

化浊解毒方对浊毒内蕴型反流性食管炎大鼠的影响

赵艳*, 霍永利, 冯玉彦
(河北省中医院, 石家庄 050011)

[摘要] **目的:**探讨化浊解毒方治疗反流性食管炎(RE)的作用机制。**方法:**将60只雄性Wistar大鼠随机分为正常对照组、模型组、奥美拉唑组、化浊解毒方组,每组15只。除对照组大鼠外,其余大鼠采用“不全幽门结扎+贲门肌切开术”制备反流性食管炎大鼠模型。造模后对照组和模型组蒸馏水 ig ;奥美拉唑组按 $3.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量给予奥美拉唑溶液 ig ;化浊解毒方组按 $12.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量 ig 。8周后观察大鼠食管黏膜的组织病理,酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清胃泌素(GAS)、胃动素(MTL)、血管活性肠肽(VIP)含量。**结果:**奥美拉唑组和化浊解毒方组均能改善食管黏膜病理变化,与模型组比较有统计学意义($P < 0.05$);化浊解毒方组可升高GAS,MTL含量,降低VIP含量,与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$)。**结论:**化浊解毒方可能是通过升高血清GAS,MTL含量,降低VIP含量,对反流性食管炎起到治疗作用。

[关键词] 化浊解毒方;反流性食管炎;胃泌素;胃动素;血管活性肠肽

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0183-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200183

Influence of Huazhuo Jiedu Recipe on Rats with Reflux Esophagitis Combined with Turbidity Toxin in Chinese Medicinal Syndrome

ZHAO Yan*, HUO Yong-li, FENG Yu-yan
(Hebei Province Chinese Medicine Hospital, Shijiazhuang 050011, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanisms of Huazhuo Jiedu recipe in treating reflux esophagitis (RE). **Method:** Sixty male Wistar rats were randomly divided into control group, model group, omeprazole group, Huazhuo Jiedu recipe group of fifteen rats each group. The RE model was established using partial pyloric ligation and cardiomyotomy except the rats in control group. The rats in control and model groups were intragastrically administrated with distilled water. The rats in omeprazole group were intragastrically administrated with $3.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ omeprazole. The rats in Huazhuo Jiedu recipe group were intragastrically administrated with $12.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Huazhuo Jiedu recipe. The histopathology in esophagus tissues was observed after 8 weeks treatment. Meanwhile, the content of gastrin (GAS), motilin (MTL) and vasoactive intestinal peptide (VIP) in serum were tested by ELISA. **Result:** Omeprazole and Huazhuo Jiedu recipe could improve the pathological changes of esophageal mucosa, there were statistically significant difference as compared with model group ($P < 0.05$). Huazhuo Jiedu recipe could increase contents the GAS, MTL, decrease the content of VIP, there were significant difference as compared with model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Huazhuo Jiedu recipe has effect on RE rats, which may be achieved by increasing the contents of GAS and MTL, reducing the content of VIP in serum.

[Key words] Huazhuo Jiedu recipe; reflux esophagitis; gastrin; motilin; vasoactive intestinal peptide

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是胃食管反流病的一种,由胃和十二指肠内容物反流至食管

所引起的食管黏膜病变。目前主要采用抑酸药、促胃动力药物对症治疗,短期疗效较好,但症状易复

[收稿日期] 20140609(020)

[基金项目] 河北省中医药管理局科研计划项目(2013046)

[通讯作者] *赵艳,主治医师,从事脾胃病研究, Tel:13832395769, E-mail:zhy5769@sina.com

发,需长期用药维持治疗,患者依从性较差^[1-2]。笔者在临床应用化浊解毒方治疗该病取得较好疗效,但作用机制尚不明确。本实验旨在通过观察该方对毒素内蕴反流性食管炎大鼠血清胃泌素(GAS)、胃动素(MTL)、血管活性肠肽(VIP)水平的影响,进一步探讨该方治疗RE的作用机制。

