

三种脾虚证模型小鼠消化吸收功能改变的比较研究

胡琳琳 高云芳 何志仙

摘要 目的 对 3 种脾虚证模型小鼠在消化吸收方面的改变进行比较。方法 实验动物分为 4 组,即对照组、大黄组、力竭游泳组和劳倦过度组。观察各组小鼠一般体征、D-木糖排泄率、血清淀粉酶活性、胃排空、肠推进速度、血清胃泌素含量、脏器指数等指标的变化。结果 3 种方法塑造的脾虚小鼠模型均出现了 D-木糖排泄率降低、胃排空、肠推进速度加快。与对照组比较,劳倦过度组的所有指标均有显著变化,而力竭游泳组的血清淀粉酶活性、脾脏指数降低不显著,大黄组的血清胃泌素含量变化、胸腺指数变化不显著。结论 劳倦过度法塑造脾虚证动物模型各指标的变化显著,大黄泻下法和力竭游泳法变化不显著。

关键词 脾虚证;动物模型;消化吸收功能

Comparative Study on Changes of Digestive and Absorptive Functions in Three Different Models of Pi-Deficiency Syndrome HU Lin-lin, GAO Yun-fang, and HE Zhi-xian *Institute of Life Sciences, Northwest University, Xi'an (710069)*

Abstract Objective To compare the changes of digestive and absorptive functions in three different models of Pi-deficiency syndrome (PDS). **Methods** Experimental mice were divided into four groups, the control group(CG), the rhubarb group (RG), the exhaustion group(EG) and the over-exertion group(OG). Criteria including general physical signs, D-xylose excretion rate, serum amylase activity, velocity of stomach emptying and enterokinesia, serum gastrin content and indexes of organs were determined before and after treatment. **Results** Decrease of D-xylose excretion rate and increase of stomach emptying and enterokinesia velocity appeared in all the three PDS models. As compared with CG, changes of all indices in OG were significant, while the decreasing of spleen index and serum amylase activity in EG, and the changes of serum gastrin content and thymus index in RG were insignificantly different. **Conclusion** All the changes in various criteria showed that PDS mice model established by over-exertion was superior to that established by frequently used methods as purging with rhubarb and exhausting by swimming.

Key words pi-deficiency syndrome; animal model; digestive and absorptive function

自 1980 年北京师范大学生物系首次用大黄复制脾虚证动物模型以来^[1],已有 16 种脾虚证动物模型相继建立^[2]。动物模型的建立,使关于脾虚证较深入的实验研究成为可能。目前研究者已对脾虚证动物消化吸收、免疫、血液流变、神经、内分泌等方面的改变进行了探讨^[3]。

但是,常用的一些造模方法还存在着许多不足,建立一个比较接近临床脾虚证的动物模型已成为脾虚证本质研究的迫切需求。

随着社会的发展,人们生活、工作的节奏越来越快,压力也越来越大,由于工作繁忙或失眠造成的睡眠

不足越来越普遍。为了更好地模拟脾虚证多方面的致病因素,本实验在以往用力竭游泳法制造脾虚证模型方法的基础上,剥夺实验动物 1/3 的睡眠时间,以塑造脾虚证动物模型。并从一般体征、消化吸收、脏器指数等方面对劳倦过度模型与大黄泻下模型、力竭游泳模型进行比较。

材料与方法

1 实验动物 ICR 小白鼠 95 只,体重 18~22 g,由西安交通大学医学院实验动物中心提供(合格证号:陕动字第 08-004 号)。

2 药物与试剂 100% 大黄制剂:大黄购自西安藻露堂药店,用自来水浸泡 1 h 后,煮沸 40 min,用纱布过滤,再加入冷水煮沸 20 min,过滤后合并两次滤液,于 60℃ 水浴浓缩成 100% (1g 生药/ml)煎液,4℃ 保存。酚红糊剂:按每 15 ml 0.02% 酚红溶液加 1 g 淀

基金项目:国家自然科学基金(No. 30370202),陕西省自然科学基金(No. DH98273)和陕西省教育厅重点科研基金(No. 00JK009)

作者单位:西北大学生命科学学院(西安 710069)

通讯作者:高云芳, Tel: 029-88302411, E-mail: gaoyunf@nwu.edu.cn

粉的比例加热调成糊剂即可。D-木糖:德国进口分装,中国医药公司北京采购站经销。血清胃泌素放射免疫试剂盒:北京北方生物技术研究生产。其他试剂均为分析纯。

3 主要仪器 721 型分光光度计:上海第三分析仪器厂。CAP-RIA 16 型 γ -计数器:Capintec Inc. USA.

