

网络出版时间:2012-07-18 10:49

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120718.1049.019.html>

枸橼酸氢钾钠颗粒与八正散对小鼠三聚氰胺中毒模型的治疗效果

王久涛, 田丽丽, 杨鸣琦

(西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】观察八正散(bazheng powder, BZP)和枸橼酸氢钾钠颗粒(potassium sodium hydrogen citrate, PSHC)单独或联合用药对三聚氰胺中毒小鼠模型的治疗效果, 为三聚氰胺中毒的临床治疗提供参考。**【方法】**以1 500 mg/kg 三聚氰胺连续15或30 d对小鼠灌胃0.4 mL/(只·d), 构建小鼠三聚氰胺中毒模型, 然后将其分成生理盐水对照组和药物治疗组, 用质量浓度为1.12, 0.56, 0.28 g/mL的BZP和含量为1.44, 0.72, 0.36 g/kg的PSHC单独或联合治疗, 每天1次, 灌胃量0.4 mL/(只·d), 7和15 d后测定血清肌酐(CRE)、尿素氮(BUN)和尿酸(UA)浓度, 治疗15 d后处死小鼠, 取肾脏称质量, 计算肾脏系数。**【结果】**治疗7 d后, 治疗组血清指标CRE、BUN、UA值均比对照组低; 与治疗7 d相比, 治疗15 d时, CRE、BUN、UA值进一步降低, 且仍低于对照组。除0.56 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC和1.44 g/kg PSHC组外, 其他各治疗组小鼠总肾脏系数均显著低于对照组($P<0.05$)。**【结论】**BZP和PSHC单独或联合用药对小鼠三聚氰胺(1 500 mg/kg)中毒有治疗效果。治疗7 d时, 0.56 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC组和0.28 g/mL BZP+1.44 g/kg PSHC组的联合治疗效果较好; 治疗15 d时, 以0.28 g/mL BZP组的单独治疗效果及0.28 g/mL BZP+1.44 g/kg PSHC和0.28 g/mL BZP+0.36 g/kg PSHC组的联合治疗效果较好。

【关键词】 三聚氰胺; 八正散; 枸橼酸氢钾钠颗粒; 小鼠

【中图分类号】 S853.74; S856.59

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2012)08-0001-07

Therapeutic research of potassium sodium hydrogen citrate and bazheng powder on melamine-induced toxication model in mice

WANG Jiu-tao, TIAN Li-li, YANG Ming-qi

(College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The research was conducted to observe the therapeutic effect of BZP and or PSHC for melamine poisoning model, in order to provide reference for clinical treatment of melamine toxication. **【Method】** To build the poisoning model, the mice were administrated 0.4 mL melamine (1 500 mg/kg) once everyday for 15 and 30 days successively. Male mice were randomly divided into the normal saline control group, and the medication group. The mice were treated by BZP (1.12, 0.56, 0.28 g/mL) and or PSHC (1.44, 0.72, 0.36 g/kg), once everyday, at the end of the treatment, the mice were put to death and the changes of serum CRE, BUN, and UA, weigh the kidneys were observed and the kidney coefficient calculated. **【Result】** After 7 d treatment, the serum CRE, BUN and UA of treatment groups (2—16) was lower than that of normal saline group (1 and 17) ($P<0.05$). The serum CRE, BUN and UA after 15 d treatment further decreased compared with 7 d, the serum CRE, BUN of all groups were lower in contrast

* [收稿日期] 2012-01-15

[基金项目] 农业部“948”引进项目(2009-Z45(2))

[作者简介] 王久涛(1986—), 男, 河南商丘人, 在读硕士, 主要从事动物病理学研究。E-mail: wjtgreat@163.com

[通信作者] 杨鸣琦(1963—), 男, 陕西扶风人, 教授, 硕士生导师, 主要从事动物病理学研究。E-mail: xbandymq@163.com

with group 1 and 17. The total kidney coefficient indicated, except group 0.56 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC and 1.44 g/kg PSHC, all had significant difference ($P<0.05$) compared with group 1 and 17. 【Conclusion】 The therapeutic effect of BZP and or PSHC was obvious for mice melamine (1 500 mg/kg) poison. After 7 d treatment, therapeutic effect of 0.56 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC group and 0.28 g/mL BZP+1.44 g/kg PSHC group was good. After 15 d treatment, BZP 0.28 g/mL group was good, so were group 0.28 g/mL BZP+1.44 g/kg PSHC and 0.28 g/mL BZP+0.36 g/kg PSHC group.

