

郁金散对大肠湿热证模型大鼠血清及肠道组织胃肠激素的影响

文艳巧, 姚万玲, 杨朝雪, 马琪, 张晓松, 纪鹏, 华永丽, 魏彦明*

(甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070)

摘要: 探讨郁金散对大肠湿热证模型大鼠血清和肠道组织胃肠激素的影响。Wistar 大鼠 60 只, 体重 180~220 g, 随机分为正常对照组、大肠湿热证模型组、自愈组、郁金散高、中、低剂量治疗组, 每组 10 只。通过自由饮用蜂蜜水; 前 10 d 禁食与饲喂充足饲料并灌胃猪油隔日交替进行; 之后 5 d 每天灌白酒, 并置于高温高湿环境 ($8 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$); 然后腹腔注射大肠杆菌, 24 h 后再注射一次建立大肠湿热证大鼠模型。造模成功后, 分别给予高 ($10.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中 ($5.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低 ($2.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 剂量郁金散进行治疗。整个试验过程中观察大鼠的临床症状和体征, 记录体重变化, 检测血清和回肠、结肠组织中的胃肠激素含量。结果显示: 模型大鼠出现便溏、粪便色黄恶臭、肛门红肿、发热等症状和体征。正常组体重逐渐上升, 模型大鼠造模期间体重呈现先波状上升、再逐渐下降的趋势, 郁金散治疗后体重呈逐渐上升的趋势, 其中以高剂量组回升最明显, 但各组均无显著性差异 ($P > 0.05$)。与正常对照组相比, 模型组 and 自愈组大鼠血清、回肠及结肠组织中胃动素 (MTL)、胃泌素 (GAS)、P 物质 (SP) 含量极显著或显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 血管活性肠肽 (VIP) 无显著变化, 生长抑素 (SS) 含量极显著降低 ($P < 0.01$); 与自愈组相比, 各剂量郁金散治疗后, MTL、GAS、SP、VIP 和 SS 都有不同程度的回调, 以高剂量组回调最为明显, 其中高剂量组大鼠血清、回肠、结肠中 MTL、GAS 和 SP 极显著或显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), SS 极显著或显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。大肠湿热证模型大鼠机体出现了胃肠激素紊乱, 表现为 MTL、GAS、SP 和 VIP 含量升高, 而 SS 含量降低, 郁金散能改善大肠湿热证模型大鼠机体胃肠激素异常水平, 且高剂量的治疗效果最好。

关键词: 大肠湿热证; 郁金散; 大鼠; 胃肠激素

中图分类号: S853.9

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2017)06-1140-10

Effects of Yujin Powder on Gastrointestinal Hormone in Serum and Intestinal Tissue of Large Intestine Dampness-heat Syndrome Rat Model

WEN Yan-qiao, YAO Wan-ling, YANG Chao-xue, MA Qi, ZHANG Xiao-song,
JI Peng, HUA Yong-li, WEI Yan-ming*

(College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: This experiment was conducted to explore the effects of Yujin Powder on gastrointestinal hormone in rat model of serum, ileum and colon tissue of large intestine dampness-heat syndrome (LIDHS) rat model. Sixty Wistar rats (180-220 g) were randomly divided into 6 groups with 10 rats in each group: normal control group, model group of LIDHS, self-healing group, high, middle and low dose of Yujin Powder groups. The LIDHS model was established through the following steps: let them drink honey water freely; in the first 10 days, fasting and sufficient feed combined with gavage of lard were alternately performed; the rats were gavaged with wine and put in high temperature and high humidity environment ($8 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$) during the following 5

收稿日期: 2016-11-14

基金项目: 国家自然科学基金(31472234); 国家肉牛/牦牛产业技术体系(GARS-38); 公益性行业(农业)科技专项(201403051)

作者简介: 文艳巧(1990-), 女, 硕士生, 主要从事中兽医学研究, E-mail: 13659465092@163.com

* 通信作者: 魏彦明, 教授, 博士生导师, 主要从事中兽医学及中药药理学研究, E-mail: weiyym@gsau.edu.cn

days, and then they were intraperitoneally injected with *Escherichia coli* once again after 24 hours. After establishment of the model, the rats were treated with high ($10.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), middle ($5.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and low-dose ($2.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Yujin Powder, respectively. During the experiment, the clinical symptoms and signs of rats were observed, weights were recorded and the contents of gastrointestinal hormone in serum and ileum and colon tissue were detected. Results were as follows: Model rats appeared loose stools. Their feces were yellow and rotten. The anus was red and swollen and so on. The weights of normal group were gradually increase. The weights of model rats showed a trend from fluctuating rise to gradually decline. After treatment with all doses of Yujin Powder, the weights gradually rose, especially in the high dose group, but no significant different was found. Compared with normal group, the contents of motilin (MTL), gastrin (GAS), substance P (SP) increased significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) in serum, ileum and colon tissue in model and self-healing groups. Somatostatin (SS) decreased significantly ($P < 0.01$) and vasoactive intestinal peptide (VIP) showed no significant changes. Compared with self-healing group, after treatment with various doses of Yujin Powder, the above-mentioned indexes tend to normal condition to varying degrees, especially in the high dose group. In the high dose group, the contents of MTL, GAS and SP decreased significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and SS increased significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) in serum and ileum and colon tissue. It was demonstrated that the gastrointestinal hormones presented disorder in LIDHS rat model, that the contents of MTL, GAS, SP and VIP significantly increased and SS declined in LIDHS rat model. Yujin Powder could significantly adjust the disorder state of gastrointestinal hormone in LIDHS model rat and the effects of high dose was the best.

