

[文章编号] 1000-2200(2008)04-0397-03

· 基础医学 ·

调气活血补肾汤对慢性肾功能不全大鼠的影响

马文波¹, 郝新春², 王建一¹, 杨书文³

[摘要] 目的: 观察调气活血补肾汤对慢性肾功能不全(CRF)大鼠肾组织匀浆 NO 及脂质过氧化的影响。方法: Wistar 大鼠在乙醚麻醉下, 切除 5/6 肾脏制备慢性肾功能不全模型。5 周后, 按小剂量(生药 13.9 g/kg)、大剂量(生药 27.8 g/kg)给模型大鼠灌胃给药, 连续 10 周, 于给药 4 周、10 周后分两批处死大鼠, 制备肾组织匀浆, 测定 NO、一氧化氮合酶(NOS)及超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量。结果: 成功复制大鼠 CRF 模型。CRF 大鼠肾匀浆 NO 和 NOS 活性呈明显的早期升高、晚期下降趋势; 使用调气活血补肾汤治疗 4 周时显著抑制 NO 和 NOS 活性过分明显升高, 10 周时显著抑制 NO 和 NOS 活性过分持续降低。随病程延长 CRF 大鼠肾组织 SOD 活性呈逐渐下降, MDA 呈逐渐升高的趋势; 调气活血补肾汤治疗后肾组织 SOD 活性明显增强, 10 周时显著下降, MDA 则呈下降趋势; 以上作用大剂量药物组均优于小剂量组。结论: 调气活血补肾汤能改善和调节肾组织 NO 合成与释放、降低自由基损伤。

[关键词] 肾功能不全, 慢性; 调气活血补肾汤; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 大鼠

[中国图书资料分类法分类号] R 692.5 **[文献标识码]** A

Effect of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction on experimental renal injury in rats

MA Wen-bo¹, GAO Xin-chun², WANG Jian-yi¹, YANG Shu-wen³

(1. Department of Urology Surgery, The First Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou Hebei 075000;

2. First Affiliated Hospital, Hebei North University, Zhangjiakou Hebei 075000;

3. Second Affiliated Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang Hebei 050061, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction on the nitric oxide(NO) and lipid overoxidation of renal homogenate in rats with chronic renal failure(CRF). **Methods:** The Wistar rats were resected five sixths of the kidney under anesthetization by ether to make animal models of chronic renal failure. After 5 weeks, the CRF rats were administered 13.9 g/kg BW and 27.8 g/kg BW for 10 weeks. All the rats were killed after 4 and 10 weeks, and the renal homogenate was made. The relevant indexes such as NO, nitric oxide synthase(NOS), superoxide dismutase(SOD) and malondialdehyde(MDA) were measured in the renal homogenate. **Results:** The model of CRF rats was successfully established. The activity of NO and NOS in the renal homogenate of CRF rats rose obviously at the early stage and descended at the later period. The over-rise and persistent decrease of the activity of NO and NOS were obviously inhibited after the administration of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction for 4 weeks and 10 weeks, respectively. With the prolonging of the disease, the SOD activity in the nephridial tissue of the CRF rats kept decreasing, and the content of MDA kept decreasing. After the therapy of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction, the SOD activity and the content of MDA in the nephridial tissue of the CRF rats improved significantly. The effect was more obvious in the group treated with a large dose than in that receiving a small dose. **Conclusions:** The results demonstrate that Tiaoqi Huoxue Bushen decoction can improve and adjust the synthesis of NO, and decrease the free radical injury as well.

[Key words] renal failure, chronic; Tiaoqi Huoxue Bushen decoction; nitric oxide; nitric oxide synthase; superoxide dismutase; malondialdehyde; rats

[收稿日期] 2008-01-04

[作者单位] 1. 河北省张家口市第一医院 泌尿外科, 075000; 2. 河北北方学院 附属第一医院, 河北 张家口 075000; 3. 河北医科大学附属第二医院, 河北 石家庄 050061

[作者简介] 马文波(1973-), 男, 主治医师。

慢性肾功能衰竭(chronic renal failure, CRF)是临床常见疾病, 多种原因导致的肾单位进行性破坏均可引起内环境紊乱, 如何延长健存肾单位的结构与功能, 成为临床治疗的重点。研究表明, 在肾功能

[参 考 文 献]

