

附子半夏汤对阳虚模型大鼠不同脏器能量代谢的影响

滕培颖, 赵瑞芝, 徐福平, 赵亚, 杨志敏

广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510120

[摘要] 目的: 观察阳虚模型大鼠不同脏器能量代谢水平及附子半夏汤对阳虚模型大鼠不同脏器能量代谢的影响。方法: SD 大鼠 30 只, 随机分为 3 组, 分别为正常组、模型组、中药组, 除正常组外, 其他 2 组采用肌注氢化可的松注射液, 同时灌胃大黄水煎液复制阳虚大鼠模型。造模 17 天后, 中药组灌胃附子半夏汤水煎液 2 周, 给药结束后分别检测各组大鼠心、肝、脾、肾、小肠组织 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶的活力。结果: 造模第 17 天时, 模型组和中药组大鼠出现体毛枯疏无泽、活动减少、精神不振、爪甲冰凉、体质量增长迟缓、肛温下降等表现。与正常组比较, 模型组和中药组大鼠第 17 天和第 31 天体质量较低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 造模第 17 天时, 模型组和中药组肛温均显著性下降, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。与给药前比较 (即第 17 天), 中药组给药后 (即第 31 天) 肛温出现显著性上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。实验结束后, 与正常组比较, 模型组的肝脏、心脏、肾脏、小肠的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性均显著性下降, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 中药组的心脏、肾脏、脾脏、小肠的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性增高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论: 阳虚模型大鼠不同脏器能量代谢水平均显著下降, 附子半夏汤水煎液能显著提高阳虚大鼠心、肾、脾、小肠组织的能量代谢水平。

[关键词] 附子半夏汤; 能量代谢; $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性; 阳虚模型; 大鼠; 动物实验

[中图分类号] R285 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2017) 02-0004-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2017.02.002

Effect of Fuzi Banxia Tang on the Energy Metabolism of Different Organs of Yang Deficiency Model Rats

TENG Peiying, ZHAO Ruizhi, XU Fuping, ZHAO Ya, YANG Zhimin

Abstract: Objective: To observe the energy metabolism level of different organs of Yang deficiency model rats and the effect of Fuzi Banxia tang on the energy metabolism of different organs of Yang deficiency model rats. Methods: Selected 30 SD rats and divided them into three groups randomly, the normal group, the model group and the Chinese medicine (CM) group. Except the normal group, other two groups were given intramuscular hydrocortisone and at the same time reconstructed Yang deficiency model rats by administering Dihuang water decoction. After modeling, the CM group was administered Fuzi Banxia tang water decoction for 2 weeks. Then, measured the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ enzyme activity of the heart, liver, spleen, kidney and intestinal tissue of the rats in each group respectively. Results: Seventeen days after modeling, the rats in the model group and CM group appeared dry and lack luster hair, less activity, lassitude, cold paws and nails, slow growth of body mass, decrease of rectal temperature and other manifestations. Compared with the normal group, the body mass of the rats in model group and CM group were lower at 17th day and 31st day ($P < 0.05$, $P < 0.01$). At the 17th day, the rectal temperature of the rats in model group and CM group both significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with that before medication, at the 17th day, the rectal temperature of the rat in CM group appeared significantly increased after medication at the 31st day ($P < 0.05$). After experiment, compared with the normal group, the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ enzyme activity of the liver, heart, kidney and small intestine of the rats in the model group were all significantly declined ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ enzyme activity of the heart, kidney, spleen and small intestine of the rats in the CM group were significantly increased ($P < 0.01$). Conclusion: The energy metabolism level of different organs of Yang deficiency model rats were all significantly decreased. Fuzi Banxia tang water decoction can significantly increase the energy metabolism level of the heart, kidney, spleen, and small intestine of Yang deficiency rats.

