

基于生物电阻抗评价大鼠脾虚水湿内停模型

李伟，陈冉，欧美凤，蒋沙沙，范胜楠，王运来，许钒*
(安徽中医药大学 药学院，中药复方安徽省重点实验室，合肥 230012)

[摘要] 目的：通过生物电阻抗法(BIA)与传统指标评价复合因素诱导脾虚水湿内停模型的成模标准。方法：将 40 只大鼠分为空白组和模型组,每组 20 只。空白组大鼠给予正常饲料喂养;模型组大鼠采用饮食不节结合劳倦过度法制备大鼠脾虚水湿内停模型 14 d。观察大鼠的一般状况,烘干法检测大鼠粪便含水率,称量法检测水负荷指数,酶联免疫吸附测定(ELISA)检测尿 D-木糖排出量,血清总蛋白(TP),白蛋白(Alb)含量,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肾髓水通道蛋白 1(AQP1)含量,同时运用实验动物体组成测定分析仪检测总含水率(TBW),细胞外含水率(ECF),细胞内含水率(ICF),脂肪量(FM),除脂肪量(FFM)和身体质量指数(BMI)等生物电阻抗指标。结果：与空白组比较,模型组大鼠逐渐消瘦,偶尔稀便,肛温基本不变,体质量,D-木糖排泄量,水负荷指数,TP 和 Alb 含量显著降低($P<0.01$),粪便含水率和肾髓 AQP1 蛋白表达显著升高($P<0.01$);TBW,ECF 和 FFM 升高,ICF,FM 和 BMI 显著降低($P<0.01$)。结论：饮食不节结合劳倦过度的复合因素诱导脾虚水湿内停模型大鼠会出现体脂率降低和胃肠水液代谢功能的减退,生物电阻抗法可以更直观全面的反映成模情况。

[关键词] 脾虚水湿内停;生物电阻抗;实验动物体组成测定分析仪;水液代谢

[中图分类号] R2-0;R21;R22;R318.14 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2019)22-0049-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192138

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190717.1655.012.html>

[网络出版时间] 2019-07-18 13:20

Evaluation of Rat Model with Spleen Deficiency and Dampness Stagnancy Based on Bioelectrical Impedance

LI Wei, CHEN Ran, OU Mei-feng, JIANG Sha-sha, FAN Sheng-nan, WANG Yun-lai, XU Fan*
(School of Pharmacy, Key Laboratory of Chinese Medicine Formula of Anhui Province,
Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the model with spleen deficiency and dampness stagnancy by bioelectrical impedance analysis (BIA) and traditional indicators. **Method:** The forty rats were divided into blank group and model group, with 20 rats in each group. The rats in the blank group were fed with normal feed, the rats in model group were prepared with the spleen deficiency and dampness stagnancy model for 14 days. Observe the general condition of the rats, measure the water content of the feces in the dry method, measure the water load index by weighing method, and detect the urinary D-xylose excretion total protein (TP), albumin (Alb) content, by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Western blot analysis of renal aquaporin 1 (AQP1) content, and the use of experimental animal body composition analyzer to determine the total water content (TBW), extracellular fluid (ECF), intracellular fluid (ICF), fat mass (FM), free fat mass (FFM) and body mass bioelectrical impedance index such as body mass index (BMI). **Result:** Compared with blank group, the rats in model group lost weight, gradually loose stools occasionally, the anus temperature was basically unchanged, body mass, D-xylose excretion, water load index, TP and Alb content decreased ($P<0.01$). The feces contained

[收稿日期] 20190321(004)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573720)
[第一作者] 李伟,在读硕士,从事中药复方药理作用机制研究,E-mail:1540166850@qq.com
[通信作者] *许钒,博士,教授,博士生导师,从事中药复方药理作用机制研究,E-mail: 845570851@qq.com

water, the rate and the content of AQP1 in the renal pulp were increased ($P < 0.01$). The TBW, ECF and FFM were increased, and the ICF, FM and BMI were decreased ($P < 0.01$). **Conclusion:** Rats with spleen deficiency and dampness stagnancy induced a combination of factors such as diet and excessive fatigue. The bioelectrical impedance method can be more intuitive and comprehensive.