4 动物分组及处理 95 只小鼠以游泳法测定动物的体质^[4],选择体质较弱的小鼠作为劳倦过度组(27 只),其余小鼠随机分为对照组(20 只)、大黄组(24 只)、力竭游泳组(24 只)。其中劳倦过度组、大黄组和力竭游泳组均为脾虚证动物模型组。实验分 3 批进行,第 1 批小鼠进行一般体征的观察、D-木糖排泄率、血清淀粉酶活性和脏器指数(脏器重/体重 $\times 1000$)的测定;第 2 批小鼠进行胃排空、肠推进速度的测定;第 3 批小鼠进行血清胃泌素含量的测定。

对照组、力竭游泳组、劳倦过度组小鼠每天按 0.5 ml/只的剂量饮用水灌胃,连续 12 天。大黄组用 100% 大黄制剂灌胃,连续 12 天。力竭游泳组和劳倦过度组小鼠每天游泳至力竭,劳倦过度组同时每天剥夺 1/3 睡眠时间(大约 5 h),连续 12 天。

5 测定项目及方法

5.1 D-木糖排泄率测定 参照文献^[5]方法,测定小鼠尿中 D-木糖含量。

5.2 血清淀粉酶活性测定 摘眼球取血,分离血清,比色法测定血清淀粉酶活性^[5]。

5.3 胃排空、肠推进速度测定 各组动物按照 25 ml/kg 体重灌服酚红糊剂,30 min 后脱臼处死动物,结扎贲门、幽门及回盲部,从幽门至回盲部 6 等分剪断小肠,依次为第 1 段、第 2 段至第 6 段,分别将胃和各段小肠取出剪碎,用蒸馏水冲洗 3 次,至洗液体积为 3 ml。而后在各管中分别加入 0.3 mol/L Ba(OH)₂ 1 ml,充分混匀后静置 3~5 min,再各加 1 ml 5% Zn-SO₄,混匀后 3 000 r/min 离心 10 min,各取上清液 3 ml 加 10% NaOH 0.5 ml,混匀后测光密度,对照标准曲线算出胃和小肠各段酚红残留率。胃排空百分率、小肠推进相对百分率(指小肠各段酚红的残留量占整个小肠酚红总量的百分比)按下列公式计算。

胃排空百分率(%) = $\frac{\text{灌入胃中酚红总量}(\text{mg}) - \text{胃中残留量}(\text{mg})}{\text{胃中酚红总量}(\text{mg})} \times 100\%$

小肠推进相对百分率(%) = $\frac{\text{小肠某段酚红残留量}(\text{mg})}{\text{小肠各段酚红残留量之和}(\text{mg})} \times 100\%$

5.4 血清胃泌素含量的测定 各组小鼠禁食 24 h 后摘眼球取血,分离血清, -20℃ 保存,放射免疫测

定法测定。

6 统计学方法 实验数据均输入 Excel 软件进行统计学分析,结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。

结 果

1 一般体征变化 在造模第 5 天后各组小鼠逐渐出现萎靡倦怠、眯眼、少动、泄泻、耳色淡白、耳朵后背、被毛散乱无光泽等脾虚证的表现,劳倦过度组小鼠较其他造模组小鼠更加懒动,受刺激反应更加迟钝,行走匍匐状。

