抑制顺铂肾损害所致血液和肾皮质脂质过氧化反应增强有关。

**[关键词]** 灯盏花素; 顺铂; 肾损害; 脂质过氧化

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0162-03

## Protective Effect of Breviscapine on Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Mice

REN Liang<sup>1\*</sup>, ZHANG Yin-po<sup>1</sup>, XU Hua<sup>2</sup>, MA Tian-jiang<sup>2</sup>, LIU Ya-li<sup>2</sup>

(1. Luohe Medical College, Luohe 462002, China; 2. Luohe Frist People's Hospital, Luohe 462001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the protective effect and mechanism of breviscapine on cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. **Method:** The mice were randomly divided into four groups: control group, model group, breviscapine group treated by 25 mg·kg<sup>-1</sup> (LBTG) and breviscapine group treated by 50 mg·kg<sup>-1</sup> (HBTG). Other three groups were treated by a single injection of cisplatin (8 mg·kg<sup>-1</sup>) ip to establish model except control group, then the mice in LBTG and HBTG were given different dose of breviscapine (25, 50 mg·kg<sup>-1</sup>, ig) once a day for seven days. The renal tissue and change of BUN and SCr in their serum were observed. The change of SOD or MDA in there serum and renal cortex homogenate was also determined. **Result:** Serious damage in renal tissue was found, level of BUN and SCr was increased, and the content of MDA was increased, but the activity of SOD declined in serum and renal cortex homogenate in model group ( $P < 0.01$ ). Change of renal tissue was improved in LBTG and HBTG compared with model group, level of BUN and Scr was significantly decreased in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the content of MDA was declined, but the activity of SOD was increased in serum and renal cortex homogenate ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Breviscapine may reduce cisplatin-induced nephrotoxicity and its mechanism may be correlative with that breviscapine would inhibit blood and renal cortex lipid peroxidation increasing

**[Key words]** breviscapine; cisplatin; nephrotoxicity; lipid peroxidation

**[收稿日期]** 20110105(011)

**[基金项目]** 2011年漯河市科技攻关项目(2011-206-07)

**[通讯作者]** \* 任亮, 副教授, 副主任药师, 从事肿瘤药理学及中药药理学研究, Tel: 13323950693, 0395-3652191, E-mail: renliang3008@163.com.

顺铂 (cisplatin) 是临床常用的剂量依赖性周期非特异性铂类抗癌药, 对各种实体瘤均显示出令人满意的抗癌效果<sup>[1]</sup>, 但单一剂量顺铂治疗后大约 25% ~ 30% 的患者出现肾功能障碍<sup>[2]</sup>, 这成为增加顺铂临床用量的主要障碍。如何有效防治顺铂的肾毒性是当前人们关注的问题。灯盏花素

(breviscapine)是从菊科植物灯盏细辛中提取的类黄酮成分,在防治糖尿病肾病及高血压肾病等方面具有较好疗效<sup>[3,4]</sup>。本实验通过观察灯盏花素对顺铂所致小鼠肾毒性的防治作用,探究其作用机制与抗氧化作用的相关性。

## 1 材料

**1.1 药品与试剂** 灯盏花素冻干粉,50 mg/瓶,湖南恒生制药有限公司产品(批号 20100403);顺铂冻干粉,20 mg/瓶,山东齐鲁制药厂产品(批号 908027CF);肌酐(SCr)检测试剂盒(批号 100316)、尿素氮(BUN)检测试剂盒(批号 100420)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号 091117)、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(批号 091222),均由南京建成生物工程有限公司提供。其他试剂均为分析纯。

**1.2 动物与仪器** 昆明种小鼠,雌雄兼用,体重(20±2)g,SPF级,河南医学实验动物中心提供,合格证号医动字第 410115 号。752 N 型紫外-可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;TL 80-1 型医用离心机,江苏姜堰天力器械有限公司;AU 2700 型全自动生化分析仪;BX 40 型光学显微镜,日本奥林巴斯公司。

## 2 方法

**2.1 分组及给药** 将小鼠按照体重随机分为 4 组,每组 12 只。空白组:采用生理盐水单次 ip 后给予 0.5% CMC-Na 溶液 ig;模型对照组:单次 ip 顺铂 8 mg·kg<sup>-1</sup> 制备小鼠顺铂肾损害模型,造模后给予 0.5% CMC-Na 溶液 ig;灯盏花素 25 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组:造模后给予灯盏花素(0.5% CMC-Na 配制的混悬液)25 mg·kg<sup>-1</sup>,ig;灯盏花素 50 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组:造模后给予灯盏花素(0.5% CMC-Na 溶液配制的混悬液)50 mg·kg<sup>-1</sup>,ig。所有动物造模完成当日开始给药,给药容积均为 0.01 mL·g<sup>-1</sup>,1 次/d,连续 7 d。

