

平胃散对湿困脾胃证肠黏膜及离子泵损伤修复作用研究

张丰华, 黄秀深*, 周艳霞, 秦玉花, 孙改侠, 张瑞
(成都中医药大学, 成都 610075)

[摘要] 目的: 探讨湿困脾胃证模型肠黏膜屏障功能障碍及平胃散的修复作用。方法: 40 只大鼠随机分为空白对照组、模型组、治疗组、自然恢复组, 每组 10 只。建立湿困脾胃证大鼠模型, 观测各组大鼠血清 *D*-乳酸含量、血清二胺氧化酶(DAO)活性、空肠组织匀浆谷氨酰胺(Gln)浓度和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 活力变化情况。结果: 与空白组相比, 模型组大鼠血清 *D*-乳酸含量升高 ($P < 0.01$), 空肠 Gln 浓度、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性降低 ($P < 0.01$); 平胃散治疗后各指标均有恢复, 且效果都好于自然恢复组。结论: 湿困脾胃证能造成肠黏膜屏障功能及离子泵出现障碍, 平胃散对其有明显修复作用。

[关键词] 平胃散; 湿困脾胃证; 肠黏膜屏障

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0129-04

Functional Recovery from Damage of Intestinal Barrier and Ion Pump by Pingwei Powder in Rats with Syndrom of Dampness Blocking Spleen and Stomach

ZHANG Feng-hua, HUANG Xiu-shen*, ZHOU Yan-xia, QIN Yu-hua, SUN Gai-xia, ZHANG Rui
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

[Abstract] Objective: To explore the damage of intestinal barrier in the rats model of dampness blocking spleen and stomach syndrome and the functional recovery of Pingwei powder for it. **Method:** SD rats were randomly divided into control group, model group, treatment group and autonomous recovery group, ten rats in each. Animal model of dampness blocking spleen and stomach was established. Such indexes as content of *D*-lactic acid and activities of DAO, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ were tested. **Result:** Compared with the blank group, the content of *D*-lactic acid increased ($P < 0.01$) and the activities of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ decreased obviously ($P < 0.01$) except DAO ($P > 0.05$). The general trend in Pingwei powder group treatment was better than that in natural recovery. **Conclusion:** Pingwei Powder can markedly recovery the damage of intestinal barrier and ion pump in rats with syndrom of dampness blocking spleen and stomach.

[Key words] Pingwei Powder; dampness blocking spleen and stomach syndrome; intestinal barrier

湿困脾胃证又称湿阻中焦、中湿证、湿困脾阳证, 是脾胃病的一类常见证型。因其起病具有广泛性、隐匿性, 复杂性的特点, 目前日益受到关注。现

代研究资料表明, 众多疾患常并发湿困脾胃证, 导致病程延长, 治疗难度增大, 使原有疾病加重或变生他证^[1]。此外, 该证还常使人处于亚健康状态^[2], 严重影响生活质量。由此可见, 湿困脾胃证不仅是临床众多疾患常见证型, 表现为危害大, 病程长, 而且与当今亚健康状态密切相关, 最为人们所忽略, 往往成为一些流行疾病暴发的温床, 因此全面深入揭示该证的发生机制, 探求该证的科学内涵不仅具有重要的学术价值而且也具有重要的临床和社会意义, 从而为防治众多疾病的发生与发展提供试验依据。

[收稿日期] 20100610(001)

[基金项目] 四川省中医药管理局资助项目(200614), 四川省重点学科项目(2008003085)

[第一作者] 张丰华, 博士, 讲师, 主要从事肿瘤药物研究, Tel: 13699091856, E-mail: hot285@126.com

[通讯作者] * 黄秀深, Tel: 028-61800225, E-mail: jcbl7747@sina.com.cn

笔者研究小组前期研究发现湿困脾胃证模型大鼠肠道黏膜屏障功能往往出现明显障碍。本论文就笔者对湿困脾胃证模型造成的肠黏膜屏障功能及肠道能量代谢障碍情况与平胃散对其的修复作用的试验结果做如下报道。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,体重 180 ~ 220 g,由成都中医药大学试验动物中心提供,合格证号:SCXK(川)2004-11,检疫后备用。适应性饲养一周,自由摄食全价颗粒饲料,动物房温度维持在 18 ~ 25 左右。

