

肾复康对大鼠被动型 Heymann 肾炎的治疗作用研究

廖雪珍, 周玖瑶, 李 锐, 廖惠芳, 黄桂英

(广州中医药大学, 广州 510405)

摘要: 从尿蛋白定量, 血清总蛋白、白蛋白、白蛋白/球蛋白(A/G)、胆固醇及血清肌酐和尿素氮含量的变化情况等方面观察肾复康治疗肾小球肾炎的疗效。从血清和肾组织过氧化脂质(LPO)含量、总超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性变化探讨肾复康对大鼠被动型 Heymann 肾炎的治疗机理。结果显示, 肾复康显著消除被动型 Heymann 肾炎模型大鼠尿蛋白, 升高血清总蛋白含量、白蛋白、白蛋白/球蛋白(A/G)比值, 降低胆固醇含量, 降低血清肌酐和尿素氮含量, 对肾功能具有保护作用。肾复康能显著抑制被动型 Heymann 肾炎模型大鼠血清和肾组织匀浆 LPO 的含量升高及总 SOD 及 GSH-PX 活性的降低。

关键词: 肾复康; 被动型 Heymann 肾炎模型

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)03-0035-04

Effect of Sheng Fukang on Experimental Passive Heymann Nephritis in Rats

LIAO Xue-zhen, ZHOU Jiu-yao, LI Rui, LIAO Hui-fang, HUANG Gui-ying
(Guangzhou University of TCM, Guangzhou, 510405)

Abstract: The effect of Shengfukang(SFK) was observed by determining the content of urine protein, serum total protein, serum album(A), serum globulin(G), A/G, serum cholesterol, serum creatinine, serum urinary nitrogen. To explore the mechanisms of SFK in treating experimental PHN in rats, the content of LPO and the activity of SOD and GSH-Px in serum and kidney tissue were determined. The results showed that SFK could remarkably eliminate urine protein, while the content of serum total protein, serum album, serum globulin and A/G were increased, And SFK could decreased the content of serum cholesterol, serum creatinine and serum urinary nitrogen. The results also showed that SFK could decrease the content of LPO in kidney and serum, while the activity of SOD and GSH-Px was increased in PHN model rats.

Key words: ShengFuKang, Experimental Passive-Heymann Nephritis model

慢性肾小球肾炎是一组临床表现相似, 但病因、病理变化、临床经过和预后不尽相同的肾小球疾病。现代医学对这类疾病至今尚无理想疗法, 对恢复肾脏功能更乏良术。从国内对慢性肾衰资料分析看, 在引起末期慢性肾衰的各种病因中, 慢性肾小球肾炎占首位。因此, 寻求防治慢性肾小球肾炎的有效措施和改善肾脏功能的药物疗法, 将是一项十分重要的课题。从中医药宝库中挖掘治疗慢性肾小球肾炎的新型药物, 具有重要的意义。肾复康是我校第一临床医学院洪钦国教授的经验方, 以雷公藤等为

君药, 取其清热解毒、祛风胜湿、活血消肿的功效, 配以黄芪以健脾益气, 三七、益母草以活血化瘀, 具有疗效高(观察 70 例, 总有效率达 77.1%, 其中治愈率达 22.9%)、副作用小、复发率低等优点^[1]。本课题采用被动型 Heymann 肾炎大鼠模型研究肾复康的药效, 并初步探讨了其作用机理。

1 材料

1.1 药物 肾复康(雷公藤、黄芪等以不同浓度乙醇提取, 制备干浸膏粉, 益母草、茵陈等用水提制备干浸膏粉, 以上浸膏粉加三七粉混和制备胶囊^[2]。本制剂质量控制以雷酚内脂为主要质量控制指标, 薄层扫描法测定雷酚内酯含量为 2.05mg% [g/g]^[3])—广州中医药大学中药学院制剂工艺研究室提供, 批号: 980111; 雷公藤多苷片: 上海医科大学红

收稿日期: 2000-10-23

基金项目: 国家中医药管理局重点课题 No: 95B133; 广东省中医药管理局课题 No: B98027

旗制药厂产品,批号:971001;醋酸泼尼松片:仙居制药股份有限公司产品,批号:9805161。弗氏完全佐剂—来自Sigma公司;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化脂质(LPO)、谷胱甘肽过氧化物酶(GXH-PX)测试试剂盒及其他生化测试试剂:来自南京建成生物工程研究所。

1.2 动物 新西兰兔, (2.5 ± 0.3) kg, 雄性; SD 大鼠, 雄性, 200~ 250g, 普通级, 由广州中医大药理学实验动物中心提供, 动物合格证号: 98A021。

