

## ● 论著 ●

## 滋阴活血润肠法对烫伤大鼠肠黏膜屏障的影响\*

郑爱华 蔡光先 王银山 周兵

(湖南中医药大学 长沙 410007)

**摘要:**目的:了解和揭示滋阴活血润肠法对 SD 大鼠烫伤后 1 周内血浆肿瘤坏死因子、内毒素、肠组织细胞凋亡的影响,探讨本法对肠黏膜屏障保护作用的机制,以期临床探寻更有效的肠黏膜保护药物。方法:将 SD 大鼠 70 只随机分成三组,第一组为滋阴活血润肠中药治疗组(便可通组)30 只,第二组为对照组(单纯烫伤组)30 只,制备成烫伤模型,分别予以便可通、生理盐水灌胃;第三组为正常组 10 只。均检测血浆肿瘤坏死因子、内毒素的含量,观察大鼠肠组织细胞凋亡的变化。结果:滋阴活血润肠法可明显抑制烫伤模型大鼠内毒素易位,减少肿瘤坏死因子的产生,抑制肠组织细胞凋亡。结论:中医滋阴活血润肠法有较理想的肠道屏障保护作用,是预防和治疗肠道屏障功能障碍引发的多器官、多系统功能衰竭的重要方法之一。

**关键词:**滋阴活血润肠法;烫伤大鼠;肠黏膜屏障

**Abstract:**Objective:Understand and announce to public to reinforce body fluid to live the smooth bowel method of blood to SD rats with in the week the influence of the bowel organization cell apoptosis, the endotoxin and TNF, inquiring into this method to protect the mechanism of the function to the bowel mucosa natural cover, taking expect as the clinic to explore the more valid bowel mucosa protection medicine. Methods: 70 SD rats were divided into 3 groups randomly; Group 1, Group 2 make to become the burn model fully and give respectively Bian Ke Tong, the physiology brine infuse the stomach; Group 3 is 10 normal set; All examine the content of the bowel organization cell apoptosis, the endotoxins and TNF. Result: Reinforcing body fluid to live smooth bowel method of blood can repress to burn the easy of big rat at the bowel organization cell apoptosis, endotoxin and TNF of model obviously. Conclusion: The Chinese medicine reinforces body fluid to live the blood the smooth bowel method contain a natural cover of more ideal bowel protection function, is one of the important methods that prevention and treatment multiple system organ failure.

**Key words:** Reinforce Body Fluid to Live the Smooth Bowel Method of Blood; the Burn Model Rat; Bowel Glues the Film Natural Cover

中图分类号: R 285.5

文献标识码: B

文献编号: 1671-4040(2008)01-0001-02

我们采用烫伤法制作烫伤模型,予以滋阴活血润肠中药抑制烫伤大鼠肿瘤坏死因子的过度产生及肠组织细胞的过度凋亡,预防肠道屏障功能障碍引发的内毒素血症,观察滋阴活血润肠法对肠黏膜屏障的保护作用机制。现报道如下:

## 1 材料与方

1.1 药物 滋阴活血润肠法采用我院临床使用的医院制剂便可通,处方组成:生地 15g,玄参 15g,桃仁 9g,当归 9g,肉苁蓉 10g,草决明 12g,大黄 6g,芦荟 3g。每片含生药 0.6g(批号:20020811)。

1.2 试剂 (1)内毒素鲎试剂盒购自上海伊华临床医学科技公司;(2)肿瘤坏死因子试剂盒为北京东亚免疫技术研究所产品;(3)细胞凋亡试剂盒购自 BM 公司。

1.3 实验大鼠 SD 大鼠 70 只,雌雄各半,体重 180~220g,由湖南省防疫站大鼠实验室提供(合格证书编号:000345)。

## 1.4 方法

1.4.1 药物的配制 便可通,70kg 成人临床推荐用量为 7.2g/d,200g 大鼠等效量按成人的 0.018 倍计算,7.2 × 0.018/0.2 ≈ 0.6(g/kg)。

1.4.2 烫伤模型的制备及给药方法 模型制备:动物禁食过夜,实验动物腹腔内注射戊巴比妥钠(40mg/kg)麻醉后,背部脱毛,将背部浸于沸水中 12s 造成背部 8cm × 4.5cm III 度烫伤,伤后 1h,腹部皮下注射生理盐水 50mL/kg 抗休克,创面涂 20%磺胺嘧啶银糊剂,单笼喂养,自由进食水。给药方法:将实验大鼠随机分成三组,第一组为治疗组,造模后给便可通片剂,以 50mg/(kg·d)剂量分 2 次给药,30 只。第二组为对

照组,造模后给生理盐水灌胃(1mL/100g),30 只,分别在第 1、3、7 日麻醉,无菌操作下剖腹并行主动脉穿刺抽血处死,每次 10 只。第三组为正常组,不造模,直接按上述方法处死进行空白对照,10 只。