- [1] 郑庆荣, 康冀川. 蚕蛹虫草人工培育及药理作用研究进展[J]. 贵州大学学报·自然科学版, 2006, 23(1): 73-76.
- [2] 梁宗琦. 蛹虫草无性型-蛹虫草拟青霉的确定[J]. 食用菌学报, 2001, 8(4): 28-32.
- [3] Liu ZX. Cultivation and the infectious ways to silkworm chrysalis with liquid spawn of *Cordyceps militaris*[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(1): 58-60.
- [4] 纪朋艳, 罗 速, 崔新颖, 等. 中药蛹虫草的抗肿瘤活性及机制研究[J]. 北华大学学报·自然科学版, 2005, 6(4): 324-329.
- [5] 潘中华, 贡成良, 钱 敏. 家蚕蛹虫草多糖的提取及纯化工艺研究[J]. 中国蚕业, 2001, 23(4): 20-21.
- [6] 柴建萍, 白兴荣, 谢道燕. 蛹虫草主要有效成分及其药理功效[J]. 云南农业科技, 2003, (4): 22-23.
- [7] 黄清荣, 姜 华, 钟旭生, 等. 不同浓度葡萄糖、酵母粉对大球盖菇深层培养的影响[J]. 食用菌, 2005, 27(4): 13-15.
- [8] 肖建辉, 刘金伟, 刘祖林, 等. 江西虫草液体深层培养条件优化[J]. 食用菌学报, 2004, 11(1): 26-31.

衰竭发生过程中,存在明显的一氧化氮代谢和脂质过氧化作用异常^[1]。本研究复制慢性肾功能衰竭大鼠模型,应用调气活血补肾汤治疗,旨在进一步探讨其作用机制,为中药治疗慢性肾功能衰竭提供理论依据。

1 材料与方

1.1 实验动物 健康 Wistar 大鼠 64 只,雌雄并用,体重 150 ~ 175 g,由河北医科大学实验动物中心提供。

1.2 药物 生芪 15 g,广木春 10 g,白草根 30 g,当归 15 g,半枝莲 30 g,炒白芍 20 g,川嗉 10 g,鸡血藤 30 g,猪苓 30 g,云苓 15 g,土白术 10 g,桂枝 10 g,由河北省张家口第一医院制剂室提供。每毫升药液含生药 2.47 g。

1.3 动物模型制作^[1,2] 在大鼠背部肾位置剪毛后,固定。乙醚麻醉下,在左肾背部肾位置切口(正常组只作切口,不切除肾脏),充分暴露肾脏后,剥离肾包膜,迅速切除上、下和中间肾皮质部,切口呈“一”形,以明胶海绵止血,复位缝合。术后 1 周按上述同样方法摘除右肾。与第一次手术后 5 周分别按剂量给药,连续 10 周,进行有关实验。

1.4 方法 大鼠随机分为对照组、模型组、大剂量组与小剂量组,每组 16 只。按小剂量(生药 13.9 g/kg)、大剂量(生药 27.8 g/kg)给模型大鼠调气活血补肾汤灌胃,每天 1 次,连续 10 周。正常对照组、模型对照组给予蒸馏水,连续 10 周。在给药后 4 周、10 周后平均分二批处死动物,取出肾脏进行匀浆,测定有关指标,同时于第 4 周所有动物断尾取静脉血,制备血清,观察肾功能。

1.5 肾功能指标检测 应用全自动生化分析仪检测血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr),作为反映肾功能的指标。

1.6 肾组织匀浆各项指标测定方法 NO 含量采用硝酸还原酶法测定;一氧化氮合酶(NOS)活性采用化学比色法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用黄嘌呤氧化酶法测定;丙二醛(MDA)含量采用改良硫代巴比妥酸(TBA)法测定。试剂盒购自南京建成生物工程研究所,严格按照试剂盒说明书要求进行操作。组织匀浆总蛋白(TP)以双缩脲法定量测定。

1.7 统计学方法 采用方差分析、*q* 检验及 *t* 检验。

2 结果

2.1 调气活血补肾汤对 CRF 大鼠肾功能的影响 经调气活血补肾汤治疗后,大剂量组与小剂量组血

清 BUN、Cr 含量均高于模型组和对照组 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$);而模型组血清 BUN、Cr 含量均显著高于对照组 ($P < 0.01$) (见表 1)。

