

秦苓液对尿酸性肾病大鼠肾功能及肾组织病理改变的影响

王洁¹, 孟凤仙², 王亚南¹, 卜祥伟¹, 张红红¹, 沈志明¹,
王康², 张建萍¹, 陆清怡¹, 张继胜^{2*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078)

[摘要] **目的:**观察秦苓液对尿酸性肾损害大鼠肾功能及肾组织病理改变的影响,探讨其对尿酸性肾病(UN)肾脏损伤的保护作用及作用机制。**方法:**采用腺嘌呤灌胃伴酵母饲料喂养的方法造模,将成模大鼠随机分为正常组,模型组,别嘌呤醇组(23.33 mg·kg⁻¹·d⁻¹),秦苓液大、中、小剂量组(36.4,18.2,9.1 g·kg⁻¹·d⁻¹),连续干预8周。分别于0,2,4,6,8周检测各组大鼠24 h尿蛋白(uPRO/24 h),血尿酸(sUA),血肌酐(sCR)和血尿素氮(BUN);干预6周和8周后分别处死各组大鼠1/2量,取肾脏进行苏木素-伊红和过碘酸雪夫氏染色,光镜下观察。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠uPRO/24 h,sUA,sCR,BUN明显升高,肾组织出现较明显的病理改变;与模型组比较,秦苓液各剂量组大鼠uPRO/24 h,sUA,sCR,BUN有不同程度的降低,肾组织病理损伤明显减轻。**结论:**秦苓液能显著改善UN模型大鼠肾功能,减轻肾组织病理损伤,保护肾脏。

[关键词] 尿酸性肾病; 肾功能; 肾组织病理; 秦苓液; 别嘌呤醇; 血肌酐; 血尿素氮

[中图分类号] R285.5;R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0106-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016200106

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0901.006.html>

[网络出版时间] 2016-09-06 9:01:50

Effect of Qinling Liquid on Renal Function and Pathological Changes of Renal Tissue in Rats with Uric Acid Nephropathy

WANG Jie¹, MENG Feng-xian², WANG Ya-nan¹, BU Xiang-wei¹, ZHANG Hong-hong¹,
SHEN Zhi-ming¹, WANG Kang², ZHANG Jian-ping¹, LU Qing-yi¹, ZHANG Ji-sheng^{2*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Qinling liquid on renal function and pathological changes of renal tissue in rats with uric acid nephropathy, and to discuss its protection mechanism for renal injury. **Method:** The rat model was induced by gavaging adenine and feeding yeast. Model rats were randomly divided into the normal group, the model group, the positive group (23.33 mg·kg⁻¹·d⁻¹ of allopurinol) and high-dose, medium-dose, low-dose groups of Qinling liquid (36.4, 18.2, 9.1 g·kg⁻¹·d⁻¹), the normal group and the model group were daily gavaged with distilled water. At the timepoint of 0, 2, 4, 6, 8 weeks, the levels of serum uric acid (sUA), serum creatinine (sCR), blood urea nitrogen (BUN) and 24 h urine protein (uPRO/24 h) were detected. At the end of 6th and 8th week, half of rats in each group were sacrificed and the kidney was harvested for hematoxylin-eosin and periodic acid-schiff staining. **Result:** Compared with the normal group, the levels of uPRO/24 h, sUA, sCR and BUN in the model group were dramatically increased, pathological changes of renal tissue were serious. Compared with the model group, the levels of uPRO/24 h, sUA, sCR and BUN in each group of Qinling liquid were decreased at different degrees, and the pathological changes of renal tissue were

[收稿日期] 20160509(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473516)

[第一作者] 王洁, 硕士, 从事内分泌代谢和风湿免疫病研究, Tel:13120364668, E-mail:13120364668@163.com

[通讯作者] *张继胜, 主治医师, 从事风湿免疫病研究, Tel:010-87669826, E-mail:123934210@qq.com

alleviated. **Conclusion:** In model rats of uric acid nephropathy, Qinling liquid can significantly improve renal function and relieve renal pathological damage for kidney protection.

