蒙药与肾位冷敷法诱导大鼠肾寒证模型建立

乌吉斯古楞　白 龙　白艳秋　牧其尔　齐珺侃　萨础拉(通讯作者)
内蒙古医科大学，内蒙古 呼和浩特 010110

摘要：目的：本研究旨在验证蒙药联合肾位冷敷法诱导大鼠肾寒证模型的可行性。方法：以 27 只雄性 SD 大鼠为实验对象，随机分为空白对照组、肾阳虚模型组和肾寒证模型组。空白组灌胃蒸馏水 30 天，肾阳虚模型组先灌蒸馏水 16 天，后按 25mg/kg 灌胃氢化可的松 14 天，肾寒证模型组按 0.27g/kg 灌胃黄柏与海金沙（2∶1）30 天。采用 ELISA 法检测大鼠血清相关指标。结果：试验结果显示，与空白对照组相比，肾阳虚模型组与肾寒证模型组大鼠血清 cAMP、E2、Cort、17-OHCS 和 T4 含量及 cAMP/cGMP 的比值显著降低（P<0.01），cGMP 含量显著升高（P<0.01）；肾寒证模型组与肾阳虚模型组上述指标无明显差异（P>0.05）。空白对照组大鼠活动正常，另两组出现精神倦怠、活动减少、反应迟钝、蜷曲拱背等类似肾阳虚症状。结论：这些相似症状从侧面反映了肾寒证模型在一定程度上与肾阳虚模型具有相似的病理表现，进一步结合血清指标结果，表明蒙药黄柏与海金沙加肾位冷敷法诱导大鼠肾寒证模型的方法是可行的。

关键词：肾寒证；肾阳虚；黄柏；海金沙；动物模型

0 引言

蒙医学认为，肾位于腰部赫依之总位，五元中水元素精华所藏之处，也居于巴干之位，为调节体内水液之平衡，补养生殖之精的脏器，也是病变巴达干、赫依之道。故患病以巴达干性者为多[1]，也就是肾脏以肾寒证发病较多。蒙医古籍《兰塔布》认为，肾病是以强力劳作、居所潮湿、跌打、久病体弱等因素所导致肾脏生理调节功能紊乱[2]。肾寒证表现为腰肾部拘挛作痛或酸痛，下肢发凉，耳鸣头晕，小便艰涩或淋漓，遗精，阴雨天加重，温热则舒，脉象沉而缓，尿灰白等症状[3]。

随着社会的不断发展，人们的生活饮食与起居方式发生了显著变化，由此引发了诸多疾病。其中，寒凉性饮食以及不当的穿搭所产生的内外寒性刺激，极有可能导致肾寒证的出现，肾寒证若不及时治疗进而可能引发各类心脑血管疾病，给人们的身心健康造成严重损害，同时也给社会经济带来了沉重负担。鉴于此，构建肾寒证模型显得尤为重要。通过该模型的建立，不仅能够凸显饮食、起居等因素作为致病因素的关键作用，还能促使人们树立从生活习惯入手提前预防疾病的意识，此外，也可为后续的肾寒证相关研究奠定坚实的基础。

中医肾阳虚证是因肾脏阳气不足，温煦功能减弱所致，其临床主要表现为腰膝酸软、畏寒肢冷、精神不振、舌淡胖苔白、脉沉弱无力[4]。蒙医肾寒证与中医肾阳虚证在症状及表现上极为相似，且均属寒盛型。因此，本实验选用中医肾阳虚模型作为对照，以判定大鼠肾寒证模型是否构建成功。同时，本试验参考相关研究报道的模型构建经验，选用应用最为广泛的氢化可的松构建肾阳虚模型[5]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选择 27 只 SPF 级、体重在 180±20g 的健康雄性 SD 大鼠作为实验对象，该实验动物由北京科宇动物养殖中心提供，动物许可编号为 SCXK（京）2018-0010。饲料由内蒙古医科大学实验动物中心提供，饲养于内蒙古医科大学实验动物中心。饲养室温 18~22℃，每日更换垫料保持干燥清洁环境。光照：白天/晚上各 12 h。

