

山茱萸水溶性总提取物对肾阳虚动物模型生命质量和肾上腺组织的影响

李春生¹ 张国玺¹ 石体仁¹ 董小霞¹ 孙 丕² 李电东² 许鸿章² 指导:陈可冀¹

摘要 为了探讨山茱萸补肾阳作用,复制氢化考的松致肾阳虚动物模型,观察山茱萸水溶性总提取物对肾阳虚大鼠的影响。结果山茱萸水溶性总提取物能够提高肾阳虚大鼠的存活率和生命质量。其中大剂量组的存活率为 73.30%,明显高于中剂量组(46.67%)、小剂量组、模型阳性药组和模型空白对照组(均为 26.67%, P 均 <0.05),投以大、中剂量的山茱萸水溶性总提取物,可以使肾阳虚模型动物肾上腺病理改变显著减轻($P<0.01$)。说明山茱萸水溶性总提取物具有补益肾阳、保护肾阳虚动物模型肾上腺组织,提高肾阳虚模型生命质量的作用。

关键词 肾阳虚/中药疗法 山茱萸/药理学

山茱萸为山茱萸科灯台树属植物山茱萸(*Cornus Officinalis* Sieb. et Zucc.)的干燥果肉,功能补肾益肝、涩精止汗,是著名的传统延缓衰老药物。其地道药材的主产区在河南省南阳地区伏牛山南麓,即后汉医学大家张仲景于“少室山”之采药地。1995 年 1 月,我们为探讨该药的补肾阳作用,观察了该药水溶性总提取物对肾阳虚动物模型的影响,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物:选用健康活泼 Wistar 雄性大鼠 90 只,体重 140~170g,3 月龄,1 级动物,由北京友谊医院动物室提供。

1.2 受试药物:山茱萸水溶性总提取物,由中国医学科学院医药生物技术研究所提供。每克水溶性总提取物相当于山茱萸生药 2g。其中主要成分为山茱萸总多糖。原生药从河南省西峡县药材公司二郎坪分公司购买。西洋参蜂王浆口服液做阳性对照药,中国医学科学院药用植物资源开发研究所实验药厂生产,批号 940226。5%氢化考的松注射液做造模药用。北京第三制药厂生产,批号 930312。

1.3 仪器设备:医用显微图像分析仪,国产 sXY-1 型,做组织细胞灰度测定用。生物化学发光测定仪,上海上立检测仪器厂生产,SHG-C 型,做血清丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)测定用。

1.4 肾阳虚动物模型的复制与用药:采用上海第二医科大学卞安堃以肾上腺皮质激素造模的模型^[1]。将雄性大鼠随机分为 6 组,每组 15 只。正常空白对照组每只灌胃按每日 10ml/kg 给予自来水,其余 5 组每只每天上午在臀部皮下注射氢化考的松 0.5ml/100g(相当于氢化考的松每日 25mg/kg)。与此同时,模型空白对照组每只灌胃给予自来水每日 10ml/kg;模型阳性药对照组每只按每日 4.0ml/kg 灌胃给予西洋参蜂王浆水溶液(每 1ml 水溶液含西洋参蜂王浆口服液 0.4ml)。山茱萸小、中、大剂量组,每日每只灌胃分别给予 0.45g/kg、0.9g/kg、1.8g/kg 山茱萸总提取物水溶液。连续注射氢化考的松 7 天后,停药 6 天。在造模同时,连续灌胃给予自来水或药物 13 天,处死动物。

1.5 观察内容及监测指标:实验开始后,每 3 天称重 1 次,观察大鼠的体形、毛色、步态、觅食及活动情况,并记录动物每天死亡只数。于最后 1 天给药 1 小时后,处死全部动物。取血送实验室,用化学发光法测定各组动物血清 MDA 和 SOD 含量。取睾丸称重,并与肾上腺一起进行病理学和组织化学研究。肾上腺、睾丸等 HE 染色观察病理学改变。肾上腺、睾丸经 Elias 甲基绿-焦宁技术显示核糖核酸(RNA);然后用医用图像分析仪测定其感光度。对于动物生命质量的评价,采用等级评定积分法。例如,依据动物的活动、步态、修饰、觅食多少,将精神状态分为好、中、差 3 级。大鼠的毛色分两级,凡被毛浓密有光泽,呈乳白色者评为好,反之为差。对于实验过程中出现的重度腹胀或腹水记 3 分(+++);中度腹胀或腹水记 2 分(++);轻度腹胀或少量腹水记 1 分(+);无腹胀或腹水记 0 分(-)。脏器的病理改变,亦采用积分法评定。凡细胞肿胀、变性、坏死呈大量者,记 3 分(+++);中等量者,记 2 分(++);少量者,记 1 分(+);无肿胀、变性、坏死者,记 0 分(-)。血清与内脏之 MDA、SOD、糖原、RNA,均直接进行定量监测。

1.6 统计学处理:计数资料采用等级序值法计算,计量资料采用方差分析。

2 结果

2.1 山茱萸水溶性总提取物对肾阳虚大鼠生命质量

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39170878)

