

应激与去睾丸对小鼠行为活动的影响及 中药复方 I 号防治作用的实验研究

黄贱英¹, 陈 奇², 毕 明², 连晓媛³

(1 北京中医药大学, 北京 100102; 2 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

摘要:目的: 观察应激与去睾丸对小鼠行为活动的影响。方法: 首次采用对小鼠应激与去睾丸观察应激与去睾丸对小鼠睡眠时间、耐缺氧时间、爬绳时间及自主活动的影响。结果: 应激与去睾丸使小鼠睡眠障碍、缺氧及爬绳时间缩短, 活动次数增加, 应激与去睾丸比单位应激、单纯去睾丸对小鼠的影响更为明显, 而中药复方 I 可使改善。结论: 应激与去睾丸可改变小鼠的行为活动。

关键词: 应激; 去睾丸; 行为活动; 中药复方 I 号

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)04-0026-04

The Effects of Stress and Gonadectomy on Mice Activities and the Action of TCM Compound I

HUANG Jian-ying¹, CHEN Qi², BI Ming², LIAN Xiao-yuan³

(1 Beijing University of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, Beijing 100029;

2 Jiangxi College of TCM, Jiangxi Nanchang 330006)

Abstract: Objective: To observe the effect of stress and gonadectomy on the mice. Methods: The effect of stress and gonadectomy on sleep in mice, survival time under oxygen lack, climbing time on the string and the freedom action was investigated firstly. Results: The stress and gonadectomy could result in sleep impairment, survival time under oxygen lack and time on the string lowering, the freedom action increase. The effect of stress and gonadectomy on mice was stronger than that of just stress or that of just gonadectomy. This study also indicated TCM complex I could alleviated the effect of stress and gonadectomy on the mice. Conclusion: The stress and gonadectomy could result in change activity.

Key words: stress; gonadectomy; activity; TCM compound I

随着男性医学的发展, 男性更年期综合征逐渐被人们认识和重视, 如何使男性顺利地度过更年期, 已越来越受到大家的注意。男性更年期综合征是指男子从中年向老年过渡时期, 由于机体逐渐衰老, 内分泌逐渐减退(尤以性腺功能变化最为明显), 从而引起体内一系列平衡失调, 使神经系统机能及精神活动稳定性减弱, 而出现的以植物神经功能紊乱、精神、心理障碍和性功能改变为主要症状的一组证候群^[1]。男性更年期综合征的临床表现与女性更年期综合征的临床表现相似, 归纳起来主要有以下 4 方面: 精神症状、植物神经功能紊乱、性功能障碍、体态改变^[2]。其发病也与两方面的因素有关: 一、生理因

素(睾丸功能衰退); 二、心理因素。本文用去睾丸的方法模拟更年期男性雄激素低水平状态、用电刺激诱发动植物心理应激, 观察应激与去睾丸对小鼠行为活动的影响及中药复方 I 防治作用。

1 材料与方 法

1.1 药品与试剂 甲基睾丸酮片, 上海信谊药业有限公司, 批号: 010802 甲, 规格 5mg/片, 实验时用蒸馏水配成 0.1mg/ml(小鼠)的浓度; 更年康片 0.15g/ml, 广州白云山中药厂, 批号: 000301; 异戊巴比妥钠 8mg/ml, 上海试剂二厂, 批号: 850108; 普鲁卡因青霉素 2.42 万单位/ml, 江西东风药业股份有限公司, 批号: 20000423-3; 中药复方 I 号由酸枣仁、知母等药组成, 按颗粒剂制备工艺制备, 由江西中医学院附属医院制剂室提供。

1.2 动物 昆明种成熟小鼠, 雄性, 体重 20~25g, 由江西中医学院实验动物中心提供, 合格证号: 021-

9601。

1.3 仪器 YSD-5 药理、生理实验多用仪, 蚌埠医学院无线电二厂。

1.4 动物处理 小鼠腹腔注射异戊巴比妥钠 0.1ml/10g 麻醉后, 从腹部将双侧睾丸切除, 立即缝合并肌肉注射青霉素(0.1ml/只)以防感染, 连续 3d, 每天一次。假手术组与其他切除睾丸的小鼠一样进行麻醉, 消毒, 剪开皮肤但不去睾丸, 缝合, 肌肉注射青霉素以防感染。去睾丸组只去睾丸。应激组只给予应激。模型组, 将去睾丸小鼠并按下述应激方法进行处理。各给药组处理方法同模型组。

1.5 应激方法 将小鼠放入刺激盒中, 接受电刺激应激(刺激电压 36V), 每秒点激 1 次, 连续点激 10 次, 隔 50s 再点激 10 次, 如此进行 10 次循环。电激时间安排在每天上午 8:00~10:00, 每天电激一次。连续电刺激 14d。

