

温肾健脾法干预腹泻型肠易激综合征大鼠的实验研究

苏晓兰¹ 唐艳萍² 张 静³ 白亦冰³ 史海霞¹ 刘燕君¹ 常玉娟¹ 魏 玮¹

摘要 **目的** 建立腹泻型肠易激综合征(IBS-D) 大鼠模型,从大鼠一般情况、大便性状、腹壁撤退反射(abdominal withdrawal reflex, AWR) 评分及组织病理学观察温肾健脾法干预 IBS-D 的效果。**方法** 72 只大鼠随机分为正常组、模型组、温肾健脾方高、中、低剂量组和对照组共 6 组,每组 12 只。参照 AL-Chaer ED 造模方法成功建立 IBS-D 大鼠模型,造模结束后,治疗组分别予温肾健脾方免煎剂高、中、低剂量灌胃治疗,对照组予四神丸方免煎剂灌胃,模型组予等体积生理盐水灌胃,给药 2 周。观察用药前后大鼠一般情况、大便性状、大鼠 AWR 及组织病理学改变。**结果** 治疗后各组大鼠一般情况均有不同程度的好转,温肾健脾方高、中剂量组大鼠的改善情况优于温肾健脾方低剂量组和对照组($P < 0.05$)。治疗前后各组大鼠体重相对增长率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后与模型组及温肾健脾方低剂量组比较,温肾健脾方高、中剂量组和对照组大鼠在 4 h 内排便粒数减少,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后温肾健脾方高、中剂量组大鼠 4 h 内粪便 Bristol 分级评分、平均稀便级和粪便干湿比重均低于对照组和温肾健脾方低剂量组($P < 0.05$)。在球囊扩张的容量为 1.5 mL 时,温肾健脾方高、中剂量组 AWR 评分低于对照组和温肾健脾方低剂量组($P < 0.05$);各组大鼠组织标本大体观与病理学观察均未见器质性改变。**结论** 此批模型大鼠进行内脏高敏感性 IBS-D 研究可靠;温肾健脾法能减少 IBS-D 大鼠排便粒数、降低 Bristol 分级评分、平均稀便级和粪便干湿比重,在一定程度上能降低大鼠内脏高敏感性。

关键词 肠易激综合征;温肾健脾法

Shen Warming Pi Strengthening Method Intervened IBS-D Rats: an Efficacy Assessment SU Xiao-lan¹, TANG Yan-ping², ZHANG Jing³, BAI Yi-bing², SHI Hai-xia¹, LIU Yan-jun¹, CHANG Yu-juan¹, and WEI Wei¹ 1 Department of Gastroenterology, Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100102), China; 2 Department of Gastroenterology, Nankai Hospital, Tianjin (300100), China; 3 Department of Gastroenterology, Xuanwu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing (100050), China

ABSTRACT **Objective** IBS-D rat model was established to assess the effect of Shen warming Pi strengthening method (SWPSM) for intervening diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) by observing rats' general state, stool properties, AWR ranking, and histopathological changes. **Methods** Totally 72 rats were randomly divided into 6 groups, i. e. the normal group, the model group, the high, middle, low dose SWPSM groups, and the control group, 12 in each group. The IBS-D rat model was successfully established referring to AL-Chaer ED's modeling method. After modeling high, middle, and low dose SWPS Recipe boil-free granules were given by gastrogavage to rats in corresponding treatment groups. Sishen Pill boil-free granule was given by gastrogavage to those in the control group. Equal volume of normal saline was given by gastrogavage to rats in the model group. The medication lasted for 2 weeks. **Rats' general state, stool properties, abdominal withdrawal reflex (AWR) ranking, and his-**

基金项目: 国家自然科学基金资助课题(No. 81072800)

作者单位: 1. 中国中医科学院望京医院脾胃病科(北京 100102); 2. 天津市南开医院消化内科(天津 300100); 3. 北京市宣武中医医院脾胃病科(北京 100050)

