

三七总皂苷对肠黏膜屏障保护作用的研究

魏宏建¹, 付春来², 荣 令¹

(1. 云南省昆明医学院第一附属医院 ICU, 云南 昆明 650032;

2. 湖南省郴州市第一人民医院 ICU, 湖南 郴州 423000)

【摘要】 目的:应用大鼠肠缺血/再灌注损伤模型,探讨三七总皂苷(PNS)的肠黏膜屏障保护作用。方法:用阻断肠系膜上动脉(SMA)60 min 后恢复血流方法制备肠缺血/再灌注损伤模型。将 60 只健康 SD 大鼠按随机数字表法分组:①模型组($n=10$);②假手术组($n=10$);③PNS 静脉组($n=20$);SMA 开放前 15 min 给予 PNS 100 mg/kg 静脉注射;④PNS 口服组($n=20$):给予 PNS 胃内灌服,每日 3 次,每次 50 mg/kg,共 3 d,在最后一次给药 2 h 后进行手术。再灌注 3 h 后分别观察血浆内毒素水平,肝、脾和肠系膜淋巴结的细菌移位率及小肠组织病理学改变。结果:①模型组、PNS 静脉组和 PNS 口服组大鼠肠道细菌移位率均明显高于假手术组(P 均 <0.01);而模型组的细菌移位率也明显高于 PNS 静脉组和 PNS 口服组(P 均 <0.05)。②模型组、PNS 静脉组和 PNS 口服组大鼠血浆内毒素水平也明显高于假手术组(P 均 <0.01);而模型组血浆内毒素水平也明显高于 PNS 静脉组和 PNS 口服组(P 均 <0.05)。③光镜下 Chiu 分级、电镜观察模型组损伤较 PNS 静脉组和 PNS 口服组严重,两个 PNS 治疗组差异无显著性($P>0.05$)。结论:PNS 对缺血/再灌注 3 h 的大鼠肠黏膜屏障具有一定保护作用。

【关键词】 三七总皂苷;缺血/再灌注损伤;肠;肠屏障

中图分类号:R285.5;R256.3 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2006)05-0309-04

Protective effect on intestinal mucosal barrier by saponins of panax notoginseng (三七总皂苷) WEI Hong-jian¹, FU Chun-lai², RONG Ling¹. 1. Intensive Care Unit, The First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan, China; 2. Intensive Care Unit, The First People's Hospital, Chenzhou 423000, Hunan, China

【Abstract】 **Objective:** To study the protective effect of saponins of panax notoginseng (PNS, 三七总皂苷) on gut mucosal barrier in rats with intestinal ischemia/reperfusion (I/R) injury. **Methods:** The rat model with intestinal I/R injury was reproduced by occluding the superior mesenteric artery (SMA) for 1 hour and followed by reperfusion for 3 hours. Sixty healthy SD rats were randomly divided into four groups: group A (model group, $n=10$), group B (sham operation group, $n=10$), group C (treated with PNS 100 mg/kg intravenously via thigh vein at 15 minutes before SMA opened, $n=20$), group D (treated with PNS 50 mg/kg orally for 3 days, q8h, $n=20$). Two hours after the last time of taking medicine the operation was performed in group D. Intestinal impairment was evaluated according to the mucosal histological changes under light and electron microscope and by measuring plasma endotoxin concentrations and ratios of bacteria translocation into liver, spleen and mesenteric lymph nodes (MLN). **Results:** ①The ratios of bacterial translocation from gut to liver, spleen and MLN in group C and group D were significantly lower than the ratios in group A (all $P<0.05$), but were higher than those in group B (all $P<0.01$). ②After ischemia for 1 hour and reperfusion for 3 hours, the levels of plasma endotoxin in group C and group D were significantly lower than that of group A, but those in the three groups were higher than that of group B (all $P<0.01$). Plasma endotoxin concentration of group A was significantly higher than that in group C and group D (both $P<0.05$). ③Chiu grade of intestinal mucosal injuries under light microscope and observation of electron microscope showed more serious injuries in group A than in group C and D. There was no significant difference between group C and D ($P>0.05$). **Conclusion:** PNS can protect intestinal mucosal barrier of rats with intestinal I/R injuries for 3 hours.

