

消氮颗粒对腺嘌呤所致慢性肾衰模型大鼠的保护作用

贾永慧^{1*}, 王艳侠², 于燕莉^{1#}, 张淑瑜¹, 毕云生¹(1. 济南军区总医院药剂科, 济南 250031; 2. 济南军区总医院肾内科, 济南 250031)

中图分类号 R965; R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)39-3653-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.39.02

摘要 目的: 研究消氮颗粒对腺嘌呤所致慢性肾衰模型大鼠的保护作用。方法: 灌胃腺嘌呤(200 mg/kg), 每天1次, 连续30 d, 以复制大鼠慢性肾衰模型。60只Wistar大鼠随机均分为正常对照(等容纯化水)组、模型(等容纯化水)组、尿毒清颗粒(2.088 g/kg)组与消氮颗粒高、中、低剂量(3.956、1.977、0.989 g/kg)组, 灌胃给药, 每天1次, 连续30 d。测定大鼠血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)、电解质[钾(K⁺)、钠(Na⁺)、钙(Ca²⁺)、磷(P³⁺)]、尿蛋白(PRO)、中性粒细胞(LEU)、尿比重(SG), 光镜观察大鼠肾脏病理学变化。结果: 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清Scr、BUN、UA、P³⁺水平升高, 尿液PRO、LEU水平升高, SG降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 大鼠肾脏呈灰白色, 系膜区明显增宽, 系膜基质明显增多, 小管间质可见大量炎细胞浸润, 血管壁增厚; 与模型组比较, 消氮颗粒高、中、低剂量组大鼠血清Scr、BUN、UA、P³⁺水平降低, 尿液中PRO、LEU水平降低, SG升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 大鼠肾脏组织病理情况有一定改善。结论: 消氮颗粒对腺嘌呤所致慢性肾衰大鼠有改善作用。

关键词 消氮颗粒; 慢性肾衰; 血肌酐; 电解质; 尿蛋白; 肾脏病理学

Protective Effects of Xiaodan Granules on Renal Function of Rats with Chronic Renal Failure Induced by Adenine

JIA Yong-hui¹, WANG Yan-xia², YU Yan-li¹, ZHANG Shu-yu¹, BI Yun-sheng¹(1. Dept. of Pharmacy, General Hospital of Jinan Military Command, Jinan 250031, China; 2. Dept. of Nephrology, General Hospital of Jinan Military Command, Jinan 250031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effects of Xiaodan granules on renal function of rats with chronic renal failure (CRF) induced by adenine. METHODS: 60 Wistar rats were randomly divided into normal control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), Niaoduqing granules group (2.088 g/kg) and Xiaodan granules high-dose, medium-dose and low-dose groups (3.956, 1.977, 0.989 g/kg). They were given relevant medicines intragastrically, once a day, for consecutive 30 days. The renal failure model of rats was induced by intragastric administration of adenine (200 mg/kg), once a day, for consecutive 30 days. The serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), uric acid (UA), electrolyte K⁺, Na⁺, Ca²⁺, P³⁺, proteinuria (PRO), neutrophils (LEU) and urine specific gravity (SG) were determined, and renal pathology was observed under light microscope. RESULTS: Compared with normal control group, the serum contents of Scr, BUN, UA and P³⁺, and the contents of PRO and LEU in urine were increased in model group, while SG level was decreased; there was statistical significance ($P < 0.01$). Renal tissue of rats was gray white, and intraglomerular mesangial region broadened significantly. The intraglomerular mesangial matrix increased significantly, and a large number of inflammatory cell infiltration and thickening of blood vessels were found in renal tubules and interstitium. Compared with model group, the serum contents of Scr, BUN, UA and P³⁺, the contents of PRO and LEU in urine were decreased in Xiaodan granules high-dose, medium-dose and low-dose groups, while SG level was increased; there was statistical significance ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The symptom of renal pathology had been improved to certain extent. CONCLUSIONS: Xiaodan granules have definitely therapeutic effect on chronic renal failure of rats caused by adenine.

KEYWORDS Xiaodan granules; Chronic renal failure; Serum creatinine; Electrolyte; Proteinuria; Renal pathology

慢性肾衰(CRF)是导致患者肾功能损害所出现的一系列症状和代谢紊乱组成的临床综合征,其病变呈进行性发展,最终进入终末期肾病^[1]。由于血液透析和肾移植技术的进步,CRF的临床疗效已有明显提高,但仍存在患者难耐受、费用

* 药师。研究方向: 中药制剂。电话: 0531-51666416。E-mail: jiyayonghui729@163.com

通信作者: 主任药师, 硕士研究生导师, 硕士。研究方向: 中药质量控制与药效物质基础。电话: 0531-51666293。E-mail: yuyanli323@sohu.com

