

“香胃联合方组”对肝硬化大鼠血浆内毒素水平的影响

寇永锋, 门九章, 郝瑞春

山西中医药大学, 山西 晋中 030619

摘要: **目的** 观察“香胃联合方组”对肝硬化大鼠血浆内毒素水平的影响,探讨“香胃联合方组”降低血浆内毒素的作用机制。**方法** 85 只 Wistar 大鼠随机抽取 10 只为正常组,10 只为香胃联合预防组(预防组),10 只为乳果糖预防组(预对照组),55 只为纯造模组。采用四氯化碳复合因素制造肝硬化模型。造模期间,预防组给予香砂六君子汤 $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、胃苓汤 $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 隔日交替灌胃;预对照组给予乳果糖口服溶液 $2.083 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,每日一次;正常组和纯造模组每日一次给予等量生理盐水 $1 \text{ ml}/100 \text{ g}$ 灌胃。造模持续 8 周。造模过程中大鼠死亡 19 只。造模成功后,正常组 8 只,预防组 9 只,预对照组 8 只,纯造模组随机分为模型组 9 只,香胃联合方组(香胃组)8 只,香砂六君子汤组(香砂组)8 只,胃苓汤组(胃苓组)8 只,乳果糖对照组(治对照组)8 只。预防组、预对照组继续给予相应的药灌胃;正常组和模型组继续给予等量生理盐水灌胃;香胃组给予香砂六君子汤 $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、胃苓汤 $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 隔日交替灌胃;香砂组给予香砂六君子汤 $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,每日一次;胃苓组给予胃苓汤 $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,每日一次;治对照组给予乳果糖口服溶液 $2.083 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,日一次;12 周后观察各组血浆内毒素、血清肠脂肪酸结合蛋白(IFABP)、D-乳酸及小肠组织分泌型免疫球蛋白 A(sIgA)、Occludin mRNA 水平;苏木精-伊红(HE)染色观察小肠组织病理表现。**结果** 血浆内毒素、血清 D-乳酸、IFABP 水平,正常组 < 预防组 < 预对照组 < 香胃组 < 香砂组、胃苓组 < 治对照组 < 模型组,除胃苓组和香砂组之间比较无统计学差异外($P > 0.05$),其余各组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。小肠组织 sIgA、Occludin mRNA 水平,正常组 > 预防组 > 预对照组 > 香胃组 > 胃苓组 > 香砂组 > 治对照组 > 模型组,除胃苓组和香砂组之间比较无统计学差异外($P > 0.05$),其余各组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论** 香胃联合方组通过减少肝硬化大鼠血清 D-乳酸、小肠 IFABP 水平,降低肠黏膜通透性,增加紧密连接 Occludin 蛋白表达,提高 sIgA 的分泌水平,从而降低肝硬化大鼠血浆内毒素水平。

关键词: 香胃联合方组; 肝硬化; 内毒素; 肠脂肪酸结合蛋白; 分泌型免疫球蛋白 A

中图分类号: R 575.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)06-0730-06

Effect of Xiangwei comined decoction on plasma endotoxin level in cirrhotic rats

KOU Yong-feng, MEN Jiu-zhang, HAO Rui-chun

Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong, Shanxi 030619, China

Corresponding author: MEN Jiu-zhang, E-mail: zydrmjz2005@163.com

Abstract: Objective To observe the influence of Xiangwei combined decoction on plasma endotoxin level in cirrhotic rats, and to investigate the mechanism of Xiangwei combined decoction in reducing plasma endotoxin. **Methods** Eighty-five Wistar rats were randomly selected, 10 as normal group, 10 as Xiangwei combined prevention group (prevention group), 10 as lactulose prevention group (pre-control group), and 55 as pure model group. The model of liver cirrhosis was established by carbon tetrachloride combined factors. During the modeling period, the preventive group was given $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ Xiangsha Liujunzi decoction and $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ Weiling decoction alternately every other day; the pre-treated group was given $2.083 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ lactulose oral solution once a day; the normal group and the pure model group were given $1 \text{ ml}/100 \text{ g}$ normal saline once a day. The model lasted for 8 weeks. Nineteen rats died during the process of establishing the model. After successful modeling, there were 8 rats in the normal group, 9 in the prevention group and 8 in the pre-pair group, and the 41 rats in the pure model group were randomly divided into the model group ($n = 9$), Xiangwei combined prescription group (Xiangwei group, $n = 8$), Xiangsha Liujunzi decoction group (Xiangsha group, $n = 8$), Weiling decoction group (Weiling group, $n = 8$), and the lactulose control group (treatment-control group, $n = 8$). The prevention