1 中国中医研究院西苑医院,北京海淀区西苑(100091)

2 中国医学科学院医药生物技术研究所

收稿日期:2000-04-21;修回日期:2001-01-05

表1 各组大鼠存活率比较

组 别	动物数	死亡数	存活数	存活率(%)
山茱萸大剂量组	15	4	11	73.33
山茱萸中剂量组	15	8	7	46.67
山茱萸小剂量组	15	11	4	26.67
模型阳性药对照组	15	11	4	26.67
模型空白对照组	15	11	4	26.67
正常空白对照组	15	0	15	100.00

表2 各组大鼠腹胀积分比较

组 别	大鼠存活数	腹胀积分($\bar{x} \pm s$)
山茱萸大剂量组	11	0.55 ± 0.52*
山茱萸中剂量组	7	0.71 ± 0.49
山茱萸小剂量组	4	0.75 ± 0.50
模型阳性药对照组	4	1.25 ± 0.50
模型空白对照组	4	1.00 ± 0.00
正常空白对照组	15	0

* 与模型阳性药对照组比较, $P < 0.05$ 表3 各组大鼠血清MDA及SOD水平比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	MDA(nmol/ml)	SOD(U/ml)
山茱萸大剂量组	3.99 ± 0.73(11)	1322.9 ± 58.5(11)
山茱萸中剂量组	3.82 ± 0.84(7)	1340.6 ± 90.0(7)
山茱萸小剂量组	3.21 ± 0.44(4)	1297.1 ± 111.9(4)
模型阳性药对照组	3.54 ± 0.88(4)	1252.4 ± 50.0(4)
模型空白对照组	4.13 ± 0.73(4)	1338.0 ± 32.2(4)
正常空白对照组	3.70 ± 0.79(10)	1289.6 ± 83.4(9)

表中括号内为动物数。下同

表4 各组大鼠肾上腺病理改变积分值
及肾上腺RNA含量变化比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	肾上腺病理改变积分值	肾上腺RNA含量(感光灰度值的半定量单位)
山茱萸大剂量组	0.18 ± 0.60(11)*△▲	195.40 ± 8.33(10)
山茱萸中剂量组	0.71 ± 1.25(7)*△▲	197.14 ± 10.40(7)
山茱萸小剂量组	2.75 ± 0.50(4)	208.25 ± 5.50(4)
模型阳性药对照组	2.75 ± 0.50(4)	204.00 ± 9.06(4)
模型空白对照组	2.50 ± 0.58(4)	205.75 ± 7.14(4)
正常空白对照组	0 (10)*△▲	201.20 ± 6.12(10)

与山茱萸小剂量组比较, * $P < 0.01$; 与模型阳性药对照组比较, △ $P < 0.01$; 与模型空白对照组比较, ▲ $P < 0.01$

与存活率的影响

2.1.1 药物对动物精神状态和体态的影响: 实验中观察到, 在采取“肾上腺皮质激素应用一停药法”的过程中, 模型空白对照组, 模型阳性药对照组, 山茱萸大、中、小剂量组大鼠体形均变为头胸小而腹大, 呈“烧瓶状”, 并出现少量腹水, 正常空白对照组则无此现象。模型空白对照组动物竖毛拱背, 反应迟钝, 活动及觅食减少, 畏寒怕冷, 精神状态很差; 正常空白对照组与之相反, 精神状态好。两者经组间对比, 统计学差异显著($P < 0.05$), 而山茱萸水溶性总提取物及西洋参蜂王浆诸

组, 精神状态与正常空白对照组相仿($P > 0.05$)。实验结束处死动物后, 发现给药诸组动物腹中有少量腹水, 但与模型空白对照组、正常空白对照组相比, 均无统计学差异($P > 0.05$)。

2.1.2 药物对肾阳虚大鼠存活率的影响: 表1示, 山茱萸大剂量组、正常空白对照组、山茱萸中剂量组大鼠存活率均高于模型空白对照组、山茱萸小剂量组和模型阳性药对照组, 差异有显著意义($P < 0.05$)。表明大剂量山茱萸水溶性总提取物能够补肾阳之虚, 延长动物存活率。

2.1.3 药物对肾阳虚大鼠腹胀的影响: 表2示, 各组与正常空白对照组相比, 均有不同程度的腹胀。服西洋参蜂王浆, 可使动物腹胀加重, 而服大剂量山茱萸水溶性总提取物, 可使腹胀显著减轻, 两组间比较, 差异有显著性($P < 0.05$)。

2.2 山茱萸水溶性总提取物对肾阳虚大鼠血清MDA和SOD的影响: 表3示, 肾阳虚动物服山茱萸水溶性总提取物后, 各剂量组与各对照组相比, 血清MDA和SOD水平差异无显著性($P > 0.05$)。

2.3 山茱萸水溶性总提取物对肾阳虚大鼠肾上腺的影响: 表4示, 山茱萸水溶性总提取物小剂量组、模型阳性药对照组和模型空白对照组肾上腺病理改变, 与山茱萸中、大剂量及正常空白对照组相比, 统计学差异非常显著($P < 0.01$)。肾阳虚大鼠服用山茱萸水溶性总提取物大、中、小剂量组、模型阳性药组、模型空白对照组、正常空白对照组各组间对比, 肾上腺RNA含量感光灰度无显著统计学差异($P > 0.05$)。

