

蛤蚧生品及不同炮制品对腺嘌呤致肾阳虚模型小鼠的改善作用比较[△]

黄馨慧^{1*},王晓珊²,刘舒凌^{2#},吴燕春²,周蓓²,张兵²,熊桂玉²(1.广西国际壮医医院药学部,南宁 530021;2.广西中医药大学药学院,南宁 530200)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)13-1608-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.13.12

摘要 目的:比较蛤蚧生品及不同炮制品对腺嘌呤致肾阳虚模型小鼠的改善作用。方法:将100只小鼠随机分为空白组($n=10$)和造模组($n=90$)。造模组小鼠灌胃腺嘌呤(50 mg/kg)10 d以复制肾阳虚模型,空白组小鼠灌胃生理盐水(0.2 mL/10 g)。将造模成功的70只小鼠按体质量和肾阳虚症状程度随机分为模型组、阳性组(金匮肾气丸,6.4 g/kg)、蛤蚧生品组(1.2 g/kg)、酒蛤蚧组(1.2 g/kg)和油酥蛤蚧组(1.2 g/kg),每组14只。空白组和模型组小鼠灌胃等体积生理盐水,各给药组小鼠灌胃相应药物混悬液,20 mL/kg,每天给药1次,连续给药14 d。实验期间,观察各组小鼠的症状和体征情况。末次给药结束后,测定各组小鼠的肾指数、睾丸指数以及血清中睾酮、皮质醇、尿素氮、肌酐水平,并采用苏木精-伊红染色法观察肾组织病理学变化。结果:与空白组比较,模型组小鼠出现体质量减轻、蜷缩拱背、畏寒肢冷、体毛稀疏等肾阳虚表现;肾指数以及血清中尿素氮、肌酐水平显著升高($P<0.01$);肾组织可见肾小管上皮细胞排列不整齐、细胞核淡染、细胞质水肿等病理损伤。与模型组比较,蛤蚧生品和各炮制品组小鼠的肾阳虚表现均有不同程度改善(尤以酒蛤蚧组小鼠改善最为明显),血清中肌酐、尿素氮水平平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),肾组织病理损伤有不同程度的减轻;此外,蛤蚧各炮制品组小鼠体质量显著升高($P<0.01$),蛤蚧生品组和各炮制品组小鼠肾指数显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与蛤蚧生品组比较,酒蛤蚧组小鼠肾指数以及血清中尿素氮、肌酐水平平均显著降低($P<0.01$),油酥蛤蚧组小鼠血清中肌酐水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:蛤蚧生品、酒蛤蚧、油酥蛤蚧对腺嘌呤所致肾阳虚模型小鼠均具有一定的改善作用,其中以酒蛤蚧的作用最为明显。

关键词 蛤蚧;生品;炮制品;肾阳虚;腺嘌呤;小鼠

Comparative Study on the Effect of Raw Product and Different Processed Products of *Gekko gecko* on Kidney-yang Deficiency Model Mice Induced by Adenine

HUANG Xinhui¹, WANG Xiaoshan², LIU Shulina², WU Yanchun², ZHOU Bei², ZHANG Bing², XIONG Guiyu²
(1. Dept. of Pharmacy, Guangxi International Zhuang Medical Hospital, Nanning 530021, China; 2. College of Pharmacy, Guangxi University of TCM, Nanning 530200, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the effects of raw product and different processed products of *Gekko gecko* on kidney-yang deficiency model mice induced by adenine. METHODS: Totally 100 mice were randomly divided into blank group ($n=10$) and modeling group ($n=90$). Modeling group was given adenine (50 mg/kg) intragastrically for 10 days to induce kidney-yang deficiency model; blank group was given normal saline (0.2 mL/10 g) intragastrically. After modeling, 70 mice were randomly divided into model group, positive group (Jinkui shenqi pill, 6.4 g/kg), *G. gecko* crude product group (1.2 g/kg), wine-processed *G. gecko* group (1.2 g/kg) and oil-processed *G. gecko* group (1.2 g/kg) according to body weight and symptoms of kidney-yang deficiency, with 14 mice in each group. Blank group and model group were given constant volume of normal saline intragastrically; administration groups were given relevant medicine intragastrically (0.2 mL/10 g), once a day, for consecutive 14 d. During the experiment, the symptoms and signs of mice in each group were observed. After last medication, renal index, testis index and serum levels of T, CORT, BUN and Cr were measured; HE staining method was used to observe the pathological changes of renal tissue of mice in each group. RESULTS: Compared with blank group, the mice in the model group suffered from performance of kidney-yang deficiency, such as weight loss, crouch and arch back, chills and cold limbs, and sparse body hair, while renal index and serum levels of BUN and Cr were increased significantly ($P<0.01$). In renal tissue, there were pathological damages such as irregular arrangement of renal tubular epithelial cells, light staining of nucleus and edema of cytoplasm. Compared with model group, performance of kidney-yang deficiency was improved to different extents in *G. gecko* crude product group and processed product groups (especially in wine-processed *G. gecko* group); serum levels

