

白芍总苷对腹膜纤维化大鼠 HMGB-1、Smad7 的影响*

张晷¹ 汤水福² 练建红³ 曾科学¹

(1 广东省第二中医院 广州 510095; 2 广州中医药大学第一附属医院 广东广州 510405;

3 广东省广州市中医院 广州 510013)

摘要:目的:观察白芍总苷对腹膜纤维化大鼠 HMGB-1、Smad7 蛋白表达的影响。方法:选用健康 SD 大鼠 32 只,随机分为空白组、模型组、白芍总苷高剂量组、白芍总苷低剂量组,每组 8 只。用 4.25% 腹膜透析液每日腹腔注射和脂多糖间断腹腔注射进行大鼠腹膜纤维化造模。白芍总苷高剂量组每日给予白芍总苷 200 mg/(kg·d)灌胃,白芍总苷低剂量组每日给予白芍总苷 100 mg/(kg·d)灌胃;实验第 30 天结束后酶联免疫分析(ELISA)检测大鼠透析液中 HMGB-1、Smad7 的蛋白质表达情况。结果:模型组、白芍总苷高剂量组、白芍总苷低剂量组腹透液中 HMGB-1 水平与空白组相比有所增高,白芍总苷两组与模型组相比较, HMGB-1 水平有所下降,但各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。模型组与空白组比较,腹透液中 Smad7 的含量显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。白芍总苷两组升高更为明显,与空白组相比,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组相比较,白芍总苷两组腹透液中 Smad7 水平明显上调,差异有统计学意义($P<0.05$)。余各组间两两比较,腹透液中 Smad7 含量无统计学差异($P>0.05$)。结论:白芍总苷可一定程度下调 HMGB-1 水平,但作用机理不明确,可能通过上调 Smad7 的表达来减轻大鼠的腹膜纤维化。

关键词:腹膜纤维化;白芍总苷;HMGB-1;Smad7

The Effect of Total Glucosides of Paeony on Membrane Permeability on HMGB-1 and Smad7 in Peritoneal Fibrosis Rats

ZHANG Ao¹, TANG Shui-fu², LIAN Jian-hong³, ZENG Ke-xue¹

(1The Second TCM Hospital of Guangdong Province, Guangzhou510095; 2The First Affiliated Hospital, Guangzhou University of TCM, Guangdong510405; 3Guangzhou Traditional Chinese Medicine Hospital of Guangdong Province, Guangzhou510013)

Abstract: Objective: To explore the effect of the total glucosides of paeony (TGP) on HMGB-1 and Smad7 on membrane permeability in peritoneal fibrosis rats. Methods: Thirty-two healthy SD male rats were equally randomized into 4 groups: the control group, the model group, the TGP high-dose and low-dose group. Rat model of peritoneal fibrosis was induced by high glucose dialysate (4.25%, Baxter) and lipopoly saccharide (LPS). The rats in the TGP high-dose group were given TGP 200 mg/ (kg · d), while in the TGP low-dose group were given TGP 100 mg/ (kg · d), both of the two groups were given by gastric gavage in the morning once a day. Thirty days later, HMGB-1 and Smad7 in dialysate were detected by ELISA method. Results: Compared with the control group, the HMGB-1 levels of dialysate in the model group, TGP high dose group and TGP low dose group, had increased; compared with the model group, the HMGB-1 levels in TGP high dose group and TGP low dose group had decreased, but the differences among the groups were not statistically significant ($P>0.05$). Compared with the control group, the Smad7 levels of dialysate in the model group was significantly increased, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with the control group, TGP high dose group and TGP low dose group had increased more significantly, the difference were statistically significant ($P<0.01$); compared with the model group, the Smad7 levels of dialysate in TGP high dose group and TGP low dose group were significantly increased, the difference were statistically significant ($P<0.05$). Between the TGP two groups, the difference were not statistically significant ($P>0.05$). Conclusion: TGP can do a certain extent to cut HMGB-1 level, but the mechanization is not exact. Maybe TGP do its work by increasing the expression of Smad7 to reduce rat peritoneal fibrosis.

