

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2016.02.03

小儿开胃增食合剂对小儿厌食症大鼠神经肽 Y 的影响

王继芳¹, 吴丽萍², 史正刚¹, 王英龙¹, 尚菁¹

(¹甘肃中医药大学,甘肃 兰州 730000;

²甘肃中医药大学附属医院 儿科,甘肃 兰州 730020)

摘要:[目的]探讨小儿开胃增食合剂对小儿厌食症幼龄大鼠下丘脑和外周血中神经肽 Y(neural peptide Y, NPY)的影响。[方法]SD大鼠72只随机分为6组,每组各12只,采用病因模拟法建立小儿厌食症动物模型,分别对幼龄大鼠下丘脑和外周血中 NPY 含量进行检测。[结果]模型组与空白组、小儿开胃增食合剂中、高剂量组大鼠下丘脑和外周血中 NPY 含量比较,差异均有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$);对照组与中、高剂量组下丘脑和外周血中 NPY 含量比较,差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$);小剂量组与中、高剂量组下丘脑和外周血中 NPY 含量比较,差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。[结论]小儿开胃增食合剂可明显改善小儿厌食症幼龄大鼠的食欲,提高下丘脑和外周血中 NPY 水平,且存在量效关系,这可能是该方治疗小儿厌食症的疗效机理之一。

关键词:小儿开胃增食合剂;小儿厌食症;神经肽 Y

中图分类号:R272.6

文献标志码:A

文章编号:1671-038X(2016)02-0092-03

The effect of Xiao'erkaiweizengshi Mixture on the content of neural peptide Y in rats with infantile anorexia

WANG Ji-fang¹, WU Li-ping², SHI Zheng-gang¹, WANG Ying-long¹, SHANG Jing¹

(¹Gansu University of TCM, Lanzhou 730000, China; ²Department of Pediatrics, the Affiliated Hospital of Gansu University of TCM, Lanzhou 730020, China)

Corresponding author: WU Li-ping, E-mail: wlp1@163.com

Abstract: [Objective] To study the effect of Xiao'erkaiweizengshi Mixture on the content of neural peptide Y(NPY) in hypothalamic and peripheral blood of SD rats with infantile anorexia. [Methods] All 72 rats were randomized into 6 group, 12 rats in each group. The method of etiology simulation was used to set up animal model of infantile anorexia. NPY contents in hypothalamic and peripheral blood were measured respectively. [Results] Compared with model group, there was significant difference in the levels of NPY in hypothalamic and peripheral blood in blank group, high dosage and middle dosage group of Xiao'erkaiweizengshi Mixture ($P<0.05$, $P<0.01$). There was significant difference in the levels of NPY in hypothalamic and peripheral blood between control group and high and middle dosage groups of Xiao'erkaiweizengshi Mixture ($P<0.05$, $P<0.01$). There was significant difference in the levels of NPY in hypothalamic and peripheral blood between low dosage group and high and middle dosage groups of Xiao'erkaiweizengshi Mixture ($P<0.05$, $P<0.01$). [Conclusion] Xiao'erkaiweizengshi Mixture can obviously increase food intake of rats and improve the content of NPY with a dose-dependent manner, which may be one of the important mechanisms in treating children anorexia syndrome.

Key words: Xiao'erkaiweizengshi Mixture; infantile anorexia; NPY

小儿厌食症是指小儿长期的食欲减退或消失、

以食量减少为主要临床表现的一种慢性消化功能紊乱综合征,严重者可出现营养不良、贫血、佝偻病及免疫力低下等情况^[1]。研究表明,外周或中枢脑肠肽分泌紊乱可影响食欲中枢功能活动,进而影响摄食行为^[2]。小儿开胃增食合剂为我科院内制剂,通过数十年临床验证,疗效确切而显著。本实验目的

收稿日期:2015-08-19

基金项目:甘肃省高等学校基金科研项目(No:BH2012-015)

作者简介:王继芳,女,在读硕士研究生,研究方向:小儿脾胃病的防治与研究

通讯作者:吴丽萍, E-mail: wlp1@163.com

是从“脑肠肽—食欲中枢”对摄食量及摄食行为的调控角度探讨 NPY 在小儿厌食症发病过程中发挥的作用及其小儿开胃增食合剂的疗效机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选断乳后 1 周龄的 SPF 级健康 SD 大鼠 72 只,体重(60 ± 10)g,雌雄各半,由甘肃中医药大学实验中心动物室提供。合格证号:SYXK(甘)2011-0001-62001000000068。

