

膳食 5'-核苷酸对大鼠酒精性肾损伤保护作用的研究

王楠, 蔡夏夏, 鲍雷, 刘睿, 任金威, 徐美虹, 李勇

北京大学医学部公共卫生学院营养与食品卫生学系, 北京 100191

摘要 为研究膳食 5'-核苷酸对大鼠酒精性肾损伤的保护作用, 选取 35 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 随机分成 5 组: 普通对照组、酒精组、葡萄糖等热量组、酒精+0.04%核苷酸干预组、酒精+0.16%核苷酸干预组。连续灌胃 8 周后, 测定体重、肾体比、血肌酐 (SCr)、尿肌酐 (UCr)、血尿素氮 (BUN) 及 24 h 尿蛋白等相关指标; 计算内生肌酐清除率 (Ccr); 检测血清炎症因子细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、单核细胞趋化因子-1 (MCP-1) 水平; HE 染色观察肾脏组织病理学改变; 免疫组化法观察肾脏足细胞标志蛋白 PCX-1、肾间质转化生长因子- β (TGF- β) 和纤连蛋白 (FN) 的表达。结果表明: 膳食 5'-核苷酸能够降低酒精引起的大鼠 24 h 尿蛋白、血肌酐升高并提高内生肌酐清除率 ($P < 0.05$), 0.16% 核苷酸干预组还能显著降低酒精引起的大鼠血尿素氮升高 ($P < 0.05$); 减轻酒精导致的肾脏组织结构病理改变及血清炎症因子 ICAM-1、MCP-1 水平的升高 ($P < 0.05$); 同时减轻甚至逆转酒精导致的肾脏 PCX-1、TGF- β 和 FN 表达的改变。由此可知, 膳食 5'-核苷酸可以通过减轻血液炎症反应, 调节肾脏蛋白质分子的表达, 对酒精造成的大鼠肾损伤产生一定的保护作用。

关键词 核苷酸; 酒精性肾损伤; 保护作用; 大鼠

过量饮酒是当今世界范围内的一个重要的公共卫生问题, 世界卫生组织 (WHO) 报告显示, 2012 年酒精消耗导致的死亡人数占全球总死亡人数的 5.9%^[1]。长期大量饮酒会导致许多脏器系统的损害。肝脏是酒精代谢的主要器官, 也是最容易受损的器官。肾脏是仅次于肝脏的乙醇排泄器官, 机体摄入酒精后约 10% 在肾脏代谢。研究证实, 肾脏细胞中存在乙醇脱氢酶 (ALD) 和乙醛脱氢酶 (ALDH)^[2], 可以实现酒精的乙醇-ADH 代谢途径, 因此可推断, 酒精在肾脏中的代谢可能与在肝脏中的代谢途径有相似。同时酒精是一种水溶性外源物质, 这些物质在肾脏细胞和间质内积聚、浓缩, 对肾脏可能造成一定程度的损害。目前国内外有关酒精性肝损害的研究已较为深入, 而对酒精性肾损害的研究报道较少。

核苷酸 (nucleotides, NTs) 是生物体细胞决定生物特性和蛋白质结构与功能的物质, 是体内多种营养物质的代谢调节因子。膳食核苷酸是外源核苷酸摄入的主要途径。研究表明, 外源核苷酸具有调节机体免疫功能^[3]、减轻炎症反应损伤、优化肝脏功能^[4]等重要作用。其机制主要涉及膳食核苷酸具有抗氧化、修复 DNA 损伤等。本实验通过建立酒精肝损伤大鼠模型, 观察酒精对大鼠肾功能的影响, 同时通过饲喂富含膳食核苷酸饲料, 观察膳食核苷酸对酒精造成的大鼠肾损伤的保护作用及可能的机制。

1 材料与方法

1.1 样品

基础饲料为 AIN-93G 饲料 (AIN-93G 饲料配方为 20.0% 酪蛋白, 13.2% 糊化玉米淀粉, 10.0% 蔗糖, 39.7% 玉米淀粉, 5.0% 纤维素, 7% 豆油, 3.5% 矿物质混合物, 0.3% L-胱氨酸, 1.0% 维生素混合物, 0.25% 酒石酸胆碱, 0.0014% 叔丁基对苯二酚)。

混合核苷酸 (5'AMP:5'CMP:5'GMPN₂:5'UMPNa₂=22.8:26.6:20.4:30.2) 由大连珍奥生物工程股份有限公司提供。以 AIN-93G 饲料为基础分别添加 0.04%、0.16% 的混合核苷酸制成膳食核苷酸干预组饲料。

无水乙醇 (分析纯) 购自国药集团化学试剂北京有限公司。

1.2 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 体重 250~300 g, 由北京大学医学部实验动物中心提供, 饲养地点为北京大学医学部实验动物中心, 动物分笼饲养, 每 3 只 1 笼, 自由饮水和摄食, 饲养环境为 SPF 环境, 节律光照, 室温 (22±1)℃, 相对湿度 40%~50%。动物实验通过北京大学医学部伦理委员会审核, 动物饲养管理及实验操作符合《北京市实验动物管理条例》。

