

●论著●

鱼腥草注射液对膜性肾病大鼠的初步实验研究

钟瑜¹ 常克² 杨岑³ 杨国汉¹

(1 第三军医大学附属大坪医院中医科 重庆 400042; 2 成都中医药大学附属医院 四川成都 610072;
3 重庆市璧山县中医院 璧山 400042)

摘要:目的:探讨鱼腥草注射液对膜性肾病大鼠的影响及作用机制。方法:将造模大鼠分为 4 组:即模型对照组、鱼腥草注射液 20mL/Kg 组、鱼腥草注射液 10mL/Kg 组、地塞米松磷酸钠注射液 0.1mg/Kg 组,连同原有正常对照组,共 5 个组。实验结束时测定 24h 尿蛋白定量,并作光镜下观察及免疫组化染色。结果:鱼腥草注射液大、小剂量组 24h 尿蛋白定量较模型对照组显著减少($P < 0.05$);光镜下鱼腥草大剂量组较模型组肾小球周围炎症反应明显减轻,血管内仅有少量红细胞,体视学统计鱼腥草大小剂量组分叶肾小球较模型组有显著性减少($P < 0.05$),TGF- β_1 免疫组化染色结果鱼腥草大剂量组肾小球及周围组织着色明显较浅,免疫反应明显减轻。结论:鱼腥草注射液能降低造模大鼠的 24h 尿蛋白定量,对造模大鼠有减轻其病理损伤的作用。

关键词:膜性肾病;鱼腥草注射液;实验研究;尿蛋白定量;光镜;免疫组化染色

Abstract: Objective:The study was designed to observe the effect of herba houttuyniae on SD MN rats and discuss its mechanism of action. Methods: SD rats were made to membranous nephritis model by cation bovine serum albumin and divided into 4 groups, the model group, the high-dose and low-dose houttuynia group, Dex group. Healthy rats were used as normal control group. Twenty-four hours' urinary protein content and plasma albumin, blood lipid were tested by the end of experiment. Pathological changes were observed by using light and used immunohistochemistry staining test. Results: As compared to model group, high-dose and low-dose houttuynia group rats showed less urinary protein excretion($P < 0.05$), Light、immunohistochemistry staining all showed that the pathologic changes in the high-dose and low-dose houttuynia group were lesser than that of the model group. Especially the high-dose houttuynia group. Conclusion: Houttuyniae can reduce urinary protein content.Houttuyniae also can reduce the pathologic changes of SD rats were made to membranous nephritis model by cation bovine serum albumin.

Key words: houttuynia; membranous nephritis;Experiment study urinary protein content immunohistochemistry staining

中图分类号:R 692

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2005)01- 0001-02

膜性肾病(membranous.nephropathy)常表现为肾病综合征,病变的特征是肾小球基底膜增厚,肾小球毛细血管壁的上皮细胞下有沉积物,免疫荧光可见 IgG 及 C₃,目前多数学者认为是一种原位免疫复合物形成致病^[1]。国内 10594 肾活检病理资料分析显示,原发性肾小球疾病中膜性肾病占第 3 位(9.54%),且近 10 年来明显增多^[2],临床表现几乎都有蛋白尿,70%~85%表现为肾病综合征型蛋白尿^[3]。膜性肾病是一种复杂的自身免疫性疾病,目前治疗主要是通过激素或免疫抑制剂调节体液和细胞免疫功能^[4]。但激素对细胞免疫有显著的抑制作用,长期大剂量激素治疗可导致许多不良反应及并发症,成为疾病复发疗效不佳的主要原因和死亡最危险的因素。目前许多医家认为中西医结合治疗是较为理想的方法,中药在消除蛋白尿,防止复发及减轻西药副作用等方面起着越来越重要的作用。通过临床观察和实验研究,寻找对膜性肾病具有积极治疗意义的中药,了解其对膜性肾病的作用机制,具有高度的临床和科研价值。本实验进一步探讨鱼腥草注射液对肾病综合征的作用机制,以膜性肾病大鼠模型为研究对象,观察鱼腥草注射液对其临床症状、病理组织及细胞因子的影响,以期获得鱼腥草注射液对肾病综合征疗效的一些初步认识。

