

# “肺主呼吸”对“通调水道”影响的实验观察

王振亦 孙 燕 张淑静 高誉珊 倪 磊 刘晓蕾 张金超 魏雅楠

赵朋娜 康鹏飞 邱 岩 杨佳敏 李宇航

(北京中医药大学基础医学院,北京,100029)

**摘要** 目的:观察呼吸功能改变与尿量变化之间的相关性,探讨观察“肺主呼吸”对“通调水道”的影响。方法:以尿液量变化为主要指标,观察哮喘模型小鼠呼吸功能改变、慢性阻塞性肺疾病(Chronic Obstructive Pulmonary Diseases, COPD)模型大鼠呼吸功能改变及正压扩肺家兔肺通气活动改变对“通调水道”的影响。测量各动物特定时段的产尿量,观察模型组动物尿量是否较对照组有所改变。结果:3个动物实验模型组动物尿量均较对照组减少。1)哮喘模型小鼠5 h总尿量较对照组减少( $P < 0.05$ );2)COPD模型大鼠在6 h,12 h,18 h和24 h各时段的总尿量均较对照组减少( $P < 0.05$ );3)正压扩肺家兔尿量较自身平静呼吸时10 min内尿滴数减少( $P < 0.05$ ),且正压扩肺家兔正压扩肺干预后10 min内尿滴数较对照组减少( $P < 0.05$ )。结论:获得了“肺主呼吸”对“通调水道”的影响实验依据,为进一步深入探讨“肺主通调水道”相关分子信号的调控途径,揭示其现代生物学机制奠定了基础。

**关键词** 肺主呼吸;呼吸功能;尿量;通调水道

## The Experimental Observation of effect of “Lung Governing Respiration” on “Regulating Waterway”

Wang Zhenyi, Sun Yan, Zhang Shujing, Gao Yushan, Ni Lei, Liu Xiaolei, Zhang Jinchao, Wei Yanan,

Zhao Pengna, Kang Pengfei, Qiu Yan, Yang Jiamin, Li Yuhang

(1 College of Basic Medical Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2 modern classical prescription application key scientific problems in basic research and innovation team, Beijing University of Chinese medicine, Beijing 100029, China)

**Abstract Objective:** To observe the correlation between respiratory function and urine volume change and to explore the influence of “lung governing respiration” on “regulating waterway”. **Methods:** The effects of changes in urine volume, as the main index, respiratory function changes of asthma mice model and chronic obstructive lung disease (COPD) model and positive pressure expanding lung in rabbit pulmonary ventilatory activity changes on “regulating waterway” were observed. Urine volume of each animal was measured set for a specific time period and urine volume of model groups was compared with that of the control group. **Results:** The urine volumes of three experimental animal models were lower than those in the control group. 1) Five-hour total urine volume of asthma mice model of was less than that of the control group ( $P < 0.05$ ). 2) Total volume urine of COPD rat model at 6 h, 12 h, 18 h and 24 h separately were higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ). 3) Urine drop number of positive pressure lung-expanding rabbits reduced compared to that during their 10 min normal breathing ( $P < 0.05$ ) and the one after 10 min expending was also decreased compared with that of the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The experimental basis of the effect of “lung governing respiration” on “regulating waterway” was obtained to further explore the related molecular signaling pathways, providing foundation for modern biological mechanism.

**Key Words** Lung governing respiration; Respiratory function; Urine volume; Regulating waterways

中图分类号:R223.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.01.033

“肺主行水”是中医经典的藏象理论之一。现在中医学基础理论将“肺主通调水道”这一生理功能概括为“肺主行水”,指的是肺具有疏通和调节水液运行的通道,从而推动水液输布和排泄的作用<sup>[1]</sup>。已有临床研究表明在呼吸功能的改变的情况下,人

体的尿液量也会发生变化,但其内在机制尚未明确<sup>[2-3]</sup>。为了探讨“肺主呼吸”与“通调水道”的相关性,本文以尿液量变化为主要指标,观察小鼠哮喘模型呼吸功能改变、大鼠慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型呼吸功能改变及家兔正压扩肺模型肺通气活动改

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81373503)

作者简介:王振亦(1989.10—),男,2013级硕士研究生,研究方向:中医辨证论治规律研究,E-mail:wangzhenyi109@163.com

通信作者:李宇航(1960.08—),男,医学博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中医辨证论治规律研究,Tel:(010)64287503,E-mail:liyuhang@bucm.edu.cn

