

胃元宁对功能性消化不良小鼠胃肠运动 及胃肠激素分泌的影响

吴洋^{1,2*}, 马学琴^{1,2}, 王洋³, 王继永⁴

(1. 宁夏医科大学药学院, 银川 750004;

2. 宁夏医科大学回族药现代化工程技术研究中心, 银川 750004;

3. 宁夏银川市口腔医院, 银川 750004; 4. 宁夏银川市中医医院, 银川 750004)

[摘要] **目的:**建立功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)小鼠模型,研究胃元宁对FD小鼠胃肠运动及胃肠激素分泌的影响。**方法:**昆明种小鼠随机分为6组为正常组,胃元宁汤剂高、中、低剂量组(90, 45, 22.5 g·kg⁻¹),模型组,多潘立酮组(10 mg·kg⁻¹),除正常组外,其他小鼠采用不规律进食联合左旋精氨酸(L-arginine, L-Arg) ip 构建FD小鼠模型,造模成功后 ig 给予相应药物7 d,检测小鼠体重、胃内残留率和肠推进率;观测胃组织病理学变化;利用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清胃泌素(gastrin, GAS),血浆胃动素(motilin, MTL)的含量变化。**结果:**与正常组相比,各造模组小鼠体重及小肠推进率均明显下降($P < 0.01$),胃内残留率均显著升高($P < 0.01$);经治疗后,与模型组相比,胃元宁各剂量组均能显著增加小鼠体重及小肠推进率,并显著升高血清GAS、血浆MTL含量($P < 0.05$, $P < 0.01$),同时可明显降低胃内残留率($P < 0.05$, $P < 0.01$)。治疗前后,与正常组相比,各实验组胃组织病理学表现均无差异。**结论:**不规律进食联合左旋精氨酸腹腔注射可成功构建FD小鼠模型;胃元宁能够促进胃肠运动,显著改善小鼠功能性消化不良,其机制可能与其升高血清GAS和血浆MLT水平有关。

[关键词] 胃元宁; 功能性消化不良; 胃肠运动; 胃泌素; 胃动素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0185-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240185

Effects of Weiyuanning on Gastrointestinal Motility and Gastrointestinal Hormones in Mice with Functional Dyspepsia

WU Yang^{1,2*}, MA Xue-qin^{1,2}, WANG Yang³, WANG Ji-yong⁴

(1. Department of Pharmacology, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

2. Ningxia Engineering & Technology Research Center for Modernization of Hui Medicine,

Yinchuan 750004, China; 3. Yinchuan Stomatology Hospital, Yinchuan 750004, China;

4. Yinchuan Chinese Medicine Hospital, Yinchuan 750004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish mice model of functional dyspepsia (FD) and to investigate the effects of Weiyuanning on gastrointestinal motility and gastrointestinal hormones. **Method:** The mice were randomly divided into normal group, model group, low-, medium-and high-dose Weiyuanning groups (22.5, 45, 90 g·kg⁻¹), and domperidone group (10 mg·kg⁻¹). FD models were made by irregular food intake plus intraperitoneal injection with L-arginine in mice except for mice in normal group. All mice were ig administrated with corresponding medicines for 7 days. The body weights, the gastric remnant rate and small intestinal propulsion rate were measured. The gastric histopathological changes were observed. The contents of gastrin (GAS) and motilin (MTL) were detected by Elisa. **Result:** Compared with model group, the body weight, gastric emptying rate were decreased, the small intestinal propulsion rate was increased in model group ($P < 0.01$). The above

[收稿日期] 20140827(004)

[基金项目] 宁夏回族自治区医疗卫生科研计划项目(XM2012046)

[通讯作者] * 吴洋, 博士, 讲师, 从事细胞与分子药理学研究, Tel: 13619583299, E-mail: charming_wuyang@163.com

indexes were improved in the Weiyuanning groups ($P < 0.01$). Meanwhile, the the contents of GAS in serum and MTL in plasma were increased in Weiyuanning groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). No significant changes were found in the improvement of gastric histopathological among all groups after the treatment. **Conclusion:** FD model could be successfully made by irregular food intake plus intraperitoneal injection with L-arginine. Weiyuanning has significant effect in improving indigestion in FD mice. Its mechanism may be related to elevating the levels of GAS in serum and MTL in plasma of mice.

