

文章编号 1006-8147(2017)06-0502-04

论著

复方三维右旋泛酸钙糖浆对幼龄大鼠厌食症的治疗作用及机制研究

罗西^{1,2}, 姜溪³, 只德广³, 陈芙蓉³, 王银松¹

(1.天津医科大学药学院,天津 300070; 2.天津市胸科医院药剂科,天津 300051; 3.天津药物研究院新药评价有限公司,天津 300301)

摘要 目的:采用幼年大鼠厌食症模型,评价复方三维右旋泛酸钙糖浆的治疗作用,探讨作用机制。方法:构建幼龄大鼠厌食症模型,按剂量分组,给药2周,检测进食量、体质量、血清琥珀酸脱氢酶(SDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、丙酮酸激酶(PK)、生长抑素(SS)、胃泌素(gastrin)及饥饿素(ghrelin),然后进行胃肠运动和胃消化功能试验。结果:灌胃给药后,幼龄厌食症大鼠体质量显著增加,血清MDH与SDH活力升高,gastrin含量增加,ghrelin含量降低,胃液分泌、总酸及游离酸的排出量增加,胃蛋白酶活力升高。结论:复方三维右旋泛酸钙糖浆对幼龄大鼠厌食症有明显的治疗作用,主要机制是增加食欲,促进食物的消化吸收。

关键词 幼龄大鼠;厌食症;消化吸收;胃肠激素

中图分类号 R9

文献标志码 A

Therapeutic effects and mechanisms of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup on the young anorexia rats

LUO Xi^{1,2}, JIANG Xi³, ZHI De-guang³, CHEN Fu-rong³, WANG Yin-song¹

(1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pharmacy, Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300051, China; 3. TTPR Drug Assessment Co.Ltd, Tianjin 300301, China)

Abstract Objective: To evaluate the therapeutic effects of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup and explore its mechanisms by using the young anorexia rat model. **Methods:** The rat model of anorexia was established using the mixed feed. The anorexia rats were divided into different groups and then continuously administrated at different drug doses for 2 weeks. During the treatment period, the food intakes, body weights, serum levels of SDH, MDH, PK, SS, gastrin, and ghrelin of these rats were detected to evaluate the drug effects. Furthermore, the gastrointestinal movement and stomach digestive function in these rats were also assessed to explore the functional mechanisms of the drug. **Results:** After intragastric administration, the body weights of these anorexia rats significantly increased, the activities of MDH and SDH in serum were enhanced and the gastrin content increased, but the ghrelin content decreased. In addition, the gastric secretion was promoted, the total acid and free acid excretion increased, and the pepsin activity was elevated. **Conclusion:** Compound trivitamin and calcium pantothenate syrup has marked therapeutic efficacy on anorexia in young rats, and the increase of appetite, the enhancements of food digestion and absorption may be its main functional mechanisms.

Key words young rats; anorexia; digestive absorption; gastrointestinal hormone

小儿厌食症是一种严重影响我国儿童正常生长发育的疾病,属当今儿科四大病证之一。随着我国经济迅速发展,独生子女的增多和生活水平的提高,发病率有逐年增高的趋势。其主要病因是喂养不合理,膳食搭配不当,饮食过于肥甘厚腻,使脾胃损伤,导致脾运失健所致。其主要临床症状为小儿长期见食不贪、不欲进食、形体偏瘦,并且由于儿童食欲下降,食量减低,每天摄食量不能满足正常发育所需,迁延日久可导致小儿营养不良、贫血、佝偻病、免疫力低下以及出现反复呼吸道感染,对儿童生长发育、营养状态和智力发展也有不同程度的影

响^[1-3]。复方三维右旋泛酸钙糖浆是治疗营养不良及维生素缺乏症作用的中药复方制剂,在调理脾胃、扶助运化、和胃进食等方面存在优势,临床常用于治疗小儿厌食症^[4]。本实验采用特殊饲料喂养幼年大鼠,构建致其厌食的模型,用以模拟小儿厌食,研究药物的治疗作用并探讨作用机制。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂 复方三维右旋泛酸钙糖浆(批号20950602,国药控股星鲨制药有限公司);健胃消食片(批号15030033,江中药业股份有限公司)。羧甲基纤维素钠(上海科丰化学试剂有限公司)。胃蛋白酶、琥珀酸脱氢酶(SDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、丙酮酸激酶(PK)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