[收稿日期] 2016-08-16

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81503515); 广东省自然科学基金资助项目 (2015A030310255); 中国博士后科学基金资助项目 (2015M572295); 广东省财政厅项目 (2013KT1498)

[作者简介] 滕培颖 (1990-), 女, 在读博士研究生, 研究方向: 中医学治未病。

[通讯作者] 杨志敏, E-mail: yangyo@163.net。

Keywords: Fuzi Banxia tang; Energy metabolism; Na⁺-K⁺-ATP enzyme activity; Yang deficiency model; Rats; Animal experiment

阳虚证是指体内阳气亏虚或不足,以畏寒肢冷为主要表现的虚寒证候,是中医临床常见证候之一,涉及到包括心血管系统、消化系统、呼吸系统、泌尿系统等多方面的疾病。阳虚证和机体的能量代谢关系密不可分,热性中药或温热类方剂通过影响能量代谢的某些环节,一定程度上改善机体的阳虚状态。既往对阳虚证和能量代谢关系的研究多集中在对阳虚机体肝脏或骨骼肌、红细胞的能量代谢水平的研究上,未见系统地对比阳虚证的各个脏器组织能量代谢水平进行研究^[1]。本实验拟对心、肝、脾、肾、小肠各脏器组织进行Na⁺-K⁺-ATP酶活力的测定,以研究阳虚模型大鼠不同脏器能量代谢水平和附子半夏汤对阳虚大鼠不同脏器能量代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级健康成年SD大鼠30只,雄性,体质量为180~220g,由广东省实验动物中心提供,实验动物合格证号:44007200020503,于广东省中医药科学院实验动物中心内进行实验,实验动物使用许可证号:00112267。常规分笼饲养,自由饮水进食,室内温度控制在21~24℃,空气流通。动物实验通过广东省中医药科学院动物伦理委员会审批。

1.2 仪器及设备 VICTORX5酶标仪,V-700旋转蒸发仪,回流提取装置,B600A低速离心机,体重秤,体温计。

1.3 药物与试剂 氢化可的松注射液,购自天津金耀药业有限公司;大黄(批号:150401441),生附子(批号:YPA5E0001),生半夏(批号:YPA5G0001),陈皮(批号:150405681),以上药物均由广东省中医院门诊药房提供;生姜,购自菜市场,由广东省中医院门诊药房鉴定。超微量Na⁺-K⁺-ATP酶测定试剂盒,购自南京建成生物有限公司(生产批号:20150611)。

1.4 中药水煎液的制备 大黄水煎液:取2kg大黄用8倍剂量的沸水浸泡10min,6层纱布过滤,滤液浓缩到2g/mL。附子半夏汤水煎液:取生附子、生姜各100g,生半夏、陈皮各200g(生附子:生姜:生半夏:陈皮=1:1:2:2),将药物先用纯水浸泡0.5h,后置于回流装置中,待水沸腾后提取1.5h,后以6层纱布过滤药渣,滤液浓缩成含生药1.8g/mL的附子半夏汤水煎液。

1.5 动物造模、分组与给药 30只SD大鼠适应性饲养1周后,随机分为3组,每组10只,分别为正常组、模型组、中药组,称重标记。除正常组外,模型组和中药组每天上午于大鼠臀部肌肉丰厚处按0.25mL/100g体质量给予肌注氢化可的松注射液,左、右臀部隔天交替注射。并按1mL/100g体质量的剂量灌胃大黄水煎液,连续17天。第18天开始,在维

持原造模给药不变的基础上,于每天上午给予中药组灌胃1mL/100g的附子半夏汤煎剂,每天1次,连续2周。

1.6 观察指标和测定方法 末次给药后禁食不禁水1晚,第2天以10%的水合氯醛(0.35mL/100g)进行腹腔麻醉后取大鼠心、肝、脾、肾、小肠组织,-80℃下保存备用,用于测定各组织Na⁺-K⁺-ATP酶活力。Na⁺-K⁺-ATP酶活性的测定:取出上述各脏器组织,用生理盐水洗净,各脏器分别取相同部位组织0.1g左右,精确称重后置于匀浆器中,按1:9的比例加生理盐水于冰上进行组织匀浆,之后将组织匀浆液置冷冻离心机,以4℃,2500r/min离心10min;取上清液,再用生理盐水稀释为0.5%的组织匀浆,然后严格按照试剂盒说明书进行Na⁺-K⁺-ATP酶活性的测定,BCA法测定组织蛋白含量。肛温测定方法:早9点开始测量,将涂有凡士林的体温计插入大鼠直肠约3cm,保持2~3min,待体温计读数稳定后读取数值。

