

## 坚肾合剂对 Adenine 所致 CRF 大鼠血 NO、NOS 及 TNF- $\alpha$ 的影响\*

刘毅<sup>1</sup>, 马威<sup>2</sup>, 吴文莉<sup>2</sup>, 管竞环<sup>1</sup>

(1 武汉市第一医院肾病内科, 武汉 430022;

2 武汉市中西医结合医院中西医结合研究所, 武汉 430022)

**摘要:** 探讨腺嘌呤致大鼠慢性肾衰模型中血 NO、NOS 及 TNF- $\alpha$  变化及坚肾合剂的治疗作用。结果: 坚肾合剂可显著降低 CRF 大鼠 24h 尿蛋白, 改善肾功能作用接近尿毒清; 在升高 NO、降低 TNF- $\alpha$  方面, 坚肾合剂明显优于尿毒清。

**关键词:** 慢性肾功能衰竭; 一氧化氮; 肿瘤坏死因子; 坚肾合剂

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2000)01-0028-03

### The Levels of NO, NOS and TNF- $\alpha$ in Blood of CRF Rats Induced by Adenine after Treated by Jianshen Mixture

LIU Yi<sup>1</sup>, MA Wei<sup>2</sup>, WU Wen-li<sup>2</sup>, GUAN Jing-huan<sup>1</sup>

(1 Department of Renal Internal Medicine, Wuhan Hospital No. 1, Wuhan 430022;

2 Institution of Integrating of TCM with WM, Wuhan Hospital of Integrating of TCM with WM)

**Abstract:** The levels of NO, NOS and TNF- $\alpha$  of blood were investigated in CRF rats after treatment with Jianshen mixture. The result showed that Jianshen mixture could obviously decrease the content of urinary proteins within 24h in CRF rats, and improve renal function. The effect was closed to Niaoduqing. Jianshen mixture was better than Niaoduqing in increasing of NO and decreasing of TNF- $\alpha$  concentrations in CRF rat's blood.

**Key words:** chronic renal failure, nitric oxide, tumor necrosis factor-alpha, Jianshen mixture

近年来许多学者研究一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)及肿瘤坏死因子(TNF)时发现其在肾脏病的病理生理中起着重要作用,慢性肾衰(CRF)时,体内NO及TNF代谢异常而造成病情加重或反复。本实验观察了坚肾合剂对CRF大鼠血NO、NOS、TNF- $\alpha$ 及肾功能等的影响,以探讨CRF时体内NO、NOS及TNF- $\alpha$ 水平的变化及坚肾合剂的作用机制。

### 1 材料和方法

**1.1 动物** 健康雄性 Wistar 大鼠 66 只,体重 180~210g,购自同济医科大学实验动物

中心,饲料亦为该中心提供。

**1.2 试剂及药物** ①腺嘌呤(Adenine): C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>, FW: 135.13,中国生化学会上海佰奥生物科技有限公司提供,日本进口分装,批号:98022,临用前将其加入自来水中配制成 250mg/ml 的混悬液。②尿毒清颗粒剂:广州康臣制药厂产,批号(1997)卫药准字 2-024 号,用前将尿毒清颗粒溶于自来水中配成 20% 溶液(浓度为 0.2g/ml)。③坚肾合剂由黄芪、党参、白术、茯苓皮、川厚朴、桑椹子、熟地、泽兰、鸡血藤、生大黄等 15 味中药组成,经武汉市第一医院药房配制(浓度为

\* 基金项目:武汉市科委资助课题部分(鄂卫 1997(229)号)

1.473g/ml)。④TNF- $\alpha$ 、NO、NOS试剂盒由北京东亚免疫研究所提供,批号:981226。

**1.3 分组** 随机分6组( $n=11$ ),正常1,2组;病理1,2组;尿毒清组;坚肾合剂组。

**1.4 造模及给药** 动物购回自由进食水5d后开始造模,除正常组外,其它组按250mg/kg/d腺嘌呤灌胃21d,造模过程中除正常组外,病理1组死亡2只,剩余各组各死亡1只。21d后处死正常2组和病理2组做相关检查。第22d起对剩余组按以下方法实验:正常1组自由进食水;病理1组2ml自来水灌胃;尿毒清组2ml尿毒清液灌胃;坚肾合剂组2ml坚肾合剂灌胃,以上各组再喂养30d(大鼠的坚肾合剂和尿毒清用量按常人日用量以体重比折算)。

