

# 辛开苦降法对反流性食管炎模型大鼠食管黏膜细胞间隙的影响

唐艳萍<sup>1</sup> 刘思邈<sup>1</sup> 魏 玮<sup>2</sup> 魏晓东<sup>1</sup> 弓艳霞<sup>1</sup> 王 瑞<sup>1</sup> 李淑红<sup>1</sup> 刘继威<sup>1</sup>

**摘要** 目的 观察辛开苦降法对反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)模型大鼠食管黏膜细胞间隙的影响。方法 100 只 Wistar 大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组、西药组、中药组,每组 25 只,共 4 组。对照组只行腹腔开关术,其余 3 组均采用改良部分贲门肌切开加外置幽门部分结扎术,制备 RE 大鼠模型。术后第 3 天西药组灌胃混合剂:吗丁啉片(3.2 mg/kg) + 奥美拉唑胶囊(4.3 mg/kg) + 铝碳酸镁片(161.4 mg/kg),中药组灌胃半夏泻心汤加减汤剂(5.7 g/kg),1 次约 2.5 mL,1 天 2 次,连续 14 天;同时对照组和模型组大鼠每天给予灌胃等量生理盐水。观察实验第 7、14 天各组模型食管下段 pH 值、黏膜大体标本、病理组织学变化,并测量各组食管黏膜上皮细胞间隙进行对照研究。结果 与本组治疗第 7 天比较,西药组和中药组在第 14 天大鼠食管下段 pH 值均升高( $P < 0.01$ ),食管黏膜肉眼积分均降低,上皮细胞间隙亦降低( $P < 0.05$ )。与对照组同期比较,模型组大鼠食管下段 pH 值均降低( $P < 0.01$ ),模型组大鼠食管黏膜肉眼积分升高,上皮细胞间隙亦升高( $P < 0.01$ )。与模型组同期比较,中药组和西药组第 7、14 天大鼠食管下段 pH 值升高,食管黏膜肉眼积分降低( $P < 0.01$ ),中药组和西药组第 14 天大鼠食管黏膜上皮细胞间隙亦降低( $P < 0.01$ )。与西药组同期比较,中药组第 7 天大鼠食管下段 pH 值降低( $P < 0.05$ ),中药组第 14 天大鼠食管黏膜肉眼积分和上皮细胞间隙均降低( $P < 0.05$ )。结论 辛开苦降法对 RE 动物模型有良好的治疗作用,并随疗程增加效果更加明显,其机制可能是通过对损伤黏膜良好的修复作用、增加下食管括约肌的压力及抑制胃酸实现的。

**关键词** 反流性食管炎;辛开苦降;食管下段 pH 值;病理组织学;食管黏膜细胞间隙

Effect of Pungent Dispersion Bitter Purgation Method on the Esophageal Mucosal Intercellular Space of Reflux Esophagitis Model Rats TANG Yan-ping<sup>1</sup>, LIU Si-miao<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>2</sup>, WEI Xiao-dong<sup>1</sup>, GONG Yan-xia<sup>1</sup>, WANG Rui<sup>1</sup>, LI Shu-hong<sup>1</sup>, and LIU Ji-wei<sup>1</sup> 1 Department of Digestive Disease, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin (300100), China; 2 Department of Digestive Disease, Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing (100102), China

**ABSTRACT** Objective To observe the effect of pungent dispersion bitter purgation method (PDBPM) on the esophageal mucosal intercellular space of reflux esophagitis (RE) model rats. Methods Totally 100 Wistar rats were randomly divided into the control group, the model group, the Western medicine group (WM), the Chinese medicine group (CM), 25 rats in each group. Rats in the control group only received switch operation. Rats in the rest three groups received modified partial cardia muscle incision combined pylorus ligation of external parts to prepare the RE rat model. Starting from the 3rd day after operation, WM mixture (Motilium 3.2 mg/kg + Omeprazole Capsule 4.3 mg/kg + Hydrotalcite Tablet 161.4 mg/kg) was administered by gastrogavage to rats in the WM group. Rats in the CM group was administered by gastrogavage with Modified Banxia Xiexin Decoction (5.7 g/kg), 2.5 mL each time, twice daily for 14 consecutive days. Equal volume of

基金项目:天津市中医药管理局课题资助项目(No. 11023)

作者单位:1. 天津市南开医院消化内科(天津 300100); 2. 中国中医科学院望京医院消化内科(北京 100102)

