

小儿止泻膏对幼龄大鼠慢性腹泻的治疗作用及机制研究

石祖胶¹, 姜溪^{2*}, 陈芙蓉², 只德广², 岳南²

1. 贵州省人口和计划生育科学研究技术指导所, 贵州 贵阳 550004

2. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

摘要: **目的** 采用幼龄大鼠慢性腹泻模型, 评价小儿止泻膏的止泻作用, 并探讨其作用机制。**方法** 采用 ig 番泻叶制备幼龄大鼠慢性腹泻模型, 给予蒙脱石散 1.62 g/kg 和小儿止泻膏低、中、高剂量 (2.03、4.05、8.10 g/kg) 进行治疗, 给药 1、3 d, 分别测定稀便率、稀便级、腹泻指数; 给药第 4 天, 测定小肠含水量并取血, 比色法测定血清中琥珀酸脱氢酶 (SDH)、淀粉酶活力、D-木糖, 酶联免疫法测定血清 D-乳酸、白介素-1 β (IL-1 β) 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平。**结果** 给药 1 次, 小儿止泻膏 4.05、8.10 g/kg 剂量组均可明显降低稀便率, 8.10 g/kg 剂量组明显降低腹泻指数; 给药 3 次, 小儿止泻膏 2.03、4.05、8.10 g/kg 剂量组均能明显降低稀便率, 4.05、8.10 g/kg 剂量组明显降低腹泻指数, 降低血清 D-乳酸水平, 8.10 g/kg 剂量组能明显升高血清 D-木糖水平。小儿止泻膏对 SDH、淀粉酶活力及 IL-1 β 、TNF- α 水平均无明显影响。**结论** 小儿止泻膏对幼龄大鼠慢性腹泻有明显的治疗作用, 主要作用机制是改善肠道的吸收功能及通透性。

关键词: 小儿止泻膏; 幼龄大鼠; 番泻叶; 慢性腹泻; 腹泻指数

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)04-0496-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.04.011

Therapeutic effect and mechanism of Xiao'er Zhixie Paste on young chronic diarrhea rats

SHI Zu-jiao¹, JIANG Xi², CHEN Fu-rong², ZHI De-guang², YUE Nan²

1. Guizhou Provincial Institute of Population and Family Planning, Guiyang 550004, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd, Tianjin 300301, China

Abstract: Objective To evaluate the therapeutic effect of Xiao'er Zhixie Paste (XZP) by using the young rat model of chronic diarrhea, and to explore its mechanism. **Methods** Chronic diarrhea model in young rats was induced by ig senna. Rats were ig with Montmorillonite powder of 1.62 g/kg, XZP of low, medium, and high dose (2.03, 4.05, and 8.10 g/kg) for treatment. Loose stools rate, loose stool grade and diarrhea index were determined 1 and 3 d after treatment respectively. The water content of small intestine was measured and blood was collected for testing serum succinate dehydrogenase (SDH), amylase, D-xylose by colorimetric determination, testing serum D-lactic acid, IL-1 β , and TNF- α by Elisa after administration. **Results** The rate of loose stools in XZP 4.05 and 8.10 g/kg dose group, and diarrhea index in 8.10 g/kg dose group significantly reduced after the first treatment. The loose stools rate of XZP 2.03, 4.05, and 8.10 g/kg dose group, diarrhea index, serum D-lactic acid level in 4.05, 8.10 g/kg group significantly reduced, and serum D-xylose level in 8.10 g/kg dose group significantly increased 3 d after treatment. However, XZP had no significant effect on SDH, amylase activity and IL-1 β , TNF- α levels. **Conclusion** XZP has obvious therapeutic effect on chronic diarrhea in young rats, the mechanism is to increase improve the absorptive function and permeability of intestinal tract.

