

清肾胶囊延缓慢性肾功能衰竭进程的实验研究*

饶向荣 周静媛 霍保民 占永力 李秀英(中国中医研究院广安门医院 北京 100053)

摘要 采用 5/6 肾切除大鼠造成慢性肾功能衰竭(CRF)模型,观察清肾胶囊对 Scr 水平,TG、CHO、HDL-CHO、Fib 水平,免疫组化分析肾组织Ⅳ型胶原水平,计算机图像分析测定各组肾小球直径、细胞数、肾小球细胞基质(ECM)面积的影响。清肾胶囊能延缓 CRF 大鼠肾功能的衰竭,其作用优于开搏通;在对残余肾结构的保护方面与开搏通相似,能抑制肾小球肥大,减轻肾小球 ECM 的堆积,减少Ⅳ型胶原的合成。对 CRF 大鼠功能和结构产生良好的影响。

关键词 清肾胶囊 肾功能 残余肾 细胞外基质

Experimental Study of Qingshen Capsule on Delaying the Progress of Chronic Renal Failure

Rao Xiangrong, Zhou Jingyuan, Huo Baomin, Zhan Yongli, Li Xiuying

(Guanganmen Hospital, China Academy of TCM, Beijing, 100053)

Abstract: To study the effect of Qingshen capsule on the renal function of the 5/6 nephrectomized rats and its protective effect on the structure of the remnant kidney. After treated for 12 weeks, the rats were sacrificed. The serum ceratinine (Scr) was measured and the renal lesions and the collagen Ⅳ deposition in the sclerosis glomerulus were investigated. **Results:** The Scr of Qingshen capsule groups is lower than that of the other two groups. Qingshen capsule and Cap can inhibit the glomerular hypertrophy, decreased ECM and abate collagen Ⅳ deposition in the glomerulus. **Conclusion:** Qingshen capsule not only can delay the progress of chronic renal failure, but also play a protective role on renal remnant kidney.

Key words: Qingshen capsule, renal function, remnant kidney, extracellular matrix

和解法是我们长期用于治疗慢性肾功能衰竭(CRF)的常用方法,20 余年临床试验证

明该法能延缓 CRF 的发展^[1]。清肾胶囊(暂定名)就是在过去临床基础上总结出的一首方剂,本实验旨在探究该药在治疗 CRF 大鼠的

作用及可能机理。

1 材料和方法

1.1 药物 清肾胶囊由中国中医研究院广安门医院药剂科制成。其主要药味有:柴胡(伞形科柴胡 *Bupleurum chinese* DC)、太子参(石竹科异叶假繁缕 *Pseudostellaria heterophylla*)、黄芩(唇形科黄芩 *Leonurus reterophyllus*)、半夏(天南星科半夏 *Pinellia ternata* Breit)、益母草(唇形科益母草 *Leonurus reterophyllus*)、大黄(蓼科掌叶大黄 *Rheum palmatum* L)、广藿香(唇形科藿香 *Pogostemon Cablin* Benth)、苏梗(唇形科紫苏 *Perilla frutescens* Britt)等组成。柴胡、太子参、黄芩、半夏、益母草、大黄等采用提取液浓缩、干燥、粉碎成浸膏粉,制粒过筛成颗粒,装胶囊。藿香、苏梗蒸馏取芳香水,在制粒过程中洒入。开搏通为上海施贵宝公司制造。

1.2 模型制作 选择雄性 SD 大鼠 130 只,体重在 140~180g 之间,留出 10 只做正常对照组,其余 120 只用于造模,苯巴比妥麻醉(按 300mg/kg 体重)腹中线切口,切除右肾,滤纸吸干血液,称其重量后在左肾上下极各切除相当于 1/3 右肾重的肾组织(相当于 5/6 切除)^[2]。4 周后,将健存的 75 只模型动物随机分为模型组,开搏通组(Cap 组),清肾组(小、中、大剂量组),各组 $n=15$,均饲以高蛋白饮食,疗前称体重。

1.3 治疗 模型组每日灌自来水 4ml/只, Cap 组按 20mg/kg 给予开搏通悬浮液,清肾胶囊小、中、大 3 个剂量组给予该药方原粉剂悬浮液按 1、2、4g/kg(相当于成人用量的 5 倍、10 倍、20 倍)灌胃,每 3 周称体重并调整剂量。

