

舒洛地特对腹膜透析大鼠腹膜结构和功能的作用

韦永光¹, 林沁^{1,2*}, 戢晴¹, 郑丰^{1,2}

1. 福建医科大学福州总医院临床医学学院肾内科, 福州 350025

2. 南京军区福州总医院肾内科, 福州 350025

[摘要] **目的** 观察舒洛地特对慢性腹膜透析大鼠腹膜结构和功能的作用。**方法** 36 只 SD 雄性大鼠随机分为 4 组:空白对照组($n=6$)、模型组($n=10$)、低剂量[10 mg/(kg·d)]舒洛地特组($n=10$)、高剂量[20 mg/(kg·d)]舒洛地特组($n=10$)。透析 8 周后行 1 h 腹膜平衡试验(PET);使用全自动生化分析仪测定 1 h 腹膜平衡试验透出液中尿素氮(D_{urea})、透出液中总蛋白(D_{tp})、初始腹透液葡萄糖浓度(D_0)、透出液葡萄糖浓度(D_1)、血浆尿素氮(P_{urea})及血浆总蛋白(P_{tp}),并计算 D/P_{urea} (说明腹膜对尿素氮清除效率)、 D/P_{tp} (评估腹膜透析液中总蛋白丢失情况)、 D_1/D_0 (表示腹透超滤的能力)。取壁层腹膜行 H-E 及 Masson 染色观察腹膜结构变化,半定量计算腹膜厚度、腹膜单位面积血管及炎症细胞数;计算腹透液中白细胞数;ELISA 法检测腹透液 MCP-1 及 TNF- α 水平;免疫组化检测壁层腹膜 TGF- β_1 表达情况。**结果** 与对照组相比,长期腹透大鼠腹膜间皮细胞减少,间皮下基质增厚,炎症细胞增多,血管增生明显($P<0.05$),腹膜超滤量和 D_1/D_0 减少, D/P_{urea} 及 D/P_{tp} 增加($P<0.05$),腹透液中白细胞数、MCP-1 及 TNF- α 水平上调($P<0.05$),脏层腹膜 TGF- β_1 表达上调;给予舒洛地特干预后腹膜结构改变减轻,腹膜组织炎症细胞浸润和血管增生减少,腹膜功能改善,腹透液 MCP-1 及 TNF- α 水平下调($P<0.05$),脏层腹膜 TGF- β_1 表达下调。**结论** 舒洛地特可能通过抑制腹膜慢性炎症来达到抑制腹膜纤维化及改善腹膜功能的作用。

[关键词] 腹膜透析;腹膜纤维化;糖胺聚糖;舒洛地特

[中图分类号] R 459.51

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2011)03-0276-06

Effect of sulodexide on peritoneal morphology and function of peritoneal dialysis rats

WEI Yong-guang¹, LIN Qin^{1,2*}, JI Qing¹, ZHENG Feng^{1,2}

1. Department of Nephrology, Fuzhou General Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350025, Fujian, China

2. Department of Nephrology, Fuzhou General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command, Fuzhou 350025, Fujian, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of sulodexide on the peritoneal morphology and function of long-term peritoneal dialysis rats. **Methods** Adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into the following four groups: control group($n=6$), model group($n=10$), low-dose sulodexide group($n=10$) and high-dose sulodexide group($n=10$). A 1 hour peritoneal equilibration test was performed after an eight-week peritoneal dialysis in each group. The dialysate samples were subjected to examination by hemocytometer for determination of 1 h dialysate urea(D_{urea}), dialysate protein(D_{tp}), initial dialysate glucose(D_0) and 1 h dialysate glucose(D_1), plasma urea nitrogen(P_{urea}) and total plasma protein(P_{tp}); and the D/P_{urea} (parameter for clearance rate of urea nitrogen), D/P_{tp} (parameter for total protein loss in dialysate), and D_1/D_0 (parameter for peritoneal ultrafiltration) were calculated. The parietal peritoneum tissues of rats were harvested and stained by Hematoxylin-eosin and Masson trichrome for observation of the peritoneal structure. The vessels and leukocytes in peritoneum tissue were counted (n/mm^2) using stained sections. Leukocytes in dialysate samples were evaluated using hemocytometer. The levels of inflammatory cytokine (MCP-1, TNF α) in dialysate samples were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the expression of TGF- β_1 in parietal peritoneum was detected by immunohistochemistry assay. **Results** Compared with the control group, rats in the model group had decreased peritoneal mesothelial cells, thickened sub-mesothelial matrix, increased inflammatory cells, and angiogenesis ($P<0.05$). The ultrafiltration volume (UF) and glucose reabsorption (D_1/D_0) were significantly lower and the dialysate-to-plasma urea ratio (D/P_{urea}) and dialysate-to-plasma total protein ratio (D/P_{tp}) were significantly higher in model group than those in the control group ($P<0.05$). Counts of leukocytes and levels of MCP-1 and TNF α in dialysate samples were

