

基于脾虚大鼠模型评价复方黄芪健脾口服液健脾消食作用

熊克朝^{1#}, 郝 泉^{2#}, 高 杰¹, 孙 科², 孙 岩^{2*}, 王全军^{1*}

1. 国家北京药物安全评价研究中心, 北京 100850
2. 兰州佛慈制药股份有限公司, 甘肃 兰州 730000

摘要: 目的 建立大鼠脾虚模型, 评价复方黄芪健脾口服液 (FFHQ) 的健脾消食作用。方法 60只雄性大鼠随机分为6组: 对照组、模型组、启脾口服液 (阳性药, 10 mL·kg⁻¹) 组和 FFHQ 低、中、高剂量 (生药 3.25、6.50、13.00 g·kg⁻¹) 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余各组大鼠 ig 给予 250 mg·mL⁻¹ 大黄水溶液 15 mL·kg⁻¹, 上下午各 1 次, 每天 2 次, 连续 7 d, 制备脾虚模型。造模成功后, 各组 ig 给药, 对照组和模型组给予去离子水, 给药体积均为 10 mL·kg⁻¹, 每天 2 次, 连续 7 d。每天观察记录动物外观体征、行为活动, 每周检测体质量和摄食量; 给药结束检测胃排空功能、食物利用率; 试剂盒法检测血清胃泌素 (GAS)、胃动素 (MOT) 和血管活性肠肽 (VIP) 浓度; 全自动血液分析仪测定大鼠红细胞计数 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、红细胞容积 (HCT)、白细胞计数 (WBC)、红细胞分布宽度 (RDW)、网织红细胞绝对值 (RET#) 以及网织红细胞 (RET)、淋巴细胞 (LYMPH)、单核细胞 (MONO)、中性粒细胞 (NEUT)、嗜碱性粒细胞 (BASO)、嗜酸性粒细胞 (EO) 的比率; 取脾脏、胸腺称质量, 计算脾脏、胸腺脏器系数; 采集胃、十二指肠、结肠、直肠、脾脏、胸腺, HE 染色后观察组织病理学变化。结果 造模期间, 对照组未见异常; 与对照组比较, 其他各组皆出现消瘦、稀便、活动减少等脾虚症状; 造模结束时, 与对照组比较, 其他各组动物体质量及体质量增长显著降低 ($P < 0.001$)。给药期间, 与对照组比较, FFHQ 各剂量组动物脾虚症状基本恢复正常, 而模型组动物仍有脾虚的症状。给药结束后, 与模型组比较, FFHQ 各剂量组动物体质量、给药期间体质量增长显著升高 ($P < 0.05$); FFHQ 3.25 g·kg⁻¹ 组大鼠每天摄食量显著增高 ($P < 0.01$); FFHQ 各剂量组大鼠胃排空率显著增加 ($P < 0.05$); FFHQ 6.50、13.00 g·kg⁻¹ 组 MOT 浓度显著升高 ($P < 0.05$), FFHQ 13.00 g·kg⁻¹ 组 VIP 浓度显著降低 ($P < 0.05, 0.01$); 各给药组 LYMPH 比率均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), FFHQ 高剂量组 MONO 比率显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), FFHQ 高剂量组 RBC 显著降低 ($P < 0.01$), 各给药组 RET#、RDW 均显著降低 ($P < 0.01$), FFHQ 低剂量组 HCT 显著降低 ($P < 0.01$), FFHQ 中剂量组 HGB 显著降低 ($P < 0.01$), FFHQ 高剂量组 WBC 呈升高趋势; FFHQ 低、高剂量组脾脏质量均显著增加 ($P < 0.05, 0.01$); FFHQ 中、高剂量组胸腺质量呈升高趋势; 各组组织病理学检查均未见明显器质性病变。结论 FFHQ 对脾虚大鼠发挥健脾消食作用, 调节胃肠激素分泌和提高机体免疫力可能是作用机制之一。

关键词: 复方黄芪健脾口服液; 脾虚; 胃排空; 胃肠激素; 免疫力

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 03-0493-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.03.013

Evaluate spleen - strengthening and food - dissipating effects of Fufang Huangqi Jianpi Koufu Ye by spleen - deficiency rat model

