

双术汤对大鼠的安全性及改善消化性不良的药效作用研究^Δ

陈鑫源^{1*},熊常州¹,李炯汾¹,余康怡²,徐欢²,王樱遐²,廖丹³,陶俊宇^{1,4,5},杨子仪⁶,林才志^{1,7#}(1.广西中医药大学研究生院,南宁 530200;2.广西中医药大学赛恩斯新医药学院,南宁 530200;3.广西中医药大学基础医学院,南宁 530200;4.广西高发传染病中西医结合转化医学重点实验室,南宁 530200;5.广西特色实验动物病证模型重点实验室,南宁 530200;6.成都中医药大学针灸推拿学院,成都 610075;7.广西中医药大学第一附属医院脾胃肝病科,南宁 530219)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)09-1059-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.09.07



摘要 **目的** 研究双术汤对大鼠的安全性及其改善大鼠功能性消化不良(FD)的药效作用。**方法** 安全性实验方面:取40只大鼠分为空白对照组和双术汤低、中、高剂量组[108、216、324 g/(kg·d),以生药量计,下同],每天给予相应药物,连续14 d;记录大鼠死亡情况、毒性反应,计算大鼠肝、肾、脾、肺、心的脏器指数,观察肝、肾、脾、肺、心、胃、十二指肠、结肠的病理形态学变化,以评估双术汤的急性毒性。另取40只大鼠同法分组、给药,连续30 d;记录大鼠死亡情况、毒性反应,计算相应脏器指数,观察相应脏器病理形态学变化,检测血常规及血清生化指标水平,以评估双术汤的亚急性毒性。**药效学实验方面**:将50只大鼠分为空白对照组、模型组和双术汤低、中、高剂量组(9.45、18.9、37.8 g/kg),每组10只;除空白对照组外,其余各组大鼠均通过皮下注射洛哌丁胺(3.5 mg/kg)制备FD大鼠模型;各组大鼠灌胃相应药液/生理盐水,每天1次,连续14 d。末次给药后,检测大鼠粪便含水率、小肠推进率、胃排空率和血清中胃动素水平,观察大鼠结肠组织中卡哈尔间质细胞(ICC)的超微结构。**结果** 安全性实验结果显示:双术汤各剂量组大鼠均未出现死亡,脏器指数、血常规及血清生化指标水平与空白对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),各脏器病理形态学观察未见异常。**药效学实验结果显示**:与空白对照组比较,模型组大鼠粪便含水率、胃排空率、小肠推进率、血清中胃动素水平均显著降低($P<0.05$);结肠组织中ICC线粒体重度肿胀、嵴消失,内质网扩张。与模型组比较,双术汤高剂量组大鼠上述定量指标均显著升高($P<0.05$);结肠组织中ICC有大量线粒体,且嵴清晰、排列规整。**结论** 双术汤具有较好的安全性,且对FD大鼠具有较好的改善作用;其作用机制可能与调节胃肠激素表达以促进胃排空与肠推进,修复ICC线粒体结构以恢复胃肠功能有关。

关键词 双术汤;安全性;药效学;急性毒性;亚急性毒性;消化性功能障碍;胃肠动力障碍

Study on the safety and pharmacological effect on improving dyspepsia of Shuangshu decoction in rats

CHEN Xinyuan¹, XIONG Changzhou¹, LI Jiongfen¹, YU Kangyi², XU Huan², WANG Yingxia², LIAO Dan³, TAO Junyu^{1,4,5}, YANG Ziyi⁶, LIN Caizhi^{1,7} (1. School of Graduate, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Faculty of Chinese Medicine Science, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 3. School of Basic Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 4. Guangxi Key Laboratory of Translational Medicine for Treating High-incidence Infectious Diseases with Integrative Medicine, Nanning 530200, China; 5. Key Laboratory of Characteristic Experimental Animal Models of Guangxi, Nanning 530200, China; 6. School of Acupuncture-moxibustion and Tuina, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China; 7. Dept. of Spleen, Stomach and Hepatology, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530219, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To study the safety of Shuangshu decoction in rats and its efficacy in improving functional dyspepsia (FD) in rats. **METHODS** In safety test, 40 rats were divided into blank control group, Shuangshu decoction low-dose, medium-dose and high-dose groups [108, 216, 324 g/(kg·d), calculated by raw medicine, the same applies below]; they were given relevant medicine intragastrically, for continuous 14 days. The mortality and toxic reactions of rats were recorded, and the organ indexes of the liver, kidney, spleen, lung and heart of rats were calculated; the pathological morphological changes in the liver, kidney, spleen, lung, heart, stomach, duodenum, and colon were observed to evaluate the acute toxicity of Shuangshu decoction. Another 40 rats were grouped and administered in the same way for 30 consecutive days. The mortality and toxic reactions of the rats were recorded, and the corresponding organ indexes were calculated. The pathological morphological

