

卡托普利不能抑制激素对大鼠阿霉素肾病 肾小球硬化的恶化作用*

崔世维^① 潘正平^① 邵亚男^① 钱桐荪^①

〔摘要〕 目的:探讨血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)卡托普利能否抑制肾上腺糖皮质激素(激素)对大鼠阿霉素肾病肾脏病理损害的加重作用。方法:40只SD雄性大鼠分成A(正常对照)组、B(阿霉素)组、C(阿霉素+泼尼松)组和D(阿霉素+泼尼松+卡托普利)组。注射阿霉素后4周开始经饮水给予泼尼松及卡托普利,其浓度分别为50mg/dl和25mg/dl。在注射阿霉素之后的第16周及28周末每组分别用5只大鼠取血及肾脏组织,分别作生化及病理检查。结果:注射阿霉素1周以后尿蛋白(Upro)开始升高,4周以后达到(168.45±76.28)mg/d。B组、C组及D组注射阿霉素后第16周末及28周末Upro、血清肌酐(Scr)、甘油三酯(Trg)及血清总胆固醇(ChL)都显著高于A组,血清白蛋白(Salb)则显著低于A组。B组、C组及D组组内第28周与第16周比较,Upro、Scr升高有显著性差异,Salb降低有显著差异。C组与B组比较,Upro、Scr、Trg及ChL显著升高。而D组上述生化指标的变化与C组比较都无显著性差异。B组肾脏病理积分显著高于A组,且第28周末显著高于第16周末;C组及D组第16周末肾脏病理积分显著高于B组,但D组与C组比较无显著差异。结论:卡托普利不能阻抑激素对大鼠阿霉素肾病病理损害的加重作用。

〔关键词〕 肾上腺糖皮质激素 肾小球肾炎 肾病综合征 大鼠 阿霉素 肾小球硬化 蛋白尿

Captopril can not Block the Accelerated Effects of Corticosteroids on Glomerulosclerosis in rats with adriamycin nephropathy

CUI Shiwei, PAN Zhengping, SHAO Yanan, et al

Affiliated Hospital of Nantong Medical College, Nantong (226001)

ABSTRACT Objectives: The aim here was to identify whether or not the angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) captopril can restrain the deterioration effects of glucocorticoid on rat adriamycin nephropathy. **Methods:** Forty male SD rats were randomly divided into four groups: (1) normal control (Group A), (2) treatment with adriamycin (Group B), (3) treatment with adriamycin plus prednisone (Group C) and (4) treatment with adriamycin plus prednisone and captopril (Group D). The administration of drugs begun on the fourth weekend after the injection of adriamycin (7 mg/kg) and continued for all the study duration. prednisone and captopril were given in drinking water in the concentrations of 50 mg/dl and 25 mg/dl respectively. On the sixteenth and 28th weekends after injection of adriamycin blood sample and renal tissue were obtained in 5 rats of each group for the biochemical and pathological tests. **Results:** Urine protein excretion rate (Upro) was significantly elevated 1 week within adriamycin administration, and reached the level of (168.45±76.28) mg/day more 4 weeks later. On the 16th and 28th weekends respectively, Upro, serum creatinine (Scr), triglyceride (Trg) and total cholesterol (ChL) level of group B, group C and group D were significantly higher and serum albumin (Salb) level was significantly lower than those of group A respectively. On the 28th weekend both Upro, Scr levels were significantly higher and Salb level was significantly lower than those on 16th weekend of group B, group C and group D. The Upro, Scr, Trg and ChL of group C were significantly higher than those of group B. There was no significant difference between group D and group C on the 16th weekend in any biochemical test result. Marked renal histopathologic damage of group B was observed when compared with group A, and it was more severe on the 28th weekend in group B. On the 16th weekend the renal damage of group C and group D were more severe than that of group B. There was no significant difference between group D and group C in the degree of renal pathologic damage. **Conclusions:** It was concluded that ACEI captopril can not ameliorated the worsen effects of steroid on rat adriamycin nephropathy.