1.4.3 观察指标和检测方法 (1)血浆内毒素测定:凡与鲎试剂接触物件均需灭菌和去热源处理。无菌操作下取血 1mL,肝素抗凝,500rpm 离心 5 min,取血浆 0.1mL,加入无热源蒸馏水 0.2mL、Tris-HCL 缓冲液 0.2mL,混匀,置于 100℃ 水浴加热 10min,3 000rpm 离心 10min,取上清液,于波长 545nm 处测光密度值。根据内毒素标准曲线查得标本内毒素含量。(2)肿瘤坏死因子测定:采用放免法,严格按试剂盒的要求操作。(3)肠组织凋亡细胞的定量及分级方法:采用 TUNEL 法(BM 公司试剂盒提供的方法),光学显微镜观察计数。计算方法:计算 5 个高倍视野(× 400)下的细胞数。按凋亡细胞占细胞总数的百分率将其分为 5 级,0 级: <2%; 1 级: 3%~9%; 2 级: 10%~19%; 3 级: 20%~39%; 4 级: >40%。

1.5 统计方法 结果为计量资料,以  $(\bar{X} \pm S)$  表示,采用 SPSS11.0 软件包分析处理;组间比较方差齐时,采用方差分析(最小显著差法, LSD),如方差不齐,则采用近似方差分析(Tamhane's  $T_2$ );治疗前后比较采用配对 T 检验(Paired samples Test)。

## 2 结果

2.1 滋阴活血润肠法对烫伤模型大鼠血浆内毒素的影响与正常组比较,烫伤模型大鼠血浆内毒素含量明显增加。与对照组比较,便可通治疗后 3、7d 均可使大鼠血浆内毒素含量明显减少,见表 1。

\* 国家中医药管理局课题(国中医药科 JQ05)

表 1 滋阴活血润肠法对大鼠血浆内毒素含量的影响 ( $\bar{X} \pm S$ )

组别	血浆内毒素 /Eg·mL <sup>-1</sup>
正常组	0.034± 0.0079
治疗组 (1d)	0.942± 0.0760 <sup>▲</sup>
治疗组 (3d)	0.062± 0.0048*
治疗组 (7d)	0.048± 0.0091**
对照组 (1d)	0.944± 0.0058 <sup>▲</sup>
对照组 (3d)	0.838± 0.0062 <sup>▲</sup>
对照组 (7d)	0.799± 0.0068 <sup>▲</sup>

注:与正常组比较,▲P<0.01;与对照组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01。

2.2 滋阴活血润肠法对烫伤模型大鼠肿瘤坏死因子的影响  
与正常组比较,烫伤模型大鼠血浆肿瘤坏死因子含量明显增加。与对照组比较,便可通治疗后 7d 可使大鼠血浆肿瘤坏死因子含量明显减少,见表 2。

表 2 各组大鼠肿瘤坏死因子的比较 ( $\bar{X} \pm S$ )

组别	血浆肿瘤坏死因子 /pg·mL <sup>-1</sup>
正常组	35.27± 3.87
治疗组 (1d)	56.92± 5.98 <sup>▲</sup>
治疗组 (3d)	54.27± 6.01
治疗组 (7d)	45.78± 3.61*
对照组 (1d)	57.01± 5.87 <sup>▲</sup>
对照组 (3d)	56.84± 5.91 <sup>▲</sup>
对照组 (7d)	55.96± 4.29 <sup>▲</sup>

注:与正常组比较,▲P<0.01;与对照组比较,\*P<0.05。

2.3 滋阴活血润肠法对烫伤模型大鼠肠组织细胞凋亡的影响  
与正常组比较,烫伤模型大鼠肠组织细胞凋亡明显增加。与对照组比较,便可通治疗后 3、7d 可使大鼠肠组织细胞凋亡明显减少,见表 3。

表 3 各组大鼠肠组织细胞凋亡的比较 ( $\bar{X} \pm S$ )

组别	凋亡细胞数	凋亡细胞分级
正常组	5.63± 2.35	0 级
治疗组 (1d)	20.21± 5.79 <sup>▲▲</sup>	3 级 <sup>▲</sup>
治疗组 (3d)	17.37± 4.38	3 级 <sup>▲</sup>
治疗组 (7d)	14.27± 6.03*	1 级*
对照组 (1d)	20.17± 5.71 <sup>▲▲</sup>	3 级 <sup>▲</sup>
对照组 (3d)	19.33± 3.21 <sup>▲▲</sup>	3 级 <sup>▲</sup>
对照组 (7d)	18.84± 4.75 <sup>▲▲</sup>	2 级 <sup>▲</sup>

