

文章编号: 1674-8085(2018)06-0092-04

通腑泄浊法对 CKD 模型大鼠肾功能及 肠道屏障功能的影响

*钟 丹, 黄宇清, 萧建华, 王 霞, 肖凤仪

(井冈山大学医学部, 江西, 吉安 343000)

摘 要: **目的** 探讨通腑泄浊法对慢性肾脏病 (CKD) 模型大鼠肠道屏障功能的影响, 初步探讨其延缓 CKD 进展的机理。**方法** 应用 5/6 肾切除法构建 CKD 大鼠模型, SD 雄性大鼠 120 只随机分为空白组, 模型组, 通腑泄浊组 (高、中、低剂量), 药用炭组, 每组 20 只, 从模型建立后开始灌肠, 疗程 4 周, 第 4 周末检测血清肌酐, 血硫酸吡啶酚水平, 观察肾组织病理结构变化。**结果** CKD 模型组大鼠肾组织可见肾小管上皮细胞变性、间质炎性细胞浸润、纤维组织增生等病理变化, 通腑泄浊组与 CKD 模型组大鼠相比较均有不同程度的改善, 其中以通腑泄浊高剂量组改善最为明显。通腑泄浊各剂量组和药用炭组血内毒素、D-乳酸含量明显下降 ($P < 0.05$), 且高剂量组比药用炭组下降更为明显 ($P < 0.05$)。**结论** 通腑泄浊法具有一定的保护肾脏和抗肾间质纤维化的作用, 降低大鼠血内毒素、D-乳酸含量, 保护肠粘膜屏障功能可能是其机制之一。

关键词: 中药灌肠; 肠粘膜屏障; 慢性肾脏病

中图分类号: R256.51

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2018.06.018

EFFECT OF THE METHOD "TONG FU XIE ZHUO" ON RENAL FUNCTION AND INTESTINAL BARRIER FUNCTION IN CKD MODEL RATS

*ZHONG Dan, HUANG Yu-qing, XIAO Jian-hua, WANG Xia, XIAO Feng-yi

(Department of Medicine, Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343000, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of the method of "Tong Fu Xie Zhuo" on the intestinal barrier function in rats with chronic kidney disease (CKD), and explore the mechanism of delaying the progress of CKD. **Methods:** The rat model of CKD was established by 5 / 6 nephrectomy. 120 SD male rats were randomly divided into blank group, model group, high, middle and low dosage group (high, middle and low dosage) and medicinal charcoal group (20 rats in each group). The rats were given with enema for 4 weeks. Serum creatinine was detected at the end of the 4th week. **Results:** Renal tubular epithelial cell degeneration was observed in CKD model group. The pathological changes, such as interstitial inflammatory cell infiltration, fibrous tissue proliferation and so on, were improved in different degrees in the group of purge turbidity of the Fu organs compared with the rats in the CKD model group, especially in the group of high dosage of purging turbidity of the Fu organs. The contents of endotoxin and D-lactic acid in blood of each dosage group and medical charcoal group

收稿日期: 2018-09-02; 修改日期: 2018-10-22

基金项目: 江西省科技厅社发计划项目(20151BBG701453)

作者简介: *钟 丹(1974-), 男, 江西于都人, 副教授, 博士, 主要从事中西医结合防治肾脏疾病的研究(E-mail:zd93139@163.com);

黄宇清(1978-), 女, 江西泰和人, 副教授, 硕士, 主要从事肾脏疾病防治的研究(E-mail:C7832@163.com);

萧建华(1978-), 女, 江西吉安人, 讲师, 主要从事小儿肾脏疾病防治的研究(E-mail:zhpxjh@126.com);

王 霞(1979-), 女, 江西吉安人, 讲师, 主要从事临床病理检测研究(E-mail:18815828@qq.com);

肖凤仪(1981-), 女, 江西吉安人, 讲师, 硕士, 主要从事中医药防治免疫性疾病的研究(E-mail:xiaofengyi2003@163.com).

were significantly decreased ($P < 0.05$). The high dose group was significantly lower than that of the medicinal carbon group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The method of "Tong Fu Xie Zhuo" can protect kidney and prevent renal interstitial fibrosis, and decrease the contents of endotoxin and D-lactic acid in blood of rats. Protection of intestinal mucosal barrier function may be one of its mechanisms.

