

· 研究综述 ·

# 氧自由基与肾小球疾病发病关系及抗氧化剂的防治作用

尹培达<sup>①</sup> 甘 华<sup>②</sup> 欧阳玉林<sup>②</sup>

(中山医科大学附属第一医院肾脏研究所, 广州, 510080)

**提 要** 用阿霉素(ADR)和阳离子化牛血清白蛋白(C-BSA)分别诱导大鼠 ADR 肾病和原位性肾炎模型, 发病率各达 100%。前者血及肾皮质丙二醛(MDA)明显增高; 后者血及肾皮质 MDA、还原型谷胱甘肽(GSH)明显增高, 超氧化物歧化酶(SOD)明显降低。选用抗氧化剂 SOD 及具有抗氧化作用的中药制剂阿魏酸钠、薄盖灵芝、藻酸双酯钠、人参皂苷等分别对模型进行干扰, 结果显示治疗组大鼠模型尿蛋白、血生化指标、肾病理损害明显改善, 特别是血和肾皮质 MDA、GSH 明显降低、SOD 明显升高。说明 ADR 肾病和 C-BSA 原位性肾炎的发生、发展与氧自由基(OFR)及脂质过氧化(LPO)密切相关。这些药物的治疗作用可能主要是通过清除 OFR, 抑制 LPO 而实现的。这为临床中西医结合防治肾小球肾炎提供了理论依据, 也为临床提供新的防治手段。

**主题词** 肾变病; 肾炎; 大鼠; 自由基去除剂; 过氧化脂质类; 抗氧化剂

**中图分类号** R692.31; Q54

肾小球肾炎是一常见多发病, 是导致尿毒症的主要原因。发病机理十分复杂, 且缺乏有效的治疗措施, 因此, 迫切需要进一步研究其发病机理, 寻找新的治疗手段。近年来, 随着自由基化学和分子生物学的发展, 人们逐渐认识到肾小球疾病的发生、发展与氧自由基(oxygen free radicals, OFR)和脂质过氧化(lipid peroxidation, LPO)有密切相关。本所从 1989 年开始开展这方面的研究工作, 拟通过系列实验, 进一步阐明 OFR 和 LPO 在肾小球肾炎中的发病作用, 为抗氧化剂用以防治肾小球肾炎提供新的理论根据和新的防治手段, 现将所作的研究综述于下。

## 1 动物肾炎模型的制作

### 1.1 阿霉素(ADR)诱导大鼠肾病模型的研究

制<sup>[1]</sup>

这是一种与自由基、脂质过氧化损伤作用有关的肾病模型, 采用 ADR 给大鼠静脉注射, 14 d 后出现典型肾病综合征(大量蛋白尿、低蛋白血症、高脂血症、腹水等), 肾病理呈微小病变, 无免疫复合物沉积。模型制作成功率达 100%。

### 1.2 阳离子化牛血清白蛋白(C-BSA)诱导大鼠原位性肾炎模型的研制

参照黄小平等方法<sup>[2]</sup>, 采用 C-BSA 2.5mg 与等量弗氏不完全佐剂研磨混匀多点皮下注射大鼠预免疫后, 每周静脉注射 C-BSA 2.5 mg, 3 次, 共 3 周。第 1 周末开始出现尿蛋白增多, 第 2、3 周尿蛋白持续升高, 与正常对照组比较有显著差异( $P < 0.01$ )。高脂血症, 低蛋白血症, 肾病理呈典型模型肾炎病理改变。原位性肾炎大鼠模型成功率达

① 第一作者 1934 年出生, 男, 教授, 博士生导师;