通讯作者: 魏 玮, Tel: 010-84739187, E-mail: sxxy@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.02.0197

topathological changes were observed. Results After treatment, the general state of all rats got improvement to various degrees. The improvement in the high and middle dose SWPS Recipe groups were superior to that in the low dose SWPS Recipe group and the control group ($P < 0.05$). There was no statistical difference in the growth rate between after and before treatment in each group ($P > 0.05$). Compared with the model group and the low dose SWPS Recipe group, the defecation amount within 4 h was less in the high and middle dose SWPS Recipe groups and the control group ($P < 0.05$). The Bristol ranking score, average ranking of loose stool, ratio of dry stool and wet stool were lower in the high and middle dose SWPS Recipe groups than in the control group and the low dose SWPS Recipe group ($P < 0.05$). The AWR ranking score was lower in the high and middle dose SWPS Recipe groups than in the control group when the volume of balloon dilation was 1.5 mL. There was no organic change of histological or morphological observation. Conclusions High sensitive IBS-D model was proved to be reliable. SWPSM could reduce the quantity of stools, lower Bristol ranking score, average ranking of loose stools as well as ratios of dry stool and wet stool, contributing to reducing the high sensitivity of rats' visceral organs to some extent.

KEYWORDS irritable bowel syndrome; Shen warming Pi strengthening method

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是指与排便相关的腹痛或腹部不适,或伴有排便习惯改变及排便紊乱,同时无形态学、生化学异常改变和其他明显原因可以解释症状的产生^[1]。鉴于 IBS 发病原因及发病机制尚不明确,治疗限于对症,疗效尚不十分满意,动物实验作为科研先导,可以在一定程度上弥补临床研究的不足。本实验通过建立腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)大鼠模型在一定程度上较好地模拟了 IBS-D 的大便性状及发病机制,并可对温肾健脾法干预 IBS-D 大鼠的疗效进行评价。

材料与方 法

1 动物 4 周龄健康雄性 SD 大鼠 72 只,清洁级,体重(70±10)g。普通饲料适应性喂养 1 周,示正常生长后入选。动物购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号为 SCXK(京)2006-0009。

2 药物 温肾健脾方由肉豆蔻 15 g、补骨脂 30 g、五味子 9 g、吴茱萸 9 g、党参 30 g、白术 15 g、郁金 18 g、生姜 2 g、大枣 2 g 组成。四神丸方由肉豆蔻 15 g、补骨脂 30 g、五味子 9 g、吴茱萸 9 g、生姜 2 g、大枣 2 g 组成。以上药物均采用广州一方药业有限公司生产的免煎剂 4℃ 储备,用前摇匀。

3 仪器 8F 双腔带囊直径为 2.7 mm 的儿童型导尿管(Bardex 公司),U-TVO.5XC.24H01726 显微镜(Olympus 公司),RM2255 切片(Leica 公司),HI1220 烤片机(Leica 公司),EG1150H 脱水机(Leica 公司),YP402N 电子天平(上海菁海仪器有限公司),AHB-2-LB 万能照相机(Olympus 公司)。

4 动物分组 72 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法随机分为 6 组,每组 12 只,分别为正常组、模型组、温肾健脾方高剂量组、温肾健脾方中剂量组、温肾健脾方低剂量组及对照组(四神丸方组)。

5 模型制备 参照 AL-Chaer ED^[2]的造模方法,同时予番泻叶灌胃联合夹尾刺激,即采用物理化学刺激共同作用的方法复制内脏高敏感 IBS-D 大鼠模型,具体操作为:首先将石蜡润滑后的连续硬膜外导管(直径 1 mm)经肛门插入距肛缘 3~5 cm 处,注入 0.5% 冰醋酸,将大鼠倒置,按住肛门约 1 min,以防冰醋酸漏出,首次剂量从 0.2 mL 开始,每 2 天增加 0.1 mL,增加至 0.5 mL 时不变,持续 2 周;然后将一次性儿童型导尿管球囊端石蜡润滑后插入大鼠距肛缘 2~3 cm 处,另一端连接 5 mL 注射器,每次注射器充气 1.5~2.0 mL/次,进行球囊直肠刺激,间断持续 3~5 min 2 次/天,同时联合夹尾刺激,间断持续 3~5 min 2 次/天,也持续 2 周。在结肠注射冰醋酸、直肠扩张联合夹尾刺激的同时予 0.3~0.5 g/mL(20 mL/kg)番泻叶浓缩剂灌胃,每次 2~2.5 mL/只,1 次/天,持续灌胃 4 周。除正常组外,其余各组均采用以上操作方法诱导 IBS-D 大鼠模型。造模结束后大鼠归笼,常规饲养,自由饮食。

