

黄芪当归合煎剂对急性肾损伤模型大鼠的保护作用研究

王昕雯*, 杨康群(南京医科大学附属淮安第一医院, 江苏 淮安 223300)

中图分类号 R285;R692 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)11-0982-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.11.08

摘要 目的:研究黄芪当归合煎剂对急性肾损伤(AKI)模型大鼠的保护作用。方法:以夹闭大鼠左、右肾后再灌注方法复制AKI模型。实验分为假手术(等容生理盐水)、模型(等容生理盐水)与黄芪当归合煎剂高、中、低剂量(18、9、4.5 g/kg)组。于手术前7 d灌胃给药,每天1次,连续7 d,再灌注30 min后再灌胃给药1次。于再灌注24 h后测定大鼠血清中血清肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)含量,大鼠肾组织匀浆中丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)含量,超氧化物歧化酶(SOD)活性;计算肾小管损伤评分。结果:与假手术组比较,模型组大鼠血清Scr、BUN含量显著升高,肾组织匀浆MDA含量显著增加,GSH含量显著减少,SOD活性显著减弱,肾小管损伤评分显著增加($P<0.01$)。与模型组比较,黄芪当归合煎剂高、中剂量组大鼠血清Scr、BUN含量显著降低,肾组织匀浆MDA含量显著减少,SOD活性显著增强,肾小管损伤评分显著减少($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:黄芪当归合煎剂对AKI模型大鼠的防治作用可能与其改善肾小管功能、调节抗氧化因子有关。

关键词 缺血再灌注;血清肌酐;尿素氮;肾小管损伤指数

Prevention and Treatment Effects of *Astragalus Radix* and *Angelica sinensis* Decoction on Acute Renal Injury in Rats

WANG Xin-wen, YANG Kang-qun(Huai'an First Hospital of Nanjing Medical University, Jiangsu Huai'an 223300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study prevention and treatment effects of *Astragalus Radix* and *Angelica sinensis* decoction on acute renal injury in rats and its mechanism. METHODS: Acute kidney injury (acute renal injury, AKI) model was induced by left and right kidney occlusion-reperfusion. Rats were divided into sham operation (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), *Astragalus Radix* and *A. sinensis* decoction high-dose, medium-dose and low-dose groups (18, 9, 4.5 g/kg). They were given medicine intragastrically 7d before operation, once a day, for continuous 7d, 30 min after reperfusion by gavage for 1 time. 24 h after reperfusion, the contents of Scr and BUN were determined, and the contents of MDA and GSH, the activity of SOD in renal tissue homogenate were also determined. Renal tubular injury score were calculated. RESULTS: Compared with sham operation group, the contents of Scr and BUN in rat serum increased significantly and the content of MDA also increased significantly, while the content of GSH and the activities of SOD decreased significantly. The renal tubular injury score increased significantly ($P<0.01$). Compared with model group, the contents of Scr and BUN in *Astragalus Radix* and *A. sinensis* decoction high-dose and medium-dose groups decreased significantly, and the content of MDA also decreased significantly; SOD activity increased significantly; renal tubular injury score decreased significantly ($P<0.01$ or $P<0.05$). CONCLUSION: The effects of *Astragalus Radix* and *A. sinensis* decoction on acute renal injury in rats may be related to the improvement of renal tubular function and regulation of antioxidant factor.

KEY WORDS Ischemia reperfusion; Serum creatinine; BUN; Renal tubular injury index

- rms and costs of acute ischemic stroke: an international study. For the Stroke Economic Analysis Group[J]. *Stroke*, 2000,31(3):582.
- [10] Feigin VL, Lawes CM, Bennet DA, et al. Stroke epidemiology: a review of population based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century[J]. *Lancet Neurol*, 2003, 2(1):43.
- [11] Prospective Studies Collaboration, Lewington S, Whitlock G, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths [J]. *Lancet*, 2008, 372(9 635):292.
- [12] 吴常青,汪春彦,邵旭,等.补阳还五汤有效部位对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J]. *中草药*, 2011, 42(1):114.
- [13] Amantea D, Russo R, Gliozzi M, et al. Early upregulation of matrix metalloproteinases following reperfusion triggers neuroinflammatory mediators in brain ischemia in rat[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2007, 82:149.
- [14] Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Di Sciacca R, et al. Inflammatory cytokines in acute ischemic stroke[J]. *Curr Pharm Des*, 2008, 14(33):3 574.
- [15] Vakili A, Mojarrad S, Akhavan MM, et al. Pentoxifylline attenuates TNF- α protein levels and edema following temporary focal cerebral ischemia in rats[J]. *Brain Res*, 2011, 1 377:119.