作者简介 罗西(1988-),男,药师,学士,研究方向:临床药学;通信作者:王银松, E-mail: wangyinsong@tmu.edu.cn。

大鼠生长抑素(SS)、胃泌素(gastrin)、饥饿素(ghrelin)、酶联免疫试剂盒(武汉基因美生物工程有限公司)。其它试剂为市售来源。

半固体糊配制:取羧甲基纤维素钠5g,溶于250mL蒸馏水,分别加入奶粉16g、葡萄糖8g、淀粉8g,活性炭末2g,搅拌均匀,配制成药300mL的黑色半固体糊状物,冰箱冷藏。

特殊饲料配置^[4]:鱼肉松、奶粉、玉米粉、黄豆粉、白糖、鲜鸡蛋、猪大油按照1:1:1:2:1:1.8:2比例混匀,捏成饼状,每块约20g,晾干,4℃冷藏备用。

1.2 动物 SD种大鼠:SPF级,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2012-0001。

1.3 仪器 TU-1800/1800S紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;FA1104型电子天平,上海天平仪器厂产品;RT-6100酶标分析仪,深圳雷杜生命科学股份有限公司。

1.4 实验方法 参考文献方法^[5-8],构建幼龄大鼠厌食症模型。选用3周龄、体质量约40~60g的SD幼鼠100只(雌雄兼备)。随机取10只作为正常对照,其余进行造模。正常对照大鼠给予基础饲料喂养,造模大鼠给予特殊饲料喂养3周。每周称量体质量,观察体质量的变化,按体质量增长低于对照组15%为造模成功标准。选取造模成功的幼鼠按体质量增长值进行随机分组,分别为模型对照组、复方三维右旋泛酸钙糖浆不同剂量组(1.35、2.70、5.40g/kg),阳性对照健胃消食片给药组(0.65g/kg),每组12只,雌雄各半。灌胃给药,每天1次,连续2周,给药容积均为10mL/kg,正常对照组与模型对照组给予等量蒸馏水。每周测定大鼠进食量与体质量;于14d给药后1h,各组动物眼眶取血,3000r/min离心10min处理后测定血清琥珀酸脱氢酶(SDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、丙酮酸激酶(PK)的活性,生长抑素(SS)、胃泌素(gastrin)与饥饿素(ghrelin)的含量;取血后大鼠禁食不禁水48h,继续给药,于16d给药后1h结束实验,对各剂量组动物进行胃肠运动与胃消化功能的实验。

1.4.1 胃消化功能实验 末次给药后1h,异氟烷麻醉大鼠,备皮,常规消毒皮肤,于剑突下沿腹白线开2.5cm切口,提起胃,在幽门与十二指肠结合部用缝线结扎,缝合创口后放回笼中,术后禁食禁水,5h后过度麻醉处死动物,取出胃,收集胃液于刻度离心管,以3000r/min离心15min,吸取0.5mL上清液加入二甲基黄和酚酞指示剂各2滴,用0.02mol/L NaOH溶液滴定,计算游离酸及总酸排出量,并测定

胃蛋白酶活性。

游离酸及总酸量排出量(mmol)=[NaOH溶液体积×NaOH溶液浓度/0.5mL]×胃液体积

1.4.2 肠推进实验 末次给药后1h,灌胃半固体糊2mL,30min后麻醉处死大鼠,打开腹腔,取小肠用滤纸吸干,然后将小肠不加牵引直铺在搪瓷盘里,测量幽门至炭末前沿及幽门至回盲部的距离,计算炭末推进百分率。

1.5 数据处理 以SPSS16.0软件进行数据的统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对厌食症幼龄大鼠体质量增长的影响 与正常对照组比较,给药前,模型对照组与各给药组大鼠(雌、雄)体质量均明显减轻($P<0.01$),表明大鼠已造成厌食模型;给药后1周和2周,模型组体质量增长明显缓慢($P<0.01$),表明大鼠厌食症仍未恢复。与模型对照组比较,健胃消食片组大鼠(雌、雄)体质量于给药后1周和2周均增长显著,具有统计学意义($P<0.05$);复方三维右旋泛酸钙糖浆3个剂量组雌性大鼠体质量均有所增长,其中,2.70、5.40g/kg剂量组雌性大鼠体质量于给药后1周和2周增长显著,均具有统计学意义($P<0.05$);复方三维右旋泛酸钙糖浆3个剂量组雄性大鼠体质量于给药后1周和2周均有所增长,但只有5.40g/kg剂量组在给药2周后体质量增长具有统计学意义($P<0.05$),详见表1。结果表明,复方三维右旋泛酸钙糖浆可以促进厌食症幼龄大鼠的体质量增长。

