

• 论著 •

中药尿毒康对急性肾小管坏死初发期保护作用的研究

李燕林, 安海文, 凌小浩, 曾剑慧, 郭聂涛, 黄振炎, 黄泗猷, 杨 进

(广东中山市中医院, 广州中医药大学中山附属医院肾内科, 广东 中山 528400)

【摘要】 目的 评估中药尿毒康(由大黄、地榆、丹参、黄芪、红花等组成)对大鼠急性肾小管坏死(ATN)初发期的防治作用,并初步探讨其机制。方法 将 64 只 SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠随机分为正常组、ATN 模型组、异搏定治疗组和中药尿毒康治疗组,每组 16 只。双后下肢肌肉注射甘油等渗生理盐水制备 ATN 模型,分别观察各组制模后 12 h 和 24 h 血尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)、肾指数(RFI)及肾脏组织病理学变化。结果 制模后大鼠 BUN、SCr、RFI 逐渐升高,与正常组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$);给予异搏定和中药尿毒康后均能降低 BUN、SCr 和 RFI,与模型组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);24 h 中药治疗组 BUN、SCr 改善程度较异搏定治疗组明显,差异有统计学意义($P < 0.01$)。中药治疗组肾小管变性较轻,管腔中蛋白管型较少,肾脏病理变化明显减轻;异搏定治疗组次之;而模型组损伤最重。结论 中药尿毒康不仅可改善 ATN 大鼠肾功能,而且还能明显减轻其病理变化,早期应用对初发期 ATN 具有较好的防治作用。

【关键词】 尿毒康口服液;肾小管坏死,急性;甘油

中图分类号:R285.5;R256.5 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2008)04-0216-03

An experimental study on protective and therapeutic effect of oral solution of Niao Du Kang (尿毒康) on acute renal tubular necrosis of rats LI Yan-lin, AN Hai-wen, LING Xiao-hao, ZENG Jian-hui, GUO Nie-tao, HUANG Zhen-yan, HUANG Si-you, YANG Jin. Department of Nephropathy, Guangdong Zhongshan City Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhongshan Affiliated Hospital, Guangzhou Chinese Traditional Medicine University, Zhongshan 528400, Guangdong, China

【Abstract】 Objective To evaluate the preventive and therapeutic effect of oral solution of Niao Du Kang (尿毒康) on acute renal tubular necrosis (ATN) in Sprague-Dawley (SD) rats, and preliminarily approach its mechanisms. **Methods** The oral solution was composed of traditional Chinese medicinal herbs of Radix et Rhizoma Rhei (大黄), Radix Sanguisorbae Officinalis (地榆), Radix Salviae Miltiorrhizae (丹参), Radix Astragali seu Hedysari (黄芪), Flos Carthami Tinctorii (红花) and so on. Sixty-four SD male rats were randomly divided into 4 groups: normal control group, ATN model group, verapamil treatment group and traditional Chinese medicine, oral solution of Niao Du Kang treatment group, every group having 16 rats. The ATN model of SD rats was induced by intramuscular injection of 50% glycerin mixed with isotonic saline solution at the back of bilateral lower extremities. After the model was established in each group, the levels of blood urea nitrogen (BUN), levels of blood serum creatinine (SCr), renal failure index (RFI) and renal pathological changes were detected at different time points after modeling for 12 and 24 hours, and the therapeutic effect of oral solution of Niao Du Kang was observed. **Results** After the model establishment, Niao Du Kang oral solution could lower the elevation of blood BUN, SCr, RFI in the model, and compared with the normal control group, there were statistical significances (all $P < 0.01$). Verapamil and oral solution of Niao Du Kang all could reduce the levels of BUN, SCr and RFI and compared with ATN model group, the differences had statistical significances ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Oral solution of Niao Du Kang group compared with verapamil treatment group, the improvement of BUN and SCr after 24 hours of respective treatment, the therapeutic results in the former group were better than those in the verapamil treatment group (all $P < 0.01$). The renal tissue pathological examination was made by light microscope. The results indicated that the degeneration of renal tubules in the Niao Du Kang group was mild, protein cast was very few, and renal pathological changes were much ameliorated; the pathological severity in the verapamil treatment group was less than that of the model group, but more severe than that in the Niao Du Kang group. **Conclusion** The oral solution of Niao Du Kang not only may improve the renal function of rats with ATN, but also may relieve renal pathological changes; for ATN initial stage in rats, using Niao Du Kang oral solution early can relieve renal injury induced by 50% glycerin and have preventive and therapeutic effect.

