·实验研究·

儿宝颗粒对厌食大鼠下丘脑外侧区神经元整合摄食相关信息的影响

张月萍　杜永平　张国成

摘要　目的　证实儿宝颗粒影响下丘脑外侧区神经元对外周传入信号的敏感性，阐明儿宝颗粒促进摄食行为的中枢机制。**方法**　用特制饲料喂养大鼠 1 周制备厌食模型，用儿宝颗粒灌胃治疗 3 周，然后用电生理技术细胞外记录法，记录大鼠下丘脑外侧区神经元的自发放电，观察其对电刺激胃迷走神经和静脉注射葡萄糖注射液的反应，比较正常组、模型组和治疗组 3 组间的异同。**结果**　造模 7 天时模型组和治疗组大鼠进食量低于正常组($P<0.01$)，造模 21、28 天时治疗组大鼠进食量与正常组比较差异无显著性。与正常组比较，模型组那些接受胃迷走神经传入的下丘脑外侧区神经元中，血糖敏感神经元所占比例显著降低($P<0.01$)；而治疗组该指标与正常组比较差异无显著性。**结论**　儿宝颗粒能够调节摄食中枢神经元对外周传入信号的敏感性，从而影响摄食中枢神经元对多种传入信息的整合。

关键词　儿宝颗粒；厌食；下丘脑外侧区；血糖敏感神经元；胃迷走神经

Effect of Er'bao Granule on Integration of Ingestion Behavior-related Information by Neurons in Lateral Hypothalamic Area of Anorexia Rats ZHANG Yue-ping, DU Yong-ping and ZHANG Guo-cheng *Department of Paediatrics, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an (710032)*

Abstract　Objective　To confirm the effect of Er'bao granule (EBG) on the sensitivity to peripheral afferent signal of neurons in lateral hypothalamic area (LHA) to illustrate the central mechanism of EBG in promoting ingestion behavior. **Methods**　The anorexia rat model was established by feeding special prepared forage for one week, and all the model rats were administrated with EBG by gavage for 3 weeks. The spontaneous discharge of LHA neurons was recorded using electro-physiological extracellular recording method, and its response to electrical stimulus on gastric vagus nerve and intravenous injection of glucose were observed and compared among the normal, model and treated groups. **Results**　As compared with the normal group, among the LHA neurons responding to afferent gastric vagal impulse, the proportion of glycemia-sensitive neurons in the model group was significantly decreased ($P<0.01$), but insignificant difference was shown in comparison between the treated group and the normal group. **Conclusion**　EBG play a role in regulating the sensitivity of LHA neurons to peripheral afferent signal and thus to influence the multi-afferent information integration of ingestion central neurons.

Key words　Er'bao granule; anorexia; lateral hypothalamic area; glycemia-sensitive neurons; gastric vagus nerve

婴幼儿厌食是一种独立的疾病，患儿表现为长期厌食，而无任何器质性病变。运脾复方治疗可有效促进患儿食欲[1,2]，但相关的机理研究仅仅关注了影响食欲的外周因素，如胃肠道动力、消化液分泌、小肠吸收功能以及胃肠道激素水平等，却未重视对摄食行为的中枢调节功能[3]。本研究通过观察厌食模型大鼠下丘脑外侧区(lateral hypothalamic area, LHA)神经元对胃迷走神经刺激和血糖水平的反应，探讨了儿宝颗粒促进摄食的中枢机制。

材料和方法

1　动物及分组　日龄为 35～40 天的健康 SD 大鼠(第四军医大学实验动物中心提供)36 只，平均体重

基金项目：国家自然科学基金资助项目(No. 39670896 和 30271634)

作者单位：第四军医大学西京医院(西安　710032)

