

• 实验研究 •

参苓白术散对溃疡性结肠炎大鼠超氧化物歧化酶及丙二醛的影响

李姿慧¹ 王 键^{1*} 蔡荣林¹ 王又闻² 胡建鹏¹ 江爱娟¹

(1. 安徽中医学院, 安徽省合肥市梅山路 103 号, 230038; 2. 上海中医药大学)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81173172); 安徽省高等学校自然科学基金项目(KJ2011A184)

* 通讯作者: wangjian6301@163.com, (0551)5169179

[摘要] 目的 探讨参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎(UC)大鼠作用机制。方法 将 60 只 Wistar 大鼠随机分为参苓白术散组(12g/kg)、柳氮磺吡啶组(0.5g/kg)、正常对照组和模型对照组(生理盐水 10ml/kg), 每组 15 只。除正常对照组外, 其余各组采用 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)/乙醇法结合高脂饮食、潮湿环境建立脾虚湿困型 UC 大鼠模型, 造模成功后各组大鼠每天灌胃 1 次, 14 天后各组大鼠进行结肠组织损伤程度评分, 检测结肠组织超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)水平。结果 模型对照组大鼠结肠组织损伤程度评分与正常对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 参苓白术散组、柳氮磺吡啶组大鼠结肠组织损伤程度评分与模型对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 参苓白术散组大鼠结肠组织损伤程度评分低于柳氮磺吡啶组($P < 0.05$)。与正常对照组比较, 模型对照组结肠组织 SOD 活性显著下降, MDA 水平显著升高($P < 0.01$); 与模型对照组比较, 参苓白术散组及柳氮磺吡啶组 SOD 活性显著升高、MDA 水平明显降低($P < 0.01$), 参苓白术散组在降低 MDA 水平方面显著优于柳氮磺吡啶组($P < 0.05$)。结论 参苓白术散能减少脾虚湿困型 UC 模型大鼠结肠黏膜充血、水肿及溃疡形成, 提高大鼠结肠组织 SOD 活性, 降低 MDA 水平, 可能是其发挥临床疗效的作用机制之一。

[关键词] 参苓白术散; 溃疡性结肠炎; 脾虚湿困; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

Effect of Shenling Baizhu Powder on Superoxide Dismutase and Malondialdehyde in Ulcerative Colitis Rats

LI Zihui¹, WANG Jian¹, CAI Ronglin¹, WANG Youwen², HU Jianpeng¹, JIANG Aijuan¹

(1. Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Anhui Province 230038; 2. Shanghai University of TCM)

ABSTRACT Objective To observe the effect and mechanism of Shenling Baizhu Powder (Powder of Ginseng, Poria and White Atractylodes) on ulcerative colitis (UC) rats with spleen deficiency damp encumbrance syndrome. **Methods** Sixty Wistar rats were randomized into four groups, i. e. Shenling Baizhu Powder group (12g/kg), sulfasalazine group (0.5g/kg), normal control group and model control group (normal saline, 10ml/kg), with 15 in each. The model rats were induced by environment and diet intervention combined with composite TNBS and ethanol. Fourteen days after modeling, the general conditions, score of colic injury degree, activity of superoxide dismutase (SOD) and content of malondialdehyde (MDA) were measured. **Results** The score of colic injury degree were significantly increased in the model control group as compared with that in the normal control group ($P < 0.05$). The scores of colic injury degree in the Shenling Baizhu Powder group and sulfasalazine group were significantly decreased as compared with that in the model control group ($P < 0.01$), especially in the Shenling Baizhu Powder group ($P < 0.05$). Comparing with the normal control group, the activity of SOD was decreased and the content of MDA was increased significantly in the model control group ($P < 0.01$). The activity of SOD was increased and the content of MDA was decreased significantly in the Shenling Baizhu Powder group and sulfasalazine group as compared with the model control group ($P < 0.01$), especially in the Shenling Baizhu Powder group ($P < 0.05$). **Conclusion** Shenling Baizhu Powder could reduce colon mucosa congestion, edema and ulceration, increase the activity of SOD and decrease and the content of MDA in UC rats with spleen deficiency damp encumbrance syndrome.

