

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.16.007

加味四妙汤对湿热质高尿酸血症模型大鼠血清生化指标的影响*

汤双齐,何希俊

(广州中医药大学附属中山市中医院,广东 中山 528400)

摘要:目的 探讨加味四妙汤对湿热质高尿酸血症模型大鼠血清尿酸(UA)、一氧化氮(NO)、内皮素(ET-1)及血栓素B₂(TXB₂)含量的影响。方法 将80只SD大鼠分为空白(等体积蒸馏水)组、模型(等体积蒸馏水)组、苯溴马隆(10 mg/kg)组、加味四妙汤(8.3 g/kg,按生药计)组,各20只。各组大鼠均予以肥甘饮食及尾静脉注射大肠杆菌内毒素(2 μg/kg),每周2次,连续6周,以建立湿热质大鼠模型。除空白组外,其余各组大鼠均在建立湿热质模型的同时皮下注射氧嗪酸钾(200 mg/kg)及灌胃乙胺丁醇(250 mg/kg),每天1次,连续6周,以建立湿热质高尿酸血症大鼠模型。建模成功后,各组大鼠灌胃给予相应药物,每天1次,连续14 d。采用比色法测定大鼠血清UA及NO的含量;采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定大鼠血清ET-1和TXB₂的含量。结果 与空白组比较,模型组大鼠UA,ET-1,TXB₂含量均显著增加,NO含量显著减少($P < 0.05$);与模型组比较,苯溴马隆组及加味四妙汤组大鼠UA,ET-1,TXB₂含量均显著减少,NO含量均显著增加($P < 0.05$)。结论 加味四妙汤能减少湿热质高尿酸血症模型大鼠血清UA,ET-1,TXB₂的含量,增加NO的含量。

关键词:加味四妙汤;湿热质;高尿酸血症;尿酸;一氧化氮;内皮素;血栓素;大鼠

中图分类号:R932;R285.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)16-0022-03

Effect of Jiawei Simiao Decoction on Biochemical Indexes of Hyperuricemia Model Rats with Damp-Heat Constitution

TANG Shuangqi, HE Xijun

(Zhongshan Hospital of TCM Affiliated to Guangzhou University of TCM, Zhongshan, Guangdong, China 528400)

Abstract: Objective To investigate the effect of Jiawei Simiao Decoction on serum uric acid(UA), nitric oxide(NO), endothelin-1(ET-1) and thromboxane B₂(TXB₂) in hyperuricemia model rats with damp-heat constitution. **Methods** Totally 80 SD rats were divided into blank group(equal volume of distilled water), model group(equal volume of distilled water), benzbromarone group(10 mg/kg) and Jiawei Simiao Decoction group(8.3 g/kg, calculating by crude drug), 20 rats in each group. The rats in each group were fed with fat and sweet diet and injected with *Escherichia coli* endotoxin(2 μg/kg) via tail vein twice a week for 6 weeks to establish model rats with damp-heat constitution. Except for the blank group, the rats with damp-heat constitution in the other groups were subcutaneously injected with potassium oxalate(200 mg/kg) and intragastrically administered with ethambutol(250 mg/kg) once a week for 6 weeks to establish the hyperuricemia model rats with damp-heat constitution. After successful modeling, the rats in each group were intragastrically administered with corresponding drugs once a day for 14 consecutive days. The contents of UA and NO in serum of rats were determined by colorimetry, and the contents of ET-1 and TXB₂ in serum of rats were determined by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). **Results** Compared with the blank group, the contents of UA, ET-1 and TXB₂ increased significantly, while the

