

附子理中汤对腹泻型肠易激综合征模型大鼠血清 IL-8、5-HT 的影响

武志娟 谭玮璐 张志敏 谢文娟

(广州医科大学附属第一医院, 广东广州 510120)

摘要 目的:观察附子理中汤对腹泻型肠易激综合征(D-IBS)模型大鼠血清 IL-8、5-HT 的影响。方法:将健康 SPF 级大鼠 50 只,随机分为正常组、模型组、得舒特组和附子理中汤大、小剂量组,除正常组外其余各组大鼠用番泻叶灌胃泻下加束缚应激刺激复制 D-IBS 大鼠模型,造模成功后,各组分别灌胃给药或生理盐水,每日 1 次,连续 2 周。实验结束后,大鼠腹主动脉取血,离心血清保存,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠血清 IL-8、5-HT 的含量。结果:模型组大鼠血清 IL-8、5-HT 均明显高于正常组 ($P<0.05$);附子理中汤各剂量组大鼠血清 IL-8、5-HT 水平均明显低于模型组 ($P<0.05, P<0.01$)。得舒特组大鼠治疗后血清 IL-8 含量与模型组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),亦明显高于附子理中汤各剂量组 ($P<0.05$);5-HT 含量明显低于模型组 ($P<0.01$)。结论:附子理中汤可以降低 D-IBS 模型大鼠血清 IL-8 的含量,从而减轻促炎因子所诱导的炎症反应,效果优于得舒特;可以抑制大鼠血清 5-HT 释放,使肠道平滑肌收缩间接受到抑制而起到治疗作用,与得舒特疗效相当。

关键词 附子理中汤 肠易激综合征 结肠黏膜 病理学 白介素-8 5-羟色胺 大鼠

中图分类号 R574.405 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2016)02-0075-03

附子理中汤具有补虚回阳、温中散寒的功效,可以治疗五脏中寒、下焦虚寒、火不生土、脘腹冷痛、呕逆泄泻。我们临床以其为主方加减治疗脾肾阳虚型腹泻型肠易激综合征(D-IBS)患者,获得了较好的疗效,该方能有效改善患者的免疫功能,减轻腹痛、腹泻症状,延缓复发。为探讨附子理中汤取效机制,我们采用应激腹泻大鼠实验模型,观察中药对 D-IBS 模型大鼠血清白介素-8(IL-8)、5-羟色胺(5-HT)的影响,现将结果报道如下。

1 材料与方

1.1 动物与分组 大鼠 50 只,健康 SPF 级,雌雄各半,体质量 180~200g,购自南方医科大学实验动物中心(批号为 4402100206)。随机选取 10 只为正常组,其余大鼠待造模成功后随机分为模型组、得舒特组、附子理中汤小剂量组、附子理中汤大剂量组,每组 10 只。

1.2 主要仪器 37℃恒温箱(常州宏达仪器厂,型号:HD-100);酶标仪(美国伯乐生物公司,型号:Bio-Rad-680);高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司,型号:HC-3018R);ELISA 试剂盒购自上海百沃科贸有限公司。

1.3 药物及制备

1.3.1 附子理中汤 附子理中汤颗粒剂(广东一方药业有限公司)由党参 1 包(相当于 10g 饮片)、白术 1 包(相当于 10g 饮片)、干姜 1 包(相当于 3g 饮片)、淡附片 1 包(相当于 6g 饮片)、炙甘草 1 包(相当于 3g 饮片)组成。用滚开生理盐水均匀搅拌后,浓缩成实验用大剂量(浓度为 1.5g/mL)、小剂量(0.75g/mL)药液。

