

肾炎益气液对家兔实验性膜性肾小球肾炎的影响

北京中医药大学病理教研室(北京 100029)

莫容 魏民 许文忠 朱陵群 靳建华 李克玲 李伯光 贾旭 严京

内容提要 用阳离子化牛血清白蛋白复制家兔膜性肾小球肾炎及慢性肾功能衰竭的动物模型, 选用肾炎益气液进行实验性治疗。结果显示, 治疗组尿蛋白和血肌酐明显低于病理组。光镜图像立体学定量分析结果显示, 治疗组肾小球平均直径、平均周长、平均表面积、平均体积、平均截面积均小于病理组, 肾小球细胞增生数目及毛细血管壁增厚程度皆轻于病理组($P < 0.01$)。结果提示, 肾炎益气液可减轻肾小球病变, 改善肾功能。

关键词 膜性肾小球肾炎 肾炎益气液 形态定量分析

国内外大量资料表明, 膜性肾小球肾炎(MN)占临床成人肾病综合征的 30%以上^[1, 2], 而西药对 MN 的疗效不够理想。国内运用中药治疗慢性肾炎取得可喜成绩^[3]。本研究选用具有补肾益气助阳功效的肾炎益气液对家兔 MN 进行实验性治疗, 现将结果报告于下。

材料与方法

一、实验分组 30 只纯种日本大耳白家兔(北京军事医学科学院动物室提供), 雄性, 体重 2.0~2.5 kg, 尿蛋白测试 2 次全部为阴性。分为 3 组: 病理组 15 只, 肾炎益气液治疗组 10 只, 正常对照组 5 只。

二、肾炎益气液 由北京中医药大学实验药厂制备, 主要成分有人参、黄芪、当归、丹参、猪苓、仙灵脾。

三、阳离子化牛血清白蛋白(C-BSA)的制备按 Border 的方法^[4], 将天然牛血清白蛋白用化学方法使之阳离子化, 等电聚焦电泳测定 C-BSA 的 PI 值 > 9.0 , 透析冷冻干燥, -20°C 冰箱保存备用。使用前用 0.01 mol/L 的 PBS 溶解。

四、模型制备 家兔耳静脉注射 C-BSA 1 mg 及大肠杆菌内毒素 $1\mu\text{g}$ 进行预先免疫。1 周后病理组开始每日耳静脉注射 C-BSA 25 mg, 共 4 周, 5~8 周末每日注射 C-BSA 50 mg。治疗组模型制备同病理组, 预先免疫 1 周后开始灌饲肾炎益气液 27 g 生药/kg·d(30 ml/d)。正常对照组不进行预先免疫, 仅耳静脉注射生理盐水 5 ml/d。

五、观察项目

1. 肾功能测定 (1)尿蛋白定性测定: 用加热醋酸法, 并以硫柳酸法作对照, 每周测 2 次。(2)24 h 尿蛋白定量测定: 采用苦味酸法, 实验第 3 周开始测定, 每周 1 次。(3)血清肌酐测定: 由中日友好医院生化室测定, 于实验第 4、6、8 周各测 1 次。

2. 肾组织学检查 实验 4、6 周肾活检和 8 周杀检所取肾组织分为 3 块。第 1 块组织作冰冻切片用于免疫荧光观察(FITC 羊抗兔 IgG, 北京生物制品所生产)。第 2 块组织作石蜡切片, HE 染色及六胺银-HE(PAM-HE)、PAM-Masson、磷钨酸苏木素(PTAH)特殊染色, 光镜下观察。第 3 块组织进行透射和扫描电镜观察。

3. 光镜图像的立体学形态定量分析 用图像分析仪(Cambridge Instruments Quantimet 970)进行形态定量分析: (1)肾小球毛细血管管壁厚度的测定: HE 染色切片, 每张测量 10 个肾小球, 每个肾小球测定 10 个毛细血管腔的血管壁。(2)肾小球毛细血管丛的形态定量分析: 测量参数有平均直径、平均周长、平均表面积、平均体积、平均截面积。每张切片测 20 个肾小球。(3)肾小球细胞数目的测定: 每张切片测 20 个肾小球。

结 果

一、肾功能变化

1. 尿蛋白定性测定 注射 C-BSA 后 1 周, 病理组开始出现蛋白尿, 第 5 周达高峰, 治疗组轻于病理组, 正常对照组阴性。三组 3~8 周的 24 h 尿蛋白定量比较, 见表 1。