^Δ 基金项目 国家自然科学基金项目(No.82060834)
* 第一作者 住院医师,硕士。研究方向:中医脾胃病的防治。
E-mail:839029828@qq.com
通信作者 教授,硕士。研究方向:中医脾胃病的防治。E-mail:
lincaizhi710103@163.com

changes in the corresponding organs were observed, and blood routine and serum biochemical indicators were measured, in order to assess the subacute toxicity of Shuangshu decoction. In pharmacodynamic experiments: 50 rats were divided into blank control group, model group, and Shuangshu decoction low-, medium-, and high-dose groups (9.45, 18.9, 37.8 g/kg), with 10 rats in each group. Except for blank control group, rats in all other groups were used to establish the FD rat model by subcutaneous injection of loperamide (3.5 mg/kg). Rats in each group were administered the corresponding drug solution/normal saline intragastrically, once a day, for 14 consecutive days. After the last medication, fecal moisture content, intestinal propulsion rate, gastric emptying rate and serum level of motilin were all detected, and interstitial cell of Cajal (ICC) ultrastructure of rats was observed in colon tissue. **RESULTS** The safety experiments showed that no death occurred in each dose group, and no significant difference was found in organ coefficient, routine blood and serum biological index, compared to blank control group ($P>0.05$); no abnormality was found in organ appearance and pathological sections. The results of the pharmacodynamic experiments showed that, compared with the blank control group, the fecal moisture content, gastric emptying rate, intestinal propulsion rate, and serum motilin levels in the model group were significantly decreased ($P<0.05$); in the colonic tissue, the mitochondria in the ICC exhibited severe swelling with the disappearance of cristae, and the endoplasmic reticulum was dilated. Compared with model group, the rats in Shuangshu decoction high-dose group showed significant increases in the above quantitative indicators ($P<0.05$); additionally, there was a large number of mitochondria in the ICC of the colonic tissue, with clear cristae and regular arrangement. **CONCLUSIONS** Shuangshu decoction is safe and has a beneficial improving effect on FD rats; its mechanism of action may be related to the regulation of gastrointestinal hormone expression to promote gastric emptying and intestinal propulsion, as well as the repair of mitochondrial structure in ICCs to restore gastrointestinal function.

KEYWORDS Shuangshu decoction; safety; pharmacodynamics; acute toxicity; subacute toxicity; functional dyspepsia; gastrointestinal motility disorder

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 为临床常见病症, 以腹痛、腹胀、餐后饱胀、嗳气、食欲不振为主要症状^[1], 目前主要以质子泵抑制剂、促胃肠动力药、抗抑郁药治疗, 然而由于上述药物的耐药性及副作用使得治疗效果欠佳^[2-3]。双术汤是首批全国名老中医、桂派名中医秦家泰教授的经验方, 由麸炒苍术、白术、厚朴、姜半夏、茯苓、陈皮等 13 味中药材组成, 具有补益脾胃、运化水谷、疏肝理气之功。该方已在临床应用 20 余年, 主要用于 FD、胃炎的治疗。研究发现, 双术汤对 FD 有较好的临床疗效, 且副作用较少^[4-6]。然而, 尽管双术汤已在临床实践中积累一定经验性应用证据, 但系统性的安全性与药效学评价缺失, 制约了其临床应用。基于此, 本研究拟通过开展双术汤的安全性及药效学评价, 以期对双术汤的临床应用提供更为充实的理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有 BC-2800vet 型兽用全自动血液细胞分析仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)、D3024R 型台式高速冷冻离心机 [大龙兴创实验仪器 (北京) 股份公司]、ME203E/02 型电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]、Chemray240 型全自动生化分析仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司)、JEM-1400 型透射电子显微镜 (日本电子株式会社)、Donatello 型自动脱水机 (意大利 Diapath 公司)、Cryostar NX50 型冰冻切片机 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]、JB-P5 型包埋机 (武汉俊杰电子有限公司)、CKX41 型倒置光学显微镜 (日本 Olympus 公司)。

1.2 主要药品与试剂

双术汤由麸炒苍术 20 g、白术 20 g、厚朴 10 g、姜半夏 10 g、茯苓 15 g、陈皮 10 g、生鸡内金 15 g、六神曲 15 g、炒麦芽 15 g、焦山楂 15 g、川楝子 10 g、延胡索 10 g、石斛 15 g 组成, 方中各药材饮片均由广西中医药大学第一附属医院提供并由该院药学部唐春丽主任中药师鉴定为真品。