Key words: melamine; bazheng powder; potassium sodium hydrogen citrate; mice

三聚氰胺是一种三嗪类含氮杂环有机化合物,主要用于生产三聚氰胺甲醛树脂等工业制品和生活用品。由于三聚氰胺属于生物惰性物质,急性毒性很低,所以人们对其危害并未给予关注。因其含氮量较高,加入食品中可造成蛋白质含量虚高的假象,因此一些不法商家将之添加到牛奶及其他蛋白制品中,从而导致了 2007-03 的美国宠物三聚氰胺中毒事件^[1],以及我国 2008-09 因食用添加三聚氰胺奶粉引发的大批婴幼儿肾结石事件^[2-3]。三聚氰胺是一种用于塑料生产的含氮复合物,如果将其用于食品中可能会导致人类和动物患上尿结石和膀胱癌,这主要是由于三聚氰胺能够随尿液 pH 的变化,形成含有三聚氰酸的不溶性复合物,从而对组织造成损伤^[4]。

目前对尿结石的治疗包括药物治疗、外科手术治疗和体外碎石等,但这些方法都有一定的局限性且会产生一些并发症,尤其是在尿结石的根治和预防复发方面无突破性进展^[5],因此寻求根治和预防复发的方法仍是治疗该疾病亟需解决的问题。在肾结石的治疗方法中,中医从宏观整体上着眼积累了大量的经验,而西医在局部微观上去除病因,目前中西医结合治疗已成为一种新兴的替代疗法^[6-7],越来越受到人们的重视。因此,本试验结合二者优点,采用经典中药方剂八正散(BZP)和西药枸橼酸氢钾钠颗粒(PSHC)单独或联合治疗,观察其对三聚氰胺中毒的治疗效果,以期在三聚氰胺中毒的临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 6 周龄昆明种小鼠 119 只,体重 18~22 g,雄性,购自西安交通大学医学院。

1.1.2 供试药物 BZP 配方:篇蓄 20 g,瞿麦 20 g,木通 10 g,车前子 20 g,滑石 20 g,灯芯草 10 g,栀子 20 g,大黄 10 g,甘草 10 g,金钱草 30 g,海金沙 15 g,石韦 10 g,白茅根 10 g,采用常规方法制成生药

质量浓度为 1.12 g/mL 的浓缩液(高剂量组);PSHC 购自德国大马士公司。

1.1.3 主要试剂及仪器 三聚氰胺,天津市巴斯夫化工有限公司生产,分析纯;肌酐试剂盒(CRE,酶终点法)、尿素氮试剂盒(BUN,酶两点法)、尿酸试剂盒(UA,酶两点法),均购自中生北控生物科技股份有限公司;其余试剂均为国产分析纯。石蜡切片机 RM2126,上海徕卡仪器有限公司生产;生化分析仪 XD811,上海迅达医疗仪器有限公司生产;旋转蒸发仪 RE-52AA,上海亚荣生化仪器厂生产;高压密闭煎药机 BJY150-2(2+1),浙江永历制药机械有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 三聚氰胺中毒模型的建立 将三聚氰胺设定为 500, 1 000, 1 500 和 2 000 mg/kg 4 个剂量组,同时设空白对照组进行造模预试验,每组 5 只小鼠,30 d 后若观察到肾小管或肾小球内有结晶颗粒,则可作为三聚氰胺中毒模型试验小鼠。预试验结果显示,500 mg/kg 组的小鼠无死亡,肾小管内无结晶颗粒;1 000 mg/kg 组的小鼠无死亡,造模成功率为 40%;1 500 mg/kg 组的小鼠无死亡,造模成功率为 100%;2 000 mg/kg 组的小鼠死亡 2 只,造模成功率为 60%。因此将三聚氰胺建模所用剂量设定为 1 500 mg/kg。

1.2.2 动物分组与处理 将 94 只小鼠随机分成 2 批建模,第 1 批连续灌胃三聚氰胺 15 d 建模,共 8 组,每组 5 只;第 2 批连续灌胃三聚氰胺 30 d 建模,共 9 组,每组 6 只。每天灌胃 1 次,小鼠三聚氰胺灌胃量为 0.4 mL/(只·d)。建模结束后,对小鼠单独或联合灌以 BZP 和 PSHC, BZP 质量浓度分别为 1.12(高剂量组),0.56(中剂量组)和 0.28 g/mL(低剂量组),PSHC 含量分别为 1.44(高剂量组),0.72(中剂量组)和 0.36 g/kg(低剂量组),以灌等量生理盐水为对照,灌胃量为 0.4 mL/(只·d),共组成 17 个试验组,各组用药情况详见表 1。治疗周期均为 15 d。

表 1 小鼠三聚氰胺中毒模型的治疗试验方案

Table 1 Design scheme of building melamine renal poisoning model

组别 Group	BZP/(g·mL ⁻¹) Concentration of BZP	PSHC/(g·kg ⁻¹) Concentration of PSHC	建模时间/d Time
1	生理盐水 Normal saline	生理盐水 Normal saline	15
2	1.12	生理盐水 Normal saline	15
3	0.56	生理盐水 Normal saline	15
4	0.28	生理盐水 Normal saline	15
5	生理盐水 Normal saline	0.72	15
6	1.12	0.72	15
7	0.56	0.72	15
8	0.28	0.72	15
9	生理盐水 Normal saline	1.44	30
10	1.12	1.44	30
11	0.56	1.44	30
12	0.28	1.44	30
13	生理盐水 Normal saline	0.36	30
14	1.12	0.36	30
15	0.56	0.36	30
16	0.28	0.36	30
17	生理盐水 Normal saline	生理盐水 Normal saline	30