注:与正常组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01;与对照组比较,\*P<0.05。

### 3 讨论

严重的创伤、感染以及休克等外科危重症时,肠黏膜屏障的受损及其所致的细菌易位是多器官功能衰竭发生的重要机制之一,这已为大量的临床及实验研究所证实<sup>[1]</sup>。如何保护肠黏膜屏障以防止细菌易位正成为各国学者所关注的热点之一。机体在休克、严重创伤、感染、重大手术的应激状态下,胃肠黏膜缺血-再灌注、自由基损伤、细菌、内毒素直接作用、细胞因子影响等因素共同导致黏膜损伤,导致肠黏膜屏障破坏,细菌、内毒素易位进入血液循环,形成肠源性感染、内毒素血症,而内毒素又诱导单核巨噬细胞大量分泌 TNF、IL-1、IL-6、IL-8 等,引起细胞因子所谓“瀑布样”爆发,机体整个内环境系统失衡,反过来进一步加重肠道屏障功能的破坏;细菌易位过程又促进全身免疫障碍<sup>[2]</sup>,同时内毒素易抑制

特异性免疫功能,并诱导激活肠道淋巴细胞中抑制性 T 细胞,继而移行至全身淋巴系统。在内毒素及 TNF 作用下导致肠道平滑肌细胞线粒体膜电位显著增高,内膜的通透性增加从而导致细胞程序性死亡。并在一定条件下激发细胞因子的连锁反应和毒性网络,引起全身各器官的损害<sup>[3]</sup>,使系统炎症反应加剧、失控,最终引起 MODS<sup>[4]</sup>。

本实验中与正常组比较,对照组和治疗组血浆中肿瘤坏死因子、内毒素的含量明显增多,肠组织细胞凋亡过度,予以滋阴活血润肠中药治疗后明显减少了肿瘤坏死因子、血浆内毒素含量,减少了肠组织的细胞凋亡,且治疗时间越长效果越明显。表明滋阴活血润肠中药能调节机体免疫功能,减少肿瘤坏死因子、血浆内毒素及其他炎性因子对肠黏膜屏障的损伤,抑制肠组织细胞的过度凋亡,从而有效地保护了肠黏膜屏障,阻断了由细胞因子引起的连锁反应和毒性网络,防护了免疫细胞的损伤,具有较强的免疫调节功能。现代研究表明生地主要含甙类、糖类、氨基酸类,具有滋阴生津和抗衰老作用,能增强免疫功能、强心、清除超氧自由基及抗肿瘤。玄参可改善微循环及毛细血管通透性,增强心肌收缩力和耐氧能力<sup>[5]</sup>。桃仁具有改善血流动力学、抑制血小板聚集、血栓形成、扩张血管、增强血流量及抗炎、抗组织细胞过氧化损伤作用<sup>[6]</sup>。当归、肉苁蓉具有抗氧化、清除氧自由基及抗血小板聚集作用,亦具有增强体液、细胞免疫及抗炎、抗菌、抗损伤等多种作用<sup>[7]</sup>。大黄能兴奋肠壁 M 样受体,促进肠蠕动,消除肠麻痹;能保护肠黏膜的完整性,具有防止或修复黏膜损伤的功能;大黄还可以促进肠黏膜杯状细胞的增生,分泌黏液保护肠黏膜,减少通透性,阻止毒素与上皮细胞接触,能保护细胞间紧密连接,维持细胞结构的完整性<sup>[8]</sup>。芦荟能促进胃液分泌,兴奋肾上腺皮质,抗炎并促进伤口愈合。

综上所述,该方通过多成分、多环节、多靶点保护肠黏膜屏障,提高肠黏膜屏障的免疫监视和生物屏障功能。中医滋阴活血润肠法有较理想的肠道屏障保护作用,为预防和治疗严重的创伤、感染以及休克等外科危重症时多器官功能衰竭的有效方法之一。

#### 参考文献

[1] Moore FA. Role of gastro intestinal tract in the post injury multiple organ failure[J]. Am J Surg, 1999, 178: 449  
 [2] Deith EA, Xu D, Lu Q, et al. Bacterial translocation from the gut impairs systemic immunity[J]. Surgery, 2001, 109: 269  
 [3] Deith EA. Multiple system organ failure[J]. Ann Surg, 1992, 216(20): 111-134  
 [4] Border JR. Multiple system organ failure [J]. Ann surg, 1992, 216: 111-116  
 [5] 杨卫平, 王世青, 冯泳, 等. 临床常用中药手册[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2001. 110-112, 573-574, 878-880  
 [6] 康复笑, 韩宜印, 何淑贤, 等. 生大黄促进术后胃肠功能恢复的临床观察[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2002, 8(3): 168

(收稿日期: 2007-07-11)

#### 《实用中西医结合临床》2008 年征订启事

本刊由江西省中医药研究院、江西省中西医结合学会主办。ISSN 1671-4040, CN36-1251/R, 邮发代号 44-126。为“中国核心期刊(遴选数据库)”入选期刊。适用于中西医结合、中医、中药、西医临床教学科研人员和基层医护人员订

阅。大 16 开, 双月刊。全年订价为 51 元。欢迎到全国各地邮局订阅。也可直接向本刊编辑部订阅, 不另加邮费。编辑部地址: 南昌市文教路 529 号。邮编: 330077。电话: 0791-8525621。E-mail: szxl@chinajournal.net.cn; jxnc5621@tom.com。