高、肾源不足等问题。中医中药在缓解症状、延缓病情进展、保护残余肾功能等方面有十分明显的作用^[2]。中医理论认为,肾主水,可调节机体体液代谢^[3],CRF的主要病理基础是湿浊淤邪、内阻肾络^[4],因此防治CRF应以泄浊、活血化瘀为主^[5]。

消氮颗粒是由大黄、番泻叶、丹参、制附子、车前子、制黄精等药材组成的复方制剂。方中诸药各秉所长,具有泄浊、活血化瘀之功,且攻补兼施,有驱邪扶正之效。可改善肾脏供血、调节脏腑机能、延缓CRF发展或逆转病情^[6]。消氮颗粒在我院临床应用二十余年,作用效果十分明显。本研究通过腺

嘌呤复制大鼠CRF模型,观察消氮颗粒对CRF模型大鼠血清常规、电解质、尿液和肾脏病理学的影响,探讨其作用机制,为临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

B600A型医用低速离心机(河北省安新县白洋离心机厂);DXC800型全自动生化分析仪(美国Beckman Coulter公司);BX53型显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 药品与试剂

腺嘌呤(上海笛柏化学品技术有限公司,批号:AA13,规格:100 g/瓶,腺嘌呤含量 $\geq 98.0\%$);消氮颗粒(济南军区总医院制剂室,批号:20110612,规格:6 g/袋);尿毒清颗粒(内蒙古康臣药业有限责任公司,批号:20111018,规格:5 g/袋)。

1.3 动物

SPF级Wistar大鼠60只,♂,体质量(200 \pm 20)g,购自山东大学实验动物中心[实验动物使用许可证号:SCXK(鲁)20090001]。饲养条件:济南军区总医院实验动物中心清洁级动物房内,全价营养颗粒饲料(购自山东大学实验动物中心)饲养,自由饮水。

2 方法

2.1 复制模型与分组、给药^[7-12]

ig腺嘌呤(200 mg/kg),每天1次,连续30 d,以复制大鼠CRF模型。60只Wistar大鼠随机均分为6组,即正常对照(等容纯化水)组、模型(等容纯化水)组、尿毒清颗粒(2.088 g/kg)组与消氮颗粒高、中、低剂量(3.956、1.977、0.989 g/kg)组。模型复制成功后ig给药,每天1次,连续30 d。

2.2 指标的测定

2.2.1 一般情况观察 观察大鼠体质量、大小便、体毛、精神状态、活动状况、摄食量、饮水量。

2.2.2 生化指标的测定 末次给药后,禁食不禁水24 h,大鼠眼眶后静脉丛采血,检测血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)、电解质[钾(K⁺)、钠(Na⁺)、钙(Ca²⁺)、磷(P³⁺)]水平。末次给药后,禁食不禁水24 h,收集大鼠尿液,检测尿蛋白(PRO)、中性粒细胞(LEU)、尿比重(SG)水平。半定量计分方法评定PRO、LEU水平:阴性,0分;±,1分;+,2分;++,3分。

2.2.3 肾脏病理学观察 大鼠肾脏用10%中性甲醛固定液固定,常规脱水包埋,切片,常规脱蜡至水,HE染色,显微镜下观察大鼠肾脏病理学变化。

2.3 统计学方法

采用SPSS17.0软件处理分析实验数据。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以(One-way ANOVA)检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 消氮颗粒对模型大鼠一般情况的影响

正常对照组大鼠体毛润泽、光亮,行动灵敏。模型组大鼠复制模型5~7 d后逐渐出现多饮、多尿、少食、体质量下降、精神萎靡、眯眼、弓背、蜷缩、活动减少、体毛干枯、竖毛等现象。与模型组比较,消氮颗粒高、中、低剂量组大鼠体质量无明显变化,体毛较润泽,活动增加,眯眼、弓背、蜷缩现象减少。

3.2 消氮颗粒对模型大鼠血清生化指标水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清Scr、BUN、UA、P³⁺浓度增加,差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,消氮颗粒高、中、低剂量组大鼠血清Scr、BUN、UA、P³⁺浓度减少,差异有统计学意义($P<0.01$)。结果表明,消氮颗粒可明显降低模型大鼠血清Scr、BUN、UA、P³⁺水平。消氮颗粒对模型大鼠血清生化指标水平的影响见表1。

3.3 消氮颗粒对模型大鼠尿液生化指标水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠尿液PRO、LEU水平升

