

肾茶总黄酮对大鼠慢性非细菌性前列腺炎的影响

甘典辉, 唐爱存, 伍小燕*, 李峰

(广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023)

[摘要] 目的: 研究肾茶总黄酮(TFC)对大鼠慢性非细菌性前列腺炎的治疗作用及机制。方法: 将成年雄性 SD 大鼠随机分成 6 组, 每组 10 只, 即正常对照组、模型组、塞来昔布组(阳性组 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、肾茶总黄酮低、中、高剂量组($100, 200, 400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 除正常组外, 大鼠去势后, 皮下注射苯甲酸雌二醇 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 建立大鼠慢性非细菌性前列腺炎模型, 空白组和模型组给予等量生理盐水, 灌胃, 1 次/d, 连续给药 30 d 后, 观察肾茶总黄酮对大鼠前列腺液中白细胞数(WBC)、卵磷脂小体密度、前列腺指数的影响, 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)法检测大鼠血清和前列腺组织匀浆内肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-8(IL-8)的表达。结果: 肾茶总黄酮组能降低前列腺炎大鼠前列腺液中白细胞数和前列腺指数, 增加卵磷脂小体密度($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 并能降低大鼠血清和前列腺组织匀浆 TNF- α , IL-8 水平。结论: 肾茶总黄酮对大鼠慢性非细菌性前列腺炎有明显的治疗作用, 其机制可能与降低 TNF- α , IL-8 的水平有关。

[关键词] 肾茶总黄酮; 慢性非细菌性前列腺炎; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-8

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0266-03

[doi] 10.11653/syfy2013080266

Effect of Total Flavonoids of *Clerodendranthus spicatus* on Chronic Abacterial Prostatitis in Rats

GAN Dian-hui, TANG Ai-cun, WU Xiao-yan*, LI Feng

(The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medical, Nanning 530023, China)

[Abstract] **Objective:** To study the therapeutic action and mechanism of total flavonoids of *Clerodendranthus spicatus* (TFC) on rats models of chronic abacterial prostatitis. **Method:** Sixty healthy adult male SD rats were randomly divided into six groups, 10 rats in each group: blank control group, model group, positive control group ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), TFC low-dose, middle-dose and high-dose group ($100, 200, 400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), respectively. Except for normal group, the rats models of Chronic abacterial prostatitis were builded by subcutaneous injection of oestradiol monobenzoate at the dose of $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ after castration, and then treated with TFC at $100, 200, 400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ by oral administration while blank and model group were given normal saline, once a day for 30 days. White blood cell (WBC) count, lecithin corpuscle density and prostate index in prostatic fluid were examined, and the expressions of tumor necrosis factor (TNF- α) and interleukin-8 (IL-8) in the serum and prostate tissues of the rats were detected by ELISA. **Result:** Compared with model group, WBC count and prostate index were reduced and lecithin corpuscle density were increased in prostatic fluid by TFC, which showed significant statistical differences ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and the levels of TNF- α and IL-8 in the serum and prostate tissues of the rats were reduced. **Conclusion:** TFC has therapeutic effects on chronic abacterial prostatitis in rats models, and the mechanism may be related to decreasing the levels of TNF- α and IL-8 in the serum and prostate tissues.

[Key words] total flavonoids of *Clerodendranthus spicatus* (TFC); chronic abacterial prostatitis; TNF- α ; IL-8

[收稿日期] 20120820(011)

[第一作者] 甘典辉, 主管中药师, 从事药理学和药物制剂工作, Tel: 0771-5848763, E-mail: gandianhui@163.com

[通讯作者] * 伍小燕, 主任中药师, 从事中药药理学研究, Tel: 0771-5848631, E-mail: yxbwxy@163.com

肾茶又名猫须草,味苦、凉,功能清热利尿、排石、用于治疗急、慢性肾炎,膀胱炎,尿路结石及由结石引起的尿频、腰痛等症、胆结石、风湿性关节炎等^[1]。主要分布于福建、台湾、海南、广西、广东和云南各省。研究表明肾茶治疗泌尿系统疾病有较好的效果^[2],对糖尿病大鼠肾脏有保护作用,保护机制与改善氧化应激、抗炎及抑制系膜细胞增生有关^[3]。本文探讨肾茶总黄酮(TFC)对大鼠慢性非细菌性前列腺炎的影响,为进一步研究开发肾茶提供实验依据。

1 材料

1.1 药品和试剂 肾茶购自广西中医药大学第一附属医院,经广西中医药大学田辉副教授鉴定为唇形科植物猫须草 *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. T. Wu,肾茶总黄酮(TFC)采用最佳提取工艺提取^[4],肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-8(IL-8)ELISA 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,批号分别为 20120116,20120321。苯甲酸雌二醇,上海沪宇生物科技有限公司,批号 100006-200504,塞来昔布胶囊,大连辉瑞制药有限公司,批号 1200301。