XIONG Kezhao¹, HAO Quan², GAO Jie¹, SUN Ke², SUN Yan², WANG Qunjun¹

1. Beijing National Center for Drug Safety Evaluation and Research, Beijing 100850, China
2. Lanzhou Foci Pharmaceutical Co., Ltd., Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To establish a rat model of spleen deficiency and to study the effect of Fufang Huangqi Jianpi Koufu Ye (FFHQ) on invigorating spleen and eliminating food. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into six groups with ten animals in each group, namely control group, model group, Qipi oral solution (positive drug, 10 mL·kg⁻¹) group, and FFHQ low, medium and high-dose groups (crude drug 3.25, 6.50, 13.00 g·kg⁻¹). Except for control group, rats in the other five groups were

收稿日期: 2021-08-03

#共同第一作者: 熊克朝, 主要从事药物毒理学研究。E-mail: xiongkezhao@163.com

郝 泉, 主要从事药物研发。E-mail: foci@sina.com

*共同通信作者: 孙 岩 E-mail: 936644946@qq.com

王全军 E-mail: wangqunjunbeijing@163.com

given 3.75 g·kg⁻¹ rhubarb water solution orally and intragastrically for modeling, twice a day, for consecutive seven days. After successful modeling, low-dose, medium-dose and high-dose groups were given test articles by ig, control group and model control group were given deionized water, and positive control group was given Qipi Oral Solution, 10 mL·kg⁻¹, twice a day, for consecutive seven days. The appearance, physical signs and behavioral activities of the animals were observed and recorded every day. The body weight and food intake were measured every week. At the end of administration, gastric emptying function, food availability, gastrin (GAS), motilin (MOT) and vasoactive intestinal peptide (VIP) gastrointestinal hormone concentrations were detected. Red blood cell count (RBC), hemoglobin (HGB), red blood cell volume (HCT), white blood cell count (WBC), red blood cell distribution width (RDW), absolute value of reticulocyte (RET#), the ratio of reticulocyte (RET), LYMPH, MONO, neutrophils (NEUT), basophil (BASO) and eosinophils (EO) were determined by automatic hematology analyzer. The spleen and thymus were weighed and the organ coefficients of spleen and thymus were calculated. The stomach, duodenum, colon, rectum, spleen and thymus were collected, and histopathological changes were observed after HE staining. **Results** During modeling, no abnormality was found in control group. Compared with control group, the other groups showed symptoms of spleen deficiency such as emaciation, loose stools and reduced activity. At the end of modeling, the body weight and food intake of the other groups were significantly reduced, indicating that the modeling was successful. During the administration period, compared with control group, the clinical symptoms of FFHQ dose groups and positive control group basically returned to normal, while the model control group animals still had spleen deficiency symptoms. After administration, compared with model group, the increase of body weight in FFHQ groups and during administration was significantly increased ($P < 0.05$). Daily food intake in FFHQ 3.25 g·kg⁻¹ group was significantly increased ($P < 0.01$). Gastric emptying rate of FFHQ groups was significantly increased ($P < 0.05$). MOT concentration in FFHQ 6.50 and 13.00 g·kg⁻¹ groups was significantly increased ($P < 0.05$), VIP concentration in FFHQ 13.00 g·kg⁻¹ group was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). LYMPH rate of all administration groups was significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), MONO rate of FFHQ high dose group was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), RBC of FFHQ high dose group was significantly decreased ($P < 0.01$), RET# and RDW of all administration groups were significantly decreased ($P < 0.01$). HCT of FFHQ low dose group was significantly decreased ($P < 0.01$), HGB of FFHQ medium dose group was significantly decreased ($P < 0.01$), WBC of FFHQ high dose group was increased. Spleen quality was significantly increased in FFHQ low and high dose groups ($P < 0.05, 0.01$). The thymus quality of FFHQ medium and high dose groups increased. Histopathological examination in each group showed no obvious organic lesions. **Conclusions** FFHQ plays a role in invigorating spleen and eliminating food in spleen deficiency rats, regulating gastrointestinal hormone secretion and improving body immunity may be one of the mechanisms.