**2.2 肾脏结构的观察** 给药结束后次日,从每组小鼠中随机选择 2 只小鼠脱臼处死,剖腹后取出两侧肾脏,以 10% 甲醛固定,石蜡包埋,切片,HE 染色后光镜下观察肾脏形态结构的改变。

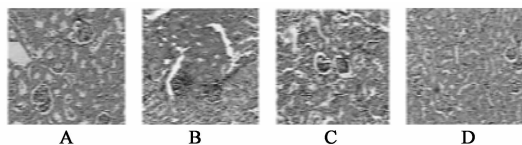
**2.3 样品的制备与测定** 血清标本的制备:将各组小鼠乙醚麻醉后内眦静脉取血,肝素抗凝处理后 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取血清置 4 °C 冰箱备用。肾皮质组织匀浆标本的制备:处死小鼠后剖腹,迅速取出肾脏,置 -40 °C 冰箱速冻,将速冻后的肾脏取出,冰浴下切下小块肾皮质组织,加入 0.1 mol·L<sup>-1</sup> PBS 液(pH 7.4,加入前置入 4 °C 冰箱预冷),置组

织匀浆器中反复研磨,制成 10% 的肾皮质组织匀浆,3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 后取上清液置 4 °C 冰箱备用。SCr 及 BUN 测定:采用全自动分析仪进行。MDA 及 SOD 测定:按试剂盒说明进行。

**2.4 数据分析** 实验数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异采用单因素方差分析,通过 SPSS 11.0 完成。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对顺铂肾损害小鼠肾脏病变及功能的影响** 与空白组比较,模型对照组小鼠肾脏可见肾小球细胞数目明显增多,肾小管肿胀,间质严重充血,大量炎性细胞浸润,部分刷状缘破坏。肾功能检测显示血清 SCr 及 BUN 与空白组相比明显升高( $P < 0.01$ ),说明模型对照组小鼠肾脏损害明显,肾功能下降。而使用不同剂量灯盏花素治疗后,小鼠肾脏的病变明显改善。其中灯盏花素 25 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组小鼠的肾小球结构正常,肾小管轻微水肿,相对模型对照组的损伤程度明显减轻,而灯盏花素 50 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组小鼠的病理情况基本接近正常肾组织。其血清 SCr 及 BUN 含量随着灯盏花素剂量不同呈现剂量依赖性降低,与模型对照组比较差异显著( $P < 0.05, P < 0.01$ ),见图 1,表 1。



A. 空白组;B. 模型对照组;C. 灯盏花素 25 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组;D. 灯盏花素 50 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组

图 1 灯盏花素对顺铂肾损害小鼠肾脏结构的影响(HE, ×100)

表 1 灯盏花素对顺铂肾损害小鼠血清 BUN 和 SCr 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	BUN /mmol·L <sup>-1</sup>	SCr /μmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	5.88 ± 1.18 <sup>2)</sup>	38.97 ± 8.66 <sup>2)</sup>
模型对照	-	15.62 ± 3.36	89.81 ± 7.45
灯盏花素	25	9.29 ± 2.56 <sup>1)</sup>	61.59 ± 8.19 <sup>1)</sup>
	50	6.15 ± 1.64 <sup>2)</sup>	41.60 ± 9.70 <sup>2)</sup>

注:与模型对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

**3.2 对顺铂肾损害小鼠血清及肾皮质 MDA 含量和 SOD 活性的影响** 模型对照组血清及肾皮质 SOD 和 MDA 与空白组相比存在显著差异( $P < 0.01$ ),其中 SOD 活性降低而 MDA 含量升高,说明顺铂造成的肾损害与血清及肾皮质脂质过氧化反应增强有关。而灯盏花素 25,50 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组可使顺铂肾

损害小鼠血清及肾皮质 SOD 活性升高而使 MDA 含量降低( $P < 0.05$ ),说明灯盏花素对顺铂肾损害的减毒作用与抑制顺铂肾损害小鼠血清及肾皮质脂质过氧化反应增强有关(表 2~3)。

表 2 灯盏花素对顺铂肾损害小鼠血清 SOD 活性和 MDA 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	SOD /U·mL <sup>-1</sup>	MDA /μmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	10.22 ± 2.63 <sup>2)</sup>	5.06 ± 1.57 <sup>2)</sup>
模型对照	-	4.23 ± 1.90	11.89 ± 1.80
灯盏花素	25	5.66 ± 2.18 <sup>1)</sup>	7.16 ± 1.49 <sup>1)</sup>
	50	6.90 ± 2.20 <sup>1)</sup>	6.43 ± 1.39 <sup>1)</sup>

表 3 灯盏花素对顺铂肾损害小鼠肾皮质组织 SOD 活性和 MDA 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	SOD /U·g <sup>-1</sup>	MDA /nmol·g <sup>-1</sup>
空白	-	9.51 ± 1.95 <sup>2)</sup>	6.52 ± 1.80 <sup>2)</sup>
模型对照	-	3.88 ± 0.83	11.90 ± 2.53
灯盏花素	25	5.74 ± 1.06 <sup>1)</sup>	8.22 ± 2.20 <sup>1)</sup>
	50	5.90 ± 1.44 <sup>1)</sup>	8.03 ± 1.75 <sup>1)</sup>