1.2.3 样品的采集与检测 分别在建模 15 d、30 d 和治疗 7 d、15 d,用乙醚麻醉小鼠眼眶静脉丛采血,血液置于 2 mL 离心管,分离血清,CRE、BUN 和 UA 的检测均按试剂盒说明书进行。治疗 15 d 后观察病理变化,称小鼠体质量,处死,取肾脏,分别称左右肾脏质量,计算左右肾脏系数和总肾脏系数,肾脏系数=肾脏质量/体质量×100%;然后用体积分数 10%福尔马林固定肾脏,脱水,石蜡包埋,常规方法制备切片并 HE 染色,在光镜下进行病理组织学观察。

1.3 数据处理

所有试验数据采用 SPSS 18.0 软件进行 One-way ANOVA 统计处理,用 Duncan's 法比较差异显著性,所有数据用“平均值±标准差($\bar{x}\pm SD$)”表示, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 三聚氰胺中毒小鼠模型的病理组织观察

用 1 500 mg/kg 三聚氰胺对小鼠连续灌胃 30 d 后,小鼠肾脏肿大,颜色变浅,被膜容易剥离;冠状切开肾脏组织发现,皮质颜色变浅,髓质变化不明显。从图 1 可以看到,小鼠肾小管内形成了结晶颗粒,并堵塞了肾小管,导致肾小管管壁变薄,细胞颗粒变性、坏死,脱落到肾小管内,形成蛋白管型,肾脏皮质和髓质交界处出血。

2.2 建模 15 d 和 30 d 的小鼠血清 CRE、BUN、UA 浓度

建模 15 d 和 30 d 小鼠血清 CRE、BUN 和 UA

浓度的检测结果见表 2。从表 2 可以看到,试验 6 组 UA 值显著高于对照组(1 组),试验 11 组的 CRE 和 UA 值显著高于对照组(17 组),其他组间各指标值均无显著差异($P>0.05$)。

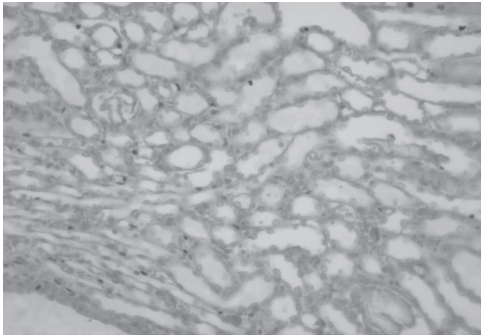


图 1 1 500 mg/kg 三聚氰胺灌胃 30 d 小鼠肾脏的病理组织观察(HE 染色,×400)

Fig.1 Pathological section of kidney that was

administrated melamine for 30 successive days(HE,×400)

2.3 BZP 和 PSHC 治疗 7 d 对小鼠血清 CRE、BUN、UA 浓度的影响

各组经 BZP 和 PSHC 治疗 7 d 对小鼠血清指标的影响结果见表 3。与建模结束时血清指标相比,治疗 7 d 各组指标均降低。建模 15 d 的各组中除 3、5 和 8 组外,其他组的 CRE 均显著低于对照 1 组;各组的 BUN 和 UA 均显著($P<0.05$)低于对照 1 组。建模 30 d 的各组中除 10 组的 CRE 与对照 17 组差异不显著外,其他各组上述指标均显著($P<0.05$)低于对照 17 组。

BZP 单独治疗各组(2,3 和 4 组)间及 PSHC 单独治疗各组(5,9 和 13 组)间相比,均不能确定其中哪组治疗效果较好。

表 2 建模第 15 天和第 30 天的小鼠 CRE、BUN、UA 浓度
Table 2 The mice CRE,BUN and UA at 15 and 30 d of the model

建模时间/d Time	组别 Group	CRE/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	BUN/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	UA/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
15	1	75.20 $\pm$ 6.76	8.52 $\pm$ 2.11	678.40 $\pm$ 101.23
	2	73.00 $\pm$ 10.39	8.22 $\pm$ 1.19	689.30 $\pm$ 88.25
	3	75.40 $\pm$ 5.41	8.50 $\pm$ 1.73	703.70 $\pm$ 198.32
	4	73.80 $\pm$ 9.85	8.09 $\pm$ 1.77	657.30 $\pm$ 111.38
	5	75.60 $\pm$ 7.44	8.27 $\pm$ 1.16	697.50 $\pm$ 215.60
	6	74.40 $\pm$ 5.13	8.57 $\pm$ 3.05	710.80 $\pm$ 114.45▲
	7	73.60 $\pm$ 8.11	8.50 $\pm$ 4.60	688.70 $\pm$ 155.43
	8	75.40 $\pm$ 4.34	8.39 $\pm$ 0.73	695.10 $\pm$ 104.39
30	9	86.60 $\pm$ 10.50	10.40 $\pm$ 4.06	896.07 $\pm$ 157.30
	10	86.60 $\pm$ 13.48	10.77 $\pm$ 3.22	882.00 $\pm$ 71.21
	11	93.40 $\pm$ 13.15◆	9.66 $\pm$ 1.50	910.50 $\pm$ 172.00◆
	12	88.80 $\pm$ 6.06	9.17 $\pm$ 2.04	889.70 $\pm$ 251.20
	13	86.00 $\pm$ 8.49	9.85 $\pm$ 2.43	883.70 $\pm$ 127.50
	14	90.20 $\pm$ 8.50	10.50 $\pm$ 2.03	881.40 $\pm$ 268.80
	15	85.80 $\pm$ 13.31	10.14 $\pm$ 1.54	875.90 $\pm$ 270.40
	16	90.60 $\pm$ 9.10	9.77 $\pm$ 1.12	884.40 $\pm$ 138.00
	17	89.85 $\pm$ 7.45	10.32 $\pm$ 2.58	893.60 $\pm$ 99.60

