DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.08.018

论著

文章编号:1000-5404(2002)08-0916-03

血管紧张素Ⅱ一型受体拮抗剂对大鼠系膜增生性肾炎干预效果的实验研究

余荣杰,杨惠标,赵景宏 (第三军医大学附属新桥医院肾内科,重庆 400037)

提 要:目的 观察血管紧张素一型受体拮抗剂缬沙坦对大鼠系膜增生性肾炎病理及相关临床指标的干预作用。方法 采用大鼠Thy-1肾炎模型,将肾炎大鼠分为Thy-1肾炎组及缬沙坦治疗组。检测两组疾病诱导后第1、3、5、7天平均动脉血压、24 h尿蛋白排泄量、血浆肌酐及尿素氮,并取肾脏行光镜及电镜检查,免疫组化检测肾小球内PCNA蛋白表达。同时设正常对照。结果 同肾炎组比较,缬沙坦治疗组第3~7天24 h尿蛋白排泄量减少($P<0.05$),肾小球有核细胞增多程度下降($P<0.05$),系膜细胞增生减少,系膜区扩张也减少($P<0.05$),肾小球内PCNA阳性核减少($P<0.05$)。平均动脉血压、血浆肌酐及尿素氮较正常对照无显著差异。结论 对大鼠系膜增殖性肾炎,缬沙坦能一定程度抑制系膜增生,减轻肾小球病理损伤,降低蛋白尿。

关键词:系膜增生性肾小球肾炎;系膜细胞;血管紧张素一型受体拮抗剂;蛋白尿
中图法分类号:R392.11;R692.31;R977.6 文献标识码:A

Intervention of Angiotensin II receptor antagonist valsartan on mesangial proliferative glomerulonephritis in rats

YU Rong-jie, YANG Hui-biao, ZHAO Jing-hong (Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To evaluate the intervention effects of valsartan, specific antagonist of angiotensin II receptors on the kidney of rat with Thy1 glomerulonephritis. Methods The Thy1 glomerulonephritic rats were treated with valsartan. Mean arterial blood pressure, 24 hour urine protein excretion, serum creatinine and blood urea nitrogen as well as renal morphological lesions were observed day 1, 3, 5, and 7 of Thy1 nephritis, meanwhile PCNA expression in glomerulus was measured with immuohistochemistry. A normal control group and untreated Thy1 nephritic group were also studied. Results In valsartan-treated nephritic rats, the proteinuria, glomerular hypercellularity, mesangial matrix expansion and PCNA expression were significantly reduced when compared with the untreated rats from day 3 to 7 of Thy1 nephritis($P<0.05$). While no change was noted in mean arterial pressure, serum creatinine and blood urea nitrogen in all rats. Conclusion Valsartan partly reduces the urine protein excretion and inhibits the proliferation of mesangial cells in normotensive rats with Thy1 nephritis, and therefore ameliorates the glomerular morphological lesions in nephritic rats.

Key words: mesangial proliferative glomerulonephritis; mesangial cells; angiotensin 1 type receptor antagonist; proteinuria

血管紧张素Ⅱ(Angiotensin II, Ang Ⅱ)在很多肾脏病的发生发展中起重要作用[1]。血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)降尿蛋白的肾脏保护作用已为一系列临床及实验研究所证实。Ang Ⅱ受体拮抗剂可在受体水平阻断Ang Ⅱ的作用,但是否具有肾脏保护作用目前报道甚少。本实验通过观察Ang Ⅱ一型受体拮抗剂缬沙坦对大鼠Thy1肾炎的干预效果,旨在为临床上应用Ang Ⅱ受体拮抗剂治疗系膜增殖性肾炎提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

成年雄性Wistar大鼠54只,体重150~200 g,随机分为三大组:①正常对照组(C组,$n=6$);②Thy1肾炎组(A组,$n=24$):尾静脉注射兔抗大鼠胸腺细胞血清(ATS)0.5 ml/kg体重[2];③Thy1肾炎加缬沙坦组(AV组,$n=24$):尾静脉注射抗血清后即刻予缬沙坦溶液(缬沙坦+大鼠饮用水,500 mg/L[3],缬沙坦由北京诺华制药有限公司提供)自由饮用。其中A组及AV组分别设第1、3、5、7 d四个时间点,各6只。动物于处死前24 h分别置代谢笼收集24 h尿,处死前测鼠尾血压,收集血标本,取肾脏供肾脏病理及免疫组化。

