

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.22.016

气滞胃痛颗粒对功能性消化不良模型大鼠胃敏感性、精神状态的影响

毛心勇¹, 国嵩¹, 倪文超², 张涛¹, 刘倩³, 罗梦雪¹, 潘雨烟³,
苏晓兰¹, 杨洋¹, 方继良⁴, 荣培晶⁵, 陈建德⁶, 景斌⁷, 魏玮^{8*}

1. 中国中医科学院望京医院, 北京市朝阳区望京中环南路 6 号, 100102; 2. 北京中医药大学东直门医院; 3. 北京中医药大学研究生院; 4. 中国中医科学院广安门医院; 5. 中国中医科学院针灸研究所; 6. Johns Hopkins Medicine, USA.; 7. 首都医科大学基础医学院

摘要 目的 探讨气滞胃痛颗粒对功能性消化不良胃敏感性、精神状态的影响。方法 32 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、气滞胃痛颗粒组、莫沙必利组, 每组 8 只。除正常组外, 其余各组大鼠采用碘乙酸灌胃法制备功能性消化不良大鼠模型。造模成功后气滞胃痛颗粒组、枸橼酸莫沙必利组分别给予气滞胃痛颗粒水溶液 1.35 g/(kg·d)、莫沙必利水溶液 1.35 mg/(kg·d) 灌胃, 正常组、模型组分别给予 0.5 ml/100 g 蒸馏水灌胃, 各组均每日 1 次, 连续 14 天。采用肌电和腹壁撤退反射 (AWR) 评分检测大鼠胃敏感性, 强迫游泳实验和旷场实验检测大鼠精神状态, 脑功能核磁共振成像检测干预前后大鼠脑区功能改变。结果 与正常组比较, 模型组胃内球囊压力为 40、60、80 mmHg 时大鼠肌电均方根变化率、AWR 评分上升, 旷场实验运动总距离缩短、强迫游泳水中不动时间增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 主要表现为下丘脑、海马、中脑被盖部、嗅皮层局部一致性 (Reho) 减弱, 杏仁核、下丘脑、背外侧前额叶、小脑后叶低频振荡幅度 (ALEF) 减弱。与模型组比较, 气滞胃痛颗粒组 40、60、80 mmHg 时肌电均方根变化率、AWR 评分显著降低, 运动总距离明显增加, 水中不动时间缩短 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 杏仁核、海马、下丘脑、前扣带皮层、楔前叶 Reho 增强, 杏仁核、海马、楔前叶 ALEF 增强; 莫沙必利组各指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 中脑被盖部、脑桥 Reho 增强, 海马 ALFF 增强。与莫沙必利组比较, 气滞胃痛颗粒组 40、60、80 mmHg 时大鼠肌电均方根变化率、AWR 评分显著降低, 活动总距离明显增加, 水中不动时间明显缩短 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 杏仁核、海马、下丘脑 Reho 增强, 杏仁核、下丘脑 ALFF 增强。结论 气滞胃痛颗粒可改善功能性消化不良模型大鼠的胃高敏感及精神状态, 表现为不同脑区的结构改变。

关键词 功能性消化不良; 疏肝理脾法; 气滞胃痛颗粒; 胃敏感性; 精神状态

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是常见功能性胃肠病之一, 临床以餐后饱胀、早饱感、上腹痛、上腹烧灼感至少 1 项为主要表现, 经常规临床评估无法解释导致症状的原因^[1]。该病在全球范围内的发病率为 5% ~ 40%, 易反复发作, 给患者的身心和生活带来沉重负担, 严重影响生活质量^[2]。内脏高敏感、胃排空延迟、脑肠互动异常是 FD 的重要发病机制^[3]。

中医学认为, 肝郁脾虚是 FD 的主要病机之一, 以疏肝理脾为核心治法^[4]。气滞胃痛颗粒由

疏肝理脾法代表方四逆散化裁而来, 具有疏肝理气、和胃止痛的功效, 常用于肝郁气滞所致的胸痞胀满, 胃脘疼痛等症。研究^[5-8]显示, 气滞胃痛颗粒可以改善 FD 胃肠动力紊乱, 且具有明显镇痛作用。内脏高敏感是 FD 的重要病理机制之一, 焦虑、抑郁等不良精神状态与该病的发生发展关系密切^[9]。现代影像学技术中, 血氧水平依赖 (blood oxygenation level dependent, BOLD) 在脑功能核磁共振成像中广泛应用, 该技术根据氧合和去氧血红蛋白磁场性质的差异, 采用成像的形式确定局部脑组织血流的变化, 从而间接反映神经电活动, 其中局部一致性 (regional homogeneity, Reho) 和低频

基金项目: 国家自然科学基金 (81820108033)

* 通讯作者: sxxyy@sina.com, (010) 84739719

振荡幅度 (amplitude of low-frequency fluctuation, ALFF) 是 BOLD 分析方法, 可以对全脑的神经元变化进行分析, 分别反映了神经元活动的一致性和神经元活动强度的变化, 是对全脑异常脑区进行探索的有效方法^[8]。因此, 本研究旨在通过观察 FD 模型大鼠行为学变化、全脑异常脑区, 以及气滞胃痛颗粒对其内脏高敏感性和精神状态的影响, 以探讨气滞胃痛颗粒对 FD 的影响。