[**Key words**] uric acid nephropathy; renal function; renal pathology; Qinling liquid; allopurinol; serum creatinine; blood urea nitrogen

尿酸是饮食或内源性嘌呤在人体内分解代谢的终产物,当代谢异常时,UA 生成过多或排除减少,导致高尿酸血症(hyperuricemia, HUA),当尿酸在血液中浓度呈过饱和状态即可沉积于肾脏而引起肾脏损害,称之为尿酸性肾病(uric acid nephropathy, UN)^[1]。UN 为 HUA 主要并发症之一,随着 HUA 发病率的大幅提升,罹患 UN 人群亦逐年增多。目前,现代医学治疗主要以别嘌醇抑制尿酸生成,但长期应用易导致如发热、皮疹、胃肠道不适、肝肾功能损害、白细胞减少等副作用^[2],因此寻找毒性和不良反应小、疗效好的药物具有重要的临床意义。秦苓液为孟凤仙教授临床治疗 UN 的协定处方,由山茱萸肉 10 g,秦皮 15 g,土茯苓 15 g,黄柏 15 g,威灵仙 30 g,赤芍 15 g 等共 8 味药物组成,具有益肾降浊、清热利湿、化瘀通络的功效。本实验拟观察秦苓液对 UN 模型大鼠肾功能及肾组织病理改变的影响,以探讨其对 UN 肾脏损伤的保护作用及作用机制,为临床治疗 UN 提供参考。

1 材料

Excelsior ES 型全自动脱水机, Histocentre 3 型石蜡包埋机, Finesse 325 型轮转式切片机和 Varistain Gemini ES 型全自动染色机(美国 Thermo Fisher Scientific); PUS-2018G 型半自动生化分析仪(北京普朗新技术有限公司), HC-3018R 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科技仪器有限公司), AR1140 型动物脏器电子天平(美国 Chaus 公司), X71 型自动光学照相生物显微镜(日本 Olympus 公司)。

尿酸测定试剂盒、总蛋白测定试剂盒、肌酐测定试剂盒和尿素测定试剂盒(中生北控生物科技股份有限公司,批号分别为 SHCGC000331, 000260, 020224, 020225), 10% 中性缓冲福尔马林固定液(北京益利精细化学品有限公司), 苏木素-伊红(HE)染色液试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司), 过碘酸雪夫氏(PAS)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司), 秦苓液处方煎剂(自制), 别嘌醇胶囊(黑龙江澳利达奈德制药有限公司,规格 0.25 g/粒,10 粒,批准文号国药准字 H20041338,批号 15010901), 腺嘌呤(美国 Sigma 公司)。

健康 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(200 ± 10) g,

购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001。酵母饲料购自北京华康康生物科技股份有限公司,合格证号 SCXK(京)2014-0008。

2 方法

2.1 模型建立 大鼠自由饮水进食,适应性喂养 1 周后,随机分为正常组(6 只)和造模组(99 只)。正常组每日按 10 mL·kg⁻¹灌胃给水,普通饲料喂养。造模组将腺嘌呤溶于 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液中,按 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃给药,同时给予 10% 酵母饲料 100 g·kg⁻¹·d⁻¹喂养,连续 18 d。从眼眶内眦取血,结果发现血尿酸水平明显上升,与正常组比较差异具有统计学意义,说明高尿酸血症(HUA)模型大鼠造模成功^[3]。在代谢笼中收集 24 h 尿液,测得尿蛋白浓度明显增高,与正常组比较差异具有统计学意义,提示肾脏受损,符合尿酸性肾损害表现^[4]。

2.2 分组与给药 将造模成功的 96 只大鼠随机分为模型组,阳性组,秦苓液大、中、小剂量组,乙药大、中、小剂量组,每组 12 只(本实验不对乙药进行观察)。正常组及模型组每日按 10 mL·kg⁻¹灌胃给予水。阳性组每日按 23.33 mg·kg⁻¹给予别嘌醇,秦苓液大、中、小剂量组每日分别按 36.4, 18.2, 9.1 g·kg⁻¹灌胃给予秦苓液,分别相当于成人 1 kg 体重用量的 5.6, 11.2, 5.6, 2.8 倍。各组大鼠每日给药 1 次,连续干预 8 周。