表1 三组用药后3~8周24h尿蛋白定量比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数	24h尿蛋白定量(mg)					
		3周	4周	5周	6周	7周	8周
病理	15	100.6±46.6	223.3±61.1	397.4±20.3	245.8±44.2	129.1±14.6	80.8±14.8
治疗	10	93.3±12.3	127.2±16.6*	164.6±43.5*	170.9±22.3*	120.8±45.3	97.5±20.8
正常	5	31.6±8.1*	37.9±11.5*	35.7±12.0*	35.1±10.9*	32.3±8.9*	36.2±9.0*

注: 与病理组比较 * $P < 0.01$

2. 三组用药4、6及8周血清肌酐含量测定 见表2。

表2 三组用药后4、6及8周血清肌酐含量比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数	血清肌酐(mg)		
		4周	6周	8周
病理	15	1.21±0.23	2.66±0.48	4.83±0.57
治疗	10	1.20±0.16	1.56±0.49**	1.35±0.33**
正常	5	0.92±0.23*	0.94±0.20**	0.91±0.12**

注: 与病理组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

二、免疫荧光观察 注射C-BSA后4、6、8周免疫荧光染色显示病理组和治疗组IgG沿肾小球毛细血管壁呈弥漫均匀一致性颗粒状沉积。荧光强度病理组可达++++~+++++, 治疗组+~+++, 正常对照组阴性。

三、光镜观察 注射C-BSA后4周, 病理组肾小球轻度肿大, 系膜细胞轻度增生, PAM-HE和PAM-Masson染色可见少量钉突及上皮下沉积物。治疗组病变稍轻。6周时, 病理组呈典型“膜性”病变, 肾小球毛细血管壁呈明显均匀一致性增厚, 肾小

球基底膜可见大量钉突, 部分肾小球囊腔内有多量蛋白渗出及新月体形成。治疗组病变轻, 偶见球囊腔少量渗出, 未见新月体形成。8周时病理组病变更加严重, 可见多量新月体形成及肾小球硬化, 治疗组病变轻于病理组, 仅个别肾小球有少量蛋白渗出, 新月体偶见, 未见肾小球硬化。

四、透射电镜观察 病理组肾小球基底膜外侧有明显的上皮下致密沉积物, 肾小球基底膜明显增厚, 治疗组病变明显轻于病理组。

五、扫描电镜观察 病理组肾小球可见脏层上皮细胞足突融合而形成大小不等的绒毛状物, 肾小球囊腔及肾小球表面可见较多的渗出物。治疗组病变轻于病理组。

六、光镜图像的定量分析 结果显示, 治疗组肾小球平均直径、平均周长、平均表面积、平均体积、平均截面积均明显小于病理组($P < 0.01$)。治疗组肾小球细胞增生及毛细血管壁增厚程度明显轻于病理组。见表3。

表3 三组用药后4~8周肾小球细胞数及毛细血管管壁厚度比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数	肾小球细胞数(个)			肾小球毛细血管管壁厚度(μm)		
		4周	6周	8周	4周	6周	8周
病理	15	61.9±8.5	83.8±11.3	75.6±12.0	0.820±0.072	1.113±0.160	1.378±0.150
治疗	10	55.5±4.6*	64.7±8.2**	63.6±6.5**	0.701±0.002**	0.800±0.023**	0.887±0.012**
正常	5	46.6±4.1**	47.3±3.9**	46.8±5.7**	0.432±0.045**	0.435±0.027**	0.432±0.045**

注: 与病理组同期比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

讨 论

肾炎益气液具有补肾益气助阳的功效, 其主要成分人参、黄芪可增强机体的免疫力⁽⁵⁾, 两药配合具有补气益肾助阳之功⁽⁶⁾。丹参能升高血小板cAMP水平, 小剂量能促进PGI₂生成⁽⁵⁾。当归能促进血红蛋白和红细胞的生成, 还具抗炎、镇痛作用⁽⁵⁾。从药理学研究的角度说明, 肾炎益气液的配方, 具有调节机体免疫功能, 扶正固本, 活血化瘀的作用。

