

·实验研究·

慢性阻塞性肺疾病痰瘀阻肺证大鼠模型的建立^{*}

李泽庚 王传博 彭 波 童佳兵 杨 程 张四春

(安徽中医学院第一附属医院 合肥 230031)

摘要:[目的] 采用病证结合的造模方法建立慢性阻塞性肺疾病(以下简称慢阻肺)痰瘀阻肺证大鼠模型。[方法] 利用强迫游泳、烟熏、低氧环境耗伤肺气,使其肺气虚,引起痰饮瘀血内停,建立慢阻肺痰瘀阻肺证大鼠模型。4周后测大鼠肺功能、肺动脉压、血流变及心肺病理学观察。[结果] 模型大鼠的症状、肺功能、肺动脉压、血流变及心肺病理学观察符合慢阻肺痰瘀阻肺证的表现。[结论] 实验采用复合因素造模方法复制的慢阻肺痰瘀阻肺证模型符合中医学和现代医学原理,具有时间短、易复制、可操作性强的特点,亦符合临床的实际情况。

关键词:慢性阻塞性肺疾病 痰瘀阻肺证 大鼠模型

中图分类号:R562.5 文献标识码:A 文章编号:1672-1519(2010)01-0043-03

慢性阻塞性肺疾病简称慢阻肺,是一组气流受限为特征的肺部疾病,气流受限不完全可逆,呈进行性发展,后期可引起全身各器官的损害。在中国属常见病、多发病,病死率较高,严重危害人民健康。据世界银行/世界卫生组织发表的研究,至2020年将成为世界疾病经济负担的首位^[1]。西医对慢阻肺的治疗多能改善症状,但很难阻断其病程进展。近几年,中医及中西医结合工作者在慢阻肺方面做了大量探讨,认为痰瘀互结为慢阻肺发生发展中的重要过程。动物实验是疾病研究的重要手段,切实可行的动物模型是实验成功的关键所在,为了进一步探索慢阻肺的病因病机及发展转归,特建立慢阻肺痰瘀阻肺证大鼠模型。

1 材料

1.1 实验动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠 40 只,体重(230±20)g,南京医科大学实验动物中心提供。随机分为模型组和正常对照组,每组 20 只。动物饲养室为清洁级,控制温度(22±2)℃。

1.2 仪器与设备 动物实验低氧装置(长沙华曦电子科技有限公司),动物强迫游泳装置,熏烟箱(安徽中医学院第一附属医院),JEM21230 型透射电子显微镜(日本产),徕卡 2135 型石蜡切片机(德国徕卡公司生产),Olympus BX250 型显微镜(日本 Olympus 光学工业株式会社生产),AniRes2003 动物肺功能分析系统(北京贝兰博科技有限公司),多导生理记录仪

(日本光电公司),JY-2 系列电子天平(上海精胜仪器厂),红梅牌香烟(红塔烟草集团)。

2 方法

2.1 模型建立的中医理论基础 《素问·灵兰秘典论》曰:“肺者,相傅之官,治节出焉。”说明肺有治理调节全身水液代谢及血液运行的作用,此作用是依赖“肺主气”而实现的。肺“宣发”和“通调水道”功能是保证“水津四布”的重要环节,又因“气为血之帅”,血液的运行需要气的推动,若肺气亏虚,则肺失治节,水液运行失常,停蓄为痰,血液运行无力,而致瘀血,终成气虚痰瘀互结。正如《丹溪心法·咳嗽》篇说:“肺胀而咳,或左或右不得眠,此痰夹瘀血碍气而病。”

2.2 模型建立的方法 参照李泽庚^[2]、肖诗亮^[3]造模方法,建立病证结合动物模型。

依据“劳则气耗”(《素问·举痛论》),每天让大鼠放入恒温水槽[(43±1)℃,深 35 cm]中强迫游泳 30 min,使其劳累而耗伤肺气,然后置于 1 m³ 熏烟箱内,每天烟熏 1 h,每次 20 支去过滤嘴红梅牌香烟(焦油含量:13 mg,烟碱含量:1.1 mg)。最后将大鼠置于常压低氧装置内(每天 7 h),通入氮气,用自动测氧仪调控氧浓度至(10±0.5)%。二氧化碳(CO₂)传感器控制舱内 CO₂ 始终维持在 0.03%。温度传感器及其控制电路可维持舱内温度始终恒定在 22~24℃。蒸气由变色硅胶吸收(烘干后可反复使用),装置有二小孔与外界相通,确保舱内的常压状态,舱体由有机玻璃制造,可观察大鼠活动、进食、饮水等情况。造模每周进行 6 d,第 7 天暂停,连续 4 周。

2.3 观察指标与测试

2.3.1 一般状况 观察各组大鼠呼吸、毛发、活动

^{*} 基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2008CB517404),国家自然科学基金项目(30572387)。

