

肾康对腺嘌呤致慢性肾功能衰竭大鼠血清 SOD MDA 及血流变学的影响

傅蔓华, 高 寒, 李 威, 赵月春

(河南省中医药研究院, 河南 郑州 450004)

摘要:目的: 观察肾康对慢性肾功能衰竭(CRF) 大白鼠清除自由基能力, 抗氧化能力, 改善肾性贫血作用及血液流变学的影响。方法: 用腺嘌呤(Adenin) 法给大鼠造模, 同时给肾康灌胃治疗, 测血肌酐(Cr) 计算 24h 肌酐清除率(Cc); 测血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA) 含量, 红细胞(RBC) 数、血红蛋白(Hb) 含量、血沉及血液流变学指标。结果: $45\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (每 ml 含生药 3g) 肾康与模型对照组比较, 24h 肌酐清除率升高; 血清 T-SOD 含量升高; CuZn-SOD 含量升高; MDA 含量下降; RBC 数升高; 红细胞压积增大, 血沉减慢。结论: 肾康有改善肾功能作用, 具有清除氧自由基能力, 有增强机体抗氧化的能力。

关键词: 肾康; 腺嘌呤; 慢性肾功能衰竭; SOD; MDA; RBC

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2004)01-0047-03

临床观察肾康有祛邪、化浊、排毒、调整离子代谢、改善肾功能作用。本文观察了肾康对 CRF 大鼠内生肌酐清除率、血清 SOD MDA 及 RBC、Hb、血液流变学、大鼠体重等指标的影响。探讨肾康清除自由基、抗氧化、改善肾性贫血等整体调节作用, 为中药肾康治疗 CRF 的多靶点作用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 种大白鼠, 体重 (250 ± 10) g, 雄性, 由河南医科大学实验动物中心提供(合格证号: 971001)。

1.2 药物 肾康口服液(受试药物) 大黄、川芎、牡蛎、乌梢蛇(2:1:1:1)。工艺: 四味药粉碎, 川芎提取芳香水, 其他三味药与川芎药渣共煎, 然后浓缩、醇沉, 加川芎芳香水, 浓缩成体积为 3g/ml 生药的药液备用。由河南省中医药研究院制剂室提供, 批号: 980102; 尿毒清(阳性对照药) 由广州康巨制药厂生产, 批号: 970902; 腺嘌呤由上海丽珠东风生物技术有限公司提供, 批号: 980108; SOD、MDA 测试试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, 批号: 971128。

1.3 仪器 CL-770 型自动生化分析仪日本岛津生产; F-820 型血球计数仪, 日本东亚医用电子株式会社生产; 锥板粘度计, 成都仪器厂生产, 恒温箱, 离心机。

2 方法

2.1 大鼠 CRF 模型的制备^[1,2,3] 选用健康 Wistar

种雄性大白鼠共 60 只, 体重 $250 \pm 10\text{g}$, 大鼠用酪蛋白普通饲料喂养。随机将大白鼠分成 5 组: (1) 正常对照组: (纯净水) $15\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$; (2) 模型对照组: (纯净水) $15\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$; (3) 阳性对照组(尿毒清): $5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; (4) 肾康高剂量组 $45\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; (5) 肾康低剂量组: $22.5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。除正常对照组外, 其他各组大鼠灌服腺嘌呤 ($300\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{d}$) 逐渐诱发 CRF, 各组同时按同体积灌胃给药, 每日一次, 共 24d。大鼠每隔 4d 称体重一次, 第 24d 放入代谢笼中测 24h 尿量, 第 25 天给药 1h 后将大鼠处死, 取血, 进行各项指标测定。

2.2 CRF 大鼠内生肌酐清除率(Cc) 测定 血肌酐(Cr), 尿肌酐(Urs) 按试剂盒操作步骤进行, 用自动生化分析仪测定(比色法)。内生肌酐清除率(Cc) 计算方法^[4]。

$$24\text{h 肌酐清除率} = \frac{\text{尿肌酐浓度}(\mu\text{mol/L}) \times 24\text{h 尿量(L)}}{\text{血浆肌酐浓度}(\text{umol/L})}$$

