

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.11.003

贵州苗族腌汤对急性肝衰竭大鼠肠道屏障功能保护作用的研究*

蒋兴华, 吴亚云[△], 程明亮

(贵州医科大学附属医院感染科, 贵阳 550004)

[摘要] **目的** 探讨苗族腌汤对急性肝衰竭大鼠肠道屏障功能的保护作用, 以期为肝衰竭患者提供有效的食疗措施。**方法** 雄性 SD 大鼠 50 只分为 5 组, 正常对照组(A 组)、急性肝衰竭模型组(B 组)、双歧杆菌三联活菌组(C 组)、腌汤高剂量组(D 组)、腌汤低剂量组(E 组), 每组 10 只。B 组、C 组、D 组、E 组大鼠用硫代乙酰胺(TAA)皮下 2 次注射, 制备大鼠急性肝衰竭模型。C 组、D 组、E 组大鼠在肝衰竭造模前和期间分别予双歧杆菌三联活菌、腌汤 6 mL(高剂量)、腌汤 1.5 mL(低剂量)灌胃。于第 2 次注射 TAA 后 28 h 抽取股动脉血分别检测血清内毒素(ETX)、二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-Lac)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST); 取肝组织及距回盲部 3 cm 回肠组织行病理学检测。**结果** B 组肝细胞索排列紊乱, 肝小叶结构破坏, 肝细胞呈灶状坏死及大片坏死, 坏死区大量炎性细胞浸润; 各干预组与 B 组肝脏病理学损伤程度相当。A 组回肠黏膜形态完整, 绒毛结构清晰, 排列整齐; B 组回肠黏膜结构紊乱, 绒毛稀疏, 上皮细胞不同程度脱落、缺失、坏死, 固有层明显充血, 大量炎性细胞浸润; 各干预组肠黏膜损伤较 B 组轻。B 组及各干预组大鼠血清 ETX、D-Lac、DAO、ALT、AST 水平均明显高于 A 组, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与 B 组比较, 各干预组大鼠血清 ETX、D-Lac、DAO、ALT、AST 水平均不同程度降低, C 组、D 组差异有统计学意义($P < 0.01$), E 组差异无统计学意义($P > 0.05$); 与 C 组比较, D 组差异无统计学意义($P > 0.05$), E 组的差异有统计学意义($P < 0.05$); 与 D 组比较, E 组差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 苗族腌汤能通过保护肝衰竭大鼠肠黏膜屏障, 减少肝衰竭大鼠血清 ETX 的生成或释放, 减轻肠源性内毒素血症(IETM), 似可防治由 IETM 导致的继发性肝损伤, 对肝衰竭有一定的食疗作用。

[关键词] 大鼠; 腌汤; 急性肝衰竭; 肠道屏障; 肠源性内毒素血症**[中图分类号]** R459.3**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)11-1448-05

The ǎn soup of Miao nationality in Guizhou province improving intestinal barrier function in the acute liver failure rats*

Jiang Xinghua, Wu Yayun[△], Cheng Mingliang

(Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect of ǎn soup of Miao nationality on the intestinal barrier function in rats with acute liver failure, in order to provide effective diet measures for hepatic failure patients. **Methods** A total of 50 male SD rats were randomly assigned to five groups: control group(group A), acute liver failure model group(group B), Bifidobacterium triple probiotics group(group C), high-dose ǎn soup group(group D) and low-dose ǎn soup group(E), 10 cases in each group. The last four groups were subjected to the acute liver failure model by hypodermic injection with thioacetamide twice. In addition, the last three groups were respectively intragastrically perfused with Bifidobacterium triple probiotics, 6 mL of ǎn soup and 1.5 mL of ǎn soup before and during building the acute liver failure model. 28 hours after the second injection, femoral arterial blood to was drew to test serum endotoxin(ETX), diamine oxidase(DAO), D(-)-lactate(D-lac), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase(AST). At the same time, hepatic tissue and ileal tissue within 3 cm away from the ileocecal region were collected to do pathological examination. **Results** Pathological examination results showed that hepatic cord in hepar arranged mussily, hepatic lobules structure disordered, hepatocyte focal necrosis or with large necrotic areas in which a large number of inflammatory cell infiltration in the acute liver failure model group. The pathology damage of liver in the other groups was almost in the same extent. The ileum mucosa in the group A was morphologically intact with clear structure of villi and lined up, while that of group B was disorder with sparse villi, epithelial cells in different degree of loss, missing and necrosis, lamina propria obviously hyperemia and there were large amount of inflammatory cellular infiltration. Intestinal mucosa injury in the other intervention groups was lighter than that in the group B. In particular, levels of serum ETX, D-Lac, DAO, ALT and AST in the group B and other intervention groups were significantly higher than that in the group A($P < 0.01$). Compared to the group B, levels of serum ETX, D-lac, DAO, ALT and AST in other intervention groups were decreased to various degrees, and there was significant difference between group B, group C and group D($P < 0.01$), and there was no significant difference between group B and group E ($P > 0.05$). However, there was no significant difference between group C and group D ($P > 0.05$), when obvious difference was observed between group C and group E($P < 0.05$). There was significant difference between group E and rroup D ($P < 0.05$). **Conclusion** Results demonstrated that ǎn soup protected intestinal barrier function of acute liver failure rats by reducing the production and release of serum endotoxin content in liver failure rats, lowering intestinal endotoxemia (IETM), which seems to prevent subsequent liver injury caused by IETM and have certain dietotherapy effect on liver failure.