2 方法

2.1 近曲小管刷状缘抗原制备 参照 Heymann 方法^[4], 取 200~ 250g 雄性 SD 大鼠, 麻醉后仰卧位固定, 取腹部正中切口, 用 4ml 含肝素磷酸缓冲液(PBS)灌注肾脏, 取下肾脏, 低温下分离肾实质, 过 150 目不锈钢筛网, 收集滤液, 离心(4000 转/min), 9min), 弃沉淀, 上清液再离心 3 次, 至上清液无沉淀, 上清液超速离心(70 000 转/min, 45min) 弃上清液, 吹打沉淀, 反复洗涤 3 次, 最后沉淀物即为近曲小管刷状缘抗原, 冷冻干燥, 保存在- 30℃。

2.2 大鼠肾炎模型的复制及实验分组 取雄性新西兰兔 4 只, 每只取 10mg 近曲小管刷状缘抗原用 0.1ml 弗氏完全佐剂乳化, 皮下多点注射, 每周 2 次, 共 6 次, 放血制成血清, 测效价为 1: 64, 按 10ml/(kg 体重) 剂量从尾静脉注射给雄性 SD 大鼠 80 只(正常组 10 只除外), 一周后出现尿蛋白, 动物毛竖起疏松, 体重减轻, 活动减少, 食欲减弱, 14d 后选取定性测定尿蛋白为“+++”大鼠 60 只随机分为 6 组, 同时按 20ml/kg 容积灌胃给药(每周按称重后调整给药剂量), 中药阳性药组给予雷公藤多苷, 西药阳性药组给予醋酸泼尼松, 肾复康组给予高、中、低剂量的肾复康, 正常组与模型组给予等容量的蒸馏水。

2.3 观察项目 分别在给药第 21d 和 42d 收集各大鼠 24h 尿液, 进行尿蛋白定量实验; 从眼眶静脉取

血, 检测血清总蛋白、白蛋白、白蛋白/球蛋白(A/G)、胆固醇、肌酐及尿素氮的变化情况。检测血清和肾脏组织过氧化脂质(LPO)含量、总超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性。

3 结果

3.1 肾复康对被动型 Heymann 肾炎模型尿蛋白的作用 高、中、低剂量的肾复康在药后 21d 和 42d 均显著消除被动型 Heymann 肾炎模型大鼠尿蛋白的作用, 与模型组比较 $P < 0.01$ 。作用与雷公藤多苷组、醋酸泼尼松组相似(见表 1)。

表 1 肾复康对被动型 Heymann 肾炎模型大鼠尿蛋白含量的影响($n = 10; \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(ω /g·kg ⁻¹)	21d 尿蛋白总量 (m24h/mg)	42d 尿蛋白总量 (m24h/mg)
正常组	—	3.83 ± 0.927	4.04 ± 0.677
模型组	—	84.02 ± 12.376 ##	94.22 ± 9.451 ##
高剂量肾复康	1.452	70.53 ± 7.163**	65.19 ± 6.119**
中剂量肾复康	0.726	68.23 ± 7.938**	69.04 ± 10.958**
低剂量肾复康	0.363	72.72 ± 11.188**	77.47 ± 10.993**
雷公藤多苷	0.0165	66.38 ± 9.784**	62.14 ± 6.961**
醋酸泼尼松	0.0055	64.45 ± 5.660**	58.17 ± 7.281**

注: 与正常对照比较# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与模型组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (下同)

3.2 肾复康对被动型 Heymann 肾炎模型血清生化指标的影响 结果表明, 高、中剂量的肾复康在药后 42d 表现明显升高被动型 Heymann 肾炎模型大鼠血清总蛋白、白蛋白含量及白蛋白/球蛋白(A/G)比值($P < 0.01 \sim 0.05$)(见表 2)。高、中、低剂量的肾复康显著降低被动型 Heymann 肾炎模型大鼠胆固醇含量、甘油三酯含量($P < 0.01 \sim 0.05$), 高、中剂量肾复康显著降低血清肌酐和尿素氮含量($P < 0.01 \sim 0.05$), 对肾功能具有保护作用(见表 3)。各项血清生化指标的改善均与雷公藤多苷组、醋酸泼尼松组相近。

