

· 实验研究 ·

黄芪当归合剂对肾病综合征血清脂谱和肾小球硬化的影响*

鲁 盈[△] 李惊子 郑 欣 薛 林 洪健美 邵万忠 王海燕

内容提要 目的:为探讨黄芪当归合剂降脂的肾脏保护作用。方法:采用嘌呤霉素引起的肾病综合征大鼠模型,以有效的降脂药普伐他汀作阳性对照,观察黄芪当归合剂的作用。结果:黄芪当归合剂不仅有普伐他汀的降低胆固醇和甘油三酯的作用,还能降低低密度脂蛋白和载脂蛋白 B₁₀₀ ($P < 0.05$)。肾病理和免疫组织化学证实本品在降脂同时还减少了肾小球硬化指数 ($P < 0.01$) 和细胞外基质的聚积 ($P < 0.01$)。结论:黄芪当归合剂具有调节脂质代谢,减轻肾损伤,保护肾功能的作用。

关键词 黄芪当归合剂 肾病综合征 脂蛋白 局灶性肾小球硬化

Effect of Astragalus Angelica Mixture on Serum Lipids and Glomerulosclerosis in Rats with Nephrotic Syndrome

LU Ying, LI Jing-zi, ZHENG Xin, et al Nephrology Institute, Beijing Medical University, Beijing (100034)

Objective: To confirm the renal protective action of Astragalus Angelica mixture (AAM). **Methods:** Effect of AAM was observed in puromycin amino-nucleoside induced nephrotic syndrome model of rat, and pravachol, an effective lipid lowering medicine, was used as positive control. **Results:** AAM could not only reduce the serum levels of total cholesterol and triglyceride as pravachol did, but also could lower levels of low density lipoprotein and apolipoprotein B₁₀₀ ($P < 0.05$). Light microscopic and immuno-histochemical examination revealed that in the same time of lowering serum lipids, this mixture could also cause reduction of glomerular sclerosing index ($P < 0.01$) and less accumulation of extracellular matrix ($P < 0.01$). **Conclusions:** AAM has the effects of regulating lipid metabolism, attenuating renal damage and maintaining renal function in rats with nephrotic syndrome.

Key words Astragalus Angelica mixture, nephrotic syndrome, lipoprotein, local glomerulosclerosis

高脂蛋白血症不仅是肾病综合征 (nephrotic syndrome, NS) 主要的病理生理改变之一,虽高密度脂蛋白 (HDL) 可能正常,但其亚型 HDL₂ 常减少,而 HDL₃ 增高^[1]。高脂蛋白血症不仅是心血管疾病的危险因素外,近年临床观察和实验研究发现高脂蛋白血症还可导致或加重糖尿病、NS、高血压病等的肾损伤。药物降血脂可减轻损伤^[2]。本实验采用类似人局灶节段肾小球硬化的大鼠模型,观察黄芪当归合剂对血清脂谱和肾小球硬化的影响。

材料与方法

1 材料 动物:雄性 SD 大鼠,体重 (142 ± 36) g,北京医科大学动物中心提供。药物:黄芪当归合剂,称取等量黄芪、当归生药,水煎,浓缩成每毫升含黄芪、当归生药各 0.7g (自制),普伐他汀 (中美上海施贵宝公司产品);嘌呤霉素 (美国 Sigma 公司产品)。

2 动物模型制作 用嘌呤霉素 100mg/kg 体重给予大鼠腹腔注射,其后每隔 2 周给 25mg/kg 体重共 5 次,正常组腹腔注射等量生理盐水。选取首次给药后 2 周尿蛋白 $> 150\text{mg}/24\text{h}$ 尿,随机分模型组 (7 只)、中药组 (6 只) 和西药组 (7 只),组间尿蛋白定量无统计学意义。自首次注射嘌呤霉素后 2 周,各组均经灌胃给药。中药组每天灌黄芪当归合剂 (简称中药) 3ml,西药组每天给普伐他汀 (简称西药) 6mg/kg 体重,正常组

*国家自然科学基金资助课题 (No. 39670909)

北京医科大学第一医院肾内科,北京医科大学肾脏病研究所 (北京 100034)

