

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.20.014

实验研究

升清降浊方对慢性肾功能衰竭大鼠炎症因子的影响

傅贵平^{*}, 李庆耀, 王冬芽, 王霞, 戴彩华, 钟丹, 王娟, 刘思美

(井冈山大学临床医学院, 江西省吉安市井冈山大道 110 号, 343000)

摘要 目的 探讨升清降浊方治疗慢性肾功能衰竭的可能作用机制。方法 160 只 SD 大鼠随机分为空白组、肾衰模型组、包醛氧组、升清降浊方组, 每组 40 只。除空白组外其余各组采用大鼠 5/6 肾切除方法制备慢性肾功能衰竭模型, 包醛氧组给予包醛氧淀粉每次 0.04 g 灌胃, 每日 1 次; 升清降浊方组给予升清降浊方溶液 (浓度为 1 g/ml) 1 ml/100 g 灌胃, 每日 1 次; 空白组、肾衰模型组给予等量生理盐水灌胃, 各组灌胃均 28 天。采集各组大鼠血清样本进行肾功能检测, 包括肌酐 (SCr)、尿素氮 (BUN) 和尿酸 (UA); 生化指标检测包括白细胞介素 1 (IL-1)、白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α); 并对大鼠肾组织进行病理切片观察。结果 肾衰模型组大鼠 BUN、UA、TNF- α 较空白组明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。包醛氧组、升清降浊方组大鼠 UA、TNF- α 较肾衰模型组降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 升清降浊方组 UA、TNF- α 较包醛氧组降低更显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。病理结果显示, 升清降浊方组大鼠代偿性肥大肾小球充血, 肾小管上皮水肿明显, 局灶有肾小管上皮脱落可见, 但肾间质炎细胞浸润密度减少, 且肾小球萎缩明显较其他组减少。结论 升清降浊方可能通过调控炎症因子 IL-6 和 TNF- α 水平, 从而阻断慢性肾功能衰竭病情发展, 改善肾功能。

关键词 慢性肾功能衰竭; 升清降浊方; 炎症因子; 肾功能

慢性肾功能衰竭 (chronic renal failure, CRF) 是各种原发性或继发性肾脏疾病引起的肾功能进行性损害, 最后进展为终末期肾病^[1]。微炎症状态普遍存在于肾脏疾病进展到终末期肾功能衰竭的任何时期, 促进肾功能恶化或其并发症出现, 且微炎症的程度被认为是 CRF 预后的重要指标^[2]。从炎症因子网络改变来看, 微炎症是以白细胞介素 1 (IL-1)、白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 为主的促炎症因子释放为中心的缓慢发生和持续存在的轻微的炎症反应^[3]。临床实践证实, 升清降浊方在缓解慢性 CRF 症状、保护残余肾功能、延缓早中期肾功能进展、推迟必须透析和肾移植时间等方面取得显著疗效^[4-7]。本研究观察升清降浊方对 CRF 发展中炎症因子的影响, 以探讨其治疗 CRF 的可能作用机制。

1 材料及方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 160 只, 体重 (220 $\pm$ 20) g, 由湖南斯莱克动物公司提供, 实验动物许可证号: SCXX (湘) 2013-0004。

1.2 药物

升清降浊方组成: 升麻 10 g, 大黄 10 g, 黄芪 20 g, 桃仁 10 g, 丹参 20 g, 白花蛇舌草 12 g, 鹿衔草 15 g, 蒲公英 10 g, 马鞭草 15 g。以 10 倍量的水合煎, 每次 30 min, 共 2 次, 合并 2 次滤液, 浓缩至 120 ml, 每毫升相当于原药材 1 g。包醛氧淀粉胶囊, 天津太平洋制药有限公司生产, 国药准字: H20000078。

1.3 主要试剂及仪器

戊巴比妥钠液 (德国默克集团生产, 批号: 140618); 大鼠 IL-1 (货号: BE51071)、IL-6 (货号: BE58061)、TNF- α (货号: BE58351) ELISA 试剂盒均由德国 IBL 公司生产; 腺嘌呤 (湖北远

基金项目: 国家自然科学基金 (81260588)

* 通讯作者: fgp8830838@126.com

成赛创科技有限公司生产, 批号: 200-796-1); 4% 酪蛋白饲料 (湖南斯莱克动物公司生产)。MDF-U53 超低温冰箱 (日本三洋公司); BM_ VIII 生物组织包埋机 (湖北孝感市宏业医用仪器有限公司); TS-12u 生物组织自动脱水机 (湖北孝感市宏业医用仪器有限公司); ADVIA 2400 全自动生化检测仪 (Siemens 公司); EVO-LS15 电镜 (德国 Zeiss 公司)。

