

引用:高鸿智,杨勇军,刘仕鸿,王登伟,雷娜. 中药治疗便秘型肠易激综合征 SD 大鼠的实验研究[J]. 湖南中医杂志, 2021,36(4):161-165.

中药治疗便秘型肠易激综合征 SD 大鼠的实验研究

高鸿智¹,杨勇军¹,刘仕鸿¹,王登伟¹,雷娜²

(1. 川北医学院附属医院,四川 南充,637000;2. 成都中医药大学,四川 成都,610072)

[摘要] 目的:研究柴胡疏肝散合济川煎对肝郁气滞合并阳虚型便秘型肠易激综合征(IBS-C)模型大鼠的治疗效果及作用机制。方法:将 56 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为正常组(8 只)和模型组(48 只),模型组采用冰水灌胃、限制饮水结合慢性束缚应激的方法制备肝郁气滞合并阳虚型 IBS-C 大鼠模型。将造模成功的大鼠随机分为模型对照组、复方聚乙二醇电解质散(PEG-EP)组、黛力新组及中药低、中、高剂量组,每组各 8 只。各组进行药物干预 14 d。观察指标包括大鼠一般状态、糖水偏好率、旷场实验评分、内脏敏感性、小肠推进率、结肠黏膜 HE 染色及血清 5-羟色胺(5-HT)、生长抑素(SS)、血管活性肠肽(VIP)含量测定。结果:与模型对照组相比,柴胡疏肝散合济川煎能使模型大鼠的粪便粒数、粪便含水量、Bristol 分值、内脏敏感性、旷场试验评分、糖水偏好百分比、小肠推进率增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$),血清 5-HT、SS 含量降低($P<0.05$),血清 VIP 含量升高($P<0.05$);与 PEG-EP 组、黛力新组相比,中药高剂量组大鼠血清 5-HT、SS 均降低($P<0.05$),VIP 水平升高($P<0.05$)。结论:大鼠肝郁气滞合并阳虚型 IBS-C 模型制备成功,柴胡疏肝散合济川煎可改善模型大鼠肝郁和便秘症状,其作用机制可能与降低大鼠血清 5-HT、SS 含量和升高大鼠血清 VIP 含量有关。

[关键词] IBS-C;肝郁气滞合并阳虚证;柴胡疏肝散合济川煎;VIP;5-HT;SS

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:**10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2021.04.058

Effect of Chaihu Shugan powder combined with Jichuan decoction in improving the symptoms of rats with constipation-predominant irritable bowel syndrome: An experimental study

GAO Hongzhi¹, YANG Yongjun¹, LIU Shihong¹, WANG Dengwei¹, LEI Na²

(1. Affiliated Hospital of Chuanbei Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China;

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the therapeutic effect and mechanism of action of Chaihu Shugan powder combined with Jichuan decoction in a rat model of constipation-predominant irritable bowel syndrome (IBS-C) with liver Qi stagnation and Yang deficiency. Methods: A total of 56 specific pathogen-free male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal group with 8 rats and model group with 48 rats, and the rats in the model group were treated with ice water by gavage, restricted water intake, and chronic restraint stress to establish a model of IBS-C with liver Qi stagnation and Yang deficiency. After successful modeling, the rats were randomly divided into model control group, polyethylene glycol electrolyte powder (PEG-EP) group, Deanxit group, and low-, middle-, and high-dose traditional Chinese medicine (TCM) groups, with 8 rats in each group. Drug intervention was given for 14 days for each group. Observation indicators included general status, rate of sugar water preference, score of the open field test, visceral sensitivity, small intestine propulsion rate, HE staining of colonic mucosa, and content determination of 5-hydroxytryptamine (5-HT), somatostatin (SS), and vasoactive intestinal peptide (VIP). Results: Compared with the model control group, the Chaihu Shugan powder+Jichuan decoction group had significant increases in the number of fecal pellets, fecal water content, Bristol score, visceral sensitivity, score of the open field test, rate of sugar water preference, and small intestine propulsion rate ($P<0.01$ or $P<0.05$), significant reductions in the content of serum 5-HT and SS ($P<0.05$), and a significant increase in serum VIP ($P<0.05$). Compared with the PEG-EP group and the Deanxit group, the high-dose TCM group had significant reduc-

