

网络出版时间:2019-01-14 09:36

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2019.07.003

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20190114.0935.006.html>

加味四君子汤对脾虚犬生理生化指标及消化吸收功能的影响

何嫣婷, 夏晓冬, 舒迎霜, 贺濛初, 李 成, 冯士彬, 李 玉, 王希春, 吴金节

(安徽农业大学 动物科技学院, 安徽 合肥 230036)

【摘要】 **【目的】**探究加味四君子汤对脾虚犬相关指标及功能的影响,为临床脾虚犬的治疗提供参考。**【方法】**选择 24 只 1 岁龄的比格犬,随机平均分为 4 组,分别为对照组、脾虚组、自然恢复组、加味四君子汤恢复组。对照组犬饲喂基础饲料;其余 3 组犬先饲喂基础饲料并每天灌喂 6 mL/kg 番泻叶水煎液,上下午各 1 次,构建脾虚模型。模型构建成功后,将脾虚组犬解剖采样,加味四君子汤恢复组饲喂添加加味四君子汤的饲料(每 50 g 添加 1 mL),自然恢复组饲喂基础饲料。分别在第 0, 7, 14 天采血,测定血常规指标(白细胞(WBC)数、淋巴细胞(LYM)数、中性粒细胞(Gran)数、红细胞(RBC)数、血红蛋白(HGB)含量、红细胞压积(HCT)、血小板(PLT)数),并分离血清测定生化指标(丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性及总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、血糖(GLU)、胆红素(TBIL)含量)以及 D-木糖含量。第 14 天,全部犬解剖采集小肠和胰腺组织,观察小肠形态并测定胰腺消化酶活性。**【结果】**番泻叶水煎液灌喂第 7 天,试验犬出现脾虚证候群,表明脾虚模型构建成功。第 0 天时,各组犬各类指标均无显著差异。第 7 天时,与对照组相比,脾虚犬体质量极显著降低($P<0.01$);血液中 WBC、LYM 数量,血清 TP 含量及胰腺组织中淀粉酶、脂肪酶、胃蛋白酶活性显著降低($P<0.05$),RBC 数量、HGB 含量、HCT 及血清 ALB、GLU、D-木糖含量极显著降低($P<0.01$),ACT 活性显著升高($P<0.05$)、胆红素含量极显著升高($P<0.01$)。电镜观察发现,脾虚组犬小肠绒毛稀疏且部分断裂、缺损,细胞器结构损伤。第 14 天时,脾虚犬经加味四君子汤治疗后,各项指标均恢复到对照组水平。**【结论】**加味四君子汤能够使脾虚犬的生理生化指标及消化吸收功能恢复正常,对犬脾虚证有明显治疗效果。

【关键词】 脾虚证;加味四君子汤;生理生化指标;消化吸收功能;犬

【中图分类号】 S858.292

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2019)07-0015-08

Effects of supplementary Sijunzi decoction on blood physiological and biochemical indexes and digestive and absorptive functions of splenic asthenia canines

HE Yanting, XIA Xiaodong, SHU Yingshuang, HE Mengchu, LI Cheng,
FENG Shibin, LI Yu, WANG Xichun, WU Jinjie

(College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China)

Abstract: **【Objective】**The present study was conducted to investigate the effects of supplementary Sijunzi decoction on some indexes as well as digestive and absorptive functions of splenic asthenia canines, and to provide reference for clinical care of splenic asthenia canines. **【Method】**Twenty-four one-year-old beagles were selected and randomly divided into four groups with six per group. The four groups were con-

【收稿日期】 2018-04-17

【基金项目】 国家重点研发计划项目(2016YFD0501009)

【作者简介】 何嫣婷(1993—),女,上海人,在读硕士,主要从事兽医临床诊疗技术研究。E-mail:417217415@qq.com

【通信作者】 吴金节(1962—),男,安徽望江人,教授,主要从事兽医临床诊疗技术和中兽药制剂研究。E-mail:wjj@ahau.edu.cn

trol group, splenic asthenia group, natural recovery group and supplementary Sijunzi decoction recovery group, respectively. The canines in control group were fed on a basal diet, and those in the other three groups were fed on a basal diet with 6 mL/kg decoction per day at morning and afternoon to establish spleen deficiency model. After the model was developed, the canines in splenic asthenia group were dissected for collecting samples, those in natural recovery group were fed a basal diet, while those in supplementary Sijunzi decoction recovery group were fed on a basal diet with 1 mL per 50 g supplementary Sijunzi decoction. On days 0, 7 and 14, blood samples were taken to measure blood routine indexes (white blood cell (WBC) count, lymphocyte (LYM) count, neutrophilic granulocyte (Gran) count, red blood cell (RBC) count, hemoglobin (HGB) content, erythrocyte (HCT) and platelets (PLT) count), and sera were separated to measure biochemical indexes (activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), and contents of total protein (TP), albumin (ALB), blood glucose (GLU) and total bilirubin (TBIL)) and D-xylose content. On day 14, all canines were dissected for collecting small intestine and pancreas tissues to observe morphology and detect pancreatic digestive enzyme activities. **【Result】** On day 7, the spleen deficiency syndrome was observed in tested canines, indicating that the spleen deficiency model was successfully developed. On day 0, there was no significant difference in all indicators among groups. On day 7, body weight of splenic asthenia canines was extremely significantly decreased compared with the canines in control group ($P<0.01$). WBC count, LYM count, serum TP content and activities of lipase, amylase and trypsin in pancreas were significantly decreased ($P<0.05$), RBC count, HGB content, HCT and contents of ALB, GLU and D-xylose in serum were extremely significantly decreased ($P<0.01$), AST activities were significantly increased ($P<0.05$), and TBIL content was extremely significantly increased ($P<0.01$). Structural damage and cell necrosis of villus in small intestines were occurred in the splenic asthenia group by scanning electron microscope. On day 14, all indexes of the splenic asthenia canines recovered to the control group level after treatment by supplementary Sijunzi decoction. **【Conclusion】** Supplementary Sijunzi decoction can improve blood physiological and biochemical indexes as well as digestive and absorptive capacity, and have significant effects on treating splenic asthenia canines.