KEY WORDS Glucocorticoid Glomerulonephritis Rat Nephrotic syndrome Adriamycin Glomerulosclerosis

* 本课题为江苏省科学技术委员会资助项目(No. 90018)

① 南通医学院附属医院 (南通 226001)

至今为止,肾上腺糖皮质激素(激素)仍然是治疗原发性肾小球疾病肾病综合征(NS)的主要药物。近年的临床研究还发现,既往认为对激素不甚敏感的肾小球疾病,如局灶性节段性肾小球硬化、膜性肾病等,经长期(12 周以上)大剂量使用激素及免疫抑制剂,其临床缓解率显著提高。但是,在发挥治疗作用之前,激素对肾脏的急性作用是加重蛋白尿,肾脏高灌注及高滤过状态。这种情况具有潜在的促发或加重肾脏病理损害的可能性。血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)用于治疗肾小球疾病,可以显著减少蛋白尿,在某种程度上延缓肾脏病理损害的发展,几乎已经成为不争的事实。卡托普利可以减轻肾小球的高滤过状态,如能抑制激素对病变肾脏血液动力学方面的作用,就有可能抑制激素对肾脏疾病的潜在性不良影响。

材料与方法

1 分组与动物模型制作 40 只 SD 雄性大鼠,体重(200±25)g,分成 A(正常对照)组、B(阿霉素)组、C(阿霉素+泼尼松)组和 D(阿霉素+泼尼松+卡托普利)组。经尾静脉一次注射阿霉素 7 mg/kg,制成 NS 模型。注射阿霉素后 4 周,C、D 组的饮水中加入泼尼松(50 mg/dl),D 组另外加入卡托普利(25 mg/dl)。在注射阿霉素之后的第 16 周及 28 周末,每组分别用 5 只大鼠取血及肾脏组织作生化及病理检查。

2 肾脏病理检查 分别观察肾小球系膜扩张(以毛细血管腔为参照系数)、系膜区细胞增殖、肾小球硬化、肾小球与球囊粘连、新月体形成、肾小管萎缩及间质血管硬化等指标,每种指标根据其严重程度分成 0~3 四个等级,每种病理改变的积分等于该病变的等级数乘以肾小球病变面积的百分比。每个标本观察 20 个肾小球,按各种病理改变的总分进行统计学分析。病理观察实行单盲法。

3 生化检查 在注射阿霉素之后的第 16 周及 28 周末分别留尿取血测定尿蛋白、血清肌酐、甘油三酯、总胆固醇。

结果

1 生化检查 注射阿霉素 1 周以后尿蛋白(Upro)开始升高,4 周以后达到(168.45±76.28)mg/d。使用泼尼松及卡托普利后 12 周~18 周(注射阿霉素 16 周及 18 周)后,各组大鼠尿和血的生化检查结果见表 1。B 组、C 组及 D 组注射阿霉

素后第 16 周及 28 周末 Upro、血清肌酐(Scr)、甘油三酯(Trg)及血清总胆固醇(ChL)都显著高于 A 组,血清白蛋白(Salb)则显著低于 A 组。B 组、C 组及 D 组各自组内第 28 周与第 16 周比较,Upro、Scr 升高有显著性差异,Salb 降低有显著差异。C 组与 B 组比较 Upro、Scr、Trg 及 ChL 显著升高,而 D 组上述生化指标的变化与 C 组比较都无显著性差异。

表 1 使用激素及卡托普利后血及尿生化指标的变化

项目	A 组	B 组	C 组	D 组
尿蛋白(mg/dex)				
16 周	56±1.31	143.89±29.8*	190.25±14.5*△	155.45±79.4*
28 周	4.78±2.57	128.33±31.64*#	213.39±43.76*#△	209.56±40.35*#△
血肌酐(μmol/L)				
16 周	60.78±4.71	79.10±10.9*	92.10±18.45*△	56.34±17.05*△
28 周	60.50±8.4#	115.98±10.45*#	129.98±26.14*#△	123.12±15.97*#△
血清白蛋白(g/L)				
16 周	31.25±5.36	22.25±1.79*	24.0±2.92*	23.5±2.11*
28 周	28.5±1.8	17.75±1.95*#	14.4±0.65*#	19.8±1.97*#
血甘油三酯(mmol/L)				
16 周	0.73±0.25	1.24±0.46*	1.50±0.41*△	1.29±0.67
28 周	0.45±0.34#	1.40±0.31*#	1.26±0.30*△	1.25±0.79*
血清总胆固醇(mmol/L)				
16 周	4.32±1.17	5.77±2.26*	6.83±2.71*△	7.29±2.85*△
28 周	4.09±0.94	5.82±1.94*#	7.36±3.01*△	8.01±3.93*△

