

表 3 迷迭香总二萜酚对小鼠各组织 GSH-Px 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

U/L

Table 3 Effect of TPD on GSH-Px level of different tissues in mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

U/L

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血清	肝	股四头肌	脑	心
不给药不运动	—	34.8±12.0	174.6±19.0	84.7±17.0	36.6±7.0	50.5±15.0
不给药运动	—	24.8±7.7 ^{△△}	153.3±20.4 [△]	69.0±14.8 [△]	37.5±8.9	36.0±13.7 [△]
总二萜酚	100	26.3±11.7	160.2±20.9	72.9±27.0	40.1±7.8	42.9±14.8
	250	34.0±8.0 [*]	170.1±25.7	79.4±14.8 [*]	40.6±9.5	49.5±13.4 [*]
	500	36.6±10.4	181.0±31.4	86.7±24.1 [*]	41.8±12.1	51.4±18.4 [*]
维生素 E	30	33.3±11.3	176.9±29.8	84.4±16.7 [*]	39.3±8.1	45.8±12.4

与不给药运动组相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与不给药不运动组相比: $\triangle P < 0.05$ $\triangle\triangle P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs exercise group without giving drug; $\triangle P < 0.05$ $\triangle\triangle P < 0.01$ vs non-exercise group without giving drug

量效关系,即在除脑外的器官组织内,随着给药剂量的增加,MDA含量降低,SOD和GSH-Px活力增加

3 讨论

实验中,运动与不运动的阴性对照组相比,脂质过氧化加强,造成MDA含量显著增加,抗氧化酶活力下降。表明运动会产生氧化性损伤,表现在脂质过氧化增加,同时抗氧化酶活力下降,这说明体内为对抗过氧化而使抗氧化酶被不同程度的消耗,因而表现为酶活力相对下降。另外也有人认为可能是由于氧压过高,抑制了体内抗氧化酶的活性^[6]。

迷迭香总二萜酚对运动引起的氧化性损伤表现出良好的抑制效果,并在不同剂量组间呈现出一定的量效关系,说明迷迭香总二萜酚具有良好的抗氧化活性。脑内各指标无论运动与否还是给药与否,变化均不显著,这可能是由于血脑屏障之故,但也有人认为脑内存在着另一套更为有效的抗氧化系统^[7]。

本实验结果表明,迷迭香提取物具有良好的体内抗氧化作用,其中的二萜酚类化合物很可能是其

抗氧化作用的物质基础

致谢:医学实验班专题生赵楠同学曾对部分工作给予过帮助。

References

[1] Reiko I. Antioxidation effect of *Rosmarinus officinalis* L [J]. *Agri Biol Chem*, 1983, 47(3): 521-523.

[2] Zhu Q, Pu JZ. Applied method of rats swimming training in exercise experiments [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1996, 15(2): 125-129.

[3] Gong X, Lu YF. Effect of *Ginkgo biloba* extract on peroxide damage of musculi skeleti [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1998, 17(4): 359-360.

[4] Cao G H, Chen J D. The effects of swimming training on the free radical formation and the free radical elimination in mice [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1991, 10(2): 65-67.

[5] Lou N, Zhou M, Chen Y. Effect of PSK on antioxidation of mice *in vivo* [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1996, 12(5): 425-426.

[6] Shen J G, Chen Y, Shen Z F, *et al*. A preliminary study on the lipid peroxide reaction in rats exposed to hyperbaric oxygen [J]. *Academic J First Med Coll PLA* (第一军医大学学报), 1990, 10 351-353.

[7] Cao G H, Chen J D. The effects of swimming on the free radical metabolism in the liver and brain of mice [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1990, 9(3): 149.