*主管药师。研究方向:医院药学。电话:0517-84921368

(收稿日期:2012-08-16 修回日期:2012-09-12)

急性肾损伤(Acute renal injury, AKI)是指由导致肾脏结构或功能变化损伤引起的肾功能在48 h内突然减弱。其发病率和病死率一直居高不下,近年全球性突发事件与自然灾害导致的多器官损伤中,急性肾脏损伤占67.2%^[1-2]。黄芪,又称北芪或北蓍,亦作黄耆或黄耆,常用中药之一,为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根。性甘、温,归肺、脾经。具有补气固表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌之功效。临床用于气虚乏力、食少便溏、中气下陷、久泻脱肛、便血崩漏、表虚自汗、气虚水肿、痈疽难溃、久溃不敛、血虚萎黄、内热消渴、慢性肾炎蛋白尿、糖尿病的治疗。当归,又叫秦归、云归、西当归、岷当归,为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根。性甘、辛,温,归肝、心、脾经。具有补血活血、调经止痛、润肠通便之功效。临床用于血虚萎黄、眩晕心悸、月经不调、经闭痛经、虚寒腹痛、风湿痹痛、跌扑损伤、痈疽疮疡、肠燥便秘的治疗^[3]。笔者通过复制AKI大鼠模型,研究黄芪当归合煎剂对其的保护作用,以为临床用药提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

COBAS C111型全自动生化分析仪(美国罗氏公司);CX41-RFL型荧光显微镜(日本Olympus公司);30328型石蜡切片机(德国Leica公司)。

1.2 药材

当归、黄芪购自南京医科大学附属淮安第一医院中药房,经笔者鉴定为真品。

1.3 试剂

丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.4 动物

SD大鼠60只,♀♂兼半,体质量(220±20)g,由江苏省实验动物中心提供[动物使用许可证号:SCXK(苏)2002-0031]。购买后适应性喂养3 d,温度为(23±1)℃,湿度60%,每12小时交替照明,自由饮水、饮食。

2 方法

2.1 黄芪当归合煎剂的制备

当归6 g、黄芪30 g合煎2次,第1次1 h,第2次30 min,合并2次煎煮滤液,浓缩成每1 ml含生药2 g的煎剂。

2.2 模型的复制与分组、给药

大鼠术前12 h禁食,自由进水,术前ip 10%水合氯醛溶液(3.5 ml/kg)。沿腹部正中线在中腹部正中切口,逐层切开分离皮肤、肌肉、腹白线进入腹腔后,用止血钳拉开两侧皮肤及腹部肌肉,用无菌纱布包裹腹腔内胃肠等脏器并拉向左侧(注意保护大血管),暴露腹膜后右侧肾脏,分离右侧肾蒂,于结肠脾曲外侧切开后腹膜,暴露左侧肾脏,游离左输尿管、肾上腺后再游离左肾蒂。稳定10 min后持续夹闭左、右肾动脉60 min,后恢复灌注。假手术组分离肾蒂仅定位肾动脉但不夹

闭,45 min后缝合腹腔^[4]。实验分为5组,即假手术(等容生理盐水)、模型(等容生理盐水)与黄芪当归合煎剂高、中、低剂量(18、9.0、4.5 g/kg)组。于手术前7 d ig 给药,每天1次,连续7 d,再灌注后30 min再ig 给药1次。