基金项目:四川省中医药管理局中医药科研专项基金(2018LC020)

第一作者:高鸿智,男,医学硕士,研究方向:中医肛肠学

通讯作者:杨勇军,男,教授,硕士研究生导师,研究方向:肛肠疾病的中西医结合防治, E-mail:yyjun2007@126.com

tions in serum 5-HT and SS ($P<0.05$) and a significant increase in the level of VIP ($P<0.05$). Conclusion: A rat model of IBS-C with liver Qi stagnation and Yang deficiency is established successfully. Chaihu Shugan powder combined with Jichuan decoction can improve stagnation of liver Qi and the symptom of constipation, possibly by reducing the serum levels of 5-HT and SS and increasing the serum level of VIP.

[**Keywords**] constipation-predominant irritable bowel syndrome; liver Qi stagnation and Yang deficiency; Chaihu Shugan powder combined with Jichuan decoction; vasoactive intestinal peptide; 5-hydroxytryptamine; somatostatin

便秘型肠易激综合征(constipation-predominant irritable bowel syndrome, IBS-C)是一种功能性肠病,表现为反复发作的腹痛,其疼痛与排便相关或伴随排便习惯改变,临床症状主要为腹痛、腹胀、排便频率减少、大便干结硬块^[1]。因其发病机制尚不明确,西药治疗本病多局限于单个靶点,目前临床上的主要治疗药物包括渗透性缓泻剂、离子通道调节剂、5-羟色胺(5-HT)受体激动剂、微生态制剂等,治疗周期长且毒副作用大,严重影响患者的生活质量。该病属中医学“腹痛”“便秘”“肠郁”等范畴,中医药治疗便秘有独特的优势,“从肝论治”本病往往可获得良好的临床疗效。

本研究以冰水灌胃结合限制饮水、慢性束缚应激制备肝郁气滞合并阳虚型 IBS-C 大鼠模型,研究中药柴胡疏肝散合济川煎方对模型大鼠的治疗效果及作用机制,现报告如下。

1 实验材料

1.1 动物 选取 SPF 级雄性 SD 大鼠 56 只,6~8 周龄,体重(200±20)g,川北医学院动物实验中心提供,动物许可证号:SCXK(川)2013-18。

1.2 药物与试剂 柴胡疏肝散合济川煎药物组成为:柴胡 6 g,陈皮 6 g,川芎 5 g,香附 5 g,枳壳 5 g,白芍 5 g,炙甘草 5 g,当归 9 g,牛膝 6 g,肉苁蓉 15 g,泽泻 4.5 g,升麻 3 g。中药炮制方法:将 10 剂柴胡疏肝散合济川煎原方剂量共 745 g 中草药放入锅内,加 3000 ml 蒸馏水浸泡 12 h 后用大火煎煮 45 min,用 12 层纱布过滤,水煎液倒入另一锅内,再向药渣内倒入 3000 ml 蒸馏水,煎药方法同前,将 2 次煎煮得到的药汁合并,文火加热浓缩成稠膏,入 60℃ 干燥箱内烘干,745 g 生药得到 232 g 干粉,出膏率 31.1%,于 4℃ 冰箱密封保存备用。黛力新(丹麦灵北制药有限公司,批准文号:国药准字 H20080175),将黛力新胶囊粉剂溶于蒸馏水中配成浓度为 0.22 mg/ml 混悬液;复方聚乙二醇电解质散(PEG-EP,购自舒泰神生物制药股份有限公司,批准文号:国药准字 H20040034),将 PEG-EP 粉末溶于适量蒸馏水后配制 0.19 g/ml 浓度的 PEG-EP 混悬液。配好的西药均置于 4℃ 冰箱保存,使用前摇匀。大鼠血管活性肠肽(VIP)酶联免疫检测试剂盒(批号:2019-12)、大鼠生长抑素(SS)酶联免疫检测试剂盒(批号:2019-12)、大鼠 5-HT 酶联免疫检测试剂盒(批号:2019-12)均购自上海酶联生物科技公司;2%戊巴比妥由川北医学院动物实验中心提供、4%多聚甲醛液购自 Biosharp 公司。

