

补肾疏肝汤对肾虚肝郁大鼠性活力影响的研究

周安方¹, 孙 洁¹, 张茂林¹, 张长城², 赵映前¹

(1 湖北中医学院, 湖北 武汉 430061; 2 三峡大学, 湖北 宜昌 443000)

摘要: 用氢化考的松加夹尾激怒法建立了肾虚肝郁型性活力低下疾病模型, 观察补肾疏肝汤对该疾病模型的作用。实验结果显示, 补肾疏肝汤能明显改善模型大鼠肾虚肝郁证候表现, 显著提高模型大鼠附属性腺湿重、血清 T 水平、T/E₂ 比值及阴茎组织 NOS 活性, 调节模型大鼠血浆 6-keto-PGF_{1α}、TXB₂ 水平及其比值, 从而提高其性活力。

关键词: 补肾疏肝汤; 性活力低下; 肾虚肝郁模型

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)01-0041-04

An Experiment Study of the Effects of Bu Sheng Shu Gan Tang on the Rats of Deficiency of the Kidney and Depressed Liver

ZHOU Anfang¹, SUN Jie¹, ZHANG Mao-ling¹, ZHANG Chang-cheng², ZHAO Ying-qian¹

(1. Hubei College of Tradition Chinese Medicine, Wuhan 430061; 2. Hangzhou Red Cross Hospital, Hangzhou 443002)

Abstract: The rat model of the syndrome of deficiency of the kidney and depressed liver with impaired sexual function was established by injecting Hydrocortisoni Acetas and irritating by tail nipping. The effects of Bu Sheng Shu Gan Tang (Decoction for tonifying the kidney and dispersing the stagnated liver-energy) on the model were observed. The results indicated that Bu Sheng Shu Gan Tang can improve the model's syndrome of deficiency of the kidney and depressed liver; increase significantly the associated grand's weight, the T lever in serum, T/E₂, and the level of NOS in the penis; adjust 6-keto-PGE_{1α}, TXB₂ and their ratio in the plasma and promote the rats' sexual function.

Key words: Bu Sheng Shu Gan Tang; impaired sexual function; the animal model of the syndrome of deficiency of the kidney and depressed liver

补肾疏肝汤是以补肾疏肝中药组成的经验方, 临床用于治疗肾虚肝郁型阳痿取得了比较满意的疗效^[1]。为了探讨该方的治疗作用, 进而研究其作用机制, 我们建立了肾虚肝郁型性活力低下疾病模型, 并进行了对该疾病模型作用的实验研究。现报告如下。

1 材料

1.1 供试动物 健康 Wistar 雄性 5 月龄大白鼠 84 只, 体重 275.6 ± 15.8g, 购自华中科技大学同济医学院实验动物中心。

1.2 造模药物 氢化可的松, 江苏扬州制药厂生产, 批号 980911。

1.3 供试药物 ①男宝胶囊, 天津市力生制药厂生产, 批号 9911044。②逍遥丸, 中国芜湖张恒春制药厂生产, 批号 990143。③补肾疏肝汤浸膏(含生药

4.15g/g), 由淫羊藿(*Epimedium brevicornum* Maxim.)、巴戟天(*Morinda officinalis* How)、枸杞子(*Lycium barbarum* L)、川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort.)、郁金(*Curcuma weiyujin* Y. H. Chen et C. Ling) 等中药制成。药物由本院陈科力教授鉴定。④生理盐水, 武汉滨湖制药厂生产, 批号 990326。

1.4 主要试剂 ①T(睾酮) E₂(雌二醇) 放免试剂盒, 由北方生物技术研究所提供; ②6-keto-PGF_{1α}(6-酮-前列环素 F_{1α})、TXB₂(血栓素 B₂) 放免试剂盒, 由苏州医学院血栓研究室提供; ③NOS 试剂盒, 由南京建成生物工程研究所提供。

1.5 主要仪器 ①YSD-5 药理生理实验多用仪, 包头仪器厂生产; ②FJ50/P γ 免疫计数器, 国营二六二厂生产; ③721 分光光度计, 上海第三分析仪器厂生产; ④离心机、扭力天平等。

2 方法与结果

2.1 造模方法 在严格消毒条件下, 给每只大鼠臀部肌肉注射氢化可的松 2mg/次, 每日 1 次, 连续

15d, 造成肾(阳)虚模型; 从第 16d 起对所有造模大鼠给予夹尾刺激, 每日 3 次, 每次 30min, 连续 7d。在肾(阳)虚基础上通过夹尾激怒导致肝郁, 造成肾(阳)虚肝郁模型。

