

平胃散水煎液对湿困脾胃证大鼠疲劳状态的改善作用

刘瑶¹, 刘伟², 焦豪妍¹, 沈小钟¹

(1. 广东省中药研究所, 广州 510520; 2. 东方药林药业有限公司, 广州 510510)

[摘要] **目的:**探讨平胃散对湿困脾胃证大鼠疲劳状态的改善作用及其机制。**方法:**将大鼠随机分为空白对照组, 模型组, 平胃散高、中、低剂量组。造模第8天平胃散各剂量组分别灌胃平胃散水提液 1.5, 3, 6 g·kg⁻¹。空白对照组、模型组灌胃等量生理盐水, 给药7 d后观测大鼠力竭游泳时间; 检测血浆乳酸(LA)、血清乳酸脱氢酶(SLDH)、血清尿素氮(SUN)、肝糖原含量、血红蛋白(Hb)的含量。**结果:**平胃散高、中、低剂量组均能不同程度地改善模型大鼠的行为学表现, 提高大鼠力竭游泳时间。与模型组比较, 高剂量组肝糖原含量显著增高($P < 0.01$), 高、中剂量组 SUN 含量显著降低($P < 0.05$)。各组大鼠 Hb, LA, SLDH 水平未见明显差异。**结论:**平胃散改善湿困脾胃证疲劳状态的作用可能与减少在运动负荷下的蛋白质与氨基酸的分解, 提高肝糖原的含量有关。

[关键词] 平胃散; 湿困脾胃证; 疲劳状态

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0243-04

Antifatigue Effect of Pingwai San on Rats of the Spleen and Stomach being Stranded by Dampness

LIU Yao¹, LIU Wei², JIAO Hao-yan¹, SHEN Xiao-zhong¹

(1. Guangdong Province Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510520, China;
2. Orient Pharmaceutical, Guangzhou 510510, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antifatigue effect of Pingwei San (PWS) on rats of the spleen and stomach being stranded by dampness. **Method:** Rat models of the spleen and stomach being stranded by dampness

[收稿日期] 20120424(007)

[基金项目] 2010年广东食品药品职业学院自然科学研究项目(2010YZ001)

[第一作者] 刘瑶, 硕士, 讲师, 从事中药复方药理研究, Tel:020-28854995, E-mail:liuy@gdyzy.edu.cn

[4] 张福康, 张延武, 侯一平, 等. A型肉毒毒素降低大鼠胃平滑肌收缩及P物质含量[J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(2):314.

[5] Aoki K R. Evidence for antinociceptive activity of botulinum toxin A in pain management[J]. Headache, 2003, 43(Suppl 1):9.

[6] 何前松, 冯泳, 赵云华, 等. 小半夏加茯苓汤及其拆方对家兔离体胃肠运动的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6):192.

[7] Metzger M. Neurogenesis in the enteric nervous system [J]. Arch Ital Biol, 2010, 148(2):73.

[8] 高杰, 曹春雨, 贺蓉, 等. 大黄、苍术对正常大鼠胃肠激素水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9):220.

[9] 任银祥, 廉会娟, 宋焱峰, 等. A型肉毒毒素对P物质引发的大鼠离体幽门平滑肌收缩的抑制作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2008, 22(6):452.

[10] 周媛媛, 郭芙莲, 李超彦, 等. A型肉毒毒素对P物质引发的胃离体平滑肌收缩的抑制作用[J]. 现代预防医学, 2010, 37(11):2142.

[11] 周媛媛, 侯一平. A型肉毒毒素抑制电场刺激引发的胃离体平滑肌收缩[J]. 现代预防医学, 2008, 35(4):775.

[12] Bakhshipour A, Rabbani R, Shirani S, et al. Comparison of pneumatic dilation with pneumatic dilation plus botulinum toxin for treatment of achalasia [J]. Acta Med Iran, 2010, 48(2):107.

[13] Metzger M. Neurogenesis in the enteric nervous system [J]. Arch Ital Biol, 2010, 148(2):73.

