

通腑泻肺方对 ALI/ARDS 大鼠肺肠功能的影响

李 建¹ 杨英伟¹ 刘恩顺² 苏景深² 李美凤¹

(1 天津中医药大学, 天津, 300193; 2 天津中医药大学第二附属医院, 天津, 300150)

摘要 目的:观察通腑泻肺方对 ALI/ARDS 大鼠肺、肠功能的影响,为“肺与大肠相表里”理论提供实验证据。方法:健康 SD 大鼠 30 只,随机分为 3 组,正常组、模型组和治疗组,采用尾静脉注射油酸加内毒素方法造成 ALI/ARDS 模型,治疗组给予通腑泻肺中药,于实验第 7 天检测分析各组大鼠肺功能、肠屏障功能指标。结果:1)与正常组比较,模型组大鼠肺顺应性显著降低、吸气和呼气阻力显著升高($P < 0.01$),治疗后肺顺应性、吸气阻力有所改善;2)模型组大鼠肠组织中 occludin 蛋白表达较正常组明显降低($P < 0.01$),治疗后显著升高($P < 0.05$);SIgA 含量较正常组明显升高($P < 0.01$),治疗后显著降低($P < 0.05$)。结论:除肺通气功能障碍外,ALI/ARDS 大鼠肠屏障功能同时受损。通腑泻肺中药能改善肺通气障碍,保护肠黏膜屏障功能。

关键词 ALI/ARDS;肺功能;肠屏障功能;通腑泻肺;肺肠同治

Effects of Tongfu Xiefei Herbs on Lung and Large Intestinal Function in ALI/ARDS Rats

Li Jian¹, Yang Yingwei¹, Liu Enshun², Su Jingshen², Li Meifeng¹

(1 Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2 Second Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300150, China)

Abstract Objective: To observe the effects of Tongfu Xiefei Herbs on lung and large intestinal function in ALI/ARDS rats, then provide experimental basis for ALI/ARDS lung and large intestine concurrent therapy. **Methods:** Thirty healthy SD rats were randomly divided into 3 groups: control group, model group, treatment group. The ARDS rats was established by intravenous injecting oleic acid plus endotoxin in caudal vein, and treatment group were treated with Tongfu Xiefei herbs. The indicators of lung and intestinal function in each group were observed after 7 days. **Results:** 1) Compared with control group, the lung compliance of model group was obviously decreased; the aspiratory and expiratory resistance were obviously increased ($P < 0.01$). The lung function of treatment group improved. 2) Occludin protein expression in large intestine of model group were obviously decreased than that of control group ($P < 0.01$), and were significantly increased after treatment ($P < 0.05$). The SIgA of model group were obviously increased than control group ($P < 0.01$), and were significantly decreased after treatment ($P < 0.05$). **Conclusion:** With ventilation dysfunction, ALI/ARDS intestinal barrier function was damaged at the same time. Tongfu Xiefei herbs could improve the lung function and protect intestinal barrier function.

Key Words ALI/ARDS; Lung function; Intestinal barrier function; Tongfu Xiefei Herbs; Lung and large intestine concurrent therapy

中图分类号:R256.1;R332 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.04.004

急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(Acute Lung Injury, ALI/Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS)作为一种临床危重症几乎涉及各个学科,严重威胁患者生命。由于间接或直接损伤,ALI/ARDS 病理生理改变主要表现为通气/血流比值降低、肺容积减少、肺内分流增加、肺顺应性降低,临床上主要表现为呼吸窘迫、顽固性低氧血症,胸片显示为双肺弥漫性浸润影,后期表现为多器官功能衰竭^[1]。近年来由于对 MODS 研究的深入,肠屏障功能障碍在严重创伤、休克、感染、心肺功能不全等危重疾患的病理演变过程中的作用越来越受到人们重视^[2]。肠黏膜屏障功能也已成为判断危重患者预后的一个重要指标。

课题组在探讨“肺与大肠相表里”理论过程中发现,ALI/ARDS 的临床表现除进行性呼吸困难、气促、紫绀等肺气壅遏的症状外,往往同时伴有便秘、腹胀等

腑气不通,大肠失于传导的病理变化,其证候学突出体现了中医“肺肠相关”的特点,治疗当以“肺肠同治”^[3]。在此理论指导下,我们采用油酸和内毒素两次打击方法建立 ALI/ARDS 大鼠模型^[4],观察 ALI/ARDS 大鼠肺、肠功能的改变以及通腑泻肺方对肺、肠功能的影响,为“肺与大肠相表里”理论提供实验证据。

