

大柴胡汤抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路保护重症中暑大鼠胃肠道黏膜屏障机制的研究

陈冬杰 黄永莲 彭晓洪 黄亚秀 黄发根 张爱婷 王评

北京中医药大学深圳医院(龙岗)重症医学科,广东深圳 518000

通信作者:王评, Email: 764020972@qq.com

【摘要】 目的 探讨大柴胡汤对重症中暑大鼠 Toll 样受体 4/核转录因子- κ B(TLR4/NF- κ B)信号通路和胃肠道黏膜屏障的作用及其机制。**方法** 将 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、大柴胡汤标准剂量组、大柴胡汤大剂量组,每组 15 只。将大鼠置于温度(40.5 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度(65.0 ± 2.0)% 的高温气候动物培养箱中复制中暑模型;正常对照组不进行处理。于制模后 6 h 开始大柴胡汤大剂量组和大柴胡汤标准剂量组按 $3.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $1.69 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的剂量进行药物干预,每 8 h 1 次,连续 2 d;正常对照组和模型组给予等量生理盐水。于制模后 6、24、48 h 各组随机取 5 只大鼠腹主动脉血 5 mL 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1)、D-乳酸、肠型脂肪酸结合蛋白(I-FABP)水平,同时处死大鼠后留取回肠组织,采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)测定肠道组织中 TLR4、NF- κ B 的蛋白表达情况,取部分回肠组织行苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肠组织病理学变化。**结果** 对照组大鼠无明显变化,其余 3 组制模后均出现中暑症状;药物组大鼠总体死亡率明显低于模型组[3.3%(1/30)比 20.0%(3/15), $P < 0.05$]。与正常对照组比较,模型组、大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组各时间点血清 IL-1、TNF- α 、I-FABP、D-乳酸水平和肠道组织中 TLR4、NF- κ B 的蛋白表达水平均升高;大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组制模后 24 h、48 h 血清 TNF- α 、IL-1、I-FABP、D-乳酸水平和肠道组织中 TLR4、NF- κ B 的蛋白表达水平均较模型组明显下降[24 h: TNF- α (ng/L): 69.20 ± 4.32 、 59.37 ± 4.31 比 76.99 ± 5.02 , IL-1 (ng/L): 132.68 ± 4.93 、 112.59 ± 9.64 比 146.75 ± 10.12 , I-FABP (mmol/L): 504.35 ± 22.23 、 453.37 ± 32.38 比 542.58 ± 13.83 , D-乳酸(mmol/L): 114.55 ± 8.52 、 90.57 ± 3.09 比 127.87 ± 8.37 , TLR4 蛋白表达(A 值): 1.50 ± 0.08 、 1.23 ± 0.01 比 1.86 ± 0.08 , NF- κ B 蛋白表达(A 值): 1.61 ± 0.05 、 1.21 ± 0.05 比 1.97 ± 0.08 ; 48 h: TNF- α (ng/L): 58.46 ± 5.13 、 38.98 ± 5.53 比 90.21 ± 3.02 ; IL-1 (ng/L): 119.12 ± 4.57 、 84.12 ± 5.08 比 170.20 ± 6.21 ; I-FABP (mmol/L): 436.04 ± 27.63 、 321.85 ± 22.03 比 618.79 ± 12.31 ; D-乳酸 (mmol/L): 87.35 ± 6.84 、 70.38 ± 4.33 比 154.14 ± 10.83 ; TLR4 蛋白表达(A 值): 1.19 ± 0.05 、 1.10 ± 0.13 比 2.09 ± 0.06 ; NF- κ B 蛋白表达(A 值): 1.15 ± 0.09 、 0.97 ± 0.08 比 2.20 ± 0.02 , 均 $P < 0.05$];大柴胡汤大剂量组 TNF- α 、I-FABP 及 TLR4 和 NF- κ B 的蛋白表达水平于制模后 24 h、48 h 均较大柴胡汤标准剂量组明显下降,而 IL-1、D-乳酸于制模后 48 h 明显下降(均 $P < 0.05$)。病理学观察显示,与模型组比较,大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组肠道黏膜绒毛、固有层脱落及出血减少,毛细血管扩张减轻,未见溃疡形成。**结论** 大柴胡汤能抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路,减轻肠道炎症反应,从而减轻胃肠道损伤,起到保护重症中暑大鼠胃肠道黏膜屏障的作用。