Key words: large intestine dampness-heat syndrome (LIDHS); Yujin Powder; rat; gastrointestinal hormone

畜禽大肠湿热证是兽医临床常见多发病证, 主要以腹痛, 腹泻, 粪便黏腻色黄秽臭, 体温升高, 口渴喜饮, 脉滑数为主要症状^[1], 大肠湿热证与普通腹泻不能固摄所表现的大便滑脱失禁有区别, 其主要因湿热内犯大肠、湿性黏腻表现为下痢黏腻主要特点^[2]。常见于现代医学的急性胃肠炎、细菌性痢疾等疾病^[3]。随着集约化养殖和畜禽流动性的增加, 猪、牛和鸡等畜禽中与大肠湿热证相关的疾病呈明显上升趋势^[4], 给养殖业造成了巨大的经济损失。目前, 对腹泻性疾病的预防和治疗大多采用抗生素等西药, 较少从中兽医的角度进行辩证施治。而抗生素等西药治疗对畜禽湿热泄泻类疾病治疗效果不佳, 且长期使用容易产生耐药性及药物残留, 对人类健康构成潜在威胁^[5]。

兽医临床实践及相关研究报道, 传统中(兽)药郁金散对大肠湿热证有较好的治疗效果^[2,6]。郁金散方出《元亨疗马集》, 由郁金、诃子、黄芩、大黄、黄连、栀子、白芍、黄柏 8 味中药组成, 是兽医临床中治疗大肠湿热证的经典方剂之一, 具有清热解毒, 涩肠

止泻的功能, 但其现代药理学作用机制还不够明确。

大肠湿热证以胃肠等消化系统为主要病变中心^[7], 消化道的运动主要受胃肠神经系统的调节, 而胃肠激素是胃肠运动调节机制中的重要因素^[8], 是由消化道的内分泌(APUD)细胞分泌的主要以胃肠系统为效应器的一类激素的总称。其主要作用是广泛参与调节消化道分泌、吸收、运动及其他激素的分泌, 并具有营养和细胞保护作用^[9]。现代研究证明, 湿热证患者存在胃肠激素异常现象^[10]。笔者通过“高糖高脂, 饥饱失常饮食+湿热环境+饮酒+大肠杆菌”的方法建立大肠湿热证大鼠模型, 检测各组大鼠的血清和回肠、结肠组织中胃肠激素水平的变化, 来从郁金散对大肠湿热证动物模型机体胃肠激素的调控方面探讨其治疗作用机制, 为开发治疗大肠湿热证药物提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级 Wistar 大鼠 60 只

[SCXK(甘)2013-0002], 体重 180~220 g 雌雄各半, 由兰州大学医学院实验动物中心提供。

1.1.2 药物 郁金散: 白芍、诃子各 15 g, 郁金、黄芩、黄连、栀子、黄柏各 30 g, 大黄 60 g。以上中药均购自甘肃西域阳光大药房, 经甘肃农业大学中兽医学教研室鉴定。

1.1.3 菌种及试剂 产毒性大肠杆菌 0101, 由中国兽药药品监察所提供; 胰蛋白胨, 批号 20140608, 北京奥博星生物技术有限责任公司产品; 牛肉膏, 批号 20131018, 北京奥博星生物技术有限责任公司产品; 营养琼脂, 批号 20140807, 青岛高科园海博生物技术有限公司产品; 胃动素 (MTL)、胃泌素 (GAS)、P 物质 (SP)、血管活性肠肽 (VIP)、生长抑素 (SS) ELISA 试剂盒, 购于北京奇松生物技术有限公司。

1.1.4 实验仪器 大鼠代谢笼, 南京便诊生物科技有限公司; DZ5-WS 多管架自动平衡离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; DM 型内热式玻璃纤维电热套, 山东省鄞城永兴仪器厂; 动物肛温计 (Vet Thermometer), 深圳亿思达科技集团有限公司; iMark 型酶标仪, 美国 BIO-RAD 公司; HH-S 恒温水浴锅, 金坛市恒丰仪器厂; YP2002N 型电子天平, 上海精密科学仪器有限公司; 旋转蒸发仪 RE-6000, 上海亚荣生化仪器厂; 紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司; LRH-70 生化培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; SW-CJ-2G 超净台, 苏州净化工作台设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 药物制备 先将全部药物放入 10 倍水中浸泡 30 min, 以武火煮沸, 以文火煎煮 30 min, 纱布过滤; 药渣再加入 6 倍水, 煎煮 30 min; 合并两次滤液, 布氏漏斗抽滤, 根据《中兽医学》^[11] 和《2010 版兽药典》^[12] 计算大鼠给药剂量, 以 $10 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ 大鼠的灌胃量计算药物浓缩的浓度, 水浴浓缩至浓度 2 倍临床等效剂量 ($1.04 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 即高剂量), 置 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。中剂量和低剂量临用前用蒸馏水稀释至所需浓度, 即临床等效量 ($0.52 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和 $1/2$ 临床等效剂量 ($0.26 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

1.2.2 大肠杆菌菌悬液的制备 首先将大肠杆菌冻干粉活化, 菌种保存在 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱里, 攻毒前室温下解冻, 接种至肉汤培养基中, $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下振荡培养至所需浓度, 置 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。

1.2.3 动物分组及造模 大鼠适应性喂养 7 d

后, 将 60 只 Wistar 大鼠随机分为 6 组: 正常对照组、模型组、自愈组、郁金散高剂量组、郁金散中剂量组、郁金散低剂量组, 每组 10 只。正常对照组: 普通饲料饲养, 自然环境 (温度 $21 \sim 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $45\% \sim 65\%$)。在相关学者^[13-17] 建立大肠湿热证、湿热泄泻、脾胃湿热等动物模型的基础上, 进行综合和调整采用如下方法进行大肠湿热证模型复制: $300 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蜂蜜水自由饮水, 单日禁食, 双日喂以充足普通饲料并灌服猪油 $20 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, 持续 10 d; 然后每天灌白酒 (北京红星二锅头, 56°) $10 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ 后, 将大鼠置于高温仓中 (温度 $33 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $85\% \sim 95\%$), 每日持续 8 h, 共 5 d; 再以产毒性大肠杆菌菌液 ($1.69 \times 10^9 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 腹腔注射 ($1 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$), 24 h 后再注射 1 次 ($0.5 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$), 自然环境下再饲养 1 d; 郁金散各剂量治疗组、自愈组按上述方法造模; 正常对照组灌胃、腹腔注射等量生理盐水。郁金散各剂量治疗组: 按上述方法造模后, 郁金散高、中、低剂量组分别以 10、4、5、2、2、6 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃, 每隔 24 h 灌胃一次, 连续灌胃方药 5 d, 正常对照组和自愈组灌胃等量的生理盐水, 第 6 天处死大鼠取样。模型组在造模结束后 1 d 处死大鼠取样。