[**Key words**] spleen deficiency and dampness stagnancy; bioelectrical impedance; experimental animal body composition determination analyzer; water liquid metabolism

脾主运化水湿,为后天之本,脾虚则会影响脾的运化升清功能,导致胃肠吸收障碍和水液代谢异常。《脾胃论》中记载:“饮食失节,甘肥过度,脾胃乃伤”及“形体劳役则脾病”,故大鼠饮食不节,力竭性游泳,则会使其胃肠受损,劳倦过度,损伤脾气,导致脾虚水湿内停^[1]。脾虚证的现代研究起于 20 世纪 70 年代末的脾虚证动物模型研究,随后涉及到消化系统和能量代谢等诸多方面^[2],国内外学者通常采用检测血清或者尿液等指标间接反映成模情况^[3],虽然取得了一定的效果,但都不够直观。生物电阻抗法(BIA)是根据机体不同成分对电流传导性不同的特性而测量机体含水率和体脂率的方法^[4]。以生物电阻抗为原理的 ImpediVET 实验动物体组成测定分析仪是单通道、四面两极生物阻抗频谱仪,该设备能 1 s 内在 4~1 000 kHz 范围中,扫描 256 个频段,活体测定总含水率(TBW),细胞外含水率(ECF),细胞内含水率(ICF),脂肪量(FM),除脂肪量(FFM)和身体质量指数(BMI)等指标,整体评价机体的胃肠吸收和水液代谢状况。有文献研究表明大鼠“一般状况”和“胃肠功能”为脾虚水湿不化证的主要影响因子^[5],临床研究亦证明肠道疾病多由脾虚引起,而胃肠功能的变化会影响大鼠含水率和体脂率的改变^[6-7]。BIA 检测机体的含水率和体脂率等指标与脾虚水湿内停模型大鼠的主要影响因子“一般状况”和“胃肠功能”相契合,因此采用饮食不节结合劳倦过度法复制大鼠脾虚水湿内停模型^[8],通过 BIA 研究脾虚水湿内停模型大鼠的胃肠吸收及水液代谢功能的改变,首次将 BIA 用于脾虚水湿内停模型大鼠的成模指标检测,以直观而全面地衡量成模情况。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠 40 只,雄性,体质量(220 ± 20) g,购于安徽医科大学实验动物中心,合格证号 SCXK(皖)2015-0002,由安徽中医药大学实验动物伦理委员会审核通过。

1.2 试剂 食用猪油(临沂新程金锣肉制品集团有限公司,批号 S31);甘蓝(合家福超市);生理盐水

(辰欣药液股份有限公司,批号 1804180727);D-木糖测定试剂盒,白蛋白(Alb)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20180905,20180905);D-木糖(上海笛柏化学产品技术有限公司,浓度 ≥ 99%);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术有限公司,批号 P0012S);β-肌动蛋白(β-actin)抗体(北京中杉生物技术有限公司,批号 TA-09);水通道蛋白 1(AQP1)抗体(美国 Abbkine 公司,批号 ABP54889);辣根过氧化物酶(HRP)标记免疫球蛋白(Ig)G(美国 EarthOx 公司,批号 ATRJA2601)。

1.3 仪器 318 MC 型酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司);Eppendorf Centrifuge 5810 R 型离心机(德国 Eppendorf 公司);FA2004 型电子天平(上海精科仪器有限公司);Impedi VET BIS1 型实验动物体组成测定分析仪(澳大利亚 ImpediMed 公司);Amersham Imager 600 型曝光仪(美国通用电气公司);MB-102 型振荡恒温金属浴(杭州博日科技有限公司);BHWY-100BC 型恒温振荡培养箱(常州杰博仪器有限公司);AF-10 型自动制冰机(意大利 Scoasman 公司);VE-186 型转膜仪,VE-180 型电泳槽,EPS 300 型电泳仪(上海天能科技有限公司);GL 型电子体温计(深圳市格朗电器有限公司)。

2 方法

2.1 模型制备^[8] 大鼠适应性饲养 3 d 后,开始造模,模型组大鼠第 1 天仅喂食甘蓝,次日按 15 mL·kg⁻¹ 剂量灌胃猪油,如此循环,同时每日温水游泳造成力竭,力竭标准:大鼠口鼻没入水中,四肢及尾巴摆动缓慢,口鼻一次性冒泡 5 个为止。连续造模 14 d,且在第 1,4,7,10,14 天测定大鼠体质量和肛温。空白组除正常饮水喂食(10 g/只鼠粮)外,不做其他任何处理。模型组大鼠每日给予 4 g/只鼠粮,正常饮水。模型大鼠出现体质量降低,肛温不变,自主活动能力下降等症状则表示造模成功^[9]。

