

通肾汤对肾小球基底膜阴离子位点的影响

★ 李维军 王健 (广东省深圳市宝安中医院 深圳 518133)

★ 章文平 (广州中医药大学 广州 510405)

关键词:通肾汤;阿霉素;SD大鼠;阴离子位点

中图分类号:R 289.5 文献标识码:B

通肾汤由黄芪、丹参、桃仁、川芎组成,原名为益气活血剂,以前的研究证实,该方具有改善血液流变学、抗自由基、减少尿蛋白的作用,对小儿肾病综合征具有确切的治疗效果^[1,2]。为进一步了解通肾汤对阿霉素肾病综合大鼠模型肾小球基底膜电荷屏障的影响,我们进行了如下实验,现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 实验的药物及试剂 通肾汤:由广州中医药大学第一附属医院制剂室将黄芪、丹参、桃仁、川芎(3:3:2:2)制备成水煎液,含生药3 g/mL。置冰箱备用,将通肾汤按照小儿剂量12.5倍,即25 g/kg(生

药含量)给予大鼠^[2]。

强的松(5 mg/片,浙江仙居制药有限公司,批号:030401)。按照小儿剂量12.5倍,即25 mg/kg给予大鼠。

阿霉素(10 mg/支,深圳万乐药业有限公司,批号:0305E1),多聚亚胺(Sibma公司,批号:27F-D041),饿酸(TEBCHEM公司,批号:001001806-05004)。

1.2 实验动物分组、模型制作及喂养 选用健康雄性普通级SD大白鼠(由广州中医药大学动物实验中心提供,粤检证字:2001A056号),体重(100±10)g,随机分为正常组、阿霉素肾病模型组(模型组)、激

氏认为血瘀证是一组血液循环障碍和血液流变学行为异常的疾病^[2];孙氏观察到血瘀证伴血粘度高患者血液流变学各项指标均高于正常,全血比粘度、血浆比粘度、红细胞压积、红细胞聚集、红细胞刚性指数高于正常是血液粘滞性高的主要因素^[3];活血化瘀是消散积血,改善血液流变学的治则^[4];高氏认为血瘀证与活血化瘀药物的研究是血液流变学应用于中医药的主要领域,不少活血化瘀药物通过抑制血小板聚集、促进纤维蛋白溶解而达到降低血粘、改善血液流动性、红细胞变形性和微循环的作用。^[5]中医认为,血瘀证为积血之病,与血液的停积和不能流通有关。热毒血瘀证多因瘟毒邪热入侵人体,炼液凝结壅滞气血而致。其中热毒为本,血瘀为标,因而治疗上须以清热解毒和活血化瘀为两大治则。解毒活血汤用药既选择连翘、甘草、柴胡、葛根清热解毒、祛邪达表,又以当归、生地、桃仁、红花、赤芍凉血、活血、化瘀,并佐以少量枳壳行气以助活血之力,

对于临床以热瘀为主证的多种感染性疾患,有较好的疗效。

通过本实验研究表明,解毒活血汤对急性血瘀证模型大鼠的血液流变学指标具有明显改善作用,使其全血粘度(高切、低切)、HCT明显降低,TK值和RI值明显下降,可见解毒活血汤可能通过降低红细胞的聚集性、提高红细胞变形能力等途径产生降低血液粘度的作用。

参考文献

- [1]陈奇.中药药理实验[M].贵阳:贵州人民出版社,1988.146
- [2]姜春华.中医对瘀的认识——活血化瘀资料选编[M].北京:人民卫生出版社,1982.19
- [3]孙永英.微循环杂志[J].1995(5):4:51
- [4]姜春华.活血化瘀研究新编[M].上海:上海医科大学出版社,1990.31
- [5]高健等.血瘀证与血液流变学的关系及其中药研究进展[J].中国血液流变学杂志,2003(13):2:183

(收稿日期:2004-04-20)

素组、通肾汤组、激素+通肾汤组,每组各8只,将除正常组外的动物按文献方法造模^[3],即于大鼠尾静脉一次性注射阿霉素溶液,剂量为7.5 mg/kg 体重。

肾病模型成功后,正常组、模型组每日以2 mL蒸馏水灌胃1次,激素组、通肾汤组、激素+通肾汤组每日以上述剂量水溶液2 mL灌胃1次。1个月后测观察指标。

1.3 观察指标及测定方法 肾小球基底膜(GBM)上阴离子位点数^[4]:采用多聚亚胺(PEI)染色方法来进行检测,具体方法如下:经大鼠尾静脉一次注射分子量为40 000~60 000道尔顿、浓度为10 g/L的PEI溶液 mL(用生理盐水配制,并用盐酸将pH调至7.4),25分钟后处死动物,取肾脏标本,用0.1 mol/L、pH7.4的二甲胍酸盐缓冲液洗后,置于25 g/L戊二醛-20 g/L磷钨酸固定液中固定2小时以上,再次用二甲胍酸盐冲洗后,10 g/L饿酸后固定。固定后的标本送电镜检查,每组标本观察3个肾小球,在5万倍放大的情况下拍摄30个GBM节段,计数时只用GBM平直的片段,从测定的GBM长度和计数的阴离子位点数,计算出平均每1 000 nmGBM上内、外疏松层上阴离子位点数。

