

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110524. 1335. 006

泻肺平喘灵及其拆方对“肺合大肠”模型大鼠血清内毒素及肿瘤坏死因子- α 的影响

倪新强, 韩新民*

(南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210046)

[摘要] **目的:**观察泻肺平喘灵及其拆方对“肺合大肠”模型大鼠血清内毒素(ET)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)变化的影响。**方法:**70只SD大鼠随机分为7组(正常组、模型组、解扎组、三拗组、三通组、三活组、泻肺平喘灵组),每组10只。采用直肠体外不全结扎法制备“肺合大肠”动物模型,造模3d后处死模型组;三拗组以三拗汤 $3.92\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$;三通组以三通方 $7.11\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$;三活组以三活方 $10.54\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$;泻肺平喘灵组以泻肺平喘灵 $16.66\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$,正常组和解扎组以 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 生理盐水 ig ,3d后处死大鼠。观察大鼠血清ET和TNF- α 的改变,观察泻肺平喘灵及其拆方的干预效果。**结果:**模型组大鼠造模后血清ET和TNF- α 水平均明显升高($P < 0.01$),解扎组、泻肺平喘灵及其拆方组均降低,与模型组比较有非常显著性差异($P < 0.01$);泻肺平喘灵及其拆方组与解扎组比较也有显著性差异($P < 0.01$);部分药组之间呈协同的作用趋势。**结论:**泻肺平喘灵及其拆方能够降低模型大鼠血清ET和TNF- α 水平,从而保护肺组织,减轻肺部病变,有效阻断内毒素血症对模型大鼠组织的损伤。

[关键词] 泻肺平喘灵;肺合大肠;内毒素;肿瘤坏死因子- α ;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0136-04

Influence of Xiefei Pingchuanling and Its Decomposed Formulas on Serum Endotoxin and Tumor Necrosis Factor- α in Rat Model with ‘Interior and Exterior Relationship between Lung and Large Intestine’

NI Xin-qiang, HAN Xin-min*

(First Clinical Medicine College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of Xiefei Pingchuanling and its decomposed formulas on serum changes of endotoxin (ET) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in model rats with ‘interior and exterior relationship between the lung and the large intestine’. **Method:** Seventy SD rats were randomly divided into 7 groups: the normal group, the model group, the unhitch group, the Sanao group, the Santong group, the Sanhuo group and the Xiefei Pingchuanling group. The rat model of ‘interior and exterior relationship between the Lung and the Large intestine’ was established to intestinal obstruction by incomplete ligation of the rectum *in vitro*. The rats in model group were killed after 3 days. The Sanao group was treated by Sanao decoction with the crude drug dosage of $3.92\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ intragastrically, the Santong group was treated by Santong decoction with the crude drug dosage $7.11\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ intragastrically, the Sanhuo group was treated by Sanhuo decoction with the crude drug dosage $10.54\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$

[收稿日期] 20101221(010)

[基金项目] 国家重点学科南京中医药大学儿科开放性课题(EZK2009014)

[第一作者] 倪新强,博士研究生,从事小儿肺系疾病研究,Tel:15850531247,E-mail:nxq13ek@163.com

[通讯作者] *韩新民,教授,主任医师,博士生导师,从事小儿肺系疾病研究,Tel:15195996828,E-mail:hxm1nj@163.com

[网络出版时间] 2011-05-24 13:35

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110524.1335.006.html>

intragastrically, the Xiefei Pingchuanling group was treated by Xiefei Pingchuanling decoction with the crude drug dosage $16.66 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ intragastrically. The rats were killed after 3 days of ig. The changes in serum ET and TNF- α were observed to investigate the interventional effect of Xiefei Pingchuanling and Its decomposed formulas. **Result:** The serum levels of ET and TNF- α were increased significantly in the model group ($P < 0.01$). The serum levels of ET and TNF- α were decreased in the other groups compared with the models ($P < 0.01$). The synergies existed in some groups. **Conclusion:** Xiefei Pingchuanling and its decomposed formulas can protect the lung tissue, alleviate pathological change and prevent the tissue of the model rats from endotoxemia.

