

雷至胶囊对嘌呤霉素氨基核苷肾病的减毒增效作用

李春庆¹, 孙伟^{2*}, 邵家德², 周栋², 张露², 高坤², 万毅刚³

(1. 无锡市第三人民医院肾内科, 江苏 无锡 214000; 2. 江苏省中医院
肾内科, 南京 210029; 3. 南京市鼓楼医院中医科, 南京 210000)

[摘要] 目的:探讨雷至胶囊(雷公藤多苷 10 mg·kg⁻¹ + 女贞子、墨旱莲 4 g·kg⁻¹)在治疗嘌呤霉素氨基核苷(PAN)肾病的减毒增效作用。方法:80 只雄性大鼠随机分为 8 组:空白组、模型组、雷至胶囊高、低剂量组、雷公藤多苷高、低剂量组、雷公藤甲素组和缙沙坦组,每组 10 只。颈静脉注射 PAN 100 mg·kg⁻¹ 建立 PAN 肾病模型。空白组颈静脉注射等量生理盐水。其余各治疗组造模后第 2 天开始每日分别 ig 给药,持续 10 d。第 11 天,处死大鼠,摘取肝肾,用于光镜、免疫荧光及透射电镜检测。结果:一般情况:模型鼠第 5 天尿量减少、腹水,而浮肿不明显,体重下降。第 7~10 天腹水明显,24 h 尿蛋白增加,死亡率 30% (3/10)。病理改变:模型鼠肾小管上皮细胞变性,电镜下,可见足细胞足突融合、消失,而空白组足细胞结构正常。各药物治疗组 24 h 尿蛋白、血生化、血红蛋白均有不同程度改善,各治疗组血尿素氮轻度升高($P < 0.05$)。雷至胶囊及雷公藤多苷 10 mg·kg⁻¹ 组降蛋白尿、改善贫血、降低 AST 疗效优于其余各组,电镜下,雷至胶囊高剂量组足突融合减轻,足突明显恢复。结论:雷至胶囊可能通过降低 PAN 肾病大鼠蛋白尿、改善贫血、降低 AST、减轻足细胞足突融合及肾小管上皮细胞变性等发挥减毒增效作用。

[关键词] 雷至胶囊;雷公藤多苷;嘌呤霉素氨基核苷肾病;雷公藤减毒

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0172-06

Experimental Study on Leizhi Capsule via Reducing Toxicity and Increasing Effects of Tripterygium Glucosides in PAN Nephrosis Rats

LI Chun-qing¹, SUN Wei^{2*}, SHAO Jia-de², ZHOU Dong², ZHANG Lu², GAO Kun², WAN Yi-gang²

(1. Nephrology Department of Wuxi No. 3 Hospital, Wuxi 214000, China; 2. Nephrology

Department of Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

3. Chinese Medicine Department of Drum Tower Hospital of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

[收稿日期] 20110417(003)

[基金项目] 江苏省研究生科研创新计划项目(2010-463);江苏省自然科学基金项目(BK2009462)

[第一作者] 李春庆,医学博士,副主任医师,从事中西医结合肾脏病基础与临床研究,Tel:15301516387,E-mail:lichunqingwuxi@126.com

[通讯作者] * 孙伟,博士,教授,博士生导师,从事中西医结合肾脏病的临床和实验研究,Tel:13505199810,E-mail:sunyb59@yahoo.com.cn