洛哌丁胺对照品 (批号 I2201550, 纯度 $\geq 98\%$)、活性炭 (批号 E2305244) 均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 丙氨酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶 (aspartate transaminase, AST)、白蛋白 (albumin, ALB)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、总蛋白 (total protein, TP)、尿素、肌酐 (creatinine, Cr)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、葡萄糖 (glucose, GLU) 测定试剂盒 (批号分别为 20230706、20230707、20230418、20230615、20221219、20230525、20230613、20230607、20230608、20230606) 均购自深圳雷杜生命科学股份有限公司; 总胆红素 (total bilirubin, TBiL)、钠离子 (Na^+)、氯离子 (Cl^-)、钾离子 (K^+) 检测试剂盒 (批号分别为 2023003、2022003、2022004、2022005) 均购自长春汇力生物技术有限公司; 大鼠胃动素 (motilin, MTL) 检测试剂盒 (批号 E-EL-R0639c) 购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 苏木素-伊红 (HE) 染色液 (批号 G1076) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为健康的 SD 大鼠, 共 150 只, 6 周龄, 雌雄各半, 体重 180~220 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 动物生产许可证号为 SCXK (湘)

2019-0004号。购入后,大鼠常规分笼饲养,饲养期间自由饮水、进食。饲养室温度为20~25℃,相对湿度为40%~70%,明暗周期为12 h。本实验符合动物研究伦理原则,并得到广西中医药大学实验伦理委员会的批准,伦理号为DW20240507-099。

2 方法与结果

2.1 受试药物的配制

将双术汤处方药材饮片(共180 g)加入到600 mL水中浸泡0.5 h后煎煮,煮沸后再煎0.5 h,过滤;滤渣再次煎煮20 min后过滤,将2次滤液混匀后煎至浓稠状态,备用,此时药液质量浓度为7.2 g/mL(以生药量计)。

2.2 安全性实验

2.2.1 急性毒性实验

取40只SD大鼠随机分为空白对照组和双术汤低、中、高剂量组,每组10只,雌雄各半。本研究根据《药理实验方法学》中药物剂量设计原则^[7],使用最大生药质量浓度(7.2 g/mL,灌胃体积为15 mL/kg),以不同的灌胃频次(分别为每日灌胃1次、2次和3次)给予108、216、324 g/(kg·d)的双术汤,连续给药14 d(空白对照组大鼠灌胃等体积生理盐水),记录各组大鼠死亡情况、毒性反应、体重变化。剖取各组大鼠脏器(肝、肾、脾、肺、心、胃、十二指肠、结肠,下同),称质量,计算脏器指数(脏器指数=脏器质量/体重×100%,全文均仅计算肝、肾、脾、

肺、心的脏器指数)。然后,将各脏器组织置于4%多聚甲醛中固定,经石蜡包埋、切片等处理后进行HE染色,采用光学显微镜观察各组织病理形态学变化。采用SPSS 26.0软件进行数据处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐时组间两两比较采用LSD检验,方差不齐时组间两两比较采用Tamhane's T2检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

由图1可知,各组大鼠肝小叶结构完整、轮廓清晰,肝细胞索和肝血窦向周围呈放射状排列,细胞质丰富,肝细胞可见脂肪变性;肾皮质、肾小球分布均匀,肾小管上皮细胞圆润、饱满,肾间质无增生,无炎症细胞浸润;脾脏中红髓、白髓分界清楚,红髓有髓索和脾血窦,结构分界清楚,未见明显异常;肺泡隔未见增厚,无炎症细胞浸润;胃组织黏膜层排列规整,腺体丰富,无炎症细胞浸润,无纤维增生;十二指肠黏膜无缺失,腺体排列规整,无炎症细胞浸润;结肠黏膜无缺失,腺体排列规整,无炎症细胞浸润;心肌纤维着色均匀,细胞分界清楚,心肌细胞横纹清楚、明暗相间,间质未见异常。这提示,双术汤未对大鼠脏器造成损伤(图1仅展示了肝、肾、脾、肺的病理染色图,全部图片可扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附图1)。由表1可知,与空白对照组比较,双术汤各剂量组大鼠各脏器(肝、肾、脾、肺、心)指数差异均无统计学意义($P>0.05$)。

