

藿香正气软胶囊对肠屏障功能保护作用的实验研究

谢肄聪, 唐 方*

(天津医科大学总医院 中医科, 天津 300052)

摘要:目的 探讨藿香正气软胶囊 (HXZQ) 对肠屏障功能的保护作用。方法 Wistar 大鼠 50 只, 建立肢体缺血-再灌注模型。HXZQ 各组分别于造模前 ig 给药, 测定血清肿瘤坏死因子 (TNF- α) 水平、血浆二胺氧化酶 (DAO) 活性及小肠上皮细胞细胞膜流动性。结果 肢体缺血-再灌注后, 肠道屏障功能明显受到损伤和破坏。HXZQ 能明显降低血清 TNF- α 水平 ($P < 0.01$), 显著降低血浆中 DAO 活性 ($P < 0.01$), 显著提高小肠上皮细胞细胞膜流动性。结论 HXZQ 对肢体缺血-再灌注损伤时肠道屏障功能具有明显的保护作用。

关键词: 肠屏障功能; 缺血-再灌注; 肿瘤坏死因子; 二胺氧化酶; 细胞膜流动性

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)03-0252-03

Experimental study on protecting intestinal barrier function of Huoxiang Zhengqi Soft Capsule

XIE Yi-cong, TANG Fang

(General Hospital of Tianjin University of Medical Science, Tianjin 300052, China)

Key words: intestinal barrier function; ischemia-reperfusion; TNF- α ; DAO; membrane fluidity

藿香正气临床上常用于治疗外感风寒、内伤湿滞、腹痛吐泻。藿香正气软胶囊 (HXZQ) 是天津达仁堂药厂首创的第一个复方中成药软胶囊制剂, 广泛用于现代医学的胃肠型感冒、急慢性肠炎等, 被列为全国中医医院急诊必备中成药, 国家中药保护品种。本实验旨在通过观察 HXZQ 对肢体缺血-再灌注大鼠血清肿瘤坏死因子 (TNF- α)、血浆二胺氧化酶 (DAO) 活性及肠粘膜上皮细胞细胞膜流动性的影响, 探讨其对肠屏障的保护机制, 为临床广泛应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器: UV-Vis8500 型紫外分光光度计, 上海; Stecpra 型酶标仪, 奥地利; Centrifuge 5810R 型 Eppendorf 低温高速离心机, 德国; F-4500 型荧光分光光度仪, 日本。

1.2 药品制备: 藿香正气软胶囊内容物由中新药业天津达仁堂制药厂提供。

1.3 实验动物及分组: Wistar 大鼠 50 只, 平均体重 (250 ± 20) g, 雌雄兼用, 随机分为 5 组, 分别是 HXZQ 高、中、低剂量 (1.335, 0.890, 0.455 g/kg, 相当于临床用量的 10 倍、20 倍、30 倍); 模型组及正常组, 每组 10 只。

1.4 造模方法: 大鼠平衡饲养 1 周后, HXZQ 组分

别按各自剂量连续 ig 5 d; 模型组与正常组分别给予等量蒸馏水。禁食 24 h 后, 采用改良的 Yassin 法^[1]进行造模。所有大鼠 ip 麻醉, HXZQ 组及模型组麻醉后用橡皮筋结扎大鼠大腿 (300 g 拉力), 使其缺血 3 h 后松开, 再灌注 18 h 成模。

1.5 实验方法: 取血分别留取血清和血浆, 冻存待测。剖腹刮取小肠粘膜, 液氮保存。在距回肠末端 2 cm 处切取肠组织, 将所取组织纵行剖开, 浸入 10% 中性福尔马林固定, 脱水, 石蜡包埋等程序后, 进行 HE 染色。

1.6 观测指标

1.6.1 血清 TNF- α 浓度测定: 采用 TNF- α (ELISA 法) 检测试剂盒, 深圳晶美生物工程公司产品。

1.6.2 血浆 DAO 活性测定: 按 Hosoda 等建立的分光光度法测定^[2], 所用试剂除辣根过氧化物酶由北京鼎国生物技术发展中心提供外, 其余均购自 Sigma 公司。

1.6.3 肠上皮细胞细胞膜流动性的测定: 采用差速离心法提取肠上皮细胞细胞膜, 制成膜悬液。采用考马斯亮蓝 G-250 法测定蛋白含量。采用荧光偏振法, 荧光探针 DPH (1, 6-二苯基-1, 3, 5-己三烯) (Fluka 公司), 按下列公式计算荧光偏振度 P 值及

* 收稿日期: 2002-07-05

作者简介: 谢肄聪 (1969—), 女, 本科毕业于天津中医学院, 现就读于天津医科大学中西医结合专业攻读硕士学位。

校正因子 G 值。

$$G = I_{90,0}/I_{90,90}; P = (I_{0,0} - I_{0,90}G)/(I_{0,0} + I_{0,90}G)$$

$I_{0,0}$: 为起偏器和检偏器光轴均在垂直方向时的荧光强度; $I_{0,90}$: 为起偏器光轴在垂直方向、检偏器光轴在平行方向时的荧光强度; $I_{90,0}$: 为起偏器光轴在水平方向、检偏器光轴在垂直方向时的荧光强度; $I_{90,90}$: 为起偏器和检偏器光轴均在水平方向时的荧光强度。