2.3 指标的测定

对大鼠再灌注24 h后断头取血,4℃下1 500 r/min离心15 min后取血清,测定血清肌酐(Scr)与尿素氮(BUN)含量;取新鲜肾组织,置玻璃匀浆器内,按1:9(m:m)比例加入冰冷等渗生理盐水,将肾组织研磨成10%匀浆,按试剂盒方法测定肾组织匀浆中MDA、GSH含量和SOD活性。以石蜡包埋组织标本进行连续切片(厚度5 μm),37℃下烘干12 h,然后进行HE染色,光镜下观察肾脏损伤的形态学变化,损伤参数按0~5分进行评估。高倍镜下选择20个肾皮质视野,观察肾小管损伤的情况,并接受受损小管占总肾小管比例评分:无病变为0分;<10%为1分;10%~<25%为2分;25%~<45%为3分;45%~75%为4分;>75%为5分。

2.4 统计学方法

实验数据均表示为 $\bar{x} \pm s$,用SPSS11.0软件包分析,组间比较用one-way ANOVA。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 黄芪当归合煎剂对模型大鼠Scr、BUN含量的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清Scr、BUN含量显著升高($P < 0.01$),表明大鼠肾小球滤过和肾小管分泌功能下降,泌尿系统紊乱导致内代谢终产物累积。与模型组比较,黄芪当归合煎剂高、中剂量组大鼠血清Scr、BUN含量显著降低($P < 0.05$),表明肾功能损伤有所缓解,但仍未恢复到正常水平。黄芪当归合煎剂对模型大鼠Scr、BUN含量的影响见表1。

表1 黄芪当归合煎剂对模型大鼠Scr、BUN含量的影响($\bar{x} \pm s$)
Tab 1 Effects of *Astragalus Radix* and *A. sinensis* decoction on the contents of Scr and BUN in model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	Scr,mmol/L	BUN,mmol/L
假手术组	12		13.26±2.18	9.63±2.51
模型组	12		55.74±7.36 [*]	36.72±3.04 [*]
黄芪当归合煎剂高剂量组	12	18	32.68±8.30 [#]	22.48±2.90 [#]
黄芪当归合煎剂中剂量组	12	9.0	39.41±8.79 [#]	27.61±2.45 [#]
黄芪当归合煎剂低剂量组	12	4.5	46.07±9.05	31.87±3.06

与假手术组比较:^{*} $P < 0.01$;与模型组比较:[#] $P < 0.05$

vs.sham-operation group:^{*} $P < 0.01$; vs.model group:[#] $P < 0.05$

3.2 黄芪当归合煎剂对模型大鼠SOD活性和MDA、GSH含量的影响

与假手术组比较,模型组大鼠肾组织匀浆MDA含量显著增加($P < 0.01$),GSH含量和SOD活性显著降低($P < 0.01$),表明大鼠体内脂质过氧化产物累积,抗氧化代谢水平严重紊乱。与模型组比较,黄芪当归合煎剂高、中剂量组大鼠肾组织MDA含量显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);SOD活性显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);GSH含量略有升高,但无显著性差异($P > 0.05$),表明高、中剂量黄芪当归合煎剂可一定程度上缓解缺血再灌注引起的脂质过氧化作用,改善体内的抗氧化代谢

水平。黄芪当归合煎剂对模型大鼠SOD活性和MDA、GSH含量的影响见表2。

表2 黄芪当归合煎剂对模型大鼠SOD活性和MDA、GSH含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of Astaragali Radix and *A. sinensis* decoction on the levels of SOD, MDA and GSH in AKI rats($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量, g/kg	MDA, nmol/mg	SOD, U/mg	GSH, mg/g
假手术组	12		4.23 ± 0.37	160.07 ± 5.13	269.49 ± 28.73
模型组	12		6.92 ± 1.08*	88.59 ± 27.14*	157.40 ± 43.08*
黄芪当归合煎剂高剂量组	12	18	4.95 ± 0.17**	144.36 ± 15.28**	186.32 ± 42.04
黄芪当归合煎剂中剂量组	12	9.0	5.84 ± 0.23*	121.82 ± 16.35*	178.45 ± 42.19
黄芪当归合煎剂低剂量组	12	4.5	6.29 ± 0.36	98.61 ± 18.05	165.81 ± 40.37

与假手术组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$
vs.sham-operation group: * $P < 0.01$; vs.model group: ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