1.3 实验分组及处理

雄性 SPF 级大鼠 35 只, 适应性喂养 2 周, 随机分为对照

收稿日期: 2016-03-03; 修回日期: 2016-12-13

作者简介: 王楠, 硕士研究生, 研究方向为营养与疾病, 电子信箱: wangnan0818@sina.com; 李勇 (通信作者), 教授, 研究方向为营养与疾病, 电子信箱: liyong@bjmu.edu.cn

引用格式: 王楠, 蔡夏夏, 鲍雷, 等. 膳食 5'-核苷酸对大鼠酒精性肾损伤保护作用的研究[J]. 科技导报, 2017, 35(10): 64-70; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2017.10.008

组、酒精组、葡萄糖等热量组、酒精+0.04%核苷酸干预组、酒精+0.16%核苷酸干预组,每组7只。除对照组和葡萄糖等热量组外,其余21只大鼠以50%乙醇灌胃,初始灌胃剂量为每天2 g/(kg·bw),后逐渐增加剂量,2周后达到维持剂量8 g/(kg·bw),每天1~2次,继续干预4周。空白对照组大鼠灌胃等体积蒸馏水;等热量对照组灌胃与酒精对照组等热量的50%右旋糖溶液。酒精初始灌胃记为第1周,初始灌胃第1天记为第1天,结束时为第6周。对照组、酒精组及葡萄糖等热量组大鼠喂养AIN-93G饲料,核苷酸干预组饲料是在AIN-93G饲料基础上添加不同剂量核苷酸所制成。

1.4 标本采集

各组大鼠干预6周后,将其置于洁净代谢笼内准确收集24 h尿标本,记录尿量后,将尿液2000 r/min离心10 min,去除沉渣,上清分装后保存于-80℃冰箱中待测。实验结束时,大鼠禁食12 h,经股动脉采血后颈椎脱臼处死全部大鼠,3000 r/min离心10 min,分离血清,并迅速剖取大鼠肾脏,去除包膜,冷生理盐水漂洗,滤纸拭干,准确称重后进行各项指标检测。

1.5 检测指标

1.5.1 血清、尿液检测指标

全自动生化分析仪检测血清尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)。去蛋白法测尿肌酐(UCr)、双缩脲法测24 h尿蛋白定量。计算内生肌酐清除率(Ccr)。

1.5.2 肾体比

按[双肾重(g)/体重(g)]×100进行计算。

1.5.3 炎症因子

依照ELISA试剂盒方法检测血清炎症因子ICAM-1、PCM-1含量。

1.5.4 HE染色观察肾组织病理学改变

取肾组织以40%甲醛溶液固定,酒精梯度脱水,二甲苯透明后进行石蜡包埋,制成厚度约5 μm的切片。随后取部分石蜡切片进行苏木精-伊红(Hematoxylin-Eosin, HE)染色,光镜下观察肾组织病理学改变。

1.5.5 免疫组化法观察肾组织蛋白表达改变

PCX-1、FN、TGF-β和β-actin抗体均购自美国 Santa

Cruz公司。

取部分肾组织石蜡切片,脱腊、水化组织切片,抗原修复后以3% H₂O₂去离子水孵育以阻断内源性过氧化物酶;PBS冲洗3次每次2 min,滴加一抗稀释液(1:300),湿盒中4℃孵育过夜,1×PBS冲洗3次,各2 min;滴加Polymer Helper(即用型)室温孵育20 min,1×PBS冲洗3次,各2 min;滴加Polyperoxidase-anti-mouse/rabbit IgG(即用型)室温孵育25 min,1×PBS冲洗3次,各2 min;进行DAB显色,准备1 mL双蒸水(pH值约为7.0),加入1滴(约50 μL)浓缩缓冲液(20×)混合均匀,然后将DAB溶液(20×)和浓缩过氧化氢溶液(20×)各1滴加入其中,再次混匀,滴加混合后的工作液室温显色10 s,于显微镜下观察显色情况;显色充分后自来水充分冲洗、复染、脱水、透明、封片。使用光学显微镜以100×到400×的放大倍数进行观察。

1.6 统计学处理

实验数据以均数±标准差表示,采用SPSS 20.0统计软件,进行正态性和方差齐性检验。若方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,Bonferroni法进行两两比较, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义;若方差不齐,采用Tamhane's T2检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 膳食核苷酸对酒精性肾损害大鼠肾体比、24 h尿蛋白、BUN、SCr、UCr、CCr的影响

如表1所示,实验结束时,酒精组大鼠肾体比显著低于对照组($P<0.05$),而与等热量组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。酒精组大鼠24 h尿蛋白、BUN、SCr及UCr水平较普通对照组明显升高,其中24 h尿蛋白和UCr较等热量对照组差异有统计学意义($P>0.05$),同时其CCr水平低于对照组及等热量组($P<0.05$)。核苷酸干预组大鼠24 h尿蛋白、UCr水平低于酒精组,0.16%核苷酸干预组大鼠的BUN低于酒精组,且CCr水平有明显的提高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 膳食核苷酸对酒精性肾损害大鼠血清ICAM-1、MCP-1的影响

