

养血润肠方对小鼠血虚型慢性功能性便秘结肠组织匀浆及血清中 NO 的影响

★ 邱剑锋^{1*} 李国栋¹ 肖诚² 李国峰¹ 舒涛¹ 袁亮¹ 洪子夫¹ (1 中国中医科学院广安门医院肛肠科 北京 100053; 2 中日友好医院临床研究部 北京 100029)

摘要:目的:研究养血润肠方对小鼠血虚型慢性功能性便秘结肠组织匀浆及血清中 NO 的影响。方法:取健康小鼠 72 只,随机分为 6 组,正常对照组、模型组灌服生理盐水,乳果糖组和养血润肠方小、中、大剂量组分别给予乳果糖口服液和养血润肠方不同剂量灌胃。各组动物灌服药物 14 天后,处死,检测大鼠结肠匀浆及血清中 NO 的含量。结果:养血润肠方各剂量组结肠匀浆 NO 含量均较模型组低, $P < 0.05$;乳果糖组与模型组无显著性差异, $P > 0.05$ 。养血润肠方各剂量组与乳果糖均可降低便秘小鼠血清中 NO 含量,养血润肠方大剂量组优于乳果糖组。结论:养血润肠方能降低血虚型慢性功能性便秘小鼠结肠组织匀浆及血清中 NO 含量。

关键词:一氧化氮;慢性功能性便秘;养血润肠方;中药

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

The Affection of Yangxuerunchang Formula on the NO in Colonic Homogenate and Serum of Blood-deficiency type Chronic Functionality Constipation Mice

QIU Jian-feng¹, XIAO Cheng², LI Guo-dong¹, SHU Tao¹, LI Guo-feng¹, YUAN Liang¹, HONG Zi-fu¹

1 Gangchang Department, Guang An Men Hospital, the China Academy of Traditional Chinese Medical, Beijing 100053

2 China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029

Objective: Research on the affection of Yangxuerunchang formula (YXRCF) to the content of NO in Colonic Homogenate and Serum of Blood-deficiency type Chronic Functionality Constipation Mice. **Methods:** Choose 72 healthy mice and divided into six groups randomly. Normal group and model group were given normal sodium, lactulose oral solution (LOS) group and YXRCF low, middle, high-dose group were given lactulose oral solution and different dose YXRCF. The period of intragastric infusing is two weeks. **Results:** The NO in colonic homogenate: YXRCF can decrease the content of NO, but LOS can't. The NO in serum: Both YXRCF and LOS can decrease the content of NO. **Conclusion:** YXRCF can decrease the content of NO in colonic homogenate and serum of Blood-deficiency type Chronic Functionality Constipation Mice.

Key Words: Nitrogen Monoxidum; Chronic Functionality Constipation; Yangxuerunchang Formula; Traditional Chinese Medicine

1 实验材料及方法

1.1 实验动物及分组 健康小鼠 72 只,体重 25~30 g,雌雄各半,由中国医学科学院实验动物中心提供。将 72 只小鼠随机分为 6 组,即:空白对照组,模型组、乳果糖组和养血润肠方小、中、大剂量组。

1.2 造模方法 参照许海尘^[1]等文献方法,将分组好的小鼠分别置入小鼠代谢笼(广安门医院动物中心提供),SPF 环境饲养。适应 3 天后,实验组小鼠皮下注射盐酸吗啡,2.5 mg/(kg·d),共 45 天,对照组注射等量等渗盐水共 45 天。实验组小鼠第 1

天以 75% 酒精棉球擦拭尾部,使血管扩张充血,剪去鼠尾尖端(0.25~0.3 cm),然后将鼠尾伤口浸入 37℃ 左右温水中直至小鼠失去血液约 0.3 mL,而后每周同法放血 1 次,共 6 次,造成血虚模型^[2]。这样就形成了血虚型便秘模型。

1.3 给药及检测方法 各组用药剂量:空白对照组和模型组不予任何药物,只灌服等量生理盐水;乳果糖组予乳果糖口服液,6.2 ml/(kg·d)。养血润肠方小、中、大剂量组分别给予 17, 34, 68 g/(kg·d)养血润肠方。造模成功后次日,各组分别按动物体表

* 作者简介:邱剑锋,男,汉族,1976 年生,江西赣县人,医学博士,中国中医科学院广安门医院肛肠科主治医师,研究方向为:肛肠疾病的临床研究。E-mail: qujianfeng2004@hotmail.com

面积换算法计算剂量灌服各组小鼠,每日 1 次,连续 14 天。末次给药后,摘除眼球取血,处死动物,打开腹腔,分离大肠,切取结肠段组织 0.2 g 于冰冷生理盐水中研磨成 10% 匀浆液。而后血清以 3 000 r/min 离心共 15 分钟,结肠匀浆液均用离心机以 10 000 r/min 离心共 10 分钟,分别取其上清液,按试剂盒方法分别测出结肠组织匀浆液及血清中 NO 含量。

1.4 统计学处理 实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 统计软件包进行统计学单因素方差分析。

