

扶正解毒颗粒对染镍大鼠尿微量蛋白 及尿酶活性的影响

滕玉莲^{1*}, 吕晓云², 赵健雄²

(1. 兰州大学校医院, 兰州 730000; 2. 兰州大学中西医结合研究所, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 观察扶正解毒颗粒(FJG)对硫酸镍(NiSO₄)暴露肾损伤大鼠的保护作用。方法: 50只Wistar大鼠采用NiSO₄ 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ ip(连续7d, 此后间日1次)制备肾损伤模型, 随机分为NiSO₄组(模型组)、FJG高、中、低剂量组(20, 10, 5 g·kg⁻¹·d⁻¹)、二巯基丁二酸(DMSA, 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组。另设NS组(空白对照)及FJG对照组(FJG 10 g·kg⁻¹·d⁻¹)。各组大鼠ig 1次/d, 共4周。分别采用放射免疫法(RIA)、光电比色法及酶法检测尿α₁-微球蛋白(α₁-MG)、N-乙酰-β-D氨基葡萄糖苷酶(NAG)及尿肌酐(UCr)的变化。结果: NiSO₄组尿α₁-MG及NAG活性(NAG/UCr)较NS组显著增高(P<0.05和P<0.01), 与NiSO₄组相比, FJG各组尿α₁-MG及NAG活性则明显降低, 尤以FJG高、中剂量组为著(P<0.05和P<0.01)。结论: 尿α₁-MG及NAG活性增高与早期镍性肾损伤存在关联, 中药FJG对镍性肾损伤大鼠具有较好的保护作用。

[关键词] 扶正解毒颗粒; 硫酸镍; α₁-微球蛋白; N-乙酰-β-D氨基葡萄糖苷酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0170-03

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120411.0913.012 **[网络出版时间]** 2012-04-11 9:17

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120411.0917.012.html>

Effect of Fuzheng Jiedu Granula on Urinary Micro-protein and Urinary Enzyme in Rats Exposed to Nickel

TENG Yu-lian^{1*}, LV Xiao-yun², ZHAO Jian-xiong²

(1. School Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000 China; 2. Institute of Integrated Traditional Chinese Medicine with West Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Fuzheng Jiedu granula (FJG) on the renal injury in rats exposed to nickel sulfate (NiSO₄). **Method:** Fifty Wistar rats were made into nephrotoxicity models by intraperitoneal injection of NiSO₄ (2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹). They were randomized into 5 groups, model group, high dose of FJG group (20 g·kg⁻¹·d⁻¹), middle dose of FJG group (10 g·kg⁻¹·d⁻¹), low dose of FJG group (5 g·kg⁻¹·d⁻¹), meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid (DMSA) group (0.05 g·kg⁻¹·d⁻¹). Twenty Wistar rats were divided into NS group and FJG control group (10 g·kg⁻¹·d⁻¹) randomly. The rats in each group were treated with intragastric administration once every day for four weeks. Urinary α₁-microglobulin (α₁-MG), urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) and urinary creatinine were detected by radioimmunity assay (RIA), photoelectric colorimetry assay and enzymic assay, respectively. **Result:** In NiSO₄ group, urinary α₁-MG and NAG activity (NAG/UCr) were increased remarkably (P<0.05, P<0.01). Compared with that of NiSO₄ group, the indexes mentioned above in FJG groups decreased obviously (P<0.05, P<0.01). **Conclusion:** Urinary α₁-MG and NAG activity enhancement could be correlated with nickel-induced nephrotoxicity. FJG could protect rats from the renal injury induced by nickel.

[Key words] Fuzheng Jiedu granula; nickel sulfate; α₁-microglobulin; N-acetyl-β-D-glucosaminidase

[收稿日期] 20111104(002)

[基金项目] 甘肃省自然科学基金计划项目(096RJZA060); 兰州大学医学科研基金项目(LZUYX200805)

[通讯作者] *滕玉莲, Tel: 13669365605, E-mail: tengyl2011@126.com

镍化合物是一类多器官毒物,可累及肝、肾、肺及心血管、血液等系统^[1-2]。体外研究表明,中药扶正解毒颗粒(汤)(Fuzheng Jiedu Granula, FJG)对镍(nickel)暴露肾细胞毒性具有较好的拮抗作用^[3]。本研究通过研究 FJG 对 NiSO₄ 染毒大鼠尿 α₁-微球蛋白(α₁-microglobulin, α₁-MG)浓度及尿乙酰氨基葡萄糖苷(*N*-acetyl-β-*D*-glucosaminidase, NAG)活性变化的影响,进一步探讨 FJG 抗镍肾毒性机制,为 FJG 临床应用提供新的实验室依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级 Wistar 大鼠 70 只,雌雄各半,体重(180 ± 20)g,由兰州大学医学实验动物中心提供(甘动准 14-006)。