2 3 种脾虚证模型小鼠造模前后体温、体重比较见表 1。各造模组小鼠造模后体重均有所下降,体温基本保持稳定,稍有下降。大黄组小鼠体重下降 14.69% 与造模前比较差异有显著性($P < 0.01$),力竭游泳组下降 12.60%,劳倦过度组下降 5.10%;对照组小鼠造模后体重增长 16.78%,体温升高 3.69%,与造模前比较差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 1 3 种脾虚证模型小鼠造模前后体温、体重比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	体重(g)	体温(℃)
对照	6	造模前	19.78 $\pm$ 1.74	36.05 $\pm$ 0.32
		造模后	23.10 $\pm$ 2.41*	37.38 $\pm$ 0.49**
大黄	6	造模前	20.02 $\pm$ 1.72	36.25 $\pm$ 0.31
		造模后	17.08 $\pm$ 1.20**	36.18 $\pm$ 1.04
力竭游泳	6	造模前	20.88 $\pm$ 1.04	35.82 $\pm$ 0.26
		造模后	18.25 $\pm$ 2.95	35.57 $\pm$ 0.77
劳倦过度	9	造模前	21.18 $\pm$ 1.29	36.23 $\pm$ 0.38
		造模后	20.10 $\pm$ 1.13	35.48 $\pm$ 1.14

注:与本组造模前比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3 3 种脾虚证模型小鼠尿中 D-木糖含量和血清淀粉酶活性的比较 见表 2。与对照组比较,各造模组小鼠尿中 D-木糖含量均显著下降($P < 0.01$),大黄组变化最显著,降低 47.74%,其次是劳倦过度组,降低 45.63%,力竭游泳组变化最小,降低 44.92%。血清淀粉酶活性变化以劳倦过度组最为显著,降低 7.59%,其次是力竭游泳组,降低 4.15%,但该变化无统计学意义,大黄组变化最小,降低 3.72%。

表 2 3 种脾虚证模型小鼠尿中 D-木糖含量和血清淀粉酶活性的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	D-木糖含量(mg)	淀粉酶活性(U/100ml)
对照	6	4.23 $\pm$ 1.15	752.81 $\pm$ 21.44
大黄	6	2.21 $\pm$ 0.91*	724.77 $\pm$ 19.86
力竭游泳	6	2.33 $\pm$ 0.48*	721.57 $\pm$ 28.17
劳倦过度	9	2.30 $\pm$ 1.14*	695.64 $\pm$ 34.70*

注:与对照组比较,* $P < 0.01$

4 3 种脾虚证模型小鼠脾脏指数和胸腺指数的

比较 见表 3。各造模组脾重和脾脏指数变化,与对照组相比劳倦过度组变化最显著,分别下降 31.78%、33.33%,大黄组次之,分别下降 30.30%、31.03%,力竭游泳组变化最小,分别下降 18.08%、15.96%。胸腺重和胸腺指数变化与对照组比较,劳倦过度组变化最显著,分别下降 63.14%、63.33%,其次是力竭游泳组,分别下降 49.36%、48.24%,大黄组变化最小,分别下降 20.4%、20.10%。

表 3 3 种脾虚证模型小鼠脾脏指数和胸腺指数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	脾重(mg)	脾脏指数	胸腺重(mg)	胸腺指数
对照	6	115.57±30.89	5.64±1.39	42.46±8.16	1.99±0.19
大黄	6	80.55±11.88*	3.89±0.45*	33.80±13.89	1.59±0.13
力竭游泳	6	94.68±9.92	4.74±0.59	21.50±10.11**	1.03±0.38**
劳倦过度	9	78.84±17.45**	3.76±0.65**	15.65±6.62**	0.73±0.33**

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

5 3 种脾虚证模型小鼠胃排空百分率的比较 见表 4。各造模组小鼠胃排空百分率与对照组比较均增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$),大黄组变化最显著,增加 26.06%,其次是力竭游泳组,增加 25.45%,劳倦过度组变化最小,增加 22.13%。

6 3 种脾虚证模型小鼠小肠推进速度的比较 见表 4。各造模组小鼠的小肠推进速度均加快,酚红主要集中在第 4 段和第 5 段,对照组则主要集中在第 3 段和第 4 段。大黄组第 4 段和第 5 段的酚红含量占小肠酚红总量的 72.00%,力竭游泳组占 76.18%,劳倦过度组占 74.20%,而对照组仅占 39.02%;对照组第 3 和第 4 段的酚红含量占小肠酚红总量的 73.90%,大黄组、力竭游泳组、劳倦过度组则分别占 35.08%、50.15%、44.88%。