【关键词】 大柴胡汤; 重症中暑; 炎症反应; 肠道黏膜

基金项目: 广东省深圳市龙岗区医药卫生科技计划项目(LGKCYLWS2020072)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.05.015

Dachaihu decoction protects intestinal mucosal barrier in severe heat stroke rats by inhibiting Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B signaling pathway

Chen Dongjie, Huang Yonglian, Peng Xiaohong, Huang Yaxiu, Huang Fagen, Zhang Aiting, Wang Ping

Department of Intensive Care Unit, Shenzhen Hospital of Beijing University of Traditional Chinese Medicine (Longgang), Shenzhen 518000, Guangdong, China

Corresponding author: Wang Ping, Email: 764020972@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of Dachaihu decoction on the Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B (TLR4/NF- κ B) signaling pathway and gastrointestinal mucosal barrier in rats with severe heat stroke. **Methods** Sixty SPF grade Sprague-Dawley (SD) male rats were divided into normal control group, model group, Dachaihu decoction standard dose group and Dachaihu decoction high dose group of 15 rats in each group. The heat stroke model was replicated in the rats at temperature (40.5 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ and humidity (65.0 ± 2.0)%; the normal control group was not treated. From 6 hours after mold making, drug intervention was carried out in the Dachaihu decoction high dose group and the Dachaihu decoction standard dose group of $3.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ and $1.69 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, every 8 hours for 2 days. Equal amounts of normal saline were administered to the normal control group and model group. At 6, 24 and 48 hours after the molding, 5 mL abdominal main artery blood from 5 rats were randomly collected from each group, and the blood was obtained by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to determine the levels of tumor necrosis factor- α

(TNF- α), interleukin-1 (IL-1), D-lactic acid, intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP). At the same time, the ileum tissue was retained, and the protein expression of TLR4 and NF- κ B in intestinal tissue was determined by Western blotting. Some of the ileal tissue was obtained for hematoxylin-eosin (HE) staining, and the intestinal histopathological changes were observed under light microscopy. **Results** The normal control group of rats had no significant change, and the other three groups showed heatstroke symptoms after mold making. The overall mortality in drug group were significantly lower than that in the model group [3.3% (1/30) vs. 20.0% (3/15), $P < 0.05$]. Compared with the normal control group, the serum IL-1, TNF- α , I-FABP, D-lactic acid and the protein expression levels of TLR4 and NF- κ B in the model group, Dachaihu decoction standard dose group and Dachaihu decoction high dose group all increased. Compared with the model group, at 24 hours and 48 hours after molding in the Dachaihu decoction standard dose group and Dachaihu decoction high dose group, the serum IL-1, TNF- α , I-FABP, D-lactic acid and the protein expression levels of TLR4 and NF- κ B significant decreased [24 hours: TNF- α (ng/L): 69.20 ± 4.32 , 59.37 ± 4.31 vs. 76.99 ± 5.02 , IL-1 (ng/L): 132.68 ± 4.93 , 112.59 ± 9.64 vs. 146.75 ± 10.12 , I-FABP (mmol/L): 504.35 ± 22.23 , 453.37 ± 32.38 vs. 542.58 ± 13.83 , D-lactic acid (mmol/L): 114.55 ± 8.52 , 90.57 ± 3.09 vs. 127.87 ± 8.37 , protein expression of TLR4 (A value): 1.50 ± 0.08 , 1.23 ± 0.01 vs. 1.86 ± 0.08 , protein expression of NF- κ B (A value): 1.61 ± 0.05 , 1.21 ± 0.05 vs. 1.97 ± 0.08 ; 48 hours: TNF- α (ng/L): 58.46 ± 5.13 , 38.98 ± 5.53 vs. 90.21 ± 3.02 , IL-1 (ng/L): 119.12 ± 4.57 , 84.12 ± 5.08 vs. 170.20 ± 6.21 , I-FABP (mmol/L): 436.04 ± 27.63 , 321.85 ± 22.03 vs. 618.79 ± 12.31 , D-lactic acid (mmol/L): 87.35 ± 6.84 , 70.38 ± 4.33 vs. 154.14 ± 10.83 , protein expression of TLR4 (A value): 1.19 ± 0.05 , 1.10 ± 0.13 vs. 2.09 ± 0.06 , protein expression of NF- κ B (A value): 1.15 ± 0.09 , 0.97 ± 0.08 vs. 2.20 ± 0.02 , all $P < 0.05$]. The expression levels of TNF- α , I-FABP, TLR4 and NF- κ B protein in Dachaihu decoction high dose group decreased significantly at 24 hours and 48 hours compared with the standard dose group, however, IL-1 and D-lactic acid decreased significantly at 48 hours after molding (all $P < 0.05$). The pathology observation showed that, compared with the model group, the intestinal mucosa villus, the lamina propria drop and haemorrhage was decreased in the Dachaihu decoction standard dose group and Dachaihu decoction high dose group. Telangiectasia was reduced and no ulcer formation was observed. **Conclusion** Dachaihu decoction can inhibit TLR4/NF- κ B signaling pathway, reduce intestinal inflammatory response, thus reduce gastrointestinal damage, and protect the gastrointestinal mucosal barrier in rats with severe heatstroke.