Key words: Fufang Huangqi Jianpi Koufu Ye; spleen deficiency; gastric emptying; gastrointestinal hormone; immunity

中医认为脾主运化,为气血生化之源、后天之本。脾失健运致食谷不化和泄泻等脾虚证,其症候多表现为消化系统功能减退,副交感神经系统功能偏亢,免疫功能及代谢水平偏低等。治疗此证应以运化水谷、健脾益气、升发脾阳为主要原则。

复方黄芪健脾口服液(FFHQ)是一种益气固表、健脾消食的 药物,组方组成为黄芪、莱菔子(炒)、白术(炒)、山楂(炒)、山药(炒)、桑叶、大枣。黄芪、白术健脾益胃、燥湿和中,山药、大枣辅助黄芪、白术健脾益气,兼能生津润燥,牵制黄芪、白术的纯阳之性,使润燥相宜,增强补脾益胃之功。山楂、莱菔子消食导滞,利气除胀,腑以通为用,此两药可起化积通腑的作用,腑气通,厚苔退,胃口开。方中桑叶能清热宣肺、祛邪气,虽清而不寒,与小儿饮食积滞多生内热、内有郁热易患感冒的病理甚为相合。现代医学理论亦证实,白术有加强肠道的吸收和内分泌功能,调节胃液分泌和缓解胃肠道痉挛;山楂可增加胃中酸类的分泌并增强酶活力,

其所含解脂酶直接帮助消化脂类食物;莱菔子可增强胃及十二指肠平滑肌收缩力。

根据中医“大忌苦寒之药损其脾胃”理论,大黄具有味苦、性寒、攻下积滞的特性,能够伤脾胃,可有效建立脾虚模型^[1]。本研究通过建立大鼠脾虚模型来评价FFHQ的健脾消食作用。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级SD大鼠60只,体质量180~220 g,雌雄各半,6~7周龄,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号为SCXK(京)2021-0006,饲养于国家北京药物安全评价研究中心屏障设施内。本中心是国际实验动物评估和认可管理委员会认可单位,也完全遵守中华人民共和国的相关实验动物福利的管理规定,伦理编号为IACUC-2018-002。动物实验方案由本中心的动物福利委员会审查批准。室温控制在20~26℃,湿度40%~70%,每天光照12 h。饲养方式为盒养,每周

更换鼠盒及垫料,自由摄食^[1-4]。

1.2 药物和对照品

FFHQ,主要组成为黄芪、莱菔子(炒)、白术(炒)、山楂(炒)、山药(炒)、桑叶、大枣,每毫升成品相当于生药0.65 g,批号16H27,每瓶120 mL,购于兰州佛慈制药股份有限公司;启脾口服液,批号20170635,每瓶120 mL,主要组成为人参、麸炒白术、茯苓、甘草、陈皮、山药、炒莲子、炒山楂、炒六神曲、炒麦芽、泽泻,购自广东百氏福药业有限公司;大黄水溶液:大黄水提取2次,每次10倍水2 h,减压浓缩,喷雾干燥,进风温度180℃,出风温度80℃,溶于去离子水,配制成250 mg·mL⁻¹,大黄的提取率为23.15%,由兰州佛慈制药股份有限公司提供;去离子水,本机构自制。

1.3 主要仪器

XT-2000iv型全自动血液分析,日本Sysmex公司;RM2235型切片机,德国Leica公司;X17显微镜,日本Olympus公司。

2 方法

2.1 动物分组、模型制备及给药

60只雄性大鼠随机分为6组:对照组、模型组、启脾口服液(阳性药,10 mL·kg⁻¹)组和FFHQ低、中、高剂量(生药3.25、6.50、13.00 g·kg⁻¹)组,每组10只。除对照组外,其余各组大鼠ig给予250 mg·mL⁻¹大黄水溶液15 mL·kg⁻¹,上下午各1次,每天2次,连续7 d,观察大鼠是否出现体质量降低、食欲降低、便溏、消瘦、活动减少等脾虚症状,作为模型成功标准^[5-9]。造模成功后,各组ig给药,对照组和模型组给予去离子水,给药体积均为10 mL·kg⁻¹,每天2次^[10],连续给药7 d。

2.2 大鼠体质量、摄食量和一般状态观察

给药当天,尤其在给药后数小时内密切观察并记录各动物的表现和特点、症状反应出现及恢复时间以及死亡情况等,以后每天至少观察2次,观察指标包括一般状况(动物外观、行为、饮食、分泌物、排泄物等)、死亡情况,记录出现的症状以及症状的起始时间、严重程度、持续时间等,行为活动、呼吸和排泄等状态的变化,每周称质量、测定摄食量^[1]。

