论著

文章编号:1000-5404(2014)13-1402-06

来氟米特对糖尿病大鼠肾组织甘露糖结合凝集素表达的影响

常保超[1],陈卫东[1],张 燕[1],杨 萍[2],刘 磊[1],陈 峥[1] (233000 安徽 蚌埠,蚌埠医学院第一附属医院:肾病科[1],检验科[2])

[摘要] **目的** 探讨糖尿病大鼠血清及肾组织甘露糖结合凝集素(mannose-binding lectin,MBL1)表达变化及来氟米特治疗后对其表达的影响。**方法** 将56只8周龄清洁级雄性SD大鼠,按随机数字表法分为对照组($n=16$)与模型组($n=40$);模型组给予链脲佐菌素制作糖尿病大鼠模型,造模成功后再随机分为糖尿病组和来氟米特组,来氟米特组给予来氟米特[5 mg/(kg·d)]治疗性灌胃,对照组及糖尿病组给予等体积生理盐水灌胃,连续8周。分别于成模后4周及8周处死大鼠,检测各组大鼠24 h尿蛋白定量、血糖、血清肌酐、尿素氮,肾脏标本测肾脏质量,PAS染色观察肾脏病理改变。ELISA法检测血清MBL1水平,采用免疫组化、半定量RT-PCR及Western blot检测肾组织MBL1表达。**结果** 与对照组大鼠比较,4、8周糖尿病组及来氟米特组大鼠肾质量指数、血清肌酐、尿素氮、血清MBL1及24 h尿蛋白定量差异均有统计学意义($P<0.01$);来氟米特组大鼠肾质量指数、血清肌酐、尿素氮、血清MBL1[4周(1.117±0.067)μg/L *vs* (1.249±0.054)μg/L,8周(1.222±0.074)μg/L *vs* (1.470±0.132)μg/L]及24 h尿蛋白定量较糖尿病组大鼠明显降低(尿素氮$P<0.05$,余指标$P<0.01$);对照组肾组织MBL1有少量表达,糖尿病组肾组织MBL1表达增加,来氟米特组各时间点与糖尿病组比较均显著降低($P<0.01$),相关分析显示血清及肾组织MBL1表达与24 h尿蛋白定量、血清肌酐、尿素氮、肾质量指数、平均肾小球横截面积、平均肾小球体积呈显著正相关。**结论** MBL1参与糖尿病肾病发生、发展,来氟米特可以通过减低血清及肾组织MBL1的水平,降低炎症反应,减轻糖尿病大鼠肾脏损害。

[关键词] 糖尿病肾病;甘露糖结合凝集素;来氟米特

[中图法分类号] R587.205; R967; R976 [文献标志码] A

Effect of leflunomide on renal expression of mannose-binding lectin in diabetic rats

Chang Baochao[1], Chen Weidong[1], Zhang Yan[1], Yang Ping[2], Liu Lei[1], Chen Zheng[1] ([1]Department of Nephrology, [2]Department Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui Province, 233000, China)

[**Abstract**] Objective To investigate the expression of mannose-binding lectin (MBL1) in the serum and renal tissue and preventive effects of leflunomide (LEF) in diabetic nephropathy rats. Methods Fifty-six SD male rats (8 weeks old, weighing 180 to 220 g) were randomly divided into control group (group N, $n=16$) and diabetes model group ($n=40$). Diabetic rat model was induced by intra-peritoneal injection of streptozotocin. The diabetic rats were randomly divided into group of diabetic mellitus (group DM) and leflunomide treatment group (group LEF). Group LEF were treated with leflunomide (5 mg/kg every day) through intra-gastric infusing, and group DM and group N were treated with equal volume of normal saline. The rats were sacrificed in 4 and 8 weeks after establishment of diabetic nephropathy model, and then 24 hours urine protein, blood glucose, serum creatinine, and blood urea nitrogen were detected. PSA staining was used to observe the pathological changes in the renal tissues. Serum level of MBL1 was detected by ELISA, and its expression in the renal tissue was detected by immunohistochemical assay, RT-PCR and Western blotting. Results Compared with control group, the blood glucose, renal mass index, serum creatinine, blood urea nitrogen and 24 hours urine protein were significantly increased in DM group and LEF group ($P<0.01$). The renal mass index, serum creatinine, blood urea nitrogen, serum MBL1 (4 weeks: 1.117±0.067 *vs* 1.249±0.054 μg/L; 8 weeks: 1.222±0.074 *vs* 1.470±0.132 μg/L) and 24 hours urine protein was significantly lower in the group LEF than group DM ($P<0.05$ for blood urea nitrogen, $P<0.01$ for other indexes). MBL1 was mildly

[基金项目] 安徽省高等学校省级自然科学研究重点项目(KJ2013A191)

[通信作者] 陈卫东,E-mail: cwd2012@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140126.1051.011.html(2014-01-26)

expressed in normal control group renal tissue, significantly enhanced in group DM, and was significantly decreased in group LEF than in group DM at the 2 time points ($P<0.01$). Correlation analysis showed that the change of serum and renal MBL1 expression was positively correlated with renal mass index, serum creatinine, blood urea nitrogen, 24 hours urine protein, mean glomerular area and mean glomerular volume. **Conclusion** MBL1 participates in the incidence and development of diabetic nephropathy. Leflunomide attenuates inflammatory response and ameliorates renal injury through reducing expression of MBL in serum and renal tissue.