[Key words] rats; ǎn soup; acute liver failure; intestinal barrier; intestinal endotoxemia

肝脏在受到各种原发致病因素(如肝炎病毒、乙醇、药物、毒物、脂肪堆积、自身免疫等)损伤后继发的肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM)与肝病发展和转归紧密相关及相互作用已被广泛重视并证实^[1]。实验证明,在急性肝炎模型中切除大鼠结肠减少 IETM,通过药物抑制 Kupffer 细胞及应用抗内毒素(endotoxin, ETX)抗体可明显减轻肝毒物所致的肝损伤^[2]。多项研究表明,双歧杆菌三联活菌等微生态制剂可明显降低血浆 ETX 水平,减轻 IETM,抑制炎症因子 IL-1、IL-6、TNF- α 等的释放,减轻免疫反应对肝细胞的损伤,从而改善肝硬化、肝衰竭患者的临床症状和肝功能^[3-5]。本研究团队在对贵州黔东南苗族地区初步调查了解到,当地老百姓多数嗜酒,而其酒精性肝硬化发病者却极少。进一步了解获知,该地百姓在饮酒时喜欢用自制的腌(ān)汤泡菜下酒,酒后喜欢喝腌汤,平时也特别喜爱腌汤及腌汤泡菜,推测腌汤可能有保护酒精性肝损伤作用。本研究以贵州苗族腌汤与目前常用微生态制剂双歧杆菌三联活菌胶囊干预大鼠,使用硫代乙酰胺(TAA)制作大鼠肝衰竭模型,测定血清 ETX、二胺氧化酶(Diamine oxidase, DAO)、D-乳酸[D(-)-lactate, D-Lac]、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST),观察腌汤对肝衰竭大鼠肠道屏障功能及肝功能有无保护作用。

1 材料与方

1.1 材料 无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级雄性 SD 大鼠 50 只,体质量为 220~250 g;动物来源:贵州医科大学实验动物中心;清洁级动物房,动物房使用许可证号:SYXK(黔)2002-0001; SPF 级鼠饲料,饲料生产许可证号:SCXK(渝)2007-0006。双歧杆菌三联活菌肠溶胶囊(商品名:贝飞达,210 mg/粒;晋城海斯制药;批准文号:国药准字 S19993065)。贵州苗族腌汤,取自贵州省黔东南苗族侗族自治州农户家,通过细菌培养活菌计数,测得其总菌数为 2.16×10^6 cfu/mL,乳酸菌活菌数为 1.68×10^6 cfu/mL。TAA 购自成都市科龙化工试剂厂。大鼠 DAO 试剂盒、D-Lac ELISA 试剂盒购自上海新睿生物科技有限公司,大鼠 ETX 酶联免疫检测试剂盒购自上海生物化学研究所。

1.2 方法

1.2.1 分组、给药及模型建立 将 50 只雄性 SD 大鼠分成正常对照组(A 组)、急性肝衰竭模型组(B 组)、双歧杆菌三联活菌组(C 组)、腌汤高剂量组(D 组)、腌汤低剂量组(E 组),每组 10 只。适应性喂养 3 d 后,C 组、D 组、E 组分别予双歧杆菌三联活菌胶囊(生理盐水配制,6 mL/只,10.5 mg/mL,每日 1 次)、腌汤高剂量(腌汤 6 mL/只,每日 1 次)、腌汤低剂量[(腌汤 1.5 mL+生理盐水 4.5 mL)/只,每日 1 次]灌胃,连续 9 d; A 组、B 组则用同等容积的生理盐水灌胃,每日 1 次,连续 9 d。参照 Zimmermann 等^[6]的造模方法,于实验第 8 天,除 A 组外,其他 4 组用 TAA(生理盐水配制)每次 300 mg/kg 皮下注射 2 次(0 h、24 h)造模,建立大鼠急性肝衰竭模型;A 组用同等量的生理盐水皮下注射。造模前各组大鼠禁食不禁水 12 h,余时间大鼠均自由进食进水。并且通过预实验、病理切片揭示此造模方法成功。

