

蜥蜴脱敏止泄散对肠易激综合征大鼠模型 5-羟色胺影响的实验研究

★ 朱微微¹ 魏雪红² 李卫强^{1*} 朱西杰¹ (1. 宁夏医科大学 银川 750004; 2. 陕西省麟游县医院 麟游 721500)

摘要:目的:探讨蜥蜴脱敏止泄散对肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)大鼠模型的疗效和作用机制。方法:采用结肠慢性刺激法制作肠易激综合征模型,将实验动物分为空白对照组,模型对照组,阳性对照(硝苯地平)组,蜥蜴脱敏止泄散低、高剂量组。观察各组大鼠肠道内扩张引起腹部抬起和背部拱起的容量阈值和大鼠肠道内不同容量下扩张期间腹壁收缩次数,检测 5-羟色胺(5-HT)水平的变化。结果:与模型对照组相比,各治疗组大鼠行为学和电生理指标均有明显改善。各治疗组模型大鼠 5-HT 水平明显降低,且有一定的量效关系。结论:蜥蜴脱敏止泄散可能是通过影响血清 5-HT 的变化,降低模型大鼠血清 5-HT,从而提高机体内脏痛觉阈值、降低肠道敏感性而达到治疗 IBS 作用的。

关键词:蜥蜴脱敏止泄散;肠易激综合征;5-羟色胺

中图分类号:R 574.4 文献标识码:A

Study on the effect of the lizards desensitization and diarrhea powder on 5-HT in irritable bowel syndrome rat

ZHU Wei-wei¹, WEI Xue-hong², LI Wei-qiang¹, ZHU Xi-jie¹

1. Ningxia Medical University, Ningxia Yinchuan 750004

2. Linyou County Hospital, Shanxi Linyou 721500

Abstract: Objective: To evaluate the efficacy and mechanism of the lizards desensitization and diarrhea powder on the irritable bowel syndrome rat. Methods: Make irritable bowel syndrome model rats with the chronic colon stimulation. The experimental rats were divided into the normal control group, the model control group, the positive control group (nifedipine), the lizards desensitization and diarrhea powder low and high dose group. To observe the rectum and colon, the capacity threshold of the abdominal arch and back up by intestinal expansion, and the number of abdominal contraction during the different capacity expansion on the model rats, and the serum change of 5-HT. Results: Compared with the model control group, behavioural and treatment of electric physiological indexes were obviously improved on the model rats, and the 5-HT level significantly reduced. Conclusion: The lizard desensitization and diarrhea powder may act on IBS by reducing the 5-HT's serum level, enhancing the visceral pain threshold and lowering intestinal sensitivity.

Key words: The lizard desensitization and diarrhea powder; IBS; 5-HT

IBS 是一组包括持续或间歇发作的腹痛、腹胀、排便习惯和大便性状异常,而又缺乏生物化学和形态学相关解释的肠道症候群。本病临床多见,欧美问卷调查研究发现,IBS 在自然人群中的发病率为 9%~22%。国内学者在对北京地区的调查中发现,符合 Manning 标准和校正后罗马标准的 IBS 人群患病率分别为 7.01 和 0.82%^[1]。目前认为内脏敏感性增高是 IBS 的病理生理特征,是患者症状产生的

重要基础和症状多样化的原因,甚至被学者视为 IBS 患者的生物学标志^[2~4]。本研究采用结肠慢性刺激法造成大鼠 IBS 模型,观察蜥蜴脱敏止泄散对 IBS 的疗效和作用机制,为开发有效中药新药,提高临床疗效提供科学依据。

1 实验材料与方法

1.1 动物

清洁级新生 SD 大鼠 50 只,雌雄各半,年龄 8

* 通讯作者:李卫强,男,(1974~),硕士,讲师,主治医师,主要从事中医药对消化系统的临床及实验研究。Email:lwq200606@yahoo.com.cn

d, 体重(10 ± 2) g。由宁夏医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK(宁)2005-001。

1.2 药品

0.5% 醋酸(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20071101), 蜥蜴脱敏止泻散(由宁夏医科大学中医消化病研究所提供), 西药硝苯地平(临汾宝珠制药有限公司生产: 产品批号: 080301)。

