

· 论 著 ·

胃乐散对急性化脓性梗阻性胆管炎大鼠肝脏的保护作用*

舒涛¹, 范振海², 吴芹³, 杨桂荷³, 余丽梅², 兑丹华¹

(遵义医学院: 1. 附属医院肝胆外科; 2. 附属医院贵州省细胞工程室;

3. 贵州省基础药理重点实验室, 贵州 563003)

摘要:目的 观察胃乐散对急性化脓性梗阻性胆管炎大鼠肝脏的保护作用。方法 不完全结扎胆总管制备大鼠急性化脓性梗阻性胆管炎模型, 胃乐散灌胃给药 72 h 后, 取血和肝脏组织标本, 检测血胆红素水平、肝脏功能, 观察肝脏组织病理学变化。结果 与假手术组相比, 模型组大鼠血总胆红素水平均显著升高, ALT 和 AST 水平也明显升高; 与模型组相比, 0.2 g/kg 胃乐散显著降低血总胆红素、ALT 和 AST 水平, 但高于假手术组水平。病理组织学检查发现, 模型组肝脏肿大淤血, 表面有较多散在脓苔, 镜下观察到肝细胞排列紊乱, 出现大面积的水肿、变性、坏死, 胃乐散给药组肝组织损伤明显减轻。结论 胃乐散对急性化脓性梗阻性胆管炎大鼠肝脏损伤具有明显保护作用。

关键词:胆管炎; 肝功能试验; 胆红素; 肝脏; 胃乐散

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.01.001

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)01-0001-02

Liver protection of wei-le-san in acute obstructive suppurative cholangitis rats*

Shu Tao¹, Fan Zhenhai², Wu Qin³, Yang Guihe³, Yu Limei², Dui Danhua¹

(1. Department of Hepatobiliary Surgery; 2. Cell Engineering of Guizhou Province, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College; 3. Key Laboratory of Basic Pharmacology in Guizhou Province, Zunyi Medical College, Guizhou 563003, China)

Abstract: Objective To observe the liver protection of wei-le-san in acute obstructive suppurative cholangitis. Methods The acute obstructive suppurative cholangitis model of wistar rat was prepared by incompletely ligating biliary tract. After wei-le-san were administrated 72 hours by intragastric administration, blood samples were collected for the level of bilirubin, hepatic function, histopathological examine. Histopathological changes of liver and bile duct tissues were observed through naked eye and light-microscope. Results The level of TBIL, ALT and AST all were increased in model group compared with sham operated group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The level TBIL, ALT and AST in serum were decreased after treatment with wei-le-san 0.2 g/kg, but were higher than sham operated group ($P < 0.05$). Wei-le-san treatment could significantly reduce the histopathological damage, such as liver intumesce, hepatocyte necrosis and pus music were decreased compared with liver tissue of acute obstructive suppurative cholangitis rat. Conclusion Wei-Le-san can significantly protect liver function and tissue morphous in acute obstructive suppurative cholangitis rat.

Key words: cholangitis; liver function tests; bilirubin; liver; wei-le-san

急性梗阻性化脓性胆管炎 (acute obstructive suppurative cholangitis, AOSC) 是胆管感染中一种严重的疾病, 具有发病急骤、病情凶险、变化快速、并发症多、病死率高等特点。尽管近年来在外科手术治疗的基础上, 综合采取抗生素治疗、重症监护和营养支持等手段大大提高了该病的治疗效果, 但仍有较高的病死率^[1-2]。

AOSC 基本发病因素为胆管梗阻和细菌感染, 除引起胆管梗阻、胆汁淤积外, 且有其他系统和器官的损害, 病变发展至后期常伴休克和多器官功能衰竭。肝损害被认为是其中较突出的一种表现。应充分认识胆石病导致肝脏损害的危害性, 及早采取外科手术解除胆管梗阻, 并控制感染, 减低患者的肝脏损害, 可显著改善患者的预后和降低病死率^[3-4]。

胃乐散 (wei-le-san, WLS) 在贵州省黔东南地区民间用于胃炎、胆绞痛、腹泻的治疗, 治疗胃痛效果良好。实验研究表明, WLS 对消化性溃疡具有较好的治疗作用, 并可调节胃肠运动功能^[5-6]。

本研究旨在观察 WLS 对 AOSC 治疗作用、减低血清胆红

素水平、减轻胆管损伤的同时, 进一步观察 WLS 对 AOSC 模型大鼠肝脏损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级 Wistar 大鼠 32 只, 由第三军医大学实验动物中心提供, 合格证书号为 SCXK2002008。