1.3.2 番泻叶煎剂制备 取 200g 番泻叶,于 1L 蒸馏水中浸泡 30min,煎煮 10min 后,两层纱布过滤,滤液浓缩至 0.2kg/L,备用。

1.3.3 得舒特 得舒特(匹维溴铵片,法国苏威制药,批号 20110621)磨成粉末,加入蒸馏水中,制成 1.5mg/mL 的溶液。

1.4 模型制备 参考文献[1]采用番泻叶灌胃泻下法加束缚应激刺激复制大鼠模型。造模大鼠每日予以配置好的浓度为 200%番泻叶溶液(按 20mL/kg)灌胃。每日灌药 1h 后,用宽透明胶带分别束缚大鼠的肩部、胸部及前肢,限制其前肢抓搔头面部,使其出现烦躁,其余活动不限制,束缚时间为 2h。持续造模时间为 2 周。正常组在此期间只用等量生理盐水灌胃,不进行束缚干预措施。评价模型以体重变化、

基金项目:国家自然科学基金项目(81403392);广州医科大学博士科研项目(2013C41)

腹泻率、腹泻指数等作为主要指标。造模后模型组大鼠体重增长缓慢,腹泻率达到100%,腹泻指数显著增加,与正常组相比差异有统计学意义,提示造模成功。

1.5 给药 造模2周后,模型组及各治疗组仍按造模方案灌胃番泻叶溶液,灌胃后1h,模型组予生理盐水,附子理中汤大、小剂量组分别予附子理中汤1.5g/mL、0.75g/mL,得舒特组予得舒特1.5mg/mL灌胃,灌胃体积20mL/kg。灌胃1h后,继续进行束缚干预2h。正常组全程等量生理盐水灌胃,不束缚。每日1次,连续2周。

1.6 指标检测 末次给药24h后将大鼠10%水合氯醛皮下注射麻醉,腹主动脉取血,离心血清保存,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清IL-8、5-HT含量,具体操作参考试剂盒,测定前使样本置于室温中复融。取血后于距肛门3cm的结肠处,取一段长约1cm的标本,用生理盐水洗净内容物后放入4%多聚甲醛固定液中,固定24h,自动脱水机中脱水,浸蜡包埋,连续切片,切片放入苏木精-伊红水溶液(HE)中染色,脱水封固,光镜下观察结肠组织形态学变化。

1.7 统计学方法 所有数据用统计软件SPSS11.0处理,资料数据用($\bar{x} \pm s$)表示,组间样本均数采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间样本均数两两比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠结肠黏膜改变情况 各组大鼠的结肠黏膜完整,可见黏膜层、黏膜下层、肌层及浆膜层4层结构,未见明显溃疡、出血等。正常组、模型组、附子理中汤大剂量组大鼠结肠黏膜HE染色未见异常,附子理中汤小剂量组和得舒特组各发现有1只大鼠的结肠黏膜染色后可见黏膜下层有轻度的血管扩张,未发现有黏膜器质性损害及明显炎性细胞浸润。见图1。

2.2 各组大鼠血清IL-8、5-HT水平比较 与正常组比较,模型组大鼠血清中IL-8、5-HT水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,附子理中汤各剂量组IL-8、5-HT水平明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),得舒特组5-HT水

平明显降低($P < 0.01$);与得舒特组比较,附子理中汤各剂量组IL-8水平明显降低($P < 0.05$)。见表1。

表1 各组大鼠血清IL-8、5-HT水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	IL-8(pg/mL)	5-HT(ng/mL)
正常组	10	59.17±22.97	5.108±1.043
模型组	9	152.76±49.70*	8.458±1.546*
得舒特组	10	152.72±72.64	5.500±1.701##
附子理中汤小剂量组	10	79.52±26.14# Δ	4.671±1.657##
附子理中汤大剂量组	10	75.63±20.56# Δ	4.031±1.319##

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与得舒特组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3 讨论

肠易激综合征(IBS)是临床常见病、多发病,以腹泻型肠易激综合征(D-IBS)最为常见,国内调查显示D-IBS为主导的患病率达到54%~74.1%^[2-3]。本病发病机制并不完全明确,应激、肠道运动紊乱、肠道感染、内脏高敏感性、脑-肠轴功能紊乱、精神紧张等被认为是发病重要的相关因素。得舒特是一种对胃肠道具有高度选择性解痉作用的钙离子拮抗剂,对结肠平滑肌有高度选择性,能够防止肌肉过度收缩从而达到解痉作用。