前列腺素系统异常在关木通所致慢性肾脏损害发生中的作用

叶志斌,许 静,李 珍,陆国才
(上海长海医院 肾内科,上海 200433)

摘 要:目的 探讨关木通引起的慢性肾脏损害是否与前列腺素系统异常有关。方法 实验组正常大鼠每天 ig 10 g/kg 关木通,对照组 ig 相同量自来水,8周后观察肾脏病理、血肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)、尿蛋白定量,并测定尿、血浆以及肾组织 6-keto-PGF_{1α}和 TXB₂含量。结果 实验组大鼠出现蛋白尿、SCr和 BUN 升高以及肾小管细胞变性、肾间质纤维化等异常,其尿、血浆和肾组织中 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂比值均显著下降。结论 前列腺素系统异常在关木通引起的慢性肾脏损害的发生过程中起重要作用。

关键词:关木通;慢性肾衰竭;6-keto-PGF_{1α}; TXB₂

中图分类号: R285.53 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)02-0149-04

收稿日期: 2002-05-13
基金项目: 国家自然科学基金资助(39900193)
作者简介: 叶志斌(1965-),男,安徽人,博士,副教授,主要研究中药肾毒性和急性肾衰发病机制
* 全军临床药理中心

Abnormal prostaglandin production in pathogenesis of chronic renal failure induced by cane of *Aristolochia manshuriensis*

YE Zhi-bin, XU Jing, LI Zhen, LU Guo-cai

(Department of Nephrology, Shanghai Changhai Hospital, Shanghai 200433, China)

Abstract Object To understand if abnormal prostaglandin production is involved in the pathogenesis of chronic renal failure induced by the cane of *Aristolochia manshuriensis* Kom. **Methods** Rats in experimental group were given 10 g/kg of the cane of *A. manshuriensis* everyday for eight weeks. The control group was given the same amount of tap water. At the 8th week, kidney pathology, renal function, serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN) and urinary protein excretion were recorded. The content of 6-keto-PGF_{1α} and TXB₂ in the urine, plasma and renal cortex tissues were determined. **Results** The urinary protein excretion, SCr and BUN had been significantly increased in rat experimental group. Microscopic examination of the kidney revealed focal degeneration and necrosis of tubular epithelial cells and slight interstitial fibrosis. The ratio of 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ was markedly decreased in the urine, plasma as well as renal cortex tissues. **Conclusion** Abnormal prostaglandin production is an important pathogenic factor in the pathogenesis of chronic renal failure induced by the cane of *A. manshuriensis*

Key words the cane of *Aristolochia manshuriensis* Kom.; chronic renal failure; 6-keto-PGF_{1α}; TXB₂

短期内大剂量应用关木通可致急性肾功能衰竭,而长期小剂量服用关木通或含有关木通的复方制剂可引起慢性肾脏损害^[1-5]。关木通肾脏毒性的机制还不清楚,现有资料显示,在大剂量关木通所引起的急性肾衰竭的发生过程中,关木通成分对肾小管上皮细胞的直接毒性是导致肾脏损害的主要原因之一,但对于是否存在其他重要发病机制,目前还缺乏有关研究。由于关木通引起慢性肾脏病变,其肾脏病理上均可见较明显的血管病变,故我们推测一些与血管病变有关的可引起血流动力学异常的血管活性物质在本病的发病过程中可能也起重要作用。本研究建立关木通慢性肾脏损害模型,观察前列腺素系统异常在本病发生中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物:雌性 Wistar 大鼠,购自第二军医大学实验动物中心,体重 150~200 g

1.2 关木通水煎剂制备:关木通采自吉林省长白山地区,由我院临床药理中心王忠壮教授鉴定为马兜铃属植物东北马兜铃 *Aristolonchia manchuriensis* Kom 的藤茎。取关木通生药 1 000 g,加 20 L 自来水浸泡 30 min 后,加热至沸腾,煎煮 1 h,倾出药液,残渣加入 5 L 水继续煎煮 1 h,合并两次药液,过滤,浓缩后制成 500 mL 水煎剂 (2 g 生药/mL),4℃ 保存,使用前加热至 37℃。

1.3 分组:随机分为 2 组,各组 10 只。实验组每天 ig 关木通 10 g/kg 体重,共 8 周,对照组每天 ig 与实验组相等剂量的自来水。实验期间所有大鼠自由饮食。于实验结束时取内眦静脉血、24 h 尿液和肾组