[Key words] Dachaihu decoction; Severe heat stroke; Inflammatory response; Intestinal mucosal barrier

Fund program: Shenzhen Longgang Medical and Health Science and Technology Project, Guangdong Province (LGKCYLWS2020072)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.05.015

重症中暑是临床上常见的急危重症之一,发病急,病死率较高^[1]。目前重症中暑的发病机制尚未明确,多认为在热打击下胃肠道黏膜受到破坏,血管内皮细胞损伤,肠道细菌分泌的毒素经损伤的肠道黏膜入血,进而出现全身炎症反应和肠源性脓毒症,引起凝血功能紊乱,最终导致多器官功能障碍^[2-5]。本课题组前期的研究显示,大柴胡汤对重症中暑患者全身炎症有较好的改善作用^[6],对胃肠道黏膜有较好的保护作用^[7]。因此推测,大柴胡汤主要通过保护重症中暑患者机体的胃肠道黏膜,减轻炎症反应而起到治疗作用。肠型脂肪酸结合蛋白(intestinal fatty acid-binding protein, I-FABP)、D-乳酸在健康机体中水平很低,当胃肠道机械屏障受到损伤时,其水平明显升高,因此,被认为是肠道黏膜受损的标志物^[8]。Toll样受体4/核转录因子- κ B(Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B, TLR4/NF- κ B)是影响炎症因子表达的主要通路之一,TLR4可以诱导NF- κ B磷酸化,从而激活各种炎症介质释放,产生炎症级联反应,加速炎症反应的进程。基于此,本研究观察大柴胡汤对重症中暑大鼠血清白细胞介

素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、I-FABP和D-乳酸水平,以及大肠组织中TLR4、NF- κ B蛋白表达水平的影响,探讨大柴胡汤保护重症中暑大鼠肠道黏膜屏障的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组:选择60只20月龄SPF级雄性SD大鼠,体质量(200 ± 30)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物许可证号:SCXK(沪)2020-0078。按随机数字表法将大鼠分为正常对照组、模型组、大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组,每组15只。

1.2 模型制备:于试验前7d对大鼠进行适应性喂养。将大鼠置于温度(40.5 ± 0.5)℃、湿度(65.0 ± 2.0)%的高温气候动物培养箱内,每隔1h测量1次直肠中心体温,当体温上升至41℃后改为每15min测量1次体温,直至大鼠直肠中心体温达到42℃,此时中暑模型制备成功,将大鼠放置在(23.0 ± 0.5)℃的环境中观察;正常对照组不进行任何处理,常规饲养。