1.4 统计方法 各组数据以均数±标准差表示,组间差异用 t 检验。

2 结果

2.1 GBM上内疏松层阴离子位点数(1 000 nm⁻¹ GBM) 结果见表1。

表1 GBM上内疏松层阴离子位点数

组别	n	内疏松层(1000 nm ⁻¹ GBM)
正常组	8	4.8±1.5**
模型组	8	2.7±0.9
激素组	8	4.3±1.1**
通肾汤组	8	4.1±1.0*
激素+通肾汤组	8	4.6±1.2**

与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,与激素+通肾汤组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

2.2 GBM上外疏松层阴离子位点数(1 000 nm⁻¹ GBM) 结果见表2。

表2 GBM上外疏松层阴离子位点数

组别	n	外疏松层(1000 nm ⁻¹ GBM)
正常组	8	25.6±1.8**
模型组	8	14.8±1.1
激素组	8	22.5±1.6**
通肾汤组	8	20.7±1.2***
激素+通肾汤组	8	23.9±1.3**

与模型比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,与激素+通肾汤组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3 讨论

通肾汤(原为益气活血剂)为益气活血化瘀的代表方剂,它针对肾病综合征始终存在的高凝状态,确立了组成药物,适用于肾病综合征的整个发病过程。与肾病综合征发病有关的诸多因素中,肾小球分子屏障与电荷屏障功能障碍是最根本的原因,关于肾病综合征时生物膜电荷变化是近年来国内外研究的热门课题。电荷屏障由肾小球固定阴电荷形成,由肾小球的多阴离子(GPA)及肾小球基底膜(GBM)上的阴离子位点两部分组成。GPA的主要成分是位于肾小球上皮细胞及内皮细胞表面的涎糖蛋白,带阴电荷成分主要是涎酸。GBM上的阴离子位点则由内外疏松层的硫酸类肝素蛋白多糖(HSPG)组成,带阴电荷的成分主要是HSPG上的硫酸基团及多聚羧酸盐群。Machan的研究发现,微小病变型肾病综合征患者GBM外疏松层的阴离子位点明显低于正常人,在大量蛋白尿时几乎消失,当经类固醇治疗达到缓解时,阴离子位点又在GBM外疏松层出现。对阿霉素肾病综合征模型的研究发现,其肾小球固定阴电荷亦见减少^[5]。白丽君等通过实验证实肝素对肾小球系膜的阴离子位点具有保护作用^[6]。临床上运用肝素治疗肾病综合征亦有一定疗效^[7]。因此,肾小球固定阴电荷的丢失,是肾病综合征蛋白尿发生的直接原因。我们的实验结果表明:通肾汤组与模型组比较,通肾汤组能显著增加外疏松层的阴离子位点数,明显增加内疏松层的阴离子位点数,即减少肾小球基底膜固定阴电荷的丢失,从而发挥减轻蛋白尿的作用,为肾病综合征的治疗开辟了广阔途径,同时挖掘了祖国中医药的珍贵宝库。

参考文献

- [1]章文平,宋国维,谢瑞珍,等.益气活血剂对阿霉素肾病模型的影响[J].广州中医药大学学报,2000,17(2):155
- [2]章文平,胡小英,宋国维,等.益气活血剂治疗小儿肾病综合征的临床研究[J].新中医,2001,33(2):31~32
- [3]Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats[J]. Lab Invest, 1982,46:16
- [4]Pilia PA, Swain RP, Williams AV, et al. Glomerular anionic sites distribution in nonproteinuric rats: a computer-assisted morphometric[J]. Am J Pathol, 1985,121(3):474
- [5]陈重义,姜新斌,郭梅,等.阿霉素肾病大鼠生物膜电荷的变化蛋白的关系[J].中华医学杂志,1990(2):91
- [6]白丽君,刘利平,陈重义.肝素对阿霉素肾病大鼠肾小球系膜阴离子位点的影响[J].湖北医科大学学报,1997(2):123
- [7]陈重义,郭仁寿,伍钢,等.无抗凝作用剂量的肝素治疗肾病综合征[J].武汉医药杂志,1994(1):23

(收稿日期:2004-06-10)