作者简介:余荣杰(1968-),男,重庆江津市人,硕士研究生,主治医师,讲师,主要从事增殖性肾病研究,现在附属西南医院全军泌尿中心肾科工作。电话:(023)68754330

收稿日期:2001-09-10;修回日期:2002-03-04

1.2 观察指标

①24 h尿蛋白排泄量,采用双波长法测定;②血肌酐、尿素氮由日立7150型全自动生化分析仪测定;③鼠尾平均动脉压(MAP),由RBP-1型大鼠血压计测定;④肾脏病理:4 μm石蜡切片HE、PAS、PASM染色及透射电镜检查;对PAS染色切片进行肾小球有核细胞计数,对PASM染色切片采用点计数法计算系膜区占肾小球面积百分比,均随机取位于皮质区的20个肾小球计数并取其均值。⑤免疫组化:PCNA单克隆抗体(Calbiochem公司)。肾组织标本经升汞-苦味酸混合固定液固定,石蜡包埋,切片厚4 μm,采用SABC法,以PBS替代一抗作阴性对照染色,检测肾小球PCNA的表达。结果采用CMIAS医学图像分析系统进行半定量分析。

1.3 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用t检验。

2 结果

2.1 各组24 h尿蛋白、平均动脉压、血肌酐及尿素氮的变化

如表1所示,同正常对照C组比较,A组及AV组注射ATS后均出现不同程度蛋白尿($P<0.01$)。而AV组第3天及第5天尿蛋白较A组相应时间点明显下降($P<0.05$)。各组平均动脉压、血肌酐及血尿素氮无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 肾脏病理

光镜及透射电镜显示注射ATS后1 d,肾小球内出现系膜

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

溶解及炎细胞浸润, 有核细胞数减少, 少数肾小球内毛细血管扩张形成微动脉瘤, 其中充满血浆成分、红细胞及白细胞。注射 ATS 后 3～7 d, 系膜溶解征渐消退代之以系膜细胞增生, 肾小球内有核细胞数渐增多, 系膜基质积聚。缬沙坦治疗组第 3～7 天系膜细胞增生及系膜扩张程度较 A 组轻, 系膜修复时间缩短。见表 2。

表 1　各组各时间点尿蛋白、平均动脉压、血清肌酐及尿素氮比较 ($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Comparison of urine protein, mean arterial blood pressure, serum creatinine and urea nitrogen of rats ($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

	Urine protein (mg/24 h)	MAP (mmHg)	SCr (μmol/L)	BUN (mmol/L)
Control	4.14±1.32	81.38±8.20	59.4 ±14.09	8.95±2.40
A group				
Day 1	8.97±1.65△△	80.83±5.03	73.7 ±10.29	9.21±2.85
Day 3	23.91±1.04△△	84.72±4.75	69.8 ±21.85	9.63±2.56
Day 5	25.22±5.08△△	84.73±3.69	59.5 ±5.77	8.64±2.68
Day 7	21.76±4.13△△	85.85±5.04	64.62±22.24	9.47±4.09
AV group				
Day 1	9.23±2.26△△	84.17±6.56	66.44±8.93	8.59±1.86
Day 3	17.15±3.15△△*	79.98±6.16	70.12±5.56	9.34±2.42
Day 5	17.45±5.82△△*	83.58±11.13	81.22±19.72	9.71±2.93
Day 7	16.78±1.66△△*	83.9±8.21	66.04±5.38	9.29±1.84

△△: $P<0.01$ *vs* controls; *: $P<0.05$, *vs* A group

表 2　各组各时间点肾小球有核细胞计数、系膜区面积与肾小球面积百分比及肾小球 PCNA 阳性细胞计数 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Total cells numbers, proliferating cells and the percentage of msangium area per glomerular cross section ($\bar{x}\pm s$)