[收稿日期] 2010-11-26

[接受日期] 2011-01-15

[基金项目] 福建省科技厅重点资助项目(2008Y0085). Supported by Key Subject of Science & Technology Department of Fujian Province (2008Y0085).

[作者简介] 韦永光, 硕士生. E-mail: 304473994@qq.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0591-22859727, E-mail: lqin69@hotmail.com

significantly increased ($P < 0.05$) and TGF- β_1 expression in parietal peritoneum was also significantly increased in the model group. Administration of sulodexide greatly improved the structure changes of the peritoneum, decreased the inflammatory cell infiltration and angiogenesis, greatly improved peritoneal function, significantly decreased the levels of MCP-1 and TNF- α in dialysate samples ($P < 0.05$), and decreased the expression of TGF- β_1 in parietal peritoneum. **Conclusion** Sulodexide may improve the peritoneal morphology and function by inhibiting peritoneal chronic inflammation.

[Key words] peritoneal dialysis; peritoneal fibrosis; glycosaminoglycans; sulodexide

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(3): 276-281]

腹膜透析(peritoneal dialysis, PD)是终末期肾病的有效治疗方法之一,该技术方法必须依赖于腹膜结构和功能的完整。但随着PD时间的延长,部分患者可出现腹膜结构的改变,直至出现腹膜纤维化导致腹膜功能下降及超滤衰竭,使患者退出PD。因此预防和延缓腹膜纤维化是保证长期腹膜透析患者透析成功的关键。

舒洛地特(sulodexide, SLX)是一种新的糖胺聚糖制剂。近年来已有基础研究及临床观察提示其在腹膜透析中具有改善腹膜结构和功能改变等抗凝以外的作用^[1-3],但其作用机制不明。因此为了进一步探讨该药的作用机制,我们采用慢性腹膜透析大鼠模型腹腔给药,观察其对腹膜结构和功能的作用,为今后的临床应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 动物模型的建立 体质量160~180 g的SPF级雄性SD大鼠36只(购自上海斯莱克实验动物有限责任公司),采用随机数字表法分为4组,适应性饲养7 d后除6只空白对照组大鼠外其余大鼠均在腹腔内插入自制腹透管。1周后经自制腹透管行每日1次腹膜透析。模型组($n=10$):4.25%腹膜透析液(PDF)20 ml;低剂量舒洛地特组($n=10$):4.25%PDF 20 ml+舒洛地特(意大利阿尔法韦士曼制药有限公司馈赠)10 mg/kg;高剂量舒洛地特组($n=10$):4.25%PDF 20 ml+舒洛地特20 mg/kg。各组均维持8周。

1.2 取材 停止透析48 h后,每只大鼠腹腔注射4.25%PDF 25 ml行1 h腹膜平衡试验,然后沿腹白线打开腹腔,准确计量腹腔内的液体量,计算超滤量(UF)。在无菌条件下用一次性无菌注射器抽取腹水送检腹水白细胞计数及腹水生化,同时经下腔静脉采血送检凝血四项、血生化。腹膜透出液1 006.2×g离心10 min,取上清液1.5 ml保存于-80℃冰箱备用。取腹部切口对侧壁层腹膜,用10%中性缓冲甲醛溶液固定。