2.3 指标检测 造模成功后,分别于 0, 2, 4, 6, 8 周采用代谢笼收集各组大鼠 24 h 尿液,检测 24 h 尿蛋白水平,取血并测定血尿酸(sUA),血肌酐(sCR),尿酸氮(BUN)等生化指标,按相关试剂盒说明进行测定。灌胃治疗 6 周和 8 周后,随机麻醉、处死各组大鼠 1/2 量,摘取肾脏称重,左肾沿外侧缘纵切,后面 1/2 肾组织横切,取其下端 1/2 迅速放入 10% 中性福尔马林溶液中固定以备光镜观测。由于灌胃失误加之疾病发展,秦苓液大、中剂量组分别死亡 6 只和 1 只大鼠,故 8 周时秦苓液大剂量组指标均缺失。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较符合正态分布采用 *t* 检验,否则采用非参数检验。*P* < 0.05 表

示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况 正常组大鼠精神状态良好、动作自如、反应敏捷、体毛光泽。模型组及各给药组大鼠精神状态相对较差,体毛偏黄、相对干枯、脱落较多、欠光泽,多尿,进食量减少,活动减少。各组大鼠饮水量及体重无明显差异。各给药组动物诸情况相对模型组为轻。

表 1 秦苓液对各组大鼠 24 h 尿蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	给药量/g·kg ⁻¹	n	0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常	-	6	450.53 ± 160.02	496.35 ± 137.65	461.58 ± 139.21	525.34 ± 193.98	541.75 ± 36.51
模型	-	12	671.51 ± 126.09 ¹⁾	772.85 ± 124.34 ²⁾	839.44 ± 109.77 ²⁾	814.14 ± 97.12 ²⁾	671.10 ± 46.42 ²⁾
别嘌醇	0.023 33	12	669.56 ± 88.59 ²⁾	734.10 ± 127.05	731.59 ± 83.35 ³⁾	711.44 ± 77.30 ³⁾	577.63 ± 69.27 ³⁾
秦苓液	36.4	6	670.76 ± 88.17 ¹⁾	717.67 ± 54.76	637.94 ± 114.50 ⁴⁾	595.86 ± 57.97 ^{4,5)}	-
	18.2	11	678.16 ± 121.58 ²⁾	721.02 ± 84.45	632.79 ± 84.85 ^{4,5)}	592.32 ± 94.87 ^{4,5)}	521.95 ± 45.74 ⁴⁾
	9.1	12	670.46 ± 47.17 ¹⁾	735.52 ± 84.77	693.56 ± 66.19 ⁴⁾	629.23 ± 91.51 ⁴⁾	552.74 ± 74.90 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;与模型组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01;与别嘌醇组比较⁵⁾ P < 0.05, ⁶⁾ P < 0.01(表 2 ~ 4 同)。

3.2.2 sUA 水平 与正常组比较,0 周时各造模组大鼠 sUA 均明显增高。与模型组比较,2 周时各用药组 sUA 降低,但无统计学差异;4 周时阳性组、秦

3.2 秦苓液对尿酸性肾病大鼠各评价指标的影响

3.2.1 24 h 尿蛋白水平 与正常组比较,0 周时各造模组大鼠 24 h 尿蛋白水平均显著增高。与模型组比较,2 周时各用药组 24 h 尿蛋白水平降低,但无统计学意义;4,6,8 周时各用药组 24 h 尿蛋白水平显著降低。与阳性组比较,4 周时秦苓液中剂量组 24 h 尿蛋白水平显著降低;6 周时秦苓液大、中剂量组 24 h 尿蛋白水平显著降低。见表 1。

苓液大、中剂量组 sUA 明显降低;6 周和 8 周时各用药组 sUA 均明显降低。与阳性组比较,6 周时秦苓液大、中剂量组 sUA 明显降低。见表 2。

表 2 秦苓液对各组大鼠 sUA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	给药量/g·kg ⁻¹	n	0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常	-	6	155.88 ± 29.51	152.36 ± 37.26	158.68 ± 36.80	153.90 ± 42.14	152.73 ± 11.94
模型	-	12	246.76 ± 48.28 ²⁾	295.54 ± 74.16 ²⁾	269.43 ± 46.81 ²⁾	236.85 ± 32.86 ²⁾	195.12 ± 24.88 ¹⁾
别嘌醇	0.023 33	12	250.56 ± 67.96 ²⁾	251.96 ± 40.11	208.93 ± 34.03 ⁴⁾	198.11 ± 28.99 ³⁾	148.57 ± 37.99 ³⁾
秦苓液	36.4	6	247.75 ± 54.07 ²⁾	248.36 ± 49.14	206.38 ± 21.63 ⁴⁾	150.80 ± 15.30 ^{4,6)}	-
	18.2	11	249.13 ± 42.22 ²⁾	262.45 ± 53.90	225.93 ± 29.15 ³⁾	164.69 ± 25.73 ^{4,5)}	144.88 ± 37.66 ³⁾
	9.1	12	247.84 ± 60.62 ²⁾	262.79 ± 54.84	235.78 ± 35.37	194.21 ± 38.15 ³⁾	144.00 ± 48.75 ³⁾