1.4 观察指标 疗前、疗后 6 周取血观察各组血清肌酐(Scr)值,疗后 12 周取血观测各组 Scr、胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-CHO)、纤维蛋白原(Fib)值,牺牲动物取肾脏,福尔马林固定肾组织,切片,采用 He、Pam + Masson 和

Lendrum4 种染色,计算机图象分析系统观察肾小球平均面积、细胞数、肾小球细胞外基质平均面积,每个肾脏观察 100 个肾小球求其平均值。采用 ABC 免疫组化法观察 IV 型胶原的水平,鼠抗人多克隆抗体购自丹麦 DAKO 公司。实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 one-way ANOVA 检验数据、所得结果 $P < 0.05$ 有显著差异。

2 结果

2.1 各组动物不同时期 Scr 变化 见表 1。疗前各模型组 Scr 值与正常组比较, $P < 0.01$;各模型组间 Scr 比较, $P > 0.05$;疗后 6 周时,各剂量组与模型组比较 $P < 0.05$,与 Cap 组比较 $P > 0.05$,各中药剂量组间比较 $P > 0.05$;疗后 12 周,各剂量组与模型组比较 $P < 0.01$,小剂量组与 Cap 组比较 $P < 0.05$,中、大剂量组与 Cap 组比较 $P < 0.01$,3 剂量组之间比较 $P > 0.05$ 。

表 1 各组动物不同时期 Scr($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)

	疗前	疗后 6 周	疗后 12 周
正常组	51.5 $\pm$ 11.7 **	54.0 $\pm$ 16.5 ₍₁₀₎ **	51.6 $\pm$ 14.1 ₍₁₀₎ **
模型组	78.2 $\pm$ 14.6	147.6 $\pm$ 37.6 ₍₁₃₎	169.3 $\pm$ 16.5 ₍₁₂₎
Cap 组	76.7 $\pm$ 15.7	119.2 $\pm$ 29.3 ₍₁₃₎ *	151.0 $\pm$ 25.7 ₍₁₃₎ *
清肾小	76.7 $\pm$ 12.5	112.1 $\pm$ 22.5 ₍₁₃₎ *	120.5 $\pm$ 31.4 ₍₁₃₎ ** Δ
清肾中	79.6 $\pm$ 14.1	113.9 $\pm$ 22.5 ₍₁₄₎ *	114.2 $\pm$ 30.4 ₍₁₃₎ ** Δ
清肾大	79.3 $\pm$ 11.1	108.6 $\pm$ 22.5 ₍₁₃₎ *	109.4 $\pm$ 33.2 ₍₁₃₎ ** Δ

注:与模型组比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 Cap 组比 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, () 为动物数,以下表同

2.2 各组疗后 12 周血脂和纤维蛋白原水平 见表 2。清肾各剂量组对 Fib 水平有明显改善,亦可使 TG 含量下降。

表 2 各组疗后 12 周 CHO、TG、HDL-CHO、Fib 值($\bar{x} \pm s$)

	CHO	TG	HDL-CHO	Fib
n	mmol/L	(mmol/L)	(mmol/L)	(mg/L)
正常组	10 1.52 $\pm$ 0.12 **	1.21 $\pm$ 0.37 **	2.32 $\pm$ 0.71	123.5 $\pm$ 27.4 **
模型组	11 3.48 $\pm$ 1.40	3.44 $\pm$ 1.81	2.56 $\pm$ 0.78	224.8 $\pm$ 52.7
Cap 组	12 2.42 $\pm$ 0.55 *	2.37 $\pm$ 0.89	2.00 $\pm$ 0.36 *	173.0 $\pm$ 33.2 *
清肾小	12 2.47 $\pm$ 0.54 *	1.64 $\pm$ 0.50 **	2.09 $\pm$ 0.45	154.9 $\pm$ 27.2 **
清肾中	12 2.84 $\pm$ 0.77	2.04 $\pm$ 0.80 *	2.45 $\pm$ 0.54	173.4 $\pm$ 20.8 **
清肾大	12 2.68 $\pm$ 0.76	1.82 $\pm$ 1.10 *	2.38 $\pm$ 0.47	171.7 $\pm$ 29.2 **