织以测定 6-keto-PGF_{1α} 和 TXB₂, SCr 和 BUN 以及尿蛋白定量,并取肾组织进行一般组织形态学检查。

1.4 指标测定方法:PGF_{1α} (6-keto-PGF_{1α}) 和 TXA₂ (TXB₂) 测定:采用放射免疫分析法,药盒由苏州医学院血栓室提供,操作方法按说明书。SCr 和 BUN 测定用 Beckman 全自动生化分析仪;尿蛋白定量测定用考马斯亮蓝法。肾组织用 4% 多聚甲醛磷酸缓冲液固定,常规石蜡包埋,切片,行 HE 及 PAS 染色,普通光镜下观察间质纤维化和肾小球系膜硬化程度。肾间质纤维化程度和肾小管上皮细胞变性坏死按病变性质进行半定量积分,分为 0~3 级:0 表示无病变,+ 表示病变呈小灶性分布,++ 表示病变呈散在性片状分布,+++ 表示病变呈弥漫性分布,肾小球系膜硬化程度亦以 + ~ +++ 表示。

1.5 统计学处理:计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用 *t* 检验,半定量数据比较采用 Riddit 分析。

2 结果

2.1 SCr, BUN 和尿蛋白改变:实验组大鼠 SCr, BUN 和尿蛋白显著增加,提示有慢性肾脏损害,见表 1。

表 1 饲喂关木通 8 周大鼠 SCr, BUN 和尿蛋白的改变

Table 1 Changes of SCr, BUN and urinary protein of rats treated with Guanmutong for eight weeks

组别	<i>n</i>	BUN	SCr	24 h 尿蛋白
		/(mmol·L ⁻¹)	/(μmol·L ⁻¹)	/mg
实验	10	8.7±1.1 [△]	75.2±5.3 [△]	26.1±6.7 [△]
对照	10	4.4±0.2	38.2±2.9	5.7±1.1

与对照组相比:△ *P* < 0.01

△ *P* < 0.01 vs control group

2.2 肾脏形态学改变: 实验组肾间质轻度水肿, 有少量淋巴细胞浸润, 散在灶性肾小管上皮细胞空泡变性, 胞浆脱落, 偶见小坏死灶, 肾小球系膜区偶见轻度增生和硬化, 肾间质呈轻度纤维化, 肾间质小血管未见明显改变, 见表 2

表 2 饲喂关木通 8周大鼠肾脏组织形态学检查

Table 2 Renal histomorphology examination of rats treated with Guanmutong for eight weeks													
组别	n	肾间质纤维化				小管细胞空泡变性、坏死				系膜硬化			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
实验	10	5	5	0	0	0	1	6	3 ^{△△}	6	4	0	0
对照	10	9	1	0	0	7	3	0	0	9	1	0	0

与对照组相比: $\triangle P < 0.05$ $\triangle\triangle P < 0.01$

$\triangle P < 0.05$ $\triangle\triangle P < 0.01$ vs control group

2.3 血浆 6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂ 实验组血浆 6-keto-PGF_{1 α} 无明显改变, 但 TXB₂显著升高, 6-keto-PGF_{1 α} /TXB₂显著下降, 见表 3

表 3 饲喂关木通 8周血浆 6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂改变

Table 3 Changes of plasma 6-keto-PGF_{1 α} and TXB₂ of rats treated with Guanmutong for eight weeks

组别	n	6-keto-PGF _{1α}	TXB ₂	6-keto-PGF _{1α} / TXB ₂
		/ (pg [°] mL ⁻¹)	(pg [°] mL ⁻¹)	
实验	10	87 $\pm$ 12	967 $\pm$ 67 [△]	0.09 $\pm$ 0.02 [△]
对照	10	95 $\pm$ 11	175 $\pm$ 35	0.54 $\pm$ 0.08

与对照组相比: $\triangle P < 0.01$

$\triangle P < 0.01$ vs control group

2.4 尿液 6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂改变: 实验组尿液 6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂均显著升高, 尿液 6-keto-PGF_{1 α} /TXB₂显著下降, 见表 4

表 4 饲喂关木通 8周大鼠尿 6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂改变

Table 4 Urinary excretion of 6-keto-PGF_{1 α} and TXB₂ of rats treated with Guanmutong for eight weeks

组别	n	6-keto-PGF _{1α}	TXB ₂	6-keto-PGF _{1α} / TXB ₂
		/ (ng [°] mL ⁻¹)	/ (ng [°] mL ⁻¹)	
实验组	10	46 $\pm$ 8 [△]	92 $\pm$ 13 [△]	0.50 $\pm$ 0.11 [△]
对照组	10	28 $\pm$ 9	27 $\pm$ 7	1.03 $\pm$ 0.21