1.2.2 标本收集 于第 2 次注射 TAA 后 28 h,用苯巴比妥钠注射液 50 mg/kg 腹腔注射麻醉。ETX 检测标本:在无菌操作下,无热原注射器抽取股动脉血 1 mL 注入无热原抗凝管,2 000 r/min 离心 10 min 后-80 °C 冰箱保存待测。DAO 和 D-Lac 检测标本:抽取股动脉血 2 mL,2 000 r/min 离心 10 min

后-80 °C 冰箱保存待测。上腹正中切口解剖大鼠,取一叶肝组织及距回盲部 3 cm 回肠组织 5 cm 分别放入 10% 甲醛溶液固定。处死实验大鼠。

1.2.3 检测指标 (1)ETX 检测:采用酶联免疫法测定,本实验中所有与血样接触的离心管、吸头、稀释用水等物品均予去热原处理,严格按照试剂盒说明操作。(2)血清 DAO 及 D-Lac:均通过分光光度法测血清 DAO 及 D-Lac 水平,严格按照试剂盒说明操作。(3)大鼠血清 ALT 及 AST 测定:采用 Siemens Advia 1650 全自动生化分析仪,由贵州医科大学附属医院生化科严格按试剂盒要求测定。(4)肝组织及肠组织病理学观察:取 10% 甲醛溶液固定的肝组织及回肠组织,石蜡包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色,光镜下对其进行病理学形态观察。

1.3 统计学处理 所有数据均用 SPSS19.0 统计软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,分析前行方差齐性检验,多组间比较满足正态性分布和方差齐时采用单因素方差分析(ANOVA),方差不齐时用 Dunnett T3 法;两两比较采用 LSD 法进行比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况观察 各组大鼠在收集标本处死前全部存活,无死亡。A 组大鼠饮食、活动量均正常。B 组和各干预组大鼠在 TAA 第 1 次注射后,多数出现毛蓬松,不光洁,饮食、活动量减少,精神萎靡、反应减退。第 2 次注射 TAA 后,上述症状进一步加重,多数大鼠出现步态不稳、神志恍惚、嗜睡、对刺激反应差、黑便、尿黄等症状,部分大鼠出现口鼻、注射部位出血、昏睡表现。

表 1 各组大鼠血清 ETX、D-Lac、DAO 检测结果($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 血清 ETX(EU/mL) | D-Lac(mg/L) | DAO(U/mL) |
|-----|----|---------------|--------------|--------------|
| A 组 | 10 | 0.48±0.09 | 0.53±0.11 | 0.62±0.15 |
| B 组 | 10 | 1.60±0.19* | 11.76±5.28* | 1.58±0.29* |
| C 组 | 10 | 1.12±0.13*△ | 5.12±1.15*△ | 1.05±0.18*△ |
| D 组 | 10 | 1.18±0.21*△ | 6.29±2.23*△ | 1.15±0.21*△ |
| E 组 | 10 | 1.49±0.36*▲○ | 9.61±3.31*▲□ | 1.38±0.26*▲□ |
| F | | 40.775 | 20.712 | 26.352 |
| P | | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

*: $P < 0.01$,与 A 组比较;△: $P < 0.01$,与 B 组比较;▲: $P < 0.01$,与 C 组比较;□: $P < 0.05$,与 D 组比较;○: $P < 0.01$,与 D 组比较。

表 2 各组大鼠血清转氨酶水平的比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | ALT (U/L) | AST(U/L) |
|-----|----|--------------------|----------------------|
| A 组 | 10 | 64.59±11.58 | 120.06±10.38 |
| B 组 | 10 | 2 282.36±911.61* | 5 280.29±2 396.45* |
| C 组 | 10 | 1 196.28±445.38*△ | 3 120.47±1 043.69*△ |
| D 组 | 10 | 1 218.57±409.62*△ | 3 045.23±1 185.62*△ |
| E 组 | 10 | 2 008.58±787.54*▲○ | 4 908.59±2 149.74*▲□ |
| F | | 20.604 | 16.290 |
| P | | <0.01 | <0.01 |

*: $P < 0.01$,与 A 组比较;△: $P < 0.01$,与 B 组比较;▲: $P < 0.01$,与 C 组比较;□: $P < 0.05$,与 D 组比较;○: $P < 0.01$,与 D 组比较。

2.2 大鼠肝脏病理组织学变化 A 组:肝被膜正常,肝细胞未

见变性及坏死,肝组织小叶结构完整、清晰,以中央静脉为中心,肝细胞索呈放射状整齐排列,肝门管区结构正常,无炎性细胞浸润。B组:肝被膜轻度凹凸不平,肝细胞索排列紊乱,肝小叶结构破坏,肝细胞呈灶状坏死及大片坏死,坏死区大量炎性细胞浸润。各干预组与B组肝脏病理学损伤程度相当,无法区别比较,见图1。

