

## 化湿液对湿阻证大鼠血清 D-木糖及 Ghrelin 含量的影响

薛晓倩<sup>1</sup>, 黄学宽<sup>1\*</sup>, 高宁<sup>2</sup>, 刘鄂湖<sup>2</sup>, 任凌燕<sup>3</sup>

(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 401331; 2. 第三军医大学药学院生药学教研室, 重庆 400020;  
3. 重庆科技学院化学化工学院, 重庆 401331)

**[摘要]** 目的: 研究化湿液对湿阻证大鼠血清 D-木糖及生长激素释放肽(Ghrelin)的影响。方法: 将 40 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组, 化湿液低、中、高剂量组, 每组 8 只。正常组常规喂养, 其余各组采用改进的环境加疲劳法制造湿阻证模型, 连续造模 6 d。造模成功后正常组和模型组予生理盐水 ig(20 mL·kg<sup>-1</sup>), 化湿液低、中、高剂量组分别按 4, 8, 16 g·kg<sup>-1</sup> ig, 1 次/d, 连续 8 d。采用比色法检测大鼠血清 D-木糖含量, 采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 Ghrelin 的变化。结果: 与正常组相比, 模型组大鼠脾虚症状明显, 胃黏膜充血、水肿明显, 血清 D-木糖( $P < 0.01$ )和 Ghrelin( $P < 0.05$ )含量明显降低; 与模型组比较, 化湿液低、中、高剂量组大鼠脾虚症状及胃黏膜充血、水肿的改善明显或完全消失, 血清 D-木糖( $P < 0.05$ )及 Ghrelin( $P < 0.01$ )含量均有不同程度升高。结论: 化湿液可明显改善湿阻证大鼠脾虚症状及胃黏膜的损伤, 其机制可能与提高血清 D-木糖和 Ghrelin 的含量有关。

**[关键词]** 化湿液; 湿阻证; D-木糖; 生长激素释放肽

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0206-04

## Effects of Huashi Liquid on Content of D-xylose and Ghrelin in Serum of Rats with Dampness Retention Syndrome

XUE Xiao-qian<sup>1</sup>, HUANG Xue-kuan<sup>1\*</sup>, GAO Ning<sup>2</sup>, LIU E-hu<sup>2</sup>, REN Ling-yan<sup>3</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China;  
2. Department of Pharmacognosy, Pharmacy College, Third Military Medical University, Chongqing 400020, China;  
3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University of Science and Technology, Chongqing 401331, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of Huashi Liquid on the content of D-xylose and ghrelin in serum of rats with dampness retention syndrome. **Method:** Forty SD rats were randomly divided into normal group, model group and Huashi liquid of high, middle and low-dose groups, with 8 rats in each group. Dampness retention

**[收稿日期]** 2011-03-10

**[基金项目]** 重庆市卫生局科技项目(2009-2-114)

**[第一作者]** 薛晓倩, 在读硕士, 从事脾胃理论研究, Tel: 15310300403, E-mail: a8635389@163.com

**[通讯作者]** \* 黄学宽, 硕士, 副教授, 硕士生导师, 从事中医理论研究及临床, Tel: 13452382058, E-mail: xkhuang2002@163.com

[10] Huang Y, Wongamorntham S, Kasting J, et al. Renin increases mesangial cell transforming growth factor-beta1 and matrix proteins through receptor-mediated, angiotensin II-independent mechanisms [J]. *Kidney Int*, 2006, 69(1): 105.

[11] Kalantarinia K, Okusa M D. The renin-angiotensin system

and its blockade in diabetic renal and cardiovascular disease [J]. *Curr Diab Rep*, 2006, 6(1): 8.

[12] Duffield J S. The inflammatory macrophage: a story of jekyll and hyde [J]. *Clin Sci(Lond)*, 2003, 104: 27.