[**Key words**] diabetic nephropathy; mannose-binding lectin; leflunomide

Supported by the Key Program of Natural Science Foundation of Higher Education of Anhui Province (KJ2013A191). Corresponding author: Chen Weidong, E-mail: cwd2012@163.com

糖尿病肾病(diabetic nephropathy,DN)是糖尿病(diabetes mellitus,DM)最常见的严重并发症之一,是导致糖尿病患者死亡的重要原因。糖尿病肾病发生、发展的确切机制不明,目前研究认为与糖代谢紊乱、血流动力学改变、细胞因子以及遗传背景等多种因素综合作用有关。近年来炎症在糖尿病肾病中的作用受到人们的重视,众多炎性细胞因子、黏附因子、趋化因子(monocyte chemoattractant protein-1,MCP-1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)和生长调节因子(transforming growth factor-β1,TGF-β1)[1]、基质金属蛋白酶及组织抑制因子等相互作用,扩大了炎症的级联反应,促进糖尿病肾病的进展。研究表明甘露糖结合凝集素(mannose-binding lectin,MBL)与1型糖尿病[2]、妊娠糖尿病[3]、胰岛素抵抗和肥胖相关[4]。Elawa等[5]研究发现2型糖尿病患者血清MBL升高,凝集素补体激活途径导致糖尿病肾病发生和进展,血清MBL升高可以作为糖尿病肾脏损害的预测因子。人类只有一种MBL,而啮齿类动物有两种亚型MBL存在,分别为血清型(MBL1)和肝型(MBL2)。MBL2蛋白存在于肝脏,负责低聚糖的转运;血清及肾脏组织中主要为MBL1。来氟米特(leflunomide,LEF)为免疫抑制剂,已应用于难治性肾病综合征及狼疮性肾炎等肾脏疾病的治疗。本研究通过链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)诱导糖尿病大鼠模型,观察糖尿病大鼠血清及肾脏组织中MBL1的变化,分析MBL1与肾脏损伤的关系,来氟米特干预后对血清及肾组织MBL1变化和肾小球病理改变的影响,旨在为免疫抑制剂治疗糖尿病肾病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型制备

56只8周龄清洁级雄性SD大鼠,体质量180~220 g,购自蚌埠医学院动物实验中心。大鼠适应性喂养7 d后按随机数字法分为对照组($n=16$)与模型组($n=40$)。STZ(美国Sigma公司)溶于0.1 mol/L pH 4.2枸橼酸钠缓冲液中,配置为浓度为1 g/100 mL。模型组大鼠造模前禁食12 h(不禁水),给予单剂量1% STZ 60 mg/kg腹腔注射,72 h后测随机血糖>16.7 mmol/L即为糖尿病大鼠造模成功,40只大鼠均造模成功。对照组大鼠同时腹腔注射相当剂量的枸橼酸缓冲液。造模成功大鼠按随机数字法分为糖尿病组(DM组,$n=20$)和来氟米特组(LEF组,$n=20$)。将来氟米特(苏州长征-欣凯制药有限公司)配制为1 mg/mL溶液,以5 mg/(kg·d)灌胃给药,DM组及对照组大鼠给予等量溶液灌胃;实验过程中DM组死亡4只,LEF组死亡4只,未纳入统计;整个实验过程中各组大鼠进食标准颗粒饲料,自由饮水,禁用胰岛素等降糖药物。

1.2 观察指标及标本收集

观察大鼠毛色、体质量及精神状态。分别于成模后4、8周收集标本,大鼠处死前收集24 h尿液检测24 h尿蛋白定量。2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,留取血标本,部分送检血肌酐、尿素氮、血糖,部分-80 ℃的低温冰箱保存。MBL酶联免疫吸附双抗体夹心法试剂盒(上海博蕴生物科技有限公司),严格按照试剂盒说明书操作。在波长450 nm处测光密度值[$D(450)$],绘制标准曲线并读结果。取左侧肾脏标本,称质量,计算肾质量指数(肾质量/体质量)。右肾组织,部分-80 ℃的低温冰箱冻存,部分用10%甲醛固定作病理学检查。

