

• 论著 •

糖毒清对糖尿病肾病大鼠肾组织 VCAM-1 表达影响的研究*

赵玲 卢富华 指导:黄春林

(广州中医药大学第二附属医院 广东广州 510120)

摘要:目的:探讨糖毒清治疗糖尿病肾病肾功能不全的可能机制。方法:采用 5/6 肾切除合中等剂量的 STZ 腹腔注射方法建立糖尿病肾病肾功能不全模型,将造模成功的大鼠 50 只随机分为 5 组:模型组(生理盐水 2mL/d 灌胃)、糖毒清高剂量组[糖毒清 6.75g/(kg·d)灌胃];糖毒清中剂量组[糖毒清 4.5g/(kg·d)灌胃]、糖毒清低剂量组[糖毒清 2.25g/(kg·d)灌胃]、尿毒清组[尿毒清 2.25g/(kg·d)灌胃]。另外 10 只正常对照组大鼠予生理盐水 2mL/d 灌胃;治疗 10 周后,通过免疫组化的方法检测各组大鼠肾组织的 VCAM-1 表达情况。结果:模型组大鼠肾组织 VCAM-1 表达明显增多,而糖毒清组大鼠肾组织 VCAM-1 的表达明显减少。结论:糖毒清可以减少糖尿病肾病肾功能不全大鼠肾组织 VCAM-1 的过度表达,从而达到控制或延缓糖尿病肾病肾功能恶化的进程。

关键词:糖尿病肾病;肾功能不全;VCAM-1;糖毒清;实验研究;益气助阳;化痰泄浊

Abstract:Objective: To clarify the possible mechanisms of Tangduqing granules through examining and comparing the expressions of VCAM-1 in renal tissues of model rats with diabetic renal insufficiency (DRI). Methods: Sixty male SD rats were experienced combination of 5/6 nephrectomy and abdominal cavity injection with midium-dose streptozotocin to establish model rats with DRI. Fifty successful model rats with DRI were divided into five groups randomly: Model Group (Administered with NS 2mL/d). High Dose Group [Administered with Tangduqing 6.75g/ (kg·d)], Medium Dose Group [Administered with Tangduqing 4.5g/ (kg·d)], Low Dose Group [Administered with Tangduqing 2.25g/ (kg·d)], Niaoduqing Group [Administered with Niaoduqing 2.25g/ (kg·d)]. Ten age-matched healthy male SD rats were served as controls (Administered with NS 2mL/d). Ten weeks later, the expressions of VCAM-1 in renal tissues of rats with DRI were observed through immunohistochemical method. Results: The expressions of VCAM-1 in renal tissues of rats with DRI were obviously enhanced. The expressions of VCAM-1 in renal tissues of rats with Tangduqing were obviously decreased. Conclusion :Tangduqing might reduce the over-expression of VCAM-1 in renal tissues of rats with DRI, and control or delay the development of renal failure.

Key words: Diabetic Renal Insufficiency;VCAM-1; Tangduqing;empirical study;removing blood stasis and resolving masses ; supplementing qi and aiding yang

中图分类号:R 692.5

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2006)01-0001-02

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)在临床上已成为慢性肾功能不全的主要成因,据临床统计糖尿病肾病肾功能不全(Diabetic Renal Insufficiency, DRI)占终末期肾病透析病人的三分之一左右,对人类的健康和生存质量构成了严重的威胁。糖毒清是广东省名中医黄春林教授长期以来治 DRI 的有效方剂,在益气助阳、化痰泄浊原则指导下,由黄芪、大黄等 4 味药组成。以往的动物实验已证明糖毒清对 DRI 模型大鼠有确切的改善肾功能、控制 / 延缓肾功能衰竭进程的作用。故我们进行了以下的实验研究以进一步深入探讨糖毒清的作用机制。

1 材料与方

1.1 实验动物 清洁级雄性 SD 大鼠 70 只(广州中医药大学实验动物中心提供),体重 160~200g,自由饮水和进食 1 周以适应环境。按体重及生长状况随机分为正常对照组 10 只,其余 60 只用于造模。