[**Key words**] Xiefei Pingchuanling; interior and exterior relationship between the lung and the large Intestine; endotoxin; tumor necrosis factor- α ; rat

“肺与大肠相表里”理论为中医脏腑学说的特色之一,作者运用这一理论创制了治疗小儿热性哮喘的泻肺平喘灵,在临床上取得了显著的疗效^[1]。本文通过动物实验研究,观察泻肺平喘灵及其拆方对“肺合大肠”模型大鼠血清内毒素(ET)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响,探讨其作用机制,以便更好地指导临床实践。

1 材料

1.1 药物及制备 泻肺平喘灵:炙麻黄 5 g,杏仁 10 g,生甘草 3 g,葶苈子(包煎)10 g,瓜蒌皮 10 g,丹参 12 g,虎杖 12 g,大黄(后下)3 g,细辛(后下)3 g。泻肺平喘灵拆方三拗汤:炙麻黄 5 g,杏仁 10 g,生甘草 3 g。三拗汤+活血药(简称“三活方”):炙麻黄 5 g,杏仁 10 g,生甘草 3 g,丹参 12 g,虎杖 12 g。三拗汤+通腑药(简称“三通方”):炙麻黄 5 g,杏仁 10 g,生甘草 3 g,大黄(后下)3 g,瓜蒌皮 10 g。以上饮片均购自南京中医药大学附属医院。泻肺平喘灵制备:将饮片分二份浸泡,一份为大黄、细辛,其余另泡,其中葶苈子以纱布包扎浸泡,先浸泡 30 min,按 1:8加蒸馏水,先用武火煎至水沸,然后改用文火保持微沸状态,煎至 25 min 时,加入生大黄、细辛及其浸液,再煎 10 min,8 层纱布过滤,过滤后的药渣再加入 6 倍量的蒸馏水,以前法煎好后,取滤液,将两次所得药液合并, $4\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后,取上清液在水浴中蒸发浓缩至所需浓度后,置于 4 ℃冰箱保存备用。临用时加温至 37 ℃,用蒸馏水配成所需浓度的溶液。各拆方组药液制备同上。

1.2 动物 清洁级 SD 大鼠,70 只,雌雄各半,由浙江省实验动物中心提供,动物生产许可证号 SCXK(浙)2008-0033,鼠龄 4 周,体重(100 ± 10)g。分笼饲养,室温(22~25)℃,相对湿度(50 ± 10)%,空气清新,通风良好,自由摄食、饮水。

1.3 试剂与器材 大鼠内毒素试剂盒,批号 200908;大鼠 TNF- α ELISA 试剂盒,批号 200908 均购自吉泰生物科技有限公司。酶标仪:Bio Tek ELX800,美国基因有限公司。

2 方法

2.1 动物分组 大鼠按体重随机分为 7 组,每组 10 只,雌雄各半,设为正常组、模型组、解扎组、三拗组、三通组、三活组、全方组。

2.2 模型制备 参考文献方法^[2-3],除正常组外,采用直肠体外不全结扎法造模。取 1%戊巴比妥钠以 $3 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,背位固定,常规皮肤消毒后,铺孔巾,以耻骨联合上 2 cm 为中心点,正中切口,切口长为 2 cm。打开腹腔暴露直肠,以 10 号丝线经腹壁从距肛门(1.2~1.5)cm 处以“8”字型从直肠下方绕过,再经同侧腹壁引出,丝线引入点和引出点在腹壁相距约 0.5 cm。在引出的丝线内套入直径为 0.4 cm 的圆线打结,退出圆线后,再逐层缝合腹腔,大鼠清醒后常规分笼饲养,全部手术过程在 10 min 内完成,严格无菌操作。术后至处死期间,每日用 75%乙醇棉球消毒手术切口处,观察切口处缝合情况,是否有渗液等。

2.3 给药方案 模型组术后 72 h 处死并立即进行实验观察。其他 6 组于术后 72 h 从体外解除直肠结扎线并继续饲养,同时于解扎当日开始分别 ig 相应药物。根据小儿肺炎喘嗽、哮喘的高发年龄特点,各药物组按正常 6 岁儿童临床等效量折算,即三拗组予三拗汤药 $3.92 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;三通组予三通方药 $7.11 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;三活组予三活方药 $10.54 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;全方组予全方药 $16.66 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,1 日量分 2 次 ig,连续 3 d,在保证药物剂量的前提下,调整浓度使每只动物给药容积均为 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。正常组和解扎组不进行药物干预,每日以相同容积无菌生理盐

水 ig。

2.4 检测指标及方法

2.4.1 一般情况观察 观察各组大鼠一般状态,如呼吸、大便、活动等。

2.4.2 标本采取 模型组大鼠于造模后 72 h 处死,其余各组大鼠于造模后 6 d 处死,隔夜禁食,自由饮水,次日眼眶静脉取血,3 000 r·min⁻¹,离心 15 min,分离制备血清,再用移液器将分离出的血清,用 0.5 mL eppendorf 管分装,放置 -20 °C 冰箱保存备用。

2.4.3 血清 ET, TNF-α 水平测定 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法,测定步骤按试剂盒说明的要求进行。