【Key words】 saponins of panax notoginseng; intestinal ischemia/reperfusion injury; gut; intestinal mucosal barrier

基金项目:云南省教育厅自然科学、基础应用研究基金资助(5Y0442C)

作者简介:魏宏建(1957-),女(汉族),河北唐县人,硕士研究生导师,教授。

肠功能是判断危重患者预后的重要指标之一。肠屏障功能保护在防治危重患者的感染及预后中起重要作用^[1,2]。疾病、创伤、物理、化学等因素均可影响机体功能,使其处于应激状态,其中肠道活跃地参与了应激反应,如果反应失调,可直接或间接损伤肠黏膜屏障。三七总皂苷(saponins of panax notoginseng, PNS)是五加科人参属植物三七的提取物,近年来研究证实, PNS 对心、肝、肺、肾、脑等重要器官具有良好的抗损伤作用。本研究中采用大鼠肠缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤模型,探讨两种 PNS 制剂血塞通注射液和血塞通胶囊在肠黏膜屏障保护方面的作用。

1 材料与方法

1.1 肠 I/R 损伤模型制备:大鼠手术前禁食过夜,自由饮水,戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔内注射,全麻后固定,常规无菌消毒铺巾后,上腹部正中切口入腹,游离肠系膜上动脉(superior mesenteric artery, SMA),以无损伤动脉夹夹闭 SMA 起始部,制成肠缺血模型,60 min 后放松动脉夹恢复 SMA 血流,制成肠 I/R 损伤模型。

1.2 实验动物及分组:健康 SD 大鼠 60 只,雌雄不拘,体重 280~320 g,由昆明医学院动物所提供,按随机数字表法分为 4 组:①模型组($n=10$);②假手术组($n=10$):除不夹闭 SMA 外,其余操作同模型组;③PNS 静脉组($n=20$):SMA 开放前 15 min 给予血塞通注射液 100 mg/kg(云南植物药业有限公司生产)静脉注射;④PNS 口服组($n=20$):给予血塞通胶囊(云南玉溪维和制药有限公司生产)胃内灌服,每日 3 次,每次 50 mg/kg,共 3 d,在最后一次给药 2 h 后进行手术,制取标本。

1.3 肠道细菌移位率的测定:SMA 开放后 3 h 分离肝、脾、肠系膜淋巴结,各无菌切取 0.3~0.5 g,加等量生理盐水进行匀浆,每个标本取 0.2 ml 移入普通血琼脂皿,置 CO₂ 孵箱 37 °C 下孵育 48 h,观察菌落生长情况。正常情况下,组织内不含有细菌。当所取标本培养出现细菌时,为细菌移位阳性;没有培养出细菌时,为细菌移位阴性。

1.4 血浆内毒素的测定:所有与血液接触的物件均要灭菌和去热原处理。无菌条件下取门静脉血 1 ml,置于无热原的肝素中,进行去抑制鲎实验因子处理:500 r/min(离心半径 16 cm)离心 5 min,取血浆 0.1 ml,加入无热原生理盐水 0.2 ml、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)缓冲液 0.2 ml 混匀,置于 100 °C 水浴中加热 10 min,3 000 r/min(离心半径

16 cm)离心 10 min,取上清液检测血浆内毒素水平。内毒素测定采用鲎实验、偶氮显色法,试剂盒由上海伊华临床医学科技公司提供,具体操作按试剂盒内说明书进行。比色读数后查对内毒素标准曲线求得内毒素含量,内毒素单位以 EU 表示。

1.5 病理形态学观察:SMA 开放后 3 h,取距回盲部 10 cm 处近端空肠,分别制成光镜和电镜标本,直接观察肠绒毛等变化,光镜下根据 Chiu 肠黏膜损伤评分方法对小肠黏膜损伤进行分级。Chiu 分级标准:0 级为正常绒毛;1 级为绒毛顶端下间歇增宽;Ⅱ级为绒毛顶端上皮脱落、破溃;Ⅲ级为绒毛顶端破坏扩展到基底部;Ⅳ级为上皮完全脱落;Ⅴ级为固有膜崩溃,出现溃疡及出血点^[3]。

1.6 统计学方法:数据分析采用 SPSS 11.5 统计软件包。各组间细菌移位率比较用 χ^2 检验;计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用方差分析;等级资料用秩和检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肠道细菌移位率(表 1):模型组、PNS 静脉组和 PNS 口服组肠道细菌移位率分别为 73.33%、48.33%和 45.00%,明显高于假手术组的 3.33%(P 均 <0.01);而模型组的肠道细菌移位率也明显高于 PNS 静脉组和 PNS 口服组(P 均 <0.05),但 PNS 静脉组与 PNS 口服组间差异无显著性。

表 1 各组动物肠道细菌移位发生情况比较

Table 1 Comparison of bacteria translocation from gut into liver, spleen and MLN in each group

