

• 药理 •

活血益肾汤对慢性肾衰大鼠 肾组织 LDH 同工酶作用的研究

郭平, 王浩, 颜亭祥, 王晶
(山东中医药大学, 济南 250014)

摘要: 慢性肾衰大鼠肾组织 α -HBDH 和 LDH 活力及 α -HBDH/LDH 显著降低, 活血益肾汤能显著提高这些指标, 提示本方的疗效与升高肾组织 α -HBDH 和 LDH 活力, 改善肾小管的代谢有关。

关键词: 活血益肾汤; 慢性肾功能衰竭; 乳酸脱氢酶; 同工酶; 肾组织

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)01-0026-03

The research of the effect of *Promoting Blood Circulation and Tonifying the Kidney Decoction* on LDH isoenzymes in the kidney tissue of chronic renal failure rats

Guo Ping, Wang Hao, Yan Ting-xiang, Wang Jing

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250014)

Abstract: The result showed that the activity of α -HBDH and LDH and the ratio of α -HBDH/LDH in the kidney tissue of chronic renal failure rats were significantly lower and *Promoting Blood Circulation and Tonifying the Kidney Decoction* could significantly raise these indices. They indicate that the therapeutic effectiveness of the decoction is associated with raising the activity of α -HBDH and LDH in kidney tissue and improving the metabolism of renal tubular.

Key words: *Promoting Blood Circulation and Tonifying the Kidney Decoction*; Chronic Renal Failure; LDH; Isoenzyme; Kidney Tissue.

慢性肾功能衰竭(CRF)常出现多种酶活性的改变。近年来,对 CRF 血清乳酸脱氢酶(LDH)及其同工酶的改变国外已有少量报道^[1,2],但对 CRF 肾组织 LDH 及 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)水平的改变尚未见报道。本文检测了 CRF 大鼠血清和肾组织 LDH 和 α -HBDH 活力及 α -HBDH 与 LDH 的比值,观察了临床疗效肯定的活血益肾汤对其影响及不同剂量药物的疗效,以了解该酶在 CRF 发生及发展中的变化及中药防治 CRF 的作用机理。

1 材料

1.1 动物 选用 Wistar 大鼠 45 只,雌雄兼用,体重 250~300g,由山东省实验动物中心提供。

1.2 试剂 腺嘌呤(上海第六制药厂);LDH 试剂盒和 α -HBDH 试剂盒均购自北京中生生物工程高技术公司。

1.3 药物 活血益肾汤系本校胡遵达教授的经验

方,由大黄、丹参、黄芪、水蛭、益母草、巴戟天、枸杞子等中药组成,每剂 169g,水煎 2 次,分别制成含生药 2.82g/ml 和 5.64g/ml 的两种煎剂备用;温脾汤按传统方煎成含生药 2.82g/ml 煎剂备用。

2 方法

2.1 动物分组 将大鼠随机分成 2 组:正常对照组 8 只,普通饲料喂养;CRF 造模组 37 只,根据 Yokozawa 等介绍的方法^[3],用含 0.75% 腺嘌呤的饲料喂养,至第 21 天于造模组中随机取 7 只处死,大鼠出现典型“大白肾”形态改变,且血尿素氮(BUN)和血清肌酐(SCr)升高,表明 CRF 模型已确立,这 7 只大鼠为肾衰模型组,然后将剩余大鼠再分为四组:活血益肾汤高、低剂量组,阳性对照温脾汤组,生理盐水对照组。

2.2 给药方法 均采用灌胃法,每只 2ml/d,一日一次。高、低剂量组分别为每公斤体重成人量的 4 倍和 2 倍量,温脾汤组剂量同低剂量组,生理盐水对照组灌以等量的生理盐水。各组连续给药 30d 后处

死。

2.3 标本测定 各组大鼠于处死前采血测定BUN、SCr及血清LDH和 α -HBDH。处死后摘取肾脏,取肾皮质,加Tris-HCl缓冲液制成肾组织匀浆(1:100稀释),以紫外分光光度计测定, λ 为340nm,读取初始吸光度,同时开始计时,在精确的1、2、3分钟时,分别读取吸光度,计算每分钟平均吸光度变化($\Delta A/\min$),并以此计算出血清及肾组织LDH和 α -HBDH活力。

3 实验结果

3.1 各组BUN和SCr的测定结果见表1。

表1 各组大鼠BUN和SCr的测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN(mmol/L)	SCr(μ mol/L)
正常对照组	8	6.85 $\pm$ 0.49	57.61 $\pm$ 7.36
肾衰模型组	7	23.09 $\pm$ 7.40**	149.33 $\pm$ 18.13**
生理盐水对照组	7	12.21 $\pm$ 1.12	86.17 $\pm$ 2.97
中药复方高剂量组	7	8.50 $\pm$ 1.74##	77.42 $\pm$ 6.99###
中药复方低剂量组	7	7.41 $\pm$ 1.31##	66.09 $\pm$ 6.32## Δ
阳性对照组	9	8.14 $\pm$ 1.05##	76.58 $\pm$ 8.62###

注:与正常对照组相比 * $P < 0.001$, ** $P < 0.01$;与生理盐水对照组相比 # $P < 0.001$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.05$;与中药复方高剂量组相比

$\Delta P < 0.01$, $\Delta P < 0.05$ (下同)