通讯作者：杜永平，Tel：13572810696，E-mail：ddyypp@fmmu.edu.cn

万方数据

(60 ± 10)g,随机分为正常组、模型组和治疗组,每组 12 只。所有动物均单笼饲养,自由进食饮水。

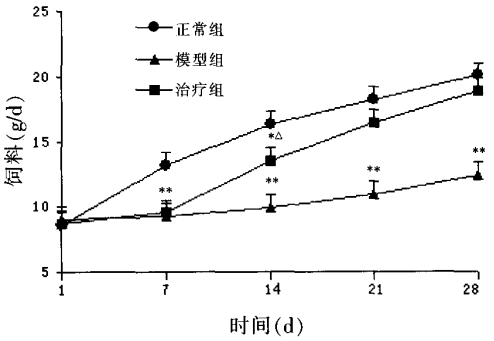
2 模型制备和药物治疗 厌食大鼠模型制作按文献方法[4],即用正常鼠饲料喂养正常组大鼠,用特制饲料喂养模型组和治疗组大鼠,每天早晨 9 时记录每只大鼠的日摄食量和体重。1 周后特制饲料喂养的大鼠日摄食量下降 30% 以上,体重下降 15% 以上,表明模型制备成功。从实验第 8 天开始,治疗组大鼠用儿宝颗粒浸膏(药物组成:苍术、陈皮、山楂、白芍,每毫升含生药 1.5 g,第四军医大学科研药厂提供)灌胃,每日 1 次,剂量为 3.76 g/100 g(为临床 2 倍等效量),正常组和模型组大鼠用等容积生理盐水灌胃,3 组均连续灌胃 3 周。

3 胃迷走神经刺激和 LHA 神经元自发放电的记录 实验第 28 日晚禁食,次日用细胞外记录法观察大鼠 LHA 神经元对刺激胃迷走神经和静脉注射葡萄糖(0.4 mmol/L, 0.5 ml/kg)的反应。手术步骤:经大鼠腹腔注射乌拉坦(0.8 g/kg)和 α-氯醛糖(65 mg/kg)混合麻醉剂,麻醉后先施行颈外静脉插管术,以备追加麻醉剂、注射葡萄糖和生理盐水,再沿左肋弓切开腹腔,分离胃迷走神经前干与后干,挂于钩状双极刺激电极以备刺激。缝合腹腔,用电热板维持动物体温于(37 ± 0.5)℃。然后,将动物固定于脑立体定位仪上,施第 4 脑室脑脊液引流术。依据 Paxinos 和 Waston 大鼠脑立体定位图谱[5],于 LHA(A − 2.3 ~ − 2.8 mm, L 1.5 ~ 2 mm, H 7.5 ~ 9 mm)上方开颅,直径约 1.5 mm。

以负相矩形双脉冲(100 ~ 500 A, 0.5 ms,100Hz)刺激胃迷走神经干,用充含 1% 滂胺天蓝的 0.5 mol/L 醋酸钠溶液的玻璃微电极(直流阻抗 5 ~ 10mΩ)细胞外记录 LHA 神经元单位放电。神经元的放电信号经放大器放大后输入窗口甄别器,触发窗口甄别器输出的标准矩形脉冲(5 V, 1.0 ms),通过模/数转换器输入计算机进行实时数据分析。由计算机采集的神经元放电信号自动生成刺激前后时间直方图,分析细胞对刺激胃迷走神经(采样间隔 2 ms,每次采样 800 点,重复采样 100 次)和静脉注射葡萄糖(采样间隔 1 s,每次采样 900 点,采样 1 次)的反应。比较刺激后反应时间段内(刺激后窗口)神经元的放电频率,与刺激前相同时间段内(刺激前窗口)神经元的基础放电频率,如果刺激后窗口内的放电频率降低到刺激前窗口内基础放电频率的 30% 以下,或增加到 200% 以上,则认为该细胞对刺激产生了抑制或兴奋反应。每次实验结束时,用阴极电流(20 μA, 10 min)将玻璃微电极内的滂胺天蓝染料微量渗析到电极尖端的记录点,然后取脑固定。1 周后用冰冻切片机制备 80 μm 厚的脑切片,检查记录点位置。凡实际记录点偏离 LHA 者,所获数据弃之不用。统计学方法:采用 t 检验。