注:与 A 组比较,*P<0.05;与第 16 周比较,#P<0.05;与 B 组比较,△P<0.05

2 肾脏病理变化 如表 2 所示,B 组肾脏病理改变的积分显著高于 A 组,且第 28 周显著高于第 16 周;C 组第 16 周显著高于 B 组;D 组的第 16 周显著高于 B 组,但与 C 组比较无显著差异。

表 2 肾脏病理变化

项目	A 组	B 组	C 组	D 组
16 周	0.25±0.43	1.25±1.64*	3.0±2.55*△	4.6±3.14*△
28 周	0.44±0.51	3.4±2.16*#	3.75±3.03*	3.5±2.49

注:与 A 组比较,*P<0.05;与第 16 周比较,#P<0.05;与 B 组比较,△P<0.05

讨论

1 激素在 NS 治疗中的地位 激素是治疗原发性肾小球疾病 NS 的主要药物之一。近十年临床研究表明,某些病理类型的肾病综合征,如果对激素 8~12 周无效,在延长激素与免疫抑制的治疗时间后,NS 的临床缓解率会进一步提高,但部分患者治疗 6 个月以上仍然无临床缓解的倾向,成为真正的难治性 NS。这些患者长期使用大剂量激素治疗难治性 NS,得到的只是其副作用及其对病变肾脏的潜在性不良影响,对此至今未引起临床上的足够注意。

2 激素对 NS 患者尿蛋白排泄率及肾脏血流动力学的影响 早在 50 年代人们就发现, NS 患者在使用较大剂量激素之后, 急性作用是使尿蛋白排泄量显著增加。1988 年 Wetzels 等研究认为, 泼尼松龙增加尿蛋白排泄率与肾脏血流动力学变化及肾小管重吸收功能的变化无关, 而是由于肾小球滤过膜对大分子蛋白质的通透性增加^[1]。但是, 他们对 6 例 NS 患者进行菊糖清除率试验时发现, 激素隔日疗法的非用药日肾小球率轻度下降(9.6 ± 16.3)%, ($P > 0.05$)^[2]。1990 年 Wetzels 等又报告, 泼尼松隔日疗法治疗膜性肾病, 对尿蛋白排泄率及肾脏血流动力学的急性作用, 与他们早先的研究相同^[3]。但是, Reichert 等报告, 26 例 NS 患者在静脉给予 125~150 mg 泼尼松龙后, 尿蛋白排泄量增加的同时, 肾小球滤过率从(83 ± 34) ml/min 增加到(95 ± 43) ml/min, 肾脏有效血浆流量没有显著变化, 肾小球滤过分数有所增加。提示泼尼松龙使肾小球毛细血管内压增加^[4]。我们曾对 20 例难治性 NS 进行研究, 发现在使用激素后, 尿蛋白量显著增加的同时有效肾血浆流量及内生肌酐清除率也显著增加, 尿蛋白量增加与有效肾血浆流量及内生肌酐清除率的增加有显著直线相关性^[5]。提示激素在加重蛋白尿的同时对肾脏高灌注、高滤过状态也有加重作用。我们的研究结果与国外研究的差异, 是否由于受试者在蛋白质摄入量方面的差别所致, 有待进一步研究。

3 激素治疗肾小球疾病对病变肾脏的潜在性不良影响 外源性激素或内源性激素都有可能对病态的肾脏甚至正常的肾脏产生不良影响。Cardoso 等对 Munich-Wistar 大鼠 5/6 肾切除慢性肾衰竭研究发现, 内源性糖皮质激素在残余肾组织的代偿性高滤过机制及肾损害进行性恶化过程中起促进作用^[6]。Yoshida 等报告 1 例由肢端肥大症伴发的 NS 患者, 首次肾活检呈轻微变化型肾小球病变, 肾小球显著肥大, 激素依赖。6 个月后再次肾活检呈不典型的局灶性节段性肾小球硬化。使用生长抑素类似物奥曲肽后尿蛋白排泄量显著减少, 尿量增加。经蝶骨手术切除垂体腺瘤后, 内生肌酐清除率从显著升高下降到正常水平, 小剂量激素可维持 NS 于缓解状态^[7]。