与对照组相比: $\triangle P < 0.01$

$\triangle P < 0.01$ vs control group

2.5 肾皮质 6-keto-PGF_{1 α} 和 TX B₂改变: 肾皮质 6-keto-PGF_{1 α} 略升高, 但无显著意义, TXB₂则显著升高, 见表 5

3 讨论

关木通属马兜铃属植物, 其中所含的马兜铃酸具有肾脏毒性。有关关木通慢性肾脏毒性作用的动物实验很少, 对于关木通肾脏毒性的机制更缺乏研究。关木通引起的慢性肾脏损害主要累及肾小管和肾间质, 提示其主要通过对肾小管上皮细胞的直接

表 5 饲喂关木通 8周大鼠肾皮质 6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂改变

Table 5 Renal cortical content of 6-keto-PGF_{1 α} and TXB₂ of rats treated with Guanmutong for eight weeks

组别	n	6-keto-PGF _{1α}	TXB ₂	6-keto-PGF _{1α} / TXB ₂
		/ (pg [°] mg ⁻¹)	/ (pg [°] mg ⁻¹)	
实验	10	97 $\pm$ 14	105 $\pm$ 21 [△]	0.93 $\pm$ 0.18 [△]
对照	10	82 $\pm$ 12	47 $\pm$ 9	1.74 $\pm$ 0.36

与对照组相比: $\triangle P < 0.01$

$\triangle P < 0.01$ vs control group

毒性或影响肾间质血液供应而导致肾脏受损^[6,7]。在关木通引起急性肾衰竭的动物实验中观察到大剂量关木通可导致急性肾小管坏死, 但这些研究中关木通的用量很大, 因此不能据此就认为对肾小管上皮细胞的直接毒性作用就是其引起慢性肾损害的主要原因。本研究给予大鼠 10 g /kg 关木通 8周, 虽然这些大鼠肾功能已经明显受损, 但肾脏病理改变并不严重, 仅表现为肾小管上皮水肿、变性和细胞散在的很少的小坏死灶, 不能很好解释肾功能衰竭的发生, 提示还有其他机制参与肾功能衰竭的发生。PGE₁ / TXA₁值是决定肾血流量和肾功能的关键因素之一, 此系统异常在肾缺血及多种肾毒性物质等引起的肾损伤中起重要作用。PGE₁和 TXA₁的分子均不稳定, 但通过测定其代谢产物 6-keto-PGF_{1 α} 和 TXB₂可准确了解其各自的含量。本研究发现, 关木通慢性肾中毒大鼠血液、尿液和肾组织中 6-keto-PGF_{1 α} (PGE₁) 与 TXB₂ (TXA₂) 的比值显著下降, 提示前列腺素系统失衡与关木通的慢性肾损害的发生有关。关木通引起肾组织和血液中前列腺素异常的机制可能与其对血管内皮细胞的毒性有关^[6,8-10]。

研究表明, 关木通所致肾损害的发病机制可能远不仅限于其对肾小管上皮细胞的直接毒性作用, 前列腺素系统或其它影响肾脏血流量的血管活性因子, 可能也起非常重要的作用。进一步研究关木通对血管内皮细胞的损伤是否完全由马兜铃酸本身所致, 将对进一步明确哪些中草药可能具有肾毒性或哪些成分可影响关木通的肾毒性的大小具有重要意义。

References

[1] Vanherweghem J.L., Depierreux M., Tielemans C, *et al.* Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women association with slimming regimen including Chinese herbs [J]. *Lancet*, 1993, 341(8842): 387-391.

[2] Ye Z.B., Cui R.L. Renal injury caused by intake of Guanmutong in a young woman [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1997, 22(9): 570.

[3] Vanherweghem J.L. Misuse of herbal remedies: the case of an outbreak of terminal renal failure in Belgium (Chinese herb nephropathy) [J]. *J Altern Complem Med*, 1998, 4(1): 9-13.

