

# 益肾泻浊化瘀方治疗大鼠 慢性肾功能衰竭的实验研究

黄芳\*, 张小鹿, 陶明龙

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院肾内科, 上海 200437)

**[摘要]** 目的: 观察益肾泻浊化瘀方对慢性肾功能衰竭(CRF)大鼠肾脏的保护作用, 并探讨其作用机理。方法: 将大鼠随机分为中药益肾泻浊化瘀方组、西药依那普利组、模型组及假手术组, 以5/6肾大部切除术建立慢性肾衰大鼠模型, 检测各组治疗前后血尿素氮(BUN)、肌酐(Cre); 血一氧化氮(NO)、内皮素(ET)、降钙素基因相关肽(CGRP)水平及肾组织病理改变。结果: 治疗后中药组和西药组BUN、Cre均较模型组明显下降( $P < 0.01$ ), 且中药组Cre下降幅度较西药组大( $P < 0.05$ )。模型组大鼠血ET、CGRP含量较假手术组显著升高( $P < 0.01$ ), 中药、西药均能有效降低ET水平, 与模型组比较分别为 $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ , 中药组血CGRP含量下降( $P < 0.05$ )。各组血NO水平无显著差异。模型组肾组织病理改变最严重, 中药组较西药组病变程度轻。结论: 益肾泻浊化瘀方能有效保护CRF大鼠肾功能, 且疗效优于西药依那普利, 可能与其降低CRF大鼠血ET水平, 减轻受损肾脏的病理改变等有关。

**[关键词]** 益肾泻浊化瘀方; 慢性肾功能衰竭; 实验研究

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)01-0095-04

## The Experimental Study of Yishen Xiezhuo Huayu Decoction on Chronic Renal Failure in Model Rats

HUANG Fang\*, ZHANG Xiao-lu, TAO Ming-long

(Yueyang Hospital of Integrative Chinese and Western Medicine Affiliated to  
Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of Yishen Xiezhuo Huayu Decoction on chronic renal failure (CRF) in model rats and explore its action mechanism. **Methods:** Rats were randomly divided into the traditional Chinese medicine (TCM) Yishen Xiezhuo Huayu Decoction group, the Western medicine enalapril maleate group, the model group and the sham group. The CRF model was induced by 5/6 subtotal nephrectomy in rats. The blood levels of urea nitrogen (BUN), creatinine (Cre), nitric oxide (NO), endothelin (ET), calcitonin gene-related peptide (CGRP) and pathological changes of residual kidney were detected. **Results:** Following treatment, the blood levels of BUN and Ser of both the TCM group and the Western medicine group significantly declined compared with those of the model group ( $P < 0.01$ ); moreover, the decline in the TCM group was more remarkable than in the western medicine group ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham group, the blood levels of ET and CGRP of the model group significantly rose ( $P < 0.01$ ). Both the drugs studied could effectively lower the blood level of ET and the decreasing extents were significant in both the TCM group ( $P < 0.01$ ) and the Western medicine group ( $P < 0.05$ ) when compared with the model group. The blood level of CGRP of the TCM group also declined ( $P <$

0.05)。There were no significant differences in the blood level of NO of each group. The most severe pathologic changes in renal tissue were observed in the model group and Yishen Xiezhuo Huayu Decoction could alleviate the changes more effectively than enalapril maleate. **Conclusion:** Yishen Xiezhuo Huayu Decoction can protect renal functions of CRF rats more effectively than enalapril maleate. The action mechanism of the TCM might include the down-regulation of the blood ET level, and the alleviation of pathologic changes of renal tissues.

**[Key words]** Yishen Xiezhuo Huayu Decoction; Chronic renal failure; experimental study

慢性肾功能衰竭(CRF)是由多种疾病引起的临床综合征,其最终病理表现为肾间质纤维化,肾小球硬化,肾小管萎缩,本病临床症状复杂,预后不良,严重危害人类健康。益肾泻浊化瘀方为我科治疗 CRF 的经验方,本文旨在通过研究该方治疗 CRF 大鼠,观察其疗效,探讨其延缓肾功能恶化的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 成年雄性 Wistar 大白鼠 36 只,体重 200~220 g,购自中科院实验动物中心。

**1.2 主要试剂及药物** 降钙素基因相关肽(CGRP)、内皮素(ET)放免药盒购自解放军总医院科技开发中心放免所;一氧化氮(NO)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。益肾泻浊化瘀方组方:太子参、丹参、黄芪各 30 g,制大黄、葛根各 20 g,仙灵脾、杜仲、牛膝、赤芍、川芎、当归、六月雪各 15 g,红花 10 g。由我院制剂科制备:取处方饮片用量,分别加水 10 倍量和 8 倍量,煎煮 2 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,浓缩,静置过夜,滤取上清液,浓缩至 1:6 (所含生药量为  $6 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。