Keywords Shenling Baizhu Powder; ulcerative colitis; spleen deficiency damp encumbrance; superoxide dismutase; malondialdehyde

溃疡性结肠炎(UC)是一种病因不明的慢性非特异性炎症肠病,其发病机制较为复杂,免疫、遗传及环境等多种因素参与了 UC 的发病过程。近年来研究发现,氧自由基损伤在 UC 的发病机制中具有重要作用^[1-2]。中医学认为,UC 病机多为脾虚湿困,采用参苓白术散加减治疗脾虚湿困型 UC 在临床上取得了良好的效果^[3-4],但其作用机制尚缺乏深入研究。本研究拟通过观察参苓白术散对脾虚湿困型 UC 大鼠结肠组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的干预作用,探讨参苓白术散治疗脾虚湿困型 UC 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级健康 Wistar 大鼠 60 只,雌雄各半,体重 180~220g,由南京医科大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK(苏)20080004。

1.2 药物与试剂

2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS),由 Sigma 公司生产(批号:021M5009);参苓白术散购自安徽中医学院门诊部,方剂组成:莲子肉 9g,薏苡仁 9g,砂仁 6g,桔梗 6g,白扁豆(姜汁浸,去皮)12g,茯苓 15g,人参 15g,炙甘草 9g,白术 15g,山药 15g,陈皮 9g,按传统方法煎煮熬制,浓缩至每毫升含 1.2g 生药的药液备用;柳氮磺吡啶肠溶片由上海中西三维药业有限公司生产(批号:20101212);SOD 测定试剂盒,MDA 测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 主要仪器

TGL-18R 冷冻离心机,黑马仪器公司;756 型分光光度计,上海天普分析仪器有限公司;S21-6-I 型恒温水浴箱,上海跃进医疗器械厂;MB-III 酶标检测仪,北京市宾达英创科技有限公司。

1.4 模型建立及分组

参考文献^[5-6]进行动物模型复制。将 60 只大鼠适应性喂养 3 天,采用随机数字表法选取 15 只为正常对照组,常温正常喂养,每日给予生理盐水 2ml 灌胃 1 次;其余 45 只大鼠单日禁食 12h,并给予 4℃ 冰水灌胃 1 次(2ml/只),双日供应充足饲料并给予猪油灌胃 1 次(4ml/只),每日 8:00 至 16:00 令大鼠站在 2cm 深的水中,控制睡眠时间 8h,连续 20 天。第 21 天开始禁食不禁水 24h,用 10% 水合氯醛(3ml/kg)麻醉,用聚丙烯管插入大鼠肛门上段 8cm,注入 5% 的 TNBS 与 50% 乙醇 12:5 比例混合的复合物(其中 TNBS 120mg/kg)0.8ml,然后提

起大鼠尾部,持续倒置 1min,使造模剂充分渗入大鼠肠腔,然后使大鼠头部倾斜向下躺至自然清醒,自由饮食。2~3 天出现黏液脓血便即为模型复制成功。

将造模成功的大鼠采用随机数字表法随机分为模型对照组、参苓白术散组、柳氮磺吡啶组,每组 15 只。参苓白术散组大鼠根据等效剂量折算系数表折算给药剂量为每只 12g/(kg·d),柳氮磺吡啶组为每只 0.5g/(kg·d),正常对照组和模型对照组用 0.9% 生理盐水每只 10ml/(kg·d)灌胃,连续 14 天。

1.5 检测指标与方法

1.5.1 一般情况 记录各组大鼠饮水量、进食量,观察大鼠体重、大便性状、精神状态、毛色等一般情况。

1.5.2 结肠组织损伤程度 结肠黏膜损伤积分按结肠组织形态学评分标准^[7],见表 1。

表 1 结肠组织损伤程度评分标准

分数	肉眼观察结肠组织损伤程度
0	无损伤
1	黏膜充血、水肿,未出现溃疡
2	黏膜充血、水肿、轻度糜烂,无溃疡
3	黏膜充血、水肿、中度糜烂,有单个溃疡
4	黏膜充血、水肿、重度糜烂,有多处溃疡
5	黏膜充血、水肿、重度糜烂,有 >1cm ² 溃疡