1.3 检测指标

1.3.1 腹膜功能 使用全自动生化分析仪测定1 h

腹膜平衡试验透出液中尿素氮(D_{urea})、透出液中白蛋白(D_{alb})、透出液中总蛋白(D_{tp})、初始腹透液葡萄糖浓度(D_0)、透出液葡萄糖浓度(D_1),血浆尿素氮(P_{urea})、血浆白蛋白(P_{alb})及血浆总蛋白(P_{tp});说明个体营养状况),并计算 D/P_{urea} (说明腹膜对尿素氮清除效率)、 D/P_{alb} (评估腹膜透析液中白蛋白丢失情况)、 D/P_{tp} (评估腹膜透析液中总蛋白丢失情况)、 D_1/D_0 (表示腹透超滤的能力)。

1.3.2 细胞学及凝血功能 采用血细胞计数板高倍镜下计算腹膜透出液中白细胞数。使用全自动生化分析仪检测凝血功能,包括凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)。

1.3.3 常规组织病理学 腹膜组织经10%中性缓冲甲醛溶液固定后制成4 μ m石蜡切片,行H-E染色及Masson染色。H-E染色后在200倍镜下对每张切片随机选取10个不同视野,采用半定量分析方法计算单位面积腹膜组织中血管数。在400倍镜下对每张切片随机选取10个不同视野,采用半定量分析方法计算单位面积腹膜组织中炎症细胞数。Masson染色后每张切片随机选取10个不重叠高倍镜放大倍数视野,采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统测量间皮下蓝绿色的纤维组织厚度,每视野随机测量3个数值,取平均值作为判断厚度的标准。

1.3.4 ELISA测定肿瘤坏死因子(TNF- α)及单核细胞趋化蛋白(MCP-1)含量 采用ELISA试剂盒(购自武汉博士德生物工程有限公司)测定1 h腹膜透出液中TNF- α 及MCP-1含量。参照试剂盒说明书进行操作,根据各孔光密度值及标准曲线计算待测MCP-1及TNF- α 浓度。

1.3.5 免疫组化检测脏层腹膜转化生长因子(TGF- β_1)表达水平 4 μ m石蜡切片60℃烤片过夜,常规脱蜡水化,3% H_2O_2 室温孵育10 min,蒸馏水洗3 min×3次,滴加胃蛋白酶修复液,37℃孵育7 min, PBS洗2 min×3次,滴加正常非免疫动物血清封闭,37℃下孵育20 min,倾去血清,勿洗,滴加适当稀释的一抗(1:200),室温过中午,滴加兔超敏二步法检测试剂盒中Polymer Helper,37℃孵育20 min,

PBS 洗 2 min×3 次,滴加相应辣根过氧化物酶标记抗兔二抗,37℃ 孵育 20 min,PBS 洗 2 min×3 次,DAB 显色剂显色,烤干,中性树脂封片。每张切片在 400 倍下随机选择 10 个不同随机视野,使用积分法对每张图像结果进行评分后取平均值,分为阴性(0 分)、弱阳性(1 分)、阳性(2 分)、强阳性(3 分)。分数越高即抗原的表达水平越高,反之则抗原表达水平越低。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 11.5 统计软件包,数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。检验水平(α)为 0.05。

2 结 果

2.1 实验大鼠一般情况 在 36 只大鼠行 8 周腹膜

透析期间,相继有 2 只大鼠出现腹透管堵塞,表现为注射腹透液困难及出口处渗液,7 只大鼠腹水培养阳性或腹水常规白细胞总数大于 $1\,000\times 10^6/L$,诊断为腹膜炎,上述大鼠均予剔除,不纳入结果统计分析,其余大鼠均顺利完成透析。

2.2 腹膜功能改变 与空白对照组比较,模型组 UF 和 D_1/D_0 明显减少, D/P_{urea} 、 D/P_{alb} 和 D/P_{tp} 明显增加($P<0.05$);与模型组比较,低剂量舒洛地特组及高剂量舒洛地特组的 UF 和 D_1/D_0 明显增加, D/P_{urea} 、 D/P_{alb} 和 D/P_{tp} 明显减少($P<0.05$,表 1)。说明与模型组相比,舒洛地特干预组腹膜超滤功能增强;腹透液清除毒素效率提高;与透析相关的白蛋白丢失减少。各项腹膜功能指标在两种剂量舒洛地特组间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 各组大鼠腹膜功能检测结果
Tab 1 Peritoneum function of rats in different groups