1 材料与方法

1.1 实验分组 SD 雄性大鼠(四川大学华西医学院实验动

物中心提供),体重 142~182g,尿蛋白测试 2 次全部为阴性,分为 4 组即模型对照组、鱼腥草注射液 20mL/Kg 组、鱼腥草注射液 10mL/Kg 组、地塞米松磷酸钠注射液 0.1mg/Kg 组,连同原有正常对照组,共 5 个组。每组为 10 只动物。地塞米松磷酸钠注射液(西南药业股份有限公司出品),鱼腥草注射液(六枝二矿集团大华药业有限公司生产,原浓度药液供大剂量使用,用 NS 稀释(1:1)后供小剂量使用),阳离子化牛血清白蛋白(由四川大学华西医学院提供),TGF- β_1 试剂(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 模型制备 取 C-BSA 1mg,加入 0.5mLPBS 中,与等量的弗氏不完全佐剂混匀成乳白色悬液,在大鼠双侧腋下,腹股沟作多点皮下注射。预免疫 1 周后,每只大鼠尾静脉注射 C-BSA 2.5mg,每周 3 次,共 3 周。免疫注射 9 次后开始给药,每组均采用 ip 给药,正常对照组与模型对照组 ipNS,给药容积均为 20mL/Kg,每日给药 1 次,连续给药 28d。每 7 日称体重 1 次,根据体重变化,调整给药量。鱼腥草注射液 20mL/Kg 组,基本达到 ip 给药的最大容积,即 2mL/100g 体重。该组剂量约为临床最大用量的 10~12 倍。鱼腥草注射液 10mL/Kg 组,约为临床最大用量的 5~6 倍。地塞米松磷酸钠注射液组 0.2mg/Kg,约为临床最低用量的 6 倍。

1.3 观察项目 (1) 24h 尿蛋白定量测定:采用苦味酸法,治疗前后各测定 1 次,共 2 次。(2) 肾脏光镜观察:给药治疗

4 周后,将大鼠断头处死,立即分离肾脏,观察肾脏外观形态、称取肾脏重量,随机间隔固定,取 1 肾脏经肾门均匀纵切。随机取样 2 块置于 Bouins 液中固定,逐级乙醇脱水,浸蜡,石蜡包埋,常规切片 5μ m 2 张,经 PAS 染色,常规光镜观察。(3) 光镜图象的立体学形态定量分析:肾小球直径、面积分数、总表面积、体积分数、体积;每张切片投影至体视学图象分析系统,规定测格,采用点计数法读取肾脏组织全部视野的总点数(P),及落入于肾小球内的点数(P0),测量每个肾小球的直径,采用禁线法记录分叶肾小球个数。(4) 采用武汉博士德生物工程有限公司的 TGF-β₁ 试剂,产品编号为 BA0290,稀释浓度为 1:100,操作步骤同 SABC 单抗免疫组化染色。

2 结果

2.1 治疗前后大鼠 24h 尿蛋白定量(mg/24h)的变化 造模各组大鼠经注射 C-BSA 4 周后,24h 尿蛋白含量在明显升高,造模各组尿蛋白与正常组比较,均有显著性差异(P<0.01),显示造模成功。给药治疗 4 周后,经药物治疗各组尿蛋白均显著降低,与模型组比较,有明显差异(P<0.05),尤以鱼腥草大剂量组作用明显。与地塞米松组比较,鱼腥草各组与之在降低尿蛋白方面无显著差异。见表 1。