1.2.4 症状体征的观察 造模过程中, 每天上午观察大鼠的精神状态, 活动情况, 被毛、饮食欲, 口鼻、舌苔颜色, 排便次数, 尿液等, 并记录体重。造模前、造模后及治疗后用数字体温计测定大鼠的体温, 以体温计缓慢插入肛门内 2 cm 为准。

1.2.5 标本采集 动物处死前禁食 12 h, 腹腔注射 1% 的戊巴比妥钠麻醉大鼠 ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 开腹, 用采血针从腹主动脉取 2 mL 动脉血, 收集入真空采血管, 静置 2~3 h, 室温下 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。吸取血迹, 取距离回盲瓣 1.5 cm 的回肠、结肠各约 1 cm, 准确称取 0.5 g 左右, 按 1:5 的比例尽快加入生理盐水于匀浆器中碾磨制成匀浆, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 取上清, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

1.2.6 指标检测 按照试剂盒说明书用酶联免疫 (ELISA) 法检测血清与回、结肠组织匀浆液上清液的 MTL、GAS、SP、SS、VIP 指标。

1.3 统计学处理

数据以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 23.0 统计软件进行单因素方差分析 (ANOVA) 各组数据间的差异显著性, $P < 0.05$ 被认为有统计学意义。

2 结果

2.1 主要症状体征变化

正常对照组:大鼠活跃,被毛光泽,食欲好,大小便正常。造模各组随着造模时间的推移,被毛逐渐变得泛黄粗乱,高温高湿阶段,体温有一定程度的升高,在 37.62~38.04 °C 范围内,移出高温仓后略低于正常体温,为 36.01~36.50 °C。高温高湿阶段之后,在攻毒大肠杆菌 4 h 后,精神沉郁、嗜卧、羞明、蜷缩,眼睑红肿分泌物增多,饮食欲减退,4~6 h 出现腹泻症状,体温升高,肛温达到峰值 39.51 °C,肛

周红肿,出现不同程度的便溏或黏液便、色黄而臭,肛周及尾根污秽(图 1)。各剂量郁金散治疗组,给药 24 h 后大鼠精神状态有所好转,饮食量、活动量逐渐增加,体温也逐渐下降,肛温在 38 °C 左右波动,高剂量组 2 d 后、中低剂量组 3 d 后症状明显减轻,体温恢复到正常水平,被毛渐有光泽,腹泻症状减轻,5 d 后症状基本恢复正常。结果表明,大肠湿热证大鼠模型复制成功,郁金散使模型大鼠的症状体征得到恢复。表 1 为大鼠生物学表征评分观察表。各组大鼠的评分:模型组>自愈组>低剂量组>中剂量组>高剂量组>正常对照组。

表 1 实验大鼠生物学表征评分观察表

Table 1 Biological characterization of experimental rats rating list

记分 Scoring	精神状态 Mental state	活动状态 Active state	生长状态 Growth status	被毛 Coat	眼睛 Eye	饮食欲 Dipsa and appetite	粪便颜色 Feces color	粪便形状 Feces shape	肛门 Anus
0	机警灵敏	活泼好动	体重增加	被毛洁白、光亮、柔顺	眼睛瞪满	正常饮食	色黑	干而成形	肛门发白
1	精神不佳、反应稍有迟钝	自主活动减少	体重减轻	被毛枯黄、无光泽	眼裂变窄	食欲不振,饮水少	褐色	黏软有形	肛门略红
2	精神萎顿	倦怠懒动、四肢蜷缩、行动迟缓	消瘦	被毛干枯或结穗打卷,无光泽	眯眼	饮食量明显减少	黄褐色	不成形、但不稀溏	肛门红肿
3	精神萎靡不振	嗜卧懒动,攻击性、对抗性行为消失	极度消瘦	全身被毛枯槁、稀疏、脱落	闭目/眼睛有分泌物	不饮水、不采食	黄色	稀溏、黏腻,恶臭	肛门红肿充血、肛门扩张



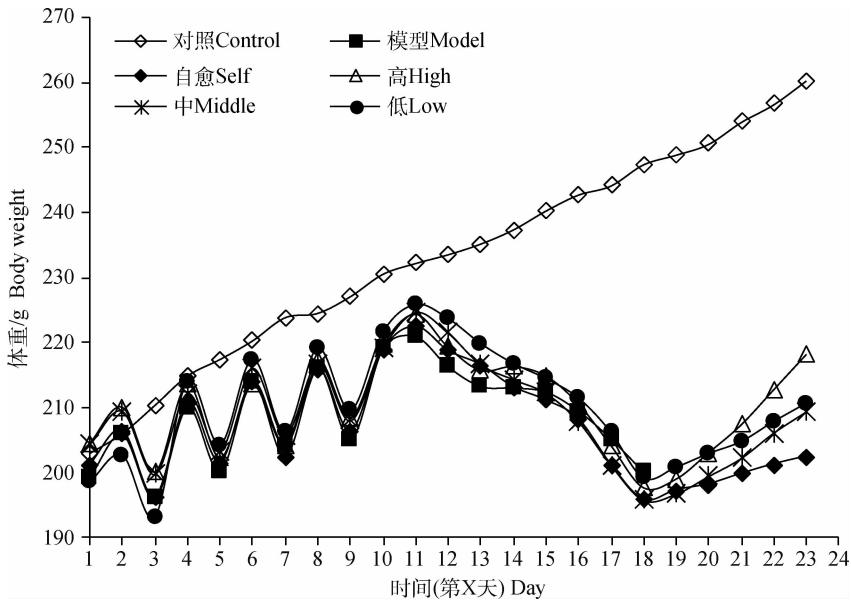
图 1 大肠湿热证模型大鼠的临床症状

Fig. 1 Clinical symptoms of large intestine dampness-heat syndrome model rats

2.2 大鼠的体重变化

各组大鼠体重变化情况如图 2,各组大鼠体重在造模前差异不显著,造模过程中,空白对照组大鼠体重逐渐增长,而其他各组在造模前 11 天体重增长缓慢呈波浪形变化,饲喂充足饲料并灌油当天体重上升,禁食的当天体重下降,但总趋势是上升的。第