1.1.2 试剂与药品 WLS 主要由白芍、苍术、元胡、肉桂等中药组成, 药材购于遵义医学院附属医院中药房, 由遵义医学院药理教研室根据民间验方制成散剂, 用时将 WLS 用蒸馏水配成 2% 和 4% 的混悬液, 4℃ 储存备用。大肠杆菌 Fischerichin 菌株 25922 由微生物学教研室张德刚老师馈赠。大肠杆菌培养液 (蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 20 g、伊红美艳琼脂 20 g、量筒量取牛肉膏 1 000 mL; 将蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、牛肉浸膏溶液, 于 pH 值 7.6~7.8 范围之间灭菌、分装、储存备用)。

1.1.3 主要仪器设备 TDGC₂-J-0.5 超净工作台 (上海先锋电器厂)、SHA-C 控温水浴振荡器 (深圳天南海北实业有限公司)、全自动生化分析仪 (日本 Olympus, Au2700 型)、电子分析

* 基金项目: 遵义市科技局资助课题 [遵市科合社字 2009(11)]。

天平(德国 Sartarius)等。

1.2 方法

1.2.1 实验动物与分组 雄性大鼠 32 只,体质量(250±20)g,适应性喂养 1 周后,将大鼠随机分成 4 组,分别为假手术组、模型组、WLS 低剂量组(0.2 g/kg)、WLS 高剂量组(0.4 g/kg),每组 8 只,分笼喂养。

1.2.2 细菌溶液的制备 大肠杆菌转种于琼脂蛋白胨斜面培养基,37℃恒温培养 24 h 后。无菌生理盐水洗涤,离心沉淀后加适量生理盐水,用 Brown 氏细菌数量比浊管比浊配成稀释液,含菌量为 1.0×10^9 cfu/mL。

1.2.3 AOSC 大鼠模型制备 制模前禁食 12 h,但不禁水,以 10%水合氯醛腹腔麻醉(0.35 mL/100 g),仰卧位固定,参照文献[4-7]的方法,分离胆总管,经胆管插管向胆总管内注入大肠杆菌 O₂₅₉₂₂ 稀释液 0.2 mL 后,不完全结扎胆总管制备 AOSC 大鼠模型。假手术组分离胆总管,但不注射大肠杆菌,也不结扎胆总管,分层缝合腹腔、腹壁。术后当天,各组分别灌胃给予生理盐水及相应药物,每天 2 次。

1.2.4 血液生化检测 术后 72 h 后,予水合氯醛麻醉大鼠,颈总动脉取血 1.5 mL,注入 EDTA-K₂ 抗凝管中,送遵义医学院附属医院检验科检测反应肝功能指标的亮氨酸氨基转移酶(aminoleucine transferase, ALT),天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)和总胆红素(total bilirubin, TBIL)。

1.2.5 胆管和肝脏病理学检查 术后 72 h 后,颈动脉放血处死大鼠,肉眼检查胆管和肝脏的大体病理学变化,并取肝组织置于 10%的中性甲醛中固定过夜,常规石蜡包埋,切片,乙醇梯度脱水,HE 染色,二甲苯透明,中性树胶封片,于光镜下观察肝脏组织结构的病理变化。

1.3 统计学处理 实验数据按完全随机对照设计的要求收集整理,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,全部数据采用 SPSS13.0 统计软件进行 ONE-WAY ANOVA 处理,两组间均数比较用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 WLS 对 AOSC 模型大鼠肝功能的影响 与假手术组相比,模型组及各给药组血清中反应肝功能的重要指标 ALT 和 AST 水平显著升高($P < 0.01$);经 WLS 治疗 72 h 后,与模型组比较,WLS 低剂量组血清中 ALT、AST 水平明显降低($P < 0.05$),高剂量组有下降的趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 WLS 对急性化脓性梗阻性胆管炎大鼠血 ALT 和 AST 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)
假手术组	42.88±17.47**	118.38±29.99**
模型组	1113.75±569.15	2569.12±703.85
WLS 低剂量组	593.00±72.73*#	1558.62±349.53*#
WLS 高剂量组	626.25±339.27#	2119.75±418.79#

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

2.2 WLS 对 AOSC 模型大鼠 TBIL 水平的影响 与假手术组相比,模型组和 WLS 高、低剂量组 TBIL 水平显著升高($P < 0.01$);WLS 低剂量组治疗 72 h 后,与模型组相比,TBIL 水平显著降低($P < 0.01$),而 WLS 高剂量组 TBIL 水平却无显著变化($P > 0.05$),见表 2。

表 2 WLS 对急性化脓性梗阻性胆管炎大鼠血 TBIL 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	TBIL(μ mol/L)
假手术组	1.35±0.65*
模型组	155.62±17.10
WLS 低剂量组	112.32±17.38*#
WLS 高剂量组	148.26±36.20#

