

肝豆灵干预铜负荷大鼠肾损伤的代谢组学研究*

蒋怀周¹, 王 键¹, 许晶晶², 董继扬²

(1. 安徽中医药大学中医临床学院, 安徽 合肥 230031;

2. 厦门大学电子科学系, 福建省等离子体与磁共振研究重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: **目的** 分析肝豆灵对铜负荷大鼠肾损伤的代谢组学影响,探讨肝豆灵的肾脏排铜机制。**方法** 实验大鼠被随机分为正常组、模型组和肝豆灵组。造模结束后,以 TUNEL 法测肾小管上皮细胞凋亡,核磁共振技术结合偏最小二乘判别分析法分析大鼠肾组织小分子代谢物。**结果** 与正常组比较,模型组肾小管上皮细胞凋亡指数升高($P<0.01$);苯丙氨酸、丙氨酸、酪氨酸、谷氨酸、赖氨酸、缬氨酸、亮氨酸、肌苷、天冬氨酸含量降低。与模型组相比,肝豆灵组肾小管上皮细胞凋亡指数降低($P<0.01$);苯丙氨酸、丙氨酸、酪氨酸、谷氨酸、赖氨酸、缬氨酸、亮氨酸、肌苷、天冬氨酸含量升高。**结论** 肝豆灵对铜负荷大鼠肾损伤具有一定的干预作用,其机制可能涉及对芳香族氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸)、支链氨基酸(亮氨酸、缬氨酸)的调节;抑制肾小管上皮细胞凋亡、调节肾脏氨的代谢。

关键词: 代谢组学;铜中毒;肾损伤;肝豆灵

中图分类号: R28

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)06-0008-05

Wilson 病(Wilson disease, WD)是一种常染色体隐性遗传性疾病,由英国神经病学家 Samuel Alexander Kinnier 在 1912 年首次描述而得名。该病患者由于 ATP7B 基因缺陷,导致机体合成铜蓝蛋白障碍、胆汁排铜减少,铜离子沉积于各组织器官^[1]。若铜沉积于肾脏,可致肾小管损伤,重吸收功能发生障碍,引起相应临床表现。

中医药治疗本病具有一定的优势,其中,肝豆灵片以肝豆汤为基本方优化组合而成,是安徽省中医院院内制剂,被应用于临床已有 40 年历史^[2-3],临床实践及科研实验证明本方对 WD 具有一定的排铜和治疗作用^[4-5]。本实验以代谢组学方法对肝豆灵干预的铜负荷大鼠肾组织进行研究,期望从小分子代谢角度,探讨肝豆灵的肾脏排铜机制。

1 材料与方法

1.1 试剂

硫酸铜(上海国药集团);乙醚(上海苏懿化学试剂有限公司);TUNEL 试剂盒(美国 Roche 公司);甲醇(国药集团化学试剂有限公司);三氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠,3 月龄,体质量(200 ± 20)g,实验动物许可证号:SCXK(皖)2011-002,由安徽医科大学实验动物中心提供,饲养于安徽中医药大学省部共建教育部重点实验室。

1.3 实验仪器

石蜡切片机(安徽合肥电子研究所);病理图像分析仪(武汉清平影像技术有限公司);Beckman 离心机(美国 Beckman 公司);移液器(德国 Eppendorf 公司);显微镜(日本 Olympus 公司);高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司);冷冻干燥机(北京博医康试验仪器有限公司);布鲁克 600MHz 核磁共振谱仪(德国布鲁克公司)。

1.4 动物模型制备

造模过程中,正常组始终自由饮水摄食,模型组和肝豆灵组以铜负荷法^[6]复制模型大鼠:连续 12 周喂饲含硫酸铜的饲料(1g/kg)和水(0.185%)。自第 7 周开始,每日 1 次,以肝豆灵灌胃肝豆灵组大鼠,药物灌胃剂量为 0.486g/kg;模型组和肝豆灵组以等容量生理盐水灌胃。依据文献[7],若偏最小二乘判

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金(81202691);安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2012Z228);安徽中医学院自然科学基金(2011ZR008B);安徽省高校博士后岗位项目基金