通讯作者:唐艳萍, Tel: 022-27435340, E-mail: cb1699@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.11.1335

normal saline was administered by gastrogavage to rats in the control group and the model group. On day 7 and 14, the lower esophagus pH value, general specimen of mucosa and histopathologic changes were observed. Intercellular spaces of esophageal epithelium were measured for a control study. Results Compared with the same group at day 7, the lower esophagus pH value increased at day 14 ( $P < 0.01$ ); the naked eye integral of esophageal mucosa and intercellular spaces of esophageal epithelium also decreased at day 14 in the CM group and the WM group ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group at the same time point, the lower esophagus pH value decreased in the model group ( $P < 0.01$ ). The naked eye integral of esophageal mucosa, and intercellular spaces of esophageal epithelium increased in the model group with increased intercellular spaces ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group at the same time point, the lower esophagus pH value increased and the naked eye integral of esophageal mucosa decreased in the CM group and the WM group at day 7 and 14 ( $P < 0.01$ ). Intercellular spaces of esophageal epithelium of RE model rats at day 14 was lower in the CM group and the WM group than in the model group ( $P < 0.01$ ). Compared with the WM group, the lower esophagus pH value decreased at day 7 in the CM group ( $P < 0.05$ ); the naked eye integral of esophageal mucosa and intercellular spaces of esophageal epithelium decreased at day 14 in the CM group ( $P < 0.05$ ). Conclusions PDBPM had favorable treatment effect on RE model rats. The therapeutic effect was more obvious along with the therapeutic course went by. Its mechanism might be achieved through good repair effect on damaged mucosa, increasing the pressure of esophageal sphincter, and inhibiting gastric acid.

KEYWORDS reflux esophagitis; pungent dispersion bitter purgation method; lower esophageal pH value; histopathology; intercellular space of esophageal epithelium

反流性食管炎 (reflux esophagitis, RE) 是胃、十二指肠内容物反流入食管,引起食管黏膜损伤的一种常见的消化道疾病。发病机制复杂,西药效果局限,病情易反复,为难治疾病。中医学治疗 RE,在缓解症状、降低复发率、减少副作用方面均具优势<sup>[1]</sup>。本课题前期临床研究证实<sup>[2]</sup>:辛开苦降法代表方剂半夏泻心汤加减治疗反流性食管炎中常见的证型——肝胃郁热证,收到较好的临床疗效,前期动物实验证实<sup>[3,4]</sup>其可迅速修复 RE 食管黏膜;通过调节相关胃肠激素及神经递质水平,提高下食管括约肌 (lower esophageal sphincter, LES) 张力;改善黏膜血流;但其黏膜损伤修复机制尚不明确。本研究重点围绕黏膜损伤修复所涉及的上皮屏障中细胞间隙的变化,进一步揭示其作用机制,为本法治疗 RE 提供科学依据。现报道如下。

### 材料与方法

1 动物 100 只健康雄性 Wistar 大鼠,体重 250 ~ 280 g,由北京维通利华动物实验有限责任公司提供,实验动物许可证号:SCXK(京)2009-2012。恒温(约 25 °C)饲养,光照和黑暗各 12 h 交替,自由进食标准颗粒饲料及饮水,适应环境 7 天。

2 药物 由半夏泻心汤加减化裁而成,清半夏 10 g 干姜 10 g 黄芩 10 g 黄连 8 g 郁金 18 g

白及 30 g 丹参 30 g 枳壳 15 g 香附 15 g 共 9 味药 药物以层析法分别提取单药有效成分,含生药量 1 g/mL,由南开医院药厂制成糊剂,备用。中药制作方法如下:除白及外全部中药用 70% 乙醇回流提取 2 次,每次加乙醇量为生药量的 4 倍,过滤,滤液回收乙醇至无醇味,用水稀释至生药量的 5 倍,离心,离心液过大孔树脂柱(高:直径 = 1:5),弃去流出液,用 70% 乙醇洗脱,收集洗脱液,回收乙醇至清膏。白及用水煎煮 2 次,煎煮液减压浓缩至相对密度 1.10(60 °C),加入 1.2 倍乙醇,放置 24 h 沉淀与上述清膏混合,用水稀释至 100%,即可。

西药混悬液:吗丁啉片、奥美拉唑肠溶胶囊及铝碳酸镁片混悬液。吗丁啉片:10 mg/片,西安杨森制药有限公司提供,生产批号:140224810;奥美拉唑肠溶胶囊:20 mg/粒,扬子江药业集团有限公司提供,生产批号:12070211;铝碳酸镁:500 mg/片,拜耳医药保健有限公司提供,生产批号:15537。

