

参麦注射液对大鼠 5/6 肾切除模型 肾脏及腹膜形态结构的影响*

何泽云¹ 阳 晓² 张盛光² 魏 毅² 曾 珊³ 曾庆善³ 周小舟²

内容提要 **目的:**探讨参麦注射液对 5/6 肾切除大鼠肾脏和腹膜的保护作用。**方法:**通过 5/6 肾切除造成大鼠肾功能衰竭模型,使用细胞形态计量学中体密度(V_v),平均截面积(A),面数密度(N_A)等参数及光学和电子显微镜观测参麦注射液腹腔、肌肉用药后大鼠腹膜及肾脏形态结构的变化。**结果:**参麦注射液具有减轻肾小球的纤维化程度,促进受损的腹膜间皮细胞修复和再生的作用,对腹膜的保护作用以腹腔用药较显著。**结论:**参麦注射液具有保护 5/6 肾切除大鼠肾脏和腹膜的作用。

关键词 参麦注射液 肾功能衰竭 肾脏形态学 腹膜形态学 细胞形态计量学

Effect of Shenmai Injection on Morphological Structure of Kidney and Peritoneum in Rats with 5/6 Nephrectomy
He Zheyun, Yang Xiao, Zhang Shengguang, et al *Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan Medical University, Changsha (410008)*

Objective: To study the protective effect of Shenmai injection (SMI) on kidney and peritoneum in rats with 5/6 nephrectomy. **Methods:** By using cell morphological quantification, light microscopy and scanning electron microscopy, the morphological structure changes of peritoneum and kidney in rats with 5/6 nephrectomy caused chronic renal failure model after the intramuscular or intraperitoneal injection of SMI were observed. **Results:** The SMI injection could relieve glomerular sclerosis, promote the recovery and proliferation of injured peritoneal mesothelial cell. The effect of the SMI intraperitoneal injection is better than that intramuscular of injection. **Conclusion:** The SMI has the protective effect on kidney and peritoneum in rats with 5/6 nephrectomy.

Key words Shenmai injection, renal failure, kidney morphology, peritoneum morphology, cell morphometry

腹膜透析是治疗肾功能衰竭的常用有效方法,肾功能衰竭时肾脏及腹膜形态结构的改变,将直接影响患者的透析效能,甚至预后。本研究试图从 5/6 肾切除模型中,探讨参麦注射液对肾脏及腹膜形态结构的影响,为中西医结合腹膜透析疗法提供药效学基础。

材料和方法

1 动物 雄性 Wistar 大白鼠,体重 $190 \pm 20\text{g}$,由湖南医科大学实验动物中心提供。

2 药物 参麦注射液(每支 2ml,每毫升含人参、麦冬各 0.1g,四川雅安制药厂生产,批号:910116);1.5% 商品腹膜透析液(乳酸盐,天津和平制药厂生产,批号:890825);戊巴比妥钠(广东佛山化工实验厂生产,批号:890901)。

3 分组及造模 将 20 只大鼠随机分为正常组,病理模型组(简称模型组),参麦注射液加腹膜透析组(简称用药 I 组,参麦注射液浓度为 16g/L,加入腹膜透析液中),腹膜透析加参麦注射液肌肉注射组(简称用药 II 组,参麦注射液剂量为 2g/kg 肌肉注射),每组各 5 只。除正常组外,其余 3 组均行 5/6 肾切除进行慢性肾衰造模,即用戊巴比妥钠 25mg/kg 皮下注射将大鼠麻醉,分离左肾,行上下极切除,1 周后切除右肾。术后饲养 8 周,除正常组和模型组外,其余两组动物进行腹膜透析。具体方法:将大鼠腹部严格消毒后,在其剑突下 1.5cm 处埋植透析管,将 25ml 透析液或参麦注射液灌入腹腔,2h 后将透析液放出,每日 1 次,连续 7 天(用药 II 组在用腹膜透析液作腹膜透析的同时每只大鼠肌肉注射参麦注射液)。最后一次腹透液放出后,切取近肝区腹膜及肾脏标本送检。

4 观测指标

4.1 组织学观察 (1)光学显微镜:切取肾脏和

*国家自然科学基金资助(No. 39070968)