2.3 大鼠回肠黏膜组织形态学变化 A组可见回肠黏膜形态完整,绒毛结构清晰,排列整齐;B组回肠黏膜结构紊乱,绒毛稀疏,上皮细胞不同程度脱落、缺失、坏死,固有层明显充血,大量炎性细胞浸润;各干预组肠黏膜损伤较B组轻,上皮细胞坏死、缺失、脱落、炎症细胞浸润较B组轻,见图2。

2.4 大鼠血清 ETX、D-Lac、DAO 比较 B组及各干预组大鼠血清 ETX、D-Lac、DAO 水平均明显高于 A 组,差异有统计学

意义($P < 0.01$)。与B组比较,各干预组大鼠 ETX、D-Lac、DAO 水平均不同程度降低,C组、D组差异均有统计学意义($P < 0.01$),E组差异无统计学意义($P > 0.05$)。与C组比较,D组差异无统计学意义($P > 0.05$),E组差异有统计学意义($P < 0.01$)。与D组比较,E组差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

2.5 大鼠血清转氨酶水平比较 B组及各干预组大鼠血清 ALT、AST 水平均明显高于 A 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与B组比较,各干预组大鼠转氨酶水平均不同程度降低,C组、D组差异有统计学意义($P < 0.01$),E组差异无统计学意义($P > 0.05$)。与C组比较,D组差异无统计学意义($P > 0.05$),E组差异有统计学意义($P < 0.05$)。与D组比较,E组差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

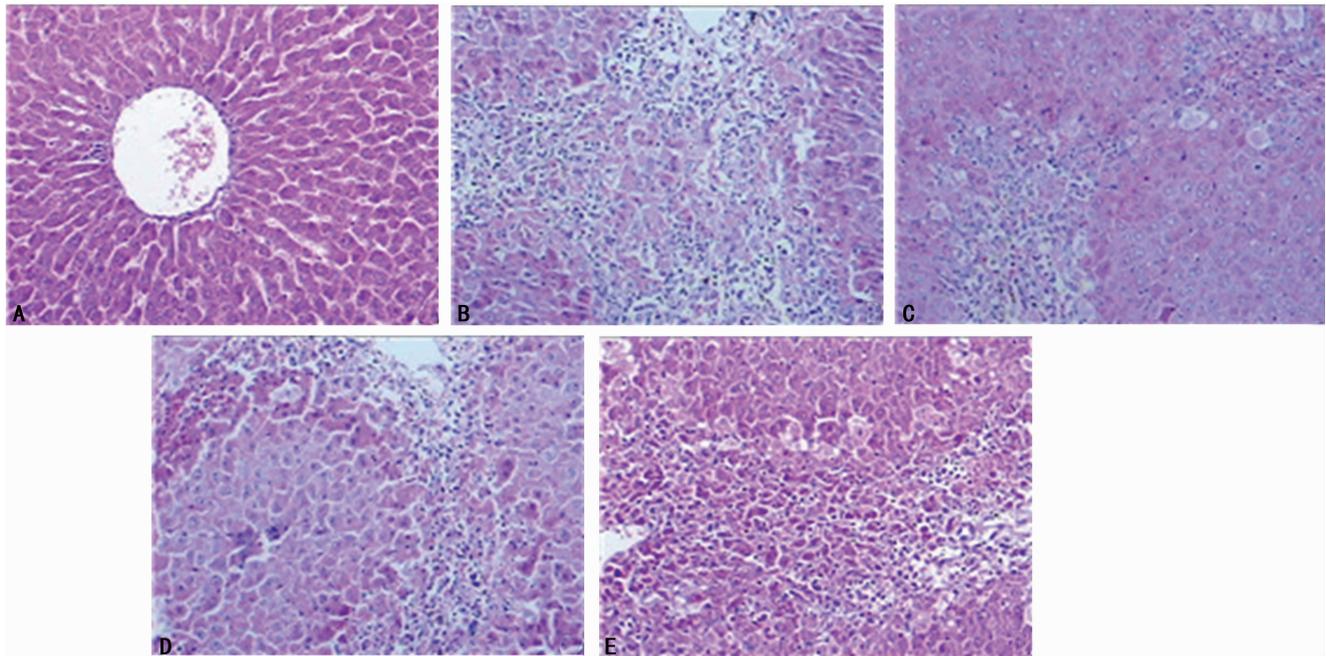


图1 各组大鼠肝脏组织学变化(HE×400)