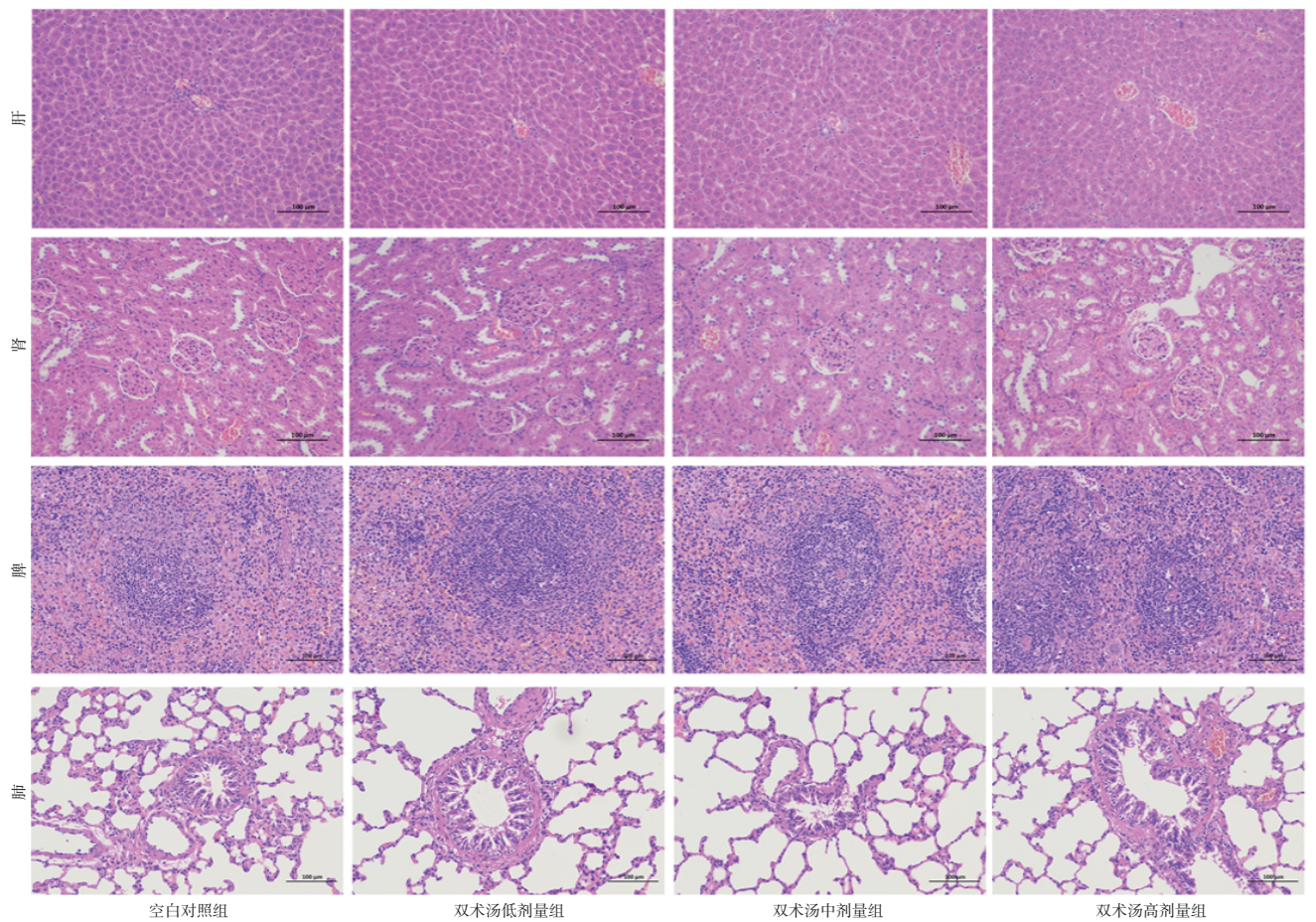


图1 双术汤急性毒性实验中大鼠各组织器官的病理染色图(HE染色,标尺:100 μm)

表1 急性毒性实验中双术汤对大鼠脏器指数的影响
($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

组别	肝脏指数	肾脏指数	脾脏指数	肺脏指数	心脏指数
空白对照组	2.99±0.22	0.77±0.06	0.23±0.04	0.49±0.06	0.34±0.03
双术汤低剂量组	2.87±0.19	0.72±0.07	0.23±0.01	0.44±0.04	0.33±0.03
双术汤中剂量组	2.93±0.23	0.71±0.03	0.22±0.03	0.47±0.05	0.33±0.04
双术汤高剂量组	2.96±0.23	0.73±0.05	0.25±0.03	0.46±0.06	0.34±0.03

由于急性毒性实验过程中双术汤各剂量组大鼠均未出现死亡,无法得出双术汤的半数致死量,因此,笔者根据毒性实验设计原则,进一步通过最大耐受量法进行安全性评估^[7]:取20只SD大鼠随机分为空白对照组和双术汤组,每组10只,雌雄各半。根据以双术汤最大生药质量浓度(7.2 g/mL)、大鼠最大灌胃体积(20 mL/kg)每天灌胃3次的原则,设计双术汤的最大给药剂量为432 g/kg,连续给药14 d(空白对照组大鼠灌胃等体积生理盐水),记录大鼠的死亡情况、毒性反应,并剖取其脏器进行病理观察。结果显示,实验期间2组大鼠均无死亡,且活动自如,饮食、饮水正常;双术汤组大鼠各脏器病理学形态与空白对照组比较无明显差异(图略),进一步证明了双术汤对大鼠具有良好的安全性。

2.2.2 大鼠亚急性毒性实验

取40只SD大鼠随机分为双术汤低、中、高剂量组及空白对照组,每组10只,雌雄各半。双术汤低、中、高剂量组大鼠分别灌胃108、216、324 g/(kg·d)双术汤药液,