1.4 造模方法

参考文献 [8] 制备 CRF 动物模型。1% 戊巴比妥钠液 40 mg/kg 腹腔内注射麻醉大鼠, 选取背左侧切口, 暴露左肾, 剥离肾包膜, 将肾的上下级各 1/3 切除, 所切除部分重量占单侧肾脏重量的 2/3 (0.6~0.7 g), 明胶海绵压迫切面止血。1 期手术后 7 天, 行 2 期手术, 同样方法麻醉, 右侧背部切开暴露右肾, 结扎肾蒂, 摘除右肾; 同时给予 0.5% 腺嘌呤和 4% 酪蛋白饲料联合喂养 15 天。

1.5 动物分组及给药方法

将 120 只造模成功大鼠采用随机数字表法分为肾衰模型组、包醛氧组、升清降浊方组, 每组 40 只, 另设 40 只健康大鼠为空白组。第 2 次手术后包醛氧组给予包醛氧淀粉每次 0.04 g (溶于 3 ml 生理盐水中) 灌胃, 每日 1 次; 升清降浊方组给予升清降浊方溶液 1 ml/100 g, 每日 1 次; 空白组、肾衰模型组给予等量生理盐水灌胃, 各组均灌胃 28 天。

1.6 观察指标及方法

给药后 28 天检测血肌酐 (SCr)、尿素氮 (BUN)、尿酸 (UA) 及 IL-1、IL-6、TNF- α 水平。动物处死后对肾组织进行病理切片, 做 HE 染色和电镜观察。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行数据处理, 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 干预前后比较采用配对 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 其中的两

两比较用 q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肾功能指标比较

表 1 示, 肾衰模型组大鼠 BUN、UA 较空白组明显升高 ($P < 0.05$)。包醛氧组、升清降浊方组大鼠 UA 较肾衰模型组降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 升清降浊方组 UA 较包醛氧组降低更显著 ($P < 0.01$)。包醛氧组、升清降浊方组 BUN 和 SCr 与肾衰模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠血清炎症因子含量比较

表 2 示, 肾衰模型组大鼠 IL-6、TNF- α 较空白组大鼠显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。升清降浊方组、包醛氧组大鼠 TNF- α 较肾衰模型组显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 升清降浊方组较包醛氧组降低程度更大 ($P < 0.05$)。升清降浊方组 IL-6 较肾衰模型组、包醛氧组降低 ($P < 0.01$)。升清降浊方组、包醛氧组、肾衰模型组 IL-1 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 各组大鼠肾组织的病理改变

图 1 示, 空白组大鼠肾脏组织结构正常, 肾小球及近曲小管、远曲小管、集合管及间质未见明显炎性细胞浸润, 小管内未见炎性渗出物。肾衰模型组大鼠大量肾小球萎缩, 少量肾小球代偿性肥大并高度充血, 各级小管上皮水肿, 部分上皮细胞呈气球样变, 局灶小管上皮脱落, 部分小管内见粉染的蛋白水肿液, 淋巴细胞、浆细胞弥漫浸润肾间质。包醛氧组大鼠较模型组大鼠肾小球萎缩减少, 可见代偿肥大肾小球充血, 大部分肾小管上皮水肿明显, 伴不等量肾小管上皮脱落, 炎性细胞较模型组大鼠的弥漫分布变成灶性分布。升清降浊方组大鼠肾小球萎缩明显较其他组减少, 代偿性肥大肾小球充血, 肾小管上皮水肿明显, 局灶依旧有肾小管上皮脱落可见, 肾间质炎细胞浸润密度减少。

表 1 各组大鼠肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	BUN (mmol/L)	SCr (μ mol/L)	UA (mmol/L)
空白组	40	7.62 $\pm$ 2.39	64.31 $\pm$ 22.64	65.53 $\pm$ 43.34
肾衰模型组	40	10.25 $\pm$ 2.90*	58.87 $\pm$ 11.99	103.09 $\pm$ 60.69*
包醛氧组	40	9.35 $\pm$ 0.80	58.31 $\pm$ 11.28	76.48 $\pm$ 35.1 $^{\Delta}$
升清降浊方组	40	11.16 $\pm$ 1.66	61.19 $\pm$ 16.24	46.71 $\pm$ 28.40 $^{\Delta\Delta\Delta}$

注: BUN, 尿素氮; SCr, 肝酐; UA, 尿酸; 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与肾衰模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与包醛氧组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