1.6 动物分组及给药 假手术组及应激组预先分出, 待手术组小鼠恢复一周后随机分为去睾丸组、模型组、更年康组、甲基睾丸酮组、中药复方 I 号小剂量组(相当于人用量的 8 倍)、中剂量组(相当于人用量的 16 倍)、大剂量组(相当于人用量的 24 倍)。每天电刺激前 1h 0.2ml/10g 灌胃给药(假手术组、应激组、去卵巢组、模型组给等体积生理盐水), 连续给药 14 天。

1.7 实验指标评价及结果统计 末次给药 30min 后腹腔注射异戊巴比妥钠(0.1ml/10g), 即刻观察对睡眠潜伏期及睡眠时间。翻正反射消失 1min 以上为入睡判断标准, 以异戊巴比妥钠后小鼠翻正反射消失为入睡时间以下称入睡潜伏期, 动物不入睡者入睡潜伏期以 60min 计算, 翻正反射消失至恢复时间为睡眠时间, 不入睡者睡眠时间为 0 计算^[3]; 小鼠爬绳时间为小鼠末次给药 60min 后从放上高 1 米, 长 1.5 米的绳上至掉下来的时间^[3]; 小鼠耐常压缺氧时间为末次给药 60min 后, 将小鼠置于 200ml 盛有 2g 钠石灰密塞的广口瓶内至小鼠停止呼吸的这段时间^[3]; 小鼠自主活动次数为末次给药 60min 后, 将小鼠置于 63cm × 45cm × 35cm 底部分成 35 等格的旷野活动箱中, 适应 3min 后, 记录 2min 内小鼠举前肢的次数和跨入临格次数之总和^[4]; 实验结果用 *t* 检验法进行统计。

2 结果

2.1 应激与去睾丸对小鼠睡眠的影响和中药复方 I 号的作用 去睾丸与应激组小鼠有的小鼠不能入

睡, 入睡小鼠的睡眠潜伏期同假手术组、应激组小鼠的睡眠潜伏期比较明显延长, 比单纯去睾丸组小鼠的潜伏期延长。提示, 应激可使去睾丸动物入睡困难加剧, 去睾丸与应激可加重对睡眠的影响。中药复方小剂量组与模型组比较, 其睡眠潜伏期与模型组有显著性缩短($P < 0.05$), 而睡眠时间无明显差异; 中剂量组与模型组比较, 其睡眠潜伏期有显著性缩短($P < 0.05$), 睡眠时间有明显延长($P < 0.05$); 大剂量组与模型组比较, 睡眠潜伏期缩短($P < 0.01$), 睡眠时间有显著性延长($P < 0.01$) (见表 1)。

表 1 中药复方 I 号对应激去睾丸小鼠的影响
($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量 (g/kg)	潜伏期 (min)	睡眠时间 (min)
假手术组	—	4.40 ± 1.55	22.33 ± 9.10
应激组	—	5.60 ± 1.68 ^{**}	18.93 ± 6.31 ^{**}
去睾丸组	—	9.80 ± 13.94	13.26 ± 4.88 [*]
模型组	—	10.73 ± 13.74 ^{△△}	9.40 ± 4.34 ^{△△}
甲基睾丸酮	1 × 10 ⁻³	4.00 ± 1.20 ^{**}	17.46 ± 7.35 ^{**}
更年康	1.5	5.13 ± 1.55 [*]	17.53 ± 3.58 ^{**}
中药复方 I 号	8(生药)	5.40 ± 1.80 [*]	11.43 ± 2.19
中药复方 I 号	16(生药)	5.20 ± 1.26 [*]	15.93 ± 7.53 [*]
中药复方 I 号	24(生药)	3.53 ± 0.92 ^{**}	20.40 ± 7.95 ^{**}

注: 与假手术组比较^{△△} $P < 0.01$, [△] $P < 0.05$, 与模型组比较^{**} $P < 0.01$, ^{*} $P < 0.05$ (下同)

2.2 应激与去睾丸对小鼠爬绳的影响和中药复方 I 号的作用 去睾丸与应激组小鼠的爬绳时间同假手术组、应激组小鼠的比较明显缩短, 比单纯去睾丸组小鼠的缩短。提示, 应激可使去睾丸小鼠爬绳时间缩短。中药复方小剂量组与模型组比较, 无明显差异, 中剂量组与模型组比较, 有明显延长($P < 0.05$), 大剂量组与模型组比较, 明显延长($P < 0.01$) (见表 2)。

表 2 中药复方 I 号对应激与去睾丸小鼠爬绳物的影响
($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量 (g/kg)	爬绳时间 (min)
假手术组	—	18.13 ± 2.38
应激组	—	13.60 ± 3.38 ^{**}
去睾丸组	—	9.73 ± 2.26
模型组	—	8.61 ± 1.93 ^{△△}
甲基睾丸酮	1 × 10 ⁻³	15.69 ± 3.75 ^{**}
更年康	1.5	13.60 ± 2.48 ^{△**}
中药复方 I 号	8(生药)	9.19 ± 2.86
中药复方 I 号	16(生药)	13.22 ± 2.59 ^{**}
中药复方 I 号	24(生药)	14.68 ± 1.97 ^{**}

