

百蕊草对阿霉素肾病大鼠治疗作用的实验研究

宣伟东, 唐大海, 卞俊, 胡水根, 胡建峰, 范正平 (解放军第411医院药学科, 上海200081)

[摘要] 目的 观察百蕊草对大鼠肾病综合征的治疗作用。方法 SD大鼠40只,10只为空白对照组,余下分为模型组、低剂量组(1.0 g/(kg·d))、高剂量组(5.0 g/(kg·d)),每组10只,尾静脉注射阿霉素6.0 mg/kg,建立肾病模型。连续灌胃给药5周,观察百蕊草对肾病大鼠尿量、24 h尿蛋白、血液生化指标、肾组织病理学等方面的影响。结果 百蕊草能够减轻ADR大鼠肾病综合征烂尾、水肿等症状。与模型组相比,百蕊草治疗第2周以后,尿量显著增加($P < 0.01$)。治疗3周后,24 h尿蛋白浓度下降($P < 0.05$),低剂量组尿蛋白浓度显著下降($P < 0.01$)。治疗5周后,低剂量组的血清总蛋白(TP)、血清蛋白(ALB)水平显著高于模型组($P < 0.01$),总胆固醇(TCH)、甘油三酯(TG)水平则显著降低($P < 0.01$)。结论 百蕊草具有利尿、消除水肿、降低尿蛋白、降血脂、提高血清蛋白等作用,改善病理组织学变化,减轻肾脏损害,对肾病综合征大鼠具有良好的治疗效果。

[关键词] 百蕊草;药效学;阿霉素肾病;SD大鼠;中药治疗

[中图分类号] R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)06-0443-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.06.013

Therapeutic effects of *Thesium chinensis* on adriamycin-induced nephropathy rats

XUAN Wei-dong, TANG Da-hai, BIAN Jun, HU Shui-gen, HU Jiang-feng, FAN Zheng-ping (Department of Pharmacy, the 411st Hospital of PLA, Shanghai 200081, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the therapeutic effects of *Thesium chinensis* Turcz on Adriamycin-induced nephropathy rats. **Methods** 40 SD rats were divided into 4 groups averagely: normal control group, model control group, low-dosage group (1.0 g/(kg·d)) and high-dosage group (5.0 g/(kg·d)). Nephritic syndrome models were established in 30 rats by intravenous injection of Adriamycin (6.0 mg/kg). The rats of low-dosage group and high-dosage group were intragastric administrated decoction of *Thesium chinensis* Turcz daily, the model control group rats were given running water (2 ml). During 5 weeks treatment process, the 24 hour urine volume, 24 hour urine protein concentration of rats were observed. The level of total serum protein (TP), serum albumin (ALP), total cholesterol (TCH), triglycerides (TG) and UREA were determined, and the pathological changes of kidney tissue were assayed after the therapy process. **Results** The symptoms of nephritic syndromes, such as edema, tail-rot disease, were relieved by *Thesium chinensis* Turcz. After 2 weeks therapy, the 24 hour urine volume of low-dosage group and high-dosage group were significantly higher than model control, and the 24 hour urine protein concentration were significantly lower than model control after 3 weeks. The level of TP and ALP of low-dosage group were significantly higher than model control, as well as the level of TCH and TG were significantly lower after 5 weeks. **Conclusion** *Thesium chinensis* Turcz could eliminate tissue edema and decrease the urine protein concentration by diuretic action and improves renal pathology to protect the kidney from damage by reducing the serum cholesterol level, decreased blood lipid content, and increased the plasma protein level.

[Key words] *Thesium chinensis* Turcz; pharmacology; Adriamycin-induced nephritic syndrome; SD rats; TCD therapy

中药百蕊草 *Thesium chinensis* Turcz, 别名小草、细须草、一棵松等,为檀香科百蕊草属植物,多年生寄生草本,常附着在其他活体植物根上而生长。百蕊草性寒,味辛、涩,归肺、肾二经,有清热解毒、补肾固精之功效^[1]。因其具有良好的抗菌、抗病毒和抗炎作用,临床多用于治疗急性扁桃体

炎,上呼吸道感染,肺炎,咽炎等疾病,且无毒副作用。百蕊草在浙、皖民间,常以全草入药,用于急、慢性肾炎的治疗,且效果良好。本文采用大鼠阿霉素(ADR)肾病模型^[2],考察百蕊草提取物对阿霉素肾病的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 动物 SD大鼠,CL级,雄性,体重(180±10)g。由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,实验

[基金项目] 上海市卫生局局级科研课题(2012085号)。

[作者简介] 宣伟东(1971-),男,博士,副主任药师。Tel: (021) 65283984, E-mail: wdxuan@hotmail.com.