*基金项目:广东省中山市科技计划项目[2017B1080]。

第一作者:汤双齐,女,大学本科,副主任中医师,研究方向为中医内科学,(电子信箱)zhoulicun1979@sina.com。

- [4] 赵剑峰. 瑞舒伐他汀联合通心络胶囊治疗冠心病合并高脂血症疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(11): 1208-1210.
- [5] 杜海燕, 方振威, 林 阳. 他汀类药物防治动脉粥样硬化性心血管疾病相关指南解读及其临床应用现状分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2015, 15(2): 148-153.
- [6] 李丹丹, 陶 涛. 他汀类药物化学结构和理化性质对其药效及药动学特性的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(6): 497-502.
- [7] 王建辉, 刘永乐, 李赤翎, 等. 杜仲绿原酸对高脂模型小鼠降血脂作用研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(15): 360-362.
- [8] 王冰瑶, 吴晓燕, 樊官伟. 丹参素保护心血管系统的药理作用机制研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(17): 2571-2575.
- [9] 金 钟. 沙棘叶黄酮提取物体内抗氧化活性、应用与护肝作用的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [10] 刘 莹, 杨润梅, 高南南. 高甘油三酯血症促进动脉粥样硬化分子机制研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2015, 42(5): 581-586.
- [11] 林旻洁, 赵水平. 甘油三酯与冠心病发病关系及机制的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(12): 1043-1046.
- [12] 何平平, 欧阳新平, 唐艳艳, 等. 甘油三酯水平升高与动脉粥样硬化性心血管疾病的联系的研究新进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(10): 951-954.
- [13] 魏苏宁, 苏雪莹, 徐国恒. 肝细胞甘油三酯代谢途径异常与脂肪肝[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016, 32(2): 123-132.

(收稿日期: 2019-03-20)

content of NO decreased significantly in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the contents of UA, ET-1 and TXB₂ decreased significantly, while the content of NO increased significantly in the benzbromarone group and the Jiawei Simiao Decoction group ($P < 0.05$). **Conclusion** Jiawei Simiao Decoction can reduce the contents of serum UA, ET-1 and TXB₂ and increase the content of NO in hyperuricemia model rats with damp-heat constitution.

Key words: Jiawei Simiao Decoction; damp-heat constitution; hyperuricemia; uric acid; nitric oxide; endothelin; thromboxane; rats

近年来,高尿酸血症的发病率逐年上升,且发病年龄呈年轻化趋势,但由于无明显的临床症状而常被忽视^[1]。中医学认为,高尿酸血症形成的主因为湿浊、热毒、血瘀、痰凝,临床多以祛湿通络、泄浊解毒为主要治法^[2]。高尿酸血症不仅是急性痛风性关节炎、慢性痛风性疾病和尿酸性肾病最重要的生化基础,而且可能是高血压、血脂异常、脂肪肝、胰岛素抵抗、慢性肾病等多种代谢相关性疾病和心血管疾病发生、发展的独立危险因素^[3]。随着对高尿酸血症研究的不断深入,发现其作为上述疾病的危险因素,与其可造成血管内皮细胞功能障碍相关^[4],血管内皮细胞能合成和释放有舒张或收缩功能的物质,如一氧化氮(NO)、内皮素(ET-1)和血栓素 B₂(TXB₂),以调控高尿酸血症,故血管内皮功能的保护不容忽视。本研究中通过建立湿热质高尿酸血症大鼠模型,以加味四妙汤进行干预,观察模型大鼠血清中尿酸(UA),NO,ET-1,TXB₂含量的变化,探讨加味四妙汤对模型大鼠 UA 及血管内皮功能的影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物、仪器与试剂

动物:健康 SPF 级 SD 大鼠 80 只,雄性,6~8 周,体重 80~100 g,购自广州中医药大学动物实验中心,动物许可证号为 SYXK(粤)2017-0179。饲养条件,室温 16~22℃,相对湿度 65%~70%,自由饮水、进食,光照 12 h(8:00-20:00)。

仪器:UV-7504 型紫外-可见分光光度计(上海精密仪器有限公司);DNM-9606 型酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司)。

试剂:加味四妙汤(医院中药制剂室自制);苯溴马隆片(江苏昆山龙灯瑞迪制药有限公司,批号为 P20180718,规格为每片 50 mg);盐酸乙胺丁醇片(上海信谊天平药业有限公司,批号为 P20101214,规格为每片 250 mg);氧嗪酸钾(美国 Sigma 公司,纯度为 97%);大肠杆菌内毒素、UA 测试盒(批号为 12-2-1)、NO 试剂盒(批号为 12-1-2)均购自南京建成生物工程研究所;ET-1 酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(批号为 R0925)、血栓素 B₂(TXB₂) ELISA 试剂盒(批号为 R0707),均购自北京华英生物技术研究所。

1.2 方法

分组、建模及给药:80 只 SD 大鼠适应性喂养 7 d,按随机数字表法分为空白(等体积蒸馏水)组(A 组)、模型(等体积蒸馏水)组(B 组)、苯溴马隆(10 mg/kg)组(C 组)、加味四妙汤(8.3 g/kg,按生药计)组(D 组),各 20 只。参考文献[5-6],各组大鼠予以肥甘饮食(5%猪油、3%鸡蛋黄、5%蜂蜜掺入普通饲料)及尾静脉注射大肠杆菌内毒素(2 μg/kg),每周 2 次,连续 6 周,以建立湿热质大鼠模型。除 A 组外,其余各组大鼠均在建立湿热质模型的同时皮下注射氧嗪酸钾(200 mg/kg)及灌胃乙胺丁醇(250 mg/kg),每天 1 次,连续 6 周,以建立湿热质高尿酸血症大鼠模型。建模成功后,各组大鼠灌胃给予相应药物,每天 1 次,连续 14 d。