注:2~8 组与 1 组相比,“▲”表示差异显著($P<0.05$);9~16 组与 17 组相比,“◆”表示差异显著($P<0.05$)。
Note:“▲” in the same row indicates significant difference between group 2—8 and group 1($P<0.05$);“◆” in the same row indicates significant difference between group 9—16 and group 1($P<0.05$).

BZP 与 0.72 g/kg PSHC 联合治疗各组(6,7 和 8 组)间相比,7 组的 CRE、BUN 和 UA 值显著($P<0.05$)低于其他组,表明 0.56 g/mL BZP + 0.72 g/kg PSHC 联合治疗 7 d 效果较好。BZP 与 1.44 g/kg PSHC 联合治疗各组(10,11 和 12 组)间相比,12 组的 BUN 与 10 和 11 组差异不显著;12 组的 UA 与 10 组间无显著差异,但二者均显著低于 11 组;并且 12 组的 CRE 值显著($P<0.05$)低于 10 和 11 组;综合分析认为,0.28 g/mL BZP 与 1.44 g/kg PSHC 联合治疗 7 d 效果较好。BZP 与 1.44 g/kg PSHC 联合治疗各组(14,15 和 16 组)间相比,不能确定其中哪组治疗效果较好。

表 3 BZP 和 PSHC 治疗 7 d 对小鼠 CRE、BUN、UA 浓度的影响
Table 3 Effects of BZP and PSHC on mice CRE,BUN and UA at 7 d treatment

建模时间/d Time	组别 Group	CRE/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	BUN/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	UA/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
15	1	72.67 $\pm$ 6.35 e	7.31 $\pm$ 0.40 e	685.70 $\pm$ 60.66 e
	2	59.40 $\pm$ 5.94 d	7.01 $\pm$ 0.69 d	335.00 $\pm$ 76.97 a
	3	65.75 $\pm$ 4.03 e	5.16 $\pm$ 0.67 a	349.00 $\pm$ 124.20 a
	4	43.25 $\pm$ 2.87 b	5.00 $\pm$ 0.10 a	567.90 $\pm$ 149.50 d
	5	69.75 $\pm$ 7.93 e	6.99 $\pm$ 1.42 d	316.90 $\pm$ 88.87 a
	6	59.40 $\pm$ 5.94 d	6.69 $\pm$ 0.30 c	574.30 $\pm$ 52.03 d
	7	45.00 $\pm$ 12.59 b	5.21 $\pm$ 0.68 a	461.30 $\pm$ 21.65 c
	8	67.20 $\pm$ 17.37 e	6.06 $\pm$ 1.10 b	542.60 $\pm$ 76.60 d
30	9	40.80 $\pm$ 3.35 b	6.38 $\pm$ 0.42 c	407.30 $\pm$ 74.42 b
	10	69.40 $\pm$ 15.61 e	6.28 $\pm$ 0.60 c	392.40 $\pm$ 77.67 b
	11	48.20 $\pm$ 8.61 c	5.83 $\pm$ 1.01 b	466.00 $\pm$ 21.65 c
	12	43.20 $\pm$ 5.76 b	6.00 $\pm$ 1.57 bc	425.30 $\pm$ 147.00 b
	13	55.00 $\pm$ 3.83 d	5.77 $\pm$ 0.80 b	486.00 $\pm$ 92.60 c
	14	36.80 $\pm$ 2.05 a	5.66 $\pm$ 0.68 b	600.90 $\pm$ 51.04 d
	15	50.75 $\pm$ 13.00 c	5.92 $\pm$ 0.41 b	364.20 $\pm$ 105.20 a
	16	50.40 $\pm$ 3.51 c	7.01 $\pm$ 0.48 d	472.90 $\pm$ 262.10 c
	17	73.51 $\pm$ 4.25 e	7.25 $\pm$ 0.47 e	678.40 $\pm$ 159.28 e

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。
Note:Data in the sane column with different letters indicate significant difference($P<0.05$). The same as below.