6 给药方法 按照《药理实验方法学》^[3]选择按体重计算方法计算给药剂量。以成人 60 kg、大鼠 120 g 计算,动物给药量的换算公式: $dB = dA \times KB/KA$ (dB 为大鼠每天每千克体重灌药量, dA 为成人每天每千克用量, $KB = 0.71$, $KA = 0.11$ 为常数)。造模成功后,温肾健脾方各用药组分别以高剂量每天 3.10 g/kg、中剂量每天 1.55 g/kg、低剂量每天 0.775 g/kg 灌

胃,分别相当于成人用量的 2、1、1/2 倍;对照组予四神丸方每天 0.736 g/kg 灌胃,药液量调整至每只 2 mL/次。模型组予等体积生理盐水灌胃。均为 2 次/天。各组均用药 2 周。

7 标本处理 给药 2 周后,将大鼠禁食不禁水 24 h,分别称重记录,10% 水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉,开腹,分别留取结肠组织及回盲部组织。结肠标本采集后立即固定于中性福尔马林溶液中,梯度酒精脱水,石蜡包埋,常规切片,HE 染色,显微镜下观察。

8 观察指标及方法

8.1 一般情况 分别观察大鼠的精神状态、体重、活动情况、毛发光泽度、食欲、大便性状等。

8.2 体重相对增长率 分别记录造模前、造模后、治疗后各组大鼠体重,并计算出治疗前、治疗后各组大鼠的体重相对增长率。治疗前大鼠体重相对增长率(%)=(造模结束后体重-造模前体重)/造模前体重×100%;治疗后大鼠体重相对增长率(%)=(治疗结束后体重-造模结束后体重)/造模结束后体重×100%。

8.3 排便粒数、粪便 Bristol 分级及平均稀便级 本实验共 42 天,分别于第 14、28、42 天,在笼内垫清洁滤纸,观察 8:00—12:00Am 4 h 内大鼠排便的粪点数,正常组同期观察。粪便 Bristol 分级评分标准^[4]:1 型:分散的干球粪便,如坚果,很难排除;2 型:腊肠状,多块的;3 型:腊肠状,表面有裂缝;4 型:腊肠状或蛇状,平滑而柔软;5 型:柔软团块,边缘清楚(容易排出);6 型:软片状,边缘毛糙,或糊状粪;7 型:水样粪,无固体成分。其中便秘型粪便多为 1 型或 2 型,腹泻型粪便多为 6 型或 7 型。1~7 型分别记作 1~7 分。根据大鼠平均稀便级分级标准^[5]计算大鼠平均稀便级,正常组同期观察,见表 1。

表 1 平均稀便级分级标准

级数	污迹直径(cm)	级数	污迹直径(cm)
0	0	4	3.0~3.9
1	0~0.9	5	4.0~4.9
2	1.0~1.9	6	5.0~5.9
3	2.0~2.9	7	6.0~6.9

8.4 粪便干湿比重 采集 8:00—12:00Am 4 h 内大鼠粪便,称重(湿重),用烘箱烘干(75℃,2.5 h),再称重(干重)。计算公式:粪便干湿比重(%)=(湿重-干重)/湿重×100%,分别计算治疗前、治疗后各组大鼠的粪便干湿比。