1.3 方法

1.3.1 IBS 模型制作 采用结肠慢性刺激法制备 IBS 大鼠模型^[5-6]。清洁级 SD 大鼠从新生后第 8 天开始, 分成 2 组, 模型组 40 只(包括模型对照组, 阳性对照硝苯地平组, 蜥蜴脱敏止泻散低、高剂量组各 10 只), 空白对照组 10 只。模型组大鼠在 8~21 d 内, 每天将石蜡油润滑的连续硬膜外导管(直径 1mm)经肛门插入 2 cm, 注入 0.5% 的醋酸 0.3 ml。对照组同法给予等量 0.9% 的生理盐水, 从第 21 天后的三周内, 不进行任何实验操作。

上述大鼠在停止刺激 4 周后, 分别评估肠道敏感性。(1)评估大鼠的腹部回缩反射: 将导管经石蜡油润滑后插入肛门, 球囊末端距肛门 1 cm, 再用胶布把导管和大鼠尾巴根部缠在一起。将大鼠放在特制的不透光但通气的塑料笼(20 cm × 6 cm × 8 cm)内, 大鼠不能转身, 10 min 后逐渐注水(匀速)扩张肠道, 分别观察引起腹部抬起和背部拱起的容量阈值, 进行行为评估;(2)记录腹壁肌电活动评估肠道敏感性: 用苯巴比妥(30 mg/kg)麻醉, 将一铜制双极电极缝合到腹股沟韧带上方, 距中线 1.5 cm 的一侧腹外斜肌上, 电极的游离端经皮下隧道至于颈后, 固定。术后 5 d 开始肌电记录, 抗感染。将石蜡油润滑后的前述导管经肛门插入直肠内, 球囊末端距离肛门 1 cm, 电极导线的两端连接 BL-420F 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)。让大鼠休息 5 min 后, 分别在不同容量下进行直肠扩张, 每次膨胀持续 5 min, 记录 5 min 内腹壁收缩次数。每次扩张结束时, 将水回抽, 检测球囊有无漏水。记录肌电活动, 肌电活动增高超过基线水平 100 μV 以上认为是一次有意义的腹壁收缩活动。

1.3.2 分组及给药 选择制作成功的大鼠 IBS 模型 32 只, 重新随机分为: 模型对照组 8 只, 硝苯地平组 8 只, 蜥蜴脱敏止泻散低剂量组 8 只, 高剂量组 8 只, 并设空白对照组 8 只。各组给药情况如下:

空白对照组(A): 生理盐水按 1 ml/100g 灌胃, 每天一次, 共 30 d。

模型对照组(B): 生理盐水按 1 ml/100g 灌胃, 每天一次, 共 30 d。

硝苯地平组(C): 硝苯地平按 1 ml(0.36mg)/100g 灌胃, 每天一次, 共 30 d。

蜥蜴脱敏止泻散低剂量组(D): 蜥蜴脱敏止泻散按 1 ml(0.18mg)/100g 灌胃, 每天一次, 共 30 d。

蜥蜴脱敏止泻散高剂量组(E): 蜥蜴脱敏止泻散按 1 ml(0.48mg)/100g 灌胃, 每天一次, 共 30 d。

1.4 观察指标

1.4.1 容量阈值 第 8 周、给药 4 周(第 12 周)后以直肠内球囊扩张时腹部回缩反射和背部拱起作为标准, 记录容量阈值。

1.4.2 肌电活动 第 8 周、给药 4 周(第 12 周)后以电生理仪记录直肠内球囊在不同容量下每次持续 5 min 期间腹壁收缩次数。

1.4.3 血清 5-HT 含量测定 用荧光分光光度计法测定, 由宁夏医科大学中心实验室完成: 血清 0.5 ml(不足加权处理)加酸性正丁醇 4.5 ml, 在旋涡混合器上涡旋抽取 5 min, 3 000 rpm 离心 10 min, 取上清液 3.0 ml, 加正庚烷 3.0 ml 和 0.1 mol/L HCL 1.0 ml, 涡旋抽取 5 min, 5 000 rpm 离心 5 min, 下层水相含 5-HT(约有 0.2 ml 正庚烷溶解在水相中)。取水相 1.0 ml, 加 82.4 mmol/L 的半胱氨酸 0.1 ml, 再加 OPT 溶液 1.5 ml 混合, 置 100 °C 加热 10 min, 冰水冷却, 在 90 min 内以激发波长 350 nm、发射波长 477 nm, 4 ml 石英管, 测定其荧光强度。同上, 以水代替血清操作后, 作为测定空白管。用标准品建立标准曲线。