group and the pre-control group continued to be given corresponding medicines; the normal group and the model group continued to be given the same amount of saline; the Xiangwei group was given Xiangsha Liu junzi decoction $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, Weiling decoction $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ alternately every other day; the Xiangsha group was given Xiangsha Liu junzi decoction $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, once a day; the Weiling group was given Weiling decoction $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, once a day. The treatment-control group was given lactulose oral solution $2.083 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ by gastric perfusion once a day. After 12 weeks, the levels of plasma endotoxin, serum intestinal fatty acid binding protein (IFABP), D-lactic acid and secretory immunoglobulin A (sIgA) and Occludin mRNA in small intestine tissues were observed, and the pathological features of small intestine tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. **Result** The levels of plasma endotoxin, serum D-lactic acid and IFABP in normal group, prevention group, pre-control group, Xiangwei group, Xiangsha group/Weiling group, treatment-control group and model group increased in order, and there were significant differences between the other two groups, except that there was no significant difference between Weiling group and Xiangsha group ($P > 0.05$). The levels of sIgA and Occludin in small intestine tissues were decreased in the order of normal group, prevention group, pre-control group, Xiangwei group, Weiling group, Xiangsha group, treatment-control group and model group, and there were significant differences between the other two groups, except that there was no significant difference between Weiling group and Xiangsha group ($P > 0.05$). **Conclusion** Xiangwei combined decoction can reduce the level of serum D-lactic acid and small intestinal IFABP, reduce intestinal mucosal permeability, increase the expression of tight junction Occludin protein, and increase the secretion level of sIgA in cirrhotic rats, thereby reducing the level of plasma endotoxin in cirrhotic rats.

Key words: Xiangwei combined decoction; Cirrhotic; Endotoxin; Serum intestinal fatty acid binding protei; Secretory immunoglobulin A

Fund program: Shanxi Science and Technology Innovation Team Project (201705D131021); Science and Technology Innovation Team Project of Shanxi University of Chinese Medicine (2018TD-001)

近年来,肝硬化与内毒素之间的关系日益密切。肝硬化时,由于肠道细菌过度生长,导致内毒素生成增多,加之肠黏膜机械屏障、免疫屏障、化学屏障及生物屏障功能破坏,内毒素吸收增多,同时肝脏对内毒素清除能力下降,从而容易形成内毒素血症^[1]。肝硬化内毒素血症形成后,进一步加重肝脏损伤,导致患者病情加重。因此,改善肠黏膜的通透性,降低肝硬化血浆内毒素水平,有利于延缓肝硬化的进展。“香胃联合方组”是门九章教授治疗肝硬化内毒血症时常用的方法,在临床上取得了一定的疗效。本研究从实验角度出发,探讨“香胃联合方组”对肝硬化大鼠血浆内毒素水平的影响,为“香胃联合方组”防治肝硬化肠源性内毒素血症提供参考依据。具体内容如下。

1 材料与方

1.1 实验动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 85 只,体重 $(200 \pm 20) \text{ g}$, 周龄 8 ~ 10 周,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供。

1.2 药物 香砂六君子汤颗粒剂、胃苓汤颗粒剂均由江阴天江药业提供,香砂六君子汤颗粒剂组成为木香 6 g、砂仁 6 g、党参 9 g、炒白术 12 g、茯苓 15 g、陈皮 6 g、半夏 6 g、炙甘草 6 g,实验时用蒸馏水配制成浓度为 0.688 g/ml 药液。胃苓汤颗粒剂组成为苍术

6 g、厚朴 6 g、陈皮 6 g、炒白术 12 g、泽泻 6 g、猪苓 6 g、茯苓 15 g、桂枝 6 g、炙甘草 6 g 组成,实验时用蒸馏水配制成浓度为 0.719 g/ml 药液。乳果糖口服溶液(杜密克)规格为 15 ml: 10 g,由荷兰苏威制药生产,实验时用蒸馏水配成 0.208 g/ml 浓度的药液。

1.3 试剂与仪器

1.3.1 试剂 血浆内毒素(厦门市鲨试剂实验厂,批号 150306); 肠脂肪酸结合蛋白(IFABP)试剂盒(批号 201509)、D-乳酸试剂盒(批号 20150911)、大鼠分泌型免疫球蛋白 A (sIgA) 试剂盒(批号 201612),均购自上海瓦兰生物科技。RNA 提取试剂盒(批号 202126AX)、逆转录试剂盒(批号 262238AH)、荧光定量 PCR 试剂盒(批号 271545AX)均购自北京艾德莱生物。