8.5 腹壁撤退反射评分(abdominal withdrawal reflex, AWR) 分别于第 28、42 天对大鼠进行

AWR。具体操作:将一次性儿童型导尿管球囊端石蜡油浸润后经肛门插入,使球囊末端距肛缘约 1.0 cm,在肛门外 1.0 cm 处将其固定在大鼠尾根部后。每只大鼠给予球囊扩张 3 次,容量分别为 1.0、1.5、2.0 mL,每次扩张持续 3~5 min,间隔 30 s(以防肠道缺血)。每个容量重复 3 次,计算并记录 3 次评分之平均值。AWR 评分标准^[6]为:0 分:给予结直肠扩张刺激时大鼠情绪基本稳定;1 分:给予刺激时变得不稳定,偶尔扭动头部;2 分:腹背部肌肉轻微收缩但腹部未抬高地面;3 分:腹背部肌肉较强烈收缩并把腹部抬高地面;4 分:腹部肌肉强烈收缩,腹部呈弓形并把腹部、会阴部抬高地面。

8.6 组织标本大体观与病理学观察 肉眼观察结肠组织、回盲部组织缺损、皱襞排列、黏膜色泽、充血水肿等情况。显微镜下分别观察结肠组织、回盲部组织黏膜层、黏膜下层及肌层,包括上皮细胞表面微绒毛、上皮细胞排列紧密,细胞间隙、黏膜下血管、腺体结构、炎性细胞等情况。

9 统计学方法 采用 SAS 9.0 统计处理软件分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述,分别进行正态性和方差齐性检验,对正态性好且方差齐的指标在组间比较时采用单因素方差分析,检验总体均数差异性,有差异者再进行 *q* 检验两两比较;对正态性不好、方差不齐的指标在组间比较时采用非参数秩和检验 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般情况比较 实验期间,无大鼠死亡。正常组大鼠反应灵敏,精神状态佳,活动性良好,粪便性状呈颗粒状,毛发整齐有光泽。造模开始 3~5 天后大鼠精神略显萎靡,体质量略下降,活动减少,倦怠蜷卧,拱背,被毛较松散,毛色偏黄少光泽,可见腹泻,稀便和(或)肛周体毛被稀便沾染。中药高、中组剂量组及对照组大鼠从灌胃第 3 天起即出现腹泻减轻,部分大鼠腹泻于 3~5 天内迅速缓解,粪便性状由不成形至半成形最后转为颗粒状,粪便颜色逐渐转为正常黑色,大鼠精神状态回升,活动增加,皮毛逐渐恢复光泽。7~10 天左右,大鼠腹泻基本消失。中药低剂量组大鼠从灌胃第 3~5 天起,大鼠腹泻逐渐减轻,大鼠精神状态逐渐回升,活动增加,皮毛较整齐但欠光泽。实验结束时,仍有小部分大鼠粪便性状略稀。

2 各组大鼠体重相对增长率比较(表 2) 治疗前后各组大鼠体重相对增长率比较,差异无统计学意

表 2 各组大鼠体重相对增长率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重增长率	
		治疗前	治疗后
正常	12	419.87 ± 35.66	36.13 ± 4.88
模型	12	395.91 ± 19.98	37.75 ± 3.65
对照	12	396.14 ± 20.61	36.56 ± 6.05
温肾健脾方高剂量	12	394.10 ± 27.12	35.35 ± 6.05
中剂量	12	391.18 ± 25.70	33.57 ± 8.59
低剂量	12	405.34 ± 20.71	38.26 ± 3.41

义($P > 0.05$)。

3 各组大鼠排便粒数比较(表 3) 在各时间点, 与正常组比较 模型组大鼠在 4 h 内排便粒数高于正常组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在第 42 天时, 与模型组及温肾健脾方低剂量组比较, 温肾健脾方高、中剂量组和对照组大鼠在 4 h 内排便粒数减少, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠排便粒数比较 (粒数/4 h , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	排便粒数		
		第 14 天	第 28 天	第 42 天
正常	12	3.58 ± 0.43*	3.53 ± 0.43*	3.51 ± 0.49*
模型	12	6.31 ± 0.62	6.18 ± 0.63	6.21 ± 0.64
对照	12	6.20 ± 1.09	6.11 ± 0.85	4.80 ± 1.41* Δ
温肾健脾方高剂量	12	6.36 ± 0.41	6.23 ± 0.52	3.56 ± 0.68* Δ
中剂量	12	6.25 ± 0.73	6.26 ± 0.43	3.63 ± 0.82* Δ
低剂量	12	6.31 ± 0.85	6.21 ± 0.82	5.75 ± 0.54