3 主要试剂及仪器 10% 水合氯醛,天津市公安医院提供,生产批号:H20070171;硫酸庆大霉素,辰欣药业股份有限公司提供,生产批号:H37021973;10% 福尔马林,天津市化学试剂供销公司提供,生产批号:XK13-011-00022。pH 检测仪:采用 SYNECTICS MEDICAL, DIGITRAPER MK III pH/MV meter(载用 pH 复合电极,单晶体铂电极连接 DigitrapperTmmk III,由

瑞典 CTD-Synectics 公司生产)。光学显微镜: BX60 型 Olympus 公司。

#### 4 实验方法

4.1 酸反流性食管炎动物模型制备 动物模型制备参照文献[5]。采用改良部分贲门肌切开加外置幽门部分结扎术的方法。75 只大鼠造模前,适应环境 7 天,各组实验大鼠在术前禁食 24 h(不禁水)。应用 10% 水合氯醛腹腔注射(3 mL/kg)进行麻醉,手术过程严格无菌操作。正中腹切口约 25 mm,于食管-胃交界处纵行切开贲门肌 0.5 cm,分离至黏膜层,从而使贲门部松弛,压力降低,以加强胃反流。为防止切开贲门肌时出血,分离前用细针缝扎横过胃-食管交界处的胃左动脉分支。而后半结扎幽门,即将直径为 4 mm 的金属棒放置胃幽门处外侧,将金属棒连同幽门一并结扎,并避开血管。结扎完毕后,将金属棒抽出,由此来保证大鼠在模型建立后形成幽门狭窄,但又不致梗阻且幽门内径均匀一致。腹腔内注入硫酸庆大霉素 2 万 U 后关腹,碘伏创口消毒。术后大鼠即可饮糖盐水,禁食 24 h 后,先予半量(15 g/天)标准颗粒饲料饮食 3 天,而后全量(30 g/天)饮食。75 只均为造模成功的大鼠。

4.2 动物分组及给药方法 设对照组(25 只),仅行开关腹手术外;将 75 只造模成功的大鼠按随机数字表法分为模型组、西药组及中药组,每组 25 只。于术后第 3 天,西药组给予西药混悬液(奥美拉唑胶囊+吗丁啉片+铝碳酸镁片),中药组给予(半夏泻心汤加减)汤剂灌胃。大鼠给药剂量:中药 15.7 g/kg,浓缩至 5 mL 汤剂;吗丁啉片(3.2 mg/kg)+奥美拉唑胶囊(4.3 mg/kg)+铝碳酸镁片 161.4(mg/kg),混合研碎配成 5 mL 溶液(中西药剂量按照《药理实验方法学》<sup>[6]</sup>,大鼠给药剂量相当于临床成人用量的 6.45 倍),1 次约 2.5 mL,1 天 2 次,共 14 天;同时对照组与模型组给予等量生理盐水灌胃。

5 观测指标及方法 实验第 7 天随机抽取对照组大鼠 13 只,模型组、西药组、中药组大鼠各 10 只,于实验第 14 天对各组剩余大鼠进行各项指标测定。

5.1 一般情况 观察大鼠的被毛、活动、精神状态、食量、大便性状、饮水量及体重等。

5.2 食管下端 pH 值测定 大鼠被(麻醉方法同前)剖腹,将 pH 值自动记录仪 pH 电极放置于胃食管交界点以上 1 cm 食管黏膜处,1 min 后读取并记录 pH 值。

5.3 食管黏膜大体标本观察 麻醉后大鼠测 pH 值后处死,取下食管并纵行剖开,应用生理盐水清洗食

管,肉眼观察大体表现并进行分级:0 级(正常),可有组织学改变,积分 0 分;I 级(轻度),点状或条状发红、糜烂,无融合现象,积分 1 分;II 级(中度),有条状发红、糜烂,并有融合,但非全周性,积分 2 分;III 级(重度)病变广泛,发红、糜烂融合呈全周性,或有溃疡,积分 3 分。肉眼表现采用 1999 年 12 月中华医学会消化内镜学会颁布反流性食管炎诊断标准<sup>[7]</sup>。

5.4 食管黏膜病理学观察 观察食管黏膜大体标本后,自食管下端截取 2 cm 食管,纵行剖开,生理盐水清洗。然后 10% 福尔马林中固定,石蜡包埋,常规苏木精-伊红(HE)染色及光镜观察。

5.5 食管黏膜上皮细胞间隙 将如上病理切片置于光镜观察并采集图像,采用 RAS9000 病理图像分析系统测量细胞间隙宽度,光镜测量时,选取基底上层或棘层的细胞核居中、核仁明显的细胞,采用盲法对每例切片随机选择 10 个不同位置取 10 张照片,每张测量 10 个细胞间隙,计算测量得到的 100 个细胞间隙平均值,然后计算平均值。