指标检测:末次给药 2 h 后,腹腔注射 7% 水合氯醛(0.5 mL/100 g),麻醉大鼠,腹主动脉取血,3 000 r/min 离心 5 min,分离血清,采用比色法测定 UA 及 NO 的含量;采用 ELISA 法测定 ET-1 及 TXB₂ 的含量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,当数据满足正态分布且组间方差齐时,以 ANOVA 分析,如不满足上述条件则行秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清 UA 及 NO 含量

与 A 组比较,B 组大鼠 UA 含量显著增加,NO 含量显著减少($P < 0.05$);与 B 组比较,C 组及 D 组大鼠 UA 含量显著减少,NO 含量显著增加($P < 0.05$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠血清 UA 和 NO 含量比较($\bar{X} \pm s, n=20$)

组别	剂量(g/kg)	UA(μmol/L)	NO(μmol/L)	ET-1(pg/mL)	TXB ₂ (pg/mL)
A 组		143.56 ± 15.38	33.41 ± 1.68	104.32 ± 9.56	116.64 ± 13.56
B 组		193.34 ± 18.39 [#]	26.32 ± 1.39 [#]	136.34 ± 10.38 [#]	143.78 ± 10.36 [#]
C 组	0.01	103.46 ± 13.54 [*]	38.45 ± 2.54 [*]	82.25 ± 6.64 [*]	103.45 ± 9.34 [*]
D 组	8.3	111.89 ± 12.94 [*]	36.12 ± 2.19 [*]	86.38 ± 5.56 [*]	96.67 ± 8.94 [*]

注:与 A 组比较,[#] $P < 0.05$;与 B 组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

2.2 大鼠血清 ET-1 及 TXB₂ 含量

与 A 组比较,B 组大鼠 ET-1 和 TXB₂ 含量均显著增加($P < 0.05$);与 B 组比较,C 组及 D 组大鼠 ET-1 和 TXB₂ 含量均显著减少($P < 0.05$)。详见表 1。

3 讨论

中医学认为,中医体质与健康状态密切相关,体质类型决定对某些致病因子的易感性及所产生疾病类型的倾向性。多数中医学者认同高尿酸血症的病机为肝肾不足,脾胃损伤,湿热痰浊内蕴、痰瘀互阻,久之形成湿热痰浊内蕴(血中UA生成过多)或痰浊湿热排泄减缓减少(血中UA排泄减少),以致湿热痰浊内蕴加重^[7]。既往研究发现,湿热体质类型人群是该病的多发人群。随着对高UA血症研究的深入,发现高UA引起的病理生理变化并不完全由尿酸盐结晶引起,UA还可通过其他途径影响内皮细胞功能,从而参与心血管疾病及肾脏病的发生^[8]。KARBOWSKA等^[9]对肾移植术后患者的研究发现,与正常UA水平人群相比,高UA患者血清中血管内皮功能标志物(血浆抵抗素和可溶性血浆黏附分子1)浓度显著升高。STAKHOVA等^[10]研究发现,和正常血UA水平人群相比,血管内皮功能障碍标记物(尿蛋白、血浆内皮素原及颈动脉内中膜厚度等)在高UA患者血清中呈现高表达。高UA可通过影响血管内皮功能障碍和炎性反应的发生,参与心血管疾病及肾脏病发生。因此,深入研究湿热质高尿酸血症发病机制及防治方案具有重要临床意义。

