

大承气汤对肠源性内毒素血症大鼠心、肝、肾 生化功能致损的保护作用

田在善 郑治纲* 李东华 沈长虹 吴咸中
(天津市中西医结合急腹症研究所 300100)

摘要 采用 LPS(po)同时 5-HT 和 Pb-Acet(iv)方法对大鼠进行肠源性内毒素血症(EETM)造模,治疗组同时经口投予大承气汤(DT)。实验结果表明:造模后 3h,心、肝、肾生化功能指标即呈异常改变,而给药组呈保护效应,提示 DT 对大鼠 EETM 所致脏器功能损害具有保护作用。

关键词 肠源性内毒素血症 大承气汤

Protective Effect of Dachengqi Decoction on Abnormal
Biochemical Functions of Heart, Liver and Kidney in Rats
with Enterogenous Endotoxemia

* 天津市南开医院 300100

Tian Zaishan, Zheng Zhigang, Li Donghua, Shen Changhong, Wu Xianzhong
(Tianjin Institute of Integration of Traditional and Western Medicine
in Abdominal Diseases, 300100)

Abstract: An enterogenous endotoxemia (EETM) model was induced by LPS (p. o.) together with 5-HT and Pb-Acet (iv) in rats. The animals in the Treatment group were administered orally with Dachengqi Decoction (DT) simultaneously. The results showed that the abnormal indexes associated with the biochemical functions of heart, liver and kidney occurred in non-drug-treated group as a control 3 hours after the model was set up, while the protective effect on those biochemical functions was found in the treatment group with DT, suggesting that DT could protect the biochemical functions of the organs above from injury by EETM in rats.

Key words: enterogenous endotoxemia (EETM), Dachengqi Decoction (DT)

继 Berg et al^[1] 提出“肠道细菌移位”概念以后, Alexander et al^[2] 根据其实验研究进一步扩大了移位的内涵, 并定义为“肠道内活的或死的细菌及其代谢产物, 包括内毒素, 通过解剖学完整的肠粘膜屏障侵入肠道以外部位的过程”。而 LPS 的移位较细菌移位更为重要, 因前者是后者的先导和/或条件^[3,4]。急腹症临床早已证实, 大承气汤 (DT) 在攻下的同时, 远隔器官的感染、炎症表现也随泻立减; 近来还有报告称 DT 对急性腹内感染引起的内毒素血症也具有防治效果^[5]。提示 DT 在消除肠道这一隐匿性感染源上具有重要作用。本文目的旨在从肠道 LPS 移位角度出发, 以肠道内毒素血症 (EETM) 模型大鼠为对象, 观察 DT 对 EETM 时所致心、肝、肾生化功能损害的影响。

1 材料

1.1 药物 大承气汤: 大黄 15g, 厚朴、枳实各 12g, 芒硝 9g。制成 100% 煎液, 供用。煎制方法、生药鉴定、中药购自单位同前报^[6]。

1.2 试剂 内毒素脂多糖 E. Coli Oni: B₄ Lipopolysaccharide Sigma Chemical Co., L-2630 Lot 63H4011 (LPS); 鲎试剂盒 (Ⅱ), 上海医学检验中心生产; 5-羟色胺肌酐硫酸盐 (5-Hydroxytryptamine Creatinine Sulfate Complex, Serotonin), Sigma Chemical Co. lot 112H0781 (5-HT); 醋酸铅 (Pb-Acet) 分析

纯, 天津市化学试剂三厂, 批号 930427; CNP-NAG, NAG 酶作用底物, 天津医药科学研究所供给; 肌酐测定试剂盒, 北京化工厂出品, 批号 940628。