1.3.2 主要仪器 酶标分析仪(RT-6100),美国雷杜;实时荧光定量 PCR 仪(7500),美国 ABI;基因扩增仪(Tc-xP),杭州博日科技;台式高速冷冻离心机(Fresco17),美国 Thermo。

1.4 分组、造模及用药 将 85 只 Wistar 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分成正常组 10 只,香胃联合预防组(预防组)10 只,乳果糖预防组(预防组)10 只及纯造模组 55 只。除正常组外,其余各组采用四氯化碳复合因素方法制造肝硬化模型^[2],造模持续 8 周时间。造模过程中,大鼠死亡 19 只。其中预防组死亡 1 只,

预防组死亡 2 只, 纯造模组死亡 12 只, 用于判定造模情况处死 4 只, 其中正常组处死 2 只, 纯造模组处死 2 只。造模成功后, 将纯造模组再随机分为 5 组: 模型组 9 只, 香胃联合方组(香胃组) 8 只, 香砂六君子汤组(香砂组) 8 只, 胃苓汤组(胃苓组) 8 只, 乳果糖对照组(治对组) 8 只。实验期间, 按大鼠的剂量 (mg/kg) = $6.25 \times$ 人的剂量 (mg/kg)^[3] 计算。造模期间, 预防组给予香砂六君子汤 $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、胃苓汤 $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 隔日交替灌胃; 预防组给予乳果糖口服溶液 $2.083 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃, 每日一次; 正常组和纯造模组每日一次给予等量生理盐水 $1 \text{ ml}/100 \text{ g}$ 灌胃。造模成功后, 预防组、预防对组继续给予相应的药灌胃; 正常组和模型组继续给予等量生理盐水灌胃; 香胃组给予香砂六君子汤 $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、胃苓汤 $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 隔日交替灌胃; 香砂组给予香砂六君子汤 $6.875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃, 每日一次; 胃苓组给予胃苓汤 $7.188 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃, 每日一次; 治对组给予乳果糖口服溶液 $2.083 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃, 每日一次; 用药过程持续 4 周。

1.5 血浆内毒素、血清 IFABP、D-乳酸及肠组织 S-IgA 的测定 大鼠采用 25% 乌拉坦麻醉后, 腹主动脉取血, 用无热源肝素钠抗凝真空采血管采血后, 迅速 3000 rpm 离心 10 min , 取上层血浆, 按照试剂盒说明书采用鲎试剂显色基质法进行血浆内毒素检测。腹主动脉采血后, 用血清采血管采血, 室温静置 2 h , 3000 rpm 离心 10 min , 取上层血清, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血清中 IFABP、D-乳酸的水平。取小肠组织加入适量生理盐水捣碎, 置入离心机中 3000 rpm 离心 10 min , 然后取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书测定小肠组织 s-IgA 的含量。

1.6 肠组织病理学观察 取大鼠距回盲部 $15 \sim 20 \text{ cm}$ 处回肠组织, 经 4% 中性甲醛溶液固定后, 按梯度乙醇脱水, 浸蜡包埋, 切片厚度为 $4 \mu\text{m}$, 按常规方法进行 HE 染色。光学显微镜下观察小肠组织形态结构及病理变化。

1.7 实时荧光定量 PCR 测定大鼠肠组织 Occludin mRNA 的转录水平 按照说明书的操作步骤提取小肠组织总 RNA, 逆转录生成 cDNA, 然后进行 PCR 扩增。引物设计由武汉金开瑞生物工程提供, Occludin 引物上游序列 CCCAGACCACTATGAAACCG (20bp), 下游序列 TTGACCTCGTCGAGTTCTGC (20bp); 内参 β -actin 引物上游序列 CCCATCTATGAGGGTTACGC (20bp), 下游序列 TTTAATGTCACGCACGATTT (21bp)。在逆转录过程中, 反应体系为 $20 \mu\text{l}$, 肠组