1 材料

1.1 动物 12周龄清洁级60只Wistar雄性大鼠,体重250~320g,购自河北医科大学实验动物中心,动物合格证号SCXK(冀)2008-1003。

1.2 药物和试剂 化浊解毒方由蒲公英15g,连翘20g,半边莲15g,半枝莲15g,绞股蓝15g,白花蛇舌草15g,黄芩9g,石菖蒲15g,紫豆蔻6g,佩兰12g,藿香12g,茯苓20g,枳实12g,厚朴12g,砂仁12g组成。所需药物均购自河北省中医院,并由河北省中医院制剂室煎煮制,以上药物先经蒸馏水浸泡2h,煎煮2次(30min/次)后过滤,合并滤液,再水浴浓缩成 $1.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 药液制备成质量浓度为 $1.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 药液备用。奥美拉唑肠溶片(湖南方盛制药股份有限公司,批号130903,并以蒸馏水配制成质量浓度为 $0.36\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液备用)。胃泌素(GAS)酶联免疫检测试剂盒、胃动素(MTL)酶联免疫检测试剂盒、血管活性肠肽(VIP)酶联免疫检测试剂盒,均由上海源叶生物科技有限公司提供。

1.3 仪器 SZ61型Olympus光学显微镜(日本奥林巴斯株式会社),RM2255型Leika切片机(德国徕卡仪器公司),MDF-D53V型SANYO超低温冰箱(日本三洋科研设备公司),Fresco 17型贺利氏高速离心机(德国贺利氏仪器公司)。

2 方法

2.1 分组 将60只大鼠随机分为正常对照组、模型组、奥美拉唑组、化浊解毒方组,每组15只,除对照组外,其余各组大鼠采用“不全幽门结扎+贲门肌切开术”;并配合湿热环境加高脂高糖饮食的综合方法制作RE动物模型。

2.2 造模 参考文献[3-4]制备大鼠模型。造模前大鼠适应性饲养7d,术前禁食不禁水24h,用3.5%水合氯醛($1\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)进行ip麻醉,将大鼠仰卧固定于手术台,常规备皮、消毒,取上腹部正中切开进腹,切口长约3cm,逐层开腹,暴露食管下段及胃食管交界区,用细针及0号细线缝扎横过胃-食管交界处的胃左动脉的分支,以防止切开贲门肌时出血,再与食管-胃交界处纵行切开贲门肌0.5cm,并分离至黏膜层完全暴露于视野中,以加强反流。然

后在幽门与十二指肠交界近幽门处半结扎幽门,并避开血管,关腹前用无菌纱布吸尽腹腔中的液体,腹腔内注入0.9%氯化钠溶液1mL及庆大霉素1万U,术中严格无菌操作,术后禁食不禁水24h。除对照组外,其他各组大鼠饲养于高热潮湿的环境下,饲以高脂高糖饮食,即在普通饲料喂养的基础上,每日每只加用10%蜂蜜,10%白糖混合饮料自由饮用,术后3周即造模成功。

2.3 给药方法 造模3周后开始 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药,对照组和模型组均ig给予生理盐水按 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;奥美拉唑组按 $3.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;化浊解毒方组按 $12.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。以上各组均每日给药1次,连续给药8周。

2.4 标本采集与处理 末次给药后,禁食不禁水24h,给予2%戊巴比妥钠 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 行ip麻醉。由门静脉取血,每只大鼠取血4mL,注入含有7.5%EDTA二钠 $30\text{ }\mu\text{L}$ 和抑肽酶 $40\text{ }\mu\text{L}$,试管中混匀,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\ 3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下离心10min,取上清液置冷藏箱内待测。处死大鼠,取各组大鼠食管标本,10%的多聚甲醛固定,常规石蜡包埋切片,HE染色。