2.2 烘干法检测粪便含水率 收集大鼠粪便后,于 80 ℃ 烘箱内干燥 24 h,取出放凉,测干重。测定后,放入 80 ℃ 烘箱内干燥 1 h,取出称质量。2 次质量

差值不大于 3 mg,即认为质量恒定。粪便含水率 = (湿重 - 干重)/湿重 × 100%。

2.3 ELISA 检测尿液 *D*-木糖排出量 血清总蛋白 (TP), Alb 含量 禁食 12 h 后用 3% *D*-木糖 20 mL·kg⁻¹ 剂量灌胃,收集 5 h 尿液,按 *D*-木糖试剂盒说明书测定尿液 *D*-木糖排出量。各组大鼠禁食不禁水 12 h, 动物眼静脉丛取血,静置 2 h, 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,吸取上清,按试剂盒说明书测定血清 TP 和 Alb 含量。

2.4 称量法检测大鼠水负荷指数 各组大鼠禁食 12 h,称量体质量,作为正常对照值,然后每只大鼠腹腔注射 10 mL·kg⁻¹ 生理盐水,水负荷后分别称量 0,1,2,4,6 h 体质量及尿量,期间禁食、禁水。计算每个时间点体质量下降值,并同时测定收集的 6 h 总排尿量。

2.5 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测肾髓 AQP1 蛋白表达 取质量为 100 mg 左右的肾髓组织置于匀浆器中,加入裂解液 1 mL,冰上研磨完全,充分裂解后将匀浆液转移至 1.5 mL 离心管中,置于冷冻离心机中 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清备用。加入上样缓冲液,SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,加稀释好的 AQP1 抗体一抗 (1:1 000),4 ℃ 过夜。洗膜,加入稀释后的 HRP 标记的 IgG 二抗 (1:1 万),37 ℃ 孵育 2 h。化学发光、显影、定影,使用凝胶成像系统进行扫描,用 Image J 软件测定条带的灰度值。

2.6 以生物电阻抗为原理的实验动物体组成测定 分析仪检测动物体成分 各组大鼠禁食 12 h 后,乙醚麻醉,固定于蛙板上,使之四肢垂直躯干,尾巴伸直,平趴在实验台上,将实验动物体组成测定分析仪红、黄、蓝、黑 4 个电极依次通过特制注射针头穿过大鼠两耳之间向上 2 cm,两耳之间,两大腿根部中

间及垂直向下 2 cm 处的皮肤,输入受试动物品种、性别、身体长度、体质量和周龄等信息,点击 "Measure" 键测定动物体成分指标^[10],主要包括 TBW,ECF,ICF,FM,FFM,BMI 等指标,连续测量 3 次取平均值。

2.7 统计学分析 实验数据使用统计学软件 SPSS 23.0 进行分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数比较采用 *t* 检验,多组均数比较采用单因素方差分析,方差齐性时,组间两两比较采用 LSD 法,如方差不齐,组间两两比较采用 Dunnett's T3 法,*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 脾虚水湿内停模型对大鼠一般状况的影响 与空白组比较,模型组大鼠从第 3 天开始,游泳耐力下降,表现出逐渐消瘦,偶尔稀便,后期食物摄入量减少,饮水量减少。出现倦怠懒动,眯眼,弓背,毛发疏松、蓬乱无光等症状,与中医脾虚症状相吻合。

3.2 脾虚水湿内停模型对大鼠体质量增长情况和肛温变化情况的影响 与空白组比较,模型组大鼠随着造模时间延长体质量逐渐降低,在第 1,4,7 天,虽然体质量降低,但无统计学差异,第 10,14 天体质量变化有显著性差异 (*P* < 0.01),而肛温基本不变。见表 1,2。

3.3 脾虚水湿内停模型对大鼠水负荷指数的影响 与空白组比较,模型组大鼠排尿量较慢而且最终排尿量较少,最终 6 h 尿量有显著性差异 (*P* < 0.01)。见表 3。

