

消水肿膏对肾阳虚大鼠肾功能改善的研究

史党民¹, 孙国珍^{1*}, 王 蕾², 贾淑杰²

1. 天津市中心妇产科医院, 天津 300102

2. 天津市医药科学研究所, 天津 300020

摘要: **目的** 观察消水肿膏对氢化可的松致肾阳虚大鼠肾功能改善的作用。**方法** 将大鼠随机分为4组, 正常组, 模型组, 消水肿膏高、低剂量组。正常组大鼠 im 生理盐水 1 mL/(kg·d), 其余大鼠均 im 氢化可的松 25 mg/(kg·d), 给药体积 1 mL/(kg·d), 连续 8 d。消水肿膏高、低剂量组分别连续 ig 消水肿膏 42、21 g 生药/kg, 2 次/d, 连续 12 d, 正常组与模型组大鼠 ig 相同体积纯净水。观察各组大鼠体质量变化; 末次给药 1 h 后, 用 4.5% 戊巴比妥钠麻醉大鼠, 经腹主动脉取血, 测定血清醛固酮、肌酐、尿素; 取尿液测定尿蛋白、尿 Na⁺、K⁺ 浓度; 取肾脏、脾脏称量质量。**结果** 给药 12 d, 消水肿膏高、低剂量组大鼠体质量较模型组有增加趋势, 但未见明显统计学差异 ($P>0.05$)。消水肿膏高剂量组大鼠肾脏与脾脏质量均明显高于模型组 ($P<0.05$), 血清肌酐水平显著低于模型组 ($P<0.05$)。消水肿膏高剂量对尿蛋白、尿 K⁺ 的影响与模型组比较无显著差异 ($P>0.05$), 有增加尿 Na⁺ 排泄量的趋势。**结论** 消水肿膏能够对抗氢化可的松所致的肾阳虚大鼠肾脏、脾脏质量减轻, 降低其血清肌酐, 可增加尿 Na⁺ 的排泄量, 对肾阳虚大鼠的肾功能具有明显改善作用。

关键词: 消水肿膏; 氢化可的松; 肾阳虚; 肾功能

中图分类号: R 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)02-0160-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.02.014

Amelioration of Xiaoshuizhong Ointment on renal function of kidney Yang deficiency rats

SHI Dang-min¹, SUN Guo-zhen¹, WANG Lei², JIA Shu-jie²

1. Tianjin Central Hospital of Gynecology Obstetrics, Tianjin 300102, China

2. Tianjin Research Institute of Medical Sciences, Tianjin 300020, China

Abstract: **Objective** To study the amelioration of Xiaoshuizhong Ointment (XO) on the renal function of kidney Yang deficiency rats induced by hydrocortisone. **Methods** Rats were randomly divided into four groups, including control, model, low-, and high-dose XO groups. The rats in the control group were im administered with physiological saline [1 mL/(kg·d)], others were im administered with hydrocortisone [25 mg/(kg·d)], and the volume of administration was 1 mL/(kg·d). The rats in all groups were consecutively administered for 8 d. The rats in low- and high-dose XO groups were ig administered with XO (21 and 42 g/kg), twice daily, for 12 d. The control and model groups were ig administered with pure water. The changes in the body weight of rats were observed. One hour after the last administration, the blood was obtained through abdominal aorta after the rats were anesthetized by 4.5% pentobarbital sodium, then the serum aldosterone, creatinine, and urea were evaluated, urine protein, concentration of Na⁺ and K⁺ in urinary were determined, and the kidney and spleen of rats were weighed. **Results** After 12 d of administration, the body weight of rats in low- and high-dose XO groups showed a increasing trend compared with those in the model group without statistical significance ($P>0.05$). The kidney and spleen weight of rats in high-dose XO group were significantly higher than those in the model group ($P<0.05$). Serum creatinine of rats in high-dose XO group was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$). Urine protein and concentration of K⁺ in urinary had no significant difference between groups ($P>0.05$), but high-dose XO could increase the excretion of urinary Na⁺. **Conclusion** XO could prevent kidney and spleen from weight losing of kidney Yang deficiency rats induced by hydrocortisone, reduce the serum creatinine, and increase Na⁺ excretion of urine.