1.1.2 药品、试剂与仪器

氢化可的松（5g）北京索莱宝科技有限公司，黄柏、海金沙由酒泉市培丰中药材生态种植加工有限公司提供。大鼠环磷酸腺苷（cAMP）、环磷酸鸟苷（cGMP)、雌二醇（E2）、17-OHCS、皮质酮（CORT）和甲状腺素（T4）ELISA 试剂盒，以上均由武汉新启迪生物科技有限公司提供。低速离心机（GBV2258-90 型，中国天津）；Haier 冰箱；精密度电子平（LQ-C5001 型，上海瑶新电子科技有限公司）。

1.2 方法

1.2.1 分组及模型建立方法

在大鼠经过一周的适应性饲养之后，运用完全随机法

表 1　肾阳虚模型与肾寒证模型造模结束后血清 cAMP、cGMP 含量及其比值（n=9，$\overline{X}$ ±s）

组别	cAMP/（nmol・L^{-1}）	cGMP/（nmol・L^{-1}）	cAMP/cGMP
空白对照组	23.31±2.39	12.42±1.57	1.91±0.33
肾阳虚模型组	17.41±2.41▲	15.76±1.46▲	1.12±0.27▲
肾寒证模型组	17.53±2.33	16.14±1.42	1.09±0.14

注：与正常对照组比较，Δ表示 P<0.05，▲表示 P<0.01。
与肾阳虚模型组比较，○表示 P<0.05，●表示 P<0.01。

表 2　肾阳虚模型与肾寒证模型造模结束后血清 E2、17-OHCS、Cort 和 T4 含量（n=9，$\overline{X}$ ± s）

组别	E2/（ng・L^{-1}）	17-OHCS/（nmol・mL^{-1}）	Cort/（ng・ml^{-1}）	T4（nmol・mL^{-1}）
空白对照组	279.04 ±24.42	17.40 ±1.75	253.31 ±17.72	129.76 ±9.82
肾阳虚模型组	225.86 ±16.55▲	8.50 ±1.34▲	125.54 ±17.06▲	98.45 ±12.81▲
肾寒证模型组	228.89 ±13.72	10.86 ±1.54	129.07 ±14.60	105.89 ±9.46

注：与正常对照组比较，Δ表示 *P*<0.05，▲表示 *P*<0.01。
与肾阳虚模型组比较，○表示 P<0.05，●表示 P<0.01。

将其分成三个不同的小组，分别是空白对照组、肾阳虚模型组以及肾寒证模型组，每个小组都包含 9 只大鼠。对三组大鼠，采取不同的处理方式。空白对照组的大鼠以 0.02 ml/g 的剂量每天灌胃蒸馏水，期间可自由饮水与进食，这样的处理持续了 30 天。肾阳虚模型组大鼠在最初的 16 天里，同样每天按照 0.02ml/g 的剂量灌胃蒸馏水，自由饮水和进食。但从第 17 天到第 30 天，大鼠按照 25mg/kg 的剂量灌胃氢化可的松，同时仍然保持自由饮水和进食状态，持续 14 天。肾寒证模型组大鼠每天按 0.27g/kg 给予灌胃黄柏与海金沙（2∶1），自由饮水、饮食，连续 30 天。在模型构建的过程中，观察大鼠体征变化。当模型组的大鼠表现出诸如恶寒、扎堆、耳尖及四肢末端发白、对刺激反应减弱、大便稀薄、小便清长等类似肾阳虚的症状时[5]，将其视为初步构建模型成功的标志。

1.2.2 检测指标

30 天后，麻醉并腹主动脉采血，3500r/min 离心 15min，分离血清，采用 ELISA 方法检测血清 cAMP、cGMP、E2、17-OHCS、Cort 和 T4 含量。