2.2 对厌食症幼龄大鼠食量的影响 表2结果显示,复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症大鼠食量无明显影响,组间进食量相似。

2.3 对厌食症幼龄大鼠能量物质代谢因子的影响 表3结果显示,与正常对照组比较,模型对照组血清SDH、MDH活力明显降低,表明能量代谢出现异常。与模型对照组比较,复方三维右旋泛酸钙糖浆1.35、2.70、5.40g/kg剂量组MDH活力明显增加;5.40g/kg剂量组SDH活力明显增加。阳性药健胃消食片也具有明显的作用。

2.4 对厌食症幼龄大鼠胃肠激素的影响 表4结果显示,与正常对照组比较,模型对照组血清SS、ghrelin含量明显升高,gastrin含量明显降低。与模型对照组比较,复方三维右旋泛酸钙糖浆5.40g/kg剂量组血清gastrin含量明显升高,ghrelin含量降低;2.70g/kg剂量组ghrelin含量明显降低。阳性药健胃消食片也具有明显作用。

表1 复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s, g$)Tab 1 Effect of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup on the body weight of the anorexia rats ($\bar{x}\pm s, g$)

组别	剂量/ (g/kg)	动物数/ 只	给药前	给药1周	给药2周	给药前	给药1周	给药2周
			(♂)	(♂)	(♂)	(♀)	(♀)	(♀)
正常对照	-	10	197.8±14.3	258.0±19.7	315.8±22.8	166.4±10.1	194.4±13.2	221.6±20.9
模型对照	-	12	152.8±11.8 ^{△△}	200.2±17.7 ^{△△}	247.5±18.5 ^{△△}	138.8±4.5 ^{△△}	158.3±5.2 ^{△△}	180.8±8.0 ^{△△}
健胃消食片组	0.65	12	158.0±13.9 ^{△△}	223.7±15.3*	292.5±20.3**	141.2±6.6 ^{△△}	172.3±8.8*	200.0±10.8**
复方三维右旋泛酸钙糖浆	1.35	12	155.5±11.3 ^{△△}	210.0±16.0	264.3±21.2	135.3±8.8 ^{△△}	164.0±9.5	192.0±15.7
不同剂量组	2.70	12	153.0±13.4 ^{△△}	211.3±11.0	268.2±14.2	138.7±3.4 ^{△△}	170.7±3.9**	197.0±7.5**
	5.40	12	154.0±13.7 ^{△△}	219.2±18.6	275.7±22.3*	138.8±5.8 ^{△△}	170.3±7.1**	192.8±8.9*

与正常对照组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$;与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;除正常对照组雌雄各5只外,其余各组雌雄均6只

表2 复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠食量的影响 ($\bar{x}\pm s, g/100 g \cdot BW$)Tab 2 Effect of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup on the food intake of the anorexia rats ($\bar{x}\pm s, g/100 g \cdot BW$)

组别	剂量/ (g/kg)	动物数/ 只	给药1周	给药2周	给药1周	给药2周
			(♂)	(♂)	(♀)	(♀)
正常对照	--	10	10.2±2.0	8.0±1.6	10.4±1.7	8.5±1.9
模型对照	--	12	10.3±1.0	7.9±0.8	9.1±1.9	7.0±1.8
健胃消食片组	0.65	12	10.3±1.4	8.4±1.1	10.4±1.4	8.6±1.1
复方三维右旋泛酸钙糖浆	1.35	12	9.3±0.4	7.3±0.9	8.7±2.0	6.6±1.8
不同剂量组	2.70	12	9.4±0.4	7.4±0.3	9.4±2.0	7.3±2.1
	5.40	12	9.6±0.6	7.6±0.8	10.2±1.7	8.2±1.7

