

调节者,参与机体许多生理过程和发病机制。Ca²⁺引起的红细胞变形能力的下降的主要原因是^[7,8]: Ca²⁺引起红细胞膜骨架网络的结构改变和脂双层组成的改变,使膜脂流动性减小;红细胞表面积与体积比的改变(膜成分的减少,细胞形态的改变); Gardos 效应和 Hb 的聚集使细胞内黏度增加;Ca²⁺引起膜蛋白的水解、聚集、交叉连接等结构改变使红细胞膜机械特性发生变化。研究结果表明,当机体处于肿瘤状态时,红细胞内[Ca²⁺]_i升高。给药后,红细胞内[Ca²⁺]_i降低,各给药组与模型组之间相比,均有不同程度的差异,提示青龙衣多糖通过提高红细胞表面钙泵活性,排出 S₁₈₀小鼠红细胞内 Ca²⁺,使[Ca²⁺]_i降低,恢复红细胞正常的生理状态和功能。

参考文献:

[1] 吴克复. 细胞通讯与疾病 [M]. 北京:科学出版社, 2006.

[2] 石玉玲, 习松. Fluo-3 荧光微量法测定人红细胞浆内游离钙离子浓度 [J]. 检验医学, 2005, 20(3): 290-291.
 [3] 刘群威, 汤圣兴, 胡焕昭, 等. 高血压病患者红细胞内 Ca 浓度及 ATP 酶活性与红细胞变形性的关系 [J]. 皖南医学院学报, 2005, 24(1): 38-40.
 [4] 田红燕, 马爱群, 沈涪锡. 高血压患者红细胞 ATP 含量、红细胞膜 ATP 酶活性与钙、镁代谢的研究 [J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(5): 183-185.
 [5] 汲晨锋, 肖凤, 季宇彬. 青龙衣多糖对 S₁₈₀小鼠红细胞膜唾液酸水平、ATP 酶活性及膜电位的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1685-1687.
 [6] 季宇彬, 马宏图, 杨波, 等. 青龙衣不同提取部位的抗肿瘤作用研究 [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1145-1147.
 [7] Masaki T, Yasokawa N, Tohnishi M. Flubendiamide, a novel Ca²⁺ channel modulator, reveals evidence for functional cooperation between Ca²⁺ pumps and Ca²⁺ release [J]. *Molecul Pharmacol*, 2006, 69(5): 1733-1739.
 [8] Moreau B, Straube S, Fisher R J, et al. Ca²⁺ calmodulin-dependent facilitation and Ca²⁺ inactivation of Ca²⁺ release-activated Ca²⁺ channels [J]. *J Bio Chem*, 2005, 280(10): 8776-8783.

复肾降纤宁对糖尿病肾病大鼠的影响及机制研究

陈益山, 曹文富*, 焦颖华

(重庆医科大学附属第一医院 中西医结合科, 重庆 400016)

摘要:目的 观察复肾降纤宁对糖尿病肾病(DN)大鼠肾脏蛋白激酶 C(PKC)、血管内皮生长因子(VEGF)和血小板衍生生长因子-β(PDGF-β)的影响及对肾脏的保护作用。方法建立链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病肾病(DN)大鼠模型,将成模糖尿病大鼠随机分成4组:模型组、复肾降纤宁组、厄贝沙坦组、厄贝沙坦+复肾降纤宁组,同时取正常大鼠设对照组。各组大鼠采用相应的干预措施处理12周。常规方法检测各组大鼠肾脏指数、血糖、尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、尿白蛋白排泄率(UAER),免疫组化法检测肾 PKC 和 VEGF 表达,Western blotting 检测肾组织 PDGF-β 的表达,透射电镜观察肾脏超微结构。结果 模型组大鼠肾皮质 PKC、VEGF 和 PDGF-β 表达显著升高,肾脏超微结构改变明显,血糖、UAER、BUN、Scr、肾脏指数显著增高;复肾降纤宁组、厄贝沙坦组和厄贝沙坦+复肾降纤宁组上述指标显著低于模型组(P<0.05),肾脏超微结构改变明显改善;厄贝沙坦+复肾降纤宁组各项指标改善明显优于模型组、复肾降纤宁组和厄贝沙坦组(P<0.05),但未达到对照组水平。结论 复肾降纤宁对 DN 大鼠肾脏形态和功能有明显保护作用,其机制可能与减少肾组织中 PKC、VEGF 和 PDGF-β 的表达,减轻肾组织纤维化有关。