7 3 种脾虚证模型小鼠血清胃泌素含量的比较 见表 5。与对照组比较,各造模组小鼠血清胃泌素含量变化以劳倦过度组最为显著,升高 34.64%;其次是力竭游泳组,升高 26.86%,大黄组变化最小,升高 21.49%,但该变化无统计学意义。

表 5 3 种脾虚证模型小鼠血清胃泌素含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血清胃泌素含量(pg/ml)
对照	8	25.17±5.49
大黄	10	30.58±7.28
力竭游泳	10	31.93±7.33*
劳倦过度	10	33.89±2.86**

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

讨 论

中医理论中的“劳”作为病因包括劳力过度、劳神过度和房劳过度 3 个方面^[6]。本实验采用的劳倦过度法可使动物在过度运动的同时没有充足的睡眠时间,并因此情绪持续波动,精神也处于疲倦的状态,不仅劳力而且劳神。应用此方法塑造脾虚证动物模型可以模拟脾虚证多方面的致病因素。

这 3 种造模方法均能使小鼠出现脾虚证的外表变化,如眯眼、懒动、扎堆、毛无光泽、耳色淡白等以及体重、体温下降等,这些表现和变化与临床上脾虚证患者的倦怠乏力、面色萎黄以及消瘦相似。其中劳倦过度组小鼠表现得更加懒动,反应迟缓。

各造模组小鼠拉尾排便实验阳性率均增高,说明这 3 种方法均能模拟脾虚时副交感神经兴奋性增高的变化。

D-木糖是一种戊糖,口服后经小肠吸收,在体内不被肝脏代谢,经肾脏排出。因此 D-木糖排泄率是反映小肠吸收功能的指标之一。临床研究表明,多数脾虚证患者 D-木糖排泄率降低^[7]。因此该指标已作为对脾虚证患者诊断的辅助指标之一^[8],本次实验结果表明各造模组小鼠尿中 D-木糖含量与对照组相比均显著降低,实验组之间差异并无显著性。说明这 3 种造模方法均能使小鼠吸收功能降低。

淀粉酶活性下降是临床对脾虚证患者进行诊断的另一辅助指标^[8]。本实验结果表明,劳倦过度组动物淀粉酶活性降低最为显著,大黄组次之,力竭游泳组最小。

表 4 3 种脾虚证模型小鼠胃排空率及小肠推进速度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	胃排空百分率(%)	小肠推进相对百分率(%)					
			第 1 段	第 2 段	第 3 段	第 4 段	第 5 段	第 6 段
对照	6	64.39±3.08	4.97±1.62	3.02±1.26	45.30±14.08	28.60±11.99	10.42±8.06	7.69±4.15
大黄	8	81.17±8.51**	4.38±1.67	4.43±4.28	10.25±4.73**	24.83±9.94	47.17±14.43**	8.97±6.21
力竭游泳	8	80.78±8.10**	3.25±0.46**	3.75±2.47	11.09±1.97**	39.06±17.42	37.12±12.73**	5.72±4.22
劳倦过度	8	78.64±11.44*	3.36±1.15	4.00±2.79	9.29±4.75**	35.59±20.17	38.61±16.78**	9.16±7.93

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

胃排空、肠道推进性运动是胃肠平滑肌在神经、体液因素调节下电活动、机械活动协调的结果,采用测定小肠各段酚红含量的变化,能更客观、准确地反映食物在小肠的推进状况。从实验结果看,对照组小鼠小肠中酚红主要集中在第 3 段、第 4 段,各造模组小鼠小肠中酚红主要集中在第 4 段、第 5 段。说明脾虚时小鼠胃肠运动机能亢进,消化道排空速度加快。3 种造模方法在胃排空和肠推进方面对动物的影响较为一致。

胃泌素具有刺激胃酸、胃蛋白酶、胰酶的分泌,促进胃窦收缩等功能。以往对脾虚证与胃泌素关系的研究存在一定的差异:金敬善等研究表明脾虚患者或脾虚证动物其血清胃泌素水平明显低于正常人或动物^[9],涂福音等对慢性萎缩性胃炎属脾阳虚型和胃阴虚型患者的检测结果表明,这两种证型血清胃泌素水平均高于正常对照组^[10]。本实验结果表明脾虚证小鼠血清胃泌素含量升高。劳倦过度组升高最为显著,力竭游泳组次之,大黄组变化不显著。