[责任编辑 李玉洁]

was made. The rats were divided randomly into five groups: the control group, the model group and three groups administered with high, mediate and low dose of respectively. at the eighth day after modeling, the control group and the model group were administrated with physiological saline solution, the others three groups were administered with 1.5, 3, 6 g·kg⁻¹ PRFS respectively. After final administrating, the behavioral changes of rats were observed and the exhaustive swimming time of rats was recorded. At the end of the experiment, the levels of blood plasma lactic acid (LA), serum lactate dehydrogenase (SLDH), serum urea nitrogen (SUN), hepatic glycogen, and hemoglobin (Hb) were determined. **Result:** The rat behaviors in the three groups with PWS were remarkably improved. The last exhaustive swimming time increased significantly, hepatic glycogen level of high-dose group rats was obviously increased ($P < 0.01$), and SUN level of high-dose and mediate-dose group rats were decreased significantly ($P < 0.05$). The levels of Hb, LA and SLDH in all animals were not different obviously. **Conclusion:** Decreasing disintegration of protein and amino acids, and increasing the level of hepatic glycogen in exercise load were possibly antifatigue mechanism of PWS.

[**Key words**] Pingwei San; the spleen and stomach being stranded by dampness; fatigue state

湿困脾胃证是最常见的中医证型之一,指湿邪困阻脾胃,阻遏气机所表现的证候。临床多表现为头重身肢困倦,脘闷腹胀,饮食减少,面色淡黄垢浊,口黏淡或甜腻,大便溏泄,小便短涩,舌苔白厚而腻,脉濡缓。平胃散是湿困脾胃证治疗的代表方剂,原方出自周应所著《简要济众方》卷 5,后收录于《太平惠民合剂局方》卷 3。已有研究从水液代谢、能量代谢、免疫功能、胃肠功能等方面对平胃散治疗湿困脾胃证的作用机制做了一些探索性研究^[1-3]。然而从脾主四肢肌肉的角度出发,对湿困脾胃证表现的精神不振,倦怠嗜卧、头重如裹、少气懒言等病理性疲劳的调节机制研究还相对薄弱。本课题通过观测平胃散对湿困脾胃证大鼠宏观体征、运动耐力、红细胞载氧能力、代谢产物的影响,研究平胃散对湿困脾胃证疲劳状态的改善作用及其机制。

1 材料

1.1 动物 成年雄性 SD 大鼠 50 只,体重 180 ~ 220 g,由南方医科大学实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(粤)2006-0015。实验前全部大鼠适应性喂养 3 d,室温 22 ~ 26 °C,相对湿度 65%,明暗交替 12 h,自由饮水,标准饲料自由采食,实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

1.2 药物、试剂 参照《简要济众方》的平胃散各组成药物剂量比例,将苍术 240 g,厚朴 180 g,陈皮 120 g,炙甘草 60 g 打成细粉后,加水浸泡 1 h,然后加入生姜 20 片,大枣 20 枚,进行煎煮,滤液浓缩至生药含量为 0.6 g·mL⁻¹,置于 4 °C 保存备用。乳酸测定试剂盒,北京金豪制药股份有限公司,批号 20110418;血清乳酸脱氢酶测定试剂盒,北京中生北控生物科技有限公司,批号 201007;血清尿素氮检

测试剂盒,北京中生北控生物科技有限公司,批号 201008;肝糖原测定试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110502;血红蛋白检测试剂,南京建成生物工程研究所,批号 6202。

1.3 仪器 752N-紫外分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司),HEMAVET 950-动物血液分析仪(美国 DREW 公司),ECHO LCD-自动生化分析仪(意大利爱康公司),游泳箱(50 cm × 50 cm × 40 cm)等。

2 方法

2.1 湿困脾胃证大鼠模型的建立 模型制备参照文献方法[4]略加改进,采用增加湿度、饮食调控结合睡眠控制的方法建立大鼠湿困脾胃证模型。将造模大鼠放在温度 18 ~ 25 °C,湿度(90 ± 5)%的造模箱内饲养。自造模之日起,造模大鼠单日禁食并给予 4 °C 冰水(2 mL/只)灌胃 1 次,双日供应充足饲料并给予猪油(2 mL/只)灌胃 1 次。每日 8:00 ~ 16:00 令大鼠站在 4 cm 深的水中,控制睡眠时间 8 h,打乱其生物钟。连续造模 14 d。