关键词:复肾降纤宁;糖尿病;蛋白激酶 C;血管内皮生长因子;血小板衍生生长因子

中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)12-1844-05

Effect of Fushenjiangxianning on diabetic nephropathy rats and study on its mechanism

CHEN Yi-shan, CAO Wen-fu, JIAO Ying-hua

(Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of Fushenjiangxianning on renal protein kinase C (PKC), renal vascular endothelial growth factor (VEGF), renal platelet-derived growth factor β (PDGF-β), and renal protection in diabetic nephropathy (DN) rats. **Methods** The diabetic SD rats induced by STZ were divided into four groups: diabetic control group, Fushenjiangxianning group, Irbesartan group,

收稿日期:2008-07-11

基金项目:重庆市卫生局资助项目(渝中医[2003]32号 B-26)

作者简介:陈益山,重庆石柱人,在读硕士,主要研究方向为代谢病与肾病中西医结合治疗研究。E-mail: chenys06311@163.com

* 通讯作者 曹文富

and Fushenjiangxianning combined with Irbesartan group, and the normal control group as well. After the experimental rats in every group were respectively treated for 12 weeks by above intervention methods, the relative kidney weight, blood sugar, urea nitrogen (Bun), serum creatinine (Scr), and urinary albumin excretion rate (UAER) were detected by routine analysis methods, and PKC and VEGF in renal tissue were detected by immunohistochemical techniques, and PDGF- β in renal tissue was detected by Western blotting, and ultramicrostructure of kidney was observed by transmission electron microscope. **Results** The expression of renal cortex PKC and VEGF was increased in diabetic rats. The ultramicrostructure of kidney was noticeably changed, and the blood sugar, UAER, BUN, Scr, relative kidney weight, and PDGF- β were significantly increased in diabetic rats. While the above indexes in Fushenjiangxianning group, Irbesartan group, and Fushenjiangxianning combined with Irbesartan group were significantly lower than those in diabetic control group ($P < 0.05$), the ultramicrostructure of kidney changed was improved, and the improvement of all indexes in Fushenjiangxianning combined with Irbesartan group was the most obvious ($P < 0.05$). **Conclusion** The mechanism of the protection of Fushenjiangxianning on renal lesion may be decreasing the level of PDGF- β in the renal tissue and downregulating the expression of PKC and VEGF.

Key words: Fushenjiangxianning; diabetes; protein kinase C (PKC); vascular endothelial growth factor (VEGF); platelet-derived growth factor β -chain (PDGF- β)

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 的主要微血管并发症之一。DN 一旦发生, 出现持续性蛋白尿, 其肾功能将不逆转地进行性下降, 直至终末期肾功能衰竭。目前, 现代医学除积极控制血糖和血压、限制蛋白质摄入、应用血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI) 或血管紧张素 II 受体阻滞剂 (ARB) 外, 尚缺乏确实有效的方法。本实验旨在观察复肾降纤宁对 DN 大鼠肾组织蛋白激酶 C (PKC)、血管内皮生长因子 (VEGF) 和血小板衍生生长因子- β (PDGF- β) 表达的影响及对肾脏的保护作用, 并探讨其作用机制。