1.2 药品制备 平胃散配方:苍术 24 g,厚朴 18 g,陈皮 12 g,炙甘草 6 g,均购自同仁堂成都分店,经成都中医药大学制剂室鉴定合格。

先将药物加水 500 mL 浸泡 1 h,然后与大枣 2 枚、生姜 2 片一同煎煮至 300 mL 左右,再浓缩成质量浓度为 1 g·mL⁻¹的储备药液。

1.3 试剂 D-乳酸测试盒,北京锐鑫农科贸有限公司,批号 200809;二胺氧化酶(DAO)测试盒,南京建成科技有限公司,批号 20080706;谷氨酰胺(Gln)测试盒,南京建成生物工程研究所,批号 20070628;ATPase(定磷法)测试盒,南京建成生物工程研究所,批号 20070629;考马斯亮蓝测试盒,南京建成生物工程研究所,批号 20070714。

2 方法

2.1 模型复制 SD 大鼠 40 只,适应性饲养一周,自由摄食全价颗粒饲料,动物房温度维持在 18 ~ 25 左右。随机分为 2 批,10 只常规饲养,30 只造模。

湿困脾胃参考文献[3]。将大鼠放在温度 18 ~ 25 ,湿度(90 ± 5)%的造模箱内饲养;造模大鼠单日禁食并给予 4 冰水,每只 2 mL,ig 1 次,双日供应充足饲料并给予猪油,每只 4 mL,ig 1 次;每日 8 00 ~ 16 00 令大鼠站在 4 cm 深的水中,控制睡眠时间 8 h。连续造模 20 d。造模结束后,常规饲养的 10 只大鼠为空白组对照组(空白组),造模的 30 只大鼠随机分为湿困脾胃证模型组(模型组)、平胃散治疗组(平胃散组)和自然恢复组。平胃散治疗组大鼠给予平胃散汤剂 ig(10 mL·kg⁻¹,按生药计为 10 g·kg⁻¹),同时空白组和自然恢复组 0.9% 生理盐水 ig(10 mL·kg⁻¹),共 3 d。

2.2 检测方法 模型组于造模结束当日处死取材,其他 3 组 3 d 后处死取材。

股动脉取血,静置 2 h 左右,低温离心机离心 2 000 r·min⁻¹,5 min,取上清,分装, - 80 冰箱冻存,待测 D-乳酸含量和 DAO 活性。

冰上取空肠组织各 100 mg,冰水匀浆配制成 10% 匀浆液。

Gln:空肠组织 10% 匀浆液 4 3 000 r·min⁻¹,10 min 离心取上清液, - 80 冰冻保存待测。

ATPase:空肠组织 10% 匀浆液 4 1 500 · min⁻¹,15 min 离心取上清液, - 80 冰冻保存待测。

考马斯亮蓝测定蛋白含量:空肠组织 10% 匀浆液 4 1 500 · min⁻¹,10 min 离心取上清液, - 80 冰冻保存待测。

检测操作及运算严格按照试验说明书步骤进行。

2.3 统计学方法 定量数据都以 ̄x±s 表示,组间比较采用 SPSS13.0 统计软件处理数据进行单因素方差分析或非参数检验。P < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状态 正常对照组大鼠在整个试验过程中,自始至终毛色光亮,形体肥壮,食量较多,活动灵活,未见大便溏泻。模型组大鼠体重减轻,活动量小,皮毛色泽晦暗,毛发打结,造模第 1 周,大鼠见脂肪包被样和脂肪样便;造模第 2 周,大鼠见脂肪样便和黄褐色稀溏便,体重基本停止增长甚至下降,饮水、进食量明显下降;造模第 3 周,大鼠大便粪质较第 2 周稍干,以黄褐色软便为主,体重有增长趋势,饮水、进食量基本与第 2 周持平。

3.2 血清 D-乳酸含量及二胺氧化酶活性 由表 1 试验结果可知,模型组大鼠血清 D-乳酸含量明显增高,与空白组比较有统计学意义(P < 0.05),给予平胃散治疗后含量降低,效果明显好于自然恢复。模型组大鼠 DAO 活性降低,但与空白组比较无意义;经平胃散治疗后活性增高;自然恢复组与模型组比较无明显变化。

表 1 各组血清 D-乳酸及 DAO 活性(̄x±s, n = 10)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	D-乳酸 /g·L ⁻¹	DAO /U·mL ⁻¹
空白对照	-	0.214 ± 0.140 ¹⁾	12.44 ± 0.72
模型	-	2.296 ± 0.588	11.47 ± 0.89
平胃散	10	0.533 ± 0.380 ¹⁾	15.18 ± 1.14 ¹⁾
自然恢复	-	0.968 ± 0.653 ^{1,2)}	11.94 ± 0.85

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.05,与空白对照比较²⁾ P < 0.05 (表 2 ~ 3 同)。

3.3 空肠 Gln 含量变化 如表 2 所述,造模后,模型组空肠 Gln 浓度明显下降,经平胃散治疗后有较大程度恢复,与模型组比较具有统计学意义 ($P < 0.05$),但仍不及空白对照组,并具有统计学意义 ($P < 0.05$),经自然恢复后略有升高,恢复效果不明显。