变对“通调水道”的影响。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 1) 清洁级健康 BALB/C 小鼠, 雌性, 30 只, 鼠龄 6~8 周, 体重 ( $15 \pm 5$ ) g, 购于北京维通利华实验动物公司, 合格证号: SCXK(京)2012-0001。采用随机数字表法将小鼠随机分为对照组和模型组, 对照组 15 只, 模型组 15 只。2) 清洁级健康 Wistar 大鼠, 雄性, 30 只, 鼠龄 4~6 周, 体重 ( $200 \pm 50$ ) g, 购于北京维通利华实验动物公司, 合格证号: SCXK(京)2012-0001。采用随机数字表法将大鼠随机分为对照组和模型组, 对照组 15 只, 模型组 15 只, 其中 8 只用于监测尿量等, 7 只用于其他指标检测。3) 清洁级健康新西兰家兔, 雄性, 16 只, 兔龄 2 个月龄, 体重 ( $2.0 \pm 0.5$ ) kg, 购于北京兴隆养殖场, 合格证号: SCXK(京)2011-0006。采用随机数字表法将小鼠随机分为对照组和模型组, 对照组 8 只, 模型组 8 只。动物置于清洁柜中, 喂以普通饲料, 自由饮水, 实验室温度保持在 ( $23 \pm 1$ ) °C, 湿度 ( $45 \pm 5$ ) % 左右, 标准的 12 h 昼夜交替周期(每日早上 8:00 开灯)。实验开始前, 动物至少适应性饲养 1 周。本动物实验过程均遵守美国国立卫生院倡导的实验动物关怀、使用指导原则和以减少、替代和优化为核心的动物实验“3R”原则。

1.2 药物与试剂 高纯度卵清蛋白(OVA)(Sigma 公司, 批号: SLBD2312V); 氢氧化铝凝胶(Thermo 公司, 批号: OG189802); 0.1 mol/L 磷酸缓冲液; 脂多糖(LPS, Sigma 公司); 大前门牌香烟(上海烟草公司, 烤烟型, 焦油量 12 mg, 烟气烟碱量 0.9 mg, 烟气一氧化碳量 14 mg); 4% 戊巴比妥钠溶液; 葡萄糖(Beijing Biodee Biotechnology Co., Ltd); 0.9% 氯化钠(石家庄四药有限公司, 批号: 1506303202); 氨基甲酸乙酯; (国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20140422); 肝素钠(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20120919)。

1.3 实验仪器 402B 医用超声雾化器(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司); 动物雾化箱 ( $20 \text{ cm} \times 30 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$ ), 自制; 动物熏吸箱 ( $60 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$ ), 自制; MP5002 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); 高精度移液器(Eppendorf); 大小鼠代谢笼(由北京中医药大学动物饲养中心提供); HX-300s 动物呼吸机(成都泰盟软件有限公司); BL420 生物信号采集系统, 呼吸换能器, 血压换能器, 尿滴换能器等(由北京中医药大学针灸实验中心提供)。

## 1.4 模型制备

1.4.1 小鼠哮喘模型建立 参考文献<sup>[4-5]</sup>用复合形式的 OVA 致敏和激发建立支气管哮喘模型组: 于第 1、13 天给小鼠腹腔注射 OVA(Grade II, Sigma 公司) 100  $\mu\text{g}$  和氢氧化铝凝胶(Pierce 公司) 1.5 mg 混合液 0.2 mL 致敏。第 15 天, 将小鼠每 5 只 1 组置于  $20 \text{ cm} \times 30 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$  有机玻璃箱内; 用 402B 医用超声雾化器(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司)以 1% (w/v PBS) OVA 进行雾化吸入激发, 将小鼠暴露在 OVA 气雾中 30 min, 2 次/d, 间隔 4 h, 持续 7 d。对照组则以蒸馏水腹腔注射, 连续 7 d。

1.4.2 COPD 大鼠模型建立 参文献<sup>[6]</sup>采用气管注射多糖加熏香烟方法复制 COPD 大鼠模型: 在第 1 天、14 天, 用 1% 的戊巴比妥钠(40 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 仰卧位固定大鼠, 暴露声门, 将 18 号静脉留置针快速插入气管, 拔出针芯, 注入 200  $\mu\text{L}$  LPS 溶液(1 mg/mL), 然后将大鼠直立, 使 LPS 溶液充分浸润于两肺中。第 2~28 天(第 14 天除外)将大鼠置于  $60 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$  的动物熏烟箱内, 注入 5 根大前门牌过滤嘴香烟烟雾, 浓度约 5%, 每天上、下午熏烟各 1 次, 1 h/次。对照组于第 1 天和第 14 天气管注入 200  $\mu\text{L}$  0.9% 生理盐水, 第 2~28 天不熏烟(第 14 天除外), 自由呼吸。