1 材料与方 法

1.1 药物和试剂: 复肾降纤宁由黄芪、生地黄、黄连、黄芩、丹参、葛根等 10 余味中药组成, 原药材购自重庆桐君阁药房, 经重庆医科大学中医学院中药研究室鉴定并制备成浓缩煎剂, 含生药 2 g/mL。厄贝沙坦为杭州赛诺菲安万特民生制药有限公司产品, 批号 0703116。链脲佐菌素 (STZ) 为 ALEXIS 公司产品, 批号 L18034。PKC 小鼠单克隆抗体 (BM0401)、VEGF 兔多克隆抗体 (BA0407)、PDGF- β 兔多克隆抗体 (BA0519)、山羊抗小鼠/兔 IgG 免疫组化检测试剂 (SA1050) 均为武汉博士德生物工程公司产品, DAB 显色剂为北京中杉金桥有限公司产品, 抗兔 IgG-HRP (Sigma, A6154)。

1.2 动物: 健康雄性 SD 大鼠, 8 周龄, 体质量 200~220 g, 由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供, 动物合格证号: 0052769。

1.3 主要仪器: H-7500 透射电镜、Roche

Modular 全自动生化分析仪、微量血糖测定仪、Olympus 公司图像采集系统、北京医学图像分析管理系统、LabworksTM 扫描分析软件系统。

1.4 分组、造模及给药: 按参考文献方法^[1]稍加改进建立模型, 取 SD 大鼠 60 只, 禁食 12 h 后, 用 0.1 mmol/L 无菌枸橼酸钠缓冲液 (pH 为 4.2, 4 °C) 配制 2% 的 STZ 溶液, 按 60 mg/kg 左下腹腔 ip STZ, 制造 DM 模型。72 h 后尾尖取血测空腹血糖, 血糖值 ≥ 16.65 mmol/L 确定为 DM 成模大鼠, 共成模 51 只。将成模大鼠随机分成 4 组: 模型组、复肾降纤宁组 (中药组)、复肾降纤宁+厄贝沙坦组 (中西药结合组) 各 13 只、厄贝沙坦组 (西药组) 12 只。另取 10 只正常大鼠作为对照组, ip 等量无菌枸橼酸钠缓冲液, 尾尖取血测血糖, 血糖均在 4.7~8.3 mmol/L。造模 7 d 后, 中药组用复肾降纤宁按 29.87 g/kg ig 给药; 厄贝沙坦组用厄贝沙坦按 50 mg/kg ig 给药; 中西药结合组用复肾降纤宁按 29.87 g/kg 和厄贝沙坦按 50 mg/kg ig 给药, 每日上午 1 次, 对照组和模型组大鼠每日上午用等量蒸馏水 ig 给药。实验期间, 对个别血糖过高可能危及生存的大鼠 sc 胰岛素。室温 18~20 °C, 相对湿度 69%, 12 h 交替照明, 大鼠自由饮水、进食。共喂养 12 周。

1.5 标本收集与检测: 实验结束前 1 d, 用代谢笼留取 24 h 尿液, 记录总量, 离心, -80 °C 冰箱保存。实验结束, 所有动物于空腹状态称体质量, 10% 水合氯醛 ip 麻醉, 心脏取血, 分离血清, -80 °C 冰箱保存; 剖腹分离双侧肾脏, 右肾用冰生理盐水清洗, 吸干水分, 称肾质量, 计算肾脏指数 (肾质量/体质量)

量)。左肾取少部分皮质制备 1 mm³数块,用 4% 戊二醛固定,待做透射电镜观察,取 1/2 肾组织放入 4% 多聚甲醛溶液中固定,待行病理和免疫组化。余肾脏标本均用液氮快速冷冻,-80 ℃ 冰箱保存,备用 Western blotting 检测等。血糖、血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)和 24 h 尿白蛋白排泄率(UAER)用 ROCHE MODULAR 全自动生化分析仪测定。将石蜡包埋的肾组织制成厚 4 μm 切片,按照免疫组化三步法检测肾组织 PKC 和 VEGF 的表达,以 PBS 代替一抗作为阴性对照,每个标本在 400 倍光镜下随机选取 8 个视野,采用 Olympus 公司图像采集系统及北航医学图像分析管理系统及北航医学图像分析管理系统进行半定量分析,染色阳性部位的深浅以平均吸光度值表示。取冰冻组织 100 mg 提取蛋白,蛋白考马斯亮蓝法定量,取蛋白 SDS-PAGE 电泳,然后转移至 PVDF 膜上,入含 6% 脱脂牛奶(pH 7.2)的 PBS 中封闭室温 1~2 h,置 4 ℃ 冰箱过夜,洗膜后用一抗进行杂交,再用二抗进行杂交,化学发光试剂检测进行放射自显影。用 Labworks™ 扫描分析软件系统定积分吸光度值。