织总 RNA: $1 \mu\text{g}$, Oligo (dT) $18:1 \mu\text{l}$, 5 RT Reaction Mix: $4 \mu\text{l}$, TRUEscript H-RTase/RI Mix: $1 \mu\text{l}$, RNase free H_2O to final volume: $20 \mu\text{l}$ 。扩增条件: 预变性 $97 \text{ }^\circ\text{C}$ 3 min , 变性 $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 10 s , 退火 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 34 s , 共 40 个循环。每个标本重复 3 次, 采用相对定量 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析结果。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析及两两比较 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清内毒素结果比较 血清内毒素水平, 正常组 $<$ 预防组 $<$ 预防对组 $<$ 香胃组 $<$ 香砂组、胃苓组 $<$ 治对组 $<$ 模型组, 除胃苓组和香砂组之间比较无统计学差异外 ($P > 0.05$), 其余各组间两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

2.2 各组大鼠血清 IFABP、D-乳酸和 sIgA 结果比较 血清 IFABP、D-乳酸水平, 正常组 $<$ 预防组 $<$ 预防对组 $<$ 香胃组 $<$ 胃苓组 $<$ 香砂组 $<$ 治对组 $<$ 模型组, 除胃苓组和香砂组之间比较无统计学差异外 ($P > 0.05$), 其余各组间两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。小肠组织 sIgA 水平, 正常组 $>$ 预防组 $>$ 预防对组 $>$ 香胃组 $>$ 胃苓组 $>$ 香砂组 $>$ 治对组 $>$ 模型组, 除胃苓组和香砂组之间比较无统计学差异外 ($P > 0.05$), 其余各组间两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

2.3 各组大鼠肠组织病理学变化 正常组大鼠回肠黏膜绒毛、固有层结构正常, 肠上皮结构完整, 肠黏膜下层有少量淋巴细胞浸润 (图 1a); 模型组大鼠回肠黏膜上皮细胞变性、坏死, 大量绒毛脱落, 上皮下囊状间隙扩大, 中央乳糜管扩张, 固有层裸露, 并伴有毛细血管扩张、充血 (图 1b); 预防组与预防对组大鼠回肠黏膜上皮结构较完整, 绒毛顶端上皮下可见囊状间隙,

表 1 各组大鼠血清内毒素结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

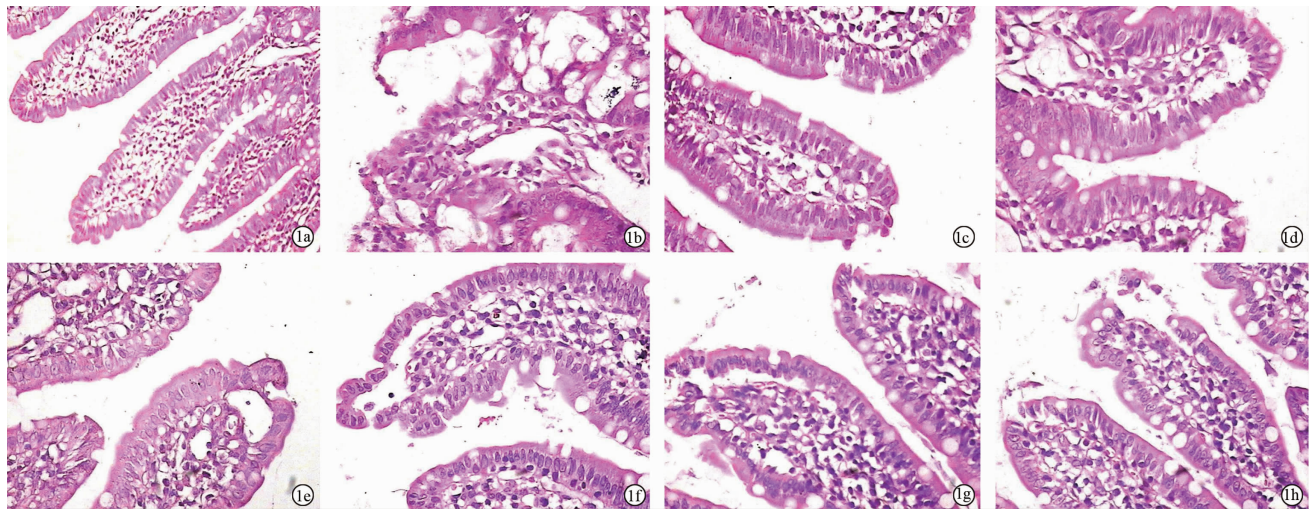
组别	例数	内毒素 (EU/ml)
正常组	8	0.130 ± 0.004
预防组	9	0.230 ± 0.015^1
预防对组	8	$0.260 \pm 0.030^{1,2}$
香胃组	8	$0.420 \pm 0.004^{1,2,3}$
胃苓组	8	$0.450 \pm 0.030^{1,2,3,4}$
香砂组	8	$0.450 \pm 0.010^{1,2,3,4}$
治对组	8	$0.480 \pm 0.010^{1,2,3,4,5,6}$
模型组	9	$0.660 \pm 0.040^{1,2,3,4,5,6,7}$