2.2 分组及给药方法 将 50 只大鼠随机分为 5 组,即空白对照组,湿困脾胃模型组,平胃散高、中、低剂量组,每组 10 只。除空白组外,其余 4 组大鼠进行造模。平胃散高、中、低剂量组自造模第 8 天起,平胃散高、中、低剂量组分别按照等效剂量的 12,6,3 倍(6,3,1.5 g·kg⁻¹)给药,每日灌胃平胃散 10 mL·kg⁻¹ 体重,共 7 d。同时空白对照组和模型组灌胃等量生理盐水。

2.3 指标及检测方法

2.3.1 宏观体征的观测 实验过程中每天密切观察大鼠的一般状态,如精神状态、饮食量、生长体态、粪便性状、被毛色泽、活动状态等,各组分别于第 1,

7,14 天测量体重。

2.3.2 力竭运动时间测定^[5] 参照文献方法^[1]略加改进,于末次给药后 1 h,给予所有的大鼠负重 3% 强迫游泳至力竭,大鼠鼻尖没入水面连续 10 s 即判定为力竭状态,记录力竭游泳时间。

2.3.3 血红蛋白含量的检测 力竭游泳结束后 1 h,将各组动物取血,用动物血液分析仪测血红蛋白含量。

2.3.4 血液生化指标检测 血浆乳酸的测定:大鼠力竭游泳结束后 1 h,取血 3 mL,加入肝素抗凝管,4 ℃ 3 000 r·min⁻¹离心 10 min 后取血浆,放 -80 ℃ 保存备用,按照试剂盒说明进行检测乳酸。血清乳酸脱氢酶、血清尿素氮的检测:大鼠力竭游泳结束后 1 h,立即取血 3 mL,加入普通生化管室温静置,室温放置待血清析出时,以 3 000 r·min⁻¹离心 10 min 后留取血清,放 -80 ℃ 保存备用,按照试剂盒说明进行检测乳酸脱氢酶活力,应用自动生化分析仪检测血清尿素氮的含量。

2.3.5 肝糖原含量检测 负重游泳试验结束后 1 h,将各组动物取肝脏 200 mg 匀浆。蒽酮比色法测定肝糖原含量。

2.4 统计方法 采用 SPSS 13.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 一般体征的观察及体重的测定 空白组大鼠精神状态良好,皮毛光洁整齐,摄食、饮水、大小便未见异常。实验第 9 天,模型组大鼠出现饮食量减少,大便溏,皮毛湿浊,活动减少,精神萎靡,体重减轻。与模型组比较,平胃散各剂量组大鼠的行为表现均好于模型组。与空白组比较,各组大鼠在实验第 1,7 天体重无显著性差异,实验第 14 天,模型组大鼠体重明显低于空白对照组。平胃散低剂量组、中剂量组体重较模型组仅有增加趋势,高剂量组显著高于模型组。见表 1。

3.2 大鼠力竭游泳时间比较 各组大鼠力竭游泳时间结果见表 2。与空白组比较,模型组力竭游泳时间显著减少,与模型组比较,平胃散高、中、低剂量组大鼠力竭游泳时间明显增加($P < 0.05$)。

3.3 血浆 LA,SLDH,SUN 含量的测定结果 各组大鼠 LA 含量、SLDH 活性两两组间比较均无显著性差异。平胃散高、中、低剂量组与模型组比较,LA 含量有下降趋势、LDH 活性有升高趋势,但均无统计学意义。与空白组比较,模型组 SUN 含量显著升高