2.4 BZP 和 PSHC 治疗 15 d 对小鼠血清 CRE、BUN、UA 浓度的影响

各组经 BZP 和 PSHC 治疗 15 d 对小鼠血清指标的影响结果见表 4。与治疗 7 d 相比,治疗 15 d 各组大部分指标进一步降低,但有的组中部分指标出现升高现象,其原因需进一步分析。建模 15 d 的各组除 6 组外,其他组的 CRE 均显著低于对照 1 组;除 6 组的 BUN 和 8 组的 UA 与对照 1 组差异不显著外,其余各组的 BUN、UA 均显著高于或显著低于对照 1 组。建模 30 d 各组的 CRE 和 BUN 均显著低于对照 17 组;除 10 组外,其他组 UA 均显著($P<0.05$)低于对照 17 组。

BZP 单独治疗各组(2,3 和 4 组)间相比,4 组 CRE 与 2,3 组无显著差异,但其 BUN 和 UA 值均

显著低于 2 和 3 组,因此认为 0.28 g/mL BZP 的治疗效果较好。PSHC 单独治疗各组(5,9 和 13 组)间相比,不能确定其中哪组治疗效果较好。

BZP 与 0.72 g/kg PSHC 联合治疗各组(6,7 和 8 组)间相比,不能确定其中哪组治疗效果较好。BZP 与 1.44 g/kg PSHC 联合治疗各组(10,11 和 12 组)间相比,12 组中 CRE、BUN 和 UA 值均低于 10 和 11 组,表明 0.28 g/mL BZP 与 1.44 g/kg PSHC 联合治疗 15 d 效果较好。BZP 与 0.36 g/kg PSHC 联合治疗各组(14,15 和 16 组)间相比,16 组 CRE 与 14 组间无显著差异,但二者显著低于 15 组,且 16 组的 BUN 和 UA 值均显著低于 14 和 15 组,表明 0.28 g/mL BZP 与 0.36 g/kg PSHC 联合治疗 15 d 效果较好。

表 4 BZP 和 PSHC 治疗 15 d 对小鼠 CRE、BUN、UA 浓度的影响

Table 4 Effects of BZP and PSHC on mice CRE,BUN and UA at 15 d treatment

建模时间/d Time	组别 Group	CRE/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	BUN/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	UA/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
15	1	59.75 $\pm$ 9.81 e	7.29 $\pm$ 0.57 d	432.50 $\pm$ 105.20 e
	2	49.60 $\pm$ 10.88 d	6.15 $\pm$ 1.64 c	585.80 $\pm$ 46.24 f
	3	45.33 $\pm$ 7.57 cd	7.99 $\pm$ 0.99 e	396.20 $\pm$ 121.10 d
	4	47.20 $\pm$ 6.61 d	4.73 $\pm$ 0.76 a	141.20 $\pm$ 23.48 a
	5	37.60 $\pm$ 9.18 a	8.24 $\pm$ 1.19 e	240.30 $\pm$ 28.27 b
	6	57.40 $\pm$ 3.21 e	7.58 $\pm$ 0.94 d	599.50 $\pm$ 117.20 f
	7	43.20 $\pm$ 3.03 b	6.59 $\pm$ 1.82 c	243.90 $\pm$ 54.48 b
	8	40.20 $\pm$ 11.50 b	4.39 $\pm$ 0.48 a	446.70 $\pm$ 82.14 e
30	9	42.25 $\pm$ 5.56 b	6.60 $\pm$ 0.81 c	278.10 $\pm$ 45.02 b
	10	48.25 $\pm$ 6.13 d	7.41 $\pm$ 1.20 d	579.90 $\pm$ 61.42 f
	11	51.20 $\pm$ 9.88 d	6.30 $\pm$ 1.30 c	244.10 $\pm$ 62.38 b
	12	42.80 $\pm$ 8.08 b	6.08 $\pm$ 0.73 b	192.40 $\pm$ 57.71 a
	13	44.20 $\pm$ 3.56 c	7.23 $\pm$ 0.73 d	301.20 $\pm$ 91.98 c
	14	40.40 $\pm$ 5.41 b	6.67 $\pm$ 1.93 c	369.60 $\pm$ 46.12 d
	15	45.50 $\pm$ 9.00 cd	6.96 $\pm$ 1.24 d	337.80 $\pm$ 10.82 c
	16	43.80 $\pm$ 8.56 b	5.76 $\pm$ 1.02 b	237.50 $\pm$ 45.28 b
	17	66.90 $\pm$ 10.56 e	7.75 $\pm$ 1.05 e	564.20 $\pm$ 126.94 f

2.5 BZP 和 PSHC 治疗对小鼠肾脏系数的影响

从表 5 可知,2,10 和 15 组小鼠体质量显著低于其相应对照组,16 组小鼠体质量显著($P<0.05$)高于对照 17 组,其他组之间差异不显著($P>0.05$)。对于建模 15 d 小鼠,除 4(右肾脏)和 7(左、