2.3 应激与去睾丸对小鼠耐常压缺氧的影响和中药复方 I 号的作用 去睾丸与应激组小鼠的存活时间同假手术组、应激组小鼠的比较明显缩短, 比单纯去睾丸组小鼠的缩短。提示, 应激可使去睾丸小鼠存活时间缩短。中药复方小剂量组与模型组比较, 无明显差异; 中剂量组与模型组比较, 存活时间明显延长 ($P < 0.05$); 大剂量组与模型组比较, 有显著性延长 ($P < 0.01$) (见表 3)。

表 3 中药复方 I 号对应激与去睾丸小鼠耐缺氧的影响
($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组 别	剂 量 (g/kg)	存活时间 (min)
假手术组		16.80 ± 2.21
应激组		13.53 ± 2.20* *
去睾丸组		12.87 ± 2.29* *
模型组		10.60 ± 2.35 ^{△△}
甲基睾丸酮	1 × 10 ⁻³	17.33 ± 2.66* *
更年期	1.5	15.20 ± 3.19* *
中药复方 I 号	8(生药)	11.53 ± 2.17
中药复方 I 号	16(生药)	14.20 ± 1.66*
中药复方 I 号	24(生药)	18.00 ± 1.93* *

2.4 应激与去睾丸对小鼠自主活动的影响和中药复方 I 号的作用 去睾丸与应激组小鼠的活动次数同假手术组、应激组及单纯去睾丸组小鼠的增加。提示, 应激可使去睾丸小鼠的活动次数增加。中药复方小、中剂量组与模型组比较小鼠活动情况无明显改变, 大剂量组与模型组比较, 活动次数减少 ($P < 0.05$) (见表 4)。

表 4 中药复方 I 号对应激与去睾丸小鼠自主活动次数的影响
($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组 别	剂 量 (g/kg)	活动次数 (次)
假手术组		28.60 ± 6.36
应激组		58.00 ± 13.83*
去睾丸组		61.13 ± 11.31*
模型组		71.87 ± 12.00 ^{△△}
甲基睾丸酮	1 × 10 ⁻³	32.73 ± 11.25* *
更年期	1.5	43.60 ± 10.27* *
中药复方 I 号	8(生药)	56.13 ± 21.19*
中药复方 I 号	16(生药)	51.80 ± 14.40* *
中药复方 I 号	24(生药)	45.00 ± 13.56* *

3 讨论

男性更年期由睾丸功能退化所引起, 一般发生在 55~ 65 岁之间。男性睾丸酮水平随年龄老化而降低, 虽有个体差异, 但从总体来说睾丸酮水平随年龄老化而呈下降趋势。目前, 对男性更年期综合征的研究仍以临床研究较多, 动物实验研究还甚少。研究男性更年期综合征的动物模型报道也较少, 本文首次采用电刺激和去睾丸造模观察对小鼠睡眠时间、常压耐氧时间、爬绳时间及活动次数的影响。本研究结果显示应激与去睾丸小鼠造成的动物模型均表现为入睡困难, 潜伏期延长, 睡眠时间减少, 活动次数增加, 常压缺氧的存活时间缩短及爬绳时间缩短(即其体力下降)。有文献报道^[5], 急性应激时大鼠行为活动增加; 慢性应激时大鼠行为活动减少。而在我们的实验研究中发现, 无论是单纯应激小鼠亦或是应激与去睾丸小鼠, 小鼠的活动次数均增加, 这可能与动物种类不同有关, 或者小鼠可能还处在急性应激期。甲基睾丸酮及更年期能改善因去性腺与电刺激所造成的失眠等症状。由酸枣仁、知母等药组成的中药复方 I 号能缩短小鼠入睡潜伏期, 延长小鼠睡眠时间, 减少小鼠活动次数, 延长常压缺氧的存活时间, 且大、中剂量组较小剂量组作用明显。提示本方对应激与去睾丸造成的小鼠动物模型有一定治疗作用。作用机理可能与其改善性激素水平有关, 其是否对中枢神经系统及其他递质作用, 还有待于进一步的研究。

本次首次以应激与去睾丸造模观察对小鼠常压缺氧存活时间、爬绳时间及活动次数的影响, 与单纯应激、单纯去睾丸组比较有显著差异, 可考虑作为研究男性更年期综合征的一种动物模型。对自然衰老的更年期小鼠影响有待进一步研究。

参考文献:

[1] 马建伟. 男性更年期综合征的中医研究近况[J]. 空军总医院学报, 2000, 16(3): 156-158, 162.

[2] 陈武山. 王琦教授对男性更年期辨治经验[J]. 河北中医药学报, 2000, 15(1): 39-40.

[3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 660, 661.

[4] 张弈, 李君安. 虫草养生茶对肾阴虚的动物模型的影响[J]. 中成药, 1999, 21(9): 471-472.

[5] 严进. 睫状神经营养因子对应激引起大鼠海马神经元损伤的保护作用及其机制的研究[J]. 生理科学进展, 2000, 31(2): 131-134.