($\bar{x}\pm s$)						
Group	<i>n</i>	UF V/ml	D_1/D_0	D/P_{urea}	$D/P_{alb}\times 1\,000$	$D/P_{tp}\times 1\,000$
Control	6	11.80±0.62	0.83±0.02	0.55±0.06	19.57±3.63	32.98±0.82
Model	6	5.63±2.28*	0.57±0.12*	0.72±0.08*	55.74±10.23*	57.02±4.81*
Sulodexide 10 mg/kg	8	7.87±2.02 Δ	0.69±0.03 Δ	0.62±0.09 Δ	44.57±8.06 Δ	46.68±7.70 Δ
Sulodexide 20 mg/kg	7	8.73±1.66 Δ	0.67±0.03 Δ	0.63±0.06 Δ	44.51±5.45 Δ	45.24±3.74 Δ

UF: Ultrafiltration volume; D_1/D_0 : Glucose reabsorption; D/P_{urea} : Dialysate-to-plasma urea ratio; D/P_{alb} : Dialysate-to-plasma albumin ratio; D/P_{tp} : Dialysate-to-plasma total protein ratio. * $P<0.05$ vs control group; $\Delta P<0.05$ vs model group

2.3 细胞学及凝血功能检查 与空白对照组相比,模型组腹膜透出液中白细胞数明显增多($P=0.002$),以单核细胞和淋巴细胞为主。给予舒洛地特干预组腹膜透出液中白细胞明显减少(P 分别为

0.035、0.010)。两种剂量舒洛地特组间比较差异没有统计学意义($P=0.502$)。各组大鼠凝血功能在治疗前后差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果详见表 2。

表 2 舒洛地特对白细胞数量及凝血功能的影响
Tab 2 Effect of sulodexide on leukocyte count and coagulation

($\bar{x}\pm s$)						
Group	<i>n</i>	Leukocyte (μl^{-1})	Blood clotting			
			PT <i>t</i> /s	APTT <i>t</i> /s	TT <i>t</i> /s	FIB $\rho_B/(g\cdot L^{-1})$
Control	6	320±90	9.41±0.41	35.26±3.02	47.84±2.61	2.85±0.51
Model	6	760±240*	9.51±0.29	35.87±1.46	48.24±3.35	2.63±0.45
Sulodexide 10 mg/kg	8	510±180 Δ	9.42±0.40	36.68±1.77	47.65±2.67	2.81±0.43
Sulodexide 20 mg/kg	7	450±230 Δ	9.44±0.33	34.77±2.70	50.16±2.57	2.50±0.25

PT: Prothrombin time; APTT: Activated partial thromboplastin time; TT: Thrombin time; FIB: Fibrinogen. * $P<0.05$ vs control group; $\Delta P<0.05$ vs model group

2.4 壁层腹膜 H-E 染色 由图 1 可见,空白对照组壁层腹膜表面覆盖一层完整扁平的腹膜间皮细胞,间皮下基质薄,偶见成纤维细胞、炎症细胞及血管;模型组腹膜表面间皮细胞肿胀,部分间皮细胞脱落基质裸露,间皮下基质明显增厚,并可见大量成纤

维细胞及血管增生,炎症细胞浸润明显增多,主要以淋巴细胞及单核细胞为主;与模型组比较,高、低剂量舒洛地特组上述改变明显改善,但两种剂量舒洛地特组间比较没有统计学意义($P=0.121$)。炎症细胞和血管计数半定量分析结果见表 3。