2.2 给药方法 造模完成次日开始给药。在给药前一天, 将模型大鼠随机分为 6 组, 即模型对照组, 模型+ 男宝组, 模型+ 逍遥丸组, 模型+ 补肾疏肝汤低剂量组, 模型+ 补肾疏肝汤中剂量组, 模型+ 补肾疏肝汤高剂量组。另取同批次正常大鼠 12 只作为正常对照组。①正常组: 用 1ml 生理盐水/100g 体重·日灌胃; ②模型组: 用 1ml 生理盐水/100g 体重·日灌胃; ③男宝组: 将男宝稀释成含生药量 0.03g/ml 混悬液, 按 1ml/100g 体重·日灌胃; ④逍遥丸组: 将逍遥丸稀释成含生药量 0.2g/ml 混悬液, 按 1ml/100g 体重·日灌胃; ⑤补肾疏肝汤低、中、高剂量组: 将补肾疏肝汤浸膏稀释成分别含生药量 0.8g/ml、1.6g/ml、3.2g/ml 混悬液, 分别按 1ml/100g 体重·日灌胃。

2.3 统计方法 各组数据用专业统计包 SPSS (Microsoft 公司) 统计结果。计量资料两组组间比较用 *t* 检验, 两组以上的比较用 *F* 检验或 *F'* 检验后, 组内有差异者, 用 *q* 检验; 阴茎勃起潜伏期等指标换算成以分钟为单位后按上述方法进行统计。

2.4 观测结果 造模完成后, 模型大鼠既有体毛竖立、喜扎堆、大便稀或不成形等肾阳虚表现, 又有急躁易怒、对外界刺激敏感等肝气郁表现。造模完成次日, 测定大鼠阴茎勃起潜伏期及射精潜伏期, 结果模型组与正常组比较, 其阴茎勃起潜伏期明显延长、射精潜伏期明显缩短, 表明模型大鼠存在性活力低下特征。给药结束后, 再次测定大鼠阴茎勃起潜伏期及射精潜伏期, 然后采集标本, 进行其余指标测定。统计学处理

2.4.1 对性活力的影响 背位固定大鼠, 将 YSD-5 药理生理实验多用仪的刺激电极放置于大鼠阴茎部位, 给予电刺激, 记录从刺激开始至阴茎勃起所需时间(阴茎勃起潜伏期)和继续刺激至射精所需时间(射精潜伏期)。结果与正常组比较, 模型组阴茎勃起潜伏期明显延长、射精潜伏期明显缩短。与模型组比较, 补肾疏肝汤低、中、高剂量组阴茎勃起潜伏期明显缩短、射精潜伏期明显延长。结果见表 1:

2.4.2 对附属性腺湿重的影响 处死大鼠, 取出整个精囊腺、前列腺、包皮腺, 迅速以扭力天平称其湿重。结果与正常组比较, 模型组精囊腺、前列腺和包

皮腺湿重均显著降低; 与模型组比较, 补肾疏肝汤低、中、高剂量组精囊腺、前列腺及包皮腺湿重均显著升高。结果见表 2:

表 1 各组大鼠阴茎勃起潜伏期及射精潜伏期比较($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 (g/kg)	勃起潜伏期 (min)	射精潜伏期 (min)
正常组	—	0.73 ± 0.34 ^{**}	1.19 ± 0.71 ^{**}
模型组	—	1.87 ± 1.04 ^{▲▲}	0.17 ± 0.21 ^{▲▲}
男宝组	0.3	1.33 ± 0.46	0.40 ± 0.27
逍遥丸组	2.0	1.24 ± 0.33	0.56 ± 0.40 [*]
补肾疏肝汤低剂量组	8.0	0.76 ± 0.34 ^{**}	0.90 ± 0.30 ^{**}
补肾疏肝汤中剂量组	16.0	0.85 ± 0.42 ^{**}	1.26 ± 0.53 [*]
补肾疏肝汤高剂量组	32.0	0.75 ± 0.21 ^{**}	1.24 ± 0.63 ^{**}

注: 与模型组比较^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01; 与正常组比较[▲]*P* < 0.05, ^{▲▲}*P* < 0.01。

表 2 各组大鼠附属性腺湿重比较($\bar{x} \pm s; n = 12$)