1.3 伦理学：本研究中对动物的处置方法符合动物伦理学标准,并经北京中医药大学深圳医院(龙岗)伦理委员会批准(审批号:SZLDH2020LSYA-061)。

1.4 药品及给药方法：大柴胡汤由柴胡 15 g、黄芩 9 g、芍药 9 g、半夏 9 g、生姜 15 g、枳实 9 g、大枣 10 g、大黄 6 g 组成,浓煎成 1 kg/L 的原生药,过滤除菌分装后置于 4℃ 冰箱保存备用,中药汤剂由北京中医药大学深圳医院中药房提供。给药剂量按照血清药理学标准剂量换算公式进行换算^[9],200 g 大鼠的等效剂量折算为 $1.69 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,大柴胡汤大剂量组为标准剂量组的 2 倍,即 $3.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组制模后给予相应剂量的中药,给药时用生理盐水稀释至 5 mL,于制模后 6 h 开始给药,将药物分为 3 等份,每 8 h 灌胃 1 次,连续 2 d;模型组和正常对照组给予等量生理盐水。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 炎症因子水平测定：于制模后 6、24、48 h 3 个时间点每组随机选取 5 只大鼠,腹腔注射 3% 戊巴比妥钠,麻醉后腹主动脉取血 3~4 mL,采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清 IL-1、TNF- α 、IFABP 和 D-乳酸的水平。

1.5.2 肠组织病理学观察：在距回盲瓣 2~3 cm 处留取小肠组织约 5 cm,经苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色后在光镜下观察回肠组织病理学变化。

1.5.3 肠组织 TLR4、NF- κ B 的蛋白表达水平测定：采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)分离蛋白,经转膜、脱脂奶粉密封、加一抗,蛋白质条带切割,加入抗体稀释剂、冲膜,加入二抗,洗液、室温培养后,冲洗胶片,加适量的着色溶液,置于 BLT 显影仪中,连接仪器附带软件 GV 6000M2 进行拍照捕捉。使用 IPP 6.0 计算灰度值,以吸光度(absorbance, A)值表示目的蛋白的蛋白表达水平。

1.6 统计学方法：使用 SPSS 21.0 统计软件分析数据,符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两组间比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况比较：正常对照组大鼠无明显变化;制模后的大鼠均出现精神不佳、纳差、气促、活动

减少、大便稀溏等中暑症状;大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组于给药 24 h 后症状明显改善,以大柴胡汤大剂量组较大柴胡汤标准剂量组的改善更优。在整个观察周期内,模型组死亡 3 只(死亡率 20.0%),药物治疗组死亡 1 只(死亡率 3.3%)为大柴胡汤标准剂量组,大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组大鼠的总死亡率明显低于模型组($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠炎症因子水平的比较(表 1)：随时间延长,模型组血清 TNF- α 、IL-1 水平持续升高,在观察期内仍未达到峰值,大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组均呈先升高后降低趋势,制模后 24 h 起与制模后 6 h 出现统计学差异(均 $P < 0.05$),持续到制模后 48 h。与正常对照组比较,模型组和药物干预组各时间点血清 TNF- α 、IL-1 水平均升高;与模型组比较,各药物干预组血清 TNF- α 、IL-1 水平均降低;大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组血清 TNF- α 、IL-1 于制模后 24 h 达到峰值后出现下降,与正常对照组同时间点比较均明显升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,制模后 24 h 开始大柴胡汤大剂量组和大柴胡汤标准剂量组血清 TNF- α 、IL-1 均明显下降(均 $P < 0.05$);大柴胡汤大剂量组和大柴胡汤标准剂量组制模后 24 h IL-1 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),而制模后 48 h 大柴胡汤大剂量组 IL-1 水平较大柴胡汤标准剂量组明显下降($P < 0.05$),大柴胡汤大剂量组 TNF- α 于制模后 24 h、28 h 均较大柴胡汤标准剂量组明显下降(均 $P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠不同时间点血清 TNF- α 、IL-1 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物数 (只)	TNF- α (ng/L)	IL-1 (ng/L)
正常对照组	制模后 6 h	5	13.28 ± 2.91	24.50 ± 10.52
	制模后 24 h	5	12.54 ± 4.44	27.43 ± 6.06
	制模后 48 h	5	15.94 ± 4.75	20.65 ± 7.19
模型组	制模后 6 h	4	23.39 ± 3.90	48.12 ± 3.99^b
	制模后 24 h	4	76.99 ± 5.02^{ab}	146.75 ± 10.12^{ab}
	制模后 48 h	4	90.21 ± 3.02^{ab}	170.20 ± 6.21^{abc}
大柴胡汤标准 剂量组	制模后 6 h	5	22.73 ± 5.07	54.23 ± 9.70^b
	制模后 24 h	5	69.20 ± 4.32^{abcd}	132.68 ± 4.93^{abcd}
	制模后 48 h	5	58.46 ± 5.13^{abcd}	119.12 ± 4.57^{abcd}
大柴胡汤大 剂量组	制模后 6 h	5	25.76 ± 3.63^b	53.89 ± 5.13^b
	制模后 24 h	5	59.37 ± 4.31^{abde}	112.59 ± 9.64^{ad}
	制模后 48 h	5	38.98 ± 5.53^{abcde}	84.12 ± 5.08^{abcde}

