

胃肠安丸对复合性腹泻大鼠小肠消化酶和胃肠激素的调节作用

胡 瑞, 唐 方*

天津医科大学总医院 中医科, 天津 300052

摘 要: **目的** 研究胃肠安丸对番泻叶联合束缚应激所致复合性腹泻大鼠小肠消化酶和胃肠激素的调节作用。**方法** 40 只 Wistar 大鼠随机分成对照组、模型组和胃肠安丸高、中、低剂量组, 每组 8 只。对照组未做任何处理, 其余各组采用 ig 番泻叶水煎剂联合肢体束缚应激的方法制备腹泻动物模型, 连续 4 d。在造模同时, 模型组大鼠 ig 蒸馏水, 胃肠安丸高、中、低剂量组分别 ig 胃肠安丸混悬液 3.2、2.4、1.6 mg/mL (给药剂量分别为 80、60、40 mg/kg), 每天给药 1 次, 连续 4 d。给药期间每日观察大鼠粪便性状; 实验结束计算动物免疫器官脏器指数, 比色法检测小肠黏膜乳酸脱氢酶 (LDH)、苹果酸脱氢酶 (MDH) 和乳糖酶活性, 放免法检测结肠组织血管活性肽 (VIP)、P 物质 (SP) 水平。**结果** 模型组大鼠 100% 出现腹泻, 胸腺和脾脏指数、小肠酶活性显著下降, VIP、SP 水平显著升高, 与对照组相比具有统计学差异。胃肠安丸中剂量可降低大鼠腹泻指数, 改善模型大鼠的胸腺和脾脏指数, 提高小肠酶活性, 调节 VIP 和 SP 水平, 与模型组比较具有显著差异。**结论** 胃肠安丸可通过提高小肠酶活性、调控紊乱的胃肠激素水平, 达到治疗腹泻的目的。

关键词: 胃肠安丸; 腹泻; 乳酸脱氢酶; 苹果酸脱氢酶; 乳糖酶; 血管活性肽; P 物质

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)11-2292-04

Regulation of Weichang'an Pill on intestinal digestive enzymes and gastrointestinal hormone levels in compound diarrhea rats

HU Rui, TANG Fang

Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Key words: Weichang'an Pill; diarrhea; lactate dehydrogenase (LDH); malate dehydrogenase (MDH); disaccharidase; vasoactive intestinal peptide (VIP); substance P (SP)

腹泻是最常见的胃肠疾病之一, 从病因上可分为感染性和非感染性腹泻两大类, 前者可由细菌或病毒等感染引起, 后者主要是饮食因素和气候因素所致; 依其病程, 又可分为急性腹泻和慢性腹泻, 后者的发生可与情绪相关, 在不良情绪导致消化吸收障碍的同时, 还易造成患者心理障碍, 使病情进一步加重。

胃肠安丸由木香、麝香、檀香、沉香、朱砂、川朴、枳壳、大黄、巴豆霜、川芎、大枣等 11 味中药组成, 是消化系统疾病临床常用药。研究表明, 胃肠安丸能改善胃肠功能、解痉、止泻, 对大肠杆菌、痢疾杆菌等多种肠道致病菌有抑菌作用; 临床应用显示, 其不仅可用于感染性腹泻, 而且对与情

绪相关的肝脾不调所致腹泻亦有治疗作用^[1-2]。本实验以 ig 番泻叶联合肢体束缚应激的方法制备复合性腹泻动物模型, 通过检测小肠黏膜消化酶、结肠组织血管活性肽 (VIP) 和 P 物质 (SP) 的变化, 探讨胃肠安丸的作用机制, 为其开发应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

清洁级 Wistar 大鼠, 体质量 (170±10) g, 雌性, 购自军事医学科学院, 使用许可证号 SCXK-(军) 2002-001。

1.2 药品与试剂

胃肠安丸, 由天津中新药业集团股份有限公司

收稿日期: 2011-03-03

基金项目: 天津市科技创新专项基金项目 (06FZZDSH00405)

作者简介: 胡 瑞 (1970—), 女, 天津人, 副主任医师, 医学硕士, 主要从事消化系统、心血管系统疾病医疗、教学及科研工作。

Tel: 15922203232 E-mail: hur0219@126.com

*通讯作者 唐 方 E-mail: zhongyi3599@sina.com

乐仁堂制药厂提供,批号 20070324。乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、乳糖酶、考马斯亮蓝蛋白试剂盒,南京建成生物工程研究所生产;VIP、SP 放免试剂盒,北京普尔伟业生物技术有限公司生产。番泻叶购自天津医科大学总医院中药房,由亳州市中药饮片厂质检科鉴定,批号 101101。