1.5 统计学处理

计量资料, 以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)统计, 各组间均数比较采用 *t* 检验。

2 实验结果

2.1 行为测试

用药后, B 组与 A 组相比, 引起大鼠腹部抬起和背部拱起的扩张容量阈值明显降低, 差异显著($P < 0.01$), 而 C、D、E 组与 A 组相比, 二者无显著差异($P > 0.05$), D、E 组与 C 组相比, 均无显著差异($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组引起大鼠腹部抬起和背部拱起的扩张容量阈值

组别	<i>n</i>	腹部抬起/ml	背部拱起/ml
A	8	0.864 ± 0.067 *	1.602 ± 0.147 *
B	8	0.679 ± 0.052 *	1.389 ± 0.1210
C	8	0.841 ± 0.069 *	1.640 ± 0.105 *
D	8	0.791 ± 0.059 *	1.588 ± 0.115 *
E	8	0.855 ± 0.062 *	1.591 ± 0.103 *

注: 与 B 组相比, * $P < 0.01$ 。

2.2 腹壁肌电活动记录

用药后, B 组与 A 组相比, 在 1.0、1.3 ml 扩张容量时, 大鼠腹壁肌肉收缩次数明显增加, 差异显著($P < 0.01$), 而 C、D、E 组与 A 组相比, 二者无显著差异($P > 0.05$), D、E 组与 C 组相比, 均无显著差异($P > 0.05$)。见表 2。

表2 不同扩张容量下各组大鼠腹壁肌肉收缩次数 次·(5min)⁻¹

组别	n	腹壁肌肉收缩次数	
		1.0 (小剂量)	1.3 (大剂量)
A	8	8.13 ± 1.36*	14.01 ± 2.56*
B	8	11.24 ± 1.60*	17.94 ± 2.67
C	8	8.00 ± 1.22*	14.52 ± 2.48*
D	8	8.25 ± 1.44*	14.38 ± 2.37*
E	8	8.31 ± 1.58*	13.89 ± 2.59*

注:与B组相比,*P<0.01。

2.3 血清5-HT含量测定

用药后,B,C,D,E组与A组相比,血清5-HT含量显著增加, $P<0.01$,C,D,E组与B组相比,血清5-HT含量明显回落,差异显著($P<0.01$),D,E组与C组相比,均无显著差异($P>0.05$)。见表3。

表3 各组血清5-HT含量

组别	n	血清5-HT/pg·ml ⁻¹
A	5	124.63 ± 18.55*
B	7	203.37 ± 20.07
C	6	150.73 ± 26.89*△
D	6	144.68 ± 16.10*△
E	7	156.53 ± 25.67*△

注:与B组相比,*P<0.01;与A组相比,△P<0.01。

3 讨论

大量研究证实,IBS与精神心理异常密切相关,其中抑郁症最为常见,情绪应激引起中枢与外周大量介质的参与,如P物质、5-HT、肥大细胞等,从而激活HPA轴和植物神经系统及内源性疼痛传导系统诱发内脏的高敏感性,结肠运动紊乱与结肠粘膜屏障障碍^[8-9]。

IBS属于中医学“泄泻”、“便秘”范畴。我们从临床病例治疗中发现,IBS的发病机制主要在于肝失疏泄。肠道功能隶属于脾胃运化传导体系,生理情况下,肝通过调理气机升降来影响大肠的传导功能。清·吴达《医学求是》指出:“木郁不达,风郁不达,风木冲击而贼脾土,则痛于脐下”。唐容川在《血证论》中亦指出:“木之性主疏泄,食气入味,全赖肝木之气以疏泄之,而水谷乃化;设肝之清阳不升,则不能疏泄水谷,渗泄中满之症,在所不免。”我们通过对临床病例的调查还发现,不少患者都存在情绪的性格,久而久之,可以引起肝失疏泄,横克脾胃,脾不升清,胃不降浊,气机升降失常,大肠传导失司,脏腑敏感性增高,产生一系列症状。