1.3 主要仪器 iMark 酶标仪(美国 BIO-RAD 伯乐公司);

恒温水浴锅(常州国华电器)。

2 实验方法

2.1 动物分组 将实验大鼠适应性饲养 1 周后随机分为正常组 8 只和 IBS-C 模型组 48 只,模型组造模成功后随机分为模型对照组、PEG-EP 组、黛力新组及中药低、中、高剂量组,每组各 8 只。

2.2 模型制备 采用冰水灌胃、限制饮水结合慢性束缚应激刺激制备肝郁气滞合并阳虚型 IBS-C 大鼠模型。1)冰水灌胃。大鼠给予 0℃~4℃ 0.9%氯化钠注射液灌胃,2 ml/d,每天 1 次,共 20 d^[2]。2)限制饮水。先持续测量大鼠正常日饮水量 5 d,大鼠造模期间的日饮水量为正常饮水量的 1/2。3)慢性束缚应激。用 2 条宽约 1.5 cm 的松紧带将大鼠前胸、下腹部捆绑束缚在饲养笼铁盖上,每天 1 h,连续 20 d。造模过程结束后,各组大鼠单只置于代谢笼中,禁食禁水 24 h 后收集并记录大鼠的粪便及排便颗粒数,按照布里斯托大便分类法(Bristol)分型积分,烘干,再称重,计算粪便含水率,评定造模是否成功。

2.3 给药方法 大鼠给药剂量根据《药理试验方法学》^[3]制定。SD 大鼠总干膏摄入量为 2.4 g/(kg·d),则中药低、中、高剂量分别为 1.2 g/(kg·d)、2.4 g/(kg·d)、4.8 g/(kg·d)。黛力新给药剂量为 2.15 mg/kg,PEG-EP 给药剂量为 2.85 g/kg。给药方法:模型对照组与正常组 SD 大鼠予 0.9%氯化钠注射液灌胃,2 ml/次;PEG-EP 组予 PEG-EP 混悬液灌胃,3 ml/次;黛力新予黛力新混悬液灌胃,2 ml/次;中药组以 155 mg/ml 的浓度给予中药低、中、高剂量组大鼠分别以 1.2 g/(kg·d)、2.4 g/(kg·d)、4.8 g/(kg·d)的用药剂量灌胃。各组均每天灌胃 1 次,连续 14 d。

2.4 观察指标 1)大鼠一般状态。观察实验过程中大鼠一般状态的变化。2)糖水偏好率。SD 大鼠禁食禁水 24 h 后,在安静的房间内分别将 1 瓶为 1%的 200 ml 蔗糖水和 1 瓶为 200 ml 的蒸馏水放置在每只大鼠的饲养笼上,测定 24 h 后的饮水量,计算糖水偏好百分比^[4]。糖水偏好百分比(%)=糖水摄入量/(糖水摄入量+蒸馏水摄入量)×100%。3)旷场实验。实验所用旷场箱为立方体(0.4 m×0.6 m×0.5 m),四周、底面均为黑色,底面划分为面积相等的 24 块,在无噪声的房间内将大鼠放入旷场箱的中心,开始同步计时,以大鼠 3 爪穿越底面方块数为水平活动得分,观察 5 min 内大鼠的总穿格数,每跨一格得 1 分^[5]。4)内脏敏感性测定。根据肠道痛阈值评分进行测定。方法:大鼠禁食不禁水 24 h 后固定在一简易塑料瓶内,使尾