1.1.2 主要药品及试剂 小儿开胃增食合剂;江中健胃消食片;氢氧化钠;冰醋酸;10%水合氯醛(兰州军区陆军总院,批号:20140507);抑肽酶;NPY 酶联免疫试剂盒(北京方程生物科技有限公司)。

1.1.3 实验仪器全自动酶标仪、台式高速离心机、动物固定器、LT502 B 电子天平、小动物手术器械箱/ZH1741-280、DW-86 L626 超低温保存箱、玻璃匀浆器、试管、烧杯、Dynamica VELOCITY 18 R 台式冷冻离心机等。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及造模 将 72 只大鼠适应性喂养 1 周后,采用完全随机化方法,分为空白组 12 只,造模组 60 只。采取病模拟法进行动物造模^[3],即空白组常规饲料喂养,造模组特制饲料喂养(特制饲料按照 1:1:1:2:1:1.8:2 比例将鱼松、肉松、玉米粉、黄豆粉、白糖、鲜鸡蛋、鲜肥肉混匀,捏成饼干状,晾干,4℃冷藏备用),所有动物在同一条件下(室温 20℃~24℃,相对湿度 30%~50%)饲养,均自由进食水,共饲养 5 周,记录每日各大鼠进食量、体重的变化。以造模组大鼠摄食量平均下降 20%~30%为造模成功^[4]。

1.2.2 给药方法 将造模组 60 只大鼠,按随机数表随机分为 6 组,每组 12 只。即模型组、对照组(江

中健胃消食片组)、小儿开胃合增食剂低剂量组(低剂量组)、小儿开胃增食合剂中剂量组(中剂量组)、小儿开胃增食合剂高剂量组(高剂量组)。各组大鼠均常规饲料喂养 1 周后,开始灌胃,1 次/d,连续灌服 15 d。空白组和模型组灌服等体积(均为 2 ml)蒸馏水,对照组灌服江中健胃消食片水溶剂 $0.576 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,低、中、高剂量组分别灌服小儿开胃增食合剂 $14.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $7.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $3.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

1.2.3 标本采集及检测方法 于末次给药后次日,腹腔注射水合氯醛进行麻醉,麻醉后从股动脉收集全血约 6 ml 注入 EDTA 管内充分摇匀并立即置 4℃冰箱,3 h 内 4 000 r/min 低温离心 10 min,分离血浆,于-80℃保存待测。取血后断椎处死动物,随即断头取出全脑,入沸生理盐水中煮 5 min,分离下丘脑,分别用天平称重后置玻璃匀浆管内,加 1 mmol/L 浓度的冰醋酸 1 ml,充分匀浆后倒入塑料试管于室温下放置 100 min,加 1 mmol/L 浓度的 NaOH 1 ml,4 000 r/min 低温离心 10 min,取上清液于-80℃保存待测。采用放免法对外周血和下丘脑中 NPY 含量进行检测(具体方法按试剂盒说明操作)。

1.3 统计学处理

所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS19.0 统计软件处理,各指标组间根据方差齐性采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠摄食量变化的比较

从表 1 得知,造模第 7 天,造模组大鼠进食量与空白组比较平均降低 20.4%;第 21 天,平均降低 27.0%;第 35 天,平均降低 28.8%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。说明实验造模成功^[4]。

表 1 各组大鼠摄食量变化

g, $\bar{x} \pm s$

组别	例数	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天
空白组	12	6.80±1.11	11.89±1.69	14.79±1.77	15.51±1.19	15.59±1.34	15.57±1.44
造模组	60	6.78±0.88	9.47±0.65 ¹⁾	11.09±1.02 ²⁾	11.33±1.36 ²⁾	11.02±0.66 ²⁾	11.08±1.02 ²⁾

造模组与空白组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 、²⁾ $P < 0.01$ 。

2.2 各组大鼠外周血、下丘脑中 NPY 含量的比较

从表 2 得知,模型组与空白组、小儿开胃增食合剂中、高剂量组大鼠下丘脑和外周血中 NPY 含量比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$);对照组与中、高剂量组下丘脑和外周血中 NPY 含量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$);小剂

量组与中、高剂量组下丘脑和外周血中 NPY 含量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。实验结果表明,小儿开胃增食合剂可升高小儿厌食症幼龄大鼠下丘脑及外周血中 NPY 含量,且存在量效关系。