1 材料及方法

1.1 动物

32 只 SPF 级 5 日龄健康雄性 SD 大鼠, 体重 (8.7 ± 1.2) g, 由北京斯贝福实验动物技术有限公司提供, 实验动物使用许可证号: SCXK (京) 2011-0004。饲养于中国中医科学院针灸研究所动物房, 饲养条件: 室温 $20 \sim 26^{\circ}\text{C}$, 日温差 $\leq 4^{\circ}\text{C}$, 独立通风笼设备饲养, 换气次数 ≥ 15 次, 空气洁净度 7 级, 昼夜明暗交替时间 12 h/12 h, 所有动物均自由采食灭菌饲料、饮用灭菌水。实验开始前所有动物适应性喂养 5 d。

1.2 药物

气滞胃痛颗粒由柴胡、枳壳、白芍、醋延胡索、醋香附、炙甘草组成, 配伍比例为 9 : 10 : 12 : 10 : 10 : 5, 由辽宁华润本溪三药有限公司提供 (批号: 20100623)。枸橼酸莫沙必利片 (鲁南贝特制药有限公司, 批号: 19990317)。

1.3 主要试剂与仪器

碘乙酰胺 (Sigma 公司, 批号: I6125), 蔗糖 (西陇化工股份有限公司, 批号: 1001202), 异氟烷 (河北一品制药有限公司, 批号: H19980141), 水合氯醛 (国药集团化学试剂有限公司, 批号: C11098000), 苏木精染色液 (北京赛因坦科技有限公司, 批号: H8070), 伊红染色液 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号: C0109), 中性组织固定液 (上海源叶生物科技有限公司, 批号: R20486)。

Power-Lab 电生理记录仪 (型号: PL3504)、Power-Lab 四桥放大器 (型号: FE224-0354)、Lab-Chart Pro 8 数据处理系统, 澳大利亚 AD instrument 公司; 动物麻醉机 (美国 MIDMARK 公司, 型号: V1503260); Anymaze 小动物运动轨迹跟踪系统 (上海欣软信息科技有限公司, 型号: XR-XL204); 7.0T 小动物功能核磁仪 (德国 Bruker PharmaScan, 型号: BioSpec); MATLAB 数据处理系统 (美国

MathWorks 公司, 版本: R2018b); 光学显微镜 (奥林巴斯株式会社, 型号: CX43); 血压计 (江苏鱼跃医疗设备股份有限公司, 型号: YE666AR); 大鼠固定器 (宁波迈达医疗仪器有限公司, 型号: ZK-GDQ-1)。

1.4 动物分组、造模及给药

32 只 SD 大鼠根据体重通过 Excel 2019 软件进行随机化分组^[9], 分为正常组、模型组、气滞胃痛颗粒组、莫沙必利组, 每组 8 只。除正常组外, 其余各组大鼠采用碘乙酰胺灌胃法制备 FD 大鼠模型^[10], 自 10 日龄起予 0.1% 碘乙酰胺与 2% 蔗糖混合液 0.2 ml 灌胃。正常组予 2% 蔗糖溶液 0.2 ml 灌胃。各组均每日 1 次, 连续 6 天。灌胃结束后, 各组大鼠正常饲养至 8 周龄造模结束。以模型组较正常组胃敏感性增加 1 倍以上为造模成功标志^[10]。24 只大鼠均造模成功。采用人与动物临床等效剂量, 参照《实验动物学》^[11]中动物给药剂量规范, 气滞胃痛颗粒加蒸馏水配成浓度为 0.27 g/ml 的水溶液, 枸橼酸莫沙必利片加蒸馏水配成浓度为 0.27 mg/ml 的水溶液。自 9 周龄起, 气滞胃痛颗粒组、枸橼酸莫沙必利组分别给予气滞胃痛颗粒水溶液 1.35 g/(kg·d)、莫沙必利水溶液 1.35 mg/(kg·d) 灌胃, 灌胃体积为 0.5 ml/100 g。正常组、模型组分别给予 0.5 ml/100 g 蒸馏水灌胃。各组均每日 1 次, 连续 14 天。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 胃组织病理形态 灌胃结束后禁食 24 h。实验当天每组选取 2 只大鼠予腹腔注射水合氯醛 (1 ml/100 g) 麻醉后, 取大鼠胃组织, 置于 4% 多聚甲醛中固定, 脱水、包埋、切片, 厚度 8 μm 。用二甲苯溶液脱蜡, 乙醇梯度水化, 再依次进行 HE 染色, 经二甲苯透明后使用中性树胶封片, 显微镜下观察拍照。

1.5.2 胃敏感性测定 大鼠检测前禁食不禁水 24 h, 予异氟烷吸入并维持麻醉。麻醉状态下开腹, 球囊经石蜡油润滑后从胃底部开口置入胃内 (长约 2.5 cm, 直径约 2.5 cm, 最大容积约 25 ml), 球囊导气管经皮下从后颈部穿出, 球囊置入胃内后充气约 10 ml, 确保其位于胃内, 且可顺利充气扩张。将大鼠固定于大鼠固定器, 气囊通过导气管连接血压计, 用以向置于大鼠胃内的球囊施加压力。于大鼠颈斜方肌处置入一对针式电极, 并连接于电生理记录仪, 用以记录肌肉活动。待大鼠苏醒后开始对球囊施加梯度递增的压力, 记录肌电数据, 以