收稿日期:2015-10-21

作者简介:蒋怀周(1978-),女,安徽亳州人,讲师,医学博士,主要研究方向:Wilson 病的代谢组学研究。

E-mail:jhzlinda@hotmail.com

别分析(PLS-DA)得分图中,3 组大鼠分别处于不同区域,且组内较为聚集,说明 3 组大鼠代谢有差异,造模成功。造模过程中,去除不明原因死亡大鼠,剩余大鼠为正常组 8 只,模型组 10 只,肝豆灵组 17 只。

1.5 样本采集

造模结束后,将大鼠乙醚吸入麻醉,取新鲜肾组织,一份以液氮速冻后,置于超低温冰箱-80℃保存,以备 NMR 检测;另一份从每组随机取 6 个样品,以 10%中性缓冲福尔马林固定,石蜡包埋,待测肾小管上皮细胞凋亡情况。

2 实验方法

2.1 细胞凋亡检测

结合文献[8],参照 Roche 公司 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒说明书操作实验。正常肾小管上皮细胞核呈蓝色,阳性细胞(凋亡细胞)核呈棕褐色者。每张片随机取 3 个肾小管视野,计算肾小管上皮细胞凋亡指数(Apoptosis Index, AI),计算方法:AI=凋亡细胞数/总细胞数×100%。以 SPSS19.0 统计软件分析所得数据,实验结果计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.2 肾组织提取

将所取肾组织加入由甲醇和蒸馏水配置的溶液里,低温匀浆;加氯仿漩涡;加蒸馏水漩涡;低温高速(4℃, 10 000r/min)离心样品;所得上清液移至离心管;真空干燥箱抽干甲醇;冻干机中将剩余液体冻干成粉末,保存于超低温冰箱-80℃。

2.3 ^1H NMR 谱采集

常温解冻粉末样品,加入含 TSP 的重水配置的磷酸盐缓冲液震荡;低温离心(4℃, 10 000r/min) 10min,取上清液转移至核磁管内。以 Bruker 600MHz 谱仪核磁采样,实验温度 296K。预饱和脉冲序列 ZGPR(RD-90°-ACQ)采集 ^1H NMR 谱,谱宽 12kHz,弛豫延时 2s,采样点数 32K,累加次数 64 次。

2.4 ^1H NMR 谱图处理

MestreNova 9.0 软件打开 fid 数据,傅里叶变换为 NMR 谱。以 TSP 谱峰为零点定标 NMR 谱,相位校正和基线校正 NMR 谱,以自编软件进行谱峰对齐,截去残余水信号和甲醇信号后,对剩余区域进行分段积分。对所得数据进行概率商归一化(PQN)^[9],将数据导入 SIMCA-P 软件(version 14.0, Umetrics,

Sweden)进行多变量分析。

3 结果

3.1 肾小管上皮细胞凋亡结果

肾小管上皮细胞凋亡检测结果如图 1 所示:正常组肾小管上皮细胞凋亡较少,呈散在分布;与正常组相比,模型组上皮细胞凋亡指数增多($P < 0.01$);与模型组相比,肝豆灵组上皮细胞凋亡指数减少($P < 0.01$),见表 1。

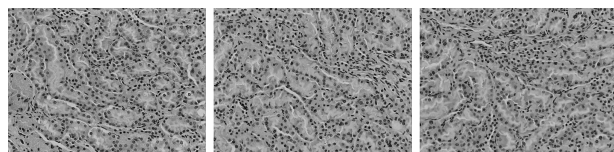


图 1 肾小管上皮细胞凋亡(TUNEL, ×400)