3.4 脾虚水湿内停模型对大鼠粪便含水率,尿 *D*-木糖排出量,TP 和 Alb 含量的影响 与空白组比较,模型组大鼠粪便含水率显著升高 (*P* < 0.01),尿液中 *D*-木糖排出量,血清 TP 和 Alb 含量均显著降低 (*P* < 0.01)。见表 4。

表 1 脾虚水湿内停模型对大鼠体质量变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 1 Effect of spleen deficiency and dampness stagnancy model on body mass changes in rats($\bar{x} \pm s, n = 20$)							g
组别	剂量/mL·100 g ⁻¹	第 1 天	第 4 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	
空白	-	231.4 ± 10.2	230.4 ± 9.6	229.2 ± 10.8	229.2 ± 9.2	228.6 ± 10.3	
模型	1.5	230.1 ± 9.8	229.8 ± 10.1	222.0 ± 9.4	219.5 ± 10.1 ¹⁾	219.2 ± 10.4 ¹⁾	

注:与空白组比较¹⁾ *P* < 0.01 (表 3 ~ 6 同)。

表 2 脾虚水湿内停模型对大鼠肛温的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 2 Effect of spleen deficiency and dampness stagnancy model on anus temperature in rats($\bar{x} \pm s, n = 20$)							℃
组别	剂量/mL·100 g ⁻¹	第 1 天	第 4 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	
空白	-	38.1 ± 0.2	37.9 ± 0.3	38.0 ± 0.3	38.0 ± 0.2	38.0 ± 0.3	
模型	1.5	38.1 ± 0.3	37.8 ± 0.3	38.0 ± 0.3	38.2 ± 0.2	37.9 ± 0.3	

表 3 脾虚水湿内停模型对大鼠腹腔注射生理盐水后体质量和尿量的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 3 Effect of spleen deficiency and dampness stagnancy model on body mass and urine volume after intraperitoneal injection of saline ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量 /mL·100 g ⁻¹	体质量/g					6 h 尿量 /mL
		0 h	1 h	2 h	4 h	6 h	
空白	—	228.6 ± 10.3	227.8 ± 9.8	226.7 ± 10.0	225.9 ± 10.6	225.2 ± 10.1	5.0 ± 0.4
模型	1.5	219.2 ± 10.7	218.8 ± 10.2	218.3 ± 9.9	217.8 ± 10.4	217.4 ± 10.3	2.6 ± 0.3 ¹⁾

表 4 脾虚水湿内停模型对大鼠粪便含水率,D-木糖排出量,TP 和 Alb 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 4 Effect of spleen deficiency and dampness stagnancy model on fecal water content, D-xylose excretion, TP and Alb content in rats ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/mL·100 g ⁻¹	粪便含水率/%	D-木糖/g	TP/g·L ⁻¹	Alb/g·L ⁻¹
空白	—	0.42 ± 0.08	0.064 ± 0.02	55.05 ± 2.08	34.55 ± 1.70
模型	1.5	0.54 ± 0.10 ¹⁾	0.023 ± 0.02 ¹⁾	42.73 ± 2.10 ¹⁾	23.32 ± 1.50 ¹⁾

3.5 脾虚水湿内停模型对肾髓 AQP1 蛋白表达的影响 与空白组(5.89 ± 0.45)比较,模型组大鼠肾髓 AQP1 蛋白相对表达量(7.16 ± 0.5)显著升高($P < 0.01$)。见图 1。



A. 空白组;B. 模型组

图 1 大鼠肾髓 AQP1 蛋白表达电泳

Fig.1 Electrophoresis of AQP1 protein expression in renal pulp of rats

3.6 脾虚水湿内停模型对大鼠体内 TBW,ECF 和 ICF 的影响 与空白组比较,模型组大鼠 TBW 和 ECF 显著升高($P < 0.01$),ICF 显著降低($P < 0.01$)。见表 5。

表 5 脾虚水湿内停模型对大鼠体内 TBW,ECF and ICF 的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 5 Effect of spleen deficiency and dampness stagnancy model on TBW, ECF and ICF in rats($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/mL·100 g ⁻¹	TBW	ECF	ICF
空白	—	50.5 ± 5.2	35.8 ± 2.6	64.2 ± 2.2
模型	1.5	61.8 ± 4.3 ¹⁾	45.7 ± 2.3 ¹⁾	54.3 ± 3.0 ¹⁾