如图1所示,酒精组大鼠血清ICAM-1含量高于对照组

表1 膳食5'-核苷酸对酒精性肝损伤大鼠肾脏功能指标的影响($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 1 Effects of dietary 5'-nucleotides on parameters about kidney of mice ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	肾体比	24 h尿蛋白/ (mg·mL ⁻¹)	UCr/ (μmol·L ⁻¹)	SCr/ (μmol·L ⁻¹)	BUN/ (mmol·L ⁻¹)	Ccr/ (mL·min ⁻¹)
对照组	0.33±0.02 [#]	5.07±2.95 [#]	491.23±101.56 [#]	13.07±2.91 [#]	4.61±1.26 [#]	2.33±0.29 [#]
酒精组	0.30±0.01	10.52±5.89 [*]	752.91±81.03 [*]	16.07±0.70	5.38±1.11	0.82±0.09 [*]
葡萄糖等热量组	0.29±0.11	5.06±1.85 [#]	544.90±107.47 [#]	16.15±1.83	4.70±0.86	2.18±0.20 [#]
0.04% NTs组	0.32±0.05 [#]	6.01±1.68 [#]	506.68±90.03 [#]	16.32±0.98	5.52±1.04	1.63±0.20 [#]
0.16% NTs组	0.33±0.02 [#]	5.88±2.67 [#]	502.94±58.14 [#]	15.67±2.38	3.81±0.60 [#]	1.91±0.25 [#]

注:#表示与酒精组相比 $P<0.05$; *表示与葡萄糖等热量组相比 $P<0.05$,下同。

和葡萄糖等热量组 ($P < 0.05$), 而各剂量膳食核苷酸喂养组低于酒精组但仍高于等热量对照组 ($P < 0.05$)。酒精组大鼠血清 MCP-1 含量高于等热量组及核苷酸干预组 ($P < 0.05$), 核苷酸各剂量组与等热量对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 膳食核苷酸对酒精性肾损害大鼠肾脏病理变化的影响

2.3.1 膳食核苷酸对酒精肾损害大鼠肾脏结构的影响

肉眼观察各组肾脏形态发现: 空白对照组与等热量对照组肾脏大体色泽红润, 质地结实而柔软; 酒精组肾脏体积较小, 但无明显差别。

图2展示了实验结束时大鼠肾脏HE染色切片中肾小球的病理学改变。对照组及等热量组大鼠HE染色标本可见正

常的肾小球, 未见系膜增生; 酒精组大鼠肾脏肾小球出现轻度系膜增生, 系膜区分界不清; 核苷酸干预组系膜分界较清楚, 肾小球未出现明显系膜增生(图2)。

图3所示为大鼠肾脏肾小管间质病理学改变的HE染色切片。可见对照组及等热量组大鼠HE染色标本可见正常肾小管-间质结构正常, 未见变性及炎性细胞浸润; 酒精组大鼠的肾小管上皮细胞出现空泡变性, 可见大量泡沫细胞(图3(b)箭头所指), 同时肾间质有炎性细胞浸润; 0.04% NTs组大鼠肾间质也有少量泡沫细胞, 但炎性细胞浸润情况较酒精组有改善; 0.16% NTs组大鼠肾间质未见泡沫细胞及炎性细胞浸润(图3)。