② 第二作者, 硕士, 现在重庆医科大学附属第一医院肾内科; 第三作者, 硕士, 现在广州番禺何贤纪念医院内科

100%。

## 2 OFR 与 LPO 在上述两种肾炎大鼠模型中的发病作用

### 2.1 OFR 与 LPO 在 ADR 肾病中的发病作用<sup>[1,3]</sup>

ADR 是一种含醌式结构的抗肿瘤药物,无抗原性,在体内药物代谢酶的作用下,形成半醌自由基,半醌自由基与氧反应生成超氧阴离子 $[O_2^-]$ 和羟自由基( $\cdot OH$ ), $O_2^-$ 和 $\cdot OH$ 可使细胞 DNA 变性、蛋白质结构改变、细胞膜和质膜发生脂质过氧化,造成一系列病理改变。在透视电镜下,肾小球内未发现电子致密物沉积,而仅以肾小球上皮细胞足突广泛融合、消失为主<sup>[1]</sup>。本实验采用环孢素 A(cyclosporin A)(一种新型特异的 T 细胞功能调节剂)治疗无效。通过检测大鼠血清和肾皮质中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,它是反映体内 OFR 代谢和 LPO 程度的代谢产物,发现模型大鼠血清 MDA 含量和肾皮质 MDA 含量[分别为 $(6.68 \pm 0.42) \mu\text{mol/L}$ , $(10.07 \pm 1.29) \mu\text{mol/kg}$ ],明显高于对照组正常大鼠血清和肾皮质中含量[分别为 $(3.21 \pm 0.26) \mu\text{mol/L}$ , $(3.47 \pm 0.37) \text{mmol/kg}$ , $P < 0.01$ ]。因此,从上述实验结果可说明 ADR 肾病模型的发病机理与氧自由基、脂质过氧化有关。此外,有人认为 ADR 肾病是由于 ADR 导致肾小球基底膜和上皮细胞膜构成的阴电荷屏障减退甚至消失,而产生大量蛋白尿,而且发现,不管是在人类微小病变型肾病患者或该病动物模型中,阴离子位点丢失都发生在蛋白尿之前,可推测 ADR 引起 OFR 代谢异常及 LPO 导致基膜及上皮细胞膜的损害,以致影响阴电荷屏障而发病。

### 2.2 OFR 与 LPO 在大鼠原位性肾炎模型中发病作用<sup>[4]</sup>

本实验在采用 C-BSA 制作原位性肾炎的大鼠模型基础上,检测大鼠血清及肾皮

质中的 MDA、还原型谷胱甘肽(GSH)含量及全血细胞和肾皮质中的超氧化物歧化酶(SOD)活性,发现大鼠肾炎模型血清及肾皮质 MDA、GSH 含量与正常对照组相比明显增高( $P < 0.01$ , $P < 0.05$ ),SOD 活性较对照组明显减少( $P < 0.01$ )。结果说明 C-BSA 诱导的原位性肾炎的发病与 OFR 及 LPO 的作用有密切相关。

## 3 抗氧化剂防治肾小球疾病效应的实验研究

### 3.1 抗氧化剂对 ADR 肾病的防治作用

选用 SOD、阿魏酸钠和薄盖灵芝等,均具有有效清除 OFR 的抗氧化剂,对 ADR 肾病大鼠模型进行干扰,以观察其防治作用。

SOD 是一重要的 OFR 清除剂,能专一地清除 $O_2^-$ 。在动物实验中 SOD 对不同类型的肾小球肾炎均有较好的治疗作用。本研究在注射 ADR 30 min 后,每天给 ADR 肾病模型大鼠静脉注射 SOD 1.8 mg/kg,于实验前及实验的第 7 天(d 7)及第 14 天(d 14)观察 24 h 蛋白定量,并测定血清和肾皮质 MDA 及其他生化检验和肾病理学检查。结果显示,用 SOD 治疗后动物模型的临床表现、多种生化指标和病理改变明显好转,血清和肾皮质 MDA 明显低于 ADR 模型组( $P < 0.01$ ),与正常对照组比较无显著差异( $P > 0.05$ ),这证明了 SOD 能阻断和/或减轻 $O_2^-$ 引起的肾组织细胞损害和脂质过氧化,从而达到保护肾脏的目的<sup>[5]</sup>。

阿魏酸钠(frans-ferulic acid, T-FA)是从当归和川芎中分离得到的活性成份。已证明是一种抗氧化剂,认为其分子苯环上的羟基是抗氧化的活性基因。其作用机理可能有二方面:一是 T-FA 可直接影响 $H_2O_2$ 以减少 $H_2O_2$ 对红细胞膜的损伤;二是 T-FA 与膜的磷脂酰乙醇胺(PE)结合,使其不易受 $O_2^-$ 或 $H_2O_2$ 的侵袭而发生过氧化,从而使脂