6 统计学方法 以 SPSS 11.5 统计软件包进行数据处理。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,计数资料用率(%)表示。本组前后比较运用 t 检验,组间差异用方差分析及 q 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

1 各组大鼠一般情况 对照组大鼠被毛紧密贴身,色白光泽,两眼有神,活动敏捷,食量较多,大便呈颗粒状;单纯模型组均有不同程度的行动迟缓、精神减弱、对外界刺激淡漠、被毛松散、毛色光泽减弱、饮水量及食量下降,体重下降等,多数大鼠嘴边可见反流物流出,可出现便溏及拉尾现象。造模大鼠治疗 7 天内死亡 8 只(其中模型组 4 只,西药组 2 只,中药组 2 只),8~14 天内死亡 3 只(其中模型组 2 只,西药组 1 只),死亡原因主要有幽门梗阻、食管重度糜烂伴出血及窒息等。对照组恢复最快,其次是中药组和西药组,模型组恢复不满意。

2 各组大鼠食管下端 pH 值比较(表 1) 与本组治疗第 7 天比较,西药组和中药组在第 14 天大鼠食管下段 pH 值均升高,差异有统计学意义(P < 0.01)。与对照组同期比较,模型组大鼠不同阶段食管下段 pH 值均降低,差异有统计学意义(P < 0.01)。与模型组同期比较,中药组和西药组第 7、14 天大鼠不同阶段食管下段 pH 值均升高,差异有统计学意义(P < 0.01)。与西药组同期比较,中药组第 7 天大鼠食管下段 pH 值降低,差异有统计学意义(P < 0.05)。

表 1 各组不同时期食管下段 pH 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	n	pH 值
对照	第 7 天	13	6.11 ± 0.20
	第 14 天	12	6.12 ± 0.21
模型	第 7 天	10	2.12 ± 0.31 <sup>△</sup>
	第 14 天	9	2.39 ± 0.29 <sup>△</sup>
西药	第 7 天	10	4.95 ± 0.42 <sup>▲</sup>
	第 14 天	12	5.97 ± 0.35 <sup>*▲</sup>
中药	第 7 天	10	4.54 ± 0.39 <sup>▲○</sup>
	第 14 天	13	5.71 ± 0.37 <sup>*▲</sup>

注:与本组第 7 天比较, \* P<0.01; 与对照组同期比较, △ P<0.01; 与模型组同期比较, ▲ P<0.01; 与西药组同期比较, ○ P<0.05; 下表同

3 各组大鼠食管黏膜大体标本观察分级情况及评分比较(表 2,图 1) 大体标本观察:对照组食管黏膜光滑、完整,呈白色,无异常现象。模型组食管黏膜病变广泛,点片状充血,粗糙,糜烂,严重者有溃疡现象出现,部分有增生白斑,治疗后第 14 天病损黏膜较前好转,且造膜后病变极期在第 7 天以内,治疗后第 14 天病损黏膜逐渐好转,有所恢复。西药组与中药组治疗后第 7 天黏膜粗糙,可见点片状充血,偶有溃疡形成;治疗后第 14 天两组黏膜较为光滑,充血现象较轻,未见糜烂及溃疡,少数黏膜光滑、完整。

各组大鼠不同阶段食管黏膜肉眼积分情况:与本组治疗第 7 天比较,中药组和西药组第 14 天大鼠食管黏膜肉眼积分均降低,差异有统计学意义(P<0.01)。与对照组同期天比较,模型组大鼠不同阶段食管黏膜肉眼积分均升高,差异有统计学意义(P<0.01)。与模型组同期比较,中药组和西药组第 7、14 天大鼠不同阶段食管黏膜肉眼积分均降低,差异有统计

学意义(P<0.01)。与西药组同期比较,中药组第 14 天大鼠食管黏膜肉眼积分降低,差异有统计学意义(P<0.05)。

表 2 各组不同时期食管黏膜肉眼分级及积分比较

组别	时间	n	食管黏膜肉眼分级情况 (n)				积分(分, $\bar{x} \pm s$ )
			0 级	I 级	II 级	III 级	
对照	第 7 天	13	13	0	0	0	0.00 ± 0.00
	第 14 天	12	12	0	0	0	0.00 ± 0.00
模型	第 7 天	10	0	1	5	4	2.46 ± 0.54 <sup>△</sup>
	第 14 天	9	0	2	7	0	1.98 ± 0.31 <sup>△</sup>
西药	第 7 天	10	7	2	1	0	1.75 ± 0.38 <sup>▲</sup>
	第 14 天	12	10	2	0	0	0.69 ± 0.21 <sup>*▲</sup>
中药	第 7 天	10	8	1	1	0	1.69 ± 0.35 <sup>▲</sup>
	第 14 天	13	12	1	0	0	0.49 ± 0.19 <sup>*▲○</sup>