空白对照组大鼠灌胃等体积生理盐水,灌胃体积均为15 mL/kg,连续给药30 d,记录各组大鼠死亡情况及毒性反应。末次给药后,大鼠禁食不禁水24 h,腹主动脉采血,分离制备血清;将大鼠处死,剖取各脏器并称质量。采用全自动血液细胞分析仪根据试剂盒说明书方法分别测定大鼠血清中白细胞、红细胞、血红蛋白、血小板、ALT、AST、TbIL、ALP、ALB、TP、Cr、GLU、TC、TG、Na⁺、Cl⁻、K⁺、尿素水平,然后同“2.2.1”项下方法计算脏器指数并观察各组织病理学形态。

由图2可知,各组大鼠的肝、肾、脾、肺、胃、十二指肠、结肠及心脏组织均未发生病理改变。这表明双术汤对主要器官无结构性损伤,用药安全性高,无亚急性毒性作用(图2仅展示了胃、十二指肠、结肠、心脏的病理染色图,全部图片可扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附图2)。由表2~表4结果可知,与空白对照组比较,双术汤各剂量组大鼠各脏器指数、血常规指标、血液生化指标差异均无统计学意义($P>0.05$),提示双术汤对造血系统、肝肾功能及代谢无显著影响。

2.3 药效学实验

2.3.1 分组、造模与给药

取50只大鼠随机分为空白对照组、模型组和双术汤低、中、高剂量组(9.45、18.9、37.8 g/kg,分别为临床等效剂量的0.5、1、2倍),每组10只,雌雄各半。除空白对照

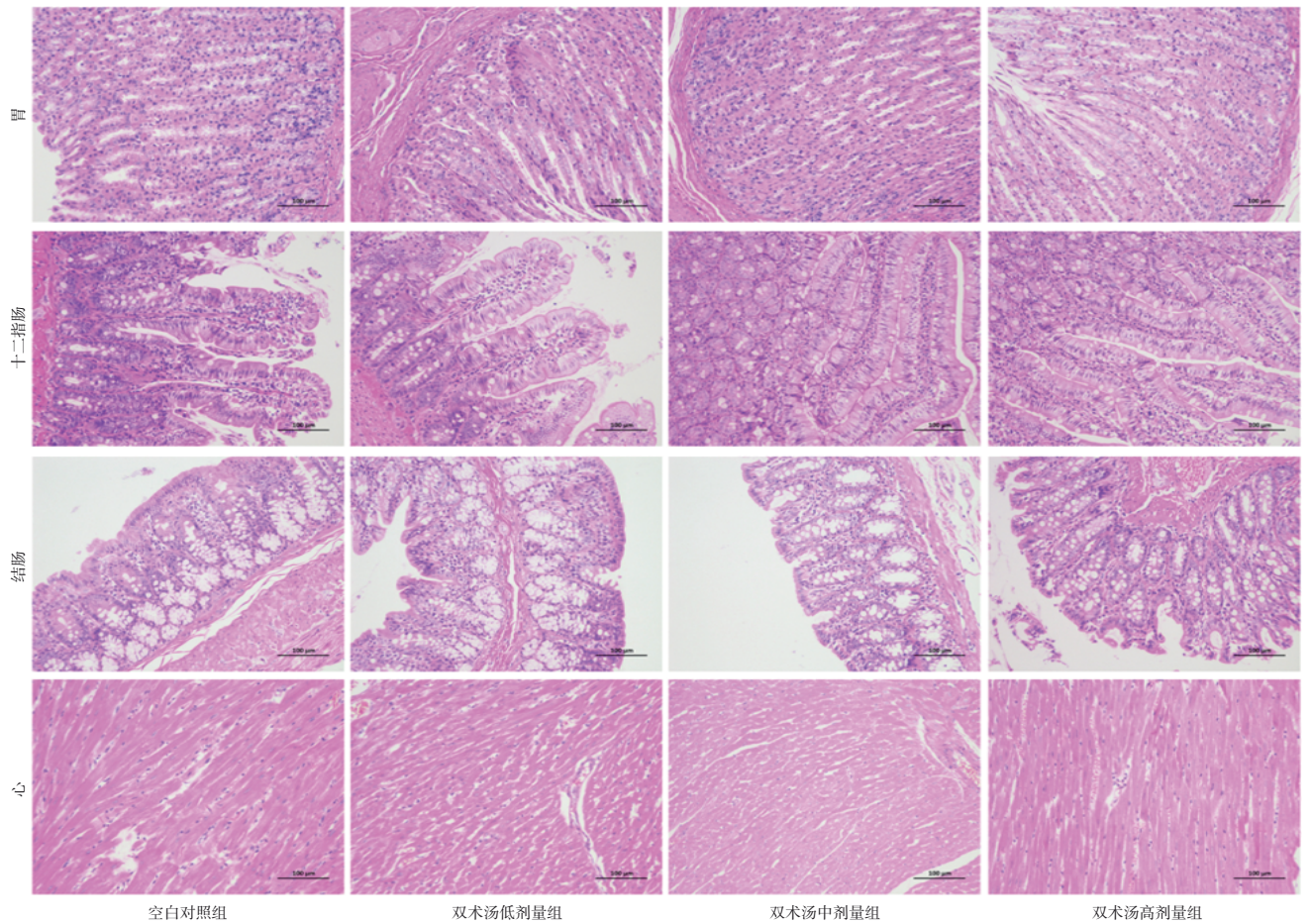


图2 双术汤亚急性毒性实验中大鼠各组织器官的病理染色图(HE染色,标尺:100 μm)