3.2.3 sCR 水平 与正常组比较,0 周时各造模组大鼠 sCR 明显增高。与模型组比较,2 周时各用药组 sCR 降低,阳性组和秦苓液大、中剂量组差异具有统计学意义;4,6,8 周时各用药组 sCR 明显降低。与阳性药组比较,4 周时,秦苓液大、中剂量组 sCR 明显降低;6 周时秦苓液各剂量组 sCR 明显降低。见表 3。

肾重指数依次为 (6.55 ± 0.30), (7.14 ± 0.53), (7.51 ± 0.75), (6.82 ± 0.28), (7.39 ± 0.65), 与正常组比较,6 周时模型组大鼠肾重指数明显增高。

3.3 光镜观察

3.2.4 BUN 水平 与正常组比较,0 周时各造模组大鼠 BUN 均明显增高。与模型组比较,2 ~ 8 周时各用药组 BUN 明显降低。见表 4。

3.3.1 HE 染色观察 正常组大鼠肾小管上皮未见萎缩及空泡变,管内未见蛋白及尿酸结晶,间质未见炎症,结构正常。模型组大鼠肾组织可见不同程度小管上皮细胞变性坏死、大小不等的囊性扩张,扩张小管内大量中性分叶核形成特殊管型;肾间质大面积炎症细胞浸润,主要以中性粒细胞为主,亦可见淋巴细胞、单核细胞、浆细胞;间质纤维增生,肾皮髓质间质及曲管内可见大小不等棕色结晶沉积,结晶处有马蹄样多核巨细胞出现,部分肾集合管内或间质内有大片状特殊蛋白管型及红细胞管型;肾小球不同程度增大,不明显,有充血,包氏囊内壁层细胞

3.2.5 肾重指数 6 周时,正常组、模型组、阳性组及秦苓液大、中、小剂量组的肾重指数分别为 (6.55 ± 0.39), (7.88 ± 0.57), (7.42 ± 0.12), (8.20 ± 0.76), (7.96 ± 0.97), (7.73 ± 0.31), 8 周时,正常组、模型组、阳性组及秦苓液中、小剂量组的

表 3 秦苓液对各组大鼠 sCR 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Qinling liquid on level of sCR in each group ($\bar{x} \pm s$) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

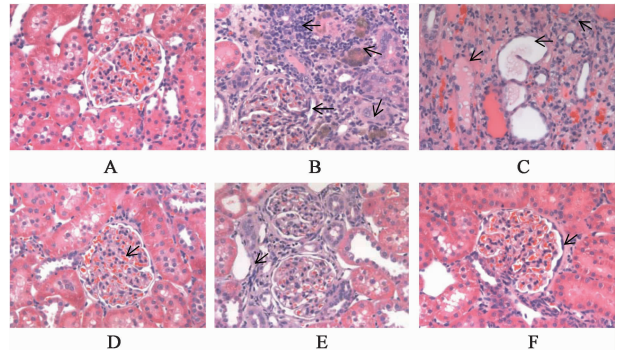
组别	给药量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常	-	6	150.68 ± 17.47	148.03 ± 7.008	148.97 ± 29.23	152.57 ± 20.66	141.40 ± 1.40
模型	-	12	266.63 ± 45.25 ²⁾	386.02 ± 55.29 ²⁾	374.15 ± 60.82 ²⁾	252.82 ± 61.20 ²⁾	203.00 ± 51.90 ¹⁾
别嘌呤醇	0.023 33	12	263.76 ± 61.51 ²⁾	308.07 ± 65.24 ³⁾	256.45 ± 68.62 ⁴⁾	204.79 ± 36.20 ³⁾	144.10 ± 7.44 ³⁾
秦苓液	36.4	6	261.25 ± 52.95 ²⁾	308.91 ± 35.33 ⁴⁾	241.99 ± 36.56 ^{4,5)}	165.12 ± 37.27 ^{4,5)}	-
	18.2	11	268.08 ± 45.80 ²⁾	322.83 ± 66.98 ³⁾	251.84 ± 34.08 ^{4,5)}	161.30 ± 45.83 ^{4,5)}	148.12 ± 7.46 ³⁾
	9.1	12	267.11 ± 76.50 ²⁾	330.23 ± 82.058	266.82 ± 57.52 ⁴⁾	174.33 ± 18.07 ^{4,5)}	145.80 ± 4.64 ³⁾