右肾脏)组外,其他组肾脏系数均显著低于对照 1 组。对于建模 30 d 小鼠,除 14 组(左、右肾脏)及 9 和 13 组(右肾脏)外,其他组肾脏系数均显著($P<0.05$)低于对照 17 组。

表 5 BZP 和 PSHC 治疗对小鼠肾脏系数的影响

Table 5 Effects of BZP and PSHC on mice kidney index

组别 Group	肾脏系数/% Kidney coefficient			体质量/g Body weight
	左肾脏 Left kidney	右肾脏 Right kidney	总计 Total kidney coefficient	
1	0.814 8 $\pm$ 0.039 8 d	0.857 9 $\pm$ 0.039 3 c	1.668 0 $\pm$ 0.024 6 d	30.74 $\pm$ 3.541 b
2	0.633 5 $\pm$ 0.086 0 a	0.651 0 $\pm$ 0.058 3 a	1.348 0 $\pm$ 0.183 0 a	26.86 $\pm$ 2.452 a
3	0.692 1 $\pm$ 0.098 0 b	0.727 0 $\pm$ 0.074 2 b	1.410 0 $\pm$ 0.159 8 b	30.28 $\pm$ 1.932 b
4	0.640 6 $\pm$ 0.068 2 a	0.805 8 $\pm$ 0.128 2 c	1.408 0 $\pm$ 0.169 4 b	33.36 $\pm$ 4.416 b
5	0.693 0 $\pm$ 0.047 0 b	0.711 9 $\pm$ 0.026 3 b	1.405 0 $\pm$ 0.073 3 b	29.38 $\pm$ 3.043 b
6	0.626 7 $\pm$ 0.071 3 a	0.603 2 $\pm$ 0.081 5 a	1.230 0 $\pm$ 0.148 3 a	30.66 $\pm$ 3.592 b
7	0.823 0 $\pm$ 0.098 8 d	0.795 9 $\pm$ 0.020 7 c	1.619 0 $\pm$ 0.114 8 d	33.20 $\pm$ 5.611 b
8	0.718 0 $\pm$ 0.126 3 b	0.719 2 $\pm$ 0.104 9 b	1.437 0 $\pm$ 0.214 2 b	30.02 $\pm$ 3.601 b

续表 5 Continued table 5

组别 Group	肾脏系数/% Kidney coefficient			体质量/g Body weight
	左肾脏 Left kidney	右肾脏 Right kidney	总计 Total kidney coefficient	
9	0.773 7±0.003 9 c	0.820 0±0.043 0 c	1.625 0±0.095 7 d	32.42±1.927 b
10	0.668 0±0.063 8 b	0.639 8±0.026 9 a	1.308 0±0.068 2 a	27.58±4.106 a
11	0.721 2±0.075 4 b	0.683 2±0.119 6 b	1.404 0±0.192 5 b	31.82±3.562 b
12	0.738 9±0.097 0 b	0.722 9±0.081 0 b	1.511 0±0.186 8 c	30.64±1.560 b
13	0.762 4±0.026 3 c	0.784 8±0.172 3 c	1.547 0±0.167 0 c	30.66±2.470 b
14	0.801 4±0.133 7 d	0.806 0±0.068 4 c	1.550 0±0.231 8 c	31.16±2.744 b
15	0.714 3±0.022 7 b	0.703 0±0.057 3 b	1.417 0±0.079 7 b	27.82±3.043 a
16	0.695 1±0.110 7 b	0.659 5±0.088 5 b	1.408 0±0.250 2 b	35.70±5.068 c
17	0.823 8±0.025 6 d	0.834 7±0.069 0 c	1.658 5±0.186 9 d	31.73±2.860 b

2.6 BZP 和 PSHC 治疗对小鼠肾脏病理组织的影响

对小鼠进行病理组织学检查发现,灌喂生理盐水组的小鼠肾脏肿大,颜色仍然较浅,切开肾脏组织发现,皮质颜色暗淡,肾小管内未见三聚氰胺结晶,肾小管管壁很薄,其上皮细胞颗粒变性,管内可见坏死脱落的上皮细胞,同时可见蛋白管型,间质内有出血(图 2-A)。而治疗组小鼠肾脏颜色恢复正常,切开肾脏,未见明显病变。其中,0.28 g/mL BZP 单独治疗组肾脏肾小管内未见三聚氰胺结晶,有轻微淤血现象,肾小管上皮细胞有轻微肿胀(图 2-B),与

其对照组相比有较大改观。1.44 g/kg PSHC 单独治疗组肾小管内未见三聚氰胺结晶,肾小管结构清晰,其上皮细胞着色均匀,表明肾脏结构已恢复正常(图 2-C)。0.56 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC 和 0.28 g/mL BZP+1.44 g/kg PSHC 联合治疗组肾小管内未见三聚氰胺结晶,肾小管结构清晰,其上皮细胞界限明显(图 2-D、E),说明治疗效果较好。0.28 g/mL BZP+0.36 g/kg PSHC 联合治疗组肾小管内未见三聚氰胺结晶,肾小管上皮细胞轻微颗粒变性,肾小管腔隙狭小(图 2-F),但肾小管界限明显。

