

食管康颗粒对反流性食管炎模型大鼠血清 T3 T4 的影响*

田晶晶¹, 胡蓆宝², 袁红霞², 贾瑞明²

(1. 天津市南开医院消化内科, 天津 300100; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

摘要: 目的: 观察食管康颗粒对反流性食管炎 (RE) 模型大鼠血清 T3、T4、FT3、FT4 含量的影响。方法: 将 64 只 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 随机分成 4 组, 即正常对照组 (正常组)、食管康颗粒组 (食管康组)、西药治疗组 (西药组) 及模型组, 每组 16 只。采用“食管—十二指肠端侧吻合术”制备动物模型。从术后第 3 天开始, 正常对照组和模型组给予生理盐水灌胃, 药物治疗组分别给予食管康颗粒和西药灌胃, 连续 7 天, 于第 8 天处死大鼠留取标本, 观察食管下段黏膜大体及病理组织学变化, 应用放免法测模型大鼠血清 T3、T4、FT3、FT4 含量。结果: 模型组大鼠血清 T3、T4、FT3、FT4 含量较正常组明显降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 食管康组及西药组大鼠血清 T3、T4、FT3、FT4 含量较模型组明显升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 食管康组与西药组比较, 食管康组 T4、FT3、FT4 含量升高更加显著, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与西药组比较, 食管康组 T3 含量升高不明显, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 食管康颗粒能够通过升高反流性食管炎模型大鼠血清中 T3、T4、FT3、FT4 含量, 影响能量代谢, 对 RE 起到治疗作用。

关键词: 食管康颗粒; 反流性食管炎; 能量代谢; T3; T4

中图分类号: R 285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3649 (2015) 03-0049-04

反流性食管炎 (RE) 属于胃食管反流病 (gastroesophageal reflux disease, GERD) 的范畴, 是指由于胃、十二指肠内容物反流入食管而引起食管黏膜损伤的一种慢性难治性疾病。随着社会经济的发展、现代人们生活习惯和饮食结构的改变, 其发病率呈逐年上升趋势^[1]。RE 临床上常表现为反酸、烧心、胸骨后疼痛甚至哮喘、咳嗽等食管外症状, 易长期反复发作且治疗远期效果欠佳, 严重影响患者的生活质量和工作效率^[2], 还可造成食管狭窄、Barrett 食管、食管腺癌等严重并发症, 对 GERD 和 RE 的治疗及预防复发、癌变的研究已成为众多学者关注的热点。

现代医学对 GERD 和 RE 的治疗, 主要采用促胃肠动力药、抑酸剂、抗酸剂以及黏膜保护剂等, 虽可使疾病的症状得到一定程度的改善, 但仍不能从根本上解决反流问题, 而且存在着医疗费用昂贵、药物副反应大和容易复发等不足^[3]。目前, 中医药治疗 GERD 和 RE 取得了良好疗效, 在改善症状、减轻食管炎性反应, 增进食管和胃蠕动功能, 调节食管下括约肌功能, 抑制反流, 促进食管受损黏膜修复及预防癌变等方面均显示了良好的作用。本课题组成员在二十余年临床研究的基础上, 提出 RE 的病机

* 基金项目: 天津市科技计划项目 (编号: 11JCYBJC11400), 国家自然科学基金项目 (编号: 81173243)

规范实施手册 (2003 版) 对通润颗粒进行保健功效检。由实验结果可见通润颗粒具有降血脂 (主要是降低胆固醇) 功能和润肠通便功能。

参考文献

- [1] 杜志澎. 高胆固醇与心血管危险因素相关性研究 [J]. 中国当代医药, 2013, 20 (6): 7~8
- [2] 刘宗瑜, 李其忠. 高脂血症中医病因病机研究 [J]. 黑龙江中医药, 2010, (4): 51~53
- [3] 赵玲, 李雅莉, 张丽, 等. 二苯乙烯苷对高胆固醇血症致 β -淀粉样肽增高大鼠模型的影响 [J]. 中国药理学通报, 2005, 21 (1): 49~52
- [4] 陈继承, 何捷, 何国庆. 降血脂功能食品研究进展 [J]. 食品科学·专题论述, 2011, 32 (23): 333~338
- [5] 李明元, 罗孟军, 叶博. 橙黄决明素的降血脂作用研究