部暴露于塑料瓶外,待大鼠无大便排出后,用 Braun8F 的儿童型尿管与装有蒸馏水的注射器相连后,用石蜡油将导尿管润滑,从大鼠肛门插入约 5 cm,用胶带将导管和大鼠的尾部根部固定,待其稳定后向导尿管的球囊中注入自来水使导尿管顶端球囊扩张肠道。通过结直扩张(CRD)时腹部回缩反射(AWR)计分表对大鼠进行评分。在进行 CRD 时大鼠无反应,0 分;大鼠头部短暂静止不动,1 分;大鼠腹部收缩,但未抬离桌面,2 分;大鼠腹部收缩抬离桌面,3 分;大鼠身体呈弓形,骨盆抬高,4 分。每只大鼠测定 3 次,间隔 5 min 测定 1 次,取平均值。5)血清 SS、VIP、5-HT 的含量测定。大鼠末次灌胃后,各组大鼠禁食不禁饮 24 h,2%戊巴比妥钠按 0.3 ml/100g 的剂量行腹腔注射麻醉,开腹,腹主动脉采血 5 ml,常温静置 20 min 后 3000 r/min 离心 3 min,取血清并冻存于-80℃冰箱,按照 SS、VIP、5-HT 酶联免疫试剂盒说明书测定其含量。6)小肠推进率的测定和标本制备。治疗结束后,各组大鼠禁食不禁饮 24h,予活性炭混悬液灌胃 2 ml。30 min 后予 2%戊巴比妥钠按 0.3 ml/100 g 的剂量行腹腔注射麻醉,麻醉成功后,打开腹腔,取上自幽门下自回盲部的小肠,在无张力状态下测量肠管总长度和炭末在小肠中的推进长度,计算肠道炭末推进率。肠道炭末推进率(%)=(炭末在小肠中的推进长度/小肠全长)×100%。7)HE 染色。切取结肠近端(距盲肠 1 cm)处的肠段 2 cm,0.9%氯化钠注射冲洗干净,置于 4%多聚甲醛固定液中固定 24h 以上。常规石蜡包埋,病理切片(苏木精-伊红染色),显微镜下观察黏膜病理变化。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 23.0 统计学软件完成进行数据分析,计量资料均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,符合正态分布的两独立样本采用独立 *t* 检验,两配对样本 *t* 检验,同类型多组采用单因素方差分析(ANOVA),方差齐时组间两两比较采用 LSD 法,方差不齐时用 Games-Howell 法两两比较。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠的一般状态 造模前所有 SD 大鼠皮毛光泽明亮,粪便呈黄褐色,质软有光泽且颗粒较大,进食进饮均正常。造模进行 10 d 后,模型组大鼠出现自主活动行为下降,毛发发黄,大鼠粪便小而硬、光泽差。造模过程中无大鼠死亡。药物治疗后,大鼠的粪便性状改善明显,粪便呈棕褐色,粒大质软有光泽。

3.2 造模后大鼠粪便粒数、粪便含水量、Bristol 积分与正常组比较 造模后,与正常组比较,模型组粪便粒数减少、含水量降低、Bristol 积分降低,差异均有统计学意义。(见表 1)

3.3 各组大鼠糖水偏好率比较 治疗结束后,与正常组比较,模型对照组糖水偏好百分比明显降低,差异有统计学意义;与模型对照组比较,PEG-EP 组、黛力新组及中药高、中、低剂量组的糖水偏好率均明显升高,差异有统计学意义;各给药组与正常组差异无统计学意义。(见表 2)

表 1 造模后大鼠粪便粒数、粪便含水量、Bristol 积分与正常组比较($\bar{x}\pm s$)

组别	粪便粒数(粒/只)	粪便含水量(%)	Bristol 积分(分)
正常组	33.6±34.56	46.25±4.43	4.00±0.34
模型组	24.54±4.60 ^a	34.79±4.20 ^a	1.63±0.42 ^a

注:与正常组比较,^a*P*<0.05。

表 2 各组大鼠糖水偏好率比较($\bar{x}\pm s$,%)

组别	只数(只)	剂量	糖水偏好率
正常组	8	—	71.11±9.53
模型对照组	8	—	35.00±6.98 ^a
PEG-EP 组	8	2.85 g/kg	50.00±14.25 ^{bc}
黛力新组	8	2.15 mg/kg	68.81±14.90 ^{bc}
中药低剂量组	8	1.2 g/(kg·d)	71.83±12.55 ^{bc}
中药中剂量组	8	2.4 g/(kg·d)	74.21±11.68 ^{bc}
中药高剂量组	8	4.8 g/(kg·d)	71.68±10.82 ^{bc}

注:与正常组比较,^a*P*<0.01,^b*P*>0.05,与模型组比较,^c*P*<0.01。

3.4 各组大鼠旷场实验评分比较 与正常组比较,模型对照组评分显著降低,差异有统计学意义;与模型对照组比较,黛力新组及中药高、中、低剂量组评分显著增加,差异有统计学意义;PEG-EP 组与模型对照组比较,差异无统计学意义。(见表 3)

