

清热化湿、活血泻浊法干预大鼠慢性肾功能衰竭进展的实验研究

李葆青, 邱模炎, 李楠, 焦强, 吴鋈, 栾洁, 王绍华, 张万强, 孙卫红, 王爱强, 王瑾

(中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

摘要:目的: 探讨清热化湿、活血泻浊法对大鼠慢性肾功能衰竭进展的干预作用。方法: 采用5/6肾切除术制作慢性肾衰大鼠模型, 术后4周检测血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、血磷(P)、血钙(Ca)、血红蛋白(Hb)、24h尿蛋白定量等指标, 确认造模成功后, 将存活的大鼠随机分为模型组、尿毒清组、经验方组, 分别给予相应治疗, 给药4周(术后8周)处死大鼠, 检测上述指标。结果: 经验方组SCr、BUN均低于模型组及尿毒清组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 经验方组24h尿蛋白定量低于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与尿毒清组比较, 差异无统计学意义。结论: 采用清热化湿、活血泻浊法的经验方能够有效延缓5/6肾切除大鼠肾功能衰竭的进展, 降低SCr、BUN, 其作用优于对照药物尿毒清颗粒, 且能够减少尿蛋白的排泄。

关键词: 清热化湿; 活血泻浊; 大鼠; 5/6肾切除; 慢性肾功能衰竭

Study on method of clearing heat and removing dampness and promoting blood circulation purging turbid intervention in chronic renal failure progression

LI Bao-qing, QIU Mo-yan, LI Nan, JIAO Qiang, WU Yun, LUAN Jie, WANG Shao-hua, ZHANG Wan-qiang, SUN Wei-hong, WANG Ai-qiang, WANG Jin

(Wangjing Hospital of CACMS, Beijing 100102, China)

Abstract: Objective: To investigate the intervention of clearing heat and removing dampness and removing promoting blood circulation purging turbid in chronic renal failure (CRF) progression. Methods: The 5/6 nephrectomy was performed on rats of model group. 4 weeks after surgery, the serum biochemistry assay (SCr, BUN, P, Ca, Hb) and 24-hours' urinary albumin were detected to confirm the model was successfully made. Rats who survived from surgery were randomly divided into model group, Niaoduqing group, and experimental prescription group and were given corresponding treatment respectively. 4 weeks after treatment (8 weeks after surgery), the rats would be killed, and the serum biochemistry assay (SCr, BUN, Ca, P, Hb) and 24-hours' urinary albumin be detected. Results: The levels of SCr and BUN in experimental prescription group were obviously lower than these in model group and Niaoduqing group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The level of 24-hours' urinary albumin in experimental prescription group was obviously lower than that in model group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); and it was lower than in Niaoduqing group, but there was no statistically significant difference. Conclusion: The experiential prescription of method of clearing heat and removing dampness and promoting blood circulation purging turbid could effectively slow the progression of renal failure caused of 5/6 nephrectomy in CRF model rats, and reduce the level of SCr and BUN. The therapeutic effect was better than Niaoduqing particles. It could effectively decrease the secretion of urine protein of 5/6 nephrectomy in CRF model rats, but not sure the effect was better than Niaoduqing particles.

Key words: Clearing heat and removing dampness; Promoting blood circulation purging turbid; Rats; 5/6 nephrectomy; Chronic renal failure

慢性肾功能衰竭(chronic renal failure, CRF)是各种慢性肾脏疾病的共同转归, 延缓CRF的进展是本病防治的重要环节。CRF属正虚邪实之证^[1], 而湿热、瘀血是影响疾病进展与转归的重要因素^[2]。临床观察清热化湿、活血化瘀中药能够有效

延缓CRF的进展^[3]。本研究秉承“湿热伤血”理论及赵绍琴教授辨治慢性肾脏病的学术思想^[4], 观察以清热化湿、活血泻浊为治法的经验方对大鼠CRF进展的干预作用, 为临床用药提供基础和理论依据。

通讯作者: 邱模炎, 北京市朝阳区花家地街中国中医科学院望京医院血液净化中心, 邮编: 100102, 电话: 010-84739180
E-mail: tan2002419@163.com