1.2 动物 SD 大鼠,雄性,清洁级,购自广西医科大学实验动物中心,许可证 SCXKG(桂)2003-0003。

1.3 仪器 722S-型可见光分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),TDL-5-型台式低速大容量离心机(上海安亭科学仪器厂),BP190S-型电子分析天平(德国 Startorius 公司),XD-101-型倒置显微镜(南京江南光电集团股份有限公司),Model 450-型自动酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 动物模型建立^[5] 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛进行麻醉,无菌条件下进行去势手术,然后全层缝合,消毒包扎。行去势手术的大鼠于第 3 天每日背部皮下注射苯甲酸雌二醇(0.25 mg·kg⁻¹),连续 30 d,造模后每组抽取 2 只大鼠进行病理学检查,结果表明慢性非细菌性前列腺炎的模型成功。

2.2 分组及给药 将造模成功的 SD 大鼠随机分成 5 组,每组 10 只,即模型组,塞来昔布组(阳性组 250 mg·kg⁻¹),肾茶总黄酮低、中、高剂量组(100, 200,400 mg·kg⁻¹),另外设空白对照组 10 只,给药组灌胃相应剂量药物,1 次/d,连续 30 d,空白组和模型组给予等量生理盐水。

2.3 指标检测 末次给药后 1 h,大鼠摘眼球取血,分离血清,断头处死大鼠,取下腹正中切口,迅速解

剖,取出前列腺组织,按摩前列腺,取 10 μ L 前列腺液于显微镜下计数白细胞,另取 10 μ L 前列腺液涂片,于显微镜下观察卵磷脂小体密度,按临床检验标准分为 4 级(满视野为 4 级,3/4 视野为 3 级,1/2 视野为 2 级,1/4 视野为 1 级)^[6-7]。电子分析天平称重前列腺,计数前列腺指数(mg·g⁻¹),ELISA 法检测大鼠血清和前列腺组织匀浆内 TNF- α , IL-8 的表达。

2.4 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理,计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组均数比较采用方差分析,组间比较采用 *t* 检验,计数资料采用秩和检验,*P* < 0.05 为有统计意义。

3 结果

3.1 对大鼠前列腺液中白细胞数和前列腺指数的影响 与空白对照组比较,模型组白细胞数和前列腺指数显著提高(*P* < 0.01);各给药组与模型组比较,都能显著降低大鼠前列腺液中白细胞数和前列腺指数(*P* < 0.01 或 *P* < 0.05),结果表明肾茶总黄酮能降低前列腺炎大鼠前列腺液中白细胞数和前列腺指数。见表 1。

表 1 肾茶总黄酮对大鼠前列腺液中白细胞数和前列腺指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	白细胞数 /×10 ⁶ /mL	前列腺指数 /mg·g ⁻¹
空白对照	-	2.06 ± 0.25	0.76 ± 0.08
模型	-	8.01 ± 0.92 ²⁾	1.38 ± 0.12 ²⁾
TFC	400	4.03 ± 0.50 ⁴⁾	0.89 ± 0.08 ⁴⁾
	200	5.74 ± 0.74 ⁴⁾	0.99 ± 0.07 ⁴⁾
	100	6.39 ± 0.88 ³⁾	1.08 ± 0.11 ³⁾
塞来昔布	250	3.58 ± 0.41 ⁴⁾	0.91 ± 0.09 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ *P* < 0.05,²⁾ *P* < 0.01;与模型组比较³⁾ *P* < 0.05,⁴⁾ *P* < 0.01(表 2~3 同)。

3.2 对卵磷脂小体密度的影响 模型组大鼠的卵磷脂小体密度显著高于空白组,(*P* < 0.01),表明非细菌性前列腺炎模型复制成功,与模型组比较,肾茶总黄酮各剂量组能显著提高卵磷脂小体密度(*P* < 0.01 或 *P* < 0.05)。见表 2。

表 2 肾茶总黄酮对大鼠卵磷脂小体密度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	卵磷脂小体密度			
		1 级	2 级	3 级	4 级
空白对照	-	0	0	6	4
模型	-	7	3	0	0 ²⁾
TFC	400	0	2	5	3 ⁴⁾
	200	1	2	4	3 ³⁾
	100	2	2	4	2 ³⁾
塞来昔布	250	0	3	5	2 ⁴⁾

3.3 对大鼠血清和前列腺组织匀浆内 TNF- α , IL-8 表达的影响 与空白组比较,模型组血清和前列腺组织中 TNF- α , IL-8 表达显著升高,表明非细菌性前列腺炎模型复制成功。与模型组比较,肾茶总黄酮

高、中剂量组能显著降低大鼠血清和前列腺组织匀浆内 TNF- α 和 IL-8 表达,但低剂量组对大鼠血清和前列腺组织匀浆内 TNF- α 表达无明显影响。见表 3。

