

长期中等强度运动训练及依那普利对 Thy-1 肾炎慢性肾功能衰竭大鼠模型肾功能的影响

吴学敏¹, 谢欲晓¹, 孙启良¹, 上月正博², 佐藤德太郎²

[摘要] 目的 探讨运动训练及其与依那普利联合应用对肾功能的影响。方法 将 Wistar 大鼠在 5 周龄时摘除一侧肾脏后,每周 1 次静脉注射 Thy1 抗体共 4 次,制备 Thy1 肾炎模型。于 6 周龄时随机分为非运动组、中等强度运动训练组和运动训练加依那普利组。其中运动训练组所有动物进行跑台训练,速度 20 m/min,60 min/d,5 d/周。依那普利 2 mg/kg·d 腹腔内持续给药。结果 非运动组的血压和尿蛋白分泌明显增加。运动训练并没有抑制尿蛋白分泌和血肌酐的增加,肾小球硬化指数也有增大倾向。而运动训练加依那普利使血压明显下降和尿蛋白分泌明显减少,完全抑制运动对尿蛋白、血肌酐以及肾小球硬化指数的影响。结论 对于 Thy1 肾炎模型,中等强度运动训练保护肾功能的作用不明显。由于形成慢性肾功能衰竭的原发病不同,长期运动对肾功能的影响可能也不同,提示运动训练时与依那普利并用可能扩大运动的范围。

[关键词] 运动训练;依那普利;Thy1 肾炎模型;肾功能

Effect of Chronic Exercise Training and Enalapril on Renal Function in Thy-1-Crf WU Xue-min, XIE Yu-xiao, SUN Qi-liang, et al. Dept. of Rehabilitation Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To determine the renal effects of chronic exercise training and enalapril in uninephrectomized anti-Thy-1 nephritis Wistar rats (Thy-1-Crf). **Methods** 5-week-old Wistar rats were subjected to uninephrectomy. Anti-Thy-1 nephritis was induced by injecting 200 μ g/kg OX-7 intravenously once a week for four times. They were divided into 3 groups: non exercise; moderate exercise with treadmill running (20 m/min, 0 grade-incline for 60 min); moderate exercise with an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, enalapril (2 mg/kg/day i. p.) for 8 weeks. **Results** Exercise did not suppress the increase in proteinuria in Thy-1-Crf. However, enalapril significantly decreased systolic blood pressure (SBP), urinary protein excretion (UpE), and index of glomerular sclerosis (IGS) in Thy-1-Crf. **Conclusion** The renal protective effects of moderate exercise in models of renal failure differ depending on the etiology of renal failure. It also suggests that enalapril can widen the acceptable range of exercise intensity in Thy-1-Crf.

Key words: exercise training; enalapril; anti-Thy-1 nephritis Wistar rats; renal function

[中图分类号] R692.5 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2009)06-0534-04

[本文著录格式] 吴学敏,谢欲晓,孙启良,等.长期中等强度运动训练及依那普利对 Thy1 肾炎慢性肾功能衰竭大鼠模型肾功能的影响[J].中国康复理论与实践,2009,15(6):534—537.

肾脏疾病患者的运动耐力低下,而且随着肾功能的下降这一现象会越来越明显。运动训练作为一种治疗方法已经广泛应用在临床上对高血压、糖尿病、心肌梗死患者的治疗^[1-2],文献报道运动训练即使是对肾脏疾病患者也能增强体力和提高生活质量,改善糖、脂质、蛋白质的代谢等^[3]。另一方面,运动时能引起肾血流量或肾小球滤过率的降低^[4],临床上确实也有急性运动后加重肾功能损害的报道,因此有必要同时考虑到运动对肾脏的不利影响。对于动物模型的研究也是同样,运动是否有保护肾功能的作用还没有一定的结论。运动对肾功能影响的不同,我们认为与实验所使用的动物模型不同是其中的一个原因。临床及动物实

验均显示抗高血压治疗在预防肾脏疾病的进展上起着重要作用。血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)在动物实验及肾小球疾病患者身上均显示可以延缓肾衰的进展^[5]。

我们早期的研究已经发现长期运动训练对有肾血管损伤的 5/6 肾摘除高血压肾功能不全实验大鼠 (SHR-Crf) 有保护肾脏的作用。运动训练和依那普利联合应用对肾脏的保护作用具有相加作用^[6]。然而,长期中等强度运动训练对 SHR-Crf 的这种肾脏保护作用在其他慢性肾功能不全大鼠模型身上是否产生同样的效果还没有被论证。因此,本实验应用同为肾功能不全的基础疾病,与高血压同样重要的慢性肾炎实验大鼠模型探讨长期运动训练对肾脏是否有同样的保护作用。并进一步探讨运动训练和依那普利联合应用的效果。