1.3 仪器: 全自动生化分析仪 (COBAS MIRA PLUS) 等。

1.4 动物: wistar 大鼠, 购自国家医药管理局天津药物研究院动物房, 体重 120 ± 5g, 雌雄兼用。

2 方法

实验前大鼠禁食 16h, 不禁水。实验时经尾静脉注射醋酸铅 (按 20mg/kg 体重, 溶于 0.2ml 无热原水), 5-羟色胺 (按 1mg/kg 体重, 溶于 0.2ml 无热原水) 后, 立即经胃内灌注 LPS (按 20mg/kg 体重, 溶于 0.5ml 无热原水) 进行造模。分别于造模后 3h、24h 在乌拉坦麻醉下颈总动脉取血, 供血浆内毒素水平及血清肝酶谱、心肌酶谱活性及其他生化指标测定。随即打开腹腔, 膀胱取尿, 供尿 NAG 酶活性测定。血浆内毒素测定用鲎试剂产色基质法; 血清测定指标包括丙氨酸氨基转移酶 (ALAT), 天门冬氨酸氨基转移酶 (ASAT), 乳酸脱氢酶 (LDH), α-羟丁酸脱氢酶 (α-HBDH), 肌酸激酶 (CK), γ-谷氨酰转肽酶 (γ-GT), 以上采用酶速率法; 总胆红素 (TBIL)、总胆汁酸 (TBA) 采用终点法; 尿 N-乙酰基-β-D-氨基葡萄糖苷酶 (NAG 酶) 活性

测定以 CNP-NAG 为底物,在 37℃、pH4.6 条件下以每分钟酶分解出 CNP $y\mu\text{mol/L}$ 为 y 个单位,为减少尿流率对酶浓度的影响,根据尿肌酐测定值换算成 U/gcr 表示之。以上测定结果经 t 检验做统计学处理。

实验共设 5 组,每组动物 10 只。正常组:动物不经任何处理;模型组:造模 3h 及 24h 各一组,口灌蒸馏水(1ml/100g 体重)1 次及 2 次;大承气汤治疗组:造模 3h 及 24h 各一组,口灌大承气汤(1g/100g 体重)1 次及 2 次。

3 结果

3.1 造模 3h 组

3.1.1 血浆内毒素水平测定结果 见表 1。

表 2 大承气汤对模型大鼠肝功生化指标的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ALAT(U/L)	ASAT(U/L)	γ -GT(U/L)	ALP(U/L)	TBIL($\mu\text{M/L}$)	TBA($\mu\text{M/L}$)
N	10	47.9 \pm 4.8	159.6 \pm 36.7	1.90 \pm 0.56	128.6 \pm 56.6	0.80 \pm 0.47	11.2 \pm 5.19
M	10	91.6 \pm 23.2 ^{***}	357.2 \pm 125.5 ^{***}	4.90 \pm 0.87 ^{***}	295.4 \pm 105.5 ^{***}	2.04 \pm 0.27 ^{***}	41.5 \pm 28.3 ^{***}
D	10	64.7 \pm 10.8 ^{△△}	223.1 \pm 13.2 ^{△△}	2.50 \pm 0.97 ^{△△△}	180.4 \pm 72.2 ^{△△}	0.90 \pm 0.49 ^{△△△}	6.7 \pm 3.6 ^{△△}

N/M 比 * P <0.05 ** P <0.01 *** P <0.001; D/M 比 ΔP <0.05 $\Delta\Delta P$ <0.01 $\Delta\Delta\Delta P$ <0.001 (下表同)

3.1.3 DT 对模型大鼠致心肌酶谱酶活性升高的抑制效应 结果见表 3。表明大鼠 EETM 可引致有关心肌酶活性升高,提示模

表 3 大承气汤对模型大鼠致心肌酶活性升高的抑制效应($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ASAT(U/L)	LDH(U/L)	CK(U/L)	α -HBDH(U/L)
N	10	159.6 \pm 36.7	267.3 \pm 90.7	2044.3 \pm 939.5	121.5 \pm 21.2
M	10	357.2 \pm 125.5 ^{***}	902.9 \pm 200.2 ^{***}	5114.1 \pm 979.4 ^{***}	402.6 \pm 138.0 ^{***}
D	10	223.1 \pm 13.2 ^{△△}	586.5 \pm 195.2 ^{△△}	3373.4 \pm 1428.5 ^{△△}	238.2 \pm 63.7 ^{△△}