表 3 各组大鼠旷场实验评分比较($\bar{x}\pm s$,分)

组别	只数(只)	剂量	旷场实验评分
正常组	8	—	96.50±12.49
模型对照组	8	—	76.25±12.04 ^a
PEG-EP 组	8	2.85 g/kg	78.38±9.98 ^{ad}
黛力新组	8	2.15 mg/kg	107.13±12.96 ^{bc}
中药低剂量组	8	1.2 g/(kg·d)	101.13±14.99 ^{bc}
中药中剂量组	8	2.4 g/(kg·d)	102.63±13.70 ^{bc}
中药高剂量组	8	4.8 g/(kg·d)	96.50±13.88 ^{bc}

注:与正常组比较,^a*P*<0.01,^b*P*>0.05,与模型对照组比较,^c*P*<0.01,^d*P*>0.05。

3.5 各组大鼠内脏敏感性评价结果比较 模型对照组大鼠与正常组大鼠相比,其肠道痛阈值评分减少,差异有统计学意义。治疗后,PEG-EP 组、黛力新组及中药高、中、低剂量组与模型对照组比较,肠道痛阈值评分均明显升高,差异有统计学意义。(见表 4)

3.6 各组大鼠血清 SS、VIP、5-HT 比较 与正常组比较,模型对照组大鼠血清中 VIP 水平显著降低,SS、5-HT 水平显著升高,经过治疗后,PEG-EP 组及中药高、中、低剂量组大鼠血清 VIP 水平升高,SS、5-HT 水平降低,且 5-HT 水平基本恢复到正常水平。黛力新治疗后,与模型组比较,大鼠血清中 VIP 变化差异无统计学(*P*>0.05),SS、5-HT 水平显著降低。(见表 5)

表 4 各组大鼠肠道痛阈评分比较($\bar{x}\pm s$,分)

组别	只数(只)	剂量	肠道痛阈评分
正常组	8	—	0.98±0.20
模型对照组	8	—	0.65±0.16 ^a
PEG-EP 组	8	2.85 g/kg	0.93±0.19 ^{bc}
黛力新组	8	2.15 mg/kg	0.91±0.11 ^{bc}
中药低剂量组	8	1.2 g/(kg·d)	1.06±0.14 ^{bc}
中药中剂量组	8	2.4 g/(kg·d)	0.98±0.23 ^{bc}
中药高剂量组	8	4.8 g/(kg·d)	1.08±0.20 ^{bc}

注:与正常组比较,^a $P<0.01$,^b $P>0.05$;与模型对照组比较,^c $P<0.01$ 。

表 5 各组大鼠血清 SS、VIP、5-HT 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数(只)	SS(pg/ml)	VIP(pg/ml)	5-HT(ng/ml)
正常组	8	122.34±24.37	103.07±11.81	25.97±5.90
模型对照组	8	180.27±13.70 ^a	46.38±10.11 ^a	55.40±8.00 ^a
PEG-EP 组	8	124.96±24.85 ^{bc}	69.0±07.22 ^{bc}	36.90±5.87 ^{ac}
黛力新组	8	96.74±26.82 ^{ac}	56.26±6.34 ^{ad}	40.79±8.02 ^{ac}
中药低剂量组	8	80.81±11.40 ^{ac}	78.66±7.67 ^{ac}	27.69±5.38 ^{bc}
中药中剂量组	8	72.66±10.61 ^{ac}	89.86±11.05 ^{ac}	26.30±4.59 ^{bc}
中药高剂量组	8	62.30±8.25 ^{ac}	91.96±18.14 ^{ac}	20.75±3.89 ^{bc}

注:与正常组比较,^a $P<0.05$,^b $P>0.05$,与模型对照组比较,^c $P<0.05$,^d $P>0.05$ 。

3.7 各组大鼠小肠推进率比较 与正常组比较,模型对照组小肠推进率明显下降,差异有统计学意义;与模型对照组比较,中药低、中、高剂量组的小肠推进率上升,差异有统计学意义;PEG-EP 组和黛力新组与模型对照组比较,差异无统计学意义。(见表 6)