表 2 各组大鼠血清炎症因子表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-1 ($\mu\text{mol/L}$)	IL-6 (mmol/L)	TNF- α (mmol/L)
空白组	40	17.96 $\pm$ 2.31	44.94 $\pm$ 11.10	78.25 $\pm$ 14.35
肾衰模型组	40	17.99 $\pm$ 2.05	110.40 $\pm$ 18.73 [*]	114.23 $\pm$ 1.08 ^{**}
包醛氧组	40	17.20 $\pm$ 3.05	127.97 $\pm$ 26.12	61.31 $\pm$ 4.49 ^{Δ}
升降浊方组	40	18.57 $\pm$ 0.67	44.94 $\pm$ 11.10 ^{$\Delta\Delta\Delta$}	52.91 $\pm$ 12.55 ^{$\Delta\Delta\Delta$}

注: IL-1, 白细胞介素 1; IL-6, 白细胞介素 6; TNF- α , 肿瘤坏死因子 α ; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与肾衰模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与包醛氧组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

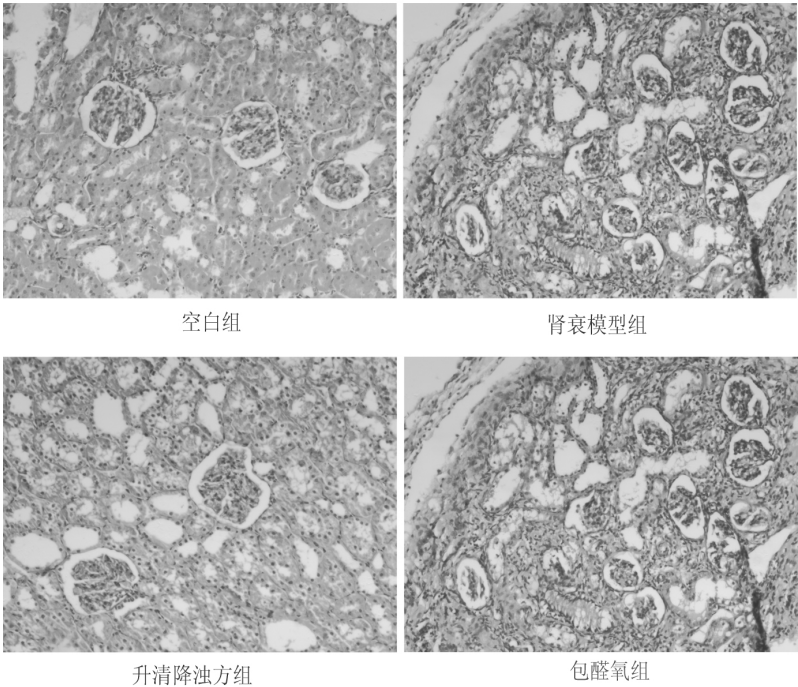


图 1 各组大鼠肾组织病理图片 ($\times 100$)

3 讨论

中医学根据 CRF 的临床表现和发病特点, 归属中医学“关格”“溺毒”“虚劳”等范畴^[1], 而从微炎症状态的病理物质是炎症因子来看, 可归属于中医学“痰”“湿”“浊”“毒”等范畴^[2]。我们认为, 脾肾衰败是导致清阳不升、浊阴不降的主要病理机制, 而痰、湿、浊、毒是 CRF 病态下的主要病理产物^[3]。清阳不升, 浊阴不降的病理机制与病理产物痰、湿、浊、毒之间存在互为因果关系^[4], 因此清除体内痰、湿、浊、毒是中医防治 CRF 的重要着眼点, 升降失调是其病机关键。气机升降相宜, 五脏调和。中药配伍有很强的科学性, 沉降药必须加用升浮药才得达到更好疗效。升降浊方由升麻、大黄、黄芪、桃仁、丹参、白花蛇舌草、鹿衔草、蒲公英、马鞭草组成。方中升麻、大黄为主药, 相配能升能降。升麻最早见于《神农本草经》, 曰“味甘, 平, 主解百毒”, 《心印绀珠经》称“无毒, 升也”。升麻补益脾气, 升

清降浊, 健运精微, 杜绝湿浊(毒)内生^[5]。《医学启源》谓大黄“气味俱厚, 沉而降, 阴也”。药理研究表明, 大黄具有降低尿素氮、抗凝降脂、抑制肾小球系膜细胞增殖的作用^[6]。黄芪性味甘温, 补脾益气; 桃仁、丹参化瘀通络, 三药相配益气活血, 为臣药; 白花蛇舌草、鹿衔草、蒲公英、马鞭草清热利湿, 为使药。全方共奏升降清浊、益气活血、清热利湿之效。

本实验研究结果提示, 升降浊方能降低 CRF 大鼠血 UA 水平, 改善肾脏病理情况, 说明对 CRF 有一定的治疗作用。而且能降低血清 IL-6 和 TNF- α 的表达, 提示降低血中炎症因子可能是升降浊方治疗 CRF、改善肾功能的作用机制之一。本研究选择指标较少, 是否对其他炎症因子如 C 反应蛋白等表达是否有影响, 有待进一步研究。

参考文献

[1] 黎磊石, 刘志红. 中国肾脏病学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2008: 1500.