此反映大鼠胃敏感性。

于药物干预结束进行检测。首先记录稳定状态下大鼠颈斜方肌肌电, 截取 30 s 作为基线, 计算基础均方根。然后用血压计对大鼠胃内球囊分阶段加压, 压力分别为 20、40、60、80 mmHg, 每次加压时间为 20 s, 每 2 次加压间隔 180 s。监测并记录腹壁撤退反射 (abdominal withdrawal reflex, AWR) 评分及颈斜方肌肌电活动。内脏敏感性以 AWR 评分及颈斜方肌肌电均方根变化率为评价指标。均方根变化率 (%) = (加压期均方根 - 基础均方根) / 基础均方根 × 100%。

1.5.3 旷场实验 大鼠于末次给药 24 h 后进行检测。具体操作为: 底部为 1 m × 1 m, 高为 0.5 m 的敞箱一个, 内壁涂黑, 底面以黄色油漆平均分为 25 个正方形, 旷场正上方 2 m 处置一红外摄像头, 其视野可覆盖整个旷场内部。实验在安静环境下进行, 将所有大鼠依次放入底面中央格内, 同时进行摄像和计时, 每只大鼠测定完毕后, 清理粪便和尿液并喷洒酒精以避免气味对下一只大鼠的行为产生影响。录像数据通过动物行为记录分析系统分析, 测定大鼠 5 min 内活动总距离。

1.5.4 强迫游泳实验 大鼠于末次给药 24 h 后进行检测, 采用 Any Maze 小动物运动轨迹跟踪系统。圆柱水箱 (高 100 cm, 直径 50 cm) 由塑料制成。将单只大鼠放于 20 cm 水深的水箱内, 使其四肢不能触及底部形成支撑。实验包括两阶段, 大鼠先预游 3 min, 再记录之后 5 min 内大鼠不动时间。每只大鼠测量 1 次, 前一只大鼠测量后更换清洁水以防上只大鼠气味干扰, 再检测下一只大鼠。

1.5.5 脑区功能 脑功能核磁共振成像检测于药物干预 14 天后进行, 核磁数据采集在首都医科大学中心实验室完成。使用 7.0T 小动物功能核磁仪对大鼠头部进行扫描。将大鼠气体麻醉 (异氟烷和氧气混合气, 异氟烷 5%) 后, 置于扫描台, 加麻醉面罩, 确保大鼠在扫描过程中处于麻醉状态, 大鼠呼吸频率维持在 40 ~ 60 次/min, 采用头部固定装置将大鼠头部固定。扫描按照以下顺序进行: 首先扫描 T2 加权像序列进行解剖定位, 具体参数为: 重复时间 = 4380 ms, 回波时间 = 45 ms, 视野 = 3.3 cm × 3.3 cm, 矩阵为 256 × 256, 层厚/间隙 = 0.7 mm/0.7 mm, 层数 = 30 层。然后进行静息态 BOLD 序列扫描, 具体参数为: 重复时间 = 2691.4 ms, 回波时间 = 27.6 ms, 转角 = 90°, 层数 = 20 层, 层厚/间隙 = 1.0 mm/0.2 mm, 视野 = 2.5 cm × 2.0 cm。

1.6 统计学方法

1.6.1 单变量统计分析 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.6.2 脑功能核磁共振成像数据分析 基于 SPM 8 软件进行数据分析, 具体步骤如下: 1) 数据转换并筛选: 高质量可分析图像; 2) 时间片校正: 中间层为参考标准, 对每一个受试个体的每个团块, 校正其余层的时间信息; 3) 头动校正: 对于每一个受试体, 以第一幅图像为参考标准进行空间校正, 生成头动校正后的图像, 并生成校正后的 150 幅图像的平均图像; 4) 空间标准化: 以平均图像为源图像, 确定图像配准参数, 最终将配准参数应用于头动校正后的 150 副图像上; 5) 高斯平滑: 使用半高宽为 363 mm 高斯平滑核对空间标准化的图像进行高斯平滑以进一步消除噪声, 并使数据符合正态分布; 6) 去线性漂移、带通滤波: 采用线性回归的方法去除机器噪声等线性影响, 选择 0.01 ~ 0.08 Hz 带通频段滤波; 7) ALFF: 对滤波后的数据进行傅里叶变换后, 通过开方的形式计算其功率谱, 从而得到每个像素的低频振荡幅度值; 8) Reho: 使用肯德尔和谐系数作为指标来度量一个团块 (27 个体素) 内时间序列变化的一致性, 反映一个功能区内不同体素的时间序列之间的相似程度; 9) 统计分析: 基于广义线性模型对预处理后的图像进行随机效应分析, 包括 ALFF、Reho, 将预处理后的数据根据分组进行统计; 10) ALFF、Reho 结果显示: 设置置信度水平, 即个体体素阈值为 $P < 0.01$ (未校正)、体簇大小 > 54 个体素认为差异有统计学意义, 得到任何两组间差异的统计参数图。

2 结果

2.1 各组大鼠胃组织病理形态学结果

HE 染色结果显示, 各组大鼠胃组织形态结构完整清晰, 细胞排列整齐, 无明显炎症表现 (见图 1)。

2.2 各组大鼠颈斜方肌肌电均方根变化率比较

表 1 示, 与正常组比较, 在 40、60、80 mmHg 胃内球囊压力刺激下, 模型组大鼠肌电均方根变化率均升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 40、60、80 mmHg 时气滞胃痛颗粒组大鼠肌电均方根变化率显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 莫沙必利组差