[Key words] Weiyuanning; functional dyspepsia; gastrointestinal motility; gastrin; motilin

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是临床最常见的胃肠动力障碍性疾病, 其症状表现多样, 发病率高, 对患者生活质量有严重影响。但由于该病发病机制至今尚不清楚, 西医常用药物治疗均难达到持续满意疗效, 且存在不同程度不良反应^[1-3], 因此在中医药领域探究有效防治手段具有重要临床价值和意义。胃元宁是由枳实、厚朴、山栀子、延胡索、石菖蒲等组成的经验方, 在既往临床应用中取得满意疗效。现采用不规律进食联合左旋精氨酸 (L-arginine, L-Arg) *ip* 制备且验证功能性消化不良小鼠模型, 并进行实验研究胃元宁对 FD 小鼠胃肠动力、胃肠激素等影响, 初步探讨其机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 20 ~ 22 g, 由宁夏医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK (宁) 2011-0001。

1.2 药物与试剂 多潘立酮 (西安杨森制药有限公司, 批号 H10910003), 胃元宁 (药材由宁夏古方医院提供, 处方组成为枳实、厚朴、山栀子、石菖蒲、木香、柴胡、郁金、丹参、鸡内金、海螵蛸、香附、川楝子、延胡索、莱菔子), 胃元宁高剂量 (生药 $5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、中剂量 (生药 $2.25 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、低剂量 (生药 $1.125 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 组, L-Arg (美国 Amresco, 批号 L-2880), 胃动素 (motilin, MTL)、胃泌素 (gastrin, GAS) 试剂盒 (武汉华美生物技术有限公司)。碳末半固体糊^[4]: 5 g 羧甲基纤维素, 8 g 奶粉, 4 g 糖, 4 g 淀粉, 1 g 活性炭加 128 mL 水, 配成 150 mL 约 150 g 糊状物。

1.3 仪器 51119000 型酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific), RM2235 型轮转式组织切片机 (德国 Leica Biosystems Nussloch GmbH)。

2 方法

2.1 模型制备及给药 小鼠 120 只, 随机分为 6 组为正常组, 胃元宁汤剂高、中、低剂量组 (含生药量分别为 5, 2.25, 1.125 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 模型组, 多潘立酮组 (10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。参阅文献资料^[5-7] 以及预实验, 采用不规律进食联合 L-Arg *ip*, 对除正常组外其余各

组小鼠实施造模: 2 d 进食, 1 d 禁食, 循环, 共 10 d, 第 11, 12 天 *ip* L-Arg 0.1 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。造模结束后, 禁食 24 h, 每组随机抽取 10 只小鼠称重, 碳末半固体糊每只 0.5 g *ig*, 30 min 后取胃、小肠, 检测胃内残留率及小肠推进率, 观察胃组织病理学改变。各组小鼠停止造模后, 记录体重等一般状态, 正常组、模型组给予蒸馏水, 其余各组给予相应药物, *ig* 体积每天 0.02 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 共 7 d。各组末次给药后, 禁食 24 h, 以碳末半固体糊每只 0.5 g *ip*, 30 min 后, 采血, 2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 取血浆, 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 取血清; 腹腔取胃及小肠, 测量并计算胃内残留率及小肠推进率, 检测胃组织病理学变化。

2.2 一般状态 称量并记录小鼠体重, 观察其被毛光泽度、大便性状以及活动等情况。

2.3 组织病理学检查 取胃沿胃大弯切开, 生理盐水漂洗干净后滤纸吸干, 经大体形态观察后投入 10% 甲醛中固定, 石蜡包埋切片, 常规 HE 染色。光镜下观察组织病理学变化。