- [6] 魏鹏,焦磊,秦路平,等. 小檗碱对大鼠骨髓原性破骨细胞的分化及骨吸收功能的影响[J]. 中西医结合学报,2009,7(4):342.
- [7] 周学平. 类风湿性关节炎阴虚络热证辨治初探[J]. 中国中医基础医学杂志,2004,10(1):53.
- [8] Redlich K, Hayer S, Ricci R, et al. Osteoclasts are essential for TNF-alpha-mediated joint destruction[J]. J Clin Invest, 2002, 110(10):1419.
- [9] Feige U, Hu Y L, Bolon B. Osteoclast numbers in joints of rats with adjuvant arthritis are decreased by treatment with IL-1ra and/or prglated sTNF-RI[J]. Ann Rheum Dis, 2001, 60(suppl): Abstr OP0016.
- [10] 史凤芹,于世凤. 体外破骨细胞分离培养方法的建立[J]. 中华骨科杂志,1994,14(1):43.
- [11] Moss D W. Changes in enzyme expression related to differentiation and regulatory factors: the acid phosphatase of osteoclasts and other macrophages[J]. Clin Chim Acta, 1992, 209:131.
- [12] Dost P, Ten Cate W J, Wiemann I. Osteoblast-like cell cultures from human stapes [J]. Acta Ctol-aryngol, 2002, 122(8):836.
- [13] 周学平,梁卫,周玲玲,等. 清络通痹颗粒对胶原性关节炎大鼠滑膜细胞凋亡相关基因 p53 和 bcl-2 表达的影响[J]. 中国免疫学杂志,2006,22(8):718.
- [14] 周玲玲,方泰惠,周学平,等. 清络通痹颗粒给药的关节炎大鼠滑膜上清对软骨细胞的影响[J]. 福建中医药,2005,36(6):53.

[责任编辑 聂淑琴]

[**Abstract**] **Objective:** Toxicity of tripterygium wilfordii often bring damage to digestive system, reproductive system, hematological and immune system, so reducing toxicity but maintaining therapy effect has been focused on tripterygium wilfordii studies in the past decade. Combining with traditional Chinese medicine compounds can reduce the toxicity but maintaining therapy effect of tripterygium. Whether Leizhi capsule (Ligustrum lucidum, Eclipta, plus tripterygium glucosides) can reduce toxicity and increase effects of Tripterygium glucosides? So this study aims to explore the effects of Leizhi capsule in puromycin amino nucleoside(PAN) nephrosis rats. **Method:** Eighty male wistar rats were randomly divided into eight groups, including control group, model group, Leizhi capsule high-dosage and low-dosage group, tripterygium glucosides high-dosage and low-dosage group, triptolid group and valsartan group(with each group ten rats). PAN nephrosis model was made by jugular vein injection of PAN ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), while control group rats were made by injection of physiological saline with equal volume. By irrigation stomach once a day for ten days, all rats had been given medicines as follows: physiological saline 2 mL for control group and model group, tripterygium glucosides 2 mg dissolved in Erzhi (containing Ligustrum lucidum and Drought Ephraim grass) solution 1 mL or 1 mg dissolved in Erzhi solution 0.5 mL for Leizhi capsule high-dosage or low-dose group, tripterygium glucosides 10, 5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for Tripterygium glucosides high-dosage or low-dose group, triptolid 2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for triptolid group and valsartan 7.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for valsartan group. The blood and urine samples were collected, liver and kidney tissues were processed after killed. The glomerular morphology and podocyte ultrastructure were observed respectively. **Result:** In day 5, model rats were in low spirits, with less urine, ascites, malnutrition and weight loss. From day 7 to day 10, the nephrotic syndromes were worst in model rats, but without skin edema. Some rats died of serious ascites, the mortality is 30% (3/10). Morphologic changes include epithelial cells degeneration renal tubular and transparent cast, but there are no obvious changes in glomerulus and renal interstitial. Meanwhile, the podocyte processes effacement was obvious in model groups in electronic microscope. The nephrotic syndrome of PAN rats treated with Leizhi capsule and tripterygium glucosides significantly improved, compared with that in PAN model group and other treatment groups. The urinary protein excretion was decreased, plasma albumin was increased, and high cholesterol/triglyceride levels were remission, and anemia improved. Serum creatinine increased mildly ($P < 0.05$). In light microscope, epithelial cells degeneration renal of renal tubular and transparent cast improved in both leizhi capsule and Tripterygium glucosides samples ($P < 0.05$). Meanwhile, the degree and area of podocyte processes effacement was significantly reduced in both leizhi capsule and Tripterygium glucosides groups in electronic microscope ($P < 0.05$). **Conclusion:** Leizhi capsule can reduce toxicity and increase effects of Tripterygium glucosides by reducing proteinuria, improving anemia, lowering AST, improving podocyte processes effacement, and reducing epithelial cells degeneration of renal tubular.

