

真武汤对大鼠阿霉素肾病的治疗作用及其机理研究

何 岚^{1*}, 蔡 宇², 陈朝晖³, 徐月红¹, 胡海燕¹

(1. 中山大学药学院, 广东 广州 510080; 2. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632;
3. 广州中医药大学, 广东 广州 510407)

[摘要] 目的: 观察真武汤对阿霉素(ADR)肾病大鼠尿蛋白及血脂的影响并对其作用机理进行初步探讨。方法: 制备阿霉素肾病大鼠模型, 实验结束时测定模型组和治疗组动物 24h 尿量、尿蛋白含量、血浆胆固醇、甘油三酯、肾组织的内皮素、血栓素 B₂ 以及血管紧张素 II 的水平, 并与正常组进行比较分析。结果: 真武汤给药组可明显降低肾病大鼠 24h 尿蛋白含量、血浆胆固醇、甘油三酯及肾组织的内皮素、血栓素 B₂、血管紧张素 II 的水平(与模型组比较, $P < 0.05$)。结论: 真武汤可改善阿霉素肾病大鼠的高血脂和蛋白尿, 其机理与影响了肾组织局部内皮素、血栓素 B₂、血管紧张素 II 的水平有关。

[关键词] 真武汤; 阿霉素肾病; 血脂; 内皮素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)02-0051-03

真武汤出自《伤寒论》, 原方为“脾肾阳虚, 水湿内停”而设, 功能温阳利水气, 现仍被广泛应用于临床各科以水液代谢失调为主的病症, 如蛋白尿、水肿等, 具有较显著疗效。我们采用阿霉素肾病大鼠模型对该方治疗蛋白尿的作用机理进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验药物 真武汤溶液的配制: 根据《伤寒论》原方所载, 全方由炮附子、茯苓、白术、芍药、生姜组成, 依次按 3: 3: 2: 3: 3 比例称重, 加 6 倍水浸泡过夜后煎煮 90min, 过滤煎液备用, 取滓再加入 6 倍水, 煎煮 60min 后, 过滤, 两次煎液合并混匀, 浓缩至 2.1g 生药/mL。盐酸阿霉素, 深圳万乐药业有限公司批号: 040021。

1.1.2 实验动物 清洁级雄性 SD 大鼠, 中山大学实验动物中心提供, 合格证号: 2002A57。

1.1.3 仪器 美国 Beckmancx-4 全自动生化分析仪, SN-682 放射免疫 γ 计数器, 紫外分光光度计: 尤

[收稿日期] 2005-01-04

[基金项目] 广东省中医药管理局资助项目(No. 1040063)

[通讯作者] 何岚, Tel: (020) 87333081; E-mail: helan2000@

尼柯(上海)仪器有限公司产品。

1.2 实验方法 肾病模型制备与分组 清洁级雄性SD大鼠(250±20g) 30只,随机选取10只为空白对照组,其余20只参照文献方法^[1,2]进行阿霉素肾病模型制备:乙醚麻醉大鼠后尾静脉注射阿霉素4.5mg/kg,常规喂养7d后再次以同样的方法注射阿霉素3.0mg/kg,空白对照组注射等量生理盐水。将阿霉素大鼠随机分为模型组和给药组,给药组动物每天灌胃给予真武汤溶液10mL/kg(相当于21g生药/kg),连续28天,每天1次,空白对照组及模型组灌胃给予等量生理盐水。给药期间每天观察食量、体毛、大便、精神状态及体重、水肿情况。给药第1、8、15、22及第28d将大鼠放置于代谢笼中留取24h尿液测定尿蛋白含量(考马斯亮蓝法):末次给药后24h乙醚麻醉下眶后静脉丛取血于自动生化分析仪测定血浆总蛋白、白蛋白、肌酐、尿素氮、总胆固醇、甘油三酯;脱颈椎处死后迅速取肾组织按放免试剂盒说明书测定肾组织匀浆上清液内皮素(ET)、血栓素B₂(TXB₂)、血管紧张素II(Ang II)的水平(药盒购自东

