

益肾导浊口服液对慢性肾衰大鼠肾脏酶组织化学的影响

王 蕾 (北京联大中医药学院 北京 100007)

王绵之 (北京中医药大学基础医学院)

摘 要 观察益肾导浊口服液对腺嘌呤诱发大鼠慢性肾衰肾功能及肾脏酶组织化学的影响。结果显示本方能明显降低大鼠血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)的含量,提高碱性磷酸酶(ALP)、琥珀酸脱氢酶(SDH)和三磷酸腺苷酶(ATPase)的活性。疗效优于异搏定。

关键词 益肾导浊口服液 慢性肾衰 腺嘌呤 酶组织化学

Effect of Yishen Daozhuo Oral Liquid on Renal Enzyme Histochemistry in Rats with Chronic Renal Failure

Wang Lei (Beijing College of TCM of Union University, Beijing, 100007)

Wang Mianzhi (Beijing University of TCM)

Abstract: The effect of Yishen Daozhuo oral liquid on renal function and enzyme histochemistry of adenine-induced chronic renal failure in rats was observed. Results showed that the contents of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr) in serum were obviously lowered and the activities of SDH, ALP and ATPase in renal tissues were significantly increased in rats following exposure to the liquid. The biological activities of the liquid were found to be higher than that of Verapamil.

Key words: Yishen Daozhuo oral liquid, chronic renal failure, adenine, enzyme histochemistry

益肾导浊口服液(简称益肾液)是王绵之教授总结多年临床经验探索出的一首治疗慢性肾衰(CRF)的有效方剂。本方通过对 22 例轻、中度 CRF 患者的临床观察(每次口服 25ml,每日 2 次,疗程 2 个月),结果显示其总有效率为 75%,并能明显改善患者的全身症状和体征,提高其生存质量。在此基础上,本实验采用腺嘌呤诱发大鼠 CRF 的模型进一步探讨本方防治实验性 CRF 的作用及作用机理。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物:采用 Wistar ♀ 性大鼠,体重 200g 左右,由解放军 309 医院动物研究所提供。药物:益肾液(黄芪、白术、茯苓、大黄等药组成)由北京中医药大学制剂室制

成口服液(2g/ml);异搏定片(40mg/片)由江苏江阴制药厂生产,批号 910114;腺嘌呤由上海东风制药厂生产,批号 9405099。

1.2 造模方法和实验分组

1.2.1 模型制备 参考 Yokozawa 方法,将 3%的腺嘌呤 10 ml/kg.d 给大鼠灌胃,连续 30d,可得到轻或中度的 CRF 模型^[1]。

1.2.2 实验分组 将大鼠随机分为 4 组。正常组 8 只,未行任何处理。其余 3 组每组 12 只,按上述方法造模,每日造模后 4h,模型组口服自来水 20 ml/kg.d;异搏定组口服异搏定片 30 mg/kg.d(为成人每日剂量的 15 倍);益肾液组口服益肾液 20 ml/kg.d(为成人每日剂量的 20 倍),连续 30d。

1.3 指标测定

1.3.1 血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr) 取血清 1ml,在自动生化分析仪(HITACHI₇₁₅₀, JAPAN)上进行测定。

1.3.2 肾皮质酶组织化学反应及图象定量分析 每组 5 只大鼠肾组织用冷冻切片机(AO 型)切片,进行 ALP(钙钴法^[2])、SDH(N-BT 法^[3])和 ATPase(钙钴法)活性测定。每组选 5 张切片,每张切片随机观察 3 个视野,用联有 Nikon 光镜的 TN8502 自动图象分析仪测定上述酶的灰度值及面积百分比。

1.4 统计方法 实验数据采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用方差分析。

2 结果

2.1 大鼠血清 BUN、Cr 含量变化(见表 1)。

表 1 各组大鼠血清 BUN 和 Cr 含量的变化($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (n)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)
正常组	8	8.28±0.79	53.04±10.01
模型组	7	35.41±9.92 ^Δ	132.60±35.08 ^Δ
异搏定组	8	24.45±5.15*	97.24±17.51*
益肾液组	8	14.99±4.13** ^Δ	70.72±17.51** ^Δ

与正常组比较^Δ $P<0.01$;与模型组比较* $P<0.05$,

** $P<0.01$;与异搏定组比较^Δ $P<0.05$,^Δ $P<0.01$

表 2 各组大鼠肾组织酶组化图象定量分析($\bar{x}\pm s$)