注: 与正常组比较, ¹ $P < 0.01$; 与预防组比较, ² $P < 0.01$; 与预防对组比较, ³ $P < 0.01$; 与香胃组相比, ⁴ $P < 0.05$; 与胃苓组比较, ⁵ $P < 0.05$; 与香砂组比较, ⁶ $P < 0.05$; 与治对组相比, ⁷ $P < 0.01$ 。

表 2 各组大鼠血清 IFABP、D-乳酸和 sIgA 结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IFABP (pg/ml)	D-乳酸 ($\mu\text{g/L}$)	sIgA ($\mu\text{g/ml}$)
正常组	8	105.13 \pm 11.93	359.27 \pm 19.49	26.67 \pm 1.04
预防组	9	206.92 \pm 43.75 ¹	548.74 \pm 53.27 ¹	24.30 \pm 0.95 ¹
预对组	8	250.31 \pm 16.51 ^{1,2}	617.68 \pm 49.27 ^{1,2}	23.07 \pm 1.28 ^{1,2}
香胃组	8	370.03 \pm 11.96 ^{1,2,3}	919.30 \pm 85.67 ^{1,2,3}	21.16 \pm 0.97 ^{1,2,3}
胃苓组	8	410.69 \pm 69.99 ^{1,2,3,4}	987.87 \pm 91.59 ^{1,2,3,4}	19.94 \pm 1.15 ^{1,2,3,4}
香砂组	8	417.84 \pm 38.70 ^{1,2,3,4}	990.21 \pm 64.45 ^{1,2,3,4}	19.84 \pm 0.65 ^{1,2,3,4}
治对组	8	460.24 \pm 49.79 ^{1,2,3,4,5,6}	1058.52 \pm 98.34 ^{1,2,3,4,5,6}	18.68 \pm 0.75 ^{1,2,3,4,5,6}
模型组	9	882.66 \pm 22.18 ^{1,2,3,4,5,6,7}	1419.78 \pm 31.35 ^{1,2,3,4,5,6,7}	13.91 \pm 0.69 ^{1,2,3,4,5,6,7}

注:与正常组比较,¹ $P < 0.01$;与预防组比较,² $P < 0.01$;与预对组比较,³ $P < 0.01$;与香胃组相比,⁴ $P < 0.05$;与胃苓组比较,⁵ $P < 0.05$;与香砂组比较,⁶ $P < 0.05$;与治对组相比,⁷ $P < 0.01$ 。



注:1a:正常组;1b:模型组;1c:预防组;1d:预对组;1e:香胃组;1f:胃苓组;1g:香砂组;1h:治对组。

图 1 各组大鼠肠组织病理学图片 (HE $\times 200$)

表 3 各组大鼠肠组织 Occludin mRNA 结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组	例数	Occludin mRNA
正常组	8	1.74 \pm 0.23
预防组	9	1.23 \pm 0.17 ¹
预对组	8	1.08 \pm 0.11 ^{1,2}
香胃组	8	0.93 \pm 0.09 ^{1,2,3}
胃苓组	8	0.77 \pm 0.07 ^{1,2,3,4}
香砂组	8	0.77 \pm 0.07 ^{1,2,3,4}
治对组	8	0.63 \pm 0.09 ^{1,2,3,4,5,6}
模型组	9	0.13 \pm 0.02 ^{1,2,3,4,5,6,7}

注:与正常组比较,¹ $P < 0.01$;与预防组比较,² $P < 0.01$;与预对组比较,³ $P < 0.01$;与香胃组相比,⁴ $P < 0.05$;与胃苓组比较,⁵ $P < 0.05$;与香砂组比较,⁶ $P < 0.05$;与治对组相比,⁷ $P < 0.01$ 。

并伴有毛细血管充血。预对组出现中度固有层水肿,中央乳糜管扩张(图 1c、1d);香胃组、香砂组与胃苓组大鼠回肠黏膜上皮结构不完整,少数绒毛顶端脱落,上皮囊状间隙扩大,固有层明显水肿。香胃组与香砂组、胃苓组比较,肠黏膜损伤程度轻,但较预对组重(图 1e、1f、1g);治对组大鼠回肠黏膜上皮细胞变性、坏死,部分绒毛脱落,固有层裸露,伴有毛细血管扩张、充血(图 1h)。