2.3 CRF 大鼠血清 SOD、MDA 含量测定 按 SOD 测试试剂盒操作步骤进行, 用自动生化分析仪测定; 测定方法为羟胺法(比色法)。同一份标本只需测出其 T-SOD 与 Mir-SOD 根据计算公式: (总 SOD 活力) - (SOD 活力) = (铜锌 SOD 活力) Nu/ml 血清, 计算出 CuZn-SOD 活力。MDA 含量测定按 MDA 测试试剂盒步骤进行, 用自动生化分析仪测定大鼠血清, MDA 含量, MDA 测定方法为 LPO 法(比色法)。

2.4 CRF 大鼠血液流变学及 RBC 数测定 用锥板粘度计进行全血粘度、红细胞压积测定。用血球计数仪进行 RBC 数、Hb 含量测定, 进行血沉测定。

2.5 CRF 大鼠体重及死亡率监测 每隔 4d 称大鼠体重一次,并随时观察动物死亡情况。

2.6 统计学处理 各检测指标均采用 SAS 软件进行 *t* 检验。

3 结果

表 1 肾康灌胃给药 25d 对 CRF 大鼠 C_c 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	Cr ($\mu\text{mol/L}$)	Urs ($\mu\text{mol/L}$)	24h 尿量 (ml)	C _c (L/24h)
正常对照组	12		66.82 ± 9.25 ²⁾	3840.60 ± 750.81 ²⁾	10.80 ± 3.71 ²⁾	0.6065 ± 0.1979 ²⁾
模型对照组	10		383.00 ± 45.71	552.33 ± 175.25	30.89 ± 4.43	0.0430 ± 0.0174
尿毒清组	11	5	315.00 ± 51.34 ²⁾	609.80 ± 63.37	43.70 ± 4.31 ²⁾	0.0842 ± 0.0207 ²⁾
肾康高剂量组	11	45	311.27 ± 71.68 ²⁾	627.70 ± 127.05	48.70 ± 4.38 ²⁾	0.0752 ± 0.0205 ²⁾
肾康低剂量组	12	22.5	335.36 ± 46.03 ¹⁾	756.10 ± 158.11 ¹⁾	52.30 ± 4.29 ²⁾	0.1032 ± 0.0274 ²⁾

注:与模型对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01

3.2 肾康对 CRF 大鼠血清 SOD、MDA 含量的影响 45g·kg⁻¹肾康给 CRF 大鼠灌服后,与模型对照组比较 T-SOD 活性增高 *P* < 0.01; CuZn-SOD 活性增

3.1 肾康对 CRF 大白鼠 C_c 的影响 45g·kg⁻¹; 22.5g·kg⁻¹肾康与模型对照组比较,血 Cr 显著降低, *P* < 0.01; *P* < 0.05。45g·kg⁻¹; 22.5g·kg⁻¹肾康 C_c 显著升高与模型对照组比较 *P* < 0.01。结果见表 1。

高 *P* < 0.05; 45g·kg⁻¹; 肾康均使 CRF 大鼠血清 MDA 含量下降 *P* < 0.01。结果见表 2。

表 2 肾康灌胃给药 25d 对 CRF 大鼠血清 SOD、MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	T-SOD (NU/ml)	CuZn-SOD (Nu/ml)	Mn-SOD (Nu/ml)	MDA ($\mu\text{mol/ml}$)
正常对照组	12		130.44 ± 3.27	75.52 ± 2.74 ²⁾	54.92 ± 3.32 ¹⁾	3.43 ± 0.63 ¹⁾
模型对照组	10		129.19 ± 4.20	64.30 ± 4.84	64.89 ± 4.73	4.20 ± 0.59
尿毒清组	11	5	125.78 ± 4.95	81.63 ± 5.66 ²⁾	43.76 ± 3.88 ¹⁾	3.07 ± 0.023 ²⁾
肾康高剂量组	11	45	135.71 ± 4.29 ²⁾	73.12 ± 9.38 ¹⁾	62.59 ± 6.30	3.02 ± 0.65 ²⁾
肾康低剂量组	12	22.5	129.38 ± 9.39	63.84 ± 10.90	65.15 ± 7.16	4.11 ± 0.49