△ 基金项目:广西自然科学基金资助项目(No.2018GXNSF-BA281179);广西高校中青年教师基础能力提升项目(No. KY2016YB211);广西中医药大学引进博士科研启动基金项目(No.2018BS022)

* 主管药师,硕士。研究方向:中药药理。电话:0771-3376881。
E-mail:120778057@qq.com

通信作者:副教授,博士。研究方向:中药炮制原理。电话:0773-4928381。E-mail:799247687@qq.com

of BUN and Cr were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$); pathological damage of renal tissue was alleviated in different degrees. In addition, body weight of mice was increased significantly in *G. gecko* processed products groups ($P<0.01$), and renal indexes of mice were decreased significantly in *G. gecko* crude product group and processed products groups ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with *G. gecko* crude product group, renal index, serum levels of BUN and Cr were significantly decreased in wine-processed *G. gecko* group ($P<0.01$), and serum level of Cr was significantly decreased in oil-processed *G. gecko* group ($P<0.05$). CONCLUSIONS: *G. gecko* crude product, wine-processed *G. gecko* and oil-processed *G. gecko* all show a certain improvement effect on kidney-yang deficiency mice induced by adenine, especially wine-processed *G. gecko*.

KEYWORDS *Gekko gecko*; Raw product; Processed product; Kidney-yang deficiency; Adenine; Mice

蛤蚧为壁虎科动物蛤蚧(*Gekko gecko* Linnaeus)的干燥体,其味咸,性平,归肺、肾经,具有补肺益肾、纳气定喘、助阳益精的功效^[1]。蛤蚧的炮制方法主要有净制、酒制、油酥制,对应的饮片品种为生蛤蚧、酒蛤蚧、油酥蛤蚧^[2-3]。传统炮制理论认为:生蛤蚧质坚韧,气腥;酒蛤蚧质酥易碎,酒制可矫臭矫味,可借酒行药势,增强其补肾壮阳的作用,多用于肾阳不足、精血亏损的阳痿^[4];酥制后易于粉碎,腥气减少,其功效以补肺益精、纳气定喘见长^[3]。近年来,对蛤蚧的炮制研究多集中在蛤蚧不同部位的化学成分和药理作用比较,而对蛤蚧不同炮制品(酒蛤蚧、油酥蛤蚧)的药理作用是否有区别,笔者未见国内外文献报道;蛤蚧饮片是否生、熟有别,也缺乏实验研究。因补肾助阳是蛤蚧的主要功效之一,故本研究拟通过腺嘌呤复制肾阳虚小鼠模型,比较蛤蚧生品及不同炮制品对模型小鼠肾阳虚的改善作用,以期为蛤蚧炮制原理的阐释及其临床的合理应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司);BP211D型电子天平(德国 Sartorius 公司);5430R小型台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);111B型二两装高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司);UniCel Dxl 800型全自动化学发光免疫分析仪(美国 Beckman Coulter 公司);P800型全自动生化分析仪(瑞士 Roche 公司);CX22型普通光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 药品与试剂

蛤蚧购自安徽亳州药材市场(批号:20180810),经广西中医药大学中药鉴定教研室樊兰兰研究员鉴定为壁虎科动物蛤蚧(*G. gecko* Linnaeus)的干燥体;陈年会稽山绍兴花雕酒(会稽山绍兴酒股份有限公司,批号:20161117,酒精度:15% vol);芝麻油(益海嘉里武汉粮油工业有限公司,批号:20180801);腺嘌呤原料药(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:A108804,纯度:>98%);金匮肾气丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司,批号:18030641,规格:20 g);睾酮检测试剂盒、皮质酮检测试剂盒(美国 Beckman Coulter 公司,批号:8321091、832091);尿素氮检测试剂盒、肌酐检测试剂盒