2.5 观测指标与检测方法

2.5.1 一般情况观察 对各组大鼠的体质量、毛色、精神状态、活动、进食、进水等情况进行观察。

2.5.2 食管黏膜病理组织观察 参照参考文献[5]分级标准:鳞状上皮增生、黏膜固有层乳头延伸、上皮细胞层内炎细胞浸润为轻度;轻度基础上出现黏膜糜烂为中度;轻度基础上有溃疡形成和(或)Barrett食管改变为重度。

2.5.3 胃肠激素水平检测 取分离备用血清,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定GAS,MTL,VIP含量,严格按试剂盒说明书步骤操作。

2.6 统计学方法 采用SPSS 17.0统计分析软件,对资料进行分析处理。计量数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析,等级资料采用非参数检验, $P<0.05$ 为有统计学差异。

3 结果

3.1 一般情况 试验开始1周后,正常对照组大鼠体质量增加,被毛贴身,色白光泽,两眼有神,活动敏捷,食量较多,大便呈颗粒状;模型组及给药组体质量明显下降,被毛松散、毛色光泽减弱,均有不同程度的行动迟缓、对外界刺激淡漠、饮水量及食量下降,多数大鼠出现便溏。造模后1周大鼠共死亡4只,其中模型组死亡2只,奥美拉唑组和化浊解毒方组各死亡1只。死亡原因为梗阻、伤口感染等。

3.2 食管黏膜病理组织观察 与模型组比较,奥美拉唑组和化浊解毒方组食管黏膜仅见少许炎性细胞浸润,糜烂、溃疡均有明显改善,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),均能改善食管黏膜病理变化。见表 1,图 1。

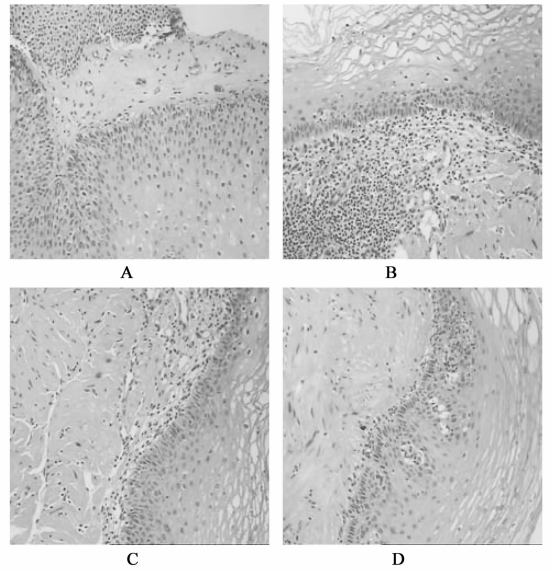
表 1 各组大鼠病理分级比较

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	病理分级/例			阳性率 /%
			-	轻度	中度	
对照	-	15	15	0	0	0 ¹⁾
模型	-	13	1	2	7	92.31
奥美拉唑	3.6 × 10 ⁻³	14	9	4	1	35.71 ¹⁾
化浊解毒方	12.5	14	8	3	2	42.86 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 各组胃肠激素水平比较 由表 2 可见,反流性食管炎大鼠模型组血 GAS 含量下降,血 VIP 含量升高,与对照组比较,有显著性差异 ($P < 0.05$),而血 MTL 升高无显著性差异。与模型组比较,奥美拉唑组中 GAS 含量升高,VIP 含量降低,有显著性差异 ($P < 0.05$),MTL 变化无显著性差异。化浊解毒方

组可升高 GAS,MTL 含量,降低 VIP 含量,与模型组比较,有显著性差异 ($P < 0.05$)。



A. 对照组;B. 模型组;C. 奥美拉唑 3.6 × 10⁻³ g·kg⁻¹ 组;
D. 化浊解毒方 12.5 g·kg⁻¹ 组

图 1 化浊解毒方对食管黏膜病变的影响(HE, ×400)