1.4.3 家兔呼吸功能改变模型建立 参文献<sup>[7]</sup>创建的正压扩肺方法, 制备家兔呼吸功能改变动物模型。从耳缘静脉注射 20% 的乌拉坦溶液(5 mL/kg) 麻醉家兔。待家兔完全麻醉后切开家兔颈部皮肤, 进行气管插管, 尿道插管, 同时静脉滴注含 5% 葡萄糖的生理盐水(30 滴/min)。打开 Medlab 生物信号采集系统, 记录家兔平静呼吸状态下 10 min 内的尿滴数。模型组家兔连接呼吸机进行扩肺干预(呼吸机参数设置为: 潮气量 20 mL/kg, 呼吸比 1:2, 呼吸频率 10 次/min), 记录家兔 10 min 内的尿滴数。对照组家兔同模型组家兔一样进行麻醉、气管插管、尿道插管, 但不进行呼吸机扩肺的呼吸干预。

## 1.5 指标检测

1.5.1 小鼠尿量检测 末次雾化后, 动物禁食不禁水 12 h, 于干预造模第 22 天, 将已称重的滤纸固定于代谢笼底部, 轻压小鼠下腹部以排尽余尿, 每只小鼠腹腔注射生理盐水 1 mL 作为水负荷。每 1 h 用电子天平称量并记录滤纸的增重量并更换新滤纸, 连续观察 5 h<sup>[6]</sup>。采用代谢笼检测小鼠尿量, 随机按每笼 2~3 只小鼠分组, 每组分 6 只笼, 取每只代谢笼的平均尿量做统计。

1.5.2 大鼠尿量检测 于造模第 28 天,参文献<sup>[8]</sup>的尿量检测方法:给予 20 mL/kg 蒸馏水水负荷,30 min 后逐一轻压大鼠下腹部,排尽余尿,立即置入代谢笼,连续观察记录 24 h 尿量。

1.5.3 家兔尿量检测 运用 BL420 生物信号采集系统,记录不同呼吸状态下 10 min 内的尿滴数。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,对照组与模型组尿量比较采用独立样本 *t* 检验或非参数检验进行让统计学分析,家兔正压扩肺干预前后的尿滴数采用配对样本 *t* 检验或非参数检验进行统计学处理,以  $P < 0.05$  作为差异有统计学意义的标志。

## 2 结果

2.1 小鼠连续 5 h 尿量测定 如表 1 所示,与正常组相比,哮喘模型组小鼠 5 h 总尿量减少;在第 1 h,模型组尿量明显高于正常组 ( $P < 0.01$ );在第 2 ~ 5 h,与正常组相比模型组尿量有降低趋势。

表 1 对照组及模型组小鼠尿量的差异分析( $\bar{x} \pm s$ )

| 分组      | 对照组           | 模型组                        |
|---------|---------------|----------------------------|
| 只数      | 6             | 6                          |
| 5 h 总尿量 | 0.670 ± 0.183 | 0.489 ± 0.059 *            |
| 1 h     | 0.056 ± 0.048 | 0.155 ± 0.097 <sup>△</sup> |
| 2 h     | 0.192 ± 0.083 | 0.133 ± 0.054              |
| 3 h     | 0.129 ± 0.075 | 0.059 ± 0.052              |
| 4 h     | 0.183 ± 0.153 | 0.053 ± 0.028              |
| 5 h     | 0.109 ± 0.045 | 0.088 ± 0.073              |

注: \* 与对照组比较  $P < 0.01$ ; <sup>△</sup> 与对照组比较  $P < 0.05$ 。

2.2 大鼠连续 24 h 尿量影响 如表 2 所示,COPD 模型大鼠较对照组大鼠各个在 6 h,12 h,18 h 和 24 h 内的总尿量均减少,两者之间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 2 对照组和模型组大鼠 24 h 尿量的差异分析( $\bar{x} \pm s$ )

| 分组       | 对照组          | 模型组            |
|----------|--------------|----------------|
| 只数       | 8            | 8              |
| 6 h 总尿量  | 16.93 ± 4.18 | 12.71 ± 3.34 * |
| 12 h 总尿量 | 26.91 ± 4.55 | 18.28 ± 3.58 * |
| 18 h 总尿量 | 34.95 ± 4.82 | 21.35 ± 3.0 *  |
| 24 h 总尿量 | 40.68 ± 5.63 | 23.75 ± 2.79 * |