我们既往的研究显示, NS 患者在给予激素后, 在尿蛋白量、内生肌酐清除率增加的同时, 尿蛋白圆盘电泳示大分子尿蛋白构成比显著升高, 中分子蛋白的构成比显著减少, 但白蛋白的绝对排泄量

没有显著减少。这提示激素使 NS 患者肾小球基底膜对大分子蛋白质的通透性增加^[8]。对大鼠阿霉素肾病模型进行研究提示, 长期使用大剂量激素可以诱发正常大鼠发生肾小球损害, 激素用于大鼠阿霉素肾病模型则可加速肾小球损害的发展^[9]。

4 ACEI 与激素联合应用对肾脏的作用 激素在原发性肾小球疾病 NS 治疗中是必不可少的, 但如何在使用激素过程中扬长避短, 是很有研究价值的。Reichert 等分别对 NS 患者进行了 12 周的 ACEI 制剂 lisinopril 及 2 周前列腺素抑制剂吲哚美辛治疗, 结果发现这两种药都不能抑制泼尼松龙引起的尿蛋白排泄量增加^[4]。我们既往研究中, 使用卡托普利未能有效抑制激素对 NS 患者肾小球基底膜对大分子蛋白质通透性的影响^[8]。本研究中大鼠注射阿霉素 1 周以后尿蛋白开始升高, 4 周以后达到(168.45 ± 76.28) mg/d, B 组注射阿霉素后第 16 周及 28 周尿蛋白、血清肌酐、甘油三酯及胆固醇都显著高于 A 组; 第 28 周与第 16 周比较, 尿蛋白、血清肌酐有显著性差异, 血浆蛋白降低有显著差异; B 组肾脏病理改变的积分显著高于 A 组, 且第 28 周显著高于第 16 周。这些说明阿霉素肾病模型已经形成, 肾脏损害进行性发展。C 组血及尿生化指标变化与 B 组比较, 第 16 周及第 28 周尿蛋白、血甘油三酯及胆固醇显著升高, 第 16 周的血清肌酐明显升高; 在肾脏病理变化方面, C 组第 16 周显著高于 B 组。提示激素用于阿霉素肾病, 对尿蛋白排泄量及蛋白尿引起的继发性血液生化改变有加重作用。而 D 组上述生化指标的变化与 C 组相似, 与 C 组比较都无显著性差异; 病理积分 D 组的第 16 周显著高于 B 组, 但与 C 组比较无显著差异。提示在使用激素的基础上加用卡托普利未能改善激素对肾脏病理损害的恶化作用。卡托普利不能改善激素恶化作用的原因, 可能与激素对肾脏血管的作用机制有关。DeMatteo 等对激素增加肾小球滤过率的机制进行了研究。他们对绵羊静脉和肾动脉内滴注氢化可的松, 肾血流量分别增加(66 ± 8) ml/min 和(53 ± 11) ml/min, 静脉内或肾动脉内给予一氧化氮合成酶抑制剂 $N\omega$ -硝基-L-精氨酸, 可显著抑制氢化可的松引起的肾血管扩张。提示氢化可的松扩张肾血管, 使肾血流增加, 与内皮细胞源性血管舒张因子 NO 有关^[10]。一般认为, 卡托普利只能作用于血管紧张素转换酶及激肽酶, 所以它不能抑制激素通过 NO 介导的肾脏血管作用。

(下转第 701 页)

蛋白尿的变化。同时聚丙烯酰胺凝胶电泳技术的成熟性亦保证了尿蛋白检测的稳定性和准确性。本研究表明,羟乙基淀粉治疗后尿蛋白定量较治疗前明显下降,能有效减少实验大鼠的尿蛋白产生。在尿蛋白电泳中,尤其是高、中分子蛋白条带,不仅条带数目有明显减少,同时含量在治疗后有明显下降。由此可见,羟乙基淀粉对高、中分子物质有良好的堵漏作用,能有效地遏止尿蛋白的漏出。羟乙基淀粉阻止尿蛋白漏出的同时,治疗前后实验大鼠的尿量、血肌酐、尿素氮均无明显变化,说明该药对肾小球滤过率是没有影响的。因此羟乙基淀粉在减少尿蛋白方面不仅有效,而且是安全的。为该药的进一步研究与临床应用提供了实验基础。