1.7 统计学方法 实验数据用SPSS20.0软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量动态变化比较 见表1。造模第17天时,模型组和中药组大鼠出现体毛枯疏无泽、活动减少、精神不振、爪甲冰凉、体质量增长迟缓、肛温下降等表现。与正常组比较,模型组和中药组大鼠第17天和第31天体质量较低,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

组别	第1天体质量	第17天体质量	第31天体质量
正常组	211.00±4.15	289.67±14.85	363.83±15.87
模型组	209.00±6.32	264.83±6.59 ^①	325.17±25.18 ^①
中药组	208.17±11.16	257.00±7.04 ^①	332.67±21.10 ^②

与正常组比较(同一时间点),^① $P < 0.01$,^② $P < 0.05$

2.2 各组大鼠肛温的动态变化比较 见表2。造模第17天时,与正常组比较,模型组和中药组肛温均显著性下降,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与给药前比较(即第17天),中药组给药后(即第31天)肛温出现显著性上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠各脏器Na⁺-K⁺-ATP酶活性比较 见表3。与正常组比较,模型组的肝脏、心脏、肾脏、小肠的Na⁺-K⁺-ATP酶活性均显著性下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,中药组的肝脏、肾脏、脾脏、小肠的Na⁺-K⁺-ATP酶活性增高,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

表2 各组大鼠肛温的动态变化比较($\bar{x} \pm s$) °C

组别	第1天肛温	第17天肛温	第31天肛温
正常组	39.00±0.26	38.98±0.33	38.80±0.53
模型组	38.70±0.30	38.07±0.22 ^①	38.20±0.35
中药组	38.85±0.16	38.10±0.33 ^①	38.58±0.40 ^②

与正常组比较(同一时间点),^① $P < 0.01$;与同组前一个时间点比较,^② $P < 0.05$

表3 各组大鼠各脏器 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性比较($\bar{x} \pm s$) nmol/g

组别	肝脏	心脏	肾脏	脾脏	小肠
正常组	22.65±1.95	16.17±2.29	19.36±3.96	7.22±0.94	9.69±1.98
模型组	12.54±1.47 ^①	9.68±1.97 ^②	10.33±1.30 ^②	6.09±0.38	4.75±0.61 ^①
中药组	14.55±1.40	20.30±3.05 ^③	20.50±1.94 ^③	9.86±1.42 ^③	7.12±0.64 ^③

与正常组比较,^① $P < 0.01$,^② $P < 0.05$;与模型组比较,^③ $P < 0.01$

3 讨论

阳虚证是中医临床常见证候之一,在临床上阳虚证多携痰饮并见,阳气不足,温煦失职,津液不化;或脾阳虚损,运化无权,水湿内停,则可凝聚成痰;或肾阳不足,开阖不利,水湿上泛,聚而为痰等,而附子半夏汤即是针对阳虚夹杂痰饮所用的方剂。附子半夏汤出自《扁鹊心书》,原主治胃虚冷痰上攻、头目眩晕、眼昏呕吐等症,原方成分为附子、半夏、生姜、陈皮。该方以附子为君,辛温大热,大补命门真火,温肾阳,性走而不守;半夏辛温,散湿化痰,消痞散结;生姜发表散寒,可除湿豁痰;陈皮气辛味苦,性温,芳香理气燥湿,导痰消滞;全方共奏温肾运脾、燥湿豁痰、宣郁散结之功。沈士荫用附子半夏汤加味治疗脾阳虚和肾阳虚泄泻30例,获效甚佳,未见不良反应^[2]。临床上常将附子半夏汤与其他药物组成大方以治疗阳虚杂痰饮的疾病,收到良好的效果。