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

2.3 WLS 对 AOSC 模型大鼠肝脏组织形态学改变的影响 模型组大鼠制模后 72 h 剖腹,肉眼可见胆总管扩张,肝脏肿大淤血,颗粒增粗,肝脏表面有较多散在脓苔;光镜下观察可见胆总管上皮的明显破坏和组织水肿,肝细胞出现不同程度的空泡变性和坏死,有的融合成片,汇管区大量炎细胞浸润,中央静脉及肝窦充血;胆小管扩张、淤胆。而假手术组大鼠胆总管和肝脏肉眼未见明显异常,镜下见肝小叶结构正常,肝细胞排列呈索状,无坏死及变性,肝窦无扩张,血管及胆管结构正常。WLS 高、低剂量组大鼠肝脏肿大程度减轻,肝脏表面脓苔减少,肝组织结构保持较好,点、片状肝细胞变性、坏死明显减少,炎细胞浸润也减少(封 3 图 1)。

3 讨论

胆石病对肝脏的损害主要发生在原发性胆管结石病,这些损害及其并发症常构成复杂的肝外科问题。AOSC 患者死亡尸解肝脓肿发生率可高达 80%以上,持久的胆管梗阻可造成阻塞胆管范围的肝内胆汁淤积,肝实质细胞破坏,胆汁性肝硬化和肝叶、肝段的纤维化、ALT 升高等[8]。临床和动物实验研究均已报道,随着急性胆管炎病程的发展,肝损害也随时间延长而加重,可形成肝脓肿,直接与血行途径,以及血行与直接途径相互影响,引起肝细胞损伤,降低肝功能,引起胆红素沉积,导致肝功能衰竭等[9-10]。

本实验采用胆管插管注入大肠杆菌的方法并结扎大鼠胆管建立急性化脓性胆管炎实验模型。制模 72 h 后,模型组大鼠血清中 ALT、AST、TBIL 水平均显著高于假手术组,光镜下见胆总管扩张,肝、胆组织出现大量片状坏死等显著病理变化,证明在 AOSC 模型成功建立的基础上,由于胆管的阻塞,产生了明显的肝损害,并导致了肝功能的明显降低。值得注意的是,尽管 WLS 高、低剂量组之间,反应肝功能变化的大鼠血清 ALT、AST 水平无显著差异,但 WLS 低剂量组大鼠血清 ALT、AST、TBIL 水平较模型组均显著降低。且肝脏的组织病理学检查进一步证实,WLS 高、低剂量组大鼠肝脏肿大程度减轻,肝脏表面脓苔减少,肝小叶结构保持较好,肝细胞坏死明显减少,以 WLS 低剂量组改善更为明显,表明 WLS 对 AOSC 引起的肝损伤具有明显的保护作用。提示在 AOSC 外科解除胆管梗阻治疗前后,合理配合中药治疗[10-11],在减轻胆管损伤、保护肝脏等方面 WLS 可能具有良好的应用前景。

文献报道 WLS 组方中苍术所含的苍术挥发油具有利尿、抗炎症、镇痛等作用;苍术具有保肝,并对大肠杆菌等有较好的杀灭作用[12-13]。肉桂对大肠杆菌、痢疾杆菌等有明显抑制作用,并可促进血液循环、发挥抗炎作用等。白芍及其有效成分具有抗炎、保肝、免疫调节等作用[14-15],这些可能是 WLS 发挥其减轻 AOSC 引起肝损伤作用的基础。至于高剂量组效果不如低剂量组,可能由于随着剂量增加 WLS 增高上述指标的活性成分开始发挥作用,但其确切机制有待深入研究。(下转第 6 页)