1.5.3 结肠组织 SOD 活性、MDA 水平检测 实验结束后,断头处死动物,快速取距肛门约 8cm 处结肠组织,以冰冷的生理盐水冲洗,滤纸吸干,取结肠组织 0.5g 匀浆,低温 4℃ 离心,3000r/min,离心 10min,提取上清液,-20℃ 保存。采用硫代巴比妥酸反应法测定 MDA 含量,采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验和单因素方差分析。

2 结果

2.1 一般情况

正常对照组大鼠毛色正常有光泽,反应敏捷,小便正常,大便呈椭圆球状;模型对照组大鼠最初 2~3 天即见神态萎靡,第 5 天开始出现嗜睡懒动、大便变软,10 天左右出现饮食减少、竖毛、易脱毛,雄鼠阴囊下垂,15 天后有腹泻、肛周污秽等症状,经肛门灌入 TNBS 与乙醇复合物溶液后出现黏液脓血便、消

瘦、饮食减少等。参苓白术散组、柳氮磺吡啶组治疗后饮食逐渐增多,小便量增加,大便成形趋于正常。

2.2 各组大鼠结肠黏膜损伤程度比较

模型对照组大鼠结肠黏膜可见充血、水肿及溃疡形成,表 2 示,模型对照组大鼠结肠组织损伤程度评分与正常对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。参苓白术散组、柳氮磺吡啶组大鼠结肠组织损伤程度评分与模型对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),参苓白术散组大鼠结肠组织损伤程度评分低于柳氮磺吡啶组($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠结肠组织损伤程度评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	结肠组织损伤程度评分
正常对照组	15	0.79 ± 0.25
模型对照组	15	3.68 ± 0.84▲
参苓白术散组	15	1.21 ± 0.50△
柳氮磺吡啶组	15	1.98 ± 0.71△△*

注:与正常对照组比较,▲ $P < 0.01$;与模型对照组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与参苓白术散组比较,* $P < 0.05$

2.3 各组大鼠结肠组织 SOD 活性、MDA 水平比较

表 3 示,模型对照组大鼠结肠组织 SOD 活性明显下降,MDA 水平显著升高,与正常对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。参苓白术散组和柳氮磺吡啶组大鼠与模型对照组比较,SOD 活性显著升高、MDA 水平明显降低($P < 0.01$)。参苓白术散组大鼠结肠组织 MDA 水平与柳氮磺吡啶组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠结肠组织 SOD 活性、MDA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	SOD(U/ml)	MDA(nmol/ml)
正常对照组	15	1.31 ± 0.15	11.38 ± 1.31
模型对照组	15	0.89 ± 0.08▲	14.67 ± 1.63▲
参苓白术散组	15	1.25 ± 0.10△	11.59 ± 1.44△
柳氮磺吡啶组	15	1.28 ± 0.12△	12.95 ± 1.47△*

注:与正常对照组比较,▲ $P < 0.01$;与模型对照组比较,△ $P < 0.01$;与参苓白术散组比较,* $P < 0.05$

3 讨论

UC 根据其临床表现可归为中医学“肠澼”、“肠风下血”、“休息痢”范畴。《景岳全书》云:“饮食不节,起居不时,以致脾胃受伤,则水反为湿,谷反为滞,精华之气不能输化,乃致合污下降而泻痢矣”,可见脾虚是 UC 的重要病因。本病病程较长,早期症状不典型容易被忽视,脾虚日久生“湿”、“热”、“瘀”、“毒”,壅塞大肠,终致肠中脂膜腐败溃烂,化为脓血,相杂而下发为泻痢。脾虚湿困型常是 UC 的病机根本。

研究发现,氧自由基功能异常与 UC 结肠黏膜

组织损伤密切相关^[8]。氧自由基是促进炎症发生发展的重要因素,体内氧自由基过多可引起机体组织细胞的损伤,导致多种疾病发生。体内氧自由基还参与脂质过氧化反应,并产生脂质过氧化物,如 MDA,可引起蛋白质变性和交联,使 DNA 损伤、酶及激素失活,损害细胞及细胞膜。MDA 的水平又间接反映了机体细胞、组织受损程度^[9]。SOD 是机体清除氧自由基的重要酶类,对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,能有效地清除氧自由基从而抑制肠组织中的脂质过氧化反应,并能稳定细胞膜。SOD 的活力间接反映了机体清除氧自由基的能力。