羟乙基淀粉既非免疫抑制剂,又非 ACEI 类药物,其发挥作用的机理可能为该物质可以对肾小球滤过膜孔径起到占位性阻遏作用,竞争性地抑制蛋白的漏出,对肾小球滤过膜屏障进行堵漏,从而达到减少尿蛋白的作用。

参 考 文 献

1. 姜新猷,胡明昌. 柔红霉素肾病 活化氧诱发脂质过氧化反应引起的肾组织损伤 中华肾脏病杂志,1991,7:74.
2. Lapinski R, Perico N, Remuzzi A, et al. Angiotensin II modulates glomerular capillary permeability in rat isolated perfused kidney J Am Soc Nephrol, 1996, 7: 653 - 660
3. Benigni A, Remuzzi G. Glomerular protein trafficking and progression of renal disease to terminal uraemia. Semin Nephrol, 1996, 16: 151 - 159.
4. Weening JJ, Rennke HG. Glomerular permeability and polyanion in Adriamycin nephrosis in the rat. Kidney Int, 1983, 24: 152 - 159.
5. Desassis JF, Raats CJ, Bakker MA, et al. Antiproliferative effect of ciclosporin A in adriamycin nephropathy in rats. Nephron, 1997, 75: 336 - 341.
6. Reynolds JEF. Hetastarch. In: Marrindale: The extra pharmacopoeia, 13th ed, London: The Pharmaceutical Press, 1993, 653.

(收稿:2001-04-18 修回:2001-08-02)

(上接第 694 页)

参 考 文 献

1. Wetzels JF, Sluiter HE, Hoitsma AJ, et al. Prednisolone can increase glomerular permeability to proteins in nephrotic syndrome. Kidney Int, 1988, 33(6):1169 - 1174
2. Wetzels JF, Gerlag PG, Sluiter HE, et al. prednisone - induced fluctuations of proteinuria in patients with a nephrotic syndrome. Nephron, 1986, 44(4):344 - 350
3. Wetzels JF, Hoitsma AJ, Koene RA. Decreases of proteinuria during alternate - day prednisone therapy in nephrotic syndrome. Nephrol Dial Transplant, 1990, 5 (11):914 - 919.
4. Reichert L, Koene R, Wetzels J. Acute hemodynamic and proteinuric effects of prednisolone in patients with a nephrotic syndrome. Nephrol Dial Transplant, 1999, 14 (1):91 - 97.
5. 崔世维,邵亚男,钱桐荪. 激素治疗难治性 NS 对蛋白尿

- 及肾脏高滤过状态的加重作用. 中华肾脏病杂志, 1994, 10(3) 156 - 157.
6. Cardoso LR, Oliveira AV, Santos OF, et al. Effect of the anglucocorticoid RU - 486 on glomerular hemodynamics in remnant nephrons. Exp Nephrol, 1997, 5(3):217 - 224
7. Yoshida H, Akikusa B, Sacki N, et al. Effect of pituitary microsurgery on acromegaly complicated nephrotic syndrome with focal segmental glomerulosclerosis: report of a rare clinical case. Am J Kidney Dis, 1999, 33(6):1158 - 1163.
8. 崔世维,邵亚男,钱桐荪,等. 糖皮质激素对肾小球滤过膜通透性影响. 中华肾脏病杂志, 1998, 14(3):186.
9. 崔世维,邵亚男,钱桐荪,等. 肾上腺糖皮质激素加重大鼠阿霉素肾病病理损害. 中华肾脏病杂志, 2000, 16(4):259 - 260.
10. De Matteo R, May CN. Glucocorticoid - induced renal vasodilatation is mediated by a direct renal action involving nitric oxide. Am J Physiol, 1997, 273(6 Pt 2): 1972 - 1979.

(收稿:2001-07-11)