组别	剂量 (g/kg)	精囊腺及前列腺湿重 (g)	包皮腺湿重 (mg)
正常组	—	2.08 ± 0.27 ^{**}	125.59 ± 18.53 ^{**}
模型组	—	1.39 ± 0.29 ^{▲▲}	76.90 ± 15.64 ^{▲▲}
男宝组	0.3	2.10 ± 0.40 ^{**}	104.23 ± 16.40 [*]
逍遥丸组	2.0	1.70 ± 0.33	97.30 ± 11.13
补肾疏肝汤低剂量组	8.0	1.90 ± 0.30 [*]	104.20 ± 32.12 [*]
补肾疏肝汤中剂量组	16.0	2.22 ± 0.35 ^{**}	114.33 ± 27.58 ^{**}
补肾疏肝汤高剂量组	32.0	2.33 ± 0.37 ^{**}	123.78 ± 24.16 ^{**}

2.4.3 对血清 T 水平及 T/E₂ 比值的影响 眼球取血, 放免法测定血清 T、E₂ 水平, 并计算其比值。结果与正常组比较, 模型组 T 水平明显下降, E₂ 水平明显上升, T/E₂ 比值显著下降; 与模型组比较, 补肾疏肝汤低、中高剂量组 T 水平及 T/E₂ 比值显著升高, 而 E₂ 水平则明显降低。结果见表 3:

2.4.4 对血清 6-keto-PGF_{1α}、TXB₂ 水平及其比值的影响 眼球取血, 放免法测定血清 6-keto-PGF_{1α}、TXB₂ 水平, 并计算其比值。结果与正常组比较, 模型组 TXB₂ 明显上升, 6-keto-PGF_{1α} 明显下降; 与模型组比较, 补肾疏肝汤低、中、高剂量组 TXB₂ 水平明显降低, 6-keto-PGF_{1α} 水平明显升高, 中、高剂量组 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ 比值明显升高。结果见表 4:

2.4.5 对阴茎组织 NOS 活性的影响 处死大鼠, 分离出阴茎, 在冰浴中用匀浆器匀浆, 离心后取上清,

表 3 各组大鼠血清 T/E₂ 比较($\bar{x} \pm s$; n = 10)

组别	剂量(g/kg)	T(pg/ml)	E ₂ (ng/ml)	T/E ₂
正常组	—	0.74 ± 0.10 ^{**}	12.48 ± 2.06 ^{**}	0.62 ± 0.02 ^{**}
模型组	—	0.58 ± 0.09 [▲]	17.84 ± 3.46 ^{▲▲}	0.33 ± 0.01 ^{▲▲}
男宝组	0.3	0.72 ± 0.11 [*]	13.63 ± 2.23 ^{**}	0.54 ± 0.01 ^{**}
逍遥丸组	2.0	0.66 ± 0.12	13.59 ± 2.05 ^{**}	0.48 ± 0.01
补肾疏肝汤低剂量组	8.0	0.70 ± 0.13 [*]	14.68 ± 1.78 [*]	0.49 ± 0.01 [*]
补肾疏肝汤中剂量组	16.0	0.73 ± 0.09 [*]	13.11 ± 2.34 ^{**}	0.57 ± 0.01 ^{**}
补肾疏肝汤高剂量组	32.0	0.75 ± 0.07 [*]	12.53 ± 2.63 ^{**}	0.62 ± 0.01 ^{**}

表 4 各组大鼠血清 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ 比较($\bar{x} \pm s$; n = 10)

组别	剂量(g/kg)	TXB ₂ (pg/ml)	6-keto-PGF _{1α} (pg/ml)	6-keto-PGF _{1α} /TXB ₂
正常组	—	5.20 ± 3.82 ^{**}	2.77 ± 0.70 ^{**}	0.74 ± 0.35 ^{**}
模型组	—	10.98 ± 2.92 ^{▲▲}	1.18 ± 0.16 ^{▲▲}	0.12 ± 0.04 ^{▲▲}
男宝组	0.3	7.98 ± 2.24	2.84 ± 0.51 ^{**}	0.41 ± 0.23
逍遥丸组	2.0	4.82 ± 1.74 ^{**}	1.85 ± 0.74	0.45 ± 0.26
补肾疏肝汤低剂量组	8.0	5.50 ± 1.41 ^{**}	2.04 ± 0.66 [*]	0.40 ± 0.17
补肾疏肝汤中剂量组	16.0	5.03 ± 1.20 ^{**}	3.01 ± 1.71 ^{**}	0.62 ± 0.33 ^{**}
补肾疏肝汤高剂量组	32.0	4.77 ± 1.67 ^{**}	2.46 ± 0.87 [*]	0.57 ± 0.30 [*]

按 NOS (一氧化氮合酶) 试剂盒说明书测定 NOS 活性。结果与正常组比较, 模型组阴茎组织 NOS 活性显著降低; 与模型组比较, 补肾疏肝汤低、中、高剂量组阴茎组织 NOS 活性明显升高。结果见表 5:

表 5 各组大鼠阴茎组织 NOS 活性比较($\bar{x} \pm s$; n = 10)