Key words: traditional Chinese medicine enema; intestinal mucosal barrier; CKD

慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 包括了慢性肾小球肾炎、肾小管间质病变等原发性肾损害及高血压、糖尿病等继发性肾脏损害, 具有隐匿性、治疗难度大、病情复杂多变等特征, 因此需要中西医结合治疗, 才能从根本上减少慢性肾脏疾病的发病率, 延缓肾功能衰退的进展。肠道在多种尿毒症毒素的代谢过程中都起着重要作用^[1]。肠粘膜屏障是机体与外界之间的主要屏障, 既可以阻止外界有害物质的入侵, 又可以防止体内物质的流失。CKD 的患者肠腔内堆积大量代谢废物, 肠道微生态及肠道粘膜屏障功能发生显著改变, 内毒素、D-乳酸、硫酸吡啶酚等肠源性毒素的大量产生, 最终导致 CKD 进一步加重^[2]。因此, 以肠道作为靶点, 清除肠源性毒素等, 逐渐成为国内外控制慢性肾衰进展的重要方法和手段。本课题组研究中采用通腑泄浊类中药复方灌肠治疗, 观察通腑泄浊法对 CKD 大鼠肠道屏障功能的保护作用, 探讨其延缓 CKD 的机制。

1 材料与方法

1.1 实验药物

通腑泄浊方: 黄芪 20 g、大黄 30 g、牡蛎 30 g、蒲公英 30 g, 以上药材由井冈山大学附属医院中药房提供, 由井冈山大学医学部药理教研室经煎煮、过滤、水浴蒸发分别浓缩至每毫升含生药材 1、2、3 g, 即低、中、高 3 个剂量, 置 4℃ 冰箱保存备用; 药用碳片购自河北长天药业有限责任公司, 国药准字 H13022797。

1.2 实验动物及分组

健康 SD 雄性大鼠 (体质量 200 ± 10 g), 清洁级, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 合格证号: 0003467。适应性喂养 1 周后, 随机分为: 空白组, 模型组, 药用炭组, 通腑泄浊低剂量组, 通腑泄浊中剂量组, 通腑泄浊高剂量组, 每组 20 只,

自由饮水、进食。

1.3 造模及给药方法

采用 5/6 肾切除造模方法^[3], 使用 10% 水合氯醛 0.3 mL/100 g (体重) 进行腹腔麻醉后, 从距左肋骨下缘、脊柱旁开 2 处皮肤做一纵向切口, 暴露左侧肾脏, 用止血钳和手剥离肾周脂肪和包膜, 使用动脉夹夹闭左侧肾蒂, 眼科小手术剪切除左肾上、下极外侧共 2/3 肾实质, 明胶海绵压迫创面止血, 小心将残肾还纳入腹腔, 逐层缝合肌层、皮下及皮肤, 局部消毒。一周后摘除右肾, 结扎右肾血管, 麻醉及手术过程相同, 即可制备成 5/6 肾切除大鼠模型。假手术模型即分别同时进行开腹后暴露双侧肾脏后, 还纳肾脏后, 缝合肌肉、皮下及皮肤, 其他步骤同上。各组均于模型建立后进行灌肠, 通腑泄浊方灌肠量分别按 3、2、1 g/(kg·d) 灌肠给药。模型组以等量生理盐水灌肠。药用炭组灌肠量为 1.5 g/(kg·d)。灌肠量均为 5 mL/次, 每日 1 次。

2 观察指标及检测方法

2.1 血肌酐测定

采用日立 7170A 型全自动生化测定仪测定。

2.2 内毒素、D-乳酸测定

采用改良的酶学分光光度法进行。试剂盒购自上海丰寿生物科技有限公司, 操作步骤严格按说明书执行。

2.3 病理检测

留取肾脏组织, 以 10% 中性甲醛固定后, 脱水、浸蜡、石蜡包埋, 切成 4 μ m 厚度石蜡切片, 分别行 HE 染色及 Masson 染色, 光镜下观察肾小管间质的结构变化。