11—15 天,高温高湿体重逐渐下降;第 16—17 天攻毒阶段体重下降更加剧烈;第 18 天有缓慢上升趋势,第 19—23 天,治疗期间郁金散各剂量治疗组和自愈组大鼠的体重逐渐上升,其中高剂量组上升最明显。



“对照”代表空白对照组,“模型”代表大肠湿热证模型组,“自愈”代表大肠湿热证自愈组,“高”代表郁金散高剂量治疗组,“中”代表郁金散中剂量治疗组,“低”代表郁金散低剂量治疗组。下同
“Control” is normal group (C). “Model” is model group (M). “Self” is self-healing groups (S). “High” is high-dose group (HD). “Middle” is middle-dose group (MD). “Low” is low-dose group (LD). The same as below

图2 各组大鼠在整个过程中的体重变化

Fig. 2 Change of body weight of each group in the whole process

2.3 血清中胃肠激素含量的变化

如图3所示,与正常组相比,模型组中MTL、GAS和SP含量极显著升高($P < 0.01$),VIP含量有升高趋势($P > 0.05$),SS含量极显著降低($P < 0.01$);自愈组中SP含量极显著升高($P < 0.01$),MTL和GAS含量显著升高($P < 0.05$),SS含量极显著降低($P < 0.01$)。郁金散各剂量治疗组与自愈组相比,高剂量组中MTL、GAS及SP含量均显著降低($P < 0.05$),VIP含量有降低趋势($P > 0.05$),SS含量显著升高($P < 0.05$);中、低剂量组中MTL、GAS、VIP和SP含量均有降低趋势($P > 0.05$),SS含量有升高趋势($P > 0.05$)。结果表明:大肠湿热证模型大鼠血清中几个胃肠激素水平发生异常,各剂量郁金散均能回调模型大鼠血清中的MTL、GAS、SP、SS和VIP含量,且高剂量组效果最好,即郁金散高剂量对大肠湿热证模型的治疗效果最显著。

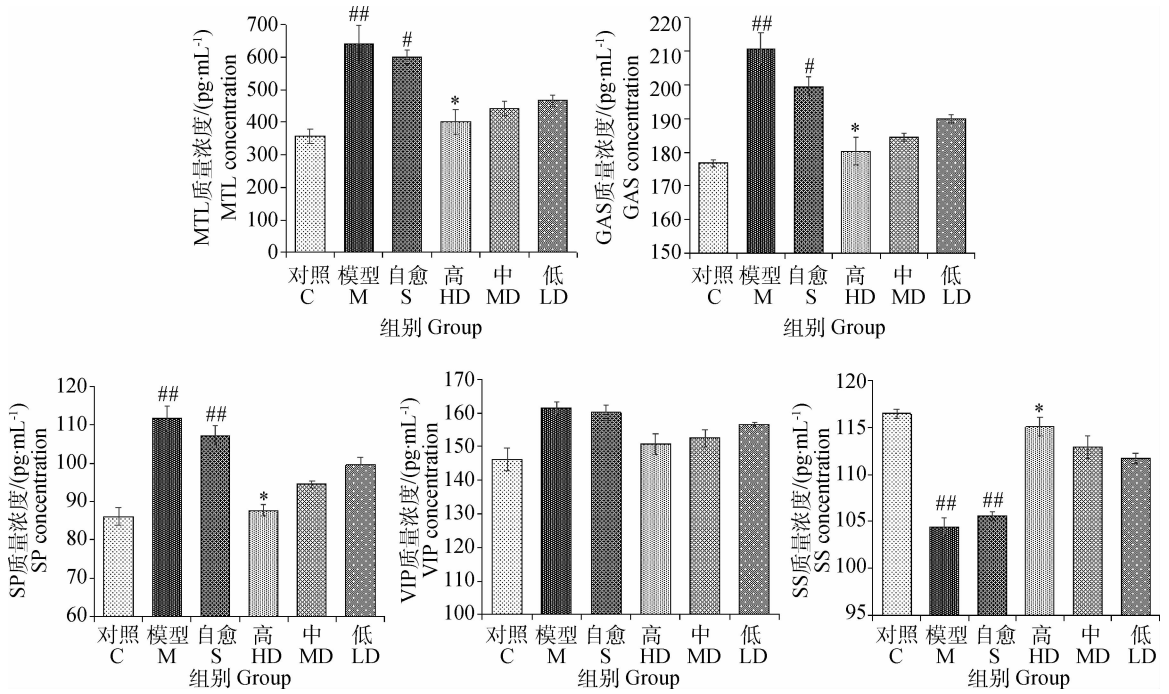
2.4 回肠组织中胃肠激素含量的变化

如图4所示,与正常组相比,模型组和自愈组中MTL、GAS和SP含量极显著升高($P < 0.01$),VIP含量有升高趋势($P > 0.05$),SS含量极显著降低($P < 0.01$)。郁金散各剂量治疗组与自愈组相比,

高剂量组中MTL和GAS含量均极显著降低($P < 0.01$),SP含量显著降低($P < 0.05$),VIP含量有降低趋势($P > 0.05$),SS含量极显著升高($P < 0.01$);中剂量组中MTL和GAS含量均显著降低($P < 0.05$),SP和VIP含量有降低趋势($P > 0.05$),SS含量显著升高($P < 0.05$);低剂量组中MTL、GAS、VIP和SP含量均有降低趋势($P > 0.05$),SS含量有升高趋势($P > 0.05$)。结果表明:大肠湿热证模型大鼠回肠组织中胃肠激素水平发生异常,各剂量郁金散均能回调模型大鼠回肠组织中的MTL、GAS、SP、SS和VIP含量,且高剂量组效果最好,即郁金散高剂量对大肠湿热证模型的治疗效果最显著。