结 果

1 3 组大鼠的日平均摄食量比较 见图 1。实验第 1 天时,3 组动物日平均摄食量比较差异无显著性;第 7 天时,模型组和治疗组动物日平均摄食量均低于正常组($P<0.01$),表明造模成功。第 14 天时模型组日平均摄食量仍低于正常组($P<0.01$),治疗组虽然也低于正常组($P<0.05$),但与模型组比较有明显增加($P<0.05$),表明儿宝颗粒治疗开始见效;第 21、28 天时模型组大鼠日平均摄食量均低于正常组和治疗组($P<0.01, P<0.05$),而治疗组与正常组比较差异无显著性,表明儿宝颗粒有促进食欲的作用。



注:与正常组比较,* $P<0.05$, ** $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$

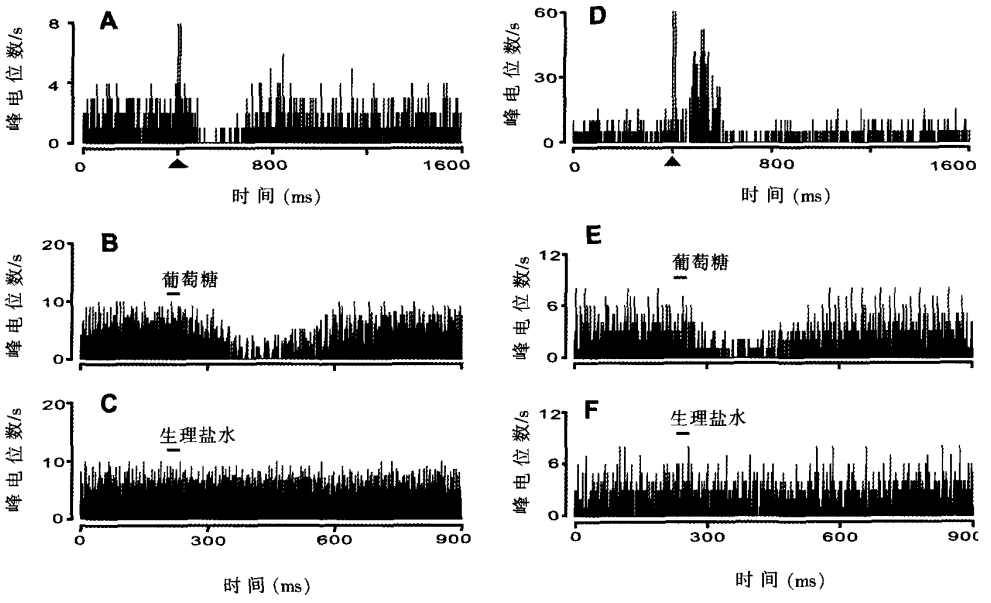
图 1 3 组大鼠日平均摄食量比较

2 3 组大鼠 LHA 神经元对刺激胃迷走神经的反应 3 组大鼠共记录 217 个 LHA 神经元,其中正常组(11 只大鼠)79 个,模型组(10 只)66 个,治疗组(10 只)72 个,3 组对刺激胃迷走神经有反应的细胞数分别是 40(50.6%)、32(48.5%)和 38(52.8%),3 组间比较差异无显著性。由胃迷走神经刺激引起的 LHA 神经元反应有抑制性反应和兴奋性反应两种(见图 2 A 和 D),3 组大鼠均以抑制性反应为主,反应潜伏期和反应时程在 3 组间比较差异无显著性(见表 1)。说明由胃迷走神经刺激引起的 LHA 神经元反应特征在 3 组大鼠间无明显不同。

表 1 3 组大鼠 LHA 神经元对胃迷走神经刺激表现的反应特征 (ms, $\bar{x} \pm s$)

组别	抑制性反应			兴奋性反应		
	n	潜伏期	反应时程	n	潜伏期	反应时程
正常	27	105.2 ± 26.3	259.4 ± 50.1	13	100.9 ± 30.5	264.6 ± 58.3
模型	22	114.2 ± 32.4	248.2 ± 49.6	10	104.7 ± 29.8	246.7 ± 56.8
治疗	29	108.3 ± 34.2	260.4 ± 58.2	9	101.6 ± 33.4	258.3 ± 62.1