表2 亚急性毒性实验中双术汤对大鼠脏器指数的影响($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

组别	肝脏指数	肾脏指数	脾脏指数	肺脏指数	心脏指数
空白对照组	2.93±0.37	0.70±0.05	0.23±0.09	0.48±0.08	0.32±0.01
双术汤低剂量组	2.83±0.48	0.69±0.05	0.21±0.03	0.50±0.09	0.31±0.03
双术汤中剂量组	2.75±0.44	0.70±0.09	0.21±0.03	0.49±0.07	0.31±0.03
双术汤高剂量组	2.71±0.21	0.70±0.03	0.22±0.03	0.49±0.06	0.32±0.02

表3 亚急性毒性实验中双术汤对大鼠血常规指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	白细胞($\times 10^9 L^{-1}$)	红细胞($\times 10^{12} L^{-1}$)	血红蛋白(g/L)	血小板($\times 10^9 L^{-1}$)
空白对照组	7.45±2.49	7.36±0.49	145.67±10.19	1417.00±95.66
双术汤低剂量组	9.44±1.99	6.50±3.15	146.33±22.88	1312.67±282.34
双术汤中剂量组	8.63±2.41	7.21±1.00	144.83±19.86	940.50±340.80
双术汤高剂量组	6.62±1.93	7.57±0.79	148.50±13.89	1321.40±512.00

表4 亚急性毒性实验中双术汤对大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	空白对照组	双术汤低剂量组	双术汤中剂量组	双术汤高剂量组
ALT/(U/L)	40.50±5.83	40.02±7.11	37.58±11.87	35.23±10.54
AST/(U/L)	142.03±32.78	113.11±22.33	106.54±16.95	128.77±31.32
ALP/(U/L)	158.46±18.19	170.99±66.66	146.74±56.62	144.61±69.25
TBil/(μmol/L)	7.73±2.08	5.91±1.47	5.46±0.67	5.47±0.69
TP/(g/L)	49.64±1.30	49.57±3.66	48.64±3.05	47.62±2.28
ALB/(g/L)	35.13±1.19	34.76±1.71	35.36±1.20	35.15±2.21
尿素/(mmol/L)	8.18±0.98	7.67±2.94	6.43±0.85	6.76±1.16
Cr/(μmol/L)	50.40±5.80	44.45±11.94	42.83±4.18	46.58±10.29
GLU/(mmol/L)	7.47±1.51	9.66±1.19	9.58±2.46	9.02±1.43
TG/(mmol/L)	0.38±0.07	0.51±0.16	0.42±0.11	0.42±0.10
TC/(mmol/L)	1.89±0.31	1.83±0.33	1.63±0.35	1.65±0.26
Na ⁺ /(mmol/L)	142.76±2.95	146.93±1.07	147.88±1.77	148.31±3.11
K ⁺ /(mmol/L)	5.07±0.49	4.96±0.21	4.81±0.20	5.05±0.18
Cl ⁻ /(mmol/L)	122.78±3.92	120.51±3.74	115.92±1.77	117.79±1.35

组外,其余各组大鼠均通过皮下注射洛哌丁胺(3.5 mg/kg, 2次/d,连续5 d)制备FD大鼠模型;当大鼠出现粪便干结、毛发杂乱、活动减少、体重减轻等情况,表明造模成功^[8]。造模成功后,空白对照组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,双术汤各剂量组大鼠灌胃相应药液,每天1次,连续14 d。

2.3.2 粪便含水率测定

实验期间,每日采集新鲜粪便并称质量(即湿质量),经电热恒温鼓风干燥机65℃烘烤12 h后称质量(即干质量),计算粪便含水率[粪便含水率=(粪便湿质量-粪便干质量)/粪便湿质量×100%]。结果(表5)显示,与空白对照组比较,模型组大鼠粪便含水率显著降低($P<0.05$);与模型组比较,双术汤低、中、高剂量组大鼠粪便含水率均显著升高($P<0.05$)。

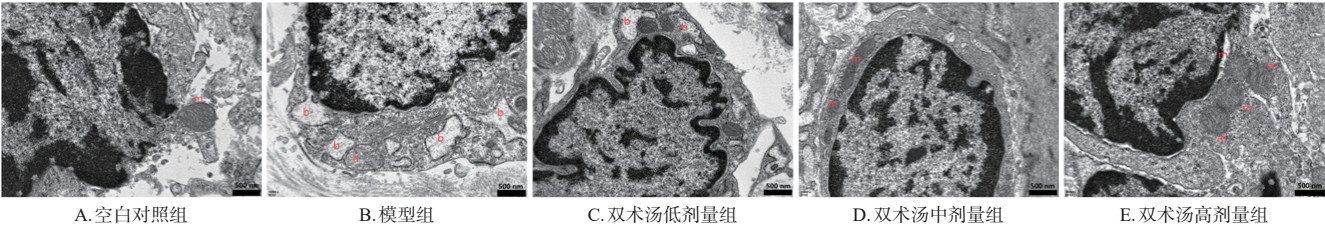


图3 各组大鼠结肠组织中ICC的超微结构观察结果(标尺:500 nm)

