

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.01.016

积雪草水提液对高尿酸血症模型大鼠尿酸代谢的影响

胡向阳*, 刘桃丽, 林春淑, 杨璇

(中山大学附属第五医院, 广东省珠海市香洲区梅华东路 52 号, 519000)

摘要 目的 探讨积雪草水提液治疗高尿酸血症的可能作用机制。方法 将 48 只 Wistar 雄性大鼠随机分为空白组、模型组、苯溴马隆组、积雪草组, 每组 12 只。除空白组外其余各组建立高尿酸血症大鼠模型, 检测造模前后和给药 7、14、21 天各组大鼠血尿酸、尿尿酸浓度及 24 h 尿量, 计算 24 h 尿酸总量。结果 与空白组比较, 造模后各组大鼠血尿酸、尿尿酸浓度、24 h 尿酸总量均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 给药后各时间点苯溴马隆组和积雪草组血尿酸、尿尿酸浓度、24 h 尿酸均明显降低; 给药 7 天苯溴马隆组 24 h 尿量降低, 积雪草组 24 h 尿量升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与苯溴马隆组比较, 给药 7 天积雪草组血尿酸、24 h 尿量升高, 尿尿酸浓度、24 h 尿酸总量降低 ($P < 0.05$)。结论 积雪草水提液可降低高尿酸血症模型大鼠血尿酸、尿尿酸浓度及 24 h 尿酸总量, 并增加 24 h 尿量, 对尿酸代谢作用的影响是其治疗高尿酸血症的可能作用机制。

关键词 高尿酸血症; 积雪草; 尿酸; 苯溴马隆

高尿酸血症是由于嘌呤代谢紊乱或尿酸排泄减少使血尿酸升高的病变, 是痛风病理发病进程中重要的独立危险因素^[1]。目前, 治疗高尿酸血症主要有减少尿酸生成和增加尿酸排泄两条途径。苯溴马隆是我国临床常用的促尿酸排泄药物, 主要通过抑制近端肾小管对尿酸的重吸收而促进尿酸排泄, 其不良反应是可能引起肌痛、肝细胞损害、肾功能异常、肌酸磷酸激酶升高等^[2]。由于促尿酸排泄药物的作用局限, 品种较少, 使高尿酸血症及痛风没有得到很好的预防和治疗。我们近年在临床实践中观察到, 积雪草单方或复方应用有较好的降低尿酸作用。积雪草又名崩大碗、老公根、崩口碗、雷公碗等, 为伞形科植物积雪草 [*Centella asiatica* (L.) Urban] 的全草, 有清热利湿、活血止血、解毒消肿等功效, 能治疗湿热黄疸、痈肿疮毒、传染性肝炎等疾病^[3]。本研究拟观察积雪草水提液对高尿酸血症模型大鼠尿酸代谢的影响, 并探讨其治疗高尿酸血症的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

Wistar 雄性大鼠 48 只, SPF 级, 4 周龄, 体重 (200 ± 20) g, 由中山大学实验动物中心提供, 实

验动物合格证号: 粤检证字 2013C506。每笼 4 只分笼饲养, 自由饮水, 12 h 光暗循环, 适应性饲养 1 周。

1.2 药物

苯溴马隆胶囊 (商品名: 立加利仙), 昆山龙灯瑞迪制药有限公司, 批号: 131106, 规格: 50 mg/粒, 临用前以生理盐水溶解浓度为 5 mg/ml。积雪草全草购于广东省中医院, 按水煎煮工艺制备积雪草水提液: 将 2 kg 积雪草放入 5 L 蒸馏水中, 充分浸泡 2 h, 用武火煎煮至药水沸腾, 改为文火煎煮 30 min, 过滤; 再加 3 L 蒸馏水, 沸腾后文火煎煮 20 min, 过滤。最后将两次煎煮的滤液合并, 3000 r/min 离心 10 min, 将上清液取出浓缩定容, 制成 2 g/ml 生药的积雪草水提液, 置 4℃ 冰箱保存备用。

