

长期小剂量应用关木通对部分肾切除大鼠肾脏的影响^{*}

叶志斌 许 静 梅小斌 陆国才 王忠壮

内容提要 目的:了解长期小剂量应用关木通是否可加重慢性肾衰竭大鼠肾脏损害。方法:采用 5/6 肾切除方法复制大鼠慢性肾衰竭模型,第 1 组给予与药典剂量相当(1g/kg)的关木通煎剂,第 2 组给予关木通 3g/kg,第 3 组给予相同量的自来水,均每天灌胃 1 次,共 8 周,观察血清肌酐、尿素氮、尿蛋白含量以及肾脏形态变化。结果:8 周后,第 2 组血清肌酐、尿素氮和尿蛋白排泄量显著高于第 3 组(分别为 (165.0 ± 15.6) 和 (109.8 ± 10.0) $\mu\text{mol/L}$ (27.8 ± 3.6)和 (18.7 ± 2.5) mmol/L (68.2 ± 10.1)和 (44.6 ± 8.5) $\text{mg}/24\text{h}$, P 值均 <0.05),肾间质病变和肾小球硬化程度也较重。结论:慢性肾衰竭大鼠对小剂量关木通的肾脏毒性作用的易感性增加,长期小剂量应用关木通可显著加速慢性肾衰大鼠肾脏损害进程。

关键词 关木通 肾脏毒性 慢性肾衰竭

Influence of Long-Term Use of Low Dose Caulis Aristolochiae Manshuriensis on Partial Nephrectomized Rats
YE Zhi-bin, XU Jing, MEI Xiao-bin, et al *Shanghai Changhai Hospital, Shanghai (200433)*

Objective: To study the effect of long-term use of low dose Caulis Aristolochiae Manshuriensis (CAM) on the deterioration of chronic renal failure rats. **Methods:** The 5/6 nephrectomized Wistar rats were taken as animal model of chronic renal failure, which were divided into 3 groups. Group A was treated with 1 g/kg CAM decoction, the dose equivalent to that defined in the pharmacopoeia. Group B was treated with 3 g/kg CAM decoction and Group C treated with equal volume of tap water. Medication was given once per day by gastrogavage in all the three groups for 8 weeks. The serum creatinine, urea nitrogen, urinary protein content and morphological changes of kidney were observed. **Results:** After 8 weeks treatment, levels of serum creatinine, urea nitrogen, urinary protein excretion in Group B were higher than those in Group C significantly, they were 165.0 ± 15.6 $\mu\text{mol/L}$ vs 109.8 ± 10.0 $\mu\text{mol/L}$, 27.8 ± 3.6 mmol/L vs 18.7 ± 2.5 mmol/L and 68.2 ± 10.1 $\text{mg}/24$ hrs vs 44.6 ± 8.5 $\text{mg}/24$ hrs, respectively, all $P < 0.05$. The pathological changes of renal mesenchyme and degree of glomerulosclerosis were also heavier in Group B. **Conclusion:** The susceptibility of chronic renal failure rats to the nephrotoxicity of CAM increases in long-term use of low dose CAM which could accelerate the deterioration of renal impairment in the model rats.

Key words Caulis Aristolochiae Manshuriensis, nephrotoxicity, chronic renal failure

一些长期服用少量关木通或含有关木通的中成药的患者发生了慢性肾功能衰竭,但由于大多数患者用药前的肾功能不明,或服药前已有不同类型的肾脏疾病,故并不能根据这些病例报道就认为长期服用小剂量关木通就是导致这些患者肾功能损害的真正原因。在动物实验中,虽然已经证明关木通对肾脏有毒性作用,但所应用的剂量常远远超过药典规定的剂量,而有关长期应用药典相当剂量关木通对肾脏的影响,仅见

1 篇报道^[1]。该研究发现,长期应用药典剂量的关木通对大鼠肾脏无明显影响,但该研究所用的动物属肾功能正常大鼠,而临床上许多患者常因肾脏疾患而服用该药。因此,进一步研究小剂量关木通对已有肾脏损害动物肾脏病变发展的影响,对于指导临床用药有实际意义。本研究通过 5/6 肾切除方法复制慢性肾功能衰竭(CRF)动物模型,观察长期应用较小剂量关木通对 CRF 大鼠肾脏的毒性作用。

材料与方法

^{*} 本课题受国家自然科学基金资助(No. 39900193)

上海长海医院(上海 200433)

万方数据

1 实验动物 Wistar 大鼠,雄性,购自第二军医大学实验动物中心,体重 150~200g,正常、自由饮食。

2 关木通水煎剂 关木通采购自吉林长白山地区,由我院临床药理中心鉴定为马兜铃属植物东北马兜铃的藤茎(Aristolonchic acid Kom, YC. Wu)。取关木通生药 1000g,加 20L 自来水浸泡 30min 后,加热至沸腾,煎煮 1h,滤出药液,残渣再加入 5L 水继续煎煮 1h,然后再合并两次药液,经过滤、浓缩后制成 500ml 水煎剂(2g 生药/ml)4℃ 保存,使用前加热至 37℃。