表 1 3 组大鼠肾小管上皮细胞凋亡指数

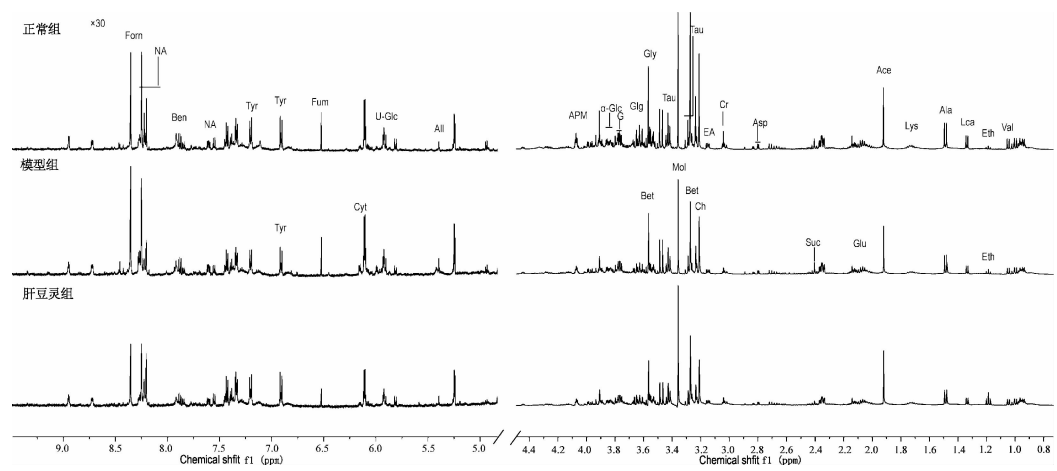
组别	<i>n</i>	凋亡指数(AI)/%
正常组	6	26.86 ± 5.61
模型组	6	71.03 ± 7.18 [△]
肝豆灵组	6	47.82 ± 9.32 ^{△*}

注:与正常组比较, $^{\Delta}P < 0.01$, 与模型组比较, $^{*}P < 0.01$

3.2 代谢轮廓分析

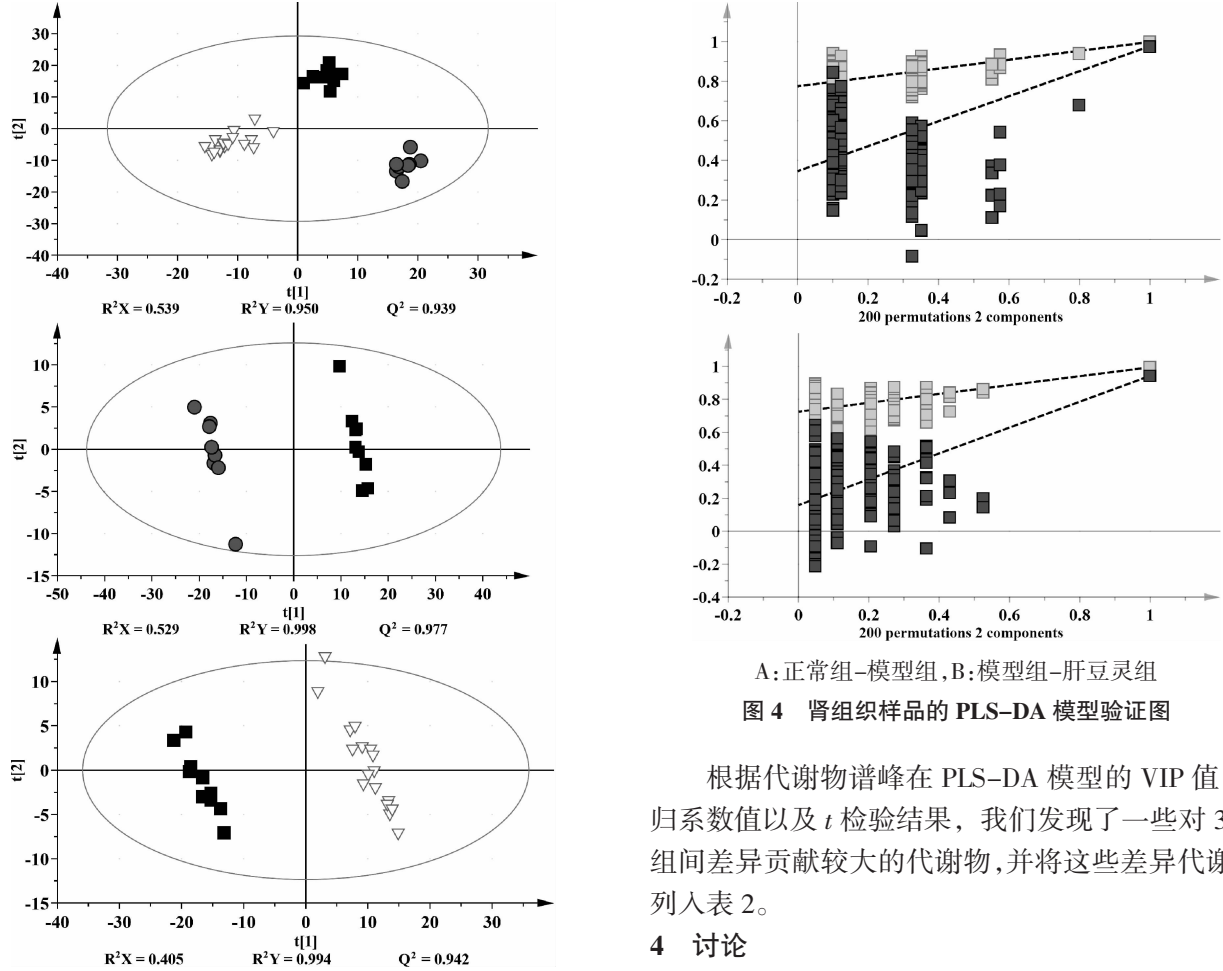
大鼠肾组织典型 ^1H NMR 谱见图 2。参照相关文献 [10-11] 和 HMDB 数据库(<http://www.hmdb.ca>),将代谢物作出如下归属:

为了分别分析 3 组代谢物之间的差异,我们对样品预处理后的数据进行 PLS-DA 分析。根据 PLS-DA 得分图里点的聚集情况可以判断样品类别差异,本实验 3 组样品分别在得分图(图 3)中处于不同区域,说明样品间存在代谢差异。 R^2X 、 R^2Y 和 Q^2 是所建立模型的质量评价指标,交叉核实参数 Q^2 是模型的累积预测程度,可反映预测结果的真实性, $Q^2 > 0.4$ 时模型的预测结果可通过^[12],而本实验正常组-模型组-肝豆灵组、正常组-模型组、模型组-肝豆灵组的 Q^2 分别为 0.939, 0.977, 0.942。对本实验样品的 PLS-DA 模型进行 200 次的排列实验,如图 4 所示,正常组-模型组、模型组-肝豆灵组模型的解释能力 R^2 和预测能力 Q^2 拟合线斜率大于 0,提示它们在 PLS-DA 模型得分图的区分并非偶然,模型有效,验证通过,结合本实验细胞凋亡结果,说明造模成功^[7],药物干预有效。



NA, 烟碱; Tyr, 酪氨酸; Fum, 延胡索酸; All, 尿素囊; Gly, 甘氨酸; Tau, 牛磺酸; EA, 乙醇胺; Cr, 肌酸; Asp, 天冬氨酸; Ace, 乙酸; Lys, 赖氨酸; Ala, 丙氨酸; Eth, 乙醇; Val, 缬氨酸; Tyr, 酪氨酸; Glu, 谷氨酸

图 2 3 组大鼠肾组织的典型 ^1H NMR 谱



A: 正常组-模型组-肝豆灵组, B: 正常组-模型组, C: 模型组-肝豆灵组
● 为正常组, ■ 为模型组, ▽ 为肝豆灵组

图 3 肾组织样品的 PLS-DA 得分图

A: 正常组-模型组, B: 模型组-肝豆灵组

图 4 肾组织样品的 PLS-DA 模型验证图

根据代谢物谱峰在 PLS-DA 模型的 VIP 值、回归系数值以及 t 检验结果, 我们发现了一些对 3 组组间差异贡献较大的代谢物, 并将这些差异代谢物列入表 2。

4 讨论

肾脏是机体代谢最重要的器官之一, 通过尿液的生成和排泄, 它可以排出人体大部分的代谢最终产物, 调节人体水、电解质和酸碱平衡, 维持机体内环境相对稳定。WD 患者肾组织铜含量约比正常人

