

◆经典经方研究◆

真武汤中不同附子剂量对肾病综合征大鼠蛋白代谢及疗效影响的研究

徐辉辉¹, 李索咪¹, 洪俊豪¹, 童培建²

1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学附属第一医院骨伤科, 浙江 杭州 310006

[摘要] 目的: 探讨真武汤中不同附子剂量对肾病综合征(Nephrotic syndrome, NS)大鼠疗效的影响, 并研究其作用机制。
方法: 50只大鼠随机分成附子高剂量组、附子中剂量组、附子低剂量组、模型组、空白组, 每组10只, 除空白组外, 其余大鼠按5 mg/kg的剂量一次性尾静脉注射阿霉素溶液构建NS模型, 第3周末检测造模是否成功。附子高、中、低剂量组大鼠每天给予含附子生药1.52 g/kg、0.92 g/kg、0.52 g/kg的真武汤灌胃, 模型组和空白组予等量生理盐水灌胃, 均灌胃4周, 第7周末检测各组大鼠的24 h尿蛋白、血清白蛋白(Serum albumin, Alb)、尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(Serum creatinine, SCr)含量。
结果: 与空白组比较, 模型组3周后24 h尿蛋白明显升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 附子高、中剂量组NS大鼠的精神、活动、毛色、摄食量等状况显著改善, 24 h尿蛋白、BUN、SCr明显降低, 血清白蛋白升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 附子低剂量组效果不明显。
结论: 附子高、中、低剂量组均能降低NS大鼠24 h尿蛋白、血清BUN、SCr, 升高Alb, 且附子高剂量组效果更为显著。

[关键词] 肾病综合征(NS); 真武汤; 蛋白代谢; 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2019) 05-0053-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.05.014

Zhenwu Tang in Different Doses of Aconite Roots Has Effect on Protein Metabolism and Clinical Effect of Rats with Nephrotic Syndrome

XU Huihui, LI Suomi, HONG Junhao, TONG Peijian

Abstract: **Objective:** To discuss the effect of Zhenwu tang in different doses of aconite roots on protein metabolism and clinical effect of rats with nephrotic syndrome(NS), and study its functional mechanism. **Methods:** 50 rats were divided into the high-dose aconite root group, the middle-dose aconite root group, the low-dose aconite root group, the model group and the blank group randomly, 10 rats in each group. Except the blank group, the other groups received one single intravenous injection of adriamycin solution in 5 mg/kg via tail vein to establish the model of NS. In the end of the 3rd week, detected whether the model was successful. Rats in the groups of aconite roots in low, middle and high doses were given Zhenwu tang containing crude aconite roots in 1.52 g/kg, 0.92 g/kg and 0.52 g/kg via gavage respectively every day, while the model group and the blank group were given equivalent normal saline via gavage. The gavage in each group lasted for 4 weeks. In the end of the 7th week, detected the contents of 24-hour urine protein, serum albumin(Alb), blood urea nitrogen(BUN) and serum creatinine(SCr). **Results:** After 3 weeks, comparing with the blank group, the level of 24-hour urine protein in the model group was significantly increased($P < 0.01$); comparing with the model group, such conditions as vitality, activities, hair color and food intake of rats in the groups of aconite roots in middle and high doses were significantly improved, the levels of 24-hour urine protein, serum BUN and SCr were decreased, and the level of Alb was increased($P < 0.05$, $P < 0.01$); there was no significance being found in the decreasing effect in the low-dose aconite root group. **Conclusion:** The groups of aconite roots in low, middle and high doses can decrease the levels of 24-hour urine protein, serum BUN and SCr and increase the levels of Alb, among which the high-dose aconite root group has more significant clinical effect.

Keywords: Nephrotic syndrome(NS); Zhenwu tang; Protein metabolism; Animal experiment; Rats

[收稿日期] 2018-07-31

[作者简介] 徐辉辉(1996-), 男, 在读本科生, 研究方向: 中医骨伤学。

[通信作者] 童培建, E-mail: 877534862@qq.com。

肾病综合征(Nephrotic syndrome, NS)简称肾病,是由多种因素导致肾小球基底膜通透性增加,使大量蛋白质从尿中丢失而引起的一系列临床综合征,发病率较高^[1-2]。真武汤为《伤寒论》中温阳利水法的代表方剂^[3-4]。现有临床和实验研究均证实真武汤对NS有确切疗效。真武汤治疗NS,因附子大辛大热,入肾经,温壮肾阳,以化气行水为主,是对NS起主要作用的君药。但目前关于治疗NS所用的真武汤均按张仲景原方附子的用量,对此笔者提出张仲景用真武汤是用来治脾肾阳虚水肿,虽病机同NS类似,但也存在不同之处,也许最适宜的附子含量与原方不同。为此本研究在原方上对附子进行加减,通过实验探究治疗阳虚型NS最适宜的附子剂量,并进一步探讨其作用机制,为更好的治疗NS提供依据。