注: \* 与对照组比较,  $P < 0.05$ 。

2.3 家兔尿滴数测定 如表 3 所示,模型组家兔正压扩肺后,尿滴数较平静呼吸显著减少,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ );如表 4 所示,对照组家兔与模型组家兔平静呼吸时,两者尿滴数差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );如表 5 所示,模型组家兔正压扩肺时较同阶段对照组家兔,尿滴数减少,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 3 模型组家兔平静呼吸和正压扩肺时的尿滴数( $\bar{x} \pm s$ )

| 模型组       | 平静呼吸         | 正压扩肺            |
|-----------|--------------|-----------------|
| No. 1     | 109          | 5               |
| No. 2     | 78           | 10              |
| No. 3     | 155          | 95              |
| No. 4     | 364          | 107             |
| No. 5     | 178          | 49              |
| No. 6     | 105          | 85              |
| No. 7     | 77           | 32              |
| No. 8     | 1141         | 99              |
| mean ± sd | 47.5 ± 94.16 | 60.25 ± 41.42 * |

注: \* 与平静呼吸比较,  $P < 0.05$ 。

表 4 对照组与模型组家兔平静呼吸时的尿滴数( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别        | 对照组            | 模型组          |
|-----------|----------------|--------------|
| No. 1     | 143            | 109          |
| No. 2     | 155            | 78           |
| No. 3     | 94             | 155          |
| No. 4     | 57             | 364          |
| No. 5     | 111            | 178          |
| No. 6     | 134            | 105          |
| No. 7     | 142            | 77           |
| No. 8     | 117            | 1141         |
| mean ± sd | 119.43 ± 31.98 | 47.5 ± 94.16 |

注: \* 与对照组比较,  $P > 0.05$ 。

表 5 模型组家正压扩肺和对照组家兔同阶段平静呼吸时的尿滴数( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别        | 对照组             | 模型组             |
|-----------|-----------------|-----------------|
| No. 1     | 119             | 5               |
| No. 2     | 110             | 10              |
| No. 3     | 63              | 95              |
| No. 4     | 51              | 107             |
| No. 5     | 192             | 49              |
| No. 6     | 189             | 85              |
| No. 7     | 160             | 32              |
| No. 8     | 95              | 99              |
| mean ± sd | 122.375 ± 53.77 | 60.25 ± 41.42 * |

注: \* 与对照组比较,  $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

中医学认为,肺的主要生理功能包括:主气,主宣降,主行水,朝百脉,主治节等。其中“肺主气”是肺的最基本功能,又包括主呼吸之气和主一身之气 2 个方面。肺主一身之气的功能,主要取决于肺的呼吸功能。

肺主行水,是指肺气具有推动和调节全身水液的输布和排泄的作用。所谓“肺主通调水道”,即是指肺主行水的功能。由于肺位于人体的上部,主行水而通调水道,其宣发肃降作用可疏通和调节水液代谢。故清·汪昂《医方集解》称“肺为水之上源”,对人体的水液代谢起着重要的调节作用。如肺的宣

发或肃降功能失常,不仅影响肺的呼吸功能,还会影响水道的通调。

“肺主通调水道”与西医生理相同,都包含了呼吸、汗液和尿液 3 方面的水液代谢行为。其中,经肾脏产生的尿液量多,便于观察和收集。因此课题组通过复制了哮喘,慢性阻塞性肺疾病这 2 种常见呼吸系统的疾病的模型以及建立了单纯的家兔呼吸功能改变模型,重点观察是否呼吸功能的改变对尿量有变化。BALB/c 小鼠易对 OVA(卵白蛋白)和花粉致敏产生 AHR 和明显 IgE 超敏反应<sup>[9]</sup>,而且有研究发现雌性小鼠比雄性小鼠能产生更显著的过敏性气道炎性反应<sup>[10]</sup>。在复制哮喘模型时,课题组选用了 BALB/c 雌性小鼠,腹腔注射 OVA 和氢氧化铝凝胶,并以 1% 的 OVA 溶液进行雾化吸入激发的方法复制过敏性哮喘模型。在给小鼠测量尿量中发现,由于小鼠的体积原因,1 只小鼠排尿量很少,所以每只代谢笼供 2~3 只小鼠同时检测尿量,每组分为 6 只代谢笼,取每只代谢笼的平均尿量做统计。COPD 动物模型的制备方法有很多种,目前最常见的 COPD 模型复制方法有被动吸烟法、蛋白酶诱导的 COPD 动物模型法和化学药物诱导的动物模型法等,其中 LPS 联合烟熏的造模方法操作简单,可明显缩短实验时间,而且更符合 COPD 发生过程中感染和吸烟的两重要诱因。