表1 消氮颗粒对模型大鼠血清生化指标水平的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab 1 Effects of Xiaodan granules on serum biochemical indexes of model rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	Scr, $\mu\text{mol/L}$	BUN, $\mu\text{mol/L}$	UA, $\mu\text{mol/L}$	K ⁺ , mmol/L	Na ⁺ , mmol/L	Ca ²⁺ , mmol/L	P ³⁺ , mmol/L
正常对照组	52.3 \pm 3.09	7.12 \pm 0.61	43.2 \pm 17.40	4.61 \pm 0.34	141.88 \pm 1.64	2.55 \pm 0.06	2.53 \pm 0.09
模型组	93.8 \pm 5.05*	24.34 \pm 2.93*	97.0 \pm 11.47*	4.76 \pm 0.23	143.23 \pm 0.72	2.51 \pm 0.12	3.41 \pm 0.29*
尿毒清颗粒组	63.7 \pm 6.81 [#]	14.73 \pm 4.71 [#]	40.0 \pm 6.96 [#]	4.40 \pm 0.15	143.43 \pm 0.55	2.49 \pm 0.19	2.76 \pm 0.20 [#]
消氮颗粒高剂量组	61.3 \pm 3.23 [#]	8.72 \pm 0.67 [#]	37.5 \pm 5.21 [#]	4.55 \pm 0.24	143.27 \pm 0.55	2.53 \pm 0.17	2.68 \pm 0.14 [#]
消氮颗粒中剂量组	62.2 \pm 3.77 [#]	9.41 \pm 1.29 [#]	45.2 \pm 1.93 [#]	4.63 \pm 0.17	143.00 \pm 1.37	2.60 \pm 0.26	2.66 \pm 0.14 [#]
消氮颗粒低剂量组	65.0 \pm 4.37 [#]	10.62 \pm 1.55 [#]	49.1 \pm 3.51 [#]	4.72 \pm 0.13	144.80 \pm 0.14	2.48 \pm 0.11	2.64 \pm 0.24 [#]

与正常对照组比较: * $P<0.01$;与模型组比较: [#] $P<0.01$

vs.normal control group: * $P<0.01$;vs.model group: [#] $P<0.01$

高,SG降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,消氮颗粒高、中、低剂量组大鼠尿液PRO、LEU水平降低,SG升高,差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果表明,消氮颗粒可改善模型大鼠尿常规指标,减轻肾损伤。消氮颗粒对模型大鼠尿液生化指标水平的影响见表2。

3.4 大鼠肾脏病理学观察结果

正常对照组大鼠肾脏颜色暗红,组织学未见明显改变,HE染色观察肾小管、肾小球、系膜区宽度、系膜基质、间质均未见病变。模型组大鼠肾脏呈灰白色,HE染色与正常对照组比较,系膜区明显增宽,系膜基质明显增多,小管间质可见大量炎细胞浸润,血管壁增厚,已造成CRF。各给药组大鼠肾脏表面均出现不同程度的红、白相兼的颗粒状纹理。与模型组比较,消氮颗粒高剂量组大鼠肾脏间质有所改善,炎细胞减少;

表2 消氮颗粒对模型大鼠尿液生化指标水平的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab 2 Effects of Xiaodan granules on urine biochemical indexes of rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	PRO	LEU	SG
正常对照组	0	0	1.017 \pm 0.001
模型组	1.4 \pm 0.8*	2.5 \pm 0.5*	1.006 \pm 0.002*
尿毒清颗粒组	0.2 \pm 0.4 [#]	0.8 \pm 0.9 [#]	1.010 \pm 0.003 [#]
消氮颗粒高剂量组	0.2 \pm 0.4 [#]	0.9 \pm 0.9 [#]	1.010 \pm 0.002 [#]
消氮颗粒中剂量组	0.2 \pm 0.4 [#]	0.7 \pm 0.8 [#]	1.011 \pm 0.001 [#]
消氮颗粒低剂量组	0.3 \pm 0.5 [#]	0.9 \pm 0.7 [#]	1.010 \pm 0.001 [#]

与正常对照组比较: * $P<0.01$;与模型组比较: [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$

vs.normal control group: * $P<0.01$;vs.model group: [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$

0.01

消氮颗粒中剂量组大鼠肾脏间质明显改善,有少量炎细胞浸润,血管壁改善明显;消氮颗粒低剂量组大鼠肾脏间质有所改善,炎细胞减少,血管壁变薄。大鼠肾脏病理学切片见图1。

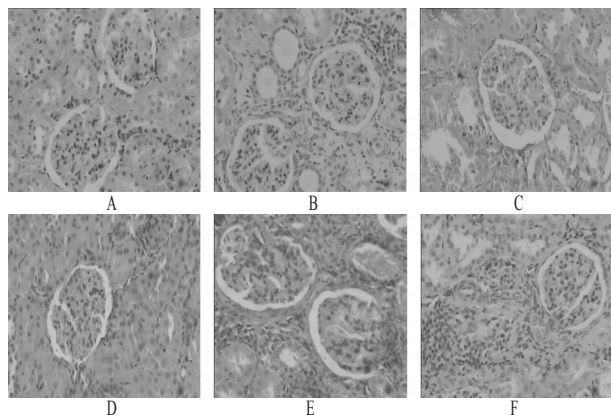


图1 大鼠肾脏病理学切片(HE, 100×)