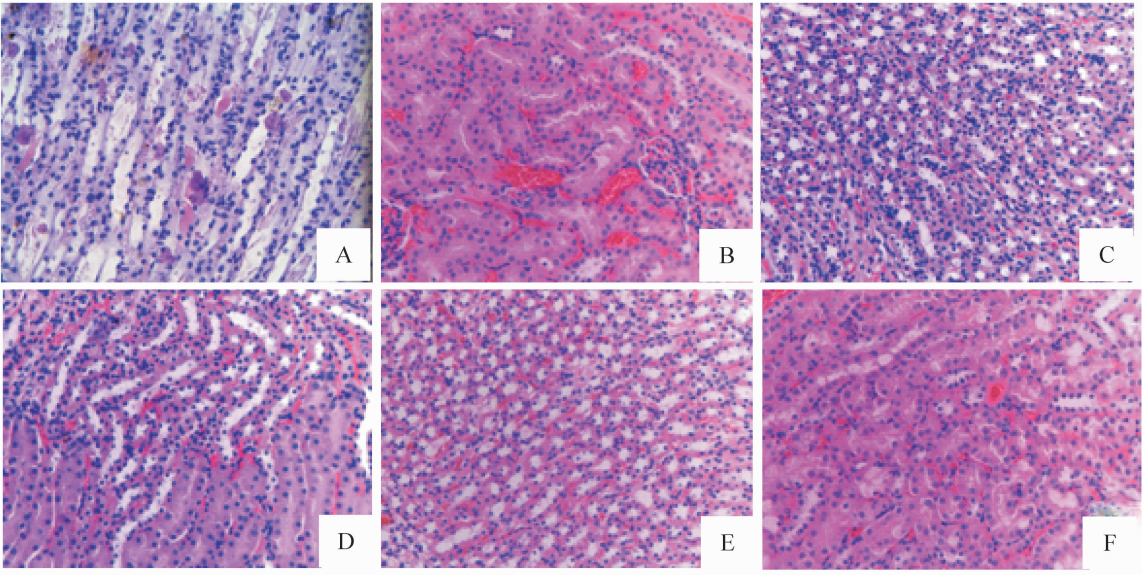


图 2 BZP 和 PSHC 单独或联合治疗对小鼠肾脏病理组织的影响(HE 染色,×400)

A. 生理盐水组肾脏;B. 0.28 g/mL BZP 单独治疗组肾脏;C. 1.44 g/kg PSHC 单独治疗组肾脏;D. 0.56 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC 联合治疗组肾脏;E. 0.28 g/mL BZP+1.44 g/kg PSHC 联合治疗组肾脏;F. 0.28 g/mL BZP+0.36 g/kg PSHC 联合治疗组肾脏

Fig. 2 Pathological section of kidney treated by BZP and PSHC(HE,×400)

A. The kidney of group normal saline;B. The kidney of 0.28 g/mL BZP group;C. The kidney of 1.44 g/kg PSHC group; D. The kidney of 0.56 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC combination group;E. The kidney of 0.28 g/mL BZP+1.44 g/kg PSHC combination group; F. The kidney of 0.28 g/mL BZP+0.36 g/kg PSHC combination group

3 讨 论

三聚氰胺属于小分子非极性物质,在人体消化

道内可经自由扩散被吸收,三聚氰胺在机体内的代谢属于不活泼代谢,它在机体内不会迅速发生任何类型的代谢变化,以原形或同系物形式排出^[8]。研

究表明,24 h 内 90% 的三聚氰胺会以原形经肾脏排出^[9-10]。本试验三聚氰胺中毒模型所用剂量为1 500 mg/kg,每天灌胃 1 次,连续 30 d,建模成功率最大且未致小鼠死亡。本试验结果显示,用 1 500 mg/kg三聚氰胺对小鼠连续灌胃 30 d 能使小鼠肾小管内形成结晶颗粒,BZP 和 PSHC 单独或联合治疗均能降低血液中 CRE、BUN 和 UA 的浓度,表明 BZP 和 PSHC 单独或联合用药对小鼠三聚氰胺中毒有治疗效果。0.56 g/mL BZP 组和 0.72 g/kg PSHC 组治疗 15 d 血液指标 BUN 值比生理盐水组偏高,1.12 g/mL BZP 组和 1.12 g/mL BZP+0.72 g/kg PSHC 联合组的 UA 值比生理盐水组值偏高,出现这种现象,可能与药物浓度或治疗周期有关,后续试验准备加上药物对照组,验证单纯性药物干预是否会对肾脏造成损害。