材料与方

1. 动物 Wistar雄性健康大鼠51只,6周龄,清洁级,体质量(200±20)g,由中国药品生物制品检定所提供,许可证编号:SCXK(京)2005-0004。

2. 药物 经验方:荆芥炭10g,大黄炭10g,防风6g,生地榆10g,炒槐花10g,丹参12g,焦三仙各10g。此为60kg体质量成人1日剂量,大鼠与人体质量剂量折算系数^[6]为6.25,得出大鼠的灌胃剂量每天9.17g/kg。制备过程:将上述药物用自来水浸泡30min,煎煮1h后,纱布滤过,再浓缩制成含生药量为917mg/mL的浓缩液。冷却后分别盛于消毒后的磨口玻璃瓶中,密封储存于4℃冰箱内备用。尿毒清颗粒(对照药)由广州康臣药业有限公司生产(批号:20090422),使用剂量为3.75g/kg,以蒸馏水配制成含药量为375mg/mL的溶液。

3. 造模 采用5/6肾切除术(5/6 nephrectomy, 5/6NT)。大鼠适应性饲养3d开始造模。以0.3%戊巴比妥钠(1mL/kg,北京惠泽奥科贸中心)腹腔注射麻醉后,俯卧位固定,手术野去毛,消毒、铺巾。从距左脊肋骨1.5cm处作斜向外方切口暴露肾脏;分离肾周脂肪,弧形切除肾上下极约2/3肾组织,明胶海绵压迫止血片刻,复位肾脏。缝合,在缝合口及腹腔内注射10万单位青霉素(华北制药有限公司,批号:S0903311)以防感染。术后1周行第2次手术切除右肾。两次手术共切除肾脏约5/6左右。假手术组用同样的方法麻醉和暴露肾脏,但不行肾脏切除。造模术后死亡10只。术后4周眼底静脉取血检测血肌酐(SCr),确认模型制作成功。

4. 分组及给药 按体质量随机分为假手术组9只(每天灌胃蒸馏水1mL/100g),模型组10只(每天灌胃蒸馏水1mL/100g)、经验方组11只(每天灌胃经验方917mg/100g)、尿毒清组11只(每天灌胃尿毒清颗粒375mg/100g)。按每周体质量情况,调整药物和蒸馏水的用量。共灌胃4周。

5. 观察指标 一般情况:体质量、大便、体毛、毛泽、

精神状态、活动状况。血液学及尿液:观察期满,检测血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、血红蛋白(Hb)、血钙(Ca)、血磷(P),测定24h尿蛋白定量。采用全自动生化分析仪测定。

6. 统计学方法 采用SPSS 13.0软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$,组间差异采用单因素方差分析,两两比较用LSD检验法,方差不齐时采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结果

1. 一般情况 假手术组:生长正常,精神佳,活泼好动,体质量增加,毛色有光泽,大便正常,背部正常无积块。模型组:生长相对迟缓,体毛枯黄、易脱落,精神差,活动减少,个别背部切口处出现炎性积块。经验方组及尿毒清组:生长正常,体毛略枯黄,精神及活动基本正常,个别背部切口处出现炎性积块,症状较模型组轻,但不如假手术组健康。在给药期间经验方组及尿毒清组各死亡2只。

2. 给药前血、尿检验结果 见表1。假手术组SCr、BUN、24h尿蛋白定量与模型组、尿毒清组、经验方组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);模型组、尿毒清组、经验方组之间比较,差异均无统计学意义。说明模型制作成功;模型组、尿毒清组及经验方组之间具有可比性。