**1.5 标本采集** 实验第21、52d大鼠用戊巴比妥钠(50mg/kg)腹腔注射麻醉,直视下心脏采血分离血清;实验第21d收集正常2组、病理2组,第52d收集剩余各组大鼠24h尿(用代谢笼)。

**1.6 观察指标** 一般情况(摄食、二便、毛发、反应等);尿蛋白;肾功能;肾重和体重;血NO、NOS(比色法);TNF- $\alpha$ (放免法)。

**1.7 统计方法** 实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间差异用 $t$ 检验。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 大鼠喂腺嘌呤后日益消瘦,一周后消瘦明显,10d后体重逐渐回升,但多饮多尿,精神萎靡,活动力下降,畏寒倦缩,体毛逐渐干枯脱落,摄食减少;第13d起相继有大鼠死亡,死前均有肌肉震颤、抽搐等。正常组大鼠摄食正常,精神活动如常,体重增加。

**2.2 第21d病理2组体重**(200 $\pm$ 17)g,正常2组(272 $\pm$ 39)g,两组体重有显著性差异。

**2.3 第21d病理2组与正常2组大鼠24h尿蛋白、肾功能比较** (表1)病理2组尿蛋白、BUN、Scr明显升高,与正常2组相比有显著差异。

表1 第21d病理2组与正常2组24h尿蛋白、肾功能比较( $\bar{x} \pm s$ )

$n$	24h尿蛋白 (mg)	BUN (mmol/L)	Scr ( $\mu$ mol/L)
正常2组 11	16.8 $\pm$ 4.6	7.83 $\pm$ 1.33	61.23 $\pm$ 5.54
病理2组 10	51.3 $\pm$ 15.1**	43.50 $\pm$ 17.99**	218.53 $\pm$ 35.32**

与正常2组比\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,表2同

**2.4 第21d病理2组与正常2组血TNF- $\alpha$ 、NO、NOS比较** (表2)病理2组NO、NOS明显降低,TNF- $\alpha$ 显著升高,与正常组相比有显著差异。

表2 第21d病理2组与正常2组血NO、NOS及TNF- $\alpha$ 比较( $\bar{x} \pm s$ )

$n$	TNF- $\alpha$ (ng/L)	NO(ml/L)	NOS(U/L)
正常2组 11	2.96 $\pm$ 1.20	131.4 $\pm$ 15.4	17.5 $\pm$ 1.4
病理2组 10	8.40 $\pm$ 1.26**	46.4 $\pm$ 17.3**	11.4 $\pm$ 5.1*

**2.5 第52d各组大鼠双肾重、体重、体重/肾重比较** (表3)与病理1组相比,治疗组双肾重、肾长径降低,体重、体重/肾重明显升高;坚肾合剂、尿毒清组间无显著差异。

表3 第52d各组大鼠双肾重、体重、体重/肾重比较

$n$	双肾重(g)	体重(g)	体重/肾重	肾长径(cm)
正常1组 11	2.7 $\pm$ 0.4**	399.2 $\pm$ 34.0**	147.3 $\pm$ 14.9*	1.3 $\pm$ 0.1**
病理1组 9	6.2 $\pm$ 1.7	286.6 $\pm$ 53.4	50.9 $\pm$ 11.8	2.6 $\pm$ 0.4
尿毒清组 10	5.3 $\pm$ 1.0	328.4 $\pm$ 54.1	62.8 $\pm$ 9.4*	2.1 $\pm$ 0.2*
坚肾组 10	5.0 $\pm$ 1.0*	326.6 $\pm$ 31.9*	67.5 $\pm$ 10.5*	2.2 $\pm$ 0.3*

与病理1组比\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,以下表同

**2.6 第52d各组大鼠尿蛋白、肾功能比较** (表4)病理1组BUN、Scr、尿蛋白较正常组明显升高;坚肾合剂、尿毒清组3项指标也升高,但升高的程度明显低于病理1组;坚肾合剂、尿毒清组间无显著差异。

表4 第52d各组24h尿蛋白、肾功能比较

$n$	24h尿蛋白 (mg)	BUN (mmol/L)	Scr ( $\mu$ mol/L)
正常1组 11	17.6 $\pm$ 4.9**	9.22 $\pm$ 0.82**	71.87 $\pm$ 6.19**
病理1组 9	58.8 $\pm$ 15.1	37.97 $\pm$ 13.12	189.94 $\pm$ 54.68
尿毒清组 10	39.5 $\pm$ 17.9*	18.16 $\pm$ 5.16**	99.87 $\pm$ 28.05**
坚肾组 10	34.8 $\pm$ 12.4*	17.84 $\pm$ 6.56**	101.43 $\pm$ 25.46**