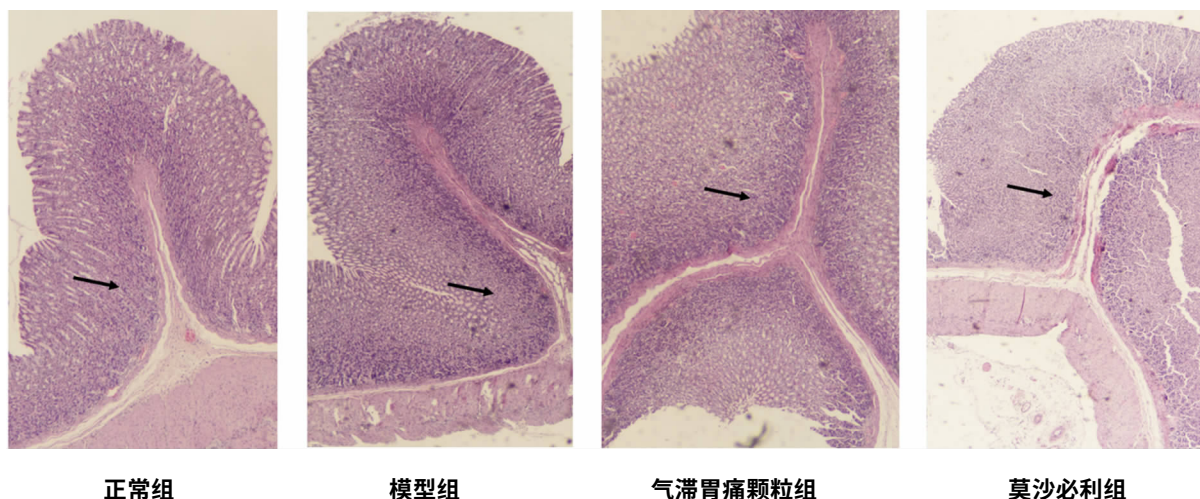


图 1 各组大鼠胃组织病理形态比较 (HE 染色, $\times 10$)

异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与莫沙必利组比较, 40、60、80 mmHg 时气滞胃痛颗粒组大鼠肌电均方根变化率显著降低 ($P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠胃内球囊不同压力下 AWR 评分比较

表 2 示, 胃内球囊压力在 20 mmHg 时, 各组大鼠 AWR 评分差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 压力为 40、60、80 mmHg 时, 模型组大鼠胃 AWR 评分高于正常组大鼠, 气滞胃痛颗粒组大鼠胃 AWR 评分低于模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 莫沙必利组与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 气滞胃痛颗粒组大鼠 AWR 评分低于莫沙必利组 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠旷场实验、强迫游泳实验结果比较

表 3 示, 与正常组比较, 模型组大鼠旷场实验

运动总距离缩短、强迫游泳水中不动时间明显增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 提示模型组出现抑郁倾向; 与模型组比较, 气滞胃痛颗粒组运动总距离明显增加, 水中不动时间缩短 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 莫沙必利组各指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与莫沙必利组比较, 气滞胃痛颗粒组活动总距离明显增加, 水中不动时间明显缩短 ($P < 0.01$)。

表 3 各组大鼠旷场实验、强迫游泳实验结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	运动总距离 (cm)	水中不动时间 (s)
正常组	8	1316.45 $\pm$ 447.42	63.50 $\pm$ 13.62
模型组	8	647.61 $\pm$ 278.98*	102.13 $\pm$ 11.28**
气滞胃痛颗粒组	8	1498.47 $\pm$ 913.77***	88.75 $\pm$ 10.53**
莫沙必利组	8	873.54 $\pm$ 474.04	100.25 $\pm$ 6.92

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与莫沙必利组比较, + $P < 0.01$

表 1 各组大鼠胃内球囊不同压力下颈斜方肌肌电均方根变化率比较 ($\%$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	20 mmHg	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg
正常组	8	0.23 $\pm$ 0.14	0.81 $\pm$ 0.39	2.00 $\pm$ 0.53	2.88 $\pm$ 0.70
模型组	8	0.38 $\pm$ 0.09	2.34 $\pm$ 0.35*	3.50 $\pm$ 0.53*	7.25 $\pm$ 1.36*
气滞胃痛颗粒组	8	0.44 $\pm$ 0.09	1.71 $\pm$ 0.52## Δ	2.38 $\pm$ 0.52## Δ	5.47 $\pm$ 1.15# Δ
莫沙必利组	8	0.41 $\pm$ 0.23	2.20 $\pm$ 0.91	3.13 $\pm$ 0.64	6.10 $\pm$ 1.98

