

病例中达美康的病例明显高于优降糖或消渴丸,这可能与使用达美康的人群增加有关。其次胰岛素引起者8例。

肝肾功能损害,前者使肝糖原合成、贮存、分解作用减弱;后者使胰岛素清除延缓^[5],均可成为低血糖昏迷的独立危险因素。本组病例中原发性肝癌肝硬化、血吸虫性肝硬化各1例,糖尿病肾病6例。

各种感染、尤其是胃肠道感染,导致热量摄入不足直接引起低血糖反应。本组病例中因感染诱发低血糖昏迷6例,占12.2%。

神经系统没有糖原贮备,脑细胞所需的能量几乎全部来自血糖^[6]。低血糖时,中枢神经系统每小时仍需要6g左右的葡萄糖来提供能量,低血糖危害极大,可造成大脑能量缺乏,致使中枢神经系统的神经元变性和坏死,出现脑水肿、弥漫性出血灶和节段性脱髓鞘,最终导致中枢神经系统

的不可逆损害。及时诊断低血糖是治疗成功的关键。对于不明原因的急性脑功能障碍,均应常规检测血糖,一旦确诊迅速给予快速有效的50%GS静注,并根据血糖变化决定是否需要5%GS或10%GS静滴维持。

参 考 文 献

1. 陈灏珠主编.实用内科学.第11版.北京:人民卫生出版社2002;981.
2. 李智蓉,陈霞.38例老年糖尿病低血糖分析[J].四川医学2002;23(9):928.
3. 周沁.低血糖症的中枢神经系统损害85例分析.中国误诊学杂志 2005;5(1):129.
4. 辛苏萍,罗春媛.老年糖尿病低血糖反应50例临床分析.疑难病杂志 2005;4(1):35.
5. 史轶繁主编.协和内分泌和代谢学.北京:科学出版社1999;1287
6. 戴自英.实用内科学[M].第9版.北京:人民卫生出版社1995;663

(2005—08—11 收稿)

罗格列酮对糖尿病大鼠肾脏作用机制的观察

青岛市市立医院内分泌科(266011) 栾 健

青岛大学医学院附属医院(266003) 王 艳 栾 敏

摘要 链脲佐菌素(STZ)制备糖尿病大鼠模型,分为正常对照组、糖尿病非治疗组、糖尿病药物治疗组,观察血糖、血肌酐、尿微量白蛋白排泄率、肾组织光镜下PAS染色、免疫组织化学及电镜下的改变。结果:与对照组相比,糖尿病组及治疗组尿微量白蛋白排泄率、肾组织TGF- β_1 、PPAR- γ 表达增加($P < 0.01$),病理改变明显。而治疗组尿微量白蛋白排泄率、肾组织TGF- β_1 、PPAR- γ 表达低于糖尿病组($P < 0.05$),病理改变减轻。结论:罗格列酮可活化PPAR- γ ,下调TGF- β_1 ,减少糖尿病大鼠尿蛋白,对糖尿病肾病起保护作用。

关键词 爱能(罗格列酮) 糖尿病大鼠 TGF- β_1 PPAR- γ

抗糖尿病药物噻唑烷二酮类属于胰岛素增敏剂,通过与PPAR- γ 结合而发挥作用,不仅能降低糖尿病血糖、血脂、改善胰岛素抵抗,还对肾脏具有保护作用,其中以爱能(罗格列酮)作用最强。我们采用链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠模型,观察爱能(罗格列酮)对尿微量白蛋白排泄率、肾组织光镜下PAS染色、免疫组织化学及电镜下的改变,以探讨其对糖尿病肾损害的保护作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物模型的建立与分组 纯种雄性8周龄Wistar大鼠(青岛市实验动物中心提供)共24只,体重180~220g,随机分为3组:①正常对照组(A组 $n = 8$);②糖尿病非治疗组(B组 $n = 8$);③糖尿病药物治疗组(C组 $n = 8$)。将B组和C组大鼠给予STZ65mg/kg(购自Sigma公司,溶解于10mmol/L枸橼酸缓冲液中,pH5.5),腹腔注射24~48h,尿糖3+~4+,取尾静脉血测血糖,随机血糖 > 16.65 mmol/L,确定糖尿病模型建立。所有大鼠在整个实验期间均喂标准饮食,不使用胰岛素。C组大鼠给予爱能(罗格列酮)5mg.kg.d(爱能(罗格列酮)由成都恒瑞制药有限公司提供),共用12周。

实验期间,于第12周取各组大鼠8只,在处死前一天采用代谢笼收集24小时尿标本,于-20℃冰箱保存待测。以2%巴比妥麻醉各组大鼠,剪开胸膜部,腔静脉穿刺取血3ml,留取双侧肾脏,再取部分肾组织以10%甲醛固定,送病理科检查,部分肾组织以2%戊二醛固定,送电镜室检查。