表 2 各组空肠 Gln 浓度变化($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

分组	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	Gln / $mmol \cdot L^{-1}$
空白对照	-	3.606 5 \pm 1.608 0 ¹⁾
模型	-	1.111 4 \pm 0.457 9
平胃散	10	2.051 9 \pm 0.625 2 ^{1,2)}
自然恢复	-	1.324 3 \pm 0.652 5

3.4 空肠 $Na^+ - K^+ - ATPase$, $Ca^{2+} - ATPase$ 活力变化

如表 3 所示,造模后空肠 $Na^+ - K^+ - ATPase$, $Ca^{2+} - ATPase$ 活力显著下降 ($P < 0.05$), $Na^+ - K^+ - ATPase$ 活力自然状态下未恢复, $Ca^{2+} - ATPase$ 活力自然状态下有一定恢复,经平胃散治疗后均有明显好转,但无统计学意义。

表 3 各组空肠 $Na^+ - K^+ - ATPase / Ca^{2+} - ATPase$ 活力变化($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

分组	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	$Na^+ - K^+ - ATPase$ / $molPi \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$	$Ca^{2+} - ATPase$ / $molPi \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$
空白对照	-	3.110 1 \pm 1.032 6 ¹⁾	2.687 7 \pm 1.376 8 ¹⁾
模型	-	1.731 7 \pm 0.279 1	1.380 3 \pm 0.320 2
平胃散	10	2.457 7 \pm 0.685 9	2.082 6 \pm 0.507 9
自然恢复	-	1.718 6 \pm 0.561 4	1.762 8 \pm 0.697 5

4 讨论

肠道是人体最大的细菌和内毒素储存场所,约有 400 种以上肠道细菌组成微生态平衡,正常情况下,肠道有阻止这些细菌及毒素进入人体循环的能力,因此肠道具有屏障功能^[4]。检测肠道屏障功能的状况是诊断肠道屏障功能障碍的重要依据,但目前直接观察肠道屏障功能仍较困难,多通过间接的方法进行检测,常用方法为肠道通透性测定、血内毒素测定、肠黏膜 pH 测定和二胺氧化酶测定^[5]。本试验通过测定大鼠血清 D-乳酸含量和 DAO 活性的变化情况对湿困脾胃证模型大鼠肠黏膜屏障情况进行评估。

D-乳酸是细菌代谢、裂解的产物,肠道菌群中多种细菌可产生,而哺乳动物组织既不产生 D-乳酸,

也不能或仅能缓慢代谢 D-乳酸,如若肠黏膜细胞损伤,细胞间紧密连接破坏,肠通透性增加后,可使肠道中 D-乳酸经过损伤黏膜入血,故测定血中 D-乳酸含量可反映肠黏膜损伤程度和肠通透性变化^[6]。DAO 主要分布于肠道(占 95% 以上),以空、回肠活性最高,且主要位于肠绒毛顶端细胞内。DAO 活性能可靠地反映肠上皮细胞成熟度和完整性,其变化可反映肠黏膜屏障的功能状态^[7]。

Gln 是肠黏膜屏障中一个非常重要的营养素,它是肠上皮细胞、淋巴细胞和巨嗜细胞的重要代谢燃料,肠道 70% 以上的能量供给依赖 Gln^[8,9]。而 ATPase 则主要存在于组织细胞及细胞器的膜上,是生物膜上的蛋白酶,它在水液代谢、物质转运、能量转换以及信息传递方面发挥重要作用,维持细胞内外水、电解质平衡,维持细胞的兴奋性和传导性,调节神经递质的释放及代谢。

由本次试验结果显示:湿困脾胃证模型组大鼠血清 D-乳酸含量明显升高,提示肠道屏障功能出现障碍,通透性增加,而经平胃散治疗后有明显改善,且效果好于自然恢复组;而 DAO 含量有下降趋势,但无统计学意义,这可能是当肠黏膜遭到严重损伤时,由于肠黏膜上皮破坏,致 DAO 大量释放入血,反而引起血中 DAO 含量反应不明显。但平胃散治疗组 DAO 含量比模型组升高,提示平胃散对肠黏膜可能有一定的修复作用,且这种作用与促进 DAO 的活性有关,但今后尚需做动态研究加以证实。

同时试验结果表明模型组大鼠空肠 Gln 浓度降低,空肠 $Na^+ - K^+ - ATPase$, $Ca^{2+} - ATPase$ 活力降低,说明湿困脾胃证导致肠道多种细胞供能严重不足,而供能不足将会引起后继系列效应的产生:肠上皮细胞供能不足,导致肠上皮细胞成熟度和完整性降低,肠上皮绒毛变短,紧密连接间隙增大,肠黏膜萎缩,肠道通透性增加,肠黏膜机械屏障损伤;免疫细胞供能不足, sIgA 分泌减少,免疫功能下降,肠免疫屏障功能障碍; Gln 不足导致谷胱甘肽合成减少,自由基清除不利,加速肠黏膜屏障损伤。

