

实验研究

平胃散对湿阻中焦模型大鼠血浆抗利尿激素
及红细胞内钠、钾浓度的影响

黄秀深* 张丰华* 贾波* 刘德芳* 胡鹏* 隆淑芬* 陈洁*

摘要 目的:探索湿阻中焦证的病理机制,并探讨平胃散对湿阻中焦证的作用机理。方法:选用湿阻中焦证大鼠模型,给予平胃散配伍利水药,观测各组大鼠血浆抗利尿激素(ADH)的浓度及红细胞内电解质 Na^+ 、 K^+ 浓度。结果:湿阻造模组大鼠与正常组相比ADH显著升高($P<0.01$);细胞内的 Na^+ 增高, K^+ 显著降低($P<0.05$)。给予平胃散后,高、中、低剂量组及加泽泻组大鼠ADH基本恢复正常;细胞内的 Na^+ 下降至接近于正常, K^+ 无明显变化;不造模给药组与正常组比较ADH显著升高($P<0.05$), Na^+ 、 K^+ 明显下降(P 均 <0.01)。结论:(1)血浆ADH浓度升高、细胞内 Na^+ 增多、 K^+ 降低在湿阻中焦证形成中起重要作用。(2)平胃散治疗湿阻中焦证的作用机理与调节ADH和细胞内 Na^+ 、 K^+ 浓度有关,且可能存在双向调节机制。

主题词 湿热中阻/中医药疗法 血管升压素类/血液 平胃散/治疗应用

湿阻中焦证具有广泛性、隐匿性、复杂性的特点^[1]。现代研究资料表明,很多慢性疾病常常伴有湿阻中焦证,且使其原有的疾病加重,或变生它证,如果不加以治疗,会酿成不良后果^[2,3],这与中医理论中湿性粘滞,重着难除的特点有关。因此,进行湿阻中焦证的病理机制研究,探求中药治疗湿阻中焦证作用机理,不仅具有理论意义,还具有临床意义。纵观近年的研究资料,对湿阻中焦证本质的认识主要集中在胃肠道消化、吸收、运动机能减退方面^[4~8],有关湿阻中焦证大鼠红细胞膜 Na^+-K^+ ATP酶活性降低的报道也有偶见^[9],但尚未见水盐代谢具体调节机制方面的研究。在中医治疗湿病方面,对利水渗湿方药研究较多,尤其日本研究较深入,但对平胃散的作用机理研究却较薄弱。因此,本实验从血浆抗利尿激素及红细胞内钠、钾浓度变化情况方面来探讨湿阻中焦证的病理机制以及平胃散的作用机理。

1 材料和方法

1.1 实验动物:SD系大鼠80只,雌雄各半,体重180~250g,鼠龄80~120天,均为一级实验动物,由成都

中医药大学实验动物中心提供。动物合格证号:川动管质(1997)8号。动物标准颗粒饲料由成都中医药大学实验动物中心提供。

1.2 药品制备:平胃散(苍术,厚朴,陈皮,甘草)、利水药(泽泻)均由成都同仁堂药店提供。将药物加凉水300ml浸泡30min后,加水500ml煎开后10min,滤出药液;加水500ml煎开15min,滤出药液;将两次滤液合并置于70~80℃水浴浓缩得400ml,平胃散高、中、低剂量组和加泽泻组分别制成0.6g/ml、0.3g/ml、0.15g/ml、0.5g/ml浓度的中药煎剂,置4℃冰箱中备用。

1.3 主要试剂:乙二胺四乙酸(EDTA)及抑肽酶由四川大学华西医学中心基础同位素室提供。

1.4 湿阻中焦证大鼠模型的建立及分组:动物购回后适应性喂养3天,湿阻中焦证模型复制参照文献^[10]的方法,实验室温度25~29℃。随机取60只大鼠为造模动物,每日称重后定时放入水深20cm,水温24~25℃的水槽中游泳15min。游泳完毕,立即予20ml/kg约4℃的自来水灌胃,然后将动物置于笼底有4mm水深的水槽中饲养,自由进食饮水。上述过程每日1次,连续5天。之后随机分为6组:湿阻造模组、平胃散高剂量组、平胃散中剂量组、平胃散低剂量组、加泽泻组、自然恢复组,每组10只。