Key words: splenasthenic syndrome; supplementary Sijunzi decoction; physiological and biochemical indexes; digestive and absorptive capacity; canines

脾虚证是以胃肠道消化吸收功能降低为主要表现的神经体液调节紊乱、营养物质代谢低下的一种虚损性疾病^[1]。该证主要表现为舌质淡或胖嫩、有齿印、舌苔白润,食欲减退、肢体倦怠,食后饱胀或腹胀,大便溏泄等^[2]。西医所谓的慢性腹泻、溃疡性结肠炎、肠易激性综合征和吸收不良综合征等多种疾病均具有脾虚证的病症^[3]。现代研究表明,脾虚证的发生发展与消化吸收功能障碍、肠道炎症性疾病及肠道生态平衡等密切相关,同时存在肠道运动和水代谢紊乱等病理改变。

四君子汤出自《太平惠民和剂局方》,由人参(党参)、白术、茯苓、甘草 4 味中药组成,具有补气、益气健脾之功效。现代药理学研究表明,四君子汤是治疗脾虚证的有效方剂,该方剂具有增加平滑肌张力,收缩胃平滑肌,促进胃肠蠕动,保护胃黏膜的作用^[4],并能明显促进脾虚证动物消化液分泌,提高消

化吸收机能^[5]。目前,临床上相当一部分免疫及消化功能尚不完善的幼犬、病后初愈犬、年老体衰犬患有脾虚证,已有研究证实,四君子汤对小鼠、大鼠的脾虚证有明显的治疗效果^[6],但对犬脾虚证的作用鲜有报道。本试验按照中医辨证施治的原则,在传统四君子汤配方的基础上添加当归、黄芪、山楂、神曲配伍而成加味四君子汤方剂,研究该方剂对脾虚证模型犬的作用效果,以为临床脾虚证犬的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用 1 岁龄比格犬,由南京亚东实验动物研究开发中心提供,体质量 10.5~11 kg/只。

番泻叶、党参、白术、茯苓、炙甘草、黄芪、山楂等中药材,购自合肥立方大药房。丙氨酸氨基转移酶

(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性及总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、血糖(GLU)含量测定试剂盒,购自长春江力生物技术有限公司。胰蛋白酶、胰脂肪酶、胰淀粉酶活性及D-木糖含量测定试剂盒,购自南京建成生物工程研究所。

XN-TN50 中药提取设备,购自浙江森力机械科技股份有限公司;兽用全自动血液细胞分析仪、BS-220 全自动生化分析仪,购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;FSH-2 可调高速匀浆机,购自金坛市科兴仪器厂;可控硅控温水浴锅,购自通州市沪通实验仪器厂;微量移液器,购自 Eppendaorf;TGL-18R 台式高速离心机,购自珠海黑马医学仪器有限公司;超净工作台,购自苏州智净净化设备有限公司;TU-1901 紫外分光光度计,购自北京普析通用仪器有限公司。

1.2 中药制备

1.2.1 番泻叶 根据文献[7]的方法,取番泻叶 20 kg,加 10 倍质量的沸水浸泡 10 min,过滤,将滤液在 75 ℃水浴中蒸发浓缩为 1 g/mL(以生药计)的药液,4 ℃冰箱保存备用。

1.2.2 加味四君子汤 根据文献[8]的方法,将党参、当归、白术、茯苓、甘草、黄芪、山楂、神曲按质量比 2:2:1:1:1:1:1:1 的比例混合,先用水浸泡 2 h,然后在水中煎沸 40 min,过滤,收集滤液,药渣再煎沸过滤 1 次。合并 2 次所得滤液,80 ℃常压浓缩为 1 g/mL(以生药计)的药液,4 ℃保存备用。

1.3 试验设计

选供试比格犬 24 只,正常饲养观察 7 d,常规免疫与驱虫,确定为健康犬后方可用于试验。将 24 只比格犬随机分为对照组、脾虚组、自然恢复组、加味四君子汤恢复组,每组 6 只。对照组比格犬饲喂基础狗粮。脾虚组、自然恢复组、加味四君子汤恢复组比格犬灌喂 6 mL/kg 的番泻叶,上下午各 1 次,构建脾虚模型,饲粮照常。第 7 天,当造模犬只出现大便秘泄、食少纳呆、消瘦、体质量减轻、神态萎靡、毛色无光泽等症状时,即判定试验犬出现中医脾虚证候。将脾虚组犬只颈动脉放血致死进行剖检,对照组、自然恢复组饲喂基础狗粮,加味四君子汤恢复组饲喂添加加味四君子汤的饲料(每 50 g 添加 1 mL),每天上下午各喂 1 次,每次 150 g/只,试验期间观察各组犬的体征变化。分别于 0(分组后,给药前),7,14 d 称量试验犬的体质量,14 d 后,全部犬只放血致死进行剖检。

