

单叶细辛对家兔肾功能的影响

明海霞, 刘家骏, 黄世佐

(甘肃中医学院生理学教研室, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] 目的: 研究单叶细辛对家兔肾功能的影响。方法: 将家兔随机分为单叶细辛组、辽细辛对照组和生理盐水对照组 3 组, 分别测定静脉注射药物前后的每分钟尿量、尿液 pH 值、尿蛋白、尿糖、尿潜血、血尿素氮 (BUN)、血肌酐 (SCr)、血栓素 B₂ (TXB₂)、6-酮-前列腺素 F₁ (6-keto-PGF₁)、TXB₂/6-keto-PGF₁ 的比值、内皮素 (ET)、对氨基马尿酸清除率及酚红排泄率等指标。结果: 单叶细辛在一定剂量下可导致家兔急性肾衰竭, 各项指标与生理盐水对照组比较有统计学差异; 与辽细辛对照组比较, 各项指标均较低, 但除 SCr 外, 统计学处理无显著性差异。结论: 单叶细辛对家兔肾功能有损害作用, 但其肾毒性小于辽细辛。

[关键词] 单叶细辛; 辽细辛; 急性肾衰竭; 动物, 实验

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2004)03-0199-04

Influence of single leaf *Asarum himalaicum* on renal function of rabbits

MING Hai-Xia, LIU Jia-Jun, HUANG Shi-Zuo

(Department of Physiology, Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu Province 730000, China)

ABSTRACT Objective: To study the influence of single leaf *Asarum himalaicum* on the renal function of rabbits. Methods: Rabbits were divided into three groups. *Asarum himalaicum*, *Asarum heterotropoides* and normal saline were intravenously administered to the rabbits of one group respectively. The urine volume per minute, urine pH, urine glucose, protein and red blood cells, BUN, SCr, TXB₂, 6-keto-PGF₁, TXB₂/6-keto-PGF₁, endothelin, p-aminohippuric acid clearance rate and phenolsulfonphthalein excretion rate were tested before and after the administration. Results: A certain dosage of single leaf *Asarum himalaicum* caused acute renal failure in rabbits. The indices tested were significantly different between rabbits administered *Asarum himalaicum* and normal saline. As compared with the rabbits administered *Asarum heterotropoides*, the results of indices tested decreased, but without statistical significance, except for SCr. Conclusion: The single leaf *Asarum himalaicum* can cause renal damage to rabbits. Its renal toxicity is lower than that of *Asarum heterotropoides*.

KEY WORDS *Asarum himalaicum*; *Asarum heterotropoides*; acute renal failure; animal, laboratory

J Chin Integr Med, 2004, 2(3): 199-202

细辛始载于《神农本草经》, 列为上品, 其“味辛温, 主咳逆、头痛、脑动、百节拘挛、风湿痹痛、死肌。明目, 利九窍”。因其具有祛风散寒、通窍止痛、温肺化饮的功能, 临床多用于治疗风寒感冒、头痛、牙痛、鼻塞、鼻渊及痰饮、喘咳等症。2000 年版《中华人民共和国药典》规定细辛正品为马兜铃科植物北细辛 (又名辽细辛) *Asarum heterotropoides* F. Schm. var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag., 汉城细辛 *A. sieboldii* Miq. var. *seoulense* Nakai 或华细辛 *A. sieboldii* Miq. 的干燥全草。但目前全国各地尚有一些代用品种在实际应用, 甘肃地区临床多以马兜铃科植物单叶细辛 *Asarum himalaicum* Hook. f. et Thoms. exklotzsch 的带根全草作为代用品使用, 习称“甘肃细辛”或“草细辛”。自古以来, 细辛即被视为有毒药品^[1]。鉴于单叶细辛属马兜铃科植物, 而近年来“马兜铃肾病”一说盛行, 为客观评价其毒性,

指导临床安全合理用药, 我们就单叶细辛对家兔肾功能的影响进行了研究, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品 单叶细辛、辽细辛由甘肃中医学院中药教研室提供, 并经该院中药鉴定教研室鉴定, 由药学综合实验室采用水提醇沉法各制成浓度相当于生药量 1 g/ml 的提取液。

1.1.2 主要仪器 尿液快速分析仪 (100/MA-4210 型)、Konelab 60i 全自动生化分析仪, 桂林市医疗电子仪器厂生产; RDB-3C 微量恒速蠕动泵, 江苏省张家港医用电子仪器厂生产; SN-682 放射免疫计数

[基金项目] 甘肃省教育厅科研项目 (No. 02B4-04)

