

黄芪对慢性肾功能衰竭大鼠抗氧化作用的研究

戴芹¹, 曲小璐¹, 汤家铭², 米金霞²

(1. 上海市浦东新区浦南医院肾内科, 上海 200125; 2. 上海中医药大学动物实验中心, 上海 200000)

【摘要】 目的 探讨黄芪对慢性肾功能衰竭(CRF)大鼠肾功能和血浆超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)含量的影响。方法 将大鼠随机分为假手术组、模型组及黄芪低、中、高剂量组, 每组 8 只。采用切除 5/6 肾的方法制备 CRF 模型。黄芪各组予不同浓度的黄芪水煎液 2 ml/d 灌胃(低、中、高剂量组分别含生药量 0.1、0.2、0.4 kg/L), 模型组及假手术组均予等量蒸馏水灌胃。8 周后观察各组大鼠血清肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)及血浆 SOD、MDA 水平的变化。结果 模型组大鼠 SCr、BUN、MDA 明显高于假手术组, SOD 活性明显低于假手术组(P 均 <0.01); 黄芪各剂量组 SCr、BUN、MDA 均较模型组显著降低, SOD 活性则显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 其中以黄芪高剂量组最为明显(P 均 <0.05)。结论 黄芪能明显改善 CRF 大鼠的肾功能及体内的氧化应激反应; 高剂量的黄芪抗氧化能力优于低剂量。

【关键词】 黄芪; 抗氧化; 肾功能衰竭; 慢性

中图分类号: R285.5; R256.5 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.04.009

Study of anti-oxidation effect of astragali on rats with chronic renal failure DAI Qin*, QU Xiao-lu, TANG Jia-ming, MI Jin-xia. * Department of Nephrology, Shanghai Punan Hospital of Pudong New District, Shanghai 200125, China.

【Abstract】 **Objective** To approach the effect of astragali (黄芪) on renal function, the activity of plasma superoxide dismutase (SOD) and content of malondialdehyde (MDA) in rats with chronic renal failure (CRF). **Methods** Rats were randomly divided into sham operation, model and astragali low-dose, middle-dose and high-dose treatment groups (the content of crude drug was 0.1, 0.2 and 0.4 kg/L, respectively, each $n=8$). The CRF model was established by subtotal renal ablation (5/6). Astragali decoction 2 ml/d with different concentrations was infused daily into the stomach in astragali treatment groups. Equal amount of distilled water was infused daily into the stomach in model and sham operation groups. After the treatment for 8 weeks in various groups, the changes of serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), SOD and MDA were observed. **Results** The levels of SCr, BUN, MDA in model group were significantly higher than those in sham operation group, while the activity of SOD in the former group was markedly lower than that in the latter group (all $P<0.01$). Compared with model group, all the levels of SCr, BUN and MDA were obviously lower and the activities of SOD, obviously higher in various astragali groups ($P<0.05$ or $P<0.01$), among which the effect of high-dose group was the most significant (all $P<0.05$). **Conclusion** Astragali can improve the renal function and oxidative stress reaction in CRF rats. The astragali effect of anti-oxidation in the high-dose group is the best among the various dosage groups.

【Key words】 astragali; anti-oxidation; chronic renal failure

慢性肾功能衰竭(CRF)患者存在氧化应激, 抗氧化剂可延缓 CRF 进展, 减轻或预防其并发症发生, 在血液透析前就应使用^[1]。本研究旨在观察黄芪对 CRF 大鼠体内氧化应激的影响及其量效关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物及模型制备: 6~8 周龄雄性成年 Wistar 大鼠 41 只, 体重(200±20)g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 由上海中医药大学实验动物

基金项目: 上海市浦东新区社会发展局青年基金(2007B-4)

作者简介: 戴芹(1978-), 女(汉族), 江苏省人, 医学硕士, 主治医师, Email: daiqin782003@yahoo.com.cn.