3.3 黄芪当归合煎剂对模型大鼠肾小管损伤评分的影响

模型组大鼠肾小管上皮细胞刷状缘丢失、小管内管型形成、小管扩张、红细胞溢出和肾小管萎缩。黄芪当归合煎剂高、中、低剂量组均有不同情况改善,其中高、中剂量组改善程度较明显。

与假手术组比较,模型组肾小管损伤评分显著增加($P < 0.01$),表明大鼠肾小管结构破坏严重。与模型组比较,黄芪当归合煎剂高、中剂量组肾小管损伤评分显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明高、中剂量黄芪当归合煎剂可一定程度上缓解缺血再灌注引起的肾小管结构紊乱。黄芪当归合煎剂对模型大鼠肾小管损伤评分的影响见表3。

表3 黄芪当归合煎剂对模型大鼠肾小管损伤评分的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of Astaragali Radix and *A. sinensis* decoction on renal tubular injury score in model rats($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量, g/kg	肾小管损伤评分
假手术组	12		0.184 ± 0.079
模型组	12		3.526 ± 0.121*
合煎剂高剂量组	12	18	2.130 ± 0.118**
合煎剂中剂量组	12	9.0	2.795 ± 0.104*
合煎剂低剂量组	12	4.5	3.361 ± 0.113

与假手术组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$
vs.sham-operation group: * $P < 0.01$; vs.model group: ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

4 讨论

缺血再灌注可导致气管功能减退,组织受损,甚至出现非致死性损伤转变为致死性损伤的严重后果^[5],预实验中笔者选择再灌注后3、6、12、24、48 h大鼠进行操作,结果发现再灌注24 h时模型大鼠各项病理指标水平最高,因此正式实验时选择再灌注24 h模型。

Scr一般认为是内生血肌酐,是人体肌肉代谢的产物。在肌肉中,肌酐主要通过不可逆的非酶脱水反应缓缓地形成肌

酐,再释放到血液中,随尿排泄。因此,Scr与体内肌肉总量关系密切,不易受饮食影响。Scr是小分子物质,可通过肾小球滤过,在肾小管内很少吸收,每日体内产生的Scr几乎全部随尿排出,一般不受尿量影响。临床上检测Scr是常用的了解肾功能的主要方法之一,同时也是肾功能的重要指标,Scr升高意味着肾功能损害。BUN是人体蛋白质代谢的主要终末产物,与Scr一样,在肾功能损害早期,BUN可在正常范围,当肾小球滤过率下降到正常的50%以下时,BUN的浓度才迅速升高。谷胱甘肽过氧化物还原酶可抑制脂质过氧化的启动或终止脂质过氧化的发展,起到保护细胞膜结构和功能完整的作用,可将氧化型谷胱甘肽(GS-SG)催化反应成还原型GSH。MDA、SOD均可间接反映体内过氧化程度或清除自由基的能力。因此,GSH同MDA、SOD一样是反映体内氧化代谢水平的指标^[6-7]。

本研究中,高、中剂量黄芪当归合煎剂可显著降低模型大鼠血清Scr、BUN含量,肾组织匀浆MDA含量($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),显著升高SOD活性($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),显著减少肾小管损伤评分($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),同时增加GSH含量,但无显著性差异($P > 0.05$)。以上结果表明,黄芪当归合煎剂对AKI模型大鼠有一定的保护作用。

参考文献

- [1] Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(6): 1 597.
- [2] Wamoch DG. Towards a definition and classification of acute kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(11): 3 149.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 247.
- [4] Johnson DW, Pat B, Vesey DA, et al. Delayed administration of darbepoetin or erythropoietin protects against ischemic acute renal injury and failure[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(10): 1 806.
- [5] 崔世涛, 葛奎, 徐兵, 等. 抗细胞间黏附分子-1抗体对心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2008, 25(1): 86.
- [6] Taguchi T, Nazneen A, Abid MR, et al. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events[J]. *Contrib Nephrol*, 2005, 148: 107.
- [7] Kuriakose GC, Kurup MG. Effects of aulosira fertilissima against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats[J]. *Ren Fail*, 2010, 32(2): 224.

(收稿日期: 2013-01-15 修回日期: 2013-01-28)