表 1 调气活血补肾汤对 CRF 大鼠血清 BUN、Cr 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN (mmol/L)	Cr (μ mol/L)
对照组	16	8.01 \pm 0.51	45.34 \pm 11.51
模型组	16	12.42 \pm 0.73 **	85.76 \pm 12.33 **
小剂量组	16	11.75 \pm 0.89 Δ *	70.41 \pm 11.19 Δ Δ *
大剂量组	16	10.53 \pm 0.68 Δ Δ *	69.30 \pm 10.49 Δ Δ *
F	—	117.99	34.31
P	—	< 0.01	< 0.01
MS _{组内}	—	0.512	129.941

q 检验:与模型组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与对照组比较 * $P < 0.01$

2.2 调气活血补肾汤对不同病程 CRF 大鼠肾组织匀浆 NO 和 NOS 活性的影响 模型组肾组织匀浆 NO 和 NOS 活性呈明显早期增高、后期下降的趋势,10 周与 4 周或同期正常对照组差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。调气活血补肾汤大、小剂量组在 4 周时可抑制模型组肾组织 NO 升高,降低 NOS 活性 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。10 周时调气活血补肾汤大、小剂量组 NO、NOS 活性降低不显著,调气活血补肾汤的上述作用大剂量组优于小剂量组 (见表 2)。

表 2 调气活血补肾汤对不同病程 CRF 大鼠肾组织匀浆 NO 和 NOS 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	4 周			10 周		
	n	NO (μ mol/g)	NOS (U/g)	n	NO (μ mol/g)	NOS (U/g)
对照组	8	2.09 \pm 0.64 *	5.40 \pm 0.67 **	8	2.26 \pm 0.67 **	5.47 \pm 0.79 **
模型组	8	3.62 \pm 0.80	7.79 \pm 1.22	8	1.01 \pm 0.23 **	3.61 \pm 0.79 **
大剂量组	8	2.45 \pm 0.77 *	5.97 \pm 0.89 **	7	1.93 \pm 0.69 *	5.04 \pm 0.84 **
小剂量组	8	2.75 \pm 0.75 **	6.71 \pm 0.94 * Δ	7	1.68 \pm 0.67 **	4.71 \pm 0.66 **
F	—	6.19	9.43	—	6.39	8.37 **
P	—	< 0.01	< 0.01	—	< 0.01	< 0.01
MS _{组内}	—	0.551	0.903	—	0.349	0.600

q 检验:与同期模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与同期对照组比较 $\Delta P < 0.01$;与同组 4 周时比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.3 调气活血补肾汤对不同病程大鼠肾组织匀浆 SOD 活性和 MDA 含量的影响 随病程的延长,模型组大鼠肾组织 SOD 活性均呈下降趋势,MDA 均呈上升趋势,10 周时其升降幅度较 4 周时明显。调气活血补肾汤能使 CRF 大鼠肾组织 SOD 活性明显增强,MDA 明显下降,随用药时间延长,其作用减弱,10 周时 SOD 活性低于 4 周,MDA 含量高于 4 周。调气活血补肾汤的上述作用大剂量组优于小剂

量组(见表 3)。

表 3 调气活血补肾汤对不同病程 CRF 大鼠肾组织匀浆 SOD 活性和 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	4 周			10 周		
	n	SOD(kU/g)	MDA($\mu\text{mol/g}$)	n	SOD(kU/g)	MDA($\mu\text{mol/g}$)
对照组	8	37.38 \pm 6.56	2.54 \pm 0.47**	8	36.42 \pm 6.60*	2.83 \pm 0.44**
模型组	8	33.59 \pm 4.50	3.94 \pm 0.58	8	28.61 \pm 4.51	5.07 \pm 0.69*
大剂量组	8	52.90 \pm 7.14 $\Delta\Delta$	2.87 \pm 0.49**	7	40.94 \pm 6.87**	3.16 \pm 0.52**
小剂量组	8	43.74 \pm 7.24*	3.07 \pm 0.53**	7	34.67 \pm 4.55*	3.45 \pm 0.50**
F	—	13.69	10.61	—	5.99	26.04
P	—	<0.01	<0.01	—	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	41.670	0.270	—	32.873	0.300

q 检验:与同期模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与同期对照组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$;与同组 4 周时比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3 讨论

由于慢性肾衰竭导致的内环境紊乱,严重威胁患者的生活质量。为此本研究复制大鼠 CRF 模型,并应用中药复方进行干预治疗,旨在从健存肾单位保护的角度探讨中药对 CRF 的治疗作用,为 CRF 的防治提供实验依据。5/6 肾切除是 CRF 动物模型的常用制备方法^[2,3],模型复制过程符合临床肾单位丢失的病理过程,因此符合临床实践。

