

黄芪多糖对 5/6 肾切除大鼠的肾保护作用研究

戴 芹 曲晓璐 唐咏华 李华萍

(上海市浦东新区浦南医院, 上海 200125)

摘 要 目的:观察 5/6 肾切除大鼠经黄芪多糖干预后的肾功能变化,探索其作用机制。方法:大鼠造模 4 周后根据血肌酐值随机分为肾衰模型组、假手术组及黄芪多糖干预组。黄芪多糖干预组予黄芪多糖水溶剂灌胃($1000\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),其余 2 组灌服饮用水。8 周后检测 3 组大鼠肾功能、血脂及肾组织中 SOD、MDA 含量。结果:与假手术组比较,肾衰模型组大鼠尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、丙二醛(MDA)水平明显升高,高密度脂蛋白(HDL)、超氧化物歧化酶(SOD)含量明显降低。与肾衰模型组比较,黄芪多糖干预组大鼠 BUN、SCr、TC 和 LDL 含量均显著降低,而 HDL 含量明显升高,肾组织中 SOD 活性明显增加,MDA 含量则明显降低。结论:黄芪多糖能显著改善肾衰大鼠的肾功能,其作用机制可能与调节血脂代谢和抗氧化作用相关。

关键词 肾衰大鼠 氧化应激 黄芪多糖 肾功能 血脂 SOD MDA

中图分类号 R285.5

文献标识码 A

文章编号 1672-397X(2014)06-0075-02

慢性肾脏病患者存在氧化应激反应增强,氧化应激加重了肾脏疾病的发生和发展,同时是引起心血管以及神经系统等其他脏器发病的重要因素之一^[1]。氧化应激是与慢性肾脏病患者的预后密切相关的因素^[2]。观察慢性肾脏病患者体内的氧化应激水平并予以干预,有利于慢性肾脏病及其并发症的防治。中药黄芪是一味重要的补气药物,有多篇文献报道黄芪或以黄芪为主药的中药具有改善慢性肾衰患者肾功能的作用。我们前期的研究也发现 5/6 肾切除模型大鼠体内呈氧化应激状态,中药黄芪对模型大鼠具有一定的改善肾功能及抗氧化作用,且呈剂量依赖性^[3-4]。为了进一步研究黄芪抗氧化作用的具体有效成分,我们对黄芪的主要成分——黄芪多糖进行了深入研究,现报道如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 6~8 周龄 Wister 雄性大鼠 30 只,体重 160~180g。由中国科学院上海实验动物中心提供。所有动物在同一动物房中饲养,自由进食和饮水,常规环境适应性饲养 3d 后进行实验。

1.2 实验药物 黄芪多糖,由上海中药现代化研究中心提供。

1.3 仪器与试剂 相关指标(肾功能、血脂及 SOD、MDA)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

2 实验方法

2.1 造模与分组 大鼠在鼠笼内适应 3d 后,将其按体重随机分成 2 组:假手术组 10 只和造模组 20 只。采用经典的 platt 法建立慢性肾衰模型^[5]。方法如下:戊巴比妥按 20mg/kg 的剂量麻醉大鼠。将大鼠左侧肋骨靠背部的皮肤备皮,酒精棉球消毒,大鼠仰卧,下肢交叉固定于大鼠板上,左肋缘下约

0.5cm 处用手术刀片切一约 1.5cm 的切口,轻轻挤压可见肾脏,仔细分离肾周脂肪和肾包膜,上下端各切除 1/3 肾组织,手术创面滴加凝血酶溶液止血,待创面无明显出血后将残肾放入腹腔,分层缝合肌肉和皮肤。1 周后,同样麻醉后打开右侧肾脏,分离脂肪和肾包膜后结扎右肾,切去右肾,缝合肌肉和皮肤。2 次手术共切去双肾的 5/6。假手术组大鼠采用同样步骤:切开左、右侧肋缘靠背部皮肤及肌肉层,轻压出肾脏,分离肾包膜,不予肾切除。于右肾切除后 28d,鼠尾静脉采血检测 SCr 值。造模组大鼠死亡 1 只,剩余 19 只模型大鼠根据所测 SCr 值随机分为肾衰模型组 9 只、黄芪多糖干预组 10 只。

2.2 给药方法 29 只大鼠均正常饮水和进食,其中黄芪多糖组予黄芪多糖水溶剂($1000\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 2mL/d)灌胃^[6];其余 2 组大鼠同时每天予饮用水 2mL 灌胃。每日 1 次,灌胃时间为 8 周。