2.4 各组大鼠肠组织 Occludin mRNA 结果比较 大鼠肠组织 Occludin mRNA 水平,正常组 > 预防组 > 预对组 > 香胃组 > 香砂组、胃苓组 > 治对组 > 模型组,

除胃苓组和香砂组之间比较无统计学差异外($P > 0.05$),其余各组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

3 讨论

内毒素是革兰氏阴性菌生长时释放或死亡时由细胞壁裂解产生的一类脂多糖类物质,具有多种毒性作用^[4]。肝硬化时,患者肠道菌群紊乱,革兰阴性菌过度增殖,内毒素产生增多,通过受损黏膜进入体循环,不能及时被 kupffer 细胞清除,形成内毒素血症^[5]。而内毒素血症形成后,进一步加重肝脏损伤,导致肝硬化患者感染、腹水、上消化道出血、肝肾综合征、肝性脑病等并发症的发生^[6]。因此,降低肝硬化内毒素血症有利于延缓肝硬化进展。

肝硬化内毒素血症的形成与肠黏膜屏障功能受损有关,小肠黏膜的病理改变能够反应出肝硬化内毒素血症的严重程度。大鼠小肠黏膜病理观察结果表明,模型组小肠黏膜损伤程度最重;治对组与模型组比较,小肠黏膜损伤轻,但比治疗组重;治疗组中,香胃组与胃苓组、香砂组比较,小肠黏膜损伤轻,但比预对组重;预防组与预对组比较,小肠黏膜损伤程度轻,

但比正常组重。提示香胃联合方组、香砂六君子汤、胃苓汤和乳果糖均有减轻肠黏膜病理损伤的作用,相比而言,香胃联合方组在改善肠黏膜病理损伤方面效果较好,早期预防疗效更佳。

D-乳酸是 L-乳酸的同分异构体,是肠道多种细菌发酵、裂解而形成的代谢终产物。一般来说,血清 D-乳酸在人体内含量很低^[7]。机体在遭受严重创伤、休克、急性肠出血等疾病状态下,肠道发生缺血性损伤,引起肠腔内 PH 值及微环境发生改变,从而使肠道内 D-乳酸水平迅速升高,同时肠黏膜屏障通透性增加,导致外周血中 D-乳酸水平升高^[8]。血浆 D-乳酸可作为创伤后早期肠屏障功能损伤、肠通透性增加、肠源性内毒素血症形成的预警指标^[9]。IFABP 是脂肪酸结合蛋白家族的一员,其特异性地存在小肠中,在脂肪酸的吸收和细胞内的转运中起着重要作用^[10]。正常情况下,血清中的 IFABP 含量很低。当肠缺血等损伤时,IFABP 通过细胞膜并经毛细血管及乳糜管进入血循环。研究表明 IFABP 在诊断早期小肠黏膜损害中有重要价值^[8]。

sIgA 作为一种包被于肠道黏膜的抗体,能保护肠道免受病原微生物和毒素的攻击而不引起炎症反应,对激活黏膜免疫和维持肠道内环境稳态起到重要作用^[11]。例如 sIgA 可与内毒素结合,形成抗原-抗体复合物,经细胞质转运,分泌到肠腔中而被清除^[12]。肝硬化时肠黏膜淋巴细胞产生的 sIgA 明显减少,肠黏膜抵御内毒素能力下降,导致内毒素吸收增多。紧密连接是肠上皮细胞间连接的一种主要形式,对维护上皮细胞两侧物质的差异和保持细胞极性起着重要的作用^[13]。Occludin 蛋白作为构成紧密连接的主要蛋白之一,在维持紧密连接结构方面具有重要作用^[14]。对 Occludin 蛋白的检测,可以在一定程度上反映紧密连接和肠黏膜屏障的情况^[15]。

本研究对大鼠血浆内毒素、D-乳酸、IFABP 及小肠组织 sIgA、Occludin mRNA 研究表明,模型组与预防组、预防组、香胃组、胃苓组、香砂组和治对组比较有显著差异,说明香胃联合方组、香砂六君子汤、胃苓汤和乳果糖均有降低血浆内毒素,改善肠黏膜通透性,增加肠黏膜紧密连接,提高 sIgA 的分泌作用。香胃组、胃苓组、香砂组与治对组比较差异明显,而香胃组与胃苓组、香砂组比较有明显差异,说明香胃联合方组、香砂六君子汤、胃苓汤作用优于乳果糖,并且香胃联合方组的疗效优于香砂六君子汤、胃苓汤;预防组和预防组与香胃组、胃苓组、香砂组、治对组比较有显著差异,并且预防组和预防组之间差异明显,提示香胃联合方组早期预防在降低血浆内毒素,改善肠黏