1.2 药物及试剂 扶正解毒颗粒(FJG):由红芪、当归、枸杞、丹参等中药组成,甘肃省食品药品监督管理局批准(甘药制字 Z07031625),兰州太宝制药有限公司生产。NiSO₄ 分析纯,含量 > 99%,西安化学试剂厂);二巯基丁二酸(meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid, DMSA, 美国 Sigma 公司);尿 α₁-MG 试剂盒(南京建成生物工程研究所提供,批号 20100402);尿 NAG 试剂(上海太阳生物技术有限公司);尿肌酐试剂(科华公司)。

1.3 仪器 JB4000A 型 γ 射线检测仪(上海康卓自动化系统工程服务有限公司);日立 7020 全自动生化分析仪。

2 方法

2.1 动物分组及处理 70 只大鼠称重后随机分为 7 组,每组 10 只。生理盐水(NS)组:NS 0.5 mL/只 ip,每天 0.5 mL/只 ig,并同时处死,作空白对照;FJG 对照组:NS 0.5 mL/只 ip,以 FJG 10 g · kg⁻¹ · d⁻¹

(以生药计),下同,ig 处理;NiSO₄ 组:NiSO₄ 2.5 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ ip,连续 7 d,此后间日 1 次,同时每天 NS 0.5 mL/只 ig,直至处死;FJG 高、中、低剂量组:染毒与 NiSO₄ 组相同,染毒第 8 d 起分别以 FJG 20, 10, 5 g · kg⁻¹ · d⁻¹ ig,并予 NS 0.5 mL/只 ig,1 次/d;DMSA 组:除以 DMSA 50 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ ig 处理外,余同 FJG 组,作阳性实验对照。

2.2 尿 α₁-MG 及尿 NAG 活性检测 各组 ig 第 2, 3, 4 周末,给予受试物后禁食不禁水 24 h,以大鼠代谢笼准确收集大鼠 24 h 尿液,稀释,离心取上清液 -70 °C 冻存待检。收集的尿液按统一批次同时进行实验。尿 α₁-MG 浓度采用放射免疫法(RIA)测定,尿 NAG 采用光电比色法测定,同时以酶法测定尿肌酐(UCr),以尿 NAG/UCr 表示尿 NAG 活性。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计学软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行 *F* 检验,两组间比较用 *Q* 检验, *P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对染镍大鼠尿 α₁-MG 浓度变化的影响 FJG 对照组尿 α₁-MG 水平接近 NS 组;随着 Ni 暴露时间的延长, NiSO₄ 组尿 α₁-MG 浓度较 NS 组明显升高 (*P* < 0.01)。与 NiSO₄ 组相比, FJG 组尿 α₁-MG 浓度则显著降低,尤以 FJG 高、中剂量组为著 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 1。

3.2 FJG 对染镍大鼠尿 NAG 活性变化的影响 FJG 对照组尿 NAG 活性接近 NS 组;随着 Ni 暴露时间的延长, NiSO₄ 组尿 NAG 活性较 NS 组明显增强 (*P* < 0.05 和 *P* < 0.01)。与 NiSO₄ 组相比, FJG 组尿 NAG 活性则显著降低,尤以 FJG 高、中剂量组为著 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 2。

表 1 FJG 对染镍大鼠尿 α₁-MG 浓度变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g · kg ⁻¹	尿 α ₁ -MG/mg · L ⁻¹		
		2 周	3 周	4 周
NS	-	2.27 ± 0.63	3.18 ± 0.86	3.31 ± 0.87
FJG 对照	10	2.65 ± 0.72	3.39 ± 0.97	3.16 ± 0.82
NiSO ₄	0.002 5	12.64 ± 3.67 ¹⁾	15.28 ± 4.08 ¹⁾	17.36 ± 4.88 ¹⁾
DMSA	0.05	7.75 ± 2.35	13.27 ± 3.01	14.85 ± 4.16
FJG	5	6.48 ± 1.56	11.23 ± 3.16 ²⁾	12.58 ± 3.57 ²⁾
	10	4.17 ± 1.22 ³⁾	5.28 ± 1.43 ³⁾	9.59 ± 2.73 ²⁾
	20	2.84 ± 0.75 ³⁾	4.17 ± 1.48 ³⁾	4.63 ± 1.22 ³⁾

注:与 NS 组比较¹⁾ *P* < 0.01;与 NiSO₄ 组比较²⁾ *P* < 0.05, ³⁾ *P* < 0.01。

4 讨论

研究证实,水溶性镍盐(如 NiSO₄)暴露,镍在肾脏中有较高的分布与蓄积^[4],同时,镍吸收后,肾脏

为主要的清除途径。镍暴露可致实验动物肾脏质量增加,尿白蛋白含量及 BUN 升高,出现氨基酸尿、肾近曲小管广泛坏死、炎症、纤维化等一系列损

表 2 FJG 对染镍大鼠尿 NAG 活性变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	尿 NAG/UCr/U·mmol ⁻¹		
		2 周	3 周	4 周
NS	-	4.2 ± 1.6	4.3 ± 1.6	4.6 ± 1.8
FJG 对照	10	4.3 ± 1.6	4.4 ± 1.8	4.5 ± 1.7
NiSO ₄	0.002 5	6.8 ± 2.3 ¹⁾	22.8 ± 6.3 ²⁾	36.3 ± 9.8 ²⁾
DMSA	0.05	6.1 ± 1.8	18.5 ± 5.3	29.4 ± 7.5
FJG	5	5.5 ± 1.7	17.8 ± 5.1 ³⁾	24.3 ± 6.6 ⁴⁾
	10	5.2 ± 1.7	9.4 ± 2.6 ⁴⁾	10.7 ± 2.6 ⁴⁾
	20	4.4 ± 1.5 ³⁾	7.3 ± 4.9 ⁴⁾	8.5 ± 2.4 ⁴⁾