[作者简介] 明海霞 (1976-), 女, 助教, 在读硕士研究生。

Correspondence to: MING Hai-Xia. E-mail: zhh2004222@sina.com

器,南京桑力电子设备厂生产;721 型分光光度计,上海第三分析仪器厂生产。

1.1.3 试剂 乌拉坦(25% 氨基甲酸乙酯),上海化学试剂供应站提供(批号:9902032);0.6% 酚磺酞注射液,上海市奉贤县制药厂生产(批号:010722)。

1.1.4 动物 健康家兔,体重(2.0 ±0.2) kg/只,雌雄不拘,由中国农业科学院兰州中兽医研究所提供(动物号:2002-036)。取家兔 21 只,随机分为 3 组,即单叶细辛组、辽细辛对照组和生理盐水对照组,每组 7 只。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物的处理 各组以 25% 乌拉坦 4 ml/kg 从耳缘静脉注射麻醉后,施行双侧输尿管插管手术,自耻骨联合上缘沿正中线向上作一长约 5 cm 的皮肤切口,将膀胱翻转移出体外。从周围组织中分离一小段输尿管,用线将输尿管近膀胱端结扎,然后在结扎上方的管壁处斜剪一小切口,把充满生理盐水的细塑料管向肾脏方向插入输尿管内,用线结扎、固定好,用 Y 形管将两侧的细塑料插管连起。手术完毕后,将膀胱送回腹腔,用温生理盐水纱布覆盖在腹部创口上,以保持腹腔内温度。Y 形管另一端连接至记滴器,观察并记录 20 min 的尿量作为基础尿量。然后,两药物组以 1 ml/kg 剂量[相当于临床成人细辛常用煎煮剂量(5g)的 50 倍]分别从耳缘静脉注射单叶细辛和辽细辛提取液;生理盐水对照组静脉注射等量的生理盐水。注射前和注射药物后 5 h 测定每分钟平均尿量、尿液 pH、尿蛋白、尿糖、尿潜血。血液采集方法:通过颈静脉取血。将家兔固定后,使头朝下,在颈部上 1/3 的静脉部位剪去被毛,用 75% 的酒精涂擦局部,剪开一个小口,暴露颈静脉,用粗针头注射器向向心端刺入血管取血,注射前和注射药物后 5 h 分别取血 1 ml 测定 BUN、SCr 等指标,并测定血栓素 B₂(TXB₂)、6-酮-前列腺素 F₁(6-keto-PGF₁)、TXB₂/6-keto-PGF₁ 的比值、内皮素(endothelin, ET)。

1.2.2 对氨基马尿酸清除率实验 各组静脉注射 1 ml/kg 相应药品,30 min 后分别静脉注射 150 g/L 对氨基马尿酸 0.5 ml/kg,然后用 7.5 g/L 对氨基马尿酸 0.2 ml/min 恒速静脉输注。20 min 后开始取尿,记录 20 min 内的尿量,用以测定对氨基马尿酸在尿中的含量。在取尿开始和结束时各取血 1 次(约 2 ml)用以测定对氨基马尿酸在血浆中的含量,用两次测得的平均值表示。样本采集方法同上,将尿液采集入 20 ml 的小烧杯中。对氨基马尿酸肾清除率计算参考文献^[2]。

1.2.3 酚红(PSP)排泄试验^[3] 各组静脉注射 1 ml/kg 相应药品,5 h 后由耳缘静脉注射 0.6% PSP 注射液 2.4 mg/kg,与给药后 5 min、20 min、40 min

由颈静脉分别取血 2 ml,样本采集方法同上,离心后取其血浆稀释,用 721 型分光光度计于 560 nm 波长下比色,读取其光密度值。配制 PSP 标准液系列 0.5 ~0.8 μmol/L,加稀释液显色后,用 721 型分光光度计于 560 nm 波长下比色,将各标准药浓度及其光密度值输入计算器,求得标准液的直线回归方程:Y=0.002 7+0.84X,相关系数 r=0.999 9。把各血样的光密度值作为 X,带入上述方程求得血样浓度 C,再乘以稀释的倍数,得血药浓度 C(mg/L),以给药 5 min 时血药浓度为初始血药浓度 C₀(即 100%),计算 20 min 及 40 min 时的酚红排泄率。酚红排泄率=(C₀-C)/C₀×100%。

1.2.4 相关指标的测定方法 血肌酐测定用苦味酸法,血尿素氮测定用尿素酶法, TXB₂、6-keto-PGF₁、ET 的测定用解放军总医院科技开发中心放射免疫研究所提供的放免药盒,操作严格按说明书进行。对氨基马尿酸浓度用比色法测定。

