

双参苓颗粒治疗慢性肾功能衰竭的实验研究

赵晓霞¹, 马田田², 张永丽¹, 伍湘瑾^{2*}

(1. 北京因科瑞斯生物制品研究所, 北京 102206; 2. 辽宁省药物研究院, 沈阳 110003)

[摘要] 目的: 双参苓颗粒为临床治疗慢性肾衰良方, 研究其相关药效, 为其临床应用提供实验依据。方法: 观察双参苓颗粒 ig 给药对腺 呤所致慢性肾功衰竭大鼠血清尿素氮(BUN), 肌酐(Crea) 血瘀大鼠低切变速率下的血液黏度、小鼠肾上腺素致微循环障碍及环磷酰胺致免疫功能低下小鼠的碳廓清指数等的影响。结果: 双参苓颗粒 ig 给药对腺 呤所致慢性肾功衰竭大鼠血清 BUN, Crea 升高有明显降低作用, 明显降低血瘀大鼠低切变速率下的血液黏度, 促进肾上腺素致微循环障碍的恢复, 明显升高免疫功能低下小鼠的碳廓清指数。结论: 双参苓颗粒对慢性肾功衰竭大鼠的高氮质血症及贫血状态有明显改善作用, 对慢性肾衰具有一定的治疗作用, 这种治疗作用与降低血液黏度、改善微循环、提高免疫功能有一定的联系。

[关键词] 双参苓颗粒; 慢性肾功能衰竭; 实验研究

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0115-03

Experimental Study on Shuangshenling Granules in Treating Chronic Renal Failure

ZHAO Xiao-xia¹, MA Tian-tian², ZHANG Yong-li¹, WU Xiang-jin^{2*}

(1. Beijing Increase Institute of Healthy Product, Beijing 102208, China;

2. Liaoning Institute of Pharmacy, Shenyang 110003, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Shuangshenling Granules on treating chronic renal failure (CRF) and explore its mechanism to provide experimental basis for clinical application. **Method:** Rat model of CRF was induced by adenine and the effect of Shuangshenling Granules was tested. The effect on hemorheological indexes of blood stasis in rats, such as blood viscosity at low shear rate, was investigated; and the effects on microcirculatory disturbance and immunological function in mice were also tested. **Result:** Shuangshenling Granules could decrease the increased BUN and Crea induced by adenine in rat. The Granules could also improve the hemorheological indexes, microcirculation and immunological function in the experimental animals. **Conclusion:** Shuangshenling Granules have the function of delaying the progress of CRF which is related with hemorheological indexes, microcirculation and immunological function.

[Key words] Shuangshenling Granules; chronic renal failure; experimental study

双参苓颗粒处方由红参、丹参、茯苓、山药、冬虫夏草、川芎、大黄组成, 具有温补脾肾, 活血化瘀, 渗

湿泄浊的功效, 主要用于慢性肾功能衰竭之脾肾阳虚、瘀血内阻证。临床应用多年取得了很好的疗效。本文通过大鼠慢性肾功衰竭模型, 观察了双参苓颗粒对慢性肾功能衰竭的治疗, 从而为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠, 雌雄兼用, 体重 180 ~220 g; 小白鼠, 昆明种, 18 ~22 g, 均由中国医科大学第二临床学院动物室提供, 合格证号辽实动质字 021

[收稿日期] 20100327(004)

[基金项目] 北京市高成长企业自主创新科技专项支持项目

[作者简介] 赵晓霞, 女, 副研究员 研究方向: 中药新药研究开发 Tel: (010) 82271393

[通讯作者] * 伍湘瑾, 女, 研究员 研究方向: 中药药理学 Tel: (024) 24804965

号。

1.2 药品与试剂 双参苓颗粒剂: 每克药粉含生药 3.27 g, 由辽宁省医药工业研究院中药研究室委托药厂加工, 批号 20001105。阳性对照药尿毒清颗粒剂, 由广州康臣制药厂生产, 批号 200003031。批准文号(1997)卫药准字 Z-024 号。腺 呤由上海丽珠东风生物技术有限公司生产, 批号 20000474。

2 方法

2.1 双参苓颗粒对腺 呤诱发大鼠慢性肾衰的治疗作用

2.1.1 分组及给药 本实验设 6 组: 正常对照组、模型组、双参苓颗粒 2.70, 1.35, 0.68 g·kg⁻¹、尿毒清颗粒 2.30 g·kg⁻¹。造模成功后, 开始 ig 给药, 模型组与正常组给予等容量的生理盐水, 每天给药 2 次, 连续 4 周。