1.3 肾脏病理组织学检查

右侧肾脏组织行PAS染色,PAS染色切片高倍镜(×400)每个标本随机选择5个肾小球,应用显微摄影系统摄取图像,采用Image J图像分析软件测量肾小球横截面积,5个肾小球横截面积平均值为此标本平均肾小球横截面积(mean glomerular area,MGA),并根据公式[6]:平均肾小球体积(mean glomerular volume,MGV)=1.25·[MGA]$^{3/2}$,计算平均肾小球体积。MBL1免疫组化采用S-P法:石蜡切片常规脱蜡,梯度酒精脱水,3% H_2O_2浸泡;微波抗原修复,正常羊血清工作液封闭,37 ℃ 10 min,滴加一抗:小鼠抗大鼠MBL1多克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology)4 ℃冰箱孵育过夜,PBS冲洗3×5 min,滴加生物素标记二抗,37 ℃孵育30 min,PBS冲洗3×5 min,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液,37 ℃孵育30 min,PBS冲洗3次×5 min,DAB反应染色,自来水充分冲洗后,苏木精复染,常规脱水,透明,干燥,封片。阳性物质呈棕黄色颗粒状。MBL1免疫组化结果判断:在高倍视野(×400)下测定MBL1的量,以灰度值表示,数值越小,表示染色越深,阳性强度越高,每张标本随机测定5个视野,以其均值作为该标本的最

后结果。

1.4 半定量RT-PCR测定肾组织MBL1 mRNA表达

取-80 ℃冻存大鼠肾组织,按总RNA提取试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司)说明提取总RNA,紫外分光光度计测量浓度,按照试剂盒说明完成RT-PCR。MBL1基因特异性引物根据GenBank MBL1基因cds序列,由上海生工生物工程股份有限公司设计及合成,上游引物:5′-AGGCAGAGATAAACACCCTGAA-3′,下游引物:5′-TGTCATTCCACAGACCGTTG-3′,扩增产物长度为375 bp;另设计及合成1对片段长度为150 bp的大鼠β-actin基因引物作为内参,上游引物:5′-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3′,下游引物:5′-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3′。PCR反应体系总体积为25 μL;PCR扩增条件:94 ℃ 2 min →(94 ℃ 30 s,58 ℃ 30 s,72 ℃ 40 s)35个循环→72 ℃ 8 min。然后取PCR产物5 μL与上样缓冲液充分混匀后,于1%琼脂糖凝胶电泳,Image Master VDS扫描仪观察电泳条带,照相,再以Labworks软件进行光密度扫描。以β-actin(上海生工生物工程股份有限公司)作为内参,分别计算各组MBL1产物与β-actin产物光密度值D(450)的比值,作为肾组织MBL1 mRNA的表达水平。

1.5 Western blot检测肾组织MBL1蛋白的表达

在液氮中研磨肾组织成微末,收集100 mg,采用RIPA蛋白裂解液(上海生工生物工程股份有限公司)提取总蛋白,取上清液BCA法(BCA蛋白质定量检测试剂盒购自上海生工生物工程股份有限公司)测蛋白浓度。蛋白样品在100 ℃变性6 min,各取样品20 μL行SDS-PAGE电泳分离并转至PVDF膜,在含5%脱脂奶粉封闭液中封闭1 h,加入MBL1或β-actin一抗,4 ℃过夜,次日回收一抗在TBST液中洗膜30min,将膜置于1∶5 000稀释的二抗,37 ℃反应2 h。TBST洗膜后,取出PVDF膜,置于DAB显色液显色、定影,凝胶成像系统成像。β-actin蛋白作为内参。结果以各组MBL1与β-actin电泳条带灰度值比值表示。

1.6 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件,计量数据采用$\bar{x} \pm s$表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用t检验,相关性分析采用两变量间Pearson直线相关分析。

2 结果

2.1 3组大鼠生化指标观察

DM组及LEF组大鼠与对照组大鼠比较:4、8周血糖、血清肌酐、尿素氮、MBL1及24 h尿蛋白定量均显著升高($P<0.01$);DM组与LEF组大鼠比较:LEF组大鼠4、8周血清肌酐、尿素氮、MBL1及24 h尿蛋白定量与DM组大鼠相比明显降低,差异有统计学意义(尿素氮$P<0.05$,余指标$P<0.01$));DM组与LEF组之间血糖各观察时间点差异无统计学意义($P>0.05$)。相关分析显示:血清MBL1与24 h尿蛋白定量($r=0.837$,$P<0.01$)、血清肌酐($r=0.871$,$P<0.01$)、尿素氮($r=0.685$,$P<0.01$),提示血清MBL1与血清肌酐、尿素氮及24 h尿蛋白定量呈显著正相关,见表1。