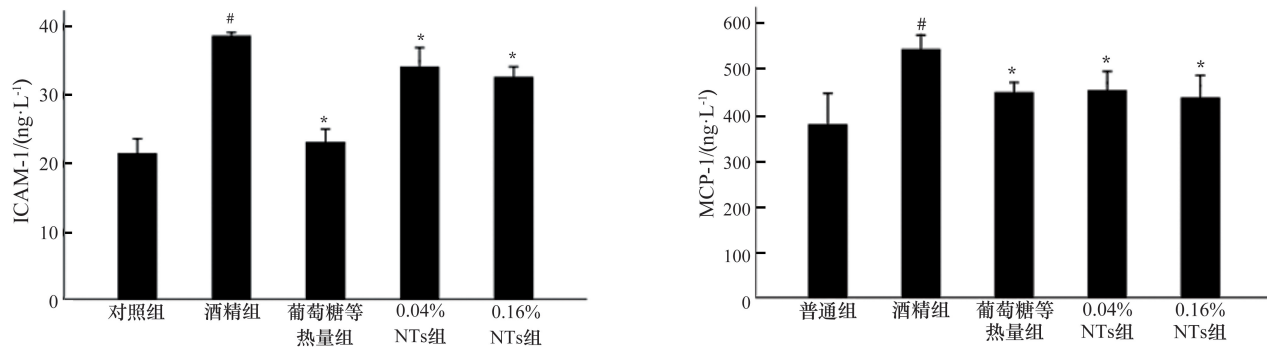


图1 膳食5'-核苷酸对酒精肾损伤大鼠血清ICMA-1、MCP-1的影响

Fig. 1 Effects of dietary 5'-nucleotides on serum ICAM-1 and MCP-1 of mice

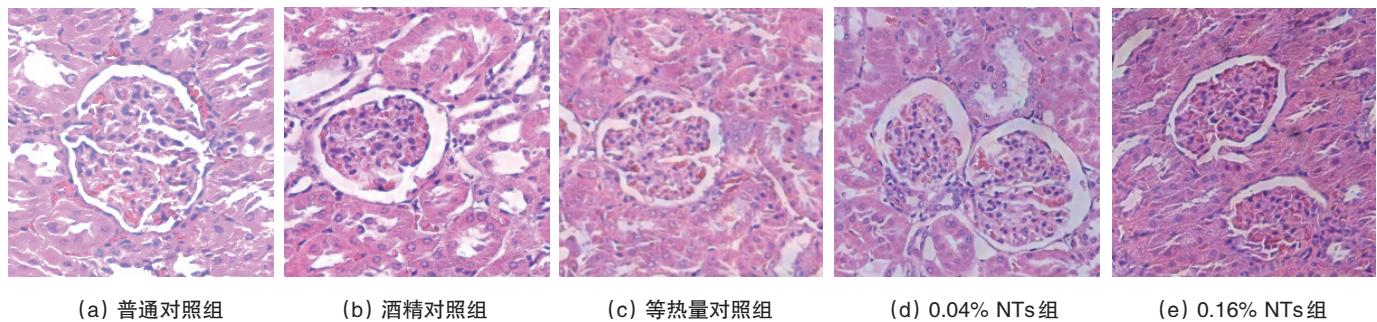


图2 肾小球病理学改变(HE染色, 400×)

Fig. 2 Pathologic changes of glomerulus (HE stain, 400×)

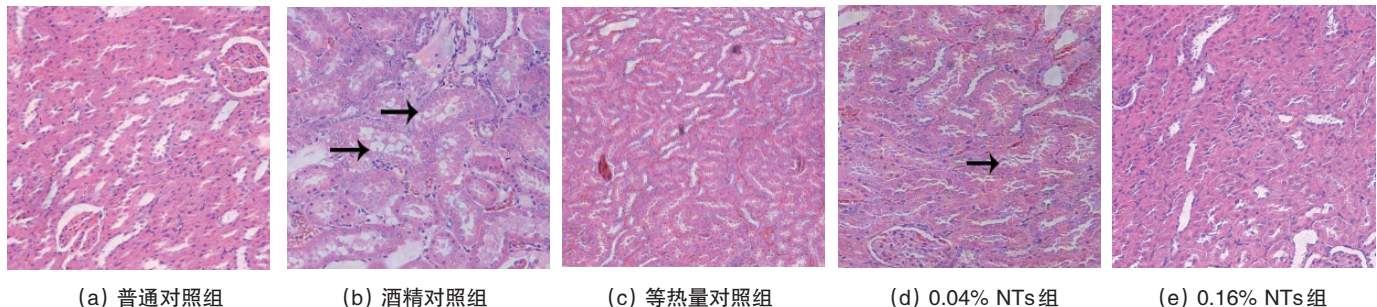


图3 肾小管-间质病理学改变(HE染色, 400×)

Fig. 3 Pathologic changes of renal tubule-interstitial (HE stain, 400×)

2.3.2 膳食核苷酸对酒精性肾损害大鼠肾脏相关蛋白表达的影响

免疫组化染色观察到,各实验组均可见PCX-1、FN及TGF- β 的表达,其中PCX-1主要表达于肾小球细胞,而FN与

TGF- β 主要表达于肾小管-间质细胞。与普通对照组及等热量对照组相比,酒精组肾小球PCX-1表达较少,而肾小管-间质处FN与TGF- β 表达较多;核苷酸干预后可见PCX-1表达增多,且FN及TGF- β 表达减少,接近等热量对照组(图4~图6)。

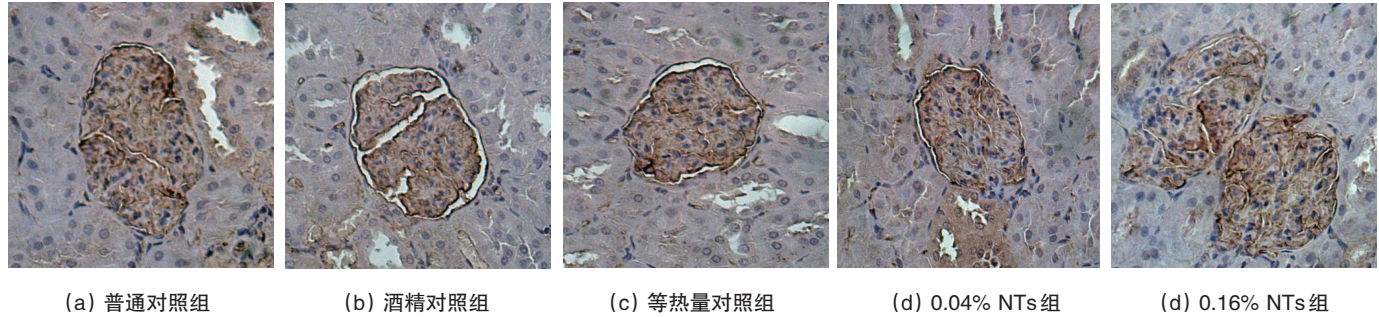


图4 大鼠肾脏PCX-1的表达(免疫组化染色,400 \times)

Fig. 4 Expression of PCX-1 in kidney (IHC stain, 400 \times)