1.3 主要仪器

TU—1810PC 型紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;放射免疫 γ 计数器,中国科大创新股份有限公司中佳分公司。

2 方法

2.1 模型制备

参照文献记载的束缚应激与 ig 番泻叶相结合的方法^[3],略做改进。束缚应激:为避免肢体束缚强度不一致导致应激强度不同,使用预先筛选的拉力强度相同的橡皮筋,缠绕大鼠四肢末端,并固定于 18 cm×25 cm 木板上,直立放置,每日 1 次,每次 2 h。于解除束缚后 1 h ig 给予 20%番泻叶水煎剂 10 mL/kg (取番泻叶加水煮沸,滤过,滤液浓缩成生药 0.2 mg/mL,即 20%番泻叶水煎剂^[4]),每日 1 次,连续造模 4 d。

2.2 分组与给药

大鼠随机分为对照组,模型组,胃肠安丸高、中、低剂量组,共 5 组,每组 8 只。除对照组外,各组按“2.1”项下方法造模,在造模同时,胃肠安丸高、中、低剂量组分别 ig 胃肠安丸 80、60、40 mg/kg (用高压灭菌蒸馏水将其制成 3.2、2.4、1.6 mg/mL 混悬液),每天 1 次;模型组及对照组 ig 2 mL 蒸馏水。动物以干养式实验笼单笼饲养,笼底铺垫滤纸。

2.3 指标检测

2.3.1 腹泻判断标准、腹泻率和腹泻指数计算 每日观察大鼠粪便性状,以滤纸上有无污迹作为稀便、干便的区分标准。稀便率:每只动物所排的稀便数与总便数之比。粪便次数:以每粒或每堆(不能分清粒数者)为 1 次。稀便级:表示每只动物稀便的程度,根据稀便污染滤纸所形成污迹的直径分为 4 级,1 级<1 cm,2 级为 1~2 cm,3 级为 2~3 cm,4 级>3 cm (稀便直径的测量:圆形者测其直径;椭圆形或不规则形状测其最长和近似圆的直径,两数相加除以 2)。计算腹泻率和腹泻指数。

平均稀便级=稀便级数总和/稀便次数

腹泻率=腹泻动物数/本组动物总数

腹泻指数=稀便率×平均稀便级^[2]

2.3.2 免疫器官脏器指数计算 实验结束,处死动物,称体质量;摘取胸腺、脾脏,称质量,计算脏器指数。

2.3.3 小肠黏膜 LDH、MDH 和乳糖酶活性的测定 实验结束,处死动物,剖开腹腔,摘取距幽门口 10 cm 处小肠组织 15 cm,纵向剪开,0 ℃生理盐水冲洗,滤纸吸干水分,刮取黏膜组织,在 0 ℃条件下分别制备 0.2%、0.5%、10%黏膜组织匀浆,按试剂盒说明操作,分别在 440、340、505 nm 处测定吸光度(A)值,同时用考马斯亮蓝法测定组织匀浆蛋白水平,计算 LDH、MDL 和乳糖酶活性。

2.3.4 结肠组织 VIP、SP 水平测定 处死动物,剖开腹腔,摘取距回盲部 2 cm 处结肠组织 100 mg,纵向剖开,0 ℃生理盐水冲洗,滤纸吸干水分,加入 1 mL 生理盐水制成 10%组织匀浆,-70 ℃保存。放射免疫法检测 VIP、SP 的量,具体操作步骤按试剂盒说明书进行。

2.4 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件处理,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间样本均数比较采用双侧 t 检验,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,方差齐性检验采用 Leven 法;计数资料显著性比较采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 对腹泻率和腹泻指数的影响

模型组大鼠于 ig 番泻叶水煎剂后均排出稀软便,粪便呈棕褐色,形状不规则,夹有黏液,腹泻率为 100%。对照组大鼠粪便呈干燥、颗粒状,滤纸无污迹,腹泻率为 0。胃肠安丸各剂量组腹泻指数始终低于模型组,中剂量作用尤为明显,并于第 3、4 天与模型组比较差异显著 ($P<0.05$ 、 0.01)。结果见表 1。