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与莫沙必利组比较, $\Delta P < 0.01$

表 2 各组大鼠胃内球囊不同压力下 AWR 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	20 mmHg	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg
正常组	8	0.75 $\pm$ 0.46	1.13 $\pm$ 0.64	1.32 $\pm$ 0.29	2.23 $\pm$ 0.83
模型组	8	0.88 $\pm$ 0.64	2.38 $\pm$ 0.74**	4.54 $\pm$ 0.91**	3.88 $\pm$ 0.35*
气滞胃痛颗粒组	8	0.50 $\pm$ 0.53	1.25 $\pm$ 0.89# Δ	3.21 $\pm$ 0.62## Δ	3.25 $\pm$ 0.46# Δ
莫沙必利组	8	0.63 $\pm$ 0.52	1.88 $\pm$ 0.35	3.74 $\pm$ 1.25	3.63 $\pm$ 0.52

注: AWR, 腹壁撤退反射; 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与莫沙必利组比较, $\Delta P < 0.05$

2.5 各组大鼠不同脑区 Reho 比较

脑区 Reho 信号的强弱根据 t 值判断, 如 A 组—B 组, t 值为正代表 A 组信号较 B 组强, 为负代表 A 组信号较 B 组弱。表 4 示, 与正常组相比, 模型组主要表现下丘脑、海马、中脑被盖部、嗅皮层 Reho 减弱; 与模型组相比, 气滞胃痛颗粒组杏仁核、海马、下丘脑、前扣带皮层、楔前叶 Reho 呈增强状态, 莫沙必利组中脑被盖部、脑桥 Reho 呈增强状态; 与莫沙必利组相比, 气滞胃痛颗粒组杏仁核、海马、下丘脑 Reho 呈增强状态。

表 4 各组大鼠不同脑区局部一致性比较

组别	脑区	t 值	坐标轴		
			x	y	z
模型组—正常组	下丘脑	-4.51	-13	-51	-76
	海马	-3.98	-32	-28	56
	中脑被盖部	-5.12	-39	-22	-9
	嗅皮层	-4.26	-13	-17	-5
气滞胃痛颗粒组—模型组	杏仁核	4.28	-12	-6	21
	海马	4.48	18	-1	-60
	下丘脑	7.59	-5	-76	7
	前扣带皮层	5.88	-54	-91	15
莫沙必利组—模型组	楔前叶	4.74	33	-14	15
	中脑被盖部	4.26	26	45	-67
	脑桥	5.66	-5	-39	60
	杏仁核	4.31	-24	-1	26
气滞胃痛颗粒组—莫沙必利组	海马	4.27	-31	-7	43
	下丘脑	4.30	-15	29	-10

2.6 各组大鼠不同脑区 ALFF 比较

脑区 ALFF 信号的强弱根据 t 值判断, 如 A 组—B 组, t 值为正代表 A 组信号较 B 组强, 为负代表 A 组信号较 B 组弱。表 5 示, 与正常组相比, 模型组主要表现在杏仁核、下丘脑、背外侧前额叶、小脑后叶 ALFF 减弱; 与模型组相比, 气滞胃痛颗粒组杏仁核、海马、楔前叶 ALFF 增强, 莫沙必利组海马 ALFF 增强; 与莫沙必利组相比, 气滞胃痛颗粒组杏仁核、下丘脑 ALFF 增强。

表 5 各组大鼠不同脑区低频振荡幅度比较

组别	脑区	t 值	坐标轴		
			x	y	z
模型组—正常组	杏仁核	-6.37	-43	-45	-87
	下丘脑	-5.92	-1	-60	-71
	背外侧前额叶	-3.36	-53	-60	-11
	小脑后叶	-3.91	35	-54	-97
气滞胃痛颗粒组—模型组	杏仁核	3.57	-7	71	-2
	海马	4.39	50	-39	-105
	楔前叶	7.17	42	-58	-92
莫沙必利组—模型组	海马	6.58	34	-27	-1
气滞胃痛颗粒组—莫沙必利组	杏仁核	3.40	-17	13	-22
	下丘脑	4.62	8	19	-43

3 讨论

FD 属于中医学“痞满”“胃脘痛”范畴, 其病位在胃, 与肝、脾密切相关, 肝失疏泄, 脾失健运, 导致上腹胀满、疼痛等, 肝郁脾虚气滞是本病病机关键, 因而疏肝理气健脾是主要治则。气滞胃痛颗粒由《伤寒论》四逆散化裁而成, 方中延胡索、枳壳、香附行气, 柴胡疏肝解郁, 白芍、炙甘草缓急止痛, 炙甘草兼能补中益气, 诸药共奏疏肝理气、和胃止痛之功。

现代药理学研究表明, 柴胡的主要生物活性成分是柴胡皂苷, 具有解热镇静、抗炎和抗病毒等药理作用^[1], 并且可以通过调节神经递质、细胞因子、内分泌系统、神经细胞损伤信号通路、抗氧化应激等多层机制在抑郁症治疗中发挥重要作用^[3]; 白芍抗炎、抗氧化^[4]; 香附挥发油可以平衡中枢胆碱能系统、提高 5-羟色胺 (5-HT) 水平以改善小鼠焦虑行为^[5], 同时能够提高大鼠胃肠动力生物活性, 促进小肠平滑肌细胞增殖^[6]; 枳壳可以双向调节胃肠道平滑肌, 既能够兴奋胃肠, 增强肠胃蠕动, 又可降低胃肠平滑肌张力, 具有解痉作用^[7]; 炙甘草中甘草苷含量较生甘草增加, 且动物实验证明灌服 3 周甘草苷, 可使抑郁模型大鼠明显好转, 提示炙甘草较甘草有更好的抗抑郁疗效^[8-9]。临床研究^[10]也证实气滞胃痛颗粒对 FD 相关症状有较好的缓解作用。胃、十二指肠对机械和化学刺激的敏感性改变在 FD 患者中十分常见, 内脏高敏感是 FD 的重要病理机制之一, 与疼痛、胀满等上腹部症状有关^[11]。FD 患者在空腹状态下胃底扩张后及餐后出现内脏超敏反应^[12]。本研究表明, FD 模型大鼠胃对球囊扩张的刺激敏感性明显高于正常组大鼠, 提示出现内脏高敏感状态, 说明其对机械刺激感受阈值降低, 对痛觉敏感度和不耐受度增加。

