

“抗纤软肝汤”对肝性脑病患者临床疗效及肠黏膜屏障功能的影响

王德力 舒生虎

(安徽省中医院亳州分院, 安徽亳州 236800)

摘要 目的:观察在常规西医治疗的基础上加用抗纤软肝汤对肝性脑病患者的临床疗效及肠黏膜屏障功能的影响。方法:70例肝性脑病患者,采用随机数字表法分为治疗组与对照组。2组均予西医常规治疗,治疗组同时予抗纤软肝汤,均治疗14d。比较2组患者治疗前后数字连接试验(NCT)和数字符号试验(DST)评分、肝功能、止血功能及血氨水平,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法检测血浆紧密连接蛋白(occludin)、封闭蛋白1(claudin-1)、水通道蛋白3(AQP3)、水通道蛋白4(AQP4)和内毒素水平,采用高效液相色谱法测定尿乳果糖/甘露醇(Lactulose/Mannitol, L/M)排泄率比,以此评价肠黏膜通透性。结果:治疗组总有效率为91.43%,明显高于对照组的77.14% ($P<0.05$)。2组患者治疗后NCT评分、DST评分、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、凝血酶原时间(PT)、国际标准化比值(INR)、血氨、内毒素、L/M排泄率均较治疗前明显降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),白蛋白(ALB)较治疗前明显升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),治疗组改善程度明显优于对照组 ($P<0.05$, $P<0.01$)。治疗后2组患者occludin、claudin-1、AQP3、AQP4水平明显高于治疗前 ($P<0.05$, $P<0.01$),治疗组明显高于对照组 ($P<0.01$)。结论:抗纤软肝汤联合西医常规疗法治疗肝性脑病患者效果更为显著,可能与增加水通道蛋白表达、保护肠黏膜屏障、降低肠黏膜通透性、减少血氨生成及改善肠源性内毒素血症有关。

关键词 抗纤软肝汤;肝性脑病;肠黏膜屏障;神经心理学评分;血氨;内毒素;水通道蛋白;中西医结合疗法

中图分类号 R747.905 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2019)07-0030-04

基金项目 安徽省中医发展专项资金特色中药制剂项目(2014ZYJ09)

肝性脑病(Hepatic Encephalopathy, HE)是许多终末期肝病发生发展的必然过程。在肝性脑病的发病机理中,高氨血症起着关键作用。最近研究表明,氨参与许多信号转导通路,导致星形胶质细

胞功能的持续损害^[1]。因此,临床上如何科学有效地减少氨的产生是值得密切关注的课题。血氨主要通过肠道吸收,终末期肝病时肠黏膜屏障功能障碍,导致肠源性内毒素血症,增加血氨水平^[2]。紧密

[6] 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则(试行)[M].北京:中国医药科技出版社,2002:61.
 [7] 许庆.慢阻肺I号方治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期(痰热壅肺证)的疗效观察[J].中国中医急症,2015,24(9):1619.
 [8] 慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)诊治专家组.慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)诊治中国专家共识(2014年修订版)[J].国际呼吸杂志,2014,34(1):1.
 [9] 兰岚,高占成.慢性阻塞性肺疾病急性加重的发病机制[J].国际呼吸杂志,2007,27(3):203.
 [10] 孙政华,邵晶,郭政.黄芪化学成分及药理作用研究进展[J].中医临床研究,2015,7(25):22.
 [11] 樊长征,洪巧瑜.党参对人体各系统作用的现代药理研究进展[J].中国医药导报,2016,13(10):39.

[12] 万丽娟,卢金清,许俊洁,等.瓜蒌子化学成分和药理作用的研究进展[J].中国药房,2015,26(31):4440.
 [13] 韩炜.川芎的化学成分与药理作用研究进展[J].中国现代中药,2017,19(9):1341.
 [14] 李露,戴婷,李小龙,等.苦杏仁苷药理作用的研究进展[J].吉林医药学院学报,2016,37(1):63.