1.3 统计学方法 数据以 ̄x±s 表示,组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 各组家兔给药前后肾功能指标的变化 静脉注射 1 ml/kg 单叶细辛、辽细辛提取液均可导致家兔急性肾衰竭,各项指标在给药前后均有明显差异(P<0.05 或 P<0.01)。单叶细辛组与生理盐水对照组比较,多数指标具有明显差异(P<0.05 或 P<0.01);与辽细辛对照组比较,单叶细辛组各项指标均低于辽细辛对照组,但大多数指标统计学处理显示无显著性意义,仅 SCr 一项指标有统计学差异(P<0.05),可作为单叶细辛对肾功能的损害弱于辽细辛的佐证。见表 1。

2.2 各组家兔对氨基马尿酸清除率及 TXB₂、6-keto-PGF₁、ET 的变化 静脉注射 1 ml/kg 单叶细辛、辽细辛提取液后,对氨基马尿酸清除率显著下降,两药物组与生理盐水对照组比较有明显差异(P<0.01),而单叶细辛组清除率虽高于辽细辛对照组,但两组间无统计学差异。血 TXB₂、6-keto-PGF₁、ET 及 TXB₂/6-keto-PGF₁ 比值,两药物组与生理盐水对照组比较均有明显差异(P<0.05 或 P<0.01);而单叶细辛组 ET 与辽细辛对照组比较有明显差异(P<0.05),表明辽细辛的缩血管作用较单叶细辛强。见表 2。

2.3 各组家兔酚红排泄率的变化 与生理盐水对照组比较,单叶细辛组、辽细辛对照组家兔酚红排泄率均明显下降(P<0.05),辽细辛对照组各值比单叶细辛组更低,但统计学处理显示无显著性差异。

表 1 各组家兔给药前后肾功能指标的比较

Tab 1 Changes of renal function of rabbits

Group	n	Urine					BUN ($\mu\text{mol/L}$)	SCr ($\mu\text{mol/L}$)
		Volume (ml/min)	pH	Glucose (mmol/L)	Protein (g/L)	BLD (mg/L)		
Asarum heterotropoides								
Before administration	7	0.14 \pm 0.04	6.85 \pm 1.36	0.09 \pm 0.02	0.61 \pm 0.18	7.23 \pm 1.45	6.86 \pm 1.26	120.22 \pm 24.01
After administration	7	0.07 \pm 0.02**	7.93 \pm 1.28*	3.70 \pm 0.42**	1.20 \pm 0.22*	10.03 \pm 0.18*	11.57 \pm 2.13*	295.84 \pm 58.17*
Asarum himalaicum								
Before administration	7	0.14 \pm 0.04	6.07 \pm 1.52	0	0.82 \pm 0.22	6.86 \pm 1.31	6.78 \pm 1.36	115.97 \pm 23.91
After administration	7	0.08 \pm 0.20**	7.71 \pm 1.43*	3.53 \pm 0.38*	1.37 \pm 0.20*	10.01 \pm 1.88*	9.94 \pm 1.99*	220.49 \pm 44.10*
Normal saline	7	0.21 \pm 0.04	6.04 \pm 1.44	0	0.72 \pm 0.19	7.05 \pm 1.33	6.60 \pm 1.38	116.31 \pm 31.06

* P < 0.05, ** P < 0.01, vs before administration; P < 0.05, vs Asarum heterotropoides; P < 0.05, P < 0.01, vs normal saline

表 2 各组家兔对氨基马尿酸清除率、TXB₂、6-keto-PGF₁、TXB₂/6-keto-PGF₁、ET 的比较

Tab 2 Test results of p-aminohippuric acid clearance rate, TXB₂, 6-keto-PGF₁, TXB₂/6-keto-PGF₁ and ET in rabbits

Group	n	p-aminohippuric acid clearance rate (ml/s)	TXB ₂ (g/L)	6-keto-PGF ₁ (ng/L)	TXB ₂ /6-keto-PGF ₁	ET (ng/L)
Asarum himalaicum	7	0.0098 \pm 0.0049	198.27 \pm 19.01	138.65 \pm 23.91	1.43 \pm 0.37	128.37 \pm 20.56
Asarum heterotropoides	7	0.0072 \pm 0.0005	224.08 \pm 22.43	148.96 \pm 21.89	1.51 \pm 0.42	155.28 \pm 21.67
Normal saline	7	0.0587 \pm 0.0298	112.80 \pm 20.51	127.18 \pm 25.07	0.90 \pm 0.27	117.89 \pm 19.01