目前认为肠易激综合征患者缺乏肉眼可见的炎症表现,且大多数患者的黏膜常规检查并未发现异常,但随着研究的深入,通过免疫组化、量化组织学以及电子显微镜超微结构的观察分析,有学者发现肠易激综合征患者的肠黏膜组织存在着包括免疫细胞、肠内分泌细胞、神经纤维的改变等细微的形态学变化^[4]。一般认为肠易激综合征患者结肠黏膜存在着低度或中度非特异性炎症,这种炎症即使是很局限,但在一定程度上也会扰乱肠道动力或出现内脏感觉异常。白介素-8(IL-8)是一种很强的中

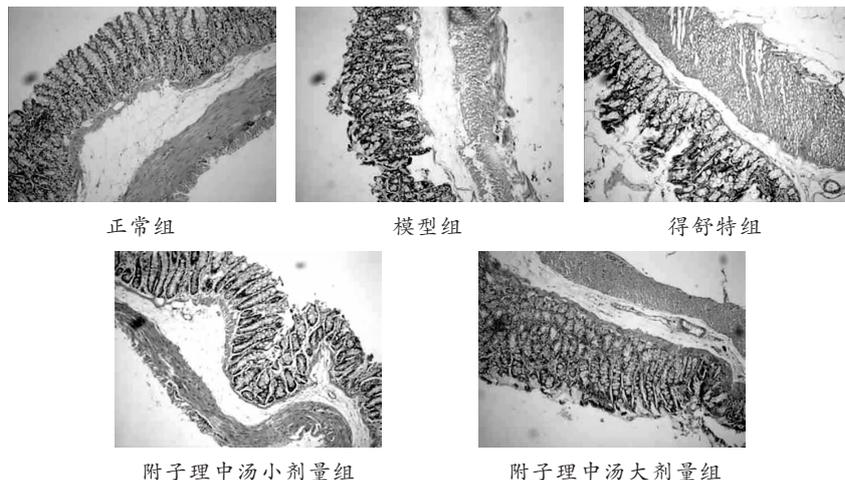


图1 各组大鼠结肠黏膜HE染色图片($\times 40$)

性粒细胞趋化因子,国内有研究发现 IL-8 作用炎症趋化因子参与了肠易激综合征的发病,认为白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)诱发的炎症反应很可能是通过诱导产物以 IL-8 为代表的趋化因子所介导的,有学者发现 D-IBS 患者血清 IL-1 β 、IL-8 含量与正常组相比差异较显著,提示 D-IBS 有炎症因子活化的情况存在^[5-6]。

本实验采用番泻叶灌胃泻下法加束缚应激刺激复制大鼠模型,结果显示苦寒泻下加束缚应激刺激法可以使大鼠排便量明显增多,这种表现与 D-IBS 的特征吻合。镜下正常组和模型组大鼠黏膜染色均未发现水肿、充血及炎症细胞浸润等病理学改变,可以排除器质性病变。模型组大鼠血清中 IL-8 水平显著升高,与正常组相比差异有统计学意义($P<0.05$),但黏膜染色未见明显炎症改变,说明 D-IBS 大鼠肠黏膜的确存在着非特异性炎症改变。治疗后,附子理中汤各剂量均可使大鼠血清 IL-8 水平趋于正常,与模型组相比差异有统计学意义($P<0.05$),从而推测该方通过降低大鼠血清 IL-8 的水平来减轻促炎因子所诱导的炎症反应。本实验结果显示得舒特组治疗后大鼠血清 IL-8 含量较模型组比较无统计学差异,说明其治病机制与抗炎关系不大。