表 2 肾复康药后 42d 对被动型 Heymann 肾炎模型大鼠血清蛋白含量的影响($n = 10; \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(ω /g·kg ⁻¹)	总蛋白 (ρ g·l ⁻¹)	白蛋白 (ρ g·l ⁻¹)	球蛋白 (ρ g·l ⁻¹)	白蛋白/球蛋白(PA/G)
正常组	—	76.09 ± 1.988	32.66 ± 1.157	43.43 ± 2.321	0.75 ± 0.059
模型组	—	61.49 ± 6.388 ##	22.32 ± 4.252 ##	39.19 ± 3.565 #	0.57 ± 0.104 ##
高剂量肾复康	1.452	73.23 ± 2.424**	31.62 ± 1.570**	41.61 ± 2.421	0.76 ± 0.065**
中剂量肾复康	0.726	72.04 ± 4.397**	32.03 ± 3.112*	40.01 ± 2.184	0.80 ± 0.075**
低剂量肾复康	0.363	65.25 ± 5.858	26.76 ± 5.391	38.49 ± 2.5953	0.70 ± 0.156*
雷公藤多苷	0.0165	74.45 ± 1.770**	32.28 ± 2.027**	42.17 ± 3.314	0.77 ± 0.108**
醋酸泼尼松	0.0055	75.03 ± 3.244**	33.25 ± 2.804**	41.78 ± 2.624	0.80 ± 0.095**

表 3 肾复康药后 42d 对被动型 Heymann 肾炎模型大鼠血清生化指标的影响 (n = 10; $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(ω /g·kg ⁻¹)	甘油三酯 (C/mmol·L ⁻¹)	胆固醇 (C/mmol·L ⁻¹)	血清肌酐 (C/ μ mol·L ⁻¹)	血清尿素氮 (C/mmol·L ⁻¹)
正常组	—	0.29 ± 0.071	0.95 ± 0.111	20.8 ± 3.46	4.21 ± 1.199
模型组	—	0.96 ± 0.186##	1.83 ± 0.268##	52.0 ± 7.92##	15.79 ± 2.756##
高剂量肾复康	1.452	0.67 ± 0.164**	1.53 ± 0.244*	37.7 ± 6.27**	11.70 ± 2.308**
中剂量肾复康	0.726	0.78 ± 0.177**	1.00 ± 0.153**	26.7 ± 5.89**	12.69 ± 2.469*
低剂量肾复康	0.363	0.69 ± 0.157**	1.56 ± 0.287*	44.5 ± 11.23	15.97 ± 2.032
雷公藤多苷	0.0165	0.73 ± 0.138**	0.96 ± 0.122**	35.9 ± 7.96**	14.76 ± 2.756**
醋酸泼尼松	0.0055	0.60 ± 0.109*	0.94 ± 0.143**	32.8 ± 10.41**	12.88 ± 3.551

3.3 肾复康对被动型 Heymann 肾炎大鼠血清 SOD、LPO 及 GSH-PX 含量的影响 结果表明,高、中、低剂量的肾复康能显著抑制被动型 Heymann 肾炎模型大

鼠血清的 LPO 含量升高及血清总 SOD 及 GSH-PX 活性的降低 (P < 0.01)。作用与醋酸泼尼松及雷公藤多苷相当(见表 4)。

表 4 肾复康对被动型 Heymann 肾炎大鼠血清 SOD LPO 及 GSH-PX 含量的影响 (n = 10; $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(ω /g·kg ⁻¹)	SOD(C/Nu·mL ⁻¹)	LPO(C/nmol·mL ⁻¹)	GSH-PX(C/nmol·mL ⁻¹)
正常组	—	87.74 ± 23.37	63.22 ± 11.702	80.75 ± 15.296
模型组	—	42.10 ± 18.748##	113.55 ± 11.051##	34.83 ± 18.736##
高剂量肾复康	1.452	103.76 ± 19.612**	74.84 ± 19.043**	63.33 ± 20.440**
中剂量肾复康	0.726	95.43 ± 18.097**	73.55 ± 14.329**	49.08 ± 20.373
低剂量肾复康	0.363	65.11 ± 28.145*	91.61 ± 12.464**	43.54 ± 20.525
雷公藤多苷	0.0165	99.93 ± 38.073**	80.64 ± 17.796**	72.04 ± 16.459**
醋酸泼尼松	0.0055	100.63 ± 28.022**	69.03 ± 10.558**	88.67 ± 13.863**

3.4 肾复康对被动型 Heymann 肾炎大鼠肾组织 SOD LPO 及 GSH-PX 含量的影响 结果表明,高、中剂量的肾复康能显著抑制被动型 Heymann 肾炎模型