动物合格证号为 SCXK(沪)2009-0005。分笼饲养,控制室温在 15~20℃,自由摄食、饮水。

1.2 药物 百蕊草药材于 2009 年 5 月购自安徽亳州,由第二军医大学药学院生药教研室郑汉臣教授鉴定为 *Thesium chinensis* Turcz。百蕊草药材经水煎煮 2 次,每次 2 h,水煎液合并后过滤,减压浓缩 40℃真空干燥,得百蕊草提取物,临用前折合成生药给药量,用蒸馏水配成混悬液。注射用多柔比星(ADR,俗名阿霉素,深圳万乐药业有限公司生产,批号:0807E1,每支 10 mg),临用前用生理盐水配制。

1.3 方法

1.3.1 ADR 肾病模型建立与动物分组 40 只健康雄性 SD 大鼠饲养 7 d 后,随机抽取 10 只作为空白对照组,余下 30 只大鼠于实验开始当天在非麻醉条件下一次性尾静脉注射阿霉素 6.0 mg/kg,并按体重随机平均分为模型对照组,低剂量组(给药剂量相当于生药 1.0 g/(kg·d)),高剂量组(给药剂量相当于生药 5.0 g/(kg·d))。

1.3.2 给药方法 各组于造模次日起,每天灌胃给药 1.0 ml,连续 5 周。空白组和模型组给予生理盐水。

1.3.3 观察指标及检测方法 各组每周称重 1 次,记录四肢、阴囊的浮肿情况及腹水状况,同时观察毛色、浮肿与精神状态。各组每周 1 次置于代谢笼,收集 24 h 尿液,记录尿量,采用考马斯亮蓝法测定尿蛋白浓度,计算 24 h 尿蛋白。试验结束时,腹主动脉取血,用全自动生化分析仪测定血清总蛋白(TP)、血清白蛋白(ALB)、总胆固醇(TCH)、甘油三

酯(TG)、尿素氮(UREA)等各项血液生化指标。另摘取肾脏,用 10% 福尔马林液固定,石蜡包埋切片,苏木素-伊红(HE)染色,进行病理组织学检查。本实验血液生化指标由解放军第 411 医院检验科测定,病理切片由 411 医院病理科完成。

1.3.4 统计学处理 各组实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,各组间均数显著性比较采用 *t* 检验。

2 结果与结论

2.1 百蕊草对 ADR 大鼠一般状态的影响 空白组大鼠在整个试验过程中饮食活动精神状态良好,毛色有光泽。模型组大鼠在造模 4 d 后开始出现食欲不振、精神萎靡、怠倦少动、消瘦、便溏等现象,并伴有一定程度的脱毛,14 d 后下额出现褪毛。各组除空白组外,在造模 2 周后,均出现饮水减少,四肢浮肿明显,烂尾,毛发无光泽,并有竖毛现象。与模型组相比,给药组在用药后上述表现有所改善,在药物干预 4 周后,大鼠的浮肿症状明显轻于模型组,烂尾症状均痊愈,而模型组无一只大鼠的症状得到改善,提示百蕊草可通过其良好的抗菌作用,有效地防止感染。

2.2 百蕊草对 ADR 大鼠体重和尿量的影响 各组与空白组比较,在造模 1 周后,体重均出现明显的下降,并在以后的进程中,体重增加缓慢。各组 24 h 尿量与空白组相比,在造模 2 周后,均显著下降($P < 0.001$),尤以模型组为甚。与模型对照组相比,给药组在给药治疗第 3 周以后,尿量显著增加($P < 0.01$)。提示百蕊草对 ADR 大鼠具有明显的利尿作用。各组体重和尿量数据见表 1、表 2。

表 1 百蕊草对 ADR 大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	造模前(g)	造模后(g)				
		第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
空白对照	250.1 ± 10.95	290.0 ± 22.80	318.4 ± 27.87	345.3 ± 31.46	361.4 ± 34.30	375.9 ± 37.28
模型对照	248.3 ± 11.35	231.0 ± 15.95 ²⁾	260.2 ± 24.94 ²⁾	268.4 ± 25.73 ²⁾	276.0 ± 26.75 ²⁾	284.4 ± 29.89 ²⁾
低剂量组	240.7 ± 6.67	227.8 ± 17.03 ²⁾	253.5 ± 13.37 ²⁾	261.1 ± 15.95 ²⁾	266.5 ± 11.74 ²⁾	274.3 ± 14.30 ²⁾
高剂量组	244.5 ± 8.43	243.6 ± 15.67 ¹⁾	264.2 ± 16.67 ²⁾	274.0 ± 20.68 ²⁾	273.3 ± 24.49 ²⁾	275.6 ± 30.46 ²⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与空白组相比。