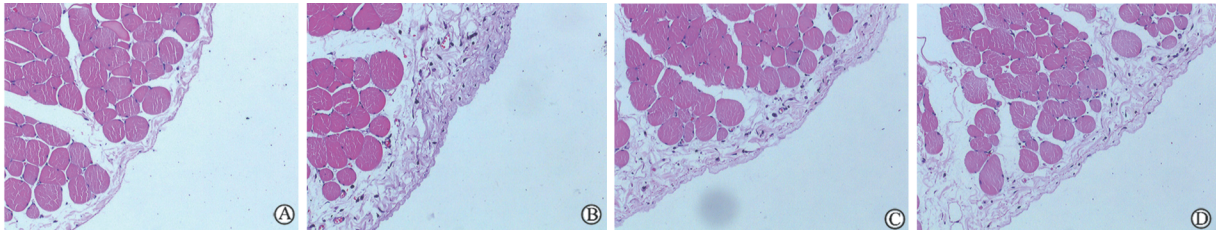


图 1 壁层腹膜 H-E 染色

Fig 1 Hematoxylin-eosin staining of parietal peritoneum

Results are from representative sections of each group. A: Control group; B: Model group; C: 10 mg/kg sulodexide group; D: 20 mg/kg sulodexide group. Original magnification: $\times 200$

表 3 各组大鼠腹膜组织学检测结果

Tab 3 Morphological results of peritoneum of rats in different groups

(x±s)				
Group	n	Inflammatory cells (mm ⁻²)	Vessels (mm ⁻²)	Thickness of peritoneum (μm)
Control	6	143.3±24.1	22.5±5.7	21.5±1.2
Model	6	648.3±58.2 *	90.4±14.0 *	90.0±16.2 *
Sulodexide 10 mg/kg	8	451.0±21.8 *△	58.9±14.2 *△	50.5±6.5 *△
Sulodexide 20 mg/kg	7	422.4±25.6 *△	62.2±9.7 *△	43.4±8.8 *△

* $P<0.05$ vs control group; △ $P<0.05$ vs model group

2.5 壁层腹膜 Masson 染色 壁层腹膜 Masson 染色见图 2,腹膜组织间皮下厚度半定量测量结果见表 3。由图 2 和表 3 可见,与空白对照组相比模型组间皮下基质明显增厚($P=0.000$);与模型组相比,低剂量及高剂量舒洛地特组腹膜下间皮组织明显变薄($P=0.000$),但是较空白对照组仍厚;两种剂量舒洛地特组间比较差异没有统计学意义。

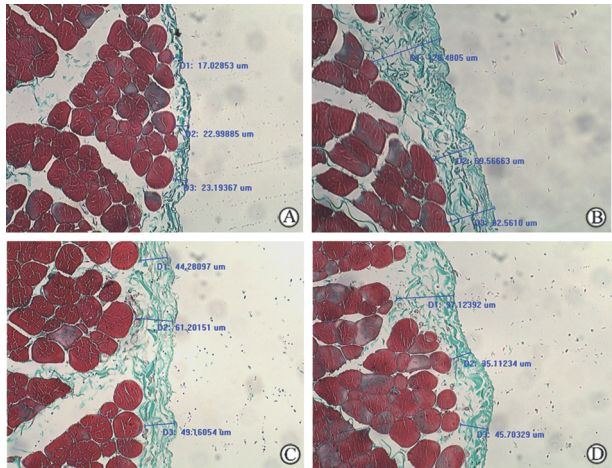


图 2 壁层腹膜 Masson 染色

Fig 2 Masson trichrome staining of parietal peritoneum

Results are from representative sections of each group. A: Control group; B: Model group; C: 10 mg/kg sulodexide group; D: 20 mg/kg sulodexide group. Original magnification: $\times 200$

2.6 TNF-α及MCP-1水平测定结果 与空白对照组相比模型组腹膜透出液中 TNF-α 及 MCP-1 水平上调($P=0.000$);给予低剂量及高剂量舒洛地特干预后,腹腔透出液中炎症因子水平下调($P<0.05$),但组间比较没有统计学意义($P>0.05$,表 4)。