1 材料与方法

1.1 动物 清洁级健康 SD 大鼠,雄性,30 只,鼠龄 10~12 周,体重(320 ± 20)g,购于北京大学医学部实验动物科学部实验动物公司,合格证号:SCXK(京)2011-0012。购入后置于中国医学科学院放射医学研究所适应性饲养。

1.2 试剂与仪器 通腑泻肺方(葶苈子、桑白皮、大黄、枳实、厚朴)中药颗粒剂全部购自天津中医药大学

第一附属医院药房。生药剂量比例按照文献^[5]依照人体单位体质量生药量求得大鼠单位体质量生药量。用蒸馏水配置通腑泻肺方(生药浓度 1.08 g/mL),置于 4℃ 冰箱保存备用。

油酸(分析纯)购自于天津易生源生物技术有限公司;大肠杆菌内毒素脂多糖(编号:L2880 血清型 055:B5)。小动物肺功能测定仪(北京贝兰博科技有限公司)。

1.3 ALI/ARDS 模型建立 动物适应性饲养 1 周后。将大鼠置于大鼠固定器,固定躯干及四肢,暴露尾部。正常对照组大鼠于左侧尾静脉注射生理盐水 0.12 mL/kg,2 h 后于右侧尾静脉再次注射生理盐水 1 mL/kg;模型组、治疗组于左侧尾静脉注射油酸 0.12 mL/kg,间隔 2 h 后选右侧尾静脉注射内毒素 1 mg/kg 复制 ARDS 模型。常规消毒,自由摄食饮水,注意保暖。

1.4 动物分组和给药方法 采用随机数字表法,将大鼠按体质量随机分为 3 组:对照组、模型组和治疗组,每组 10 只。空白组与模型组在造模完成后即用生理盐水灌服,每次 10 mL/kg。治疗组在造模完成后即用通腑泻肺方灌胃,每次 10 mL/kg,1 次/d。

1.5 肺功能指标测定 造模后第 7 天用实验小动物肺功能测定仪测定各组大鼠肺功能。分析各组大鼠肺吸气总阻力(Ri)、肺呼气总阻力(Re)、肺顺应性(Cydn)。

1.6 肠组织 occludin 蛋白、SIgA 检测 在测定肺功能后,经腹主动脉取血处死大鼠,冰上迅速取距幽门下 15 cm 处及回盲部肠组织放入无菌低温冻存管,于液氮中速冻,转存到 -80℃ 冰箱保存待测。免疫印迹法检测肠组织 occludin 蛋白,ELISA 检测大鼠肠组织中 SIgA,严格按说明书进行操作。

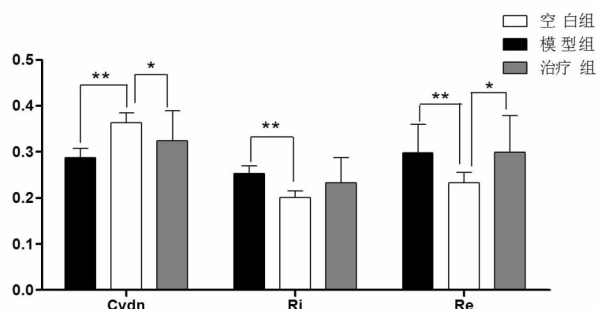
1.7 统计方法 使用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计分析,数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析,两两比较用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 Cydn、Ri、Re 比较 模型组大鼠与空白组相比较,Cydn 降低,Ri、Re 均增高,且 $P < 0.01$,具有统计学意义,说明 ARDS 模型大鼠肺组织在造模成功后存在显著的损伤,在单位压力改变时,肺容积减小,呼吸时气流受限。

治疗组与空白组相比,Cydn 增高($P < 0.05$)、Ri 增高、Re 增高($P < 0.05$);与模型组相比,Cydn 增高、Ri 降低,但差异无统计学意义。说明经过治疗后,大鼠的肺损伤有逐渐向愈趋势,气流受限得到改善,但与