2.4 小鼠胃排空及肠推进功能检测 暴露腹腔, 结扎胃贲门和幽门, 取胃, 用滤纸拭干后称全重, 沿胃大弯剪开胃体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水冲洗去胃内容物后拭干, 称胃净重, 计算胃内容物残留率: 胃内容物残留率 (%) = [(胃全重 - 胃净重) / 固体糊状物重] \times 100%; 取全胃, 自胃部幽门切迹至回盲部, 取出完整小肠, 测量幽门切迹至炭糊最前端的距离和幽门至回盲部全长, 计算小肠推进率。

小肠推进率 = (炭糊移动距离 / 幽盲全长) \times 100%

2.5 胃肠激素检测 取待测血清及血浆, 按照 ELISA 试剂盒说明操作, 检测血清 GAS, 血浆 MLT 含量。

2.6 统计学分析 实验结果以 SPSS 11.5 统计分析软件包进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数的比较采用 One-way ANOVA 分析, $P < 0.05$ 为存在统计学差异。

3 结果

3.1 一般情况变化 造模期间, 正常组小鼠被毛密

且有光泽,两眼有神,较为活跃,食欲较好,体重逐渐增加,大便呈颗粒状,耳色及尾色淡红。模型组小鼠出现食欲减退,体重减轻,无神,被毛无光泽、疏松并易脱落,拱背,喜扎堆,活动缓慢,部分出现便溏,肛周粪便污染。造模成功后,各组给予对应处置及治疗,多潘立酮组,胃元宁高、中、低剂量组小鼠上述症状和体征逐渐改善、消失。

3.2 对 FD 小鼠体质量的影响 造模前,与正常组相比,各组小鼠体质量均无差异;造模成功后,未进行药物治疗前,与正常组相比,各组小鼠体质量显著降低($P < 0.01$),给予药物治疗后,模型组体质量明显低于正常组($P < 0.01$),与模型组比较,胃元宁高、中、低剂量组及多潘立酮组均能增加小鼠体质量($P < 0.01$)。见表 1。

3.3 对 FD 小鼠胃肠运动的影响 造模成功后,未进行药物治疗前,与正常组相比,各组小鼠小肠推进率显著降低($P < 0.01$),同时各组小鼠胃内残留率

表 1 胃元宁对 FD 小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体质量/g		
		造模前	体质量	治疗后
正常	-	23.11 ± 0.91	38.89 ± 1.92	42.33 ± 2.35
模型	-	22.95 ± 0.65	34.93 ± 1.58 ²⁾	38.76 ± 1.51 ²⁾
胃元宁	90	23.00 ± 1.01	34.66 ± 1.91 ²⁾	41.05 ± 1.46 ⁴⁾
	45	22.77 ± 0.47	35.94 ± 1.10 ²⁾	41.10 ± 1.40 ⁴⁾
	22.5	22.62 ± 0.94	34.77 ± 2.10 ²⁾	39.07 ± 2.19
多潘立酮	0.01	22.42 ± 1.27	34.57 ± 1.94 ²⁾	39.87 ± 1.83

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

明显增加($P < 0.01$)。给予药物治疗后,模型组胃内残留率显著高于正常组,小肠推进率明显低于正常对照组($P < 0.01$);胃元宁高、中、低剂量组及多潘立酮组均能显著降低胃内残留率,增加小鼠小肠推进率($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 胃元宁对 FD 小鼠胃肠运动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肠推进率/%		胃内残留率/%	
		治疗前	治疗后肠推进率	治疗前胃内残留率	治疗后
正常	-	78.82 ± 7.42	83.61 ± 1.50	52.32 ± 8.54	58.62 ± 11.86
模型	-	66.66 ± 6.34 ²⁾	78.58 ± 5.21 ²⁾	72.91 ± 13.84 ²⁾	85.62 ± 7.32 ²⁾
胃元宁	90	65.37 ± 5.87 ²⁾	95.56 ± 3.66 ⁴⁾	76.95 ± 15.43 ²⁾	67.44 ± 17.18 ⁴⁾
	45	60.96 ± 5.07 ²⁾	90.48 ± 4.81 ⁴⁾	73.70 ± 17.49 ²⁾	65.79 ± 13.91 ⁴⁾
	22.5	63.62 ± 3.23 ²⁾	85.74 ± 3.82 ⁴⁾	72.57 ± 13.93 ²⁾	72.40 ± 18.26 ³⁾
多潘立酮	0.01	64.93 ± 4.05 ²⁾	89.74 ± 3.20 ⁴⁾	73.01 ± 9.1 ²⁾	67.92 ± 10.38 ⁴⁾