[**Key words**] Leizhi capsule; tripterygium glucosides; puromycin amino nucleoside nephrosis; attenuation toxicity of *Tripterygium wilfordii*

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. F. 对自身免疫疾病具有广泛而确实的疗效,但雷公藤的毒副作用较为明显,主要表现在消化、生殖、血液、免疫等系统。国内外学者已经从雷公藤中分离出了二萜、三萜、生物碱和苷类等多种化合物。毒副反应主要来自二萜类化合物,其次是生物碱。二萜类化合物主要损伤心、肝、胃肠道及骨髓;生物碱类主要损害肝,并可破坏红细胞,引起进行性贫血^[1]。因此,雷公藤制剂的减毒增效成为近年研究焦点^[2]。研究

表明,雷公藤多苷与中药复方合用在一定程度上能减轻患者的毒副作用。如:中药复方能减轻雷公藤多苷对大鼠体重及脏器质量的影响;如六味地黄汤能减轻雷公藤多苷对雌鼠生殖系统的损伤^[3]。

二至丸(女贞子、墨旱莲)具有补益肝肾功效,是否可减轻雷公藤的毒副作用?因此以雷公藤多苷联合女贞子、墨旱莲制作雷至胶囊(每粒含雷公藤多苷 5 mg,女贞子、墨旱莲 2 g),旨在探讨其解毒增效作用。检索国内外文献,将女贞子、墨旱莲联合雷公

藤多苷用于雷公藤减毒增效研究,未见报道。本实验旨在探讨雷至胶囊对嘌呤霉素氨基核苷(PAN)肾病是否存在减毒增效作用。

1 材料

1.1 动物 SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠,体重 140~160 g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司(合格证编号 2008001606632),购进后实验性喂养 1 周,进入实验前体重(180)g。

1.2 药物与试剂 雷公藤甲素对照品购自(规格 20 mg)国家标准物质标准样品信息中心。雷公藤多苷片购自江苏美通药业公司(规格 10 mg×100 片),缬沙坦购自北京诺华制药有限公司(80 mg×7 粒)。雷至胶囊每粒含:雷公藤多苷 5 mg,女贞子、墨旱莲 2 g,由江苏省中医院药剂科邵家德主任制备。经水、醇提取后制成灌胃液,每 1 mL 雷至胶囊灌胃液含雷公藤多苷 2 mg,女贞子、墨旱莲 0.8 g,检测雷公藤多苷、齐墩果酸、总黄酮及鞣质含量反映雷公藤、女贞子及墨旱莲的活性成分。嘌呤霉素氨基核苷(PAN)购于 Sigma 公司(St. Louis, MO, USA)。使用前溶于生理盐水。肾病蛋白(nephryn)、足细胞裂隙膜蛋白(podocin)、切割酶(dicer)、突触极性蛋白(synaptopodin)一抗购自 Santa Cruz, Biotechnology Inc.,规格均为 200 mg·L⁻¹。

1.3 仪器 BX60 型多功能显微镜,DP71 型图像获取系统(日本 Olympus 公司),RMZ145 型石蜡切片机,TP1020 型全自动组织处理仪,TP1020 型切片漂烘温控仪(德国 Leica 公司),DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),JEOL Jem-1011 型透射电镜:GATAN ORIUS830 电镜图像采集系统。

2 方法

2.1 分组与给药 将 80 只雄性 Wistar 大鼠随机分为 8 组:模型对照组、正常对照组、雷至胶囊高剂量组、雷至胶囊低剂量组、雷公藤多苷高剂量组、雷公藤多苷低剂量组、雷公藤甲素组和缬沙坦组,每组 10 只;各组大鼠造模后第 2 天开始每日固定时间分别进行 ig 给药,持续 10 d。给药剂量如下:空白组自来水 2 mL/只;模型组单纯造模;自来水 2 mL/只;雷至胶囊高剂量组为雷公藤多苷 10 mg + 女贞子、墨旱莲 4 g·kg⁻¹;雷至胶囊低剂量组为雷公藤多苷 5 mg + 女贞子、早莲草 2 g·kg⁻¹;雷公藤多苷高剂量组为雷公藤多苷 10 mg·kg⁻¹;雷公藤多苷低剂量组