中心提供并饲养。大鼠适应性喂养 1 周后, 按随机数字表法分为假手术组(8 只)和模型组(33 只)。按照文献[2]方法制备 CRF 大鼠模型; 假手术组大鼠采用同样步骤暴露肾脏, 分离肾包膜, 但不切除肾。于术后 2 周断尾采血, 检测血肌酐(SCr), 模型组大鼠 SCr 明显高于假手术组($P<0.01$), 表明制模成功。模型组动物死亡 1 只, 假手术组全部存活。再将 32 只模型大鼠按随机数字表法分为 4 组, 每组 8 只, 后 3 组分别给予含生药量 0.1、0.2、0.4 kg/L 的黄芪水煎液灌胃(分别为黄芪低、中、高剂量组)。

1.2 给药方法: 黄芪各剂量组给予黄芪水煎液

2 ml/d 灌胃, 模型组、假手术组给予等量蒸馏水。灌胃时间均为 8 周。

1.3 检测指标及方法: 灌胃 8 周后用乌拉坦麻醉大鼠, 经腹主动脉采血 6 ml。其中 3 ml 血不抗凝, 离心后用全自动生化分析仪测定尿素氮(BUN)、SCr(由上海中医药大学药物安全评价中心检测); 3 ml 血用肝素抗凝, 迅速低温离心 15 min(4 ℃), 取血浆保存在 -70 ℃ 待测氧化指标。采用硫代硫酸巴比妥法测定丙二醛(MDA), 用比色法测定超氧化物歧化酶(SOD), 根据试剂盒(由南京建成生物工程公司提供)操作流程使用酶标仪检测。

1.4 统计学方法: 采用 SPSS 10.0 统计软件包, 结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠治疗后肾功能比较(表 1): 模型组 SCr、BUN 均显著高于假手术组(P 均 < 0.01); 黄芪低、中、高剂量组 SCr、BUN 较模型组明显降低, 其中以黄芪高剂量组降低程度最为显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠治疗后肾功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	SCr($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)
假手术组	8	25.88 ± 1.96	7.69 ± 0.85
模型组	8	73.63 ± 12.72 ^a	21.80 ± 1.65 ^a
黄芪低剂量组	8	59.50 ± 13.67 ^b	17.50 ± 5.43 ^b
黄芪中剂量组	8	56.43 ± 12.37 ^c	16.19 ± 2.94 ^c
黄芪高剂量组	8	49.13 ± 2.70 ^{cd}	14.02 ± 1.86 ^{cd}

注: 与假手术组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与黄芪低剂量组比较, ^d $P < 0.05$

2.2 各组大鼠治疗后氧化应激指标比较(表 2): 与假手术组比较, 模型组 SOD 活性显著降低, MDA 含量显著升高(P 均 < 0.01); 黄芪中、高剂量组 SOD 活性较模型组显著升高, MDA 含量则较模型组显著降低, 且黄芪高剂量组 MDA 含量降低程度大于低剂量组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠治疗后血浆 SOD 活性及 MDA 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	SOD(kU/L)	MDA($\mu\text{mol/L}$)
假手术组	8	103.80 ± 5.17	4.82 ± 3.68
模型组	8	96.86 ± 2.08 ^a	11.19 ± 3.36 ^a
黄芪低剂量组	8	100.03 ± 3.15	9.98 ± 3.96
黄芪中剂量组	8	100.95 ± 1.31 ^b	7.45 ± 2.43 ^b
黄芪高剂量组	8	101.69 ± 2.29 ^c	6.52 ± 1.89 ^{cd}

注: 与假手术组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与黄芪低剂量组比较, ^d $P < 0.05$

3 讨论

氧化和抗氧化平衡是维持机体内环境稳定的必要因素之一。生理情况下, 机体细胞内存在着氧自由基与抗氧化酶类系统的动态平衡, 从而保证了机体细胞的正常生理活动。病理情况下, 该系统失衡, 抗氧化酶类活性降低或氧自由基产生过高, 就会产生氧化应激^[3], 导致细胞功能障碍和衰竭。

研究表明, CRF 患者存在明显的氧化应激, 从而加剧了 CRF 患者的病情及其并发症的发生^[4-6]。Singh 等^[7]认为活性氧(ROS)在肾脏疾病的病理生理过程中起着关键作用, 氧化应激状态时体内 ROS 明显增加, 抗氧化剂显著减少, 导致氧化与抗氧化动态平衡被破坏, 介导了细胞的损伤。Terawaki 等^[1]经临床研究发现, 氧化应激还加重了 CRF 患者的肾功能不全, 作者认为氧化应激是加剧 CRF 患者病情进展及促进某些并发症发生的一个重要因素。清除或使用饮食、抗氧化药物纯化 ROS 可减轻、预防氧化应激, 从而减轻、抑制由此导致的肾脏损伤^[8]。