平胃散治疗后空肠 Gln 浓度、 $Na^+ - K^+ - ATPase$, $Ca^{2+} - ATPase$ 活力均升高,提示平胃散可能通过提高机体 Gln 水平与 $Na^+ - K^+ - ATPase$, $Ca^{2+} - ATPase$ 活性来修复损伤的肠黏膜屏障功能。

(下转第 136 页)

加其水溶性及脂溶性,从而增强了药物的吸收,提高了生物利用度。同时,因独特的“鼻-脑”通路的存在,药物经鼻腔给药后,能有效的进入内脑发挥防治作用,所以黄芩苷磷脂复合物鼻腔给药表现出比舌下静脉给药更好的防治作用。

另外,在药效学试验中本文设计的不同给药途径的给药浓度有所不同,主要原因是黄芩苷及其磷脂复合物溶解度较低,配制的浓度较高时,药液呈较为均匀的浑浊状态,可以鼻腔给药(鼻腔给药的体积有一定限度,需要配制较高浓度),但是,浑浊状态的药液又不太适合静脉给药,因此,在鼻腔给药浓度的基础上稀释了 10 倍,但是给药体积也为鼻腔给药的 10 倍,保证了给药量的一致性。但是因为给药浓度的不同,是否会导致药理效应的差异,还需进一步深入研究才能阐明。

[参考文献]

[1] 张喜平,田华,程琪辉.黄芩苷的药理作用研究现状[J].中国药理学通报,2003,19(11):1212.
[2] 吴建梅.黄芩苷磷脂复合物理化性质的研究[J].中

国药杂志,2001,36(3):173.

[3] 许润春,林彦君,吴品江,等.黄芩苷磷脂复合物理化性质研究[J].中成药,2008,30(6):932.
[4] 何秋,刘美洁,朴英善,等.线栓法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的研究[J].中国医科大学学报,1998(4):343.
[5] 张成英,赵旭东.栓线法制作大鼠局灶性脑缺血模型插线部位的选择[J].四川解剖学杂志,2004(2):110.
[6] 毛世瑞,史哲,毕殿洲.安乃近溶液鼻黏膜吸收的研究[J].中国药理学杂志,1997,32(2):87.
[7] 赵玉男,石钺,邢东明,等.YL2000 中黄芩苷在正常大鼠体内的药物动力学研究[J].中国中医基础医学杂志,2002,8(9):59.
[8] 吴建梅,陈大为,张汝华,等.天然活性成分磷脂复合物药理学研究概述[J].中国药理学杂志,1998,33(1):9.
[9] 郑爱萍,李春平,郝睿.鼻腔给药靶向与中枢神经系统的研究进展[J].中国药事,2005,19(4):2.
[10] 任丽.缺血性脑水肿的病理生理研究进展[J].国外医学·神经病学神经外科学分册,2003,30(5):23.

[责任编辑 聂淑琴]

(上接第 131 页)

[参考文献]

[1] 李连成.湿阻的流行病学调查[J].中医杂志,1992,(6):44.
[2] 庞军,宏亮,杨扬,等.亚健康状态中医证型相关文献统计分析[J].中医临床康复,2006,10(27):105.
[3] 黄秀深,沈涛,刘伟,等.平胃散对湿困脾胃证模型大鼠部分免疫功能的影响[J].中医杂志,2007,48(8):730.
[4] 黎介寿.加强对肠屏障功能障碍的研究[J].中国临床营养杂志,2003,11(4):243.
[5] 陈强谱,欧琨.肠道屏障功能障碍的监测[J].消化病诊断和治疗,2002,2(2):59.

[6] Murray M J, Gonze M D, Nowak L R, et al. Serum D(-) 2lactate levels as an aid to diagnosing acute intestinal ischemia[J]. Am J Surg, 1994, 167(6):575.
[7] Lok G D. Plasma postheparin diamine oxidase[J]. J Clin Invest, 1983, 71:1308.
[8] Domeneghini C, Di Giancamillo A, Bosi G, et al. Can nutraceuticals affect the structure of intestinal mucosa? Qualitative and quantitative microanatomy in L-glutamine diet-supplemented weaning piglets[J]. Vet Res Commun, 2006, 30(3):331.
[9] 王兴鹏.肠道屏障功能障碍[M].上海:第二军医大学出版社,2006:447.

[责任编辑 聂淑琴]