万方数据



注:A 为一个 LHA 神经元对胃迷走神经刺激表现为抑制性反应;B 为静脉注射葡萄糖注射液引起该神经元放电频率显著降低;C 为静脉注射生理盐水,不影响该神经元的放电频率;D-F 为另一个 LHA 神经元对胃迷走神经刺激的兴奋性反应,该神经元也是血糖敏感神经元。▲示刺激轨迹,– 示静脉注射葡萄糖或生理盐水,持续时间为 30s

图 2　两个 LHA 神经元对胃迷走神经刺激和静脉注射葡萄糖的典型反应

3　3 组大鼠 LHA 神经元对静脉注射葡萄糖的反应　组织学检查对胃迷走神经刺激有反应的神经元中的血糖敏感神经元和非血糖敏感神经元的记录位点散在分布于 LHA 中。我们对自发放电比较稳定的 LHA 神经元做了血糖敏感性测试,如果被检测神经元对静脉注射葡萄糖呈现出特异且显著的抑制性反应(见图 2 B 和 E),而对生理盐水不出现反应(见图 2 C 和 F),则认为该神经元为血糖敏感神经元[6]。在对胃迷走神经刺激无反应的神经元中,3 组间血糖敏感神经元比例比较差异无显著性。在对胃迷走神经刺激有反应的 LHA 神经元中,血糖敏感神经元所占比例在 3 组间明显不同:正常组和治疗组显著高于模型组($P<0.01$,见表 3)。说明模型组 LHA 既接受胃迷走神经传入,又接受血糖水平传入的神经元数目减少,而治疗组的 LHA 能接受这两种信息会聚性传入的神经元数目,与正常组比较差异无显著性。

表 2　3 组大鼠 LHA 神经元的血糖敏感性测试结果比较　〔个(%)〕

组别	有反应的神经元 n	血糖敏感神经元	非血糖敏感神经元	无反应的神经元 n	血糖敏感神经元	非血糖敏感神经元
正常	30	18(60.0)	12 (40.0)	26	7(26.9)	19 (73.1)
模型	28	7(25.0)*	21 (75.0)*	27	7(25.9)	20 (74.1)
治疗	31	20(64.5)△	11 (35.5)△	27	9(33.3)	18 (66.7)

注:与正常组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△($P<0.01$

讨　论

LHA 在摄食控制中发挥相当重要的作用,长期以来被称为摄食中枢。近十几年的摄食生理研究发现,LHA 神经元能接受并整合多种与摄食相关的外周信息,从而触发适当的摄食行为[7]。

胃肠道迷走神经是重要的外周信息传入通路,它可将 3 类摄食相关信息传入参与摄食控制的中枢核团:胃肠腔的机械扩张和收缩、肠腔内容物的化学特性以及由十二指肠内的食糜刺激释放的胃肠道激素和神经递质,这 3 类刺激均能抑制摄食[8]。我们最近的研究证实大鼠胃迷走神经可以到达 LHA,提示大鼠的胃迷走神经可将重要的摄食相关负反馈信息传入 LHA[6]。本研究结果显示,3 组大鼠 LHA 对胃迷走神经刺激敏感的神经元数,以及由迷走刺激引起的神经元反应特征均无显著性差异,提示厌食模型大鼠 LHA 神经元对胃迷走神经传入的摄食相关负反馈信息的反应与正常大鼠相同。

血糖水平是另一个与摄食行为密切相关的外周传入信号[9]。大约 1/3 的 LHA 神经元为血糖敏感神经

万方数据

元,这些神经元可以介导由血糖降低而启动的摄食行为[10]。我们以前的研究表明胃迷走神经传入纤维主要到达 LHA 的血糖敏感神经元[6],提示 LHA 中那些对血糖和胃迷走神经传入均敏感的神经元,可能通过对摄食起始信号(如低血糖)和摄食终止信号(如胃迷走神经传入)的整合而发起适当的摄食行为。本研究结果显示,在对迷走神经刺激有反应的 LHA 神经元中,模型组血糖敏感神经元的数目显著降低。亦即:模型大鼠 LHA 接受胃迷走神经传入信息的神经元没有减少,但那些能够整合胃迷走神经传入信息和血糖水平传入信息的 LHA 神经元却显著减少。这意味着,模型组大鼠 LHA 得到的摄食负反馈信息比正常组大鼠更为强烈,这可能是其摄食量减少的主要原因之一。而在治疗组大鼠中,那些同时接受胃迷走神经和血糖水平传入的神经元,显著高于模型组,与正常组比较差异无显著性。这一结果表明,儿宝颗粒能增强厌食大鼠接受胃迷走神经传入信息的 LHA 神经元的血糖敏感性。