2.1.2 造模及检测方法 取 50 只大鼠(雌雄各半), 按照文献方法^[1]制作慢性肾衰大鼠模型, 大鼠 ig 给予腺 呤 400 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 连续 14 d 后, 眶静脉采血测尿素氮(BUN), 肌肝(Crea), 随机分 5 组, 每组 10 只。正常对照组另设。按上述药物剂量 ig 给药, 每日剂量分上、下午 2 次给药, 连续给药 4 周, 采血测 BUN, Crea。

2.2 双参苓颗粒对血瘀大鼠血液流变学的影响

2.2.1 分组及给药 取雄性大鼠 60 只, 随机分为 6 组: 正常对照组, 模型组, 双参苓颗粒 4.0, 2.0, 1.0 g·kg⁻¹, 尿毒清颗粒 2.30 g·kg⁻¹。每组 10 只, ig 给药。正常对照组与模型组给予等容量的生理盐水。

2.2.2 造模及检测方法 给药第 7 天, 模型组及给药组每天分两次 sc 0.1% 肾上腺素 0.02 mL/只, 两次间隔 6 h, 第 1 次注射后 3 h, 将动物放入 4℃ 冰水中 5 min 行冷刺激 1 次, 依此连续 2 d, 造成动物血瘀, 同时给药组继续给药, 末次注射肾上腺素 18 h 后, 眶静脉采血 2 mL, 测血液黏度(低切变速率 3 s⁻¹)。

2.3 双参苓颗粒对小鼠肠系膜循环的影响

2.3.1 分组及给药 将 50 只小白鼠, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 双参苓颗粒 8.0, 4.0, 2.0 g·kg⁻¹尿毒清颗粒 5.5 g·kg⁻¹及正常对照组。每天 ig 给药 1 次, 连续给药 7d, 正常组 ig 等容量生理盐水。

2.3.2 造模及检测方法 按上述分组连续给药 7 d

后, 用 10% 乌拉坦 0.18 mL·10 g⁻¹ 麻醉小鼠, 仰卧位, 打开腹腔, 轻轻取出肠系膜, 平铺于特制的塑料盒上, 置光学显微镜下, 观察肠系膜微循环状态, 然后向局部滴注 1×10⁻³ 肾上腺素生理溶液 4 μg, 以局部微循环停止至微循环恢复的时间为指标, 比较药物对肾上腺素引起肠系膜微循环障碍的影响。

2.4 双参苓颗粒对小鼠碳廓清的影响

2.4.1 分组及给药 取 60 只小鼠(雌雄各半), 随机分为 6 组: 正常对照组、模型组、双参苓 5.50, 2.75, 1.40 g·kg⁻¹组、尿毒清 4.62 g·kg⁻¹组。ig 给药。模型组与正常对照组 ig 同体积的生理盐水, 每天给药 1 次, 连续给药 10 d。

2.4.2 造模及检测方法 参考文献方法^[2], 给药第 6 天除正常对照组外, 各组均 ip 环磷酰胺 0.02 g·kg⁻¹, 每日 1 次, 共 5 d。末次给药后 24 h, 每鼠尾静脉 iv 印度墨汁(用生理盐水稀释 10 倍) 0.05 mL·10 g⁻¹, 注射后 2, 10 min 分别从眶静脉丛取血 20 μL, 加到 2 mL 0.1% Na₂CO₃ 溶液中摇匀, 用 72 型分光光度计在波长 680 nm 下比色, 测吸光度 A₁, A₂, 按下式计算廓清指数 K 值。

$$K = \frac{\log A_1 - \log A_2}{t_2 - t_1}$$

2.5 计算及统计处理

结果采用 t 检验法进行组间比较。

3 结果

3.1 双参苓颗粒对腺 呤诱发大鼠 CRF 的治疗作用 双参苓颗粒 2.70, 1.35 g·kg⁻¹ 连续给药 4 周对腺 呤诱发慢性肾功衰竭大鼠的 BUN, Crea 升高均有非常明显的降低作用, 与尿毒清比较无明显差异, 具体结果见表 1。

3.2 双参苓颗粒对血瘀大鼠血液流变学的影响 尿毒清颗粒、双参苓颗粒各剂量均可明显降低血瘀大鼠低切变速率下的血液黏度, 提示两药均有明显的化瘀作用; 双参苓 2.70 g·kg⁻¹ 降血瘀大鼠低切变速率下的血液黏度作用优于尿毒清, 具体结果见表 2。

3.3 双参苓对小鼠实验性微循环障碍的影响 尿毒清颗粒、双参苓颗粒 5.5, 2.75 g·kg⁻¹ 均可明显加快肾上腺素引起的小鼠肠系膜微循环障碍恢复时间, 表明两药物均具有活血作用, 而双参苓颗粒 5.5 g·kg⁻¹ 活血作用明显优于阳性对照药尿毒清, 具体结果见表 3。