[责任编辑 何伟]

syndrome was induced in all rats, except the normal group, by modified environmental and fatigue method for 6 days. After the model was formed, the normal and model groups were fed with saline (NS) in  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  dose, Huashi liquid of high, middle and low-dose groups were fed Huashi liquid in different dose ( $4, 8, 16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) respectively, once time per day for 8 days. Then the content of D-xylose in serum was detected with colorimetric method, and the content of ghrelin in serum was detected with double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Result:** The splenic asthenia symptom was significant, D-xylose ( $P < 0.01$ ) and ghrelin ( $P < 0.05$ ) were decreased and the hyperaemia, edema in the gastric mucosa existed in model group, compared with the normal group. In gastric mucosa of all the Huashi liquid, symptom such as hyperaemia, and edema were disappeared, the splenic asthenia symptom improved, D-xylose ( $P < 0.05$ ) and ghrelin ( $P < 0.01$ ) significantly increased, compared with the normal group. **Conclusion:** Huashi liquid could improve the splenic asthenia symptom and repair the gastric mucosa, the mechanism maybe related to increasing in D-xylose and ghrelin in serum.

[Key words] Huashi liquid; dampness retention syndrome; D-xylose; ghrelin

化湿液是全国名老中医、重庆医科大学附属第二医院王辉武教授经过几十年临床验证总结出来的经验方,用于治疗急性胃肠炎、急性胆囊炎、急性肝炎等急症及病毒性感冒、慢性胃肠炎、湿疹、胆石症、胰腺炎、脂肪肝、糖尿病、高血压等“湿证”疾病,疗效显著<sup>[1]</sup>。而D-木糖内服后在小肠被吸收,能很好地反映小肠的吸收功能,是诊断脾虚泄泻重要的客观指标<sup>[2]</sup>; Ghrelin是一种含有28个氨基酸的生长激素释放肽,是一种多功能的小分子脑肠肽,它不仅能促进生长激素释放、促进摄食和能量代谢、调节心血管功能,还有调节胃肠动力、控制胃酸分泌和保护胃黏膜等作用<sup>[3]</sup>。本文研究化湿液对湿阻证大鼠血清D-木糖和 Ghrelin 含量的影响,旨在进一步说明化湿液对湿阻证的治疗作用,以期为进一步开发提供更多实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级SD大鼠40只,雌雄各半,体重( $200 \pm 20$ )g,由重庆医科大学实验动物中心提供,生产许可证号SCXK(渝)2007-0001。

**1.2 药品与试剂** 化湿液由藿香、白豆蔻、白术、茯苓、厚朴、防风、柴胡、山楂、丹参等组成,由重庆医科大学中医药学院提供并鉴定,常规水煎,浓缩为含生药 $2.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水煎剂。乌来糖(国药集团化学试剂有限公司); D-木糖(Solarbio)、D-木糖检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);大鼠生长激素释放肽 Ghrelin(GHRP-Ghrelin)检测试剂盒(ELISA)(R&D公司分装)。

**1.3 仪器** 生物分光光度计(SPEKOL1300),酶标仪(BIO-RAD)等。

## 2 方法

**2.1 分组、造模与给药** 将40只SD大鼠适应性喂养1周后,随机分为正常组、模型组、化湿液低、中、高剂量组共5组,每组8只。正常组常规喂养,其余各组采用改进的环境加疲劳法进行造模:实验室温度( $28 \pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,将大鼠放入水深25 cm、水温( $26 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 的水池中游泳15 min,游毕取出,立即给予4 $^{\circ}\text{C}$ 的蒸馏水 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig,然后将动物置于笼底盛有4 mm水深饲养笼中饲养,自由进食与饮水。1次/d,连续6 d,末次造模后换入正常环境中饲养。造模期间,注意观察造模大鼠的精神状态、活动、大便、进食及体重情况。造模成功后,从第7天开始,正常组和模型组 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 生理盐水 ig,化湿液低、中、高剂量组分别按生药4, 8,  $16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 1次/d,连续8 d<sup>[4]</sup>。