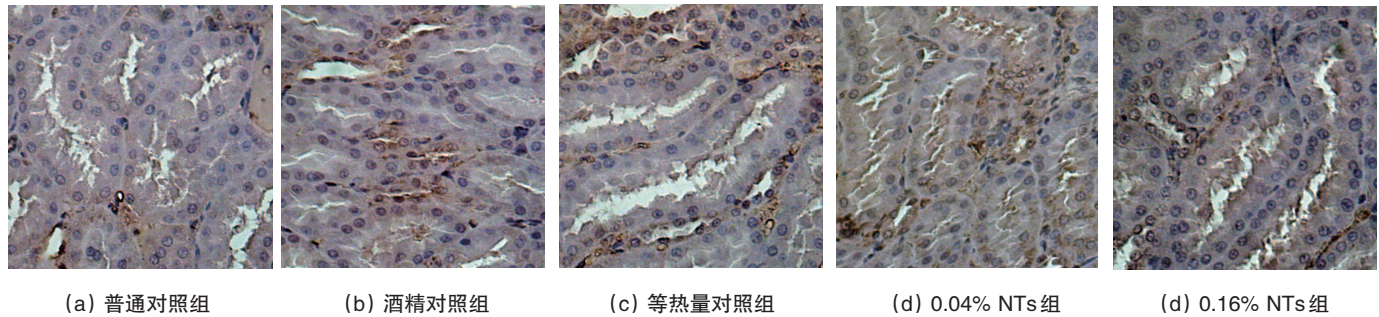


图5 大鼠肾脏TGF- β 的表达(免疫组化染色,400 \times)

Fig. 5 Expression of TGF- β in kidney (IHC stain, 400 \times)

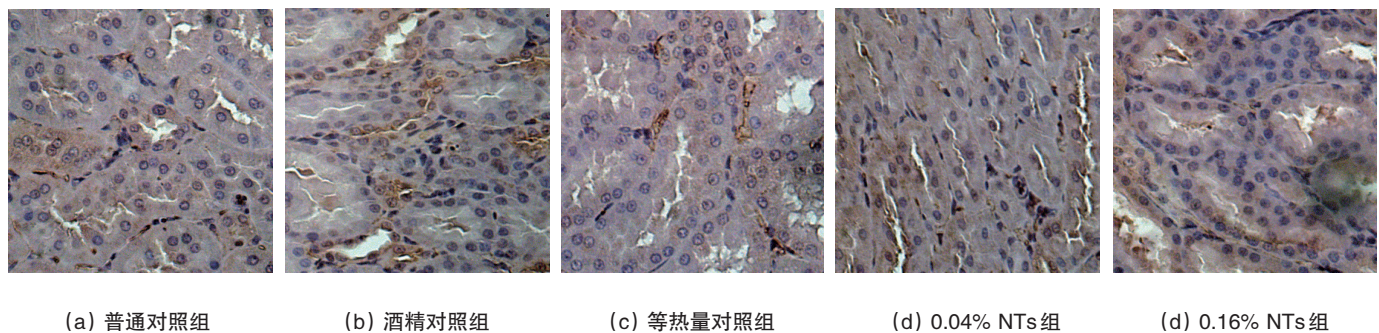


图6 大鼠肾脏FN的表达(免疫组化染色,400 \times)

Fig. 6 Expression of FN in kidney (IHC stain, 400 \times)

3 讨论

核苷酸具有抗炎、抗氧化和改善肠道菌群等功能,具有调节免疫、延缓衰老、修复受损肝脏和胃肠道等多种生物学功能,同时也是婴幼儿生长发育过程中不可缺少的重要营养素之一。欧洲小儿胃肠营养学会(European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition, ESPGHAN)推荐婴幼儿配方食品中所含核苷酸不得超过0.025 g/100 g配

方奶粉^[5]。本课题组长期喂养实验表明,0.04 g/100 g和0.16 g/100 g比例在饲料中添加核苷酸能够降低大鼠转氨酶水平,且不会导致血尿酸水平升高,直到1.28 g/100 g均未发现不良反应^[4,6]。

酒精对肝脏的损伤最为明显,导致酒精性肝损伤的主要原因是乙醇在肝细胞内产生的有毒代谢物(乙醛)及其引起的代谢紊乱。研究表明,机体摄入的酒精中约10%需要经过

肾脏代谢。由于肾脏细胞中存在类似于肝脏的乙醇-ADH代谢途径,因此酒精也可能引起肾脏细胞代谢紊乱并产生有毒代谢物^[7]。同时乙醇及乙醛等水溶性外源物质在肾脏细胞及间质内积聚、浓缩,也会造成肾脏损伤^[8]。本实验通过建立酒精性肝损伤模型,观察酒精对肾脏造成的损伤以及膳食核苷酸干预对酒精致肾损伤的保护作用。实验结束时发现酒精组大鼠出现肝细胞脂肪变性以及血清ALT、AST水平升高,表明酒精性肝损伤模型建立成功^[9]。本研究结果显示,酒精灌胃6周后,酒精组大鼠肾体比低于对照组但与等热量组相比无明显差异,而其24 h尿蛋白、UCr、SCr与BUN水平均出现上升趋势,且CCr水平下降,提示酒精造成了大鼠肾小球滤过功能减低,肾小管重吸收能力下降,引起了严重的肾脏损害。本研究中对大鼠肾脏进行病理观察发现,酒精可导致大鼠肾小球系膜增生,同时引起明显的肾小管上皮细胞泡沫样变性以及肾间质炎性浸润。而膳食核苷酸喂养组大鼠CCr水平较酒精组明显升高,且肾小球系膜增生与肾小管-间质炎性细胞浸润情况较轻,与等热量对照组相近,表明膳食核苷酸补充可以在一定程度上减轻酒精对肾脏造成的损伤。