表 1 治疗前后大鼠 24h 尿蛋白定量的变化($\bar{X} \pm S$) mg/24h			
组别	n	治疗前	治疗后
正常对照组	10	13.15±6.50	12.08±5.00 [○]
模型对照组	10	82.27±57.35**	41.28±15.90*●▲△
鱼腥草大剂量组	10	78.28±53.57**	20.04±7.60 [○]
鱼腥草小剂量组	10	79.32±52.46**	20.39±7.07 [○]
地塞米松组	9	80.81±57.42**	22.42±5.87 [○]

注:与正常对照组比,**P<0.01,*P<0.05;与模型对照组比,○P<0.05;与鱼腥草大剂量组比,●P<0.05;与鱼腥草小剂量组比,▲P<0.05;与地塞米松组比,△P<0.05。

2.2 光镜观察 光镜下正常组肾小球结构无明显异常;模型组肾小球体积明显增大,球内细胞增多,毛细血管壁明显增厚,毛细血管内出现较多红细胞(出血),肾小球周围大量炎性细胞浸润,肾小球分叶明显,肾小管近曲小管水肿,PAS+苏木精染色可见 GBM 增厚;鱼腥草大小剂量组及地塞米松组光镜下表现与模型组相似,但病变程度明显减轻,鱼腥草大剂量组肾小球周围炎性反应明显减轻,血管内少量红细胞;地塞米松组血管内红细胞数量明显减少,肾小球周围仅少量炎性细胞浸润;鱼腥草小剂量组肾小管周围及血管周围炎性细胞浸润明显,但无明显出血性改变。

2.3 光镜图象的立体学形态定量分析 模型对照组与其余治疗各组有显著性差异,分叶肾小球最多,各治疗组都有不同程度的改善,说明鱼腥草和地塞米松有防治肾小球纤维化和肾小球硬化的作用。见表 2。造模后的大鼠肾小球体积有不同程度的增大,正常对照组与造模组及治疗各组其余各组有显著性差异。

表 2 各组大鼠分叶肾小球的统计($\bar{X} \pm S$) μ m			
组别	n	平均值±标准差	各组之间的差异
正常对照组	5	0.40±0.89	○
模型对照组	5	6.60±5.94	*●▲△
鱼腥草大剂量组	5	1.20±0.83	○
鱼腥草小剂量组	5	2.20±1.09	○
地塞米松组	4	2.00±0.81	○

注:与正常对照组比,*P<0.05;与模型对照组比,○P<0.05;与鱼腥草大剂量组比,●P<0.05;与鱼腥草小剂量组比,▲P<0.05;与地塞米松组比,△P<0.05。

2.4 TGF-β₁ 免疫组化染色结果 ED1022 显色紫蓝色为阳性结果,模型对照组肾小球囊壁、基底膜及间质出现较多紫蓝色阳性颗粒,肾小球、血管及周围组织出现大量紫蓝色阳性颗粒;正常对照组 TGF-β₁ 染色不着色(TGF-β₁ 组化染色阴性);鱼腥草大剂量组肾小球及周围组织着色较浅,免疫反应轻;鱼腥草小剂量组肾小球囊壁及基底膜阳性反应明显,间质也有部分染色;地塞米松组肾小球囊壁阳性着色,但间质基本无阳性反应。

各组大鼠肾脏组织 TGF-β₁ 组化染色结果:正常对照组为阴性,模型对照组为强阳性,鱼腥草大剂量组为弱阳性,鱼腥草小剂量组为阳性,地塞米松组为阳性。

3 讨论

鱼腥草(Houttuynia cordata thunb)为三白草科植物蕺菜的带根全草,味辛性微寒,入肝肺两经,全草含挥发油,主要成分为甲基正壬酮(C₁₁H₂₂O)、癸酰乙醛、月桂油、槲皮甙等^[1],具有抗菌、利尿、镇咳作用,同时对免疫功能也有较好的调节作用。李红等采用单味鱼腥草治疗肾病综合征 23 例疗效观察的研究中,也显示出鱼腥草在减少尿蛋白、提高血浆白蛋白起明显的作用^[6]。刘先容等(《2003 年全国肾脏病学术年会资料选编》)用鱼腥草注射液治疗 40 例肾病综合征患者获得较好疗效。常克等在多年临床观察中,发现鱼腥草注射液有减轻肾病综合征蛋白尿症状的作用^[7]。本实验结果表明,鱼腥草大小剂量组 24h 尿蛋白定量明显小于模型对照组(P<0.05),结合后面的光镜和免疫组化结果看,鱼腥草注射液可能有减少免疫复合物沉积的作用,从而减轻由于免疫复合物沉积而造成的肾小球基底膜结构损伤和电荷性质的改变,减少尿蛋白的排出。