3.3 肾康对 CRF 大鼠血液流变学、RBC 数、Hb 含量的影响 45g·kg⁻¹肾康与模型对照组比较, RBC 数目增多 *P* < 0.05; 红细胞压积变大 *P* < 0.05; 血沉速

度减慢 *P* < 0.01; Hb 含量有增高趋势,但无统计学差异。结果见表 3。

表 3 肾康灌胃给药 25d 对 CRF 大鼠血液流变学及 RBC、Hb 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	全血粘度(mpa·s)		红细胞压积 (%)	血沉 (mm/h)	RBC ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/L)
			高切(1/S)	低切(1/S)				
正常组	12		6.14 ± 0.53	13.26 ± 1.99 ²⁾	0.53 ± 0.033 ²⁾	0.23 ± 0.39 ²⁾	4.57 ± 1.19 ²⁾	156.19 ± 8.85 ²⁾
模型组	10		5.88 ± 0.52	9.69 ± 2.33	0.37 ± 0.026	3.11 ± 1.45	1.72 ± 0.40	107.44 ± 10.94
阳性组	11	5	5.87 ± 0.92	9.65 ± 2.41	0.39 ± 0.045	0.77 ± 1.45 ²⁾	2.36 ± 0.34	110.45 ± 8.87
肾高剂量	11	45	6.06 ± 0.99	9.71 ± 3.19	0.42 ± 0.064 ¹⁾	0.83 ± 1.07 ²⁾	3.18 ± 1.75 ¹⁾	118.64 ± 19.86
肾低剂量	12	22.5	5.80 ± 0.75	8.52 ± 2.36	0.37 ± 0.044	0.41 ± 0.31 ²⁾	1.78 ± 0.38	103.50 ± 10.54

3.4 肾康对 CRF 大鼠体重及死亡率的影响 给予肾康后的 CRF 大鼠体重下降速度较模型组缓慢,大鼠死亡率低于模型对照组。结果见表 4。

3.5 肾康对 CRF 大鼠病理组织学的影响^[5] 大体观,肾康组 CRF 大鼠肾脏代偿性增大较模型组减

轻,肾康组呈蚕咬肾状,模型组呈大白肾状。镜下观,肾康治疗组,肾小球未见有明显坏死,肾小管上皮基本正常,肾小管中腺嘌呤沉积较少。模型组可见大量肾小球坏死,肾小管上皮坏死,肾小球及肾小管中有大量腺嘌呤沉积。

表 4 肾康灌胃给药 25d 对 CRF 大鼠体重及死亡率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	体重(g)							死亡率 (%)
			1d	4d	8d	12d	16d	20d	24d	
正常组	12		258.00 ± 17.45	271.00 ± 20.35	284.08 ± 23.30 ²⁾	288.67 ± 19.78 ²⁾	297.08 ± 21.57 ²⁾	302.92 ± 20.31 ²⁾	313.42 ± 21.71 ²⁾	
模型组	10		261.08 ± 15.56	259.92 ± 21.22	254.17 ± 22.52	234.58 ± 23.96	227.75 ± 25.25	221.18 ± 27.04	215.11 ± 23.10	16
阳性组	11	5	255.57 ± 10.37	264.00 ± 19.31	252.33 ± 25.64	248.00 ± 16.19	232.75 ± 17.99	229.33 ± 18.19	215.64 ± 30.08	8
肾高剂量	11	45	262.08 ± 15.58	258.92 ± 15.64	246.83 ± 18.21	249.33 ± 20.99	239.73 ± 23.81	230.27 ± 21.77	226.73 ± 16.42	8
康低剂量	12	22.5	253.75 ± 7.79	259.19 ± 9.83	253.25 ± 15.86	259.00 ± 16.95 ¹⁾	258.58 ± 21.21 ²⁾	257.08 ± 18.49 ²⁾	249.75 ± 19.02 ²⁾	