1 材料与方法

作者单位:1.中日友好医院物理康复科,北京市 100029;2.日本东北大学大学院医学系研究科障害科学。作者简介:吴学敏(1963-),女,河北乐亭县人,医学博士,副主任医师,主要研究方向:老年病的康复治疗。

1.1 实验动物 选5周龄、雄性 Wistar 大鼠 26 只 (Charles River Japan, Atsugi, Japan), 分笼饲养, 自由饮水及进食, 采用正常摄盐饮食, 适应性喂养 1 周后开始实验。

1.2 动物模型制备及分组 所有动物于第 6 周龄时均行右肾全部切除术, 于第 7 周龄时, 每周 1 次静脉注射 OX-7 (mouse IgG1) 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 共 4 次, 制备 Thy1 肾炎模型^[7]。在第 7 周龄时, 将大鼠随机分为 3 组: 非运动组 (10 只)、中等强度运动训练组 (8 只) 和运动训练加依那普利组 (8 只)。于第 7 周龄起、用代谢笼子饲养, 以便收集测定 24 h 饮水量和尿量。

1.3 实验方案 7 周龄起, 各运动训练组的大鼠在大鼠专用跑台 (KN-73 Treadmill, Natskume Industries Co., Tokyo, Japan) 上进行跑台运动训练。速度 20 m/min, 持续时间 60 min, 跑台倾斜 0°, 5 d/周, 持续 8 周结束。运动训练加依那普利组除以上运动外, 依那普利 2 mg/kg · d, 通过渗透性微泵法 (model2002; Alzet, Palo Alto, CA, U. S. A.) 8 周腹腔内持续给药。非运动组不参与运动, 也不给予依那普利。

1.4 收缩压的测定 实验大鼠均在清醒状态下, 采用无创尾部袖带法 (UEDA UR 5000; Ueda Industries Co., Tokyo, Japan) 测定尾动脉收缩压。所测得的值与有创法测定的值有良好的相关性^[8]。

1.5 收集标本及动物处死 运动前 1 周及 8 周运动期间, 实验各组同时在一定时间内, 每周测定体重、收缩压、24 h 饮水量、尿量、尿 Na、尿 K、蛋白排泄量。于 8 周运动结束时, 断头处死, 收集血液, 测定血肌酐、尿素氮、胆固醇、甘油三酯、血清总蛋白、白蛋白、血糖。收

集尿标本后立即保存在 -20 °C 冰箱内。体重、24 h 饮水量和尿量均用重量表示。尿 Na、K、蛋白排泄量、血肌酐、血尿素氮、胆固醇、甘油三酯、血清总蛋白、白蛋白、血糖测定等采用自动分析仪 (Synchron CX-3, Clinical System, USA) 测定。

1.6 病理学分析 实验动物被断头处死后, 取出肾脏, 用 10% 福尔马林中性液固定, 石蜡包埋后, 常规制备 0.2 μm 厚的石蜡切片, 行 PAS 染色。肾组织学变化的观察同既往实验^[9-10]。

1.7 统计分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。尿指标、血压指标的组内显著性差异采用 two-way ANOVA 检验 (SPSS 10.0), 组间显著性差异及血生化指标的组间对比采用 *t* 检验, 肾组织学改变组间对比采用 *U* 检验。以 $P < 0.05$ 作为差异具有显著性意义。

2 结果

运动训练及依那普利对收缩压及尿蛋白的影响, 见表 1。

在非运动组和运动组, 收缩压及尿蛋白明显增加, 两组间没有统计学差异。而非运动组和运动训练组比较, 运动训练加依那普利组从第 4 周开始明显降低血压 ($P < 0.01$)。运动训练加依那普利组从第 4 周开始与运动组比较 ($P < 0.05$), 第 6 周开始与非运动组 ($P < 0.05$) 及运动组 ($P < 0.01$) 比较明显抑制尿蛋白的增加, 完全抑制运动对尿蛋白的影响。

运动训练虽然没有引起尿素氮的任何变化, 但血肌酐有增加趋势 ($P = 0.24$), 依那普利有减少运动引起的血肌酐增加的趋势 ($P = 0.14$)。运动训练有减少胆固醇的趋势 ($P = 0.08$)。见表 2。