4 各组大鼠食管病理学变化(图 2) 对照组食管下段黏膜病理组织学偶见上皮细胞层内炎性细胞浸润,余未见异常。模型组可见鳞状上皮细胞水肿,基底层细胞增生;鳞状上皮的黏膜固有层乳头伸长上延至上皮表层下;固有层水肿,可见较多嗜中性粒细胞浸润,部分可见黏膜糜烂或溃疡形成;以上改变以食管下段为重,向上逐渐减轻。造膜后病变极期在第 7 天以内,治疗后第 14 天病损黏膜逐渐好转,有所恢复。西药组与中药组治疗后第 7 天食管黏膜病理组织学可见鳞状上皮细胞水肿,基底层细胞增生;治疗后第 14 天多数标本鳞状上皮细胞略水肿,黏膜尚完整,未见明显糜烂、溃疡等病变;固有膜乳头缩短,小于上皮厚度的 2/3;固有膜内可见少许慢性炎细胞浸润。少数标本仅上皮细胞层内偶见炎性细胞浸润。



注: A 为对照组第 7 天; B 为对照组第 14 天; C 为模型组第 7 天; D 为模型组第 14 天; E 为西药组第 7 天; F 为西药组第 14 天; G 为中药组第 7 天; H 为中药组第 14 天; 箭头指示为黏膜充血情况

图 1 各组大鼠食管黏膜大体标本肉眼观察

5 各组大鼠食管黏膜上皮细胞间隙值比较 (表 3, 图 3) 与本组治疗第 7 天比较, 中药组和西药组第 14 天大鼠食管黏膜上皮平均细胞间隙降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与对照组同期比较, 模型组大鼠不同阶段食管黏膜上皮平均细胞间隙均升

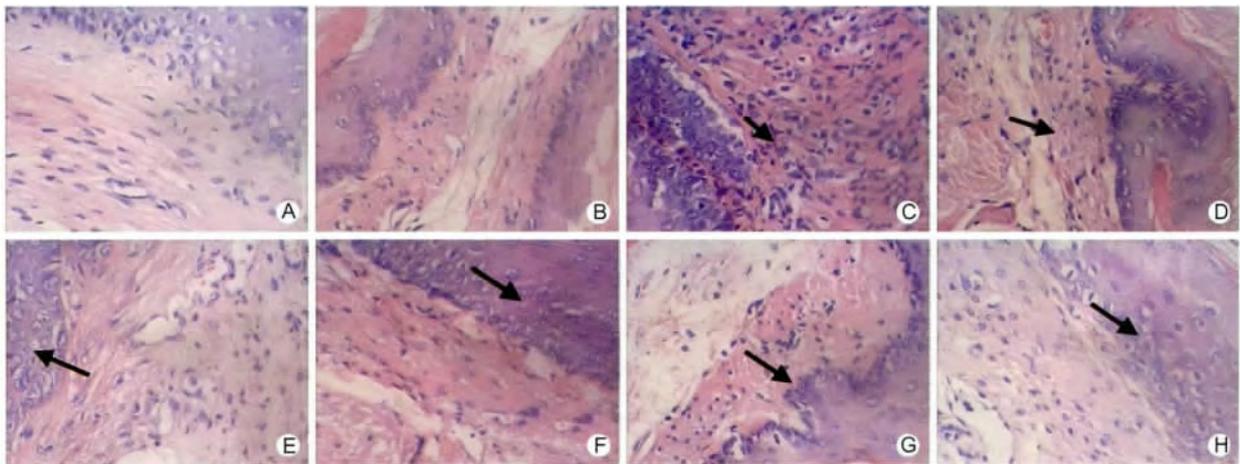
高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。与模型组同期比较, 中药组和西药组第 14 天大鼠食管黏膜上皮平均细胞间隙均降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。与西药组同期比较, 中药组第 14 天大鼠食管黏膜上皮平均细胞间隙降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 3 各组不同时期食管黏膜上皮细胞间隙值比较 ( $\mu\text{m}, \bar{x} \pm s$ )

组别	时间	n	上皮细胞间隙
对照	第 7 天	13	$0.45 \pm 0.15$
	第 14 天	12	$0.43 \pm 0.11$
模型	第 7 天	10	$1.45 \pm 0.31^{\Delta}$
	第 14 天	9	$1.38 \pm 0.28^{\Delta}$
西药	第 7 天	10	$1.33 \pm 0.34$
	第 14 天	12	$1.05 \pm 0.29^{*\Delta}$
中药	第 7 天	10	$1.15 \pm 0.27$
	第 14 天	13	$0.84 \pm 0.26^{*\Delta\circ}$