表1 3组大鼠生化指标及血清MBL1结果比较($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

指标	4周	8周
血糖(mmol/L)		
对照组	4.34±0.55	4.71±0.40
糖尿病组	26.15±2.49[a]	28.11±1.78[a]
药物组	26.87±2.12[a]	27.62±2.37[a]
血肌酐(μmol/L)		
对照组	41.89±2.98	43.15±3.78
糖尿病组	78.83±4.54[a]	90.51±8.82[a]
药物组	68.76±6.78[ac]	68.75±4.94[ac]
尿素氮(mmol/L)		
对照组	6.06±1.34	7.05±0.72
糖尿病组	15.34±2.82[a]	13.49±2.22[a]
药物组	10.02±2.37[ac]	10.94±2.00[ab]
尿蛋白(mg/24 h)		
对照组	6.13±0.76	7.89±0.82
糖尿病组	72.41±7.05[a]	78.72±10.61[a]
药物组	44.05±7.40[ac]	42.31±6.57[ac]
血清MBL1(μg/L)		
对照组	0.946±0.043	0.998±0.059
糖尿病组	1.249±0.054[a]	1.470±0.132[a]
药物组	1.117±0.067[ac]	1.222±0.074[ac]

a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.05$,c:$P<0.01$,与糖尿病组比较

2.2 3组大鼠肾质量指数及肾脏病理组织学观察

4、8周DM组及LEF组肾质量指数较对照组明显增高,LEF组肾质量指数较DM组显著降低,相关分析显示血清MBL1与肾质量指数呈显著正相关($r=0.841$,$P<0.01$)。光镜检查,对照组大鼠肾组织结构正常。4周DM组大鼠肾小球增大,肾小球系膜细胞增生,系膜基质轻度或局灶增加,肾间质有炎症细胞浸润;8周DM组肾小球明显增大,肾小球系膜细胞增生,系膜基质中或重度增加,基底膜增厚明显;部分肾小管上皮细胞空泡变性,肾间质伴有炎性细胞浸润;LEF组较DM组上述病变有不同程度的改善。图像分析显示DM组大鼠MGA及MGV较对照组明显增大,LEF组较DM组明显减轻,来氟米特可减轻糖尿病大鼠肾小球肥大,相关分析显示血清MBL1与MGA($r=0.846$,$P<0.01$)、MGV($r=0.849$,$P<0.01$),提示糖尿病大鼠血清MBL1与MGA、MGV呈显著正相关,血清MBL1升高与糖尿病大鼠肾组织损伤有关。结果见表2及图1。

2.3 3组大鼠肾组织MBL1免疫组化观察

MBL1在大鼠肾组织主要表达于肾小球,对照组肾组织仅有部分肾小球和肾小管表达极弱的MBL1,DM组肾小球和肾小管MBL1表达明显高于对照组,LEF组肾小球及肾小管区MBL1表达与DM组相比明显减弱($P<0.01$)。相关性分析显示:肾组织MBL1检测灰度值与24 h尿蛋白($r=-0.838$,$P<0.01$)、血清肌酐($r=-0.839$,$P<0.01$)、尿素氮($r=-0.709$,$P<0.01$)、肾质量指数($r=-0.808$,$P<0.01$)、MGA($r=-0.809$,$P<0.01$)、MGV($r=-0.807$,$P<0.01$),肾组织MBL1检测灰度值与血清肌酐、尿素氮、24 h尿蛋白、肾质量指数、MGA、MGV呈显著负相关,灰度值数值越小,表示染色越深,阳性强度越高,提示肾组织MBL1表达与血清肌酐、尿素氮、24 h尿蛋白、肾质量指数、MGA、MGV呈正相关性。结果见表2及图2。