## 2 方法

**2.1 造模与分组** 术前将 36 只大鼠随机分成 2 组,造模组 27 只,假手术组 9 只。以 5/6 肾大部切除术制备肾衰动物模型。第 1 次切除左肾的 2/3,后予高蛋白饲料饲养,1 周后切除全部右肾。假手术组在同期手术时轻轻挤压两肾后复位,缝合伤口。第 2 次术后 2 周自目内眦采血,根据血尿素氮(BUN)、血肌酐(Cre)将造模组 27 只大鼠分成 3 组:中药组 9 只,西药组 9 只,模型组 9 只,组间差异无显著性。

**2.2 给药方法** 术后 2 周开始给药,给药量以 60 kg 成人药量的 20 倍计算,中药组予益肾泻浊化瘀方(所含生药量为  $6 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,给药量为  $13.61 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $81.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),西药组予依那普利(以

$0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶于蒸馏水中,给药量为  $13.33 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $3.33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),假手术组及模型组给予与中药组等量的生理盐水,每日 ig 2 次,共 6 周。

## 2.3 标本收集及观测指标

**2.3.1 全部动物**在给药 6 周后自后腔静脉采血,其中 3 mL 普通离心后取血清测 BUN、Cre;用硝酸还原酶法测 NO;另 3 mL 注入含 10%EDTA 二钠 30  $\mu\text{L}$  和抑肽酶 40  $\mu\text{L}$  的试管中,混匀、离心后用放射免疫分析法测定 ET、CGRP 水平。

**2.3.2 将大鼠残余肾脏**取出固定,常规制片,HE 染色后在光镜下观察。参照 Purkeison<sup>[1]</sup>等对肾小球病变进行组织学分级的方法进行观测:0 级:无任何变化;I 级:系膜基质增多伴轻度系膜细胞增生;II 级:系膜区扩大明显伴血管襻节段性硬化和塌陷;III 级:血管节段性硬化伴血管襻明显塌陷;IV 级:肾小球硬化伴透明变。每个肾脏取 5 张切片,每张切片连续观察 25 个肾小球,并分别归入上述 5 个等级,然后计算出每组大鼠上述各等级肾小球所占百分比。

**2.3.3 统计学处理** 采用 SPSS 11.0 软件进行统计,数据以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,以 *t* 检验、*q* 检验进行统计分析, $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 3 结果

**3.1 各组治疗前后 BUN, Cre 的比较** 结果见表 1。治疗前 3 个造模组与假手术组 BUN, Cre 存在显著差异( $P < 0.001$ ),3 个造模组两两之间 BUN, Cre 比较无差别。实验结束时模型组肾功能进一步减退( $P < 0.05$ ),中药组、西药组 BUN, Cre 均有大幅度下降( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),较模型组明显降低( $P < 0.01$ ),且中药组 Cre 降低幅度大于西药组( $P < 0.05$ )。

**3.2 治疗后各组大鼠血 ET, CGRP, NO 水平的比较** 结果见表 2。模型组血 ET, CGRP 水平显著升高( $P < 0.01$ ),中药组、西药组 ET 水平较模型组下

降分别有极显著性差异( $P < 0.01$ )和显著性差异( $P < 0.05$ ),中药组血 CGRP 含量下降( $P < 0.05$ ),中药组和西药组血 ET, CGRP 相互之间差异无显著性。各组血 NO 水平差异无显著性。

### 3.3 各组大鼠肾组织病理改变等级比较 结果见

表 1 各组治疗前后 BUN, Cre 的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $g \cdot kg^{-1}$ )	治疗前			治疗后		
		n	BUN( $mmol \cdot L^{-1}$ )	Cre( $\mu mol \cdot L^{-1}$ )	n	BUN( $mmol \cdot L^{-1}$ )	Cre( $\mu mol \cdot L^{-1}$ )
假手术组	—	9	10.00 $\pm$ 1.13	31.78 $\pm$ 4.12	9	8.76 $\pm$ 2.13 <sup>3,5)</sup>	28.78 $\pm$ 1.72 <sup>3,5)</sup>
模型组	—	9	23.00 $\pm$ 1.12	104.89 $\pm$ 15.33	9	25.93 $\pm$ 3.00 <sup>1,5)</sup>	119.22 $\pm$ 10.60 <sup>1,5)</sup>
中药组	81.66	9	23.27 $\pm$ 1.26	104.89 $\pm$ 13.24	8	17.46 $\pm$ 2.61 <sup>2,3)</sup>	64.25 $\pm$ 9.66 <sup>2,3)</sup>
西药组	3.33 $\times 10^{-3}$	9	23.38 $\pm$ 1.27	104.78 $\pm$ 20.01	9	19.77 $\pm$ 2.17 <sup>2,3)</sup>	84.67 $\pm$ 19.99 <sup>1,3,4)</sup>