4 讨论

内生肌酐清除率较血肌酐和尿素氮更灵敏地反映肾小球滤过功能。实验结果证实,肾康显著提高 24h 内生肌酐清除率,提示该药对肾功能确有较好的保护作用。

自由基,脂质过氧化物在慢性肾功能衰竭的发生和病程进展中起着关键性的作用^[6]。CRF 时机体抗氧化能力降低,氧自由基清除系统失代偿或衰竭,自由基得不到清除,对肾组织损伤日趋加重,最后导致尿毒症^[7]。总 SOD 中 CuZn-SOD、Mn-SOD 含量与体内锌、锰微量元素的含量密切相关。肾功能不全时血清中 Zn²⁺、Cu²⁺ 含量下降,当 Zn²⁺、Cu²⁺ 元素严重缺乏时,CuZn-SOD 在体内合成困难,清除活性氧自由基的能力下降。肾康可增加 CRF 大鼠血清 T-SOD、CuZn-SOD 活力,同时降低 MDA 含量,提示该药能使机体清除自由基的能力增强,减缓脂质过氧化,减轻肾损害。

CRF 时,随着肾组织的不断破坏、促红素的产生和分泌逐渐减少,由于毒性物质的滞留和内环境的紊乱,促红素生物活性受到抑制是造成肾性贫血的主要原因之一。由于肾脏是分泌促红素的主要器官,这种继发性贫血与促红素生成不足有密切关系,动物实验中,这类贫血在给予小剂量促红素后即可解除^[8]。本实验结果证实,肾康可使 RBC 数目增多,红细胞压积增大,Hb 含量有升高趋势。提示可能是由于该药的排毒及抗氧化和清除自由基作用减缓了残留肾单位的损害,不同程度改善了促红素的生成不足;对骨髓造血系统有一定的保护作用,从而减轻了 CRF 大鼠的贫血状态。

CRF 病人由于多种因素所造成营养不良,导致了病人体重下降,免疫力降低,体质变差,反过来又

加快了 CRF 的进程。本研究结果显示,给予肾康的 CRF 大鼠体重下降速度较模型对照组缓慢,死亡率明显降低。提示该药在加速机体排毒的同时,有促进体内蛋白合成,减少蛋白分解,增强体质的作用,既中药的扶正作用。

本研究结果提示:肾康对 CRF 大鼠祛邪化浊、活血化瘀、调整离子代谢、调整内分泌、抗氧自由基、抗脂质过氧化等多方位、多靶点的干预调节作用,可能是肾康改善肾功、纠正肾性贫血、增强体质、延缓 CRF 进展的关键所在。

参考文献:

- [1] 吴钰,张星,王新华,等. 大鼠慢性肾功能不全模型的建立及中药疗效观察[J]. 上海医科大学学报, 1994, (2) 3: 157.
- [2] 邓虹珠,金伟,侯连兵,等. 慢性肾功能衰竭药效研究的设计和方法[J]. 中国中药杂志, 1998, (23) 4: 243.
- [3] 王国柱,大浦彦吉. 麻黄干浸膏及单宁成份治疗慢性肾功能衰竭的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1994, (14) 8: 485.
- [4] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社, 1991. 229.
- [5] 李威,傅蔓华,高寒,等. 肾康对腺嘌呤致慢性肾功能衰竭大鼠肾功能的影响[J]. 中国药理学杂志, 2002, (37) 5: 339.
- [6] 祁狄克,陆履佩,张建儒,等. 自由基、抗氧化系统在慢性肾功能不全发病机理中的探讨[J]. 中华肾脏病杂志, 1991, (7) 6: 345.
- [7] 姚少吾,吴志英,张庆怡,等. 氧自由基与慢性肾功能不全[J]. 实用中西医结合杂志, 1994, (7) 12: 702.
- [8] 杨刚. 内分泌生理与病理生理[M]. 天津:天津科学技术出版社出版, 2000. 724.