

# 清胰解毒颗粒对重症急性胰腺炎模型大鼠内毒素、白细胞介素-6 的影响

安 丽<sup>1</sup> 曹国强<sup>2\*</sup> 宋亚芳<sup>3</sup> 张照兰<sup>4</sup>

(1. 首都医科大学附属北京朝阳医院, 北京市朝阳区工体南路 8 号, 100020;

2. 北京市通州区中西医结合骨伤医院; 3. 首都医科大学燕京医学院; 4. 河南中医学院第一附属医院)

\* 通讯作者: caoguoqiang1982@163.com, 15910225185

**[摘要]** 目的 探讨清胰解毒颗粒治疗重症急性胰腺炎(SAP)的可能机制。方法 48 只 SD 大鼠随机分对照组、模型组、低剂量组、高剂量组、奥曲肽+低剂量组、奥曲肽组, 每组各 8 只, 采用 L-盐酸精氨酸腹腔注射建立 SAP 大鼠模型。造模成功后对照组、模型组给予生理盐水 7.5 ml/kg 灌胃, 低剂量组、高剂量组分别给予清胰解毒颗粒 11.3、56.5 g/kg 灌胃, 奥曲肽组给予奥曲肽 0.5  $\mu$ g/100g 四肢部皮下注射, 奥曲肽+低剂量组给予清胰解毒颗粒低剂量灌胃和奥曲肽皮下注射。每 6 小时 1 次, 各组共给药 4 次后取胰腺组织进行病理学观察, 并测定各组大鼠血清内毒素、白介素-6(IL-6)水平。结果 对照组大鼠胰腺组织结构正常, 细胞结构完整。模型组大鼠的胰腺组织可见胰腺正常结构消失, 腺体呈片状坏死, 大量淋巴细胞和中性粒细胞浸润, 被膜下及间质水肿明显。奥曲肽组、奥曲肽+低剂量组、高剂量组、低剂量组大鼠胰腺小叶组织多为局灶或小片状坏死, 出血、坏死较轻。与对照组比较, 模型组大鼠血清内毒素及 IL-6 含量明显升高( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠血清内毒素及 IL-6 含量明显降低( $P<0.01$ ); 奥曲肽+低剂量组大鼠血清内毒素及 IL-6 含量较低剂量组、高剂量组和奥曲肽组降低明显( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。结论 清胰解毒颗粒治疗 SAP 机制可能为降低 SAP 模型大鼠 IL-6 和内毒素的水平, 从而减轻炎症损伤, 清胰解毒颗粒联合奥曲肽效果更好。

**[关键词]** 清胰解毒颗粒; 重症急性胰腺炎; 奥曲肽; 内毒素; 白细胞介素-6

Effects of Pancreas-Clearing Toxin-Resolving Granules on the Contents of Endotoxin and Interleukin-6 in Rat Models with Severe Acute Pancreatitis

AN Li<sup>1</sup>, CAO Guoqiang<sup>2</sup>, SONG Yafang<sup>3</sup>, ZHANG Zhaolan<sup>4</sup>

(1. Beijing Chao-Yang Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100020; 2. Integrative Orthopedics Hospital in Tongzhou District, Beijing; 3. Yanjing Medical School of Capital Medical University; 4. The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM)

**ABSTRACT Objective** To study the mechanism of Pancreas-Clearing Toxin-Resolving Granules on severe acute pancreatitis (SAP). **Methods** Forty-eighty SD rats were randomized into control group, model group, low-dose group, high-dose group, low-dose+Octreotide group and Octreotide group, with 8 in each. The SAP rat models were made with intraperitoneal injection of L-arginine hydrochloride. The control group and model group was gavaged with 7.5 ml/kg of normal saline respectively after modeling. Drug administration was applied once every six hours, and the low-dose group and high-dose group was gavaged with 11.3 g/kg and 56.5 g/kg of Pancreas-Clearing Toxin-Resolving Granules respectively. The Octreotide group was given a subcutaneous injection of 0.5  $\mu$ g/100g Octreotide into the four limbs. The low-dose+Octreotide group was gavaged with low-dose of Pancreas-Clearing Toxin-Resolving Granules and injected with Octreotide subcutaneously. Drug administration was applied once every six hours, and the pancreatic tissue was drawn for histopathological observation after four times of administration. The contents of endotoxin and interleukin-6 (IL-6) were detected. **Results** The pancreatic tissue structure was closely and the cell structure was completed in the control group. The normal structure of the pancreas was disappeared, the gland was necrosis, a large number of lymphocytes and neutrophils were infiltrative and subcapsular and interstitial was edema in the model group. The pancreatic lobules were focal necrosis or small necrosis in the low-dose group, high-dose group, low-dose+Octreotide group and Octreotide group. Comparing with the control group, the contents of endotoxin and IL-6 were significantly increased in the model group ( $P<0.01$ ). Comparing with the model group, the contents of endotoxin and IL-6 were significantly increased in the administrated groups ( $P<0.01$ ), especially in the low-dose+Octreotide group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **Conclusion** Pancreas-Clearing Toxin-Resolving Granules is effective for SAP by decreasing the contents of endotoxin and IL-6 and reducing the release of inflammatory mediators, with better effect as combined with Octreotide.