表 1 双参苓颗粒对腺 呤诱发大鼠 CRF 的治疗作用 (珣±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	BUN /mmol·L ⁻¹		Crea / μmol·L ⁻¹	
		造模后	给药 1 个月	造模后	给药 1 个月
正常组	—	4.70 ±1.16	4.64 ±0.98 ²⁾	79.30 ±11.80	74.10 ±9.40 ²⁾
模型组	—	26.28 ±5.87	23.98 ±5.32	644.10 ±61.49	361.50 ±67.91
双参苓	2.70	26.17 ±3.75	14.62 ±2.48 ²⁾	641.40 ±81.55	234.70 ±73.63 ²⁾
双参苓	1.35	27.15 ±3.52	15.14 ±2.00 ²⁾	642.30 ±60.19	249.10 ±55.97 ²⁾
双参苓	0.68	26.87 ±3.41	20.52 ±4.48	636.60 ±75.40	302.20 ±50.95
尿毒清	2.30	26.86 ±5.57	15.06 ±2.07 ²⁾	639.20 ±85.75	246.20 ±66.33 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ P<0.05, ²⁾ P<0.01。

表 2 对血瘀大鼠血液流变学的影响 (珣±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	血液黏度 /mPa·S (低切变速率 3 s ⁻¹)
正常组	—	15.39 ±0.65 ²⁾
模型组	—	16.58 ±0.36
双参苓	2.70	14.60 ±0.36 ^{2,3)}
双参苓	1.35	15.42 ±0.46 ²⁾
双参苓	0.68	15.68 ±0.56 ¹⁾
尿毒清	2.30	15.25 ±0.59 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ P<0.05, ²⁾ P<0.01;与尿毒清组比较³⁾ P<0.05, ⁴⁾ P<0.01(下同)。

表 3 双参苓对小鼠实验性微循环障碍的影响 (珣±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	微循环恢复时间 /s
模型组	—	163.4 ±21.6
双参苓	5.50	81.3 ±12.6 ^{2,4)}
双参苓	2.75	140.5 ±20.0 ¹⁾
双参苓	1.40	148.7 ±15.2
尿毒清	4.62	124.4 ±20.7 ²⁾

3.4 双参苓颗粒对小鼠碳廓清的影响 尿毒清颗粒和双参苓颗粒各剂量均可明显增加免疫功能低下小鼠的碳廓清指数,提示两药均具有提高动物免疫力的作用,双参苓颗粒各剂量作用均优于尿毒清,具体结果见表 4。

表 4 双参苓颗粒对小鼠碳廓清的影响 (珣±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	K
正常组	—	0.052 ±0.057 ²⁾
模型组	—	0.021 ±0.011
双参苓	5.50	0.039 ±0.007 ^{2,4)}
双参苓	2.75	0.035 ±0.009 ^{2,3)}
双参苓	1.40	0.033 ±0.008 ²⁾
尿毒清	4.62	0.030 ±0.009 ¹⁾

4 讨论

目前已上市销售的治疗慢性肾衰的中成药品种很少,主要以利湿降浊、活血化瘀为主,对慢性肾功能衰竭病人久病体虚的情况考虑不足。双参苓颗粒组方既突出健脾补肾治本之法,又强调活血化瘀之功,兼顾利湿泄浊,符合慢性肾功能衰竭的复杂病机,远期治疗效果更佳。

本品的药效学试验共设计了双参苓颗粒对冷冻所致大鼠肾衰的影响、对腺 呤所致的大鼠肾衰的预防和治疗作用 3 个主要的药效学试验,结果比较一致,考虑到文章篇幅和本品与其他市售品种的比较优势,本文仅选择了双参苓颗粒对腺 呤所致大鼠肾衰的治疗作用、对血瘀大鼠血液流变学的影响、对小鼠实验性微循环障碍的影响和对小鼠碳廓清的影响试验予以讨论。

由实验结果可以看出,双参苓颗粒对慢性肾功能衰竭大鼠的高氮质血症及贫血状态有明显改善作用,这种治疗作用可能与降低血液黏度、改善微循环、提高免疫功能有关。双参苓与尿毒清对腺 呤诱发慢性肾功能衰竭大鼠的 BUN, Crea 升高均有非常明显的降低作用,二者比较无明显差异。而双参苓颗粒活血化瘀作用优于尿毒清,对免疫功能低下小鼠碳廓清指数的增加作用明显优于尿毒清,实验结果进一步验证了本品组方的优势,为本品治疗慢性肾衰的有效性提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 赵森,赵芳.肾衰方治疗慢性肾衰的实验研究[J].山东医药,1992,32(9):14.
- [2] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:711;757.
- [3] 王海燕.肾脏病理学[M].北京:人民卫生出版社,1996:514.

[责任编辑 聂淑琴]