DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.15.005
第26卷第15期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 15
1336 2004年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2004

文章编号:1000-5404(2004)15-1336-03

论著

血管紧张素-(1-7)对二肾一夹高血压大鼠肾纤维化和功能的影响

叶自林[1],何作云[2] (第三军医大学新桥医院:[1]肾内科,全军肾脏病中心,重庆市肾病研究所,[2]心血管内科,全军心血管内科中心,重庆 400037)

提 要:目的 观察血管紧张素-(1-7)[angiotensin-(1-7),Ang-(1-7)]对二肾一夹(two-kidney, one clip hypertension, 2K1C)高血压大鼠肾脏结构和功能的影响。方法 采用微渗泵植入技术,复制Ang-(1-7)对高血压大鼠干预模型,光镜下观察肾脏病理变化;考马斯亮蓝法测定尿蛋白,全自动生化分析仪测定血肌酐、尿素氮。结果 Ang-(1-7)干预28 d后,2K1C高血压大鼠肾纤维化明显减轻(光镜),尿蛋白(g/L)显著减少(0.263±0.172 *vs* 0.579±0.158, $P<0.01$),对血肌酐(52.9±19.8 *vs* 53.579±24.3, $P>0.05$)、尿素氮(4.4±2.6 *vs* 4.2±1.8, $P>0.05$)无显著影响。结论 Ang-(1-7)对2K1C高血压大鼠肾纤维化具有一定保护作用,并减轻蛋白尿。

关键词:血管紧张素-(1-7);高血压;肾脏;尿蛋白;纤维化
中图法分类号:R322.61;R544.14;R977.6 文献标识码:A

Effects of Ang-(1-7) on renal fibrosis and urine protein in 2K1C hypertensive rats

YE Zi-lin, HE Zuo-yun (Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of angiotensin-(1-7) [Ang-(1-7)] on renal fibrosis and urine protein in rats with two-kidney, one clip hypertension (2K1C). **Methods** The hypertensive rat model of Ang-(1-7) intervention was establish using the technique of micro-osmotic pump. The changes of renal fibrosis were observed by light microscopy and urine protein was detected by Coomassie brilliant blue staining. The serum creatinine (Scr) and the blood urea nitrogen (BUN) were detected by the automatic biochemical analyzer. **Results** At 28 d after Ang-(1-7) intervention, the hypertension-induced renal fibrosis and urine protein [(0.263±0.172) *vs* (0.579±0.158), $P<0.01$] were significantly reduced, but no change was found in Scr [(52.9±19.8) *vs* (53.579±24.3), $P>0.05$] and BUN [(4.4±2.6) *vs* (4.2±1.8), $P>0.05$]. **Conclusion** Ang-(1-7) can exert certain protective effect on renal fibrosis in 2K1C hypertensive rats, and can attenuate proteinuria.

Key words: Ang-(1-7); hypertension; kidney; urine protein; fibrosis

Angiotensin-(1-7) [Ang-(1-7)]是近年来发现的有生物学活性的肾素-血管紧张素系统(RAS)新成员,具有扩张血管、降低血压、利尿、利钠、调节水、盐、电解质平衡,以及抗增殖作用[1~3]。本研究采用微渗泵植入技术,在体观察Ang(1-7)干预28 d对二肾一夹(two-kidney, one clip, 2K1C)高血压大鼠肾脏结构和功能的影响。

1 材料和方法

1.1 动物模型的制备及分组

1.1.1 动物分组 选用20周左右雄性Wistar大鼠78只(由第三军医大学实验动物中心提供),体质量180~220 g,按随机单位组设计法分为以下6组(每组13只):A1组:假手术组,术后第14天处死;A2组:假手术组,术后第42天处死;B1组:2K1C术后14 d处死;B2组:2K1C术后42 d处死;C1组:2K1C手术同时植入微渗泵,术后14 d处死[Ang(1-7)干预14 d];C2组:2K1C手术后14 d植入微渗泵,术后42 d处死[Ang(1-7)干预28 d]。

1.1.2 动物模型制备

1.1.2.1 2K1C高血压模型建立[4] 大鼠经3%戊巴比妥钠(30 mg/kg,腹腔注射)麻醉成功后,打开腹腔,游离左肾动脉并且用0.25 mm银夹缩窄,右肾不触及。假手术组不用银夹缩窄肾动脉。