2.5 统计学方法 用 SPSS 15.0 统计学分析软件进行数据处理,测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较,方差齐则采用单因素方差分析;方差不齐则采用秩和检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况 正常组无异常表现。模型组造模后,逐渐出现发热、蜷缩,纳差,呼吸加快,有喘息样动作出现;毛发略黄少光泽,直立、杂乱;鼻腔有血性分泌物流出及轻度紫绀,眼球充血,眼周出现分泌物,腹部胀大明显,大便变干变硬,粒形短小;舌体瘦小,舌质稍紫,上罩白苔,个别有黄白苔。解扎组解扎前与模型组一般情况相似,解扎后,饮食活动量精神状态稍有改善。各药物组解扎前一般情况与模型组相似,解扎并给药后,一般情况较解扎组改善明显,呼吸频率渐至正常,其活动量、精神无明显差异。

3.2 大鼠血清 ET, TNF-α 含量的变化 模型组大鼠血清 ET, TNF-α 水平明显高于正常组 ($P < 0.01$);解扎组及各给药组血清 ET, TNF-α 含量明显低于模型组 ($P < 0.01$);泻肺平喘灵及其拆方组血清 ET, TNF-α 含量明显低于解扎组 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血清 ET, TNF-α 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	ET/pg·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹
正常	10	-	182.5 ± 4.5	388.35 ± 28.299
模型	9	-	236.2 ± 5.0 ¹⁾	1 153.76 ± 64.899 ¹⁾
解扎	10	-	223.0 ± 1.8 ²⁾	938.647 ± 31.001 ²⁾
三拗	10	3.92	214.4 ± 3.8 ^{2,3)}	798.126 ± 48.168 ^{2,3)}
三通	9	7.11	200.3 ± 2.6 ^{2,3,4)}	647.813 ± 22.554 ^{2,3,4)}
三活	10	10.54	209.3 ± 2.6 ^{2,3,4,5)}	645.787 ± 14.521 ^{2,3,4,5)}
全方	9	16.66	192.5 ± 2.9 ^{2,3,4,5,6)}	598.979 ± 14.666 ^{2,3,4,7)}

注:与正常组相比¹⁾ $P < 0.01$;与模型组相比²⁾ $P < 0.01$;与解扎组相比³⁾ $P < 0.01$;与三拗组相比⁴⁾ $P < 0.01$;与三通组相比⁵⁾ $P < 0.01$;与三活组相比⁶⁾ $P < 0.01$;与三通、三活相比⁷⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

本研究采用直肠体外半结扎法制备的“肺合大肠”模型,是人为地模拟中医的“阳明喘满”证。现代中医将肠源性肺损伤的呼吸窘迫、神志改变、鼓肠、高热等症状概括为“喘”、“昏”、“满”、“热”等,并将其与阳明腑实之“喘满”证联系起来^[4]。凡遇此类病证,仲景认为“吸而微数,其病在中焦,实也,当下之即愈。”(《金匱·脏腑经络先后病脉证第一》)。阳明腑实证时,体内形成肠源性内毒素血症,产生持续性炎症反应,并不断的自我增强,形成瀑布级联反应^[5],冯立民认为内毒素血症是阳明腑实证过程中发生热、惊、厥、闭、脱及其脏器衰竭的主要原因,也可能就是阳明腑实证的主要病理生理基础^[6]。TNF-α 是炎症反应中释放最早、最重要的内源性介质,由分布在肺间质、肺泡腔及毛细血管内的巨噬细胞在 ET 的激活下产生,对肺有强烈的毒性,能诱导

肺内皮细胞活化、白细胞迁移和毛细血管渗漏等,积聚的水肿液进一步阻碍肺泡细胞的灌流和氧气交换,甚者引起急性呼吸窘迫综合征^[7]。

本研究显示,模型组大鼠血清中 ET 及 TNF-α 的含量明显高于正常组 (P 均 < 0.01),表明大鼠直肠体外半结扎已造成内毒素血症,且通过 TNF-α 在肠源性肺损伤的发生与发展中起着重要作用。解扎组及药物组血清中 ET 及 TNF-α 水平较模型组明显降低,药物组血清 ET 水平依次为全方组 $<$ 三通组 $<$ 三活组 $<$ 三拗组,均有显著差异性 ($P < 0.01$);三通组和三活组较三拗组相比,降低 TNF-α 水平有显著性差异;三通组及三活组降低 TNF-α 水平疗效无差异。研究表明大黄等通里攻下药能明显降低内毒素所致胃肠道微血管的通透性,抑制内毒素的吸收,具有清除内毒素的作用^[8],而丹参等活血化瘀类中药可以改善内毒素致炎过程中的炎症因子变化^[9]。本

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110524. 1331. 004

糖脂平对 2 型糖尿病大鼠糖、脂毒性及胰腺组织氧化应激的影响

李步满¹, 高彦彬^{1,2*}, 吴丽丽¹, 周晖¹, 张涛静¹, 夏晶¹, 邹大威¹, 朱智耀¹, 吴深涛³
(1. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078; 2. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069;
3. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193)