表 4 各组大鼠腹膜透出液中炎症因子水平

Tab 4 Inflammatory cytokine levels in dialysate of rats in different groups

[pg/(ml·h)],x±s			
Group	n	TNF-α	MCP-1
Control	6	4.8±1.3	14.5±2.7
Model	6	69.7±36.8 *	432.3±259.5 *
Sulodexide 10 mg/kg	8	27.7±16.1△	89.3±39.7△
Sulodexide 20 mg/kg	7	24.6±19.8△	78.9±28.2△

* $P<0.05$ vs control group; △ $P<0.05$ vs model group

2.7 免疫组化检测结果 由图 3 可见,TGF-β₁在空白对照组壁层腹膜中仅微弱表达于间皮细胞或几乎无表达(半定量评分为 0.1±0.01);模型组可见于腹膜间皮细胞、浸润的炎症细胞及血管内皮细胞大量表达(半定量评分为 2.1±0.12,与空白对照组相比 $P=0.000$);低浓度 SLX 组以及高浓度 SLX 组表达明显低于模型组(半定量评分分别为 1.0±0.16、1.0±0.05,与模型组相比 $P=0.000$ 、 0.000)。

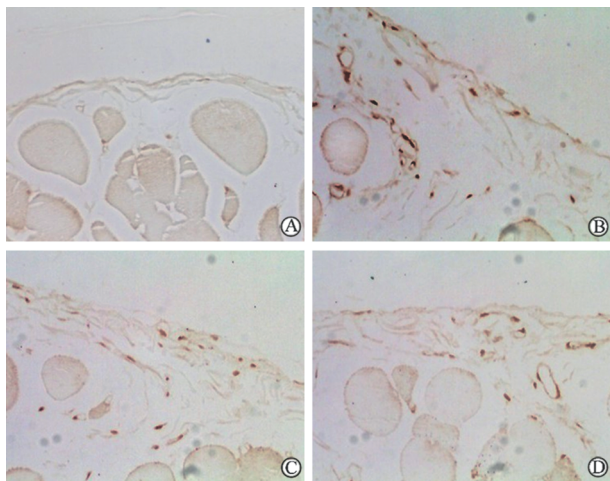


图3 壁层腹膜 TGF- β_1 免疫组化染色

Fig 3 Immunohistochemistry results of parietal peritoneum sections stained for TGF- β_1

Results are from representative sections of each group. A: Control group; B: Model group; C: 10 mg/kg sulodexide group; D: 20 mg/kg sulodexide group. Original magnification: $\times 400$

3 讨论

腹膜纤维化是腹膜透析技术失败常见的原因之一,明确腹膜纤维化的发病机制及寻找包括药物治疗在内的预防和延缓腹膜纤维化的有效方法成为腹膜透析相关研究的热点之一。腹膜纤维化是由多种病因共同作用引起,目前研究认为透析液的高渗、葡萄糖降解产物以及反复出现的细菌性腹膜炎等都参与了腹膜纤维化的发生发展^[4]。虽然随着透析技术进步以及抗生素广泛应用于腹膜透析,细菌性腹膜炎发病率减低,但慢性非感染性炎症导致的腹膜纤维化发生率仍高,因此抑制腹腔慢性非感染性炎症状态对保证长期腹膜透析患者透析成功非常重要。

目前临床上在腹膜透析液中加入肝素的目的是抗凝和减少纤维蛋白产生,避免血块和纤维蛋白块堵塞透析管。近年来研究发现肝素及其类似物具有许多抗凝以外的作用^[5-7],正逐渐引起人们的重视。舒洛地特是一种新的糖胺聚糖制剂,具有低出血风险等优点,已有的研究多次提示其在腹膜透析中具有改善腹膜超滤功能、增加超滤量及减少腹腔蛋白丢失等作用^[1-3,5],但其作用机制不明,目前亟待对该药对腹膜结构和功能的作用及其机制进行全面的阐明。此前的研究多采用皮下给药观察舒洛地特对腹膜透析的作用,动物研究中采用荧光标记舒洛地特后发现其对于内皮组织具有特殊的亲和力,吸收后主要分布在结缔组织中,如器官的外膜,浆膜下层等^[8-9],此外有研究发现肝素类药物腹腔给药能明显