1.2 实验方法 ①血、尿标本检测:将留取的尿标本送放免中心检测尿微量白蛋白排泄率,血标本检测血糖、血肌酐。②免疫组织化学:采用SP法(SP试剂盒购于北京中山公司)。大鼠肾组织切片脱蜡、3% H_2O_2 处理清除内源性过氧化物酶,抗原热修复。正常山羊血清封闭后,分别滴入兔抗大鼠TGF- β 抗体(武汉博士得生物有限公司提供1:200)、抗PPAR- γ 抗体(Santa Cruz公司提供1:100),4℃孵育过夜,然后滴加二抗、三抗,最后加入DAB- H_2O_2 显色液,显微镜下控制显色。实验同时采用PBS代替一抗作为阴性对照。显色结果在高倍镜(400 \times)下随机选取20个连续不重复的视野,根据染色面积和强度进行半定量分析:0分为无阳性染色;1分为染色面积 $< 25\%$;2分为染色面积在25%~50%;3分为染色面积在50%~75%;4分为染色

面积>75%。③肾组织标本电镜检查:用2%戊二醛固定肾组织标本,经脱水、包埋、染色程序后常规透射电镜制样,超薄切片,透射电镜JEM-1200EX电镜下观察。肾小球基底膜足突融合率及基底膜增厚率的计算方法:(1)足突融合率:以A组为例说明。首先量出基底膜总长度(包括所有随机拍摄的肾小球照片上的基底膜),设为X;然后再量出基底膜上足突融合的总长度,设为Y,最后以Y/X,即得融合率。(2)基底膜平均增厚率:首先计算A组基底膜的平均厚度,以1cm为单位,把基底膜分成若干个点,然后测定每点基底膜的厚度(包括所有随机拍摄的A组肾小球照片上的基底膜),再把所有各点基底膜的厚度相加(X),计算共测定的点数(Y),最后以X/Y,即得A组基底膜的平均厚度。同法测定其它各组基底膜的平均厚度;与A组相比,即得平均增厚率。

1.3 统计学处理 所有数值采用 $X \pm S$ 表示,组间比较采用 t 检验,方差分析,指标间的关系采用相关分析,免疫组织化学半定量评分采用秩和检验,由SPSS 10.0统计软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 血糖、血肌酐及尿蛋白改变 与A组相比,B组及C组大鼠血糖、尿微量白蛋白排泄率均显著升高($P < 0.01$),血肌酐无明显变化与B组相比,C组大鼠尿微量白蛋白排泄率显著降低($P < 0.05$),血糖无明显变化,见表1。

2.2 肾组织学表现 ①光镜下PAS染色显示:B组及C组肾小球体积增大,单核淋巴细胞浸润,肾小球系膜细胞明显增生,而B组系膜基质增生明显,毛细血管壁增厚,管腔变窄。A组肾小球系膜细胞未示明显增生。②肾组织免疫组织化学显示:正常对照组大鼠肾小球及肾小管均有少量TGF- β_1 、PPAR- γ 表达。与A组相比,B组及C组大鼠TGF- β_1 、PPAR γ 表达增加($P < 0.01$),但C组大鼠TGF- β_1 、PPAR- γ 表达低于B组($P < 0.05$),见表2。③肾组织电镜下检查:正常对照组足细胞体积大,足突紧贴毛细血管基膜外,突起之间可见裂孔。基膜厚度正常,系膜区无扩张。B组肾小球滤过膜结构明显异常,内皮细胞排列紊乱、脱落、完整性破坏、足突增粗、融合成团,每单位长度足突融合率(简称融合率)约90%,系膜细胞核变性固缩,基质增多,基底膜明显增厚,与A组相比,平均增厚率达81%。C组大鼠肾小球滤过膜结构有损害,但与B组相比有明显改善,足突增粗,但排列整齐,融合率约为42%,基底膜增厚也较B组轻微,平均增厚率达38%,滤过膜结构基本完整。

表1 各组大鼠血糖、血肌酐及尿蛋白结果

组别	例数 (n)	血糖 (mmol/L)	尿微量白蛋白排 泄率(mg/24h)	血肌酐 (μ mol/L)
A组	8	6.01 \pm 1.48	4.05 \pm 1.85	60.59 \pm 4.12
B组	8	25.91 \pm 1.47*	79.50 \pm 9.41*	79.41 \pm 8.23
C组	8	23.43 \pm 1.30*	34.50 \pm 5.49* Δ	78.99 \pm 6.37