作者简介:李泽庚(1962-),男,硕士,主任医师,硕士生导师,主要从事中医药防治呼吸系统疾病临床与基础研究。

通讯作者:王传博。

量、食量、体质量等情况。

2.3.2 肺功能的测试 按数字表达法每组取 10 只大鼠进行肺功能的测试,将大鼠用 2%的戊巴比妥按 1mL/kg 腹腔注射麻醉后,于颈部正中行气管切开,插入连接有三通开关的气管插管,仰卧位放置于小动物肺功能测定仪的密闭体积描计器内,记录各参数值。

2.3.3 血液流变学 大鼠肺功能检测结束后,经腹主动脉采用肝素抗凝管取血 3 mL,检测全血黏稠度、血浆黏度指标。

2.3.4 肺动脉压的测定 参照孙波^[4]测定方法,每组取剩余 10 只大鼠行右心导管术测肺动脉压。将大鼠用 2%的戊巴比妥(1 mL/kg)腹腔注射麻醉后,颈部正中作长约 1.5 cm 的纵行切口,并游离右颈外静脉约 1 cm 结扎、剪口,用一充盈肝素溶液的聚乙烯管(外径 0.9 mm,内径 0.6 mm)经颈静脉插管至右心室及肺动脉。根据监视器所示压力曲线波形判断导管尖端的位置,用多导生理记录仪记录肺动脉压力。

2.3.5 心肺病理学观察 肺动脉压的测定结束后,取大鼠右心室及右中叶肺组织块 2 mm×2 mm,分别放入 10%中性甲醛中固定,石蜡包埋切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜观察其变化。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件分析。所有数据进行正态性检验,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两样本均数比较采用独立样本 t 检验。当 $P < 0.05$ 具有统计学差异。

3 结果

3.1 一般状况观察 正常对照组活泼好动,毛发光泽,体质量逐渐增加,呼吸平稳,模型组活动量减少,行动迟缓,拱背蜷卧,撮毛,食量减少,体质量增幅减轻,呼吸急促,咳嗽,口鼻分泌物增多,偶可闻及气道痰鸣音,鼻部、唇周及爪甲发绀,舌质紫黯,可见瘀点。

3.2 肺功能、血液流变学、平均肺动脉压检测 由表 1 可以看出,模型组用力呼气容积(FVC)、第 0.3 s 用力呼气容积(FEV0.3)、FEV0.3/FVC 较正常组均有明显下降($P < 0.01$)。由表 2 得知模型组全血高切、低切、血浆黏度较正常组均显著升高($P < 0.01$)。由表 3 知模型组平均肺动脉压力较正常组显著升高($P < 0.01$)。

3.3 心肺病理学观察 大体标本观察显示模型组较正常组肺表面凹凸不平,弹性差,肺叶表面瘀点明显,心脏扩大,右心室壁明显增厚,心内膜有纤维性

表 1 肺功能检测结果($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Determination of the pulmonary function ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FVC(mL)	FEV0.3(mL)	FEV0.3/FVC(%)
正常组	10	4.94±0.25	4.58±0.32	92.50±2.75
模型组	10	2.90±0.18*	2.22±0.12*	76.83±4.95*

注: * 与正常组相比 $P < 0.01$ 。

表 2 血液流变学检测结果($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Results of the blood rheology

		determination($\bar{x} \pm s$)		mPa/s
组别	<i>n</i>	全血高切	全血低切	血浆黏度
正常组	10	4.199±0.285	12.531±1.604	1.684±0.073
模型组	10	6.288±0.424*	17.341±0.790*	3.760±0.133*

注: * 与正常组相比 $P < 0.01$ 。

表 3 平均肺动脉压检测结果($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Results of the mPAP level($\bar{x} \pm s$) mPAP

组别	<i>n</i>	平均动脉压
正常组	10	2.27±0.22
模型组	10	4.32±0.53*

注: * 与正常组相比 $P < 0.01$ 。

增生。光镜下示正常组肺泡无扩大,内无出血及炎性细胞浸润,肺细小动脉未见明显增厚,管壁均匀一致(见图 1)。模型组肺泡充血及炎性细胞浸润(见图 2),部分肺泡扩大,肺泡间隔增宽(见图 3),毛细血管扩张充血,肺细小动脉狭窄、管壁明显增厚(见图 4)。光镜下示正常组右心室心肌细胞横纹清晰,核居中,右心室无增厚(见图 5)。模型组右心室明显肥厚,可见一些肥大的心肌细胞,核轻度增大及深染(见图 6)。

4 讨论

慢阻肺由于其患病人数多,病死率高,社会经济负担重,已成为一个重要的公共卫生问题。对其积极采用综合性治疗措施可以延缓病变进展,但目前尚无法阻断和逆转其病程。中医学认为“肺者,相傅之官,治节出焉”,肺有治理调节全身水液代谢及血液运行的作用。肺主气,长期的肺气虚导致肺失治节,则引起痰饮、瘀血内停。慢阻肺出现痰瘀阻肺证时相当于后期由于长期的缺氧导致肺动脉高压阶段。探索出一种可以阻断其病变发展,甚至使其病变逆转的防治方法在现阶段具有重大科学意义。动物实验是疾病研究的重要手段,切实可靠的动物模型是实验成功的关键所在。