1.4 试验样本采集

1.4.1 血样采集与血清制备 分别在第 0,7 和 14 天使用含 EDTA- Na_2 抗凝剂的采血管,从犬前肢静脉采血 1 mL 用于血常规检测;用非抗凝采血管采集血样 5 mL,3 000 r/min 离心 20 min,取上层血清用于生化指标以及 D-木糖含量检测。

1.4.2 肠道组织与胰腺组织样本的采集与保存 试验犬放血处死后,打开腹腔采集小肠组织中段,用于肠绒毛形态及细胞器完整性电镜观察。同时采集犬胰腺组织,液氮速冻后,置于-80 ℃冰箱保存,用于测定胰腺消化酶水平。

1.5 血液指标测定

1.5.1 血常规指标 采用兽用全自动血液细胞分析仪,检测白细胞(WBC)数、淋巴细胞(LYM)数、中性粒细胞(Gran)数、红细胞(RBC)数、血红蛋白(HGB)含量、红细胞压积(HCT)、血小板(PLT)数。

1.5.2 血清生化指标 采用 BS-220 全自动生化分析仪,检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、血糖(GLU)含量。

1.5.3 D-木糖含量 采用试剂盒测定血清中 D-木糖含量,具体过程严格根据试剂盒说明书进行。

1.6 胰腺中消化酶水平的测定

取 0.5 g 胰腺组织,按照 1:9 的比例(每 g 组织中加入 9 mL 水)加入 4.5 mL 生理盐水,用组织匀浆机在冰浴下进行充分匀浆,12 000 r/min 离心 30 min,取上清液于 EP 管中,4 ℃保存。胰腺组织中胰蛋白酶、胰脂肪酶和胰淀粉酶活性按照试剂盒说明书测定。

1.7 犬小肠形态学电镜观察

取试验犬小肠,经体积分数 2.5%戊二醛及体积分数 1%锇酸固定后,逐级酒精脱水,用环氧树脂处理后,将样品粘着于样品架上,经电子染色后用日本产 JEM-1230 型透射电镜观察并拍照。

1.8 数据处理

结果以“平均值±标准差”表示。采用 SPSS 19.0 软件的 one-way ANOVA 程序进行单因素方差分析,以 Duncan 氏法进行多重比较, $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 加味四君子汤对脾虚犬体征变化的影响

对照组比格犬食欲正常,体质量基本不变,精神状态良好,活泼好动,毛色有光泽。与对照组相比,

脾虚组犬在第 4 天出现进食和饮水减少、喜卧不动、眼神无光等特征,第 7 天出现明显的脾虚症状,如平均体温略降低,粪便溏泄,精神萎靡,倦怠,眯眼;该组犬只于第 7 天已经剖检,因此第 14 天无相关检测数据。加味四君子汤恢复组试验犬经 7 d 治疗后,粪便正常且精神状态、食欲等明显改善。自然恢复组食欲与行动有好转,但较加味四君子汤恢复组恢复缓慢,部分犬仍有疲倦、腹泻等脾虚症状,直至试

验结束试验犬也未完全康复。

2.2 加味四君子汤对脾虚犬体质量的影响

由表 1 可知,第 0 天,各组犬的体质量差异均不显著($P>0.05$)。第 7 天,脾虚组、自然恢复组、加味四君子汤恢复组犬的体质量均极显著低于对照组($P<0.01$)。第 14 天,加味四君子汤恢复组与对照组犬的体质量相比无显著差异($P>0.05$),自然恢复组仍显著低于对照组($P<0.05$)。

表 1 加味四君子汤对脾虚犬体质量的影响

Table 1 Effects of supplementary Sijunzi decoction on body weight in splenic asthenia canines kg/只

组别 Group	时间/d Time		
	0	7	14
对照组 Control group	10.933±1.129 a	10.662±0.237 aA	10.650±1.277 aA
脾虚组 Splenic asthenia group	10.867±1.069 a	9.222±0.893 bB	
自然恢复组 Natural recovery group	10.533±1.186 a	9.260±0.167 bB	9.422±0.377 bA
加味四君子汤恢复组 Supplementary Sijunzi decoction recovery group	10.550±0.672 a	9.230±0.158 bB	10.178±1.003 abA

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。表 4、表 5 同。

Note: Different lowercase letters in each row mean significant difference ($P<0.05$), and different capital letters mean significant difference ($P<0.01$). The same for Table 4 and 5.

2.3 加味四君子汤对脾虚证犬生理指标的影响

试验期间,对照组、脾虚组、自然恢复组和加味四君子汤恢复组犬血常规指标测定结果见表 2。

表 2 加味四君子汤对脾虚犬血常规指标的影响

Table 2 Effects of supplementary Sijunzi decoction on physiological blood routine indexes in splenic asthenia canines