**Keywords** Pancreas-Clearing Toxin-Resolving Granules; severe acute pancreatitis; Octreotide; endotoxin; interleukin-6

重症急性胰腺炎(sever acute pancreatitis, SAP)指胰腺实质坏死, 血管损害引起水肿、出血和

血栓形成、脂肪坏死, 并伴随全身炎症反应综合征(SIRS)和多脏器功能衰竭。发病急, 病情凶险, 病

死亡率较高。清胰解毒颗粒是我们治疗 SAP 的经验方,本实验主要观察清胰解毒方对 SAP 模型大鼠内毒素、白细胞介素-6(IL-6)的影响,探讨其治疗 SAP 的可能机制。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

普通级 SD 大鼠 48 只,体重( $250 \pm 50$ )g,雌雄各半,购自郑州大学医学院动物实验中心,动物合格证号:0001743。

### 1.2 实验药品及试剂

清胰解毒颗粒(柴胡、大黄、厚朴、炒枳实、芒硝、黄芩、蒲公英),由河南中医学院第一附属医院中药房提供,每克颗粒剂相当于生药 3.68 g;醋酸奥曲肽注射液(北京星昊医药股份有限公司生产,规格:1 ml:0.1 mg,国药准字 H20052375)0.1 mg 溶于生理盐水中配成浓度为 0.02 g/ml 溶液;L-精氨酸(郑州奥瑞吉生物科技有限公司提供,批号:X19990071);浓 HCl(36.8%)、水合氯醛、生理盐水均由河南中医学院第一附属医院中心实验室提供;IL-6 放射免疫试剂盒(北京普尔伟业生物科技有限公司提供,批号:200807);大鼠酶免内毒素试剂盒(武汉新启迪生物科技有限公司提供,产品编号:ELA06948)。

### 1.3 主要实验仪器

KQ-50B 超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;GC-911r 放射免疫计数器:中国科技大学科技实业总公司生产;TDL-5-A 低速台式平衡离心机:上海安亭科学仪器厂;移液器:上海求精生化试剂仪器。

## 2 方法

### 2.1 模型复制

大鼠适应性喂养 1 周,采用随机数字表法分为对照组、模型组、低剂量组、高剂量组、奥曲肽+低剂量组、奥曲肽组,每组 8 只。造模前大鼠禁食 12 h,不禁水。采用文献[1]造模方法:灭菌生理盐水配置 20% L-盐酸精氨酸, pH 调至 7.0, L-盐酸精氨酸 3 g/kg 分 3 次腹腔注射,每次间隔时间为 1 h,3 h 后大鼠胰腺出现典型的出血坏死现象,即为造模成功,对照组腹腔注射同体积灭菌生理盐水。模型组死亡 2 只、奥曲肽组死亡 1 只,余各组无死亡。

### 2.2 给药方法

造模成功后,对照组、模型组、奥曲肽组给予生理盐水 7.5 ml/kg 灌胃,低剂量组给予清胰解毒颗粒 11.3 g/kg(成人等效剂量)灌胃,高剂量组给予

清胰解毒颗粒 56.5 g/kg(5 倍于低剂量)灌胃,各组造模成功后即给予第 1 次灌胃,每 6 小时 1 次。奥曲肽组给予奥曲肽 0.5  $\mu$ g/100g 于造模后大鼠四肢部皮下注射,每 6 小时 1 次。奥曲肽+低剂量组给予清胰解毒颗粒低剂量灌胃和奥曲肽皮下注射(方法同低剂量组和奥曲肽组)。对照组、模型组、高剂量组、低剂量组给予与奥曲肽同体积生理盐水皮下注射,每 6 小时 1 次,各干预组共给药 4 次,全部大鼠于术后 24 h 取材。

