

肝郁证大鼠血及结肠组织胃肠激素变化的研究

陈芝芸* 严茂祥* 项柏康*

摘要 目的:观察肝郁证大鼠胃肠激素的变化。方法:大鼠随机分为两组,每组 10 只。造模组采用夹尾法急性激怒建立肝郁证模型,正常组不予处理。采用放免法测定大鼠血及结肠组织中神经肽 Y(NPY)、P 物质(SP)、血管活性肠肽(VIP)、生长抑素(SS)、胰高血糖素(Glu)的含量。结果:肝郁证大鼠血 SS 含量明显增高($P<0.05$),NPY、Glu 明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),SP、VIP 与正常组比较差异无显著性(P 均 >0.05);结肠组织 NPY、SS、VIP 含量明显增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),Glu 明显降低($P<0.05$),SP 与正常组差异无显著性($P>0.05$)。结论:肝郁证大鼠存在胃肠激素的变化,表明神经内分泌调节的紊乱是肝郁证发生发展的基础。

关键词 肝气郁结/血液 结肠/代谢

肝郁指肝疏泄不及,肝气郁结及其产生的证候。有研究表明,肝主疏泄,与神经系统调节、物质代谢、核酸代谢、内分泌激素的代谢、激素的失活作用、抗病解毒功能、血液的贮藏和血量的调节有关^[1]。本研究通过激怒应激建立肝郁证大鼠模型,观察肝郁证大鼠血及结肠组织中胃肠激素的变化,探讨肝郁证病理生理学基础,从而提高对中医肝本质的认识。

1 材料和方法

1.1 实验动物:SD 大鼠,清洁级,雄性,由中国医学科学院上海实验动物中心提供。饲养于浙江中医学院动物实验中心。

1.2 主要试剂:神经肽 Y(NPY)试剂盒由北京东亚免疫技术研究所提供;P 物质(SP)、血管活性肠肽(VIP)、生长抑素(SS)试剂盒由北京海科锐生物技术有限公司提供;胰高血糖素(Glu)试剂盒由中国原子能科学研究所提供。

1.3 仪器:采用中国科学院上海原子能研究所日环仪器一厂的 SN-682B 型放射免疫 γ 测量仪。

1.4 肝郁证模型建立^[2]:大鼠 20 只,体重 320 ± 20 g,随机分为模型组、正常组,每组 10 只。造模组每笼放 3~4 只大鼠,用尖端缠有纱布的止血钳夹其中一只大鼠尾巴,令其与其它大鼠撕打,间接激怒全笼其它大鼠,每次刺激 30 分钟,以不破皮流血为度;每隔 3 小时

刺激 1 次,每天 4 次,每次刺激换 1 只大鼠夹尾,连续 2 天。正常组大鼠不予处理。造模结束后大鼠摘眼球取血,以 10%EDTA- Na_2 抗凝,并加抑肽酶,分离血浆待处理;同时解剖大鼠从乙状结肠起向上取 6~8cm,冲洗后根据要求进行处理。

1.5 血浆标本处理:均按药盒说明书要求在测定前进行。NPY:血浆用无水酒精提取,再在 60℃ 水浴上蒸干,加测定缓冲液溶解待测。SP:血浆依次用丙酮、石油醚提取,然后冷冻抽干,加含 0.5%BSA 的 NS 溶解待测。VIP:血浆用丙酮提取,然后冷冻抽干,加含 0.5%BSA 的 NS 溶解待测。SS:血浆依次用冰醋酸、丙酮、乙酸乙酯-乙醚合液提取,然后冷冻干燥。加含 0.5%BSA 的 NS 溶解待测。Glu:直接用分离血浆进行检测,不必提取。

1.6 结肠组织标本处理:组织称重,立即投入煮沸的生理盐水 1ml 中并继续煮沸 3 分钟,再加 1N 冰醋酸 0.5ml 于匀浆器中匀浆提取,再用 1N NaOH 0.5ml 中和,低温离心 3 000 转/分,30 分钟。取上清液贮存于 -20℃ 中待测。

1.7 放免测定:各项检测指标严格按照试剂盒说明进行操作。测定结果由放免检测仪自动计算并打印。

1.8 统计学处理:数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 t 检验,以 SPSS9.0 统计软件进行统计。

2 结果

2.1 肝郁证大鼠血中胃肠激素的变化:表 1 示,夹尾法急性激怒致肝郁模型大鼠血中 SS 含量较正常组明显增高,两组之间差异具有显著性意义($P<0.05$),NPY、Glu 含量较正常组明显降低,两组之间的差异具有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$),SP、VIP 含量与正常组差异无显著性($P>0.05$)。

2.2 肝郁证大鼠结肠组织中胃肠激素的变化:表 2 示,夹尾法急性激怒致肝郁证模型大鼠结肠组织中 NPY、SS、VIP 含量较正常组明显增高,两组比较差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$);Glu 较正常组明显降低,两组比较差异有显著性($P<0.05$);SP 含量与正常组比较差异无显著性($P>0.05$)。

3 讨论

肝郁证的产生,主要是由情绪不遂所致。情绪的变化,反复或强烈的精神刺激,超越了肝的调节限度,即

基金项目:浙江省自然科学基金项目(396417)

* 浙江省中医院消化病研究室,浙江省杭州市邮电路 54 号 (310006)

收稿日期:2002-04-09;修回日期:2002-07-10

表1 两组大鼠血中胃肠激素变化比较(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NPY	SP	VIP	SS	Glu
正常组	10	3110.25±1407.91	54.33±36.24	107.53±37.33	131.15±33.62	286.26±42.47
模型组	10	1931.13±484.22*	45.38±14.24	94.26±35.82	202.56±86.90*	133.47±59.95**