**2.2 生化指标检测** 在末次给药后禁食不禁水12 h,麻醉前1 h称重,后以D-木糖 ig,  $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ig。20%乌拉坦 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 麻醉,眼球采血3~5 mL,静置1~2 h,  $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,分离血清,取上清液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。血清D-木糖检测用比色法,按说明书操作进行。血清 Ghrelin 检测采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA):将对照品、待测样本加入到预先包被大鼠生长激素释放肽 Ghrelin 单克隆抗体透明酶标包被板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅温育30 min后,洗涤除去未结合的成分,再加入酶标工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅温育30 min后,洗涤除去未结合成分;依次加入显色剂A, B各50 $\mu\text{L}$ ,混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光显色15 min,加入终止液各50 $\mu\text{L}$ ,终止反应后颜色由蓝色立转为黄色;以空白孔调零,在终止后15 min内,在450 nm波长测量各孔的吸光度(A)。计算

出标准曲线的直线回归方程,再根据样品 A,在回归方程上计算出对应的样品浓度,再将所得浓度乘以稀释倍数 5 即得样品的实际浓度。

**2.3 统计学处理** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 统计软件,数据分析时先进行正态性检验,然后进行单因素方差分析。若满足方差齐性,用 LSD 法和 Dunnett 进行分析;若方差不齐,则用 Tamhane's T2 进行分析。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 一般情况观察** 与正常组相比,模型组大鼠出现精神萎靡、活动减少、懒动、游泳坚持时间缩短、呛水时间较早、便溏、脱毛、食量及饮水量减少、体重下降等表现。而经化湿液治疗后,大鼠体重、饮食等一般情况均有明显改善,而精神萎靡、倦怠乏力症状消失,活动增加,大便正常,且无脱毛等现象。

**3.2 大鼠胃黏膜观察** 造模后大鼠胃黏膜充血、水肿明显,有小出血点及凝血块;而通过化湿液治疗后,大鼠胃黏膜损伤得到修复,无充血、水肿、出血及血凝块等表现。

**3.3 血清 D-木糖和 Ghrelin 含量测定** 与正常组相比,模型组大鼠血清 D-木糖 ( $P < 0.01$ ) 和 Ghrelin ( $P < 0.05$ ) 含量明显降低;与模型组比较,化湿液低、中、高剂量组大鼠血清 D-木糖 ( $P < 0.05$ ) 及 Ghrelin ( $P < 0.01$ ) 的含量均不同程度升高。见表 1。

表 1 化湿液对模型大鼠血清 D-木糖和 Ghrelin 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	D-木糖 /mmol·L <sup>-1</sup>	Ghrelin /ng·L <sup>-1</sup>
正常	-	1.989 ± 0.168 <sup>1)</sup>	2 178.694 ± 83.376 <sup>1)</sup>
模型	-	0.909 ± 0.169	1 644.154 ± 333.825
化湿液	4	1.512 ± 0.105 <sup>1)</sup>	1 895.635 ± 149.938 <sup>1)</sup>
	8	1.676 ± 0.106 <sup>1)</sup>	1 946.978 ± 116.718 <sup>1)</sup>
	16	1.823 ± 0.112 <sup>1)</sup>	2 001.698 ± 30.538 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

### 4 讨论

中医认为,湿与脾关系最为密切,《素问·至其要大论》说:“诸湿肿满皆属于脾”,可见湿邪致病每易伤脾,而脾失健运也易滋生内湿,阻滞中焦脾胃,发为泄泻、水肿、腹胀、饮食减少、神疲乏力、少气懒言等病症。现代研究证实,湿邪可引起一系列胃肠消化、吸收及运动功能障碍为主的综合症候群。而