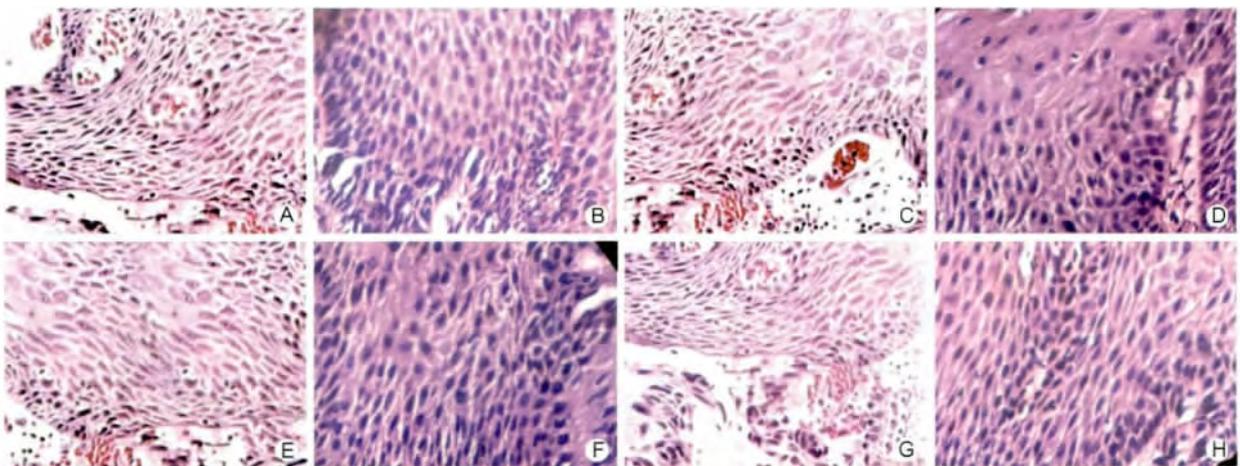
### 讨 论

RE 是消化系统常见疾病, 近年有逐渐增多趋势。其临床表现复杂多样, 且有反复发作的特点, 病程长迁延, 难以治愈, 出现合并症的重度患者, 食管腺癌的发生风险明显增加, 从而严重影响患者的生活质量及生命安全。西医治疗目前主要是对症, 靶点单一, 且需长期联合维持用药, 因药物不良反应较大及药费较高, 患者依从性差, 难以完成必要的疗程, 停药后易复发<sup>[7]</sup>。



注: A 为对照组第 7 天; B 为对照组第 14 天; C 为模型组第 7 天; D 为模型组第 14 天; E 为西药组第 7 天; F 为西药组第 14 天; G 为中药组第 7 天; H 为中药组第 14 天; 箭头指示为炎性细胞浸润及鳞状上皮细胞水肿

图 2 光镜下各组大鼠食管下段黏膜病理(HE 染色,  $\times 400$ )



注: A 为对照组第 7 天; B 为对照组第 14 天; C 为模型组第 7 天; D 为模型组第 14 天; E 为西药组第 7 天; F 为西药组第 14 天; G 为中药组第 7 天; H 为中药组第 14 天

图 3 光镜下大鼠食管黏膜上皮细胞间隙(HE 染色,  $\times 400$ )

目前尚没有针对 RE 发病机制,兼具疗效好、低复发率、低不良反应、低花费的西药。中医依据患者的证候,进行辨证论治,因其具有临床疗效好、安全性高、花费少、复发率低的优势<sup>[8]</sup>,受到越来越多患者的青睐。目前中医药治疗 RE 越来越成为主流的治疗方法,而非西药的补充。

RE 发病机制复杂,至今尚未完全阐明。目前较公认的病因,主要由食管抗反流的防御机制下降和反流物对食管黏膜的攻击因子增强造成。包括:(1)动力障碍:食管下括约肌(lower esophageal sphincter,LES)功能障碍、一过性食管下括约肌松弛过度、食管清除功能下降、胃排空异常、Cajal 间质细胞数量减少和结构功能障碍等;(2)黏膜损伤:胃酸、胃蛋白酶、胆汁等攻击因子对食管黏膜的损害,使食管黏膜屏障受损(包括紧密连接受损、黏膜血供不足等);(3)其他:社会心理因素、食管内脏高敏感、遗传因素等。