1.7 统计学处理: 各数据采用方差分析 (Statview 统计软件), 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 病理学观察: 光镜下模型组可见粘膜间质层充血、水肿, 绒毛增粗、低平, 部分脱落、缺损, 并见中性粒细胞浸润。HXZQ 组粘膜大致完整, 偶见绒毛增粗、低平。正常组小肠粘膜完整, 粘膜下无充血、水肿, 无炎性细胞浸润。

表 1 各组 DAO 活性、TNF- α 浓度 (A) 和荧光偏振度 (P) 的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Comparison of DAO activity, concentration of TNF- α (A) and fluorescence polarization (P) ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	DAO/(U · mL ⁻¹)	TNF- α (A)	P 值
模型	—	2.26 ± 1.34	0.120 ± 0.044	0.314 ± 0.029
正常	—	0.20 ± 0.14*	0.031 ± 0.023*	0.254 ± 0.042**
HXZQ	0.445	0.28 ± 0.31*	0.060 ± 0.006*	0.324 ± 0.016*
	0.890	0.28 ± 0.26*	0.059 ± 0.004*	0.318 ± 0.015*
	1.335	0.17 ± 0.15*	0.058 ± 0.004*	0.282 ± 0.028* ▲

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 HXZQ 0.445 g/kg 组比较: $P < 0.01$; 与 HXZQ 0.890 g/kg 组比较: ▲ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; $P < 0.01$ vs HXZQ 0.455 g/kg group; ▲ $P < 0.01$ vs HXZQ 0.890 g/kg group.

肠道是外科应激的中心器官, 由于肠粘膜特殊的生理结构特点, 对缺血最为敏感。创伤、手术、放疗、化疗、严重感染、应激等状态均可继发肠道缺血、缺氧及由此引发的缺血-再灌注损伤, 由此引发氧自由基和各种炎症因子反应等一系列损伤, 导致肠粘膜上皮细胞破坏, 最终造成肠粘膜萎缩, 绒毛坏死, 面积减少, 肠上皮细胞脱落。本研究通过对肠粘膜组织学观察, 证实肢体缺血-再灌注时, 导致肠粘膜结构严重破坏, 表现为肠粘膜绒毛脱落, 大量炎性细胞浸润, 这与 Yassin 等的报道相一致^[1]。

肠道机械屏障是肠道屏障的重要组成部分, 同时也是诸如免疫屏障、生物屏障等肠道屏障其他组成部分的物质基础。而肠上皮细胞 (intestinal epithelial cell, IEC) 的完整性是保证肠道机械屏障功能正常的关键。二胺氧化酶 (Diamine Oxidase, DAO) 是存在于小肠粘膜上皮细胞内高活性的细胞内酶, 肠粘膜上皮损伤时可释放入血, 故血中 DAO 活性升高反映了 IEC 的损伤和肠屏障结构的破坏。本实验发现, 模型组大鼠血浆中 DAO 活性较正常组显著增加, 而 HXZQ 3 组的 DAO 活性与正常组比较无显著性差异。提示肢体缺血-再灌注后 IEC

2.2 血清 TNF- α 浓度: 与正常组相比, 模型组血清 TNF- α 浓度升高, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 不同浓度 HXZQ 组血清 TNF- α 浓度降低, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.3 血浆 DAO 活性: 肢体缺血-再灌注后, 模型组血浆 DAO 活性增高, 与正常组比较差异有显著性 ($P < 0.01$); 不同浓度 HXZQ 组血浆 DAO 活性下降, 与模型组比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.4 肠上皮细胞细胞膜流动性: 与正常组相比, 模型组肠上皮细胞细胞膜流动性 P 值升高, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 与模型组比较, HXZQ 高剂量组肠上皮细胞细胞膜流动性 P 值降低, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 1。

3 讨论

遭到破坏, DAO 释放入血, 导致血中 DAO 活性增高, 反映小肠机械屏障功能受损。HXZQ 组血浆 DAO 活性均有显著的降低, 提示 HXZQ 有益于肠上皮细胞的完整性, 维持机械屏障功能的正常, 从而对肢体缺血-再灌注后肠屏障功能具有保护作用。

实验中还观察了 TNF- α 水平的变化。近期的研究表明, 肠道 TNF- α 的产生是非内毒素依赖性的^[3~4]。本实验结果也证实, 肢体缺血-再灌注后, 血浆 TNF- α 水平明显升高。HXZQ 组的血浆 TNF- α 较模型组明显降低, 表明 HXZQ 可有效抑制血循环中 TNF- α 水平的升高, 从而阻断了 TNF- α 所介导的一系列生物效应, 有效阻止了肠屏障的进一步损伤。