为雷公藤多苷 5 mg·kg⁻¹;雷公藤甲素组为雷公藤甲素 2 mg·kg⁻¹;缬沙坦组为缬沙坦 7.5 mg·kg⁻¹。

2.2 大鼠 PAN 肾病模型制作 方法见文献[4-5]。10%水合氯醛 3 mL·kg⁻¹ ip,暴露分离颈静脉,颈静脉注射 PAN 100 mg·kg⁻¹ 建立 PAN 模型。空白组颈静脉注射等量生理盐水。

2.3 标本留取及处理

2.3.1 24 h 尿液 将大鼠分别放入代谢笼中,分别于造模前、给药 3,7 d 收集 24 h 尿液,测定 24 h 尿蛋白定量。

2.3.2 血液 分别术前(尾静脉放血)及手术后第 10 天(眼球后静脉放血)采血,行血常规及血生化检测。

2.3.3 肝肾组织 于手术 10 d,经 10%水合氯醛 4 mL·kg⁻¹ ip 麻醉,摘取肝肾。分别于 0.4%福尔马林及戊二醛溶液固定,用于光镜及透射电镜检测。

2.4 光镜检查 取大鼠肝肾组织块浸泡 10%福尔马林固定,常规取材,脱水,石蜡包埋。肾组织切片经 HE, PAS, masson 染色,光学显微镜观察肾小球,肾小管及间质的病变。肝组织切片经 HE, PAS 染色,观察汇管区肝细胞变性纤维化情况。

2.5 电镜 将已固定的肾组织标本修成大小为 1 mm×1 mm×2 mm 的小块,以 0.1 mol·L⁻¹ PBS 漂洗 3 次,每次 15 min,然后用 1% 饿酸固定 1.5 h,再以 0.1 mol·L⁻¹ PPBS 漂洗 3 次,每次 15 min,然后用乙醇梯度脱水(50%, 70%, 80%, 95%, 100%) 2 次,每次 15 min。纯丙酮脱水 2 次,每次 15 min,EPON12:丙酮(1:1)浸透 30 min,然后应用环氧树脂包埋,超薄切片(厚度 60~80 nm),双蒸水清洗后,用滤纸吸干。再放置在柠檬酸铅染液中,室温染色 29 min,双蒸水洗净,滤纸吸干后在透射电镜下观察。

2.6 统计学处理 所有实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料采用单因素方差分析,计数资料用平均方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般情况 模型组大鼠造模后第 5 天尿量减少、出现腹水,精神萎靡,进食减少,毛发竖起,体重下降。第 7~10 天大鼠腹水明显增加,24 h 尿蛋白增多。模型组死亡 3 只,死亡率 30% (3/10)。而空白组无腹水,血生化正常。各给药组均出现尿少,腹水、肾病综合征,第 10 天,雷至胶囊高剂量组及雷公藤多苷高剂量组腹水最少,雷至胶囊低剂量

及雷公藤多苷低剂量次之。缬沙坦组及雷公藤甲素组与模型组相当。除了雷至高剂量组,其余各给药组分别死亡1~2只。

3.2 24 h尿蛋白定量 模型组24 h尿蛋白明显增多,雷公藤制剂治疗组蛋白尿均有下降,以雷至高、低剂量组及雷公藤多苷低剂量组蛋白尿下降最为明显($P < 0.05$)。见表1。