组别	NOS(U/mgprot)
正常组	2.31 ± 0.90 ^{**}
模型组	0.89 ± 0.31 ^{▲▲}
男宝组	1.92 ± 0.64 [*]
逍遥丸组	1.96 ± 0.64 [*]
补肾疏肝汤低剂量组	2.56 ± 0.92 ^{**}
补肾疏肝汤中剂量组	2.01 ± 0.83 [*]
补肾疏肝汤高剂量组	2.82 ± 0.61 ^{**}

3 讨论

阳痿动物模型的建立一直是男科实验研究的一大难点, 而要成功制造一个基于特定中医证型(肾阳虚肝气郁)的阳痿动物模型则更为困难。目前比较公认的肾阳虚造模法是氢化可的松肌注法^{[21][31]}, 比较公认的肝郁证造模法是夹尾激怒法^[4]。因此, 我们将上述两种方法复合使用, 用复合因素建立了肾(阳)虚肝(气)郁大鼠模型。模型大鼠在肾(阳)虚、肝(气)郁因素作用下, 不仅具备肾(阳)虚肝(气)郁

特征, 而且具备性活力低下特点, 提示肾(阳)虚肝(气)郁不仅可以引起性功能下降, 而且是导致阳痿的重要病机。

阴茎勃起潜伏期、射精潜伏期是反映性活力的重要指标。实验结果显示, 补肾疏肝汤可以使模型大鼠阴茎勃起潜伏期明显缩短、射精潜伏期明显延长。表明补肾疏肝汤具有提高模型大鼠性活力的良好作用。

附属性腺湿重和血清 T 水平能较为客观地反映肾阳虚程度。实验显示, 补肾疏肝汤不仅可以显著改善模型大鼠肾阳虚的客观证候, 而且可以显著提高模型大鼠附属性腺湿重、血清 T 水平及 T/E₂ 比值。表明补肾疏肝汤改善模型大鼠肾虚状态的途径可能与其提高附属性腺湿重及血清 T 水平有关。

文献报告, 6-keto-PGF_{1α} 降低是虚证特征之一, TXB₂ 升高是实证特征之一^[5]。具有实证特点的肝(气)郁证常有 TXB₂ 水平升高及 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ 比值降低^[6], 因而可把 TXB₂ 水平及 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ 比值作为衡量肝(气)郁的客观指标。实验结果显示, 模型大鼠血浆 TXB₂ 水平显著上升, 6-keto-PGF_{1α} 水平及 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ 比值明显降低, 提示 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ 的平衡破坏可能是肾(阳)虚肝

(气)郁导致阳痿的重要环节。实验结果说明,降低模型大鼠 TXB₂ 水平、提高模型大鼠 6- $\text{ket}\alpha\text{-PGF}_{1\alpha}$ 水平及 6- $\text{ket}\alpha\text{-PGF}_{1\alpha}$ /TXB₂ 比值,可能是补肾疏肝汤改善模型大鼠肾虚肝郁状态、提高其性活力的途径之一。

NO (一氧化氮) 是阴茎勃起的重要调控物质, NOS 催化 L-ARG (左旋精氨酸) 生成 NO。因此 NOS 在大鼠阴茎组织中的活性直接与阴茎勃起能力相关。实验显示,补肾疏肝汤可以显著提高模型大鼠阴茎组织 NOS 活性,说明肾(阳)虚肝(气)郁所致的性活力低下可能与阴茎组织 NOS 活性降低有关;由此推测,补肾疏肝汤显著改善模型大鼠的阴茎勃起能力可能是通过提高其阴茎组织 NOS 活性而实现的。

参考文献:

- [1] 周安方. 补肾疏肝汤治疗肾虚肝郁型阳痿 158 例临床观察[J]. 湖北中医杂志, 1999, (2): 63.
- [2] 邝安堃. 某些助阳药对于大剂量皮质激素所致耗竭现象的研究[J]. 中华内科杂志, 1963, 11(2): 113.
- [3] 雷妮妮. 肾(阳)虚、脾虚模型动物免疫、内分泌器官超微结构的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 1997, 10(4): 208.
- [4] 傅湘琦. 大白鼠“肝郁证”模型血小板的超微结构研究[J]. 天津中医, 1990, (4): 32.
- [5] 罗伟. 高血压病虚实辨证与血浆 ET、TXB₂、6- $\text{ket}\alpha\text{-PGF}_{1\alpha}$ 水平的关系[J]. 中国中医基础医学杂志, 1999, 5(2): 16.
- [6] 王蓉. 肝调节血量的理论和实验研究[J]. 山东中医药大学学报, 1994, 18(2): 91.