胃镜可表现为黏膜充血、水肿、糜烂或伴有出血点等急性炎症改变,组织学特点则以淋巴细胞、浆细胞浸润为主<sup>[5]</sup>。其湿阻证的发病与气候、居住及工作环境密切相关。此外,饮食不节(饥饱无常、餐次无规律、进餐急快、嗜食肥甘)、饮酒、嗜茶过度以及情志不遂、病原微生物等均与湿阻证的发生有密切关系<sup>[6]</sup>。

D-木糖是一种戊糖,内服后在小肠内通过被动扩散的方式进行吸收,不需消化酶参与,吸收后在体内不被肝脏代谢,经肾排出,其吸收水平能反映小肠的表面积及小肠吸收功能水平,是诊断脾虚泄泻重要的客观指标<sup>[7]</sup>。因此,如果以定量木糖口服,在规定时间内测定血或尿内木糖量,即可了解小肠吸收功能。通过检测血清 D-木糖水平,可确定湿阻脾虚证模型的成功建立,也可说明化湿液对湿阻证的治疗作用。

Ghrelin 是 1999 年 Kojima 等<sup>[8]</sup>发现的,由 28 个氨基酸组成的第一个生长激素分泌剂受体的内源性配体,分布于人体下丘脑、垂体、心脏、胃肠道、胰腺、肾脏、胎盘、睾丸等多种组织器官,其中以胃组织中含量最高,主要由胃合成。Ghrelin 是一种多能的小分子脑肠肽,它不仅有强大的促生长激素分泌、促进摄食、调节能量代谢和心血管功能,而且还能调节胃肠动力、控制胃酸分泌和保护胃黏膜<sup>[3]</sup>。其促进摄食作用与神经肽 Y (NTY) 有关,神经肽 Y 是刺激体重增加的最有效的分子之一,它能增强食欲、降低代谢率、加快胃排空,而含神经肽 Y 的神经元上有 Ghrelin 的受体,当 Ghrelin 与其受体结合后作用于节前神经元、促进神经肽 Y 等其他神经递质的释放而发挥作用<sup>[9]</sup>。Ghrelin 通过迷走神经参与胃酸分泌的调节,迷走神经通过释放乙酰胆碱、胃泌素释放肽、降钙素基因相关肽、脑垂体腺苷酸环化酶激活肽等促进胃酸分泌<sup>[3]</sup>。有研究表明,Ghrelin 亦能通过迷走神经和中枢神经系统而促进胃酸分泌<sup>[10]</sup>,即 Ghrelin 能通过中枢使神经系统和外周对胃酸的分泌起调节作用。而 Ghrelin 对胃黏膜的保护作用是通过内皮释放 NO 介导的,并需要感觉神经功能的完整性,且与环氧酶-前列腺素系统 (COX-PG) 紧密相关<sup>[9]</sup>。因此,研究化湿液对湿阻证大鼠血清 Ghrelin 的影响,对进一步研究化湿液对湿阻证的治疗作用有着重要价值。