表 2 大鼠肾组织特征代谢物

代谢物	$\delta^1\text{H}$	VIP 值	正常组- 模型组	模型组- 肝豆灵组
苯丙氨酸	7.391	1.396 61/1.504 42	↓	↑
丙氨酸	1.496	1.328 75/1.240 36	↓	↑
酪氨酸	7.190	1.376 53/1.514 32	↓	↑
谷氨酸	2.146	1.378 8/1.467 89	↓	↑
赖氨酸	1.709	1.368 93/1.576 3	↓	↑
缬氨酸	1.004	1.307 33/1.516 84	↓	↑
亮氨酸	0.957	1.358/1.547 94	↓	↑
肌苷	8.203	1.344 3/1.540 86	↓	↑
天冬氨酸	2.836	1.309 83/1.458 74	↓	↑

高 10 倍左右,由于肾小管上皮细胞的特殊结构和功能,铜主要沉积在 WD 患者肾脏近端小管、远端小管,肾小球囊亦有铜粒沉着。光镜下可见患者近端肾小管上皮细胞扁平化、基底膜增厚、刷状缘消失,部分远端小管上皮轻度脂肪变性,肾小球毛细血管管腔狭窄或者闭塞。随着病情加重,患者可出现肾小管重吸收功能障碍,临床表现为肾性糖尿、蛋白尿和氨基酸尿等,少数患者可发生肾小管性酸中毒、肾病综合征等^[13]。本实验模型组大鼠肾组织细胞凋亡指数增高,肝豆灵组大鼠肾组织细胞凋亡指数降低,说明铜负荷造模对大鼠肾脏造成了一定的损伤,而肝豆灵可有效抑制铜负荷所导致的肾损伤。

肝豆灵主要由大黄、黄连、黄芩、半枝莲、穿心莲、草薢、泽泻、金钱草等组成。其中,大黄清热通腑,荡涤热结,黄连、黄芩、半枝莲、穿心莲苦寒清热,泻火解毒,草薢、泽泻、金钱草泻热通淋、利湿祛浊。以上诸药合用,可起到清热解毒、通腑利尿的作用,不仅能够促进尿铜的排泄,还可以促进铜从其正常渠道胆汁排出。以肝豆灵治疗 WD 肾损伤患者,发现本方可降低患者的尿微量蛋白含量,提示肝豆灵对 WD 肾损伤具有一定的干预作用^[14]。本方的君药是大黄,现代医学发现,以大黄水煎剂干预慢性肾功能衰竭大鼠,可降低模型大鼠血清肌酐和尿素氮水平,改善肾性贫血症状,纠正钙、磷、镁等电解质代谢紊乱和酸中毒,改善蛋白质代谢紊乱,对肾小管损伤有一定的保护作用^[15]。在同样是金属中毒所致的肾损伤研究中发现,大黄的有效成分大黄酸可降低镉中毒所引起的氧化应激反应,减轻亚慢性镉中毒小鼠的肾损伤^[16]。本方其他成分如半枝

莲具有抗氧化活性,能够减轻小鼠肾脏氧化应激所致细胞凋亡^[17],黄连^[18]、黄芩^[19]、草薢^[20]、金钱草^[21]、泽泻^[22]对多种肾脏损伤具有不同角度的干预作用。

本实验以肝豆灵干预铜负荷模型大鼠,结果显示模型大鼠苯丙氨酸、丙氨酸、酪氨酸、谷氨酸、赖氨酸、缬氨酸、亮氨酸、肌苷、天冬氨酸含量降低,给予肝豆灵干预后,这些小分子含量有所恢复。

苯丙氨酸和酪氨酸属于芳香族氨基酸,苯丙氨酸羟化酶可催化苯丙氨酸生成酪氨酸。肾脏与芳香族氨基酸的合成、分解和排泄密切相关,是体内芳香族氨基酸代谢的主要器官之一^[23],也是苯丙氨酸转化为酪氨酸的一个重要场所^[24]。文献报道通过测芳香族氨基酸含量,可以帮助探知肾损伤情况^[25-26]。在代谢组学研究中亦发现,肾损伤时芳香族氨基酸含量具有一定的改变^[16,27],本实验模型组大鼠肾组织苯丙氨酸和酪氨酸含量发生了变化,与以上研究结果相符。经肝豆灵干预后,大鼠这两种氨基酸含量有所恢复,说明肝豆灵对铜负荷肾损伤的干预可能涉及芳香族氨基酸的代谢。