Key words: Xiao'er Zhixie Paste; young rat; *Senna Folium*; chronic diarrhea; diarrhea index

小儿腹泻是儿科常见病、多发病, 尤其是迁延性和慢性腹泻仍是目前临床治疗的一大难题。小儿慢性腹泻是指腹泻病程迁延在 2 周以上的腹泻, 发病率较高, 病因复杂, 以急性感染性腹泻未彻底治疗、迁延不愈最常见。虽然慢性腹泻病因不同, 发病机制也不尽相同, 但均可出现呕吐、厌食等情况,

收稿日期: 2016-11-08

作者简介: 石祖胶 (1965—), 女, 从事药物临床前药理学研究。Tel: 13518515331 E-mail: 577246199@qq.com

*通信作者: 姜溪 (1988—), 女, 助理研究员, 从事药物临床前药理学研究。Tel: 022-84845240 E-mail: jiangxi@tjipr.com

使营养摄入不足,肠道通透性增加,引发营养不良。同时,营养不良又损害肠细胞,导致各种胃肠激素生成减少,从而降低机体免疫力,使肠道易受感染,形成恶性循环,严重影响小儿的生长与发育^[1-3]。

小儿止泻膏是以芋头作为主要成分的纯中药制剂,具有良好的健脾止泻作用,对于小儿脾虚湿盛、伤乳伤食、寒暖失调所致的腹泻及久泻有良好的治疗作用。本实验采用 ig 番泻叶致幼龄大鼠慢性腹泻模型,观察其止泻作用并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 药物及主要试剂

小儿止泻膏:棕色浸膏,规格 10 g/瓶,批号 21150203,国药控股星鲨制药(厦门)有限公司产品;思密达(蒙脱石散):灰白色细粉,3 g/袋,批号 H14625,博福-益普生(天津)制药有限公司产品。

番泻叶:批号 1407029,河北祁一堂药业有限公司产品,95℃蒸馏水浸泡 20 min,双层纱布过滤后使用。琥珀酸脱氢酶(SDH)测定试剂盒:批号 20151211,淀粉测定试剂盒:批号 20151208,D-木糖测定试剂盒:批号 20151211,均购自南京建成生物工程研究所产品。大鼠 D-乳酸(D-lactate)酶联免疫试剂盒:批号 201511,大鼠白介素-1 β (IL-1 β)酶联免疫试剂盒:批号 201511,大鼠肿瘤坏死因子(TNF- α)酶联免疫试剂盒:批号 201511,均购自上海通蔚实业有限公司产品。

1.2 动物

Wistar 大鼠,SPF 级,体质量 40~60 g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2012-0001。

1.3 主要仪器

TU-1800/1800S 紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司产品。FA1104 型电子天平,上海天平仪器厂产品。RT-6100 酶标分析仪:深圳雷杜生命科学股份有限公司产品。

2 方法

2.1 模型的制备及分组

参考文献方法^[4-7],选用 3 周龄雌性 Wistar 幼鼠 90 只,体质量 40~60 g。随机选取 12 只作为对照,其余大鼠均进行造模。造模大鼠 ig 10%番泻叶浸液 20 mL/kg,每天 1 次,连续 2 周。最后 1 次 ig 番泻叶浸液前,大鼠禁食不禁水 16 h,单笼饲养,底盘上铺滤纸,记录最后 1 次 ig 后 5 h 的稀便率、稀便级,并计算腹泻指数。取造模成功的大鼠 60 只(腹

泻指数大于 1.70),按腹泻指数进行随机分组,共分为 5 组,分别为模型组、蒙脱石散(阳性药,1.62 g/kg)组和小儿止泻膏低、中、高剂量(2.03、4.05、8.10 g/kg,相当于人用临床剂量的 0.5、1.0、2.0 倍)组。

腹泻指数=稀便率 $\times$ 平均稀便级

稀便率=稀便数/总便数

稀便级:表示每只动物稀便的程度,以稀便污染滤纸的直径定级,分为 4 级:<1.0 cm (1 级),1.0~1.9 cm (2 级),2.0~3.0 cm (3 级),>3.0 cm (4 级)。