Key words: Peritoneal fibrosis; Total glucosides of paeony; HMGB-1; Smad7

中图分类号: R285.5

文献标识码: B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2014.07.002

腹膜纤维化是影响腹膜透析(peritoneal dialysis, PD)失败的主要原因之一,如何改善腹膜纤维化是目前研究的热点^[1]。白芍总苷(the total glucosides of paeony, TGP)是白芍根中提取的一种糖苷类物质^[2],有研究表明,白芍总苷具有抗炎及抗氧化等作用^[3]。本研究通过观察白芍总苷对大鼠腹膜纤维化模型腹膜透析液中 HMGB-1、smad7 的影响,来评价白芍总苷对腹膜纤维化的作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物 健康 SPF 级雄性 SD 大鼠(周龄 4~6 周),体重 180~200 g,分笼饲养,由广东省医学实验动物中心提供(许可证号 SCXK 粤 2003-002)。

1.2 主要试剂与仪器药物 白芍总苷胶囊(国药准字 H20055058)、低钙腹膜透析液(乳酸盐 -G4.25%, 国药准字 H44025290)、细菌脂多糖(Lip polysaccharides, Sigma 公司生产)、酶标仪(Max190, 美国 SPECTRA 公司)、离心机(Centrifuge5424, 德国 eppendorf 公司)。

1.3 分组及给药方法 选用 32 只大鼠随机分为 4 组,每组 8 只,分别为:空白组、模型组、白芍总苷高剂量组、白芍总苷低剂量组。空白组每日腹腔注射生理盐水 20 mL,其他三组每日腹腔内直接注射 4.25% 含糖透析液 20 mL;白芍总苷高剂量、低剂量组每日腹腔内直接注射 4.25% 含糖透析液 20 mL 的同时给予白芍总苷 200 mg/(kg·d)、100 mg/(kg·d)

* 基金项目:广东省自然科学基金课题(编号:S2011010005292)

灌胃。后三组均在第 1、3、5、7 天加入细菌脂多糖 0.6 mg/kg(体重)腹腔注射。整个周期为 30 d。

1.4 腹透液的留取及检测 第 30 天将四组大鼠分别用 10%水合氯醛(35 mg/kg)肌注麻醉,腹腔内注射 4.25%透析液 20 mL,轻揉按摩大鼠腹部以使腹膜透析液均匀地充满腹腔,4 h 后沿腹白线剪开腹壁,用灭菌吸管吸取 1 mL 腹透液注入试管中进行检测。将腹膜透析液标本以 1 500 r/min 的转速离心 5 min,留取样本。酶联免疫分析(ELISA)检测腹水中 HMGB-1、smad7 的蛋白质表达水平。

1.5 统计方法 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学处理,计量资料用均数±标准差($\bar{X} \pm S$)表示,各组间差异性比较采用单因素方差分析并进行两两比较(LSD法), $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 各组腹透液中 HMGB-1 的水平情况 ELISA 结果表明:用 Levene 法进行方差齐性检验,统计量为 0.554, $P=0.650$,按 $\alpha=0.05$ 标准检验,可认为各组数据方差齐。模型组、白芍总苷高剂量组、白芍总苷低剂量组腹透液中 HMGB-1 水平与空白组相比有所增高,白芍总苷高剂量组、白芍总苷低剂量组与模型组相比较, HMGB-1 水平有所下降,但各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。因操作等原因,本项目有效标本检测值空白组为 7 个,模型组为 7 个,白芍总苷低剂量组为 6 个。见表 1。

表 1 各组间大鼠腹透液中 HMGB-1 水平比较 ($\bar{X} \pm S$) pg/mL

组别	n	HMGB-1
空白组	7	7.37± 1.60
模型组	7	8.82± 1.14*
白芍总苷高剂量组	8	7.92± 1.49**
白芍总苷低剂量组	6	8.35± 1.63**

注:单因素方差分析:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,** $P > 0.05$ 。

2.2 各组腹透液中 Smad7 的水平情况 ELISA 结果表明:用 Levene 法进行方差齐性检验,统计量为 0.094, $P=0.963$,按 $\alpha=0.05$ 标准检验,可认为各组数据方差齐。模型组与空白组比较,腹透液中 Smad7 的含量显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。白芍总苷高剂量组、白芍总苷低剂量组升高更为明显,与空白组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组相比较,白芍总苷高剂量组、白芍总苷低剂量组腹透液中 Smad7 水平明显上调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。余各组间两两比较,腹透液中 Smad7 含量无统计学差异($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组间大鼠腹透液中 Smad7 水平比较 ($\bar{X} \pm S$) pg/mL

组别	n	Smad7
空白组	7	1.66± 0.37
模型组	7	2.28± 0.46 [#]
白芍总苷高剂量组	8	2.82± 0.52* [△]
白芍总苷低剂量组	6	2.87± 0.55* [△]

注:单因素方差分析:与空白组比较,* $P < 0.01$,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$ 。