表 2 新降糖颗粒各组大鼠血 GAS,MTL,VIP 水平影响的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	GAS/ng·L ⁻¹	MTL/ng·L ⁻¹	VIP/ng·L ⁻¹
对照	-	15	56.7 ± 5.3	136.6 ± 7.5	123.8 ± 12.2
模型	-	13	41.0 ± 3.2 ¹⁾	141.6 ± 9.4	137.3 ± 13.7 ¹⁾
奥美拉唑	3.6 × 10 ⁻³	14	68.6 ± 5.0 ³⁾	139.8 ± 8.9	115.8 ± 11.4 ³⁾
化浊解毒方	12.5	14	65.3 ± 4.4 ³⁾	163.2 ± 9.1 ³⁾	109.9 ± 12.6 ³⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

RE 是胃食管反流病的一种临床类型,是由胃、十二指肠内容物反流入食管而引起的食管黏膜损伤,表现为食管黏膜充血、水肿、糜烂、溃疡的病理变化,以烧心、反酸、胸骨后疼痛为主要临床表现。严重的 RE 与 Barrett 食管、食管癌密切相关,甚至可引起支气管哮喘、阻塞性睡眠呼吸暂停综合征,严重影响患者生存质量。中医学无此病名,依据其临床症状将其归属于“嘈杂”、“吐酸”、“烧心”、“胃痞”、“胸痛”等范畴。食管为饮食之通路,《难经集注》称其为“胃之系”,故凡胃与食管之病多有相似之病因病机。课题组经多年临床研究发现 RE 病因多为六淫伤中,情志不遂,饮食不适而内伤脾胃,中焦失司,气机郁滞,逆乱失和,脾胃不能升清降浊,则水反为湿,谷反为滞,湿滞日久化生热毒,湿热毒邪互结而酿生浊毒。病机常表现为气机郁滞、湿热内阻、浊毒

内蕴、瘀血停滞、阴液亏虚,可单一为病又多相兼为害,而湿浊和热毒是本病发病和病机演变的关键。基于此课题组采用化浊解毒方治疗该病。方中重用石菖蒲、砂仁化湿和胃健脾,湿祛而脾自健,脾健而绝生湿之源。蒲公英、连翘清热解毒,蒲公英兼以利湿,连翘又可轻宣郁热取“火郁发之”之意。上 4 味共为君药。紫豆蔻、藿香、佩兰醒脾开胃,芳香化湿,增强化湿和胃之效。黄芩、半边莲、半枝莲、白花蛇舌草清热解毒祛湿。绞股蓝、茯苓益气健脾渗湿,化湿可祛脾病之因,健脾可绝生湿之本;配以枳实、厚朴理气消痞,降逆除胀,而复脾胃升清降浊之功。现代药理研究表明:砂仁、石菖蒲具有促进胃肠动力,调节免疫的功能^[6];蒲公英的多糖部分有抗肿瘤作用^[7];佩兰含多种成分的挥发油,具有祛痰、抑菌防流感、抗炎、增强免疫力、抗肿瘤等作用^[8]。茯苓有效成分茯苓三萜具有抗炎、增强免疫、抗衰老、镇静、

抑菌、抗氧化、利尿、降低胃酸、抗肿瘤等作用^[9]。诸药相合,标本兼治,使浊邪祛,毒邪解而诸症向愈。

胃肠激素对消化系统的功能具有重要的调节作用,下食管括约肌作为 RE 发病的一个关键因素,其受胃肠激素的影响较大^[10]。MTL,GAS,P 物质等可增强下食管括约肌;VIP、生长抑素、抑胃肽等可降低下食管括约肌^[11]。GAS,MTL 具有促进胃黏膜增生、调节胃肠道分泌及运动的作用。相关研究表明:GAS 和 MTL 可增加下食管括约肌的收缩,二者的异常降低可导致胃排空障碍,致使胃酸反流引发该病^[12-13]。而 VIP 为抑制性神经递质,主要以神经分泌方式作用于下食管括约肌,为介导其松弛的重要原因之一,VIP 的异常升高是 RE 发病机制之一^[14]。