[J]. 中药药理与临床, 2008, 24 (6): 36~37

[6] 陈敏. 姜黄属中药及姜黄素活血化瘀抗动脉粥样硬化的文献整理及实验研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16 (31): 4673~4674

[7] 何永成, 廖履坦, 丁小强, 等. 高脂饮食诱导的高胆固醇血症对雄性 Wistar 大鼠肾脏的毒性作用 [J]. 复旦学报 (医学科学版), 2001, 28 (1): 42~46

[8] 李春祥, 赵丽霞. 颈动脉硬化斑块及 C-反应蛋白、LDL/HDL 与脑梗死的关系分析 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2011, 19 (3): 391~392

[9] 孙芳, 冯程程. 何首乌的现代药理作用研究进展 [J]. 科技资讯·学术论坛, 2013: 231

[10] 冯娟. 复配天然多糖的筛选及其降血脂作用 [J]. 第四军医大学, 2007: 9~20

(收稿日期 2014-11-21)

关键为“胃虚气逆”，并以具有“健脾益气，和胃降逆”功效的“旋覆代赭汤”为基本方加味制成食管康颗粒，治疗各种类型的反流性食管炎，取得了显著的临床疗效。本实验观察食管康颗粒对 RE 模型大鼠血清 T3、T4、FT3、FT4 含量的影响，现具体报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康清洁级 12 周龄 Wistar 大鼠 64 只，雌雄各半，体重 250 ± 20 g，由军事医学科学院放射医学研究所提供，动物合格证号：MA-2010-073，饲养于天津市南开医院中西医结合急腹症研究所实验动物室，本实验室已获得天津市实验动物管理委员会颁发的资格认证。大鼠购入后，Ⅱ级动物饲养室分笼架式饲养于钢丝网盖塑料笼内，室内保持恒温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ，湿度为 50% ~ 60%，自由饮水及进食标准颗粒饲料，黑暗光照交替 12 小时，噪音、换气等环境符合动物饲养室规定范围。

1.1.2 实验药物 中药药材全部由天津中医药大学附属保康医院药剂科提供，经天津市南开医院中西医结合急腹症研究所鉴定合格并煎制成 1g/ml 生药的溶液，置 4°C 冰箱备用，中药谨守《伤寒论》原方剂量，换算为现代剂量。食管康组：人参、延胡索、旋复花、半夏、代赭石、黄连、吴茱萸、白芍、炙甘草、郁金、丹参。西药组：枸橼酸莫沙比利分散片和奥美拉唑肠溶片，研为细粉末后，配制成浓度为 0.15mg/ml 的莫沙比利混悬液后装瓶，置 4°C 冰箱备用。

1.1.3 主要实验仪器 防脱氨基载玻片，购于天津市灏洋生物制品科技有限责任公司；莱卡（LEICA）超薄切片机，型号：EMUC6；日立透射电子显微镜，型号：H7650；NOVEL 光学显微镜，型号：XS2-106B（N）；倒置相差光学 Olympus 显微镜，型号：IX71；Heraeus 台式高速离心机，型号：PLCO 型；IMMULITE 自动化学发光免疫分析仪（美国 DPC 公司）；ACCESS 自动化学发光免疫分析仪（美国贝克曼公司）；恒温水浴箱，型号：DZW-4 型，为金坛市恒丰仪器厂产品。

1.1.4 主要实验试剂 （1）10% 水合氯醛，天津市南开医院制剂室制备；（2）0.9% 氯化钠注射液，中国大冢制药有限公司产品；（3）500ml 葡萄糖氯化钠注射液：天津天安药业股份有限公司产品；（4）40% 甲醛，天津市化学试剂一厂产品；（5）6/0 医用带线缝合针，上海元洪医疗器械有限公司产品；（6）病理、脱水、包埋、染色等所需基本试剂：3% 的戊二醛，甲醛，50%、70%、90%、100% 梯度酒精，石蜡包埋剂，苏木精/伊红染色剂，0.01MPBS 缓冲液，0.01M 枸橼酸盐缓冲液，均由天津市南开医院