1. 湖南医科大学中西医结合研究所(长沙 410008);2. 湖南中医学院;3. 湖南医科大学电镜室

腹膜组织块,浸入 10% 福尔马林液中固定,逐级酒精脱水,石蜡包埋,HE 染色。(2)电子显微镜:将肾脏皮质和腹膜标本切成 $1\text{mm} \times 2\text{mm} \times 5\text{mm}$ 大小的组织块,用 2.5% 戊二醛作前固定,1% 锇酸作后固定,常规梯度丙酮脱水,Epon 812 包埋,LKB III 型超薄切片机切片,醋酸双氢铀-柠檬酸铅双染色,H-600 型电镜观察。

4.2 形态计量方法 每组 5 只动物,每只动物取相同部位的肾脏和腹膜标本各一块,制成 HE 切片各 1 张,在 Opton(西德)显微镜下观察并且随机拍摄腹膜层照片 1 张($63\times$)。肾脏标本选择近被膜的皮质区,随机拍摄 3 个以上肾小球截面的视野,每张切片摄 3 张照片($160\times$)。根据 Dtlless 原理和细胞形态计量学有关公式⁽¹⁾,即用正方测试格做点分析法测量肾小球和腹膜的体密度(V_v),肾小球的平均截面积($\bar{A}$)和面数密度(N_A)等参数。

5 统计学处理 采用完全随机设计的方差分析。

结 果

1 各组大鼠形态计量结果 见表 1、2。造模后大鼠腹膜的 V_v 参数和肾小球的 V_v 参数均增大,与正常组比较均有显著性差异($P < 0.01$);用药 I 组腹膜和肾小球的 V_v 参数均小于模型组($P < 0.05$);用药 II 组肾小球的 V_v 参数亦小于模型组($P < 0.05$),但腹膜 V_v 参数与模型组比较无显著性差异;用药 I 组和用药 II 组之间比较,无论是腹膜 V_v 参数,还是肾小球的 V_v 参数,均无显著性差异。

表 1 各组大鼠肾小球和腹膜 V_v 参数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	V_v 参数	
	腹膜	肾小球
正常	$0.0956 \pm 0.0074^{\Delta\Delta}(5)$	$0.0178 \pm 0.0039^{\Delta\Delta}(15)$
模型	$0.1786 \pm 0.0127^{**}(5)$	$0.0429 \pm 0.0089^{**}(15)$
用药 I	$0.1362 \pm 0.0152^{**\Delta}(5)$	$0.0314 \pm 0.0039^{*\Delta}(15)$
用药 II	$0.1634 \pm 0.0082^{**}(5)$	$0.0340 \pm 0.0087^{*\Delta}(15)$

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;()内为照片数;下表同

表 2 各组大鼠肾小球 $\bar{A}$ 和 N_A 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	$\bar{A}(\mu\text{m}^2)$	$N_A(\text{mm}^{-2})$
正常	$37.95 \pm 5.35^{\Delta\Delta}(5)$	$0.505 \pm 0.141^{\Delta\Delta}(15)$
模型	$76.39 \pm 7.38^{**}(5)$	$0.291 \pm 0.059^{**}(15)$
用药 I	$54.08 \pm 6.19^{*\Delta}(5)$	$0.393 \pm 0.085^{*}(15)$
用药 II	$61.33 \pm 8.10^{*\Delta}(5)$	$0.329 \pm 0.070^{*}(15)$

造模后肾小球 $\bar{A}$ 参数增大,和正常组比较有显著

性差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);用药 I 组和用药 II 组肾小球 $\bar{A}$ 参数均小于模型组($P < 0.05$);造模后各组肾小球 N_A 参数小于正常组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);用药 I 组、用药 II 组肾小球 N_A 参数与模型组比较虽有差异,但无统计学意义;两用药组间比较无论是肾小球的 $\bar{A}$ 参数,还是肾小球的 N_A 参数,均无统计学意义。

2 形态结构特征

2.1 光学显微镜观察 模型组腹膜组织显示腹膜层明显增厚,常见间皮细胞脱落,有基板裸露现象,间皮下结缔组织松散;用药 I 组与用药 II 组腹膜比正常腹膜略有增厚,间皮细胞脱落少见,有时可见间皮细胞向腔面突起,间皮下结缔组织排列紧密。模型组的肾皮质中常见纤维化肾小球,并有不同程度的细胞增生和毛细血管袢萎缩辨认不清的现象,间质中常见大量炎性细胞浸润,用药 I、II 组部分肾小球内常有细胞数量增多和毛细血管腔变窄,但未见肾小球纤维化现象。