表 4 秦苓液对各组大鼠 BUN 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of Qinling liquid on level of BUN in each group ($\bar{x} \pm s$) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	给药量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常	-	6	5.49 ± 0.91	5.23 ± 0.84	5.37 ± 0.88	5.29 ± 0.86	5.37 ± 0.56
模型	-	12	7.95 ± 1.37 ²⁾	11.03 ± 2.07 ²⁾	10.34 ± 1.49 ²⁾	8.21 ± 2.23 ²⁾	7.69 ± 1.28 ¹⁾
别嘌呤醇	0.023 33	12	7.99 ± 1.14 ²⁾	6.41 ± 1.25 ⁴⁾	6.15 ± 0.96 ⁴⁾	5.48 ± 1.40 ⁴⁾	4.97 ± 1.60 ³⁾
秦苓液	36.4	6	8.00 ± 1.17 ²⁾	6.47 ± 1.96 ⁴⁾	6.05 ± 0.92 ⁴⁾	5.41 ± 0.97 ³⁾	-
	18.2	11	7.97 ± 1.11 ²⁾	6.51 ± 2.45 ⁴⁾	6.00 ± 1.06 ⁴⁾	5.40 ± 1.74 ⁴⁾	5.24 ± 0.35 ⁴⁾
	9.1	12	7.98 ± 1.05 ²⁾	6.79 ± 1.71 ⁴⁾	6.41 ± 2.10 ⁴⁾	5.69 ± 1.01 ⁴⁾	5.59 ± 1.53 ³⁾

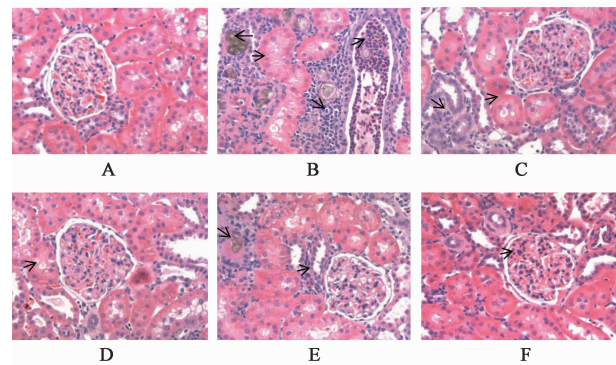
增多、肥大,内膜增厚,并有少量血浆渗出。模型组肾脏病变与正常组比较存在明显差异。给药 6 周和 8 周后,秦苓液不同剂量组、阳性组肾组织病变如肾曲管肿胀、变性坏死,间质炎症,肾集合管蛋白管型沉积、嘌呤沉积,及肾小球损伤程度均较模型组有所改善。给药 6 周后,秦苓液大、中剂量组肾小管上皮萎缩变性,肾间质嘌呤沉积明显减轻;大剂量组肾间质炎症、集合管蛋白管型沉积明显减轻;各用药组肾小球病变均无明显改善。给药 8 周后,各用药组肾小管上皮萎缩变性、肾间质嘌呤沉积明显减轻;秦苓液中、小剂量组肾间质炎症、集合管蛋白管型沉积明显减轻;阳性组和秦苓液中、小剂量组肾小球病变明显减轻。见图 1,2。



A. 正常组; B, C. 模型组; D. 别嘌呤醇组; E. 秦苓液 18.2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 秦苓液 9.1 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 4 同)

图 2 各组大鼠 8 周时肾组织变化情况 (HE, $\times 200$)

Fig. 2 Renal pathological changes of rats from each group in 8th week (HE, $\times 200$)



A. 正常组; B. 模型组; C. 别嘌呤醇组; D. 秦苓液 36.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 秦苓液 18.2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 秦苓液 9.1 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 3 同)

图 1 各组大鼠 6 周时肾组织变化情况 (HE, $\times 200$)

Fig. 1 Renal pathological changes of rats from each group in 6th week (HE, $\times 200$)