中西医结合急腹症研究所和天津灏洋生物技术有限公司提供；（7）游离三碘甲状腺原氨酸放免试剂盒（FT3）、游离甲状腺素放免试剂盒（FT4）、三碘甲状腺原氨酸（T3）放免试剂盒、甲状腺素（T4）放免试剂盒均为北京华英生物技术研究产品。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及药物干预 将 64 只大鼠随机分为 4 组，每组 16 只。对造模组大鼠参照曹丽霞等^[4]“食管—十二指肠端侧吻合术”进行造模。正常组大鼠于实验开始后第 3 天每只大鼠给予 1.0ml/100g 体重生理盐水灌胃，每日 1 次，与治疗组同日处死；模型组于术后第 3 天开始，每只大鼠给予 1.0ml/100g 体重生理盐水灌胃，每日 1 次，与治疗组同日处死。食管康组及西药组于术后第 3 天开始，每只大鼠按 1.0ml/100g 体重给予相应剂量灌胃，每日 1 次，连续 7 天，第 8 天处死各组动物进行指标检测。

1.2.2 处死及取材 以上各组动物处死前，均禁食 24 小时，不禁水，之后用 10% 水合氯醛（0.3ml/100g）腹腔注射麻醉，常规开腹后迅速经腹主动脉采血 4ml 及取出食管组织。

1.2.3 检测方法 （1）食管黏膜组织病理形态学检测：取食管下端约 $2\text{cm} \times 1\text{cm}$ 组织，用 0.9% NaCl 溶液清洗食管，10% 福尔马林固定，梯度酒精逐级脱水 12h，石蜡包埋，超薄切片机切片，常规 HE 染色，光镜观察组织形态学变化。组织形态学结果判定标准：食管黏膜组织形态学观察采用中华医学会消化内镜分会 2004 年 12 月颁布的 RE 诊断标准^[5]，病理分级积分：正常为 0 分，轻度为 1 分，中度为 2 分，重度为 3 分（表 1）。（2）血清 T3/T4/FT3/FT4 活性水平测定。血清 T3、T4 的测定采用放免法测定血清 T3、T4 含量，测定过程均严格要求按照提供试剂盒说明书进行操作测量。

表 1 RE 黏膜病理分级

病理改变	分级		
	轻度	中度	重度
鳞状上皮增生	+	+	+
黏膜固有层乳头延伸	+	+	+
上皮细胞层内炎细胞浸润	+	+	+
黏膜糜烂	~	+	~

1.2.4 统计学方法 使用 SPSS for Windows 13.0 统计软件对数据进行统计学分析，以均数 \pm 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，实验数据为计量资料者，多组间比较采用单因素方差分析（One-way anova），实验数据为计数资料，采用行 \times 列 χ^2 检验， $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 食管黏膜光镜下表现 正常组镜下可见黏膜层表面为非角化复层鳞状上皮，其基底细胞层中有少

许黑色素母细胞和内分泌细胞；模型组镜下表现与正常组基本一致；模型组可见食管黏膜上皮见有广泛急慢性炎细胞浸润，病变有嗜酸性粒细胞，伴有部分黏膜糜烂、脱落，部分食管黏膜有肉芽组织出现；食管康汤组食管黏膜上皮恢复，炎细胞减少，黏膜见少量炎细胞，基层炎细胞消失，鳞状上皮层次减少；西药组食管黏膜大量炎细胞弥漫、水肿，嗜酸性粒细胞仍存在，基层仍见大量炎细胞浸润，各组大鼠 RE 光镜下分级分布及积分情况见表 2。

表 2 各组大鼠食管黏膜病理分级及积分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	正常	轻度	中度	重度	积分
正常组	16	15	1	0	0	0.06±0.27
模型组	12	0	1	7	4	2.12±0.69*
食管康组	15	0	12	2	1	1.32±0.61*** [○]
西药组	13	0	11	1	1	1.34±0.65**

注：与正常组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，** $P<0.05$ ；与西药组比较，[○] $P>0.05$

2.2 对各组 RE 模型大鼠血清 FT3、FT4 含量的影响见表 3。

表 3 各组 RE 模型大鼠血清 FT3、FT4 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	FT3 (pmol/L)	FT4 (pmol/L)
正常组	30.23±4.14	30.79±7.03
模型组	3.85±0.36*	7.08±0.78*
食管康组	24.10±3.40*** [○]	26.83±6.25*** [○]
西药组	17.26±2.42**	16.48±4.17**

注：与正常组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，** $P<0.05$ ；与西药组比较，[○] $P<0.05$

由表 3 可以发现，模型组大鼠血清 FT3、FT4 含量较正常组明显降低，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)，食管康组及西药组大鼠血清 FT3、FT4 含量较模型组明显升高，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)，食管康组与西药组比较，食管康组 FT3、FT4 含量升高更加显著，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.3 对各组 RE 模型大鼠血清 T3、T4 含量的影响见表 4。