2.2 超微结构观察 定位观察了光镜下有明显改变的病变部位,可见模型组腹膜的间皮细胞大多衰老萎缩或脱落,基板下结缔组织细胞亦出现退变衰老现象,其电子密度明显增大(图 1)。用药 I、II 组间皮细胞脱落现象少见,腹膜表面仍可见完好的间皮细胞层,大部分间皮细胞的胞体增厚,细胞器丰富,可见大量扩张的粗面内质网和小泡,发达的高尔基复合体及线粒体(图 3)。用药 I 组有时还可见到幼稚的间皮细胞呈蝌蚪形游离于腹膜表面的现象(图 3)。

模型组病变严重的肾小球毛细血管腔和肾小球囊腔均呈堵塞状态,内皮小孔少见,上皮细胞核固缩,足突肿胀融合(图 2)。用药 I、II 组大多数肾小球形态结构基本正常,部分肾小球毛细血管袢内可见内皮细胞有不同程度的增生,有时可见内皮小孔减少或毛细血管腔堵塞现象(图 4)。

讨 论

肾小球硬化是各种类型肾小球肾炎发展到晚期的结果,患者的主要症状为慢性肾功能衰竭,镜下表现为肾小球纤维化,间质纤维组织增生,存留的肾单位常发生代偿性肥大⁽²⁾。慢性肾衰时腹膜间皮细胞大部分或全部脱落,间皮细胞表面的微绒毛减少或缺如,间皮下结缔组织排列错乱^(3,4)。本研究中模型组腹膜的形态学改变基本上具有以上形态特征,说明本实验肾功能衰竭模型基本上是成功的。