与A组相比* $P < 0.01$,与B组相比 $\Delta P < 0.05$ 。

表2 动物模型12周时肾组织各项免疫组织化学指标量化得分

组别	TGF- β_1	PPAR- γ
A组	1.1(1~2)	0.9(1~2)
B组	3.2(2~4)*	2.8(2~4)*
C组	1.5(1~3)* Δ	1.3(1~3)* Δ

注:与A组相比* $P < 0.01$ 与B组相比 $\Delta P < 0.05$ 。

3 讨论 氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是一种新的甾体激素受体,对多种细胞的转录调控过程起重要作用,包括脂类代谢、糖代谢、细胞周期、细胞分化及炎症和细胞外基质重塑。目前已发现三种类型的PPARs,即PPAR- α 、PPAR- β 、PPAR- γ ,均不同程度的在肾脏表达。PPAR- γ 在肾脏主要分布在髓质集合管,其次分布在肾小球与肾微血管^[1]。生理状态下PPAR- γ 参与调节肾脏血流动力和水钠转运,并调节葡萄糖的产生、转运、利用以及脂肪代谢^[2]。

本实验显示,与A组相比,B组及C组大鼠血糖、尿微量白蛋白排泄率均显著升高($P < 0.01$),肾小球体积增大,肾小球系膜细胞明显增生,而B组系膜基质增生明显,毛细血管壁增厚,管腔变窄,与B组相比,C组大鼠尿微量白蛋白排泄率显著降低($P < 0.05$)。说明高糖状态下肾脏不仅表现为肾血流动力学紊乱,更主要表现为肾脏肥大,肾小球基底膜增厚和细胞外基质进行性积聚,而爱能(罗格列酮)治疗后可减轻上述改变。近期研究发现PPAR- γ 激活剂TZD可抑制体外培养的系膜细胞增生^[3],并逆转系膜细胞表型转化,导致细胞生长停滞,降低细胞外基质生成,从而干预或逆转肾小球硬化过程。Asano等的研究显示,PPAR- γ 激活剂TZD能抑制大鼠系膜细胞增生及去分化^[4],从而使肾小球病理改变减轻,尿蛋白明显减少。本实验也证实爱能(罗格列酮)治疗组电镜下无论是系膜细胞,还是肾小球滤过膜结构都较非治疗组病理改变减轻。

TGF- β_1 被公认为糖尿病肾病发生、发展中的重要生长因子,可促进细胞外基质的合成,抑制其降解,导致细胞外基质进行性积聚,肾间质纤维化、肾小球硬化,加剧了肾功能的损害。Zheng研究发现PPAR- γ 激活可抑制系膜细胞基础和激活状态的TGF- β 反应,推断PPAR- γ 激活可以抑制系膜细胞中TGF- β 介导的I型胶原表达增加^[5]。本实验显示,与A组相比,B组及C组大鼠TGF- β_1 、PPAR- γ 表达增加($P < 0.01$),但C组大鼠TGF- β_1 、PPAR- γ 表达低于B组($P < 0.05$)。提示爱能(罗格列酮)可抑制糖尿病肾病状态下肾脏内PPAR- γ 的表达上调,这一结果与近期的其他研究相一致^[6~8]。同时爱能(罗格列酮)通过降低TGF- β_1 表达,减轻糖尿病大鼠的肾脏病变,延缓了糖尿病肾病的进展。

参 考 文 献

1. Guan Y, Zhang Y, Schneider A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activity is associated with renal microvascu-

lature. Am J Physiol Renal Physiol 2001;281(6):F1036-1046.

2. Komers R, Vrana A. Thiazolidinediones - tools for the research of metabolic syndrome X. Physiol Res 1998;47(4):215-225.

3. Tsuchiya T, Shimizu H, Shimomura K, et al. Troglitazone inhibits isolated cell proliferation, and induces apoptosis in isolated rat mesangial cells. Am J Nephrol 2003;23:222-228.

4. Asano T, Wakisaka M, Yoshinari M, et al. Peroxisome proliferator activated receptor gamma 1 (PPAR-gamma 1) expresses in rat mesangial cells and PPAR-gamma 1 agonists modulate its differentiation. Biochim Biophys Acta 2000;1497(1):148-154.

5. Zheng F, Fomoni A, Elliot SJ, et al. Upregulation of type I colla-

gen by TGF-beta in mesangial cells is blocked by PPARgamma activation. Am J Physiol Renal Physiol 2002;282(4):F639-F648.

6. Ma LJ, Marcantoni C, Linton MF, et al. Peroxisome proliferator activated receptor-gamma agonist troglitazone protects against nondiabetic glomerulosclerosis in rats. Kidney Int 2001;59:1889-1910.

7. 熊祖应, 黄海长, 李惊子, 等. 过氧化脂质体增殖激活受体-gamma对系膜细胞炎症的调控作用. 中华医学杂志, 2002; 82: 1351-1354.