【Key words】 oral solution of Niao Du Kang; acute renal tubular necrosis; glycerin

急性肾小管坏死(ATN)所致的急性肾功能衰竭(ARF)是一种危重的临床综合征,其预后差、病死率高。当初发期 ATN 尚未发生明显的病理解剖变化之前,如能及时给予恰当的药物,则有可能逆转或减轻病变^[1]。本实验中采用肌肉注射(肌注)甘油制备大鼠 ATN 模型,观察尿毒康口服液对初发期 ATN 的保护作用,为临床应用中药尿毒康口服液防治 ATN 提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物:64 只健康雄性 Wistar 大鼠,体重 185~230 g,由广东省实验动物中心提供,饲养于室温 22~25 °C 的 SPF 级动物中心。

1.2 实验材料:尿毒康口服液由大黄、地榆、丹参、黄芪、红花等药物组成,由中山市中医院制剂室制备,换算后大鼠用药为 5.1 g/kg。异搏定配成悬浊液,按 16.6 mg/kg 剂量灌胃。

1.3 动物分组及模型制备:采用文献[2]中的方法制备动物模型。将大鼠按随机数字表法分为正常组、模型组、异搏定治疗组和中药治疗组,每组 16 只。禁水 16 h 后,采用双后下肢肌注体积分数为 50% 甘油等渗盐水(10 ml/kg)的方法复制 ATN 模型^[2];正常组注射等量生理盐水。模型组制模后立即予生理盐水 10 ml/kg 灌胃;异搏定治疗组注射甘油后即刻和 12 h 按 16.6 mg/kg 给予异搏定水溶液灌胃;中药治疗组注射甘油后即刻及 12 h 灌胃 5.1 g/kg 尿毒康口服液;正常组给予生理盐水 10 ml/kg 灌胃。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 一般情况:包括大鼠存活时间、毛色、反应、饮食、体重等。

1.4.2 肾功能指标的测定:分别于 12 h 和 24 h 用质量分数为 20% 的乌拉地尔腹腔麻醉大鼠,腹主动脉取血,用全自动生化分析仪检测。血清尿素氮(BUN)用 UA-GLDH 法测定;血清肌酐(SCr)用肌酐酸氧化酶法测定。

1.4.3 肾指数(RFI)的测定:称大鼠体重后开腹取两侧肾脏,并称湿重,以两肾总湿重/体重比值表示大鼠 RFI 值。

1.4.4 肾脏病理光镜检查:肾组织固定于 pH7.4、体积分数为 10% 的甲醛水溶液中,常规乙醇脱水,

石蜡包埋,切取 4 μm 厚组织切片,苏木素-伊红(HE)染色观察,根据病变范围的大小分轻、中、重 3 级,即病灶占 1/3 以下为轻度(+),病灶占 1/3~2/3 为中度(++),病灶占 2/3 以上为重度(+++)。连续观察 10 个高倍视野(HP)肾小管的坏死数目后取其平均值。肾小管腔内管型少于 2 个/HP 为轻度(+),3~4 个/HP 为中度(++),多于 4 个/HP 为重度(+++)。

1.5 统计学处理:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 16.0 软件进行统计,组间比较采用方差分析检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况:注射甘油后 6 h 左右动物出现酱红色尿,尿少甚至无尿,精神萎靡少动,反应迟钝;实验的 24 h 内,模型组中有 1 只死亡,死亡率为 6.25%;中药治疗组和异搏定治疗组全部存活。解剖中发现,制模后动物胃部饱胀明显,饮食存留较多,24 h 比 12 h 更严重,药物治疗后症状相对较轻;中药治疗比异搏定效果更好;正常组则胃中饮食存留较少。