1.6 统计学处理:数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS

11.5 统计软件进行数据分析,组间差异性比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况的比较:成模大鼠均出现多饮、多食、多尿、消瘦、毛发枯黄无光泽等糖尿病表现,部分出现肢体感染、溃疡和白内障等合并症。模型组上述症状明显,死亡 3 只,考虑死因为血糖过高引起酮症酸中毒或感染,中药组、西药组、中西药结合组上述症状较轻,因 ig 给药各死亡 2 只。中药组及中西药结合组任取剩余 10 只进行比较,模型组大鼠血糖明显升高,中药组、西药组和中西药结合组与模型组大鼠比较,血糖明显降低 ($P < 0.01$),但未达到对照组水平 ($P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠肾脏指数、BUN、Scr 和 UAER 比较:见表 1。模型组大鼠的肾脏指数、BUN、Scr、UAER 显著增高;各给药组上述指标显著低于模型组 ($P < 0.05$);中西药结合组各项指标改善明显优于模型组、中药组和西药组 ($P < 0.05$),但未达到对照组水平;中药组与西药组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 各组大鼠肾脏形态学观察:HE 染色可见对

表 1 给药 12 周后各组大鼠血糖、肾脏指数、BUN、Scr、UAER 变化 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Changes of blood sugar, kidney index, BUN, Scr, and UAER of rats treated with drugs for 12 weeks ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	血糖/(mmol · L ⁻¹)		肾脏指数	BUN/ (mmol · L ⁻¹)	Scr/ (μmol · L ⁻¹)	UAER/ [(mg · 24 h) ⁻¹]
		给药前	给药 12 周后				
对照	—	6.21 ± 0.83	5.85 ± 0.59	1.991 ± 0.033	5.610 ± 0.438	12.500 ± 3.629	7.830 ± 4.583
模型	—	21.65 ± 3.06**	29.82 ± 1.20**	6.074 ± 0.058*	14.850 ± 0.701*	67.700 ± 5.034*	67.780 ± 6.362*
中药	29.87	21.17 ± 2.74**	17.46 ± 1.19**△△	3.406 ± 0.043*△#	9.590 ± 0.549*△#	40.500 ± 6.721*△#	33.840 ± 6.339*△#
西药	0.50	22.11 ± 2.75**	17.24 ± 1.16**△△	3.384 ± 0.052*△#	9.430 ± 0.430*△#	40.900 ± 6.839*△#	32.420 ± 7.925*△#
中西药结合	29.87 + 0.50	21.79 ± 2.56**	14.44 ± 1.51**△△	3.112 ± 0.031*△	8.370 ± 0.686*△	32.600 ± 5.060*△	20.780 ± 6.100*△

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$; 与中西药结合组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs model group

$P < 0.05$ vs Fushenjiangxianning combined with Irbesartan group

照组大鼠肾小球囊腔内无渗出,肾小管结构清晰无管型;模型组大鼠肾小球系膜区基质增多,可见部分肾小管上皮细胞空泡变性、萎缩、坏死;中药组、西药组和中西药结合组上述病理改变均明显轻于模型组。电镜下,对照组大鼠足突细长整齐,基底膜厚度适中;模型组大鼠肾脏系膜区可见高电子密度沉积物,足突融合,基底膜明显增厚;中药组、西药组和中西药结合组上述改变明显轻于模型组。