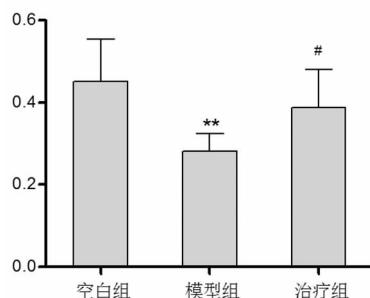
正常鼠之间仍存在差异。见图 1。



注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

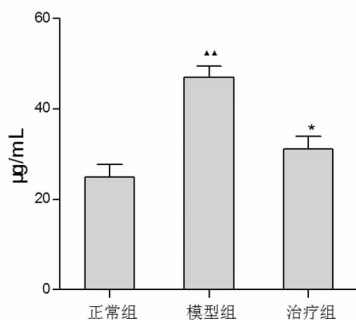
图1 各组大鼠 Cydn、Ri、Re 比较

2.2 肠组织 occludin 蛋白、SIgA 检测 模型组大鼠结肠组织中 occludin 蛋白表达明显降低,与正常对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$)。治疗组 occludin 表达较模型组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。与正常组比较,模型组肠组织 SIgA 明显升高($P < 0.01$),与模型组比较,治疗组 SIgA 显著降低($P < 0.05$),见图 3。



注:与空白组相比,** $P < 0.01$,与模型组相比,# $P < 0.05$ 。

图2 各组大鼠 occludin 蛋白相对含量比较



注:与正常组相比,** $P < 0.01$,与模型组相比,* $P < 0.05$ 。

图3 大鼠肠组织 SIgA 检测结果

3 讨论

ALI/ARDS 时发生严重的肺水肿和弥漫性肺不张,其主要呼吸力学特征表现为充气肺容积减少,肺泡表面张力增高导致的肺和呼吸系统顺应性下降、呼吸阻力增高。由于顺应性和呼吸阻力的改变在肺内各部分分布不均,影响了肺内气体分布,造成通气血流比例失调,引起严重的低氧血症。因此,肺顺应性、呼吸气

道阻力是评价呼吸生理的重要指标,可以客观反映肺损伤情况^[6]。

紧密连接是肠黏膜机械屏障中肠上皮细胞间最重要的连接方式,生理情况下只允许小分子物质通过,在维护肠屏障功能中起着举足轻重的作用^[7]。occludin 蛋白是紧密连接的整膜蛋白,其表达水平的检测不仅可以反映肠道屏障的破坏和恢复的程度^[8]。SIgA 是肠道含量最丰富的免疫球蛋白,其变化直接反映着肠道黏膜免疫屏障的状态^[9]。

ALI/ARDS 起病急骤,发展迅猛,在短时间内对机体造成严重的损害,因此在早期的呼吸支持等积极治疗之后,应进行长期全面的干预^[10]。近年来国内对本病中医发病机制也进行了大量研究,有学者指出 ALI/ARDS 的临床表现与阳明腑实喘满证相似^[11]。本课题组在探讨“肺与大肠相表里”理论过程中提出,ARDS 证候学突出体现了中医“肺肠相关”的特点,“脏病治腑”“通腑泻肺”是中医常用的有效治法。此次实验所选用的通腑泻肺方中,葶苈子、桑白皮泻肺平喘、行水消肿,大黄、枳实、厚朴轻下热结,通腑除满。诸药同用可宣降肺气、畅通腑气、水湿、热结得消、喘促可止。

我们采用油酸和内毒素两次打击方法建立了 ALI/ARDS 大鼠模型。结果显示,模型组大鼠顺应性下降、气道阻力增加,表现出肺部的损伤和气流受限。这种改变接近临床 ALI/ARDS 患者肺功能的变化,从这个角度说明此次造模成功。模型大鼠除了存在肺通气功能障碍外,肠组织的 occludin 蛋白表达较正常大鼠显著减少,而 SIgA 分泌明显升高,说明 ARDS 大鼠

的肠屏障功能同时受到损伤。经通腑泻肺方治疗后,治疗组肺功能的各项指标均有改善,肠屏障中 occludin 蛋白、SIgA 含量也显著改善,表明中医“肺肠同治”可减缓 ALI/ARDS 模型大鼠肺功能的下降,缓解肠屏障功能损伤情况,研究结论为深入开展“肺与大肠相表里”理论的临床研究提供了依据。