收稿日期: 2013-01-04

基金项目: 天津市卫生局中医、中西医结合科研课题 (07054)

作者简介: 史党民, 男, 主任医师, 研究方向为妇产科临床疾病的预防、诊断与治疗。Tel: 18920196065 E-mail: 825012388@qq.com

*通信作者 孙国珍, 女, 天津市中心妇产科医院药剂科主任药师。Tel: (022)58287611 E-mail: sunguozhen40@sina.com

XO has obvious amelioration on the renal function of kidney Yang deficiency rats.

Key words: Xiaoshuizhong Ointment; hydrocortisone; kidney Yang deficiency; renal function

妊娠期高血压综合征(简称妊高征),是妊娠期特有的疾病,一般发生于妊娠20周以后,临床表现为高血压、蛋白尿、浮肿,严重时出现抽搐、昏迷、心肾功能衰竭,甚至发生母婴死亡。目前尚无既能利尿又不影响血流变的化学药防治妊高征。基于妊高征的基本病变是全身性小动脉痉挛,存在微循环障碍和血流浓缩现象,中医用药更多地从活血化瘀立论,使用活血或益气活血药物治疗,为妊高征的治疗开辟了新的途径。

消水肿膏(Xiaoshuizhong Ointment, XO)是天津市中心妇产科医院国务院特贴专家姚天一主任根据众多临床经验有选择性地应用活血化瘀药物丹参、川芎并配益气固本之黄芪研制而成,此方益气、化瘀有机结合,活血不忘安胎,能达到益气生血、行血行水之功。统计临床142例妊娠水肿患者,收到良好的治疗效果^[1]。肾阳虚是妊高征的中医病因之一。为探讨消水肿膏治疗妊高征的作用机制,本研究旨在观察其对肾阳虚大鼠的肾功能改善作用。

1 材料与方法

1.1 材料

T—1000 电子天平(常熟市双杰测试厂);PL203 精密电子天平[梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司];日本 AU—640 型奥林巴斯全自动生化分析仪;FT2630 G 型 γ 计数器(北京核仪器厂);美国 NOVA 生化分析仪。

氢化可的松琥珀酸钠由天津生物化学制药有限公司生产,规格 50 mg/支,粉末状,批号 20090202。使用前用无菌生理盐水配制成 2 mL/支(质量浓度为 25 mg/mL)待用;肌酐(CREA)试剂盒德国罗氏诊断有限公司生产,批号 614275-01;尿素(UREA)试剂盒德国奥林巴斯(欧洲)诊断有限公司生产,批号 7531;尿蛋白(UTP)试剂盒保定长城临床试剂有限公司生产,批号 20090515; K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 试剂盒由美国 NOVA 公司生产,批号 907184;醛固酮放免试剂盒由法国 Immunotech SA 公司生产;0.9%氯化钠注射液中国大冢制药有限公司生产,批号 8C93B。

消水肿膏为棕色膏状,规格 2.246 g 生药/g,用纯净水配制成不同浓度的应用液。大鼠实验剂量设计高剂量为临床人用剂量的 30 倍,即 42 g 生药/kg,

低剂量为临床人用剂量的 15 倍,即 21 g 生药/kg。

SD 大鼠,体质量(290.0 $\pm$ 10.0) g,由北京大学医学部实验动物科学部提供,许可证编号:SCXK(京)2006-0008。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及造模 大鼠经适应喂养 3 d 后,按照体质量随机分为 4 组:正常组,模型组,消水肿膏高、低剂量组。正常组大鼠后肢 im 生理盐水 1 mL/(kg·d),其余大鼠均后肢 im 氢化可的松 25 mg/(kg·d),给药体积 1 mL/kg,两后肢交替注射,连续注射 8 d。

1.2.2 给药方法 注射氢化可的松 5 d 开始 ig 受试药物。消水肿膏剂量组 ig 消水肿膏 42、21 g 生药/kg,每次 ig 体积为 10 mL/kg,2 次/d,连续 12 d。正常组与模型组 ig 相同体积的纯净水。