表1 各组用药前后24 h尿蛋白定量变化情况($\bar{x} \pm s$)
mg·d⁻¹

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	造模前 (n=10)	用药后3 d (n=10)	用药后9 d (n)
空白	-	4.63 ± 1.82	4.43 ± 1.05	5.33 ± 1.69 (10)
模型	-	5.29 ± 2.68	73.45 ± 68.76 ¹⁾	90.04 ± 65.38 ¹⁾ (5)
雷至胶囊	10	4.81 ± 3.77	38.24 ± 13.41 ²⁾	28.23 ± 15.26 ²⁾ (10)
	5	4.03 ± 1.61	35.02 ± 23.92 ²⁾	25.88 ± 10.99 ²⁾ (9)
雷公藤多苷	10	6.82 ± 4.09	54.68 ± 25.32 ³⁾	33.23 ± 14.14 ²⁾ (9)
	5	5.46 ± 3.21	36.27 ± 18.79 ²⁾	25.02 ± 7.14 ²⁾ (9)
雷公藤甲素	2	5.26 ± 2.18	41.74 ± 16.83 ²⁾	26.09 ± 8.19 ²⁾ (8)
缬沙坦	7.5	5.47 ± 1.68	44.46 ± 17.66 ²⁾	23.09 ± 5.41 ²⁾ (9)

注:与空白组相比¹⁾ $P < 0.05$;与模型组相比²⁾ $P < 0.05$;与雷至胶囊10 mg·kg⁻¹组相比³⁾ $P < 0.05$;与雷至胶囊5 mg·kg⁻¹组相比⁴⁾ $P < 0.05$ (表2~4同)。

表2 各组用药前后血总蛋白、白蛋白及血脂变化情况($\bar{x} \pm s$)

组别(n)	剂量 /mg·kg ⁻¹	TP /g·L ⁻¹	Alb /g·L ⁻¹	TC /mmol·L ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹
空白(10)	-	68.81 ± 4.83	31.17 ± 1.76	1.191 ± 1.76	0.711 ± 1.7
模型(5)	-	34.56 ± 2.55 ¹⁾	15.22 ± 1.09 ¹⁾	8.841 ± 1.7 ¹⁾	5.341 ± 1.7 ¹⁾
雷至胶囊(10)	10	37.95 ± 7.39	15.45 ± 2.59	8.571 ± 1.7	5.921 ± 1.7 ²⁾
雷至胶囊(9)	5	36.89 ± 6.39	15.18 ± 2.05	8.641 ± 1.7	4.561 ± 1.7
雷公藤多苷(9)	10	35.18 ± 3.61	14.57 ± 1.28	7.521 ± 1.76	4.851 ± 1.7
雷公藤多苷(9)	5	28.86 ± 10.50 ⁴⁾	13.75 ± 0.99	7.111 ± 1.7 ⁴⁾	3.431 ± 1.7
雷公藤甲素(8)	2	41.12 ± 6.23	16.95 ± 1.99 ³⁾	10.01 ± 1.76	5.671 ± 1.7 ²⁾
缬沙坦(9)	7.5	43.58 ± 5.12	16.68 ± 0.53 ³⁾	9.411 ± 1.7	11.62 ± 1.766 ²⁾

表3 各组用药前后肝肾功能指标变化情况($\bar{x} \pm s$)

组别(n)	剂量/mg·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	Cr/ μ mol·L ⁻¹
空白(10)	-	41.57 ± 7.59	116.40 ± 27.31	6.81 ± 0.82	16.81 ± 2.42
模型(5)	-	43.00 ± 7.34	119.80 ± 11.30	35.13 ± 1.77 ¹⁾	29.48 ± 2.46 ¹⁾
雷至胶囊(10)	10	37.40 ± 10.71	90.30 ± 21.47	13.35 ± 5.51 ²⁾	31.03 ± 6.65
雷至胶囊(9)	5	36.20 ± 8.90	95.50 ± 14.69	13.81 ± 5.45 ²⁾	30.39 ± 8.04
雷公藤多苷(9)	10	30.60 ± 8.65	84.30 ± 16.70	16.89 ± 4.01 ²⁾	36.10 ± 5.41
雷公藤多苷(9)	5	44.50 ± 25.29	103.60 ± 46.26	19.27 ± 13.5 ²⁾	38.44 ± 16.62
雷公藤甲素(8)	2	21.70 ± 5.12 ^{2, 3)}	59.00 ± 10.25 ^{2, 3)}	11.28 ± 2.86 ²⁾	31.62 ± 5.01
缬沙坦(9)	7.5	21.43 ± 4.65 ^{2, 3)}	59.71 ± 13.61 ^{2, 3)}	14.97 ± 4.01 ²⁾	30.02 ± 5.95