2.3 胃排空功能

首先各组大鼠单笼饲养,胃排空检测前禁食12 h,不禁水。给予3 h食量(每只21 g),3 h后记录每只大鼠剩食量,计算3 h内摄食量和食物利用率。然后禁食、水,3 h后检测胃排空率,大鼠麻醉后,迅速摘取胃组织,滤纸擦干胃组织后称质量得

胃全质量,然后沿胃小弯侧剪开胃体,用生理盐水清洗胃内容物,用滤纸擦干胃组织后称质量得胃净质量,胃全质量减去胃净质量为3 h胃内食物残留量。

食物利用率=摄食量/21 g

胃排空率=1-3 h胃内食物残留量/3 h摄食量^[11]

2.4 大鼠血液学指标的检测

大鼠麻醉,分离腹主动脉取血,加EDTA抗凝,用全自动血液分析仪测定大鼠红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞容积(HCT)、白细胞计数(WBC)、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞绝对值(RET#)以及网织红细胞(RET)、淋巴细胞(LYMPH)、单核细胞(MONO)、中性粒细胞(NEUT)、嗜碱性粒细胞(BASO)、嗜酸性粒细胞(EO)的比率^[1]。

2.5 胃肠激素检测

大鼠腹主动脉采血,静置,3 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清液-20℃保存,参照试剂盒步骤用ELISA法检测血清中胃泌素(GAS)、胃动素(MOT)和血管活性肠肽(VIP)水平^[12-13]。

2.6 大鼠脏器系数测定和组织病理学检查

对动物进行系统尸检,取脾脏、胸腺称质量,计算脾脏、胸腺脏器系数。

脏器系数=脏器质量/体质量

采集胃、十二指肠、结肠、直肠、脾脏、胸腺,用10%中性福尔马林固定,各动物选取组织的相同部位或者肉眼检查病变部位取材,组织经充分固定后,逐级乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,制备4 μm切片,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,并在光学显微镜下观察。

2.7 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,各组先进行单因素方差分析(ANOVA),然后用独立样本 t 检验进行组间比较。

3 结果

3.1 FFHQ对大鼠一般状况的影响

对照组动物在整个实验期未见异常。造模期间(D₁₋₇)模型动物出现被毛污浊、触诊体温降低、弓背、颤抖、(肛门)肿胀、消瘦、稀便、活动减少、无力、喷嚏、腹胀、上睑下垂、尿颜色改变、竖毛、苍白、肛周污秽、呼吸急促等症状,造模成功。

D₈起给药,FFHQ各剂量组和启脾口服液组动物的症状逐渐消失,D₁₅FFHQ各剂量组动物恢复正常,启脾口服液组动物除了个别动物有肛门轻度肿

胀、轻度无力症状外,也基本恢复正常;而模型组动物仍有(肛门)肿胀、稀便、活动减少、无力、喷嚏、竖毛、肛周污秽等症状。

3.2 FFHQ对大鼠体质量影响

与对照组比较,造模前各组大鼠体质量无显著差异。造模1周结束,造模各组动物体质量及体质量增长显著降低($P<0.001$)。给药结束后,与对照组比较,各造模组动物体质量仍显著降低($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001);与模型组比较,FFHQ各剂量组动物体质量、给药期间体质量增长显著升高($P<0.05$ 、 0.01);与启脾口服液组比较,FFHQ各剂量组动物体质量无统计学差异。结果见表1。

3.3 FFHQ对大鼠每天摄食量、食物利用率及胃排空功能的影响

造模期间,与对照组比较,模型大鼠每天摄食量显著降低($P<0.001$)。给药期间,与对照组比较,模型组大鼠每天摄食量无显著差异;与对照组和模型组比较,FFHQ $3.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组大鼠每天摄食量显著升高($P<0.01$),启脾口服液组大鼠每天摄食量显著

降低($P<0.01$)。

与模型组比较,FFHQ各剂量组和启脾口服液组大鼠食物利用率升高,但未见显著差异。

与对照组比较,模型组大鼠胃排空率显著降低($P<0.01$);与模型组比较,FFHQ各剂量组和启脾口服液组大鼠胃排空率显著升高($P<0.05$);与启脾口服液组比较,FFHQ各剂量组大鼠胃排空率无统计学差异。结果见表2。