参苓白术散是健脾化湿法的代表方剂,方中人参、白术、山药健脾益气,茯苓、薏苡仁、莲子肉淡渗利湿止泻,佐以砂仁醒脾和胃,陈皮理气行滞,桔梗宣肺利气,甘草健脾和胃、调诸药。诸药合用,补其中气,渗其湿浊,行其气滞。有研究报道参苓白术散具有明显改善胃肠动力、修复胃肠黏膜屏障的作用^[10-12]。对于参苓白术散治疗 UC 的研究多局限于对临床疗效的观察,对其效应机制尚缺乏研究及探讨。

本研究结果发现,脾虚湿困型 UC 大鼠神态萎靡、嗜睡懒动、饮食减少、竖毛、易脱毛,出现黏液脓血便等,结肠黏膜可见充血、水肿及溃疡形成,结肠组织损伤程度评分与正常对照组比较差异有统计学意义,SOD 活性较正常对照组明显下降,MDA 水平显著升高,表明脾虚湿困型 UC 大鼠清除氧自由基的能力下降,机体细胞、组织严重受损。给予参苓白术散灌胃,SOD 活性明显上调,MDA 含量显著降低,说明参苓白术散增强了 UC 大鼠机体的抗氧化能力,减少自由基对肠黏膜上皮细胞的损伤,从而达到治疗目的。另外,参苓白术散对脾虚湿困型 UC 大鼠结肠组织 MDA 的改善作用优于柳氮磺吡啶,说明参苓白术散对于脾虚湿困型 UC 的抗氧化能力优于柳氮磺吡啶。可见,参苓白术散对于脾虚湿困型 UC 具有较好的治疗作用,能显著提高结肠组织的 SOD 活性,降低 MDA 的水平,可能是其发挥临床疗效的作用机制之一。

参考文献

- [1] 安丽婷,霍丽娟,师永盛.美沙拉嗪颗粒联合双歧三联活菌胶囊对溃疡性结肠炎患者血清 SOD、MDA 的影响[J].山西医科大学学报,2011,42(5):416-419.
- [2] 马春曦,李志晋,詹丽英,等.溃疡性结肠炎大鼠肠组织中

- MDA、SOD 损伤指数的动态变化及其相关性研究[J]. 江西医学院学报, 2005, 45(3): 4—6.
- [3] 雒福东, 孔鹏飞, 唐学贵. 参苓白术散桃花汤合保留灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察[J]. 实用中医内科杂志, 2011, 25(2): 54—55.
- [4] 李惠霞. 参苓白术散加减配合中药灌肠治疗脾虚湿困型溃疡性结肠炎 47 例[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(6): 886.
- [5] 黄秀深, 沈涛, 刘伟, 等. 平胃散对湿困脾胃证模型大鼠部分免疫功能的影响[J]. 中医杂志, 2007, 48(8): 730—732.
- [6] 王雪茜, 王新月. 溃结饮 2 种给药途径对大鼠溃疡性结肠炎血清 IFN- γ 和 IL-4 的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(7): 468—471.
- [7] 黄明河, 刘心亮, 邵牧民. 理肠汤灌胃结合溃疡灵灌肠治疗大鼠溃疡性结肠炎实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2010, 18(1): 21—26.
- [8] Ishihara T, Tanaka K, Tasaka Y, et al. Therapeutic effect of lecithinized superoxide dismutase against colitis [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2009, 328(1): 152—164.
- [9] Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause [J]. Dig Dis Sci, 2007, 52(9): 2015—2021.
- [10] 林琼, 陈朝元. 参苓白术散对功能性不良患者血 MTL 及 VIP 的影响[J]. 内蒙古中医药, 2010, 29(11): 9—11.
- [11] 杨旭东, 张杰, 王巍. 参苓白术散对脾虚小鼠肠保护作用及其机制的研究[J]. 牡丹江医学院学报, 2009, 30(5): 9—11.
- [12] 张仲林, 钟玲, 臧志和, 等. 参苓白术散对动物胃肠动力影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12): 3151—3152.
- (收稿日期: 2012—04—25; 修回日期: 2012—08—03)
- [编辑: 洪 涛]