3.3.2 PAS 染色观察 正常组肾小球微血管正常,

染色均匀一致,基质、小球基底膜、小球包氏囊未见增厚,结构正常。模型组 6 周时,肾小球着色不均匀,部分小球基质及基底膜不同程度增厚;8 周时,肾小球着色不均匀,部分小球包氏囊壁层明显增厚,壁层细胞增大,包氏囊内节段性渗出物,基质、基底膜增厚。模型组肾脏病变与正常组比较存在明显差异。给药 6 周和 8 周后,各用药组肾小球内基质及基底膜病变情况较模型组有不同程度的改善或减轻。给药 6 周后,秦苓液大、中剂量组肾小球内基质及基底膜病变明显减轻;给药 8 周后,阳性组和秦苓液中、小剂量肾小球内基质及基底膜病变明显减轻。见图 3,4。说明秦苓液各剂量组对尿酸性肾组肾组织病变均具有改善作用。

4 讨论

UN 是由于机体嘌呤代谢紊乱,使血尿酸产生

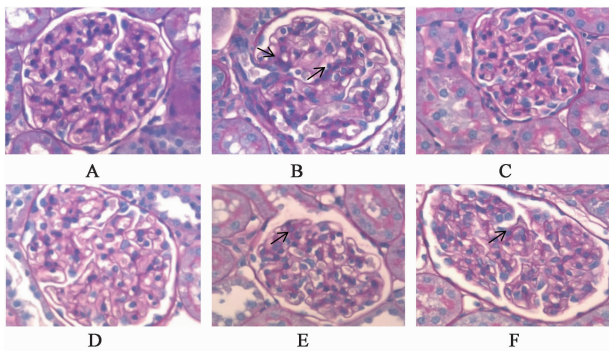


图 3 各组大鼠 6 周时肾小球病变情况 (PAS, $\times 400$)
Fig. 3 Glomerular pathological changes of rats from each group in 6th week (PAS, $\times 400$)

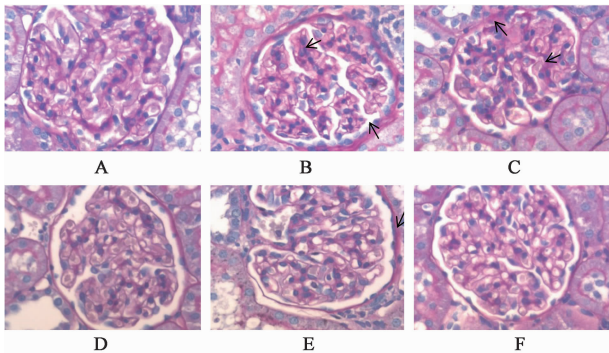


图 4 各组大鼠 8 周时肾小球病变情况 (PAS, $\times 400$)
Fig. 4 Glomerular pathological changes of rats from each group in 8th week (PAS, $\times 400$)

过多或排除减少,导致 HUA,继而尿酸结晶沉积于肾脏引起病变,主要影响肾小管和间质,导致肾小管间质炎症、肾结石、肾纤维化、慢性肾功能不全、肾衰竭等严重后果,威胁生命。本病的发病机制尚未完全阐明,主要与 UA 诱导内皮损伤、血管平滑肌增殖、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)和环氧酶-2(COX-2)系统激活以及炎症反应等相关^[5-6],而炎症损伤机制是其发病的核心环节。

UA 作为前炎症因子,可刺激免疫细胞和肾脏固有细胞,激活多条信号通路,导致炎症因子高表达,诱导肾脏免疫炎症病理损害。UA 可刺激肾小球系膜细胞,激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)级联系统,导致内皮细胞和血管平滑肌细胞分泌 C-反应蛋白增加,从而减少 NO 合成,并上调黏附分子和细胞因子如血管黏附分子-1(VCAM-1),细胞间黏附分子-1(ICAM-1),单核细胞趋化因子-1(MCP-1)等的表达,促进细胞的增殖和迁移^[7],增加炎症细胞浸润及纤维蛋白的形成。UA 沉积于肾脏,诱导释放肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白介素(ILs)等炎症因子,激活核因子- κ B(NF- κ B)信号通路,促进相关