表 6 各组大鼠小肠推进率比较($\bar{x}\pm s$,%)

组别	只数(只)	剂量	小肠推进率
正常组	8	—	67.26±5.20
模型对照组	8	—	46.17±9.87 ^a
PEG-EP 组	8	2.85 g/kg	52.38±4.54 ^{ad}
黛力新组	8	2.15 mg/kg	48.92±6.73 ^{ad}
中药低剂量组	8	1.2 g/(kg·d)	53.56±4.85 ^{ac}
中药中剂量组	8	2.4 g/(kg·d)	59.86±6.69 ^{ac}
中药高剂量组	8	4.8 g/(kg·d)	65.80±8.03 ^{bc}

注:与正常组比较,^a $P<0.05$,^b $P>0.05$,与模型对照组比较,^c $P<0.05$,^d $P>0.05$ 。

3.8 各组大鼠结肠黏膜组织病理学比较 各组大鼠结肠黏膜 HE 染色结果显示黏膜腺体排列整齐,结肠黏膜结构完整,未见间质充血、水肿,且无明显炎性细胞浸润,正常组与上述光镜下表现相符,模型组大鼠结肠近端黏膜病理显示黏膜腺体排列欠整齐,黏膜层可见少量炎症细胞浸润,与正常组有差异。给药组、模型对照组和正常组比较,病变程度无明显差异,无器质性病变,可见该动物模型是 IBS-C 模型。(见图 1)

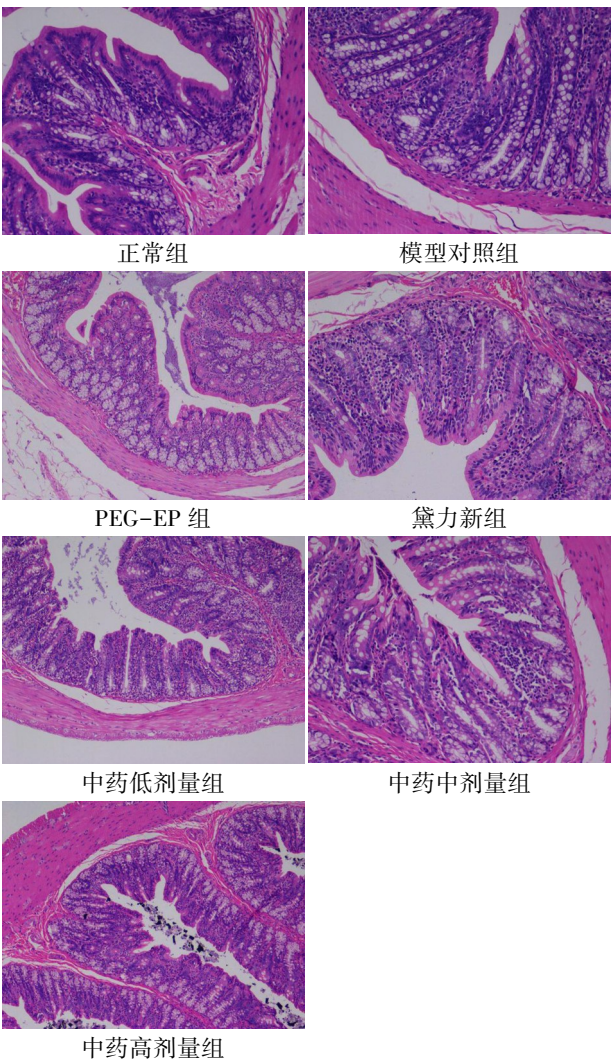


图 1 各组大鼠结肠黏膜 HE 染色结果图(×100 倍)