组别	动物数 (只)	肠道细菌移位阳性数(个)			肠道细菌 移位率(%)
		肝	脾	肠系膜淋巴结	
模型组	10	6	6	10	73.33**
假手术组	10	0	0	1	3.33
PNS 静脉组	20	9	8	12	48.33**#
PNS 口服组	20	7	9	11	45.00**#

注:与假手术组比较:** $P<0.01$;与模型组比较:# $P<0.05$

2.2 血浆内毒素水平:模型组、PNS 静脉组和 PNS 口服组血浆内毒素水平分别为(0.553 ± 0.039)、(0.346 ± 0.036)和(0.318 ± 0.061)kEU/L,明显高于假手术组(0.152 ± 0.052)kEU/L(P 均 <0.01);而模型组的血浆内毒素水平也明显高于 PNS 静脉组和 PNS 口服组(P 均 <0.05)。

2.3 病理形态学观察:表 2 结果显示,光镜下 Chiu 分级模型组肠黏膜损伤严重,而 PNS 静脉组和 PNS 口服组损伤相对较轻。电镜下假手术组肠黏膜微绒毛排列整齐,各细胞器形态正常;模型组肠黏膜上皮微绒毛稀疏、变短、脱落,线粒体明显肿胀,空泡

变性,内质网排列紊乱、肿胀;PNS 静脉组和 PNS 口服组肠黏膜上皮微绒毛排列整齐,线粒体和内质网轻度肿胀。

表 2 光镜下各组动物肠黏膜损伤 Chiu 分级比较

Table 2 Comparison of Chiu grade of intestinal mucosal injuries under light microscope in each group 只

组别	动物数	Chiu 分级					P 值
		0	I	II	III	IV	
模型组	10			2	6	2	**
假手术组	10	6	3	1			
PNS 静脉组	20	5	11	4	0		**##
PNS 口服组	20	6	10	3	1		**##

注:与假手术组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:** $P < 0.01$

3 讨论

胃肠道是集内分泌、免疫、屏障和营养等为一体、功能复杂的重要器官。当前,临床更多注意的是肠道屏障功能。广义的肠黏膜屏障包括机械屏障、黏液屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障,其各自具有不同的结构、不同的分子调控机制和不同的生物学功能,同时又通过各自的信号通路有机地结合在一起,共同防御外来抗原物质对机体的侵袭^[4-7]。在严重创伤、休克、感染等因素下可致肠黏膜 I/R 损伤,通过释放氧自由基,促进脂质过氧化,增加细胞内游离钙水平,激活磷脂酶 A₂ 等途径引起肠道屏障完整性丧失,肠黏膜通透性增高,发生肠道细菌、毒素移位,诱发白细胞系统释放大量炎性介质和细胞因子,引起全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),造成大量重症患者死亡^[8-10]。肠道不仅是 MODS 的靶器官,更是 MODS 的启动者^[11,12]。有人称肠道为“机体应激时器官功能障碍的中心”^[13]。

PNS 对 I/R 损伤大鼠肠黏膜屏障的保护作用机制可能为:①减少肠黏膜上皮细胞凋亡。有研究证实,凋亡是缺血及 I/R 损伤肠上皮细胞死亡的主要形式^[14]。在 PNS 对脑细胞的保护作用研究中发现,PNS 可以减少细胞凋亡,促进脑出血大鼠前脑内神经元的存活及损伤修复^[15]。②清除自由基,防止线粒体内钙超载。卢荐生^[16]在对脑 I/R 损伤的研究中发现,PNS 能够增强机体抗氧化能力及抑制 I/R 损伤引起的中性粒细胞呼吸爆发。袁新初等^[17]研究证实,对严重烫伤大鼠腹腔内注射三七注射液(主要成分为 PNS)后,心、肝和肾组织 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶的活性均呈进行性增高。③改善微循环,保护血管内皮细胞^[18]。④PNS 可能通过促进恢

复血供再给氧时肠黏膜细胞内高能磷酸化合物的合成,抑制 ATP 降解、改善能量代谢,对缺氧的肠黏膜细胞具有保护作用。据报道,PNS 在防治脑组织 I/R 损伤时,与上述机制有关^[19]。此外,PNS 还可能通过免疫调节,调理细胞因子,调理补体系统而发挥肠黏膜屏障保护作用。