注: 与模型组同期比较, * $P < 0.05$; 与温肾健脾方低剂量组同期比较, $\Delta P < 0.05$

4 各组大鼠粪便 Bristol 分级评分比较(表 4) 与正常组比较, 第 28、42 天时, 模型组大鼠粪便 Bristol 分级评分升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。第 42 天(治疗后), 与模型组比较, 温肾健脾方各剂量组及对照组大鼠粪便 Bristol 分级评分降低, 其中温肾健脾方高、中剂量组大鼠粪便 Bristol 分级评分低于对照组和温肾健脾方低剂量组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 4 各组大鼠粪便 Bristol 分级评分比较 (分 , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Bristol 分级评分	
		第 28 天	第 42 天
正常	12	4.16 ± 0.25*	4.05 ± 0.20*
模型	12	6.36 ± 0.56	6.36 ± 0.56
对照	12	6.20 ± 0.59	4.80 ± 0.48*
温肾健脾方高剂量	12	6.26 ± 0.30	4.30 ± 0.31* $\Delta\Delta$
中剂量	12	6.31 ± 0.65	4.40 ± 0.37* $\Delta\Delta$
低剂量	12	6.33 ± 0.81	5.28 ± 0.48*

注: 与模型组同期比较, * $P < 0.05$; 与对照组同期比较, $\Delta P < 0.05$; 与温肾健脾方低剂量组同期比较, $\Delta P < 0.05$; 表 5 β 同

5 各组大鼠平均稀便级比较(表 5) 在各时间点, 与正常组比较, 模型组大鼠平均稀便级升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。第 42 天时, 与模型组比较, 温肾健脾方各剂量组及对照组大鼠平均稀便级降低, 其中温肾健脾方高、中剂量组大鼠平均稀便级低于对照组和温肾健脾方低剂量组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组大鼠平均稀便级低于温肾健脾方低剂量组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 5 各组大鼠平均稀便级比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	平均稀便级		
		第 14 天	第 28 天	第 42 天
正常	12	0.53 ± 0.11*	0.58 ± 0.06*	0.56 ± 0.08*
模型	12	3.31 ± 0.62	3.88 ± 0.45	3.61 ± 0.34
对照	12	3.41 ± 0.81	3.75 ± 0.46	1.18 ± 0.39* Δ
温肾健脾方高剂量	12	3.25 ± 0.50	3.79 ± 0.41	0.60 ± 0.07* $\Delta\Delta$
中剂量	12	3.18 ± 0.44	3.84 ± 0.34	0.58 ± 0.08* $\Delta\Delta$
低剂量	12	3.13 ± 0.51	3.94 ± 0.41	2.98 ± 0.85*

6 各组大鼠粪便干湿比重(表 6) 与正常组比较, 模型组大鼠粪便干湿比重升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 第 42 天(治疗后), 与模型组比较, 温肾健脾方各剂量组及对照组大鼠粪便干湿比重降低, 温肾健脾方高、中剂量组大鼠粪便干湿比重低于对照组和温肾健脾方低剂量组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组大鼠粪便干湿比重低于温肾健脾方低剂量组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 6 各组大鼠粪便干湿比重比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	粪便干湿比重	
		第 28 天	第 42 天
正常	12	47.81 ± 2.37*	48.70 ± 3.74*
模型	12	60.48 ± 2.69	60.48 ± 2.69
对照	12	59.58 ± 3.20	55.24 ± 4.43* Δ
温肾健脾方高剂量	12	60.75 ± 3.27	51.08 ± 3.08* $\Delta\Delta$
中剂量	12	61.85 ± 2.90	51.18 ± 2.52* $\Delta\Delta$
低剂量	12	60.80 ± 2.37	58.13 ± 2.41*

7 大鼠腹壁撤退反射评分比较

7.1 造模后各组大鼠 AWR 评分比较(表 7) 在 1.5 mL 时, 与正常组比较, 各组大鼠 AWR 评分均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