(宁波瑞源生物科技有限公司,批号:201901291、2019021101);氯化钠注射液(江西省创欣药业集团有限公司,批号:20180315,规格:500 mL:4.5 g,即生理盐水);苏木精染液(德州润昕实验仪器有限公司,批号:150201);伊红染液(合肥博美生物科技有限责任公司,批号:20190108);其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 动物

SPF 级 ICR 小鼠 100 只,雄性,体质量(34 ± 1) g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2016-0002。小鼠在室温 22~26 °C、相对湿度 40%~60% 的实验室中饲养,饲以普通饲料和纯净水。实验过程中对动物的处置符合相关动物使用伦理学原则。

2 方法

2.1 药物的制备

2.1.1 蛤蚧饮片的炮制 (1)蛤蚧生品:取蛤蚧干燥体 200 g,去头(齐眼处切除)、足、鳞片,切成小块,即得^[2-3]。(2)酒蛤蚧:取蛤蚧干燥体 50 g,用黄酒浸润(每 1 g 蛤蚧样品用 0.2 g 黄酒),浸透后,置于温度为 110 °C 的烘箱中烘制 20 min,至外表略成微黄色并伴有焦香气,即得^[2-3]。(3)油酥蛤蚧:取蛤蚧干燥体 50 g,涂上芝麻油,置于 110 °C 的烘箱中烤至色稍黄、质脆,然后去头(齐眼处切除)、足及鳞片,切成小块,即得^[3]。

2.1.2 蛤蚧生品及炮制品混悬药液的制备 将蛤蚧生品、酒蛤蚧、油酥蛤蚧分别粉碎,过 60 目筛,称取适量粉末,加水制成质量浓度均为 0.06 g/mL 的 3 种单一样品混悬药液,备用。

2.1.3 阳性药液 取金匮肾气丸适量,用水溶解后制成质量浓度为 0.32 g/mL 的混悬液,备用。

2.2 分组、造模与给药

取小鼠 100 只,根据体质量随机分为空白组($n=10$)和造模组($n=90$)。空白组小鼠灌胃生理盐水(0.2 mL/10 g);造模组小鼠灌胃腺嘌呤(50 mg/kg,灌胃体积为 0.2 mL/10 g),连续 10 d,以复制肾阳虚小鼠模型^[5-6]。造模后,若小鼠体质量下降明显,并出现蜷缩懒动,神疲倦卧,反应迟钝,畏寒肢冷,体毛稀疏、发黄、易脱落、无光泽,大便稀溏等肾阳虚症状,可视为造模成功^[7]。造模过程中有 12 只小鼠死亡,剩余 78 只存活小鼠有明显肾

阳虚体征。剔除造模后过于虚弱的8只小鼠,留取70只造模成功的小鼠进入正式实验。将这70只小鼠按体质量和肾阳虚症状程度均分为模型组、阳性组(金匮肾气丸,6.4 g/kg)^[8]、蛤蚧生品组(1.2 g/kg)、酒蛤蚧组(1.2 g/kg)和油酥蛤蚧组(1.2 g/kg),每组14只。除空白组和模型组小鼠每天灌胃等体积生理盐水外,各给药组小鼠均灌胃相应药物混悬液,给药体积均为0.2 mL/10 g,每天给药1次,连续给药14 d。各蛤蚧饮片组的给药剂量是根据蛤蚧的临床人用量换算而得:蛤蚧饮片的临床人用量为3~6 g^[2],以每日人用量为6 g计,体质量为60 kg的成人的用量为0.1 g/kg,再按体表面积法^[9]折算成小鼠的等效剂量为1.2 g/kg。

2.3 指标检测

2.3.1 症状和体征观察 在实验过程中,观察并记录小鼠的体质量、症状和体征情况。实验结束前1天,根据中医基础理论结合肾阳虚表现的“形、迟、淡、寒”证候对各组小鼠的肾阳虚症状和体征进行评分^[10],评出每组小鼠中各症状和体征级别对应的小鼠只数。各级症状和体征表现:与空白组体征相似,为一级;仅表现出自主活动减少、嗜睡,为二级;反应迟钝、精神萎靡,体毛稀疏,毛(爪、尾)少光泽,为三级;蜷缩拱背,畏寒肢冷,毛发易脱落,毛(爪、尾)无光泽,为四级。