质过氧化产物 MDA 减少。本研究选用 T-FA 治疗 ADR 肾病模型,结果显示血清及肾皮质 MDA 的浓度明显低于模型组( $P < 0.01$ ),与正常对照组比较,无显著性差异( $P > 0.05$ )。其他生化指标也有明显改善,肾病理损害较模型组轻,提示 T-FA 可能是通过直接消除自由基、抑制氧化反应和自由基反应,以及与生物膜磷脂结合保护膜脂质等作用拮抗自由基对组织的损伤<sup>[6]</sup>。

薄盖灵芝(*ganoderma lucidum*, GL)是中药灵芝中提取的注射液,它即具有直接清除·OH 和  $O_2^-$  的作用,同时还可提高机体清除·OH 和  $O_2^-$  的能力以及抑制脂质过氧化作用的能力。本研究采用 GL 治疗 ADR 肾病模型<sup>[7]</sup>,结果发现,GL 治疗组血清及肾皮质 MDA 明显低于模型组( $P < 0.01$ ),与正常对照组比较,无显著性差异( $P > 0.05$ ),血生化指标相应改善,肾病理损伤也较模型组轻,故 GL 是具有明显抗氧化作用,以达防治肾病的效果。

### 3.2 抗氧化剂对实验性原位性肾炎的防治作用

选用藻酸双酯钠、人参皂苷、阿魏酸钠、SOD 等对大鼠原位性肾炎模型进行干扰,以观察其防治作用。

藻酸双酯钠(polysaccharide sodium, PSS)是从海洋生物海藻中提取的多糖硫酸脂,是一种类肝素药物,能降低全血粘度和红细胞压积,降低血脂,改善微循环。临床上用以治疗肾病综合征,能降低蛋白尿、血脂,升高血总蛋白。本研究用 PSS 治疗大鼠原位性肾炎模型<sup>[4]</sup>,结果显示,PSS 能使大鼠模型组血及肾皮质中 MDA 和 GSH 水平降低,而血细胞和肾皮质中 SOD 活性升高,显示良好的抗氧化效应。大鼠模型的蛋白尿基本得到抑制,血总蛋白升高,肾病理损害明显好转,大部分肾小球结构基本正常。因此,PSS 除了有类肝素的作用外,还存在强有力的抗氧化作用。对肾小球肾炎的防治可能有开拓的前景,值得进一步研究。

人参皂苷(gensenoside, GS)是中药人参的主要成分,具有补气养血、助精养神、通血脉和回阴救逆的功能。此外,还能改善血液流变学、降低血小板聚集,明显抑制 ADP 胶原酶诱导的血小板聚集和释放反应,抑制血小板凝血噁烷  $A_2$  ( $TXA_2$ ) 的合成和磷脂酶  $A_2$ 、磷酸二酯酶的活性,实验研究表明,人参具有抗氧化作用,可减少  $O_2^-$  及·OH 对血红蛋白的氧化,抑制·OH 及  $H_2O_2$  引起的红细胞溶解和膜脂质过氧化,并具有清除  $O_2^-$  和·OH 的作用,保护细胞色素 C 不被  $O_2$  还原,与 SOD 作用相似。本研究采用 GS 治疗大鼠原位性肾炎模型,结果发现,GS 能明显减轻原位性肾炎大鼠模型尿蛋白,降低血及肾皮质 MDA、GSH 水平,提高血细胞及肾皮质 SOD 活性,降低血脂,减轻肾脏病理损害,说明 GS 有良好的抗氧化作用<sup>[4]</sup>,加上上述改善血液流变学、调节血小板凝血噁烷  $A_2$ —前列环素( $TXA_2$ - $PGI_2$ )平衡,可能尚有免疫功能调节作用(使体内巨噬细胞吞噬功能增强)等,因此,GS 对原位性肾炎是有较好的防治作用,值得进一步研究。