7.2 治疗后各组大鼠 AWR 评分比较(表 8) 与正常组比较, 模型组大鼠 AWR 评分均高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 1.5 mL 时, 与模型组比较, 温肾健脾方高、中剂量组及对照组大鼠 AWR 评分降低, 其中温肾健脾方高、中剂量组 AWR 评分低于对照组及温肾健脾方低剂量组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 7 造模后各组大鼠 AWR 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AWR 评分		
		1.0 mL	1.5 mL	2.0 mL
正常	12	0.65 ± 0.36	2.01 ± 0.75	3.09 ± 0.49
模型	12	1.35 ± 0.83	2.92 ± 0.64*	3.47 ± 0.36
对照	12	1.43 ± 0.75	3.01 ± 0.58*	3.40 ± 0.33
温肾健脾方高剂量	12	1.36 ± 0.75	2.82 ± 0.62*	3.41 ± 0.36
中剂量	12	1.34 ± 0.76	3.04 ± 0.58*	3.52 ± 0.33
低剂量	12	1.34 ± 0.84	2.91 ± 0.56*	3.48 ± 0.36

注: 与正常组同容量比较, *P < 0.05

表 8 治疗后各组大鼠 AWR 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AWR 评分		
		1.0 mL	1.5 mL	2.0 mL
正常	12	0.60 ± 0.41*	1.76 ± 0.59*	3.09 ± 0.49*
模型	12	1.43 ± 0.75	3.33 ± 0.48	3.60 ± 0.29
对照	12	1.21 ± 0.61	2.80 ± 0.57*	3.40 ± 0.33
温肾健脾方高剂量	12	0.91 ± 0.48	2.27 ± 0.50* ^{△△}	3.25 ± 0.41
中剂量	12	1.16 ± 0.54	2.39 ± 0.34* ^{△△}	3.34 ± 0.33
低剂量	12	1.21 ± 0.65	3.08 ± 0.50	3.40 ± 0.33

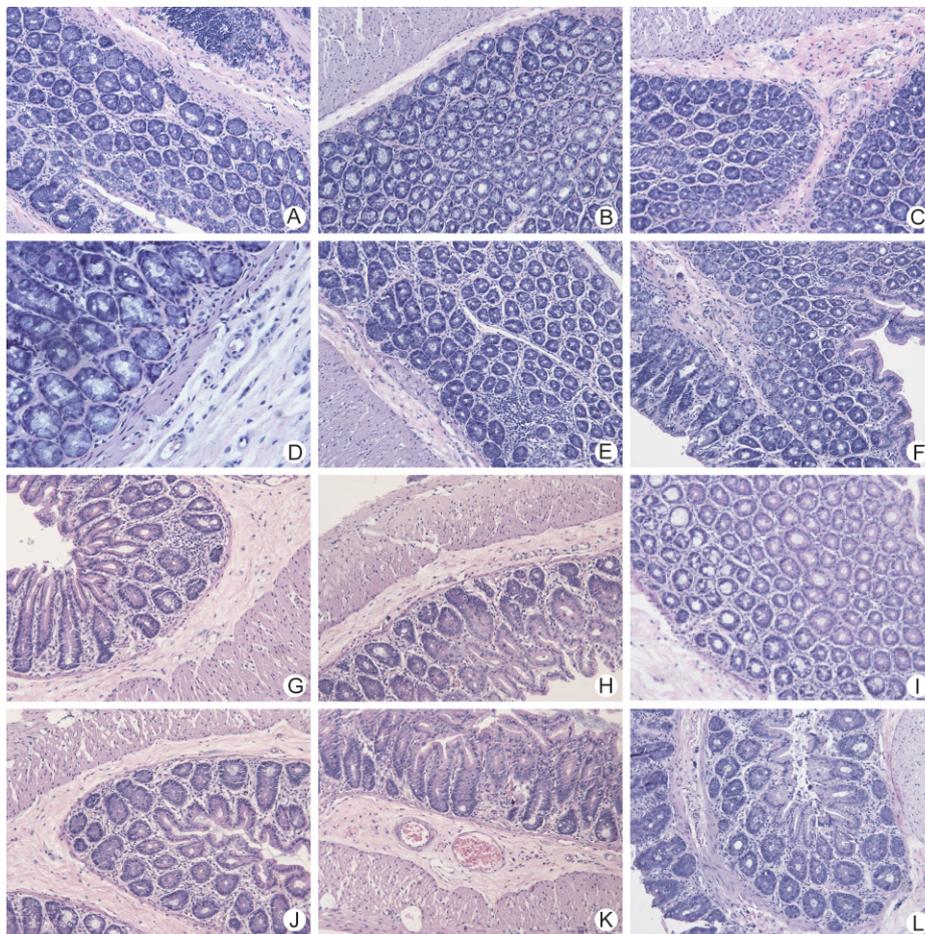
注: 与模型组同容量比较, *P < 0.05; 与对照组同容量比较, [△]P < 0.05; 与温肾健脾方低剂量组同容量比较, ^{△△}P < 0.05