3.4 治疗后小鼠胃肠激素含量的变化 药物治疗后,模型组小鼠血清 GAS 和血浆 MTL 均明显低于正常组($P < 0.01$),多潘立酮组和胃元宁高、中、低剂量组小鼠血清 GAS 和血浆 MTL 均显著高于模型组($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

表 3 胃元宁对 FD 小鼠血清 GAS 及血浆 MTL 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

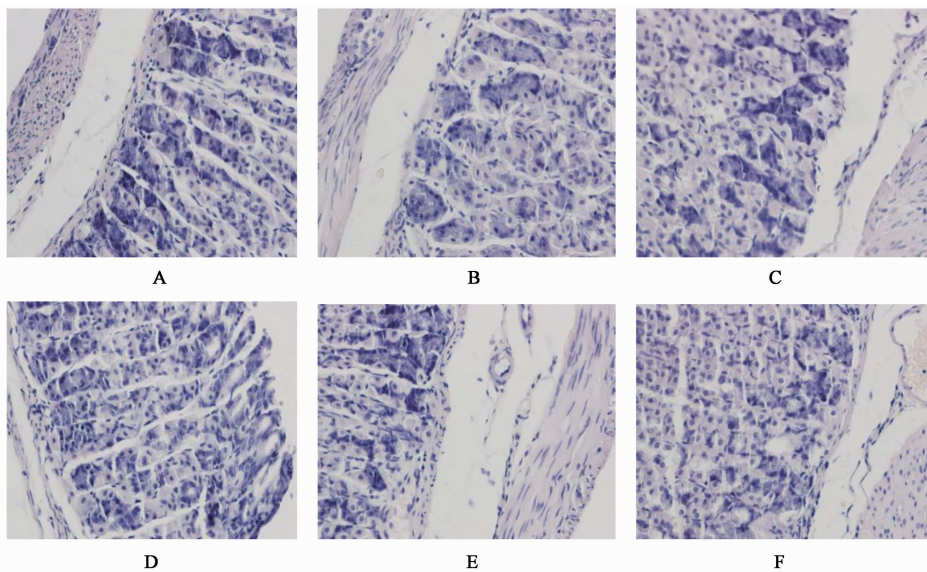
组别	剂量 /g·kg ⁻¹	GAS	MTL
		/ng·L ⁻¹	/ng·L ⁻¹
正常	-	101.69 ± 31.84	92.77 ± 24.63
模型	-	72.73 ± 16.45 ²⁾	59.68 ± 13.55 ²⁾
胃元宁	90	100.94 ± 29.43 ⁴⁾	93.39 ± 26.33 ⁴⁾
	45	96.25 ± 16.08 ³⁾	90.26 ± 27.69 ⁴⁾
	22.5	94.55 ± 21.81 ³⁾	84.60 ± 16.96 ³⁾
多潘立酮	0.01	100.27 ± 17.49 ³⁾	90.49 ± 22.70 ⁴⁾

3.5 组织病理学观察 各组肉眼观察,胃壁弹性

良好,黏膜呈粉红色,有光泽,黏膜皱壁表面平整光滑,走向规则,被覆较多黏液。各组光镜所见,胃体黏膜层内上皮层、黏膜固有层和黏膜肌层各层组织结构清晰可见,黏膜上皮和固有腺体结构、数量、大小正常,均未见变性、坏死、化生、增生、萎缩等病理形态学改变;各组固有层内均未见血管扩张、炎细胞浸润和淋巴滤泡增殖等炎症现象。见图 1。