3.7 脾虚水湿内停模型对大鼠 FM,FFM 和 BMI 的影响 与空白组比较,模型组大鼠 FM 和 BMI 降低($P < 0.01$),FFM 升高($P < 0.01$)。见表 6。

4 讨论

《黄帝内经·素问·至真要大论》指出:“诸湿肿皆属于脾”。中医所谓的“湿”分为有形的外湿和无

表 6 脾虚水湿内停模型对大鼠 FM,FFM 和 BMI 的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 6 Effect of spleen deficiency and dampness stagnancy model on FM, FFM and BMI in rats($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	FM/%	FFM/%	BMI
空白	30.2 ± 4.6	69.8 ± 5.1	10.3 ± 0.4
模型	19.3 ± 3.3 ¹⁾	81.7 ± 3.6 ¹⁾	9.2 ± 0.3 ¹⁾

形的内湿,外湿指自然界的湿气,内湿多由体内水液代谢失衡产生^[11]。外湿致病首先伤脾,脾失健运易生内湿,内湿之体更易受到外湿侵袭,阻滞中焦脾胃,则发为水肿、倦怠、饮食减少等病证^[12]。有文献研究表明,水湿不化可引起一系列胃肠消化、吸收及运动障碍等症状^[13],甚至引起胃肠功能障碍而导致泄泻和水肿^[14-15]。因此采用饮食不节制和每日力竭游泳的复合方法诱导大鼠脾虚水湿内停模型,饮食不节制损伤脾胃,导致吸收障碍,力竭游泳则劳倦过度耗伤脾气而致脾虚,脾虚导致水液代谢失调引发一系列水肿状况^[16]。水肿是指组织间隙过量的体液滞留,发生水肿的原因有很多,其中一种就是营养不良性水肿导致体液平衡失调。引起体液平衡失调的原因是血浆胶体渗透压降低,见于蛋白质吸收不良或营养不良。当血浆白蛋白含量降到 25 g·L⁻¹或总蛋白含量降到 50 g·L⁻¹时,将出现全身性水肿。实验结果显示,与空白组比较,模型组大鼠体质量显著降低,而肛温基本不变,提示模型组大鼠是脾气虚,而不是阳虚或者阴虚,这与文献[17]研究的脾虚多为脾气虚相一致;模型组大鼠排尿量较慢而且最终排尿量较少,粪便含水率升高,尿液中 D-木糖排出量降低,提示模型组大鼠出现一定程度的水液

代谢障碍;模型组大鼠血清总蛋白含量降低,表明模型组大鼠可能因脾虚而导致营养和吸收障碍,这与文献研究的脾虚大鼠多有胃肠吸收障碍相一致^[18-20];模型组大鼠白蛋白含量降低,提示模型组大鼠因脾虚导致水肿;模型组大鼠 AQP1 含量升高,提示模型组大鼠出现水液失调状况。

BIA 是基于恒定电流流经机体不同组织的电阻不同的理论,根据低频电流不能穿过细胞膜,而高频电流既能穿过细胞膜又能穿过细胞间液,因而可分别检测出 TBW 和 ECF,二者相减计算出 ICF,从而较好的反映机体体液的分布状况,以此计算并分析与人体成分相关的电阻抗信息^[21],可全面评估受检者的营养状态和能量代谢状况。BIA 具有高度重复性,操作简单,快速获取数据的优点,在临床、人体总体水和体脂含量评价方面的作用和效果已经得到了验证^[22-24]。在现代医学中,生物阻抗广泛应用于人体成分分析(如用于营养和运动医学等领域的人体水分、非脂肪物质、热量损耗分析等)、消化功能的检测与评价以及泌尿系统检测等诸多方面^[25-26]。有临床试验^[27]发现主观整体评估法与 BIA 对营养状况的评估呈高度一致性,并已广泛应用于多项流行病学研究^[28-31]。有文献报道 BIA 也被用于临床前的动物研究^[32-33],董晓敏等^[34]研究发现以生物电阻抗为工作原理的 Impedi VET BIS1 型实验动物体组成测定分析仪可应用于医学实验领域,并具有携带方便操作可行的特点。