表 1 胃肠安丸对腹泻大鼠腹泻指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of Weichang'an Pill on diarrhea indexes of diarrhea rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	腹泻指数			
		1 d	2 d	3 d	4 d
对照	—	0	0	0	0
模型	—	1.58±0.13	1.56±0.09	1.57±0.17	1.55±0.16
胃肠安丸	80	1.52±0.18	1.48±0.13	1.48±0.15	1.42±0.08
	60	1.44±0.15	1.43±0.14	1.40±0.11*	1.37±0.16**
	40	1.54±0.21	1.52±0.15	1.51±0.15	1.47±0.10

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

3.2 对免疫器官脏器指数的影响

与对照组比较, 模型组大鼠脾脏和胸腺指数显著降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$ 、 0.01)。胃肠安丸可不同程度地减缓免疫脏器的萎缩, 中剂量的作用尤为明显, 与模型组比较差异显著 ($P<0.05$)。结果见表 2。

3.3 对小肠黏膜消化酶活性的影响

与对照组比较, 模型组大鼠消化酶活性显著减弱 ($P<0.01$)。与模型组比较, 胃肠安丸高剂量对 LDH、MDH 活性有增强趋势, 还可显著增强乳糖酶活性 ($P<0.05$); 中剂量可有效增强 LDH、MDH 和乳糖酶活性 ($P<0.01$ 、 0.05 、 0.01); 而低剂量组与模型组间无统计学差异。结果见表 3。

表 2 胃肠安丸对腹泻大鼠免疫器官脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of Weichang'an Pill on immune organ index of diarrhea rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组 别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	脾脏指数/ (mg·g ⁻¹)	胸腺指数/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	3.45±0.64	1.96±0.52
模型	—	2.88±0.44 [▲]	1.26±0.41 ^{▲▲}
胃肠安丸	80	3.13±0.18	1.66±0.43
	60	3.43±0.37 [*]	1.76±0.49 [*]
	40	3.23±0.72	1.47±0.35

与对照组比较: [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$
[▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ vs model group

表 3 胃肠安丸对腹泻大鼠肠黏膜消化酶活性和胃肠激素水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of Weichang'an Pill on activities of intestinal mucous membrane digestive enzymes and levels gastrointestinal hormone levels in diarrhea rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组 别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	LDH/(U·mg ⁻¹)	MDH/(U·mg ⁻¹)	乳糖酶/(U·mg ⁻¹)	VIP/(ng·g ⁻¹)	SP/(ng·g ⁻¹)
对照	—	2.79±0.34	4.47±1.09	95.62±11.36	79.44±17.68	3.39±0.46
模型	—	2.34±0.28 ^{▲▲}	3.24±0.69 ^{▲▲}	67.81± 8.58 ^{▲▲}	109.17±15.74 ^{▲▲}	4.85±1.41 ^{▲▲}
胃肠安丸	80	2.55±0.16	4.03±0.96	84.39±22.16 [*]	88.68±20.32 [*]	3.88±1.11
	60	2.78±0.25 ^{**}	4.28±0.83 [*]	92.29± 9.85 ^{**}	80.31±16.71 ^{**}	3.53±0.86 [*]
	40	2.39±0.26	3.80±0.72	78.85±14.81	97.63±14.82	4.61±1.03

与对照组比较: ^{▲▲} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$
^{▲▲} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

3.4 对结肠组织 VIP、SP 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠结肠组织中 VIP、SP 水平显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 胃肠安丸高剂量可显著降低 VIP 的量 ($P<0.05$), 中剂量则使二者均明显改善 ($P<0.01$ 、 0.05), 而低剂量组与模型组比较未见显著差异。结果见表 3。

4 讨论

中医学认为泄泻的发生可因感受寒湿、暑湿、湿热等外邪引发, 或由饮食不节、食积停滞诱发, 或因忧思恼怒、情志失调所致, 亦可因久病体虚、年老体衰导致。番泻叶因含蒽醌苷, 可提高结肠张力, 抑制大肠对水和电解质的吸收, 使水分滞留肠腔, 增加大肠推进性蠕动, 引发腹泻^[5]。精神应激是神经体液调节的一种复杂反应, 可导致胃肠功能失调, 从而引发排便异常^[6]。本实验采用番泻叶致泻与束缚应激相结合的方法, 模拟制备肝脾不调所致复合型腹泻动物模型, 以探讨胃肠安丸的止泻机制。结果表明, 胃肠安丸可有效降低复合性腹泻动物的腹泻指数, 证明其具有止泻作用。