- root irritation of the rat[J]. *Spine*, 1994, 19(16): 1780-1794.
- [6] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *Neurosci Methods*, 1994, 53(1): 55-63.
- [7] Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observation[J]. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 1980, 20: 441-462.
- [8] Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia[J]. *Pain*, 1988, 32(1): 77-88.
- [9] Forman HJ, Fukuto JM, Miller T, et al. The chemistry of cell signaling by reactive oxygen and nitrogen species and 4-hydroxynonenal[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 477(2): 183-195.
- [10] Varija D, Kumar KP, Reddy KP, et al. Prolonged constriction of sciatic nerve affecting oxidative stressors and antioxidant enzymes in rat[J]. *Indian J Med Res*, 2009, 129(5): 587.
- [11] Guedes RP, Araujo AS, Janner D, et al. Increase in reactive oxygen species and activation of Akt signaling pathway in neuropathic[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2008, 28(8): 1049-1056.
- [12] Kwak KH, Han CG, Lee SH, et al. Reactive oxygen species in rats with chronic post-ischemia pain[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2009, 53(5): 648-656.
- [13] Capitanio D, Vasso M, Fania C, et al. Comparative proteomic profile of rat sciatic nerve and gastrocnemius muscle tissues in ageing by 2-D DIGE[J]. *Glia*, 2009, 9(7): 2004-2020.
- [14] Finnerup NB, Sindrup SH, Jensen TS. Chronic neuropathic pain; mechanisms, drug targets and measurement[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2007, 21(2): 129-136.
- [15] Cirillo G, Cavaliere C, Bianco MR, et al. Intrathecal NGF administration reduces reactive astrocytosis and changes neurotrophin receptors expression pattern in a rat model of neuropathic pain[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 477(2): 183-195.
- [16] Siniscalco D, Fuccio C, Giordano C, et al. Role of reactive oxygen species and spinal cord apoptotic genes in the development of neuropathic pain[J]. *Pharmacol Res*, 2007, 55(2): 158-166.
- [17] Kramar EA, Lin B, Lin CY, et al. A novel mechanism for the facilitation of the taurine-induced long-term potentiation by brain-derived neurotrophic factor[J]. *J Neurosci*, 2004, 24: 5151-5161.
- [18] Boettger MK, Till S, Chen MX, et al. Calcium-activated potassium channel SK1- and IK1-like immunoreactivity in injured human sensory neurones and its regulation by neurotrophic factors[J]. *Brain*, 2002, 125(2): 252-263.
- [19] 刘甬民, 姚尚龙, 宋文阁, 等. 不同神经病理性疼痛模型下钠通道 α III mRNA 表达的改变[J]. *临床麻醉学*, 2005, 21(5): 344-346.
- [20] Vanelderden P, Rouwette T, Kozicz T, et al. The role of brain-derived neurotrophic factor in different animal models of neuropathic pain[J]. *Eur J Pain*, 2010, 14(5): e1-9.

(收稿日期: 2010-01-20 修回日期: 2010-05-10)

(上接第 2 页)

参考文献:

- [1] 张元, 曹邦清, 曾宏, 等. 胆囊切除术后非损伤性黄疸的原因及处理[J]. *临床外科杂志*, 2003, 11(4): 262-263.
- [2] 曹盛世. 胆石病导致肝脏损害的处理[J]. *实用临床医学*, 2002, 3(5): 35-36.
- [3] 陆融, 崔乃强, 梅建勋. 急性重症胆管炎模型大鼠肝脏细胞凋亡和坏死的比较研究[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2000, 6(3): 155-157.
- [4] 寇丽, 薛承锐, 齐清会, 等. 大鼠急性不全梗阻性胆管炎模型的建立[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2005, 11(2): 138-140.
- [5] 余丽梅, 邓江, 孙安盛, 等. 胃乐散对实验性胃溃疡的作用[J]. *遵义医学院学报*, 2001, 24(5): 388-390.
- [6] 罗勇, 文国容, 余丽梅, 等. 胃乐散对小鼠肠运动功能影响的实验研究[J]. *贵州医药*, 2004, 28(2): 120-121.
- [7] 袁涛, 刘宏鸣, 赖晓东, 等. TNF- α 在急性胆管炎大鼠血浆和胆汁中的变化[J]. *重庆医学*, 2009, 38(20): 2601-2602.
- [8] 钟大昌, 冉瑞图. 关于急性梗阻性化脓性胆管炎的几个问题[J]. *普外临床*, 1986, 1: 214.
- [9] 黄鹤光, 殷凤峙, 石铮. 重症急性胆管炎伴肾功能不全时的肝肾病理改变[J]. *中华实验外科杂志*, 1996, 13(5): 298-299.
- [10] 王志伟, 吴印爱, 刘献棠, 等. 丹参对急性梗阻性化脓性胆管炎患者术后肝功能的影响[J]. 2003, 31(4): 88, 90.
- [11] 赵承梅, 刘档梁, 宋博毅, 等. 中药清解灵对肝脏保护作用的实验研究[J]. *天津中医学院学报*, 2002, 21(1): 30-31.
- [12] 陈兆年, 梁大伟. 中西医结合治疗结石性急性重症胆管炎[J]. *重庆医学*, 2006, 35(3): 75.
- [13] 赵爱. 苍术的药理作用研究[J]. *光明中医*, 2009, 24(1): 181-182.
- [14] 郭金鹏, 孙如宝, 史云, 等. 苍术挥发油提取物制剂杀菌效果的观察[J]. *中国消毒学杂志*, 2009, 26(2): 151-153.
- [15] 韩珍, 贺弋. 白芍总苷的药理作用及其毒性研究进展[J]. *宁夏医学院学报*, 2008, 30(4): 538-541.

(收稿日期: 2010-02-10 修回日期: 2010-05-15)