表 1 运动训练及依那普利对收缩压及尿蛋白的影响

	例数	运动前	运动 2 周	运动 4 周	运动 6 周	运动 8 周
收缩压 (mmHg)						
非运动组	10	137.5 ± 3.0	155.9 ± 5.9	161.8 ± 2.8	182.1 ± 9.3	187.7 ± 8.0
中等强度运动组	8	140.8 ± 2.5	162.4 ± 6.4	171.6 ± 2.9	184.0 ± 4.2	189.5 ± 2.3
运动训练加依那普利组	8	138.3 ± 3.8	148.7 ± 5.4	145.7 ± 5.2 ^{a,c}	155.4 ± 3.3 ^{b,c}	162.8 ± 7.5 ^{b,c}
尿蛋白 (mg/d)						
非运动组	10	48.5 ± 4.7	119.5 ± 10.1	164.6 ± 2.7	134.5 ± 13.5	175.1 ± 15.6
中等强度运动组	8	50.6 ± 8.9	146.0 ± 8.2	197.9 ± 10.3	196.4 ± 9.5	156.1 ± 12.8
运动训练加依那普利组	8	52.2 ± 7.7	102.8 ± 8.1	120.8 ± 2.0 ^c	55.4 ± 7.9 ^{a,d}	62.2 ± 8.1 ^{b,c}

注: a: 与非运动组比较 $P < 0.05$; b: 与非运动组比较 $P < 0.01$; c: 与运动组比较 $P < 0.05$; d: 与运动组比较 $P < 0.01$ 。

表 2 运动训练及依那普利对血液生化指标的影响

	例数	尿素氮 (mg/dl)	肌酐 (mg/dl)	血糖 (mg/dl)	总蛋白 (g/dl)	白蛋白 (g/dl)	总胆固醇 (mg/dl)
非运动组	10	24.0 ± 1.59	0.62 ± 0.04	203.5 ± 8.67	5.13 ± 0.11	1.30 ± 0.04	75.6 ± 11.9
中等强度运动组	8	23.6 ± 0.68	0.68 ± 0.02	226.9 ± 7.44	5.36 ± 0.09	1.33 ± 0.04	56.9 ± 4.64
运动训练加依那普利组	8	26.4 ± 3.63	0.60 ± 0.05	248.1 ± 10.4 ^a	4.46 ± 0.16 ^{a,b}	1.29 ± 0.04	49.3 ± 4.74

注: a: 与非运动组比较 $P < 0.01$; b 与运动组比较 $P < 0.001$ 。

与非运动组比较, 运动训练有增加肾小球硬化指数的趋势 ($P = 0.05$), 尽管这种增加没有统计学意义。

与运动组比较, 依那普利降低肾小球硬化指数 ($P < 0.05$)。与非运动组比较, 运动训练明显增加肾小球体

积($P < 0.01$),依那普利抑制这种增加($P < 0.05$)。见表 3。

另外,运动训练及依那普利对体重,饮水量,尿量,尿 Na、尿 K 排泄量均无显著影响。

表 3 运动训练及依那普利对组织学的影响

分组	例数	肾小球体积($10^6 \mu\text{m}^3$)	肾小球硬化指数(%)
非运动组	10	3.12±0.14	2.65±0.09
中等强度运动组	8	3.54±0.20 ^a	2.92±0.12
运动训练加依那普利组	8	2.84±0.05 ^b	2.49±0.10 ^c

注:a,与非运动组比较 $P < 0.01$;b 与非运动组比较 $P < 0.05$;c,与运动组比较 $P < 0.05$ 。

3 讨论

我们早期的研究结果显示,中等强度运动训练对 SHR-Crf 大鼠模型明显降低蛋白尿,组织学也证实有肾脏保护作用。运动训练加依那普利明显降低血压和进一步降低肾小球硬化指数^[6]。为了探讨运动训练及运动训练与依那普利联合应用对同为引起肾功能不全的原发病与高血压同样重要的慢性肾炎动物模型是否有相同作用,我们采用 Wistar 大鼠行右肾全部切除术后,每周 1 次静脉注射 OX-7 (mouse IgG1) 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$,共 4 次,建立 Thy1-Crf 动物模型^[11-12]。运动训练并没有抑制尿蛋白的增加,而依那普利明显降低血压、尿蛋白和肾小球硬化指数。目前我们的实验表明慢性运动对肾脏的保护作用在 Thy1-Crf 模型没有被证明。依那普利显示肾脏的保护作用。本研究是第一次报道中等强度运动训练对肾功能不全动物模型的肾脏保护作用由于引起肾功能不全的基础疾病的不同而不同,同时也是第一次报道依那普利能够扩大运动强度的适用范围。