膜通透性,增加肠黏膜紧密连接,提高 sIgA 的分泌方面疗效更佳。

香胃联合方组是由香砂六君子汤、胃苓汤二首方剂交替服用的方法,是门九章教授治疗肝硬化内毒素血症时常用的治疗手段。其思路首先源于联合方组。联合方组是门纯德教授自创的一种特殊的用方用药形式,即在每次诊病之后,一次性地分别处以二首、三首、甚至更多的方剂,或轮流服用,或按一定的顺序依次服用的方法^[16]。联合方组可以针对疾病的复杂病机,化繁为简,把复杂的病机分解成不同的证候群,然后用与之对应的方剂各个击破而得以解决,即突出地解决疾病的主要矛盾和矛盾的主要方面,又能够顾及次要矛盾和矛盾的次要方面,同时防止单用某一方出现变证的情况,拓宽了方药的使用范围,从而提高疗效^[17]。其次,从文献资料来看,肝硬化内毒素血症中医病机多为热毒内盛、瘀血内结,治疗上常采用清热解毒、活血化瘀等方法^[18]。门九章教授认为从热、瘀的角度认识肝硬化内毒素血症病机并不全面,而且清热解毒、活血化瘀之类药物长时间使用,易伤及脾胃,导致脾失运化而湿浊内生,反而不利于内毒素排泄。因此,门教授提出肝硬化内毒素血症中医病机为肝、脾受损,脾失运化,胃失和降,湿浊阻于肠道。其病理因素以湿浊为主,后期湿邪化热成湿热或湿毒,或者湿邪阻滞气机,气滞日久而形成瘀血。治疗上用“香胃联合方组”健运脾气,理气祛湿,以促进内毒素的排泄。

香胃联合方组中香砂六君子汤重在健脾理气、除湿化痰,胃苓汤重在运脾祛湿。如单用香砂六君子汤,祛湿作用略显不足;若单用胃苓汤,补气健脾作用稍有不足,两方合用则药味较多,药物之间相互制约难以取得满意效果。两方各有侧重,轮流服用,则可有效清除由湿浊内阻形成的内毒素,实验结果证明香胃联合方组在降低血浆内毒素,改善肠黏膜通透性,增加肠黏膜紧密连接,提高 sIgA 的分泌方面优于香砂六君子汤、胃苓汤。

综上所述,香胃联合方组通过减少肝硬化大鼠血清 D-乳酸、IFABP 水平,降低肠黏膜通透性,增加紧密连接 Occludin 蛋白表达,提高 sIgA 的分泌水平,从而降低肝硬化大鼠血浆内毒素水平,延缓肝硬化进展。

参考文献

- [1] 冯丽丽,汪晓军.肝硬化时肠源性内毒素血症形成机制的研究进展[J].中国中西医结合消化杂志,2013,21(9):496-498.