其余20只大鼠随机分为正常对照组、不造模给药组,并于正常环境中喂养,温度19~25℃,相对湿度55%~65%,自由进食饮水。

动物造模成功后,取湿阻造模组大鼠及正常对照组大鼠于次日称重后采血,测红细胞内电解质 Na^+ 、 K^+ 的浓度及ADH。其余各组大鼠于正常环境中饲养,平胃散高、中、低剂量组,不造模给药组及加泽泻组每日称重后分别以1.2g/100g、0.6g/100g、0.3g/100g、0.6g/100g、1.0g/100g生药剂量灌胃1次,自然恢复组每日称重后以常温等量自来水灌胃。于第4天称重后灌胃,1h后采血待测定。

1.5 标本收集与制备:采用大鼠股动脉放血法取新鲜全血4ml置于一次性硬质塑料试管中。EDTA抗凝,

* 成都中医药大学中西医结合基础实验室,成都市十二桥路37号(610075)

收稿日期:2002-05-24;修回日期:2002-08-19

附表 各组大鼠红细胞内电解质 K^+ 、 Na^+ 及血浆 ADH 的结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	K^+ (mmol/L)	Na^+ (mmol/L)	ADH (ng/ml)
正常对照组	10	206.42 ± 62.46	92.60 ± 16.25	9.15 ± 1.26
湿阻造模组	10	131.96 ± 70.07*	109.13 ± 33.55	11.71 ± 2.46**
平胃散高剂量组	10	117.67 ± 19.22**△	81.67 ± 8.83♦	9.67 ± 2.17♦
平胃散中剂量组	10	107.10 ± 8.13**△	80.63 ± 8.00♦	8.92 ± 1.46♦♦
平胃散低剂量组	10	114.06 ± 15.62**△	81.75 ± 8.52♦	9.57 ± 1.39▲♦
加泽泻组	10	117.31 ± 12.96**△	84.38 ± 16.12♦	8.39 ± 1.13△▲♦♦
不造模给药组	10	98.28 ± 16.57**	76.50 ± 6.97**♦	11.95 ± 3.10*
自然恢复组	10	96.03 ± 7.96**	80.57 ± 10.58♦	9.78 ± 1.50

与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与自然恢复组比较, △ $P < 0.01$; 与不造模给药组比较, ▲ $P < 0.05$; 与湿阻造模组比较 ♦ $P < 0.05$, ♦♦ $P < 0.01$

并加抑肽酶 400U, 轻轻摇匀, 用 4℃ 离心机以 2000r/min 速度离心 5min, 用吸管吸取上层液血浆 0.5ml, 置于 -30℃ 冰箱保存, 待测血浆 ADH。

将上管中所剩之血液加入分离剂邻苯二甲酸二丁酯 0.6ml, 充分摇匀, 用 4℃ 离心机以 2000r/min 速度离心 5min, 弃去分离剂和红细胞表面层, 用吸管自其中底层吸取红细胞 0.4ml, 注入内有 3.6ml 无离子水 (三蒸水) 的试管中, 用红细胞粉碎仪将红细胞完全粉碎, 得红细胞稀释液, 置于 -30℃ 冰箱保存, 待测电解质 Na^+ 、 K^+ 。

1.6 一般情况观察: 分别观察各组大鼠造模前后及给药前后的一般状态, 内容包括体重、进食量、饮水量、精神状态、活动情况、大便及脱毛现象。

1.7 红细胞内电解质 K^+ 、 Na^+ 的测定: 将红细胞稀释液以 2000r/min 的速度离心 5min, 取上清 0.2ml, 用电解质分析仪 (Media Analyzer) 测定。电解质 K^+ 、 Na^+ 的实际结果应为所测数据的 10 倍。

1.8 血浆 ADH 的测定

1.8.1 Sep-pak C_{18} 柱的提取步骤: 用 10ml 蒸馏水、5ml 甲醇洗后, 再用 10ml 蒸馏水重复洗涤柱子; 样品用 30μl 1N 盐酸酸化, 然后上柱; 用 4% 醋酸淋洗 C_{18} 柱; 用 4ml 甲醇洗脱样品; 氮气吹干甲醇; 测定时用 0.625ml 缓冲液复溶。

1.8.2 提取回收率的测定: 加 1ml 样品分置于两管, 其中一管加入 100μl 标记物 ^{125}I -ADH, 混匀, 同上法提取; 另一管不提取。未提取管测总放射性计数 (TR), 提取管测提取后的总放射性计数 (R)。

$$\text{回收率} = R / TR \times 3.33 \times 100\%$$

计数结果的处理: 选用四参数单位点质量作用模型, RIA 数据处理软件处理计数结果, 得出 ADH 浓度 (ng/ml)。

1.9 数据处理: 运用 SPSS 统计软件进行数据处理, 各组数据均采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多个样本间