[△]进修医生,杭州市中医院肾内科

和模型组每天给自来水 3ml, 疗程均为 10 周。实验期肾病各组均予富蛋白饮食(蛋白质含量 38.3%, 其中酪蛋白 14.3%)。实验全过程为 12 周。

3 观察指标与方法

3.1 尿蛋白及血清生化指标测定 (1)血清脂谱:总胆固醇(Tch)、甘油三酯(TG)、极低密度脂蛋白(VLDL)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、载脂蛋白 A₁(apoA₁)、载脂蛋白 B₁₀₀(apoB₁₀₀), 于实验第 7 周和 12 周各取血 1 次, 酶法按药盒(上海荣盛公司试剂盒)方法操作。(2)血清总蛋白(TP)、白蛋白(Alb)、肌酐(Scr)、尿素氮(BUN), 于实验第 12 周取血, 采用 Beckman 自动生化分析仪检测。(3)尿蛋白定量, 每周检测 1 次, 采用丽春红 S 法^[3]。

3.2 肾脏病理学观察 于第 12 周实验结束处死大鼠, 肾标本以 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋。(1)光镜:切片厚 2 μ m, PAS 染色, 每份标本光镜下双盲观察 60 个肾小球, 用记分法计算肾小球硬化指数(GSI)^[4]。(2)免疫组织化学(SP 法), 切片厚 4 μ m, 检测胶原 III、IV 型(第一抗体为兔抗人 III 或 IV 型胶原抗体, 上海医科大学病理免疫室提供), 采用纤维连接蛋白(FN, 第一抗体为兔抗人 FN 抗体, DAKO 公司提供), 层粘连蛋白(LN, 第一抗体为兔抗人 LN 抗体, 广州中山公司提供), 计算机 MPIAS-400 多媒体彩色病理图像分析系统, 对免疫组织化学结果进行半定量分析, 每份标本测 10 个肾小球, 用面积比计算诸基质成分在肾小球中相对含量, 以均值作比较。

4 统计学处理 采用 SPSS/PC 加统计软件, 多

组秩和检验。

结 果

1 黄芪当归合剂对尿蛋白的影响 模型组大鼠首次给嘌呤霉素 1 周尿蛋白阳性, 2 周尿蛋白均超过 150mg/24h 尿, 且呈逐渐增加, 于实验第 7~8 周时, 模型、西药和中药各组尿蛋白较治疗前分别增加 104%、101% 和 101%; 至实验结束前, 上述各组尿蛋白较第 7~8 周时分别增加 11%、19%、37%, 而较用药前分别增加 128%、138% 和 175%。

2 黄芪当归合剂对血清脂谱、蛋白、肾功能的影响 大鼠脂谱与人类不完全相同, 主要区别是大鼠 HDL 含胆固醇比例较高。中药和西药两组 Tch、TG、VLDL、HDL 及中药组 LDL、apoA₁ 和 apoB₁₀₀ 均明显低于模型组($P < 0.05$), 见表 1。于实验第 12 周时中药组血浆白蛋白明显高于模型组和西药组, 与正常组比较无差异。中药组和西药组 Scr 和 BUN 明显低于模型组, 中药组尤为显著, 见表 2。

3 肾脏病理观察

3.1 光镜 模型组多数肾小球系膜细胞重度增生, 细胞外基质(ECM)增多, 球囊粘连, 局灶节段硬化; 肾小管多灶状萎缩和代偿性肥大, 多数管腔内有蛋白管型, 肾间质多灶状单个核细胞浸润。西药组部分肾小球系膜细胞轻~中度增生和基质增多, 球囊粘连, 少数小球出现节段硬化; 部分肾小管腔内有蛋白管型; 肾间质偶见小灶状单个核细胞浸润。中药组少数肾小