表 2 百蕊草对 ADR 大鼠 24 h 尿量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	造模前(ml/24 h)	造模后(ml/24 h)				
		第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
空白对照	49.17 ± 6.11	44.33 ± 7.00	48.67 ± 7.81	33.00 ± 8.94	40.83 ± 14.41	40.67 ± 16.29
模型对照	50.2 ± 14.51	6.25 ± 3.21 ¹⁾	10.05 ± 4.86 ¹⁾	6.75 ± 2.58 ¹⁾	7.90 ± 3.25 ¹⁾	10.90 ± 3.51 ¹⁾
低剂量组	41.9 ± 17.95	9.85 ± 8.55 ¹⁾	12.65 ± 6.56 ¹⁾	15.25 ± 3.36 ¹⁾ ³⁾	15.20 ± 4.52 ¹⁾ ²⁾	19.60 ± 8.14 ¹⁾ ²⁾
高剂量组	40.00 ± 9.99	16.70 ± 9.42 ¹⁾	12.65 ± 6.56 ¹⁾ ²⁾	14.11 ± 3.14 ¹⁾ ³⁾	12.89 ± 4.04 ¹⁾ ³⁾	15.33 ± 5.05 ¹⁾ ²⁾

¹⁾ $P < 0.01$, 与空白组相比; ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, 与模型组相比。

2.3 百蕊草对 ADR 大鼠尿蛋白浓度的影响 造模后第 1 周开始, 给药组和模型组的 24 h 尿蛋白浓度开始上升, 第 2 周开始大幅度上升, 结合体重与尿量数据, 表明在注射 ADR 1 周后, 造模成功。与模型组相比, 治疗组在药物干预药 2 周后, 24 h 尿蛋白浓

度下降 ($P < 0.05$)。治疗 3 周后, 低剂量组尿蛋白浓度显著下降 ($P < 0.01$) (表 3)。从表 4 可知, 与模型组相比, 百蕊草治疗组的 24 h 尿蛋白总量不降反升, 其原因可归于百蕊草良好的利尿作用, 随着尿量的增加 (表 2), 增加了尿蛋白的总量排出。

表 3 百蕊草对 ADR 大鼠 24 h 尿蛋白浓度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	造模前 (ml/24 h)	造模后 (ml/24 h)				
		第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
空白对照	0.30 ± 0.06	0.39 ± 0.08	0.42 ± 0.08	0.58 ± 0.11	0.49 ± 0.11	0.47 ± 0.13
模型对照	0.30 ± 0.08	3.27 ± 0.88	9.82 ± 2.01	13.58 ± 4.33	9.74 ± 0.36	9.78 ± 0.51
低剂量组	0.41 ± 0.22	3.40 ± 1.55	7.00 ± 2.56 ¹⁾	4.72 ± 0.61 ²⁾	6.85 ± 1.69 ²⁾	6.22 ± 1.9 ²⁾
高剂量组	0.40 ± 0.12	1.78 ± 1.00 ²⁾	7.18 ± 2.18 ¹⁾	9.73 ± 0.74 ¹⁾	9.32 ± 0.35 ¹⁾	8.90 ± 0.98 ¹⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与模型组相比。

表 4 百蕊草对 ADR 大鼠 24 h 尿蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	造模前 (ml/24 h)	造模后 (ml/24 h)				
		第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
空白对照	58.73 ± 7.64	59.19 ± 7.47	63.65 ± 7.25	53.80 ± 3.54	53.32 ± 5.91	46.27 ± 7.15
模型对照	57.56 ± 10.26	80.42 ± 26.76	347.97 ± 87.82	290.56 ± 45.31	276.08 ± 104.27	371.23 ± 108.6
低剂量组	57.59 ± 9.63	111.40 ± 58.93	293.26 ± 38.84	271.97 ± 48.51 ¹⁾	377.98 ± 90.7 ¹⁾	404.41 ± 63.19
高剂量组	61.49 ± 11.79	96.48 ± 40.32	368.37 ± 87.53	493.48 ± 84.82 ²⁾	435.74 ± 117.79 ²⁾	477.08 ± 63.54 ¹⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与模型组相比。