P < 0.05, vs Asarum heterotropoides; P < 0.05, P < 0.01, vs normal saline

表 3 各组家兔酚红排泄率比较

Tab 3 Results of phenolsulfonphthalein excretion test in rabbits

Group	n	5 min	20 min		40 min	
		Blood concentration (mg/L)	Blood concentration (mg/L)	PSP excretion rate (%)	Blood concentration (mg/L)	PSP excretion rate (%)
A sarum himalaicum	7	18.01 \pm 1.36	12.90 \pm 1.38	30.6 \pm 5.4	8.82 \pm 2.04	46.8 \pm 6.4
A sarum heterotropoides	7	17.78 \pm 1.28	14.03 \pm 1.36	22.1 \pm 5.0	10.81 \pm 2.34	39.6 \pm 5.9
Normal saline	7	19.25 \pm 2.61	7.89 \pm 1.51	57.3 \pm 9.4	4.40 \pm 1.39	75.9 \pm 8.0

P < 0.05, vs normal saline

3 讨论

随着中草药在世界范围内越来越广泛的应用,国内外对中草药毒性的研究也日趋重视。自从比利时学者 Vanherweghem 等 1993 年关于中草药引起肾衰竭的报道发表以来,某些含有马兜铃酸的中草药引起肾损害的文献报道陆续增多,认为中草药毒性小于化学药品的传统观念正在受到严峻的挑战。据有关资料,对肾脏有毒性作用的常用中草药已不下数十种,其中个别品种单次使用即可产生肾脏病理损害^[4],国外学者称其为“中草药肾病”,国内学者则更具体地称之为“马兜铃酸肾病”^[5]。根据有关研究报道,“中草药肾病”一旦发生,往往具有“细胞浆毒性”的特点,即长期滞留于肾小管上皮细胞内不易清除,持续刺激和毒害该细胞。包括单叶细辛在内的细辛正品和大多数代用品均属马兜铃科,停

药后肾脏病变还会继续进展,而且绝大部分患者无特效疗法,预后较差^[6]。既往研究认为细辛毒性主要在于其挥发油,由于研究证实单叶细辛挥发油含量约为辽细辛的 1/5^[7],因而临床认为前者毒性小于后者,但无有关研究提供支持。

基于这一现实,笔者就单叶细辛对肾脏功能的影响进行了初步研究。从实验测得的数据看,单叶细辛与辽细辛对肾脏的损害均很严重,但两者比较,单叶细辛轻于辽细辛。

ET 是现阶段所知的人体内活性最强的长效缩血管多肽,能强烈而持久地收缩血管,对动静脉均有很大的致痉挛作用,能直接收缩肾血管,使肾血流量减少,同时刺激血管平滑肌细胞和系膜细胞增殖使肾小球滤过率下降。TXA₂与 PGI₂是两种生物活性完全相反的物质,TXA₂是很强的血小板诱聚剂和血管收缩剂,PGI₂则是血小板聚集抑制剂和血管扩张

剂,二者构成 TXA_2 - PGI_2 平衡调节系统,参与肾小球血流动力学和滤过功能的调节,并且参与肾小管水、电解质、酸碱平衡的控制, TXB_2 、6-keto- PGF_1 分别是它们的代谢产物, TXB_2 与 ET 通过不同途径加重肾脏损害。实验结果中 TXB_2 、ET 等缩血管物质及 TXB_2 /6-keto- PGF_1 比值的明显升高说明血管发生了强烈收缩,这不但使肾血流量明显减少,还可能引起微血栓形成,从而加重肾损伤。这一点提示单叶细辛对肾小球和肾小管的毒性均与其间接的缩血管作用有关,前述物质使入球小动脉收缩、肾小球滤过率下降,出球小动脉的血流量也减少;同时也使出球小动脉收缩,更加剧了这种血流量的减少。正常情况下,肾小管重吸收尿素氮约 30%~40%,并排泄少量的尿素氮,当肾血流量减少时,血尿素氮浓度升高,BUN 与 SCr 的升高表明肾小球滤过功能下降,出现了氮质血症;大量蛋白尿、血尿与少尿的出现标志着肾小球滤过膜机械屏障和电学屏障的损伤,尿糖升高标志着肾小管上皮细胞的损害与重吸功能的障碍;尿液 pH 升高表明肾小管泌 H^+ 排酸功能的低下和酸中毒的产生。临床上常用对氨基马尿酸清除率反映有效肾血浆流量,因为对氨基马尿酸既从肾小球滤过,又从肾小管分泌,对氨基马尿酸清除率下降,提示单叶细辛除了影响肾小球的滤过外,还影响肾小管的分泌功能。酚红排泄试验是临床上测定肾小管排泄功能的指标,酚红排泄率与肾血流量及肾小管细胞功能的完整有关,上述各种使肾血流量减少的因素均对酚红排泄率有影响。以上实验结果提