3.3 总蛋白、白蛋白及血脂变化 模型组大鼠表现低蛋白血症、高胆固醇血症。雷公藤制剂治疗组低蛋白血症、高胆固醇血症均有改善,雷公藤甲素组及缬沙坦组提高白蛋白、降低血脂有统计学差异($P < 0.05$)。见表2。

3.4 肝肾功能 模型组ALT,AST改变不明显,BUN,Cr升高,各治疗组ALT,AST,BUN,Cr均有下降,以雷公藤甲素及缬沙坦组ALT/AST下降最显著($P < 0.05$),以雷至高、低剂量组、雷公藤甲素组BUN,Cr下降最为明显($P < 0.05$)。见表3。

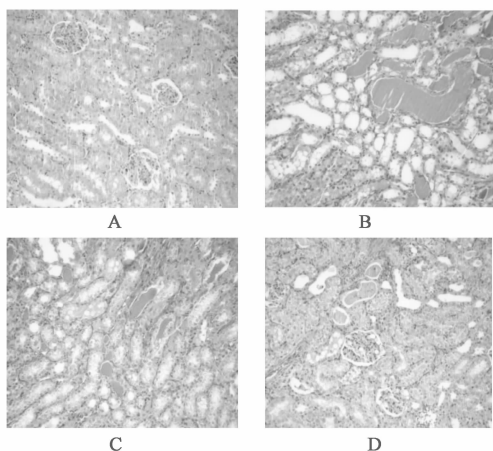
3.5 血常规 模型组白细胞及血小板正常,出现轻度贫血,见表4,雷至胶囊高剂量组与雷公藤甲素组相当,贫血改善明显($P < 0.05$),其余各组贫血改善不明显。

3.6 组织病理

3.6.1 肾组织病理 模型组大鼠肾组织切片PAS染色显示肾小管上皮细胞变性,严重区域细胞坏死。所有大鼠肾小管管腔内均有透明管型,皮质部管腔轻度扩张。肾小球及间质无明显病变。各药物干预组肾小管上皮细胞变性减轻,肾小管内透明管型减少,其中雷至胶囊高剂量和雷公藤多苷高剂量的减轻作用与模型组相比有统计学显著性差异。见图1。模型组可见明显肾小管蛋白管型,毛细血管腔狭

表 4 各组用药前后血细胞变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别(n)	剂量/mg·kg ⁻¹	WBC/×10 ⁹ /L	Hb/g·L ⁻¹	Plt/×10 ¹² /L
空白(10)	-	6.81 ± 1.97	136.30 ± 5.20	705.11 ± 229.2
模型(5)	-	4.50 ± 1.42 ¹⁾	96.27 ± 5.58 ¹⁾	1 772.90 ± 132.8 ¹⁾
雷至胶囊(10)	10	7.50 ± 1.56 ²⁾	103.32 ± 10.11	1 258.50 ± 421.6 ²⁾
雷至胶囊(9)	5	5.92 ± 1.81	95.39 ± 13.06	1 676.40 ± 83.5
雷公藤多苷(9)	10	7.07 ± 1.99 ²⁾	93.10 ± 18.16	1 526.40 ± 312.6 ^{2,3)}
雷公藤多苷(9)	5	6.71 ± 2.77 ²⁾	78.96 ± 17.29 ^{2,4)}	1 573.70 ± 277.7
雷公藤甲素(8)	2	7.75 ± 1.65 ²⁾	108.94 ± 8.44 ²⁾	1 042.10 ± 206.6 ²⁾
缬沙坦(9)	7.5	8.69 ± 1.99 ²⁾	98.54 ± 7.47	1 300.30 ± 300.3 ²⁾



