

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00208

• 研究快报 •

二七方治疗急性放射性肠炎的疗效及可能机制

周冬枝, 刘文, 夏欣欣, 李跃军, 王瑞, 王玉

西安交通大学医学院第一附属医院中医科, 西安 710061

[摘要] **目的** 探讨二七方对急性放射性肠炎的疗效及可能的作用机制。**方法** SD大鼠53只,随机分为正常组($n=8$)、模型组($n=15$)、白头翁汤组($n=15$)及二七方组($n=15$)。采用6 MV高能X线建立急性放射性肠炎大鼠模型,连续灌胃给药7 d,光学显微镜下观察及图像分析仪测定其相关的形态学指标,并测定小肠组织匀浆NO含量、SOD活性及MDA含量。**结果** 二七方组大鼠肠组织绒毛高度 $[243\pm 9]$ vs $[211\pm 21]$ μm 、隐窝深度 $[171\pm 12]$ vs $[142\pm 10]$ μm 、黏膜 $[460\pm 21]$ vs $[420\pm 37]$ μm 及全层壁厚度 $[609\pm 19]$ vs $[569\pm 21]$ μm 均高于模型组($P<0.05$),与白头翁汤组比较差异无统计学意义;二七方组大鼠肠组织匀浆NO $[0.88\pm 0.11]$ vs $[1.65\pm 0.12]$ $\mu\text{mol/g}$ 及MDA含量 $[3.20\pm 0.12]$ vs $[4.75\pm 0.24]$ nmol/mg与模型组比较均降低($P<0.05$),SOD活性升高 $[212\pm 13]$ vs $[150\pm 11]$ U/mg, $P<0.05$],与白头翁汤组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 二七方对肠黏膜结构具有保护作用,能减少肠组织NO生成、减轻炎症反应及组织过氧化损伤,抗自由基损伤可能是其治疗急性放射性肠炎的机制之一。

[关键词] 放射疗法;急性放射性肠炎;二七方;一氧化氮;脂质过氧化作用**[中图分类号]** R 574 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)02-0208-04

Therapeutic effects of *Erqi* decoction on acute radiation enteritis and the related mechanism

ZHOU Dong-zhi, LIU Wen, XIA Xin-xin, LI Yue-jun, WANG Rui, WANG Yu

Department of Traditional Chinese Medicine, First Hospital of Medicine College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi, China

[Abstract] **Objective** To investigate the therapeutic effects of *Erqi* decoction (EQD) for treatment of acute radiation enteritis in SD rats and the related mechanism. **Methods** A total of 53 SD rats were randomly divided into normal group model group, EQD group and *Baitouwengtang* (BTWT) group, with 8 rats in the normal control group and 15 in each of the rest groups. Rats in the latter three groups were exposed to a single dose of 10 Gy 6 MV higher-energy X-rays on the abdominal region to establish the acute radiation enteritis models. Then all the rats were intragastrically administered with corresponding agents for a consecutive of 7 days. Then 10 ml ileum samples in ileocecal junction were obtained from each animal under general anesthesia. The morphologic indices were examined by light microscopy and the image analysis system. The nitric oxide (NO) levels, superoxide dismutase (SOD) activities and malondialdehyde (MDA) levels in the small intestinal homogenates were measured by spectrophotometer. **Results** The EQD group had significantly higher villus height ($[243\pm 9]$ vs $[211\pm 21]$ μm), deeper crypt ($[171\pm 12]$ vs $[142\pm 10]$ μm), thicker mucosa ($[460\pm 21]$ vs $[420\pm 37]$ μm) and entire wall thickness ($[609\pm 19]$ vs $[569\pm 21]$ μm) than the model group ($P<0.05$), and the above parameters were not significantly different between the EQD group and the BTWT group. EQ group had significantly lower NO level ($[0.88\pm 0.11]$ vs $[1.65\pm 0.12]$ $\mu\text{mol/g}$), higher MDA level ($[3.20\pm 0.12]$ vs $[4.75\pm 0.24]$ nmol/mg) and lower SOD activity ($[212\pm 13]$ vs $[150\pm 11]$ U/mg, $P<0.05$) in the intestine compared with the model group ($P<0.05$). EQD group had significantly lower NO and MDA levels and higher SOD activity compared with the BTWT group ($P<0.05$). **Conclusion** It is indicated that EQD has protective effect against intestine mucosa damage in acute radiation enteritis rat model by reducing the intestinal NO generation, improving intestinal SOD activity, reducing MDA generation. Anti-free radical injury may be one of the mechanisms for treatment of acute radiation enteritis.