本实验观察到肢体缺血-再灌注后小肠上皮细胞细胞膜悬液的荧光偏度与正常组比较明显升高, 膜流动性降低, 表明肢体缺血-再灌注情况下, 小肠上皮细胞膜的结构、功能显著异常。HXZQ 高剂量组的荧光偏振度较模型组明显降低, 与正常组无差异, 说明高倍 HXZQ 可明显提高小肠上皮细胞膜流动性, 揭示 HXZQ 对肠屏障的保护作用与保持肠上皮细胞膜的结构与功能直接相关, 从而从细胞水平

上论证了 HXZQ 肠屏障保护作用的药效基础。

创伤、手术、放疗、化疗、严重感染、应激等状态下的病人,胃肠道功能的早期恢复无论对于疾病的治疗效果以及患者的生活质量都很重要。通过实验研究,我们认为临床上早期应用中草药制剂如 HXZQ 治疗,可促进病人胃肠功能恢复,降低抗生素使用量,减少感染、电解质紊乱等并发症的发生,本实验为临床应用提供了有利的理论依据。

References:

[1] Yassin M M I, Barros D S A, Parks T G, *et al*. Lower limb ischemia-reperfusion injury alters gastrointestinal structure and function [J]. *Br J Surg*, 1997, 84: 1425-1429.

[2] Hosoda N, Nishi M, Nakagawa W, *et al*. Structural and functional alterations in the gut of parenterally or enterally fed rats [J]. *J Surg Res*, 1989, 47: 129-133.

[3] Schlag G, Red H. Mediators of injury and inflammation [J]. *World J Surg*, 1996, 20: 406-410.

[4] Mainous M R, Erter W, Chaudry I H, *et al*. The gut: a cytokine-generating organ in systemic inflammation [J]. *Shock*, 1995, 4: 193-199.

20-(S) 和 20-(R) 人参皂苷 Rg₂对心源性 休克犬血流动力学和血氧含量的影响

吕文伟¹, 刘洁¹, 田建明², 李龙云², 叶金梅², 张志伟^{2*}

(1. 吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 观察比较 20-(S) 和 20-(R) 人参皂苷 Rg₂(ginsenoside Rg₂) 不同构型对犬急性心源性休克血流动力学和血氧含量的影响。方法 结扎冠状动脉左前降支 (LAD) 造成心源性休克模型, 分别 iv 1 mg/kg 的 20-(S)-人参皂苷 Rg₂, 20-(R)-人参皂苷 Rg₂、混合型人参皂苷 Rg₂, 观察比较对休克犬血流动力学和血氧含量各项指标的作用。结果 两种不同构型和混合型的人参皂苷 Rg₂, 与溶媒对照组比较, 对平均动脉压 (MAP)、左室内压 (LVSP)、左室内压最大变化速率 (± dp/dt_{max}) 均有升高作用, 增加心输出量 (CO)、心脏指数 (CI)、心搏指数 (SI)、动脉血氧含量、静脉血氧含量。结论 人参皂苷 Rg₂不同构型对犬急性心源性休克均具有较好的治疗作用。两种构型 Rg₂组比较, 各项指标作用强度无显著差异。
关键词: 人参皂苷 Rg₂; 心源性休克; 血流动力学; 血氧含量
中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)03-0254-03

Effect of 20-(S) and 20-(R) ginsenoside Rg₂ on hemodynamics and blood oxygen content of cardiogenic shock canine

LU Wen-wei¹, LIU Jie¹, TIAN Jian-ming², LI Long-yun², YE Jin-mei², ZHANG Zhi-wei²

(1. Fundamental Medical Institute of Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jilin Province, Changchun 130021, China)

Key words: ginsenoside Rg₂; cardiogenic shock; hemodynamics; blood oxygen content

有关人参皂苷的研究已有许多报道。我们曾报道了人参皂苷 Rg₂对犬急性心源性休克的治疗作用^[1], 对失血性休克犬血流动力学的影响及抗脂质过氧化作用^[2]。近来研究证明不同构型的化合物, 对某些生物活性物质有不同的作用。人参皂苷 Rg₂含有两种构型即 20-(S) 和 20-(R) 型, 本研究探讨了人参皂苷 Rg₂不同构型对急性心源性休克犬血流动力学及血氧含量的影响。

1 材料与方法

- 1.1 动物: 健康成年杂种犬, 体重 12 ~ 17 kg, 雌雄兼用, 由吉林大学实验动物部提供。
- 1.2 药品: 20-(S)-人参皂苷 Rg₂ (20-S-Rg₂) 和 20-(R)-人参皂苷 Rg₂ (20-R-Rg₂) 纯度 98% 以上、混合型人参皂苷 Rg₂ 为 20-S-Rg₂ 47 mg + 20-R-Rg₂ 53 mg, 由吉林省中医中药研究院提供。溶媒: 1, 2 丙醇-聚乙二醇-5% 葡萄糖 (1 : 1 : 2) 配成。
- 1.3 仪器: RM-6000 型多导生理记录仪, MFV-3200 型电磁流量计, 日本光电公司生产。康尼-158

* 收稿日期: 2002-11-08
基金项目: 国家科委资金资助项目 (951035)
作者简介: 吕文伟 (1961—), 男, 吉林长春人, 主管药师, 主要从事心血管药理研究。