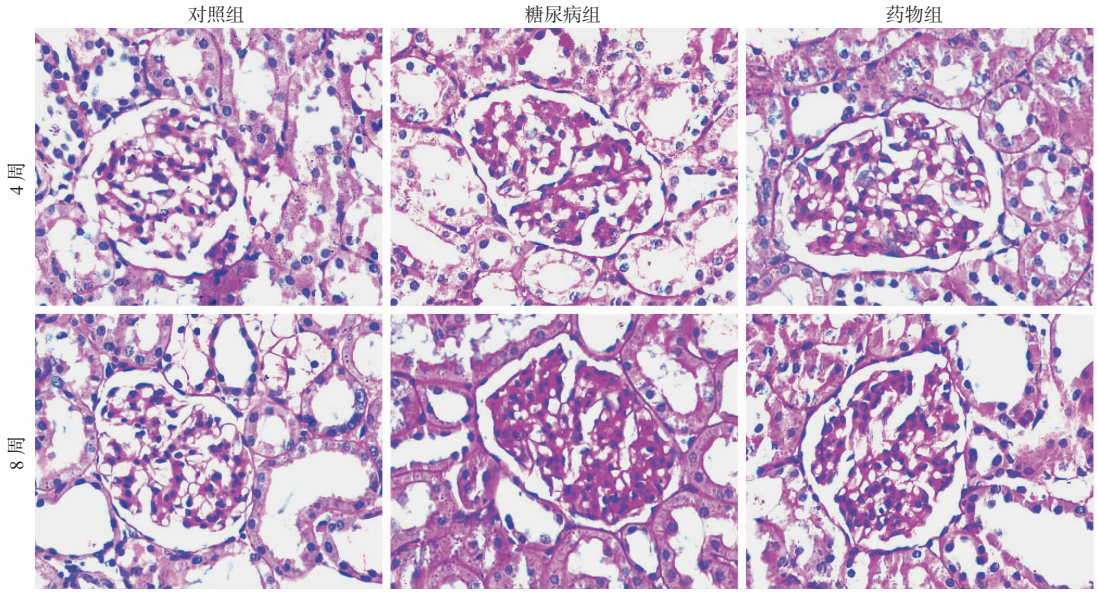


图 1　3 组大鼠 4、8 周肾脏病理组织学变化　（PAS ×400）

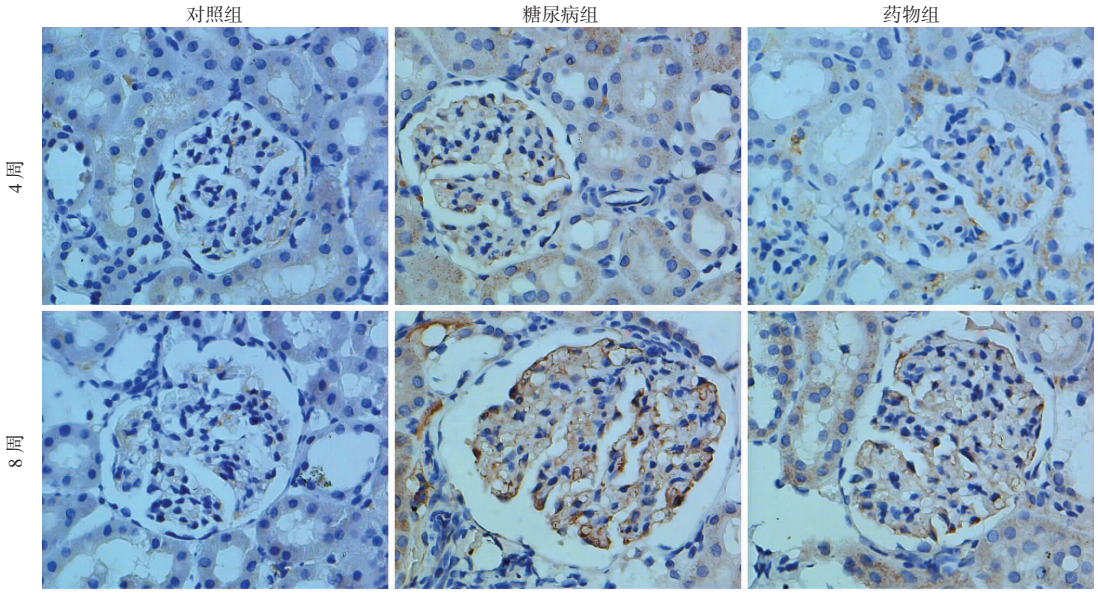


图 2　免疫组化检测 3 组大鼠 4、8 周肾组织 MBL1 的表达　（S-P ×400）

表 2　3 组大鼠肾质量指数、MGA、MGV 及免疫组化结果比较（$n=8, \bar{x} \pm s$）

指标	4 周	8 周
肾质量指数（$\times 10^{-3}$）		
对照组	3.70 ± 0.18	3.73 ± 0.25
糖尿病组	5.60 ± 0.64[a]	6.78 ± 0.94[a]
药物组	4.59 ± 0.28[ab]	5.66 ± 0.42[ab]
MGA（$\times 10^3 \mu m^2$）		
对照组	4.888 ± 0.529	5.664 ± 0.332
糖尿病组	7.385 ± 0.374[a]	8.516 ± 0.812[a]
药物组	5.934 ± 0.369[ab]	7.051 ± 0.619[ab]
MGV（$\times 10^5 \mu m^3$）		
对照组	4.289 ± 0.685	5.335 ± 0.470
糖尿病组	7.941 ± 0.602[a]	9.854 ± 1.396[a]
药物组	5.721 ± 0.535[ab]	7.421 ± 0.970[ab]
MBL1 灰度值		
对照组	168.48 ± 4.32	167.29 ± 3.57
糖尿病组	149.61 ± 4.42[a]	145.69 ± 4.22[a]
药物组	161.12 ± 3.98[ab]	156.82 ± 3.32[ab]