组别	ALP		SDH		ATPase	
	灰度值	面积%	灰度值	面积%	灰度值	面积%
正常组	2689.5±213.3	32.25±3.79	2178.4±523.8	40.27±0.10	183.3±32.5	17.99±2.12
模型组	353.5±239.3 ^Δ	4.43±2.29 ^Δ	227.9±113.5 ^Δ	9.73±1.44 ^Δ	33.7±1.6 ^Δ	7.51±0.02 ^Δ
异搏定组	838.6±44.4	15.37±3.54	1708.2±1446.7	27.56±15.27	96.4±44.8	10.76±1.32*
益肾液组	1726.8±142.1*	21.78±5.15*	1360.9±232.8*	33.37±6.27*	129.6±5.7*	14.90±1.46*

与正常组比较^Δ $P<0.01$,与模型组比较* $P<0.05$

如表 2 所示,模型组大鼠肾组织 ALP、SDH、ATPase 的灰度值及面积百分比均有显著降低。益肾液对上述三种酶均有明显的治疗作用,而异搏定只对 ATPase 有明显的改善作用。

3 讨论

3.1 改善肾功能 本实验采用集益肾导浊化瘀于一体的中药口服液治疗后,大鼠血清中的 BUN 及 Cr 含量明显降低,证明本方对肾功能有明显改善。异搏定对上述部分指标

如表 1 所示,模型组大鼠血清 BUN、Cr 显著升高,而两治疗组与模型组相比,皆有统计学意义。并且益肾液组比异搏定组的作用更为明显。

2.2 肾皮质酶组织化学及图象定量分析

2.2.1 ALP 反应 正常组肾小管上皮细胞刷状缘的 ALP 反应呈强阳性(++++),为棕黑色颗粒。模型组 ALP 反应显著下降(±)。益肾液组比模型组增强(++)。异搏定组改善不及益肾液组。

2.2.2 SDH 反应 正常组肾小管细胞质中充满蓝色酶反应颗粒,反应强(++++)。模型组 SDH 反应显著降低(±)。益肾液组 SDH 反应比模型组显著增强(++)。异搏定组改善不明显。

2.2.3 ATPase 反应 正常组肾小管的细胞质内充满棕黄色的酶反应颗粒,反应较强(+++)。模型组肾小管酶反应接近阴性(±)。两治疗组肾小管反应比模型组明显增强(++)。

2.2.4 肾组织酶组化图象定量分析(见表 2)

有明显作用,但疗效不如中药方显著。

3.2 肾脏酶组化的改善 本实验采用酶组化染色方法检测了肾小管 ALP、SDH、ATPase 的活性。现已知肾小管刷状缘的主要功能是重吸收,分布在此的 ALP 反应的降低直接影响肾小管重吸收的功能,致使水、电解质代谢紊乱。另外,三羧酸循环所产生的 ATP 是能量的重要来源,SDH 是三羧酸循环的起始酶,也是标志酶。ATPase 也是线粒体在合成 ATP 以及能量转换过程中不可缺少的

酶。这两种酶活性降低,必将使 ATP 产生减少,影响细胞能量供应。总之,以上酶活性的降低影响了肾小管糖、脂肪、蛋白质及水、电解质的代谢,从而影响了肾小管细胞能量代谢和功能。刷状缘酶类对毒性物质最为敏感,其活性抑制远早于形态学改变,在刷状缘尚无明显结构改变时,酶活性的抑制已出现,因此,酶活性的抑制和损伤是造成肾小管功能异常的重要原因之一。治疗组尤其是益肾液组肾小管酶活性得到明显增强,说明肾小管能量代谢得到改善,为肾小管发挥功能提供了较多的能量。而异搏定组只对部分酶有一定作用。因此可以认为本方对 CRF 大鼠的防

治作用与提高肾脏酶活性及改善肾脏组织的代谢水平有关。

参考文献

- 1 Yokozawa T. Animal model of adenine induced chronic renal failure in rats. *Nephron*, 1986, 44:230
- 2 陈啸梅. 组织化学手册. 北京:人民卫生出版社,1982. 136
- 3 Lojda Z. Enzyme histochemistry. A Laboratory Manual, Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag, 1979, 60:285

(收稿:1997-01-22)