2.3.2 脏器指数、生化指标检测 取材前,小鼠禁食不禁水12 h。末次给药1 h后,称定小鼠体质量,摘眼球取血后,取出肾、睾丸,精密称质量,并计算小鼠的脏器(肾、睾丸)指数[脏器指数=脏器质量(mg)/体质量(g)]。血样在室温下静置5 h,然后以3 000 r/min离心10 min,分离血清,再按照相应试剂盒说明书操作,测定血清中睾酮、皮质醇、尿素氮、肌酐水平。

2.3.3 肾组织病理学变化观察 取小鼠右肾,置于4%甲醛溶液中固定,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,常规石蜡包埋、切片(厚度约3 μm),行苏木精-伊红(HE)染色后,在光学显微镜下观察肾组织病理学变化。

2.4 统计学方法

采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,若方差齐则组间两两比较采用LSD法,若方差不齐则用Dunnett's T3法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠症状和体征观察结果

在实验期间,空白组小鼠饮食量和自主活动情况均正常,皮毛滑顺,反应灵敏。模型小鼠的饮食量及体质量下降明显,且有蜷缩懒动,嗜睡,肢冷,毛发稀疏发黄、易脱落的现象。给药后,各给药组小鼠的症状和体征较模型组均有一定改善,自主活动次数增加,皮毛光

泽度转好。其中,以酒蛤蚧组小鼠的症状和体征恢复最好,小鼠的蜷缩、肢冷、毛发稀疏情况改善明显。各组小鼠的症状和体征分级结果见表1(在给药期间,模型组小鼠死亡4只、阳性组小鼠死亡2只、蛤蚧生品组小鼠死亡3只、油酥蛤蚧组小鼠死亡3只,因此数量有所减少)。

表1 各组小鼠症状和体征分级结果

Tab 1 Grading results of symptoms and signs of kidney-yang deficiency of mice in each group

组别	n	各症状和体征级别对应的小鼠只数			
		一级	二级	三级	四级
空白组	10	10	0	0	0
模型组	10	0	2	7	1
阳性组	12	1	5	5	1
蛤蚧生品组	11	0	5	5	1
酒蛤蚧组	14	10	4	0	0
油酥蛤蚧组	11	2	4	4	1

3.2 小鼠体质量、肾指数和睾丸指数的测定结果

与空白组比较,模型组小鼠体质量显著减轻、肾指数显著升高($P < 0.01$),但睾丸指数差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较,酒蛤蚧组和油酥蛤蚧组小鼠体质量显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各给药组小鼠的肾指数均显著降低、睾丸指数均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与蛤蚧生品组比较,酒蛤蚧组小鼠的体质量显著增加、肾指数显著降低($P < 0.01$)。各组小鼠体质量、肾指数和睾丸指数测定结果见表2。

表2 各组小鼠体质量、肾指数和睾丸指数测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Results of body weight, renal index and testicular index of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体质量,g	肾指数,mg/g	睾丸指数,mg/g
空白组	10	35.12 ± 2.18	13.36 ± 1.33	7.33 ± 1.05
模型组	10	25.83 ± 3.38 ^{**}	20.41 ± 2.82 ^{**}	7.77 ± 0.68
阳性组	12	25.69 ± 2.77	16.03 ± 1.36 [#]	9.72 ± 1.55 ^{##}
蛤蚧生品组	11	26.68 ± 2.31	17.84 ± 2.17 [#]	9.51 ± 1.30 ^{##}
酒蛤蚧组	14	30.56 ± 2.12 ^{##△}	14.38 ± 1.15 ^{##△}	8.64 ± 1.04 ^{##}
油酥蛤蚧组	11	28.84 ± 3.17 [#]	17.67 ± 0.66 [#]	8.77 ± 0.78 [#]

注:与空白组比较,^{**} $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与蛤蚧生品组比较,[△] $P < 0.01$

Note: vs. blank group, ^{**} $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; vs. G. gecko raw product group, [△] $P < 0.01$

3.3 小鼠血清中睾酮、皮质醇、尿素氮及肌酐水平测定结果

与空白组比较,模型组小鼠血清中尿素氮和肌酐水平显著升高($P < 0.01$),而睾酮、皮质醇水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较,阳性组和酒蛤蚧组小鼠血清中睾酮水平均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各给药组小鼠血清中尿素氮和肌酐水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与蛤蚧生品组比较,酒蛤蚧组小鼠血清中尿素氮、肌酐水平以及油酥蛤蚧组小鼠血清中