炎症反应是酒精性肾损伤的主要特征之一。肾组织单核细胞浸润是炎症发生的中心环节^[10],其中ICAM-1和MCP-1对于外周血单核细胞向肾组织内的迁移具有重要作用^[11-12],炎性细胞浸润又可促进多种促纤维化因子释放,使胶原蛋白合成增加和细胞外基质聚积,导致肾脏纤维化。研究发现,病理情况下,ICAM-1可在病变的肾小管上皮细胞强烈表达,为肾脏炎症活动的主要标志^[13-14]。MCP-1是肾脏疾病中表达最强最广泛的趋化因子^[15],与肾脏疾病关系密切,能够发动炎症反应,促进肾小球系膜增生、促进增殖细胞核抗原(PCNA)表达增加和细胞外基质沉积,加速肾小球硬化^[11],造成肾小管-间质细胞泡沫样变性。郑海兰等^[16]、陶小红等^[17]研究发现,ICAM-1和MCP-1的高表达是导致大鼠酒精性肾损伤的重要机制之一。本研究显示灌胃6周后,酒精组大鼠血清ICAM-1和MCP-1含量升高,提示酒精引起了大鼠血液炎症反应,这可能是引起肾小球系膜增生及肾小管-间质炎性细胞浸润与泡沫样变性的原因之一。研究证实,膳食核苷酸的摄入能够影响机体的炎症反应,其主要机制为抑制炎症细胞因子的分泌,从而维持机体内炎症/抗炎性细胞因子的平衡,减轻机体的炎症损伤^[18-19]。本研究结果显示,核苷酸干预后大鼠血清中炎症因子ICAM-1和MCP-1均减少,表明膳食核苷酸可以在一定程度上减轻酒精引起的大鼠血液炎症反应。膳食核苷酸对炎症因子的调节作用可能与其可以参与各种生物应答和炎症反应,影响参与炎症反应的转录因子的表达及活性有关。同时近年来研究也表明,膳食核苷酸具有抗氧化应激^[19]及修复DNA损伤功能^[20],这可能也是膳食核苷酸减轻酒精对肾脏造成损害的机制之一。

肾小球足细胞(podocyte)及其足突建的细胞裂隙膜(Slit diaphragm, SD)是构成肾小球滤过膜的最后一道屏障^[21]。足

细胞损伤是肾小球损伤的中心环节^[22],可能导致肾小球滤过屏障受损,滤过率增高,是病理性蛋白尿产生的重要机制之一。足细胞表面蛋白分子(如Nephrin、Podocalyxin等)表达降低是足细胞受损的重要标志^[23]。Podocalyxin(PCX)是构成肾小球滤过屏障SD的关键组成部分,介导上皮细胞之间的相互作用,影响肾小球基底膜的通透性和滤过率^[24]。本研究通过免疫组化染色观察到,酒精灌胃组大鼠肾小球PCX-1的表达明显低于正常组,表明酒精可能对肾小球滤过屏障造成损伤,进而引起了酒精组大鼠尿蛋白显著增高。其机制可能是酒精作为一种还原剂,在肾脏组织中代谢引起了肾小球氧化损伤^[25-26],导致肾小球足细胞表面蛋白表达下降。而膳食核苷酸干预后,肾脏组织PCX-1的表达明显升高,且高于对照组及等热量组,表明核苷酸可以有效减轻酒精导致的足细胞损伤,并通过代偿性增加蛋白合成以维持肾小球滤过屏障结构。

肾间质纤维化是酒精引起的另一重要的肾脏改变,TGF- β 是这一变化中最重要的细胞因子^[27]。研究表明,TGF- β 活化可以促进EMC合成增加,增加纤连蛋白(FN)表达,同时抑制多种EMC降解酶的生成,促进纤维化的发生与发展。研究发现TGF- β 阳性表达情况随着酒精肾损伤的发生呈正相关^[16]。而国外研究发现,长期酒精摄入在引起肾脏纤维化的同时,还能够提高金属蛋白基质酶的表达,这可能是肾脏在纤维化过程中的代偿表现^[28-29]。本研究发现,TGF- β 和纤连蛋白在酒精组大鼠肾小管-间质处的表达较等热量组明显增加,提示酒精组大鼠出现了肾间质纤维化趋势,而其在核苷酸干预组大鼠肾脏表达明显减少,提示核苷酸可能通过下调细胞因子TGF- β 表达,进而减少纤连蛋白等细胞外基质的生成,从而减轻甚至修复酒精引起的肾小管间质纤维化改变。

4 结论

实验表明,酒精可导致大鼠血清炎症因子ICAM-1、MCP-1分泌增加,引起血清炎症反应。同时,酒精还可引起肾小球PCX-1的表达减少,及肾小管-间质TGF- β 和纤连蛋白表达增加,进而导致肾小球滤过功能下降并促进肾间质纤维化的发生与发展。膳食核苷酸干预可以有效降低酒精性肾损伤大鼠血清炎症因子的表达,并通过调节肾脏相关蛋白的表达,减轻肾脏损伤,对肾脏起到保护作用。

参考文献(References)

- [1] WHO. Global status report on alcohol and health-2014[EB/OL]. [2016-03-01]. http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msb_gsr_2014_1.pdf?ua=1.
- [2] Yuan Q, Hong S, Han S, et al. Preconditioning with physiological levels of ethanol protect kidney against ischemia/reperfusion injury by modulating oxidative stress[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e25811.
- [3] Holen E, Borge O A, Jonsson R. Dietary nucleotides and human immune cells. II. Modulation of PBMC growth and cytokine secretion[J].