	Total cells/glomerular cross section	(Mesangium area/Glomerulus ares)×100%	PCNA+ cells per glomerular cross section
Control	55.8±10.7	11.52±1.74	0.48±0.22
A group			
Day 1	44.5±7.1	9.47±1.79	1.14±0.20**
Day 3	62.2±9.2	18.98±4.62**	5.06±1.26**
Day 5	82.0±5.9**	23.64±2.34**	11.19±2.96**
Day 7	79.7±7.2**	26.76±3.72**	9.79±1.75**
AV group			
Day 1	46.8±7.8	9.73±2.21	1.06±0.22**
Day 3	50.3±7.7△	14.06±1.59*△	3.61±0.66**△
Day 5	70.2±6.8*△△	17.84±2.31*△	8.32±1.00**△
Day 7	69.2±8.9*△	19.64±5.95*△△	7.69±1.29**△

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control; △: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* A group

2.3　免疫组化

在正常对照 C 组, 肾小球增生细胞核抗原 (PCNA) 表达量极少, 偶见 1～2 个阳性核。在 A 组及 AV 组肾小球内 PCNA 表达均逐渐增高, 以第 5～7 天最高。但 AV 组第 3、5、7 天时间点 PCNA 表达低于 A 组 ($P<0.05$), 见表 2。

3　讨论

肾脏具有独立的肾素-血管紧张素系统 (RAS), Ang Ⅱ是该系统中导致肾脏疾病持续发展的主要效应物质, 在很多肾脏病的发生发展中起重要作用, 包括肾脏生长因子样作用[1]。体外细胞培养表明, Ang Ⅱ可刺激肾小球系膜细胞增生及肾小管上皮细胞肥大, 还可刺激肾小球细胞外基质合成[4～5]。已有实验表明, ACEI 类药物除了对糖尿病肾病有肾脏保护作用外, 对免疫复合物性肾炎也有非降压依赖的肾脏保护作用[6]。近年随着 Ang Ⅱ一型受体拮抗剂 (AT_1RA) 的问世, 由于它能更有效地阻断 RAS, 人们自然提出 AT_1RA 是否具有同 ACEI 一样的或者更好的肾脏保护作用。对此已有明确的实验结果显示 AT_1RA 对糖尿病大鼠肾脏具有保护作用, 此类药物可降低糖尿病大鼠尿清蛋白、β_2-微球蛋白排泄率, 并阻遏早期肾小球肥大[7]。但是 AT_1RA 对系膜增殖性肾炎是否同样具有肾脏保护作用, 尚无文献报道。因此我们选择大鼠 Thy1 肾炎模型, 观察了非肽类血管紧张素Ⅱ一型受体 (AT_1) 拮抗剂缬沙坦对肾炎大鼠的作用。

大鼠 Thy1 肾炎是研究系膜增殖性肾炎的理想模型。系膜增殖性肾炎以肾小球系膜细胞增生及膜基质积聚为主要特点, 是人类原发性肾小球疾病的最常见病理类型, 晚期可发展成为肾功能衰竭, 严重威胁人类的健康。本实验通过予正常大鼠尾静脉注射抗大鼠胸腺细胞抗血清 (ATS), 临床指标及肾脏病理显示, 大鼠出现肾小球系膜溶解破坏, 继而系膜细胞增生, 系膜基质扩张, 并伴一定程度的蛋白尿, 表现为系膜增殖性肾炎, 说明本实验诱导的大鼠系膜增殖性肾炎模型是成功的[3]。

我们利用该模型观察到, 在缬沙坦治疗组蛋白尿减轻, 肾小球内有核细胞增多及系膜区扩张程度均较肾炎对照组明显改善, 肾小球内 PCNA 表达量也减少, 说明缬沙坦对大鼠 Thy1 肾炎有一定程度的治疗作用, 而且其治疗作用同缬沙坦抑制肾炎大鼠系膜细胞增生相关。虽然观察时间较短, 同正常对照组比较病变仍未能恢复正常, 但已显示了缬沙坦对肾炎大鼠有一定程度的治疗作用。另外实验中还观察到的一个现象, 即各组大鼠血压无显著差异, 说明实验中观察到的缬沙坦对大鼠 Thy-1 肾炎的治疗作用并非降压依赖性。缬沙坦的降压效应一般是在给药后 2 周后出现, 而本实验观察的时间仅 7 d, 在病理状态下肾组织局部 Ang Ⅱ的浓度是血浆中的 1000 倍[8], 所以它主要是通过阻断肾脏局部的 RAS 而发挥抗增生的肾脏保护作用。实验结果说明了阻断肾脏局部 RAS 的重要性。当然各种肾脏疾病的致病过程是多因素共同作用的结果, 本实验中缬沙坦未能使肾炎大鼠肾小球病损完全恢复正常也说明了此点。