2.4 各组大鼠 PKC 表达:PKC 阳性染色主要位于肾小球上皮细胞、系膜细胞及系膜区、肾小管基膜及管周毛细血管处。对照组大鼠肾小球、肾小管 PKC 仅有微弱表达;半定量分析结果显示,模型组 PKC

表达明显高于对照组 ($P < 0.05$);中药组、西药组和中西药结合组 PKC 表达明显低于模型组 ($P < 0.05$);中西药结合组较中药组和西药组表达降低更为显著 ($P < 0.05$),但仍高于对照组;中药组与西药组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

2.5 各组大鼠 VEGF 表达:模型组大鼠与对照组大鼠肾脏组织中 VEGF 免疫组化相比分布范围扩大。在正常肾组织中,VEGF 主要在肾小球脏层上皮细胞及肾小管上皮细胞表达;在糖尿病大鼠肾脏组织中,除在肾小球上皮细胞中阳性表达外,在部分肾小球壁层上皮细胞、系膜细胞也有表达。半定量分析结果显示,模型组 VEGF 表达明显高于对照组

($P < 0.05$); 中药组、西药组和中西药结合组 VEGF 表达明显低于模型组 ($P < 0.05$); 中西药结合组较中药组和西药组表达降低更为显著 ($P < 0.05$), 但仍高于对照组; 中药组与西药组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

2.6 各组大鼠 PDGF- β 表达: 糖尿病大鼠肾组织 PDGF- β 蛋白 Western blotting 检测, 定量分析结果显示, 模型组 PDGF- β 表达明显高于对照组 ($P < 0.05$); 中药组、西药组和中西药结合组 PDGF- β 表达明显低于模型组 ($P < 0.05$); 中西药结合组较中药组和西药组表达降低更为显著 ($P < 0.05$), 但仍高于对照组; 中药组与西药组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 给药 12 周后各组大鼠肾脏 PKC、VEGF 和 PDGF- β 的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Expression of PKC, VEGF, and PDGF- β in kidney of rats treated with drugs for 12 weeks ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	PKC	VEGF	PDGF- β
对照	-	0.076±0.017	0.079±0.016	43 622±1 114
模型	-	0.205±0.016*	0.217±0.016*	129 800±1 874*
中药	29.87	0.152±0.017* Δ †	0.153±0.020* Δ †	98 324±1 588* Δ †
西药	0.50	0.146±0.024* Δ †	0.151±0.022* Δ †	98 181±1 628* Δ †
中西药结合	29.87+0.50	0.116±0.017* Δ	0.124±0.016* Δ	83 131±1 045* Δ

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$

与中西药结合组比较: † $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs model group

† $P < 0.05$ vs Fushenjiangxianning combined

with Irbesartan group

3 讨论

DN 发病机制尚不完全清楚, 目前认为与遗传、高血糖、血流动力学改变以及细胞因子等因素有关。PKC 属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 在 DN 的发生发展中起着重要作用, 并且介导了 VEGF 和 PDGF- β 的过表达及参与肾小球硬化的发生机制^[2,3]。有研究表明, 在糖尿病第 1 周, 动物 Ccr 增加, 出现明显的蛋白尿, 同时肾小球 PKC 表达持续增加, 与前者呈正相关, 提示 PKC 可能通过增加肾小球滤过率和滤过膜通透性, 参与 DN 早期蛋白尿的发生机制^[4]。本研究中糖尿病大鼠肾组织 PKC 表达增加, 肾脏指数、Scr 和 BUN 增加, 并出现大量蛋白尿, 也显示 PKC 在 DN 发病中可能起重要作用。

PDGF 系统在 DN 的早期损伤中起十分重要的作用^[5], PDGF- β 参与了 DN 肾纤维化过程^[6]。在糖尿病状态下, 高糖通过增加糖代谢可诱导激活 PKC 途径, 进而诱导 PDGF 合成增加^[3], 而 PDGF 可上