1.2 实验试剂及药物 试剂:链脲佐菌素(STZ,购自美国 ALEXIS 公司,批号:L08072)。VCAM-1 免疫组化检测试剂盒及相应辅助试剂由美国基因公司提供。尿毒清颗粒剂:广州康臣药业生产,批号:010511。糖毒清颗粒剂:广州中医药大学药剂教研室制备。

1.3 DRI 大鼠模型的制作 先按改良法^[1]作 5/6 肾切除,2 周后将术后大鼠按 50mg/kg 体重腹腔注射 STZ (溶于 10mmol/L 的枸橼酸缓冲液中, pH4.4, 浓度为 2%), 3d 后尾静脉采血测血糖大于 16.7mmol/L 者纳入本实验。正常对照组以等量的缓冲液腹腔注射。

1.4 分组及干预措施 模型成功后,将模型大鼠随机分为模型组,糖毒清高、中、低剂量组,尿毒清组,每组 10 只。造模后分组喂养 10 周。正常对照组:生理盐水 2mL/d 灌胃;模型组:生理盐水 2mL/d 灌胃;糖毒清高剂量组:糖毒清 6.75g/(kg·d)灌胃;糖毒清中剂量组:糖毒清 4.5g/(kg·d)灌胃;糖毒清低剂量组:糖毒清 2.25g/(kg·d)灌胃;尿毒清组:尿毒清 2.25g/(kg·d)灌胃。

每周以微量血糖仪检测空腹血糖 1 次,对血糖过高者(>26.0mmol/L)皮下注射小剂量(1~2U)鱼精蛋白锌胰岛素,以保证大鼠继续存活。

1.5 标本的处理 大鼠处死后,打开腹腔摘取肾脏,取材后经 4%多聚甲醛固定 24h,梯度酒精脱水、二甲苯透明、常规石蜡包埋,置于 4℃保存备用。

1.6 VCAM-1 检测 免疫组织化学方法检测 VCAM-1,按试剂盒标明的方法(具体步骤略)。

* 广东省科技厅(2002C30502)及广东省教育厅(Z02010)资助项目

1.7 统计方法 用 SPSS 统计软件进行统计,采用非参数检验(Nonparametric Test)方法。

2 结果

免疫组化法检测肾组织 VCAM-1 表达结果。采用定性和半定量 2 种方法进行判定。定性法是根据细胞膜或胞浆被染成棕褐色为阳性结果。半定量方法是根据每张切片阳性反应颗粒占细胞总数的比例定为:阴性(-),未见或偶见阳性颗粒;阳性(+),阳性颗粒少于 1/3;中等阳性(++),阳性颗粒少于 2/3;强阳性(+++),阳性颗粒在 2/3 以上。为统计方便,予以半定量计分 1、2、3、4 分别对应(-)、(+)、(++)、(+++)。每张切片至少观察 3 个视野。实验结果显示:模型组大鼠肾组织 VCAM-1 阳性表达明显增多,与正常对照组比较有显著性差异(P<0.01);各治疗组的 VCAM-1 阳性表达与模型组比较均有所减少,其中糖毒清高、中剂量组与模型组相比有显著性差异;糖毒清 3 个剂量组的 VCAM-1 阳性表达与正常对照组比较均无显著性差异,而尿毒清组与正常对照组比较则有显著性差异(统计结果见表 1)。

表 1 各组大鼠肾组织 VCAM-1 阳性表达情况比较

组别	n	VCAM-1/只				阳性积分	阳性百分率(%)
		-	+	++	+++		
正常对照组	10	5	3	2	0	17	15.4
模型组	9	0	1	3	5	31	67.8
糖毒清(高)	8	2	2	2	2	20	37.8
糖毒清(中)	9	3	3	2	1	19	27.5
糖毒清(低)	9	2	3	3	1	21	30.5
尿毒清组	8	1	2	2	3	23	48.7

3 讨论

粘附分子(adhesion molecules)是在细胞表面具有介导细胞间或细胞与细胞外基质相互作用的糖蛋白。它们通过与其相匹配的受体结合形成网络,介导细胞间粘接,并互相传递信号,参与调控细胞功能,在机体的胚胎发育、炎症、免疫反应及血栓形成等过程中起着关键作用^[1]。VCAM-1 属于免疫球蛋白超家族粘附分子,已有研究表明 VCAM-1 与糖尿病及