1.1.2.2 Ang(1-7)对2K1C高血压大鼠干预模型制备 参照Tu[5]的方法植入微渗泵。将Ang-(1-7)(Sigma公司,美国)装入微渗泵内(1003D型及ZML4型,美国Alza公司),动物麻醉成功后,将微渗泵埋入肩胛骨皮下,以24 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$速度释放Ang-(1-7)入体内。

1.2 检测指标

1.2.1 肾脏病理观察 石蜡切片,按苏木精-伊红(HE)染色程

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30100069)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30100069)
作者简介:叶自林(1965-),男,湖北省蕲春县人,博士,主治医师,讲师,主要从事肾小球发病机制方面的研究。电话:(023)68755290
通信作者:何作云,电话:(023)68755593
收稿日期:2004-01-11;修回日期:2004-05-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

序染色, 光镜下观察肾小球、肾小管、肾间质、肾血管结构变化。

1.2.2　血肌酐(serum creatinine, Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)测定　　血清标本在日立 7150 全自动生化分析仪上测定。

1.2.3　尿蛋白测定　　采用考马斯亮蓝法, 在 722 分光光度计(上海医学仪器厂)上测定。

1.3　统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用 SPSS10.0 软件行方差分析及均数间多重比较。

2　结果

2.1　肾脏病理改变

2K1C 术后 14 d, 可见肾小球旁器细胞增生活跃, 部分肾小球肥大、系膜区增宽, 42 d 时上述病变加重, 可见系膜基质增多, 系膜区内细胞增生活跃, 并可见节段性肾小球硬化。球囊壁增厚、玻璃样变性, 入球小动脉壁增厚, 间质血管壁增厚、葱皮样变、管腔狭窄, 肾小管萎缩扩张不一, 肾间质可见灶性淋巴细胞浸润, 间质纤维明显增生(图 1)。Ang(1-7)干预 14 d, 偶见肾小球轻度肥大、系膜区未见增宽, 肾小球囊宽度正常, 致密斑稍增大。干预 28 d, 可见部分肾小球肥大, 系膜区增宽, 系膜基质增多, 系膜区内细胞增生, 肾血管及肾间质病变明显较轻(图 2)。

2.2　Ang-(1-7)对 2K1C 高血压大鼠血肌酐、尿素氮的影响(表 1)

统计显示, 干预时间及不同指标值之间均无显著差异。

2.3　Ang-(1-7)对 2K1C 高血压大鼠尿蛋白的影响(表 2)

2K1C 术后 21 d 的尿蛋白较假手术组无显著差异($P>0.05$), 第 28 天有显著升高($P<0.05$), 直到第 35、42 天有非常显著升高($P<0.01$)。Ang-(1-7)干预 35 d 尿蛋白显著降低($P<0.05$), 第 35、42 天有非常显著降低($P<0.01$)。

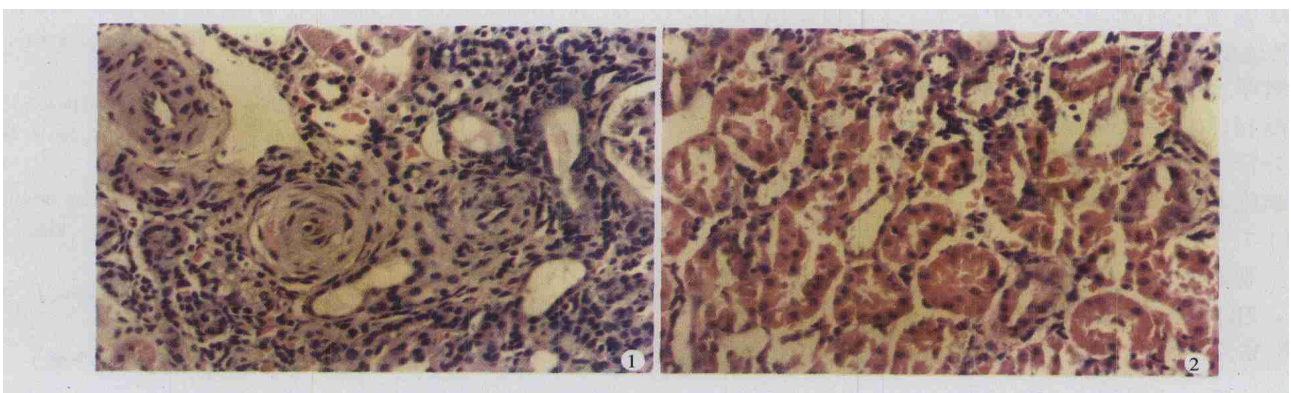


图 1　2K1C 术后 42 d 间质血管壁增厚、肾间质可见灶性淋巴细胞浸润, 间质纤维明显增生　(HE×200)