- ㉔ 郭茹叶, 胡顺金. 微炎症状态与慢性肾衰竭关系及中医药干预作用的研究进展 ㉔. 中医药临床杂志, 2010, 22(3): 272-274.
- ㉕ Bistrian B, McCoowen KC, Chan S. Protein-energy malnutrition dialysis ㉕. Am J Kidney Dis, 1990, 33(1): 172-175.
- ㉖ 傅贵平, 邓跃毅, 崔莉. 陈以平治肾八法及用药经验拾萃 ㉖. 辽宁中医杂志, 2007, 34(8): 1039-1040.
- ㉗ 傅贵平, 陈以平. 慢性肾衰基本方于临床实践的体会 ㉗. 中医杂志, 2005, 46(12): 50-51.
- ㉘ 傅贵平. 伤寒引发重症肝肾综合症病案 ㉘. 中医杂志, 2006, 47(12): 927-928.
- ㉙ 傅贵平. 升麻治疗慢性肾功能衰竭 ㉙. 中医杂志,

2008, 49(12): 1101.

- ㉚ 沙朝晖, 付平, 周莉, 等. 大鼠 5/6 肾切除慢性肾功能衰竭动物模型的实验研究 ㉚. 四川动物, 2006, 25(3): 632-634.
- ㉛ 于敏, 陈芝, 刘晓玲, 等. 从微炎症发病机制探讨中医治疗慢性肾衰竭的思路与方法 ㉛. 中国中医急症, 2009, 18(4): 568-569.
- ㉜ 傅贵平, 古容芳, 郭一民, 等. 益肾活血升清泄浊法治疗慢性肾功能衰竭临床研究 ㉜. 上海中医药杂志, 2008, 42(5): 43-44.
- ㉝ 邓宝华. 中医综合疗法治疗慢性肾衰竭早中期 50 例临床观察 ㉝. 江苏中医药, 2008, 40(11): 58-59.

Impact of *Shengqing Jiangzhuo Fang* (升清降浊方) on Inflammatory Factors of Rats with Chronic Renal Failure

FU Guiping, LI Qingyao, WANG Dongya, WANG Xia, DAI Caihua, ZHONG Dan, WANG Juan, LIU Simei

(Clinical Medical College of Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi Province, 343000)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Shengqing Jiangzhuo Fang* in the treatment of chronic renal failure (CRF). **Methods** Totally 160 Sprague Dawley rats were randomly divided into blank group (n = 40), CRF model group (n = 40), oxyamyli tectus group (n = 40) and *Shengqing Jiangzhuo Fang* group (n = 40). CRF models were established in every group adopting the method of 5/6 nephrectomy except in blank group. Oxyamyli tectus group was given 0.04 g of oxyamyli tectus aldehydum by gavage once every day. *Shengqing Jiangzhuo Fang* group was given 1 ml/100 g of *Shengqing Jiangzhuo Fang* solution (concentration 1 g/ml) by gavage once every day. Blank group and CRF model group were given equivalent normal saline by gavage. All the treatments were lasted for 28 days. Serum samples of rats were collected in each group. Renal function, including creatinine (SCr), urea nitrogen (BUN) and uric acid (UA), and biochemical indexes, including interleukin1 (IL-1), interleukin6 (IL-6) and tumor necrosis factor α (TNF α) were detected. The pathological sections of rats' renal tissues were observed. **Results** BUN, UA and TNF- α of rats in CRF model group increased more significantly than those in blank group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). UA and TNF- α of rats in oxyamyli tectus group and *Shengqing Jiangzhuo Fang* group were lower than those in CRF model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). UA and TNF- α in *Shengqing Jiangzhuo Fang* group decreased more significantly than those in oxyamyli tectus group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Pathological sections showed compensatory hypertrophy glomerulus hyperemia, significant renal tubular epithelium edema, visible focal renal tubular epithelium exuviation, less renal interstitium inflammatory cells infiltration density in rats in *Shengqing Jiangzhuo Fang* group, and atrophic glomerulus in this group was much less than those in other groups. **Conclusion** *Shengqing Jiangzhuo Fang* might block the development of CRF and improve renal function by regulating inflammatory factors of IL-6 and TNF- α .

Keywords chronic renal failure; *Shengqing Jiangzhuo Fang*; inflammatory factor; renal function

(收稿日期: 2015-02-12; 修回日期: 2015-04-24)

编辑: 邓 媛