2.4 百蕊草对 ADR 大鼠血液生化指标的影响 表 5 显示, 与空白组比较, 模型组 TP、ALB 水平显著下降, TCH 与 TG 水平升高, 提示造模 5 周后, ADR 大鼠体内蛋白流失严重, 脂质代谢紊乱, 体质较差。与模型组相比, 低剂量组的血清 TP、ALB 显著升高,

TCH 与 TG 水平显著降低, 已接近空白组水平, 高剂量组 ALB 也较模型组有上升, TCH、TG 水平下降, 尿素氮水平无统计学意义。表明百蕊草有助于 ADR 大鼠各项生理指标的恢复, 治疗效果明显, 低剂量组效果优于高剂量组。

表 5 百蕊草对 ADR 大鼠血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	TP (g/L)	ALB (g/L)	TCH (mmol/L)	TG (mmol/L)	UREA (mmol/L)
空白对照	60.57 ± 2.57	31.57 ± 1.51	2.15 ± 0.32	1.12 ± 0.44	8.39 ± 0.72
模型对照	52.13 ± 6.15 ¹⁾	16.18 ± 3.46 ¹⁾	6.38 ± 0.57 ¹⁾	4.15 ± 0.23 ¹⁾	8.16 ± 1.41
低剂量组	58.16 ± 4.4 ²⁾	27.69 ± 2.05 ³⁾	2.63 ± 0.57 ³⁾	2.96 ± 0.33 ³⁾	8.36 ± 0.69
高剂量组	53.32 ± 5.75	22.14 ± 1.51 ²⁾	4.31 ± 0.85 ²⁾	3.66 ± 0.60 ²⁾	7.97 ± 1.02

¹⁾ $P < 0.01$, 与空白组相比; ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, 与模型组相比。

2.5 百蕊草对大鼠肾组织的影响 各组大鼠肾脏肉眼观察均无明显异常。空白对照组: 肾小球、肾小管结构正常 (图 1)。模型对照组: 肾小球呈现明显萎缩 (图 2), 有的球囊腔消失; 肾小管管腔变窄, 有的管腔闭塞, 有的可见新生的肾小管; 间质细胞增生, 间质炎细胞浸润明显。低剂量组: 肾小球囊腔有不同程度的扩张 (图 3), 肾小管上皮细胞变性, 管腔有扩张现象, 并有透明管型形成; 间质头炎性细胞浸润。高剂量组: 肾小球囊腔扩张 (图 4), 偶见肾小球萎缩; 肾小管有轻度扩张, 有的可见透明管型形成; 间质有炎细胞浸润。

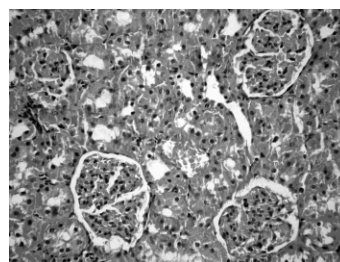


图 1 空白对照组: 肾小球、肾小管形态与结构正常。HE × 400

肾小球肾炎病理演变的最终结局是肾小球逐渐萎缩, 导致肾功能降低, 严重者可致肾功能衰竭。本实验表明, 模型组动物肾组织的病理变化, 符合肾

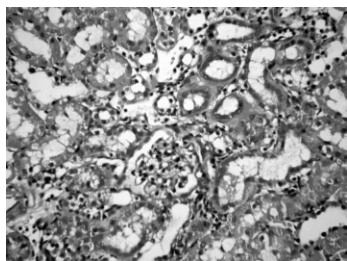


图 2 模型对照组: 肾小球萎缩, 肾小管增生, 肾间质炎细胞浸润。HE × 400

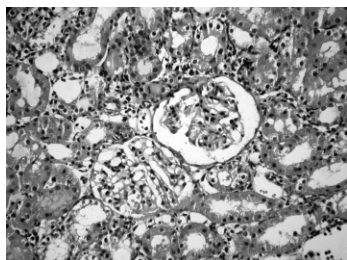


图 3 低剂量组: 肾小球囊腔扩张, 肾间质炎细胞浸润。HE × 400

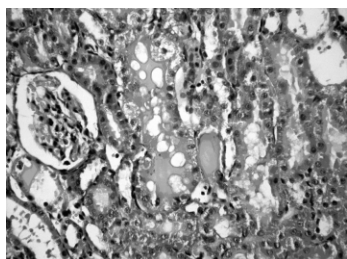


图 4 高剂量组: 肾小球囊腔扩张, 肾小管上皮肿胀、扩张。HE × 400

小球肾炎的病理变化过程。此外, 造模后百蕊草高、低两剂量组动物肾组织的病理变化均出现了一定程度的减轻, 虽然肾实质出现有损伤的变化, 如肾小球囊腔不同程度的扩张、肾小管的变性以及透明管型生成等, 但未导致肾小球的萎缩。因此, 可以认为, 百蕊草能改善 ADR 大鼠肾脏病理组织变化, 减轻对肾脏的损害, 对肾小球肾炎有一定的治疗作用。

