

缩泉丸对肾虚多尿大鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的影响

李淑雯^{1*}, 胡律江², 吴清和³

(1. 江西中医药高等专科学校, 江西 抚州 3340002; 2. 江西中医学院, 南昌 366000;
3. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 通过研究缩泉丸对下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统的调节作用, 阐明其补肾缩尿的机制。方法: 采用腺嘌呤 (150 mg·kg⁻¹, ig 4 周) 造成肾虚多尿大鼠模型。造模第 2 周起开始按组 ig 缩泉丸 (1. 170, 0. 585, 0. 293 g·kg⁻¹)、金锁固精丸 (0. 968 g·kg⁻¹) 连续 4 周, 另设正常对照组、模型对照组。利用 ELISA 法、放射免疫法检测血浆促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH)、促肾上腺皮质激素 (ACTH)、环磷酸腺苷 (cAMP) 的含量, 并取垂体、肾上腺称质量计算脏器系数。结果: 与模型组比较, 缩泉丸可显著提高肾虚多尿大鼠血中 CRH, ACTH, cAMP 含量, 并可提高其垂体、肾上腺系数。结论: 缩泉丸可通过上调下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统 (HPA) 系统的功能发挥调节人体水液代谢的作用, 从调节内分泌系统角度阐明了缩泉丸补肾缩尿的作用机制。

[关键词] 缩泉丸; 肾虚多尿; 下丘脑-垂体-肾上腺系统

[中图分类号] R285. 5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0125-03

[DOI] CNKI:11-3495/R. 20110622. 1305. 007 **[网络出版时间]** 2011-06-22 13:05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110622.1305.007.html>

Effect of Suoquanwan on HPA in Rats with Kidney Deficiency and Diuresis

LI Shu-wen^{1*}, HU Lv-jiang², WU Qing-he³

(1. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 344000, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 366000, China;

3. College of Chinese Materia Medica, University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism of nourishing kidney and reducing urine by investigating the regulative action of Suoquanwan to HPA. **Method:** The rat model of kidney deficiency and diuresis was established by adenine (150 mg·kg⁻¹, ig 4 weeks), From the second week after the model establishment, the treatments were ig given, including Suoquanwan (1. 170, 0. 585, 0. 293 g·kg⁻¹), Jinsuo Gujin Wan (0. 968 g·kg⁻¹). The contents of CRH, ACTH, cAMP in blood in model group, Suoquanwan group, Jinsuo Gujin Wan group and controll group were determined with ELISA and RIA technology, and also the hypophysis index and adrenal gland index were calculated. **Result:** Compared with the model group, Suoquanwan could remarkably increase the contents of CRH, ACTH, cAMP in blood in rats with kidney deficiency and diuresis and improve the hypophysis exponent and adrenal gland exponent. **Conclusion:** Suoquanwan can enhance the action of body adjusting water metabolize by coordinating the function of HPA. The results of the experiment expound the mechanism of nourishing the kidney and reducing urine of Souquan Wan from the point of view of endocrine.

[收稿日期] 2011-01-30

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30873425); 江苏省自然科学基金项目 (2010GQY0186)

[通讯作者] * 李淑雯, 副教授, 中药学博士, 从事中药复方药理研究, Tel: 15879846716, E-mail: lswzyh@ qq. com

[Key words] Suoquanwan; kidney deficiency and diuresis; HPA

下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统(HPA)为人体重要的神经内分泌调节系统,调节着机体内环境和外环境之间的相互平衡,内分泌系统功能障碍是虚证的重要表现之一,阴虚患者通常表现为 HPA 轴功能亢进,而阳虚患者通常表现为 HPA 轴功能的抑制。肾气充足则能温煦膀胱,固摄有权,膀胱开阖有度,维持水液的正常代谢。由于先天禀赋不足,或病后失调,素体虚弱导致肾气不足,下元虚冷,失去固摄与司膀胱开阖作用,膀胱气化制约功能失调,因而出现多尿、遗尿、小便失禁等。因此肾虚多尿的患者通常表现出 HPA 轴功能的抑制。HPA 轴在人体的水液代谢中发挥了重要作用。HPA 轴通过调节下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素(CRH 或 CRF)的合成和释放,刺激垂体分泌促肾上腺皮质激素(ACTH),ACTH 通过激活肾上腺皮质细胞膜上腺苷酸环化酶(AC),促进 cAMP 生成,引起醛固酮(ALD)的合成,从而调节机体的水液代谢。缩泉丸由乌药、益智仁、山药组成,是临床用于治疗多尿、尿频、遗尿的经典复方制剂,疗效确切。本研究从内分泌角度对腺嘌呤肾虚多尿模型大鼠进行了研究,探讨了缩泉丸通过影响 HPA 轴调节水液代谢的机制。