2.5 结肠组织中胃肠激素含量的变化

如图5所示,与正常组相比,模型组和自愈组中MTL、GAS和SP含量极显著升高($P < 0.01$),VIP含量有升高趋势($P > 0.05$),SS含量极显著降低($P < 0.01$)。郁金散各剂量治疗组与自愈组相比,高剂量组中SP含量极显著降低($P < 0.01$),MTL和GAS含量显著降低($P < 0.05$),VIP含量有降低趋势($P > 0.05$),SS含量极显著升高($P < 0.01$);中剂量组中SP含量显著降低($P < 0.05$),MTL、GAS和



与正常对照组比较, #, $P < 0.05$, ##, $P < 0.01$ 。与自愈组比较, *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$ 。下同

Compared with normal group, #, $P < 0.05$, ##, $P < 0.01$. Compared with self-healing groups, *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$. The same as below

图3 郁金散对大肠湿热证大鼠血清中 MTL、GAS、SP、VIP、SS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Effects of Yujin Powder on serum MTL, GAS, SP, VIP and SS in rat model of large intestine dampness-heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

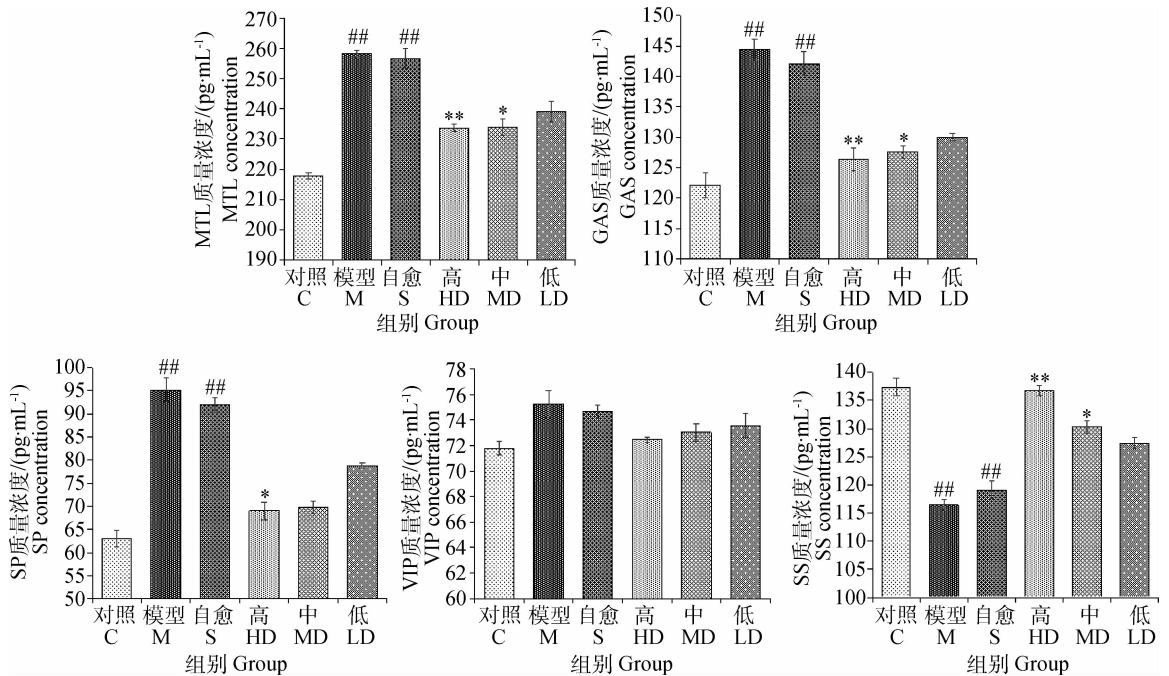


图4 郁金散对大肠湿热证大鼠回肠中 MTL、GAS、SP、VIP、SS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Effects of Yujin Powder on ileum MTL, GAS, SP, VIP and SS in rat model of large intestine dampness-heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

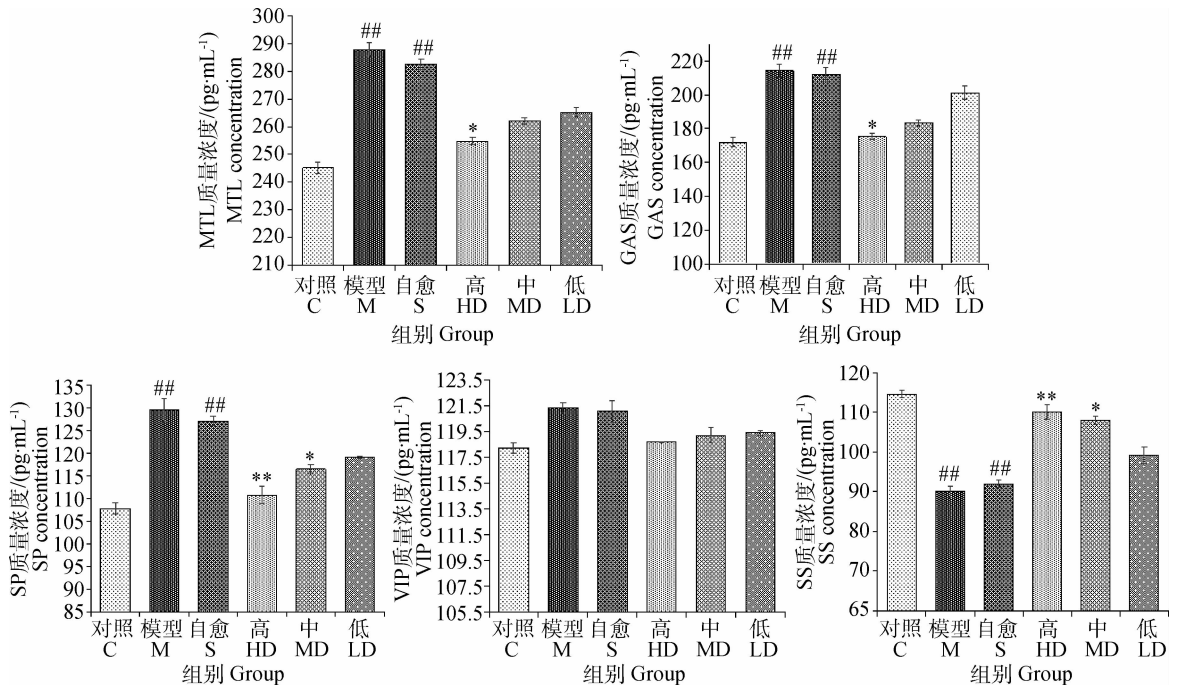


图5 郁金散对大肠湿热证大鼠结肠中 MTL、GAS、SP、VIP、SS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 5 Effects of Yujin Powder on colon MTL, GAS, SP, VIP and SS in rat model of large intestine dampness-heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n=10$)