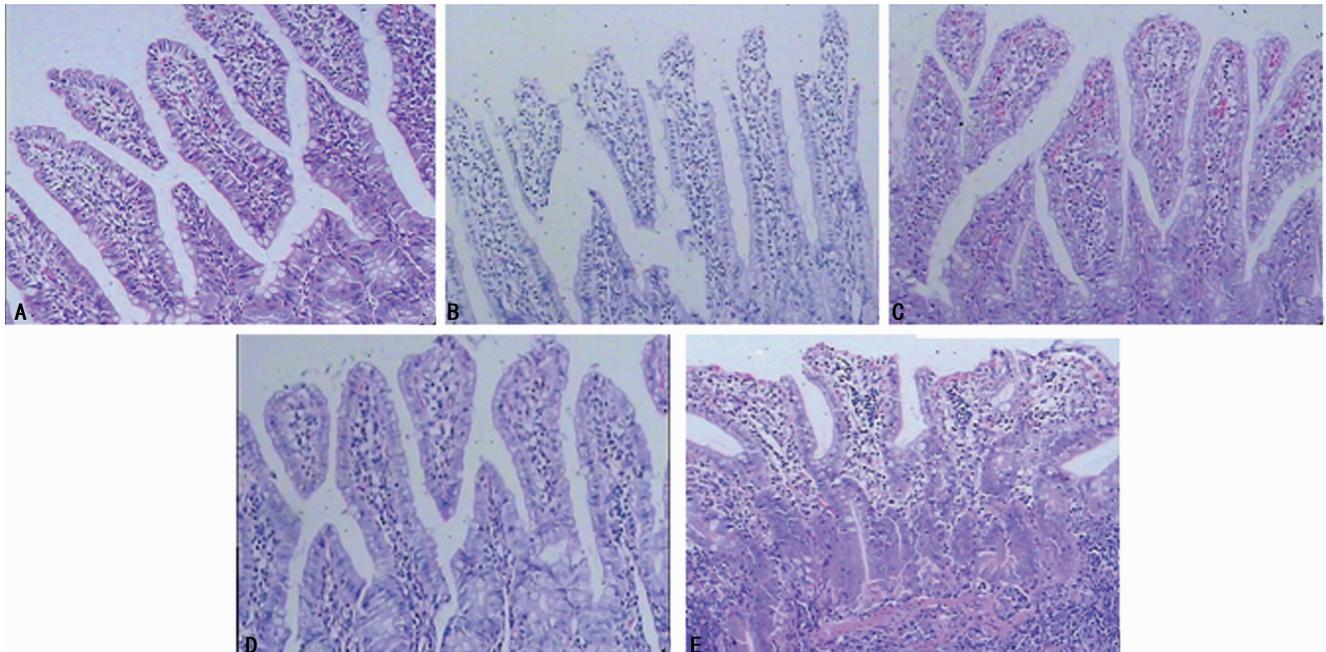


图2 各组大鼠肠组织学变化(HE×200)

3 讨 论

肝损害实验动物和临床肝病患者均存在不同程度的 IETM,以重型肝炎(肝衰竭)最为明显,国内报道急性、慢性肝炎、重型肝炎与肝硬化的 IETM 发生率分别为 75%、79%、93.3%和 84.3%^[2,7]。各种原发致病因素(如肝炎病毒、乙醇、药物、毒物、脂肪堆积、自身免疫等)通过相应的特异性发病机制引起“原发性肝损伤”(第 1 次打击),在此基础上发生 IETM,后者进一步促进 ETX 的吸收,IETM 通过 Kupffer 细胞-中性粒细胞-炎性介质引起“继发性肝损伤”(第 2 次打击)^[2]。IETM 的中心环节是肝病时肠屏障功能受损,大量细菌和 ETX 经由门静脉和淋巴系统直接侵入人体循环,若能有效控制或改善肠屏障功能受损,则可减轻 IETM,从而减轻肝脏的二次打击,有利于肝功能恢复。

健康人的肠道屏障主要包括机械屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障 4 部分^[8];任何一部分受损,均可导致肠道通透性增加,给 IETM 提供通道。肠道内微生物菌群构成一个对抗外来病原体的保护屏障——生物屏障,当这个微生态菌群的数量、稳定性遭到破坏后,肠道定植抵抗力随即降低,可导致肠道中潜在病原微生物(机会致病菌、条件致病菌)和过路菌的定植和入侵。