2.2 肾功能变化(表 1):12 h 和 24 h 时,模型组的 BUN、SCr 逐渐升高,与正常组比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.01),说明模型制备成功。异搏定治疗组及中药治疗组在 12 h 和 24 h BUN、SCr 均低于模型组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.01),说明尿毒康、异搏定治疗均有效。12 h 时,中药治疗组 BUN、SCr 与异搏定治疗组比较差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);但 24 h 时,异搏定治疗组 BUN、SCr 升高较快,中药治疗组 BUN、SCr 轻微上升,与异搏定治疗组比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。

表 1 各组大鼠肾功能及 RFI 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物数	BUN(mmol/L)	SCr(μmol/L)	RFI($\times 10^3$)
正常组	12 h	8	9.48±1.76	27.62± 2.92	7.61±0.02
	24 h	8	9.48±1.76	27.62± 2.92	7.69±0.16
模型组	12 h	8	33.50±6.48 ^b	154.12± 54.46 ^b	9.02±1.07 ^b
	24 h	7	49.49±9.82 ^b	240.43±116.83 ^b	10.83±1.73 ^b
异搏定组	12 h	8	11.11±1.82 ^d	44.00± 9.26 ^{bd}	7.86±0.86 ^c
	24 h	8	31.14±7.79 ^{bd}	117.88± 47.68 ^{bd}	9.84±1.40 ^b
中药组	12 h	8	11.80±2.19 ^d	34.88± 12.04 ^d	7.70±0.28 ^d
	24 h	8	15.25±3.24 ^{bde}	44.12± 12.23 ^{bde}	9.06±1.22 ^{bc}

注:与正常组同期比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组同期比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;与异搏定治疗组同期比较,^e $P < 0.01$

2.3 RFI 变化(表 1):12 h 和 24 h 模型组 RFI 高于正常组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。12 h 时,异搏定治疗组和中药治疗组 RFI 均明显低于模

基金项目:广东省中医药管理局建设中医药强省科研基金资助项目(2007289)

作者简介:李燕林(1965-),男(汉族),河南省人,医学硕士,教授,硕士生导师,获市厅级科技进步奖 5 项,承担省、市级科研课题 5 项,发表论文 20 篇。

型组,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$); 24 h 时,仅中药治疗组 RFI 与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 肾脏组织病理学变化(表 2):肉眼大体观察,模型组动物肾脏表面苍白色,肾髓质发绀或紫黑,部分点、片状出血点;异搏定治疗组和中药治疗组改变明显减轻。镜下观察,制模后 12 h,有不同程度肾小管变性,肾小管腔内管型尚少,间质有轻微充血;24 h 时肾小管变性加重明显,近曲小管可见典型凝固性坏死;中药治疗组则出现较轻的早期凝固性坏死,肾小管变性较轻,管腔中蛋白管型较少,说明尿毒康治疗后 ATN 大鼠肾脏病理变化明显减轻。

表 2 各组大鼠 24 h 肾脏病理变化 只

组别	动物数	坏死				变性				管型			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
正常组	8	8	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0
模型组	7	0	1	0	6	0	0	0	7	0	3	2	2
异搏定组	8	0	3	4	1	0	2	3	3	0	5	3	0
中药组	8	0	5	3	0	0	5	0	3	2	4	2	0

3 讨论

研究表明,ARF 时肾组织细胞和线粒体内钙离子超载,并且钙含量与细胞坏死程度呈正相关,其机制尚不清楚。王东文等^[3]研究证明,异搏定通过抑制黄嘌呤氧化酶(XOD)活性,进而影响肾组织内氧自由基(OFR)的生成,减轻肾组织的脂质过氧化损伤作用,从而达到保护肾功能的作用。