蜥蜴脱敏止泻散是朱西杰教授根据多年临床经验,针对IBS的发病机制仿干祖望先生的截敏乌梅汤法^[10],采用宁夏密点麻蜥、焦乌梅、柴胡、五味子、白芍、生牡蛎、焦山楂、秦皮、焦槟榔、珍珠粉等组成。方中密点麻蜥是一味动物药,生活在沙漠之中,能适应恶劣的自然环境,可以活血疏肝,对胃肠道有特殊

的亲力和靶向作用^[11],能降低或抑制肠道超敏反应的发生。焦乌梅、五味子、白芍,取其酸收之性,入肝之体,缓肝之性,使肝体条达,木能疏土,土得木而达之。药理研究表明乌梅对胃肠道黏膜有抗过敏、缓解平滑肌痉挛等作用^[12],并对大肠杆菌等多种致病菌有抑制作用,并有抗过敏和缓解平滑肌痉挛的作用^[13],可明显改善IBS的症状。五味子可抑制组胺释放、对抗化学调节介质和抑制钙移动,有明显的抗过敏作用,尤其对高钾诱发的豚鼠结肠带收缩的抑制作用有量效关系^[14]。白芍消除腹部平滑肌痉挛。生牡蛎平肝潜阳,安神宁志,敛肠止泄。焦山楂味酸可入肝,醒脾开胃,消食磨积,炒焦存性入药,化瘀止血,止泄止痛。秦皮疏肝清热,燥湿止痢。焦槟榔疏肝消积导滞,行气除胀。诸药合用具有抗抑郁、镇静、解痉止痛、抗过敏、提高免疫力的功效。

本实验表明蜥蜴脱敏止泻散能降低IBS模型大鼠血清5-HT的水平,降低肠道敏感性,提高内脏痛阈,为临床治疗IBS及研发治疗IBS的中药新药提供了一定的科学依据。

参考文献

- [1]潘国宗,王宝恩,于中麟.现代消化病学进展[M].北京:北京医科大学-中国协和医科大学联合出版社,1997,259-270.
- [2]Whitehead WE,Palsson OS. Is rectal pain sensitivity a biological marker for irritable bowel syndrome: Psychological influences on pain perception[J]. Gastroenterology, 1998 Nov; 115(5): 1263-71.
- [3]Mertz H, Naliboff B, Munakata J, et al. Altered rectal perception is a biological marker of patients with irritable bowel syndrome[J]. Gastroenterology, 1995, 109(1): 40-52.
- [4]Bouin M, Plourde V, Boivin M, et al. Rectal distension testing in patients with irritable bowel syndrome: sensitivity, specificity and predictive values of pain sensory thresholds[J]. Gastroenterology, 2002 Jun; 122(7): 1771-7.
- [5]Al-chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats by colon irritation during postnatal development[J]. Gastroenterology, 2000, 119: 1276-1285.
- [6]刘雁兵,袁耀宗.大鼠肠道高敏感性模型的建立及其内脏敏感性评估[J].中华消化杂志, 2003, 23(1): 34-37.
- [7]张秀明,顾仁骏.血清5-羟色胺的快速荧光测定法.上海医学检验杂志[J]. 1994, 9(1): 21-22.
- [8]邱德凯,马雄.消化病特色诊疗技术[M].北京:科学技术文献出版社, 2004, 124.
- [9]宋家驹.中药治疗肠易激综合症的体会[J].中华实用医药杂志, 2004, 4(13): 25-29.
- [10]干祖望.干祖望经验集[M].北京:人民卫生出版社, 2000, 166.
- [11]朱西杰,杨利侠,梁岩.蜥蜴治疗胃粘膜病变临床新用[J].山西中医, 2003, 19(2): 48.
- [12]张伟,梁永革.中药治疗慢性溃疡性结肠炎72例[J].吉林中医药, 2004, 24(9): 22.
- [13]孙学勤,王丽芸.痛泄要方加味治疗肠易激综合征88例[J].中国中医急症, 2004, 13(7): 435.
- [14]汤臣康.五味子的化学和药理研究的新进展[J].西北医药杂志, 1994, 9(6): 278.

(收稿日期:2008-12-24)