3.4 FFHQ对胃肠激素的影响

与对照组比较,模型组血清GAS、MOT浓度显著降低($P<0.05$ 、 0.01),VIP浓度显著升高($P<0.01$);与模型组比较,FFHQ 6.50 、 $13.00\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组和启脾口服液组MOT浓度显著升高($P<0.05$),FFHQ $13.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组和启脾口服液组VIP浓度显著降低($P<0.05$ 、 0.01),各给药组GAS浓度呈升高趋势。与启脾口服液组比较,FFHQ各剂量组动物GAS、MOT和VIP浓度无差异。结果见表3。

3.5 FFHQ对大鼠血液学的影响

与对照组比较,模型组LYMPH比率显著降

表1 FFHQ对大鼠体质量和体质量增长的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effects of FFHQ on body weight and body mass growth of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	体质量/g				体质量增长/g	
		D ₁	D ₈	D ₁₀	D ₁₄	D ₁₋₇	D ₈₋₁₄
对照	—	215.60±6.39	279.34±11.99	294.99±12.74	327.09±15.06	63.74±7.81	47.75±5.45
模型	—	215.82±6.92	237.84±11.89***	253.52±18.64***	279.01±23.26***	22.02±12.65***	41.17±14.81
FFHQ	3.25	216.12±6.98	246.34±10.50***	271.58±11.53**	302.62±10.10*#	30.22±8.70***	56.28±8.30#
	6.50	215.41±7.06	246.48±22.63***	271.00±17.98**	302.68±23.54*#	31.07±22.04***	56.20±11.69#
	13.00	216.24±6.40	241.19±14.21***	269.43±14.55**	301.62±15.14*#	24.95±16.36***	60.43±15.53##
启脾口服液	$10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$	215.81±6.99	239.87±11.82***	264.75±13.19***	296.41±17.34**	24.06±10.57***	56.54±11.06#

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$;与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group

表2 FFHQ对大鼠每天摄食量、食物利用率及胃排空率的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effects of FFHQ on daily food intake, food utilization rate and gastric emptying rate of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	每天摄食量/g		食物利用率/%	胃排空率/%
		D ₁₋₇	D ₈₋₁₄		
对照	—	23.3±0.2	25.2±0.2	0.27±0.03	25.61±13.46
模型	—	19.3±0.9***	25.6±0.2	0.29±0.04	4.63±8.08**
FFHQ	3.25	20.6±1.6***	26.6±0.2***#	0.30±0.04	21.24±17.12#
	6.50	19.9±0.9***	25.7±1.2	0.31±0.07	18.47±8.39#
	13.00	19.5±0.4***	25.2±0.6	0.34±0.08	19.15±11.20#
启脾口服液	$10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$	19.3±0.3***	24.5±0.3***#	0.33±0.06	19.52±13.81#

与对照组比较: ** $P<0.01$ *** $P<0.001$;与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$

** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group

表3 FFHQ对大鼠胃肠激素的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)Table 3 Effects of FFHQ on gastrointestinal hormones in rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	GAS/(pg·mL ⁻¹)	MOT/(pg·mL ⁻¹)	VIP/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	88.10±41.14	117.79±36.46	14.59±4.16
模型	—	49.67±28.04*	64.01±21.51**	34.58±8.51**
FFHQ	3.25	71.35±25.64	97.52±40.36	26.56±9.49*
	6.50	56.70±21.57	110.58±39.05 [#]	26.07±9.98
	13.00	56.09±25.56	107.76±46.08 [#]	21.39±12.51 [#]
启脾口服液	10 mL·kg ⁻¹	64.79±27.05	111.09±30.26 [#]	17.20±6.27 ^{##}

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

低($P<0.01$), MONO、NEUT、EO、RET 比率以及 RBC、RET#、RDW 均显著升高($P<0.05$ 、 0.01), HCT、HGB 呈升高趋势, WBC 呈降低趋势; 与模型组比较, 各给药组 LYMPH 比率均显著升高($P<0.05$ 、 0.01), FFHQ 高剂量组和启脾口服液组 MONO 比率显著降低($P<0.05$ 、 0.01), FFHQ 高剂量组 RBC 显著降低($P<0.01$), 各给药组 RET#、RDW 均显著降低($P<0.01$), FFHQ 低剂量组和启脾口服液组 HCT 均显著降低($P<0.01$), FFHQ 中剂量组 HGB 显著降低($P<0.01$), FFHQ 高剂量组和启脾口服液组 WBC 呈升高趋势。见表4。