胸腺与脾脏为体内主要免疫器官。本实验结果表明, 复合性腹泻可导致大鼠免疫器官萎缩, 给予不同剂量的胃肠安丸后, 免疫器官的质量不同程度地增加, 中剂量作用尤为显著。提示胃肠安丸可能是通过止泻作用, 抑制营养物质的流失, 而减缓腺体萎缩的。

人体活动所需的能量, 主要由糖氧化分解供给。糖分解代谢释放能量, 主要以有氧氧化和糖酵解这两个途径。小肠黏膜 MDH、LDH 活性是反映细胞内糖有氧氧化和无氧酵解水平的客观指标^[7]。肠黏膜上皮细胞内的二糖酶是衡量小肠吸收功能的标志酶。本研究显示, 复合性腹泻模型动物小肠内 3 种消化酶活性显著下降, 不同剂量的胃肠安丸可不同程度的改善酶活性, 尤以中剂量的作用显著。提示胃肠安丸可能是通过提高消化酶活性, 调节腹泻状态下机体对糖的代谢和利用, 促进营养物质吸收, 发挥止泻作用。

VIP 和 SP 均属胃肠激素。VIP 是由 28 个氨基酸组成的多肽, 由内分泌细胞 D 和含 VIP 能神经元及神经纤维分泌释放, 这些神经分布于肠壁的黏

膜下及肠肌层神经丛和胃肠平滑肌中,尤其在括约肌区域^[8]。VIP 通过引起全胃肠道环行平滑肌的松弛、扩张血管的共同作用导致腹泻的发生。SP^[9]为肠道兴奋性神经递质,是由 11 个氨基酸组成的多肽,主要存在于肠肌神经丛及黏膜下神经丛,可促进结肠环行肌及纵行肌的收缩,加强结肠的集团推进运动,增加大便次数。SP 还可能与肠道感觉传导有关。本实验结果表明,腹泻模型动物 VIP、SP 水平提高,导致胃肠动力异常和(或)内脏敏感性增高。胃肠安丸可降低 VIP、SP 的水平,其可能通过调节胃肠动力、降低内脏高敏感性,达到止泻目的。

胃肠安丸以木香、沉香、檀香和麝香为君药,行气调中止痛;厚朴、枳壳为臣药,辅助君药理气和中;《本草纲目》所云“(巴豆)与大黄同用泻人反缓,为其性相畏也”,因以大黄、巴豆霜攻下积滞,属通因通用治疗原则。综观全方,具有芳香化浊、理气止痛、健胃导滞的作用,补泻兼用,寒热同调,标本兼顾。胃肠安丸的止泻作用机制是多层次、多角度的,且无剂量依赖性。复方制剂中药物间相互作用及其对人体的作用机制极其复杂,胃肠安丸止泻作用机制还有待进一步深入探讨。

参考文献

- [1] 刘 振, 高文远, 张静泽. 胃肠安丸对肠易激综合征治疗作用分析 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(2): 159-162.
- [2] 胡 瑞, 张桐茂, 唐 方. 胃肠安丸对腹泻型肠易激综合征大鼠的止泻作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 2039-2043.
- [3] Williams C L, Villar R G, Petermon J M, et al. Stress-induced changes in intestinal transit in the rat: a model for irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 1988, 94(3): 611-621.
- [4] 周干南. 小鼠腹泻模型的制备与腹泻指数的应用 [J]. 中草药, 1994, 25(4): 195-196.
- [5] 苗明三, 朱飞鹏. 常用医药研究动物模型 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [6] 石君杰. 宁肠汤对肠易激综合征大鼠自由基影响的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(2): 323-325.
- [7] 王继峰. 生物化学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [8] Wu H G, Jiang B, Zhou E H, et al. Regulatory mechanism of electro acupuncture in irritable bowel syndrome: preventing MC activation and decreasing SP VIP secretion [J]. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(6): 1644-1651.
- [9] Gronstad K, Dahlstrom A, Zinner M J, et al. Regulatory mechanism in endoluminal release of serotonin and substance P from feline jejunum [J]. *Dig Dis Sci*, 1987, 32(4): 393-400.