注：与本组制模后 6 h 比较, ^a $P < 0.05$;与正常对照组同期比较, ^b $P < 0.05$;与本组制模后 24 h 比较, ^c $P < 0.05$;与模型组同期比较, ^d $P < 0.05$;与大柴胡汤标准剂量组同期比较, ^e $P < 0.05$

2.3 各组大鼠 I-FABP、D-乳酸水平的比较(表 2): 随时间延长,模型组大鼠血清 IFABP、D-乳酸水平持续升高,且各时间点均明显高于对照组(均 $P<0.05$);大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组 I-FABP、D-乳酸水平呈先升高后降低趋势,于制模后 24 h 达到峰值,然后下降,但均明显高于同期对照组(均 $P<0.05$);制模后 24 h、48 h 均较模型组明显降低(均 $P<0.05$);与大柴胡汤标准剂量组比较,大柴胡汤大剂量组制模后 24 h、48 h I-FABP 水平均明显下降(均 $P<0.05$),D-乳酸仅于制模后 48 h 明显下降($P<0.05$)。

表 2 各组大鼠不同时间点血清 I-FABP、D-乳酸水平的比较($\bar{x} \pm s$)

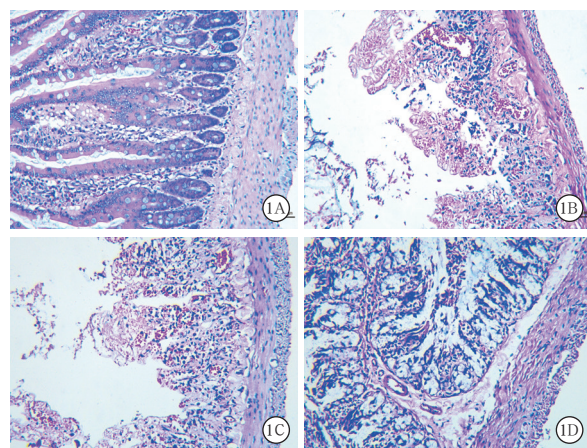
组别	时间	动物数 (只)	I-FABP (mmol/L)	D-乳酸 (mmol/L)
正常对照组	制模后 6 h	5	140.12 ± 34.75	41.74 ± 4.50
	制模后 24 h	5	146.24 ± 27.35	42.74 ± 4.58
	制模后 48 h	5	150.57 ± 23.02	20.65 ± 7.19
模型组	制模后 6 h	4	254.82 ± 38.20 ^a	56.06 ± 4.94 ^a
	制模后 24 h	4	542.58 ± 13.83 ^{ab}	127.87 ± 8.37 ^{ab}
	制模后 48 h	4	618.79 ± 12.31 ^{ab}	154.14 ± 10.83 ^{ab}
大柴胡汤标准 剂量组	制模后 6 h	4	256.60 ± 25.78 ^a	58.14 ± 6.11 ^a
	制模后 24 h	5	504.35 ± 22.23 ^{abc}	114.55 ± 8.52 ^{abc}
	制模后 48 h	5	436.04 ± 27.63 ^{abcd}	87.35 ± 6.84 ^{abcd}
大柴胡汤大 剂量组	制模后 6 h	5	264.76 ± 23.81 ^a	57.38 ± 9.12 ^a
	制模后 24 h	5	453.37 ± 32.38 ^{abce}	90.57 ± 3.09 ^{abc}
	制模后 48 h	5	321.85 ± 22.03 ^{abcde}	70.38 ± 4.33 ^{abcde}