3 讨论

高迁移率族蛋白 -1 (High mobility group protein-1, HMGB-1) 是一类高度保守的蛋白质,参与了基因调节和修复等过程^[4]。作为晚期的炎症介质,通过糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 发挥促进炎症的效应,从而在炎症反应性疾病的病理过程中发挥作用。HMGB-1 通过磷脂酰丝氨酸结合抑制凋亡中性粒细胞的吞噬功能,参与加强炎症反应^[5]。研究发现 HMGB-1 在慢性肾衰竭病变时显著升高,有学者认为其可能是慢性肾衰竭诊断的新指标^[6-7]。有研究提示 HMGB-1 作为炎症因子也可能参与了腹膜透析相关性腹膜炎的发生^[8],但国内外相关报道不多。HMGB-1 有可能成为新的治疗靶点。

TGF- β 1 途径是目前公认的腹膜纤维化发生机制之一。TGF- β 1/Smads 信号通路在腹膜纤维化过程中的重要作用已被多个研究所证实^[9]。TGF- β 1 下游信号通路 Smads 家族中的 Smad7 属抑制型 Smads,它能反馈性抑制 Smad 通路,进而抑制 TGF- β 1 介导的细胞外基质的合成^[10]从而减缓腹膜纤维化的进程。通过上调 Smad7 的表达对于腹膜纤维化的防治具有潜在临床应用价值^[9]。

白芍是我国传统中药,为毛茛科多年生草本芍药的干燥根。白芍总苷是白芍的提取物,多用于风湿免疫疾病方面的治疗^[11]。研究显示,白芍总苷能够抑制发生纤维化的肝组织中 TGF- β 1 和 NF- κ B 的表达、进而抑制肝组织中胶原的生成以达到治疗肝脏纤维化的目的^[12]。芍药苷是白芍总苷的主要的成分,占白芍总苷的 90%以上,研究显示其对 LPS 诱导的肝损伤有保护作用,可能是通过抑制晚期炎症介质 HMGB-1 的核转位和释放而发挥作用^[13]。芍药苷可能通过抑制 HMGB-1 释放、下调细胞间黏附分子 1 的表达等途径对内皮细胞起保护作用^[14]。以上结果提示白芍总苷有可能通过下调 HMGB-1 的表达,从而抑制炎症相关的信号转导通路,进而遏止大鼠腹膜纤维化的过程。综合白芍总苷的上述作用,本课题提出了使用白芍总苷防治大鼠腹膜纤维化。研究发现,芍药苷对 LPS 诱导的脐静脉内皮细胞有保护作用,其途径是通过抑制 HMGB-1 的释放及细胞间黏附分子 1 的表达来发挥作用^[15]。本研究发现,各组腹透液中 HMGB-1 均增高,模型组最高,在灌食白芍总苷后,可一定程度下调,虽无明显统计学差异,但提示药物治疗可能有一定效果。考虑可能与样本量不大及造模时间短有关,在今后的工作中将进一步进行研究。在灌食白芍总苷治疗组中,腹透液中

Smad7 的含量明显增高,说明药物治疗有效。提示白芍总苷可能通过上调 Smad7 水平来延缓腹膜纤维化过程,对大鼠腹膜透析模型腹膜具有一定的保护作用,其剂量与疗效未发现正相关。

综上,本研究表明白芍总苷对大鼠腹膜纤维化有一定的保护作用,可能通过上调 Smad7 水平来发挥作用,是否与 HMGB-1 有关还需更多的试验证实。白芍总苷对防治腹膜纤维化有一定的治疗前景。

参考文献

- [1]陈香美.腹膜透析标准操作规程[M].北京:人民军医出版社,2010.12-16
- [2]Qin Y,Tian YP.Protective effects of total glucosides of paeony and the underlying mechanisms in carbon tetrachloride-induced experimental liver injury[J].Arch Med Sci,2011,7(4):604-612
- [3]Kim SH, Lee MK, Lee KY, et al. Chemical constituents isolated from Paeonia lactiflora roots and their neuroprotective activity against oxidative stress in vitro [J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2009, 24(5): 1 138-1 140
- [4]Klune JR, Dhupar R, Cardinal J, et al. HMGB-1: endogenous danger signaling[J]. Mol Med, 2008, 14(7-8): 476-484
- [5]Liu G, Wang J, Park YJ, et al. High mobility group protein-1 inhibits phagocytosis of apoptotic neutrophils through binding to phosphatidylserine[J]. J Immunol, 2008, 181(6): 4 240-4 246
- [6]Nakamura T, Sato E, Fujiwara N, et al. Positive association of serum