a：$P<0.01$，与对照组比较；b：$P<0.01$，与糖尿病组比较

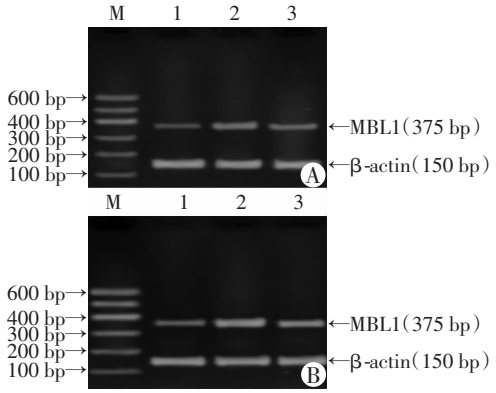
2.4　3 组大鼠肾组织 MBL1 mRNA 及蛋白表达

半定量 RT-PCR（图 3）及 Western blot（图 4）检测结果显示，MBL1 mRNA 及蛋白在 3 组大鼠肾组织中均有表达。各组表达量随时间延长有不同程度的增加，糖尿病组及药物组均较对照组明显增加（$P<0.01$），药物组较糖尿病组减少（$P<0.01$，表 3）。

表 3　各组肾组织 MBL1 mRNA 及蛋白表达（$n=3, \bar{x} \pm s$）

组别	MBL1 mRNA		MBL1 蛋白	
	4 周	8 周	4 周	8 周
对照组	0.217 ± 0.015	0.243 ± 0.018	0.193 ± 0.023	0.250 ± 0.012
糖尿病组	0.426 ± 0.009[a]	0.564 ± 0.034[a]	0.435 ± 0.021[a]	0.604 ± 0.031[a]
药物组	0.322 ± 0.027[ab]	0.458 ± 0.014[ab]	0.321 ± 0.023[ab]	0.487 ± 0.020[ab]

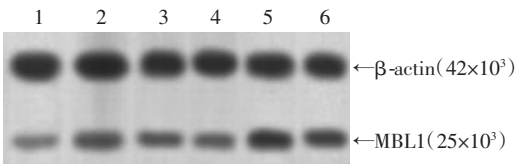
a：$P<0.01$，与对照组比较；b：$P<0.01$，与糖尿病组比较



M:标准;1:对照组;2:糖尿病组;3:药物组

A:4周;B:8周

图3 4、8周末3组大鼠肾组织MBL1 mRNA表达



1:对照组4周;2:糖尿病组4周;3:药物组4周;4:对照组8周;5:糖尿病组8周;6:药物组8周

图4 Western blot检测4、8周3组大鼠肾组织MBL1蛋白表达

3 讨论

MBL主要由单核细胞和肝脏产生,具有典型的可溶性胶原凝集素结构,能够激活补体系统。现已证实凝集素补体激活途径具有以下4种功能:激活补体、调节炎症反应、促进调理吞噬及促进凋亡[7],而MBL是补体激活凝集素途径的始动因子。近年研究发现MBL途径补体激活可能与糖尿病肾病的发生及进展密切相关;高糖可以诱导人肾小球内皮细胞炎症因子高表达,高糖和MBL共存时可促进凝集素补体途径激活,并对DN的炎症状态具有促进作用[8]。高糖和MBL可能通过激活凝集素补体途径使人肾小球内皮细胞TGF-β1核酸表达及蛋白释放增加,并导致细胞内核因子-κB(nuclear factor-κB,NF-κB)活性明显增强;抗MBL干预可阻断凝集素补体途径激活,下调TGF-β1核酸及蛋白表达,抑制NF-κB激活[9]。本实验通过STZ腹腔注射复制糖尿病肾病模型,糖尿病大鼠4、8周血糖、24 h尿蛋白、血肌酐、尿素氮、肾质量指数明显升高,平均肾小球面积及平均体积均显著增加,与正常对照组比较,DN大鼠血清MBL1升高,肾组织MBL1表达增加,随时间点延长继续增高,相关性分析显示,血清MBL1及肾组织MBL1表达与24 h尿蛋白、血肌酐、肾质量指数成正相关及肾小球病理改变一致。研究提示,MBL1在早期糖尿病大鼠肾脏中表达上调,以肾小球表达上调为主,并随病程延长逐渐增强,糖尿病肾脏病理改变与其表达变化相关,提示在DN发病中可能通过MBL补体激活途径,引起肾组织病理改变及损伤,随着时间推移其损伤程度加重,MBL1促进糖尿病肾病的发展。