本实验结果表明,化浊解毒方能够降低浊毒内蕴型反流性食管炎大鼠血清 VIP 的含量,升高血清 GAS,MTL 含量,改善大鼠病理损伤,表明本方可能是通过双向调控机制,调节机体内正负相关因子而达到治疗效果。

[参考文献]

- [1] 钟毅,周红,钟灵,等.降逆和胃汤治疗反流性食管炎 45 例临床观察[J].中国中西医结合杂志,2005,25(10):876.
- [2] 章一凡,朱雄雄.加味左金丸联合铝碳酸镁治疗反流性食管炎临床观察[J].中成药,2003,25(5):375.
- [3] 许树长,戴军,胡运彪,等.试验性酸性反流性食管炎动物模型制备的研究[J].中华消化杂志,1999,19(3):208.

- [4] 于强,袁红霞,崔乃强.酸性反流性食管炎大鼠模型的改良制备[J].中国中西医结合消化杂志,2002,10(2):74.
- [5] 中华医学会消化内镜学分会.反流性食管炎诊断及治疗指南(2003)[J].中华消化内镜杂志,2004,21(4):221.
- [6] 沈映君.中药药理学[M].北京:人民卫生出版社,2000:603.
- [7] 刘启泉,王艳玲,张晓利.英连金和胃方治疗胃癌前病变 53 例临床观察[J].河北中医,2008,30(12):1250.
- [8] 魏道智,宁书菊,林文雄.佩兰的研究进展[J].时珍国医国药,2007,18(7):1782.
- [9] 王本祥.现代中药药理与临床[M].天津:天津科技翻译出版公司,2004:486.
- [10] 查安生,曹静.健胃冲击对反流性食管炎模型大鼠血清胃泌素和胃动素分泌的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2012,20(10):442.
- [11] 魏良洲.胃食管反流病[M].北京:人民军医出版社,2004:9.
- [12] 于强.反流性食管炎基础研究进展[J].医学综述,2009,4(15):1202.
- [13] 张宏玲,王玉玲,慕仲元,等.反流性食管炎和非糜烂性反流病患者的食管动力、酸暴露与胃动素结果的分析[J].兰州大学学报:医学版,2010,36(4):64.
- [14] Kassim S K, Touny E I M, Guinaidy E I M, et al. Serum nitrates and vasoactive peptide in patients with gastroesophageal reflux disease[J]. Clin Biochem, 2002, 35(8):641.

[责任编辑 周冰冰]

《中国当代医药》杂志 欢迎投稿 欢迎订阅

《中国当代医药》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管,中国保健协会、当代创新(北京)医药科学研究院主办的医药卫生专业期刊,本刊已被美国化学文摘(CA)数据库、万方数据数字化期刊群、中国核心期刊(遴选)数据库、中国知网、中国学术期刊网络出版总库、中文科技期刊数据库全文收录,系中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。现为旬刊,国内刊号:CN11-5786/R,国际刊号:ISSN 1674-4721,邮发代号:2-515,定价:每期 20 元,通过本刊发行部订阅全年 36 期杂志优惠价为 540 元。

主要栏目:综述、论著、实验研究、临床研究、药理与毒理、药品鉴定、药物与临床、新药评价、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、中医中药、护理研究、制剂与技术、医药教育、调查研究、工作探讨等 50 多个栏目。根据全国继续医学教育委员会的《继续医学教育学分授予与管理办法》学分授予标准,在本刊发表的论文可获得国家级继续教育学分。本刊出版周期短,来稿无论录用与否均在短期内告知作者。对省、部级以上部门立项的科研论文以及本刊订户的论文予以优先刊登。本刊订户凭订阅单复印件投稿,同等条件优先录用。欢迎各医药单位、院校、厂家刊登广告。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-602 邮编:100025

投稿热线:010-59679076 59679077 发行热线:010-59679533 传真:010-59679056

投稿信箱:ddy@vip.163.com 网址:www.dangdaiyiyao.com