1.3 试剂与仪器

氧嗪酸钾 (批号: 120127-03)、羧甲基纤维素钠 (批号: 120021-11)、酵母粉 (批号: 120206-03) 由广州天马精细化工厂生产; 腺嘌呤 (批号: 20131005), 美国 Amresco 公司; 尿酸试剂盒 (批号: 20130102), 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; 10% 水合氯醛 (批号: 20130512), 青岛宇龙海藻有限公司。LD4-2 型低速离心机, 北京医用离心机厂; AU640 全自动生化分析仪, 日本

* 通讯作者: aikongzhi@163.com, (0756) 2528182

Olympus 公司。

1.4 动物分组、模型制备及给药方法

将 48 只 Wistar 大鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、苯溴马隆组、积雪草组，每组 12 只。参考文献 [6]，将腺嘌呤用蒸馏水溶解成 4 g/L 的悬浊液；将羧甲基纤维素钠粉用生理盐水配成 8 g/L 的乳状溶液，再加入氧嗪酸钾配成终浓度为 25 g/L 的乳悬液。除空白组外，其余各组均给予 10% 酵母饲料，于 20:00 灌胃给予腺嘌呤悬浊液 100 mg/(kg·d)，同时分 2 次 (9:00 与 19:00) 腹部皮下注射上述乳悬液每次 100 mg/kg，连续 14 天，以制备高尿酸血症模型。造模前于各组大鼠内眦静脉采血，置于 1.5 ml 离心管中，3500 r/min 离心 15 min，得血清；造模第 14 天，给药后第 6 h 于各组大鼠内眦静脉采血，置于 1.5 ml 离心管中，3500 r/min 离心 15 min，得血清。用自动生化分析仪测定血尿酸，与空白组比较其他各组大鼠血尿酸均显著升高 ($P < 0.01$)，提示高尿酸血症大鼠造模成功。造模成功后，空白组给予普通大鼠颗粒饲料和等体积生理盐水灌胃，模型组给予等体积生理盐水灌胃，苯溴马隆组给予苯溴马隆胶囊 20 mg/(kg·d) 灌胃，积雪草组给予积雪草水提液 10 g/(kg·d) 灌胃。连续 21 天。

1.5 观察指标及方法

分别于造模前、造模 14 天和给药后的第 7、14、21 天 10:00，腹腔注射 10% 水合氯醛 3 ml/kg 麻醉各组大鼠，内眦静脉采血约 2 ml，将采取的新鲜血加入含肝素抗凝的试管中，混匀，4℃，

3500 r/min 离心 15 min，收取上清液 (血清)，采用全自动生化分析仪测定血尿酸浓度。造模前、造模 14 天和给药后第 7、14、21 天，用鼠代谢笼收集大鼠 24 h 尿液，测定 24 h 尿量、尿酸浓度，计算 24 h 尿酸总量，24 h 尿酸总量 = 24 h 尿量 × 尿酸浓度。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理。数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，方差齐者采用单因素方差分析；方差不齐者采用非参数检验；组间两两比较采用 q 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间血尿酸浓度比较

表 1 示，与空白组比较，造模前各组大鼠血尿酸浓度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，造模第 14 天各组大鼠血尿酸均显著升高 ($P < 0.01$)，给药后各时间点模型组血尿酸均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较，给药后各时间点苯溴马隆组和积雪草组血尿酸均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与苯溴马隆组比较，给药 7 天积雪草组血尿酸升高 ($P < 0.05$)。与本组造模 14 天比较，苯溴马隆组给药后各时间点血尿酸显著降低，积雪草组给药 14、21 天血尿酸显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠不同时间 24 h 尿量比较

表 2 示，与空白组比较，造模前后及给药 14、21 天，各组大鼠 24 h 尿量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较，给药 7 天苯溴马隆