均数比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 一般情况观察: 造模组大鼠在造模 24 小时后, 体重明显下降, 其造模前后体重的差别与正常对照组比较, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。造模组大鼠给予平胃散及泽泻不同剂量的煎剂后, 体重皆增加, 与自然恢复组比较, 有一定差异, 但无显著性意义 ($P > 0.05$)。造模组大鼠造模后表现为食欲不振, 不欲饮水, 与正常对照组相比, 其进食量与饮水量明显降低, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。在造模 1 天后即出现精神萎靡、活动量减少的表现; 造模 3 天后, 即有部分大鼠出现便溏及泄泻; 造模 4 天后, 几乎所有造模大鼠出现毛发蓬松, 部分有脱毛现象, 且偶有便血出现。给予平胃散及泽泻不同剂量的煎剂后, 大鼠的进食量、饮水量明显增加, 精神、毛发等亦渐渐恢复正常。

2.2 各组红细胞内钠、钾浓度及血浆 ADH 变化情况: 附表示, 大鼠造模组后, 红细胞内的 K^+ 明显降低, ADH 明显增高, 与正常组比较, 差异有显著性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 显示造模组造模成功; 经给予平胃散以后, 平胃散高、中、低剂量组, 加泽泻组与湿阻造模组比较, Na^+ 、ADH 显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 与正常组比较, 差异无显著性, 说明两种药物都能恢复这两项指标的水平。各给药组 K^+ 与湿阻造模组比较无明显改变, 各给药组与自然恢复组之间相比, 差异显著 ($P < 0.01$), 说明平胃散在下调中有一定的上升趋势, 预示平胃散可能具有双向调节功能, 不造模给药给中剂量平胃散后, 与正常组比较 K^+ 、 Na^+ 皆显著降低 ($P < 0.01$), 而 ADH 与正常组比较显著升高 ($P < 0.05$), 说明平胃散对正常大鼠红细胞内 K^+ 、 Na^+ 有下调功能, 表明在正常状态下使用平胃散具有副作用, 而 ADH 的上调则可能是机体的适应性反应所致。

3 讨论

湿的产生与体内水液代谢的失常有关^[1]。由于中

焦的脾胃是水液代谢的中枢,故湿邪常常阻于中焦。湿为阴邪最易伤阳,脾之清阳不升,致水化失常,因此,将进一步加重湿邪的积聚,形成恶性循环,且其性粘滞常易蒙蔽清窍,故表现在临床上多出现清阳受损的症状,如嗜睡、倦怠等。

现代医学认为,细胞间液与细胞内液之间经过细胞膜而进行物质交换。细胞膜上 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的作用保持着细胞内外 K^+ 、 Na^+ 的浓度差和渗透压平衡,进而维持细胞内外平衡。而其作用的发挥很大程度上有赖于 ATP 能量的产生。若供能不足,“泵”功能的失调,将打破钠、钾的动态平衡状态,导致细胞内 Na^+ 增多, K^+ 减少,从而造成水平衡失调,致细胞水肿;细胞水肿将使细胞膜骨架或细胞内线粒体、蛋白质等的结构发生改变,从而导致进一步供能不足,临床便会出现头身重着、嗜睡、倦怠、软弱无力、食欲不振、食量减少、口淡无味等湿阻中焦的症状^[12]。已有实验证明^[9],湿阻中焦证 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的活性显著降低。从这点来说中医的阳气与现代医学中的能量代谢有相关性,这也为今后的研究提供了一个思路与方向。

湿阻中焦证大鼠经给予平胃散后,其细胞内的钠离子明显下降至接近于正常,钾离子无明显变化,说明其对湿阻模型动物在电解质平衡的调节方面起着较好的作用,能促进细胞内过多钠的排泄,同时,不会使钾丢失,即起到了保钾排钠的作用。临床报道^[13]也显示,用芳香化湿代表方平胃散加减治疗经西医的补钾输液治疗无效的低血钾症,获得了很好的补钾效果。但是,正常大鼠给予平胃散以后,细胞内的钠离子、钾离子都显著降低,说明对正常动物表现出排钠排钾作用,证明了本类方药也有副作用,不能乱服多服。

ADH 是一种典型的神经激素,主要功能是提高远曲小管和集合管上皮细胞对水的通透性,促进水的重吸收,使尿液浓缩,尿量减少。ADH 的合成和释放主要受血浆渗透压变化和循环血量的调节。血浆晶体渗透压增高或循环血量减少都可通过下丘脑刺激 ADH 的分泌使释放增多,以保持血浆渗透压的恒定和促使循环血量的恢复。下丘脑视上核区域有渗透压感受器,它对血浆晶体渗透压的改变非常敏感,故 ADH 分泌主要受血浆渗透压的调节^[14]。