(上接第 162 页)

3 体会

随着年龄增长,成骨细胞的分化增殖能力和生物学功能降低,骨髓基质细胞分化方向出现改变^[1,2],因此骨质疏松症多中年起病。在我国随着老龄化社会的形成,发病率日趋增高。由于其初期临床表现不明显,很少引起人们重视。中医学将其归属“腰痛”、“骨痠”、“骨痛”范畴。肾主骨生髓,肾能受五脏六腑所传之精,封而藏之,充实于骨,濡养于骨。肾气足,则轻劲有力。人至老年,肾精虚少,肾气日衰,骨髓化源不足,骨失所养,脆弱无力,便可出现腰背疼痛,胳膊酸软,甚至脚痠不能行动。治疗多以补肾壮骨为主,佐以活血通络,益精生髓,使骨骼得以滋养,疏松的骨质得以改善。补肾中药有促进骨形成和抑制骨吸收的双重作用;并具有降低骨转换,提高骨质量和骨重建过程的短路效应作用^[3],尤其是平补阴阳的补肾药,有着对成骨细胞的促进作用^[1]。本方以二仙汤为基础方,重用仙灵脾,功能补肝肾、强筋骨、祛风湿,

示单叶细辛不但可对肾小球滤过膜机械屏障与电学屏障造成伤害,更重要的是可损害肾小管的功能。以往研究认为肾小管是细辛对肾功能损害的主要部位,它可使肾小管上皮细胞变性、坏死,刷状缘脱落,基底膜裸露,本实验结果也证明了这一观点。虽然单叶细辛的肾毒性小于辽细辛,但其损害是多环节、多方面的,这种损害可导致肾小球滤过、肾小管重吸收与肾小管分泌功能的严重障碍,最终形成急性肾衰竭。因而我们认为,虽然单叶细辛对肾脏的影响小于辽细辛,但绝非安全无虞,临床使用时务当控制药量,以免过量而损伤肾功能。

[参考文献]

- 1 高学敏,宋树立.细辛的临床应用和毒性反应[J].中医杂志,1993,34(8):455-456.
- 2 方代麟.动物肾脏流量及肾小球滤过率的测定[A].见:周衍椒主编.生理学方法与技术[M].北京:科学出版社,1987.214-233.
- 3 金丽容,阎琳,陈建茂.家兔的酚红排泄试验[J].宁夏医学院学报,1994,16(4):355-356.
- 4 俞超芹.中药毒性的再认识[J].中西医结合学报,2003,1(4):252-254.
- 5 王沙西,左巍,冯江敏,等.马兜铃致大鼠马兜铃酸肾病的病理实验研究[J].中医药学刊,2003,21(7):1084-1085.
- 6 陶雅非,任东升,崔冰.以慢性肾功能衰竭为表现的马兜铃酸肾病的临床观察[J].中国中西医结合杂志,2003,23(1):60-61.
- 7 沈映君,张世芳,张世玮.中药药理学[M].上海:上海科学技术出版社,1997.32-33.

[收稿日期] 2004-03-18 [本文编辑] 白玉金

用于肝肾不足的筋骨痠痛^[4],配仙茅、巴戟天以温肾阳、补肾精,知母、黄柏泻火滋阴,当归养血,用龟版膏、鹿角膏等血肉有形之品填补肾精,续断、寄生、黄精补肾益气,共起补肾壮骨之功;佐以僵蚕、延胡索活血通络。因此本方具有补肾活血,强筋壮骨的功能,对症状与体征均有明显改善作用,且用药期间未见毒性反应。

[参考文献]

- 1 王洪复,于明香.老年人成骨细胞骨形成功能的衰退与治疗[J].国外医学·内分泌学分册,2003,23(2):79-80,97.
- 2 熊焱昊,杜宁,陈伟珍,等.绝经后妇女的骨密度与身高关系的回顾性研究[J].中西医结合学报,2003,1(4):265-267.
- 3 黄海,成羿,朱杭,等.补肾中药防治去睾大鼠骨丢失的组织学机理研究[J].浙江中医学院学报,2001,25(1):52-54.
- 4 雷载权主编.中药学[M].上海:上海科学技术出版社,1995.288-289.

[收稿日期] 2003-10-27 [本文编辑] 张金峰 白玉金