- [4] Cosyns J P, Jadoul M, Squifflet J P, *et al.* Chinese herb nephropathy: a clue to Balkan endemic nephropathy? [J]. *Kidney Int*, 1994, 45(6): 1680-1688.
- [5] Ye Z B, Lu G C, Ling C Q, *et al.* Advance and progression in the study of Chinese herb nephropathy [J]. *Chin New Drugs J* (中国新药杂志), 2000, 9(8): 526-530.
- [6] Depierreux M, Van-Damme B, Vanden-Houte K, *et al.* Pathologic aspects of a newly described nephropathy related to the prolonged use of Chinese herbs [J]. *Am J Kidney Dis*, 1994, 24(2): 172-180.
- [7] Yang C S, Lin C H, Chang S H, *et al.* Rapidly progressive fibrosing interstitial nephritis associated with Chinese herbal drugs [J]. *Am J Kidney Dis*, 2000, 35(2): 313-318.
- [8] Wankowicz Z, Obroniccka I, Morzycka-Michalik M. Nephropathy after use of Chinese herbs: rapidly progressive interstitial renal fibrosis or renal vasculitis? [J]. *Pol Arch Med Wewn*, 1996, 96(5): 474-478.
- [9] Colson C R, De-Greef K E, Duymelinck C, *et al.* Role of serotonin in the development of Chinese herb nephropathy? [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, 14(Suppl 4): 16.
- [10] Vanherweghem J L, Abramowicz D, Tielemans C, *et al.* Effects of steroids on the progression of renal failure in chronic interstitial renal fibrosis: a pilot study in Chinese herb nephropathy [J]. *Am J Kidney Dis*, 1996, 27(2): 209-215.

板蓝根有效部位对脂多糖致小鼠血清中 TNF 和 NO 的影响

刘云海, 林剑国, 雷 婷

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 药学部, 湖北 武汉 430030)

摘要: 目的 探讨板蓝根有效部位小鼠体内对脂多糖刺激产生 TNF 和 NO 的影响。方法 从板蓝根中提取分离出有效部位并配制成 2%, 1%, 0.5% 三种浓度的样品液; 将用卡介苗致敏的小鼠随机分为 5 组, 实验组分别 ig 2%, 1%, 0.5% 样品液各 0.4 mL, 对照组和模型组给予相同量生理氯化钠溶液; 0.5 h 后, 实验和模型组分别尾 iv 脂多糖 800 ng/20 g, 9 h 后眼眶取血, 制备血清, 用 ELISA 法测 TNF , 用 Griess 法测 NO 浓度。结果 板蓝根有效部位高、中、低 3 种样品液对脂多糖刺激小鼠释放 TNF 和 NO 均有抑制作用, 抑制率分别为 83.59%, 67.92%, 21.6%, 对 NO 抑制率分别为 98.66%, 70.77%, 20.33%。结论 板蓝根有效部位对脂多糖刺激小鼠体内释放 TNF 和 NO 有抑制作用, 且有剂量依赖性。

关键词: 板蓝根有效部位; 内毒素; 肿瘤坏死因子 (TNF); 一氧化氮 (NO)

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)02-0152-03

Effect of active part from *Radix Isatidis* on content of TNF and NO induced by LPS in mice serum

LIU Yun-hai, LIN Jian-guo, LEI Ting

(Department of Pharmacy, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Key words active part from *Radix Isatidis*; endotoxin; TNF ; NO

细菌内毒素 (endotoxin, ET) 是革兰阴性菌细胞外膜中的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 成分, 可刺激机体防御系统过度释放炎症因子——肿瘤坏死因子 (TNF) 及一氧化氮 (NO) 等, 引起发热、弥漫性血管内凝血 (DIC)、多器官功能衰竭, 以至死亡。近年来的研究发现, β -内酰胺类抗生素可导致体内 ET 增加^[1], 铜绿假单胞菌败血症的病死率仍高达 80%~90%^[2], 并不因没有使用足量的敏感抗菌药, 而是因至今没有理想的抗内毒素药物。板蓝根 (BLG) 抗内毒素作用已有报道^[3-5], 为了寻找 BLG

抗 ET 活性物质, 我们将其分成不同极性部位, 用体内外多种实验方法筛选出抗 ET 活性最强的有效部位^[6], 本研究探讨该部位在小鼠体内对 LPS 刺激释放 TNF 和 NO 的影响。

1 材料与仪器

1.1 板蓝根有效部位样品液制备: 板蓝根 (产于河北省邢台县, 经邢台市药材公司鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* fort 的干燥根) 粉碎成细粉, 用 95% 乙醇浸泡后按常规方法渗漉提取, 减压浓缩至无醇味; 用石油醚反复萃取至除尽石油醚部