肠道细菌和 ETX 移位的发生可能与 4 个因素有关:(1)肠黏膜机械屏障受损,通透性增加;(2)肠道中固有菌群比例失调,生物屏障遭到破坏,且有侵袭性机会性致病菌过度生长;(3)机体全身和局部免疫功能下降;(4)肠黏膜受损导致消化液分泌减少,黏液分泌异常,化学屏障受损。因此,针对上述 4 个环节采取针对性措施,对防治肠道细菌及 ETX 移位可能有帮助。一般情况下,肠道菌群对其宿主的作用,以及肠道菌群彼此之间的相互作用均有着重要的生物学意义,宿主的许多生理功能、免疫功能的完善,以及生长、发育,都有赖于肠道菌群的辅助,肠道菌群之间的平衡是建立在相互拮抗又相互协同的基础上的。肠道菌群与肠黏膜通过黏附结合形成的生物屏障,可使机体免受多种致病菌的侵袭。补充外源性益生菌增加肠道益生菌数量,可增强肠道黏膜的生物屏障功能。

DAO 是人类和哺乳动物小肠黏膜上层绒毛中具有高度活性的细胞内酶^[9],在组胺和多种多胺代谢中起作用,是肠黏膜成熟和完整性的标志,其活性能够反映肠道机械屏障的完整性和受损伤程度^[10]。D-Lac 是细菌代谢和裂解的产物,肠道多种细菌均可产生,在正常情况下,极少存在于血液中,当肠黏膜通透性异常升高时,肠道细菌产生的大量 D-Lac 透过肠黏膜进入循环,肝脏不能代谢 D-Lac,检测其外周血水平即可反映肠黏膜通透性变化和损害程度^[11-12]。DAO 和 D-Lac 是反映肠道屏障功能的敏感指标。

近年来,微生态制剂在治疗肠道屏障功能障碍方面表现出了一定的优势,该类药物主要通过有效调整肠道菌群失调,抑制 G⁻杆菌过度繁殖,恢复肠道微生态环境,促进肠黏膜生长,调节肠道免疫,从而明显降低血清 ETX 水平。由于微生态制剂能促进有益菌的生长,抑制腐败菌的繁殖,降低肠道 pH,促进氨从肠道中排除,降低血氨的量,对肝衰竭患者肝性脑病的发生亦有一定的防治作用^[13-14]。本研究选用的双歧杆菌三联活菌,属于微生态制剂中的益生菌,是双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、肠球菌三联活菌制剂,多项研究证实能明显改善肝衰竭患者 IETM^[15-16],本研究结果同相关文献报道。贵州苗族腌汤是贵州黔东南苗族采用传统方式制作的一种富有地方风味和民族特色的原生态膳食用汤,历史悠久。腌,贵州黄平县方言读为

ān。腌汤因其腌制的方法特殊,腌制时间较长(有些家庭的腌汤长达百年之久),含有丰富的微生物菌群,其亚硝酸盐含量(5.577 mg/kg)也远低于一般泡菜的国家卫生标准(20 mg/kg)。有学者对贵州苗族腌汤中的微生物区系研究,发现其微生物菌群以乳酸菌含量最高,且多数乳酸菌能产抑制大肠杆菌等病原菌的物质如乳酸菌素。有研究对自然发酵的腌汤理化指标和微生物活菌数测定结果显示:发酵成熟的腌汤 pH 为 3.2,总酸为 1.0%,可溶性固形物含量为 5%,总糖为 2.6%,蛋白质为 0.1%,总菌数为 2.6×10^6 cfu/mL,乳酸菌活菌数为 2.0×10^6 cfu/mL。

微生态制剂减少肠道 ETX 的移位,若联合其他针对肝衰竭病因的治疗(如乙型肝炎患者抗 HBV 治疗、丙型肝炎患者抗 HCV 治疗等),能够避免“二次打击”和打断肝-肠轴病理变化的恶性循环。临床上,慢性肝炎、肝纤维化、肝硬化患者发展为肝衰竭的过程多数是缓慢的、渐进的;肝硬化、慢性肝衰竭患者加重为慢加急性肝衰竭也是逐渐发展的,如何有效控制病情发展一直是临床一大难题。临床常用微生态制剂如双歧杆菌三联活菌胶囊等属于药物,一般只有当患者病情重并发腹泻、消化不良、腹膜炎、肝衰竭等情况方可使用,其主要治疗现病,而慢性肝病患者的 ETX 移位和肝损伤持续存在,并且当感染已经出现时往往需要使用抗菌药物,微生态制剂中的微生物也难免被杀死,微生态制剂的作用有限。所以如果找到一种食物——该食物有微生态药物类似的前述减轻 IETM 作用,又简单易得,价格便宜,口感佳,有开胃消食的作用,又避免药物的不良反应和临床用药的尴尬,将是肝病患者的福音。