肌肝水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。各组小鼠血清中睾酮、皮质醇、尿素氮、肌酐水平测定结果见表3。

表3 各组小鼠血清中睾酮、皮质醇、尿素氮、肌酐水平测定结果($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Results of serum levels of T, CORT, BUN and Cr of mice in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	睾酮, mg/mL	皮质醇, mg/mL	尿素氮, mmol/L	肌酐, μ mol/L
空白组	10	32.21 \pm 2.70	19.12 \pm 2.21	10.43 \pm 1.41	28.40 \pm 4.91
模型组	10	33.14 \pm 4.74	20.31 \pm 5.24	46.26 \pm 3.45 ^{**}	83.88 \pm 5.74 ^{**}
阳性组	12	44.56 \pm 11.54 ^{##}	23.83 \pm 5.01	16.68 \pm 12.60 ^{##}	44.86 \pm 17.11 ^{##}
蛤蚧生品组	11	36.31 \pm 11.89	22.17 \pm 4.08	14.33 \pm 4.02 ^{##}	58.30 \pm 12.87 ^{##}
酒蛤蚧组	14	42.44 \pm 13.39 [#]	20.35 \pm 4.16	9.63 \pm 2.39 ^{##△△}	32.00 \pm 5.78 ^{##△△}
油酥蛤蚧组	11	37.89 \pm 11.38	23.11 \pm 4.55	17.94 \pm 9.49 [#]	46.45 \pm 11.88 [#]

注:与空白组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与蛤蚧生品组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

Note: vs. blank group, ^{**} $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; vs. G. gecko raw product group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$

3.4 小鼠肾组织病理形态学观察结果

空白组小鼠肾组织结构完整、清晰,肾小球大小正常、形态完整,肾小管管腔大小正常,肾小管管壁形态正常。模型组小鼠肾组织结构、形态有所破坏,肾小球有血栓形成,肾小管上皮细胞排列不整齐、细胞核淡染、细胞质水肿,肾间质水肿充血,部分肾小管的管腔变大,管壁变性水肿。阳性组小鼠肾组织结构破坏较少,肾小球仅有少量血栓形成,肾小管管腔变大的程度及管壁变性水肿的程度较小。蛤蚧生品组、酒蛤蚧组和油酥蛤蚧组小鼠肾组织形态、结构仍有所破坏,肾小球血栓程度与模型组相比有所改善,肾小球上皮细胞仍有不同程度的水肿,肾间质水肿少见,肾小管管腔变大的程度及管壁变性水肿的程度与模型组相比均有减轻。在各给药组中,以酒蛤蚧组小鼠的病理学形态改善最为明显。各组小鼠肾组织病理形态学观察结果见图1。

4 讨论

中医理论认为,肾阳虚即肾阳气不足,当肾阳气不足时,会出现全身机能衰退并伴有阳虚寒盛之象,如精神萎靡、畏寒肢冷、腰膝冷痛、阳痿滑精、妇女不孕、夜尿多、大便泄泻、水肿、舌淡胖、脉沉弱等^[11]。关于肾阳虚证动物模型是否建立成功,目前主要是通过观察造模动物的症状和体征与肾阳虚证的符合程度来判断^[7]。腺嘌呤致肾阳虚模型是研究肾阳虚常用的动物模型之一。腺嘌呤是核酸的组成成分之一,当大量摄入后,高浓度腺嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下会转变成极难溶解的2,8-羟基腺嘌呤,堆积于肾小管与肾间质部位,使得肾小管阻塞,导致肾功能衰竭并影响肾组织能量代谢,从而使模型动物呈肾阳虚的表现^[11-12]。金匮肾气丸具有温补肾阳、化气行水的功效,是中医温补肾阳的经典方剂^[7],其对腺嘌呤所致肾阳虚模型动物的体征、性激素水平和