组别 Group	时间/d Time	白细胞数/ ($10^9 \cdot L^{-1}$) WBC count	淋巴细胞数/ ($10^9 \cdot L^{-1}$) LYM count	中性粒细胞数/ ($10^9 \cdot L^{-1}$) Gran count	红细胞数/ ($10^{12} \cdot L^{-1}$) RBC count
对照组 Control group	0	11.50±1.441 a	1.93±0.683 a	7.95±0.281 a	6.63±0.764 a
	7	11.20±1.931 aA	1.83±0.320 aA	7.90±0.506 a	6.88±0.660 aA
	14	11.20±0.647 aA	1.98±0.407 aA	7.87±1.823 a	6.76±0.841 aA
脾虚组 Splenic asthenia group	0	11.60±1.622 a	1.85±0.683 a	7.85±0.784 a	6.33±1.075 a
	7	9.82±0.538 bA	1.03±0.441 bA	8.72±0.747 a	5.61±0.315 bB
	14	11.30±2.402 a	1.98±0.467 a	7.67±0.737 a	6.24±0.396 a
自然恢复组 Natural recovery group	0	9.82±0.631 bA	0.97±0.333 bA	8.73±0.625 a	5.64±0.492 bB
	7	10.50±0.249 bA	1.30±0.434 bA	8.35±0.829 a	6.16±0.964 bA
	14	11.30±2.402 a	2.07±0.622 a	7.83±0.723 a	6.13±1.124 a
加味四君子汤恢复组 Supplementary Sijunzi decoc- tion recovery group	0	9.80±0.735 bA	0.95±0.351 bA	8.58±0.850 a	5.63±0.409 bB
	7	10.90±0.392 abA	1.77±0.497 abA	8.05±0.513 a	6.41±1.218 abA
	14				
组别 Group	时间/d Time	血红蛋白/($g \cdot L^{-1}$) HGB	红细胞压积/% HCT	血小板数/($10^9 \cdot L^{-1}$) PLT	
对照组 Control group	0	140.83±15.690 a	44.50±4.541 a	286±36.74 a	
	7	141.17±11.374 aA	44.55±1.933 aA	286±32.75 a	
	14	142.67±10.558 aA	44.95±3.520 aA	268±50.70 a	
脾虚组 Splenic asthenia group	0	146.67±19.755 a	45.43±6.340 a	294±27.98 a	
	7	120.33±3.830 bB	36.83±3.545 bB	276±37.48 a	
	14	143.17±11.374 a	44.80±4.260 a	280±29.08 a	
自然恢复组 Natural recovery group	0	119.00±3.578 bB	35.77±2.913 bB	282±26.45 a	
	7	131.33±7.367 bA	40.33±3.141 bA	281±87.50 a	
	14	143.67±18.184 a	44.65±6.247 a	282±41.42 a	
加味四君子汤恢复组 Supplementary Sijunzi decoc- tion recovery group	0	119.67±7.659 bB	36.00±2.757 bB	290±23.72 a	
	7	137.67±4.412 abA	42.50±3.082 abA	274±38.00 a	
	14				

注:不同处理同一时间相比,数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。表 3 同。

Note: Different small letters mean significant difference ($P<0.05$) among treatments, and different capital letters mean significant difference ($P<0.01$). The same for Table 3.

由表 2 可知,第 0 天,各组犬各指标差异均不显著($P>0.05$)。试验期间各组试验犬中性粒细胞数和血小板数无显著差异($P>0.05$)。第 7 天,与对照组相比,脾虚组、自然恢复组、加味四君子汤恢复组试验犬的白细胞数、淋巴细胞数均显著降低($P<0.05$),红细胞数、血红蛋白含量、红细胞压积均极显著降低($P<0.01$)。第 14 天,加味四君子汤恢复组上述各项指标与对照组相比均无显著差异($P>0.05$),自然恢复组仍显著低于对照组($P<0.05$)。

2.4 加味四君子汤对脾虚犬血清生化指标的影响

由表 3 可知,第 0 天,各组犬各指标差异均不显

著($P>0.05$)。试验期间各组犬血清丙氨酸氨基转移酶活性无显著差异($P>0.05$)。第 7 天,与对照组相比,脾虚组、自然恢复组、加味四君子汤恢复组试验犬血清天门冬氨酸氨基转移酶活性显著升高($P<0.05$)、胆红素含量极显著升高($P<0.01$),总蛋白含量显著降低($P<0.05$)、白蛋白、血糖含量均极显著降低($P<0.01$)。第 14 天,除自然恢复组胆红素含量极显著高于对照组($P<0.01$),加味四君子汤恢复组胆红素含量显著高于对照组($P<0.05$)外,自然恢复组和加味四君子汤恢复组其他上述各项指标与对照组相比均无显著差异($P>0.05$)。

表 3 加味四君子汤对脾虚犬血清生化指标的影响

Table 3 Effects of supplementary Sijunzi decoction on serum biochemical indexes in splenic asthenia canines

组别 Group	时间/d Time	丙氨酸氨基转 移酶/(U·L ⁻¹) ALT	天门冬氨酸氨基 转移酶/(U·L ⁻¹) AST	总蛋白/ (g·L ⁻¹) TP
对照组 Control group	0	35.450±3.244 a	31.240±3.145 a	61.74±5.564 a
	7	35.133±3.615 a	30.500±2.100 bA	62.18±5.352 aA
	14	34.317±3.293 a	29.233±2.847 a	60.53±1.033 a
脾虚组 Splenic asthenia group	0	37.883±4.854 a	32.617±3.638 a	62.25±3.802 a
	7	34.584±2.910 a	35.365±6.011 aA	56.80±3.056 bA
	14	33.933±5.611 a	30.500±1.426 a	41.00±3.162 a
自然恢复组 Natural recovery group	0	34.917±2.901 a	36.217±3.873 aA	57.47±2.607 bA
	7	33.433±3.189 a	31.167±2.988 a	38.67±3.445 a
	14	38.933±5.676 a	30.700±2.479 a	40.33±2.251 a
加味四君子汤恢复组 Supplementary Sijunzi decoction recovery group	0	34.950±6.376 a	36.583±3.602 aA	57.00±1.566 bA
	7	35.383±1.373 a	33.067±5.086 a	39.67±2.658 a
	14			