脾虚水湿内停模型大鼠出现的水肿类似于营养不良性水肿,而基于生物电阻抗的实验动物体组成测定分析仪可以在不伤害动物的前提下,测定实验动物整体的 FM,FFM 和 BMI 等指标系统评价模型大鼠的营养状况;测定模型动物的 TBW,ECF 和 ICF 等指标,系统评价实验动物整体的体内水液停留情况。根据实验结果,与空白组比较,模型组大鼠 TBW 和 ECF 升高,ICF 降低,可能是因为脾虚导致水液失调而引起细胞间液水液潴留而出现一定程度的水肿情况,这与传统中医记载的脾虚则水液代谢失调而引发水肿相吻合。与空白组比较,模型组大鼠 FM 和 BMI 降低,FFM 升高,BMI 结合 FM 作为衡量胖瘦和是否健康的重要指标,可以看出模型组大鼠相对更瘦弱,这与传统中医记载的脾虚则胃肠吸收不良而导致瘦弱相吻合。相对于通过观察大鼠的一般状况和测定总蛋白含量等指标评价大鼠的营养状况,测定生物电阻抗数据更安全,方便,而且更准确的通过大鼠整体的脂肪含量和身体质量分数反映

大鼠的营养状况。相对于通过测定模型大鼠的粪便含水率、水负荷指数、白蛋白含量和肾髓 AQP1 含量等指标评价大鼠的水液代谢情况,生物电阻抗数据可以直接测量大鼠的总含水率、细胞外含水率和细胞内含水率,更直观的评价模型大鼠的成模情况,而且对模型大鼠的损伤较小,为后续的实验提供准确的数据支撑。

综上所述,BIA 能更直观的反映脾虚水湿内停模型大鼠的成模情况,有望成为衡量大鼠营养状况和水液代谢状况的新评价方法,推广应用于医学动物实验领域,具有一定的可行性与实际意义。

[参考文献]

[1]

贺志有,张帆.常用脾虚证动物模型造模方法的研究概况[J].内蒙古中医药,2012,31(6):110-111.

[2]

吕林,王凤云,唐旭东,等.脾虚型功能性消化不良大鼠胃组织 GRP78/BiP 蛋白表达及脾虚 1 号方干预研究[J].中国中西医结合杂志,2018,38(1):54-59.

[3]

陈静,李斌,孙云超,等.白术对脾虚水湿内停大鼠的利尿药效物质研究[J].辽宁中医杂志,2016,43(10):2210-2213.

[4]

张德平,刘静民,郑秀媛.人体水分测量技术综述[J].中国医学物理学杂志,2012,29(1):3184-3187.

[5]

崔宁,赵文晓,韩冰冰,等.基于因子分析的大鼠脾虚水湿不化模型评价研究[J].中国中医基础医学杂志,2016,22(1):35-37,65.

[6]

张亚利,郑烈,郭倩,等.健脾清肠方对激素依赖脾虚湿热型溃疡性结肠炎患者激素撤退的影响[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(10):69-73.

[7]

张星星,吴坚,裴丽霞,等.健脾疏肝法对腹泻型肠易激综合征患者疗效观察及对肠道菌群的影响[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(13):79-86.

[8]

李斌,冉小库,孙云超,等.茯苓对脾虚水湿内停大鼠的健脾利尿药效物质研究[J].世界中医药,2015,10(12):1859-1867.

[9]

高洁.基于复合因素的大鼠脾虚水湿不化模型的建立与评价[D].济南:山东中医药大学,2015.

[10]

董晓敏,李嘉辉,张伟娇,等.生物阻抗频谱技术检测 Wistar 大鼠体液成分和脂肪分布的初步研究[J].实验动物科学,2014,31(2):25-28.

[11]

李艳,严灿.湿的实质探讨[J].云南中医学院学报,2000,23(3):32-35.

[12]

汪海东,吴晴,王秀薇,等.中医湿病的现代认识[J].中医杂志,2015,56(13):1089-1092.

[13]

薛晓倩,黄学宽,高宁,等.化湿液对湿阻证大鼠血清 D-木糖及 Ghrelin 含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(12):206-209.

[14] CHEN X, NIE H, LIU W, et al. Efficacy and safety of Hou Gu Mi Xi on Spleen Qi deficiency in patients with nonorganic gastrointestinal disorders: protocol for a multicenter, randomized, placebo-controlled trial[J]. Evid-based Compl Alt, 2018, doi: 10.1155/2018/1980491.