免疫功能降低是脾虚证本质的另一个重要方面。脾脏和胸腺是两个重要的免疫器官。劳倦过度组小鼠脾脏指数和胸腺指数均下降非常显著;大黄组小鼠只有脾脏指数显著下降;力竭游泳组小鼠则只有胸腺指数显著下降。说明劳倦过度法对小鼠的免疫功能有显著影响,而大黄泻下法和力竭游泳法只对动物的部分免疫功能有影响。因此,在对免疫功能的影响方面劳倦过度法大于大黄泻下法和力竭游泳法。

综上所述,在所选的全部指标中,劳倦过度组小鼠的变化均与临床脾虚证患者的变化趋势相一致,且多数指标的变化较其他两组显著,而其他两组只有部分指标的变化与临床患者一致。

参 考 文 献

- 1 北京师范大学生物系消化生理科研组. 中医脾虚证动物模型的造型. 中华医学杂志 1980;60(2):83—86.
The Digestion Physiology Research Group, Department of Biology, Beijing Normal University. The establishment of Pi deficiency animal models. Natl Med J Chin 1980;60(2):83—86.
- 2 陈小野主编. 实用中医脾虚证候模型学. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1993:204.
Chen XY, editor. Practical models of spleen deficiency syndrome in traditional Chinese medicine. Beijing: Beijing Medi-

cal University and Peking Union Medical College Press, 1993: 204.

- 3 陈家旭. 中医脾虚证的研究进展. 湖南中医药导报 1998;4(8):14—16.
Chen JX. The research progress on spleen deficiency. Hunan Guiding J Tradit Chin Med Pharmacol 1998;4(8):14—16.
- 4 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. 中国医药学报 2001;16(4):52—58.
Chen XY, Zhou YS, Fan YL, et al. The rudimentary research of animal model standardization of Spleen-qi deficiency Syndromes. Chin J Tradit Chin Med Pharm 2001;16(4):52—58.
- 5 李仪奎主编. 中药药理实验方法学. 上海:上海科学技术出版社,1991:245,248.
Li YK, editor. Experimental methodology of traditional Chinese medicine pharmacology. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991:245,248.
- 6 瞿德兹,梁 嵘,陈家旭. 中医学对疲劳病因病机的认识. 中国中医基础医学杂志 2001;7(8):1—4.
Qu DH, Liang R, Chen JX. Congnition on etiology and mechanism of fatigue in traditional Chinese medicine. Chin J Basic Med Tradit Chin Med 2001;7(8):1—4.
- 7 危北海,陈小野. 脾虚证实质的初步揭示. 中国中西医结合脾胃杂志 1999;7(4):193—195.
Wei BH, Chen XY. A preliminary study on the essence of Pi deficiency. Chin J Integr Tradit West Med Gastro-spleen 1999;7(4):193—195.
- 8 张万岱. 加强对脾虚证本质的研究. 中国中西医结合脾胃杂志 1996;4(1):3—5.
Zhang WD. Enhancing the research on the essence of Pi deficiency. Chin J Integr Tradit West Med Gastro-spleen 1996;4(1):3—5.
- 9 金敬善,王广才,张绳祖,等. 血清中胃泌素水平与脾虚证的关系. 中西医结合杂志 1982;2(1):25—26.
Jin JS, Wang GC, Zhang SZ, et al. The relationship between the serum gastrin level and Pi deficiency. Chin J Integr Tradit West Med 1982;2(1):25—26.
- 10 涂福音,曾志德,吴耀南,等. 慢性萎缩性胃炎 103 例中医证型与胃泌素、尿胃蛋白酶关系的探讨. 福建中医药 1990;21(2):11—12.
Tu FY, Zeng ZD, Wu YN, et al. The relationship between Syndrome differentiation and the level of gostrin and urinary pepsin in 103 patients with chronic atrophic gastritis. Fujian J Tradit Chin Med 1990;21(2):11—12.

(收稿:2004-10-08 修回:2005-01-28)