注:与正常对照组同期比较,^a $P<0.05$;与本组制模后 6 h 比较,^b $P<0.05$;与模型组同期比较,^c $P<0.05$;与本组制模后 24 h 比较,^d $P<0.05$;与大柴胡汤标准剂量组同期比较,^e $P<0.05$

2.4 大柴胡汤对重症中暑大鼠肠组织病理形态学的影响(图 1): 光镜下可见,正常对照组肠道黏膜组织结构完整;模型组肠道黏膜组织随时间延长其绒毛逐渐脱落,毛细血管扩张裸露,固有层脱落,伴有出血、溃疡形成;与模型组比较,大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组肠道黏膜绒毛脱落减少,毛细血管扩张减轻,部分出现固有层脱落及出血,未见溃疡形成。

2.5 各组肠组织中 TLR4、NF-κB 蛋白表达水平的比较(表 3;图 2): 制模后模型组大鼠肠组织中 TLR4、NF-κB 的蛋白表达水平呈持续上升趋势,且均明显高于正常对照组(均 $P<0.05$);大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组制模后 TLR4、NF-κB 蛋白表达水平随时间延长呈先升高后降低趋势,于制模后 24 h 达峰值后回落,但均高于正常对照组(均 $P<0.05$),制模后 24 h、48 h 均较模型组明显降低(均

$P<0.05$),且大柴胡汤大剂量组的下降更明显,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。



注: A 为正常对照组, B 为模型组, C 为大柴胡汤标准剂量组, D 为大柴胡汤大剂量组

图 1 光镜下观察制模后 48 h 各组重症中暑大鼠肠道组织病理学改变 HE 染色 中倍放大

表 3 各组大鼠不同时间点肠组织中 TLR4、NF-κB 蛋白表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物数 (只)	TLR4 蛋白 表达(A 值)	NF-κB 蛋白 表达(A 值)
正常对照组	制模后 6 h	5	0.47 ± 0.01	0.53 ± 0.03
	制模后 24 h	5	0.64 ± 0.01	0.54 ± 0.05
	制模后 48 h	5	0.59 ± 0.01	0.51 ± 0.03
模型组	制模后 6 h	4	0.84 ± 0.05 ^a	0.88 ± 0.02 ^a
	制模后 24 h	4	1.86 ± 0.08 ^{ab}	1.97 ± 0.08 ^{ab}
	制模后 48 h	4	2.09 ± 0.06 ^{abc}	2.20 ± 0.02 ^{abc}
大柴胡汤标准 剂量组	制模后 6 h	5	0.83 ± 0.08 ^a	0.87 ± 0.02 ^{abd}
	制模后 24 h	5	1.50 ± 0.08 ^{abd}	1.61 ± 0.05 ^{abd}
	制模后 48 h	5	1.19 ± 0.05 ^{abcd}	1.15 ± 0.09 ^{abcd}
大柴胡汤大 剂量组	制模后 6 h	5	0.86 ± 0.07 ^a	0.91 ± 0.02 ^{ade}
	制模后 24 h	5	1.23 ± 0.01 ^{abce}	1.21 ± 0.05 ^{abce}
	制模后 48 h	5	1.10 ± 0.13 ^{abcde}	0.97 ± 0.08 ^{abcde}

注:与正常对照组同期比较,^a $P<0.05$;与本组制模后 6 h 比较,^b $P<0.05$;与本组制模后 24 h 比较,^c $P<0.05$;与模型组同期比较,^d $P<0.05$;与大柴胡汤标准剂量组同期比较,^e $P<0.05$