2.5 统计学方法

各组数据用均数 $\pm$ 标准差表示 ($\bar{X} \pm S$), 采用 SPSS13.0 统计软件包对检测数据进行统计分析。组

间比较采用单因素方差分析，方差不齐者改用秩和检验的 Kruskal—Wallish 方法进行多个样本比较及两两比较。

3 实验结果

3.1 对模型大鼠肾脏组织病理形态的影响

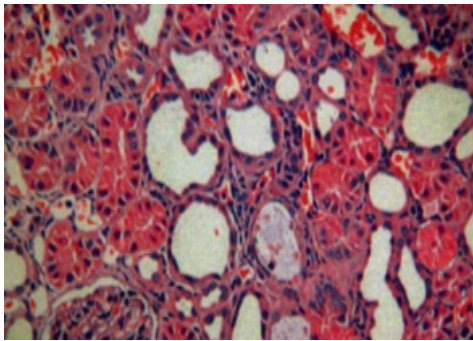


图 1 模型组 HE 染色×200
Fig.1 Model group HE staining×200

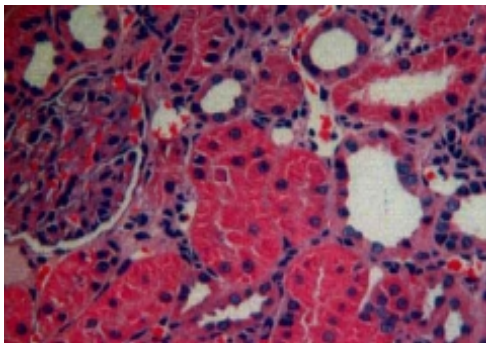


图 3 通腑泄浊高剂量组 HE 染色×200
Fig.3 High dose group HE staining×200

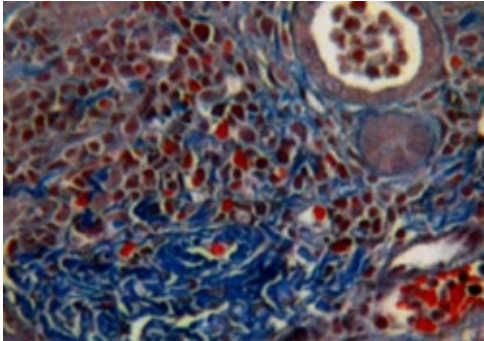


图 2 模型组 Masson 染色×200
Fig.2 Model group Masson staining×200

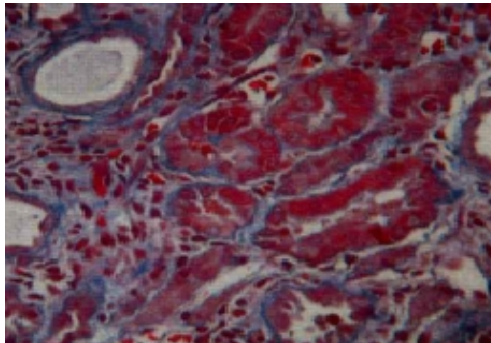


图 4 通腑泄浊高剂量组 Masson 染色×200
Fig.4 High dose group Masson staining×200

HE、Masson 染色观察：CKD 模型组出现肾间质炎细胞浸润，纤维组织增生，伴有小管上皮细胞颗粒、空泡变性，部分肾小管上皮细胞坏死脱落，可见肾小管灶状萎缩；药用炭组、通腑泄浊组病理变化较 CKD 模型组有一定程度的减轻，而通腑泄浊高剂量组减轻最为明显（见图 1、2、3、4）。

3.2 对模型大鼠血肌酐、内毒素、D-乳酸的影响

与空白组比较，各组大鼠血肌酐、血尿素氮、内毒素、D-乳酸水平均明显上升，模型组升高尤其明显（ $P < 0.01$ ），反映模型构建成功。与模型组相

比较，通腑泄浊各剂量组及药用炭组血肌酐水平在上述指标上均有不同程度的降低，其中以通腑泄浊高剂量组降低尤为明显（ $P < 0.05$ ）（见表 1）。

表1 各组大鼠血肌酐、内毒素、D-乳酸值比较（ $\bar{X} \pm S$ ）

Table1 Cmparing the level of the serum creatinine、endotoxin and D-lactic acid values in rats of each group

组别	n	血肌酐（ $\mu\text{mol/L}$ ）	内毒素(EU/mL)	D-乳酸(mmol/L)
空白组	6	41.76 ± 20.33	228.21 ± 16.5	1.21 ± 0.03
模型组	6	$72.35 \pm 13.76^{**}$	$358.52 \pm 36.4^{**}$	$3.21 \pm 0.02^{**}$
药用炭组	6	$48.33 \pm 12.01^{**}$	$338.35 \pm 32.3^{**}$	$3.06 \pm 0.01^{**}$
通腑泄浊高剂量组	6	$45.27 \pm 11.53^{**}$	$288.78 \pm 32.3^{**\Delta}$	$1.98 \pm 0.13^{**\Delta}$
通腑泄浊中剂量组	6	$47.58 \pm 15.23^{**}$	$339.27 \pm 42.3^{**}$	$2.91 \pm 0.26^{**}$
通腑泄浊低剂量组	6	$47.70 \pm 13.23^{*}$	$337.15 \pm 35.7^{**}$	$3.12 \pm 0.16^{**}$