级数直径的测量:圆形测直径,椭圆形或不规则形测最长和近似圆的直径,二者取平均数。

平均稀便级=所有稀便级数/稀便次数

2.2 治疗腹泻的药效评价

分组后第 2 天,各组动物开始 ig 给药,每天 1 次,连续 3 d,给药体积均为 10 mL/kg,对照、模型组给予等体积蒸馏水。各剂量组大鼠给药后 1 h 继续 ig 番泻叶浸液,分别记录给药 1、3 次各组大鼠腹泻指标的变化(单笼饲养,底盘上铺滤纸,记录 ig 番泻叶浸液后 5 h 的稀便率、稀便级)。

2.3 吸收功能及通透性评价

给药 3 次的腹泻指标测定结束后,隔日继续 ig 给药,1 h 后 ig 番泻叶浸液,2 h 后 ig 3% D-木糖 20 mL/kg,3 h 后腹主动脉取血,3 000 r/min 离心 10 min 得血清;同时,结扎幽门、回盲部,剪下小肠,于电子天平上准确称量小肠的湿重,然后放入 65℃烘箱,96 h 后称量干重。

使用减重法计算小肠含水量,比色法测定血清 D-木糖含量,酶联免疫法测定血清 D-乳酸含量,评价药物对于小肠的吸收功能及通透性的影响。

2.4 能量物质代谢因子

使用比色法测定血清琥珀酸脱氢酶(SDH)、淀粉酶活力,评价药物对能量物质代谢因子的影响。

2.5 炎症因子

使用酶联免疫法测定血清 IL-1 β 及 TNF- α 含量,评价药物对炎症因子的影响。

2.6 数据处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 SPSS 16.0 软件进行数据的统计分析,组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对慢性腹泻的影响

表 1 结果显示,与对照比较,模型组稀便率、平均稀便级、腹泻指数均明显升高,表明慢性腹泻

造模成功。与模型组比较, 给药1次, 小儿止泻膏4.05、8.10 g/kg 剂量组能明显降低稀便率, 8.10 g/kg 剂量组还能明显降低腹泻指数, 表明高剂量组对慢性腹泻有明显治疗作用; 连续给药3次, 小儿止泻膏4.05、8.10 g/kg 剂量组均能明显降低腹泻指数, 2.03、4.05、8.10 g/kg 剂量组能明显降低稀便率, 表明高、中剂量组对大鼠慢性腹泻均有明显的治疗作用, 阳性药蒙脱石散作用相似。

3.2 对小肠吸收功能及通透性的影响

表2结果显示, 与对照比较, 模型组血清D-木糖水平明显降低、D-乳酸水平明显升高, 表明肠道吸收功能减弱, 通透性增加。给药3次, 与模型组比较, 小儿止泻膏4.05、8.10 g/kg 剂量组能明显降低血清D-乳酸水平, 小儿止泻膏8.10 g/kg 剂量组还能明显升高血清D-木糖水平, 对小肠含水量无明显影响, 表明对肠道吸收功能、通透性均有明显

表1 小儿止泻膏对慢性腹泻大鼠腹泻指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of Xiaoer Zhixie poultice on diarrhea in rats with chronic diarrhea ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	给药1次			给药3次		
		稀便率	平均稀便级	腹泻指数	稀便率	平均稀便级	腹泻指数
对照	—	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
模型	—	0.86±0.10 ^{##}	2.37±0.26 ^{##}	2.01±0.20 ^{##}	0.90±0.70 ^{##}	2.32±0.29 ^{##}	2.08±0.29 ^{##}
蒙脱石散	1.62	0.54±0.13 ^{**}	2.43±0.72	1.26±0.29 ^{**}	0.65±0.24 ^{**}	1.94±0.71	1.37±0.50 ^{**}
小儿止泻膏	8.10	0.56±0.25 ^{**}	2.54±0.52	1.32±0.52 ^{**}	0.66±0.20 ^{**}	2.23±0.20	1.46±0.43 ^{**}
	4.05	0.71±0.22 [*]	2.56±0.63	1.73±0.46	0.70±0.15 ^{**}	2.37±0.28	1.65±0.40 ^{**}
	2.03	0.79±0.20	2.36±0.53	1.79±0.34	0.72±0.23 [*]	2.56±0.54	1.77±0.47