#### 4 讨论

顺铂是治疗实体肿瘤最有效的药物之一,其疗效与用药剂量成正比,但剂量的增加又受到顺铂肾毒性的限制。目前临床上对大剂量顺铂造成的肾毒性的防治方法主要采用改变顺铂给药方式或途径、抗氧化剂或利尿剂应用、补肾中药等几种方式<sup>[5]</sup>,而上述方式都存在不同缺陷。因此,如何切实有效的保证和提高肿瘤患者的化疗质量,减轻肾损伤,更好的发挥顺铂的抗肿瘤作用,已成为一个很重要的研究课题。

顺铂肾毒性的机制目前尚不清楚,有研究表明,顺铂肾毒性的机制可能与脂质过氧化反应增强、诱导肾小管细胞凋亡、促进肾脏组织纤维化等因素有关<sup>[5]</sup>。本研究显示,ip 顺铂后小鼠血液 BUN 及 SCr 含量升高,血液和肾皮质 SOD 活性降低而 MDA 升高。BUN 及 SCr 是肾功能的重要指标,两者含量增高说明小鼠肾功能下降,而 SOD 活性降低可使脂质过氧化反应增强,MDA 升高则加速了又脂质过氧化速率,致使肾小管发生急性氧化性损伤,引起 BUN 和 SCr 在体内滞留,导致肾脏功能减退。本实验再次证明顺铂所致肾毒性可能与脂质过氧化反应增强有关。

联合用药是提高肿瘤化疗质量的措施之一,但通常 2 种化疗药物合用在提高疗效的同时也增加对机体毒性的机会。近年来,一些小分子黄酮类物质

因独特的作用机制显示了对机体无毒情况下肿瘤化疗的增效作用而备受关注<sup>[6-7]</sup>。灯盏花素是从灯盏花中提取的的黄酮类成分,作者在前期研究中发现,灯盏花素与马利兰等化疗药物具有协同抗肿瘤作用<sup>[8]</sup>,又由于灯盏花素对糖尿病肾病及高血压肾病等具有良好的保护作用<sup>[9]</sup>,于是在借鉴灯盏花素治疗糖尿病肾病的用量及方法的基础上,作者观察了 25,50 mg·kg<sup>-1</sup>的灯盏花素 ig 后对顺铂肾损害的影响,结果显示灯盏花素可明显改善顺铂肾损害的小鼠肾脏,降低血清 SCr 及 BUN 含量,使血清及肾皮质 MDA 降低而 SOD 活性升高。这充分说明灯盏花素具有减轻顺铂的肾毒性作用,而且其作用机制可能与抑制顺铂致血液和肾皮质脂质过氧化反应增强有关。同时作者在实验中亦发现,灯盏花素具有剂量依赖性改善肾脏功能作用,但 25,50 mg·kg<sup>-1</sup>下的抗氧化作用却未呈现明显增强效应,说明灯盏花素对顺铂肾毒性的防治作用可能存在其他机制,有待进一步深入研究。

#### [参考文献]

- [1] 胡全,张现慧,耿宝琴,等. 氨磷汀预防顺铂所致肾毒性[J]. 中国现代应用药学杂志,2008, 25(5):382.
- [2] Bernsis, Ford P A. Renal toxicities of antineoplastic drugs and bone marrow transplantation [J]. Semin Nephrol, 1997, 17 (1):54.
- [3] 亓翠玲,亓立勇. 灯盏花素治疗糖尿病肾病的疗效观察[J]. 实用糖尿病杂志,2006, 2(1):23.
- [4] 郑学良. 灯盏花素配合西药治疗高血压肾病疗效观察[J]. 实用中医药杂志,2006,22(3): 144.
- [5] 曾健,劳山. 顺铂肾毒性机制及其防护的研究进展[J]. 中国实用医药,2008,3(10):194.
- [6] Li Y, Ahmed F, Ali S, et al. Inactivation of nuclear factor kappaB by soy isoflavanone genistein contributes to increased apoptosis induced by chemotherapeutic agents in humancancer cells [J]. Cancer Res, 2005, 65 (15):6934.
- [7] Cardenas M, Marder M, Blank V C, et al. Antitumor activity of some natural flavonoids and synthetic derivative on various human and murine cancer cell lines[J]. Bioorg Med Chem, 2006, 14(9): 2966.
- [8] 任亮,马菲,李晓莉,等. 灯盏花素增强马利兰抑制 HL-60 细胞作用的实验研究[J]. 中国药房, 2010, 21 (7):1749.
- [9] 赵锦欢,张丽梅,李洋. 灯盏花素对糖尿病肾病的防治作用简介[J]. 中国药业,2010,19(12):86.

[责任编辑 聂淑琴]