4 讨论

FD 在临床极为常见。由于缺乏可解释症状的器质性、系统性或代谢性疾病的相关证据,该病常主要依据患者主诉进行诊断。用于研究该病的动物模型制备方法种类繁多,但缺少公认模型^[8]。曾有文献报道,FD 的动物模型应符合两点要求^[9]:一是该动物应具有消化不良的症候,食欲不振或饮食量明显减少,消瘦等;二是该动物无其他器质性病变。本



A. 正常组;B. 模型组;C. 多潘立酮 0.01 g·kg⁻¹组;D. 胃元宁 90 g·kg⁻¹组;E. 胃元宁 45 g·kg⁻¹组;F. 胃元宁 22.5 g·kg⁻¹组

图 1 各组小鼠胃组织病理学变化(HE, ×400)

研究小组深入分析了有关该病致病因素的相关资料,结合中西医理论,设计并采用不规律进食联合 *L-Arg* 腹腔注射制备 FD 模型。不规则进食最贴近现代人类 FD 病因,同时也符合中医学理论。在特异性一氧化氮(nitric oxide, NO)合成酶作用下,以 *L-Arg* 和分子氧为底物可合成 NO,而目前已知 NO 是胃肠道的抑制性递质之一^[10]。王贺玲,李涯松等实验表明^[5-6],通过对大、小鼠 *ip L-Arg*,证实 *L-Arg* 作为 NO 的前体具有抑制大、小鼠胃肠运动的作用。本实验数据及组织病理学检查结果表明,采用不规律进食联合 *L-Arg ip* 制备 FD 模型,既可造成动物典型 FD 体征及症状,同时又不会引起其他器官组织出现病理学改变,符合 FD 动物模型的要求,方法简单易行,是较为可靠的造模方法。

MTL 是肠内分泌细胞分泌的多肽类胃肠激素,是愈来愈引起学者重视的一种较新的胃肠激素。FD 患者存在胃内容物残留量增加、胃电节律功能紊乱、胃窦无力和排空功能减慢、胃窦-幽门-十二指肠协调功能失常、消化间期移行性运动复合波期持续时间缩短或缺损等症状,其与血浆 MTL 含量降低有关。GAS 又称促胃液素,是最早发现的胃肠激素之一,其生理作用为促进胃酸分泌,降低胃窦和幽门括约肌紧张性。GAS 与 MTL 具有类似的促进胃排空作用,也可作用于平滑肌细胞的特异性受体,激发胃窦平滑肌的收缩反应,二者分泌紊乱可能导致胃动力障碍^[11-12]。常态下,在神经和体液多种因素中,刺激与抑制因子的协同作用下,机体胃酸分泌水平

处于相对稳定状态。有近 20 种胃肠激素通过多种途径调节胃酸分泌,其中 GAS 是胃酸分泌的主要调节激素。本研究小组在研究设计初期,考虑到 FD 疾病自身特点,动物模型制备方法以及所给予治疗药物对胃酸分泌影响的不确定性,因此在造模结束及药物治疗结束后均对各组实验动物的胃进行组织病理学检查。组织病理学结果提示,在给药治疗 7 d 后,胃元宁各剂量组的胃体均未见组织病理学变化。实验数据则显示,胃元宁各剂量组在给药治疗 7 d 后,血清 GAS 含量升高的水平并未超过正常组。依据以上结果表明,胃元宁通过影响 GAS 等胃肠激素分泌而发挥治疗 FD 作用时,并未引起由 GAS 水平上升而造成的胃酸相关性疾病。但是,关于胃元宁对于 GAS 等胃肠激素与胃酸分泌相关疾病之间的深入联系和结论,值得未来进一步研究和探讨。有关胃肠激素的研究发展迅速,受到临床和基础医学界广泛重视。因为一些相关疾病发病机制未明,以及胃肠激素体内分布广泛,其种类、作用机制、相互关联等尚未详尽,所以未来有关胃肠激素的科学研究还需要更加系统而深入。