炎症基因的转录^[8],上调赖氨酰氧化酶,ICAM-1, MCP-1,基质金属蛋白酶-2 等蛋白的表达^[9],增加细胞外基质和纤连蛋白合成,促使基质蛋白沉积;NF- κ B 亦可促进 TNF- α 和 ILs 等表达,诱导炎症因子如 VCAM-1,ICAM-1 和 MCP-1 等表达^[10-12],促进炎症细胞在肾组织中大量浸润,导致肾间质免疫炎症反应和肾纤维化、肾小球系膜细胞增殖^[13];与此同时, TNF- α 和 ILs 可反向激活 NF- κ B,形成恶性循环,加重肾脏损害。UA 可刺激肾脏转化生长因子- β (TGF- β)分泌增加^[14],作为上游因子激活 MAPKs 信号通路^[15],诱导炎症细胞黏附,介导肾脏炎症病理损伤。TGF- β 主要与肾脏纤维化密切相关。TGF- β 可上调胶原蛋白 mRNA 表达,促进胶原组织合成;同时,下调金属蛋白酶组织抑制物-1 和纤溶酶原激活物抑制因子-1 基因的表达,促进细胞外基质(ECM)分泌和减少其降解,使 ECM 过度积聚导致肾小球硬化^[16-17];TGF- β 可诱导 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达及 IL-1 促转型作用^[18],刺激成纤维细胞增殖并活化为肌成纤维细胞,导致肾纤维化^[11]。此外,UA 可诱导氧化应激、激活 RAAS 系统,间接促进肾脏炎症反应,导致肾损害。

UN 归属于中医学“痹证”、“腰痛”、“尿浊”、“肾痹”、“关格”等范畴,其病因在于先天不足,或后天失养,脾肾虚弱,复加进食肥甘,积滞不化,痰浊内生,蕴久化热成毒,流于关节筋骨皮腠,急性发作,局部红、肿、热、痛,痛不可近;当失治误治,瘀毒不除,则漫肿不消,暗紫触痛;日久不愈,流于下焦,病损及肾,致精微泻于外,浊毒留于内,发为本病。本病属本虚标实,脾肾亏虚为本,湿、热、浊、瘀为标,治宜益肾降浊,清热利湿,化瘀通络,补虚泻实,标本兼顾。秦苓液由山茱萸肉、秦皮、土茯苓等药味组成。方中山茱萸肉滋阴益肾、固摄精微扶正为君;秦皮、土茯苓健脾利湿、泄浊清热,配黄柏通利下焦湿热,佐以威灵仙通络止痛、赤芍清热活血散瘀止痛之品,祛邪外出。全方相合,益肾降浊,清热利湿,化瘀通络,补虚泻实,标本兼顾。现代药理研究显示山茱萸肉可利尿、调节免疫、抗炎抗氧化^[19],并抑制氧化应激^[20],降低尿微量白蛋白;秦皮提取物具有良好的促进 UA 排泄、抗炎镇痛等作用^[21];土茯苓可选择性地抑制细胞免疫反应,提高肌酐清除率,降低 UA,改善肾功能^[22];黄柏有较好的抗炎、提高吞噬细胞功能及免疫抑制作用,能抑制细胞因子的产生和分泌,并有降 UA 的作用^[23];威灵仙具有抗痛风、抑制免疫、抗炎等作用^[24];赤芍具有抗炎作用,可抑

制炎性因子分泌^[25],从而起到减轻肾组织损害,保护肾功能的作用。

本文研究结果显示,秦苓液各剂量组可不同程度地改善尿酸性肾病模型大鼠肾间质炎症,减少中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞等炎性细胞浸润,改善肾小管肿胀、变性坏死,肾集合管蛋白管型沉积、嘌呤沉积及肾小球损伤等;显著降低 sUA, sCR, BUN 等生化指标。证实秦苓液可改善肾功能,减轻肾组织病理损伤,具有保护肾脏的作用,且其作用机制可能与抑制肾组织免疫炎性损伤相关。

[参考文献]

[1] 高志卿,张宾,张俊,等.尿酸性肾病大鼠肾组织中 TGF- β_1 CTGF mRNA 的表达变化及补肾活血方对其影响[J].中华中医药学刊,2007,25(9):1931-1933.

[2] 高双荣,马卫国,商学征,等.复方青秦对痛风性肾病大鼠肾组织病理学的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(10):183-186.

[3] 王冬平,曾林,尚世臣,等.实验动物血液生理生化参考手册[M].北京:科学出版社,2011:129.