应用调气活血补肾汤治疗后 4 周,从反映肾功能的生化指标显示,调气活血补肾汤可有效改善肾功能。NO 是一种重要的免疫和炎性介质,具有舒张血管、松弛血管平滑肌和抑制内皮细胞增殖等多种生理功能,与 CRF 发生、发展有密切关系^[1]。研究显示,NO 的异常升高或降低均会对组织或重要器官造成严重损害,使病情加重或恶化^[4]。同时,CRF 的发生、发展与自由基的关系密切,CRF 患者体内既有自由基生成增多,又有自由基清除障碍^[5]。CRF 初期,血管内皮细胞、血小板功能发生变化,血流改变,血管通透性增加,SOD 水平下降,自由基的大量产生或灭活障碍可导致 CRF 的 NO、NOS 活性升高^[6];还可直接损害血管内皮细胞,使其对 NO 敏感性降低,或对儿茶酚胺敏感性升高,血管内皮细胞大量合成、释放 NO,内源性 NO 的超量合成亦可导致 CRF 早期血清和组织的 NO 和 NOS 活性升高^[7]。高水平的 NO 可损伤线粒体、含铁硫蛋白酶和 DNA,导致细胞死亡;还通过细胞毒与细胞抑制作用参与 CRF 并发症的操作机制,如肾小球高滤过状态、血流加快、血管通透性增高、肾小管和血管内膜损伤。同时,NO 增多参与早期 CRF 肾小

球高滤过的病理过程^[8],其机制可能是血管应力增高,缩血管物质生成增多,刺激 NO 生成增多^[9]。而在肾脏局部,肾小球入球小动脉较出球小动脉对 NO 更为敏感,故极易引起入球小动脉扩张形成肾小球内的高灌注压及高滤过,促进肾小球的硬化及 CRF 的发生、发展^[10]。本研究结果显示,肾功能不全形成后,肾组织自由基产生增多,SOD 活性下降。施以调气活血补肾汤后,肾组织产生的自由基得到及时清除,避免并减少自由基的堆积,对机体的氧化和抗氧化起到平衡作用。有效抑制早期肾组织匀浆 NO 增高,降低 NOS 活性,可通过增高 SOD 活性、降低 MDA 含量,参与协同 SOD 保护肾脏组织,并免受 NO、MDA 升高所造成的损害。调气活血补肾汤可能通过多种途径来影响和调节机体所受到的损害,从而起到防御和对肾脏的保护作用。

总之,调气活血补肾汤可改善 CRF 大鼠的肾功能,延缓肾单位损伤的进程,其治疗机制与调节肾功能 NO 的代谢平衡、降低自由基损伤等因素有关,但调气活血补肾汤改善肾功能其它机制有待进一步深入探讨。

【参 考 文 献】

- [1] Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(24): 9 265 - 9 269.
- [2] 肖 炜, 马 云, 傅江南. 慢性肾衰动物模型方法学研究现状[J]. *中国实验动物学杂志*, 2002, 12(3): 176 - 179.
- [3] 候连兵, 邓虹珠, 陈志良, 等. 三种慢肾衰动物模型的制备及意义[J]. *华西药理学杂志*, 1994, 9(3): 169 - 171.
- [4] 杜捷夫, 沈 洪. 一氧化氮在急诊医学的进展及应用[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2001, 8(1): 54 - 56.
- [5] Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence[J]. *Lancet*, 1994, 344(8 924): 721 - 724.
- [6] 张晓黎, 王桂兰, 董建军, 等. 一氧化氮在糖尿病性肾病中的变化及其临床意义[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 1998, 14(1): 18 - 21.
- [7] Tilton RG, Chang K, Hasan KS, et al. Prevention of diabetic vascular dysfunction by guanidines inhibition of nitric oxide synthase versus advanced glycation end product formation[J]. *Diabetes*, 1993, 42(2): 221 - 232.
- [8] Bank N, Aynedjian HS. Role of EDRF(nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration[J]. *Kidney Int*, 1993, 43(6): 1 306 - 1 312.
- [9] Komers R, Allen TJ, Cooper ME. Role of endothelium-derived nitric oxide in the pathogenesis of the renal hemodynamic changes of experimental diabetes[J]. *Diabetes*, 1994, 43(10): 1 190 - 1 197.
- [10] Shultz PJ, Schorer AE, Raij L. Effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells[J]. *Am J Physiol*, 1990, 258(1 Pt 2): F162 - F167.