本课题组为了观察短时间内肺功能改变地机体尿量变化情况,采用了家兔正压扩肺的方法,并对前人的方法进一步改良。由于用人工的方法进行正压扩肺,扩肺时间和力度不易控制,课题组采用呼吸机,能够均匀的改变家兔呼吸节律和正压扩肺的时间,更具有可控性。而且采用 Medlab 生物信号采集系统,更能全程监控家兔在实验过程中诸如呼吸、血压、尿滴等各项生理指标,便于测量、统计。在实验过程中,由于手术出血、蒸发等多方面因素,需加大补液量,过少的补液量不利于家兔产生尿液,30 滴/min 的补液量是观察家兔肺功能改变与尿液量变化的一个合适值。

国外已有多项临床研究发现呼吸功能改变可以引起尿量的变化<sup>[11-12]</sup>,但是关于呼吸功能与尿量变化相关性的内在机制却迄今还无定论。有研究者认为这可能是机体内抗利尿激素<sup>[13]</sup>、钠尿肽<sup>[14]</sup>等激素单方面变化导致的,也有研究者认为这可能是交感-血管紧张素系统激活<sup>[15]</sup>或是血管紧张素-醛固酮系统的再调整<sup>[16]</sup>等多方面因素共同作用的结果。课题组设计 3 个动物实验,首先,以尿液量变化为主

要指标,观察小鼠哮喘模型呼吸功能改变、大鼠 COPD 模型呼吸功能改变及家兔正压扩肺模型肺通气活动改变对“通调水道”的影响。为进一步探讨“肺主通调水道”相关分子信号的调控途径,揭示其现代生物学机制奠定基础。提示 3 种不同方式的肺呼吸功能的改变均可引起尿量的减少。

综上所述,肺的呼吸功能发生改变,肺主通调水道的功能也会随之改变。但是肺呼吸功能改变如何影响到肾的水液代谢,“肺主通调水道”的现代生物学机制有待深入研究。课题组将从肺源性肾调控活性物质等角度,探讨“肺主通调水道”的现代生物学机制,提供实验依据。

### 参考文献

- [1]刘燕池.中医基础理论[M].北京:人民卫生出版社,2001:222.
- [2]刘春涛,王靖,王建峰,等.机械通气中的尿量问题[J].中国呼吸与危重监护杂志,2003,2(6):337-339.
- [3]郭立峰.雾化吸入长托宁对 COPD 患者肺功能和微循环的影响[J].山东医药,2012,52(26):83-84.
- [4]郑丰杰,李宇航,许红,等.通腑对哮喘模型小鼠肺及肠组织 VIP、TFF3 及 NKA 含量的影响[J].中华中医药杂志,2012,27(8):2023-2027.
- [5]Marino R,Thuraisingam T,Camateros P,et al. Secretory leukocyte protease inhibitor plays an important role in the regulation of allergic asthma in mice[J]. J Immunol,2011,186(7):4433-4442.
- [6]王孝先,孙维敏,向志伟.茯苓甘草汤抑菌和利尿作用实验观察[J].新疆医科大学学报,1999,22(4):283-284.
- [7]张庆祥.肺主“通调水道”的理论探讨与相关实验研究[D].济南:山东中医药大学,1998.
- [8]陈奇.中药药理研究方法学[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2006:1090,375.
- [9]Pabst R. Animal models for asthma: controversial aspects and unsolved problems[J]. Pathobiology,2002,70(5):252-254.
- [10]Matsubara S,Swasey CH,Loader JE,et al. Estrogen determines sex differences in airway responsiveness after allergen exposure[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2008,38(5):501-508.
- [11]Brook s LJ,T opol H I. E nuresis in children w ith sleep apnea[J]. J Pediatr,2003,142(5):515-518.
- [12]Cinar U,Vural C,Cakir B,et al. Nocturnal enuresis and upper airway obstruction[J]. Pediatr Otorhinolaryngo,2001,59(2):115-118.
- [13]尹涛,管淑红,陈凤娟,等.慢性阻塞性肺病患者血清中钠尿肽水平变化和临床意义[J].中国医学工程,2011,19(6):42-43.
- [14]全国 eGFR 课题协作组. MDRD 方程在我国慢性肾脏病患者中的改良和评估[J].中华肾脏杂志,2006,22(10):589-595.
- [15]姜宗箕.急性哮喘与抗利尿激素的分泌[J].国外医学:呼吸系统分册,1984,4(3):151-152.
- [16]张晶,雷军荣,罗国仕,等.慢性阻塞性肺病患者机械通气中的多尿现象及其机制[J].中国呼吸与危重监护杂志,2009,8(6):551-554.