抑制腹腔炎症^[6-7]。因此为了了解舒洛地特腹腔给药对腹膜局部的作用,避免口服或皮下给药对全身炎症状况的影响,在本实验研究中,我们采用舒洛地特腹腔局部给药,观察其对腹膜结构和功能的作用。此外,研究结果显示肝素类药物对腹膜结构和功能的保护作用在高浓度时更明显^[10-11],本实验拟采用较大剂量观察舒洛地特对腹膜慢性炎症的影响。Fracasso 等^[2]研究发现采用舒洛地特 $[10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})]$ 皮下给药对腹膜结构及功能有明显的保护作用。动物水平的毒理学研究采用的最大安全剂量为 $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,因此,在预实验时我们采用 $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和 $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 两种剂量给药 8 周,实验过程中发现高剂量组存在较大的出血风险。故本实验最终采用了 $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和 $20 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 两种剂量,观察 $20 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 是否对改善腹膜纤维化有更好的作用。然而本研究显示两种剂量舒洛地特组间比较没有达到统计学差异($P > 0.05$)。分析可能原因有:(1)样本量不够;(2)本实验观察周期为 8 周,干预时间不够长,差异还不能显现;(3)高剂量组剂量不够大。

各种腹膜损害因素作用于腹膜间皮细胞产生多种细胞因子,在腹膜纤维化起始、发展和维持过程中这些细胞因子发挥了关键作用。募集到局部腹膜组织中的炎症细胞活化后可产生大量细胞因子、生长因子及反应氧产物等细胞毒性和促增生物物质,介导并放大组织的损伤和纤维化。有证据表明活化的巨噬细胞能释放促炎性和促纤维化因子^[12]。而炎症因子 MCP-1 和 TNF- α 本身均被证明具有直接的促纤维化作用,能刺激成纤维细胞表达胶原和 TGF- β_1 ^[13]。体外实验表明腹膜透析液中的高糖可诱导 MCP-1 表达^[14]。MCP-1 对单核-巨噬细胞具有高度特异性趋化作用,在腹膜透析腹腔炎症的发生发展中起了重要作用。普遍研究认为 TGF- β_1 是腹膜纤维化病理过程中的中心介质,其参与腹膜纤维化起始到维持全过程,而 TNF- α 等炎症因子能明显上调腹膜组织 TGF- β_1 的表达^[12,15]。本研究采用腹腔给予 4.25% PDF 模拟长期腹透动物模型,在给予舒洛地特后腹膜组织中单位面积炎症细胞浸润数明显减少,腹膜透出液中白细胞数减少,炎症因子水平下调;免疫组化结果显示腹膜组织 TGF- β_1 表达明显下调。Ciszewicz 等^[5]对体外高糖环境下的人脐静脉上皮细胞给予舒洛地特干预,发现舒洛地特能明显抑制 MCP-1 和白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)等炎症因子产生,减少高糖环境对上皮细胞的毒性,与本实验结果显示舒洛地特腹腔给药能抑制腹透液 TNF- α 及 MCP-1 水平,明显抑制腹膜组织炎症细

胞浸润较为相似。因此我们认为舒洛地特可能通过抑制腹腔炎症细胞趋化及抑制炎症因子释放, 从而减轻腹膜纤维化及改善腹膜功能。

我们的研究发现, 腹腔局部给予舒洛地特后腹透液中白蛋白及总蛋白丢失明显减少, 分析其可能与减轻腹腔炎症状态相关, 亦可能与腹腔给药后修复腹膜组织中阴离子电荷屏障相关。有研究表明反复发生的慢性炎症促进腹膜纤维化并导致腹膜的高通透性, 同时破坏腹膜电荷屏障从而加重了腹透过程中血浆蛋白丢失^[16]。舒洛地特腹腔给药是否能修复腹膜阴离子电荷屏障从而减少腹腔蛋白丢失有待进一步的研究。

综上, 本研究采用腹腔给药观察舒洛地特对腹膜透析相关性腹膜结构和功能的作用, 初步研究结果表明舒洛地特能增加腹膜超滤量、提高腹膜的转运效率而改善腹膜功能; 其可能通过抑制腹膜的慢性非感染性炎症状态来抑制腹膜纤维化, 维持腹膜的正常结构。

[参考文献]

[1] Bazzato G, Fracasso A, Gambaro G, Baggio B. Use of glycosaminoglycans to increase efficiency of long-term continuous peritoneal dialysis[J]. *Lancet*, 1995, 346: 740-741.