### 2.3 标本制备

腹主动脉取血于 37℃ 恒温水浴箱水浴 30 min,然后 2500 r/min 离心 30 min,取血清, -20℃ 保存。胰腺组织用 40 g/L 甲醛溶液固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察病理变化。

### 2.4 观察指标及方法

①一般情况观察:实验期间观察各组大鼠活动、皮毛、体重等情况。②组织病理学观察。③采用酶联免疫法测定血清内毒素水平,采用放射免疫法测定血清 IL-6 水平。

### 2.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行处理,计量数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐者采用 LSD 检验,方差不齐者采用 Dunnet's 分析。

## 3 结果

### 3.1 一般情况

对照组大鼠反应灵敏,皮毛光滑,体重逐渐增加,呼吸平稳,一般状况良好;模型组大鼠造模后行动迟缓,反应迟钝,目光呆滞,四肢蜷缩;各治疗组大鼠治疗后行动、反应较前改善,但目光呆滞、暗淡。

### 3.2 病理学观察

3.2.1 大体观察 对照组胰腺呈灰粉红色,分叶甚多,表面有薄层疏松结缔组织深入胰腺内将胰腺分隔为许多小叶,无胃潴留、腹水、肠壁水肿坏死。模型组大鼠胰腺组织明显充血水肿,颜色变暗,色泽加深,体积增大,并见多个暗褐色坏死灶,胰腺周围脂肪组织可见脂肪皂化斑,可见胃潴留、大量血性腹水、肠壁水肿坏死。低剂量组、高剂量组、奥曲肽+低剂量组、奥曲肽组大鼠胰腺组织大部分充血、水肿减轻,色泽较浅,坏死灶较少,胰腺周围脂肪组织的皂化斑出现较小,胃潴留、血性腹水、肠壁水肿坏死较轻,其中奥曲肽+低剂量组和奥曲肽组的疗效更明显。

3.2.2 组织病理观察 对照组大鼠胰腺组织结构紧密,细胞结构完整。模型组大鼠胰腺组织可见胰腺正常结构消失,腺体呈片状坏死,大量淋巴细胞和中性粒细胞浸润,被膜下及间质水肿明显。奥曲肽组、奥曲肽+低剂量组、高低剂量组、低剂量组大鼠胰腺小叶组织多为局灶或小片状坏死,出血、坏死较轻。

### 3.3 各组大鼠血清内毒素及 IL-6 水平比较

表 1 示,与对照组比较,模型组大鼠血清内毒素及 IL-6 水平明显升高( $P<0.01$ );与模型组比较,低剂量组、高剂量组、奥曲肽+低剂量组、奥曲肽组大鼠血清内毒素及 IL-6 水平明显降低( $P<0.01$ );奥曲肽+低剂量组大鼠血清内毒素及 IL-6 水平较低剂量组、高剂量组和奥曲肽组降低明显( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。

表 1 各组大鼠血清内毒素及 IL-6 水平的比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别       | 鼠数 | 内毒素(EU/ml)     | IL-6(pg/ml)      |
|----------|----|----------------|------------------|
| 对照组      | 8  | 0.029±0.004    | 11.378±3.151     |
| 模型组      | 6  | 0.495±0.059*   | 66.975±7.173*    |
| 低剂量组     | 8  | 0.281±0.017△   | 45.323±2.975△    |
| 高剂量组     | 8  | 0.246±0.020△▲  | 43.778±2.425△    |
| 奥曲肽+低剂量组 | 8  | 0.155±0.015△▲# | 29.342±3.274△▲#  |
| 奥曲肽组     | 7  | 0.230±0.138△▲● | 36.567±2.563△▲#● |

注:与对照组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,△ $P<0.01$ ;与低剂量组比较,▲ $P<0.05$ ,▲▲ $P<0.01$ ;与高剂量组比较,# $P<0.01$ ;与奥曲肽+低剂量组比较,● $P<0.01$