随着对糖尿病肾病发病机制的深入研究,发现免疫反应和炎症反应在糖尿病肾病发病和进展中的重要作用,为免疫抑制剂及抗感染治疗在糖尿病肾病中的运用提供了理论基础。来氟米特是一个具有抗增殖活性的异噁唑类免疫抑制剂,能够抑制T、B细胞及非免疫细胞活化,现临床上已广泛用于难治性肾病综合征、IgA肾病、狼疮性肾炎、乙肝相关性肾炎、紫癜性肾炎等治疗,取得较好的疗效。我们前期研究及大量动物实验证实,来氟米特对糖尿病肾病具有保护作用,与其通过抑制MCP-1、肿瘤坏死因子-α、NF-κB、TGF-β1、P选择素、结缔组织生长因子、VEGF、细胞间黏附分子减轻炎症反应,增加nephrin、podocin蛋白表达等有关[10-11]。魏玮等[12]应用来氟米特治疗Ⅳ糖尿病肾病患者,蛋白尿及肌酐清除率明显改善,来氟米特治疗糖尿病肾病安全有效。本试验采用来氟米特对糖尿病大鼠进行干预,使用来氟米特4、8周实验组大鼠血清MBL1及肾组织中MBL1表达明显减少,大鼠肾质量指数、平均肾小球横截面积及体积、24 h尿蛋白均明显降低,与糖尿病组比较具有显著统计学差异。提示,来氟米特可通过抑制糖尿病大鼠血清及肾组织MBL1表达,减轻炎症反应,保护肾脏。

综上所述,MBL激活补体途径在糖尿病肾病的发生和发展过程中起着重要的作用,来氟米特对DM大鼠肾脏有保护作用,部分保护作用与抑制MBL补体激活途径,减轻炎症反有关。

参考文献:

[1] 毛春谱, 李小毅, 李伟. 参芪降糖颗粒对早期糖尿病肾病患者血清TGF-β1、VEGF的影响[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(13): 1475-1476.

[2] Hansen T K, Forsblom C, Saraheimo M, *et al*. Association between mannose-binding lectin, high-sensitivity C-reactive protein and the progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetes[J]. Diabetologia, 2010, 53(7): 1517-1524.

[3] 丛林, 严小艳, 祝艺虹, 等. 妊娠期糖尿病孕妇血清甘露糖结合凝集素水平和胰岛素抵抗的关系[J]. 中华围产医学杂志, 2009, 12(6): 458-459.

[4] Strack C, Baessler A, Wagner F, *et al*. Mannose-binding lectin in obesity with different degrees of metabolic syndrome abnormalities: association with atherogenic and metabolic traits[J]. J Atheroscler Thromb, 2012, 19(6): 539-551.

[5] Elawa G, AoudAllah A M, Hasaneen A E, *et al*. The predictive value of serum mannan-binding lectin levels for diabetic control and renal complications in type 2 diabetic patients[J]. Saudi Med J, 2011, 32

(8): 784 – 790.
[6] 王国贤, 康雅萍, 李飞. α-硫辛酸对糖尿病肾病模型大鼠肾组织转化生长因子-β1 和结缔组织生长因子表达的影响[J]. 江苏大学学报: 医学版, 2012, 22(5): 378 – 381, 386.
[7] Turner M W. The role of mannose-binding lectin in health and disease [J]. Mol Immunol, 2003, 40(7): 423 – 429.
[8] 武晓慧, 宁晓霞, 杨慧宇. 高糖和 MBL 对体外培养的人肾小球内皮细胞表达 IL-18 的影响[J]. 西部医学, 2012, 24(8): 1452 – 1454, 1459.
[9] 邱红渝, 樊文星, 左川, 等. 高糖和甘露聚糖结合凝集素激活补体途径对人肾小球内皮细胞 TGF-β1 表达及 NF-κB 活性的影响[J]. 四川大学学报: 医学版, 2011, 42(5): 604 – 609.
[10] 陈卫东, 常保超, 杨萍, 等. 来氟米特对糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(21): 3580 – 3582.
[11] Yu W M, Wang H, Ren X J, *et al*. Experimental study of leflunomide on renal protective effect and on inflammatory response of streptozotocin induced diabetic rats[J]. Nephrology (Carlton), 2012, 17(4): 380 – 389.
[12] 魏玮, 王慧敏. 来氟米特治疗Ⅳ期糖尿病肾病的效果观察[J]. 中国综合临床, 2013, 29(11): 1199 – 1202.