我们的实验结果表明, 肾炎益气液治疗组肾功能损伤轻, 尿蛋白和血清肌酐明显低于病理组。免疫荧光、光镜和电镜的观察结果表明, 治疗组荧光强度

弱, 肾小球病变轻, 钉突和上皮下沉积物形成减少, 肾小球基底膜增厚程度较轻, 上皮下电子致密物数量少, 体积小。

应用立体学测量方法⁽⁷⁾, 对光镜图像进行形态定量分析, 结果表明, 肾炎益气液治疗组肾小球平均体积、直径、表面积、周长、截面积均小于病理组, 毛细血管管壁增厚程度及肾小球细胞增生程度均低于病理组。

以上结果提示, 肾炎益气液可抑制机体的体液免疫反应, 减少抗体的产生和免疫复合物的形成; 同时, 肾炎益气液可抑制补体系统活化和消耗, 升高血补体总量、B因子值及改善肾小球滤过功能, 降低血

β_2 -微球蛋白⁽⁸⁾，从而减轻肾小球损伤，致尿蛋白和血肌酐下降，肾功能得到改善。

参 考 文 献

1. 武忠弼主编. 病理学. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 371—376.
2. Spargo BH, et al. Renal biopsy pathology with diagnostic and therapeutic implications. John Wiley and Sons Inc1980: 168—169.
3. 叶任高. 中医对肾小球肾炎的治疗现状. 中华肾脏病杂志 1990; 6(4): 236.
4. Border WA, et al. Induction of membranous nephropathy in rabbits by administration of an exogenous cationic antigen. J Clin Invest 1982; 69:451.
5. 颜正华主编. 中药学. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 271—806.
6. 张 宁. 肾炎益气液对慢性肾炎病人血肌酐及其例数的影响. 中国医药学报 1993; 8(2): 21.
7. 郑富盛. 细胞形态立体计量学. 第一版. 北京: 北京医科大学与中国协和医科大学联合出版社, 1990: 1—100.
8. 李克玲, 等. 肾炎益气液对家兔膜性肾小球肾炎的影响. 北京中医学院学报 1993; 16(5): 63.

藤黄酊与病毒唑合用治疗带状疱疹临床观察

贵阳医学院附属医院(贵阳 550004) 魏羽佳 宋守荣 廖 跃 凌淑清

1991年8月~1993年8月, 我们应用中药藤黄酊与国产病毒唑合用治疗带状疱疹70例, 疗效较为满意, 现总结于下。

临床资料 140例为我院门诊及住院患者, 均系症状典型、疼痛明显的一般型带状疱疹, 与肿瘤无关, 将其随机分为治疗组和对照A组及对照B组。

治疗组 70例。其中男36例, 女34例; 年龄7~74岁; 发病时间2~15天, 7天以内32例, 7天以上38例。皮疹主要分布: 头面部17例, 胸背部42例, 四肢、臀部10例, 腰、腹部1例。

对照A组 35例, 其中男20例, 女15例; 年龄8~72岁; 发病时间3~15天, 7天以内19例, 7天以上16例。皮疹主要分布: 头面部10例, 胸背部19例, 四肢、臀部5例, 腰、腹部1例。

对照B组 35例, 其中男18例, 女17例。年龄8~70岁。发病时间1~15天, 7天以内15例, 7天以上20例。皮疹主要分布: 头面部9例, 胸背部16例, 四肢、臀部8例, 腰、腹部2例。

治疗方法 治疗组 用武汉第二制药厂生产的病毒唑(三氮唑核苷)注射液(100mg/支), 每次100mg, 肌肉注射, 每日2次(小儿用量酌减); 另加用我科配制的30%藤黄酊(将藤黄30g研细成末, 加入95%酒精70ml配成略带粘性的酊剂, 尚有部分藤黄未完全溶解而沉淀于瓶底, 故用时摇匀, 用量则依皮损面积而异)外擦皮损及疼痛区域, 每日2~4次, 直至痊愈。对照A组: 单独使用病毒唑注射液, 每次100mg, 肌肉注射, 每日2次(小儿用量酌减), 直至痊愈。对照B组: 单独使用30%藤黄酊外擦患

处, 每日2~4次, 直至痊愈。

结 果 (1)痊愈判断标准: 皮疹全部干涸结痂并脱落, 自觉症状消失。(2)结果: 140例均痊愈, 治疗组与对照组比较, 显示治疗组见效快, 止痛时间短, 使疗程明显缩短(见附表)。(3)副作用: 未见明显异常反应。治疗组有2例成年患者在治疗期间出现轻微恶心及食欲不振, 停用病毒唑后上述症状很快消失。

附表 三组止痛、皮疹干涸及治愈时间比较 (天)