3.6 FFHQ对大鼠脏器系数的影响

与对照组比较, 模型组和FFHQ低剂量组胸腺质量均出现显著降低($P<0.01$ 、 0.05), 模型组脾脏呈降低趋势; 与模型组比较, FFHQ低、高剂量组脾

脏质量均出现显著增高($P<0.05$ 、 0.01); FFHQ中、高剂量组及启脾口服液组胸腺质量呈升高趋势。与对照组比较, 模型组胸腺、脾脏系数均呈降低趋势; 与模型组比较, 各给药组胸腺、脾脏系数均呈升高趋势, 但均无显著差异。结果见表5。

3.7 FFHQ对大鼠组织病理学的影响

对照组、模型组、FFHQ各剂量组及启脾口服液组组织病理均未见明显器质性病变, 见图1。

4 讨论

采用苦寒泻下法建立的单一脾虚证动物模型, 主要的产生的脾虚症状为少食、体质量消瘦、便溏等, 判断模型成功的标准也是以是否出现上述症状为准^[14-16]。本研究大鼠造模后亦出现脾虚证的临床体征, 厌食、腹泻、立毛、消瘦、活动减少、摄食量和体质量亦降低, 说明脾虚模型成立, FFHQ给药1周

表4 FFHQ对大鼠血液学的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)Table 4 Effects of FFHQ on hematology in rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	LYMPH/%	MONO/%	NEUT/%	BASO/%	EO/%	WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
对照	—	83.3±2.2	5.3±1.1	11.1±1.6	0.0±0.1	0.4±0.1	8.24±2.41
模型	—	71.4±10.5**	7.4±2.2*	20.1±11.2**	0.4±1.2	0.7±0.4*	7.83±2.96
FFHQ	3.25	79.7±5.4 [#]	5.5±1.7	14.2±5.0	0.0±0.0	0.6±0.2	7.96±2.05
	6.50	80.0±7.0 [#]	6.1±1.7	13.4±5.5	0.0±0.0	0.5±0.2	7.76±1.87
	13.00	83.2±5.2 ^{##}	4.8±1.5 ^{##}	11.6±4.2	0.2±0.4	0.4±0.2	8.27±3.17
启脾口服液	10 mL·kg ⁻¹	81.0±5.3 [#]	5.2±1.3 [#]	13.3±4.1	0.0±0.0	0.5±0.2	8.27±2.85
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	RBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	RET/%	RET#/($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	HCT/%	HGB/(g·L ⁻¹)	RDW/%
对照	—	6.7±0.4	5.8±0.9	0.4±0.0	41.8±1.7	138.1±7.2	13.0±0.5
模型	—	7.2±0.4**	9.1±1.1**	0.7±0.1**	43.6±1.8	144.5±7.4	16.0±1.3**
FFHQ	3.25	6.6±0.3	7.7±1.0*	0.5±0.1 ^{###}	40.5±1.8 ^{##}	133.0±7.2	15.1±0.8 ^{##}
	6.50	6.5±0.2	8.1±1.6**	0.5±0.1 ^{###}	41.3±1.2	133.9±3.6 ^{##}	14.8±0.9 ^{##}
	13.00	6.8±0.3 ^{##}	7.6±1.6*	0.5±0.1 ^{###}	41.8±2.0	135.2±5.5	15.7±1.3 ^{##}
启脾口服液	10 mL·kg ⁻¹	6.6±0.2	8.0±1.6**	0.5±0.1 ^{###}	41.0±1.3 ^{##}	133.3±4.7	15.1±1.5 ^{##}

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

表5 FFHQ对大鼠脏器质量和脏器系数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 5 Effects of FFHQ on organ weight and organ coefficient in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脾脏质量/g	胸腺质量/g	脾脏系数/%	胸腺系数/%
对照	—	0.798±0.146	0.749±0.162	0.247±0.044	0.232±0.049
模型	—	0.676±0.092	0.542±0.110**	0.244±0.036	0.195±0.040
FFHQ	3.25	0.839±0.137 [#]	0.588±0.058*	0.281±0.042	0.197±0.018
	6.50	0.814±0.123	0.665±0.161	0.271±0.039	0.221±0.049
	13.00	0.870±0.091 ^{##}	0.685±0.152	0.291±0.035	0.228±0.047
启脾口服液	10 mL·kg ⁻¹	0.795±0.200	0.668±0.130	0.268±0.053	0.227±0.044