[4] 商学征,马卫国,白羽,等.复方青秦液对尿酸性肾病大鼠肾功能的影响[J].中国中医药信息杂志,2013,20(9):31-33,36.

[5] 雷三霞,于长国,曾春艳.高尿酸血症与肾损害相关性研究进展[J].医学综述,2014,20(10):1775-1777.

[6] 丁健.痛风性肾病的形成机制[J].现代实用医学,2013,25(8):846-847.

[7] Tosu A R, Demir S, Selcuk M, et al. Comparison of inflammatory markers in non-dipper hypertension vs. dipper hypertension and in normotensive individuals; uric acid, C-reactive protein and red blood cell distribution width readings [J]. Postepy Kardiol Interwencyjnej, 2014,10(2):98-103.

[8] Tak P P, Firestein G S. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases[J]. J Clin Invest, 2001,107(1):7-11.

[9] Li S, Zhao F, Cheng S, et al. Uric acid-induced endoplasmic reticulum stress triggers phenotypic change in rat glomerular mesangial cells[J]. Nephrology, 2013,18(10):682-689.

[10] 徐红,杨汝春,朱晓玲,等.尿酸利仙含药血清对尿酸盐诱导的人血管内皮细胞 VCAM-1 mRNA 表达的影响[J].中华中医药学刊,2007,25(1):79-81.

[11] Lyngdoh T, Marques-Vidal P, Paccard F, et al. Elevated serum uric acid is associated with high circulating inflammatory cytokines in the population-based Colaus study[J]. PLoS One, 2011,6(5):e19901.

[12] Zhou Y, Fang L, Jiang L, et al. Uric acid induces renal inflammation via activating tubular NF- κ B signaling pathway[J]. PLoS One, 2012,7(6):e39738.

[13] Tsiotra P C, Tsigos C, Yfanti E, et al. Visfatin, TNF- α and IL-6 mRNA expression is increased in mononuclear cells from type 2 diabetic women[J]. Horm Metab Res, 2007,39(10):758-763.

[14] 张涛,迟雁青,杜春阳,等.尿酸对人肾小管上皮细胞氧化应激和 TGF- β 表达的影响[J].免疫学杂志,2014,30(7):585-589.

[15] Hayashida T, Poncelet A C, Hubchak S C, et al. TGF- β_1 activates MAP kinase in human mesangial cells; a possible role in collagen expression [J]. Kidney Int, 1999,56(5):1710-1720.

[16] Sakharova O V, Taal M W, Brenner B M. Pathogenesis of diabetic nephropathy: focus on transforming growth factor- β and connective tissue growth factor [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2001,10(6):727-738.

[17] Lam S, van der Geest R N, Verhagen N A M, et al. Connective tissue growth factor and igf-I are produced by human renal fibroblasts and cooperate in the induction of collagen production by high glucose [J]. Diabetes, 2003,52(12):2975-2983.

[18] Fan J M, Huang X R, Ng Y Y, et al. Interleukin-1 induces tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation through a transforming growth factor- β_1 -dependent mechanism *in vitro* [J]. Am J Kidney Dis, 2001,37(4):820-831.

[19] 李丽华,许惠琴,时艳.山茱萸环烯醚萜总苷对糖尿病大鼠肾形态学及其 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性的影响[J].云南中医学院学报,2005,28(4):43-45.

[20] Tiriveedhi V, Upadhyay G A, Busch R A, et al. Protective role of bortezomib in steatotic liver ischemia/reperfusion injury through abrogation of MMP activation and YKL-40 expression [J]. Transpl Immunol, 2014,30(2):93-98.

[21] 周元升,谢蔚鹏,薛亚倩.秦皮醇提取物对亚急性衰老小鼠的抗衰老作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(22):122-126.

[22] 杜志敏,陈兴兴,魏辉.土茯苓的药理作用及临床应用新进展[J].基层中药杂志,2000,14(1):56-58.

[23] 李丹丹,江培,杨书美,等.黄柏的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].黑龙江医药,2014,27(3):601-605.

[24] 李佳,刘继永.中药威灵仙的化学成分及药理作用研究[J].特产研究,2011,33(1):67-75.

[25] 王瑞,鲁岚,李颖伟,等.赤芍与白芍的药理作用比较[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(7):112-114.

[责任编辑 刘德文]