1.2.3 统计学分析

运用 SPSS.27 软件对数据进行分析，数据结果以均值±标准差（$\overline{X}$ ±*s*）的形式呈现，采用方差分析来评估差异的显著性，当 P 值小于 0.05 时，认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 观察大鼠生存状态的影响

空白对照组大鼠行动自如，反应敏捷，毛发光滑，粪便呈黄褐色且干湿适中；而肾阳虚模型组和肾寒证模型组的大鼠则表现为精神状态低迷、活动量减少、反应迟缓、四肢末梢温度降低、身体蜷曲、毛发失去光泽、食欲减退以及粪便稀薄等症状。

2.2 造模处理对大鼠血清 cAMP、cGMP 含量及其比值的影响

由表 1 可知，造模完成后，肾阳虚模型组大鼠的血清 cAMP 含量及 cAMP/cGMP 比值较空白对照组显著降低（*P*<0.01），而 cGMP 含量则显著升高（P<0.01）。与肾阳虚模型组相比，肾寒证模型组大鼠血清中的 cAMP、cGMP 含量及 cAMP/cGMP 的比值均无显著差异（*P*>0.05）。

2.3 造模处理对大鼠血清 E2、17-OHCS、Cort 和 T4 含量的影响

如表 2 所示，与空白对照组相比，肾阳虚模型组大鼠血清中的 E2、17-OHCS、Cort 和 T4 含量均显著降低（*P*<0.01）；与肾阳虚模型组相比，肾寒证模型组大鼠血清 E2、17-OHCS、Cort 和 T4 含量没有明显差异（*P*>0.05）。

3 讨论

蒙医学认为，引发疾病的外来因素称为病缘，包括饮食、起居、气候及其他因素，统称“致病四缘”。通常，饮食、起居适宜及季节正常是人体健康生存的必要条件，若出现过盛、不及、反常或其他意外情况，则可能引发疾病。在蒙医学中，寒冷潮湿的环境或长期食用寒凉性饮食是引发肾寒证的病缘[6]。因此，本项目研究，从经常食用寒性食品这一生活饮食习惯着手，用蒙药黄柏与海金沙加肾位冷敷法作为引发肾寒证的方法，与中医肾阳虚证比较探讨蒙医肾寒证模型的制作，通过观察比较肾寒证与肾阳虚模型造模后的大鼠一般状态和相关指标来评价肾寒证模型的建立。

本实验选用黄柏，海金沙两种寒性药诱发大鼠肾寒证。

蒙药黄柏是芸香科植物黄皮树的干燥树皮，味苦、性寒，具有清热、敛毒、明目等功效，可用于治疗肾热、血热赤眼等疾病[7]。在中医学中，黄柏归肾、膀胱经，其主要功效为清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮，可用于湿热泻痢、黄疸尿赤、带下阴痒、热淋涩痛、脚气痿躄、骨蒸劳热、盗汗、遗精、疮疡肿毒、湿疹湿疮等病症[8-9]。现代研究显示，黄柏对肾阴虚模型大鼠的内分泌免疫具有一定的调节作用，证实了黄柏入肾且对机体阴阳平衡有影响，但若过度使用则会损伤阳气[10]。蒙药海金沙是海金沙科植物海金沙的干燥成熟孢子，味甘、咸，性寒，具有利尿、行水消肿、破石痞等功能，主治肾热、膀胱热、尿闭、尿频、水臌、膀胱结石、肾痹等症，常用于清肾热及利尿类药物中[7]。上述两种药物均有清肾热和膀胱热的作用，但在正常情况下长期使用可能导致肾寒证。结合肾位冷敷法，更贴合人们因长期食用寒性食品及着凉等生活饮食、起居习惯引发疾病的实际情况，可作为饮食、起居致病因素。

蒙医和中医虽属不同医学理论体系，但从肾寒证的病因、发病机制到临床表现均存在相似之处，且蒙医的寒热理论与中医的阴阳理论相对应。因此，选用中医肾阳虚模型来比较肾寒证模型的建立是比较符合本实验研究的目的。本实验选择中医肾阳虚证模型评价常用指标来评价肾寒证模型的建立。如血清 cAMP、cGMP 、E2、17-OHCS、Cort 和 T4。