组别 Group	时间/d Time	白蛋白/(g·L ⁻¹) ALB	血糖/(mmol·L ⁻¹) GLU	胆红素/(μmol·L ⁻¹) TBIL
对照组 Control group	0	41.60±3.647 a	5.19±0.787 a	8.128±0.221 a
	7	40.33±2.422 aA	5.00±0.579 aA	8.172±0.889 bB
	14	40.67±1.966 a	4.58±0.444 a	8.217±0.090 bB
脾虚组 Splenic asthenia group	0	41.00±3.098 a	5.33±0.428 a	8.195±0.495 a
	7	36.33±1.211 bB	3.53±4.464 bB	8.890±0.124 aA
	14	41.00±3.162 a	5.44±0.563 a	8.200±0.510 a
自然恢复组 Natural recovery group	0	36.17±0.983 bB	3.61±0.644 bB	8.868±0.181 aA
	7	38.67±3.445 a	3.93±0.179 a	8.555±0.141 aA
	14	40.33±2.251 a	5.46±0.536 a	8.167±0.372 a
加味四君子汤恢复组 Supplementary Sijunzi decoction recovery group	0	36.33±0.816 bB	3.63±0.362 bB	8.833±0.099 aA
	7	39.67±2.658 a	4.38±1.196 a	8.408±0.117 aAB
	14			

2.5 加味四君子汤对脾虚犬血清中 D-木糖含量的影响

由表 4 可知,第 0 天,各组犬只血清中 D-木糖含量差异均不显著($P>0.05$);第 7 天脾虚组、自然

恢复组、加味四君子汤恢复组极显著低于对照组($P<0.01$)。第 14 天,加味四君子汤恢复组与对照组相比无显著差异($P>0.05$),自然恢复组仍显著低于对照组($P<0.05$)。

表 4 加味四君子汤对脾虚犬血清中 D-木糖含量的影响

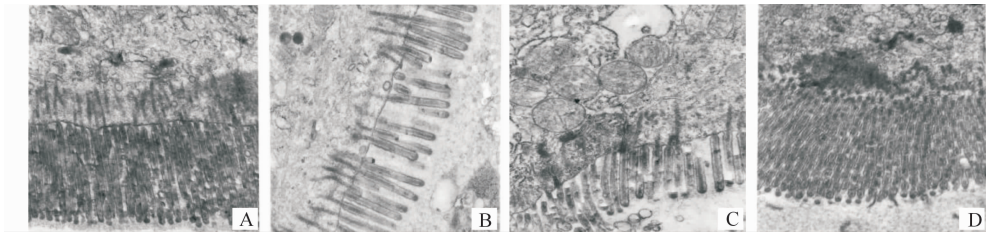
Table 4 Effects of supplementary Sijunzi decoction on serum D-xylose contents splenic asthenia canines mmol/L

组别 Group	时间/d Time		
	0	7	14
对照组 Control group	0.830±0.295 a	0.851±0.078 aA	0.844±0.287 aA
脾虚组 Splenic asthenia group	0.840±0.333 a	0.390±0.154 bB	
自然恢复组 Natural recovery group	0.841±0.448 a	0.409±0.246 bB	0.539±0.118 bA
加味四君子汤恢复组 Supplementary Sijunzi decoction recovery group	0.881±0.353 a	0.398±0.054 bB	0.703±0.140 abA

2.6 加味四君子汤对脾虚犬小肠形态的影响

由图 1 可知,各组犬小肠绒毛密度及破损程度有明显差别,对照组犬小肠绒毛密度高,排列整齐;

脾虚组犬小肠绒毛稀疏且部分断裂,缺损;自然恢复组犬小肠绒毛密度低,绒毛变短;加味四君子汤恢复组犬小肠绒毛密度部分缺损,整体尚可,排列整齐。



A. 对照组;B. 脾虚组;C. 自然恢复组;D. 加味四君子汤恢复组

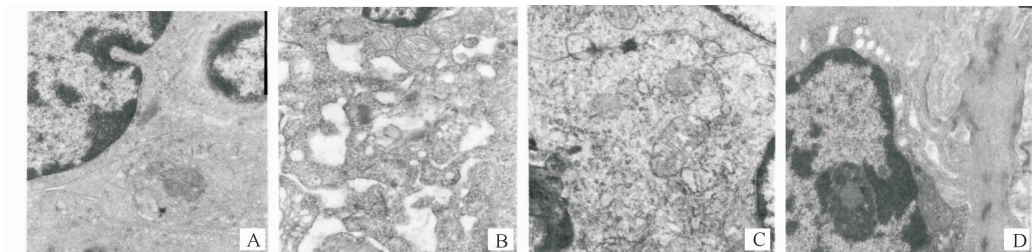
A. Control group;B. Splenic asthenia group;C. Natural recovery group;D. Supplementary Sijunzi decoction recovery group

图 1 加味四君子汤对脾虚犬小肠绒毛的影响(15 000×)

Fig. 1 Effects of supplementary Sijunzi decoction on small intestinal villus in splenic asthenia canines (15 000×)

由图 2 可以看出,各组犬小肠细胞器损坏程度及细胞连接情况有明显差别,对照组线粒体形态正常且数量较多;脾虚组线粒体嵴断裂,细胞器减少,

细胞连接不紧密;自然恢复组线粒体嵴断裂,粗面内质网少量折断;加味四君子汤恢复组细胞器基本正常,细胞间桥有一点缝隙。



A. 对照组;B. 脾虚组;C. 自然恢复组;D. 加味四君子汤恢复组

A. Control group;B. Splenic asthenia group;C. Natural recovery group;D. Supplementary Sijunzi decoction recovery group

图 2 加味四君子汤对脾虚犬小肠细胞器及细胞连接的影响(15 000×)