表 1 各组大鼠不同时间血尿酸浓度比较 ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模 14 天	给药 7 天	给药 14 天	给药 21 天
空白组	12	28.36 ± 2.23	29.32 ± 2.17	28.12 ± 2.21	27.35 ± 1.59	28.55 ± 2.22
模型组	12	27.25 ± 1.67	51.37 ± 3.18**	52.32 ± 4.15**	50.26 ± 3.52**	51.44 ± 3.31**
苯溴马隆组	12	28.14 ± 2.05	50.46 ± 3.52**	36.34 ± 2.47*△△#	31.13 ± 2.12△△##	28.36 ± 2.25△△##
积雪草组	12	27.31 ± 2.27	51.22 ± 3.31**	43.18 ± 3.05*△△#	33.26 ± 2.71△△##	30.28 ± 2.20△△##

注：与空白组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，△ $P < 0.05$ ，△△ $P < 0.01$ ；与苯溴马隆组比较，▲ $P < 0.05$ ；与本组造模 14 天比较，## $P < 0.05$ ，### $P < 0.01$

表 2 各组大鼠不同时间 24 h 尿量比较 (ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模 14 天	给药 7 天	给药 14 天	给药 21 天
空白组	12	10.26 ± 1.25	12.18 ± 1.52	13.55 ± 1.37	14.22 ± 1.73	14.58 ± 1.36
模型组	12	9.57 ± 1.23	11.35 ± 1.60	13.24 ± 1.13	14.35 ± 1.62	14.21 ± 1.29
苯溴马隆组	12	10.12 ± 1.20	11.12 ± 1.27	10.32 ± 1.48*△	13.21 ± 1.03	14.18 ± 1.22
积雪草组	12	10.03 ± 1.12	11.38 ± 1.56	16.32 ± 2.01*△△#	15.23 ± 1.54#	16.21 ± 2.25#

注：与空白组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，△ $P < 0.05$ ；与苯溴马隆组比较，▲ $P < 0.05$ ；与本组造模 14 天比较，## $P < 0.05$

表 3 各组大鼠不同时间尿酸浓度比较 ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模 14 天	给药 7 天	给药 14 天	给药 21 天
空白组	12	1460.80 $\pm$ 30.32	1458.22 $\pm$ 27.81	1465.46 $\pm$ 27.22	1461.25 $\pm$ 26.33	1452.46 $\pm$ 27.28
模型组	12	1435.26 $\pm$ 28.70	2561.38 $\pm$ 40.32 ^{**}	2618.50 $\pm$ 42.17 ^{**}	2572.61 $\pm$ 39.21 ^{**}	2627.32 $\pm$ 40.91 ^{**}
苯溴马隆组	12	1422.57 $\pm$ 26.28	2625.22 $\pm$ 38.14 ^{**}	1822.56 $\pm$ 25.12 ^{*△#}	1522.20 $\pm$ 21.13 ^{△△##}	1427.34 $\pm$ 20.30 ^{△△##}
积雪草组	12	1440.13 $\pm$ 27.31	2572.53 $\pm$ 40.26 ^{**}	1481.28 $\pm$ 22.32 ^{△△▲##}	1511.23 $\pm$ 21.52 ^{△△##}	1430.25 $\pm$ 20.34 ^{△△##}

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与苯溴马隆组比较, $\Delta P < 0.05$; 与本组造模 14 天比较, $\#P < 0.05$, $\##P < 0.01$

表 4 各组大鼠不同时间 24 h 尿酸总量比较 (μmol , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模 14 天	给药 7 天	给药 14 天	给药 21 天
空白组	12	14.47 $\pm$ 1.25	14.53 $\pm$ 1.27	14.60 $\pm$ 1.22	14.45 $\pm$ 1.16	14.29 $\pm$ 1.15
模型组	12	14.35 $\pm$ 1.20	26.37 $\pm$ 2.15 ^{**}	25.53 $\pm$ 2.36 ^{**}	26.18 $\pm$ 2.15 ^{**}	24.12 $\pm$ 2.20 ^{**}
苯溴马隆组	12	14.52 $\pm$ 1.12	26.28 $\pm$ 2.56 ^{**}	18.35 $\pm$ 1.51 ^{*△#}	15.12 $\pm$ 1.36 ^{△△##}	14.69 $\pm$ 1.27 ^{△△##}
积雪草组	12	14.28 $\pm$ 1.04	25.47 $\pm$ 2.13 ^{**}	14.77 $\pm$ 1.06 ^{△△▲##}	15.13 $\pm$ 1.22 ^{△△##}	14.25 $\pm$ 1.35 ^{△△##}