3 CRF 模型复制 采用 5/6 肾切除模型,分两次手术进行。正常大鼠以戊巴比妥钠(50mg/kg 体重)腹腔注射麻醉后,无菌条件下经后腹膜切除左肾 2/3,复位残余的左肾,分层缝合腹膜、肌层及皮肤。于第 1 次手术后 8 天进行第 2 次手术。大鼠以戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,在无菌条件下经后腹膜行右肾全切,分层缝合腹膜、肌层及皮肤。于第 2 次手术后 10 天(0 周)开始实验。

4 实验分组 CRF 大鼠随机分为 3 组,每组 10 只。第 1 组每天给予与药典剂量相当的关木通(1g/kg 体重),第 2 组每天给予关木通 3g/kg 体重,第 3 组给予与前两组相当量的自来水,药物和自来水均通过灌胃给予。实验期间,所有大鼠自由饮食。实验进行 8 周,于实验前、第 4 周和结束(第 8 周)时分别自内眦静

脉取血测定血肌酐(Scr)和尿素氮(BUN),留取 24h 尿测定尿蛋白定量,并于实验结束时取肾组织进行组织形态学检查。

5 指标测定方法 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。肾组织形态学:将 4% 多聚甲醛磷酸缓冲液固定的肾组织常规石蜡包埋、切片,行 HE 及 PAS 染色,普通光镜下观察间质纤维化和肾小球硬化的程度,肾间质纤维化程度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。

6 统计学处理 组间差异采用 *t* 检验,半定量数据比较采用 Ridit 分析。

结 果

1 各组 Scr 和 BUN 比较 见表 1。第 4 周时,3 组大鼠 Scr 和 BUN 均差异无显著性,第 8 周时第 2 组 Scr 和 BUN 显著高于第 3 组,第 1 组与第 3 组 Scr 和 BUN 差异不显著。

2 3 组 24h 尿蛋白含量比较 见表 2。实验前(0

表 1 3 组大鼠血 BUN 和 Scr 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN (mmol/L)			Scr (μ mol/L)		
		0 周	4 周	8 周	0 周	4 周	8 周
第 1 组	10	15.3 \pm 1.2	18.3 \pm 1.6	22.1 \pm 2.1	72.2 \pm 5.2	99.2 \pm 10.9	121.1 \pm 11.1
第 2 组	10	14.7 \pm 1.4	22.1 \pm 3.2	27.8 \pm 3.6*	81.4 \pm 5.6	121.8 \pm 9.3	165.0 \pm 15.6*
第 3 组	10	13.9 \pm 0.9	16.8 \pm 1.7	18.7 \pm 2.5	77.8 \pm 3.6	96.8 \pm 7.6	109.8 \pm 10.0

注:与同时期第 3 组比较,**P*<0.05

周)实验第 4 周,3 组大鼠尿蛋白排泄量差异均无显著性。第 8 周时,第 2 组尿蛋白排泄量高于第 3 组。

3 光镜组织形态学 见表 3。第 8 周时,第 2 组的肾间质纤维化和肾小球硬化程度均较第 3 组重,但第 1 和第 3 组之间差异不显著。

表 2 3 组大鼠 24h 尿蛋白含量比较 (mg/24h $\bar{x} \pm s$)

组别	n	尿蛋白含量		
		0 周	4 周	8 周
第 1 组	10	18.6 \pm 4.2	29.6 \pm 6.0	49.2 \pm 9.7
第 2 组	10	16.9 \pm 5.6	38.7 \pm 7.6	68.2 \pm 10.1*
第 3 组	10	19.4 \pm 4.9	31.4 \pm 5.7	44.6 \pm 8.5

注:与同时期第 3 组比较,**P*<0.05

表 3 3 组大鼠第 8 周肾脏组织形态学检查

组别	n	肾间质纤维化			肾小球系膜硬化		
		+	++	+++	+	++	+++
第 1 组	10	1	5	4	1	6	3
第 2 组	10	0	4	6*	0	5	5*
第 3 组	10	2	7	1	4	6	0

注:与同时期第 3 组比较,**P*<0.05

讨 论

中草药的肾脏毒性问题近年虽已逐渐引起人们的注意,但患者长期、大量、盲目服用中药的现象仍非常普遍,因此,中草药引起肾脏损害的报道仍屡见不鲜。这一方面与中草药的肾脏毒性还未引起广泛重视有关,另一方面,对中草药肾脏毒性的机理认识不足和缺乏应有的研究也是造成肾脏毒性时常发生的重要原因。

目前有关关木通的肾脏毒性的研究很少,且多局限在大剂量、急性实验。连续数天给予大剂量关木通可导致急性肾功能衰竭,但对较小剂量的关木通是否会导致肾脏损害,研究较少。有研究用药典规定剂量(1g/kg 体重)的关木通水煎剂给大鼠灌胃,每天 1 次,共 2 个月,大鼠血清肌酐、尿 γ -GT 活性、尿蛋白、尿糖与正常组大鼠比较均无统计学意义,其肾脏在光镜下也未见异常,肾组织中纤连蛋白的分布与正常大鼠相