第一作者:张启发(1975—),男,本科学历,主治医师,从事急危重症的中西医诊疗研究。
 pj2009@yeeh.net

收稿日期:2019-01-25

编辑:吴宁

连接(tight junction, TJ)是肠道机械屏障的重要组成部分。TJ至少由3类跨膜蛋白组成:紧密连接蛋白(occludin)、封闭蛋白(claudin)家族与连接黏附分子,这些分子均参与调节TJ的功能。水通道蛋白(Aquaporins, AQP)是一组分子量约30kDa疏水性膜转运蛋白家族,具有十余种同源性成员,广泛存在于哺乳动物的多种组织细胞内,其功能受到细胞精细调控,以维持细胞正常的生理状态,AQP3在消化系统中主要参与水及甘油的运输^[3]。然而,AQPs与肠黏膜屏障功能障碍的关系及可能的分子机制仍不十分清楚。课题组以往的研究表明抗纤软肝汤可以改善肝纤维化^[4],因此本研究试图从AQPs与肠黏膜屏障的角度,探讨抗纤软肝汤治疗肝性脑病的疗效及作用机理,现将结果报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 选择2015年1月至2017年1月安徽省中医院亳州分院收治的70例肝性脑病患者,采用随机数字表法分为治疗组与对照组,每组35例。治疗组男22例,女13例;年龄26~78岁,平均年龄(42.8±5.2)岁;平均病程(10.2±2.6)年;失代偿期乙型肝炎后肝硬化25例,慢加急性肝衰竭10例;肝性脑病分期Ⅰ级15例,Ⅱ级12例,Ⅲ级4例,Ⅳ级4例。对照组男20例,女15例;年龄28~80岁,平均年龄(41.4±6.3)岁;平均病程(11.4±3.3)年;失代偿期乙型肝炎后肝硬化27例,慢加急性肝衰竭8例;肝性脑病分期Ⅰ级13例,Ⅱ级15例,Ⅲ级4例,Ⅳ级3例。2组患者性别、年龄、病程等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过医院伦理委员会审核。

1.2 诊断标准 参照《中国肝性脑病诊治共识意见(2013年,重庆)》^[5]拟定。肝性脑病West-Haven分级标准:Ⅰ级,轻度认知障碍,欣快或抑郁,注意时间缩短,加法计算能力降低,可引出扑翼样震颤;Ⅱ级,倦怠或淡漠,轻度定向异常(时间和空间定向),轻微人格改变,行为错乱,语言不清,减法计算能力异常,容易引出扑翼样震颤;Ⅲ级,嗜睡到半昏迷,但对语言刺激有反应,意识模糊,明显的定向障碍,扑翼样震颤可能无法引出;Ⅳ级,昏迷(对语言和强刺激无反应)。

1.3 纳入标准 符合诊断标准;年龄18~65岁;近2周末服用门冬氨酸鸟氨酸、抗生素、益生菌等药物;患者知情并签署知情同意书;能坚持完成1个疗程治疗。

1.4 排除标准 合并严重肝、肾、心及造血系统功能不全者;合并其他感染者,如肺炎、急性肠炎、尿路

感染等;合并严重意识障碍或精神疾病者;妊娠或哺乳期妇女;病情恶化或出现严重不良反应事件,需要退出临床试验者;无法耐受中药者。

2 治疗方法

2.1 对照组 予控制蛋白摄入,维持水电解质和酸碱平衡。乳果糖口服溶液(生产批号:H20120387;规格:15mL/袋)1袋,口服,2次/d;门冬氨酸鸟氨酸(生产批号:H20130430;规格:10mL/支),静滴,2支/次,1次/d;双歧杆菌三联活菌胶囊(上海信谊药厂有限公司;生产批号:S10950032;规格:210mg/粒),口服,3粒/次,2次/d。

2.2 治疗组 在对照组治疗的基础上给予中药抗纤软肝汤。药物组成:鳖甲20g,丹参、麝虫、桂枝、川芎、郁金、白芍、党参、白术、柴胡各10g,桃仁、枸杞、赤芍各15g,黄芪20g。水煎,每日1剂,均由医院中药煎煮机煎煮,200mL/袋,2袋/剂,每日1剂,早晚各服1剂。