1.2.3 观察项目 观察记录大鼠体质量变化;末次给药后 1 h 采血,分离血清,测定血清中肌酐(CREA)、尿素(UREA)、醛固酮(ALD)的水平;膀胱穿刺取尿,与日间 3 次腹部按压收集的尿液混合后测定尿蛋白的浓度;解剖摘取肾、脾脏,并分别称量质量。

1.2.4 统计方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两均数比较用 t 检验,多组均数的比较用单因素方差分析,所有统计学处理均由 SPSS 11.5 软件完成。

2 结果

2.1 动物造模情况

大鼠注射氢化可的松后相继出现畏寒喜暖、竖毛、反应迟钝、卷曲拱背、自发活动减少等肾阳虚症状,与文献报道一致^[2],说明动物造模成功。

2.2 对肾阳虚大鼠体质量的影响

注射氢化可的松 5 d 时模型组大鼠体质量增长较正常组明显降低($P < 0.01$),实验结束时,两组大鼠体质量仍存在显著差异($P < 0.05$)。连续给药 12 d,消水肿膏高、低剂量组大鼠体质量与模型组比较有增长趋势,但无统计学差异($P > 0.05$),结果见表 1。

2.3 对肾阳虚大鼠脾、肾质量的影响

模型组大鼠肾脏质量较正常组比较明显减轻($P < 0.05$),消水肿膏高剂量组与模型组相比,大鼠肾脏、脾脏质量均有所增加,且两组差异有统计学

意义 ($P<0.05$), 而消水肿膏低剂量组与模型组比较无统计学差异, 见表 2。

2.4 对肾阳虚大鼠肾功能及醛固酮分泌的影响

模型组大鼠血清尿素、肌酐、醛固酮水平与正常组相比均无统计学差异; 消水肿膏高剂量组大鼠血肌酐与模型组相比显著降低 ($P<0.01$), 而低剂量组与模型组比较无统计学差异; 各组大鼠血清醛固酮含量无明显差异, 见表 3。

2.5 对肾阳虚大鼠尿液成分的影响

模型组大鼠尿蛋白以及尿 K^+ 水平与正常组相比未见显著差异 ($P>0.05$), 消水肿膏低、高剂量组与模型组大鼠相比尿蛋白水平未见明显减少。模型组大鼠尿 Na^+ 浓度显著低于正常组 ($P<0.05$), 消水肿膏低、高剂量组大鼠尿 Na^+ 较模型组有增多趋势, 但未见明显统计学差异 ($P>0.05$, $P>0.05$), 见表 4。

表 1 消水肿膏对肾阳虚大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effects of XO on body weight of kidney Yang deficiency rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	造模前	造模 5 d	给药 12 d
正常	—	284.33±8.15	322.46±15.14	378.29±24.65
模型	—	281.86±8.70	302.61±14.20**	356.48±15.09*
消水肿膏	21	284.07±9.66	304.36±13.99	368.42±19.65
	42	283.80±9.28	305.41±6.48	364.89±17.35

与正常组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group

表 2 消水肿膏对肾阳虚大鼠肾脏、脾脏质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effects of XO on weight of kidney and spleen of kidney Yang deficiency rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肾脏质量/g	脾脏质量/g
正常	—	2.429±0.215	0.986±0.189
模型	—	2.229±0.179*	0.919±0.141
消水肿膏	21	2.356±0.254	0.950±0.127
	42	2.481±0.282 [▲]	1.112±0.238 [▲]

与正常组比较: * $P<0.05$ 与模型组比较: [▲] $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group [▲] $P<0.05$ vs model group

表 3 消水肿膏对肾阳虚大鼠肾功能及醛固酮分泌的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of XO on renal function and aldosterone secretion of kidney Yang deficiency rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	尿素/mmol·L ⁻¹	肌酐/μmol·L ⁻¹	醛固酮/ng·dL ⁻¹
正常	—	5.30±0.88	28.16±2.64	15.78±6.74
模型	—	5.50±0.59	29.67±2.34	15.46±3.23
消水肿膏	21	6.20±0.95	27.51±1.90	14.92±1.88
	42	5.87±0.99	26.11±1.88 ^{▲▲}	15.79±2.89