欢迎邮购《中国现代名中医医案精粹》

《中国现代名中医医案精粹》(1—6 集), 由董建华、王永炎两位院士牵头, 组织全国第一批、第二批、第三批全国老中医药专家学术经验继承工作指导老师编写, 共收录 434 位名老中医的 5172 例医案。这些医案是现代中医名家灵活运用中医理法方药治病活人的真实记录。通过阅读这些医案, 读者如同在名老中医的带领下一步一步走近患者, 进行思考分析, 对于广大的中医医生临床诊治、深入研究及成长发展具有重要的指导作用。医案中的按语或为名医本人所撰, 或由后人、门徒所加; 编者评注由丛书主编、副主编所撰。第 1、2 集主要收录 146 位名老中医的 1850 例医案, 第 3、4 集主要收录 142 位名老中医的 1884 例医案, 第 5、6 集主要收录 146 位名老中医的 1438 例医案。本丛书特点: ①所选中医在全国有广泛的影响, 极具权威性。②各集内对名中医均按行政区划和军队分类编排。③每则医案均由名老中医亲自选定, 真实、可靠。其中一部分名老中医已谢世, 因此所收医案尤为珍贵。④每集正文后均有该集的病名病证索引, 第 6 集书末附有丛书的总病名病证索引, 方便读者查阅。

《中国现代名中医医案精粹》(1—6 集) 为精装 16 开本, 已由人民卫生出版社于 2010 年 12 月出版。第 1 集 694 页, 定价 95 元; 第 2 集 669 页, 定价 92 元; 第 3 集 720 页, 定价 96 元; 第 4 集 820 页, 定价 108 元; 第 5 集 619 页, 定价 85 元; 第 6 集 558 页, 定价 75 元。单购一集每本加邮挂号费 5 元, 全套购买免邮费。款到寄书。汇款地址: 北京市东直门南小街 16 号中医杂志北京医海林音像书店; 邮政编码: 100700; 联系电话: (010)64013162, (010)64014411—3053。

欢迎邮购《骈选一选方治验实录》

在浩瀚的中医典籍中, 有方名的古方数以十万计。为了汰芜存菁, 借鉴古今医家的经验, 为现代临床服务, 作者在长期从事中医方药文献研究和临床诊疗工作的基础上, 在完成“中医古方筛选方案和利用研究”课题研究的基础上, 经过深入发掘, 编纂完成《骈选一选方治验实录》(上下两册)。本书以有验案资证作为筛选古方的重要条件, 结合古方其他价值特征, 从近 10 万首方剂中, 筛选出 583 首古方及其相关验案 5500 余则。这些优选出的古方, 既不乏传世名方, 也有相当一部分以往未被方剂学教材或方剂选本收录过的“新面孔”。从 10 万首方中最终优选出 500 余首方, 其比例约为 200 选 1; 又鉴于治验记录是本书的主要内容, 故名为《骈选一选方治验实录》。

全书分上、下册, 上册收录汉唐方(张仲景方、晋唐方), 下册收录宋元明清方(宋元方、明清方), 编次以方为纲, 医案为目, 每一方剂又分方源记载和治验实录(分为中医病证医案、西医病症医案)两部分。书末附有方名索引、中医病证索引、西医病症索引和引用书目, 方便读者检索。本书汇集古今文献, 资料丰富, 拥有本书, 就如同跟随古今名医侍诊, 通过品读古方所附的具体病例, 领悟出该方的适应证和用法秘诀, 可大大提高中医治疗的疗效。本书是中医各科临床医生提高临床疗效必备的案头书, 又可为各中药生产厂家研发新药提供借鉴。

《骈选一选方治验实录》(上下两册), 为 16 开精装本, 1584 页, 已由人民卫生出版社于 2011 年 1 月出版。上册定价 99 元, 下册定价 108 元, 全套 207 元。邮购汇款地址: 北京市东直门南小街 16 号中医杂志医海林音像书店; 邮政编码: 100700; 联系电话: (010)64013162, (010)64014411 转 3053。请在汇款附言中注明所购书名、上下册或全套及数量, 邮购单册需加邮费 10 元, 全套及 2 册以上免邮费。欢迎邮购。