【摘要】 目的:观察糖脂平对 2 型糖尿病大鼠糖、脂毒性及胰腺组织氧化应激的影响。方法:采用高脂喂养联合低剂量(30 mg·kg⁻¹)链脲佐菌素诱导 2 型糖尿病大鼠模型。将糖尿病模型鼠随机分为模型组、糖脂平组、 α -硫辛酸组,正常鼠为正常对照组,每组 10 只。糖脂平组予糖脂平按生药 20 g·kg⁻¹·d⁻¹ig, α -硫辛酸组予 20 mg·kg⁻¹·d⁻¹ig,其他 2 组大鼠予等体积蒸馏水 ig,连续处理 8 周。观察体质量(BM)、空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹胰岛素水平(FINS)、血清游离脂肪酸(FFA)以及胰腺组织丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平的变化;观察胰腺组织病理改变。结果:与模型组比较,经糖脂平、 α -硫辛酸处理后两组大鼠体质量、血糖、空腹胰岛素、游离脂肪酸及氧化应激指标均明显改善($P < 0.01$ 或 0.05);病理观察显示胰岛数量明显增加,胰岛组织结构部分修复。糖脂平组大鼠在 FPG, HbA1c, FFA, FINS 水平的改善方面优于 α -硫辛酸组,病理改变亦相对较轻。结论:中药糖脂平能有效抑制 2 型糖尿病大鼠糖、脂毒性及胰腺组织的氧化应激损伤,保护胰岛细胞,改善胰岛素分泌及糖、脂代谢。

【关键词】 2 型糖尿病大鼠;胰岛 β 细胞;糖脂平;游离脂肪酸;氧化应激

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2011)14-0139-05

【收稿日期】 20101128(003)

【基金项目】 国家“十一五”科技支撑计划课题(2006BA104A03-3)

【第一作者】 李步满,博士研究生在读,从事中医药防治糖尿病及其并发症的临床与基础研究, Tel: 15101198256, E-mail: libuman_2008@126.com

【通讯作者】 * 高彦彬,医学博士,教授,主任医师,博士研究生导师,从事中医药防治糖尿病及其并发症的临床与基础研究, Tel: 010-83911720, E-mail: gaoyb8@163.com

【网络出版时间】 2011-05-24 13:31

【网络出版地址】 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110524.1331.004.html>

研究说明在三拗汤基础上配伍通里攻下药、活血化瘀药组成的泻肺平喘灵,能迅速有效降低急性肠源性肺损伤大鼠血清 ET 及 TNF- α 含量,其整体疗效明显优于各拆方单用。泻肺平喘灵并非三拗汤、通腑攻下药、活血化瘀药的简单相加,各拆方难以实现全方治疗的最佳效果,由此表明泻肺平喘灵组方具有合理性,也进一步证实了“肺与大肠相表里”理论的科学性及指导性。

【参考文献】

- [1] 韩新民,杨江,孙轶秋,等.“泻肺平喘灵”治疗小儿热性哮喘 55 例临床观察[J]. 江苏中医药,2007,39(11): 39.
- [2] 韩国栋,冯学瑞,郝泗城,等.大承气汤对实验性肺损害促修复作用的观察[J]. 中国医药学报,1994,9(5):15.
- [3] 杨胜兰,王鹏,李道木,等.通腑法对大鼠肠源性肺损伤保护作用机制的研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,

2003,11(3):154.

- [4] 薛芳.急性呼吸窘迫综合征与阳明腑实喘满证[J]. 辽宁中医杂志,1982,4:10.
- [5] Eruin P J, Lewis I F, Dolan S, et al. Lipopolyaccharide binding protein in acute pancreatitis [J]. Cnt Cate Med, 2000,28(1):104.
- [6] 冯立民,陈海龙,关凤林. 阳明腑实证时内毒素与炎症介质的变化及复方大承气汤的治疗作用[J]. 中国中西医结合外科杂志,2003,9(5):351.
- [7] 张青,徐剑铤,毛宝龄,等. 内毒素致伤大鼠肺组织 TNF- α 、IL-6 的 mRNA 表达及 NF-IL6 活化研究[J]. 中国危重病急救医学,2001,13(9):523.
- [8] 李伟,李继坤,罗连城. 内毒素及肿瘤坏死因子在大鼠胰源性肺损伤发病过程中的作用及下法对其影响[J]. 中国中西医结合外科杂志,1998,4(3):180.
- [9] 张萃. 丹参酮 II_A 等活血化瘀类中药抗内毒素作用的筛选[J]. 山西医科大学学报,2010,41(7):621.

【责任编辑】 聂淑琴