到目前为止,只有少数几例有关慢性运动对进展性肾脏疾病影响的报道,且对结果存在争议。对部分肾切除大鼠模型只有 3 例报道,Heifets 等应用 3/4 肾切除(Sprague-Dawley, SD)大鼠模型,采用每天 2 h 的游泳运动,持续训练 2 个月,结果使肾小球滤过率(GFR)增加,尿蛋白分泌减少,肾小球硬化程度也有所减轻^[8]。然而,Bergamaschi 等对 5/6 肾切除的 Munich-Wistar 大鼠模型进行为期 8 周的跑台运动训练(65%~75% $\text{VO}_{2\text{max}}$),30 min/d,5 d/周,结果显示运动对 GFR、尿蛋白分泌和肾小球硬化指数均无影响^[7]。我们以前的研究对 5/6 肾切除的 SHR-Crf 大鼠模型进行为期 4 周的跑台运动训练,60 min/d,5 d/周,结果显示运动明显抑制尿蛋白分泌和胆固醇水平^[11]。而在肾炎模型却相反,Cornacoff 等对家兔急性血清病型肾炎模型进行跑台运动训练,7.2 m/min,45~60 min 运动后,血清尿素氮上升,尿蛋白排泄量增加^[12]。然而,Osato 等应用 Lewis 大鼠模型(一种具有肾炎综合征的肾小球肾炎硬化模型),也采用每天 2 h

的游泳运动训练,为期 20 周,结果摄食量调节加运动训练使 GFR 上升,尿蛋白减少,而且减轻肾小球硬化指数^[13]。分析长期运动对肾功能影响差异如此之大的原因,我们认为可能是应用的动物模型不同,运动方式、运动强度以及运动时间的不同所致。

动物实验和临床研究均证实,ACEI 抑制肾素-血管紧张素系统,激活缓激肽系统,可选择性地扩张肾出球小动脉,降低肾小球内压,从而抑制肾功能不全患者和肾功能不全动物模型的肾损伤进展^[14-15]。我们研究的结果再次证明 ACEI 的这种肾脏保护作用。血管紧张素 II 除使出球小动脉收缩以外,还有许多其他作用,包括使肾小球系膜细胞增生,肾小球系膜基质生成,通过系膜摄取大分子物质等^[16]。或许是通过增加转移因子(TGF- β)的调节作用^[17]。ACEI 能够抑制与球旁系膜基质过度增生和肾小球硬化相关联的肾小球肥大。这样,ACEI 可以通过血液动力学和非血液动力学的双重作用来延缓肾损害的进展^[18-19]。

关于我们应用的 anti-Thy-1 慢性肾炎模型,被报道是通过肾小球系膜细胞反复的免疫损害引起慢性系膜增生所致^[20-21]。Iida 等^[22]观察到肾小球系膜基质进行性肥大并伴有弥漫性硬化,免疫组织化学染色显示在肾小球系膜 IV 型胶原和层粘连蛋白明显增加。这样,对于肾小球系膜反复的免疫损害能够引起细胞外基质的蓄积和肾小球硬化的进展。以前的研究已经表明,细胞外基质的过度产生和渐进性的蓄积是肾小球硬化进展的重要机制^[23]。

与我们早期对 SHR-Crf 大鼠模型研究的结果相反^[6],运动对 Thy1-Crf 没有显示肾脏保护作用,而依那普利显示对肾脏的保护作用,其原因还不是很清楚。前面提到 Cornacoff 等^[12]也报道过轻度跑台运动训练对家兔急性血清病肾炎模型血清尿素氮升高,尿蛋白增加的报道。正如我们以前提到过的运动也许能够抑制血管紧张素 II (或血管舒缓素-激肽系统)调节后的肾小球出球小动脉收缩,但是,也许不能抑制血管紧张素 II 调节的非血液动力学效应^[6]。然而高血压本身就是个众所周知的引起肾损害进展的因素,依那普利降低 Thy1-Crf 的收缩压,可能通过这一降压作用起到肾脏保护作用。

总之,慢性运动对肾脏的保护作用在 Thy1-Crf 模型没有被证明。依那普利显示肾脏的保护作用,其机制还有待于进一步的研究。

中等强度的慢性运动对 Thy1-Crf 模型的肾脏保护作用不明。根据引起肾功能不全的原发病的不同运动对肾功能的影响可能也不同。运动时与依那普利并用可能扩大 Thy1-Crf 模型的运动强度范围。

[参考文献]