- Nutrition, 2006, 22(1): 90-96.
- [4] Xu M, Ma Y, Xu L, et al. Developmental effects of dietary nucleotides in second-generation weaned rats[J]. Journal of Medicinal Food, 2013, 16(12): 1146-1152.
- [5] Koletzko B, Baker S, Cleghorn G, et al. Global standard for the composition of infant formula: recommendations of an ESPGHAN coordinated international expert group[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2005, 41(5): 584-599.
- [6] 马奕, 徐琳琳, 许雅君, 等. 外源核苷酸对多代大鼠血清尿酸水平及肾脏损伤的影响[J]. 中国生育健康杂志, 2009, 20(4): 219-222.
Ma Yi, Xu Ling, Xu Yajun, et al. The effect of exogenous nucleotides on serum uric levels and renal function in multi-generation rats[J]. Chinese Journal of Reproductive Health, 2009, 20(4): 219-222.
- [7] Vamvakas S, Teschner M, Bahner U, et al. Alcohol abuse: potential role in electrolyte disturbances and kidney diseases[J]. Clinical Nephrology, 1998, 49(4): 205-213.
- [8] 曹艳雪, 王炳元, 傅宝玉. 酒精性肝肾损害及肾层粘蛋白、Ⅲ型胶原的表达[J]. 世界华人消化杂志, 2001, 9(10): 1134-1138.
Cao Xueyan, Wang Bingyuan, Fu Baoyu. Alcoholic hepatic and renal lesion and expression of laminin, collagen III in kidney[J]. World Chinese Journal of Digestology, 2001, 9(10): 1134-1138.
- [9] Cai X, Bao L, Wang N, et al. Dietary nucleotides protect against alcoholic liver injury by attenuating inflammation and regulating gut microbiota in rats[J]. Food Function, 2016, 7(6): 2898-2908.
- [10] Williams M D, Nadler J L. Inflammatory mechanisms of diabetic complications[J]. Current Diabetes Reports, 2007, 7(3): 242-248.
- [11] 张丽娜, 谢席胜, 左川, 等. 人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠 TNF- α 、MCP-1 表达的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2009, 40(3): 466-471.
Zhang Lina, Xie Xisheng, Zuo Chuan, et al. Effect of ginsenoside Rg1 on the expression of TNF- α and MCP-1 in rats with diabetic nephropathy[J]. Journal of Sichuan University (Medical Science Edition), 2009, 40(3): 466-471.
- [12] 张苏皖, 李素梅, 翟斐, 等. 螺内酯对 DM2 大鼠肾脏保护及 ICAM-1 表达的影响[J]. 放射免疫学杂志, 2011, 24(6): 616-619.
Zhang Suwan, Li Sumei, Zhai Fei, et al. Effect of spironolactone on renal and intercellular adhesion molecule-1 expression in type 2 diabetic rats[J]. Journal of Radioimmunology, 2011, 24(6): 616-619.
- [13] 朱彩凤, 朱斌, 魏升, 等. 雷公藤甲素对 TNF- α 诱导的肾系膜细胞 MCP-1 和 ICAM-1 表达干预及其机制的研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12(6): 488-492.
Zhu Caifeng, Zhu Bin, Wei Sheng, et al. Effects of triptolide on TNF- α induced mesangial MCP-1, ICAM-1 expression and its mechanism [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology, 2011, 12(6): 488-492.
- [14] 王东, 王亿平, 刘玲, 等. 血浆 P-选择素及细胞间黏附分子-1 在慢性肾脏病患者中表达的临床意义[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(7): 82-84.
Wang Dong, Wang Yiping, Liu Ling, et al. Clinical significance of blood plasma P-selection and intercellular adhesion molecule-1 in patients with chronic kidney disease[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2010, 12(7): 82-84.
- [15] Wada T, Furuichi K, Sakai N, et al. Gene therapy via blockade of monocyte chemoattractant protein-1 for renal fibrosis[J]. Journal of the American Society of Nephrology, 2004, 15(4): 940-948.
- [16] 郑海兰, 陈瑛. 贝那普利在大鼠酒精性肾损伤中作用的探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(13): 1934-1937.
Zheng Hailan, Chen Ying. The role of benazepril in alcohol induce rat renal injury[J]. China Journal of Modern Medicine, 2009, 19(13): 1934-1937.
- [17] 陶小红, 吕晓云, 邱皓, 等. 中药利湿活血方对酒精性肾损害大鼠尿单核细胞趋化蛋白-1 及 β_2 -微球蛋白的影响[J]. 中医研究, 2011, 24(2): 14-16.
Tao Xiaohong, Lü Xiaoyun, Qiu Hao, et al. Effects of HLP on MCP-1 and β_2 -MG in urine of alcoholic renal injury rats[J]. Traditional Chinese Medicine Research, 2011, 24(2): 14-16.
- [18] Schetinger M R, Morsch V M, Bonan C D, et al. NTPDase and 5'-nucleotidase activities in physiological and disease conditions: new perspectives for human health[J]. Biofactors, 2007, 31(2): 77-98.
- [19] 李石营, 施用晖, 乐国伟. 日粮核苷酸对机体炎症抗炎平衡体系的影响[J]. 中国兽医科学, 2006, 36(1): 66-69.
Li Shiyong, Shi Yonghui, Le Guowei. Effects of dietary nucleotides on inflammatory and anti-inflammatory balance[J]. Veterinary Science in China, 2006, 36(1): 66-69.
- [20] Korb V, Tep K, Escriou V, et al. Current data on ATP-containing liposomes and potential prospects to enhance cellular energy status for hepatic applications[J]. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2008, 25(4): 305-345.
- [21] Tryggvason K, Wartiovaara J. How does the kidney filter plasma?[J]. Physiology (Bethesda), 2005, 20(4): 96-101.
- [22] Lemley K V. Glomerular pathology and the progression of chronic kidney disease[J]. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 2016, 310(11): F1385-F1388.
- [23] 朱颖. 肾小球足细胞分子表达与氧化应激反应的关系[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
Zu Ying. Relationship between expression of glomerular slit diaphragm molecule and oxidative stress reaction[D]. Hefei: Anhui Medical University, 2009.
- [24] Fukuda A, Wickman L T, Venkatarreddy M P, et al. Urine podocin: Nephryn mRNA ratio (PNR) as a podocyte stress biomarker[J]. Nephrology Dialysis Transplantation, 2012, 27(11): 4079-4087.
- [25] 郭永月, 徐杰, 邢佳, 等. 黑牛肝菌多糖对小鼠酒精性肝损伤的改善作用[J]. 食品工业科技, 2015(24): 325-328.
Guo Yongyue, Xu Jie, Xing Jia, et al. Protective effect of polysaccharides from Boletus aereus on alcoholic kidney injury of mice [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015(24): 325-328.
- [26] 牛霞, 鹿玲, 陈珂, 等. 肾小球足细胞裂隙膜蛋白 Podocin 的变化与氧化应激反应[J]. 安徽医科大学学报, 2007, 42(3): 286-289.
Niu Xia, Lu Ling, Chen Ke, et al. Podocin in glomerular podocyte slit diaphragm and oxidative stress[J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2007, 42(3): 286-289.
- [27] Hong F, Wu N, Ge Y, et al. Nanosized titanium dioxide resulted in the activation of TGF- β /Smads/p38MAPK pathway in renal inflammation and fibration of mice[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2016, 104(6): 1452-1461.
- [28] Das S K, Mukherjee S, Vasudevan D M. Effects of long term ethanol consumption mediated oxidative stress on neovessel generation in liver [J]. Toxicology mechanisms and methods, 2012, 22(5): 375-382.
- [29] Tirapelli L F, Martins-Oliveira A, Batalhao M E, et al. Ethanol consumption increases the expression of endothelial nitric oxide synthase, inducible nitric oxide synthase and metalloproteinases in the rat kidney[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2012, 64(1): 68-76.