调 VEGF 的合成和分泌^[7]。VEGF 是一种有效的促进血管内皮细胞生长的因子, 主要作用于肾小球毛细血管内皮细胞, 促进血管生长, 增加血管通透性, 参与 DN 早期蛋白尿的形成, 促进单核细胞迁移和内皮细胞增殖, 增加黏附分子及细胞外基质的产生, 导致肾小球肥大、肾小球系膜区 ECM 堆积及肾小球硬化^[8,9]。糖尿病早期肾小球系膜细胞及近端肾小管 VEGF 表达明显增加, 尿及血中的 VEGF 增加, 与 Ccr、尿蛋白呈正相关^[6,10]。本研究糖尿病大鼠肾组织 PDGF- β 和 VEGF 表达增加, 并出现大量蛋白尿, 肾脏指数、Scr 和 BUN 增加, 也显示 PDGF- β 和 VEGF 参考了 DN 的发生发展过程。

本研究采用 ip STZ 的方法制备 DN 动物模型, 模型动物表现为多饮、多食、多尿、消瘦, 空腹血糖显著升高, 大量蛋白尿, 电镜超微结构示有高电子密度沉积物, 基底膜明显增厚, 足突融合等特征, 具有典型早期 DN 表现, 证明造模成功。本实验以厄贝沙坦作为阳性对照组, 结果发现, 复肾降纤宁具有和厄贝沙坦相当的治疗作用, 能够降低 DN 大鼠肾组织 PKC、VEGF 和 PDGF- β 表达, 明显减少 24 h UEAR, 降低 Scr 水平, 减轻 DN 大鼠肾组织病理损伤, 从而延缓肾小球硬化的进程, 提示复肾降纤宁具有较好的抗 DN 大鼠肾纤维化进程的作用。复肾降纤宁对 DN 大鼠所表现出的肾脏保护效应, 可能与其抑制肾组织 PKC、VEGF 和 PDGF- β 过度表达有关, 但发挥这些生物学效应的机制尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 李伟, 张红, 殷松楼, 等. 不同剂量链脲佐菌素诱导 SD 大鼠糖尿病肾病模型的研究 [J]. 徐州医学院学报, 2006, 26(1): 52-55.
- [2] 张翠, 田陈, 郭焕, 等. 糖尿病大鼠肾小管 VEGF 表达的动态观察及其与 Ang I、PKC、ERK 关系的研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(3): 313-317.
- [3] 王筠, 邓红. 血小板源性生长因子与早期糖尿病肾病 [J]. 国外医学: 生理、病理科学与临床分册, 2004, 24(6): 514-516.
- [4] 贾忠辉, 张国忠, 郭兵, 等. 糖尿病大鼠肾小球蛋白激酶 Ca 的表达与肾病发病关系的研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(9): 1238-1241.
- [5] Nakagawa H, Sasahara M, Haneda M, et al. Immunohistochemical characterization of glomerular PDPG- β chain and PDGF beta-receptor expression in diabetic rats [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2000, 48(2): 87-98.
- [6] Kim N H, Kim K B, Kim S G, et al. Plasma and urinary vascular endothelial growth factor and diabetic nephropathy in Type-2 diabetes mellitus [J]. *Diabetic Med*, 2004, 21(6): 545-551.
- [7] Khamaisi M, Schrijvers B F, De Vriese A S, et al. The Emerging role of VEGF in diabetic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2003, 18(8): 1427-1430.
- [8] Devriese A S, Tilton R G, Elger M, et al. Antibodies

against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12: 993-1000.

[9] Senthil D, Choudhury G G, Mclaurin C, et al. Vascular endothelial growth factor induces protein synthesis in renal

epithelial cells; A potential role in diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2003, 64: 468-479.

[10] Eremina V, Quaggin S E. The role of VEGF-A in glomerular development and function [J]. *Nephrol Hypertens*, 2004, 13(1): 9-15.