组别	例数	止痛时间	皮疹开始干涸	皮疹完全干涸	治愈时间	全病程
治疗	70	4.2*	1.1*	3.6*	5.0*	11.0*
对照A	35	7.9 Δ	3.4 Δ	10.9	11.0	17.1
对照B	35	10.2	1.9	6.5	10.3	16.3

注: 与对照A、B组比较, * $P < 0.01$; 与对照B组比较, $\Delta P < 0.01$ 。表中数据为中位数

讨 论 病毒唑是一种广谱抗病毒药物。它为鸟嘌呤核苷单磷酸生物合成抑制剂, 影响病毒RNA多聚酶聚合核苷酸而起抗病毒作用。由于其结构与鸟苷和肌苷相类似, 进入体内后可抑制肌苷酸-5-磷酸脱氢酶, 阻断肌苷酸变为鸟苷酸, 从而抑制病毒核酸的合成。藤黄在局部外用时, 可能是由于浓度较高, 组织细胞破坏后, 释放出病毒, 药物与之直接接触而限制了病毒的扩散。治疗组疗效较好可能是该二种药物在抑制疱疹病毒方面具有协同作用的结果。

(本文统计资料承蒙我院卫生系黄文涌老师协助复核, 谨此致谢)

as TMP by the comparison of the parameters of 4 spectrums (UV, IR, MS and NMR) with those of TMP in literature. Pharmacokinetics of TMP in rats after the oral administration of LW and LW-SM decoction respectively showed that: (1) both of the data fitted adequately to two-compartment open model; (2) K_a , AUC and serum concentration were higher ($P < 0.05-0.01$) for LW decoction than that for LW-SM decoction, indicating a higher bioavailability. It demonstrated that the absorption of TMP of LW-SM decoction was slower and the bioavailability of TMP of LW-SM decoction reduced. Contents of TMP in LW and LW-SM decoction and serum concentration of TMP were determined by HPLC method.

Key words pharmacokinetics, *Ligusticum wallichii*, *Salvia miltiorrhiza*, reversed-phase high-performance liquid chromatography

(Original article on page 288)

Effect of *Astragalus Membranaceus* on Electrophysiological Activities of Acute Experimental Coxsackie B₃ Viral Myocarditis in Mice

Rui Tao (芮 涛), Yang Ying-zhen (杨英珍), Zhou Tai-sheng (周泰生)*, et al
Shanghai Institute of Cardiovascular Disease, Shanghai (200032)

* Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences

A murine model for observing the effect of *Astragalus membranaceus* (AM) on electrophysiological activity of the right ventricular myocardium was developed in 4 week-old male BALB/c mice infected with Coxsackie B₃ virus (CB₃V). The conventional microelectrode technique and real-time microcomputer data processor system was used. The survival rate in infected-AM treated mice was significantly higher and the percentage of abnormal action potential was much lower than those in control mice ($P < 0.05$ and < 0.01 respectively). Some abnormal electrophysiological parameters, such as APA, OS and V_{max} in infected myocardium were found to be improved by AM treatment. Single dose of AM did not show beneficial effect in murine myocardium infected with CB₃V. The results suggested that AM might be valuable in the prevention and treatment of acute myocarditis involving Coxsackie B₃ virus.

Key words myocarditis, Coxsackie virus B₃, action potential, *Astragalus membranaceus*

(Original article on page 292)

Effects of Shenyan Yiqiye (肾炎益气液) on Experimental Membranous Glomerulonephritis in Rabbits

Mo Rong (莫 蓉), Wei Min (魏 民), Xu Wen-zhong (许文忠), et al
Beijing University of TCM, Beijing (100029)

The cationic bovine serum albumin (C-BSA) was used for duplicating experimental animal model of membranous glomerulonephritis with chronic renal failure. Shenyan Yiqiye (SYYQY) was adopted for treatment. The results showed that, in the therapeutic group, the urine protein and serum creatinine were reduced as compared with those in pathological group, $P < 0.01$. The parameter of morphometric analysis of glomeruli such as mean diameter, mean perimeter, mean surface area, mean volume, mean cross sectional area were all decreased, $P < 0.01$, the number of glomerular proliferative cells and thickness of glomerular capillary wall were all attenuated, $P < 0.01$, as compared with those in the pathological group. It suggested that SYYQY might alleviate the glomeruli lesions and benefit the renal functions.

Key words membranous glomerulonephritis, Shenyan Yiqiye, morphometric analysis

(Original article on page 295)