从实验结果可以看出,模型大鼠的症状符合慢阻肺痰瘀阻肺证的表现。研究结果显示,模型组大

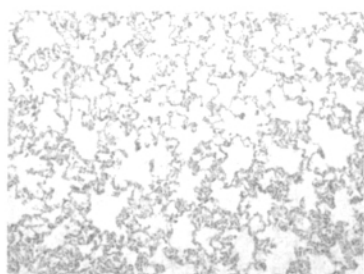


图1 正常肺组织 HE 染色×200
Fig.1 Normal lung tissue HE×200

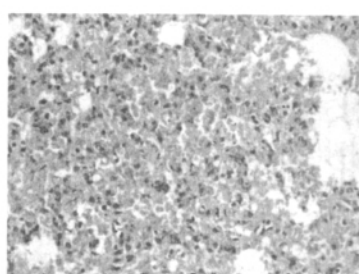


图2 模型组肺泡充血及炎性细胞浸润 HE 染色×400
Fig.2 Congestion of pulmonary alveolus and inflammatory cells infiltration in control group HE×400

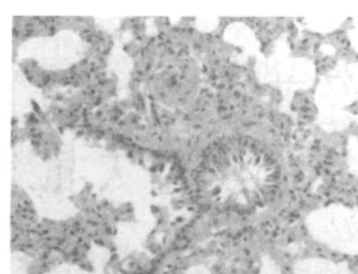


图3 模型组肺泡扩大,肺泡间隔增宽 HE 染色×400
Fig.3 Pulmonary alveolus expanding and thickening of alveolus septa in control group HE×400

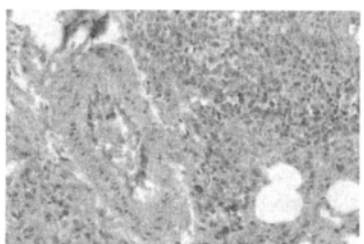


图4 模型组肺毛细血管变化 HE 染色×400
Fig.4 Changes of pulmonary capillary in control group HE×400



图5 正常心肌组织 HE 染色×200
Fig.5 Normal myocardial tissue HE×200

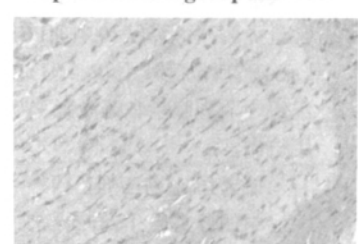


图6 模型组右心室变化 HE 染色×200
Fig.6 Changes of right ventricle hypertrophy in control group HE×200

鼠的肺功能、血液流变学、心肺病理改变均符合慢阻肺痰瘀阻肺证的病理特点。研究结果证明,用本实验采用复合因素的方法复制慢阻肺痰瘀阻肺证模型符合中医学和现代医学原理,具有时间短、易复制、可操作性强的特点,亦符合临床的实际情况。为进一步研究奠定了科学基础。

参考文献:

[1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性

肺疾病诊治指南[J].中华结核和呼吸杂志,2007,30(1):8-9.

[2] 李泽庚,彭波,张杰根.肺气虚证模型大鼠的建立[J].北京中医,2005,24(1):53-55.

[3] 肖诗亮,高思海,杨辰垣.常压缺氧性大鼠肺动脉高压模型的改进[J].临床心血管病杂志,2001,17(4):190-191.

[4] 孙波,刘文利.右心导管测定大鼠肺动脉压的实验方法[J].中国医学科学院学报,1984,6(6):465-467.

(收稿日期 2009-10-12)

Establishment of rat model of chronic obstructive pulmonary disease with stagnated phlegm obstructing lung

LI Ze-geng, WANG Chuan-bo, PENG Bo, et al

(The First Affiliated Hospital of Anhui College of TCM, Hefei 230031, China)

Abstract: [Objective] To establish the rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with stagnated phlegm obstructing lung by combining the disease and symptoms. [Methods] The COPD with stagnated phlegm obstructing lung was established in rats with compelled swimming, exploding in the circumstances of smoke and hypoxia for 4 weeks. The pulmonary function, pulmonary arterial pressure, blood rheology and the pathological changes of the rats' lung and heart were observed. [Results] The symptoms, pulmonary function, pulmonary arterial pressure, blood rheology and the pathological changes in the lung and heart in the model rats were coincident with COPD with stagnated phlegm obstructing. [Conclusion] This study has established a model of COPD with stagnated phlegm obstructing lung based on the principles of Chinese and Western medicine. This method is feasible and easy to be duplicated in a short period of time and compatible in the clinical practice.

Key Words: COPD; stagnated phlegm obstructing lung; the rat model