4 讨 论

目前大多数的 IBS 相关实验研究均集中在 IBS-D 动物模型,而对于 IBS-C 模型建立的实验研究较少,在造模方法上国内外都没有统一的标准。目前常见的造模方法包括冰水灌胃、母婴分离、急性或慢性束缚应激、急性避水应激刺激等方法,其中冰水灌胃是建立 IBS-C 动物模型的经典方法,造模时间较短,操作简单,安全性高,模型稳定性强。彭丽华等^[2]给予大鼠冰水(0℃~4℃ 0.9%氯化钠注射液)2 ml 每天灌胃 1 次,持续 14 d,该法制成的动物模型中实验组大鼠排便粒数少于对照组,且具有肠道敏感性降低、5-HT 阳性内分泌细胞增多、回盲部及结肠肥大细胞增多,较好地模拟了人类 IBS-C 的特征,因此本实验组也选择了冰水灌胃造模方案,同时我们也发现了使用多因素联合造模的动物相比于单因素造模(冰水灌胃)更符合人类 IBS 的表现。由于单纯使用中医病因病机理论中认为的致病因素作为造模手段,其制备的动物模型表现很不稳定,在造模停止以后不到 1 周的时间里,大部分实验动物从外表、自主活动度、精神状态上观察多会恢复如常、个体差异大且容易自愈。基于

上述认识,我们对文献中 IBS-C 动物模型的制作方法进行了如下改进:首先是造模时间的改进。原文献当中每天灌胃一次和应激束缚(未提及束缚持续时间),造模给药 14 d,我们将其改为每天灌胃 1 次,捆绑束缚每天 1h,造模时间改为 20 d。根据“多食生冷寒凉,损伤脾胃阳气”的中医医学理论,通过冰水灌胃,给模型动物连续的寒凉刺激,使实寒转化为虚寒。此外有研究提出,冰水灌胃所致的内脏敏感性异常是 IBS 重要的病理生理特征^[2]。岳利峰等^[6]认为慢性束缚方法可模拟郁怒日久、木郁乘土、肝郁脾虚的病理演变过程。大鼠长时间受到束缚,其行为由兴奋、焦虑状态转为抑郁状态,肝失疏泄,气机郁滞,再加上长期寒凉刺激伤阳,故该模型既具有内脏高敏感特性又符合中医肝气郁滞合并阳虚型的辨证要求。

AWR 评分是目前公认的内脏敏感性评价指标,当肠道痛阈值评分降低时,表明大鼠内脏敏感性增加,由表 3 可知,模型组与正常组比较,大鼠肠道痛阈值评分降低,差异有统计学意义($P<0.05$),与彭丽华等^[2]得出 IBS-C 模型大鼠内脏敏感性增加的结果相符。本实验对肝郁证的评价方法采用了糖水消耗百分比,造模后大鼠对糖水奖赏兴趣的降低。糖水偏好百分比作为衡量敏感缺乏和快感消失的客观有效的指标,可用于肝郁证的评价^[7]。旷场实验的方法,是通过测定啮齿类动物在黑暗环境中自主活动度来反映动物意志活动减退、兴趣缺失的一种方法,也是评价抑郁动物模型的重要行为学检测指标。本实验中,与正常组比较,造模后大鼠 5 min 内跨越方格数明显减少,表明大鼠自主活动度降低,兴趣缺失。实验结果显示造模完成后大鼠 Bristol 分型积分、粪便含水量、排便粒数显著降低,又对于糖水奖赏兴趣降低及自主活动行为迟钝,肠道敏感性显著升高,模型组大鼠体征表现符合中医学对肝气郁滞合并阳虚证型的辨证。综上,可以说明本实验采用冰水灌胃结合限制饮水、慢性束缚应激的方式成功制备了肝气郁滞合并阳虚型 IBS-C 动物模型。

近年来中医“从肝论治”治疗 IBS-C 进行了较为全面的论述及临床报道,取得了显著的研究进展。大量医家在继承前人经验的基础上,对 IBS-C“从肝论治”提出了许多有见地的观点。由于临床上多数便秘患者有不良情绪及焦虑、紧张、抑郁等心理障碍,造成患者长期情志不畅,肝郁气滞,同时我们也看到由于临床上老年型便秘较多且病史较长,老年患者多阳气虚衰,肾精不足,阳虚则失于温煦,阴寒内结,阳虚便秘甚为多见,因此在 IBS-C 治疗时应注重疏肝解郁、温阳通便,从而恢复肠腑传导之功。实验结果显示,柴胡疏肝散合济川煎高、中剂量能增加模型大鼠的粪便含水量、排便粒数、Bristol 分型积分及小肠推进率,升高肠道阈值,同时能改善大鼠自主活动度降低兴趣缺失、意志活动减退的状态,表明该方对肝气郁滞合并阳虚型 IBS-C 具有治疗作用。