Protective effect of dietary 5'-nucleotides on alcohol-induced kidney injury of mice

WANG Nan, CAI Xiaxia, BAO Lei, LIU Rui, REN Jinwei, XU Meihong, LI Yong

Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

Abstract This paper investigates the protective effects of dietary 5'-nucleotides on alcohol-induced kidney injury of mice. A total of 35 specific pathogen free (SPF) male Wistar mice are randomly divided into 5 groups given alcohol, equivalent distilled water or an isocaloric amount of dextrose intragastrically for 8 weeks. The two groups of alcohol-induced rats are fed with AIN-93G rodent diets including 0.04% and 0.16% 5'-nucleotides, respectively. Body weight (bw), renal function indexes and serum concentration of ICAM-1 and PCM-1 are measured, and renal pathologic changes stained by hematoxylin and eosin stain are observed by electron microscope. The result shows that dietary 5'-nucleotides can reduce the rise of urinary protein per 24 h and level of blood serum creatinine (SCr) induced by alcohol, as well as the blood urea nitrogen (BUN) in the 0.16% NTs group. And compared to the alcohol group, the endogenous creatinine clearance are decreased significantly in the 0.04% and 0.16% NTs groups. The renal lesions present glomerular mesangium proliferation, inflammatory cell infiltration in tubule-interstitial and vacuolation or swell of renal tubule epithelium in the alcohol group, which are less in both NTs groups. The serum concentrations of ICAM-1 and PCM-1 of NTs groups are also lower than those of the alcohol group. What's more, the expression changes of PCX-1, TGF- β and fibronectin (FN) in kidney induced by alcohol are repaired by NTs supplement. In conclusion, the dietary 5'-nucleotides can protect kidney from injury induced by alcohol in mice.

Keywords nucleotides; alcoholic renal injury; protective effect; rats

(责任编辑 王媛媛)