表 4 大胆承气汤对模型大鼠尿 NAG 酶活性升高的抑制效应($\bar{x}\pm s$)

组别	n	尿 NAG 酶活性(U/gcr)
N	10	19.5 \pm 11.6
M	10	53.3 \pm 31.6 ^{**}
D	10	23.5 \pm 3.7 ^{△△}

3.1.4 DT 对模型大鼠尿 NAG 酶活性升高

表明大鼠造模 3h 后血浆内毒素水平已明显升高,按通常以大于 100pg/ml 内毒素水平为 ETM 标准,说明大鼠 EETM 模型成功。

表 1 各组大鼠血浆内毒素含量测定结果($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血浆内毒素含量(pg/ml)
正常组(N)	10	45.7 \pm 30.9
模型组(M)	10	170.1 \pm 83.0 ^{***}
大承气汤治疗组(D)	10	85.3 \pm 56.2 [△]

注:N/M 比 *** P <0.001;D/M 比 ΔP <0.05

3.1.2 DT 对模型大鼠肝功生化指标的影响 见表 2。表明造模大鼠肝功生化指标出现明显异常,而同时经口投予 DT 则呈明显的保护效应。

型大鼠心肌受到损害,而 DT 对心肌生化功能具有明显的保护效应。

的抑制效应 见表 4。表明模型大鼠尿 NAG 酶活性明显升高,提示其肾功能已明显受损,而 DT 具有明显的保护效应。

3.2 造模 24h 组

3.2.1 DT 对模型大鼠肝功生化指标的影响 见表 5。表明大鼠造模 24h 后肝功生化指标仍呈异常表现,而 DT 显示明显的保护

作用。

表5 大承气汤对模型大鼠肝功生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别 n	ALAT(U/L)	ASAT(U/L)	ALP(U/L)	γ -GT(U/L)	TBA(μ M/L)	Palb(μ g/L)
N 10	1047.9 \pm 4.8	159.6 \pm 36.7	128.6 \pm 56.6	1.90 \pm 0.56	11.2 \pm 5.19	138.7 \pm 36.7
M 10	10107.5 \pm 53.3***	248.1 \pm 110.4*	353.8 \pm 65.0***	4.3 \pm 3.46**	28.8 \pm 10.1***	108.6 \pm 16.1*
D 10	1080.0 \pm 13.5 Δ	187.3 \pm 33.3 $\Delta\Delta$	213.4 \pm 100.1 Δ	1.7 \pm 0.67 Δ	6.25 \pm 7.49 $\Delta\Delta\Delta$	153.7 \pm 17.3 $\Delta\Delta\Delta$

3.2.2 DT对模型大鼠致心肌酶谱酶活性升高的保护效应 见表6。表明大鼠造模24h后,心肌酶活性较正常组仍呈明显升高表现,而DT对其心致损显示明显的保护作用。

表6 大承气汤对模型大鼠心肌酶活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别 n	ASAT(U/L)	LDH(U/L)	α -HBDH(U/L)	CK(U/L)
N 10	159.6 \pm 36.7	267.3 \pm 90.7	121.5 \pm 21.2	2044.3 \pm 939.5
M 10	248.1 \pm 110.4*	793.6 \pm 348.5***	262.1 \pm 123.8*	4842.1 \pm 1511.0***
D 10	187.3 \pm 33.3	395.7 \pm 109.5 $\Delta\Delta\Delta$	157.6 \pm 34.0 Δ	4288.6 \pm 1368.5

3.2.3 DT对模型大鼠尿NAG酶活性升高的抑制效应 见表7。表明大鼠造模后24h尿NAG酶活性仍呈异常升高表现,而DT对其肾功能致损具有明显的保护作用。

表7 大承气汤对模型大鼠尿NAG酶活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	尿NAG酶活性(U/gcr)
正常组(N)	10	19.5 \pm 11.6
模型组(M)	10	91.5 \pm 57.6**
大承气汤治疗组(D)	10	21.9 \pm 9.91 $\Delta\Delta$