Fig 1　Thickening and occlusion of blood vessels, focal lymphocytic infiltration and interstitial fibers proliferation in renal stoma at 42 d after 2K1C　(HE×200)

图 2　Ang(1-7)干预 28 d, 肾间质可见少量淋巴细胞浸润　(HE×200)

Fig 2　A few infiltration of lymphocytes in renal stoma at 28 d after Ang (1-7) intervention　(HE×200)

表 1　Ang-(1-7)对 2K1C 高血压大鼠血肌酐、尿素氮的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Tab 1　Effects of Ang-(1-7) on serum creatinine and blood urea nitrogen in 2K1C rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

	A_1	B_1	C_1	F	P	A_2	B_2	C_2	F	P
BUN (mmol/l)	4.1±2.4	4.3±1.6	4.1±2.3	0.023	0.977	4.2±1.7	4.2±1.8	4.4±2.6	0.025	0.976
SCr (μmol/l)	54.7±23.6	51.8±16.4	53.2±18.4	0.043	0.958	52.8±21.7	53.6±24.3	52.9±19.8	0.003	0.997

表 2　Ang-(1-7)对 2K1C 高血压大鼠尿蛋白(g/L)的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Tab 2　Effects of Ang-(1-7) on urine protein in 2K1C rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Group	A_1	B_1	C_1	A_2	B_2	C_2
0 d	0.123±0.081	0.106±0.055	0.114±0.042	0.108±0.063	0.111±0.072	0.122±0.093
7 d	0.109±0.090	0.108±0.08	0.121±0.035	0.113±0.045	0.116±0.068	0.113±0.065
14 d	0.112±0.046	0.115±0.064	0.113±0.081	0.112±0.062	0.127±0.091	0.128±0.048
21 d	…	…	…	0.115±0.091	0.134±0.072	0.125±0.061
28 d	…	…	…	0.126±0.067 *	0.242±0.117	0.136±0.066
35 d	…	…	…	0.109±0.083 **	0.412±0.166	0.177±0.135 **
42 d	…	…	…	0.117±0.064 **	0.579±0.158	0.263±0.172 **

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* B_2

3　讨论

尿蛋白增加是肾脏结构破坏的结果, 同时尿蛋白也是加重高血压肾损害的重要因素[6]。尿蛋白本身就是肾病恶化、进展的独立因素之一。出现蛋白尿肾病模型的肾小球中, 发现有 LDL 和 VLDL 的载脂蛋白 B

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

以及载脂蛋白A沉积，LDL可导致系膜细胞增生，并促进ECM合成，诱导MCP-1及PDGF的生成[7]。蛋白可导致肾小管细胞释放PDGF、MCP-1，FN明显增多，参与肾纤维化进展。尿蛋白导致肾小管蛋白代谢增强，继之氨的生成增加，可导致补体激活并最终导致肾组织炎症及疤痕化；另外，蛋白尿可引起肾小管间质缺氧加重[8]。总之，尿蛋白加重肾组织纤维化与以下有关：①尿蛋白对肾小球系膜细胞和肾小管上皮细胞的直接毒性；②尿蛋白本身或通过诱导巨噬细胞和肾小管上皮细胞产生趋化物质，使炎症细胞浸润，继发肾组织损伤；③尿蛋白刺激系膜细胞及肾小管上皮细胞产生多种细胞因子，促进ECM合成，并使ECM大量沉积，导致肾纤维化。实验显示：2K1C术后14 d，可见肾小球旁器细胞增生活跃，部分肾小球肥大、系膜区增宽，42 d时上述病变加重，球囊壁增厚、玻璃样变性，间质血管壁增厚、葱皮样变、管腔狭窄，肾间质可见灶性淋巴细胞浸润，间质纤维明显增生。Ang(1-7)干预28 d，可见部分肾小球肥大，系膜区增宽，系膜基质增多，系膜区内细胞增生，肾血管及肾间质病变明显较轻。说明Ang-(1-7)对2K1C高血压大鼠肾纤维化具有一定保护作用。观察期间，Ang-(1-7)对血肌酐、尿素氮无显著影响。2K1C第28天的尿蛋白较假手术组有显著升高，第35、42天有非常显著升高，Ang-(1-7)干预28 d后，尿蛋白显著减少，说明Ang-(1-7)能减轻蛋白尿。

参考文献：

[1] Oliveira M A, Carvalho M H, Nigro D, *et al*. Elevated glucose blocks angiotensin-(1-7) and bradykinin interaction: the role of cyclooxygenase products[J]. Peptides, 2003, 24(3): 449-454.