TAA 皮下注射是一种经典的制作动物肝衰竭模型的方法^[17]。本实验采用 TAA 皮下注射造模,模型组肝组织病理结果示肝细胞索排列紊乱,肝小叶结构破坏,肝细胞呈灶状坏死及大片坏死,坏死区大量炎性细胞浸润,血清 ETX 水平明显上升,提示造模成功。本研究显示,双歧杆菌三联活菌及腌汤均可降低肝衰竭大鼠血清 ETX、D-Lac、DAO 活性,减轻肠组织病理学损伤,说明二者对肝衰竭大鼠肠屏障功能具有一定的保护作用。双歧杆菌三联活菌组及腌汤高剂量组在降低血清 ETX、D-Lac、DAO 活性上均与模型组差异有统计学意义,两组间差异无统计学意义($P > 0.05$),提示腌汤和药用的微生态制剂一样可通过减少 ETX 的生成或释放,缓解 IETM,从而对肝脏损伤起到一定的防治作用。然而腌汤低剂量组与模型组相比对降低大鼠血清 ETX、D-Lac、DAO 活性差异均无统计学意义($P > 0.05$);腌汤低剂量组与腌汤高剂量组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),提示微生态制剂对肠黏膜屏障功能的保护在一定范围与剂量呈正相关,腌汤低剂量组效果没有腌汤高剂量组好。各干预组与模型组相比,肝脏病理学改变无明显差异,本文认为原因为:一方面微生态制剂使用时间短,作用有限;另一方面,微生态制剂主要减轻 IETM 对肝脏的二次打击,对原发性肝损伤无明显作用,而短期内 IETM 对肝脏的二次打击造成的肝损伤病理学改变有限,原发性肝损伤已经造成足够严重的肝脏病理学改变。但双歧杆菌三联活菌组及腌汤高剂量组与模型组相比,AST、ALT 差异有统计学意义($P < 0.05$),表明微生态制剂对肝功能有保护作用。

血清氨基转移酶简称转氨酶,是一组催化氨基酸与 α -酮酸之间的氨基转移反应的酶类,用于肝功能检查主要是 ALT 和 AST。ALT 主要分布在肝脏,其次是骨骼肌、肾脏、心肌等组织中;AST 主要分布在心肌,其次是肝脏、骨骼肌和肾脏等组织中。在肝细胞中,ALT 主要存在于非线粒体中,而大约 80%

的 AST 存在于线粒体内。ALT 与 AST 均为非特异性细胞内功能酶,正常时血清的含量很低,当肝细胞受损时,血清 ALT 与 AST 的酶活性升高,在中等度肝细胞损伤时,ALT 漏出率远大于 AST,因此 ALT 测定反映肝细胞损伤的灵敏度较 AST 为高。但在严重肝细胞损伤时,线粒体膜亦损伤,可导致线粒体内 AST 的释放,血清中 AST/ALT 比值升高。严重肝细胞损伤如肝衰竭时,可出现“酶胆分离”现象,即胆红素升高,而转氨酶反而降低,这是因为大量肝细胞坏死 ALT、AST 释放完后没有新的 ALT、AST 释放,经过一定时间代谢后血浆将其之前释放的清除,完全清除需要经过一定半衰期(一般为 5 个半衰期)。ALT 与 AST 的血浆半衰期不同文献报道结果不同,威仁铎^[18]报道 ALT 与 AST 的血浆半衰期分别为 151.2 h 和 48 h,万学红等^[19]报道分别为 47 h 和 17 h,陆张兵^[20]报道为 75.8 h 和 57.6 h。本研究在第 1 次给予 TAA 后 52 h、第 2 次给予 TAA 后 28 h 采集标本检测,按报道的 ALT 最短半衰期(47 h)只经过 1 个半衰期,AST 最短半衰期(17 h)只经过 3 个半衰期,均未达到一般药物、毒物经过 5 个半衰期清除的常规时间,且本研究大鼠转氨酶的对比研究均是在同时制作模型、同时采集标本等相同条件下进行,只要转氨酶还未完全恢复,转氨酶半衰期对观察对比无影响。本研究显示,双歧杆菌三联活菌及腌汤均可降低肝衰竭大鼠血清 ALT、AST 活性,表明二者对肝衰竭大鼠肝功能具有一定的保护作用。双歧杆菌三联活菌组及腌汤高剂量组在降低血清 ALT、AST 活性上与模型组差异有统计学意义,两组间差异无统计学意义($P>0.05$),提示腌汤和药用的微生态制剂一样可通过减少 ETX 的生成或释放,缓解 IETM,从而对肝脏损伤起到一定的防治作用。然而腌汤低剂量组与模型组相比对降低大鼠血清 ALT、AST 活性差异均无统计学意义($P>0.05$);腌汤低剂量组与腌汤高剂量组相比差异有统计学意义($P<0.05$),提示微生态制剂对肝功能的保护在一定范围与剂量呈正相关,腌汤低剂量组效果没有腌汤高剂量组好,与腌汤对肠黏膜屏障功能的保护作用结果相似。