本实验用氢化可的松诱导肾阳虚加上寒性药物大黄诱导脾阳虚复制大鼠脾肾阳虚模型^[3]。氢化可的松诱导的肾阳虚模型为目前较为常用的方法,通过对下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴产生抑制,导致对外界环境变化的应激、适应能力显著下降,出现一系列的阳虚表现^[4]。大黄是常用来诱导脾阳虚的药物,利用药物的大寒之性造成机体的阳虚状态。造模第17天时观察,同正常组大鼠比较,模型组和中药组大鼠表现出明显的一般活动减少、毛发枯疏、精神萎靡、反应迟钝、爪甲冰凉等,且出现体质量增长缓慢,肛温下降等表现,符合文献上对肾阳虚证大鼠症状的描述,且模型组大鼠肾脏组织的Na⁺-K⁺-ATP酶活性可见显著降低,提示肾阳虚造模成功。给与治疗药附子半夏汤后,中药组大鼠的精神状态较前改善,爪甲冰凉现象较前缓解,又以方测证地反应了模型动物确实为阳虚证。然而模型组大鼠未出现泄泻或便秘等脾阳虚的表现,模型组大鼠脾脏组织的Na⁺-K⁺-ATP酶活性亦未见显著降低,表明本实验所

用阳虚造模方法未造成明显的脾阳虚,可能因为造模剂量不够或造模时间的问题,下一步计划对该造模方法进行改良。

现代研究表明,阳虚证和机体的能量代谢有密切关系^[5-6],阳虚证的症状表现类似于现代医学理论中的基础代谢率及能量代谢水平下降而导致的产热不足的表现^[7]。因此,了解阳虚证患者的能量代谢水平和Na⁺-K⁺-ATP酶的改变特征,对于阐释阳虚证的本质具有重要的意义。Na⁺-K⁺-ATP酶是基础代谢下产热最主要的酶,是衡量能量代谢水平的重要指标,Na⁺-K⁺-ATP酶是通过消耗ATP来维持膜两侧离子浓度的,酶活性的升高伴随有ATP消耗增加,体内能量消耗和产热过程也越强,反之则越低。本实验除脾脏外,模型组大鼠肝、心、肾、小肠组织的Na⁺-K⁺-ATP酶活性均较正常组显著降低,提示阳虚模型大鼠的肝、心、肾、小肠组织的能量代谢水平均较正常组下降。在中医的整体观念中,阳虚证的虚寒表现是各个不同脏腑机能的整体下降所导致的,在本实验中表现为各脏腑Na⁺-K⁺-ATP酶活性的下降。给予治疗药附子半夏汤一段时间后,中药组大鼠的心、脾、肾、小肠组织的Na⁺-K⁺-ATP酶活性均较模型组显著性升高,提示附子半夏汤的干预能使阳虚模型大鼠心、脾、肾、小肠组织的Na⁺-K⁺-ATP酶活力增加,提高能量代谢水平,从而提高各脏腑的整体机能,纠正模型动物的阳虚状态。其中,中药组心脏的Na⁺-K⁺-ATP酶活性提高尤为显著,一定程度上说明了药物对心脏的显著作用。

【参考文献】

- [1] 潘承政, 韦袞政. Na⁺-K⁺-ATP酶活性与阳虚证的内在联系探讨[J]. 环球中医药, 2013, 6(11): 851-853.
- [2] 沈士荫. 附子半夏汤治疗脾肾阳虚泄泻30例[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(7): 439.
- [3] 郭煜晖, 周安方, 陈涛, 等. 复合因素法建立肾脾阳虚大鼠模型的实验观察[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(8): 2042-2043.
- [4] 邵命海, 肖静, 王毅兴, 等. 从“肾主生殖”角度评价腺嘌呤与氢化可的松诱导的肾阳虚模型[J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(2): 57-58.
- [5] 高娜. 附子对虚寒证大鼠能量代谢影响及机制的初步研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2011: 1-59.
- [6] 于华芸, 季旭明, 吴智春, 等. 附子对大鼠能量代谢及相关基因表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(18): 2535-2538.
- [7] 陆明, 高峰, 丁维俊, 等. 虚寒证肢冷的能量代谢紊乱之机理探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34(8): 1065-1066.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)