2 结果

见表 1。

表 1 各组结肠匀浆组织及血清中 NO 含量($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	结肠匀浆 NO	血清 NO
空白对照组	2.70 $\pm$ 0.90**	15.47 $\pm$ 2.92**
模型组	4.42 $\pm$ 1.42	24.00 $\pm$ 6.93
乳果糖组	3.91 $\pm$ 1.28	19.00 $\pm$ 4.09*
养血润肠小剂量组	3.13 $\pm$ 1.04**	17.25 $\pm$ 4.09**
养血润肠中剂量组	2.88 $\pm$ 0.90**	17.35 $\pm$ 5.80**
养血润肠大剂量组	2.16 $\pm$ 0.75***	15.02 $\pm$ 3.26**

注:与模型比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与乳果糖组比较,☆ $P < 0.01$ 。

3 讨论

近年来研究发现,一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种新型信号分子调节内皮细胞、平滑肌、平滑肌细胞和神经等功能,参与炎症与组织损伤,在消化、循环、免疫等全身多系统的生理、病理生理及有关临床疾病中起着重要作用。NO 已成为当前的一个医学研究热点,并受到广泛重视。

NO 在肠道的生理活动中具有重要的生理功能^[3]。如调节肠粘膜血流量,抑制白细胞在血管内皮细胞表面粘附,抑制髓过氧化物酶活性(MPO)及杀死病原微生物等。NO 自由基的作用机制尚未完全明了,大多数学者倾向以下机制^[4]:NO 生成过程中有大量有很强生物氧化功能的自由基生成,这些自由基使巯基蛋白和脂质氧化,并影响线粒体电子传递功能,造成组织细胞损伤。超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)与 NO 往往在同一生物体内,二者能相互反应,形成氧化能力更强的(OONO^-),后者在一定的条件下分解为羟自由基($\text{OH}^\cdot$)和 $\text{NO}_2^{\cdot-}$ 自由基。这两种自由基的氧化性非常强,不仅导致自由基反应加剧,而且可迅猛攻击及损伤 DNA 和 SOD 等抗氧化酶分子结构中的巯基,从而促使 SOD 等合成和再生减少,显著减弱 SOD 等抗氧化酶清除或降低自由基的能力,对机体产生更大的细胞毒性。近几年

来的研究证实,NO 是非肾上腺素能、非胆碱能(NANC)神经所释放的主要抑制性递质,在胃肠运动及胃肠病理中起着重要的作用^[5]。

目前对 NO 的病理生理作用还不太清楚,但可以推测,释放 NO 的神经密度、NO 释放过程、或平滑肌对内源性 NO 的敏感性发生变化时,都可以使神经肌肉的功能异常。减少抑制性神经递质 NO,可以导致持续性的剧烈的非蠕动性收缩,如缺乏神经节细胞的巨结肠病和 LES 弛缓症。NO 释放增多或 LES 对 NO 的敏感性增加,可诱发胃食管反流性疾病。如果正常的兴奋性和抑制性神经活动失去平衡,则使肠 NO 系统的功能紊乱,从而导致肠道运动异常,如慢性特发性假性肠梗阻或便秘等^[6]。NO 与胃肠动力障碍性疾病(ENS),ENS 的病变常引起临床上常见的胃肠运动障碍。现在看来,氮能神经的病变为一重要原因。现认为先天性巨结肠是由于病变肠段内缺乏 NOS 阳性神经(即氮能神经)所致^[7,8]。王晓等^[7]还发现 IBS 病人中,便秘型病人肠壁 NOS 阳性神经增多,而腹泻型则减少。还有人发现特发性慢性便秘肠道肌间神经丛、粘膜下神经丛 NOS 阳性神经明显增多。

本实验显示:血虚型便秘模型组小鼠结肠匀浆及血清中 NO 含量增加,进一步证明 NO 含量增高对结肠的损害可能也是便秘的机制之一。实验显示,养血润肠方各剂量组均有降低结肠匀浆及血清中 NO 含量,乳果糖口服液对降低血清中 NO 含量有效,但对结肠匀浆中 NO 含量则无降低作用。说明养血润肠方具有减轻便秘模型小鼠的 NO 的损害,效果优于乳果糖口服液。

参考文献

- [1]许海尘,林琳,张红杰,等.慢传输型便秘模型的建立及其机制探讨[J].医学研究生学报,2004,17(6):502~505
- [2]李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991.282
- [3]Middleton SJ,shorthouse M,Hunter JD. Increased nitric oxide synthesis in ulcerative colitis[J]. Lancet,1993,341(8843):465~469
- [4]Bouthton-smith NK,Evans SM,Hawkey CJ,etal. Nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease[J]. Lancet,1993,342(8866):338~344
- [5]Moncadas,Palmer RMJ. Higgs EA. Nitric Oxide:physiology, pathophysiology and phammacology[J]. Pharmacol Rev,1991,43(2):109~142
- [6]Stark ME, Szurszewski JH. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease[J]. Gastroenterology,1992,103:1928~1949
- [7]王晓,尹朝礼,胡道松,等.肠动力疾病肠壁内 NOS、AChE 及 SP 阳性神经的分布[J].中华消化杂志,1997,17(4):195
- [8]Hanani M,Louzon V,Udassin R Nitric oxide in hirschsprungs disease[J]. Gastroenterology,1994,104:A507

(收稿日期:2007-01-09)