VIP 含量有降低趋势 ($P>0.05$), SS 含量显著升高 ($P<0.05$); 低剂量组中 MTL、GAS、VIP 和 SP 含量均有降低趋势 ($P>0.05$), SS 含量有升高趋势 ($P>0.05$)。结果表明: 大肠湿热证模型大鼠结肠组织中胃肠激素水平发生异常, 各剂量郁金散均能回调模型大鼠结肠组织中的 MTL、GAS、SP、SS 和 VIP 含量, 且高剂量组效果最好, 即郁金散高剂量对大肠湿热证模型的治疗效果最佳。

3 讨论

大肠湿热证是指由于湿热侵犯肠道, 体温升高, 传导失职, 临床表现为以泄泻下痢为主要症状^[8]。预试验结果表明: 仅有“高糖高脂+高温高湿”这些条件不能形成大肠湿热主证, 在实验大鼠身上只出现精神萎靡、食欲减退、嗜卧懒动、粪便黏而不稀等一般相应症状, 在此基础上感染生物因子才能形成典型的大肠湿热症候, 进一步说明“生物因子”在大肠湿热证发病中的重要性。因此, 本试验采用“高糖高脂、饥饱失常饮食+高温高湿+饮酒+大肠杆菌”的复合因素建立大肠湿热证大鼠模型。饮蜂蜜水、禁食与饲喂充足饲料并灌胃猪油隔日交替进行的方法来模拟过食肥甘厚味、饥饱失常损伤脾胃造成内

湿; 设计高温高湿环境来模拟外在湿热环境, 外湿引动内湿; 湿邪日久多化热; 设计灌酒的方法, 因酒既能助湿又能助热; 大肠杆菌为生物致病因子, 诱导腹泻。本试验中, 大肠湿热证模型大鼠出现精神不振, 食欲减退, 体重下降, 被毛泛黄, 身体蜷缩, 肛周红肿松弛, 大便稀溏、黏液便, 色黄而臭, 肛周及尾部粘污秽, 肛温升高等主要临床症状与体征, 这与大肠湿热证的诊断标准相吻合^[18-19], 经郁金散治疗后, 症状、体征得到明显改善, 从药物反证的角度也说明模型复制成功。所以, 本试验中大肠湿热证大鼠模型造模成功。

胃肠激素对胃肠运动的调控作用主要通过两个途径: (1) 通过血循环以内分泌形式作用于胃肠平滑肌细胞相应的受体; (2) 经胃肠肽能神经释放递质对胃肠运动起调控作用^[10]。因此, 本试验中同时测定了血清和肠组织中的胃肠激素浓度。本试验结果表明, 大肠湿热模型组和自愈组中血清、回肠及结肠组织中 MTL、GAS、SP、VIP 的含量均升高, SS 的含量均降低。邱泽安等^[20]研究表明, 脾胃湿热证患者血浆 MTL、GAS、VIP 的含量升高, SS 的含量降低; 沈静^[21]研究表明, 溃疡性结肠炎模型大鼠 SP 的含量显著升高, P. M. Hellström 等^[22]给猫静脉注射

SP可增加结肠肌张力,且对远端结肠作用更强,这些结果都与本试验研究结果相符。其中 MTL 能刺激胃小体运动,主要生理功能为刺激胃和肠的运动,对消化道运动的调节有重要作用^[23];模型动物的食欲减退,大便溏泻等症状可能与 MTL 的含量改变有关,MTL 含量增高,可使胃体和胃肠节律性收缩增强,促使胃肠蠕动增强,促进其排空。且大肠杆菌可引发胃肠黏膜的炎性病变,胃肠黏膜凋亡细胞在炎症病理变化中明显增多,导致 GAS 分泌增多,血清中 GAS 水平上升,导致胃酸分泌增多,再加上高温高湿性黏腻,就会出现大便黏滞等消化道症状,与 GAS 刺激胃酸、胃蛋白酶分泌,增强胃肠肌收缩运动以及促进黏膜生长的作用^[20]相一致。SP 可直接引起胃和幽门平滑肌、小肠、大肠的纵形和环形肌的收缩,近年研究表明,SP 可能是通过参与消化间期移行性复合运动来调节胃肠蠕动的^[24];本试验结果也表明 SP 含量增高,说明 SP 与 MTL 共同发挥对胃肠道运动的刺激作用增强,SP 分泌增多使肠平滑肌兴奋性增高,收缩增强,导致肠管蠕动加快,最终造成腹痛腹泻。SS 主要对胃肠道的运动、吸收及胃酸、胃蛋白酶的分泌等功能具有普遍抑制作用^[25],故对胃肠黏膜的损伤具有保护作用^[26];SS 含量降低,说明 SS 对消化系统的抑制作用减弱,其对胃酸、胃蛋白酶等的分泌抑制作用解除,胃肠的蠕动可能加强,与 MTL 和 GAS 的含量增高相一致。VIP 主要由肠道神经元释放,在消化道的运动方面,VIP 作为抑制胃肠运动的主要神经递质之一,具有松弛胃肠平滑肌作用^[27];大肠湿热证模型组与自愈组中 VIP 的含量没有显著变化,说明 VIP 对消化道平滑肌松弛效果不明显,这与 MTL、GAS、SP 分泌增多,SS 分泌减少,使得胃肠蠕动增强是一致的。因此,从现代胃肠病学角度看,大肠湿热证主要表现为胃肠运动增强而出现的一系列综合征。