Fig. 2 Effects of supplementary Sijunzi decoction on small intestinal organelles and cell connections in splenic asthenia canines(15 000×)

2.7 加味四君子汤对脾虚犬胰腺消化酶水平的影响

由表 5 可知,脾虚组和自然恢复组犬只的淀粉

酶、脂肪酶、胰蛋白酶活性显著低于对照组($P<0.05$)。加味四君子汤恢复组消化酶活性与对照组差异不显著($P>0.05$)。

表 5 加味四君子汤对脾虚犬胰腺消化酶水平的影响

Table 5 Effects of supplementary Sijunzi decoction on digestive enzyme activities in pancreas in splenic asthenia canines

组别 Group	淀粉酶 Amylase	脂肪酶 Lipase	蛋白酶 Trypsin
对照组 Control group	684.750±212.341 aA	522.967±187.392 aA	733.879±217.984 aA
脾虚组 Splenic asthenia group	344.683±117.903 cA	237.067±151.903 cA	326.063±53.092 cA
自然恢复组 Natural recovery group	446.133±127.913 bcA	349.117±158.996 bcA	440.073±205.145 cA
加味四君子汤恢复组 Supplementary Sijunzi decoction recovery group	594.117±50.432 abA	466.400±56.720 abA	671.400±174.650 abA

3 讨 论

3.1 脾虚证造模方法的选择

中医脾虚的造模方法很多,主要包括苦寒中药法、破气耗气中药法、饮食伤脾法、劳倦伤脾法、理化因素干预法、复合因素法等^[9]。本试验根据犬体型、

生活习性等诸多因素,选择苦寒中药法,其可靠性和重现性强,简单易行因此受到广泛推崇。番泻叶为豆科植物狭叶番泻或尖叶番泻的干燥小叶。味苦、性寒,归大肠经。番泻叶具有泻热通便、利水消肿的功效^[10],因其苦寒降泄,耗气伤阴,久服易致气随津脱且苦寒伤阳。本试验利用番泻叶灌喂造模 7 d

后,造模犬出现大便溏泄、食少纳呆、消瘦、体质量减轻等临床症状,符合“中医脾虚证参考标准”和“造模脾虚型标准”。后期在脾虚犬饲粮中添加加味四君子汤进行治疗,试验犬进食、体质量增长及精神状态恢复正常,而自然恢复组犬恢复缓慢,部分犬仍有疲倦、腹泻等脾虚症状。四君子汤中的多糖成分可调节肠道菌群,激活肠道局部免疫从而影响系统免疫^[5],同时可以改善消化吸收功能,增加机体质量^[11]。本试验证实,加味四君子汤对脾虚犬有较好的治疗效果。

3.2 加味四君子汤对脾虚犬生理生化指标的影响

脾虚引起的消化机能不全,营养吸收不足,能量代谢低下^[12],可能会导致机体营养供给不足而出现贫血症状,在血常规上则反映为红细胞或血红蛋白含量及红细胞压积的降低。本试验中,脾虚犬红细胞数、血红蛋白含量和红细胞压积极显著低于对照组,这与前人研究结果相一致。脾虚还可导致机体免疫功能降低,抵御外邪功能减弱^[13]。白细胞是具有防御功能的球形细胞,包括粒细胞、单核细胞和淋巴细胞,对抵御病原体的侵入和防止机体损伤具有重要作用^[14],其中淋巴细胞更是机体免疫应答功能的重要细胞成分。本试验结果表明,脾虚犬白细胞、淋巴细胞数与对照组相比均显著下降,与前人的研究结果^[14]一致。

曲功霖等^[15]研究表明,四君子汤中党参的生津养血、补中益气之效对脾虚鼠的造血功能损伤有绝佳的恢复作用。Kuo等^[16]首次尝试建立以脾气虚为主,脾功能受损、免疫功能紊乱为特征的脾气虚证动物模型,研究得出黄芪中黄酮类成分不仅可以改善模型动物的机体免疫功能失调,而且增强了机体的耐力。本试验中脾虚犬经加味四君子汤治疗后,上述各项指标恢复正常,而自然恢复组恢复缓慢,表明加味四君子汤对脾虚犬有较好的疗效。

中医认为,脾虚表现为运化失司,精微物质来源不足、肌无所养,从而出现乏力、消瘦等,这些症状是由于蛋白质合成受阻或摄取不足引起的^[17]。血糖主要是指血液中的葡萄糖,来源于食物、糖的异生作用和肝脏糖原分解,是保证动物机体生理功能正常的关键。本试验中脾虚造模犬腹泻频繁且食少纳呆,从而导致血液中总蛋白、白蛋白、血糖含量不同程度降低。而天门冬氨酸氨基转移酶和胆红素含量都显著升高,表明脾虚会引起一定程度的肝损伤。