2组疗程均为14d。

3 疗效观察

3.1 观察指标

3.1.1 血清occludin、claudin-1、AQP3、AQP4和内毒素水平 治疗前后2组患者于早晨空腹时采集静脉血4mL,分离血清,采用ELISA双抗体夹心法检测occludin、claudin-1、AQP3、AQP4和内毒素水平。

3.1.2 血氨 采用干片法检测治疗前后2组患者血氨水平。

3.1.3 生化及止凝血功能 全自动生化仪检测治疗前后2组患者谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)水平,全自动血凝仪检测凝血酶原时间(PT)、国际标准化比值(INR)。

3.1.4 数字连接试验(NCT)和数字符号试验(DST)评分 肝性脑病心理学评分(PHES)包括NCT和DST评分,用以进行心理智力测验^[5]。

3.1.5 尿乳果糖/甘露醇(L/M)排泄率检测 使用高效液相色谱法(HPLC-PED)检测2组患者治疗前后L/M排泄率,以评价肠道黏膜通透性。

3.2 疗效判定标准 显效:临床症状明显改善,神志清楚,血氨正常;有效:临床症状有所改善,神志较入院时好转,血氨下降;无效:临床症状无改善,或临床分期加重,血氨无变化或升高,病情渐加重或死亡^[5-6]。

3.3 统计学方法 采用SPSS 15.0统计学软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用成组设计资料的 t 检验,等级资料采用秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3.4 治疗结果

3.4.1 2组患者临床疗效比较 治疗组显效11例,有效21例,无效3例,总有效率91.43%。对照组显效8例,有效19例,无效8例,总有效率77.14%。治疗组总有效率明显高于对照组 ($P<0.05$)。

3.4.2 2组患者治疗前后神经心理学测试结果比较 结果见表1。

表1 治疗组与对照组治疗前后NCT和DST评分比较($\bar{x}\pm s$)分

组别	例数	时间	NCT 评分	DST 评分
治疗组	35	治疗前	85.56±8.24	22.48±2.33
		治疗后	50.86±6.35**#	38.91±3.47**#
对照组	35	治疗前	83.58±8.32	21.53±2.28
		治疗后	67.78±6.21*	29.78±3.31*

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组治疗后比较,# $P<0.05$ 。

3.4.3 2组患者治疗前后肝功能水平比较 结果见表2。

3.4.4 2组患者治疗前后凝血功能、血氨及内毒素水平比较 结果见表3。

3.4.5 2组患者治疗前后occludin、claudin-1、AQP3、AQP4水平比较 结果见表4。

表2 治疗组与对照组治疗前后ALT、AST、ALB、TBIL水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALB (g/L)	TBIL ($\mu\text{mol/L}$)
治疗组	35	治疗前	146.76±15.12	135.75±12.68	25.59±2.22	70.38±7.07
		治疗后	92.32±10.41**#	78.43±9.01**#	33.38±3.56**#	41.88±4.35**#
对照组	35	治疗前	153.71±16.21	136.22±14.21	25.75±2.34	71.39±7.21
		治疗后	110.32±12.13**	98.72±10.04**	29.62±3.23*	55.39±5.12*

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组治疗后比较,# $P<0.05$ 。

表3 治疗组与对照组治疗前后PT、INR、血氨及内毒素水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	PT (s)	INR	血氨 ($\mu\text{mol/L}$)	内毒素 (ng/L)
治疗组	35	治疗前	21.44±2.32	3.32±0.34*	110.59±11.22	60.38±6.07
		治疗后	18.04±1.85**#	2.08±0.21**#	52.38±5.56**#	20.88±2.35**#
对照组	35	治疗前	21.65±2.21	3.39±0.31	116.75±11.34	61.39±6.21
		治疗后	19.52±2.11*	2.79±0.25*	80.62±8.23**	40.39±4.12**

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组治疗后比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

表4 治疗组与对照组治疗前后occludin、claudin-1、AQP3、AQP4水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	occludin (ng/mL)	claudin-1 (ng/mL)	AQP3 (pg/mL)	AQP4 (pg/mL)
治疗组	35	治疗前	31.44±3.32	1.38±0.14	58.85±5.72	32.76±3.34
		治疗后	100.84±10.25**#	6.98±0.71**#	156.72±14.54**#	116.24±11.57**#
对照组	35	治疗前	30.36±3.08	1.49±0.17	61.03±6.24	32.51±3.11
		治疗后	61.72±7.20**	4.36±0.43**	108.73±10.69**	78.24±7.44*