## 4 讨论

目前国内对肠源性内毒素血症中医研究尚属起步阶段,尤其针对 SAP 肠源性内毒素血症的研究更少,但普遍认为中医“毒”与西医的“内毒素”之间存在相关性,内毒素是中医热毒之邪的重要物质基础之一<sup>[2]</sup>。研究证实,内毒素是中性粒细胞和巨噬细胞趋化、移动、释放反应的强力刺激剂<sup>[3]</sup>。内毒素作用于单核巨噬细胞系统,使之释放大量细胞因子及炎症介质,当促炎介质占主导地位时,导致多脏器损伤,并可以表现为 SIRS,进而发生多脏衰。

中医学认为,SAP 的发生多由感受六淫之邪、饮食不节、情志失畅、胆石、虫积、创伤等因素引起肝胆不利、湿郁热结,或表现为肝郁气滞之证,或为肝胆湿热之证,或为胃肠热结之证。其传变极快,且气、湿、热结聚不散则酿生热毒,热毒炽盛又易导致血热妄行而致血瘀;热毒血瘀互结,肉腐血败而成脓。李运伦<sup>[4]</sup>认为“毒”是急性胰腺炎发生的基本病

机,血瘀是病机演变的必然,毒瘀互结是发病根本,与现代医学之氧自由基、细胞因子与炎症介质、微循环障碍等发病学说相吻合。我们据此提出解毒通瘀为急性胰腺炎的治疗大法,化瘀应贯彻治疗始终,通法是解毒通瘀法的高度概括,是治疗急性胰腺炎腹痛的重要法则。因此,解毒、通里、攻下、活血化瘀是本病的基本治则,清胰解毒汤具有通腑泻热、解毒活血、清热燥湿、祛邪扶正之功效。方中大黄为君通腑泻热,祛瘀通便,荡涤肠胃邪热积滞,芒硝咸寒泻热,软坚润燥通便,厚朴除满消胀,枳实苦辛破结,导滞消痞为臣以增加通腑泻热的功效。佐以黄芩清热燥湿、泻火解毒;蒲公英清热解毒、利湿,以达清热祛湿;柴胡疏肝理气、解肝胆郁热。

本研究表明,清胰解毒颗粒能够减轻 SAP 大鼠模型内毒素水平,低剂量组、高剂量组、奥曲肽组、奥曲肽+低剂量组均能降低大鼠模型内毒素水平,高剂量组与奥曲肽组相比差异无统计学意义( $P>0.05$ ),提示清胰解毒颗粒通过促进胃肠蠕动,改善肠功能及肠道血供,能有效清除内毒素。IL-6 是 SAP 病程中重要的细胞因子,可以作为促炎因子引起炎症反应的一系列连锁反应和放大效应,导致 SIRS 和多器官功能障碍综合征的发生。本实验中模型组 IL-6 水平明显高于对照组,经清胰解毒颗粒和奥曲肽干预后,大鼠血清 IL-6 水平均能显著降低,提示清胰解毒颗粒和奥曲肽均能降低大鼠模型 IL-6 水平,奥曲肽+低剂量组在降低 IL-6 水平方面效果更好( $P<0.01$ ),提示清胰解毒颗粒联合奥曲肽比单用奥曲肽疗效更好。清胰解毒颗粒治疗 SAP 机理可能为降低 SAP 模型大鼠 IL-6 和内毒素的水平,从而减轻炎症损伤。

## 参考文献

- [1] 赖铭裕,梁志海,唐国都,等.腹腔注射左旋精氨酸诱导急性坏死性胰腺炎大鼠模型[J].世界华人消化杂志,2006,14(22):2233-2236.
- [2] 邓文龙.中药的抗内毒素作用研究进展[J].中药药理与临床,1988,4(3):59-63.
- [3] Erwin PJ, Lewis H, Dolan S, et al. Lipopolysaccharide binding protein in acute pancreatitis[J]. Crit Care Med, 2000,28(1):104-109.
- [4] 李运伦.解毒通瘀法治疗急性胰腺炎机制探讨[J].山东中医杂志,2002,21(6):323-325.

(收稿日期:2012-08-16;修回日期:2012-10-21) <http://www.cnki.net>

[编辑:邓媛]