A. 空白组; B. 模型组; C. 雷至胶囊 10 mg·kg⁻¹组;
D. 雷公藤多苷 10 mg·kg⁻¹组(图 2 同)

图 1 大鼠肾组织切片病变比较(PAS 染色, ×100)

表 5 各组肾组织病理评分($\bar{x} \pm s$)

组别(n)	剂量/mg·kg ⁻¹	病变评分
空白(10)	-	0.00 ± 0.00 ²⁾
模型(5)	-	4.75 ± 0.89
雷至胶囊(10)	10	3.10 ± 1.20 ²⁾
雷至胶囊(9)	5	4.85 ± 1.53
雷公藤多苷(9)	10	3.35 ± 1.11 ²⁾
雷公藤多苷(9)	5	4.13 ± 1.38
雷公藤甲素(8)	2	5.25 ± 0.92
缬沙坦(9)	7.5	4.67 ± 1.57

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01。

容;雷至胶囊组及雷公藤多苷高剂量组蛋白管型减少,间质水肿减轻。肾脏病变程度评分结果见表 5。模型组、雷至胶囊低剂量组、雷公藤甲素组及缬沙坦组病变最严重,而雷至胶囊高剂量组及雷公藤多苷高剂量组肾组织评分下降,显示对肾组织损伤的保

护作用。

3.6.2 肝组织病理 PAS 染色光镜下,正常组、模型组、雷至胶囊组肝脏结构无明显变化,雷公藤多苷组肝细胞排列紊乱,基质明显增多。

3.7 电镜 模型组足细胞足突融合消失,雷至胶囊及雷公藤多苷组治疗后足细胞足突均有恢复(图 2)。

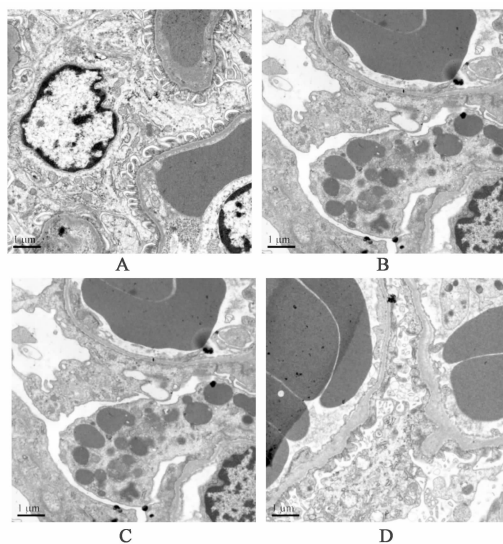


图 2 电镜观察各组肾足细胞超微结构变化(×10 000)

4 讨论

4.1 对 PAN 肾病模型评价 PAN 可以选择性损伤大鼠足细胞,破坏足细胞裂隙膜结构,诱发大量蛋白尿。该模型已成为国际上研究足细胞病变的经典模型^[4-5]。给予大鼠一次性颈静脉注射 PAN(100 mg·kg⁻¹体重)5 d 后,出现腹水、蛋白尿、尿少,电镜观察到足细胞足突融合、增宽等改变,与文献一致^[4-5]。模型组出现明显氮质血症,与尿少、腹水、血容量不足有关。实验表明,一次性颈静脉注射 70 ~ 100 mg·

kg⁻¹体重的 PAN 可制作典型的急性期微小病变模型,可用于机制分析及药物干预实验。

4.2 雷至胶囊减毒增效理论基础 雷公藤的治疗窗较窄,长期用药致生殖器官、肝、肾等脏器损伤。因此雷公藤的减毒研究成为近年研究焦点。中药配伍是雷公藤减毒治疗的策略之一,雷至胶囊由雷公藤多苷和女贞子、旱莲草 3 味药组成,意在发挥其对雷公藤制剂的减毒增效作用。方中女贞子、墨旱莲滋阴以扶正,雷公藤清利湿热、活血化瘀以祛邪,3 药配伍共奏祛湿清热解毒、补益肝肾之功。二至丸源于《普济方》,由女贞子、旱莲草按 1:1 的比例组成,其功能为补益肝肾、滋阴止血。《本草正》谓本方“养阴气,平肝火,解烦热骨蒸,止虚汗消渴及淋浊崩漏,便血,尿血”。女贞子中含齐墩果酸、齐墩果苷、乙酰齐墩果酸、多糖及多种挥发油^[6],旱莲草含螃蜞菊内酯、去甲螃蜞菊内酯、菸碱、挥发油等^[7]。二至丸水提物对四氯化碳诱导的大鼠和小鼠肝损伤,呈现明显的保护作用,可降低四氯化碳诱导的 ALT,AST 和胆红素含量的增加,并有剂量依赖性^[8]。