实验结果显示,湿阻中焦证大鼠 ADH 比正常组显著升高,表明湿阻中焦证大鼠远端肾小管与集合管水分重吸收加强,被保留在体内^[15],小便减少,使体内水、钠积聚。这可能是造模动物出现饮水量明显减少的原因。同时,钠的积聚可能使血浆晶体渗透压升高,对下丘脑视上核渗透压感受器的刺激加强,从而促进 ADH

的合成和释放,使血浆 ADH 的浓度进一步增高。

湿阻中焦证大鼠经给予平胃散后,ADH 基本恢复正常,尤以中剂量为佳。说明平胃散可以抑制 ADH 合成和释放,尿量增加,促使湿阻机体内积聚的水、钠排泄,从而调节机体水、电解质趋于平衡。然而,给正常大鼠平胃散中剂量灌胃后,ADH 反而明显升高,可致水、钠积聚,这说明了平胃散并非单纯的通过利尿作用促使水、钠排泄,它在水盐调节上可能存在双向机制。

综上所述,湿阻中焦证病理机制可能与 ADH 的升高、细胞内钠离子增多、钾离子减少有关。而平胃散在本实验中则提示对机体的水盐代谢有双向调节作用。

参考文献

- 1 李连成. 湿阻的流行病学调查. 中医杂志, 1992, 33(6): 14-15.
- 2 杨宽芝, 王立新, 廖平平. 248 例糖尿病肾病患者分期辨证分析. 广州中医药大学学报, 1998, 15(4): 260-262.
- 3 徐文均, 吴建华. 326 例癌症患者舌象分析. 福建中医药, 1994, (3): 14-15.
- 4 王昕, 张永志, 孙跃余. 伤湿所致大白鼠脾阳虚证动物模型及其机理研究. 辽宁中医杂志, 1995, 22(4): 187-188.
- 5 张六通, 梅永俊, 黄志红, 等. 外湿大鼠关节、肺、大小肠和肝病理学研究. 中国中医基础医学杂志, 1996, 2(3): 35-37.
- 6 陈孝银, 劳永生, 严灿, 等. 湿阻中焦证大鼠胃肠功能的改变及健脾祛湿方药的影响. 四川中医, 1999, 17(1): 4-5.
- 7 郭金龙, 颜正华. 不换金正气散芳香化醒脾的实验研究. 中国医药学报, 1989, 1(4): 265-268.
- 8 李伟, 郑天珍, 丁永辉, 等. 芳香化湿类中药对大鼠离体胃平滑肌运动的影响. 兰州医学院学报, 1998, 21(1): 6-8.
- 9 黄秀深, 赵燕, 张力华, 等. 中焦湿阻证大鼠红细胞膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性研究. 成都中医药大学学报, 2000, 23(1): 23-24.
- 10 邱赛红, 陈立峰, 柳克铃, 等. 平胃散开胃作用机理的实验研究 II - 对湿阻动物模型的影响. 中药药理与临床, 1997, 13(2): 1-4.
- 11 林立本, 张海鸥. 试就内科领域探讨湿的若干问题. 福建中医学院学报, 1995, 5(2): 33-35.
- 12 张六通, 梅永俊, 黄志红, 等. 关于外感湿邪致病机理的研究. 中医杂志, 1999, 40(8): 496-498.
- 13 贾海生. 平胃散新用二则. 安徽中医临床杂志, 1997, 9(3): 118.
- 14 刘国隆主编. 生理学. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 267-269.
- 15 杨钢主编. 内分泌生理与病理生理学. 第 2 版. 天津: 天津科学技术出版社, 2000: 173.

您只需打个电话:

《乙肝康复》手册、VCD 光盘寄到家

欢迎咨询、索取

防治乙肝

“家庭医生”普及工程启动

诚聘“家庭医生”顾问(兼职医生、包括乡医), 年龄不限, 待遇优厚, 资料备案

主办单位: 北京华神制药有限公司

地址: 北京东直门内北新仓 18 号华神制药有限公司

邮政编码: 100700, 联系人: 杜主任、武小姐

电话: 010-81032002, 010-64024363 转 307

ABSTRACTS FROM ORIGINAL ARTICLES

Effects of Single Acupoint Acupuncture on Expression of Aging-correlated Genes in Senescence Accelerated Mouse

Lu Mingxia, Yu Jianchun, Yu Tao, et al.