3. 给药后血、尿检验结果

3.1 SCr、BUN、Ca、P 见表2。经验方组SCr、BUN较模型组、尿毒清组均有显著性降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);各组间比较Ca、P无统计学差异。

3.2 Hb情况 见表2。模型组、尿毒清组及经验方组Hb与假手术组比较显著降低($P < 0.05$);组间比较,无显著性差异。

3.3 24h尿蛋白定量 见表2。经验方组、尿毒清组较模型组显著减少($P < 0.05$);经验方组与尿毒清组比较,无显著性差异。

表1 各组术后4周血液及尿液检查比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SCr(μmol/L)	BUN(mmol/L)	Ca(mmol/L)	P(mmol/L)	Hb(g/dl)	24h尿蛋白定量(mg)
假手术组	9	26.44±2.96	7.82±1.16	2.40±0.13	2.83±0.29	158.00±13.47	10.54±1.63
模型组	10	52.20±11.75 [*]	14.06±2.34 [*]	2.48±0.10	2.53±0.11	146.90±17.45	27.26±7.60 [*]
尿毒清组	11	53.82±9.12 [*]	14.74±3.36 [*]	2.48±0.17	2.52±0.23	148.72±15.12	23.44±5.94 [*]
经验方组	11	51.27±12.19 [*]	14.28±3.44 [*]	2.45±0.17	2.50±0.18	148.72±22.12	28.80±16.19 [*]

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

表2 各组术后8周血液及尿液检查比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SCr(μmol/L)	BUN(mmol/L)	Ca(mmol/L)	P(mmol/L)	Hb(g/dl)	24h尿蛋白定量(mg)
假手术组	9	33.89±3.86	6.99±2.36	2.51±0.12	2.52±0.47	162.44±15.20	15.15±3.53
模型组	10	64.83±13.38 [*]	15.05±2.89 [*]	2.55±0.15	2.72±0.38	145.50±13.54 [*]	36.95±8.91 [*]
尿毒清组	9	64.89±14.19 [*]	14.46±3.44 [*]	2.55±0.12	2.68±0.31	150.00±10.65 [*]	31.73±6.29 [*]
经验方组	9	49.39±4.00 [*]	10.72±1.28 [*]	2.63±0.18	2.83±0.51	139.22±25.81 [*]	26.82±3.51 [*]

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较, $P < 0.05$;与尿毒清组比较, $P < 0.05$ 。

讨论

著名中医药学家赵绍琴教授在治疗CRF方面经验丰富,提出“慢性肾脏病非肾虚论”^[4],认为慢性肾脏病是多方面因素所致,邪实为主要病理根结,湿热郁遏是关键,血热血瘀是直接后果,同时久病缠绵,可出现正气亏虚,也是不可忽视的一面。认为贫血、SCr与BUN升高是由于体内邪毒不能排泄,即大实有羸状,邪实深伏是本;呕恶、神疲、乏力、面色苍白或萎黄、腰酸膝软等虚象是标。

经验方中以荆芥炭、大黄为君,防风、生地榆为臣,炒槐花、焦三仙、丹参为佐使。肺主一身之气,肺气宣则气机畅,湿易化而热外达,故治湿必先化气,化气必当宣肺。方中荆芥辛温升散,具宣肺、发表、祛风、理血之功,为血中之风药,为防辛温太过而助热伤阴,炒炭用之,与防风配伍,取“风能胜湿”之意,以达疏风化湿、宣畅气机之效。大黄具有清热泻浊、活血化瘀、推陈出新的功效,能够减少氮等代谢产物的重吸收,加快BUN的排泄,抑制残余肾单位的病理性增生及细胞外基质增生等^[6]。生地榆、炒槐花、丹参以凉血活血,清血分之热,兼以化瘀。焦三仙消食和中,脾气健运则生湿乏源。诸药合用,奏清热化湿、活血泻浊之效,使邪去正安。

5/6NT造模方法简便,模型稳定,成功率较高,是研究抗CRF、肾纤维化的理想动物模型,其病理变化与“瘀血”、“瘀浊”的特点相符,相当于“瘀血”、“瘀浊”证^[7]。经验方针对CRF湿热浊瘀证立法组方^[8],因而5/6NT较符合本研究的中医证候特点。

SCr和BUN是临床间接评价肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)应用最广泛的指标。GFR下降到正常的1/3时SCr才开始上升;BUN是人体蛋白质代谢的终末产物,两者均在一定程度上反映了肾小球滤过功能的损害情况,同时测定更有意义^[8]。蛋白尿即是一个病理结果,又是肾脏病的重要危险因素之一。大量蛋白尿通过不同机制表现出肾脏毒性,加速肾脏病进展,改变滤过膜结构及通透性,使肾小球遭到破坏,进一步加重蛋白尿的产生^[9]。本研究显示清热化湿、活血泻浊法能延缓SCr升高,降低BUN水平,减少尿蛋白,延缓肾功能损害的进展。但对Ca、P、Hb的影响无统计学意义,可能与观察周期较短有关。