胃肠动力药是治疗 FD 的主要药物。目前最常用促胃肠动力的药物是多潘立酮,其为一种丁酰苯衍生物,主要经过与外周多巴胺受体结合,通过提高食管下括约肌压力,加强胃排空,增强胃、十二指肠的协调性等发挥促进胃肠动力作用^[13-14]。临床上多潘力酮最常见的不良反应与高泌乳素血症密切相关,可导致男性乳房发育,溢乳及闭经等,同时还会

延迟 K^+ 整合电流使 QT 间期延长^[1]。中医药治疗功能性疾病方面历来有着丰富的临床经验和明显优势。辨证论治从整体出发,审因论治,细查脉症,辨证用药,对 FD 的疗效肯定。胃元宁经多年临床经验证实是治疗 FD 的有效方剂。本方以健脾理气,燥湿和胃为基本大法治疗 FD,在临床运用时可根据病人具体病情随证加减。

本研究表明,采用不规律进食联合 L-Arg 腹腔注射制备 FD 模型成功后,小鼠出现典型功能性消化不良症状及体征,体重减轻,胃排空能力减弱,小肠推进率及血清 GAS,血浆 MTL 含量均显著降低。经过胃元宁治疗,小鼠功能消化不良症状体征逐渐消失,体重增长,胃排空程度、小肠推进率及胃肠激素水平均有显著提高。提示胃元宁可能通过升高血清 GAS 和血浆 MTL 水平,发挥促进胃肠动力,改善胃肠功能的作用。

[参考文献]

[1] Rossi M, Giorgi G. Domperidone and long QT syndrome [J]. *Curr Drug Saf*, 2010, 5(3):257.

[2] Shin H W, Kim M J, Kim J S, et al. Levosulpiride-induced movement disorders [J]. *Mov Disord*, 2009, 24(15):2249.

[3] Carnovale C, Pellegrino P, Perrone V, et al. Neurological and psychiatric adverse events with prucalopride: case report and possible mechanisms [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2013, 38(6):524.

[4] 李清,高淑丽,工鑫国,等. 越鞠保和丸对胃排空及胃液分泌的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2006, 22(4):14.

[5] 王贺玲. 理气中药对胃肠动力作用影响的实验 [D]. 沈阳:中国医科大学,2003.

[6] 李涯松,单兆伟,沈洪,等. 和胃胶囊对实验大鼠胃动力的影响 [J]. *中国中西医结合脾胃杂志*, 2000, 8(6):327.

[7] 吴春福,陈多. 小鼠胃排空模型的探讨 [J]. *中国药理学通报*, 1997, 13(3):271.

[8] 刘晶,李峰,唐旭东,等. 功能性消化不良动物模型及其在中医研究中的应用概述 [J]. *环球中医药*, 2013, 6(12):955.

[9] 郭海军,林洁,李国成,等. 功能性消化不良的动物模型研究 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2001, 9(3):141.

[10] 石灯汉,徐珊. NO 与功能性消化不良的相关性研究 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2009, 33(3):443.

[11] Konturek J W, Thor P, Maczka M, et al. Role of cholecystokinin in the control of gastric emptying and secretory response to a fatty meal in normal subjects and duodenal ulcer patients [J]. *Stand J Gastroenterol*, 1994, 29(7):583.

[12] Xu L, Gao S, Guo F, et al. Effect of motilin on gastric distension sensitive eurons in arcuate nucleus and gastric motility in rat [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23(31):265.

[13] Barone J A. Domperidone: a peripherally acting dopamine2-receptor antagonist [J]. *Ann Pharmacother*, 1999, 33(4):429.

[14] Scott B. Question 2. How effective is domperidone at reducing symptoms of gastro-oesophageal reflux in infants [J]. *Arch Dis Child*, 2012, 97(8):752.

[责任编辑 周冰冰]