资料表明, AT_1受体是 G 蛋白结合受体, 至少与两种 G 蛋白 (Gq 和 Gi) 偶联, AT_1受体与 Gq 结合后激活磷脂酶 C, 促进三磷酸肌醇和甘油二酯生成, 导致细胞内 Ca^{2+} 浓度增加和蛋白激酶 C 激活。缬沙坦抗增殖的肾脏保护作用机制可能与其阻断 AT_1受体后效应相关。

综上所述, 本实验观察到了 Ang Ⅱ一型受体拮抗剂缬沙坦对血压正常的 Thy1 肾炎大鼠有降尿蛋白作用。此肾脏保护作用可能通过阻断肾脏局部 Ang Ⅱ, 从而抑制肾小球系膜细胞增生、系膜基质扩张而实现。本研究结果为 Ang Ⅱ一型受体拮抗剂在系膜增殖性肾炎中的应用提供了一定的实验依据。

参考文献:

[1] Wolf G. Angiotensin Ⅱ: a pivotal factor in the progression of renal disease

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

[J]. Nephrol Dial Transplant, 1999, 14(suppl 1): 42—44.
[2] Ishizaki M, Masuda Y, Fukuda Y, *et al*. Experimental mesangioproliferative glomerulonephritis in rats induced by intravenous administration of anti-thymocyte serum[J]. Acta Pathol Jpln, 1986, 36(8): 1 191—1 203.
[3] Peters H, Wayne A, Border, *et al*. Targeting TGF-β overexpression in renal disease: Maximizing antifibrotic action of angiotensin Ⅱ blockade[J]. Kidney Int, 1998, 54(5): 1 570—1 580.
[4] Wolf G, Ziyadeh F N. Renal tubular hypertrophy induced by angiotensin Ⅱ [J]. Semin Nephrol, 1997, 17(5): 448—454.
[5] Wolf G, Haberstroh U, Neilson E G. Angiotensin Ⅱ stimulates the proliferation and biosynthesis of type I collagen in cultured murine mesangial cells[J]. Am J Pathol, 1992, 140(1): 95—107.
[6] Li J, Zhou G, Yu L, Wang H. Renal protective effects of blocking the intrarenal renin-angiotensin system[J]. Hypertens Res, 1999, 22(3): 223—228.
[7] Leehey D J, Singh A K, Alavi N, *et al*. Role of angiotensin Ⅱ in diabetic nephropathy[J]. Kidney Int, 2000, 58 (Suppl 77): 93—98.
[8] Seikaly M G, Arant B S, Seney F D. Endogenous angiotensin concentrations in specific intrarenal fluid compartments of the rat[J]. J Clin Invest, 1990, 86(4): 1 352—1 357.

（编辑 郭建秀）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)08-0918-01

1 例巨大胸腹囊肿切除术的麻醉处理

Anesthetic management in a case of resection of giant chest-abdominal cyst

钟河江，史 忠 （第三军医大学附属新桥医院麻醉科，重庆 400037）

腹部巨大囊肿合并胸部巨大囊肿的病例临床上较少见，其麻醉处理有特殊性。现将我科对 1 例巨大胸腺囊肿切除术的麻醉处理报告如下。

1 资料与方法

一般资料：患者男性，39 岁，体重 71.5kg，因发现腹部巨大包块 10 余年入院。查体见腹部膨隆成球形，直径为 30 cm×25 cm 大小，腹壁静脉无明显曲张。左肺呼吸音低，气管向右偏移。CT 示腹部巨大囊性占位，最大直径 29 cm×26 cm，胸片提示左胸腔巨大包块，胸部 B 超示左侧胸腔巨大囊性占位伴积液，最大直径为 15.0 cm×15.1 cm。心功能Ⅲ~Ⅳ级，肺功能受损。ASA Ⅳ级。各项化验检查正常。BP 18/12 kPa、HR 82 次/min、RR 18~22 次/min。