4.3 雷至胶囊对 PAN 肾病组织病理的修复作用 模型组肾组织损伤特点为光镜下蛋白管型,肾小管上皮变性,雷至胶囊组和雷公藤多苷组病理改变明显减轻,足突的融合减轻,系膜基质轻度增多,肾小球基底膜增厚改善。且雷至胶囊高剂量组变化比雷公藤多苷组显著,说明雷至胶囊能有效减 PAN 肾病大鼠的病理损伤;肾脏组织病理学损害的明显改善,可能是减轻蛋白尿的原因之一,为雷至胶囊治疗 PAN 肾病大鼠、减轻肾脏损害提供了组织病理学上的依据。郑春霞等^[5]研究认为雷公藤甲素对 PAN 导致的足细胞损伤模型具有明显的预防和治疗作用,表现为减少蛋白尿,改善足突融合,恢复足细胞相关蛋白的表达及其分布,逆转足细胞病变。雷公藤多苷组出现肝组织排列紊乱,基质增多,而雷至胶囊组肝组织损伤改善,显示其一定保肝作用。

4.4 雷至胶囊在 PAN 肾病的减毒增效机制 本研究观察了雷至胶囊在 PAN 肾病中的减毒增效作用,与模型组及其他给药组比较,雷至胶囊高剂量

组降蛋白尿、改善贫血、降低 AST 疗效优于其余各组,雷至胶囊可能通过降低 PAN 肾病蛋白尿、改善贫血、降低 AST、减轻足细胞足突融合及肾小管上皮细胞变性等发挥减毒增效作用。魏明刚等^[9]认为雷至胶囊能增强对阿霉素肾病的治疗作用,,延缓肾脏病变进展。吴汉利等^[10]认为从疗效或药物安全性方面雷至胶囊均优于其他雷公藤制剂,以上在不同模型的系列研究,从不同模型探讨雷至胶囊降低蛋白尿、保肝、补血、降血脂从而发挥减毒增效作用。

[参考文献]

- [1] 马伟光,张滔,张超,等. 有毒药物雷公藤的研究及展望[J]. 中华中医药杂志,2006,21(2):117.
- [2] 李春庆,孙伟,邵家德,等. 雷公藤减毒研究述评[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):263.
- [3] 张宏博,刘维,房丹,等. 六味地黄丸拮抗雷公藤对雌鼠生殖系统影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志,2007,34(9):1325.
- [4] 刘丽华,朱春芳,欧周罗. 单次静脉注射嘌呤霉素氨基核苷所致大鼠肾病模型的优化及评价[J]. 复旦大学学报:医学版,2005,32(4):488.
- [5] 郑春霞,刘志红,孙吉平,等. 雷公藤甲素对嘌呤霉素模型足细胞病变的影响[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2007,16(2):110.
- [6] 邱蓉丽,李璘. 中药女贞子化学与药理研究进展[J]. 中药材,2007,30(7):891.
- [7] 营大礼. 墨旱莲化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药房,2008,19(36):2876.
- [8] 闫冰,丁安伟,张丽. 二至丸水提物对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(14):131.
- [9] 魏明刚,孙伟,高坤,等. 雷至胶囊治疗阿霉素肾病大鼠的实验研究[J]. 中国现代医药杂志,2009,11(2):7.
- [10] 吴汉利,孙伟,万毅刚,等. 雷至胶囊对阿霉素肾病大鼠肾小球系膜基质增生抑制作用的实验研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2010,11(1):18.

[责任编辑 聂淑琴]