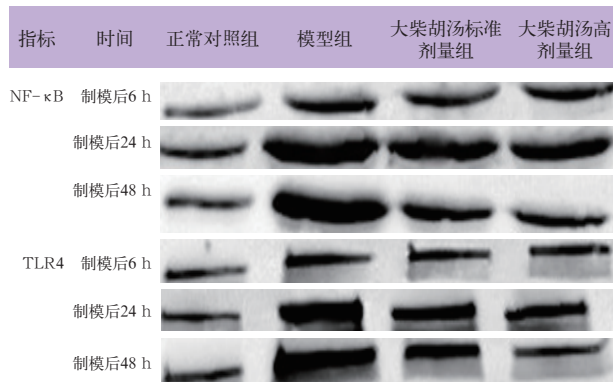


图 2 各组重症中暑大鼠制模后不同时间点肠组织中 TLR4、NF-κB 蛋白表达水平的比较

3 讨论

重症中暑大鼠在发病过程中,过高的温度破坏了大鼠的胃肠道黏膜,使肠道黏膜的机械屏障受损,血管内皮细胞也受到损伤,细菌/毒素更容易进入血中,导致全身炎症反应的发生,进而影响各个器官出现器官功能障碍^[10-11]。I-FABP 及 D-乳酸在健康者血清中含量很少, I-FABP 在肠道受损后 15 min 内可快速升高,是反映肠道机械屏障完整性和受损程度的重要标志物^[12]; D-乳酸是肠道内细菌缺氧下的代谢产物,其血清含量变化能反映肠道氧供的情况及肠道黏膜通透性的变化^[13]。

本研究显示,模型组和各药物组 TNF- α 、IL-1、I-FABP、D-乳酸、TLR4、NF- κ B 水平均较正常对照组升高,证明在高热环境打击下,重症中暑大鼠的胃肠道黏膜受到损伤,并且其体内出现了炎症风暴,这一结论与目前主流研究结果一致。TLR4/NF- κ B 信号通路是影响炎症因子表达的主要通路之一,TLR4 可以诱导 NF- κ B 磷酸化,加速疾病的炎症反应进程,而 NF- κ B 可作为炎症反应的评估指标^[14]。TNF- α 主要是由单核/巨噬细胞产生的多功能细胞因子,是炎症反应的始动因子和重要因子之一,且目前研究表明, TNF- α 受体升高程度与中暑的严重程度相关^[15]。IL-1 是机体在炎症状态下由多种细胞产生的细胞因子,其生物学特性主要是参与介导炎症反应及调节机体免疫。本研究大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组与模型组比较可以看出,大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组 TNF- α 、IL-1、I-FABP、D-乳酸、TLR4、NF- κ B 水平于药物干预后均出现下降,结合组织病理学的结果,可以推断大柴胡汤对重症中暑大鼠效果明显。

中暑属于中医学“暑厥”“暑风”的范畴。既往多认为中暑的病机是因暑邪炎热,伤精耗气,扰乱心神,在治疗上多以清暑益气,养阴生津为法。而临床观察显示,重症中暑患者在早期出现高热后,很快便出现胃肠功能障碍和意识改变,尤其以意识不清、腹胀、大便难解最为多见。因此,认为阳明热盛,燥屎内结,少阳枢机不利是重症中暑发生的主要病机,治疗当和解少阳、通腑泄热^[16]。大柴胡汤出自《金匮要略》,为和解少阳、内泄热结的代表方。本研究显示,大柴胡汤标准剂量组和大柴胡汤大剂量组炎症指标和一般情况均有明显改善。目前对于重症中暑的研究均认为,肠道是诱发重症中暑的始动器官,因此,在治疗上须积极控制体温,保持大便通畅,

其治疗原则与大柴胡汤的机制基本一致,也与中医学“六腑以通为用”的观点不谋而合。本研究与国内外的相关研究结果一致,表明重症中暑是通过热打击和缺血/再灌注损伤造成肠道黏膜损伤,细菌/毒素通过损伤的肠黏膜屏障入血,进而加重病情。