表 1 平胃散对湿困脾胃证大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) g

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	给药前	给药第 7 天	给药第 14 天
对照	-	197.60 ± 3.27	240.40 ± 5.79	266.20 ± 34.18
模型	-	196.50 ± 2.66	235.80 ± 4.44	211.00 ± 13.75 ³⁾
平胃散	1.5	196.70 ± 2.45	231.30 ± 4.01	212.00 ± 4.05 ²⁾
	3.0	198.20 ± 3.72	225.80 ± 4.91	221.80 ± 3.91 ¹⁾
	6.0	193.40 ± 2.32	236.40 ± 7.78	235.20 ± 11.09 ⁴⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$;与模型组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$,⁶⁾ $P < 0.001$ (表 2~4 同)。

表 2 平胃散对湿困脾胃证大鼠力竭游泳时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	游泳时间/s
对照	-	826.30 ± 102.97
模型	-	477.30 ± 84.84 ³⁾
平胃散	1.5	629.10 ± 111.19 ^{3,5)}
	3.0	653.60 ± 99.18 ^{3,6)}
	6.0	633.70 ± 88.65 ^{3,5)}

($P < 0.001$);平胃散各剂量组 SUN 较模型组有不同程度降低,其中高、中剂量组 BUN 含量与模型组比较差异显著($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 平胃散对湿困脾胃证大鼠 LA,LDH,SUN 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	LA /mmol·L ⁻¹	SLDH /U·L ⁻¹	SUN /mmol·L ⁻¹
对照	-	5.81 ± 1.17	2 061.10 ± 799.14	6.21 ± 1.29
模型	-	6.58 ± 1.43	1 718.70 ± 415.65	9.14 ± 1.06 ³⁾
平胃散	1.5	5.86 ± 0.98	1 816.10 ± 675.30	8.37 ± 0.86 ³⁾
	3.0	5.53 ± 0.89	1 947.00 ± 659.92	8.07 ± 1.09 ^{3,4)}
	6.0	5.73 ± 2.04	1 685.50 ± 293.48	8.08 ± 1.05 ^{3,4)}

3.4 血红蛋白和肝糖原测定 各组大鼠的血红蛋白含量两两组间比较均无显著性差异。与空白对照组比较,模型组肝糖原含量明显下降($P < 0.05$)。平胃散高剂量组的肝糖原含量显著高于模型组($P < 0.01$),而平胃散低、中剂量肝糖原含量较模型组仅有升高的趋势,无统计学意义。见表 4。

4 讨论

平胃散是治疗湿证的经典名方,广泛应用于诸多疾病属湿困脾胃证的临床治疗。湿邪困脾常使人处于亚健康状态,精神不振,倦怠嗜卧、头重如裹、少气懒言、不思饮食、脘腹不适,并能降低人体免疫力,使生活质量、工作效率大大降低。中医把倦、乏、怠、惰、困、怠、疲、无力、重、酸软、弱等症候的描述都归

表 4 平胃散对湿困脾胃证模型大鼠 Hb, 肝糖原含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·L ⁻¹	Hb/g·L ⁻¹	肝糖原/mg·g ⁻¹
空白	-	1.151 ± 0.017	13.02 ± 2.73
模型	-	1.131 ± 0.019	11.09 ± 1.22 ¹⁾
平胃散	1.5	1.154 ± 0.022	11.73 ± 0.84
	3.0	1.133 ± 0.034	11.81 ± 1.95
	6.0	1.168 ± 0.020	13.71 ± 2.86 ⁵⁾

类于疲劳的范畴,而疲劳的产生与脾脏的关系尤为密切。脾主运化和四肢肌肉,湿困中焦导致脾运失常,从而出现腹胀、便溏、食欲不振等消化吸收功能的异常;脾运障碍,谷气不充,气血匮乏,可致疲乏无力,不耐劳作^[6]。