表 3 肾茶总黄酮对大鼠血清和前列腺组织匀浆内 TNF- α , IL-8 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

ng·L⁻¹

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	血清		组织	
		TNF- α	IL-8	TNF- α	IL-8
空白对照	-	36.52 \pm 4.66	6.71 \pm 0.55	22.38 \pm 2.08	30.05 \pm 3.56
模型	-	106.42 \pm 11.47 ²⁾	19.64 \pm 2.39 ²⁾	70.04 \pm 9.13 ²⁾	113.72 \pm 15.23 ²⁾
TFC	400	50.29 \pm 5.84 ⁴⁾	7.75 \pm 0.82 ⁴⁾	36.37 \pm 3.29 ⁴⁾	58.39 \pm 7.21 ⁴⁾
	200	66.51 \pm 7.02 ⁴⁾	10.26 \pm 1.15 ⁴⁾	50.08 \pm 7.15 ⁴⁾	70.46 \pm 8.35 ⁴⁾
	100	90.07 \pm 11.08	12.08 \pm 1.09 ³⁾	62.61 \pm 6.54	88.91 \pm 9.74 ³⁾
塞来昔布	250	44.86 \pm 3.99 ⁴⁾	7.06 \pm 0.71 ⁴⁾	30.21 \pm 3.82 ⁴⁾	56.27 \pm 6.04 ⁴⁾

4 讨论

慢性非细菌性前列腺炎 (CAP) 是最常见的 1 种前列腺疾病,该病主要发生于中青年男性人群,表现为尿频、尿急、尿痛、排尿不尽、排尿困难等排尿异常症状,会阴部、下腹部、阴茎阴囊、腰骶部等部位不适或疼痛等有各种独特形式的综合征。目前研究表明大鼠体内类固醇激素水平的变化是引起 CAP 的一个重要因素,本实验参考文献运用诱导去势大鼠和注射激素的方法成功建立了慢性非细菌性前列腺炎模型^[5]。

CAP 的发病机制十分复杂,目前大多数学者认为免疫因素在 CAP 的发生发展中有着非常重要的作用^[8],细胞因子是由一类免疫细胞和相关细胞经刺激而产生具有调节功能的高活性多功能蛋白质多肽,在免疫应答调节机制中最重要的影响因素。研究表明^[9-10] TNF- α 和 IL-8 是一种促炎症性细胞因子, TNF- α 可活化单核细胞和巨噬细胞,提高其杀伤活性,释放超氧和 NO,也可刺激内皮细胞表达 MHC-I 类抗原,促进中性粒细胞的黏附作用,诱导血管内皮细胞产生炎症介质,引起局部的炎症反应。IL-8 帮助募集中性粒细胞和单核细胞进入炎症部位和调节白细胞黏附分子的表达,导致前列腺组织局部的中性粒细胞增多并进一步引起组织炎症和损伤。

本研究,结果表明,肾茶总黄酮能降低前列腺炎大鼠前列腺液中白细胞数和前列腺指数,能显著提高卵磷脂小体密度,能显著降低大鼠血清和前列腺组织匀浆内 TNF- α 和 IL-8 表达,表明其对前列腺炎大鼠免疫细胞因子有调节作用,肾茶总黄酮对 CAP 大鼠的治疗作用,可能与其调节机体异常增强的免

疫功能、调控细胞因子的产生及作用有关,本研究为进一步开发应用肾茶提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会·中华本草 [M]. 4 册. 上海:上海科学技术出版社,2000:3081.

[2] Ararat O M, Tham S Y, Sadikun A, et al. Studies on diuretic and hypouricemic effects of Orthosiphon stamineus methanol extracts in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 118(3):354.

[3] 刘广建,黄荣桂,郑兴中,等. 肾茶对糖尿病大鼠肾脏的保护作用及其机制研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2007,8(1):32.

[4] 汤须崇,叶静,徐伟,等. 猫须草总黄酮的超声提取工艺[J]. 食品与发酵工艺,2011,37(11):229.

[5] 魏武然,张唯力,戴君勇. 大鼠慢性非细菌性前列腺炎模型的建立[J]. 中国男科学杂志,2006,20(1):22.

[6] 马骏,任远,金辉,等. 前列舒宁治疗前列腺炎作用的研究[J]. 中药药理与临床,2002,18(2):31.

[7] 孙继红,胡梅,巫凤娟,等. 花川保列颗粒对大鼠非细菌性前列腺炎模型的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(4):135.

[8] Jang T L, Schaeffer A J. The role of cytokines in prostatitis[J]. World J Urol,2003, 21(2):95.

[9] 李晓红,齐云,蔡润兰,等. 甘草总皂苷抗炎作用机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):110.

[10] 陈爱民,刘永芬,熊雯雯,等. 芪仙汤对溃疡性结肠炎患者血清 TNF- α , IL-8 的影响及疗效观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):255.

[责任编辑 李玉洁]