比完全相同, 作者认为药典剂量的关木通对正常大鼠肾功能及肾间质结构无明显不利影响。另一研究中, 给正常大鼠相当于药典剂量 4 倍的关木通, 共 2 个月, 大鼠在肾脏形态学方面虽已经出现肾间质纤维化改变, 但尿蛋白和血清肌酐和尿素氮无显著改变⁽²⁾。本研究显示, 虽然在用药的 8 周中, 药典剂量的关木通未加重肾损害, 但在 3 倍其剂量组, 肾功能恶化的速度却显著加快, 提示已有肾功能损害大鼠对关木通的肾脏毒性的易感性增加。目前虽然没有确切的直接证据表明小剂量、长期应用关木通可导致肾损害或加重慢性肾功能衰竭速度, 但一些间接的证据提示这一可能性。在临床上, 我们和其他学者都发现, 一些患肾脏结石或其他病的患者, 因服用含有关木通的中成药后, 发生肾功能衰竭^(3,4)。关木通的肾脏毒性与其中的马兜铃酸有关, 同属马兜铃属的广防己的长期应用, 被认为是导致一些长期服用含有该药的减肥药物的年轻女性发生快速进展性慢性肾功能衰竭的主要原因⁽⁵⁻⁷⁾。慢性肾衰大鼠对关木通肾脏毒性的易感性增加的机理, 可能在于慢性肾衰时, 肾脏的机构和功能都发生改变, 细胞处于高代谢状态, 而马兜铃酸可与核酸结合而影响其功能⁽⁸⁾。此外, 肾脏是马兜铃酸排泄的主要场所, 也是马兜铃酸的主要蓄积场所之一。我们推测, 肾功能减退时, 肾脏蓄积的马兜铃酸可能大大增加并逐渐增多, 最终导致肾脏损害。

本研究表明, 对于肾功能已经有损害者, 即使所服用的关木通剂量不大, 也可显著加重其肾损害。由于关木通的肾脏毒性的机理被认为与马兜铃酸有关, 因此, 长期应用含有马兜铃酸的其他中成药, 也可能导致肾脏病患者肾损害加重。值得注意的是, 目前在我国的许多常用复方中药中, 常含有不同量的马兜铃属药

物, 这些药物的长期使用是导致或加重肾脏损害的潜在因素。虽然本结果显示药典剂量的关木通未加重慢性肾衰竭大鼠肾损害, 但并不能排除进一步延长应用时间会导致肾损害加重的可能性。

参 考 文 献

1. 崔太根, 王海燕, 尚明英, 等. 药典法定剂量关木通对大鼠肾功能及间质影响的研究. 中华肾脏病杂志 2000;16(2): 106—110.
2. 蔡浙毅, 周锦明, 葛缘仁. 木通引起肾损害的实验研究. 中华肾脏病杂志 2001;17(4):263—264.
3. 叶志斌, 崔若兰. 服用木通煎剂引起肾脏损伤 1 例. 中国中药杂志 1997;22(9):570.
4. 唐 政. 轻度肾小球病变伴严重小管间质损害, 中草药导致的肾损害? 肾脏病与透析肾移植杂志 1998;7(5):494—499.
5. Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C, et al. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. Lancet 1993; 341:387—388.
6. Vanherweghem JL. The Belgium collaborative group for the study of Chinese Herbs Nephropathy: Aristolochia nephropathy in humans, an outbreak on Belgium (abstract). J Am Soc Nephrol 1993;4:327—330.
7. Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet J, et al. Chinese herbs nephropathy: a clue to Balkan endemic nephropathy? Kidney Int 1994;45(6):1680—1687.
8. Schmeiser HH, Bieler CA, Wiessler M, et al. Detection of DNA adducts formed by aristolochic acid in renal tissue from patients with Chinese herbs nephropathy. Cancer Res 1996;56(9):2025—2031.

(收稿 2001-11-22 修回 2002-03-08)

第十四次全国中西医结合消化系统疾病学术交流会征文通知

中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会拟于 2002 年 9 月在浙江省杭州市召开第十四次全国中西医结合消化系统疾病学术交流会, 现将会议征文有关事宜通知如下。

1 征文内容 (1) 中西医结合防治 HP 相关性疾病、胃肠运动功能紊乱性疾病、慢性肝炎的进展、临床经验、研究成就等。(2) 脾胃学说及脾虚证研究进展。

2 征文要求 (1) 全文及摘要(800 字以内)各 1 份, 摘要应包括目的、方法、结果、结论四部分。注明作者姓名、单位、通讯地址及邮编。(2) 来稿须打印, 手写须字迹清楚, 用字规范。请自留底稿。(3) 截稿日期 2002 年 6 月 30 日。(4) 论文寄至: 100010 北京市东城区美术馆后街 23 号北京市中医研究所, 郭培元收。联系电话 010—84023593, 64016677—676。