IBS 的病因及发病机制尚不明确,目前认为其发病可能与胃肠动力异常、脑-肠轴功能异常、焦虑抑郁、饮食、炎症、遗传、内脏高敏感和肠道菌群紊乱有关,而脑-肠轴调控下

的肠道内分泌细胞异常及焦虑抑郁可能是 IBS-C 患者便秘、腹痛或腹部不适等症状发生的重要因素。肠嗜铬样细胞主要分泌 5-HT,不仅参与调节胃肠道感觉、运动、分泌等多种功能,还可致内脏传入神经和肠神经系统敏感性增加,从而引起腹痛、腹胀等症状^[8]。生长抑素(SS)是分布最广的抑制性激素,经肠内分泌 D 细胞分泌,主要作用为抑制各种兴奋性脑肠肽的释放,抑制胃肠蠕动,减慢肠道传输时间。VIP 在结肠中含量最高,VIP 一方面能抑制胃肠道平滑肌蠕动,另一方面又能增强胃肠道黏膜腺体的分泌。有研究表明 5-HT、VIP 和 SS 在 IBS 患者血清中浓度异常和肠道表达异常与 IBS 的发病机制密切相关^[9-11]。本实验中,与 PEG-EP 组、黛力新组相比,中药治疗组的大鼠血清中 5-HT、SS 水平明显降低,大鼠血清中的 VIP 水平明显升高,表明中药干预对模型大鼠 5-HT、SS、VIP 的调节作用明显优于西药组,可能与中药能从多方面多靶点的来治疗 IBS-C 症状有关。

目前研究显示,IBS-C 的发病机制复杂,我们通过实验研究发现柴胡疏肝散合济川煎通过抑制血清中 5-HT、SS、升高血清中 VIP 的含量可以改善 IBS-C 症状,但中医药治疗并不局限于大鼠血清内脑肠肽的改变,往往是多个靶点、多种信号通路同时发挥整体治疗作用,这也是中医药治疗 IBS-C 的优势所在,其应用前景广阔。

参考文献

- [1] DOUGLAS A DROSSMAN, LING CHNG, WILLIAM DH EY. 罗马 IV 功能性胃肠病肠-脑互动异常[M]. 4 版. 北京:科学出版社,2016:615-619.
- [2] 彭丽华,杨云生,孙刚,等. 便秘型肠易激综合征新概念模型的建立[J]. 世界华人消化杂志,2004,12(1):112-116.
- [3] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理试验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:1203.
- [4] LEHMANN ML, MUSTAFA T, EIDEN AM, et al. PACAP-deficient mice show attenuated corticosterone secretion and fail to develop depressive behavior during chronic social defeat stress[J]. Psychoneuroendocrinology, 2013, 38(5):702-715.
- [5] 林晓春,李云鹏,卞艳芳,等. 大鼠旷场实验指标检测及参考值的探讨[J]. 毒理学杂志,2010,24(3):224-225.
- [6] 岳利峰,丁杰,陈家旭,等. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价[J]. 北京中医药大学学报,2008,31(6):396-400.
- [7] 许亚辉,吴佳佳,严志祎,等. 逍遥散对慢性应激抑郁大鼠海马一氧化氮合酶表达的影响[J]. 中华中医药杂志,2019,34(12):5679-5683.
- [8] 杨倩,邱贝,马赞,等. 便秘型肠易激综合征大鼠肠组织中 5-HT 的实验研究[J]. 中医临床研究,2014,6(30):35-37.
- [9] 刘媛,唐洪梅,钟如帆,等. 健脾通腑颗粒对肝郁脾虚型便秘型肠易激综合征大鼠模型的作用及机制研究[J]. 中华中医药学刊,2018,36(12):2870-2874.
- [10] 窦迎春,许倩倩,孟欣颖. 脑肠肽及焦虑、抑郁在便秘中的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2017,26(5):497-502.
- [11] 赵士,彭桂林,卞红磊,等. P 物质和血管活性肠肽在慢传输型便秘大鼠肠壁内的变化和可复性研究[J]. 疑难病杂志,2008,7(3):158-160. (收稿日期:2020-09-27)