A.正常对照组;B.模型组;C.尿毒清颗粒组;D.消氮颗粒高剂量组;E.消氮颗粒中剂量组;F.消氮颗粒低剂量组

Fig 1 Renal pathological section microscope of rats (HE, 100×)

A.normal control group; B.model group; C.Niaoduqing pellet group; D.Xiaodan pellet high-dose group; E.Xiaodan pellet medium-dose group; F.Xiaodan pellet low-dose group

4 讨论

大鼠ig腺嘌呤30d后,血清Scr、BUN、水平UA、 P^{3+} 明显升高,与正常对照组比较,差异具有统计学意义($P<0.01$),表明复制模型成功,其复制模型方法简便可控。ig给药后,消氮颗粒能明显降低模型大鼠血清Scr、BUN、UA、 P^{3+} 水平,改善尿常规指标,减缓肾组织损伤。其结果与方中各药功效一致,方中大黄可通腑泻浊、荡涤肠胃、炙热积滞,促使糟粕毒素外排,番泻叶泻下通便、利水消胀,车前子功于降泻、清热利湿、清肺祛痰、利尿通淋,此三味药均可促进机体对代谢物的排泄,改善血常规、尿常规的各项指标;附子用以峻补元阳、散寒除湿、温壮肾阳,可改善肾功能;另外丹参有活血祛瘀、凉血消痈^[13]之功效。大量现代药理学研究表明,丹参能有效地改善肾功能,减少细胞的凋亡,保护组织、改善循环和抗氧化,而且改善移植肾功能疗效明显^[14];制黄精补气养阴、健脾、润肺、益肾^[15],可减轻肾组织损伤。

本研究发现,消氮颗粒中剂量组的治疗效果优于高、低剂量组,这与方中主药大黄有关。现代研究表明,大黄能够明显增强胃肠蠕动能^[16]、加速内容物排泄、减少滞留时间,从而影响药物代谢吸收,降低治疗效果。另外,大黄药性苦寒泻,高剂量服用大黄易引起腹痛、腹泻等症。在临床应用过程中应根据患者胃肠道情况,合理调整用药剂量。

笔者应用生化指标结合病理形态学的研究,探讨了消氮颗粒对腺嘌呤所致CRF模型大鼠肾组织的保护作用,结果证明,消氮颗粒疗效确切,可为临床应用提供理论依据。

参考文献

- [1] 王海燕.肾衰竭[M].上海:上海科学技术出版社,2003:290.
- [2] 熊有明,谢正兰.慢性肾衰的中医药治疗进展[J].医学综述,2009,15(20):3156.
- [3] 孙广仁.中医基础理论[M].北京:中国中医药出版社,2002:93.
- [4] 周全荣,熊景,李航.肾纤维化与肾络瘀阻关系的研究现状[J].上海中医药杂志,2005,39(3):63.
- [5] 曾莹,张玉,赵璞,等.葆肾康颗粒对大鼠慢性肾衰竭的防治作用[J].医药导报,2010,29(10):1255.
- [6] 李春雨.基于代谢组学的大黄治疗慢性肾功能衰竭的有效性评价及作用机制研究[D].成都:成都中医药大学,2010.
- [7] 李娟,何海霞,周远大,等.褐藻多糖硫酸酯精提物对慢性肾衰模型大鼠的保护作用研究[J].中国药房,2012,23(23):2120.
- [8] 杜卉莲,傅晓晴.慢性肾衰动物的模型制备及临床应用[J].中医研究,2005,18(12):53.
- [9] Yokozawa T, Zheng PD, Oura H, et al. Animal model of adenine-induced chronic renal failure in rats [J]. *Nephron*, 1986,44(3):230.
- [10] 梁靓靓,史业东,陈苏宁.扶正排毒汤对腺嘌呤所致大鼠慢性肾功能衰竭模型的影响[J].天津中医药,2010,27(5):409.
- [11] 严家荣,郑桂兰,黄小琼,等.尿毒清颗粒防治慢性肾功能衰竭的实验研究[J].实用预防医学,2010,17(10):2077.
- [12] 陈奇.中药药理研究方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2006:31.
- [13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:70.
- [14] 雷伟,周江桥,王玲珑,等.丹参与CsA对移植肾缺血再灌注损伤防治作用的对比研究[J].临床外科杂志,2005,13(6):366.
- [15] 彭欣,张少华.中药方剂学[M].济南:山东科学技术出版社,2005:121、188、174、125.
- [16] 闫美娟,隋峰,林娜.大肠调节胃肠功能的作用及机制研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(4):181.

(收稿日期:2014-07-03 修回日期:2014-08-27)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