但经过加味四君子汤治疗后,脾虚犬血液中血糖、蛋白含量均恢复正常,表明机体消化吸收功能得

到改善,同时肝功能指标也恢复正常。

3.3 加味四君子汤对脾虚犬血液中D-木糖含量及小肠形态学的影响

D-木糖吸收功能低下是公认的诊断脾气虚证的参考指标^[11]。口服D-木糖后一定时间内,血清中的D-木糖含量基本可以反映小肠吸收功能的状况^[18]。小肠是机体营养物质吸收和转运的主要部位,吸收养分是小肠绒毛的主要功能,所以肠绒毛的长短直接影响着动物的生长发育,而肠细胞的形态结构及细胞器完整性关乎整个机体的健康。刘海涛等^[19]发现,脾虚泄泻模型大鼠小肠部分绒毛弯曲、变形,甚至脱落、断裂。本研究采用D-木糖试验对犬的小肠吸收功能进行评价,结果发现脾虚犬小肠吸收功能明显下降,小肠绒毛缺损、断裂或者变短,细胞器中出现线粒体嵴断裂,粗面内质网扩张、数量少,空泡变性等现象。经加味四君子汤治疗后,试验犬小肠绒毛部分缺损,但整体正常,排列整齐,细胞器正常。加味四君子汤含有多种抗氧化成分,能够消除细胞组织的各类氧化损伤,维持生物膜正常结构和功能^[20],并能促进肠上皮细胞的再生和重建^[21],从而增强小肠对标准剂量D-木糖的吸收。

3.4 加味四君子汤对脾虚犬胰腺消化酶的影响

胰腺是具有内外分泌功能的腺体,能分泌多种消化酶,参与蛋白质、脂肪及碳水化合物的消化,胰腺消化酶水平与机体的消化功能密切相关^[22]。临床研究证明,使用中医健脾的方法可改善肠道微生态环境,促进消化酶类的增长^[23]。本研究表明,脾虚犬胰腺组织中淀粉酶、脂肪酶、蛋白酶活性较正常犬显著下降,而加味四君子汤能显著提高脾虚犬胰腺消化酶活性,说明加味四君子汤可以明显促进脾虚犬消化酶分泌,提高其消化吸收能力。

[参考文献]

- [1] 甘静宜,程飞,巩忠福,等.四君子汤对脾虚大鼠胃肠运动功能和胃肠激素影响[J].中兽医医药杂志,2010,29(4):9-12.
Gan J Y, Cheng F, Gong Z F, et al. Effect of Sijunzi decoction on gastrointestinal motility and gastrointestinal hormones in rats with spleen deficiency [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2010, 29(4): 9-12.
- [2] 高擎,金鑫,葛亚中,等.两种健脾产品对脾虚证复合抗生素大鼠模型肠道菌群的影响[J].中成药,2017,39(10):2155-2159.
Gao Q, Jin X, Ge Y Z, et al. Effects of two kinds of spleen-invigorating products on intestinal flora in rat models of spleen deficiency syndrome [J]. Chinese Patent Medicine, 2017, 39(10): 2155-2159.