8 各组大鼠结肠及回盲部标本大体观比较 各组大鼠结肠组织及回盲部黏膜均色泽淡红, 表面光滑, 黏膜皱襞清晰完整, 薄厚适中, 未见充血、水肿、渗出、糜烂等组织损伤。

9 各组大鼠结肠及回盲部标本病理学观察结果 (图 1) 除模型组偶见黏膜下层血管轻度扩张, 少量炎症细胞浸润外, 各组大鼠结肠组织及回盲部组织黏膜上皮表面微绒毛完整, 排列整齐, 上皮细胞连接紧密, 黏膜下血管正常, 腺体结构排列规则, 偶见炎症细胞浸润, 杯状细胞胞浆内富含黏液颗粒。未见充血水肿, 无糜烂及溃疡。肌层无异常。

讨 论

关于 IBS 的动物模型, 国内外报道很多。目前, IBS 动物模型可归纳为 3 种类型: 第一种是致中枢兴奋性增高 IBS 动物模型; 第二种是外周致敏 IBS 动物模型, 为感染、炎症后肠功能紊乱等; 第三种是前两者联合作用致 IBS 动物模型, 为物理和(或)化学刺激所



注: A、G 为正常组; B、H 为模型组; C、I 为对照组; D、J 为温肾健脾方高剂量组; E、K 为温肾健脾方中剂量组; F、L 为温肾健脾方低剂量组。A~F 为各组大鼠结肠病理学观察; G~L 为各组大鼠回盲部病理学观察

图 1 各组大鼠结肠及回盲部病理学观察结果 (HE, ×200)

致内脏高敏感 IBS 动物模型, 这种类型符合 IBS 慢性内脏感觉过敏理论, 并且模型大鼠肠黏膜无大体及组织学改变, 与 IBS 的发病相符, 是目前较理想的 IBS 动物模型^[7-10]。本实验参照 Al-chaer ED 造模方法为基础, 同时予番泻叶浓煎剂灌胃联合夹尾, 对大鼠进行物理和化学的共同刺激, 较好地模拟 IBS-D 的症状, 建立长期、慢性的 IBS-D 内脏高敏感的动物模型的同时, 也使之接近于中医药研究的 IBS-D 脾肾阳虚型大鼠模型。实验中除正常组外, 其余各组均采用物理和化学共同刺激的方法进行 IBS-D 内脏高敏感大鼠模型复制。结果显示各组大鼠体重相对增长率均匀增加($P > 0.05$)。模型组大鼠排便粒数增多, 粪便 Bristol 分级升高, 平均稀便级增高, 粪便干湿比重增高, 且模型大鼠内脏敏感性高于正常组($P < 0.05$)。1.5 mL 为各组大鼠评价 AWR 评分的敏感容量。本实验中大鼠一般情况、粪便性状情况及 AWR 评分结果揭示了模型组大鼠具有内脏高敏感性特征, 符合内脏高敏感 IBS-D 动物模型制备; 结肠黏膜及回盲部组织学结果显示各组大鼠肠道均无损伤和明显炎症细胞侵入, 这与 IBS 无病理学改变的特点相符合, 进一步验证了此批模型大鼠可进行内脏高敏感性 IBS-D 研究的可靠性。