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组治疗后比较,## $P<0.01$ 。

3.4.6 2组患者治疗前后L/M排泄率比较 治疗组治疗前L/M排泄率为(0.14±0.02),治疗后为(0.04±0.01),治疗后明显低于治疗前 ($P<0.01$);对照组治疗前L/M排泄率为(0.15±0.03),治疗后为(0.10±0.02),治疗后明显低于治疗前 ($P<0.05$)。治疗组治疗后L/M排泄率明显低于对照组 ($P<0.01$)。

4 讨论

肝性脑病可归属于中医学“神昏”“昏愤”“谵妄”“癫狂”“厥证”等病范畴。有学者认为病因大致可归纳为外邪、情志饮食内伤、肝气郁结、化火生痰、毒邪内蕴及心神被蒙等,“邪毒蕴结、脑窍不通”为基本病机^[7]。抗纤软肝汤是我科20余年临床总结出的协定方,以往临床研究发现其能明显降低肝纤维化指标LSM值。本方具有补气活血、祛瘀软坚的作用,鳖甲、丹皮、廔虫、桃仁、川芎、赤芍、郁金疏通肝络、活血祛瘀,黄芪、白术、党参、枸杞子、白芍补益正气,诸药合用扶正解毒、保肝开窍。

现代研究表明,肝脏功能受损后,可通过肠-肝轴改变胆汁的分泌、影响肠道的蠕动和供血等途径,

导致肠道黏膜的破坏和肠道菌群的失衡,进一步促使严重并发症的发生,如由细菌移位和内毒素引发的继发性细菌感染和败血症,使患者死亡率增加^[8]。肝性脑病特别是门-体分流性肝性脑病患者血氨多数增高,但血氨的升高水平与病情的严重程度不完全一致。神经心理学测试方法被多国肝性脑病指南推荐作为轻微肝性脑病的筛查或早期诊断的重要方法,其中NCT、DST简单易行,可操作性强。本研究结果表明,抗纤软肝汤治疗肝性脑病具有较好的临床疗效,可改善患者NCT、DST评分和肝功能、止血功能,降低血氨及内毒素水平。进一步的研究发现,这些作用可能与增加肠黏膜屏障功能、降低肠道黏膜通透性有关。肠道通透性增加与肠上皮细胞、紧密连接相关蛋白的结构和功能受损有关。有研究发现肝硬化患者

occludin和claudin-1表达减少,且与血浆内毒素水平呈负相关^[9]。本研究结果也表明,抗纤软肝汤可以增加occludin和claudin-1的表达,同时降低内毒素水平($P<0.01$)。

水通道蛋白(AQPs)是一类能快速转运水的膜整合蛋白,目前发现其在哺乳动物中有13个亚型,不同AQP亚型的分布具有组织、细胞、亚细胞特异性。有研究证实AQP3、AQP4可表达于人的肝脏、肺脏、胃肠道。AQP3、AQP4的异常表达导致结肠对肠腔内的水分吸收减少,从而引起大便溏薄,参苓白术散可显著改善大鼠结肠组织AQP3、AQP4蛋白及mRNA表达^[10]。大黄能抑制AQP3在大鼠结肠黏膜层的表达,其表达降低可能与下调结肠上皮细胞质膜上功能性AQP3数量相关,从而增加粪便含水量^[11]。复方双苓止泻散上调腹泻大鼠小肠AQP4表达从而调节小肠的液体转运^[12]。以上研究结果提示AQP3、AQP4可能通过调节水代谢而影响肠黏膜屏障功能,但缺乏相应的临床研究证实。本研究表明,抗纤软肝汤可以增加AQP3和AQP4的表达。Kawedia J D等^[13]用Hg²⁺阻断AQPs后发现TJ相关蛋白occludin表达水平下降50%,张文杰等^[3]发现降低AQP3的表达能引起TJ结构蛋白occludin和claudin-1表达的减弱,从而引起肠黏膜通透性升高,肠黏膜屏障功能损害。L/M排泄率是评价肠道通透性的公认标准之一,有报道发现在肝硬化患者中L/M排泄率增加,在进展期升高更明显^[14]。本研究结果表明,抗纤软肝汤可以降低L/M排泄率,说明抗纤软肝汤可以降低肠道通透性,这可能与增加AQP3和AQP4的表达进而增加occludin和claudin-1的表达有关。