上述因素中专家们学者们以往对 LES 动力障碍最为重视,研究的也较多。而近年来对 RE 黏膜损伤及修复机制的研究也成为热点问题,其中黏膜上皮屏障功能是热点中的重点。众所周知食管黏膜屏障包括上皮前屏障、上皮屏障和上皮后屏障。上皮前屏障包括表面黏液层、静水层和上皮细胞表面的碳酸氢根离子,其可中和反流的氢离子,防止氢离子与食管鳞状上皮细胞直接接触,但由于黏液和碳酸氢盐分泌腺体较少,其作用甚微。上皮保护屏障由多层鳞状上皮细胞膜及其细胞间紧密连接组成,紧密连接是可使紧靠在一起的邻近细胞形成环绕的物质屏障结构,具有细胞黏附、维持细胞极性和通透性、辅助传递调节细胞增殖分化的信号等作用。可防止氢离子进入细胞内,缓冲或清除透过的氢离子,并阻挡腔内有毒物质弥散到细胞和细胞间隙;细胞内的蛋白质、磷酸盐及碳酸氢根对上皮细胞酸暴露具有缓冲作用。上皮后屏障是指组织损伤后的修复能力。黏膜下毛细血管做为上皮后屏障,可带走上皮细胞毒性代谢产物,并给细胞间质提供碳酸氢盐以缓冲氢离子。研究表明,RE 患者无论有否伴有食管糜烂性炎症,均有食管黏膜细胞间隙增大<sup>[9]</sup>。Caviglia R 等<sup>[10]</sup>在电镜下观察到所有 RE 患者(包括酸暴露正常者和非正常者)的平均细胞间隙直径是正常对照组的 3 倍以上。Ribolsi M 等<sup>[11]</sup>观察到光镜下食管黏膜细胞间隙的诊断对于 RE 患者在食管远端的敏感度为 86%,中段为 45%,均说明光镜测量细胞间隙对于 RE 具有较好的诊断价值。崔荣丽等<sup>[9]</sup>研究认为光镜测量 RE 患者食管下段鳞状上皮细胞间隙可作为糜烂性食管炎及非糜烂性食管炎的一项辅助

检查。上述国内外研究均证实,食管上皮细胞的紧密连接是食管黏膜屏障功能的最重要的体现,也是黏膜修复功能的重要标志。而食管上皮细胞间隙大小直接反应了紧密连接的程度。

本实验研究显示,造模后大鼠食管黏膜组织损伤严重、上皮细胞间隙较正常对照组明显增宽,食管下段 pH 值明显降低,符合 RE 的典型表现。经中、西药物治疗后损伤黏膜逐渐修复,细胞间隙呈缩小趋势,pH 值有所回升;随着疗程的增加,中药组黏膜的修复作用无论从大体标本、组织病理学、紧密连接方面均更加明显,优于西药,说明中药具有强大的损伤黏膜的修复功能;对食管下段 pH 值的影响随疗程的增加,与西药相当,表明中药在增加下食管括约肌的压力、调节胃肠动力以及抑制胃酸方面均具有良好的作用。而本院特殊的中药层析制作技术,使该制剂黏稠,更易附着在食管黏膜表面,从而加强了黏膜屏障保护作用。

RE 应属中医学“吐酸”、“嘈杂”、“噎膈”、“胃痛”、“胃痞”、“胸痹”、“梅核气”、“胸痞”等范畴。本病因虚致实,因实致虚,慢性迁延病程,多有寒热错杂,虚实夹杂。故胃食管反流病的基本病机是寒热错杂、虚实夹杂、肝郁气滞,因此辛开苦降、寒热并治、和胃降逆为基本治则<sup>[12]</sup>。本实验以辛开苦降的代表方剂半夏泻心汤加减,方中清半夏为君,散结除痞,降逆止呕;臣以干姜温中散寒,黄芩、黄连泄热开痞;以上 4 药寒热平调,辛开苦降;郁金行气解郁,祛瘀止痛,本病多与情绪因素相关,故用郁金行气解郁;白及消肿生肌,收敛止血;丹参活血化瘀,香附疏肝理气,枳壳下气并辅佐丹参活血作用。全方寒热互用以和阴阳,苦辛并进以调升降,补泻兼施以顾虚实,则寒热得解,升降复常,痞满呕利自愈。