表 4 各组对 RE 模型大鼠血清 T3、T4 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	T3 (nmol/L)	T4 (nmol/L)
正常组	2.36±0.11	77.16±6.99
模型组	0.50±0.18*	39.24±13.01*
食管康组	2.01±0.12*** [△]	70.36±*** [○]
西药组	1.53±0.11**	52.82±7.38**

注：与正常组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，** $P<0.05$ ；与西药组比较，[○] $P<0.05$ ；与西药组比较，[△] $P>0.05$

由表 4 可以发现，模型组大鼠血清 T3、T4 含量较正常组明显降低，差异具有统计学意义 ($P<$

0.05)，食管康组大鼠血清 T3、T4 含量较模型组明显升高，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)，与西药组比较，食管康组 T4 含量明显升高，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)，食管康组 T3 含量升高不明显，差异没有统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨 论

祖国医学中并无 RE 的病名，根据其症状可归属于为“吐酸”、“噎膈”、“胃脘痛”或“胸痛”等范畴。本课题组成员根据多年的临床经验提出“脾胃虚弱”为 RE 的发病之本，“肝胃不和，胃气上逆”为病机关键，饮食不节、劳倦过度、情志不畅或久病等因素，首先伤及脾胃之气，致脾胃虚弱，肝为风木之脏，主疏泄而藏血，其气升发，喜条达而恶抑郁，司情志；在五脏中，肝与脾胃关系最为密切，根据五行相乘的关系，若脾胃虚弱，木行相对偏亢而克制土行，即“土虚木乘”，而致脾胃运化升降失司，气机郁滞，肝气夹胃浊上逆，出现肝胃不和，胃气上逆，发生 RE。食管康颗粒由《伤寒论》中经方“旋覆代赭汤”加左金丸、芍药甘草汤佐以延胡索、郁金、丹参而来，为健脾益气、疏肝和胃之剂，其方证病机特点是脾胃虚弱，肝胃不和，胃气上逆。全方协调升降，平调气血，降中有升，升中有降，一则使药同归上焦，药性更易达至病所，二则使肝脾胃升降适度，气机通畅。配伍严谨，降中有补，标本兼顾，诸药配合，共成健脾益气、疏肝和胃，从而达到重建中焦气机升降功能的目的，使气逆得除，脏腑和谐状态得复。故临证中以旋覆代赭汤为基本方加味组方食管康颗粒治疗各种类型的 RE，方证相合，疗效显著。

中医的“气”与现代生物学的“能量”都是机体各种生命活动的推动力，在理论上具有共通性，中医“气”与生物能源 (ATP) 的概念存在着共性的含义。升降出入是气运动的基本形式，气机升降和能量代谢之间存在着密切的联系。现代药理学研究证实，常用补气药如人参、党参、黄芪、白术等都有不同程度地增加能荷值 (即 ATP 含量)，而行气药如青皮、乌药、厚朴、枳壳等则表现为降低能荷值的趋势。

能量代谢是指生物体内物质代谢过程中伴随的能量变化规律，是机体的基本生理活动之一，是机体一切生命活动的基础。机体能利用的能量来源于食物中糖、脂肪和蛋白质分子结构中蕴藏的化学能。这些能源物质在氧化过程中碳氢键断裂，生成 CO₂ 和 H₂O，同时释放出蕴藏的能量，这些能量可以转化为维持体温的热能，并向体外散发，其余不足 50% 则以高能磷酸键的形式贮存于体内，供机体利用。

甲状腺作为人体最大的内分泌腺与机体的能量代谢密切相关，甲状腺激素中主要发挥作用的 T3 可通过核受体-T3R 调控核呼吸因子、线粒体转录因子

越婢汤对逼尿肌不稳定大鼠膀胱 ICCs 细胞中 HCN 通道表达的研究*

蒋孟洁, 陈佳, 孙香娟, 陈炜

(成都中医药大学, 四川 成都 610000)