综上,本研究结果显示,在西医常规治疗基础上加用抗纤软肝汤治疗肝性脑病患者效果更为显著,可能与其增加肠黏膜保护因子occludin、claudin-1、AQP3及AQP4的表达,增强肠黏膜屏障保护,降低肠黏膜通透性,减少血氨生成及肠源性内毒素血症有关。下一步拟深入探讨水通道蛋白在调节肠黏膜屏障中的作用及其作用机制,遴选更加有效的治疗方药开展针对性的治疗,进一步提高临床治疗效果,从而延缓患者的疾病进展,改善临床预后。

参考文献

- [1] LIERE V, SANDHU G, DEMORROW S. Recent advances in hepatic encephalopathy[J]. F1000Res, 2017, 6: 1637.
- [2] 庄端明, 唐月华, 王小平, 等. 肝硬化患者肠黏膜屏障功能障碍的研究现状[J]. 医学新知杂志, 2014, 24(6): 403.

- [3] 张文杰, 徐勇, 王斌, 等. 水通道蛋白3与紧密连接的相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(21): 1974.
- [4] 舒生虎, 王德力, 杜大平, 等. 抗纤维软肝汤治疗肝纤维化临床观察[J]. 浙江中医杂志, 2015, 50(7): 503.
- [5] 中华医学会消化病学分会, 中华医学会肝病学会. 中国肝性脑病诊治共识意见(2013年, 重庆)[J]. 中华消化杂志, 2013, 33(9): 585.
- [6] 吴永斌, 王修锋, 张艳. 中药灌肠联合注射用门冬氨酸鸟氨酸治疗肝性脑病60例临床观察[J]. 河北中医, 2016, 38(3): 398.
- [7] 郭玮婷, 郭晓霞. 轻微型肝性脑病的研究进展与中医治疗[J]. 世界中医药, 2017, 12(10): 2524.
- [8] 李兰娟. 肠道微生态改变对肝脏疾病的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(1): 2.
- [9] ASSIMAKOPOULOS S F, TSAMANDAS A C, TSIAOISSIS G I, et al. Altered intestinal tight junctions' expression in patients with liver cirrhosis: A pathogenetic mechanism of intestinal hyperpermeability[J]. Eur J Clin Invest, 2012, 42(4): 439.
- [10] 李姿慧, 王键, 蔡荣林, 等. 参苓白术散通过ERK/p38 MAPK信号通路干预溃疡性结肠炎大鼠结肠组织AQP3、AQP4的表达[J]. 中成药, 2015, 37(9): 1883.
- [11] 杜丽娟, 占煜, 吴至久, 等. 大黄对便秘大鼠肠动力及结肠水通道蛋白3表达的调节作用[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(4): 873.
- [12] 李艳丽, 赵秀军, 钱金泽, 等. 复方双苓止泻散对腹泻大鼠小肠黏膜AQP4表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(8): 593.
- [13] KAWEDIA J D, JIANG M, KULKARNI A, et al. The protein kinase A pathway contributes to Hg²⁺-induced alterations in phosphorylation and subcellular distribution of occludin associated with increased tight junction permeability of salivary epithelial cell monolayers[J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2008, 326(3): 829.
- [14] FUKUI H. Gut-liver axis in liver cirrhosis: How to manage leaky gut and endotoxemia[J]. World J Hepatol, 2015, 7(3): 430.

第一作者: 王德力(1979—), 男, 本科学历, 主治医师, 研究方向为中西医结合治疗慢性肝病。13966890050@163.com

修回日期: 2019-03-16

编辑: 吴宁