模型组BUN和SCr显著高于正常组($P < 0.01$),而活血益肾汤高、低剂量组均能不同程度地

降低BUN和SCr的含量,且低剂量组降低SCr尤为明显。

3.2 两组大鼠血清 α -HBDH和LDH的测定结果及 α -HBDH/LDH比值见表2。

表2 血清 α -HBDH、LDH活力及 α -HBDH/LDH的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	α -HBDH(U/L)	LDH(U/L)	α -HBDH/LDH
正常对照组	8	62.54 $\pm$ 8.31	93.37 $\pm$ 11.77	0.6713 $\pm$ 0.0599
肾衰模型组	7	90.02 $\pm$ 12.05*	133.91 $\pm$ 14.88*	0.6737 $\pm$ 0.0673

模型组血清 α -HBDH和LDH与正常对照组相比差异极显著($P < 0.001$),两组的 α -HBDH/LDH无显著差异。

3.3 各组大鼠肾组织 α -HBDH、LDH活力及 α -HBDH/LDH的变化见表3。

模型组肾组织 α -HBDH和LDH活力及 α -HBDH/LDH与正常对照组相比差异极显著($P < 0.001$),而活血益肾汤的高、低剂量组和温脾汤组均能明显提高肾组织 α -HBDH和LDH活力及 α -HBDH/LDH比值,且低剂量组的效果比高剂量组效果更显著。

表3 大鼠肾组织 α -HBDH、LDH活力及 α -HBDH/LDH的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	α -HBDH(U/g·pr)	LDH(U/g·pr)	α -HBDH/LDH
正常对照组	8	96.32 $\pm$ 11.99	112.85 $\pm$ 15.90	0.8572 $\pm$ 0.0603
肾衰模型组	7	43.12 $\pm$ 7.99*	64.28 $\pm$ 10.04*	0.6688 $\pm$ 0.0701*
生理盐水对照组	7	45.46 $\pm$ 8.90	68.29 $\pm$ 9.38	0.6620 $\pm$ 0.0590
中药复方高剂量组	7	66.17 $\pm$ 9.43##	90.20 $\pm$ 10.28##	0.7334 $\pm$ 0.0554###
中药复方低剂量组	7	85.15 $\pm$ 12.06# Δ	105.47 $\pm$ 13.31# $\Delta\Delta$	0.8088 $\pm$ 0.0717## $\Delta\Delta$
阳性对照组	9	63.55 $\pm$ 10.26##	87.37 $\pm$ 12.37##	0.7273 $\pm$ 0.0540##

4 讨论

LDH是机体糖酵解途径的一种重要的酶,在其五种同工酶中,LDH₁和LDH₂对 α -羟丁酸的亲和力较高,能以其为底物,故又称为 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)。LDH广泛分布于各种组织器官,其中以肾脏含量最多^[4]。在肾脏中尤以肾小管含量最高,以LDH₁和LDH₂为主。在肾脏损害时,血清及肾组织中的LDH同工酶活力会发生显著变化,并对判断肾脏损伤程度及药物疗效均具有重要意义^[1,2,5]。据本实验结果推测,高浓度的腺嘌呤^[6]及由此产生的大量氧自由基^[7]造成肾单位功能的损害及丧失,导致肾组织LDH同工酶的合成障碍;而结构的破坏,特别是氧自由基对细胞膜的损伤,使由肾组织漏出

到血液中的和由尿液排出的LDH量明显升高,同时,CRF肾组织LDH活力降低的主要原因是肾小管对LDH₁和LDH₂的合成减少所致。肾组织LDH含量显著降低,糖代谢障碍,使能量代谢异常,在CRF的发生和发展中起到一定的作用。本实验所采用的活血益肾汤具有温肾健脾、通腑降浊、活血化瘀的功效,临床上对CRF病人疗效显著,实验也证实了该药具有明显的抗氧化作用^[7],因而能稳定肾小管上皮细胞膜的结构,降低其通透性,本文表明,该方治疗CRF的机制还与升高 α -HBDH和LDH活力,改善肾皮质尤其是肾小管的代谢有关。本实验还显示活血益肾汤低剂量组对各项指标的恢复更为显著,推测大剂量腺嘌呤导致肝功能损害,对中药的生物转化作用减弱,故过大剂量的中药非但不能有

效改善肾功能,还会增加肝、肾负担,影响疗效,因此在临床治疗 CRF 时应切实注意用药剂量。

参考文献:

- [1] Kang SK, Ha CY, Cho KH, et al. Changes of lactate dehydrogenase and its isoenzyme activity in renal diseases [J]. *Nephron*, 1991, 57(1): 55~ 59.
- [2] Vaziri ND, Miyada DS, Kim I, et al. Serum LDH and LDH isoenzymes in chronic renal failure: effect of hemodialysis[J]. *Int J Artif Organs*, 1990, 13(4): 223~ 227.
- [3] Yokozawa T, Zheng PD, Oura H, et al. Animal model of adenine-induced chronic renal failure in rats [J]. *Nephron*, 1986, 44(3): 230~ 234.
- [4] 张昌颖,朱寿民,任邦哲等.生物化学[M].第二版,北京:人民卫生出版社,1978.438.
- [5] 吴安华,谭德名,任培上.肾综合征出血热患者血清 LDH 与 HBD 水平的研究[J].*湖南医科大学学报*, 1996, 21(1): 75~ 76.
- [6] 郑平东,朱燕俐,丁名城,等.用腺嘌呤制作慢性肾功能衰竭动物模型[J].*中华肾脏病杂志*, 1989, 5(6): 342~ 344.
- [7] 颜亭祥,王浩,郭平,等.活血益肾汤对慢性肾衰大鼠肾组织氧自由基作用的研究[J].*山东中医药大学学报*, 1999, 23(1): 69~ 71.