注:与 NS 组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; 与 NiSO₄ 组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01。

害^[5-6]。 α_1 -MG 相对分子质量低,约为 2 700,可经过肾小球滤过,并绝大部分被肾近曲小管重吸收而分解,故正常尿中 α_1 -MG 排泄甚微,当近曲小管受损时,因重吸收减少其排泄滤明显增高^[7]因此, α_1 -MG 可视为一种较尿中 β_2 -MG 敏感且能反映肾小管受损的早期灵敏指标^[8]。NAG 是一种高分子量的溶酶体水解酶,广泛存在于各脏器内,但肾脏含量最高,以肾近曲小管上皮细胞含量特别丰富。尿中 NAG 主要来源于近曲小管的溶酶体。尿中 NAG 升高,主要见于肾小管损伤,对于肾小管-间质病变是一个很灵敏且特异性较强的指标^[9]。联合检测尿微量蛋白及尿酶已成为多种肾脏疾病尤其肾小管-间质病变必要的诊断手段。本研究发现,自 NiSO₄(2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹)染毒第 2 周开始,大鼠尿中 α_1 -MG 及 NAG 即异常增高,而以中药 FJG 干预处理后,上述异常变化则得以抑制,尤以大、中剂量组为著。提示,大鼠尿中 α_1 -MG 及 NAG 亦可作为镍性肾损伤的早期敏感指标,中药 FJG 对镍暴露大鼠肾功能具有较好的保护作用。FJG 中红芪、当归、枸杞、丹参等中药具有补气养血,活血化瘀,利湿解毒的功效。药理研究证实,黄芪、当归等补益药为主组成的复方以及化瘀解毒类中药具有明显的抗肾纤维化作用^[10]。本课题组先前研究结果已证实,该中药具有促排镍、抗氧化、调节免疫、改善血液动力学异常以及调节钠钾泵、钙泵活性的作用^[11-13]。FJG 正是通过发挥其多靶点效应使受损肾功能得以修复。有关 FJG 干预镍性肾损伤分子机制仍需进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 刚葆琪,庄志雄.我国镍毒理学研究进展[J].卫生毒理学杂志,2000,14(3):129.
[2] Obone E, Chakrabarti S K, Bai C, et al. Toxicity and

bioaccumulation of nickel sulfate in Sprague-Dawley rats following 13 weeks of subchronic exposure[J]. Toxicol Environ Health A,1999,57(6):379.
[3] 滕玉莲,吕晓云,朱玉真,等.扶正解毒汤对镍诱导 NRK 细胞微核形成的抑制作用[J].中国中医基础医学杂志,2009,15(8):592.
[4] Cempel M, Janicka K. Distribution of nickel, zinc, and copper in rat organs after oral administration of nickel (II) chloride[J]. Biol Trace Elem Res,2002,90(1/3):215.
[5] Kasprzak K S, Sunderman F W Jr, Salnikow K. Nickel carcinogenesis[J]. Mutat Res,2003,533:67.
[6] Obone E, Chakrabarti S K, Bai C, et al. Toxicity and bioaccumulation of nickel sulfate in Sprague-Dawley rats following 13 weeks of subchronic exposure[J]. Toxicol Environ Health A,1999,57(6):379.
[7] YeHong C. Seng clinet Markers of diabetic nephropathy[J]. Diabcomp,1998,12(1):43.
[8] 黄家麟,卢文.血、尿 α_1 -微球蛋白测定对肾脏疾病的诊断价值[J].中国实用内科杂志,1999,19(4):199.
[9] 叶任高,许韩师.尿溶菌酶和 N-乙酰- β -氨基葡萄糖苷酶测定对肾小管-间质病变的诊断价值[J].中国实用内科杂志,1999,19(4):198.
[10] 陶小红,吕晓云,邱皓,等.中药利湿活血方对酒精性肾损害大鼠尿单核细胞趋化蛋白-1 及 β_2 -微球蛋白的影响[J].中医研究,2011,24(2):15.
[11] 常旭红,赵健雄,卢文艳,等.扶正解毒颗粒对硫酸镍染毒大鼠镍代谢的影响[J].毒理学杂志,2008,22(3):200.
[12] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:精选本[M].上海:上海科学技术出版社,1996:189,821,1344,1455,1654,1712,2274.
[13] 赵健雄,朱玉真,宁守斌,等.中医药防治硫酸镍对大鼠肾脏 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶活性影响的实验研究[J].中国职业医学,2000,27(5):23.

[责任编辑 聂淑琴]