本研究中结果显示,肠 I/R 损伤后,模型组、PNS 静脉组和 PNS 口服组大鼠肠道细菌移位率均明显高于假手术组,模型组的细菌移位率又明显高于 PNS 静脉组和 PNS 口服组,说明肠 I/R 损伤可破坏肠黏膜屏障,而 PNS 对大鼠肠黏膜有明显的保护作用;I/R 后模型组的血浆内毒素水平明显高于 PNS 静脉组和 PNS 口服组,提示 PNS 能显著降低 I/R 大鼠肠黏膜通透性;电镜和光镜观察结果也证实,模型组肠黏膜损伤较严重,PNS 静脉组与 PNS 口服组损伤较轻。

参考文献:

- [1] Gennari R, Alexander J W. Effects of hyperoxia on bacterial translocation and mortality during gut-derived sepsis[J]. Arch Surg, 1996, 131: 57-62.
- [2] Rotstein O D. Pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome: gut origin, protection, and decontamination[J]. Surg Infect (Larchmt), 2000, 1: 217-223.
- [3] Chiu C J, McArdle A H, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal[J]. Arch Surg, 1970, 101: 478-483.
- [4] Kraehenbuhl J P, Pringault E, Neutra M R. Intestinal epithelia and barrier functions[J]. Aliment Pharmacol Ther, 1997, 11 (Suppl 3): 3-8.
- [5] Laissue J A, Chappuis B B, Muller C, et al. The intestinal immune system and its relation to disease[J]. Dig Dis, 1993, 11: 298-312.
- [6] 常建星, 陈双, 符玉茹, 等. 大鼠失血性休克复苏早期肠黏膜损伤与修复的形态学观察[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16: 477-480.
- [7] 郑曙云, 付小兵, 徐建国, 等. 酸性成纤维细胞生长因子对大鼠缺血/再灌注损伤肠上皮细胞丝裂素活化蛋白激酶的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18: 9-12.
- [8] Harari Y, Weisbrodt N W, Moody F G. Ileal mucosal response to bacterial toxin challenge[J]. J Trauma, 2000, 49: 306-313.
- [9] 梅雪, 李春盛, 王烁. 全身炎症反应综合征患者血清细胞因子动态变化的研究[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18: 85-88.
- [10] 乔治, 黎洁良, 李基业, 等. 严重多发伤后肠道细菌移位的临床研究[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18: 13-15.
- [11] Pierro A, Eaton S. Intestinal ischemia reperfusion injury and multisystem organ failure[J]. Semin Pediatr Surg, 2004, 13: 11-17.
- [12] Nieuwenhuijzen G A, Deitch E A, Goris R J. The relationship between gut-derived bacteria and the development of the multiple organ dysfunction syndrome[J]. J Anat, 1996, 189: 537-548.
- [13] Wilmore D W, Smith R J, O'Dwyer S T, et al. The gut: a central organ after surgical stress[J]. Surgery, 1988, 104: 917-923.
- [14] Ikeda H, Suzuki Y, Suzuki M, et al. Apoptosis is a major mode

- of cell death caused by ischemia and ischemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium[J]. Gut, 1998, 42: 530-537.
- [15] 李中伟, 朱培纯, 司银楚, 等. 三七总皂苷对脑出血大鼠前脑促凋亡基因 caspase3 影响的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26: 22-25.
- [16] 卢荐生. 丹参总丹酚酸与三七总皂苷对大鼠脑缺血再灌注及中性粒细胞呼吸爆发的影响[J]. 时珍国医国药, 2004, 15: 391-392.
- [17] 袁新初, 周乾毅, 程贵容, 等. 沸水烫伤后大鼠心、肝组织 Na⁺,

K⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性变化及三七保护作用探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12: 64-65, 69.

- [18] 闫彦芳, 张壮, 孙塑伦, 等. 三七总皂苷及其主要成分对血管内皮细胞缺氧损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8: 34-37.
- [19] 马丽焱, 王春兰, 张琪, 等. 三七皂苷对脑组织血液供应和能量代谢的影响[J]. 中国药理学通报, 1998, 14: 27-29.