临床肝病治疗中发现,采用特异性治疗方法针对病因治疗(如乙型肝炎患者抗乙型肝炎病毒,酒精性肝病患者戒酒、低脂饮食及控制体重等),对于肝炎肝损伤、肝纤维化、脂肪肝等一般肝病患者可以起到良好疗效,而对于肝硬化、肝衰竭患者,目前没有特效治疗方法,病死率高。本研究课题研究的苗族腌汤因其特殊的腌臭之味及富含以乳酸菌为主的微生态菌群^[18-19],能刺激患者恢复食欲和帮助消化。本研究证实,腌汤可以保护急性肝衰竭大鼠肠道屏障功能及肝功能,而对于慢性肝病患者长期食用是否可减轻 IETM 的发生,从而延缓或减轻肝衰竭发生,目前尚无人体试验数据,而且该食物中尚含有少量亚硝酸盐等有害成分,长期食用毒副作用问题尚需探讨,其确切疗效有待进一步研究。

参考文献

[1] Nolan JP. The role of intestinal endotoxin in liver injury: a long and evolving history[J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1829-1835.

[2] 韩德五. 肠源性内毒素血症是肝炎、肝病的危险因素[J]. *山西医科大学学报*, 2006, 37(1): 1-4.

[3] 潘小娟, 黄月霞. 双歧三联活菌胶囊对肝硬化患者血浆内毒素和炎症因子的影响[J]. *中国药物与临床*, 2011, 11

(9): 1056-1057.

[4] 陈钢, 廖江涛, 李清清. 双歧三联活菌对肝硬化患者肠道菌群、血浆内毒素及肝功能的影响[J]. *中国当代医药*, 2012, 19(6): 26-27, 29.

[5] 卢明芹, 郑宇, 陈永平, 等. 微生态制剂对重型肝炎患者血清细胞因子的影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 2008, 16(4): 283-285.

[6] Zimmermann C, Ferenci P, Piffel C, et al. Hepatic encephalopathy in thioacetamide-induced acute liver failure in rats: characterization of an improved model and study of amino acid-ergic neurotransmission [J]. *Hepatology*, 1989, 9(4): 594-601.

[7] 赵龙凤, 韩德五. 肝病患者内毒素血症的临床意义[J]. *世界华人消化杂志*, 1999, 7(5): 391-393.

[8] 海波, 王昆华. 肠屏障功能的破坏与防护[J]. *中国医药指南*, 2012, 10(4): 65-67.

[9] Cakmaz R, Büyükaök O, Kahramansoy N, et al. A combination of plasma DAO and citrulline levels as a potential marker for acute mesenteric ischemia[J]. *Libyan J Med*, 2013, 8(5): 1-6.

[10] Luk GD, Bayless TM, Oxidase BD. A circulating marker for rat intestinal mucosal maturation and integrity[J]. *J Clin Invest*, 1980, 66(1): 66-70.

[11] Vaquero J, Chung C, Blei AT. Brain edema in acute liver failure. A window to the pathogenesis of hepatic encephalopathy[J]. *Ann Hepatol*, 2003, 2(1): 12-22.

[12] 王洁, 何桂珍, 王玉康. 肠道屏障功能测定方法的相关性[J]. *中华临床营养杂志*, 2014, 22(4): 213-218.

[13] Mcgee RG, Bakens A, Wiley K, et al. Probiotics for patients with hepatic encephalopathy[J]. *Coch Data Syst Rev*, 2011, 9(11): CD008716.

[14] Foster KJ, Lin S, Turck CJ. Current and emerging strategies for treating hepatic encephalopathy[J]. *Crit Care Nurs Clin North Am*, 2010, 22(3): 341-350.

[15] Zhang W, Gu Y, Chen Y, et al. Intestinal flora imbalance results in altered bacterial translocation and liver function in rats with experimental cirrhosis[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 22(12): 1481-1486.

[16] 黄培宇, 邓有辉. 微生态制剂对慢性肝衰竭患者肠道菌群、血浆内毒素及细胞因子的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(18): 3798-3800.

[17] 郝彦琴, 张玲荣, 陈杰, 等. 硫代乙酰胺致大鼠肠源性内毒素血症模型探讨[J]. *中华传染病杂志*, 2010, 28(7): 393-397.

[18] 威仁铎. 诊断学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 415.

[19] 万学红, 卢雪峰. 诊断学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 364.

[20] 陆张兵. 51 例乙型肝炎肝细胞炎症时转氨酶复检时间研究[J]. *中国现代药物应用*, 2007, 1(12): 66.

(收稿日期: 2015-11-08 修回日期: 2016-01-11)