FD 与精神障碍共病有关, 尤其是焦虑症和抑郁症, 有研究^[2]显示, 胃肠道疾病可能会影响中枢神经系统, 出现如焦虑、抑郁等症状; 同时大脑也可能是胃肠道症状的驱动者, 脑肠互动异常是导致 FD 的重要因素。动物实验研究^[13]表明, 乳鼠短暂的胃刺激可导致长期的抑郁和焦虑样行为的增加。本研究通过旷场和强迫游泳实验也发现 FD 大鼠较正常组运动距离减少、水中静止时间增加, 这些自主活动度降低的表现说明 FD 大鼠出现了抑郁倾向的精神行为变化。旷场实验显示, 气滞胃痛颗

粒组较模型组大鼠运动距离增加, 强迫游泳实验显示前者较后者水中不动时间减少, 说明气滞胃痛颗粒改善了 FD 大鼠的抑郁样行为变化; 而莫沙必利组与模型组相比无统计学意义, 表明莫沙必利可能对 FD 大鼠出现的抑郁状态无改善作用。

静息态功能磁共振成像 (resting-state functional magnetic resonance imaging, r-fMRI) 是研究机体自发或者固有神经脑活动的影像方法, 该方法不需要给受检测者各种任务, 且检测灵敏, 是目前研究啮齿类或其他需麻醉动物脑功能的常用方法^[24]。有研究^[25]对比了健康人与 FD 患者静息状态下脑功能的差异, 静息状态下 FD 患者双侧岛叶、中扣带回、小脑、丘脑、前额叶皮质、中央前回、颞上回、豆状核、右旁海马回、屏状核、左楔前叶相比正常人脑代谢异常增高。海马、扣带回、杏仁核、下丘脑等神经结构可以调节本能和情感行为, 参与学习和记忆活动, 与抑郁、焦虑等精神状态密切相关^[26]。因此, 本研究基于 FD “脑肠互动紊乱” 的概念, 通过行为学实验发现 FD 模型大鼠出现抑郁样行为变化, 与此同时, r-fMRI 显示其杏仁核、下丘脑、海马、背外侧前额叶等脑区神经元异常, 据此推测其行为学改变可能与上述脑区神经元异常活动有关。

下丘脑-垂体-肾上腺轴 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA 轴) 的改变是抑郁症发病的机制之一^[27], 其中下丘脑对维持机体稳态具有重要作用, 是调节机体代谢、体液平衡、生殖、及情绪反应的重要中枢脑区, 同时也是大脑皮质下调节内脏活动的高级中枢^[28]。本实验核磁结果显示, FD 大鼠的下丘脑 Reho 和 ALFF 均存在异常改变, 下丘脑是调节内脏活动和内分泌活动的高级神经中枢, 对摄食、内脏活动以及情绪变化有重要影响^[29]。Reho 是一种静息态核磁数据分析方法, 主要研究脑区神经元区域一致性的变化, 而 ALFF 则主要是测量局部神经元自主活动的振幅变化, 从一定程度上反映了神经元活动能量的大小, 二者结合可以对全脑神经异常脑区进行分析^[30]。这符合该模型大鼠出现抑郁状态与内脏高敏感并存的状态; 组间比较显示, 气滞胃痛颗粒组较莫沙必利组大鼠杏仁核和下丘脑两个脑区信号增强, 说明气滞胃痛颗粒较莫沙必利能更好地改善这两个脑区信号减弱的状态, 提示气滞胃痛颗粒缓解抑郁状态的效果优于莫沙必利。气滞胃痛颗粒组较模型组对包括下丘脑在内的不同脑区有激活作用, 这可能是其改善 FD 模

型大鼠抑郁状态的途径之一, 但其具体作用机制需进一步通过分子生物学研究加以阐释。

总之, 本研究根据 FD “脑肠互动异常” 的概念, 利用行为学、电生理以及 r-fMRI 相结合的实验方法, 在动物模型上进行了初步探索, 结果显示, FD 模型大鼠出现了内脏高敏、抑郁状态、部分边缘脑区神经元活动信号减弱等改变, 而气滞胃痛颗粒干预后可以起到缓解内脏高敏状态、增加旷场中运动距离、减少水中不动时间以及增强海马、下丘脑等脑区信号强度的作用, 这些结果也为深入研究疏肝理脾法治疗 FD 的不同机制奠定了基础。本研究仅在表象层面做了初步的探索, 下一步将结合具体分子机制方面的数据, 以达到更为系统全面地探究 FD “脑肠互动异常” 以及疏肝理脾法治疗作用等生物学机制的目的。