表 1 4 组大鼠血清脂谱测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Tch	TG	LDL	VLDL	HDL	apoA ₁	apoB ₁₀₀
		(nmol/L)				(g/L)		
正常	3	1.69 $\pm$ 0.37	0.97 $\pm$ 0.32	0.86 $\pm$ 0.31	0.19 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.14	0.80 $\pm$ 0.10	0.27 $\pm$ 0.02
模型 7 周	7	7.74 $\pm$ 2.62 **	7.81 $\pm$ 1.65 **	3.94 $\pm$ 2.53 **	1.56 $\pm$ 0.33 **	2.23 $\pm$ 0.39 **	0.93 $\pm$ 0.21 *	0.53 $\pm$ 0.25 **
12 周	7	8.23 $\pm$ 0.98 **	5.31 $\pm$ 1.96 **	4.64 $\pm$ 1.37 **	1.06 $\pm$ 0.39 **	2.53 $\pm$ 0.46 **	1.32 $\pm$ 0.27 **	0.57 $\pm$ 0.03 **
西药 7 周	6	5.47 $\pm$ 1.39 ** Δ	4.45 $\pm$ 1.16 ** Δ	2.93 $\pm$ 1.35 **	0.89 $\pm$ 0.23 ** Δ	1.65 $\pm$ 0.19 ** Δ	0.92 $\pm$ 0.19 *	0.44 $\pm$ 0.23 *
12 周	6	7.39 $\pm$ 2.39 **	2.79 $\pm$ 1.89 **	4.65 $\pm$ 2.43 **	0.56 $\pm$ 0.38 **	1.94 $\pm$ 0.54 **	1.06 $\pm$ 0.13 **	0.58 $\pm$ 0.13 **
中药 7 周	6	2.62 $\pm$ 1.47 ** $\Delta\Delta\Delta$	3.42 $\pm$ 2.33 ** $\Delta\Delta$	1.18 $\pm$ 0.69 $\Delta\Delta\Delta$	0.69 $\pm$ 0.47 ** $\Delta\Delta$	1.76 $\pm$ 0.49 ** Δ	0.95 $\pm$ 0.13 *	0.54 $\pm$ 0.05 ** Δ
12 周	5	3.83 $\pm$ 1.64 ** $\Delta\Delta\Delta$	2.27 $\pm$ 2.06 Δ	2.31 $\pm$ 0.87 ** $\Delta\Delta$	0.46 $\pm$ 0.41 Δ	1.08 $\pm$ 0.50 ** $\Delta\Delta\Delta$	0.80 $\pm$ 0.31 $\Delta\Delta$	0.31 $\pm$ 0.08 $\Delta\Delta\Delta\Delta$

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组同期比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与西药组同期比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

表 2 4 组大鼠血浆蛋白和肾功能(实验第 12 周)测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TP	Alb	Scr	BUN
		(g/L)		(μ mol/L)	(mmol/L)
正常	8	66.07 $\pm$ 3.23	34.20 $\pm$ 0.70	27.49 $\pm$ 16.45	5.35 $\pm$ 0.94
模型	5	66.62 $\pm$ 5.46	28.19 $\pm$ 2.56 *	107.06 $\pm$ 71.43 **	27.39 $\pm$ 22.35 **
西药	7	62.34 $\pm$ 6.95	25.61 $\pm$ 4.53 *	75.97 $\pm$ 33.06 ** Δ	12.86 $\pm$ 6.29 ** Δ
中药	6	68.73 $\pm$ 4.01	33.98 $\pm$ 4.47 $\Delta\Delta$	26.23 $\pm$ 9.19 $\Delta\Delta\Delta$	9.61 $\pm$ 1.86 * Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与西药组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 3 组大鼠肾小球硬化指数和细胞外基质比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	GSI	ECM			
			LN	FN	Col IV	Col III
模型	7	120.26 ± 61.87	69.65 ± 17.45	70.53 ± 13.48	76.77 ± 12.44	85.90 ± 11.52
西药	7	30.60 ± 19.51 [*]	26.03 ± 5.05 [*]	32.36 ± 12.44 [*]	29.21 ± 9.83 [*]	29.52 ± 12.37 [*]
中药	6	5.15 ± 4.97 ^{*^}	16.07 ± 6.09 ^{*^}	17.36 ± 2.22 ^{*^^}	15.51 ± 2.75 ^{*^^}	10.44 ± 5.74 ^{*^^}

注:与模型组比较,^{*} $P < 0.01$,与西药组比较,[^] $P < 0.05$,^{^^} $P < 0.01$;表内数据为面积比。

球系膜细胞增生和基质增多,偶见球囊粘连和节段硬化;偶见肾小管腔内蛋白管型;肾间质未见异常。两治疗组肾小球硬化指数(GSI)显著低于模型组,见表3。

3.2 免疫组织化学 胶原Ⅳ型(Col Ⅳ)、LN 主要位于正常肾小球的基底膜、肾小囊基底膜和肾小管基底膜, FN 主要位于系膜区,胶原Ⅲ型(Col Ⅲ)在正

常肾小球内几乎没有分布。病变小球系膜区和球囊粘连部位不仅胶原Ⅳ型, LN、FN 明显聚积,而且也可见胶原Ⅲ型聚积,严重硬化的小球尤为明显,间质区亦有聚积,计算机图像半定量分析显示两治疗组 ECM 明显少于模型组,见表3。