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与苯溴马隆组比较, $\Delta P < 0.05$; 与本组造模 14 天比较, $\#P < 0.05$, $\##P < 0.01$

组 24 h 尿量降低, 积雪草组 24 h 尿量升高 ($P < 0.05$)。与苯溴马隆组比较, 给药 7 天积雪草组 24 h 尿量升高 ($P < 0.05$)。与本组造模 14 天比较, 苯溴马隆组给药后各时间点 24 h 尿量差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 积雪草组给药后各时间点 24 h 尿量均明显升高 ($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠不同时间尿酸浓度比较

表 3 示, 与空白组比较, 造模前各组大鼠尿酸浓度比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 造模 14 天各组大鼠尿酸浓度均显著升高 ($P < 0.01$), 给药后各时间点模型组尿酸浓度均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 给药后各时间点苯溴马隆组和积雪草组尿酸浓度均明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与苯溴马隆组比较, 给药 7 天积雪草组尿酸浓度降低 ($P < 0.05$)。与本组造模 14 天比较, 苯溴马隆组和积雪草组给药后各时间点尿酸浓度降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.4 各组大鼠不同时间 24 h 尿酸总量比较

表 4 示, 与空白组比较, 造模前各组大鼠 24 h 尿酸总量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 造模后各组大鼠 24 h 尿酸总量均显著升高 ($P < 0.01$), 给药后各时间点模型组 24 h 尿酸总量均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 给药后各时间点苯溴马隆组和积雪草组 24 h 尿酸总量有不同程度降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与苯溴马隆组比较, 给药 7 天积雪草组 24 h 尿酸总量降低 ($P < 0.05$)。与本组造模 14 天比较, 苯溴马隆组和积雪草组给药后各时间点 24 h 尿酸总量显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 讨论

我们认为, 高尿酸血症和痛风多由先天体质或禀赋异常, 或素体脾虚, 中年体衰, 加之饮食不节, 沉溺醇酒, 嗜好膏粱厚味, 日积月累, 导致脾失健运, 升降浊功能紊乱, 湿浊内生, 留于脏腑关节或外注经筋皮部而发病。西医可见高尿酸血症、痛风性关节炎、痛风石、痛风性肾病等。朱丹溪《格致余论·痛风》记载“患痛风, 叫号撼邻, 余视之曰: 此恶血入经络证, 血受湿热, 久必凝浊, 所下未尽, 留滞隧道, 所以作痛。”^[4]健脾补虚、清热祛湿、解毒、利小便等是治疗该类疾病的指导理论和方法。

积雪草是岭南道地草药, 具有清热利湿、活血止血、解毒消肿等功效。体内嘌呤来自食物分解或体内合成, 大部分嘌呤氧化代谢变成尿酸, 尿酸生成过多或排泄受阻, 可致使血尿酸水平升高。肾脏是血尿酸水平调节的重要器官, 负责将人体内总尿酸的 60% ~ 70% 排出体外^[5]。本实验结果发现, 与造模后比较, 积雪草组给药 14、21 天大鼠血尿酸浓度显著降低, 与对照药物苯溴马隆胶囊比较, 虽然给药 7 天血尿酸升高, 但是给药 14、21 天血尿酸水平两组相当, 提示积雪草具有较好的降血尿酸作用。

人体每天产生的尿酸 2/3 经由肾脏通过尿液排出体外, 剩余 1/3 随粪便和汗液排出, 其中少量被肠道细菌分解^[6]。检测给药前后 24 h 尿量和尿酸浓度, 计算 24 h 尿酸总量, 可一定程度反映实验大鼠经由尿液排泄尿酸的肾脏处理能力。本实验