因此,我们认为儿宝颗粒促进食欲的作用,不仅仅是通过外周水平上的局部调节作用实现的,更重要的是通过调节摄食中枢神经元对外周传入信号的敏感性,从而影响摄食中枢神经元对多种相关信息的整合作用,最终发出正常的摄食指令。

参 考 文 献

1 汪受传,尤汝娣,郁晓维,等.运脾方药治疗小儿厌食症的临床及实验研究.中西医结合杂志 1991;11(2):75—78.
Wang SC, You RD, You XW, et al. Clinical and experimental study of children anorexia with a special TCM Yunpi prescription. Chin J Integr Tradit West Med 1991;11(2):75—78.

2 万力生,汪受传.小儿厌食的中医药治疗现状与展望.南京中医药大学学报 2000;16(1):63—64.
Wan LS, Wang SC. The current situation and prospect of TCM treating children anorexia. J Nanjing Univ TCM 2000;16(1):63—64.

3 张月萍,杜永平,汪受传,等.小儿厌食发生发展及运脾法作用中枢机制研究的新思路.中国中医基础医学杂志 1998;4(4):18—19.
Zhang YP, Du YP, Wang SC, et al. Experiment study on central mechanism of anorexia in children and tonifying spleen. Chin J Basic Med Tradit Chin Med TCM 1998;4(4):18—19.

4 Du YP, Zhang YP, Wang SC, et al. Function and regulation of cholecystokinin octapeptide, beta-endorphin and gastrin in anorexic infantile rats treated with ErBao granules. World J Gastroenterol 2001;7(2):275—280.

5 Paxinos G, Waston C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego:Academic Press,1988:29—31.

6 Zhang YP, Zhu JN, Jiang JM, et al. Gastric vagal afferent inputs reach the glycemia-sensitive neurons of lateral hypothalamic area in the rat. Chin Sci Bull 2003;48(1):67—70.

7 张月萍,王建军.摄食控制的神经体液机制研究进展.中国神经科学杂志 2001;17(4):350—353.
Zhang YP. Wang JJ. Recent progresses in neural and humoral mechanisms of the food intake control. Chin J Neuroscience 2001;17(4):350—353.

8 Schwartz GJ. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. Nutrition 2000;16(10):866—873.

9 Bray GA. Afferent single regulating food intake. Proc Nutr Soc 2000;59(3):373—384.

10 Himmi T, Boyer A, Orsini JC. Changes in lateral hypothalamic neuronal activity accompanying hyper- and hypoglycemias. Physiol Behav 1988;44(3):347—354.

(收稿:2005-04-01 修回:2005-07-06)

《陕西中医》2006 年征订启事

《陕西中医》杂志是陕西省中医药学会主办的一份综合性中医药学术期刊。连续多年被评为中国中文核心期刊、中国医药类核心期刊、中国生物医学核心期刊、中国科学引文数据库源期刊等。发行全国各地及海外 23 个国家和地区。

本刊坚持以实用为主,普及与提高相结合,扶持中青年作者,提高诊疗水平为办刊方针。保持选题新颖、文章精练的独特风格,主要介绍研究中医药各学科的新理论、新技术、新经验、新成果。

本刊开辟有:临床报道、学术探讨、老中医经验、研究生论坛、针灸经络、方药纵横、难症探赜、治验集锦、古方今用、实验研究、文献综述、百家论医、医案医话等 20 多个栏目。内容丰富,实用性强,信息量大,手册一册,可遍览中医各科动态。

本刊为月刊,16 开本,128 页,公开发行,国内统一刊号 CN 61-1105/R,邮发代号 52—24,每册定价 7.00 元,全年 84.00 元整。欲订者,请到当地邮局(所)办理 2006 年订阅手续。

万方数据