讨 论

黄芪、当归治疗肾病的作用已为我国长期临床实践证实。近年我们对黄芪当归合剂治疗 NS 的临床及动物实验系列研究发现该合剂虽然不能直接减少尿蛋白,但能促进肝脏白蛋白和骨骼肌蛋白合成,因此在 NS 大量蛋白尿情况下,改善低白蛋白血症和总体蛋白贮备,从而对 NS 起治疗作用^(5~7)。研究过程中又观察到该合剂的降血脂作用。本实验再次证实黄芪当归合剂不但具有普伐他汀—— β -羟- β -甲基戊二酸单酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶抑制剂降低血清 Tch、TG 和 VLDL 作用,还明显降低 LDL 和 apoB₁₀₀,且降脂作用较普伐他汀明显而持久。至于是否也具普伐他汀通过减少细胞内尤其肝细胞的胆固醇合成和上调 LDL 受体的作用,有待进一步研究。

NS 高脂蛋白血症发生机理还不十分清楚,可能与低白蛋白血症、胶体渗透压,尤其肝细胞周围胶体渗透压下降和脂代谢调节物从尿中丢失等因素有关⁽¹⁾。黄芪当归合剂能调节 NS 蛋白质代谢紊乱,增加肝脏白蛋白合成,从而维持了正常胶体渗透压和血液粘稠度,消除了促脂蛋白合成的主要刺激因素;另一方面,肝脏白蛋白合成增加可能同时也促脂蛋白调节物产生,补充了该物质从尿中丢失,因而消除高脂蛋白血症另一刺激因素。这些可能是黄芪当合剂发挥有效而持久的降脂作用机理之一。

更有意义的是实验表明高脂蛋白血症的控制能减轻或防止肾小球硬化和肾功能损伤。本实验虽未检测血压,但以往对慢性嘌呤霉素肾病的研究未发现血压升高⁽⁸⁾。本实验过程未观察到尿蛋白的减少,与以往实验结果相似⁽⁵⁾。提示该合剂防治肾小球硬化的作用可能不是直接影响血液动力学或滤过膜通透性,而与

有效的降脂有关。降脂可减少脂质在肾小球和间质中沉积所引发的单核/巨噬细胞浸润,泡沫细胞形成、活性氧和细胞因子等释放,从而防止 ECM 过多聚积和肾小球硬化,保存了肾功能。

本结果表明黄芪当归合剂在 NS 治疗中不仅能调节蛋白质代谢,还能有效降低高脂蛋白血症,防治肾小球硬化和保护肾功能,为该合剂在 NS 的临床应用提供更完善的理论依据。

参 考 文 献

1. Wheelerand DC, Bernatd DB. Lipid abnormalities in the nephrotic syndrome: causes, consequences, and treatment. Am J Kid Dis 1994;24:331—346.
2. 王海燕. 肾脏病学. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 1996: 556—566.
3. 魏明竟. 临床检验学. 第2版. 北京:科学技术文献出版社, 1994:152.
4. Leopoldo R, Silvia A, William K. Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats. Kidney Int. 1984;26:137—143.
5. 王海燕, 李惊子, 于 宏, 等. 雷公藤及黄芪当归对微小病变肾病鼠肾小球滤过膜通透性的影响. 中华医学杂志 1988;68(9):513—516.
6. 李丽英, 于 宏, 潘得强, 等. 黄芪当归对肾病综合征患者总体蛋白质代谢的影响. 中华内科杂志 1995;34(11):670—672.
7. 李丽英, 王海燕, 朱世乐, 等. 黄芪当归对肾病综合征鼠肝白蛋白的表达作用. 中华医学杂志 1995;75(5):276—279.
8. Kevin PG, Harris ML, Purkerson JY, et al. Lovastatin ameliorates the development of glomerulosclerosis and uremia in experimental nephrotic syndrome. Am J Kid Dis 1990; XV: 16—23.

(收稿:1996-12-14 修回:1997-03-25)