- 2006,11(6):503-511.
- [6] Tian G, Qin K, Wu YM, et al. Outcome prediction by amplitude-integrated EEG in adults with hypoxic ischemic encephalopathy [J]. Clin Neurol Neurosurg, 2012, 114(6):585-589.
- [7] 常冰, 魏义胜, 胡振杰, 等. 亚低温联合咪达唑仑对重症病毒性脑炎患儿血清 β -EP、NSE 水平的影响 [J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(23):115-116.
- [8] 陈锋, 张芙蓉, 孙继民, 等. 亚低温对重症病毒性脑炎患儿血清及脑脊液 NSE、S100B 蛋白表达的影响 [J]. 华中科技大学学报 (医学版), 2017, 46(3):291-294.
- [9] 何双龙, 许健健. 亚低温联合咪达唑仑对重症病毒性脑炎患儿血清 β -EP、NSE 水平的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(5):1065-1068.
- [10] 王翠, 王迪芬. 脑电双频指数对判断急性脑损伤昏迷患者预后的价值 [J]. 贵阳医学院学报, 2015, 40(7):727-729.
- [11] 肖兴鹏, 贾一帆, 陈蕾. 无痛胃镜检查中脑电双频指数指导下地佐辛最适剂量的选择 [J]. 中国临床研究, 2017, 30(5):661-663.
- [12] 陈建军, 司林杰, 姚洁, 等. 脑电双频指数评估弥散性轴索损伤患者脑损伤及预后的临床研究 [J]. 中国急救医学, 2017, 37(5):458-461.
- [13] Selig C, Riegger C, Dirks B, et al. Bispectral index (BIS) and suppression ratio (SR) as an early predictor of unfavourable neurological outcome after cardiac arrest [J]. Resuscitation, 2014, 85(2):221-226.
- [14] 董伦, 汤灿, 张恒柱, 等. 颅内压及脑电双频指数联合监测在重型颅脑外伤患者术后临床应用中的研究 [J]. 国际外科学杂志, 2017, 44(7):464-467, 封 4.
- [15] 董鑫, 邵换璋, 杨亚南, 等. 心肺脑复苏后患者振幅整合脑电图对脑功能预后的早期评价 [J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29(10):887-892.
- [16] 朱玲, 胡兰, 汤磊. 振幅整合脑电图评估 PICU 意识障碍患儿预后的价值 [J]. 重庆医科大学学报, 2016, 41(12):1284-1287.
- [17] 程可萍, 朱品俐, 王艳维. 振幅整合脑电图在新生儿缺氧缺血性脑病中的诊断价值探讨 [J]. 中华全科医学, 2016, 14(4):612-614.
- [18] 许邦礼, 康文清, 鄢文海. 振幅整合脑电图在足月新生儿脑损伤监测中的应用价值 [J]. 中国小儿急救医学, 2016, 23(4):231-235.
- [19] 邓松清, 喻韬, 毛萌, 等. 多导定量分析振幅整合脑电图在脑损伤儿童的临床应用 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2017, 38(6):894-899.

收稿日期:2018-09-18 修回日期:2018-10-25 编辑:周永彬

(上接第 734 页)

- [2] 陆定波, 张赤志, 肖琳, 等. 乳黄制剂对肝硬化大鼠肠源性内毒素血症的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16(4):235-237.
- [3] 周正宇, 薛智谋, 邵义祥. 实验动物与比较医学基础教程 [M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2012:236.
- [4] 李永桂, 杨正根, 曾萍, 等. 内毒素血症的发病机制及治疗研究进展 [J]. 广东化工, 2016, 43(325):143-144.
- [5] 顾林, 燕善军, 王启之, 等. 肝硬化患者肠黏膜屏障功能的变化 [J]. 中华全科医学, 2014, 12(11):1733-1735.
- [6] 钟转华, 陈渝萍. 内毒素与肝硬化并发症的关系及其治疗进展 [J]. 临床荟萃, 2010, 25(4):366-368.
- [7] Chen Z, Wang Y, Zeng A, et al. The clinical diagnostic significance of cerebrospinal fluid D-lactate for bacterial meningitis [J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(19/20):1512-1515.
- [8] 刘玉兰. 整合肝肠病学 - 肝肠对话 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014:108-110.
- [9] Nielsen C, Lindholt JS, Erlandsen EJ, et al. D-lactate as a marker of venous-induced intestinal ischemia: An experimental study in pigs [J]. Int J Surg, 2011, 9(5):428-432.
- [10] 宋梦莹, 张丙宏. 肠型脂肪酸结合蛋白的研究进展 [J]. 职业与健康, 2017, 33(6):839-841.
- [11] 赵雪, 张辉, 刘禹, 等. 分泌型 IgA 对肠道黏膜免疫的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(6):96-99.
- [12] Grootjans J, Thuijls G, Verdam F, et al. Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut [J]. World J Gastrointest Surg, 2010, 2(3):61-69.
- [13] 张宇飞, 稽武, 黎介寿. Occludin 蛋白调控机制及临床意义的研究进展 [J]. 肠外与肠内营养, 2010, 17(3):175-178.
- [14] 吴善斌, 王学清, 郭鸿飞, 等. Occludin 蛋白在重症急性胰腺炎小鼠肠上皮细胞的表达 [J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(3):217-219, 223.
- [15] 潘璠, 刘成霞. 谷氨酰胺对体外肠上皮细胞缺血再灌注损伤后 occludin 蛋白表达的影响 [J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2012, 6(10):2624-2627.
- [16] 门九章. 联合方组治疗慢性病疑难病的经验 [J]. 中国民间疗法, 2001, 9(7):4-5.
- [17] 寇永锋, 门九章. 门九章教授运用联合方组治疗慢性肝病经验 [J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(1):8-10.
- [18] 龙富立, 毛德文, 王秀峰, 等. 中医药治疗肝病内毒素血症的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(5):1028-1030.

收稿日期:2018-10-08 编辑:王娜娜