化湿液由藿香、白豆蔻、白术、茯苓、厚朴、防风、

柴胡、山楂、丹参等组成。方中之藿香、白蔻等化气分之湿,茯苓等利停留之湿,防风等驱外来之湿,白术等运内生之湿,柴胡等除肝郁之夹湿,山楂等化肥甘厚味之湿,厚朴等尚能燥湿祛寒。而方中丹参等活血化瘀之品,则可发挥“催化”湿浊、倍增疗效的作用,它既能直接改善水湿运行和代谢,又能清除瘀血,截断湿瘀之间的恶性循环。诸药合用,共奏行气疏肝、健脾除湿、活血化瘀之功。现代药理研究证明,方中藿香、白豆蔻、山楂等具有促进胃液分泌、协助消化等功能;白术、茯苓、防风、柴胡、丹参等可提高机体免疫力;白术、茯苓、柴胡、厚朴有抗溃疡作用;白术、柴胡、丹参等有保肝之功;而方中藿香、柴胡尚有抗螺旋体的作用;白豆蔻、白术、茯苓、厚朴、防风、柴胡、山楂等药物对大肠杆菌、幽门螺旋杆菌、伤寒杆菌、结核杆菌、白喉杆菌、炭疽杆菌、枯草杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎球菌、乙型溶血性链球菌、霍乱弧菌、耐酸性菌、类酵母菌、疟原虫、流感病毒、肝炎病毒、牛痘病毒、丝状真菌、小芽孢癣菌等有不同程度的杀灭或抑制作用。可见,本方具有增强免疫力、抗菌消炎、抑制病毒、保肝抗溃疡等药理作用。诸药合用,彰显行气疏肝、健脾除湿、活血化瘀之功,共奏综合化湿之法<sup>[1]</sup>。以往对湿阻证的论治主要是甘淡利湿、清热利湿、芳香化湿、苦温燥湿、升阳除湿、通阳化湿、解毒祛湿、益气除湿等法<sup>[11-12]</sup>。而本方独到之处则是从新的角度对湿阻证进行辨证论治,除了运用各种除湿法外,还突出了活血化瘀、行气疏肝等在除湿方面的特殊作用。

本实验结果表明,模型组大鼠出现精神萎靡、嗜睡、少动、饮食减少、体重减轻、游泳持续时间缩短、肢体肿胀等症状,且胃黏膜也出现了不同程度充血、水肿及凝血块等表现,血清D-木糖含量明显减少。运用化湿液治疗8d后,上述症状明显改善:精神状态良好、体重及饮食均增加,肢体肿胀消失,胃黏膜充血、水肿消失,无凝血块,血清D-木糖含量较模型组明显增加。模型组大鼠血清 Ghrelin 含量明显降低,经化湿液治疗后,大鼠血清 Ghrelin 均有不同程

度升高,提示化湿液改善湿阻证大鼠纳少、体重减轻等症状及保护胃黏膜等作用可能与通过影响血清 Ghrelin 的含量有关,化湿液对湿阻证大鼠胃肠功能的影响机制还有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 黄学宽,任凌燕. 化湿液组方原理及开发价值分析[J]. 实用中医药杂志,2006,22(9):572.
- [2] 薛丽莉,薛金,杜晨光. 益脾止泻汤对脾虚泄泻大鼠血清D-木糖含量及血浆胃动素的影响[J]. 中国中医急症,2009,18(6):951.
- [3] Koji Yakabi, Junichi Kawashima, Shingo Kato. Ghrelin and gastric acid secretion[J]. World J Gastroenterol, 2008,14(41):6334.
- [4] 韩志刚,黄学宽,刘群英,等. 化湿液对湿阻证大鼠胃黏膜损伤修复的影响[J]. 中药材,2008,31(12):1849.
- [5] 孔祥华,黄萍,吴清和,等. 湿阻中焦证研究进展[J]. 甘肃中医,2004,17(9):5.
- [6] 李连成. 湿阻的流行病学调查[J]. 中医杂志,1992,33(6):44.
- [7] 樊新荣,朱文锋,伍参荣,等. 太阴与阳明病证实验大鼠小肠D-木糖的吸收功能及肝脏ATP酶活性研究[J]. 上海中医药大学学报,2007,21(4):47.
- [8] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach[J]. Nature,1999,402(6762):656.
- [9] 王娜,吴立玲. Ghrelin对消化系统功能的调节[J]. 生理科学进展,2007,38(3):242.
- [10] 杜改梅,刘茂军,陈钟鸣. Ghrelin对大鼠胃黏膜上皮细胞胃酸分泌的调节作用[J]. 世界华人消化杂志,2009,17(34):3486.
- [11] 卫向龙,瞿融. 治湿六法方药配伍浅识[J]. 甘肃中医,2005,18(4):1.
- [12] 卢荣奎. 治湿法探析[J]. 辽宁中医杂志,2003,30(6):468.

[责任编辑 何伟]