参考文献

- [1] 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南(2006)[J]. 中国实用外科杂志,2007,27(01):1-6.
- [2] 刘刚,王强,王育红. 肠屏障功能与多器官功能障碍综合征[J]. 海军总医院学报,2008,21(02):32-38.
- [3] 刘恩顺,孙增涛,苏景深,等. 基于肺肠相关的 ARDS 研究思路探讨[J]. 天津中医药大学学报,2011,30(01):4-5.
- [4] 张青,毛宝龄,钱桂生,等. 油酸和内毒素两次打击大鼠急性肺损伤动物模型研究[J]. 第三军医大学学报,2000,22(6):603-604.
- [5] 柯雪帆,赵章忠,张玉萍,等.《伤寒论》和《金匮要略》中的药物剂量问题[J]. 上海中医药杂志,1983,1983,8(12):36-38.
- [6] 俞森洋. 现代机械通气的监护及临床应[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2002.398-432.
- [7] 秦环龙,高志光. 肠上皮细胞紧密连接在肠屏障中的作用研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(04):21-25.
- [8] 张宇飞,嵇武,黎介寿. Occludin 蛋白调控机制及临床意义的研究进展[J]. 肠外与肠内营养,2010,17(03):175-178.
- [9] 胡正强,江咏梅. SIgA 基础与临床研究进展[J]. 免疫学杂志,2003,31:75-78.
- [10] 钱桂生. 急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征的诊断与治疗[J]. 解放军医学杂志,2009,34(04):371-373.
- [11] 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,1982,12(04):10-11.

(2014-03-11 收稿 责任编辑:洪志强)

(上接第 411 页)

- [7] 李宇航,钟相根,贾旭,等. “通利大肠”对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺功能及血气的影响[J]. 北京中医药大学学报,2010,33(7):452-455.
- [8] LI Yu-hang#, ZHENG Feng-jie, HUANG Ying, ZHONG Xiang-gen, and GUO Ming-zhang. Synergistic Anti-inflammatory Effect of Radix Platycodon in Combination With Herbs for Cleaning-heat and Detoxification and Its Mechanism[J]. Chin J Integr Med, 2013 Jan;19(1):29-35.
- [9] 邵峦,王健,邓勇. “肺与大肠相表里”随机对照试验文献质量评价[J]. 安徽中医学院学报,2011,30(2):16-19.
- [10] ZHENG X, YANG Y, ZHENG X, et al. Correlation between the lung and large intestine from the micro-ecological changes of lung and intestinal flora[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 10:024.
- [11] 刘元,王新月. 从“肺与大肠相表里”理论谈 COPD 和 IBD 病理过程的肺肠紊乱[J]. 世界华人消化杂志,2013,21(10):886-893.
- [12] 钟相根,李宇航,祝小惠,等. “通利大肠”对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠 SIgA 含量的影响[J]. 辽宁中医杂志,2011,38(8):1670-1671.

- [13] 钟相根,李宇航,祝小惠,等. 慢性阻塞性肺疾病气道黏液高分泌机制及中医药干预作用[J]. 中华中医药杂志,2011,26(8):1686-1689.
- [14] L Xiao, ZX Wu. Substance p regulates environmental tobacco smoke-enhanced tracheal smooth muscle responsiveness in mice[J]. J Allergy (Cairo), January 1, 2012, 2012:423612.
- [15] Engel MA, Becker C, Reeh PW, Neurath MF. Role of sensory neurons in colitis; increasing evidence for a neuroimmune link in the gut[J]. Inflamm bowel diseases, 2011, 17(4):1030-1033.
- [16] C Abad, R Gomariz, J Waschek, J Leceta, C Martinez, Y Juarranz, and A Arranz. VIP in Inflammatory Bowel disease: state of the art[J]. EndocrMetab Immune Disord Drug Targets, June 11, 2012.
- [17] S Misaka, Y Aoki, S Karaki, A Kuwahara, T Mizumoto, S Onoue, and S Yamada. Inhalable powder formulation of a stabilized vasoactive intestinal peptide (VIP) derivative; anti-inflammatory effect in experimental asthmatic rats[J]. Peptides, Jan 2010, 31(1):72-78.

(2014-03-11 收稿 责任编辑:洪志强)