结果显示,与造模后比较,积雪草组给药后各时间点 24 h 尿量均升高,尿尿酸浓度均显著降低,24 h 尿酸总量均显著降低;与模型组比较,积雪草组给药 7 天 24 h 尿量升高,给药后各时间点尿尿酸浓度和 24 h 尿酸总量有不同程度降低,提示积雪草给药后可以增加模型大鼠 24 h 尿量,降低尿尿酸浓度和 24 h 尿酸总量,在降低血尿酸的同时增强了经由尿液排泄尿酸的肾脏处理能力。

苯溴马隆胶囊是目前我国临床广泛使用的排尿酸药物,主要用于原发性和继发性高尿酸血症、各种原因引起的痛风以及痛风性关节炎非急性发作期的治疗。国家药品不良反应监测数据库的数据分析显示,苯溴马隆的严重不良反应中肝损害问题比较突出,2015 年国家食品药品监督管理总局发布建议关注苯溴马隆的肝损害风险^[8]。本研究结果显示,积雪草虽然在给药 7 天后降血尿酸作用弱于苯溴马隆,但其 24 h 尿量升高、尿尿酸浓度和 24 h 尿酸总量降低,且在给药 14、21 天两者上述指标比较疗效相当,故其具有进一步研究的价值。

Effect of Water Extract of Jixuecao [*Centella asiatica*] on Uric Acid Metabolism in Hyperuricemia Model Rats

HU Xiangyang, LIU Taoli, LIN Chunshu, YANG Xuan

(The Fifth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Zhuhai, 519000)

ABSTRACT Objective To explore the probable mechanism of the water extract of Jixuecao [*Centella asiatica*] in treating hyperuricemia. **Methods** Forty-eight male Wistar rats were randomly divided into blank group, model group, Benzbromarone group and Jixuecao group, 12 for each. The hyperuricemia model was built in groups except the blank group. In each group, the serum uric acid (UA) level, urine UA level and the 24 h urine volume were detected before and after modeling as well as on the 7th, 14th and 21st day of drug administration, and the 24 h UA volume was calculated. **Results** Compared with the blank group, after modeling, serum UA level, urine UA level and 24 h urine volume in each group increased significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, after drug administration, serum UA level, urine UA level and 24 h urine volume in Benzbromarone group and Jixuecao group declined significantly; on the 7th day, the 24 h urine volume in Benzbromarone group descended, while that in Jixuecao group ascended ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with Benzbromarone group, on the 7th day after drug administration, serum UA level and 24 h urine volume in Jixuecao group increased, while urine UA level and 24 h UA volume decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The water extract of Jixuecao could lower serum UA level, urine UA level and 24 h UA volume in hyperuricemia rat models, and increased the 24 h urine volume. Its effect on the UA metabolism may be the potential mechanism of treating hyperuricemia.

Keywords hyperuricemia; Jixuecao [*Centella asiatica*]; uric acid; Benzbromarone

参考文献

- [1] 宋薇,刘精东.高尿酸血症和痛风的流行病学及影响因素研究进展[J].江西医药,2013,48(5):459-462.
- [2] 杨媛,李静,甄健存,等.抗痛风药别嘌醇、苯溴马隆及秋水仙碱不良反应报告分析[J].中国医院药学杂志,2013,33(5):1396-1297.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:267.
- [4] 陈瞳,崔凌凌,王希波,等.高尿酸血症大鼠模型的建立及其肾脏损伤观察[J].山东医药,2013,53(43):29-31.
- [5] 朱丹溪.格致余论[M].鲁兆麟,点校.沈阳:辽宁科学技术出版社,1997:5.
- [6] BOBULESCU IA, MOE OW. Renal transport of uric acid: evolving concepts and uncertainties[J]. Adv Chronic Kidney Dis, 2012, 19(6): 358-371.
- [7] EJAZ AA, MU W, KANG DH, et al. Could uric acid have a role in acute renal failure? [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2007, 2(1): 16-21.
- [8] 国家药品不良反应监测中心.药品不良反应信息通报:警惕苯溴马隆的肝损害风险[J].中国药物警戒,2016,13(1):59-60.

(收稿日期: 2016-04-11; 修回日期: 2016-08-26)

编辑: 王利芬