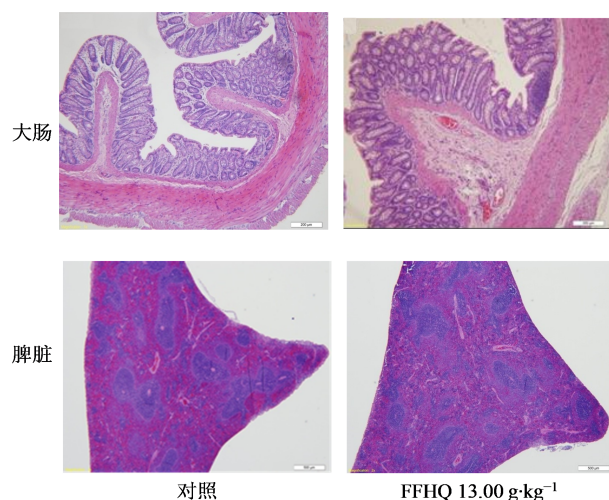
与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group

图1 FFHQ对大鼠组织病理学的影响(HE染色, ×400)

Fig. 1 Effect of FFHQ on histopathology in rats (HE stain, ×400)

后逐渐恢复正常,表明FFHQ可明显改善脾虚大鼠体征。模型大鼠的胃排空降低,提示其存在胃肠动力障碍;摄食减少,体质量降低提示其存在消化、吸收功能障碍。

胃肠激素是由胃肠内分泌细胞合成和释放的多种活性物质,其分泌紊乱是功能性胃肠病的发病机制之一。GAS是调节胃肠动力的一种激素,其既可以增强食管下括约肌的收缩活动,减少胃食管反流,又可以促进胃蠕动。MOT为消化道激素之一,其作用是促进和影响胃肠运动及胃肠道对水、电解质的运输。VIP能刺激肠的蠕动,促进肠水分及盐的流失。模型大鼠的胃肠激素GAS、MOT显著降低,VIP显著增高,提示其存在胃肠激素分泌功能紊乱;FFHQ可提高脾虚大鼠减低的胃排空率,使其接近正常,提高摄食量和体质量,提高脾虚大鼠GAS、MOT浓度,降低VIP,调节胃肠激素分泌渐至正常,FFHQ对胃肠道的调节作用可能是通过调节胃肠激

素来实现的。在FFHQ的作用下,脾虚大鼠分泌紊乱的胃肠激素渐至正常,稀便,弓背等临床体征得以改善,修复大鼠消化系统功能,最终提高摄食量和体质量。

同时血液学和病理数据表明,脾虚模型大鼠的RBC、RET及RDW异常,FFHQ给药1周后能明显恢复,模型大鼠血液学指标异常可能跟部分模型大鼠稀便脱水有关,给药后稀便消失,血液学指标亦随之恢复正常。且给药1周后FFHQ能升高脾虚大鼠白细胞、淋巴细胞至正常,提高脾脏、胸腺质量/系数至正常,表明FFHQ可以提高机体的免疫功能,通过提高机体的免疫力更好的修复机体转归健康。但脾虚大鼠组织病理未见明显差异,说明这种造模方式只是功能性改变,未见器质性改变,符合脾虚的临床定位。

在本实验条件下,FFHQ 6.5、13.0 g·kg⁻¹ ig给予脾虚模型SD大鼠(每天2次)7 d,显著改善脾虚体征,增加脾虚大鼠体质量,提高脾虚大鼠摄食量和胃排空率,提高脾虚大鼠血清GAS、MOT水平,降低血清VIP水平,提高白细胞、淋巴细胞比率和胸腺质量/系数,有健脾消食和提高免疫力的作用。调节脾虚大鼠胃肠激素分泌和提高机体免疫力的作用,可能是FFHQ治疗脾虚证所致消化不良的作用机制之一,具体是通过哪条调节通路发挥作用的有待于进一步实验探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理总局. 药物重复给药毒性研究技术指导原则 [S]. 2014.
State Food and Drug Administration. Technical guidelines for toxicity study of drug repeated administration [S]. 2014.