[2] Carey R M, Siragy H M. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation [J]. Endocr Rev, 2003, 24(3): 261-271.

[3] Collister J P, Hendel M D. The role of Ang (1-7) in mediating the chronic hypotensive effects of losartan in normal rats[J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2003, 4(3): 176-179.

[4] Wilcox C S, Cardozo J, Welch W J. AT1 and TXA2/PGH2 recepters maintain hypertension throughout 2K, 1C Goldblatt hypertension in the rat[J]. Am J Physiol, 1996, 271(4 Pt 2): R891-R896.

[5] Tu Y, Stepkowski S M, Chou T C, *et al*. The synergistic effects of cyclosproine, sirolimus, and brequinar on heart allograft survival in mice[J]. Transplantation, 1995, 59(2): 177-183.

[6] Anonymous. Summaries for patients. Blood pressure and urine protein levels with the least risk for worsening kidney disease[J]. Ann Intern Med, 2003, 139(4): I36.

[7] Wheeler D C, Chana R S, Topley N, *et al*. Oxidation of low density lipoprotein by mesangial cells may promote glomerular injury[J]. Kidney Int, 1994, 45(6): 1628-1636.

[8] Schreiner G F. Renal toxicity of albumin and other lipoproteins[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 1995, 4(4): 369-373.

（编辑 刘洪娥）

（上接1329页）

3 讨论

本研究结果显示BMI与心血管各危险因素中TG、HDL-C存在显著相关关系，随着BMI升高，TG逐渐升高，HDL-C逐渐下降，而LDL-C虽有增高趋势，但组间差异并无统计学意义。此与文献[1]报道的结果相一致。其产生的血脂异常的主要原因可能是由于肥胖引起胰岛素抵抗(IR)，而导致脂肪和肌肉组织中的脂蛋白酯酶(LPL)活性降低，极低密度脂蛋白(VLDL)和TG分解受阻；也有研究表明肥胖者TG升高及HDL-C下降与*Hind*Ⅲ基因多态性有关[2]，与Leptin抵抗有关[2]。值得一提的是，本研究表明Ⅰ度肥胖与Ⅱ度肥胖患者间HDL-C虽有下降趋势，并无显著性差异，此可能与本调查样本量小，或许两组间反映体脂分布的腰围不同有关。

本研究调查了不同的BMI间糖耐量异常患病情况，表明IGT、DM患病率随BMI的增加而增加，而且DM患病率随肥胖程度的加重而增加，与国外文献[3]报道相似，流行病学调查也显示，体质量增加与患2型DM的危险性增加密切相关。仅管DM的发病与遗传和环境因素有关，机制尚未完全阐明，但越来越多的资料显示肥胖已是其独立的危险因素，其可能机制：由于体脂堆积造成胰岛素抵抗、高胰岛素血症，肌肉及其它组织对葡萄糖的利用降低，同时脂毒性及糖毒性也可影响β细胞功能，造成胰岛素分泌功能障碍，最后发展为糖尿病；有人认为TG的升高及游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)摄取和氧化的增加是肥胖发展为2型DM的重要原因之一[3]；甚至有人认为FFA升高是2型DM发病的独立危险因素[4]，而事实上肥胖者大多伴有FFA及TG的升高。

近年来，随着生活方式的转变，肥胖正在国人中流行。因此积极有效的控制肥胖，减少心血管危险因素的聚集，是预防心血管事件的重要措施。

关键词：肥胖；血脂异常；血糖异常
中图法分类号：R589.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] 张兆鹏，刘 娜. 体重指数与胰岛素抵抗及血脂异常的关系[J]. 实用糖尿病杂志，2001，9(4)：17-18.

[2] 汪恕萍，周 波. 肥胖与相关疾病的危害及其后果的评估与探讨[J]. 实用糖尿病杂志，2001，9(2)：8-9.

[3] 田浩明. 游离脂肪酸与肥胖和糖尿病[J]. 实用糖尿病杂志，2000，2(2)：8.

[4] 杨文英. 2型糖尿病一种糖脂代谢病[J]？国外医学内分泌分册，2001，21(6)：284-285.

（编辑 汪勤俭）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net