2.7 第 52d 各组大鼠血 NO、NOS 及 TNF- $\alpha$  比较 (表 5) 与病理 1 组相比, 两治疗组血 NO、NOS 明显升高, 坚肾合剂 TNF- $\alpha$  明显降低, 尿毒清 TNF- $\alpha$  改善不明显; 与正常 1 组比, 病理 1 组 NO、NOS 明显下降, TNF- $\alpha$  升高, 两治疗组 NOS 间无明显差异。

表 5 第 52d 各组大鼠血 NO、NOS 及 TNF- $\alpha$  比较

	<i>n</i>	TNF- $\alpha$ (ng/L)	NO(ml/L)	NOS(U/L)
正常 1 组	11	3.27 $\pm$ 1.03*	144.4 $\pm$ 8.1**	14.5 $\pm$ 0.9*
病理 1 组	9	7.91 $\pm$ 0.67	67.5 $\pm$ 17.4	9.1 $\pm$ 2.5
尿毒清组	10	6.03 $\pm$ 1.78	93.2 $\pm$ 10.2	16.4 $\pm$ 3.8**
坚肾组	10	4.97 $\pm$ 2.27	120.0 $\pm$ 28.7**#	13.9 $\pm$ 3.0**

与尿毒清组比#  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

本实验以腺嘌呤混悬液灌胃造模<sup>[1]</sup>, 第 21d 造模大鼠肾功能严重受损, 出现大量蛋白尿, BUN、Scr 升高已达到尿毒症水平。

研究表明 NO 可介导肾血管舒张, 抑制肾小球硬化, 对肾脏有明显保护作用<sup>[2~4]</sup>; CRF 时出现 NO、NOS 水平降低而继发高血压、免疫功能受损、神经系统等病变<sup>[3,5]</sup>。TNF- $\alpha$  在组织损伤尤其在肾小球损伤及基质增生等方面有相当密切的关系<sup>[6]</sup>。

坚肾合剂是我科治疗 CRF 的经验方, 针对 CRF 脾肾气(阳)亏损、湿浊毒瘀壅塞三焦而设<sup>[7~9]</sup>。实验表明坚肾合剂可降低 CRF 大鼠血 TNF- $\alpha$ , 升高血 NO、NOS; 减少尿蛋

白, 改善肾功能, 其恢复 CRF 大鼠血 NO、NOS 及 TNF- $\alpha$  至正常水平可能是治疗 CRF 的机制之一。

#### 参考文献:

- [1] 周小舟, 张盛光, 阳晓, 等. 腺嘌呤所致 CRF 大鼠的机理研究[J]. 基础医学与临床, 1997, 17(1): 54~57
- [2] 王东红. 一氧化氮与肾小球硬化[J]. 国外医学·泌尿系统分册, 1998, 18(1): 6~8
- [3] 阳晓. 一氧化氮与慢性肾功能衰竭[J]. 国外医学·泌尿系统分册, 1996, 16(5): 220
- [4] Ketteler M, Border WA, Noble NA. Cytokines and L-arginine in renal injury and repair[M]. Am J Physiol, 1994, 267(Renal Fluid Electrolyte Physiol 36): F197, F331, F296, F509, F697
- [5] Jansen A, Lewis S, Catlell, et al. Arginase is a major pathway of L-arginine metabolism in nephritic glomeruli[J]. Kidney Int, 1995, 47: 500
- [6] 陈慧勇, 吴兆龙. 正常肾脏中 NO 生物合成和稳定内环境的作用[J]. 国外医学·泌尿系统分册, 1998, 18(1): 1~3
- [7] 徐嵩年. 肾与膀胱证治[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 150~160
- [8] 史宇广, 单书健. 当代名医临证精华·肾炎尿毒症专辑[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1988. 264
- [9] 张镜人. 慢性肾功能不全证治探讨[J]. 上海中医药杂志, 1982(2): 1

(收稿日期: 1999-05-17)