自 DE LARCO 和 TODARO 于 1978 年首先发现转化生长因子(TGF-β₁) 以来,人们对其作了大量的研究,发现它具有调节细胞生长、分化,以及免疫抑制、免疫趋化等多种生物学功能,参与了机体许多生理和病理过程,其中尤以在组织器官免疫和非免疫损伤后的瘢痕和纤维化形成过程中的作用最引人注目。现在有越来越多的证据表明,TGF-β₁ 可能是肾硬变、肝硬变的重要细胞介质。本实验表明鱼腥草大剂量组较模型组肾小球及周围组织着色明显变浅,免疫反应明显减轻。说明鱼腥草注射液有降低 TGF-β₁ 蛋白表达水平、减轻肾脏损伤、延缓肾脏病理慢性进展的作用。

参考文献

[1]阳晓.原发性膜性肾病的治疗[J].中国中西医结合肾病杂志,2002,3(10):614~616
[2]杨洪涛,邢海涛,赵菁莉,等.活血软坚方对家兔膜性肾病肾组织病理学及细胞因子的影响[J].天津中医药,2003,20(2):53~56
[3]余学清,杨琼琼.特发性膜性肾病的治疗[J].中国实用内科杂志,2003,23(5):261~263
[4]伦立德,刘景锋,程苏琴.中药加激素对肾病综合征患者的免疫调控作用[J].人民军医,1997,40(7):396~398
[5]吴燕,王梅.鱼腥草制剂应用心得[J].中医研究,(下转第 32 页)

牙龈距过短时前磨牙金属烤瓷修复的探讨

胡友德 何予敏

(江西省人民医院口腔科 南昌 330006)

关键词:前磨牙;残根;金属烤瓷修复;牙龈距过短;根管填充

中图分类号:R 783.3

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2005)01- 0032-01

临床上的残根很常见,特别是一些患者因严重的楔状缺损而导致前磨牙的牙冠折断而形成残根。这种情况下的残根往往无松动,无吸收,牙周情况良好,一般情况可以先做金属桩核,再做金属烤瓷全冠修复^[1]。但是,临床上常有不少的患者因过度磨耗或深覆牙合深覆盖等原因导致牙龈距过小(小于 3mm),此时,桩核与全冠分开做固位力会很差,容易脱落。我们经过多年临床实践,认为直接用烤瓷金属做桩核,然后在桩上烤瓷,使之成为一个整体,形成稳定的固位力,既可以恢复咬合功能,又可以达到美观要求^[2]。

1 资料和方法

1.1 治疗对象 病例来源于门诊挂号病人,共 57 人 129 牙,其中男性 36 人 81 牙,女性 21 人 48 牙;年龄最大的 61 岁,最小的 28 岁;左侧 72 牙,右侧 57 牙。选择对象为前磨牙区残根(或大面积龋坏而又无法充填修复的患牙),无松动、无吸收,牙周情况良好。

1.2 材料 印模材料采用美国 Dentsply 的 Jeltrste 翡翠海藻印模,石膏用美国 Dentsply 的 Gentsply 超硬石膏,合金用美国 Dentsply 的 Biobond II 烤瓷合金,瓷粉用美国 Dentsply 的 Carat 瓷粉,粘结材料用美国 Dentsply 的 Poly F 聚羧酸锌水门汀。