目前认为肠易激综合征的病因可能涉及诸多方面,但精神情绪紧张逐渐被关注,有研究发现长期在苦闷、忧虑、压抑的紧张心情下工作、学习的人易患本病。而胃肠的感觉功能活动受脑-肠轴的调节,D-IBS 患者的内脏感觉功能存在着较正常人敏感的现象。5-羟色胺(5-HT)是脑-肠轴的重要介质之一,其在肠道局部的作用已被学者熟知的有兴奋肠黏膜细胞以及促神经细胞上的 5-HT₄ 受体分泌,从而使肠腔内液体容量增加,导致肠道蠕动、分泌和内脏敏感性增加,出现腹泻和稀便,这些与肠易激综合征的发病有密切联系^[7-9]。因此大多数学者认为,5-HT 参与了 IBS 的部分病理过程,且 IBS 的病情程度与 5-HT 的水平也有着一定的关系。本研究结果也显示造模后模型组大鼠血清 5-HT 水平显著升高,与正常组比较差异有统计学意义($P<0.05$),经治疗后各给药组大鼠血清 5-HT 水平显著下降($P<0.05$),提示 5-HT 水平增高是 D-IBS 发病的一个因素,而附子理中汤可以通过抑制大鼠血清 5-HT 释放,调整内脏敏感性而起到治疗作用。经得舒特治疗后大鼠血清 5-HT 水平也明显下降,提示其解痉作用从一定程度上也可以调节内脏敏感性,从而提高机体对腹痛的耐受性。

附子理中汤由炮附子、人参、干姜、炙甘草、白术各等分组成,有温中健脾的功效。现代研究表明,方中附子、干姜、白术均有抗炎作用,并可调节肠道的收缩功能。结合本实验结果,推测附子理中汤有可能通过调节结肠黏膜炎症因子的含量,减缓轻度炎症反应起到治疗 D-IBS 的效果。

本实验研究结果提示附子理中汤对肠易激综合征的治疗是从不同层次、不同靶点入手的,因此可以对机体整体进行调节,这也是中药复方不可替代的优势。关于本实验模型肠黏膜组织是否存在包括免疫细胞、肠内分泌细胞、神经纤维的改变,以及附子理中汤对肠易激综合征模型整体免疫功能的调节作用,是我们进一步研究的方向。

参考文献

- [1] 徐海珍,谢建群,吴大正,等.温中健脾方对腹泻型肠易激综合征大鼠下丘脑及结肠黏膜 5-HT 表达的影响[J].上海中医药大学学报,2009,23(3):29.
- [2] 潘国宗,鲁素彩,柯美云,等.北京地区肠易激综合征的流行病学研究:一个整群、分层、随机的调查[J].中华流行病学杂志,2000,21(1):26.
- [3] 熊理守,陈旻湖,陈惠新,等.广东省社区人群肠易激综合征的流行病学研究[J].中华医学杂志,2004,84(4):278.
- [4] KIRSCH R H,RIDDELL R.Histopathological alterations in irritable bowel syndrome[J].Mod Pathol,2006,19:1638.
- [5] 张茹,王福贤.肠易激综合征患者 IL-8 和 TNF- α 含量变化的意义[J].临床消化病杂志,2004,16(4):167.
- [6] 宋继中,王巧民,吴正祥,等.肠易激综合征患者血清 IL-1 β 、IL-10 及皮质醇变化的研究[J].现代诊断与治疗,2005,16(2):68.
- [7] LESURTEL M,SOLL C,GRAF R,et al.Role of serotonin in the hepato-gastrointestinal tract:an old molecule for new perspectives[J].Cellular and Molecular Life Sciences,2008,65(6):940.
- [8] 李兆申,詹丽杏,邹多武,等.肠易激综合征患者分泌 5-羟色胺的肠嗜铬细胞形态及功能的改变[J].中华消化杂志,2004,24(2):94.
- [9] DOBREK L,THOR P J. Pathophysiological concepts of functional dyspepsia and irritable bowel syndrome future pharmacotherapy[J].Acta Poloniae Pharmaceutica,2009,66(5):447.

第一作者:武志娟(1979—),女,医学博士,副主任医师,从事中医药防治脾胃病的研究。

通讯作者:张志敏,医学博士,主任医师,硕士研究生导师。zhangzhimin51666@163.com

收稿日期:2015-08-26

编辑:吴宁