除正常对照组雌雄各5只外,其余各组雌雄均6只

表3 复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠能量物质代谢因子的影响 ($\bar{x}\pm s$)Tab 3 Effect of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup on the factor of energy metabolism in the anorexia rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/(g/kg)	动物数/只	SDH/(U/mL)	MDH/(U/mL)	PK/(U/L)
正常对照	--	10	18.10±4.25	0.52±0.11	350.69±15.44
模型对照	--	12	14.42±3.78 [△]	0.43±0.06 [△]	328.85±33.73
健胃消食片组	0.65	12	19.08±5.45*	0.50±0.04**	349.24±25.52
复方三维右旋泛酸钙糖浆	1.35	12	15.50±5.66	0.52±0.09*	319.78±30.59
不同剂量组	2.70	12	17.08±4.85	0.52±0.05**	330.88±38.20
	5.40	12	19.58±5.26*	0.55±0.05**	346.78±35.00

与正常对照组比较 [△] $P<0.05$;与模型组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$

表4 复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠胃肠激素的影响 ($\bar{x}\pm s, pg/mL$)Tab 4 Effect of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup on the gastrointestinal hormone in the anorexia rats ($\bar{x}\pm s, pg/mL$)

组别	剂量/(g/kg)	动物/只	SS	Gastrin	Ghrelin
正常对照	--	10	73.65±15.70	58.44±17.23	505.82±93.11
模型对照	--	12	107.67±18.96 ^{△△}	39.47±9.04 ^{△△}	940.74±169.80 ^{△△}
健胃消食片	0.65	12	83.47±23.01*	58.11±21.58*	766.90±213.30*
复方三维右旋泛酸钙糖浆	1.35	12	111.74±21.66	36.09±13.36	879.37±131.04
	2.70	12	95.03±34.72	49.35±27.03	743.68±186.18*
	5.40	12	93.35±21.30	52.12±17.54*	726.65±246.34*

与正常对照组比较 ^{△△} $P<0.01$;与模型组比较 * $P<0.05$

2.5 对厌食症幼龄大鼠胃液分泌的影响 表5结果显示,与正常对照组比较,模型对照组胃蛋白酶活力明显降低;与模型对照组比较,复方三维右旋泛酸钙糖浆2.70 g/kg剂量组、5.40 g/kg剂量组胃液体积、游离酸及总酸排出量明显增加,并且胃蛋

白酶活力显著升高。阳性药健胃消食片也具有明显作用。

2.6 对厌食症幼龄大鼠肠推进的影响 表6结果显示,复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠肠推进影响不明显。

表5 复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠胃液分泌的影响 ($\bar{x}\pm s$)Tab 5 Effect of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup on the gastric secretion in the anorexia rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/(g/kg)	动物数/只	5 h 胃液体积/mL	总酸排出量/(mmol)	游离酸量/(mmol)	胃蛋白酶活力/U
正常对照	-	5	3.92±1.73	0.26±0.14	0.11±0.05	118.19±28.64
模型对照	-	6	5.08±1.36	0.36±0.11	0.17±0.04	54.41±12.05 ^{△△}
健胃消食片组	0.65	6	6.28±1.07	0.58±0.17*	0.34±0.12*	124.16±58.27*
复方三维右旋泛酸钙糖浆	1.35	6	5.65±1.89	0.49±0.16	0.32±0.16	84.06±33.87
不同剂量组	2.70	6	7.28±1.89*	0.63±0.25*	0.39±0.20*	109.79±32.13**
	5.40	6	8.57±1.94**	0.67±0.25*	0.39±0.14*	144.08±48.60**

与正常对照组比较, ^{△△} $P<0.01$; 与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

表6 复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠肠推进的影响($\bar{x}\pm s$)Tab 6 Effect of compound trivitamin and calcium pantothenate syrup on the gastrointestinal motility in the anorexia rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/(g/kg)	动物数/只	小肠推进率/%
正常对照	-	5	66.43±7.68
模型对照	-	6	55.69±2.95 [△]
健胃消食片组	0.65	6	55.79±12.50
复方三维右旋泛酸钙糖浆	1.35	6	61.44±8.49*
不同剂量组	2.70	6	60.34±6.39*
	5.40	6	60.09±4.36*

与正常对照组比较, [△] $P<0.05$; 与模型组比较, * $P<0.05$

3 讨论

当前临床所见小儿厌食症属脾胃阴虚者,呈上升趋势^[9]。厌食症还与微量元素缺乏、肠道内菌群失衡有关^[10]。本实验结果显示,复方三维右旋泛酸钙糖浆具有增加胃酸分泌、提高胃蛋白酶活性的作用,说明药物可促进蛋白质在胃中的初次分解及蛋白质在肠中的分解吸收,达到促进消化的作用。