尿毒清颗粒是中国食品药品监督管理局最早批准的3类治疗肾脏病的新药,20多年的临床应用显示其疗效确切。但本研究未显示出尿毒清颗粒具有明显降低SCr、BUN的作用,与文献报道一致^[10],而经验方显示了良好疗效,其作用与清热化湿、活血泻浊法有利于减少尿蛋白,减轻肾脏毒性,保护残留肾单位功能等机制有关。

参 考 文 献

- [1] 郭向东,王小琴.慢性肾衰竭中医治疗思路和方法探讨.中华中医药杂志,2012,27(9):2362-2364
GUO Xiang-dong,WANG Xiao-qin. Investigating the idea and

method of Chinese medicine treatment in chronic renal failure. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2012,27(9):2362-2364

- [2] 聂莉芳,欧阳晃平,韩东彦.200例慢性肾功能衰竭证候分布特点与分析.中医研究,2006,(4):29-30
NIE Li-fang,OUYANG Huang-ping,HAN Dong-yan. Distribution characteristic and analyses of 200 cases of chronic renal failure syndrome. TCM Research, 2006,19(4):29-30
- [3] 李葆青,王绍华,李明贤,等.中医药治疗慢性肾功能衰竭湿热浊瘀证临床观察.中国中医药信息杂志,2008,15(3):71-72
LI Bao-qing,WANG Shao-hua,LI Ming-xian,et al. Clinical observation of Chinese medicine treatment of chronic renal failure of damp-heat turbidity and blood stasis syndrome. Chinese Journal of Information on TCM, 2008,15(3):71-72
- [4] 邱模炎.“湿热伤血”理论探讨及赵绍琴的辨治经验.中医杂志,2003,44(11):815-817
QIU Mo-yan. Discussed theory of “Heat injury of blood” and Professor Zhao Shaoqin experience prescription. Journal of TCM, 2003,44(11):815-817
- [5] 杜冠华.实验药理学.北京:中国协和医科大学出版社,2004:33
DU Guan-hua. Experimental Pharmacology. Beijing: Peking Union Medical College press, 2004:33
- [6] 朱伟,王学美.大黄治疗慢性肾功能衰竭机制的研究进展.中国中西医结合杂志,2005,25(5):471-475
ZHU Wei,WANG Xue-mei. Progress in study on mechanisms of rhubarb in treating chronic renal failure. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2005,25(5):471-475
- [7] 赵宗江,牛建昭,杨美娟,等.5/6肾切除大鼠肾脏病理图像分析与中医证型的研究.中国中西医结合肾脏病杂志,2002,3(4):199-201
ZHAO Zong-jiang,NIU Jian-zhao,YANG Mei-juan,et al. The image analysis and traditional Chinese medicine syndrome and renal pathology dynamic change of 5/6 nephrectomy. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology, 2002,3(4):199-201
- [8] 王海燕.肾脏病学.3版.北京:人民卫生出版社,2008:440-442
WANG Hai-yan. Nephrology. 3rd edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008:440-442
- [9] 王允亮,张昱,王洪霞.蛋白尿肾脏毒性发生机制的研究概况.世界中西医结合杂志,2010,5(5):454-456
WANG Yun-liang,ZHANG Yu,WANG Hong-xia. Proteinuria renal toxicity studies on the pathogenesis of profile: research general situation. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2010,5(5):454-456
- [10] 郑寅,杨磊,周莹,等.尿毒清颗粒治疗慢性肾功能不全的前瞻性、随机、开放、交叉研究.中华肾脏病杂志,2012,28(4):325-326
ZHENG Yin,YANG Lei,ZHOU Ying,et al. Niaoduqing particles in the treatment of chronic renal insufficiency: an open, prospective, randomized crossover study. Chinese Journal of Nephrology, 2012,28(4):325-326

(收稿日期:2012年6月4日)