[15] NING Y Z, WU F Z, XUE S, et al. Enhanced functional connectivity of the default mode network (DMN) in p-atients with spleen deficiency syndrome: a resting-state fMR I study[J]. Medicine, 2019, 98(5): e14372.

[16] 高洁, 韩旭, 韩冰冰, 等. 复合建模因素诱导脾虚水湿不化模型大鼠免疫功能的改变[J]. 中医药信息, 2015, 32(1): 40-42.

[17] 黄张杰, 陈炜璇, 施旭光. 补中益气汤不同配伍对脾虚证大鼠尿液代谢组学的影响[J]. 中药材, 2018, 41(12): 2901-2905.

[18] 钟子劭, 张海燕, 张望, 等. 四君子汤对脾虚证胃肠道动力障碍大鼠胃平滑肌 CaM-MLCK 信号通路的机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(5): 95-99.

[19] 钟子劭, 黄穗平, 张望, 等. 脾虚证功能性消化不良大鼠胃窦平滑肌 CNP-NPRB-cGMP 通路改变及四君子汤的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(13): 133-137.

[20] 吕林, 王凤云, 唐旭东, 等. 脾虚一号方对脾虚型功能性消化不良大鼠胃组织线粒体呼吸链复合物Ⅳ亚单位的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 102-108.

[21] 董秀珍. 生物电阻抗技术研究进展[J]. 中国医学物理学杂志, 2004, 6: 311-317, 320.

[22] Maioli M, Toso A, Leoncini M, et al. Bioimpedance-guided hydration for the prevention of contrast-induced kidney injury: the HYDRA study[J]. Am Coll Cardiol, 2018, 71(25): 2880-2889.

[23] Ng J K, LI P K. Fluid management and bioimpedance study in peritoneal dialysis [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2019, 28(1): 58-64.

[24] Shypailo R J, Motil K J. The Use of Bioimpedance in pediatric health, nutrition, and disease [J]. Pediatr Gastroenterol Nutr, 2018, 67(4): 435-436.

[25] 王倩, 许欢, 周广敏, 等. 生物阻抗测量技术及其临床应用研究进展[J]. 北京生物医学工程, 2014, 33(2): 185-190.

[26] Scholz B, Anderson R. On electrical impedance sacaning: principles and aimulations [J]. Electromedica, 2000, 68: 35-44.

[27] 胡学军, 何桂花, 黄小莉, 等. 生物阻抗法对功能性消化不良患者的营养评估[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(4): 963-965.

[28] Shafer K J, Siders W A, Johnson L K. Validity of segmental multiple-frequency bioelectrical impedance analysis to estimate body composition of adults across a range of body mass indexes[J]. Nutrition, 2009, 25(1): 25-32.

[29] Johnson S C A, Forhan M, Padwal R S, et al. Practical Considerations for body composition assess-ment of adults with class II/III obesity using bioelectrical impedance analysis or dual-energy X-ray abs-orptiometry [J]. Curr Obes Rep, 2016, 5(4): 389-396.

[30] WAN C S, Ward L C, Halim J, et al. Bioelectrical impedance analysis to estimate body composition, and change in adiposity, in overweight and obese adolescents: comparison with dual-energy x-ray absorptiometry[J]. BMC Pediatrics, 2014, 14(1): 249.

[31] Böhm A, Heitmann B L. The use of bioelectrical impedance analysis for body composition in epidemiological studies[J]. Eur J Clin Nutr, 2013, doi: 10.1038/ejcn.2012.168.

[32] HU L, Maslanik T, Zerebeckyj M, et al. Evaluation of bioimpedance spectroscopy for the measurement of body fluid compartment volumes in rats [J]. Pharmacol Toxicol Methods, 2012, 65(2): 75-82.

[33] Masuda T, Watanabe Y, Fukuda K, et al. Unmasking a sustained negative effect of SGLT2 inhibition on body fluid volume in the rat[J]. Am J Physiol Renal, 2018, 315(3): F653-F664.

[34] 董晓敏, 童学红, 郝刚. ImpediVET 实验动物体组成测定分析仪在医学机能学第二课堂实验教学中的应用[J]. 中国医学装备, 2013, 10(11): 66-68.

[责任编辑 孙丛丛]