Ghrelin 是胃、下丘脑之间分泌调节的新的联系纽带,在摄食调控中起着重要的作用,可调节能量代谢、增加食欲,并减少脂肪利用,从而增加体质量。当机体处于负能量平衡(如厌食)时,ghrelin 水平上调,促进摄食,恢复能量平衡,可见 ghrelin 水平的升高是机体对能量负平衡的一种代偿反应^[11-15]。机体所需的能量来源于食物中的糖、脂肪和蛋白质,它们共同的代谢通路是三羧酸循环和氧化磷酸化,释放能量用以 ATP 的生成。影响机体有氧代谢的关键是三羧酸循环的底物、限速酶和线粒体呼吸链相关酶活性。SDH 是参与三羧酸循环的关键酶,也是反映线粒体功能的标志酶之一,其活力影响着三羧酸循环的速度。MDH 是三羧酸循环中的关键酶之一,维持着酶促反应的动态平衡,是线粒体基质的标志酶^[16]。PK 是红细胞葡萄糖无氧酵解途径中三个限速酶之一,是葡萄糖生成丙酮酸的关键酶。实验结果显示,复方三维右旋泛酸钙糖浆能显著升高厌食大鼠血清中 SDH 与 MDH 的活性,表明其有利于提高能量物质的代谢速率,促进营养的正常吸收利

用;同时能明显降低血清 ghrelin 含量,表明其有增强食欲,调整机体平衡的作用。

复方三维右旋泛酸钙糖浆对厌食症幼龄大鼠有明显的治疗作用,主要作用机制是增加食欲,促进食物的消化与吸收。

参考文献:

- [1] Hanachi-Guidoum M. Treating the somatic complications of anorexia[J]. Soins Psychiatr, 2016, 37(307): 34
- [2] 禹玉洪, 张国伟, 杨晓宁, 等. 丁桂儿脐贴联合用药对幼龄大鼠厌食模型的影响[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(6): 134
- [3] 石艳红. 运脾法及其组方治疗小儿厌食症的机制研究[D]. 广州中医药大学, 2008
- [4] 彭苍骄, 郑优敏, 管敏昌. 复方三维右旋泛酸钙糖浆治疗儿童厌食症[J]. 海峡药学, 2012, 24(1): 171
- [5] 李丽花. 硫酸素、核黄素和烟酰胺对肥胖大鼠能量代谢和空间学习记忆能力的影响[D]. 青岛大学, 2014
- [6] McCune A M, Lundgren J D. Bright light therapy for the treatment of night eating syndrome: a pilot study[J]. Psychiatry Res, 2015, 229 (1/2): 577
- [7] 吴丽萍, 王艳丽. 小儿增食灵合剂对小儿厌食症动物模型胃蛋白酶活性和胃酸分泌量的影响[J]. 中医儿科杂志, 2007, 3(3): 26
- [8] 孔晓伟, 李清. 保和丸对小鼠胃排空和小肠推进的影响[J]. 河北医科大学学报, 2005, 26(6): 700
- [9] 赵琼, 徐世军, 霍敏俐. 加减益胃汤治疗小儿脾胃阴虚厌食症的实验研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 28(3): 15
- [10] 王亚萍, 李江全. 小儿厌食症的中西医结合发病机制研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2013, 23(4): 335
- [11] 张海燕, 鲁格兰, 朱冬梅, 等. 厌食和睡眠障碍儿童血清胃动素、生长抑素、Ghrelin 水平变化及临床意义[J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(7): 659
- [12] 陈松松. 厌食儿童血清瘦素、肿瘤坏死因子- α 、血浆 Ghrelin 水平与免疫功能的变化研究[D]. 中南大学, 2010
- [13] Su J, Geng J, Bao J, et al. Two ghrelin receptor agonists for adults with malnutrition: a systematic review and meta-analysis[J]. Nutr J, 2016, 15(1): 97
- [14] Navarro-Guillén C, Yúfera M, Engrola S. Ghrelin in senegalese sole (solea senegalensis) postlarvae: paracrine effects on food intake[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2017, 204: 85
- [15] Takagi K, Legrand R, Asakawa A, et al. Anti-ghrelin immunoglobulins modulate ghrelin stability and its orexigenic effect in obese mice and humans[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2685
- [16] 孔喜良. 黄芪多糖对大鼠肌组织能量代谢的影响[J]. 中国全科医学, 2009, 12(10B): 1907

(2017-02-17 收稿)