阿魏酸钠和 SOD 对大鼠原位性肾炎模型的治疗也有显著减少尿蛋白,降低血及肾皮质 MDA、GSH 水平,升高血细胞和肾皮质 SOD 活性,明显减轻肾脏病理损害的疗效,但 SOD 的效果略逊<sup>[7]</sup>。

## 4 结 论

根据上述系列实验研究证明上述两种肾炎模型的发生及发展与 OFR 和 LPO 有密切关系。抗氧化剂,包括天然氧自由基清除剂 SOD、中药制剂阿魏酸钠、薄盖灵芝、人参皂苷以及海洋生物海藻——藻酸双酯钠等对大鼠肾炎模型均能使动物蛋白尿、生化指标、肾病理损害明显改善,证明这些药物对肾炎的防治是有一定疗效作用。这些药物治疗后血及肾皮质 MDA、GSH 降低,SOD 活性升高,说明其治疗作用是通过清除 OFR,抑制肾脏

LPO 作用而实现的,更进一步证实肾炎的发生、发展与其有密切相关。为临床中西医结合治疗肾小球肾炎提供充分的理论依据及提供新的防治手段。

### 参 考 文 献

- 1 甘 华,尹培达,张仕光,等. 抗氧化剂对阿霉素肾病模型作用的实验研究. 中华肾脏病杂志, 1994, 9(5): 261
- 2 黄小平,尹培达,黄文聪,等. 药物治疗原位性肾小球肾炎实验研究——藏红花和苜蓿基咪唑的疗效探讨. 中华肾脏病杂志, 1986, 2(6): 282
- 3 Gan H, Yin PD, Zhang SG, et al. Study of the role for antioxidation in adriamycin nephrotic

syndrome in rats. *Kidney Int*, 1992, 42(2): 507

- 4 尹培达,欧阳玉林. 脂质过氧化在大鼠原位性肾炎中的作用及抗氧化剂防治作用研究. 中山医科大学学报, 1995, 16(1): 74
- 5 甘 华,尹培达,张仕光,等. 氧自由基及其清除剂 SOD 在阿霉素大鼠肾病模型中的作用. 中山医科大学学报, 1992, 13(2): 40
- 6 甘 华,尹培达. 中药制剂阿魏酸钠在阿霉素肾病模型中作用的实验研究. 中西医结合杂志, 1991, 11 增刊: 205
- 7 甘 华,尹培达. 中药制剂薄盖灵芝对阿霉素肾病模型作用的实验研究. 广东医学, 1991, 12(5): 37

(1994-08-13 收稿 1995-08-28 修回)

## PATHOGENETIC ROLE OF OXYGEN FREE RADICALS AND THE EFFECTS OF ANTIOXIDANTS IN GLOMERULOPATHY

Yin Peida Gan Hua Ouyang Yulin

(Kidney Research Institute,

Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

Experimental rat models of nephrotic syndrome and *in situ* nephritis was established by adriamycin (ADR) and cationic bovine serum albumin (C-BSA). The serum and renal cortices malondialdehyde (MDA) levels in ADR nephrosis and MDA, GSH in *in situ* nephritis were significantly higher than that of normal control group, but the blood cell and renal cortices superoxide dismutase (SOD) activities in *in situ* nephritis were significantly lower than that of normal control group. The authors studied the antioxidation of SOD, trans-ferulic acid (T-FA), ganoderma lucidum (GL), polysaccharide sodium (PSS) and gensenoside (GS) on the rat models. The antioxidants treated groups resulted in amelioration of proteinuria and serum biochemical index. There were less severe glomerular morphologic changes. In particular, the serum and renal cortices MDA, GSH were significantly lower and SOD were significantly higher than that of model group, These studies suggest ADR nephrosis and *in situ* nephritis is mediated by oxygen free radicals (OFR) and lipid peroxidation (LPO). The therapeutic effects of those drugs may contribute to their ability to scavenge OFR and inhibit LPO. The studies furnished evidence of theory and new method of integrated traditional and western medicine prophylaxis and treatment for glomerulonephritis.

**Subject headings** nephrosis; nephritis; rat; free radical scavengers; lipid peroxides; antioxidants