与对照比较: ^{##} $P < 0.01$; 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

表2 小儿止泻膏对慢性腹泻大鼠小肠吸收功能及通透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of Xiaoer Zhixie poultice on absorptive function and permeability of intestinal tract in rats with chronic diarrhea ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	小肠含水量/%	D-木糖/(mmol·L ⁻¹)	D-乳酸/(μg·L ⁻¹)
对照	—	75.91±3.92	1.15±0.16	324.37±19.04
模型	—	75.76±3.62	0.94±0.20 [#]	373.86±26.48 ^{##}
蒙脱石散	1.62	77.12±2.34	1.17±0.23 [*]	316.33±22.85 ^{**}
小儿止泻膏	8.10	76.01±2.74	1.16±0.27 [*]	320.42±32.80 ^{**}
	4.05	75.74±3.23	1.04±0.31	345.40±29.43 [*]
	2.03	76.45±4.07	1.03±0.29	358.49±24.40

与对照比较: ^{##} $P < 0.01$; 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

的改善作用, 阳性药蒙脱石散作用相似。

3.3 对能量物质代谢因子的影响

表3结果显示, 与对照比较, 模型组血清SDH活力明显降低, 表明能量代谢出现异常。连续给药3次, 与模型组比较, 小儿止泻膏对SDH、淀粉酶均无明显影响, 阳性药蒙脱石散作用相似。

3.4 对炎症因子的影响

表4结果显示, 与对照比较, 模型组血清TNF-α、IL-1β水平明显升高, 表明出现炎症反应。连续给药3次, 与模型组比较, 小儿止泻膏对血清TNF-α、IL-1β水平均无明显影响, 阳性药蒙脱石散作用相似。

表3 小儿止泻膏对慢性腹泻大鼠能量物质代谢因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of Xiaoer Zhixie poultice on energy metabolism factor in rats with chronic diarrhea ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	SDH/ (U·mL ⁻¹)	淀粉酶/ (U·dL ⁻¹)
对照	—	20.75±4.73	1286.97±101.49
模型	—	16.58±3.29 [#]	1209.91±113.64
蒙脱石散	1.62	19.50±8.21	1289.17±101.09
小儿止泻膏	8.10	18.67±4.23	1246.24±106.33
	4.05	18.17±2.89	1244.04±114.65
	2.03	16.42±4.76	1235.23±146.59

与对照比较: [#] $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs control group

表 4 小儿止泻膏对慢性腹泻大鼠炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 4 Effect of Xiaer Zhixie poultice on inflammatory factor in rats with chronic diarrhea ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	TNF- α / (ng·L ⁻¹)	IL-1 β / (ng·L ⁻¹)
对照	—	103.85±14.35	12.74±1.68
模型	—	118.11±17.60 [#]	15.50±2.03 ^{##}
蒙脱石散	1.62	117.31±16.15	15.07±1.86
小儿止泻膏	8.10	116.56±10.51	16.29±1.92
	4.05	119.01±16.93	16.57±1.70
	2.03	119.47±13.26	15.41±2.00

与对照比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group

4 讨论

番泻叶, 性甘、苦、寒, 主泻下, 其中含有的大部分结合型蒽醌在肠道水解、还原后的产物及其衍生物, 能增加肠腔内容积, 刺激肠壁使小肠和结肠蠕动增强, 刺激肠黏膜释放前列腺素导致肠上皮细胞通透性增加等引发腹泻; 另外番泻苷在肝中分解后的产物经血液循环能兴奋骨盆神经节以收缩大肠引起腹泻^[8]。在造模过程中时, 大鼠出现便溏、竖毛、拱背、倦卧, 毛色枯槁、体质量下降等反应。

芋头, 性平, 味甘、辛, 能补中益气、益胃宽肠, 消痈散结。芋头是一种很好的碱性食物, 其主要成分黏多糖是一种天然的多糖类高分子植物胶体, 具有很好的止泻作用和增强机体免疫力的功能; 其富含膳食纤维、矿物质、维生素, 可润肠通便, 帮助机体纠正微量元素缺乏导致的生理异常, 同时能增进食欲, 帮助消化。