1 材料与方法

1.1 动物 SD 大鼠,SPF 级,雌雄各半,体重 160 ~ 180 g,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号 2007A003。

1.2 药物与试剂 腺嘌呤(上海昊化化工有限公司),缩泉胶囊(湖南汉森制药有限公司,批号 070901),金锁固精丸(九芝堂股份有限公司,批号 20071111)。大鼠 CRH(促肾上腺皮质激素释放激素)、ACTH(促肾上腺皮质激素)ELISA 试剂盒(美国 ADL 公司提供,批号 RT110371),大鼠血浆 cAMP(环磷酸腺苷)试剂盒(批号 080520,由北京北方生物技术研究提供)。

1.3 仪器 SN-695B 放免测量仪(上海原子核所日环仪器厂),液体闪烁计数器(Bekman 公司), γ DP5500 计数器(Bekman 公司),QL-190 旋涡混合器(江苏省海门其林医用仪器厂),JB-1 搅拌器(上海雷磁仪器厂),RT-2100C 自动酶标仪(美国 Rayto 公司)。

1.4 动物分组与给药 根据改良 Aston 方法^[1]对

实验大鼠进行尿量筛选,将合格大鼠(雌雄各半)随机分为正常对照组、模型对照组、金锁固精丸组(0.968 g·kg⁻¹)、缩泉丸高、中、低剂量组(1.170, 0.585, 0.293 g·kg⁻¹)。除正常对照组外,各组大鼠腺嘌呤 150 mg·kg⁻¹ ig 4 周,每周测量体重 1 次,调整造模给药剂量。造模第 2 周起,各给药组动物 ig 连续 4 周。

1.5 检测指标 于给药后 30 d,代谢笼收集 24 h 尿液检测尿量,眼眶静脉丛采血,离心分离血浆,分别检测 CRH,ACTH,cAMP,颈椎脱臼处死,取肾上腺、垂体称质量,计算脏器指数。

1.6 统计方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异的显著性检验运用 SPSS 13.0 软件提供的非参数检验和单因素方差分析方法, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察 与正常组比较,模型组大鼠腺嘌呤 ig 1 周后,出现畏寒肢冷、倦缩拱背、多尿、活动减少、反应迟钝、喜扎堆、体毛枯疏、多尿等明显肾阳虚外在表现。

2.2 24 h 尿量 与正常组比较,模型组大鼠 24 h 尿量显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,缩泉丸高、中剂量组、金锁固精丸组大鼠 24 h 尿量明显减少($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 缩泉丸对肾虚多尿大鼠 24 h 尿量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	尿量/mL·(100 g) ⁻¹
正常	-	8.12 ± 2.25 ²⁾
模型	-	14.36 ± 4.37
缩泉丸	1.170	10.23 ± 1.06 ²⁾
	0.585	11.98 ± 2.02 ¹⁾
	0.293	13.29 ± 1.87
金锁固精丸	0.968	10.19 ± 1.63 ²⁾

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

2.3 对血浆 CRH,ACTH,cAMP 含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠血中 CRH 明显下降($P < 0.01$);与模型组比较,缩泉丸高剂量组大鼠血中 CRH 明显升高($P < 0.05$)。与正常组比较,模型组动物血浆 ACTH 明显下降($P < 0.01$);与模型组比较,缩泉丸中、高剂量组、金锁固精丸组血浆 ACTH 明显升高($P < 0.01, P < 0.05$)。与正常组比较,模型组大鼠血浆 cAMP 明显升高($P < 0.01$);与模型组

比较,缩泉丸高剂量组大鼠血浆 cAMP 明显升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 缩泉丸对肾虚多尿大鼠血浆 CRH, ACTH, cAMP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	CRH	ACTH	cAMP
		/g·mL ⁻¹	/pg·mL ⁻¹	/pmol·mL ⁻¹
正常	-	7.22 ± 2.49 ²⁾	96.44 ± 38.45 ²⁾	30.15 ± 10.01 ²⁾
模型	0.15	4.21 ± 1.89	37.37 ± 13.07	65.25 ± 25.16
缩泉丸	1.170	6.24 ± 1.49 ¹⁾	66.43 ± 11.39 ²⁾	92.32 ± 22.59 ¹⁾
	0.585	5.48 ± 1.12	58.47 ± 24.47 ¹⁾	78.72 ± 21.59
	0.293	4.96 ± 0.86	42.03 ± 9.08	75.52 ± 18.69
金锁固精丸	0.968	4.66 ± 1.01	63.31 ± 18.44 ¹⁾	70.18 ± 29.30