Objective: To investigate the effect of needling single acupoint Shuigou (GV26), Neiguan (PC6), Taichong (LR3), Shenshu (BL23) or Housanli on expression of aging-correlated genes in brain in rat of senescence accelerated mouse (SAM) P10. **Methods:** Magnetic bead separating method was used for purifying mRNA, and 5'-terminal template transformation mechanism for reverse transcriptase-polymerase chain reaction to synthesize cDNA, and mRNA-AFLP analysis technique formed by amplification fragment length polymorphism (AFLP)-silver staining method for displaying differences of mRNA in various groups. **Results:** 20 pairs of primer were randomly used as selective AFLP amplification, as a result, 42 clear differential expression bands between SAM P and R groups were found. Among them, expression of 34, 26, 26, 8 and 17 differential display bands in each group was regulated by acupuncture on Shuigou, Neiguan, Taichong, Shenshu and Housanli respectively and tended to the same as the R strain. **Conclusion:** Acupuncture of different single acupoint influences expression of aging-correlated gene segments to a certain extent, so as to exert anti-aging action in varying degrees.

Author's Address: First Affiliated Hospital of Tianjin College of TCM, Tianjin 300193

Key Words: Aging/acup-mox effect gene expression/acup-mox effect

(Original article on page 424)

Effects of Compound Prescription of Chinese Drugs Combined with Tripolide on Urinary Protein and Lipoprotein in the Patient of Primary Nephrotic Syndrome

Wan Yigang, Wan Ming, Gu Liubao, et al.

Objective: To explore effects of compound prescription of Chinese drugs combined with tripolide on urinary protein and lipoprotein in the patient of primary nephrotic syndrome (PNS). **Methods:** Group A (32 cases) were treated by Chinese drugs combined with tripolide and group B (30 cases) by combination of prednisone and persantine as controls. Their comprehensive therapeutic effects, 24h urinary protein (Upro) and albumin, lower density lipid protein (LDL) and oxidized LDL (ox-LDL) contents were compared. **Results:** There was no significant difference between the two groups in comprehensive therapeutic effect, and the improving action on Upro, LDL and ox-LDL in group A was superior to those in group B; ox-LDL and Upro contents showed positive correlativity. **Conclusion:** The com-

pound prescription of Chinese drugs combined with tripolide can replace hormones in treatment of PNS and improve leakage of urinary protein in a part of patients of PNS. Ox-LDL can reflect the injuring action of lipids on inherent cells of the kidney and indirectly infer the high glomerular filtration. The prescription protects the inherent cells of the kidney possibly through regulating production or degradation of LDL and ox-LDL.

Author's address: Gulou Hospital Affiliated to Medical College of Nanjing University, Jiangsu 210008.

Key Words: Nephrotic syndrome/TCM therapy tripolide/therapeutic application

(Original article on page 427)

Effects of Pingwei Powder on Plasma Antidiuretic Hormone and Na⁺ and K⁺ Contents in the Red Blood Cells in Model Rat of Retention of Dampness in Middle Energizer

Huang Xiushen, Zhang Fenghua, Jia Bo, et al.

Objective: To explore pathological mechanisms of syndrome of retention of dampness in middle energizer and mechanisms of Pingwei Powder for treatment of the syndrome of retention of dampness in middle energizer. **Methods:** In the model rat of retention of dampness in middle energizer treated by Pingwei Powder combined with diuretics, contents of plasma antidiuretic hormone (ADH) and Na⁺, K⁺ in red blood cells were investigated. **Results:** Contents of plasma ADH and Na⁺ of red blood cells increased and K⁺ decreased significantly in model group as compared with those in normal group ($P < 0.01$ WT5" BZ ¶ or $P < 0.05$). After treatment of Pingwei Powder, ADH content was restored basically normal, intracellular Na⁺ content decreased to nearly normal and K⁺ did not significantly change in high dose, middle dose and low dose group and the group combined with Zexie (Rhizoma Alismatis), and ADH increased and K⁺, Na⁺ decreased significantly in medicine-administrated normal rats as compared with normal group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** The increase of plasma ADH and intracellular Na⁺, and the decrease of K⁺ play an important role in formation of retention of dampness in middle energizer. The mechanism of Pingwei Powder for treatment of retention of dampness in middle energizer is related with the regulation of plasma ADH and intracellular Na⁺ and K⁺ contents, possibly with bidirectional regulation.

Author's address: Basic Laboratory of Integrated TCM, and WM, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075.

Key words: Retention of damp-heat in middle energizer /TCM therapy angiotensin/blood Pingwei Powder/therapeutic applications

(Original article on page 436)