D-木糖是一种水溶性的戊糖, 口服后大部分以原型经肾脏排出, 不受肝脏及组织代谢影响。在正常情况下血中检测不到 D-木糖的存在, 因此灌服 D-木糖溶液后检测血清 D-木糖水平是与小肠吸收功能成正相关的一个较为敏感和特异性的指标^[9]。淀粉酶是主要的消化酶之一, 其活性能较为敏感和特异地反映消化吸收功能。SDH 是线粒体内膜的结合酶, 作为参与三羧酸循环的关键酶, SDH 是反映线粒体功能的标志酶之一, 活力的变化常与线粒体结构的改变同时出现, 与线粒体的数目成正相关, 其活力影响着三羧酸循环, 即能量代谢的速度^[10]。结果表明, 模型组血清 D-木糖水平、SDH 活力降低, 表明肠道吸收功能减弱、消化酶活性降低。从而使营养物质的消化、吸收受到影响, 导致食物及水分不被充分消化和吸收即排出体外, 引起腹泻。小儿

止泻膏能明显降低稀便率及腹泻指数, 增加血清 D-木糖水平, 表明药物可改善肠道吸收功能, 减轻腹泻。

D-乳酸是人体内胃肠道细菌发酵产生的代谢产物, 而哺乳动物的组织既不产生 D-乳酸, 体内也无快速代谢的酶系统, 因此不能或仅能缓慢代谢 D-乳酸。但在肠粘膜屏障受损, 肠道通透性增加时, 肠道中细菌产生的 D-乳酸可通过受损的肠黏膜经循环入血, 此时测定血中的 D-乳酸可反映肠道通透性的变化^[11-12]。实验结果显示, 小儿止泻膏给药治疗后, 与模型组动物比较, 血清 D-乳酸水平明显降低, 表明对肠黏膜的通透性有明显的改善作用。

综上所述, 小儿止泻膏能明显降低慢性腹泻大鼠的稀便率及腹泻指数, 对慢性腹泻有显著治疗作用; 同时明显升高血清 D-木糖、降低血清 D-乳酸水平, 但对能量物质代谢因子、炎症因子均无明显影响, 显示其主要作用机制是改善肠道的吸收功能及通透性。

参考文献

- [1] 梁莉婕, 焦立波, 高明. 建立动物腹泻模型的常用药物及方法的研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(8): 1687-1689.
- [2] 郭晓明. 温运合剂治疗幼鼠脾虚泄泻的药效学研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [3] 黄祖雄. 谷氨酰胺对慢性腹泻幼鼠肠黏膜修复的影响 [D]. 福州: 福建医科大学, 2002.
- [4] 刘素芳. 野罂粟水煎剂对番泻叶致泻小鼠止泻作用的机理研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [5] 诸葛远莉, 金海林, 刘万里. 参苓白术散对慢性腹泻幼龄大鼠肠黏膜屏障影响的研究 [J]. 江苏中医药, 2015, 47(5): 80-85.
- [6] 薛丽莉, 薛金, 杜晨光. 益脾止泻汤对脾虚泄泻大鼠血清 D-木糖含量及血浆胃动素的影响 [J]. 中国中医急症, 2009, 18(6): 951-952.
- [7] 李秋伟, 贾建伟. 肠黏膜通透性的研究进展 [J]. 医学综述, 2007, 13(18): 1384-1385.
- [8] 张丹, 邢姝丽. 动物腹泻模型的实验方法概述 [J]. 陕西中医, 2014, 35(2): 249-252.
- [9] 田佳鑫. 腹泻康治疗脾虚泄泻证的疗效与作用机制研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2007.
- [10] 孔喜良. 黄芪多糖对大鼠肌组织能量代谢的影响 [J]. 中国全科医学, 2009, 12(10B): 1907-1910.
- [11] 乔治, 黎洁良, 李基业, 等. 应用血浆 D-乳酸水平评价腹部外科手术肠道屏障功能 [J]. 解放军医学杂志, 2005, 30(3): 255-257.
- [12] 王峰. D-乳酸与肠道屏障功能 [J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(4): 423-424.