亚免疫技术研究所)。

2 实验结果

2.1 一般情况 模型组大鼠第二次注射后出现明显精神萎靡、体毛蓬松纠结、大便稀溏,食量减少、体重减轻,实验第3周开始出现水肿并逐渐加重,尤以腹水明显。真武汤组大鼠精神较好,食量较多,大便呈颗粒状,体重量于模型对照组,水肿较轻。

2.2 尿蛋白定量动态变化比较 各实验组于实验第二周始24h尿蛋白定量均明显高于正常对照组, $P < 0.01$ 。经给药1个月后,真武汤组的24h尿蛋白定量明显低于模型对照组, $P < 0.05$,见表1。

2.3 血液生化检查 模型组与真武汤组在实验结束时血浆总蛋白、白蛋白水平较低(与正常对照组相比, $P < 0.01$),而总胆固醇、甘油三酯均高于正常对照组($P < 0.01$),肌酐、尿素氮水平无明显改变;真武汤组在实验结束时血浆总蛋白、白蛋白水平均高于模型组($P < 0.05$),总胆固醇、甘油三酯水平则低于模型组($P < 0.05$),见表2。

表1 真武汤对ADR大鼠尿蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s$, mg/d, $n = 10$)

组别	第1周末	第2周末	第3周末	第4周末
正常对照组	19.67 ± 2.67	20.38 ± 5.89	21.67 ± 2.44	19.89 ± 1.45
模型组	185.03 ± 15.85 ²⁾	314.74 ± 25.55 ²⁾	452.36 ± 14.33 ²⁾	504.27 ± 30.82 ²⁾
真武汤组	189.47 ± 10.46 ^{1,2)}	235.58 ± 17.73 ^{1,2)}	302.16 ± 5.79 ^{1,2)}	315.56 ± 6.72 ^{1,2)}

注:与模型组相比,¹⁾ $P < 0.05$,与正常对照组相比,²⁾ $P < 0.01$ (下同)

表2 真武汤对ADR大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	项 目					
	总蛋白 (g/L)	白蛋白 (g/L)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	肌酐 (μ mol/L)	尿素氮 (mmol/L)
正常对照组	81.16 ± 5.77	43.28 ± 4.17	1.48 ± 0.34	0.96 ± 0.17	170.03 ± 70.66	8.21 ± 1.44
模型组	52.18 ± 3.96 ¹⁾	17.23 ± 0.98 ¹⁾	3.69 ± 1.72 ¹⁾	3.25 ± 0.67 ¹⁾	149.47 ± 66.72	6.95 ± 1.58
真武汤组	64.08 ± 6.35 ^{1,2)}	24.12 ± 2.98 ^{1,2)}	2.27 ± 0.87 ^{1,2)}	1.86 ± 0.73 ^{1,2)}	131.26 ± 28.84	8.00 ± 1.25

2.4 肾组织内皮素(ET)、血栓素B₂(TXB₂)、Ang II的测定 模型组与真武汤组的ET、TXB₂、Ang II水平均明显升高(与正常对照组相比, $P < 0.01$),但真武汤组的ET、TXB₂、Ang II水平较模型组显著降低($P < 0.01$),见表3。

3 讨论

临床上常用真武汤化裁治疗各类肾病综合征^[3,4],取得一定疗效,本文旨在通过实验研究初步探讨其作用机理。我们采用改良后 Bertani T 的方法复制了大鼠阿霉素肾病的模型,该动物模型的症状

表3 真武汤对ADR大鼠肾组织(1mg)ET、TXB₂、Ang II水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	项 目		
	ET (pg/mL)	TXB ₂ (pg/mL)	Ang II (ng/mL)
正常对照组	3.39 ± 1.09	15.66 ± 5.21	4.36 ± 1.94
模型组	6.71 ± 2.07 ²⁾	25.86 ± 5.02 ²⁾	18.36 ± 4.78 ²⁾
真武汤组	5.15 ± 1.13 ^{1,2)}	19.46 ± 4.61 ^{1,2)}	10.29 ± 3.66 ^{1,2)}