4 讨论

当机体受到外界不良打击时,肠上皮细胞受损,导致肠屏障功能削弱,“微生物移位”现象从而发生,形成EETM和/或肠源性菌血症。由于内毒素血症(ETM)不一定伴有菌血症和明显的G⁻菌感染的证据,故人们相信,肠道细菌可能是这些内毒素的唯一来源。已知内毒素是G⁻菌细胞壁的最外层结构,由脂多糖(LPS)与蛋白质复合而成。近年来

随着细胞生物学和分子生物学研究的不断深入,对LPS引发的病理变化过程有了新的更加全面的认识,即机体被LPS感染以后,宿主自身通过单核吞噬细胞系统迅即做出应答反应,目的在于通过这一重要免疫屏障,抗御感染对机体的损害。然这一LPS生物学效应具有双重性,即当大量LPS入血侵入重要脏器后,可由LPS介导单核吞噬细胞系统大量而过度地分泌多种具有不同生物学活性的多肽类细胞因子,构成对机体的损害,其中以肿瘤坏死因子(TNF)最为重要,它可全面复制出由LPS引发的全部G⁻菌败血症的病态表现,同时又可引发其他细胞因子的释放,加重对机体的致损。肝脏是接受胃肠道LPS的第一道关卡,因之也是产生和释放TNF的重要器官,这是构成EETM时肝脏最易受损的重要原因^[7];肾脏中因TNF受体含量较高,故当EETM时,肾脏也是易于致损的器官^[8];TNF最终可导致心血管的损害及死亡^[9]。大鼠在静注Pb-Acet后,可因对肝脏网

状内皮细胞系统的阻断及其特有的作用,可使动物对 LPS 敏化 10 万倍^[10],从而促发肠道 LPS 的移位,形成 EETM。模型动物血清中 TBIL、TBA 浓度的升高涉及到胆汁酸在极其闭锁的肝肠循环中流向体循环的机制,故可反映肝功及肝脏予能受损的情况^[11];血清中 Palb 是血清快速转化蛋白的一种,其测定值能敏锐地反映肝脏蛋白合成的能力^[12]。肾脏属代谢活跃的器官,有丰富的酶参与机体代谢,尿 NAG 酶是细胞溶酶体酶,在肾近曲小管上皮细胞中含量甚高,一旦肾小管损伤时,则尿中的 NAG 酶活性显著升高,是反映早期肾实质损害的重要指标^[13]。

综上所述,DT 对大鼠 EETM 模型出现的心、肝、肾功能的损害,具有明显的保护效应。

参考文献

- [1] Berg RD, Garlington AW. Infect. Immun. 1979;23:403
- [2] Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF. et al. Ann. Surg. 1990;212(4):496
- [3] Deitch EA, Ma L, Ma WJ. et al. J. Clin. Invest. 1989;84:36
- [4] Deitch EA, Berg R, Specian R. Arch. Surg. 1987;122:185
- [5] 解基良,郑显理,吴咸中. 中国中西医结合外科杂志 1994;1(1):6
- [6] 田在善,沈长虹,李东华等. 中国中药杂志 1993;18(3):170
- [7] 冯学胜. 国外医学. 消化系疾病分册 1994;(4):207
- [8] Beutler BA, Wilsark IW, Cerami A. J. Immunol. 1985;135:3972
- [9] 玉勇强摘译. 中国危重病急救医学 1992;4(1):61
- [10] Selye H, Tuchweber B and Bertok L. J. Bacteriol. 1996;91(2):884
- [11] Ferraris R, Colombatti G, Fiorentini MT et al. Dig. Dis. Sci. 1983;28(2):129
- [12] 张沥摘. 国外医学. 消化系疾病分册 1989;9(3):188
- [13] 陈伟英,尹培达,董秀清等. 广东医学 1991;12(5):39