经郁金散治疗后,血清及回肠、结肠中 MTL、GAS、SP、VIP 及 SS 的含量不同程度趋于正常,且高剂量组效果最好。说明郁金散能够调节大肠湿热证大鼠体内胃肠激素的紊乱。郁金散或其加减方在临床上主要用于治疗胃肠湿热积滞引起的胃肠炎、痢疾等^[12]。其方出《元亨疗马集》,由郁金、诃子、黄芩、大黄、黄连、栀子、白芍、黄柏八味药组成,具有清热解毒,涩肠止泻的功能^[12];现代药理学研究表明:方中大黄可降低大鼠血清 MTL 和 GAS 的水平^[28]。栀子、黄连能降低血中 MTL 的水平^[29],且栀子对胃

酸分泌和胃蛋白酶活性均有明显的抑制作用,并使胃张力减小^[30],由此可知,栀子可降低已升高的 GAS 含量;黄芩煎剂对肠的运动有抑制作用^[31]。且黄芩、黄柏可降低血中 GAS 的水平^[29]。有研究证实,诃子水煎液对家兔离体回肠的自发活动也有抑制作用,使肠管紧张度下降^[32],故诃子是通过降低促使胃肠运动或升高抑制胃肠运动的一些胃肠激素来抑制肠运动的,所以有很好的止泻作用。因此综合起效,郁金散能够回调大肠湿热证模型大鼠体内异常的胃肠激素水平。为进一步研究郁金散治疗大肠湿热证的实质奠定了基础。

4 结 论

大肠湿热证大鼠存在胃肠激素的紊乱,表现为 MTL、GAS、SP 和 VIP 含量升高,而 SS 含量降低。传统中药方剂郁金散能改善大肠湿热证模型大鼠胃肠激素的紊乱,显著降低血清、回肠及结肠组织中升高的 MTL、GAS、SP 的含量,明显升高 SS 的含量,且高剂量的治疗效果最好;从而推断郁金散治疗大肠湿热证的作用机制之一可能是降低胃肠激素 MTL、GAS 和 SP 的含量,以及提高 SS 的含量,发挥对胃肠道运动功能调节作用和胃肠黏膜的保护作用。

参考文献(References):

- [1] 常丽萍,吕军影,阙铁生,等. 湿热证动物模型的研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(2): 91-93.
CHANG L P, LV J Y, QUE T S, et al. Progress of animal model of damp-heat syndrome[J]. *Journal of Liaoning University of TCM*, 2011, 13(2): 91-93. (in Chinese)
- [2] 刘钟杰,许剑琴. 中兽医学[M]. 4 版. 北京: 中国农业出版社, 2011.
LIU Z J, XU J Q. Traditional Chinese veterinary medicine[M]. 4th ed. Beijing: China Agriculture Press, 2011. (in Chinese)
- [3] 李 学. 中医大肠湿热证模型研制及葛根芩连汤对其影响的研究[D]. 广州: 第一军医大学, 2007.
LI X. Research on the model of traditional medical large intestine of damp-heat syndrome and study the effect of Gegenqinliantang on it [D]. Guangzhou: First Military Medical University, 2007. (in Chinese)
- [4] 穆春雷,张传英,张开武. 白苦藿香汤治疗鸡胃肠湿热证[J]. 中兽医医药杂志, 2001, 20(6): 29-30.
MU C L, ZHANG C Y, ZHANG K W. White and

- bitter Agastache rugosus* cure the stomach and the intestine dampness-heat syndrome of chicken[J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2001, 20(6): 29-30. (in Chinese)
- [5] 成晓云. 中兽医学预防保健理论在现代畜牧养殖业中的应用[J]. 畜禽业, 2015(3): 48-49.
- GHENG X Y. Preventive veterinary health theory in the application of the modern animal husbandry and aquaculture [J]. *Livestock and Poultry Industry*, 2015(3): 48-49. (in Chinese)
- [6] 王永炎, 鲁兆麟. 中医内科学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- WANG Y Y, LU Z L. Chinese internal medicine [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011. (in Chinese)
- [7] 李学, 魏连波, 罗炳德, 等. 中医大肠湿热证模型SD大鼠肠道的病理变化[J]. 河北中医药学报, 2004, 19(1): 4-5.
- LI X, WEI L B, LUO B D, et al. Enteric pathologic changes of SD rat models with large intestinal damp-heat[J]. *Journal of Hebei TCM and Pharmacology*, 2004, 19(1): 4-5. (in Chinese)
- [8] 谭永振, 文小敏, 陈佩婵, 等. 两种胃肠激素在脾胃湿热证大鼠湿、热偏重模型中表达的研究[J]. 四川中医, 2008, 26(12): 22-24.
- TAN Y Z, WEN X M, CHEN P C, et al. An experimental study on expression of two gastrointestinal hormones in dominant wet and dominant heat type of the spleen and stomach wet heat syndrome[J]. *Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine*, 2008, 26(12): 22-24. (in Chinese)
- [9] 张小萍, 肖巍, 尹兵. 胃肠激素与中医研究概况[J]. 江西中医学院学报, 2001, 13(1): 39-40.
- ZHANG X P, XIAO W, YIN B. Gastrointestinal hormone and the Chinese medicine research [J]. *Journal of Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine*, 2001, 13(1): 39-40. (in Chinese)
- [10] 陈佩婵, 文小敏, 谭永振, 等. 三仁汤对脾胃湿热证、湿偏重证大鼠胃窦P物质、生长抑素的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(2): 22-24.
- CHEN P C, WEN X M, TAN Y Z, et al. Effects of Sanren decoction on substance P and somatostatin in rats with Damp-heat and Dominant Damp syndrome of spleen-stomach[J]. *Journal of TCM University of Hunan*, 2008, 28(2): 22-24. (in Chinese)
- [11] 胡元亮. 中兽医学[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- HU Y L. Traditional Chinese veterinary medicine [M]. Beijing: Science Press, 2013. (in Chinese)
- [12] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- CCPV. Veterinary medicine of the people's Republic of China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011. (in Chinese)
- [13] 李文龙. 秦香止泻方对湿热泄泻的临床疗效观察及作用机制研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2011.
- LI W L. Study on clinical curative effects and mechanism of damp-heat diarrhea with Qinxiang Anti-diarrhea [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2011. (in Chinese)
- [14] 慕澜. 大肠湿热证模型研制及急泻康对其影响的研究[D]. 广州: 第一军医大学, 2003.
- MU L. Research on the model of large intestine of wet heat syndrome and study the effect of Jixiekang on it [D]. Guangzhou: First Military Medical University, 2003. (in Chinese)
- [15] 邹先明. 三仁汤对大肠湿热证模型大鼠血清IL-2、IL-6、NO的影响[D]. 贵阳: 贵阳中医学院, 2013.
- ZOU X M. Effects of Sanren decoction to syndrome of dampness-heat in large intestine on serum interleukin-2, 6, and nitrogen monoxide [D]. Guiyang: Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, 2013. (in Chinese)
- [16] 刘冬梅. 健胃安中方对脾胃湿热大鼠胃粘膜环核苷酸含量的影响及组织病理学观察[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9(3): 160-161.
- LIU D M. Effects of Jiankangan on the spleen and stomach hot and humid in the rat gastric mucosa ring nucleotide content and the histopathological observation[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Digestion*, 2001, 9(3): 160-161. (in Chinese)
- [17] 刘伟. 大鼠湿困脾胃动物模型复制的实验研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2006.
- LIU W. Study of the rat model of dampness obstructing spleen-stomach syndrome [D]. Chengdu: Chengdu University of Chinese Medicine, 2006. (in Chinese)
- [18] 陈家旭, 邹小娟. 中医诊断学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- CHEN J X, ZOU X J. Diagnostics of traditional Chinese medicine [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2012. (in Chinese)
- [19] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 溃疡性结肠炎中西医结合诊疗指南(草案)[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 19(1): 61-65.