2.3 病理及图象分析 普通光镜下见各模

型组肾小球系膜细胞增生、系膜区扩张、肾小球肥大、肾小球局灶节段性硬化,且有少部分小球出现球性硬化,但是在光镜下未见各个模型组肾小球和小管-间质有明显的结构上差异。计算机图像分析结果见表3。在图象分析中,清肾及Cap各组与模型组比较均有非常显著性差异 $P<0.01$,而Cap与清肾组之间无差异(因表中排不开,不再标注)。

表3 图象分析各组肾小球面积、细胞数、细胞外基质面积

	<i>n</i>	肾小球面积 (μm^2)	细胞数 (个)	细胞外基质面积 (μm^2)
模型组	8	17334.0 $\pm$ 1461.3	90.4 $\pm$ 9.6	9772.1 $\pm$ 898.5
Cap组	7	13710.9 $\pm$ 1480.2	61.8 $\pm$ 9.6	6318.5 $\pm$ 1206.8
清肾小	8	12848.3 $\pm$ 1742.1	56.9 $\pm$ 17.7	6686.2 $\pm$ 1818.9
清肾中	8	11841.2 $\pm$ 3281.5	51.5 $\pm$ 10.6	5396.5 $\pm$ 1802.5
清肾大	8	13287.8 $\pm$ 1538.9	62.3 $\pm$ 7.0	6098.3 $\pm$ 849.8

2.4 IV型胶原在小球沉积水平 各模型组均有IV型胶原沉积,且在硬化小球中明显增加,开搏通组、3个中药剂量硬化肾小球中IV型胶原水平较模型组轻。

3 讨论

CRF系慢性肾脏疾病所致的渐进性肾功能减退,目前认为其渐进性发展机制或影响因素包括:肾小球高滤过、肾小管高代谢、脂质代谢紊乱、高凝状态、细胞因子和生长因子的作用及ECM的异常产生和降解异常。大鼠5/6肾切除后肾功能慢性进行性减退,同时伴随着肾小球高灌注、高滤过、肾小球高血压等特定的病理生理过程,在结构上出现肾小球的代偿性肥大和硬化。过去的研究表明血管紧张素转换酶抑制剂(ACE-I),如开搏通能够延缓5/6肾切除CRF大鼠肾功能的减退,并减轻肾小球的代偿性肥大、抑制肾小球固有细胞增殖及细胞外基质(ECM)的堆积,从而减缓肾小球的硬化、保护了残余肾组织^[3]。目前临床上对CRF的治疗除控制原

发病、低蛋白饮食外,ACE-I已广泛地用于CRF患者的治疗,并取得一定效果^[4]。通过实验我们发现清肾胶囊能延缓大部分肾切除大鼠的Scr上升,在治疗6周时作用与开搏通相似,在治疗12周时作用显著优于Cap组。对CRF大鼠的结构保护作用与开搏通相似,通过在治疗12周时各组平均肾小球面积的比较,发现清肾胶囊能减轻残余肾小球代偿性肥大,通过肾小球内细胞数比较提示清肾胶囊能减低细胞增生程度;ECM的产生过多和降解减少是引起肾小球硬化的直接因素^[5],中药对ECM的影响目前少有报道,本实验提示清肾胶囊减低肾小球内ECM的堆积、抑制IV型胶原合成,说明该药能减轻CRF大鼠残余肾组织进行性损害,但是对其确切机理有待进一步研究。同时我们发现清肾胶囊能改善肾衰大鼠的脂质代谢、改善大鼠高凝状态,从而减少引起CRF发展的危险因素。

参考文献

- 1 周静媛,占永力,霍保民,等.和解法为主治疗慢性肾功能不全的临床和实验研究.北京中医学院学报,1993,16(4):51~52
- 2 Berlync G. M, Giovunnetti. Animal models in chronic renal failure. Kerger, Basel. 1988. 27
- 3 Yoshida H et al. Effect of antihypertensive drugs on glomerular morphology. Kidney Int, 1989, 36:626
- 4 Yoshida H, Kon V, Ichikawa I, et al. Polymerorphisms of renin-angiotensin system genes in progressive renal diseases. Kidney Int, 1996, 50:732
- 5 Couchman et al. Glomerular matrix: Synthesis, turnover and role mesangial expansion. Kidney Int, 1994, 46:328

(收稿:1998-09-21)