麻醉方法：术前 30 min 肌注东莨菪碱 0.3 mg。入手术室后取头高卧位，以 1%丁卡因行咽喉粘膜表面麻醉并经环甲膜穿刺用 1%丁卡因 2 ml 行气管粘膜表面麻醉，静注氟芬合剂 1/2 单位、咪唑安定 10 mg 后行气管插管，气管插管成功后行桡动脉穿刺测 BP，颈静脉穿刺置双腔管测 CVP，并置尿管监测尿量。术中控制呼吸，VT 300ml、RR 25 次/min，并根据术中动脉血气分析指标及时调整，以 1%普鲁卡因复合异丙酚、芬太尼及维库溴铵连续静滴，间断吸入 1%~2%安氟醚及静注芬太尼维持麻醉。持续监测 ECG、血压、CVP、体温和 SpO_2。术中每隔 1 h 查血气、生化指标。术中从囊肿中放液共 17 600 ml，共输血 2 400 ml，血定安 1 500 ml、林格氏液 2 000 ml、生理盐水 1 000 ml。患者术中一般情况基本稳定，手术历时 11 h 40 min。术毕患者清醒，呼吸、循环稳定，拔管后送回病房。

2 讨论

腹部巨大囊肿合并胸部巨大囊肿的病例较少见，本例患者病史较长，因腹部及胸部囊肿较大，横膈明显上抬，左肺严重受压，已经形成肺不张，并且纵隔向右移位，心脏向右偏移，大血管发生扭曲，心功能受损。由于纵隔右移，气管也向右偏移，增加气管插管的难度。故在本例麻醉中有以下体会：①注意术前用药，因本例肺功能较差，横膈明显上抬，左肺不张，少用或不用镇静药物以免影响呼吸，造成呼吸抑制。②保留自主呼吸行气管插管，患者进入手术室后采用头高卧位[1]，以 1%丁卡因充分行咽喉及气管粘膜表面麻醉，并辅以镇静药物行气管插管，这样有利于避免发生呼吸、循环系统骤变或其他并发症。③由于左肺不张，故先采用减少潮气量，增加呼吸频率的通气方式，当术中放液后采用逐渐增加潮气量，减少呼吸频率的通气方式，并在术中多次查血气及时调整。④术中探查、放囊内液体及搬动囊肿等操作过程中，要严密监测，放液速度宜慢，一方面要防止因腹内压骤减，右心回血量突然增加，导致前负荷骤增而诱发急性肺水肿；另一方面要防止可能因腹主动脉的压迫突然解除后，负荷突然降低而导致血压骤降，心率增快。因此，术中要严密监测，准确判断心脏前、后负荷的增减，及时调节血容量平衡[1~3]。⑤手术时间冗长，容易发生水、电解质及酸碱平衡紊乱，故术中宜加强有关监测指标，保证生命体征的平稳。此外，要考虑到药物半衰期及相互作用，防止用药过量造成不良后果。⑥由于病史长，囊肿与周围组织严重粘连，分离过程中渗血较多，为避免因大量输入库存血导致枸橼酸中毒、高血钾、血小板减少、凝血功能障碍等并发症，术前应备一定量的新鲜全血待用，并对输入体内的血液制品和各种液体事先采用加温处理。⑦由于患者左肺不张，肺功能严重受损，故麻醉后需待呼吸、循环稳定，病人意识清醒后再送回病房。

关键词：胸腺囊肿；麻醉处理
中图法分类号：R614；R730.56 文献标识码：B

参考文献：

[1] Miyawaki J, Shono S, Goto H, *et al*. Anesthetic management of a patient with a huge ovarian tumor[J]. Masui, 2000, 49(5): 552—554.
[2] Nishiyama T, Hanaoka K. Same day drainage and removal of a giant ovarian cyst[J]. Can J Anaesth, 1997, 44(10): 1 087—1 090.
[3] 刘俊杰，赵 俊 主编. 现代麻醉学[M]. 北京：人民卫生出版社，1997. 796—797.

（编辑 薛国文）

作者简介：钟河江（1973—），男，四川省资阳市人，硕士研究生，医师，主要从事心血管麻醉方面的研究。电话：(023)68755000-74683
收稿日期：2001-06-12；修回日期：2001-10-28

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