- [3] 白世敬,李 峰,马 捷,等. 功能性腹泻脾虚证动物模型的制作与评价思路初探 [J]. 河北中医,2014,36(4):592-593.
Bai S J,Li F,Ma J,et al. Preliminary study on making and evaluating animal models of functional diarrhea and spleen deficiency syndrome [J]. Hebei Chinese Medicine,2014,36(4):592-593.
- [4] Huang J Y,Nong H,Pei X,et al. Mechanism underlying effect of Sijunzi decoction on intestinal mucosal barrier of mice with ulcerative colitis [J]. World Chinese Journal of Digestology,2015,23(27):4326-4334.
- [5] 纪云飞,王瑞君,李晚波. 复方四君子汤的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药,2016,47(5):837-843.
Ji Y F,Wang R J,Li X B. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Sijunzi decoction [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2016,47(5):837-843.
- [6] 吕 苑. 四君子汤的药理研究和临床应用 [J]. 中医研究,2012,25(1):76-78.
Lü Y. Pharmacological research and clinical application of Sijunzi decoction [J]. Research of Traditional Chinese Medicine,2012,25(1):76-78.
- [7] 肖新云,邓艳玲,刘又嘉,等. 番泻叶所致脾虚泄泻小鼠血常规的研究 [J]. 湖北中医药大学学报,2016,18(6):49-51.
Xiao X Y,Deng Y L,Liu Y J,et al. Effects of folium sennae on blood routine in rats with diarrhea of splenic deficiency type [J]. Journal of Hubei University of Chinese Medicine,2016,18(6):49-51.
- [8] 石达友,李盛强,朱华君,等. 四君子汤对脾虚犬体重及部分血清生化指标的影响 [J]. 动物医学进展,2010,31(9):29-32.
Shi D Y,Li S Q,Zhu H J,et al. Effects of decoction of four mild on the body weight and the part of seral biochemical indicators in dogs with syndrome of splenic asthenia [J]. Progress in Animal Medicine,2010,31(9):29-32.
- [9] 陈学习. 脾虚证动物模型复制方法研究概况、评价与思考 [J]. 中国当代医药,2010,17(33):5-6.
Chen X X. Research overview, evaluation and thinking of animal model replication of spleen deficiency syndrome [J]. Chinese Contemporary Medicine,2010,17(33):5-6.
- [10] 萧惠来. EMA 番泻叶和番泻果评估报告及草药专论介绍 [J]. 药物评价研究,2018,41(2):182-188.
Xiao H L. Introduce of EMA assessment report and herbal monographs on senna folium and senna fructus [J]. Drug Evaluation Research,2018,41(2):182-188.
- [11] 刘 佳,郭文峰,任 理,等. 四君子汤对脾气虚证模型大鼠小肠葡萄糖吸收功能作用的影响 [J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(10):1389-1393.
Liu J,Guo W F,Ren L,et al. Effect of Sijunzi decoction on the intestinal glucose absorption in model rats of Pi-qi deficiency syndrome [J]. Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine,2013,33(10):1389-1393.
- [12] 刘 靖,王凤云,卞立群,等. 脾虚理论在功能性腹泻中的应用 [J]. 环球中医药,2017,10(4):461-464.
Liu J,Wang F Y,Bian L Q,et al. Application of spleen deficiency theory in functional diarrhea [J]. Global Chinese Medicine,2017,10(4):461-464.
- [13] 黄 辰,李 瑛,赵 妍,等. 脾虚证动物模型评价方法评述 [J]. 辽宁中医杂志,2018,45(2):433-437.
Huang C,Li Y,Zhao Y,et al. Review of animal model evaluation method of liver-stagnation and spleen-deficiency [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine,2018,45(2):433-437.
- [14] 胡 洁,彭买姣,罗怀浩,等. 番泻叶造模对小鼠肠道微生物及酶活性的影响 [J]. 中国微生态学杂志,2018,30(2):155-157.
Hu J,Peng M J,Luo H H,et al. Effects of senna on the intestinal microbiota and enzyme activity in mice with spleen-deficiency [J]. Chinese Journal of Microecology,2018,30(2):155-157.
- [15] 曲功霖,李 辰,邵 帅,等. 不同君药四君子汤辐射损伤防护作用的比较研究 [J]. 中国辐射卫生,2017,26(3):265-269.
Qu G L,Li C,Shao S,et al. Comparison of the radiation-protective effect among different types of Sijunzi decoction [J]. Radiation Health in China,2017,26(3):265-269.
- [16] Kuo Y H,Tsai W J,Loke S H,et al. *Astragalus membranaceus* flavonoids (AMF) ameliorate chronic fatigue syndrome induced by food intake restriction plus forced swimming [J]. Journal of Ethnopharmacology,2009,122(1):28-34.
- [17] 于文会,张海霞,张春燕,等. 中药饲料添加剂对犬生长性能和生理生化指标的影响 [J]. 中兽医医药杂志,2008,27(4):7-10.
Yu W H,Zhang H X,Zhang C Y,et al. Effects of Chinese herbal feed additives on growth performance and partial physiological and biochemical indexes in dogs [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine,2008,27(4):7-10.
- [18] 余 华,黄迪军,王再漠. 灸法对脾虚大鼠血清 D-木糖含量及红细胞免疫功能的影响 [J]. 上海针灸杂志,1999,18(2):34-35.
Yu H,Huang D J,Wang Z M. Effect of the d-xylose content of serum and RBC immunologic function on model rats of spleen deficiency treated by moxibustion [J]. Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion,1999,18(2):34-35.
- [19] 刘海涛,施家希,黄 娟,等. 补中益气汤对脾虚泄泻大鼠小肠黏膜修复及葡萄糖吸收相关转运体的影响 [J]. 中药材,2017,40(5):1178-1183.
Liu H T,Shi J X,Huang J,et al. Effects of Buzhong Yiqi decoction on repair of small intestine mucous membrane and glucose absorption-related transporters in rats with diarrhea of spleen deficiency type [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials,2017,40(5):1178-1183.
- [20] Ye L,Gong J,Wang Y,et al. Pharmacological activities of Sijunzi decoction which are related to its antioxidant properties [J]. Journal of Chemistry,2014,2014(33):1-10.
- [21] Liu L,Han L,Wong D Y,et al. Effects of Sijunzi decoction polysaccharides on cell migration and gene expression in wounded rat intestinal epithelial cells [J]. Br J Nutr,2005,93(1):21-29.

(10):1-6.

Yang H,Xing X P,Huang Q,et al. Effect of temperature and pH on activities of digestive enzymes in *Perca flavescens* [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition),2014,42(10):1-6.

[27] 林仕梅,麦康森,谭北平. 实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响 [J]. 水生生物学报,2008,32(5):741-749.

Lin S M,Mai K S,Tan B P,et al. Influence of practical diet supplementation with free D-methionine on growth and body composition in tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica,2008,32(5):741-749.

[28] 霍雅文,曾雯婷,金 敏,等. 凡纳滨对虾幼虾的蛋氨酸需要量 [J]. 动物营养学报,2014,26(12):3707-3716.

Huo Y W,Zeng W P,Jin M,et al. Methionine requirement of juvenile pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Journal of Animal Nutrition,2014,26(12):3707-3716.

[29] 彭 艳,唐 凌,帅 柯,等. 蛋氨酸对幼建鲤生长及消化吸收功能的影响 [J]. 中国畜牧杂志,2009,45(13):33-38.

Peng Y,Tang L,Shuai K,et al. Effect of methionine on digestion and absorption of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition,2009,45(13):33-38.

[30] 帅 柯. 蛋氨酸对幼建鲤消化功能和免疫功能的影响 [D]. 四川雅安:四川农业大学,2006.

Shuai K. Effect of methionine on digestion and immune function of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [D]. Ya'an,Sichuan:Sichuan Agricultural University,2006.

(上接第 22 页)

[22] 任丹丹,贺胜男,曹程鸣,等. 加味四君子汤对仔猪消化吸收功能及小肠 EGF 表达的影响 [J]. 中国兽医科学,2016,46(8):1065-1072.

Ren D D,He S N,Cao C M,et al. Effect of supplementary Si-junzi decoction on digestive and absorptive functions and EGF expression of small intestine in piglets [J]. Chinese Veterinary Science,2016,46(8):1065-1072.

[23] 吴丽萍,张 琨,谢志军. 基于“脾失运化”探讨肠道菌群紊乱与肥胖的关系 [J]. 浙江中医杂志,2017,52(11):790-791.

Wu L P,Zhang K,Xie Z J. Study on the relationship between intestinal flora disorder and obesity based on spleen inactivation [J]. Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine,2017,52(11):790-791.