现代药理研究显示清半夏、黄芩、黄连、白及、丹参均<sup>[13-16]</sup>有不同程度的抑制胃酸分泌的作用,除此之外半夏的生物碱成分有通过抑制中枢而起到阻止消化道逆蠕动的作用,白及能刺激胃黏膜合成和释放内源性前列腺素而保护胃黏膜,丹参能扩张胃黏膜血管,促进损伤黏膜的修复。香附、枳壳可促进胃肠动力,增加胃及十二指肠排空能力等。半夏泻心汤全方配伍能促进胃肠蠕动,增强幽门括约肌张力,抑制胆汁反流,保护胃黏膜屏障,促进炎症及损伤黏膜的恢复<sup>[17]</sup>。本研究前期实验研究结果表明<sup>[18]</sup>,辛开苦降法可以明显提升功能性消化不良模型大鼠血浆胃动素水平、降低一氧化氮含量及胃体组织胃动素水平、一氧化氮合酶、Cajal 间质细胞和胃肠平滑肌细胞的表达。

本研究前期动物实验证实,辛开苦降法通过调节

RE 模型大鼠相关胃肠激素及神经递质水平(提升血浆胃泌素、胃动素、P 物质水平,降低血浆血管活性肽、一氧化氮水平)来增加下食管括约肌的压力、调节胃肠动力,加之其还可增加损伤黏膜的血流,促进黏膜修复,共同达到治疗 RE 的目的<sup>[1,2]</sup>。本实验在原有临床及动物实验的基础上,进一步发现辛开苦降法较强的黏膜修复机制:除了抑制胃酸、改善损伤黏膜的血流之外,还具有促进加强黏膜上皮细胞的紧密连接,提高食管黏膜屏障的重要功能。研究结果为本法治疗 RE,更好地服务于临床提供了科学依据。

#### 参 考 文 献

- [1] 赵迎盼,唐旭东,李振华,等. 我国中西医结合治疗胃食管反流病临床观察的文献分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(9): 860-864.
- [2] 孙晓红,牛然,魏玮,等. 辛开苦降法治疗胃食管反流病 60 例临床观察[J]. 环球中医药, 2013, 11(6): 76-77.
- [3] 唐艳萍,弓艳霞,李淑红,等. 复方白及糊对反流性食管炎模型大鼠食管黏膜的影响[J]. 中医杂志, 2011, 52(5): 1312-1321.
- [4] 唐艳萍,刘思邈,弓艳霞,等. 复方白及糊对反流性食管炎模型大鼠黏膜血流的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 19(5): 295-298.
- [5] 唐艳萍,弓艳霞,李淑红,等. 改良酸反流性食管炎动物模型建立及比较研究[J]. 中华消化杂志, 2011, 31(9): 632-633.
- [6] 徐淑云,卞如濂,陈修,等主编. 药理实验方法学[M]. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 178-180.
- [7] 宋宏伟,朱凌云. 难治性胃食管反流病诊断方法的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(19): 1742-1746.
- [8] 刘贤庶,朱迪. 中医药治疗胃食管反流病概况[J]. 湖南中医杂志, 2011, 27(5): 139-140.
- [9] 崔荣丽,周丽雅,林三仁,等. 光学显微镜测量胃食管反流病患者食管下段细胞间隙的临床价值[J]. 中华消化内镜杂志, 2011, 28(1): 1-4.
- [10] Caviglia R, Ribolsi M, Maggiano N, et al. Dilated intercellular spaces of esophageal epithelium in nonerosive reflux disease patients with physiological esophageal acid exposure[J]. Am J Gastroenterol, 2005, 100(3): 543-548.
- [11] Ribolsi M, Perrone G, Caviglia R, et al. Intercellular space diameters of the oesophageal epithelium in NERD patients: head to head comparison between light and electron microscopy analysis[J]. Dig Liver Dis, 2009, 41(1): 9-14.
- [12] 魏玮,郝建军. 辛开苦降法治疗脾胃病机制初探[J]. 北京中医药, 2010, 29(1): 41-42.
- [13] 姚军强. 半夏的药理作用及其临床配伍运用[J]. 中医研究, 2013, 26(2): 3-5.
- [14] 张胜,吴春福,陈立江,等. 半夏泻心汤药理研究最新进展[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7): 437-439.
- [15] 韩广轩,孙义华,罗晓静. 中药白及药理作用及临床应用进展[J]. 中国中药杂志, 2004, 22(4): 215-217.
- [16] 王曙东,周军. 丹参药理研究及临床应用概况[J]. 中医药信息, 2000, 2: 9-11.
- [17] 董恒. 反流性食管炎中医治疗近况[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(5): 190-191.
- [18] 王奕,郝建军,魏玮,等. 辛开苦降法对功能性消化不良大鼠胃舒缩活动的影响[J]. 中医杂志, 2010, 51(5): 450-452.

(收稿:2013-06-27 修回:2014-07-21)

欢 迎 投 稿      欢 迎 订 阅