黄芪是补气主药, 现代药理研究发现其富含微量元素硒, 对基底膜的电荷屏障和机械屏障均有保护作用, 可降低肾小球基底膜通透性及尿蛋白, 抑制肾脏肥大^[9], 促进白蛋白合成, 增加血流量, 降低尿蛋白^[10]; 周苏宁等^[11]观察黄芪注射液防治体外循环内心直视手术中心肌缺血/再灌注损伤的机制发现, 黄芪注射液可降低 MDA 含量, 提高 SOD 活性, 升高再灌注后一氧化氮(NO)及一氧化氮合酶(NOS)活性, 减少自由基生成和增加清除率。

本研究中用黄芪水煎液干预结果显示, 模型大鼠 8 周后 SCr、BUN、MDA 均明显升高, SOD 明显降低, 表明模型大鼠有明显的肾功能损害和氧化应激反应。而用黄芪水煎液灌胃 8 周后, 各浓度组大鼠 SCr、BUN、MDA 水平明显下降, SOD 明显升高, 表明黄芪可通过显著升高 SOD 活性而清除氧自由基, 从而减轻氧自由基对肾脏细胞的损伤, 同时黄芪能够减少 MDA 含量, 具有明显的抗氧化作用^[10, 12-14]。同时, 我们通过量效研究发现, 高剂量黄芪抗氧化能力明显优于低剂量。

综上所述, 黄芪能明显改善 CRF 大鼠肾功能, 减轻其体内的氧化应激。本实验结果为临床治疗慢性肾病过程中用黄芪进行抗氧化提供了实验依据。

参考文献

[1] Terawaki H, Yoshimura K, Hasegawa T, et al. Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction; examination with the redox state of albumin[J]. Kidney Int, 2004, 66(5): 1988-1993.

- [2] Shea SM, Raskova J, Morrison AB. A stereologic study of glomerular hypertrophy in the subtotal nephrectomized rat [J]. Am J Pathol, 1978, 9(1): 201-210.
- [3] 陈缓, 周玫, 侯非凡. 氧化应激与慢性肾功能衰竭透析患者动脉粥样硬化的发生[J]. 中华肾脏病杂志, 2002, 18(5): 377-378.
- [4] Ben-Zvi I, Green Y, Nakhoul F, et al. Effects of diabetes mellitus, chronic renal failure and hemodialysis on serum and salivary antioxidant status [J]. Nephron Clin Pract, 2007, 105(3): c114-120.
- [5] Singh PA, Bobby Z, Selvaraj N, et al. An evaluation of thyroid hormone status and oxidative stress in undialyzed chronic renal failure patients [J]. Indian J Physiol Pharmacol, 2006, 50(3): 279-284.
- [6] 张新, 彭力人, 赵素梅. 尿毒症患者肾性贫血对氧化应激的影响 [J]. 中国血液净化, 2004, 3(8): 426-430.
- [7] Singh D, Kaur R, Chander V, et al. Antioxidants in the prevention of renal disease [J]. J Med Food, 2006, 9(4): 443-450.
- [8] Cottone S, Palermo A, Vaccaro F, et al. Oxidative stress and inflammation in long-term renal transplanted hypertensives [J]. Clin Nephrol, 2006, 66(1): 32-38.
- [9] 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 $\beta 1$ 整合素表达的影响 [J]. 中华肾脏病杂志, 2000, 16(5): 303-307.
- [10] 翟学文, 董秀丽, 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 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(3): 156-157.
- [11] 周苏宁, 邵伟, 张文高. 黄芪注射液抗心肌缺血/再灌注损伤的临床研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7(3): 168-170.
- [12] 程晖, 贾汝汉, 刘红燕. 黄芪对糖尿病大鼠肾脏的保护作用 [J]. 中国医师杂志, 2006, 8(10): 1349-1351.
- [13] 阮耀, 岳兴如, 徐特华, 等. 黄芪对早期糖尿病大鼠心肌非酶糖基化及氧化应激反应的影响 [J]. 中药药理与临床, 2008, 24(1): 47-49.
- [14] 沈健, 许惠琴, 刘洪, 等. 黄芪注射液对 AGEs 培养肾小球系膜细胞的影响 [J]. 中成药, 2006, 28(8): 1170-1174.