与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 表2 两组大鼠结肠组织中胃肠激素变化比较(ng/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NPY	SP	VIP	SS	Glu
正常组	10	1.19±0.62	0.83±0.36	1.62±0.53	6.40±2.04	16.67±7.02
模型组	10	1.99±0.91*	0.81±0.35	2.77±1.05**	9.78±4.00*	11.41±3.31*

与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

会导致气机失常,而出现肝郁之证,这一状态的基础可能是体内发生的一系列神经内分泌反应,进而导致胃肠道运动和分泌功能的变化。结果表明,夹尾法急性激怒造成的肝郁证存在着神经内分泌功能的异常。

研究发现, NPY 在该模型大鼠结肠组织中含量较正常对照组明显升高,但在血中含量较正常对照组明显降低。NPY 被认为是一种应激激素,在外伤、束缚时,可由交感肾上腺髓质兴奋,随 NA 一起由神经末梢释放。NPY 有抑制肠道平滑肌收缩和水电解质分泌、刺激摄食等作用,此外, NPY 还与皮肤触觉感受有关^[3]。本研究肝郁模型中 NPY 在结肠粘膜中含量增高,而血浆中含量反而降低,难以单纯用应激激素这一原因解释。血中含量是机体神经内分泌调节的一个综合反应。我们在造模中通过夹尾会引起大鼠明显疼痛,血浆中 NPY 的降低也可能是机体通过其它途径为减少皮肤对疼痛的感知、缓解痛感而出现的一种自我调节反应。另外,肝郁证大鼠造模结束时,出现明显的食欲下降,可能与血浆中 NPY 含量的下降有关。

VIP 在胃肠道和神经系统广泛分布,其中以结肠中含量最高,它有广泛的生物作用,可抑制肠道的电生理活动,调节胃肠道平滑肌的松弛,舒张血管,降低血压等;迷走神经兴奋可刺激 VIP 的释放,肠缺血亦可刺激其释放^[4,5]。本研究显示,在肝郁模型大鼠结肠粘膜组织中 VIP 的含量明显高于正常对照组,血浆中 VIP 含量和正常组比较则无显著性差异;结肠组织中 VIP 增高的原因可能与夹尾激怒应激引起大鼠交感神经的兴奋,肠道血管收缩,肠粘膜缺血,进而刺激结肠组织释放 VIP 有关。

本研究发现,肝郁模型大鼠结肠组织和血中 SS 均较正常组明显升高。其原因可能与激怒应激引起大鼠交感神经兴奋从而刺激 SS 的释放有关。此外,大鼠结肠组织中 VIP 含量增加,也可能起到一定的刺激 SS 分泌的作用。

中医理论认为,肝木疏泄脾土。《素问·宝命全形论》云:“土得木而达之”;唐容川《血证论》有“木之性主

乎疏泄。食气入胃,全赖肝木之气以疏泄之,则水谷乃化。设肝不能疏泄水谷,渗泄中满之证在所不免”,这些观点都认为脾胃只有依赖肝木才能发挥正常生理功能。本研究结果表明,实验性肝郁证大鼠血及结肠组织存在着胃肠激素的变化,提示在夹尾急性应激产生的大鼠肝郁证中,肝主疏泄功能对调节胃肠激素的合成与释放有重要的作用。胃肠激素可通过多种分泌途径,以体液因素或神经介质、调节介质等身份直接、间接地调节胃肠道的运动、感觉、分泌、吸收活动,并对全身某些生理、病理过程产生影响。因而我们认为,肝主疏泄调控脾胃气机,胃肠激素可能是两者联系的中介物质之一,肝失疏泄,机体胃肠激素发生变化,影响脾胃的运化功能,也进一步为“肝病传脾”提供了证据。

参考文献

- 1 张同贵. 祖国医学“肝本质”初探. 福建中医药, 1988, 19(6): 18-20.
- 2 苗明三主编. 实验动物和动物实验技术. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 299.
- 3 Sheikh SP. Neuropeptide Y and peptide YY: major modulators of gastrointestinal blood flow and function. Am J Physiol, 1991, 261 (5Pt1): G701-715.
- 4 Grider JR, Katsoulis S, Schmidt WE, et al. Regulation of the descending relaxation phase of intestinal peristalsis by PACAP. J Auton Nerv Syst, 1994, 50(2): 151-159.
- 5 陈元方, 钱家鸣, 周志超. 胃肠激素和其他化学信使. 见: 潘国宗, 曹世植主编. 现代胃肠病学上册. 北京: 科学出版社, 1994: 52.

《中华中医院博览》大型画册征稿

《中医杂志》即将迎来创刊 50 周年, 为了回报中医药界多年来对《中医杂志》的大力支持, 中医杂志社与北京华夏书苑联合策划、编辑《中华中医院博览》大型画册, 面向全国选择具有一定知名度的中医医院, 作彩色专版介绍。宗旨: 展示全国各级中医院的、医、教成果及医疗水平; 为国内外中医药机构之间的信息交流与技术沟通提供一个平台, 架设一座桥梁; 为海内外患者提供有效、快捷的求医信息。画册将进口铜版纸全彩色印刷, 图文并茂, 大 16 开本。每个单位限 4 页, 图片配合文字。主要介绍单位领导、医疗骨干、重点学科、专科门诊、特色医疗等内容, 并附医院详细介绍。

入编联系地址: 北京市 9345 信箱, 邮编: 100093, 电话: (010) 64465966, 传真: (010) 64465986, 联系人: 沈小组、贾小组。广告招商电话: (010) 64465989, 13601326684, 王先生, E-mail: ZYYBL@163.net