其慢性并发症密切相关^[2]。Otsuki 等通过对 101 个患有 2 型糖尿病的日本测定可溶性血管细胞粘附分子-1(sVCAM-1)的浓度,研究发现有症状或无症状的有动脉粥样硬化损伤的 2 型糖尿病病人,其 sVCAM-1 的水平比没有动脉粥样硬化的病人明显增高,指出循环中的 sVCAM-1 可能是 2 型糖尿病病人有动脉粥样硬化损伤的标志物^[3]。Fasching 等发现在 1 型糖尿病患者中,有糖尿病视网膜病变、微量或大量白蛋白尿者的 sVCAM-1 水平比无这些病变者高^[4]。黄氏等研究发现 2 型糖尿病患者血清 sVCAM-1、TNF-α、血浆 ET 水平均升高,有微血管病变组较无微血管病变组更高,三者密切相关^[5]。

本实验结果表明,模型组大鼠肾组织 VCAM-1 的阳性表达明显增多,与正常对照组相比有显著性差异,而糖毒清各治疗组肾组织 VCAM-1 的阳性表达较模型组明显减少,说明糖毒清可能通过调控 VCAM-1 在肾组织的表达,而延缓 DN 的进程,这可能是糖毒清治疗 DRI 的机制之一。

参考文献

[1]邵永红,黄英伟,陈劲松,等.血管紧张素转换酶基因多态性与糖尿病及其肾脏合并症发病的关系[J].中华肾脏病杂志,1999,15(1):36~39

[2]温玉洁.细胞粘附分子与糖尿病肾病的关系以及应用低分子肝素的治疗[J].广西医学,2000,22(3):541-543

[3]Fasching P,Voitl M,et al.Elevated concentrations of circulating adhesion molecules and their association with microvascular complication in insulin-dependent diabetes mellitus [J].J Clin Endocrinol Metab,1996,81:4 313~4 317

[4]Ostuki M,Hashimoto K,Morimoto Y,et al.Circulating vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in atherosclerotic NIDDM patients [J].Diabetes,1997,46(12):2 096

[5]黄勤,邹大进,冯正康,等.糖尿病患者血清可溶性血管细胞粘附分子-1 水平变化及其临床意义 [J].中华内分泌代谢杂志,2001,17(1):38~39

(收稿日期:2005-09-07)

口服酮替芬致急性肝损害及胆囊萎缩 1 例

马俊霞

(山东省济宁纺织医院 济宁 272035)

关键词:酮替芬;副作用;急性肝损害;胆囊萎缩;病例报告

中图分类号:R 969.3

文献标识码:B

文献编号:1671-4040(2006)01-0002-01

患者男,59 岁,教师。因在草丛中捡东西,1h 后,全身泛发皮疹,高出皮肤面,伴瘙痒。自服酮替芬治疗,每日口服 2 次,每次 1mg,治疗 2d,皮疹逐渐消退,全身瘙痒消失。第 3 天,患者感觉整个腹部胀满,食欲减退,并发现小便发黄,其家人发现患者面色、巩膜黄染,到本院就诊。予以查肝功能及甲型肝炎病毒 IgM 抗体(抗-HAV-IgM)、乙肝表面抗原及抗体(HBsAg、抗-HBsAg)、丙肝抗体(抗-HCV)、庚型肝炎抗体(抗-HGV)、戊肝抗体(抗-HEA),并做 B 超检查肝胆。结果示:谷丙转氨酶(ALT):1593.90U/L,球蛋白(G)36g/L,白蛋白/球

蛋白(A/G)1:10,总胆红素(TBIL):118.70μmol/L,直接胆红素(DBIL):93.70 μmol/L,间接胆红素 (IBIL):25 μmol/L;抗 HAV-IgM 阴性,HBsAg 阴性,抗-HBsAg 阴性,抗-HCV 阴性,抗-HGV 阴性,抗-HEV 阴性。肝、胆 B 超示:胆囊萎缩呈一条直线,肝脏结构正常。诊为“急性肝损害,重症胆囊炎”收住院。患者既往身体健康,未患过肝炎、结核等传染病,无高血压及糖尿病史。

查体:T 36.7℃,P 80 次/min,R 20 次/min,BP 110/70mmHg,中年男性,消瘦体形,神志清,精(下转第 75 页)