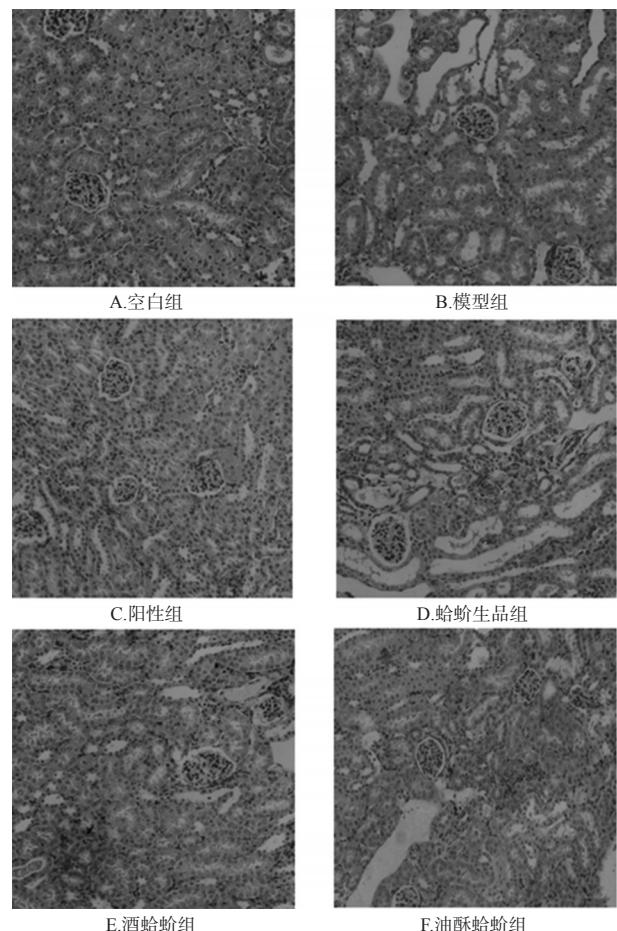


图1 各组小鼠肾组织病理学显微图(HE染色, $\times 200$)

Fig 1 Micrograph of histopathological observation of renal tissue of mice in each group (HE staining, $\times 200$)

精子质量等均有改善作用^[13-15],故本研究以其作为阳性药物。

肾阳虚后常存在神经内分泌系统的异常,下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴、性腺轴和甲状腺轴这三轴可能出现不同环节、不同程度的功能紊乱^[11]。血清睾酮是反映性腺轴功能的指标,血清皮质醇是反映下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的指标,而肾阳虚证在脏器上主要表现为肾上腺皮质的萎缩和睾丸的组织学改变^[11]。在腺嘌呤诱导的肾阳虚模型中,因肾小管管腔堵塞引起肾小管腔呈囊状扩张,肾小管损伤严重,随着病情的进展,出现“大白肾”和肾功能的损伤^[16]。测定肾指数和观察肾组织病理学变化,可直接反映腺嘌呤造模的效果。而血清中尿素氮和肌酐的水平则是反映肾生理功能的重要指标,反映了肾小球的滤过功能,两者含量升高表示发生了肾阳虚兼证——肾阳虚水泛证^[17]。

在本研究中,造模后小鼠出现了饮食量减少、体质下降、毛发疏松无光泽、蜷缩拱背、畏寒肢冷、精神萎靡、自主活动减少等现象,这与肾阳虚证的表现相符。

同时,造模后小鼠还出现了肾指数显著升高、血清中尿素氮和肌酐水平显著升高以及肾组织损伤等现象,这进一步提示造模成功。但是在实验中笔者观察到,造模后小鼠的睾丸指数、血清中睾酮和皮质醇水平并未出现降低,反而有所升高。而在肾阳虚模型动物中,其睾丸指数、睾酮和皮质醇水平多会降低^[18-19]。笔者在查阅相关文献后,发现在肾阳虚模型动物中其睾丸指数和血清皮质醇水平也有升高的情况^[10],以及在造模不同时间后血清睾酮水平先是无明显变化而后降低的情况^[20]。分析其原因,笔者推测可能是因为腺嘌呤的靶器官为肾,对睾丸和肾上腺皮质的影响为肾衰后的累积损伤。在不同实验中,腺嘌呤造模的剂量、造模的持续时间不同,可能对动物睾丸指数、血清中睾酮和皮质醇水平的影响不同,但具体原因还有待进一步的研究和探讨。本研究结果显示,蛤蚧生品、酒蛤蚧、油酥蛤蚧给药后,均能不同程度地改善模型小鼠的肾阳虚体征,降低其血清中尿素氮和肌酐水平,并减轻其肾组织病理损伤。其中,酒蛤蚧和油酥蛤蚧均能显著增加模型小鼠的体质量;蛤蚧生品、酒蛤蚧、油酥蛤蚧均能降低模型小鼠肾指数,并降低其血清中尿素氮和肌酐水平。此外,本研究结果还显示,阳性组和蛤蚧各饮片组小鼠的睾丸指数以及阳性组和酒蛤蚧组小鼠的血清睾酮水平均较模型组显著升高。推测其原因,可能与金匮肾气丸温肾助阳、蛤蚧益精助阳的功效有关。在血清皮质醇水平上,模型组与空白组间比较以及各给药组和模型组间比较,差异均无统计学意义,这表明在本研究中各药物可能并未通过刺激肾上腺皮质的分泌来发挥其对肾阳虚模型小鼠的改善作用。