与模型组比较: ^{▲▲} $P<0.01$

^{▲▲} $P<0.01$ vs model group

表 4 消水肿膏对肾阳虚大鼠尿液成分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of XO on urine components of kidney Yang deficiency rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	尿蛋白/mg·L ⁻¹	尿 Na^+ /mmol·L ⁻¹	尿 K^+ /mmol·L ⁻¹
正常	—	0.11±0.08	30.73±12.84	45.82±17.04
模型	—	0.12±0.09	22.08±4.37*	44.73±20.04
消水肿膏	21	0.11±0.04	30.94±10.01	60.84±33.05
	42	0.10±0.05	31.99±25.88	33.36±17.43

与正常组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

3 讨论

目前肾阳虚证动物模型的诊断标准主要是《中医虚证辨证参考标准》^[3]，通过观察动物的外观表现判断其与肾阳虚证的符合程度，以此确定模型是否成功。目前较为常用的方法是利用激素的生理效应致下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴反馈抑制，当皮质激素突然停用，下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的抑制状态即暴露出来，对外界环境变化的应激、适应能力显著下降，水、电解质代谢失调，出现一系列的阳虚表现^[4-5]。动物外形的衰弱与寒象等与“阳虚”患者有类似之处，又由于大量外源性皮质激素的影响，使动物肾上腺萎缩，内源性皮质激素合成及释放减少，这也与“阳虚”患者皮质功能减退一致。本研究选用氢化可的松制备大鼠肾阳虚模型，对造模过程需要注意的几点问题进行反复的探索和实践，确立并优化了氢化可的松琥珀酸钠制剂肌肉注射制备大鼠肾阳虚模型的方法，为相关药物的研究提供了药理方法学的参考。

消水肿膏由丹参、川芎、黄芪、冬瓜皮、茯苓皮、车前子、姜皮、泽泻组成。本实验模型选用肾阳虚模型的原因，主要考虑“阳虚水泛”的中医病因病机，组方中的冬瓜皮、茯苓皮、车前子、泽泻均有利水消肿的功效，姜皮为助阳之品，姜皮的运用可起到温中散寒、温煦阳气的作用，对肾阳虚病机起到助阳作用。消水肿膏能明显对抗肾脏质量减轻的“肾阳虚”症状，同时对肾阳虚大鼠脾脏的质量亦有增加作用，提示消水肿膏对肾阳虚大鼠的免

疫功能具有促进作用。

慢性肾功能不全时，肾小球滤过率下降导致肾实质缺血，因而随着内生肌酐清除率下降，血清醛固酮水平开始升高，当内生肌酐清除率下降至低于正常50%以下时，血清醛固酮水平开始升高。消水肿膏高剂量组大鼠血清肌酐含量与模型组比较显著减低。消水肿膏42、21 g生药/kg可增加尿 Na^+ 的排泄量，同时减少尿 K^+ 排泄量，通过排钠保钾达到利尿消肿的功效。

本研究观察到消水肿膏可以对抗氢化可的松导致的肾阳虚大鼠肾脏、脾脏质量减轻症状，能够降低肾阳虚大鼠血清肌酐水平，可增加尿 Na^+ 的排泄量，有一定的利水作用，对肾阳虚大鼠的肾功能具有明显改善作用。

参考文献

- [1] 姚天一, 张玉红, 侯卫萍, 等. 消肿散防治妊高征 142例临床分析 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2000, 16(8): 506-508.
- [2] 钱善军. 金匱肾气口服液对肾阳虚证大鼠影响的实验研究 [J]. 安徽卫生职业技术学院学报, 2009, 8(4): 78-79.
- [3] 沈自尹, 王文健. 中医虚证辨证参考标准 [J]. 中西医结合杂志, 1986, 10: 598.
- [4] 陈小野. 实用中医证候动物模型学 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993: 100-117.
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 982.