参考文献

- [1] ENCK P, AZPIROZ F, BOECKXSTAENS G, et al. Functional dyspepsia [J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 11(3): 1-20.
- [2] MAHADEVA S, FORD AC. Clinical and epidemiological differences in functional dyspepsia between the east and the west [J]. Neurogastroenterol Motil, 2016, 28(2): 167-174.
- [3] WAUTERS L, TALLEY NJ, WALKER MM, et al. Novel concepts in the pathophysiology and treatment of functional dyspepsia [J]. Gut, 2020, 69(3): 591-600.
- [4] 赵静怡, 赵鲁卿, 朱春洋, 等. 香砂六君子汤对功能性消化不良模型大鼠胃敏感性及其十二指肠五羟色胺、TRPV1 表达的影响 [J]. 中医杂志, 2020, 61(7): 613-618.
- [5] 刁云鹏, 韩凌, 李坤, 等. 气滞胃痛颗粒对胃肠动力作用的影响 [J]. 中成药, 2011, 33(8): 1307-1311.
- [6] 姚东, 孟宪生, 潘英, 等. 气滞胃痛颗粒镇痛作用研究及机制初探 [J]. 中成药, 2012, 34(3): 556-558.
- [7] 伍小球, 章肖平, 张晓霞. 基于脑-肠轴学说探讨老年功能性消化不良患者睡眠障碍对焦虑抑郁和下消化道症状影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2020, 28(8): 280-284.
- [8] 李君玲. 基于慢性不可预知温和应激大鼠模型的“肝主疏泄”生物学基础研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [9] 周一平. 用 Excel 软件进行药物毒理实验的随机分组 [J]. 药学进展, 2005, 29(9): 425-427.
- [10] LIU LS, WINSTON JH, SHENOYA MM, et al. Arat model of chronic gastric sensorimotor dysfunction resulting from transient neonatal gastric irritation [J]. Gastroenterology, 2008, 134(7): 2070-2079.

- [1] 秦川. 实验动物学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 128.
- [2] 黄伟, 孙蓉. 柴胡皂苷类成分化学与药理和毒理作用研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26(3): 71-74.
- [3] 周瑾, 黄菲, 吴晓俊. 柴胡疏肝散抗抑郁化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(2): 174-179.
- [4] 叶先文, 夏澜婷, 任洪民, 等. 白芍炮制的历史沿革及化学成分、药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1951-1969.
- [5] 李世英, 谢云亮. 香附挥发油对慢性束缚应激小鼠焦虑行为的影响 [J]. 中药与临床, 2018, 40(10): 2140-2143.
- [6] 张跃飞, 李鑫, 孟宪生, 等. 香附挥发油的生物活性及其 GC-MS 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(14): 32-35.
- [7] 龚斌, 李琴, 胡小红, 等. 枳壳化学成分及药理作用研究进展 [J]. 南方林业科学, 2019, 47(3): 40-45.
- [8] 刘磊, 吕冬梅, 杨薇, 等. 炮制因素对甘草中有效成分甘草苷和甘草酸的影响 [J]. 徐州医学报, 2009, 29(10): 637-640.
- [9] 赵志宇, 王卫星, 郭洪祝, 等. 甘草苷对抑郁模型大鼠体重及行为学的影响 [J]. 中国心理卫生杂志, 2006, 12(20): 787-790.
- [10] 李涛, 王泳, 米彦军, 等. 气滞胃痛颗粒联合乌贝散治疗功能性消化不良效果观察 [J]. 人民军医, 2019, 62(12): 1179-1182.
- [11] SU Q, CHEN SL, WANG HH, et al. A randomized, double-blind, multicenter, placebo-controlled trial of qi-zhi-wei-tong granules on postprandial distress syndrome-predominant functional dyspepsia [J]. Chin Med J (Engl), 2018, 131(13): 1549-1556.
- [12] MASUY I, VAN OUDENHOVE L, TACK J. Review article: treatment options for functional dyspepsia [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2019, 49(9): 1134-1172.
- [13] LIU L, LI Q, SAPOLSKY R, et al. Transient gastric irritation in the neonatal rats leads to changes in hypothalamic CRF expression, depression- and anxiety-like behavior as adults [J]. PloS One, 2011, 6(5): 194-198.
- [14] 李君玲, 马雪玲, 李玉波, 等. 基于脑功能核磁的抑郁症肝郁脾虚证大鼠中枢分子生物学基础研究 [J]. 世界中医药, 2018, 13(9): 2130-2135.
- [15] 陈丽, 孙睿睿, 何昭璇, 等. 基于磁共振技术的功能性消化不良患者中枢影像特征研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(11): 1404-1408.
- [16] 宋秀, 王纯, 滕昌军, 等. 认知行为治疗对抑郁症的脑影像研究进展 [J]. 临床精神医学杂志, 2018, 28(6): 422-425.
- [17] GOLD PW. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness [J]. Mol Psychiatry, 2015, 20(1): 32-47.
- [18] BIRAN J, TAHOR M, WIRCER E, et al. Role of developmental factors in hypothalamic function [J]. Front Neuroanat, 2015, 9: 47. doi: 10.3389/fnana.2015.00047.
- [19] 余娟, 潘桃. 枸杞多糖对慢性心理应激大鼠空间学习记忆能力的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(15): 2290-2293.
- [20] SKROBISZ K, PIOTROWICZ G, NAUMCZYK P, et al. Imaging of morphological background in selected functional and inflammatory gastrointestinal diseases in fMRI [J]. Front Psychiatry, 2020, 11: 461. doi: 10.3389/fpsy.2020.00461.