- China Association of Traditional Chinese and Western Medicine Digestive System Diseases Specialized Committee. Ulcerative colitis combine traditional Chinese and western medicine diagnosis and treatment guidelines[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Digestion*, 2011, 19(1): 61-65. (in Chinese)
- [20] 邱泽安, 吴晓黎, 孔德明, 等. 胃脘痛脾胃虚弱、脾胃湿热证与 4 种胃肠激素的变化及意义[J]. 亚太传统医药, 2007, 3(8): 28-31.
QIU Z A, WU X L, KONG D M, et al. Changes of four gut hormones in the spleen stomach deficiency (SSD) and spleen stomach damp heat (SSDH) of Weiwantong patients and its significance[J]. *Asia-Pacific Traditional Medicine*, 2007, 3(8): 28-31. (in Chinese)
- [21] 沈 静. 益气活血解毒法对溃疡性结肠炎大鼠胃肠激素影响的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2008.
SHEN J. Effect of increasing pneuma, promoting blood flow and disintoxication on Gastrointestinal Hormones in Rat Model of Ulcerative Colitis[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2008. (in Chinese)
- [22] HELLSTRÖM P M, ROSELL S. Effects of neurotensin, substance P and methionine-enkephalin on colonic motility[J]. *Acta Physiol Scand*, 1981, 113(2): 147-154.
- [23] BROWN J C, JOHNSON L P, MAGEE D F. Effect of duodenal alkalinization on gastric motility[J]. *Gastroenterology*, 1966, 50(3): 333-339.
- [24] 赵 平, 董 雷, 兰 康, 等. 多种胃肠激素在消化间期移行性复合运动中作用的研究[J]. 中华消化杂志, 2005, 25(2): 95-97.
ZHAO P, DONG L, LAN K, et al. Effects of multiple gut hormones on human interdigestive migrating motor complex[J]. *Chinese Journal of Digestion*, 2005, 25(2): 95-97. (in Chinese)
- [25] 王 丽, 朱飞燕, 石灯汉, 等. 功能性消化不良与胃肠激素的关系及中药调节胃肠激素的研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(4): 554-556.
WANG L, ZHU F Y, SHI D H, et al. Relations between functional dyspepsia and gastrointestinal hormones and research about the traditional Chinese medicine regulating gastrointestinal hormones [J]. *Journal of Zhejiang College of Traditional Chinese Medicine*, 2008, 32(4): 554-556. (in Chinese)
- [26] ABDU F, HICKS G A, HENNIG G, et al. Somatostatin sst₂ receptors inhibit peristalsis in the rat and mouse jejunum[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282(4): G624-G633.
- [27] 张闯光, 李劲亮, 郑 颖, 等. 肠易激综合征(腹泻型)与血浆血管活性肠肽、5 羟色胺的关系研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2013, 34(10): 1410-1411.
ZHANG M G, LI J L, ZHENG Y, et al. Relationship of irritable bowel syndrome (Diarrhea type), vasoactive intestinal peptide and 5-Hydroxytryptamine [J]. *Journal of Qiqihar University of Medicine*, 2013, 34(10): 1410-1411. (in Chinese)
- [28] 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): 220-224.
GAO J, CAO C Y, HE R, et al. Effect of rhubarb and atractylodis on gastrointestinal hormone levels in rats[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2012, 18(9): 220-224. (in Chinese)
- [29] 李飞艳, 邱赛红, 尹健康, 等. 常用苦寒药对大鼠胃肠激素影响的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(1): 9-11.
LI F Y, QIU S H, YIN J K, et al. Effects of common-used bitter-cold herbs on gastrointestinal hormone in rats[J]. *Journal of TCM University of Hunan*, 2007, 27(1): 9-11. (in Chinese)
- [30] 牡 丹, 苏日那, 格根塔娜, 等. 栀子的化学成分与药理作用研究[J]. 中国疗养医学, 2015, 24(1): 34-36.
MU D, SU R N, GEGENTANA, et al. Research on chemical composition and pharmacological action of gardenia[J]. *Chinese Journal of Convalescent Medicine*, 2015, 24(1): 34-36. (in Chinese)
- [31] 黄 群. 黄芩的药理活性研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(5): 226-227.
HUANG Q. Study on pharmacological activities of radix scutellariae[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2010, 12(5): 226-227. (in Chinese)
- [32] 王金华, 孙芳云, 杜冠华. 诃子的药理作用研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2006, 12(6): 45-47.
WANG J H, SUN F Y, DU G H. Modern study progress of traditional Vigur medicine[J]. *Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities*, 2006, 12(6): 45-47. (in Chinese)