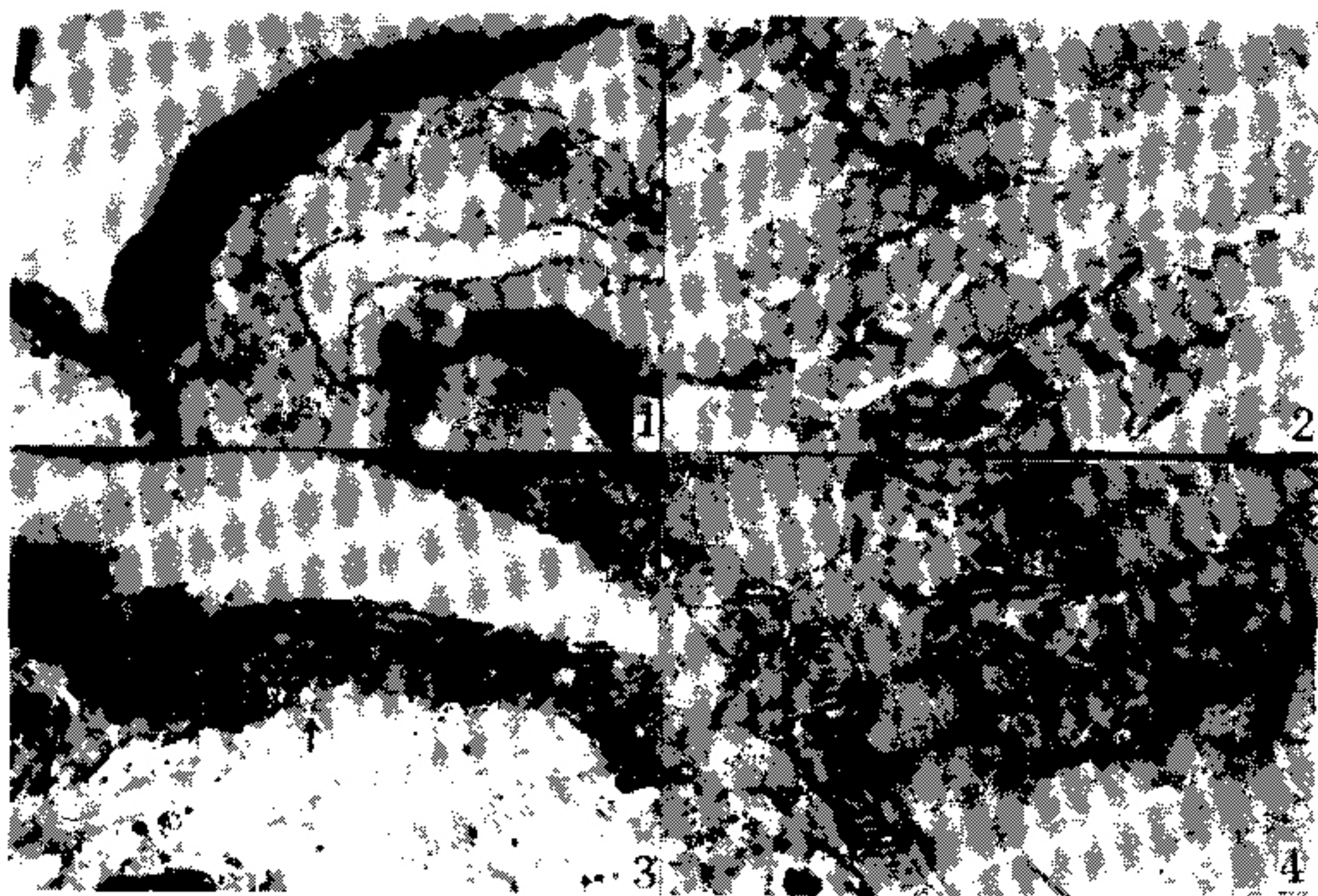


图1 模型组腹膜透射电镜示间皮细胞和间皮下纤维细胞(△)萎缩,电子密度增大,退化萎缩的间皮细胞脱离基板(6000×)
图2 模型组肾小球透射电镜示毛细血管腔内大量纤维结构(8000×) 图3 用药I组腹膜透射电镜示间皮细胞紧贴基板(↑),
间皮细胞内细胞器丰富(5000×) 图4 用药I组肾小球透射电镜示毛细血管内增生的内皮细胞核(N)(5000×)

腹膜透析作为治疗慢性肾功能不全有效、安全的方法,而被广泛地使用。腹膜作为腹膜透析的半透膜,假如其增厚或(和)间皮细胞脱落,势必影响腹膜透析的效能。因此,保护肾脏特别是保护腹膜的技术或药物就成为研究者所关注的重要课题⁽⁴⁾。参麦注射液由人参、麦冬两味药物所组成,具有补气、滋阴、行血的作用。既往的研究表明,参麦注射液加入到腹膜透析液中能提高大鼠腹膜对尿素氮、菊糖的清除率⁽⁵⁾。本实验研究结果表明:(1)参麦注射液能阻止和减轻肾小球纤维化,从而减轻肾小球的代偿性肥大;(2)参麦注射液具有减轻肾衰大鼠腹膜增厚,减少间皮细胞的脱落,促进间皮细胞的修复或再生的作用,这种作用以腹腔用药较明显。

综上所述,我们认为参麦注射液具有减轻肾小球纤维硬化程度,促进受损腹膜间皮细胞的修复和再生的作用。参麦注射液对腹膜间皮细胞的保护作用的机制可能是:(1)增加大鼠腹腔中的 C_3 和 IgG 含量,使其防御功能增强⁽⁶⁾;(2)改善大鼠腹膜微循环⁽⁷⁾。推测参麦注射液对肾脏的保护作用,可能是通过增加大鼠腹腔中防御功能及改善肾小球毛细血管瘀塞状态而实

现。参麦注射液减轻腹膜增厚,促进腹膜间皮细胞修复再生,是其提高腹膜清除率的形态学基础,而阻抑肾小球纤维化,则有病因学治疗意义。

参 考 文 献

1. 郑富盛. 细胞形态立体计量学. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1990:16—86.
2. 王海燕. 肾脏病学. 第2版. 北京:人民卫生出版社,1996:698.
3. Dipaol N, Sacchi G, Demia M, et al. Morphology of the peritoneal membrane during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephron*. 1986;44:204—211.
4. 若林 良则,川口 良人. 腹膜透析と硬化性被囊性腹膜炎. *医学のあゆみ* 1997;83(5):363—367.
5. 何泽云,张盛光,阳 晓,等. 益气养阴剂对腹膜溶质转运作用的实验研究. *湖南中医学院学报* 1995;15(1):45—48.
6. 阳 晓,魏 毅,何泽云,等. 参麦注射液对腹腔局部防御功能的影响. *中国中西医结合杂志* 1996;16(9):547—548.
7. 阳 晓,张盛光,袁肇凯,等. 参麦注射液对大鼠腹膜微血管的作用观察. *中国中医药科技* 1994;1(6):28—30.

(收稿:1997-11-20 修回:1998-04-20)