3 讨论

肾阳虚动物模型由上海第二医科大学邝安堃教授于1963年建立, 是最早创建的中医动物模型。该模型依据临床肾阳虚患者呈肾上腺皮质功能低下, 肾阴虚患者呈肾上腺皮质功能亢进, 长期大量需要皮质激素治疗的病人表现肾阴虚、皮质激素停用后表现为肾阳虚等研究结果而设计的。此模型建立之后, 国内学者从病理生理、病理解剖、组织化学、药物治疗反证等方面, 做了大量研究工作。目前一般认为, 使用大剂量外源性皮质激素于动物体, 利用激素的生理效应, 能够使机体呈现烦躁多动等阴虚征象, 同时可致下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴反馈抑制, 潜伏着“阴损及阳”的病理机转。当皮质激素突然停用, 下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴的抑制状态即暴露出来, 对外界环境变化的应激、适应能力显著下降, 水、电解质代谢失调, 致动物竖毛拱背, 畏寒怕冷, 活动及觅食减少, 出现少量腹水, 生命质量下降, 死亡率上升, 呈突出

的肾阳虚表现^[1,2]。本实验采用规范的造模方法,复制的动物模型与文献记载相符,因而我们认为是较为成功的肾阳虚动物模型。

本实验应用肾阳虚大鼠模型,对地道药材山茱萸水溶性总提取物,进行了补肾阳作用的整体、器官和细胞分子生物学水平研究。结果表明:(1)山茱萸水溶性总提取物能够提高肾阳虚大鼠的存活率,其中大剂量组的存活率为 73.30%,明显高于中剂量组(46.67%)、小剂量组、模型阳性药组和模型空白对照组(均为 26.67%),差异显著。提示较大剂量山茱萸水溶性总提取物,有明显对抗氢化考的松的副作用,延长肾阳虚动物存活时间的功效。(2)服用山茱萸水溶性总提取物的肾阳虚动物,精神状态改善、毛色浓密光泽,腹胀明显好转。提示生命质量提高。(3)使用氢化考的松后,动物肾上腺组织有显著的病理改变,如模型空白对照组显示细胞肿胀变性或坏死等,与正常空白对照组相比,有非常显著差异。实验结果证实,对于这一病理变化,人参蜂王浆和小剂量山茱萸水溶性总提取物都不能起到保护作用;而投予中、大剂量的山茱萸水溶性总提取物,可以保护肾上腺细胞,将其损伤程度减至最低限度,使其接近于正常大

鼠肾上腺水平。

本实验各组 MDA 和 SOD 水平在造模、给药前后无变化,推测与所采用动物均为健康成年期大鼠,而不是老年期大鼠有关。肾上腺组织化学染色 RNA 感光灰度在各组之间差异无显著性,提示山茱萸水溶性总提取物及人参蜂王浆对肾上腺 RNA 含量无影响。

山茱萸是我国 40 种用量大的骨干药材之一,是俄罗斯以电子计算机筛选出的,在中、日、朝三国使用频率最高的 25 种植物药之一,也是近年来中医药临床研究证明能够治疗糖尿病、冠心病、高血压病的主要药材之一,因此越来越受到人们重视。我们课题组首先研制成功山茱萸水溶性总提取物,观察到它对肾阳虚动物模型生命质量及多个脏器具有保护作用(尚有一部分内容拟另文发表),相信这一研究结果将有助于促进山茱萸深层次开发利用。

参考文献

- 1 陈小野主编. 实用中医证候动物模型学. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1993:100-117.
- 2 陈奇主编. 中药药理研究方法学. 北京:人民卫生出版社,1993:982-1001.

国家专利产品
部分进口产品

东华牌

中药煎药机
DHJ & 液体包装机

煎药设备 电煎气煎 恒温密闭 常温常压 无压循环
高效 卫生 安全 口感好 药效更好

包装设备 全自动 软体真空包装
便于携带 保质期长 服用方便

组合套机 机型紧凑 造型美观 经济实用

放心无忧东华的奉献

大产出

DHJ-DWIII
无压循环
全自动甩干

DHL-C1
煎药包装一体机

小投入

DHJ-DWII-2
无压循环

DHJ-D1
恒温密闭

高品质

DHL-C2
常温常压 煎药包装 一体组合机

DHJ-ZY3
带挤压组合机

低价位

DHL-C2
常温常压 煎药包装 一体组合机

6大系列
25种国产进口产品任您选
30个办事处遍布全国
100位维修工程师为您服务
3000家医院 诊所 药店正在使用

东华集团 www.donghuagroup.com
地址:北京市朝阳区安定路35号安华发展大厦630/628室
热线电话:(010) 64418135 64418139 64423480
64443778 64443779 64436460
传真:64423476 邮编:100029
E-mail: office@donghuagroup.com