山楂叶总黄酮对大鼠高脂血症早期干预的实验研究

杨宇杰¹, 林 静², 王春民³, 郭金甲³

(1. 承德医学院, 河北 承德 067000; 2. 承德医学院附属医院, 河北 承德 067000;

3. 承德颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000)

摘要:目的 研究山楂叶总黄酮(FHL)对高脂血症模型大鼠发病早期的治疗作用,并探讨其作用机制。方法 采用高脂饲料喂养造成大鼠高脂血症模型,检测每组大鼠体质量、血脂及血液流变学指标并观察对二磷酸腺苷(ADP)、花生四烯酸(AA)和血小板活化因子(PAF)诱导体外血小板聚集的影响。结果 FHL可明显降低血清总胆固醇TC、甘油三酯TG、低密度脂蛋白胆固醇LDL-C、载脂蛋白B(apoB)的量,提高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的量,并使动脉粥样硬化指数(TC/HDL-C)显著降低。FHL能显著降低高脂大鼠纤维蛋白原的量,降低全血比黏度、RBC聚集指数和RBC压积。FHL可明显抑制AA和ADP诱导的血小板聚集,对PAF引起的血小板聚集则无明显影响。结论 FHL具有明显的调血脂作用,可防治动脉粥样硬化(AS),其作用机制应与改善大鼠血液流变学异常及抑制血小板聚集有关。

关键词:山楂叶总黄酮;高脂血症;血液流变学;血小板聚集

中图分类号:R286.26

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)12-1848-03

冠心病、脑梗中是严重危害人类健康的疾病,动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是引起这类疾病的主要原始病因,而高脂血症又是AS发生和发展的主要危险因素之一。山楂系蔷薇科植物,山楂叶中的黄酮类化合物如芦丁、金丝桃苷、槲皮素、牡荆素等是其主要有效成分,可促使血管扩张,冠状动脉血流量增加,有调血脂、降血压和强心作用,能改善心脏活力和兴奋中枢神经系统的作用,且具抗氧化作用。山楂叶总黄酮(flavonoids in hawthorn leaves, FHL)抗AS、抑制脂质过氧化及对脑缺血的保护作用虽然有些报道^[1,2],但其作用机制尚未完全阐明。笔者前期研究表明山楂叶总黄酮对高脂血症大鼠血管功能损伤具有保护作用^[3]。本研究采用高脂饲料诱导大鼠产生高脂血症模型,探讨FHL早期干预对高脂血症大鼠血脂、血液流变学及血小板聚集的影响,为阐述FHL的作用机制,进一步防治由高脂血症引起的AS等高危心血管疾病有着积极的意义。

1 材料

1.1 动物:雄性Wistar大鼠,180~200g,中国医学科学院实验动物中心提供,合格证号:医动字

2005-048号。

1.2 药品与试剂:FHL,质量分数72.3%,承德颈复康药业集团有限公司提供;血脂康胶囊,北京北大维信生物科技有限公司生产,批号050322。二磷酸腺苷(ADP)、花生四烯酸(AA)、血小板活化因子(PAF)均为Sigma公司产品。高脂饲料:含0.5%胆固醇、15%蛋黄粉、5%猪油、79.5%基础饲料。血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)测定试剂盒,均由南京建成生物工程公司生产;载脂蛋白AI(apoAI)和B(apoB)试剂盒,上海北海生物技术工程有限公司生产。

1.3 仪器:岛津260紫外-可见分光光度计;PPP自动平衡血小板聚集仪,上海科达测试仪器厂;血流变仪、NXE-1椎板式黏度计,成都仪器厂;TLL-D台式冷冻离心机,军事医学科学院实验仪器厂。

2 方法

2.1 分组及给药:取雄性Wistar大鼠40只,以基础饲料预饲7d,称体质量后麻醉大鼠,颈外静脉取血3mL,分别检测大鼠血脂,然后按TC水平将大鼠随机分为5组,每组8只,1组为对照组,II组为