表5 各组大鼠粪便含水率、胃排空率、小肠推进率及血清中MTL水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	粪便含水率/%	胃排空率/%	小肠推进率/%	MTL/(ng/mL)
空白对照组	57.67±1.68	65.84±4.37	67.95±8.18	93.76±3.06
模型组	43.93±3.91 ^a	45.91±2.48 ^a	47.57±0.34 ^a	60.03±3.27 ^a
双术汤低剂量组	57.22±1.48 ^b	49.09±4.60	51.42±1.11	63.98±6.26
双术汤中剂量组	57.51±2.49 ^b	55.57±1.19	65.52±0.56 ^b	74.67±2.15 ^b
双术汤高剂量组	59.66±2.88 ^b	59.50±0.58 ^b	69.09±0.81 ^b	121.19±8.39 ^b

a:与空白对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.3.3 胃排空率及小肠推进率检测

实验前12 h禁食不禁水,末次给药1 h后,每只大鼠灌胃1 mL活性炭,20 min后腹主动脉采血(血样备用),然后迅速处死,剖取胃、小肠、结肠组织,称定全胃质量;剪开胃组织并洗净,称定胃净质量,计算胃排空率{胃排空率=[1-(全胃质量-胃净质量)/活性炭质量]×100%}。将小肠组织以直线展开,用尺子测量活性炭前部到幽门的距离,以及幽门到回盲部的全长,并计算小肠推进率(小肠推进率=活性炭前部到幽门的距离/幽门到回盲部的全长×100%)。结果(表5)显示,与空白对照组比较,模型组大鼠胃排空率、小肠推进率均显著降低($P<0.05$);与模型组比较,双术汤高剂量组大鼠胃排空率显著升高($P<0.05$),双术汤中、高剂量组大鼠小肠推进率均显著升高($P<0.05$)。

2.3.4 血清中MTL水平检测

取“2.3.3”项下各组大鼠血样,分离血清,根据试剂盒说明书方法检测大鼠血清中MTL水平。结果(表5)显示,与空白对照组比较,模型组大鼠血清中MTL水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,双术汤中、高剂量组大鼠血清中MTL水平均显著升高($P<0.05$)。

2.3.5 结肠组织中卡哈尔间质细胞超显微结构观察

取大鼠结肠组织(约1 mm³)放入避光的电镜固定液中固定,经脱水、包埋、聚合后,进行切片、染色,然后置于透射电子显微镜下观察,采集图像并观察卡哈尔间质细胞(interstitial cell of Cajal, ICC)的超微结构。结果显示,空白对照组大鼠结肠组织中ICC可见嵴清晰、排列规整的正常线粒体。模型组大鼠结肠组织中ICC的线粒体重度肿胀、嵴消失,内质网扩张。双术汤低剂量组大鼠结肠组织中ICC可见有较多肿胀的线粒体,且有少量脂滴空泡;双术汤中剂量组大鼠结肠组织中ICC可见线粒体嵴模糊,内质网肿胀;双术汤高剂量组大鼠结肠组织中ICC有大量线粒体,且嵴清晰、排列规整。结果见图3。

3 讨论

FD是一种起源于胃、十二指肠区域的慢性功能障碍^[1],可归属于中医的“上腹痛”“饱胀感”“嘈杂感”范畴。目前,FD的临床推荐用药有增加感染性疾病发生、骨质疏松、QT间期延长的风险^[9-10]。而双术汤副作用少,且在改善胃肠动力障碍方面有较好的疗效,因此推广双术汤的临床应用具有重要意义。

本课题组采用毒性实验评估了双术汤的安全性。在急性毒性实验、最大耐受量实验中大鼠均未出现死亡,结合脏器指数及病理观察可知,双术汤无急性毒性。在亚急性毒性实验中,经双术汤干预后,大鼠的血常规指标、生化指标、脏器指数及病理观察结果均与空白对照组大鼠无明显差异,说明双术汤对大鼠无亚急性毒性。通过急性毒性、最大耐受量实验、亚急性毒性实验可知,双术汤安全无毒,可为后续双术汤的研究奠定基础。