注：与空白组比较：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较： $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$

4 讨论

传统中医理论认为 CKD 病理机制错综复杂,表现为本虚标实、虚实夹杂之证,主要以脾肾亏虚贯穿疾病始末;因脾肾亏虚致肾失开阖、脾失运化而使湿浊、水气、血瘀等浊毒内蕴,从而加重疾病。浊毒在慢性肾衰疾病发展中既是病理产物,又是致病因素,其性缠绵,为病情迁延不愈之关键,因此健脾益肾、通腑泄浊法是临床治疗的重要治法^[4-5]。

唐代孙思邈在《备急千金要方》中指出:“欲疗诸病,当先以汤荡涤五脏六腑,开通诸脉,治道阴阳,破散邪气,润泽枯朽,悦人皮肤,益人气血”,很好地诠释了通下法在中医治则中的重要性。中药灌肠改变了传统的给药途径,通过将药物直接作用于肠道内,再经血液循环,使药效到达靶器官,进而发挥治疗效果。此外,肠道给药既能对肠道中的有害菌群进行抑制,减少肠道中蛋白分解,又能使肠道黏膜血管通透性增加,促进肠蠕动,促使肠道将体内毒素排出体外,进而抑制尿毒症毒素,避免肾脏受到进一步损害^[6-8]。

通腑泄浊灌肠方在我院临床使用多年,对于 CKD3~4 期之前的患者疗效显著,对于慢性肾衰患者的临床症状及肾功能均有改善作用。灌肠方由黄芪 20 g、大黄 30 g、蒲公英 30 g、牡蛎 30 g 组成。方中黄芪补益脾肾,大黄通腑泻浊祛湿,蒲公英解毒而利湿浊,牡蛎滋阴潜阳。现代药理研究也显示:大黄具有泻下作用,能促进肠道毒素的排泄,抑制肾间质纤维化及肾小球硬化,延缓慢性肾衰进程;蒲公英抗菌消炎,降低肠道毒素,抑制肠道细菌的繁殖;牡蛎能防止大黄泻下之力太过,又可增加灌肠液的渗透压,有助于周围组织向肠道内分泌毒

素。在本研究中也观察到,随着中药灌肠剂量的加大,CKD 模型大鼠的血肌酐、血尿素氮以及反映肠粘膜屏障功能的两个重要指标——内毒素和 D-乳酸的含量均有一定程度的下降。肾脏组织病理观察也发现灌肠方可以减轻模型大鼠肾组织的病理损害。

本研究结果表明:通腑泄浊中药复方灌肠治疗可以在一定程度上改善模型大鼠肾小管间质的微观病理损害,降低血肌酐、内毒素和 D-乳酸的含量,对 CKD 大鼠肠粘膜屏障具有一定的保护作用,可能是其延缓 CKD 进展的机制之一。

参考文献:

- [1] Eddy A A. Progression in chronic kidney disease[J].Adv Chronic Kidney Dis,2005,12:353-365.
- [2] Volpini R A, Costa R S, da Silva C G, et al. Inhibition of nuclear factor-kappaB activation attenuates tubulointerstitial nephritis induced by gentamicin[J]. Nephron Physiol, 2004,98(4):97-106.
- [3] 曾玉群. 大黄及其活性物质灌肠对慢性肾脏病模型大鼠作用的分子机制[D].广州:广州中医药大学,2017:28.
- [4] 沈庆法. 中医临床肾脏病学[M].上海:上海中医药大学出版社,2007:63
- [5] 王刚,陈以平,邹燕勤. 现代中医肾脏病学[M].北京:人民卫生出版社, 2003:1057.
- [6] 朱玮玮,孙伟. 益肾清利、和络泄浊法对延缓中老年 CKD 3 期患者病情进展的临床观察[J].中国继续医学教育,2017,9(25):109-111.
- [7] 黄映红,袁新科,唐春莲,等. 结肠透析联合双歧杆菌对 CKD 患者 IS、PCS、PTH 的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2017,18(2):136-138.
- [8] 陈建胜,庄昌辉,罗彤,等. 中药灌肠联合常规疗法治疗慢性肾脏病效果观察[J].新中医,2017,49(3):50-52.