(收稿日期: 2006-07-10)

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

痰热清注射液与乳酸左氧氟沙星联合用药治疗呼吸道感染 55 例

李永胜, 杨蓉佳, 曲 强, 施 红, 马国胜

(甘肃省人民医院, 甘肃 兰州 730000)

【关键词】 痰热清注射液; 乳酸左氧氟沙星; 感染; 呼吸道

中图分类号: R242; R256.1 文献标识码: B 文章编号: 1008-9691(2006)05-0312-01

呼吸道感染是北方地区的常见病和多发病。由于滥用抗生素治疗呼吸道感染, 导致细菌变异和耐药菌增加, 给治疗呼吸道感染带来困难, 我科自 2004 年 11 月—2005 年 3 月, 采用痰热清注射液与乳酸左氧氟沙星联合应用治疗呼吸道感染 55 例, 疗效确切, 报告如下。

1 资料与方法

1.1 病例: 我们选择符合诊断标准^[1]的呼吸道感染患者 109 例, 遵循简单随机化对照原则分为两组。治疗组 55 例, 其中男 34 例, 女 21 例; 平均年龄 (48.67 ± 16.03) 岁。对照组 54 例, 其中男 30 例, 女 24 例; 平均年龄 (50.54 ± 15.80) 岁。两组一般资料及病情比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 有可比性。

1.2 治疗方法: 对照组给予乳酸左氧氟沙星静脉滴注, 每日 1 次。治疗组在此基础上加用痰热清注射液 20 ml 加入质量分数为 5% 的葡萄糖 250 ml 静脉滴注, 每日 1 次。两组患者均治疗 10 d, 观察期内不加用其他抗生素、解热镇痛药。当体温 $> 39^{\circ}\text{C}$ 时可临时进行物理降温或服用退热药。

1.3 疗效判断标准: 参照卫生部《新药(中药)临床研究指导原则》急性肺炎的标准执行^[2]。痊愈: 体温正常, 症状和体征消失, 白细胞计数正常, X 线胸片示肺部炎症吸收, 痰病原菌培养阴性; 显效:

体温正常, 症状和体征基本消失, 白细胞计数正常, X 线胸片示肺部炎症大部分吸收; 有效: 症状和体征有好转, 白细胞计数正常或高于正常, X 线胸片示肺部炎症有所吸收; 无效: 体温高于正常, 症状和体征无变化或加重, 白细胞计数高于正常, X 线胸片示肺部炎症无吸收。

1.4 统计学处理: 数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较(表 1): 两组临床疗效比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。

表 1 两组临床疗效比较

组别	例数 (例)	疗效(例)				总有效率 (%)
		痊愈	显效	有效	无效	
治疗组	55	35	14	5	1	98.18*
对照组	54	32	11	5	6	88.89

注: 与对照组比较: * $P < 0.05$

2.2 不良反应: 治疗组全部患者经观察无不良反应发生, 安全性评价为 1 级; 对照组有 1 例出现皮疹。

3 讨论

呼吸道感染可由细菌、病毒、理化因素、过敏反应等引起, 若治疗不善, 可呈现进行性发展, 并伴随相关系统的病理改变。痰热清注射液由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘组成。黄芩为君药, 其味苦、性寒, 具有清热燥湿、泻火清毒之功效; 熊胆粉、山羊角为臣药, 熊胆粉具有解痉、解毒、抑菌抗炎、镇咳、祛痰、平

喘作用, 山羊角具有显著的解热、镇静及免疫作用; 金银花为佐药, 有广谱抗菌的作用, 以助清热解毒、宣肺化痰; 连翘为使药, 具有升浮宣散之力、清热宣透之功, 对多种病原微生物有抑制和杀灭作用。痰热清注射液组方合理, 切中病机, 具有清热解毒、化痰镇惊的功效, 还具有抗生素所没有的对多种病毒的抑制作用^[3], 且能增加机体的防御功能, 与抗生素合用, 可弥补抗生素所不具备的抗病毒作用, 缩短病程, 改善症状, 能收到满意的临床疗效^[4]。观察期间未发现不良反应出现, 安全性好。这与痰热清注射液是按“依症随方确认提取有效成分”的原则制备有关, 在制剂过程中, 对各味药单独提取有效成分, 使中间体有效成分可测、杂质可控, 改变了传统中药制剂只能定性、不能定量及有效成分无法确定的现象。且价廉, 可减轻患者的经济负担。所以我们主张采用联合用药的方式。

参考文献:

- [1] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 第 11 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1547.
- [2] 卫生部新药指导原则《中药病症诊断及疗效》. 北京: 卫生部, 2002.
- [3] 潘同国, 孙羽, 胡要飞, 等. 痰热清注射液对腺病毒感染的治疗观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12: 372.
- [4] 殷勇, 周纬, 肖洁, 等. 痰热清注射液治疗儿童急性呼吸道感染的临床观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12: 37-39.

(收稿日期: 2006-05-19)

修回日期: 2006-07-18)

(本文编辑: 李银平)

作者简介: 李永胜(1972-), 男(回族), 甘肃兰州人, 主治医师。