8. Su CG, Wen XM, Bailey ST, et al. A novel therapy for colitis utilizing PPAR ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. J Clin Invest 1999;104:383-389.

(2005-07-25 收稿)

糖尿病治疗仪和甲钴胺联合治疗糖尿病末梢神经病变

浙江省绍兴市人民医院内分泌科(312000)

楼大钧 朱麒麟 斯徐伟 官莉莉 俞钟明 尤巧英 金华伟 俞利红

摘要 115例DPN患者随机分为2组;治疗组59例,采用糖尿病治疗仪穴位照射每天1次,同时每日肌注甲钴胺针0.5mg,连续4周;对照组56例,单用甲钴胺针每日肌注0.5mg,连续4周;观察DPN患者的症状、体征的改善情况及肌电图的影响。结果 治疗组总有效率为91.53%,对照组为67.86% ($P < 0.05$),神经传导速度均改善,但治疗组优于对照组 ($P < 0.01$)。结论 电脑糖尿病治疗仪和甲钴胺联合治疗DPN有较好的疗效。

关键词 糖尿病治疗仪 甲钴胺 糖尿病末梢神经病变(DPN)

为提高DPN临床疗效,我科采用糖尿病治疗仪和甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变,取得较好疗效。现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2型糖尿病病人115例,入选条件为:①符合1999年WHO糖尿病诊断标准;②有肢体感觉、运动神经病变表现如:肢体麻木、针刺样或烧灼样疼痛、闪痛或刀割样疼痛,肌萎缩无力,深浅感觉明显减退,腱反射减退或消失;③肌电图检查有神经传导速度减退;④无严重心、肝、肾病变,排除能导致末梢神经病变的其他疾病。血糖控制稳定1月以上,随机分为2组,联合治疗组59例,男30例,女29例,年龄 58.42 ± 13.20 岁,神经病变病程 35.37 ± 5.44 月;对照组病例56例,男30例,女26例,年龄 60.42 ± 7.20 岁,神经病变病程 33.28 ± 4.27 月,两组有可比性患者 ($P > 0.05$)。

1.2 方法 治疗期间两组患者饮食、降糖方案与前相同。联合治疗组采用伟力WLT-2000型电脑糖尿病治疗仪(北京伟力技贸公司生产)穴位照射,所选穴位均为本治疗仪提供的治疗神经病变穴位:肺俞、胰俞、中脘、鱼际、太溪、曲池、足三里(右)、涌泉(左),治疗电脉冲频率为1Hz,毫米波照射频率为36Hz,治疗时间为每穴4分钟,每天1次,连续4周,同时加用甲钴胺针(日本卫材公司生产,商品名:弥可保)0.5mg,每日肌注1次,连续4周。对照组:甲钴胺针0.5mg,每日肌注1次,连续4周。

1.3 观察项目及方法 ①所有病例在治疗前和治疗后,于清晨进行跟腱反射和膝反射检查,并询问观察症状轻重并

记录;②肌电图检查:使用美国产NICOLET COMPASS肌电图仪治疗前后测定运动神经传导速度(MCV)及感觉神经传导速度(SCV),室温保持在 $20 \sim 28^\circ\text{C}$ 。

1.4 疗效判断标准 显效:自觉症状消失,腱反射基本恢复正常,神经传导速度(NCV)增加 $> 5\text{m/s}$ 或恢复正常;有效:自觉症状明显减轻,腱反射未完全恢复正常,NCV增加 $< 5\text{m/s}$;无效:自觉症状无好转,腱反射无改善,NCV无变化。

1.5 统计学处理 采用SPSS10.0软件操作,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料用 t 检验,计数资料用 χ^2 检验。

2 结果 ①115例病人全部完成观察,用药中无不良反应。联合治疗组空腹血糖治疗前后为 $7.4 \pm 0.3\text{mmol/L}$ 和 $7.2 \pm 0.4\text{mmol/L}$,对照组为 $7.9 \pm 0.4\text{mmol/L}$ 和 $7.7 \pm 0.5\text{mmol/L}$,两组比较无显著差异。②两组疗效比较见表1,联合治疗组有效率91.53%,而单用甲钴胺组治疗有效率67.86%,两组比较有显著差异。③两组治疗前后神经传导速度比较见表2,电脑治疗仪联合甲钴胺组与单用甲钴胺组对糖尿病周围神经病变患者的神经传导速度改善均有效,治疗组优于对照组。

表1 两组治疗后疗效比较

组别	n	显效	有效	无效	有效率(%)
联合治疗组	59	30	24	5	91.53*
对照组	56	18	20	18	67.86

* $P < 0.05$