温肾健脾方是在四神丸基础上加入党参、白术、郁金组成, 方中补骨脂辛苦性热而补命门, 为壮火益土之要药; 肉豆蔻温补脾肾而涩肠止泻; 吴茱萸暖脾胃而散寒除湿; 五味子性温而不热不燥, 温肾固涩; 党参甘温补中, 补气升阳, 长于止泻; 白术甘温性缓、阳中之阴, 可升可降, 长于补脾益气、燥湿利水; 郁金入心治血、体清气窜, 其气先上行而微下达, 长于行气解郁、祛瘀止痛。生姜散寒行水、大枣滋养脾胃, 共为佐药。本实验结果显示: (1) 治疗后温肾健脾方高、中剂量组大鼠一般情况改善最佳, 优于其他各组, 治疗前后各组大鼠体重均匀增加。(2) 在降低 IBS-D 大鼠 4 h 内排便粒数、粪便 Bristol 分级评分、大鼠平均稀便级及大鼠粪便干湿比重方面, 温肾健脾方高、中剂量优于对照组($P < 0.05$)。(3) 在降低 IBS-D 大鼠 AWR 评分方面, 温肾健脾方高、中剂量优于对照组($P < 0.05$), 提示温肾健脾方能较好地降低大鼠内脏高敏感性。(4) 各组大鼠组织标本大体观与病理学观察均未见器质性改变。温肾健脾方则其具有温肾健脾、疏肝理气、清心解郁等多重作用, 可使肾温脾暖, 郁解心清, 大肠固而运化复, 泻止而愈。正如《医方集

解》所述“大补下焦元阳, 使火旺土强, 则能制水而不复妄行矣”。本实验中温肾健脾方高、中剂量组及对照组对 IBS-D 大鼠在降低粪便性状、频率(排便粒数、粪便 Bristol 分级评分、稀便级、及粪便干湿比重)及内脏高敏感方面均有治疗作用, 且温肾健脾方高、中剂量能较好地治疗 IBS-D 大鼠, 其疗效优于四神丸组。因此, 温肾健脾法对 IBS-D 大鼠治疗效果显著, 但其疗效作用机制尚需进一步研究。

综上, 温肾健脾法能够减少 IBS-D 大鼠排便粒数、降低 Bristol 分级评分、平均稀便级和粪便干湿比重, 在一定程度上能降低大鼠内脏高敏感性, 值得临床应用。

参 考 文 献

- [1] Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, et al. Functional bowel disorders [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(5): 1480 - 1491.
- [2] Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development [J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(5): 1276 - 1285.
- [3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修主编. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202 - 203.
- [4] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 肠易激综合征诊断和治疗的共识意见(2007, 长沙) [J]. *中华消化杂志*, 2008, 28(1): 38 - 40.
- [5] 周干南, 胡之华, 汪亚先, 等. 小鼠腹泻模型的制备及腹泻指数的应用 [J]. *中草药*, 1994, 25(4): 195 - 196, 199.
- [6] Ness TJ, Gebhart GF. Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiologic and pharmacologic characterization of pseudoaffective reflexes in the rat [J]. *Brain Res*, 1988, 450(1-2): 153 - 169.
- [7] 刘清华, 李定国. 肠易激综合征动物模型复制思路和方法 [J]. *国外医学(消化系疾病分册)*, 2002, 22(3): 154 - 156.
- [8] 谭洁, 冯薇, 彭芝配, 等. 建立肠易激综合征中医证候模型的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(8): 197 - 199.
- [9] Gibney SM, Gosselin RD, Dinan TG, et al. Colorectal distension-induced prefrontal cortex activation in the Wistar-Kyoto rats [J]. *Neuroscience*, 2010, 165(3): 675 - 683.
- [10] Vicario M, Alonso C, Guilarte M, et al. Chronic psychosocial stress induces reversible mitochondrial damage and corticotrophin-releasing factor receptor type-1 up-regulation in the rat intestine and IBS-like gut dysfunction [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(1): 65 - 77.

(收稿: 2013-05-08 修回: 2013-11-15)