1 材料与方药

1.1 实验动物 雄性SPF级SD大鼠50只,体质量200~220g,购自浙江中医药大学动物实验中心,动物合格证号:SCXK(沪)2013-0016。饲养在浙江中医药大学动物实验中心,每笼4只,室温21~23℃,相对湿度维持在30%~40%,常规颗粒饲料及饮用水喂养。

1.2 实验药物 真武汤组方:炮附子、茯苓、白芍、生姜各9g,白术6g,此为60kg成人1天的剂量。药材购自浙江中医药大学名中医馆。先将药物置于水中浸泡0.5h,附子先煎,然后合并药材加8倍水煎煮1.5h,过滤,药渣加4倍水再煮1h,合并煎液,滤过,浓缩,置于4℃冰箱保存备用。附子低、中、高剂量分别为4.5g、9.0g、18.0g(分别相当于成人日常用量的0.5倍、1倍、2倍),分别含附子生药0.25g/mL、0.45g/mL、0.74g/mL,其余药量均相同。盐酸阿霉素(大连美仑生物技术有限公司),灭菌注射用水(浙江瑞新药业股份有限公司),氯化钠(辰新药业股份有限公司)。

1.3 主要仪器 代谢笼(苏州市冯氏实验动物设备有限公司),电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司),全自动血液生化分析仪(日本日立公司)。

1.4 模型制备 除空白组外,其余大鼠采用“一次性尾静脉注射阿霉素溶液5mg/kg”的方法建立大鼠NS模型^[5]。具体操作为取阿霉素粉针剂50mg,用灭菌注射用水充分溶解,配成2mg/mL溶液,现配现用。另空白组大鼠给予等量生理盐水尾静脉注射。

1.5 分组与给药 注射后3周,造模成功。第2天将NS大鼠随机分为附子高剂量组、附子中剂量组、附子低剂量组、模型组,每组10只。附子高、中、低剂量组大鼠每天给予含附子生药1.52g/kg、0.92g/kg、0.52g/kg的真武汤灌胃,模型组和空白组予等量生理盐水灌胃,所有大鼠均灌胃4周,实验周期为7周。

1.6 样本收集及指标测定 观察大鼠一般情况,包括精神、水肿情况、毛发状况、活动情况等,同时记录大鼠每周体质量。于造模后第3周、第7周末用代谢笼分别收集尿液以测定每只大鼠24h尿蛋白含量。最后1次给药的第二天,处死大鼠,腹主动脉取血,4℃下3000r/min,离心10min,取上清液分装,用全自动血液生化分析仪检测血清白蛋白(Serum albumin, Alb)、尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(Serum creatinine, SCr)含量。

1.7 统计学方法 所有数据均采用SPSS17.0软件进行分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况及体质量比较 空白组大鼠精神良好,毛发柔顺致密,动作敏捷,饮食及大便正常,而模型组大鼠精神低下,毛发枯燥,动作迟缓,饮食明显减少,有不同程度的腹水出现,水样便,尿量减少,阴囊及四肢水肿。各组大鼠体质量比较见表1。与空白组比较,模型组大鼠体质量显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,附子高、中、低剂量组大鼠体质量都有不同程度的上升($P < 0.05$),其中附子高剂量组增加最显著。

表1 各组大鼠体质量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0周	1周	3周	5周	7周
空白组	10	213.1±8.9	279.7±15.2	347.6±13.8	395.1±8.4	423.1±14.2
模型组	10	214.6±5.7	204.7±5.7 ^①	223.8±9.4 ^①	288.8±11.0 ^①	309.3±6.9 ^①
附子低剂量组	10	211.9±8.2	201.9±7.3	264.1±10.1 ^②	309.8±15.5 ^②	337.3±14.2 ^②
附子中剂量组	10	210.7±4.8	205.8±5.3	279.1±14.0 ^②	311.4±13.3 ^②	342.7±15.6 ^②
附子高剂量组	10	210.9±2.3	202.7±5.1	279.5±13.9 ^②	316.1±13.2 ^②	346.3±14.1 ^②

与空白组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

2.2 各组大鼠24h尿蛋白、Alb、BUN、SCr检测结果比较 见表2。与空白组比较,模型组大鼠24h尿蛋白、BUN、SCr均显著升高,Alb显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,附子高、中剂量组24h尿蛋白、BUN、SCr均显著降低($P < 0.01$),Alb显著升高($P < 0.05$);而附子低剂量组差异无统计

学意义。

3 讨论

NS主要表现为大量蛋白尿、低白蛋白血症、高血脂症和水肿^[6]。属中医“水肿”“虚劳”“尿浊”等范畴^[6]。目前临床对该疾病常采取常规治疗,但治疗效果不佳^[7]。西药主要依

表2 各组大鼠24 h尿蛋白、Alb、BUN、SCr检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	24 h尿蛋白(mg)	Alb(g/L)	BUN(mmol/L)	SCr($\mu\text{mol/L}$)
空白组	10	8.2±1.5	31.23±0.84	7.436±1.238	60.147±6.265
模型组	10	103.3±12.7 ^①	25.77±2.05 ^①	28.385±2.406 ^①	130.451±11.031 ^①
附子低剂量组	10	59.9±11.8	27.40±0.75	19.481±2.364	101.462±7.341
附子中剂量组	10	54.2±10.7 ^②	28.64±1.52 ^③	15.467±1.248 ^②	75.364±7.743 ^②
附子高剂量组	10	50.3±7.3 ^②	28.82±1.44 ^③	14.334±1.056 ^②	70.421±18.419 ^②