3 讨论

ADR 诱导的大鼠肾病综合征模型, 已被广泛应用于中药及中草药成分对肾脏保护作用的药物筛选

与药效学评价^[3]。本研究通过对大鼠一次尾静脉注射阿霉素 6.0 mg/kg, 模型动物的肾病症状明显, 体重、尿量显著下降, 尿蛋白排出显著上升, 生化指标及病理变化明显, 表明本次实验成功建立了 ADR 大鼠肾病模型。该模型基本类似人类微小病变型肾病, 因此, 基于此方法的药物干预, 可以有效进行药物对肾病综合征的疗效评价。

百蕊草是一种广谱的抗菌中草药, 素有“植物抗生素”的美称。其化学成分主要是以百蕊草素为代表的黄酮类化合物。药理学研究表明除了抗菌作用外, 百蕊草尚有良好的消炎镇痛、镇咳及抗肿瘤作用^[4]。实验治疗组大鼠烂尾现象得以痊愈的现象提示, 百蕊草的抗菌作用可以有效防治 ADR 大鼠的感染, 从而改善动物的生存状态。本实验结果显示, 百蕊草能够显著增加 ADR 大鼠尿排出量, 消除水肿症状, 疗效确切。由于模型组大鼠 24 h 尿量极显著地下降, 因此, 笔者认为, 尿蛋白浓度更适合作为评价指标。实验显示, 百蕊草虽然不能减少尿蛋白排泄, 但可显著降低 ADR 大鼠的尿蛋白浓度。百蕊草能显著提高 ADR 大鼠血清蛋白含量, 降低异常血脂、胆固醇水平, 减轻对肾脏的损害, 对肾病大鼠病理组织学变化有明显改善作用, 从而表现出对 ADR 肾病具有良好的治疗作用, 尤其以低剂量组效果显著。

肾病综合征属中医“水肿”病范畴, 其发生与水液代谢及肺、脾、肾三脏功能失调有关, 临床以大量蛋白尿、低蛋白血症、高脂血症及不同程度水肿为特征。百蕊草的上述疗效特征, 为其临床治疗肾病综合征提供了实验室依据, 其作用机制值得进一步研究。

【参考文献】

- [1] 国家中医药管理局, 中华本草编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科技出版社, 1999, 2: 595.
- [2] Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, et al. Adriamycin-induced nephritic syndrome in rats[J]. Lab Invest, 1982, 46(1): 16.
- [3] 李保春, 崔若兰, 张晓英. 大鼠阿霉素肾病模型的建立[J]. 第二军医大学学报, 1992, 13(5): 485.
- [4] 王 峰, 刘近明, 李绍顺. 百蕊草的研究进展[J]. 中国药师, 2006, 9(11): 1059.

[收稿日期]2012-04-28

[修回日期]2012-10-17

(上接第 404 页)

- [27] 王 玉, 曹 玲, 罗疆南. 显微共聚焦拉曼光谱法检测非法添加的化学壮阳药[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(10): 789.
- [28] Trefi S, Routaboul C, Hamieh S, et al. Analysis of illegally manufactured formulations of tadalafil (Cialis) by ¹H NMR, 2D-DOSY ¹H NMR and Raman spectroscopy[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 47(1): 103.
- [29] Sacre PY, Deconinck E, De Beer T, et al. Comparison and combination of spectroscopic techniques for the detection of counterfeit

medicines[J]. J Pharm Biomed Anal 2010, 53(3): 445.

- [30] Degardin K, Roggo Y, Been F, et al. Detection and chemical profiling of medicine counterfeits by Raman spectroscopy and chemometrics[J]. Anal Chim Acta 2011, 705(1-2): 334.
- [31] Roggo Y, Degardin K, Margot P. Identification of pharmaceutical tablets by Raman spectroscopy and chemometrics[J]. Talanta, 2010, 81(3): 988.

[收稿日期]2012-04-02

[修回日期]2012-06-28