- [1] Kubo N, Ohmura N, Nakada I, et al. Exercise at ventilatory threshold aggravates left ventricular remodeling in patients with extensive anterior acute myocardial infarction [J]. *Am Heart J*, 2004, 147(1):113-120.
- [2] Banzer JA, Maguire TE, Kennedy CM, et al. Results of cardiac rehabilitation in patients with diabetes mellitus [J]. *Am J Cardiol*. 2004, 93(1):81-84.
- [3] Clyne N, Ekholm J, Jogestrand T, et al. Effects of exercise training in predialytic uremic patients [J]. *Nephron*, 1991, 59: 84-89.
- [4] Bergamaschi CA, Boim MA, Moura LA, et al. Effects of long-term on the progression of chronic renal failure in rats [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 1997, 29:169-174.
- [5] Maschio G, Alberti D, Janin G. Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitors benazepril on the progression of chronic renal insufficiency[J]. *N Engl J Med*, 1996, 334: 939.
- [6] 吴学敏, 谢欲晓, 孙启良, 等. 运动训练及依那普利对自发性高血压慢性肾功能衰竭大鼠模型肾功能的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2004, 19(4): 255-257.
- [7] Morita H, Maeda K, Obayashi M, et al. Induction of irreversible glomerulosclerosis in the rat by repeated injections of a monoclonal anti-Thy-1.1 antibody[J]. *Nephron*, 1992, 60:92-99.
- [8] Ikeda K, Nara Y, Yamori Y. Indirect systolic and mean blood pressure determination by a new tail cuff method in spontaneously hypertensively rats [J]. *Lab Anim*, 1991, 125:26-29.
- [9] Kohzuki M, Kanazawa M, Liu PF, et al. Kinin and angiotensin II receptor antagonists in rats with chronic renal failure: chronic effects on cardio-and renoprotection of angiotensin converting enzyme inhibitors [J]. *Hypertens*, 1995, 13: 1785-1790.
- [10] Van DB, Koudstaal J. Measuring glomerular diameters in tissue sections [J]. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1976, 369: 283-291.
- [11] Wu XM, Kohzuki M, Kamimoto M, et al. Effects of chronic exercise on renal function in 5/6 nephrectomized spontaneously hypertensive rats(SHR) [J]. *Jpn J Nephrol*, 1999, 41:35-42.
- [12] Cornacoff JLK, Hebert LA, Sharma HM, et al. Adverse effect of exercise on immune complex-mediated glomerulonephritis[J]. *Nephron*, 1985, 40:292-296.
- [13] Osoto S, Onoyama K, Okuda S, et al. Exercise of swimming exercise on the progress of renal dysfunction in rat with focal glomerulosclerosis [J]. *Nephron*, 1990, 55:306-311.
- [14] Tolins JP, Raij L. Angiotensin converting enzyme inhibitors and progression of chronic renal failure [J]. *Kid Int*, 1990, 38 (Suppl 30): 118-122.
- [15] Anderson S, Brenner BM. Therapeutic implications of converting enzyme inhibitors in renal disease [J]. *Am J Kid Dis*, 1987, 10(Suppl 1): 81-87.
- [16] Raij L, Keane WF. Glomerular mesangium ;its function and relationship to angiotensin II [J]. *Am J Kid Med*, 1985, 79(Suppl 3C): 24-30.
- [17] Ketteler M, Noble NA, Border WA. Transforming growth factor-beta and angiotensin II :The missing Link from glomerular hyperfiltration to glomerulosclerosis? [J]. *Annu Rev Physiol*, 1995, 57:279-295.
- [18] Yoshida Y, Kawamura T, Ikoma M. Effects antihypertensive drugs on glomerular morphology glomerulosclerosis [J]. *Kid Int*, 1989, 36:626-635.
- [19] Remuzzi A, Peticucci E, Reggenenti P. Angiotensin converting enzyme inhibitors improves glomerular size-selectivity in IgA nephropathy [J]. *Kid Int*, 1991, 39: 1267-1273.
- [20] Paul LC, Rennke HG, Milford EL. Thy-1.1 in glomeruli of rat kidney[J]. *Kid Int*, 1984, 25:771-777.
- [21] Yamamoto T, Wilson CB. Quantitative and qualitative studies of antibody induced mesangial cell damage in the rat [J]. *Kid Int*, 1987, 32:514-525.
- [22] Iida H, Izumino K, Asaka M, et al. glomerulosclerosis in the rat induce by repeated immune-mediated mesangial cell injury[J]. *Jpn J Nephrol*, 1993, 38(8):905-912.
- [23] Floege JR, Johnson J, Gordon K, et al. Increased Synthesis of extracellular matrix in mesangial proliferative nephritis [J]. *Kid Int*, 1991, 40: 177-488.