(收稿日期: 2009-04-27) (本文编辑: 李银平)

• 病例报告 •

血液灌流成功救治白加黑感冒片中毒 1 例

游群芳

(浙江大学医学院附属第二医院血液净化中心, 浙江 杭州 310009)

【关键词】 美息伪麻片; 白加黑感冒片; 中毒; 血液灌流

中图分类号: R595.4 文献标识码: B DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.04.010

白加黑感冒片又名美息伪麻片, 主要成分为对乙酰氨基酚、盐酸伪麻黄碱、氢溴酸右美沙芬和盐酸苯海拉明, 治疗由感冒引起的鼻塞、鼻黏膜充血、发热、咳嗽、头痛等症状。本院成功救治 1 例口服大量白加黑急性中毒并发严重凝血功能障碍的患者, 报告如下。

1 病历简介

患者男性, 22 岁, 2009 年 4 月 15 日晚 10 时因口服白加黑感冒片 80 余片后 1.5 h 送入本院。查体: 患者意识清、头晕、恶心、心悸、气促, 脉搏 100 次/min、血压 142/88 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa)、脉搏血氧饱和度 (SpO₂) 0.97。立即给予洗胃、催吐、留置导尿、导泻处理, 约 20 min 后出现谵妄, 瞳孔逐渐放大。16 日 2 时患者出现昏迷, 双肺有较多湿啰音, 血压随即下降, 出现呼吸困难。予血液灌流 (HP)、升压、补液治疗, 气管插管、辅助机械通气。急查白细胞计数 (WBC) 9.6 × 10⁹/L, 中性粒细胞

0.90; 肌酸激酶 1.04 kU/L, 乳酸脱氢酶 300 U/L; 心电图显示: 窦性心动过速; 凝血酶原时间 (PT) 23.1 s, 活化部分凝血活酶时间 (APTT) 156 s, 凝血酶时间 (TT) 测不出, 国际标准化比值 (INR) 1.63; 血 Ca²⁺ 6 mmol/L, Na⁺ 130 mmol/L; 动脉血二氧化碳分压 (PaCO₂) 59.4 mm Hg; CT 检查显示: 颅脑平扫未见明显异常, 两肺有渗出性改变伴局部肺实变。在内科综合治疗的同时积极采用 HP 治疗。使用廊坊爱尔活性炭血液灌流器, 建立股静脉临时血管通路, 血流量 200 ml/min; 肝素抗凝治疗 2 h。16 日 7 时患者意识转清, 但数小时后又出现浅昏迷, 15 时再次给予 HP 治疗, 连续使用 2 只灌流器。无肝素治疗 3 h。16 日 21 时患者意识转清, 18 日转入重症监护病房 (ICU) 治疗, 25 日出院, 出院前凝血及相关指标均在正常范围。

治疗过程中注意: ①严格无菌操作原则, 防止感染及交叉感染。②密切观察患者生命体征变化, 动态观察各种生化指标变化, 积极防治 HP 治疗过程中

可能出现的并发症。③治疗过程中若动脉压持续升高, 提示灌流器内阻力增加; 若静脉压持续升高, 提示静脉管道凝血或滤网堵塞; 若动脉压持续升高而静脉压降低, 提示体外循环系统广泛凝血, 应立即处理。室温应保持在 23~28 °C, 必要时对灌流器进行保温处理。④灌流过程中血小板的吸附可导致血小板减少症, 因此, 在治疗过程中和治疗结束后应密切观察有无出血倾向。⑤密切观察患者有无反跳现象。

2 讨论

白加黑感冒片中所含 4 种成分中以对乙酰氨基酚含量最大; 具有中枢作用的可能是盐酸伪麻黄碱、无水氢溴酸右美沙芬、盐酸苯海拉明。考虑到白加黑感冒片药理作用可致肾毒性、神经毒性、心脏毒性、凝血功能严重障碍, 因此在综合治疗的同时应积极进行 HP, 早期多次反复疗效佳, 如医院有条件做血药浓度的监测则更有临床指导意义。

(收稿日期: 2009-05-04)

(本文编辑: 李银平)

作者简介: 游群芳 (1972-), 女 (汉族), 浙江省人, 主管护师。