1.3 治疗步骤 首先,常规根管充填治疗,观察 1~2 周后摄 X 片确定根充情况良好。第二步,进行根面和根管预备,颊侧颈缘位于龈下并备出 1~1.5mm 的肩台,形成颈环或抗力固位圈。也有学者称之为金属领圈^[3]。第三步,用嵌体蜡在口内以直接法取出桩核蜡型,再用烤瓷合金铸成金属桩核。第四步,桩核做成后临床试戴,戴桩取模,把桩核翻埋在石膏模型上。然后在桩核上直接烤瓷。对于有些咬合过紧的病例可以考虑用金属恢复咬合关系,仅在颊面烤瓷。最后,临床试戴,调牙合,聚羧酸锌水门汀粘结。

2 结果

2.1 疗效评定标准 成功:修复后 1 年以上复查,牙根无松动,牙周无病变,桩核无松动或脱落,咬合功能良好。失败:修复后 1 年以上复查,牙根松动或牙根纵裂或桩核松动。

2.2 复查结果 经过 1 年以上复查 111 个牙,临床检查有 103 个牙成功,8 例失败。见表 1。

复诊时间		表 1 1 年后复查情况表				例	
		失败病例				成功病例	
		牙根松动 / 牙尖周炎	牙根纵裂	桩核松脱		例数	%
1 年~	36	1	0	1		34	94.44
2 年~	45	1	1	1		42	95.56
3 年~	30	0	2	1		27	90.00
合计	111	2	3	3		103	92.79

3 讨论

临床上常见很多残根或残冠,不同程度地影响着咬合功能和美观,患者就诊一般要求保留残根并做固定修复。有不少残根牙周情况良好,可以保留,特别是一些严重的楔状缺损而导致前磨牙区的牙冠颈部折断。这些牙一般无牙周炎症,一般情况可以先做桩再做冠,但有些患者因严重深覆牙合覆盖或过度磨耗,而导致牙龈距过小(小于 3mm),桩冠分开制作会因固位力不良而导致全冠脱落。针对这些病例,我们在桩核上直接烤瓷,使之成为一个整体,形成稳定的固位力。这样不仅可以保留患牙,恢复咬合功能,而且可以达到病人的美观要求。从冠桩牙体分界处扩展牙体,制备颈缘肩台处的一段平行牙本质壁为全冠所包绕者,能增强牙齿抗力,这段包绕在牙体上的冠边缘称颈环或抗力固位圈。颈环的高度在 1~1.5mm,提供“箍”的作用,不致在牙合力作用下桩核形成转矩造成桩核脱落或桩核旋转致根折断。颈环的制备将使牙体与支持骨组织共同承担牙合力。

我们分析认为,由于选择的病例主要是一些咬合关系过紧的病人,所以失败的主要原因就是没有确立良好的咬合关系,没有避免过大的咬牙合力和侧向力,致牙合创伤或桩核脱落或牙根纵裂^[4]。

参考文献

[1] 郑麟蕃, 张震康. 实用口腔科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.858
[2] 武丽春, 黄庆, 李冲, 等. 前牙金属烤瓷核桩冠修复的临床应用[J]. 北京口腔医学, 2000, 8(4): 186
[3] 陈东平. 金属领圈在桩冠修复中的应用及研究进展[J]. 国外医学口腔医学分册, 2003, 30(2): 154~156
[4] 刘文斌, 陈敏芳, 吴海松, 等. 核桩金属烤瓷冠修复的临床研究[J]. 现代口腔医学杂志, 2000, 14(2): 124

(收稿日期: 2004 -10 -08)

(上接第 2 页) 2001, 14(5): 60
[6] 李红, 王春枝, 赵振华. 单味鱼腥草治疗肾病综合征 23 例疗效观察 [J]. 四川中医, 1995, 12: 25

[7] 常克, 吕斌, 钟柏松. 999 鱼腥草注射液消除肾病综合征蛋白尿 36 例 [J]. 辽宁中医杂志, 2000, 27(5): 206~207
(收稿日期: 2004 -06 -01)