Effects of *Qizhi Weitong Granules* (气滞胃痛颗粒) on Gastric Sensitivity and Mental State of Functional Dyspepsia Model Rats

MAO Xinyong¹, GUO Song¹, Ni Wenchao², ZHANG Tao¹, LIU Qian³, LUO Mengxue¹, PAN Yuyan³, SU Xiaolan¹, YANG Yang¹, FANG Jiliang⁴, RONG Peijing⁵, CHEN Jiande⁶, JING Bin⁷, WEI Wei¹

1. Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, 100102; 2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; 3. Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine; 4. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences; 5. Institute of Acupuncture and Moxibustion, China Academy of Chinese Medical Sciences; 6. Johns Hopkins Medicine, USA.; 7. School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University

ABSTRACT Objective To explore the effects of *Qizhi Weitong Granules* (气滞胃痛颗粒) on gastric sensitivity and mental state of rats with functional dyspepsia. **Methods** A total of 32 SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, a *Qizhi Weitong Granules* group, and a mosapride group, with 8 rats in each group. Except for the normal group, rats were given iodoacetamide gavage to prepare functional dyspepsia rat models. After successful modeling, the *Qizhi Weitong Granules* group was given *Qizhi Weitong Granules* aqueous solution 1.35 g/(kg·d), and the mosapride citrate group was given mosapride aqueous solution 1.35 g/(kg·d) respectively. The normal group and the model group were given 0.5 ml/100 g distilled water by gavage, once a day in each group for 14 consec-

utive days. Electromyography and abdominal wall withdrawal reflex (AWR) scores were used to detect the gastric sensitivity of rats, the forced swimming test and the open field test were used to detect the mental state of the rats, and the brain function NMR was used to detect the functional changes of the rat brain before and after intervention.

Results Compared with the normal group, in the model group, when the intragastric balloon pressure was 40, 60, 80 mmHg, the change rate of myoelectric root-mean-square and AWR score increased, the total distance of exercise in the open field experiment was shortened, and the time of immobilization in the water of forced swimming increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), mainly manifested as weakened regional homogeneity (Reho) in hypothalamus, hippocampus, midbrain tegment, and olfactory cortex, and weakened amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) in amygdala, hypothalamus, dorsolateral prefrontal lobe, posterior cerebellar. Compared with the model group, in the *Qizhi Weitong Granules* group, the myoelectric root-mean-square change rate and AWR score at 40, 60, and 80 mmHg were significantly reduced, the total distance of exercise was significantly increased, and the immobilization time in the water was shortened ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The Reho in amygdala, hippocampus, hypothalamus, anterior cingulate cortex, and precuneus was enhanced, and ALFF in the amygdala, hippocampus, and precuneus Reho in enhanced; there was no statistical difference in the indicators of the mosapride group ($P > 0.05$), the midbrain tegmental and pons increased, and ALFF in hippocampal increased. Compared with the mosapride group, in the *Qizhi Weitong Granules* group, the root-mean-square change rate and AWR score of rats at 40, 60, 80 mmHg were significantly reduced, the total distance of activity was significantly increased, and the immobilization time in the water was obvious shortened ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), Reho in the amygdala, hippocampus, and hypothalamus increased, and ALFF in the amygdala and hypothalamus increased.

Conclusion *Qizhi Weitong Granules* can improve the gastric hypersensitivity and mental state in functional dyspepsia model rats, which is manifested by the structural changes in different brain regions.

Keywords functional dyspepsia; soothing the liver and regulating *qi* method; *Qizhi Weitong Granules* (气滞胃痛颗粒); gastric sensitivity; mental state

(收稿日期: 2020-05-29; 修回日期: 2020-08-25)

编辑: 王利芬

读者 · 作者 · 编者

如何正确引用网络文献

正确引用的参考文献是学术论文的重要组成部分,除传统的印刷版文献外,参考文献还包括了大量的网络文献。常见的网络文献资源包括电子公告 (EB/OL)、电子图书 (M/OL)、电子期刊 (J/OL)、报纸 (N/OL)、数据库 (DB/OL)、专利文献 (P/OL) 等。根据《GB/T 7714—2015 信息与文献 参考文献著录规则》,不同文献类型有相应的著录格式。以下为电子资源著录格式。

著录格式

主要责任者. 题名: 其他题名信息 [文献类型标识/文献载体标识]. 出版地: 出版者, 出版年: 引文页码 (更新或修改日期) [引用日期]. 获取和访问路径. 数字对象唯一标识符.

著录格式示例

- [1] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知 [EB/OL]. (2020-03-03) [2020-03-17]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-03-04/content_5486705.htm.
- [2] 全小林,李修洋,赵林华,等. 从“寒湿疫”角度探讨新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的中医药防治策略 [J/OL]. 中医杂志. (2020-02-19) [2020-02-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200217.2034.006.html>.
- [3] 罗兰. “国医大师”王琦院士开的预防药方来了 [N/OL]. 长江日报. (2020-01-29) [2020-05-12]. <http://www.cjrbapp.cjn.cn/wuhan/p/154889.html>.

(本刊编辑部)