表 2 各组大鼠下丘脑、外周血中 NPY 含量

ng/ml, $\bar{x} \pm s$

组别	例数	下丘脑 NPY 含量	外周血 NPY 含量
空白组	11	68.03 $\pm$ 7.90	38.19 $\pm$ 3.19
模型组	9	30.09 $\pm$ 8.19 ¹⁾	28.57 $\pm$ 3.22 ¹⁾
对照组	10	38.94 $\pm$ 8.69	31.27 $\pm$ 1.78
低剂量组	10	45.42 $\pm$ 8.78	32.15 $\pm$ 3.73
中剂量组	10	65.41 $\pm$ 15.14 ²⁾⁴⁾⁶⁾	37.40 $\pm$ 3.96 ²⁾⁴⁾⁶⁾
高剂量组	12	157.68 $\pm$ 47.87 ³⁾⁵⁾⁷⁾	53.84 $\pm$ 10.04 ³⁾⁵⁾⁷⁾

注:实验过程中因股动脉收集全血 <6 ml 舍弃大鼠 10 例,故各组间例数不等。与空白组比较,¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$ 、³⁾ $P<0.01$;与对照组比较,⁴⁾ $P<0.05$ 、⁵⁾ $P<0.01$;与低剂量组比较,⁶⁾ $P<0.05$ 、⁷⁾ $P<0.01$ 。

3 讨论

祖国医学认为引起小儿厌食症的病因繁多,但究其病机关键均为脾运胃纳功能的失调,因此,调脾和胃、恢复转运之机为治疗本病的基本原则。我科张士卿教授结合“脾健不在补贵在运”的指导思想,以茯苓、苍术、槟榔、胡黄连、乌梅、鸡内金、炙甘草为组方制成“小儿开胃增食合剂”,前期临床观察疗效可达 90.5%^[5]。综合本方,可谓消补并举,标本同治,补而不滞,消不伤正,共奏健脾助运、消食和胃、行气补中之功,正合小儿厌食症之病机^[6]。

NPY 是一种含 36 个氨基酸的单链多肽,广泛分布于哺乳动物的中枢和外周神经系统,下丘脑中的含量尤其高,主要分布于下丘脑 ARC 的神经元内^[7]。研究表明,在动物摄食过程中,NPY 是迄今发现作用最强的食欲增强因子,参与摄食的启动和维持,在下丘脑食欲调节网络中扮演重要角色^[8-9]。本实验结果显示,模型组大鼠外周血和下丘脑中 NPY 含量较空白组明显下降,这与已知研究结果一致,表明 NPY 可能是引起厌食症模型大鼠摄食减

少的重要因子,也可能是厌食症大鼠摄食减少,无饥饿感不能反馈到下丘脑食欲中枢,刺激其合成和释放 NPY 而导致外周血和下丘脑中含量降低。小儿开胃增食合剂治疗可明显提高厌食症模型大鼠下丘脑及外周血中 NPY 含量,进一步提示 NPY 在小儿厌食发病中起一定的作用,我们推测提高下丘脑及外周血中 NPY 含量是小儿开胃增食合剂促进摄食,发挥临床疗效的作用机理之一。

参考文献

- [1] 马融. 中医儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012:236—236.
- [2] 姜永红, 孙远岭. 儿童厌食与食欲调节因子的研究[J]. 国外医学妇幼保健分册, 2005, 16(4):214—216.
- [3] 汪受传, 张月萍, 陶勇, 等. 特制饲料喂养幼龄大鼠建立小儿厌食症模型[J]. 南京中医药大学学报, 1999, 15(3):148—150.
- [4] 张月萍, 杜永平, 隆红艳, 等. 儿宝颗粒对小儿厌食症动物模型胃窦和血浆-内啡肽的调作用节[J]. 山东中医药大学学报, 2000, 24(4):301—302.
- [5] 吕晓武, 史正刚. 增食灵口服液治疗小儿厌食症 126 例[J]. 陕西中医, 2005, 26(5):425—426.
- [6] 史正刚, 李玉霞, 刘婷. 增食灵颗粒对小儿厌食症动物模型瘦素的影响[J]. 中医儿科学杂志, 2009, 5(2):10—12.
- [7] DUBE M G, XU B, KALRA P S, et al. Disruption in neuropeptide Y and leptin signaling in obese ventromedial hypothalamic-lesioned rats[J]. Brain Res, 1999, 816:38—46.
- [8] 赵青, 胡昌华. 神经肽 Y 及其受体作为肥胖治疗靶点的研究进展[J]. 保健医学研究与实践, 2008, 5(2):70—73.
- [9] BREEN K M, BILLINGS H J, WAGENMAKER E R, et al. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events[J]. Endocrinology, 2005, 146:2107—2115.