双术汤以六君子汤为基础化裁而成,后者已被证实能够促进MTL的释放以改善FD症状^[11]。MTL是一种促进胃强力收缩、加速肠道蠕动的消化道激素^[12]。本研究结果显示,经双术汤干预后,FD大鼠的粪便含水率、胃排空率、小肠推进率、MTL水平均升高,表明双术汤能够通过提高MTL水平促进胃肠运动。ICC被认为是治疗FD的关键调节介质和靶点,其是一类非神经元、间质起源的特殊类型细胞,主要功能是产生和调控胃肠道基本电节律、参与神经信号转导、维持消化道正常功能^[13-14]。正常ICC内含大量的线粒体,为细胞提供能量;若线粒体受损,则无法为ICC提供能量,从而引发胃动力障碍^[15]。当细胞损伤时,线粒体会肿胀,基质变浅,嵴变短、变少甚至消失;在极度肿胀时,线粒体可转化为小空泡状结构^[16]。内质网是维持蛋白质稳态的细胞器,当细胞受损时会出现内质网扩张,从而呈现液泡化改变^[17]。本研究结果显示,随着双术汤给药剂量的提高,FD大鼠ICC的线粒体损伤明显改善。这表明双术汤能够修复FD大鼠结肠组织中ICC的线粒体结构,从而保证胃肠运动的正常进行。

综上所述,双术汤具有较好的安全性,且对FD大鼠具有较好的改善作用;其作用机制可能与调节胃肠激素表达以促进胃排空与肠推进,修复ICC线粒体结构以恢复胃肠功能有关。本研究仍存在一定局限:毒性实验未涵盖长期毒性评估;双术汤改善FD大鼠胃肠动力障碍的作用机制尚未完全阐明。未来需通过长期毒性实验和机制研究,为双术汤的临床应用提供更全面的依据。

参考文献

[1] MIWA H, OSHIMA T, TOMITA T, et al. Recent understanding of the pathophysiology of functional dyspepsia: role of the duodenum as the pathogenic center[J]. J Gastroenterol, 2019, 54(4):305-311.

[2] ZHANG J Q, CHEN T, WEN Y T, et al. Insights and future prospects of traditional Chinese medicine in the treatment of functional dyspepsia[J]. Phytomedicine, 2024, 127:155481.

[3] MOAYYEDI P, LACY B E, ANDREWS C N, et al. ACG and CAG clinical guideline: management of dyspepsia[J]. Am J Gastroenterol, 2017, 112(7):988-1013.

[4] 杨叶华, 林才志, 刘云平, 等. 林才志基于“一气周流”理论治疗小儿功能性消化不良经验[J]. 湖南中医杂志, 2024, 40(6):50-52.

[5] 赵鸿润, 陈秀榕, 林才志. 林才志主任医师双术汤治疗脾胃病的用药思路简析[J]. 光明中医, 2023, 38(8):1452-1454.

[6] 陈浩彬, 江晓珊, 刘文健, 等. 林才志主任医师运用双术汤治疗脾胃病验案3则[J]. 广西中医药, 2021, 44(6):57-59.

[7] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2010:386.

[8] JEON Y J, LEE J S, CHO Y R, et al. Banha-sasim-tang improves gastrointestinal function in loperamide-induced functional dyspepsia mouse model[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 238:111834.

[9] FORD A C, MOAYYEDI P, BLACK C J, et al. Systematic review and network meta-analysis: efficacy of drugs for functional dyspepsia[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2021, 53(1):8-21.

[10] ZHAO W X, ZHANG J, JIA H W, et al. Proton pump inhibitor-induced hypomagnesemia, a rare cause of reversible delirium: a case report with literature review[J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(40):e39729.

[11] KO S J, PARK J, KIM M J, et al. Effects of the herbal medicine Rikkunshito, for functional dyspepsia: a systematic review and meta-analysis[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2021, 36(1):64-74.

[12] MORI H, VERBEURE W, SCHOL J, et al. Gastrointestinal hormones and regulation of gastric emptying[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2022, 29(2):191-199.

[13] WAUTERS L, TALLEY N J, WALKER M M, et al. Novel concepts in the pathophysiology and treatment of functional dyspepsia[J]. Gut, 2020, 69(3):591-600.

[14] LU M L, HUANG H, LIU L M, et al. The relationship between intestinal motility and interstitial cells of Cajal in nonalcoholic fatty liver mice[J]. Hepat Mon, 2013, 13(10):e13674.

[15] CAI B N, LUO L X, CHEN X D, et al. Structural characterization of a sulfated polysaccharide from *Gracilariopsis lemaneiformis* and its potentiation of cisplatin antitumor activity in Colon-26 carcinoma tumor-bearing mice by inducing ferroptosis[J]. Food Funct, 2023, 14(8):3712-3721.

[16] 朱梦琪, 闵赛南, 吴立玲, 等. 线粒体功能障碍在细胞衰老中作用的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(10):1888-1893.

[17] KHANNA M, AGRAWAL N, CHANDRA R, et al. Targeting unfolded protein response: a new horizon for disease control[J]. Expert Rev Mol Med, 2021, 23:e1.

(收稿日期:2024-11-02 修回日期:2025-04-02)

(编辑:唐晓莲)