综上所述,蛤蚧生品、酒蛤蚧、油酥蛤蚧对腺嘌呤所致肾阳虚模型小鼠均有一定的改善作用,且以酒蛤蚧的作用最为明显,其对模型小鼠肾阳虚症状和体征、体质量、肾指数以及血清中尿素氮、肌酐水平的改善作用均优于蛤蚧生品。分析其原因,可能为黄酒味甘、辛,性大热,能宣行药势,而酒蛤蚧借酒协同增效、行药势,增强了其补肾壮阳的作用。但制备中医证候的动物模型仍属于实验性工作,而肾阳虚证的临床表现是多方面的,涉及的身体机能也是多层次的,因此蛤蚧不同炮制品补肾阳的作用还需要多模型、多指标的进一步研究探讨。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:第九卷 [M].上海:上海科学技术出版社,1999:397-400.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:343-344.
- [3] 龚千锋.中药炮制学[M].4版.北京:中国中医药出版社,2016:264.
- [4] 张炳鑫.中药炮制品古今演变评述[M].北京:人民卫生出版社,1991:420-422.
- [5] 崔妮,史辑,贾天柱.巴戟天不同炮制品补肾壮阳作用的比较研究[J].中国中药杂志,2013,38(22):3898-3901.
- [6] 陈育,魏巍,许晓燕,等.蛹虫草对腺嘌呤致肾阳虚证小鼠影响的实验研究[J].四川动物,2015,34(4):594-598.
- [7] 李寅超,何永侠,孙曼,等.比较以不同品质的羊脂油炙淫羊藿的温肾阳作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(19):197-202.
- [8] 付正丰,龚明,苗家伟,等.金匮肾气丸温补肾阳药理作用的实验研究[J].中成药,2015,37(5):1111-1114.
- [9] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,2006:1169.
- [10] 陈颖颖,罗莎,杜梦梦,等.不同造模方法对骨关节炎肾阳虚证动物模型相关指标的影响[J].世界中西医结合杂志,2018,13(12):1677-1680.
- [11] 崔凯恒,嵇冰.肾阳虚证动物模型现代评价指标研究概述[J].甘肃中医药大学学报,2016,33(1):75-78.
- [12] 贾坤静,贾天柱.桑螵蛸炮制前后及不同药用部位对肾阳虚多尿大鼠的抗利尿作用比较[J].中国药房,2016,27(7):879-882.
- [13] 张晓红,董海军,吴雷涛,等.金匮肾气丸对肾阳虚大鼠睾丸转化生长因子-β1和细胞色素P-19表达的影响[J].中国中医药信息杂志,2015,22(9):72-75.
- [14] 郑龙飞.金匮肾气丸加味干预腺嘌呤所致大鼠肾阳虚模型的药效学及作用机理研究[D].北京:北京中医药大学,2017.
- [15] 朱顺海.腺嘌呤诱导的大鼠肾阳虚证与血清类固醇激素的相关性研究[D].杭州:浙江中医药大学,2015.
- [16] 邵命海,肖静,王毅兴,等.从“肾主生殖”角度评价腺嘌呤与氯化可的松诱导的肾阳虚模型[J].上海中医药杂志,2008,42(2):57-59.
- [17] 陈素红,吕圭源,范景,等.何首乌不同提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠的影响[J].中药新药与临床药理,2008,19(6):426-429.
- [18] 高慧,张爽,高雁,等.生熟五味子在补益方中补肾作用比较[J].中国现代医学杂志,2016,26(12):21-24.
- [18] 周远征,鞠成国,徐钢,等.生、制仙茅不同提取部位补肾壮阳作用研究[J].中成药,2013,35(11):2517-2519.
- [20] 马静,张远强,王宗仁,等.腺嘌呤致大鼠雄性不育发病机理的实验研究[J].解剖学报,2005,36(3):278-283.

(收稿日期:2020-02-22 修回日期:2020-04-20)

(编辑:林 静)