[2] Fracasso A, Baggio B, Ossi E, Del Prete D, Bonfante L, Bazzato G, et al. Glycosaminoglycans prevent the functional and morphological peritoneal derangement in an experimental model of peritoneal fibrosis[J]. *Am J Kidney Dis*, 1999, 33: 105-110.

[3] Fracasso A, Baggio B, Masiero M, Bonfante L, Bazzato G, Ferianni M, et al. Effect of oral treatment with the glycosaminoglycan sulodexide on peritoneal transport in CAPD patients[J]. *Perit Dial Int*, 2003, 23: 595-599.

[4] Kaneko K, Hamada C, Tomino Y. Peritoneal fibrosis intervention [J]. *Perit Dial Int*, 2007, 27(Suppl 2): S82-S86.

[5] Ciszewicz M, Polubinska A, Antoniewicz A, Suminska-Jasinska K, Breborowicz A. Sulodexide suppresses inflammation in human endothelial cells and prevents glucose cytotoxicity [J]. *Transl Res*, 2009, 153: 118-123.

[6] Sjøland J A, Pedersen R S, Jespersen J, Gram J. Intraperitoneal heparin ameliorates the systemic inflammatory response in PD patients[J]. *Nephron Clin Pract*, 2005, 100: c105-c110.

[7] Połubinska A, Pawlaczyk K, Kuzlan-Pawlaczyk M, Wieczorowska-Tobis K, Chen C, Moberly J B, et al. Dialysis solution containing hyaluronan: effect on peritoneal permeability and inflammation in rats[J]. *Kidney Int*, 2000, 57: 1182-1189.

[8] Ruggeri A, Guizzardi S, Franchi M, Morocutti M, Mastacchi R. Pharmacokinetics and distribution of a fluoresceinated glycosaminoglycan, sulodexide, in rats; part II. Organ distribution in rats[J]. *Arzneimittelforschung*, 1985, 35: 1517-1519.

[9] Weiss R, Niecestro R, Raz I. The role of sulodexide in the treatment of diabetic nephropathy[J]. *Drugs*, 2007, 67: 2681-2696.

[10] Bazargani F, Albrektsson A, Yahyapour N, Braide M. Low molecular weight heparin improves peritoneal ultrafiltration and blocks complement and coagulation[J]. *Perit Dial Int*, 2005, 25: 394-404.

[11] Sjøland J A, Smith Pedersen R, Jespersen J, Gram J. Intraperitoneal heparin reduces peritoneal permeability and increases ultrafiltration in peritoneal dialysis patients [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19: 1264-1268.

[12] Margetts P J, Kolb M, Yu L, Hoff C M, Holmes C J, Anthony D C, et al. Inflammatory cytokines, angiogenesis, and fibrosis in the rat peritoneum[J]. *Am J Pathol*, 2002, 160: 2285-2294.

[13] Guo G, Morrissey J, McCracken R, Tolley T, Liapis H, Klahr S. Contributions of angiotensin II and tumor necrosis factor-alpha to the development of renal fibrosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001, 280: F777-F785.

[14] Matsuo H, Tamura M, Kabashima N, Serino R, Tokunaga M, Shibata T, et al. Prednisolone inhibits hyperosmolarity-induced expression of MCP-1 via NF-kappaB in peritoneal mesothelial cells[J]. *Kidney Int*, 2006, 69: 736-746.

[15] Kolb M, Margetts P J, Anthony D C, Pitossi F, Gauldie J. Transient expression of IL-1beta induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107: 1529-1536.

[16] Blumenkrantz M J, Gahl GM, Kopple J D, Kamdar A V, Jones M R, Kessel M, et al. Protein losses during peritoneal dialysis [J]. *Kidney Int*, 1981, 19: 593-602.

[本文编辑] 孙 岩