(**收稿**: 2013-11-05; **修回**: 2013-12-03)
(编辑　龙　亮)

文章编号:1000-5404(2014)13-1407-01

个案与短篇

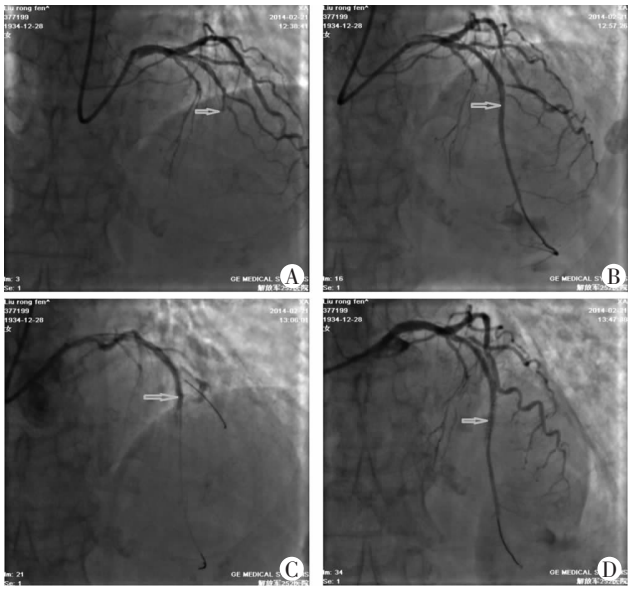
应用带膜支架抢救冠状动脉穿孔成功 1 例

田　攀,张　杨,张　刚,刘红涛,曹雪滨　(071000 河北 保定,解放军第 252 医院心血管病中心)

[**关键词**] 冠状动脉穿孔;带膜支架
[**中图法分类号**] R654.2　[**文献标志码**] B

1　临床资料

患者,女性,80 岁,主因"间断胸痛 9 h"于 2014 年 2 月 21 日入院。急诊心电图示:窦性心律,急性前壁心肌梗死,化验心梗 3 项:肌钙蛋白定量 16 ng/mL、肌红蛋白测定 74.98 ng/mL、肌酸激酶同工酶 256 U/L。既往慢性胃炎病史数年,间断返酸、烧心,无黑便史。诊断:①冠心病,急性前壁心肌梗死 Killip Ⅰ级;②慢性胃炎。患者急性心肌梗死诊断明确,入院后仍有胸痛症状,可选择静脉溶栓或急诊冠状动脉(冠脉)造影术检查,但患者年龄高于 75 岁,为溶栓禁忌证,存在较高出血风险。经家属要求行急诊冠脉造影术检查。给予阿司匹林 0.3 g、硫酸氢氯吡格雷 600 mg、阿托伐他汀钙片 80 mg 口服,质子泵抑制剂静滴。完善术前准备,冠脉造影示:冠脉呈右优势型,左主干无明显狭窄,前降支近段弥漫斑块,中段弥漫不规则狭窄 80%,第 3 对角支发出以远 100% 闭塞,血流 TIMI 0 级(图 1A)。第 2 对角支开口狭窄 50%,血流 TIMI 3 级。回旋支起始部局限狭窄 60% ~70%,血流 TIMI 3 级。右冠近段弥漫不规则斑块,血流 TIMI 3 级。行前降支血栓抽吸,于前降支植入 2.5 mm×36 mm Excel 雷帕霉素洗脱支架。因支架中段残余狭窄较重(图 1B),行支架内后扩张后出现冠脉穿孔(图 1C),立即再次植入 3.0 mm×19 mm 带膜支架覆盖穿孔处。造影示支架内无造影剂外漏,无夹层,血流 TIMI 3 级(图 1D)。患者出现呼吸减慢,血压下降,心电监护反复出现室速、室颤,反复给予电复律后转为窦性心律,同时给予静推多巴胺,静脉泵入多巴胺、气管插管、呼吸机辅助呼吸。给予心包穿刺,抽出约 100 mL 不凝血。患者在大剂量升压药物下血压不能维持,经主动脉内球囊反搏术(intra-aortic balloon counterpulsation, IABP)辅助治疗后患者血压逐渐稳定,术后积极控制感染、预防心力衰竭。术后查床旁心脏彩超示:节段性室壁运动异常(前壁)、未见心包积液。术后患者病情平稳出院。



A:前降支自第 3 对角支发出以远 100% 闭塞(↑),血流 TIMI 0 级;B:前降支植入支架,支架中段残余狭窄较重(↑);C:前降支支架中段狭窄处扩张后出现冠脉穿孔(↑),造影剂经破口喷射样外泄;D:应用带膜支架覆盖穿孔处(↑),支架内无造影剂外漏,无夹层

图 1　冠状动脉穿孔患者冠状动脉造影表现

2　讨论

冠脉穿孔是经皮冠状动脉内支架植入术(percutaneous coronary intervention, PCI)少见而严重并发症,穿孔后急性心包填

(下转 1412 页)

[**通信作者**] 曹雪滨, E-mail: hebeishuangli@126.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140528.1540.002.html(2014-05-28)