2.4 对大鼠肾上腺及垂体系数的影响 与正常组比较,模型组大鼠肾上腺、垂体系数明显下降 ($P < 0.05$);与模型组比较,缩泉丸高、中剂量组大鼠肾上腺系数均明显升高 ($P < 0.01, P < 0.05$);缩泉丸高剂量组垂体系数明显升高 ($P < 0.05$);金锁固精丸组肾上腺、垂体系数明显升高 ($P < 0.01, P < 0.05$)。

表 3 缩泉丸对肾虚多尿大鼠肾上腺系数、垂体系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$) mg(100 g)⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肾上腺系数	垂体系数
正常	-	29.41 ± 11.2 ¹⁾	4.34 ± 0.93 ¹⁾
模型	0.15	17.60 ± 5.0	2.38 ± 0.86
缩泉丸	1.170	27.82 ± 9.7 ²⁾	3.22 ± 0.69 ¹⁾
	0.585	23.00 ± 7.9 ¹⁾	2.83 ± 0.81
	0.293	19.73 ± 7.8	2.71 ± 0.36
金锁固精丸	0.968	29.71 ± 7.6 ²⁾	3.04 ± 0.44 ¹⁾

3 讨论

本研究采用腺嘌呤复制“肾虚多尿”模型,腺嘌呤的代谢产物 2,8-二羟腺嘌呤可机械性阻塞肾小管,可影响肾小管对尿液的重吸收和分泌功能,导致其对水、钠的重吸收减少而致水液代谢异常引起多尿。本实验结果表明,造模开始 1 周后大鼠出现明显的“肾阳虚”外观行为表现和 24 h 尿量明显增多,可初步确定腺嘌呤复制“肾虚多尿”模型成功。

下丘脑产生的 CRH 是 ACTH 分泌的主要生理调节物,为控制垂体-肾上腺轴的主要化学信使物质,CRH 的生物学效应主要通过 ACTH 的释放来体现。ACTH 是垂体分泌的重要激素之一,是控制肾上腺皮质激素合成和分泌的重要激素,其合成与分泌对下丘脑-垂体-肾上腺功能轴的调控具有重要意义,可反映出下丘脑-垂体-肾上腺轴的功能状态^[1]。

ACTH 与肾上腺皮质类固醇激素具有密切关系,其一方面可通过其受体刺激盐皮质激素醛固酮 (ALD) 的分泌,另一方面还可激活肾上腺皮质细胞膜上 AC,促进 cAMP 生成,与 Ca²⁺ 协调发挥调节 Na⁺, K⁺ 平衡生理效应,进而调节 ALD 的分泌,影响水液代谢^[2-3]。

垂体是神经内分泌枢纽腺体,是人体最重要的内分泌腺,可分泌 ACTH,控制肾上腺皮质,促进肾上腺皮质激素合成和释放。肾上腺皮质是机体重要的内分泌器官,在下丘脑、垂体的调控下,其分泌的盐皮质激素具有重要的作用,无论是外源性药理剂量的盐皮质激素,还是内源性产生的生理水平的盐皮质激素均发挥重要的水液调节效应。由此可见,ACTH, cAMP, 肾上腺,垂体与 HPA 轴调节水、盐代谢密切相关^[4]。

本研究结果显示,缩泉丸可增加血浆中 ACTH, cAMP 含量,并可提高肾上腺、垂体质量,分析其缩尿的作用机制应与以下几个方面有关:缩泉丸可通过增加垂体的质量进而促进血浆中 ACTH 分泌,一方面传递到肾上腺皮质直接刺激 ALD 的分泌从而减少尿量;另一方面激活肾上腺皮质细胞膜上 AC,促进 cAMP 生成, cAMP 与 Ca²⁺ 协调发挥调节 Na⁺, K⁺ 平衡生理效应,进而调节醛固酮的分泌,影响水液代谢。实验结果表明,缩泉丸可通过调节 HPA 系统的功能从而发挥调节人体水液代谢的作用,此结果从调节内分泌系统的角度阐明了缩泉丸补肾缩尿的作用机制。

[参考文献]

- [1] 王蕾,姚东云,马红梅,等. 中药利尿药理实验动物筛选方法探讨[J]. 中国比较医学杂志,2006,11(11):694.
- [2] 张先钧,耿排力,赵明,等. 用酶联免疫吸附实验法检测不同海拔水平大鼠垂体组织匀浆中 ACTH 的含量[J]. 高原医学杂志,2005,15(2):54.
- [3] 孙琿,李晓苗,宋白利,等. 不同浓度尿酸和胰岛素对猪近端肾小管上皮细胞株 cAMP 水平及 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响[J]. 第四军医大学学报,2006,27(14):1270.
- [4] 张秀珍. 内分泌代谢疾病与肾脏[M]. 上海:复旦大学出版社,2004:35.

[责任编辑 何伟]