ARF 属中医学“癰闭”、“关格”等疾病范畴,中医学认为,ARF 的主要病机为正气不足,湿、瘀、毒互结,湿热蕴积,气血逆乱,脏腑功能失调,三焦气化失司,病势凶险,病情危重,实中有虚,病理产物以湿、浊、毒、瘀等病理产物为主。故其治疗总则为泻实为主,但祛邪之中,又须顾护正气。我们的临床观察表明,由大黄、地榆、红花、丹参、黄芪等组成的中药方剂对血液透析患者残余肾功能具有保护作用^[4]。方中大黄具有泻湿浊、逐瘀血、荡涤胃肠、清热解毒

之功效,《神农本草经》谓其“主下瘀血闭,寒热,破癥瘕积聚”。现代研究表明,大黄除了可以增加肠张力、促进肠蠕动和胃肠功能的恢复^[5]外,还能降低氮质滞留,促进蛋白合成及抑制蛋白分解^[6]。丹参和红花协同通肾络、活瘀血,增加肾的血流量和尿量,加速毒素从尿中排泄。地榆酸、苦,微寒,“既能清降,又能收涩,清亦不虑其过泄,涩亦不虑其过涩”(《本草木真》),既能燥湿,又防大黄等药通降太过,实为良药。黄芪具有健脾益气功能,能促进蛋白质合成、改善负氮平衡、扩张血管、改善肾血流动力学。付荣国等^[7]观察到黄芪当归合剂对急性肾损伤具有显著的保护作用,其机制可能与其降低 Bcl-2/Bax 比值有关。诸药合用,具有活血化瘀、清热解毒的功效,取得了较好临床疗效。

综上所述,尿毒康对大鼠初发期 ATN 的防治作用可能与其调节机体钙离子,特别是改善肾血流量和改善肾小球内微循环,阻止血栓形成,增加肾小球滤过率,缓解 ATN 初发期的人球小动脉收缩以及抗缺血肾脏过度氧化等综合因素有关。

参考文献

- [1] Wilkes B M, Mailloux L U. Acute renal failure: pathogenesis and prevention[J]. Am J Med, 1986, 80(6): 1129-1136.
- [2] 李仕梅,叶任高,李幼姬,等. 药物防治初发期急性肾小管坏死的实验研究[J]. 中华肾脏病杂志, 1985, 1(3): 2-3.
- [3] 王东文,米振国,徐计秀,等. 钙通道阻断剂在急性肾衰时抗氧自由基损伤的实验研究[J]. 现代泌尿外科杂志, 1998, 3(4): 9-11.
- [4] 李燕林,杨楠,林凯旋,等. 中药“慢肾康”对血液透析患者残余肾功能的保护作用观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 1999, 6(12): 564-565.
- [5] 孟庆义,彭磊. 大黄在急危重症治疗中的应用(Internet 网上专题讨论)[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7(1): 63-64.
- [6] 郑平东,横泽隆子,铃木奈绪美. 大黄治疗氮质血症及其作用机制的探讨[J]. 上海中医药杂志, 1985, 19(8): 46-48.
- [7] 付荣国,周琳,聂萌,等. 黄芪当归合剂对大鼠缺血性急性肾损伤的保护研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(1): 9-12.

(收稿日期:2008-02-18 修回日期:2008-03-14)
(本文编辑:李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

关于论文作者的署名问题

依照《著作权法》有关规定,文稿的著作权,除《著作权法》另有规定外,属于作者。作者应具备下列条件:①参与选题和设计,或参与资料的分析和解释者。②起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者。③最终同意该文发表者。以上 3 条均需具备。仅参加获得资金或收集资料者不能列为作者;仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。集体署名的文章必须明确对该文负责的关键人员;其他对该研究有贡献者可列入正文末志谢部分。作者中如同时有外籍作者应征得本人同意,并附证明信。文章作者的排序应在投稿时确定,不得在编排中再作更改。
(本刊编辑部)