- [2] National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the care and use of laboratory animals [S]. 2011.
- [3] 国家食品药品监督管理总局. 药物非临床研究质量管理规范 [S]. 2017.
State Food and Drug Administration. Good Laboratory Practice [S]. 2017.
- [4] 国家食品药品监督管理局. 抗肿瘤药物临床试验技术指导原则(征求意见稿) [J]. 中国新药与临床杂志, 2008, 27(6): 466-478.
State Food and Drug Administration. Technical Guidelines for Clinical Trials of Antitumor drugs (Draft) [J]. Chin J New Drugs Clin Remedies, 2008, 27(6): 466-478.
- [5] 陈小野, 周永生, 樊雅莉, 等. 脾气虚证动物模型规范化的初步研究 [J]. 中华中医药杂志, 2001, 16(4): 52-57, 58.
Chen X Y, Zhou Y S, Fan Y L, et al. The rudimentary research of animal model standardization of spleen-qi deficiency syndrome [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2001, 16(4): 52-57, 58.
- [6] 蔓素云. 脾虚证动物模型造模研究方法及治疗概述 [J]. 辽宁中医学院学报, 2002, 4(4): 257-258.
Man S Y. Research method and treatment of animal model of spleen deficiency syndrome [J]. J Liaoning Coll Tradit Chin Med, 2002, 4(4): 257-258.
- [7] 黄辰, 李瑛, 赵妍, 等. 脾虚证动物模型评价方法评述 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(2): 433-437, 447.
Huang C, Li Y, Zhao Y, et al. Review of animal model evaluation method of liver-stagnation and spleen-deficiency [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2018, 45(2): 433-437, 447.
- [8] 沃格尔 H G, 沃格尔 W H, 杜冠华, 等. 药理学试验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 662-663.
Vogel H G, Vogel W H, Du G H, et al. Guidelines for Pharmacological Tests [M]. Beijing: Science Press, 2001: 662-663.
- [9] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1443.
Xu S Y, Bian R L, Chen X, et al. Pharmacological experimental methods [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003: 1443.
- [10] Diehl K H, Hull R, Morton D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes [J]. J Appl Toxicol, 2001, 21(1): 15-23.
- [11] 任平, 黄熙, 张莉, 等. 四君子汤对实验性脾虚大鼠胃排空率的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(8): 596-598.
Ren P, Huang X, Zhang L, et al. Effect of Sijunzi Decoction on gastric emptying rate in rat model of spleen deficiency syndrome [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2000, 20(8): 596-598.
- [12] 李凤金, 张玉昆, 刘泓涛, 等. 健脾口服液对脾虚证小鼠胃肠运动功能及胃肠激素分泌的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 212-215.
Li F J, Zhang Y K, Liu H T, et al. Effect of Jianpi Oral Liquid on gastrointestinal motility and gastrointestinal hormones in mice with syndrome of spleen-deficiency [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2012, 18(8): 212-215.
- [13] 程秋实, 汪龙德, 毛兰芳, 等. 平胃胶囊对肝郁脾虚型功能性消化不良大鼠胃肠动力及脑肠肽的影响 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(8): 1804-1807.
Cheng Q S, Wang L D, Mao L F, et al. Effects of Pingwei Capsule on gastrointestinal motility and brain-gut peptide in functional dyspepsia rats with liver stagnation and spleen deficiency [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2015, 26(8): 1804-1807.
- [14] 吕林, 黄穗平, 王静, 等. 功能性消化不良动物造模方法分析 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(11): 1378-1380.
Lv L, Huang S P, Wang J, et al. Analysis of animal modeling methods for functional dyspepsia [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2016, 36(11): 1378-1380.
- [15] 陈小野, 邹世洁. 脾虚和肾虚动物模型的研制思路 [J]. 中国医药学报, 1988, 3(1): 64-67.
Chen X Y, Zou S J. Development of animal model of spleen deficiency and kidney deficiency [J]. Acta Med Sin, 1988, 3(1): 64-67.
- [16] 樊慧杰, 柴智, 闫润红, 等. 补中益气汤对脾气虚证模型大鼠手术切口肌肉组织炎症反应和肉芽组织增生的影响 [J]. 中医杂志, 2014, 55(3): 238-241.
Fan H J, Chai Z, Yan R H, et al. Effects of Buzhong Yiqi Decoction on inflammation and granulation tissue proliferation of incision in rats with spleen qi deficiency pattern [J]. J Tradit Chin Med, 2014, 55(3): 238-241.

[责任编辑 兰新新]