摘要: 目的: 研究越婢汤对逼尿肌不稳定大鼠膀胱 ICCs 细胞及 HCN 通道表达的影响。方法: 将 Wistar 大鼠随机分为膀胱出口梗阻手术组和假手术组, 6 周后行尿动力检查筛选出手术组膀胱逼尿肌不稳定大鼠和假手术组膀胱逼尿肌稳定大鼠进行研究。将手术组随机分为越婢汤高、中、低剂量组、缩泉丸对照组、模型对照组, 加上假手术组共 6 组, 每组 10~13 只大鼠。给药 14 天后观察各组变化。用免疫组化方法测试膀胱 ICCs 细胞含量及 HCN 蛋白含量, 并做出数据处理分析。结果: 与假手术组相比, 模型对照组大鼠膀胱 ICCs 细胞含量与 HCN 蛋白含量明显增多, 具有统计学意义 ($P<0.01$); 与模型对照组相比, 越婢汤干预后大鼠膀胱 ICCs 细胞含量及 HCN 蛋白含量减少, 具有显著的统计学意义 ($P<0.01$)。结论: 越婢汤可以通过调节膀胱兴奋性表达来改善膀胱逼尿肌不稳定。

关键词: 越婢汤; 逼尿肌不稳定; ICCs 细胞; HCN 通道

中图分类号: R 285.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3649 (2015) 03-0052-03

1 实验材料

1.1 实验动物 SPF 级 wistar 大鼠, 雌性, 2~3 月

龄, 体重 200~220g, 购自成都达硕动物实验公司, 按照实验动物管理条例的要求进行饲养。

* 基金项目: 四川省教育厅资助项目 (编号: 10EB073)

等因子的表达, 从而调控编码呼吸链上重要酶的线粒体基因转录; 也可直接通过与线粒体基因上的 P43 蛋白结合, 调控线粒体基因的转录, 最终影响细胞 ATP 的生成和细胞的生理功能。甲状腺激素^[6] 调节着专性产热即基础代谢率和兼性产热也即非颤抖性产热, 其机制可能是刺激细胞核和线粒体内有关能量代谢的重要基因的转录, 与能量代谢有密切关系。有实验^[7] 证明脾虚状态下甲状腺对 TSH 反应的敏感性下降, 甲状腺合成和分泌 T₃、T₄ 能力下降, 而健脾可以升高血清甲状腺激素 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 含量。

本实验结果显示, 模型组大鼠光镜下可见黏膜及黏膜下均有不同程度的炎细胞浸润, 部分黏膜出现溃疡、糜烂, 鳞状上皮不典型增生, 及食管白斑; 经药物治疗后的三组与模型组比较, 光镜下表现均显著改善。模型组大鼠血清 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 含量较正常组明显降低, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 食管康组及西药组大鼠血清 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 含量较模型组明显升高, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 与西药组比较, 食管康组 T₄、FT₃、FT₄ 含量升高更加显著, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。与西药组比较, 食管康组 T₃ 含量升高不明显, 差异没有统计学意义 ($P>0.05$)。

本实验研究通过观察食管康颗粒对反流性食管

炎模型大鼠食管黏膜组织形态学、血清 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 等影响的实验结果进行综合分析, 可以推测, 食管康颗粒可以通过益气健脾, 调节能量代谢, 维持食管下括约肌舒缩的正常功能, 对 RE 起到治疗作用, 从能量代谢的新角度研究该方治疗 RE 的作用机理, 为临床寻找更好地治疗策略和途径提供思路和方法。

参考文献

- [1] 陈灏珠. 实用内科学 [M]. 12 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1849~1850
- [2] 李兆申, 徐晓蓉, 邹多武, 等. 胃食管反流病食管外表现的临床研究 [J]. 中华内科杂志, 2006, 45: 13~16
- [3] Jenkins GJ, D 7Souza FR, Suzen SH, et al. Deoxycholic acid at neutral and acid pH is genotoxic to oesophageal cells through the induction of ROS, The potential role of antioxidants in Barrett's oesophagus [J]. Carcinogenesis, 2007, 28: 136
- [4] 曹丽霞, 袁红霞, 杨幼新, 等. 十二指肠胃食管反流动物模型的改进和完善 [J]. 天津中医药, 2009, 26 (2): 134~136
- [5] 中华医学会消化内镜学分会. 反流性食管炎诊断及治疗指南 (2013 年) [J]. 中华消化内镜杂志, 2004, 21 (4): 221
- [6] 陈玉华. 解偶联蛋白与甲状腺激素对能量代谢调节的研究现状 [J]. 广东医学院学报, 2006, 24 (2): 197~199
- [7] 夏天, 李刚, 王宗仁, 等. 脾虚大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴功能的变化 [J]. 安徽中医学院学报, 2001, 20 (4): 42~45

(收稿日期 2014-11-06)