- levels of advanced glycation end products and high mobility group box-1 with asymmetric dimethylarginine in nondiabetic chronic kidney disease patients[J]. Metabolism, 2009, 58(11): 1 624-1 628
- [7]Oyama Y, Hashiguchi T, Taniguchi N, et al. High-mobility group box-1 protein promotes granulomatous nephritis in adenine-induced nephropathy[J]. Lab Invest, 2010, 90(6): 853-866
- [8]陈硕, 杨丽娜, 马健飞, 等. 脂多糖对大鼠腹膜间皮细胞 TNF- α 、HMGB-1 及 TGF- β 1 表达的影响 [J]. 中国血液净化, 2009, 8(12): 673-676
- [9]余学清. TGF- β /smads 与腹膜纤维化及调节机制系列研究[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2010, 31(2): 161-165
- [10]窦献蕊, 余学清, 郝文科, 等. 上调 Smad7 表达对大鼠腹膜纤维化模型腹膜间皮细胞转分化的影响[J]. 中华肾脏病杂志, 2006, 22(10): 612-616
- [11]周强, 栗占国. 白芍总苷的药理作用及其在自身免疫性疾病中的应用[J]. 中国新药与临床杂志, 2003, 22(11): 687-691
- [12]张源潮, 孙红胜, 潘正论, 等. 白芍总苷在风湿免疫病中的研究进展 [J]. 世界临床药物, 2010, 31(8): 449-453
- [13]常蕴青, 赵中夫, 刘明社. 芍药苷对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 HMGB-1 表达的影响[J]. 长治医学院学报, 2009, 23(2): 81-84
- [14]Jiang B, Qiao J, Yang Y, et al. Inhibitory effect of paeoniflorin on the inflammatory vicious cycle between adipocytes and macrophages[J]. J Cell Biochem, 2012, 113(8): 2 560-2 566
- [15]常蕴青, 赵中夫, 杨柳絮, 等. 芍药苷对 LPS 诱导的脐静脉内皮细胞 HMGB-1 及 ICAM-1 表达的影响[J]. 长治医学院学报, 2009, 23(1): 4-7

(收稿日期: 2014-03-14)

曲安奈得配合针刀治疗弹响指 26 例临床疗效观察

李鸿林 金剑飞

(江西省景德镇市浮梁县正骨医院 浮梁 333403)

关键词: 弹响指; 曲安奈得; 针刀; 临床疗效

中图分类号: R686.1

文献标识码: B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2014.07.003

弹响指又称扳机指,又称手指屈肌腱鞘炎,是腱鞘机械性摩擦而引起的慢性无菌性炎性改变。是门诊的常见病,多见于手工劳动者,以拇指、中指、环指最多见。主要为掌指关节掌侧局限性疼痛和手指活动受限,随腱鞘狭窄加重和肌腱受压呈葫芦状膨大,检查时可触及掌骨头局部结节物,手指屈伸时可感结节状物滑动,常因腱鞘狭窄而受阻,继续用力时可突然滑过,并伴有弹响或弹跳疼痛。笔者采用曲安奈得结合小针刀治疗 26 例弹响指,均取得满意疗效。现报告如下:

1 临床资料

1.1 一般资料 26 例弹响指患者均为我科门诊病人,男 2 例,女 24 例,年龄 26~65 岁,病程 3~6 个月。右手拇指掌指关节处 17 例,左手拇指掌指关节处 6 例,右手食指、中指、环指各 1 例。所有病例表现为患处手指屈伸受限伴弹响或弹跳,可触及结节物滑动感,掌指近关节处触压疼痛。

1.2 治疗方法 局部常规消毒,将 0.5 mL 利多卡因与 20 mg 曲安奈得混悬液注射于腱鞘之内,使用

小针刀行腱鞘切开松解。纵行在掌指关节掌横纹处作 0.5 cm 左右切口即可,松解肌腱粘连。并嘱患者屈伸手指,弹响消失,再次消毒创口,敷上创可贴即可,嘱近期内不可抓握重物。

1.3 结果 26 例患指均一次治疗显效,患指无压痛,活动自如,随访 6 个月并无粘连、复发,总有效率 100%。所有患者用曲安奈得后均未见明显不良反应。

2 讨论

手指屈肌腱鞘炎的发病部位在掌骨头相对应的指曲肌腱纤维鞘管起始部,通道狭小。当抓握物品时,肌腱滑动拉紧出现折弯,摩擦日久出现损伤,形成慢性无菌性炎性改变。在当前人们普遍享用电子产品的时候,此类病人越来越多。小针刀的单纯应用只是改变了局部,对肌腱鞘管进行了松解,容易粘连复发。而结合了曲安奈得的运用,具有抗炎、抗过敏以及阻断对病灶疼痛等刺激,减少粘连,促进组织恢复,提高了临床疗效。其低廉的价格,简便可行的治疗效果,值得临床应用推广。

(收稿日期: 2014-03-10)