四妙方源于清代张秉成《成方便读》,该方以黄柏为君药,苍术为臣药,薏苡仁、牛膝为佐药,有清热除湿、宣痹通络功效,为临床治疗高尿酸血症的基础方。四妙方虽有清热利湿之功效,但活血化瘀作用稍弱。本试验中加味四妙汤(苍术、黄柏、薏苡仁、牛膝、地龙、丹参)以现代中医理论为基础,结合现代中药药理研究组方。现代药理研究证明,黄柏具有抗氧化、保护肾脏、抗炎、细胞免疫调节等药理作用,苍术酮可强烈抑制 Na^+ , K^+ -ATP酶活性,利尿同时降低了UA水平;牛膝能减少脂质吸收,阻止类脂质在血清滞留或渗透到动脉内膜,从而改变脂质及嘌呤的代谢,最终达到调脂、降血UA、消除尿蛋白的目的。丹参能抗血栓形成,提高纤溶酶活性;延长出血、凝血时间;抑制血小板聚集,改善血液流变学特性。地龙提取物可提高小鼠红细胞变形能力,从而改善血液流变学特性和微循环障碍。研究表明,UA生成增多,氧自由基同时生成增多,NO浓度降低,损害了血管内皮依赖的舒张功能;ET-1可客观反映血管功能,静脉注射ET-1后模型狗的外周血管阻力、肺血管阻力和冠状血管阻力增加,肺毛细血管楔压上升;TXB₂是由TXA₂在体内转变而来,后者是主要由血小板微粒体合成并释放的具有强烈收缩血管和促进血小板聚集作用的生物活性物质,通过检测血浆TXB₂可间接判断体内TXA₂的水平^[11]。四妙汤具有降低高尿酸血症患者血清UA水平的作用。程新等^[12]的研究表明,桃红四物汤合四妙丸可

明显降低高尿酸血症患者血清中UA水平;其在改善血管内皮细胞功能方面,能显著增加NO和NOS含量,减少ET和TXB₂含量;在抗氧化应激和炎性反应方面,可明显增强血清中SOD活性及减少肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素18的含量。刘文毅等^[13]研究发现,活血四妙汤可减少高尿酸血症模型大鼠血UA含量,其作用机制与调节黄嘌呤氧化酶活性有关。

综上所述,加味四妙汤能减少湿热质高尿酸血症模型大鼠血清UA,ET-1,TXB₂的含量,增加NO的含量。

参考文献:

- [1] 刘颖,刘红艳,梁新华. 波尼松联合碳酸氢钠及别嘌呤醇治疗IgA肾病合并高尿酸血症临床疗效评价[J]. 中国药业, 2017,26(2):50-53.
- [2] 张海艇,谢峰伟,沈维增,等. 清热利湿法治疗湿热型原发性高尿酸血症的临床研究[J]. 世界中医药,2014,9(7):892-894.
- [3] BOVE M, CICERO AF, VERONESI M, et al. An evidence-based review on urate-lowering treatments: implications for optimal treatment of chronic hyperuricemia[J]. Vasc Health Risk Manag, 2017,13:23-28.
- [4] ZOU H, WANG H, LIU T, et al. Protective role of alpha-lipoic acid in hyperuricemia-induced endothelial dysfunction[J]. Exp Ther Med, 2017,13(6):3047-3054.
- [5] 陈爽白,常淑枫,肖照岑,等. 湿热证大鼠模型的复制及三仁汤对其影响的实验观察[J]. 天津中医,2002,19(2):38-40.
- [6] 杨桂梅,黄胜华,连希艳,等. 大鼠高尿酸血症模型的建立[J]. 实验动物科学,2011,28(3):25-28.
- [7] 睦蕴慧,殷海波,石白. 从中医“治未病”探讨高尿酸血症及痛风的防治[J]. 北京中医药,2013,32(1):44-46.
- [8] ISO T, KURABAYASHI M. Extremely low levels of serum uric acid are associated with endothelial dysfunction in humans[J]. Circ J, 2015,79(5):978-980.
- [9] KARBOWSKA A, BORATYNSKA M, KUSZTAL M, et al. Hyperuricemia is a mediator of endothelial dysfunction and inflammation in renal allograft recipients[J]. Transplant Proc, 2009,41(8):3052-3055.
- [10] STAKHOVA TYU, PULIN AA, SEVEROVA MM, et al. Clinical implication of endothelial dysfunction in patients with essential arterial hypertension and urate dysbolism with renal damage[J]. Ter Arkh, 2011,83(10):36-40.
- [11] 刘畅,王淳,郑媛,等. 利湿活血方对高尿酸血症模型大鼠血管内皮功能的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2016,39(1):10-15.
- [12] 程新,向少伟,唐丽萍,等. 桃红四物汤合四妙丸对高尿酸血症患者血管内皮功能的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015,16(10):911-912.
- [13] 刘文毅,尉万春,李伟,等. 活血四妙汤对高尿酸血症大鼠血尿酸及血黄嘌呤氧化酶的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2015,10(10):1364-1366.

(收稿日期:2018-12-06)