2.3 标本采集和指标检测 灌胃 8 周后戊巴比妥麻醉,行下腔静脉采血。取血 3mL 不抗凝,离心后分离以备检测尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)及血脂;取肾组织用液氮速冻后置于 -80°C 冰箱备用。肾功能及血脂由上海中医药大学安评中心应用全自动生化仪检测。按照试剂盒的说明检测大鼠肾组织超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。

2.4 统计学方法 采用 SPSS16.0 软件统计数据,实验结果以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,数值比较采用 One-Way ANOVA,统计学差异的标准为 $P<0.05$ 。

3 实验结果

灌胃期间肾衰模型组大鼠死亡 1 只,黄芪多糖干预组死亡 1 只。

基金项目:上海市“杏林新星”人才培养项目(ZYSNXD011-RC-XLXX-20130003);上海市浦东新区优秀青年医师培养计划(PWRq2012-30)

3.1 各组大鼠干预后肾功能情况 见表1。

表1 各组大鼠干预后Scr、BUN含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	Scr($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)
假手术组	10	45.34 $\pm$ 2.64	6.65 $\pm$ 0.58
肾衰模型组	8	87.96 $\pm$ 11.72 ^{##}	15.77 $\pm$ 5.68 ^{##}
黄芪多糖干预组	9	78.36 $\pm$ 3.80 [*]	11.50 $\pm$ 1.05 [*]

注:与肾衰模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与假手术组比较,## $P<0.01$ 。

3.2 各组大鼠干预后血脂情况 见表2。

表2 各组大鼠干预后血脂指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL(mmol/L)	HDL(mmol/L)
假手术组	10	1.41 $\pm$ 0.17	1.78 $\pm$ 0.53	0.163 $\pm$ 0.042	1.45 $\pm$ 0.41
肾衰模型组	8	2.42 $\pm$ 0.68 ^{##}	2.64 $\pm$ 0.36 ^{##}	0.280 $\pm$ 0.082 ^{##}	0.94 $\pm$ 0.13 ^{##}
黄芪多糖干预组	9	1.76 $\pm$ 0.79 [*]	2.19 $\pm$ 0.62	0.202 $\pm$ 0.023 [*]	1.31 $\pm$ 0.45 [*]

注:与肾衰模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与假手术组比较,## $P<0.01$ 。

3.3 各组大鼠干预后肾组织SOD与MDA含量比较 见表3。

表3 各组大鼠干预后肾组织SOD、MDA含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	SOD(U/mL)	MDA(nmol/mL)
假手术组	10	240.25 $\pm$ 12.97	0.76 $\pm$ 0.18
肾衰模型组	8	193.18 $\pm$ 48.32 ^{##}	1.40 $\pm$ 0.22 ^{##}
黄芪多糖干预组	9	207.88 $\pm$ 20.17 ^{**}	1.16 $\pm$ 0.11 [*]

注:与肾衰模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与假手术组比较,## $P<0.01$ 。

4 讨论

黄芪是一味重要的具有益气固本作用的中药。研究发现,黄芪富含硒等微量元素,能保护肾小球基底膜的电荷屏障和机械屏障,使得肾小球基底膜通透性降低,减少尿蛋白,抑制肾脏肥大,使得白蛋白合成增加,肾脏血流量增加,从而达到降低尿蛋白的作用^[7-8]。我们在前期研究中也发现,黄芪具有肾保护作用,与其抗氧化作用有关^[9]。丁瑞恒等^[9]用黄芪干预经晚期糖基化终末产物作用的系膜细胞,发现其能抑制系膜细胞的增殖,增加系膜细胞膜表面的负电荷,并且对抗AGEs诱导凋亡的作用,对系膜细胞有良好的保护作用,也间接地证明了黄芪具有很好的抗氧化作用。

黄芪多糖为黄芪的有效成分之一,有临床研究发现:黄芪多糖具有益气通瘀、补脾肾而助气化的功效,而益气通瘀药物可以促进血液流动,阻止肾小球增大,改善肾功能,并再次证实黄芪多糖具有一定的降脂作用,可明显降低患者的TC和LDL-C,升高保护性HDL-C水平,促进肾脏微循环,从而保护肾脏^[10]。吴朝妍等^[9]实验中发现黄芪多糖可以抑制NF- κ B和TGF- β 1的表达,促进肾组织细胞外基质的降解,从而延缓肾小球硬化。所以,黄芪多糖能改善微循环,纠正脂质代谢紊乱,增加肾脏血供,减少血脂在肾小球和肾间质的沉积和微血栓的形成,从而改善肾功能,防止肾小球硬化^[11]。