亮氨酸和缬氨酸属于支链氨基酸,是人体必需氨基酸,它们作为氮的载体,在维持机体氮平衡和蛋白质代谢中发挥着重要的作用。临床上对于肾损伤的患者,可补充支链氨基酸,增加体内蛋白合成,降低血尿素氮水平,有助于恢复病人的体能,是肾损伤病人重要的支持治疗手段^[28-29]。以基因组学和蛋白质组学研究纳米铜对肾脏的影响,发现铜染毒大鼠肾损伤涉及支链氨基酸的异常降解^[30]。对模型小鼠狼疮性肾炎研究发现,中成药昆仙胶囊可升高模型小鼠异常降低的支链氨基酸水平,可能是该药的治疗作用途径之一^[31]。以上研究结果提示,肾损伤可能与支链氨基酸代谢具有一定的联系。本实验模型组亮氨酸和缬氨酸含量降低,经肝豆灵干预后其含量回升,提示肝豆灵可能通过调节支链氨基酸的代谢,帮助维持机体氮的平衡,干预铜过量对肾脏的损伤。

谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸是参与氮代谢的重要氨基酸,氮在肾脏的代谢主要由肾小管上皮细胞完成。肝豆灵干预后,大鼠肾组织谷氨酸、丙氨酸和天冬氨酸含量向正常范围恢复,且肾小管上皮细胞凋亡指数较模型组有所降低,可能提示肝豆灵对氮的代谢具有调节作用,或许与抑制肾小管上皮细胞凋亡具有一定联系。

本实验中,我们以核磁共振代谢组学方法分析肝豆灵干预铜负荷大鼠后,大鼠肾组织小分子代谢物的变化,发现肝豆灵对铜负荷大鼠肾损伤具有一定的干预作用,其机制可能涉及对芳香族氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸)、支链氨基酸(亮氨酸、缬氨酸)的调节;抑制肾小管上皮细胞凋亡、调节肾脏氨的代谢。本结果可为临床对 WD 患者的肾损伤治疗提供一定的机制参考。

参考文献:

- [1] Dalvi A, Padmanaban M. Wilson's disease: etiology, diagnosis, and treatment[J]. Dis Mon, 2014, 60(9): 450-459.
- [2] 杨任民, 鲍远程, 杨兴涛, 等. “肝豆汤”对 37 例肝豆状核变性症的驱铜观察[J]. 安徽中医学院学报, 1983(3): 41.
- [3] 张波, 江婷战, 王晓旻, 等. 肝豆灵及谷胱甘肽口服治疗肝豆状核变性临床研究[J]. 中国中医急症, 2010, 19(5): 760-763.
- [4] 韩辉, 杨文明, 张娟, 等. 肝豆灵片对肝豆状核变性患者神经功能的影响[J]. 中医药临床杂志, 2013, 25(11): 1016-1017.
- [5] 沈斌, 鲍远程, 蒋怀周. 肝豆灵对 Wilson 病模型大鼠肝组织 miRNA-122 表达的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2014, 33(6): 50-53.
- [6] Xu J, Jiang H, Li J, et al. ¹H NMR-based metabolomics investigation of copper-laden rat: a model of Wilson's disease[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0119654.
- [7] 张娟, 鲍远程, 谢道俊, 等. 肝豆灵对铜负荷大鼠肝纤维化血清代谢组学的影响[J]. 中医杂志, 2014, 55(3): 232-237.
- [8] 许幸仪, 王春雷. 通络 IV 号对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠神经细胞凋亡的影响[J]. 云南中医学院学报, 2007, 30(4): 38-40.
- [9] Dieterle F, Ross A, Schlotterbeck G, et al. Probabilistic quotient normalization as robust method to account for dilution of complex biological mixtures. Application in ¹H NMR metabonomics[J]. Anal Chem, 2006, 78(13): 4281-4290.
- [10] Jiang L, Huang J, Wang Y, et al. Metabonomic analysis reveals the CCl₄-induced systems alterations for multiple rat organs[J]. J Proteome Res, 2012, 11(7): 3848-3859.
- [11] Zhao L, Gao H, Zhao Y, et al. Metabonomic analysis of the therapeutic effect of Zhibai Dihuang Pill in treatment of streptozotocin-induced diabetic nephropathy[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 142(3): 647-656.
- [12] 徐卫方, 哈木拉提·吾甫尔, 李凤森, 等. 基于代谢组学分析 COPD 肾虚痰证与异常黑胆质证共性特征[J]. 科技导报, 2013, 31(24): 55-61.
- [13] 梁秀玲, 李洵桦. 肝豆状核变性[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 30-50.
- [14] 张娟, 鲍远程, 谢道俊, 等. 中药肝豆灵对肝豆状核变性患者尿微量蛋白的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2014, 33(3): 22-25.
- [15] 李春雨. 基于代谢组学的大黄治疗慢性肾功能衰竭的有效性评价及作用机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2010.
- [16] 付静波, 付丽红, 潘飞, 等. 大黄酸对亚慢性镉染毒小鼠肝和肾损伤的保护作用[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2013, 16(7): 1158-1161.
- [17] 邱本亮, 唐红利, 王欢, 等. 半枝莲总黄酮减轻顺铂化疗荷瘤小鼠肾损伤及机制初探[J]. 吉林医药学院学报, 2015, 36(1): 6-9.
- [18] 孙斯凡, 张浩军, 赵婷婷, 等. 黄连素通过上调 Smad7 减轻 2 型糖尿病大鼠肾脏损伤[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015, 16(5): 392-395.
- [19] 王文玉, 郭孜, 孙淑军, 等. 黄芩素对大鼠肾间质纤维化的干预作用及对肾组织中 TGF- β 1 和 Smad-2 表达的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(3): 383-385.
- [20] 陈光亮, 朱立然, 那莎, 等. 萆薢总皂苷对大鼠慢性高尿酸血症和肾小管尿酸转运体 1 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2348-2353.
- [21] 邹志辉, 崔维奇, 湛辉鹏, 等. 金钱草黄酮提取物对大鼠肾脏草酸钙结石形成的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 195-199.
- [22] 张瑞芳, 许艳芳, 万建新, 等. 泽泻对单侧输尿管梗阻大鼠肾组织补体 C3 及肾纤维化的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(8): 672-674.
- [23] Kopple JD. Phenylalanine and tyrosine metabolism in chronic kidney failure[J]. J Nutr, 2007, 137(6 Suppl 1): 1586S-1590S.
- [24] Moller N, Meek S, Bigelow M, et al. The kidney is an important site for in vivo phenylalanine-to-tyrosine conversion in adult humans: A metabolic role of the kidney[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(3): 1242-1246.
- [25] 肖乐东, 郑淋, 张将, 等. 肾移植患者移植后血清芳香族氨基酸的测定[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 3(2): 134-139.
- [26] 李影. 高效液相色谱-荧光法同时测定慢性肾功能不全患者血清中芳香族氨基酸[D]. 长沙: 中南大学, 2011.
- [27] 丁佳佳. 基于 NMR 代谢组学的醋制甘遂减毒作用研究[D]. 广州: 广东药学院, 2011.
- [28] 沈春玲, 任志芳, 沈冬玲. 支链氨基酸在急性肾功能衰竭病人中的应用分析[J]. 护理实践与研究, 2007, 4(7): 23-24.