及病理变化基本类似人类微小病变肾病^[1,2],真武汤灌胃给药可在降低模型动物尿蛋白的同时减轻高血

脂、低蛋白血症,提示其在治疗肾病综合征时可能具有糖皮质激素等常规用药所不具备的综合效应。

ET 对尿蛋白的影响主要通过作用于肾血管平滑肌细胞、系膜细胞和肾小管表皮细胞等,参与肾血流动力学及肾功能的调节,引起肾血流量和肾小球滤过率下降^[5],ET 还可使肾小球基底膜阴电荷丢失,毛细血管通透性增加,造成蛋白尿的产生^[6]。Ang II 可收缩肾小球出、入球小动脉,使肾小球毛细血管静水压升高;并能引起系膜细胞收缩改变肾小球血流动力学及大分子物质通透,在阿霉素肾病模型中 Ang II 升高可能参与尿蛋白的形成^[7]。TXA₂ 是血栓素中发挥主要作用的物质,但半衰期短,易降解,临床及实验研究中常测定其较稳定的代谢产物 TXB₂ 来反应其水平。在病理状态下, TXA₂ 和其它环氧化酶产物可导致肾血流(RBF)和肾小球滤过率(GFR)的显著下降并引起系膜细胞收缩^[8],实验证实 TXA₂ 参与了微小病变肾病蛋白尿的发生^[9]。

我们的实验证实真武汤对 ADR 大鼠升高的 ET、TXB₂、Ang II 的水平均有下调作用,这是其减轻 ADR 大鼠蛋白尿等症状的机理之一。TXB₂、Ang II 与 ET 之间有明确的调控作用^[10,11],三者在肾组织局部的分泌释放作用可互相影响,真武汤是直接作用于相应的分泌细胞降低各自的水平,还是通过降低其中一/两种的分泌释放来调控另外的两/一种,还有待于进一步的实验研究。

[参考文献]

[1] Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, et al. Adrimycin induced

nephritic syndrome in rats [J]. Laboratory Investigation, 1982, 46: 16.

- [2] 鲁斌,李新民,马融.对改造的阿霉素肾病模型的评价[J].实验动物科学与管理,1999,16(3):5-9.
- [3] 杨纲.真武汤的临床应用[J].湖北中医学院学报,2004,6(4):88.
- [4] 熊莉华,李赛美.真武汤研究概况[J].江西中医药,2002,33(5):43-45.
- [5] Benigni A. Endothelin antagonists in renal disease [J]. Kidney Int, 2000, 57: 1778.
- [6] 刘杰.血小板活化因子与实验性肾损伤[J].肾脏病与透析肾移植杂志,1993,(1):87-89.
- [7] 刘娅,卢义侠,丁洁.肾病综合征大鼠血管紧张素 II 系统的变化及意义[J].北京医科大学学报.1998.30(4):137-139.
- [8] Mene P, Hanna E, Abboud HE, et al. Regulation of human mesangial cell growth in culture by thromboxane A2 and prostacylin [J]. Kidney Int, 1990, 38(2): 232.
- [9] Shlbouta Y, Terashita Z, Imura Y, et al. Involvement of thromboxane A2 leukotrienes and free radicals in puromycin nephritis in rats [J]. Kidney Int, 1991, 39(6): 920.
- [10] Kohno M, Horio T, Yokokawa K, et al. Angiotensin II stimulates endothelin-1 secretion in cultured rat mesangial cells [J]. Kidney Int, 1992, 42: 860-866.
- [11] Zoja C, Orisio S, Perico N, et al. Constitutive expression of endothelin gene in cultured human mesangial cells and its modulation by transforming growth factor- β , thrombin, and a thromboxane A2 analogue [J]. Lab Invest, 1991, 64(1): 16-20.