肾大部切除的大鼠模型是动物实验中经典的慢性肾衰模型。本研究中我们观察到:肾衰模型组大鼠BUN、Scr较假手术组显著升高,再次体现了该模型的可重复性。目前普遍认为,慢性肾脏病时氧化应激反应增强,导致蛋白质、脂质、碳水化合物及核酸的过氧化等^[12]。目前检测氧化应激水平主

要通过检测体内氧化应激产物和还原酶系。脂质过氧化最终产生的物质为丙二醛,SOD的唯一底物为超氧阴离子,它是酶类的清除剂,是抗氧化作用的重要成分。在生理情况下,人体内的Mn-SOD和Cu-SOD可迅速地催化超氧阴离子自由基转化为过氧化氢,促过氧化氢在过氧化氢酶的作用下生产水和氧分子,完全灭活了氧自由基,阻断其对肾脏组织细胞的氧化损伤反应。慢性肾功能不全患者SOD明显缺乏,过量的氧自由基引起肾组织细胞损伤及循环系统等其他组织器官损伤。本研究中我们观察到,肾衰模型组大鼠SOD活性明显降低,MDA水平显著升高,表明了模型大鼠体内亦呈明显的氧化应激状态。与肾衰模型组相比,黄芪多糖干预8周后,血尿素氮和肌酐水平明显下降,肾功能明显改善。黄芪多糖干预组大鼠HDL水平明显增高,TC、LDL水平明显降低,肾组织中的MDA浓度显著的下降,SOD活性显著上升,表明了黄芪多糖能够很好地改善大鼠体内的氧化应激状态。

综上所述,黄芪多糖对慢性肾衰大鼠有一定的肾保护作用,其可能的机制与改善模型大鼠的脂质代谢,发挥其抗氧化作用有关。上述实验结果为我们临床上应用黄芪多糖治疗慢性肾病患者,改善其脂质代谢紊乱,延缓其肾衰进程提供了实验依据。

5 参考文献

- [1] Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, et al. Outcome and risk factors of ischemic heart disease in chronic uremia. *Kidney Int*, 1996, 49: 1428
- [2] Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant*, 2003, 18: 1272
- [3] 戴芹, 曲晓璐, 汤加铭, 等. 黄芪对慢性肾功能衰竭大鼠抗氧化作用的研究. *中国中西医结合急救杂志*, 2009, 16(4): 223
- [4] 戴芹, 曲晓璐, 唐咏华. 黄芪对慢性肾功能衰竭大鼠SOD和MDA的影响. *中国中西医结合肾病杂志*, 2008, 9(12): 1083
- [5] Platt R, Roscoe MH, Smith FW. Experimental renal failure. *Clin Sci (Lond)*, 1952, 11(3): 217
- [6] 吴朝妍, 张莹雯. 黄芪多糖对肾阳虚型糖尿病大鼠肾组织NF- κ B、TGF- β 1的影响. *武汉大学学报(医学版)*, 2006, 27(3): 381
- [7] 倪兆慧, 张庆怡, 钱家麒, 等. 黄芪皂甙对人系膜细胞基质分泌和 β 1整合素表达的影响. *中华肾脏病杂志*, 2000, 16(5): 303
- [8] 翟学文, 蔡秀丽, 牛玉平. 肾综合征出血热发热期加用黄芪注射液合参麦注射液疗效观察. *中国中西医结合急救杂志*, 2001, 8(3): 156
- [9] 丁瑞恒, 廖蕴华. 黄芪对晚期糖基化终末产物作用下肾小球系膜细胞的影响. *江苏中医药*, 2011, 43(3): 82
- [10] 曹闻, 张莹雯. 黄芪多糖冲剂治疗糖尿病肾病的临床观察. *湖北中医杂志*, 2007, 29(4): 12
- [11] 刘洪玲, 姜惠卿, 侯玉梅, 等. 黄芪多糖治疗糖尿病的药理作用探要. *中国药师*, 2004, 7(8): 585
- [12] 冯曦, 刘同强, 李娟娟. N-乙酰半胱氨酸对糖尿病大鼠肾脏应激的影响. *中国临床医学*, 2008, 15(6): 842

第一作者:戴芹(1978-),女,博士研究生,主治医师,从事中西医结合治疗肾脏疾病的临床与基础研究。
dai11qin@sina.com

收稿日期:2014-03-20

编辑:吴宁