疲劳的最直接和最客观的表现是运动耐力的下降,力竭游泳时间是反映运动耐力的重要指标。实验结果显示,平胃散能显著地延长大鼠力竭游泳时间,其中以高剂量组最为明显。表明平胃散可明显提高大鼠的运动耐力。长时间的剧烈运动将导致机体相对缺氧和糖酵解作用加快,进而产生大量的乳酸。LA 含量增加使得肌肉中氢离子浓度上升,pH 下降,引起一系列生化变化,导致机体疲劳。LDH 催化糖代谢中乳酸和丙酮酸之间的相互转变,LA 在 LDH 催化下可重新形成丙酮酸,LDH 活性大小影响着 LA 的清除。二者常作为反映机体疲劳程度的生化指标^[7]。本研究结果显示,各组大鼠血浆 LA 含量、SLDH 活性两两组间比较均无显著性差异,说明湿困脾胃证动物的疲劳状态不同于运动性疲劳,湿困脾胃证大鼠并不存在肌肉收缩时供氧不足,或无氧代谢能力减退的情况,模型组动物运动耐力下降与 LA 含量、SLDH 活性没有相关性,因而推测平胃散并不是通过减少乳酸生成或增强 LDH 的活性来提高湿困脾胃证大鼠的运动能力的。

尿素氮是人体内蛋白质氨基酸代谢的评定指标,血液中尿素氮浓度高低能反应机体对运动负荷的适应情况^[8]。通常血清尿素氮含量随运动负荷增加而升高,身体对负荷适应性越差,则尿素氮产生越多。实验结果表明,模型组 SUN 较空白组明显升高,平胃散高、中剂量组大鼠 SUN 较模型组显著降低,表明该方可增强湿困脾胃证大鼠身体对负荷的适应性,减少在大量运动负荷下的蛋白质与氨基酸的分解。

大量的研究表明运动导致的体力衰竭总是和肌糖原的耗竭同时发生的。随着肌糖原消耗的不断增加,机体为维持血糖水平,将动用肝糖原而导致肝糖原减少,因此肝糖原含量是反映疲劳程度的敏感指标。实验结果显示,模型组肝糖原含量较空白组明显下降,平胃散高剂量组的肝糖原含量显著高于模型组,提示平胃散可能通过提高模型大鼠肝糖原的含量而改善疲劳状态。红细胞内含大量血红蛋白,血红蛋白的主要功能在于携带氧气(O₂)和二氧化碳(CO₂),血红蛋白含量高低与运动能力密切相关^[9]。本实验中各组大鼠的血红蛋白含量两两组间比较均无显著性差异,说明平胃散对湿困脾胃证大鼠血红蛋白含量的影响不明显。

平胃散对湿困脾胃证疲劳状态的有一定的改善作用,其作用机制可能与其能增强身体对负荷的适应性,减少在大量运动负荷下的蛋白质与氨基酸的分解,以及提高模型大鼠肝糖原的含量有关。

[参考文献]

[1] 张丰华,黄秀深,周艳霞,等.平胃散对湿困脾胃证肠黏膜及离子泵损伤修复作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):130.

[2] 黄秀深,沈涛,刘伟,等.平胃散对湿困脾胃证模型大鼠部分免疫功能的影响[J].中医杂志,2007,48(8):730.

[3] 罗玉熙.平胃散治疗湿困脾胃证大鼠的作用机制初探[D].成都:成都中医药大学,2007:14.

[4] 张丰华,黄秀深,刘伟,等.湿困脾胃证动物模型的实验研究—宏观体征研究[J].成都中医药大学学报,2008,31(2):36.

[5] 蔡茁,赵晓山,靳文,等.维康颗粒预防大鼠疲劳型亚健康的实验研究[J].广东药学院学报,2009,25(5):504.

[6] 贾丹兵,李春杰,李乃民,等.论疲劳与“亚健康”的关系[J].中华中医药学刊,2010,28(5):938.

[7] 宋李亚,石君杰,梅诗雪,等.仙鹤草对抗大鼠运动性疲劳的实验研究[J].现代中西医结合杂志,2011,35(20):4482.

[8] 谭为,余克强,刘艳艳,等.三七预防疲劳型亚健康的实验研究[J].江苏中医药,2012,44(2):70.

[9] 马莉.红景天昔抗疲劳作用及其机制的实验研究[D].上海:第二军医大学,2006:23.

[责任编辑 李玉洁]