注:与治疗前比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P < 0.01$ ;与中药组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>5)</sup> $P < 0.01$

表 2 各组大鼠血 ET, CGRP, NO 水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量( $g \cdot kg^{-1}$ )	n	ET( $pg \cdot mL^{-1}$ )	CGRP( $pg \cdot mL^{-1}$ )	NO( $\mu mol \cdot L^{-1}$ )
假手术组	—	9	130.23 $\pm$ 20.45 <sup>2)</sup>	52.35 $\pm$ 6.33 <sup>2)</sup>	18.13 $\pm$ 3.49
模型组	—	9	182.32 $\pm$ 16.55	66.60 $\pm$ 5.51	21.33 $\pm$ 3.49
中药组	81.66	8	145.89 $\pm$ 12.49 <sup>2)</sup>	57.42 $\pm$ 7.30 <sup>1)</sup>	18.96 $\pm$ 5.00
西药组	3.33 $\times 10^{-3}$	9	155.92 $\pm$ 31.08 <sup>1)</sup>	65.63 $\pm$ 14.60	19.45 $\pm$ 3.28

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (下同)

表 3 各组大鼠肾组织病理改变等级比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	剂量( $g \cdot kg^{-1}$ )	n	0 级	I 级	II 级	III 级	IV 级
假手术组	—	9	91.02 $\pm$ 4.06 <sup>2,4)</sup>	8.98 $\pm$ 4.06 <sup>2,4)</sup>	0 <sup>2)</sup>	0 <sup>2)</sup>	0 <sup>2)</sup>
模型组	—	9	8.98 $\pm$ 3.48 <sup>4)</sup>	44.09 $\pm$ 10.15 <sup>4)</sup>	26.40 $\pm$ 8.62 <sup>4)</sup>	13.16 $\pm$ 5.16 <sup>4)</sup>	7.38 $\pm$ 1.73 <sup>4)</sup>
中药组	81.66	8	19.70 $\pm$ 3.47 <sup>2)</sup>	77.30 $\pm$ 4.14 <sup>2)</sup>	3.00 $\pm$ 3.39 <sup>2)</sup>	0 <sup>2)</sup>	0 <sup>2)</sup>
西药组	3.33 $\times 10^{-3}$	9	13.69 $\pm$ 6.07 <sup>1,4)</sup>	69.42 $\pm$ 19.30 <sup>2)</sup>	8.44 $\pm$ 10.26 <sup>2)</sup>	4.98 $\pm$ 7.84 <sup>1,3)</sup>	3.47 $\pm$ 7.11 <sup>1)</sup>

注:与中药组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.01$

## 4 讨论

根据我们临床观察,CRF 患者以脾肾气虚兼夹湿瘀互结多见,依其病机症结所在,益肾泻浊化瘀方选用太子参、黄芪、当归健脾益气养血;仙灵脾、杜仲、牛膝补肾强腰,治病求本;葛根、川芎、当归、赤芍、丹参、红花、大黄、牛膝养血活血,祛瘀生新,改善肾脏微循环;六月雪、大黄清热解毒泻湿浊,可见本方标本兼顾,祛邪不伤正,保肾不留邪。

本实验显示,CRF 大鼠经益肾泻浊化瘀方治疗后肾功能显著改善,且疗效优于西药依那普利组,残肾病理改变程度明显减轻,未见病变严重的肾小球,正常肾小球所占百分比西药组大。有研究表明,在肾小管和肾间质的损伤过程中,ET 的表达部位、表达水平与病理损伤程度、部位一致<sup>[2]</sup>。本实验中,模型组大鼠血 ET 水平显著升高,益肾泻浊化瘀方

表 3。模型组肾组织的病理改变最严重,各等级病变较中药组有极显著性差异( $P < 0.01$ )。中药组肾组织病变较西药组轻,未见病变严重的 III 级( $P < 0.05$ )、IV 级。

治疗后,ET 明显下降,说明该方可能通过降低 CRF 大鼠血 ET 浓度,调整肾血流动力学,减少细胞外基质合成和系膜细胞增生,阻止肾间质纤维化,肾小球硬化,从而延缓了肾功能恶化的进程。

CGRP 是体内较强的舒血管神经多肽,肾脏是清除 CGRP 的主要场所,也是 CGRP 的靶器官之一,肾血管床存在丰富的 CGRP 受体。本研究发模型组大鼠血 CGRP 明显升高,推测其原因可能是,肾组织缺血、缺氧、肾间质纤维化、肾小球硬化及其它血管活性物质,如 ET 等变化刺激 CGRP 的释放;肾功能受损,滤过率下降,CGRP 排泄减少。经益肾泻浊化瘀方治疗后,肾功能改善,肾小球滤过率增加,血 ET 水平下降及其他诱因作用减弱,使 CGRP 合成及释放减少,排泄增加,CGRP 浓度呈下降趋势。