(下转第 16 页)

- [14] 曹萍, 王晓川, 吴颖. 阿维 A 治疗寻常性银屑病的临床疗效观察[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2008, 22(1): 61-62.
- [15] 王月梅. 复方甘草酸苷联合卡泊三醇治疗寻常型银屑病的临床观察[J]. 中国实用医药, 2011, 6(30): 143-144.
- [16] 张学军. 皮肤性病学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 139.
- [17] 马晓蕾, 周城, 蔡林, 等. 生物制剂治疗银屑病的研究进展[J]. 临床皮肤科杂志, 2012, 41(9): 577-579.
- [18] Kawahira K. Immunohistochemical staining of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in malignant and nonmalignant skin disease[J]. Arch Dermatol Res, 1999, 291(7-8): 413-418.

(编辑: 杨阳)

Xiaoyin No. 2' Effect of Content on the Histopathology and the Content of PCNA in Psoriatic Lesions of Guinea Pig

LIU Haigang¹, LI Qin¹, WEN Xiaoyan², YE Jianzhou²

(1. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine. Kunming 650000, China;

2. Yunnan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine. Kunming 650000, China)

ABSTRACT: **Objective** To study the Xiaoyin No.2' effect of content on the ear skin histopathological and proliferating cell nucleus antigen (PCNA) in psoriatic lesions of guinea pig. **Methods** 48 healthy guinea pigs were randomly divided into blank group, model group, angelica Yinzi (9.88 g·kg⁻¹), Xiaoyin No.2 high, medium and low dose group (26.7 g·kg⁻¹, 13.4 g·kg⁻¹, 6.68 g·kg⁻¹). 5% propranolol induction method was adopted to establish the guinea pig model psoriasis samples, for building 3 weeks after each group started by ig, the blank group and model group were given saline ig, for 2 weeks. Detection of guinea pig ear tissue Baker score, lesion of PCNA content. **Results** Xiaoyin No.2 high, medium and low dose group and angelica Yinzi histopathological grading Baker [respectively (3.200±0.570), (2.600±0.418), (2.750±0.524), (3.000±0.447)] were lower than that of model group [(4.643±0.476)] ($P<0.05$); Xiaoyin No.2' high, medium and low dose group of PCNA content [(14.645±0.751), (14.153±0.899), (14.918±0.652)] were lower than that of model group (16.889±0.883) ($P<0.05$). **Conclusion** Xiaoyin No.2 can play a role for the treatment of psoriasis by improving the histological pathology score and inhibit the expression of PCNA.

KEY WORDS: Psoriasis vulgaris; guinea pigs psoriasis; Baker score; PCNA

(上接第 12 页)

- [29] 邓洪波. α -酮酸对 5/6 肾切除大鼠贫血的影响及可能机制的探讨[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [30] 杨保华. 利用基因组学和蛋白质组学技术研究纳米铜的肝、肾毒性及作用机制[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2010.
- [31] 鲁莹. 昆仙胶囊对 MRL/lpr 小鼠狼疮性肾炎代谢组学影响的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2011.

(编辑: 杨阳)

NMR Based Metabonomic Research on the Treatment Mechanism of Gandouling on Kidney Injury of Copper-laden Rats

JIANG Huaizhou², WANG Jian², XU Jingjing², DONG Jiyang²

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China;

2. Department of Electronic Science, Fujian Provincial Key Laboratory of Plasma and Magnetic Resonance, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the influences of Gandouling on liver injury of copper-laden rats. **Methods** The tested rats were randomly divided into the control group, model group and Gandouling group. After modeling, TUNEL method was applied to test the apoptosis cells index and NMR-based metabonomics was applied to analyze the metabolic changes of rat kidney tissue. **Results** Compared with the control group, the apoptosis cells index in kidney of the model group was significantly increased ($P<0.01$); the content of phenylalanine, alanine, tyrosine, glutamate, lysine, valine, leucine, inosine and aspartate was decreased. Compared with the model group, the apoptosis cells index in kidney of the Gandouling group was significantly decreased ($P<0.01$); the content of the above metabonolates was increased. **Conclusion** There is certain intervention influence of Gandouling on copper-laden rats. The related mechanism may involve regulating aromatic amino acid (phenylalanine, alanine) and branched chain amino acid (valine, leucine) metabolism, inhibiting apoptosis of renal tubule epithelia and regulating ammonia metabolism.

KEY WORDS: metabonomics; copper-laden; kidney injury; Gandouling