大鼠肾组织的 LPO 含量升高及肾组织总 SOD 及 GSH-PX 活性的降低 (P < 0.01)。作用与醋酸泼尼松及雷公藤多苷相近(见表 5)。

表 5 肾复康对被动型 Heymann 肾炎大鼠肾组织 SOD LPO 及 GSH-PX 含量的影响 (n = 10; $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(ω /g·kg ⁻¹)	SOD(C/Nu·mgport ⁻¹)	LPO(C/nmol·mgport ⁻¹)	GSH-PX(C/nmol·mgport ⁻¹)
正常组	—	9.12 ± 1.386	4.98 ± 1.170	2.02 ± 0.368
模型组	—	7.79 ± 1.120#	7.40 ± 0.691##	0.76 ± 0.264##
高剂量肾复康	1.452	9.79 ± 1.250**	4.37 ± 0.997**	1.61 ± 0.400**
中剂量肾复康	0.726	9.64 ± 1.016**	6.37 ± 0.453**	1.34 ± 0.411**
低剂量肾复康	0.363	7.42 ± 1.235	7.53 ± 0.526	1.14 ± 0.346**
雷公藤多苷	0.0165	9.60 ± 1.128**	4.48 ± 1.002**	1.71 ± 0.399**
醋酸泼尼松	0.0055	9.87 ± 1.201**	5.12 ± 0.884**	2.09 ± 0.415**

4 讨论

被动型 Heymann 肾炎 (Passive Heymann Nephritis, PHN) 是研究人类膜性肾病的经典模型,大量尿蛋白为显著特征。肾小球基底膜 (GBM) 作为滤过屏障的重要组成部分,其结构异常在尿蛋白产生中起

重要作用。近曲小管刷状缘抗原是近曲小管刷状缘的一种大分子量的高密度脂蛋白。PHN 发展迅速,重视性好,临床症状、病理学改变与人的膜性肾炎很相似。PHN 的发病机制目前认为是肾小球上皮免疫复合物原位沉积导致膜改变并激活补体,形成补

体膜攻击化合物, 引发炎症反应^[5]。本研究结果表明, 肾复康能显著减轻被动型 Heymann 肾炎模型大鼠的尿蛋白, 抑制被动型 Heymann 肾炎模型大鼠的血清白蛋白和总蛋白的降低及血清胆固醇、心肌酐及血清尿素氮的升高, 同时改善肾小球组织的病理变化。提示肾复康对被动型 Heymann 肾炎模型大鼠有较好的治疗作用。被动型 Heymann 肾炎模型大鼠血清和肾组织的脂质过氧化物含量明显增加, 提示病变过程中存在组织细胞的脂质过氧化损伤。实验性肾小球肾炎有较明显的细胞增殖、炎症细胞浸润、血栓形成和肾小球肿胀等炎症反应, 同时血小板被激活, 激活的血小板释放化学介质, 又可加重炎症反应, 炎症过程中产生大量的活性氧, 肾组织系膜细胞也可产生活性氧。活性氧使肾组织发生脂质过氧化损伤, 血清及肾组织的 LPO 含量升高; 肾小球毛细血管通透性增加, 使渗出增多, 致细胞及间质水肿, 内皮细胞肿胀, 上皮细胞足突消失, 基底膜降解。被动型 Heymann 肾炎模型大鼠血清和肾组织的 SOD 和 GSH-PX 含量明显下降, 提示机体的抗氧化能力减弱, 不能清除病理过程中活性氧, 从而使肾组织严重受损。与最近的一些报道^[6], 肾小球肾炎时, 机体的脂质过氧化速率增加, 抗氧化能力下降, 表现为 LPO

升高, SOD 和 GSH-PX 活性下降相吻合。高、中、低剂量肾复康、雷公藤多苷、醋酸泼尼松均可降低尿蛋白, 抑制 LPO 的生成, 减少 LPO 对细胞结构及功能的严重损害, 表现血清和肾组中 LPO 的含量降低, 增加 SOD 和 GSH-PX 的活性, 可保护细胞和细胞膜, 缓解炎症。

参考文献

- [1] 汤水福, 洪钦国. 肾复康治疗肾病综合征的临床研究[J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17(2): 134.
- [2] 王旭深, 周莉玲. 雷公藤及其有效成分在制剂工艺中动态变化的研究[J]. 中成药, 1999, 21(1): 21.
- [3] 周莉玲, 王旭深. 雷公藤药材中雷酚内的薄层扫描法测定[J]. 中国中药杂志, 1999(1): 14.
- [4] Heymann W, Hackel D, Harwood S. Production of nephritic syndrome in rats by Freud's adjuvants and rat kidney suspensions[J]. Proc Soc Exp Med, 1959, 100: 660.
- [5] 王迎伟, 张建民, 王晓红. 被动型 Heymann 肾炎发病机制的实验研究[J]. 中华病理学杂志, 1993, (6): 369.
- [6] 廖新波. 氧自由基在肾小球肾炎发病机制中的意义[J]. 国外医学, 生理、病理科学与临床分册, 1993, (1): 7.