与空白组比较, ① $P < 0.01$; 与模型组比较, ② $P < 0.01$,

③ $P < 0.05$

靠糖皮质激素抑制免疫炎症反应, 发挥利尿和消除蛋白尿的作用, 但治疗中极易出现感染、循环衰竭、血栓等并发症, 不仅达不到治疗疾病的作用, 反而会使治疗难度再次增加^⑧。采用中医药治疗该病不仅可以减少病情的反复、提高机体免疫功能, 还能预防并发症的发生^⑨。目前临床应用真武汤治疗NS病症, 降低蛋白尿, 升高血清Alb, 提高患者体质, 防止疾病向重症发展, 疗效确切^{⑩-⑬}。阿霉素制备NS模型是国内外公认的理想造模方法^{⑭-⑮}, Alb、BUN、SCr是评价肾损伤的常用指标。本实验结果显示附子高、中剂量组均能显著降低NS大鼠的尿蛋白, 升高NS大鼠Alb, 改善大鼠的一般情况, 且高剂量组的效果优于中剂量组, 此结果与陆敏君等^⑰的研究结果相符。提示真武汤中附子高剂量对NS大鼠的治疗效果显著, 但是具体剂量还有待进一步研究。而低剂量组疗效不明显, 笔者认为可能是未达到有效给药剂量, 未能起到良好的治疗作用。综上, 真武汤能升高NS大鼠的Alb水平, 降低BUN及SCr水平, 起到治疗NS的作用; 且证实了高附子剂量真武汤对NS大鼠的效果优于真武汤原方。

[参考文献]

- [1] 杨濛, 翟文生, 任献青, 等. 小儿肾病综合征现代文献研究[J]. 中医学报, 2015, 30(9): 1384-1386.
- [2] SATO M, ITO S, OGURA M, et al. Impact of rituximab on height and weight in children with refractory steroid-dependent nephrotic syndrome [J]. *Pediatric Nephrology*, 2014, 29(8): 1373-1379.
- [3] 黄丽芳, 陈明. 《伤寒论》真武汤证理论探讨[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(1): 30-32.
- [4] 李长柏, 陶弘武. 《伤寒论》治水类方辑要[J]. 实用中医内科杂志, 2017, 31(4): 68-70.
- [5] 赵彧, 杜志仙. 阿霉素致肾阳虚水肿模型大鼠三种实验方法的对比研究[J]. 山东中医杂志, 2011, 30(3): 190-193.
- [6] UDWAN K, BRIDEAU G, FILA M, et al. Oxidative stress and nuclear factor κ B(NF- κ B) increase peritoneal filtration and contribute to ascites formation in nephrotic syndrome[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(21): 11105-11113.
- [7] 裴南田, 敬志敏, 蒲涛, 等. 中西医结合治疗肾病综合征并发肺结核及乙型病毒性肝炎1例及文献复习[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2016, 17(5): 447-448.
- [8] 张树芳. 探讨加味真武汤应用于肾病综合征患者治疗中的临床效果[J]. 中国保健营养, 2016, 26(6): 348.
- [9] JIANG L, DASGUPTA I, HURCOMBE J A, et al. Levamisole in steroid-sensitive nephrotic syndrome: usefulness in adult patients and laboratory insights into mechanisms of action via direct action on the kidney podocyte[J]. *Clinical Science*, 2015, 128(12): 883-893.
- [10] 王凤仪. 肾病综合征蛋白尿中医用药规律的文献研究[J]. 中医研究, 2011, 24(2): 76-78.
- [11] 黄刚, 叶一萍. 真武汤合当归芍药散治疗原发性肾病综合征的疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(2): 488-491.
- [12] 覃柳菊. 中西医结合治疗脾肾阳虚型小儿肾病综合征30例临床观察[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(8): 81-82.
- [13] 杨忠华. 加味真武汤联合激素治疗原发性肾病综合征的临床观察[D]. 天津: 天津医科大学, 2017.
- [14] 徐洪建. 加味真武汤用于肾病综合征患者治疗中的临床作用研究[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(90): 99.
- [15] CHARLESWORTH J A, GRACEY D M, PUSSELL B A. Adult nephrotic syndrome: non-specific strategies for treatment[J]. *Nephrology(Carlton)*, 2008, 13(1): 45-50.
- [16] ZHANG W, LI Q, WANG L, et al. Simvastatin ameliorates glomerulo-sclerosis in Adriamycin-induced-nephropathy rats[J]. *Pediatr Nephrol*, 2008, 23(12): 2185-2194.
- [17] 陆敏君, 刘新华, 钟金泉. 大剂量炮附子治疗难治性肾病综合征22例[J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 5(11): 982.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)