在三聚氰胺所致肾结石的治疗方面,枸橼酸盐作为预防泌尿系结石复发的治疗药物,在临床已应用多年并取得了较好的效果,无论对于含钙结石,还是尿酸结石、胱氨酸结石,都具有治疗作用^[11]。枸橼酸氢钾钠制剂具有良好的配比,口服溶于水后释放出等量的钾钠离子,不会引起电解质紊乱;而 2 种离子的混合使用又能提高尿 pH 值,更易于溶解尿酸及胱氨酸,因而更适合临床上应用^[9,12]。尿结石在祖国医学中属“石淋”范畴。石淋是湿热化火、灼阴熬液而致。八正散在临床治疗肾结石、膀胱结石、胆结石等方面都已取得明显的疗效^[13],并且其毒副作用小,对机体不会造成大的损伤,所以被广泛应用于临床^[14-15]。通过 BZP 和 PSHC 单独或联合用药,结果发现,各治疗组均能不同程度地清除三聚氰胺结晶颗粒,对肾脏功能的恢复有一定作用。由于各治疗组之间的治疗效果不同,每组供试小鼠数量较少,所以对本试验治疗效果好的小组有待通过扩大样本量进一步验证,并明确其是否存在毒副作用等。

[参考文献]

[1] Brandacher G,Cakar F,Winkler C,et al. Non-invasive monitoring of kidney allograft rejection through IDO metabolism evaluation [J]. *Kidney Int*,2007,71(1):60-67.

[2] Guan N,Fan Q,Ding J,et al. Melamine-contaminated powdered formula and urolithiasis in young children [J]. *New England Journal of Medicine*,2009,36(1):1067-1074.

[3] Cianciolo R E,Bischoff K,Ebel J G,et al. Clinicopathologic, histologic, and toxicologic findings in 70 cats inadvertently exposed to pet food contaminated with melamine and cyanuric acid [J]. *American Veterinary Medical Association*,2008,233(5):729-737.

[4] Chen J S. A worldwide food safety concern in 2008: Melamine-contaminated infant formula in China caused urinary tract stone in 290 000 children in China [J]. *Chinese Medical Journal*, 2009,122(3):243-244.

[5] Piyaratana,Sombat,Vitoon,et al. Urinary citrate excretion in patients with renal stone: Roles of leucocyte ATP citrate lyase activity and potassium salts therapy [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2002,32(5):71-78.

[6] Jia L Q,Shen Y,Wang X M,et al. Ultrasonographic diagnosis of urinary calculus caused by melamine in children [J]. *Chinese Medical Journal*,2009,122(2):252-256.

[7] 林祥梅,王建峰,贾广乐. 三聚氰胺的毒性研究 [J]. *毒理学杂志*,2008,22(3):216-218.

Lin X M,Wang J F,Jia G L. The toxicity research of melamine [J]. *Journal of Toxicology*,2008,22(3):216-218. (in Chinese)

[8] 代海涛,陈志强,叶章群. 枸橼酸氢钾钠降低草酸钙结石成石危险性研究 [J]. *临床泌尿外科杂志*,2007,22(4):287-288.

Dai H T,Chen Z Q,Ye Z Q. Folic acid hydrogen potassium sodium reduce calcium oxalate stone into stone risk research [J]. *Journal of Clinical Urology*,2007,22(4):287-288. (in Chinese)

[9] Grases F,Costa-Bauzá A,Gomila,et al. Melamine urinary bladder stone [J]. *Pediatric Urology*,2009,73:1262-1263.

[10] 黎承杨,邓耀良. 三聚氰胺诱导大鼠肾脏损伤和尿路结石形成的研究 [J]. *中国病理生理杂志*,2010,26(11):2217-2221.

Li C Y,Deng Y L. The research of renal impair and the formation of urinary calculus induced by melamine [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*,2010,26(11):2217-2221. (in Chinese)

[11] Gao J,Shen Y,Sun N,et al. Therapeutic effects of potassium sodium hydrogen citrate on melamine-induced urinary calculi in China [J]. *Chinese Medical Journal*, 2010,123(9):1112-1116.

[12] Liu G Y,Li S J,Jia J Y,et al. Pharmacokinetic study of melamine in rhesus monkey after a single oral administration of a tolerable daily intake dose [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*,2010,56:193-196.

[13] 陈普德. 刘汇川老中医治疗尿路结石的经验 [J]. *甘肃中医学院学报*,2007,24(1):4.

Chen P D. Liu Huichuan traditional Chinese medicine treatment experience of urinary calculus [J]. *Journal of Gansu College of Traditional Chinese Medicine*,2007,24(1):4. (in Chinese)

[14] 吴贻谷,宋立人. 中华本草:下册 [M]. 上海:上海科学技术出版社,1998:14-43.

Wu Y G,Song L R. The Chinese herbal: Volume 2 [M]. Shanghai:Shanghai Scientific and Technical Publishers,1998:14-43. (in Chinese)

[15] 王浴生,邓文龙,薛春生. 中药药理与应用 [M]. 北京:人民卫生出版社,1998:72.

Wang Y S,Deng W L,Xue C S. Traditional Chinese medicine pharmacology and application [M]. Beijing:People's Medical Publishing House,1998:72. (in Chinese)