综上所述,大柴胡汤对重症中暑大鼠的胃肠道黏膜屏障有保护作用,主要通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路,减少炎症因子释放,从而起到保护肠道黏膜屏障的作用。但本研究不足之处在于观察时间较短,未能完全比较模型组与大柴胡汤标准剂量组及大柴胡汤大剂量组的变化趋势。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 苏磊, 古正涛. 内皮细胞热损伤机制及其对重要脏器功能的影响[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42 (4): 271-278. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2017.04.01.
- [2] Armstrong LE, Lee EC, Armstrong EM. Interactions of gut microbiota, endotoxemia, immune function, and diet in exertional heatstroke[J]. J Sports Med (Hindawi Publ Corp), 2018, 2018: 5724575. DOI: 10.1155/2018/5724575.
- [3] Dokladny K, Zuhl MN, Moseley PL. Intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins with heat and exercise[J]. J Appl Physiol (1985), 2016, 120 (6): 692-701. DOI: 10.1152/jappphysiol.00536.2015.
- [4] Spindler-Vesel A, Wraber B, Vovk I, et al. Intestinal permeability and cytokine inflammatory response in multiply injured patients[J]. J Interferon Cytokine Res, 2006, 26 (10): 771-776. DOI: 10.1089/jir.2006.26.771.
- [5] 曹才文, 何旋, 李莉, 等. 重症中暑早期肠黏膜屏障功能损害与全身炎症反应的相关性研究[J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (4): 303-307. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.003.
- [6] 王评, 彭晓洪, 黄永莲, 等. 大柴胡汤对重症中暑患者 TLR4 信号通路相关因子的影响[J]. 四川中医, 2017, 35 (12): 65-68.
- [7] 陈冬杰, 黄永莲, 彭晓洪, 等. 大柴胡汤对重症中暑大鼠肠道黏膜屏障的保护机制研究[J]. 中国中医急症, 2022, 31 (7): 1174-1176. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2022.07.011.
- [8] 朱承睿, 丁仁戎, 孙旖旎, 等. 肠脂肪酸结合蛋白与严重脓毒症患者肠道损伤的相关性研究[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (6): 420-424. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.011.
- [9] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9 (9): 1069-1072. DOI: 10.3969/j.issn.1009-2501.2004.09.026.
- [10] Deitch EA, Xu DZ, Kaise VL. Role of the gut in the development of injury-and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review[J]. Front Biosci, 2006, 11: 520-528. DOI: 10.2741/1816.
- [11] Lim CL. Heat sepsis precedes heat toxicity in the pathophysiology of heat stroke: a new paradigm on an ancient disease[J]. Antioxidants (Basel), 2018, 7 (11): 149. DOI: 10.3390/antiox7110149.
- [12] Gregory KE, Winston AB, Yamamoto HS, et al. Urinary intestinal fatty acid binding protein predicts necrotizing enterocolitis[J]. J Pediatr, 2014, 164 (6): 1486-1488. DOI: 10.1016/j.jpeds.2014.01.057.
- [13] Li ZF, Zhang XY, Zhou H, et al. Exogenous snitrosoglutathione attenuates inflammatory response and intestinal epithelial barrier injury in endotoxemic rats[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2016, 80 (6): 977-984. DOI: 10.1097/TA.0000000000001008.
- [14] Ge HY, Xu JJ, Zhang H, et al. NF- κ B serves as a predictive index for inflammation after sepsis[J]. Minerva Med, 2021, 112 (3): 417-418. DOI: 10.23736/S0026-4806.19.06212-8.
- [15] 杨萌萌, 张宇, 赵妍, 等. 热射病致多器官功能障碍综合征的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29 (2): 188-192. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.02.020.
- [16] 彭晓洪, 宋荣, 黄亚秀, 等. 六经辨治脓毒症急性胃肠功能损伤[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2022, 29 (1): 101-103. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.01.023.

(收稿日期: 2023-06-30)
(责任编辑: 冯闲野 邸美仙)