本研究的实验结果表明，在经过造模处理之后，无论是肾阳虚模型组还是肾寒证模型组的大鼠，都展现出了类似的一系列身体和行为变化。具体表现为：大鼠的体重均有一定程度的减轻，身体活动能力下降，行动变得迟缓；对外界刺激的反应变得不敏感，出现反应迟钝的现象；四肢和尾巴的末端触感冰凉，身体呈现出卷曲拱背的姿势；皮毛失去了原有的光泽，变得暗淡无光；同时，食欲减退，不愿意进食。这些症状的出现，与肾阳虚的典型表现相类似，说明造模处理在一定程度上成功地诱发了大鼠的肾阳虚和肾寒证状态。血清检测结果表明，肾阳虚模型组与肾寒证模型组大鼠血清 cAMP、E2、Cort、17－OHCS、T4 含量及 cAMP/cGMP 比值均显著低于正常对照组（$P<0.01$），而 cGMP 含量显著升高（$P<0.01$）。与肾阳虚模型组相比，肾寒证模型组大鼠血清 cAMP、cGMP、E2、Cort、17 － OHCS 含量及 cAMP/cGMP 比值无明显差异（$P>0.05$）。这与以往报道的肾阳虚模型构建数据及结果基本相符[11]。综上所述，蒙药黄柏与海金沙联合肾位冷敷法诱导大鼠肾寒证模型的方法切实可行，可为后续研究奠定基础。

本实验虽建立了相对稳定的蒙医肾寒证动物模型制备方法，但仍需进行重复试验验证，并进一步从其他生化指标、肾脏病理组织指标及行为学评定等方面加以验证，以确立蒙医肾寒证模型。

参考文献：

[1]包纳日苏.蒙医学基础理论研究[M].赤峰:内蒙古科学技术出版社.2021:140.

[2]策司·桑杰嘉措.兰塔布[M].北京:民族出版社,1987:320.

[3]琪格其图,斯琴其木格.蒙医内科学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社.2015:73.

[4]刘桂敏,孙建辉,李建良,等.肾虚证临床与动物实验研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(23):269-280.

[5]李威,王顺谱,杨凤云.肾阳虚证动物模型建立方法及评定标准研究进展[J].江西中医药,2021,52(08):74-76.

[6]宇妥·元丹贡布.四部医典[M].赤峰:内蒙古科学技术出版社.2013:73.

[7]巴图巴根.蒙古学百科全书·医学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2012.

[8]路舜,崔红倩,申远.黄柏与关黄柏化学成分及药理作用研究进展[J].新乡医学院学报,2023,40(05):478-482.

[9]国家药典委员会.中国药典[S].(2020 年版一部).北京:化学工业出版社,2020:318

[10]李勇,张诗雯,李丽,等.黄柏及盐炙品对肾阴虚大鼠神经内分泌免疫作用的影响研究[J].辽宁中医杂志,2022,49(08):195-197.

[11]唐维我,张会永,李芹,等.肾阳虚证动物模型造模方法及模型评价[J].世界科学技术－中医药现代化,2021,23(04):1317-1324.

作者简介：乌吉斯古楞（1993-），女，蒙古族，内蒙古自治区呼和浩特市，硕士学历（在读博士生），内蒙古医科大学，讲师，研究方向：蒙医基础理论研究。通讯作者：萨础拉（1984-），女，蒙古族，内蒙古自治区呼和浩特市，博士学历，内蒙古医科大学，教授研究方向：蒙医基础理论研究。

基金项目：基金资助：内蒙古自治区卫生健康科技计划项目（202202132）；内蒙古医科大学校级青年项目（YKD2022QN008）；内蒙古医科大学蒙药学“一流学科”青年教师科研创新能力提升项目（MYX2022-S19）。