[Key words] radiotherapy; acute radiation enteritis; *Erqi* decoction; nitric oxide; lipid peroxidation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(2):208-211]

[收稿日期] 2011-05-12 **[接受日期]** 2011-11-24**[基金项目]** 陕西省中医药管理局基金(JC33). Supported by Shaanxi Administration of Traditional Chinese Medicine Fund (JC33).**[作者简介]** 周冬枝,教授. E-mail: wxg2397@nwpu.edu.cn

急性放射性结肠炎是盆腹腔恶性肿瘤放射治疗后最常见的并发症,已成为肿瘤临床治疗中的棘手难题,目前尚缺乏有效治疗手段。多年来,我科采用秦巴山草药治疗该病,取得了良好疗效,总结出有效验方——二七方,为进一步探讨该方的疗效及作用机制,本研究观察了该方药对急性放射性结肠炎大鼠肠黏膜结构及肠组织自由基的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物及药材 健康成年清洁级SD雄性大鼠53只,体质量为200~220 g,由西安交通大学医学院动物实验中心提供[动物批号SCXK(陕西)2008-003]。二七方(蜈蚣七、黄柏、大黄等)及白头翁汤(白头翁、黄柏、黄连、秦皮)所含中药材均购自西安交通大学医学院第一附属医院中药房,产地明确,经西安交通大学医学院药学院生药学教研室刘俊田教授鉴定为地道药材。以常规方法煎煮,并浓缩至适当浓度:白头翁汤0.47 g/ml、二七方0.88 g/ml(相当于成人最低有效剂量,即白头翁汤4.69 g/kg,二七方8.85 g/kg)。

1.2 主要仪器及试剂 直线加速器系美国Varian公司产品;Motic Med 6.0数码医学图像分析系统系厦门麦克奥迪有限责任公司产品;721型光栅分光光度计系上海精密仪器仪表公司生产;一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.3 造模及分组 实验大鼠适应性喂养3 d,禁食12 h后,预留8只为正常组,其余采用10%水合氯醛2.5

ml/kg全麻后固定,6 MV高能X线全腹部(上至剑突,下至耻骨联合)单次照射,源皮距100 cm,吸收剂量率200 cGy/min,总吸收剂量10 Gy,建立急性放射性结肠炎大鼠动物模型。随机分为模型组(生理盐水 $1.0 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、二七方(生药量 $8.85 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、白头翁汤组(生药量 $4.69 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),每组各15只。照射后6 h开始灌胃给药,每日1次,连续7 d,末次给药后12 h处死动物并采集标本。

1.4 检测指标

1.4.1 肠黏膜形态学观察 取2 cm回肠组织,固定后用4℃预冷的生理盐水洗净,包埋、切片后H-E染色,显微镜下观察组织学变化,图像分析仪随机全盲测量小肠绒毛高度、隐窝深度、黏膜和全层壁厚。

1.4.2 生化指标检测 取小肠组织用高速分散器匀浆,制成10%的组织匀浆测定NO(硝酸还原酶法)、SOD(黄嘌呤氧化酶法)、MDA(硫代巴比妥酸法),均严格按试剂盒说明操作。

1.5 统计学处理 采用SPSS 13.0统计软件进行处理,均以 $\bar{x} \pm s$ 表示;组间比较用方差分析,两两比较用 q 检验;检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 照射后一般情况 大鼠照射后第3天起均有不同程度的腹泻,3~4 d为黏液血便,模型组大鼠较白头翁汤组及二七方组大鼠黏液血便明显增多且腹泻伴有大量未消化的食物残渣。实验过程中,各组大鼠死亡情况见表1。

表1 照射后不同天数大鼠死亡数
Tab 1 Death of rats after irradiation

Group	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	N
Normal	0	0	0	0	0	0	0	
Model	0	0	3	3	1	0	0	
BTWT	0	0	3	2	1	0	0	
EQD	0	0	2	2	1	0	0	

BTWT: Baitouwengtang; EQD: Erqi decoction

2.2 光镜下观察结果 结果显示:模型组小肠绒毛水肿,炎性细胞浸润,部分绒毛上皮细胞脱落及糜烂,绒毛高度和隐窝深度降低,小肠隐窝内细胞有丝分裂相少见。各给药组小肠绒毛均较完整,水肿较轻,未见溃疡和炎性渗出物,绒毛高度和隐窝深度较大,隐窝内细胞有丝分裂相多见(图1)。

2.3 小肠形态学指标测定 结果(表2)表明:模型组大鼠肠组织绒毛高度、隐窝深度、黏膜及全层壁厚

度均低于正常组($P < 0.05$);二七方组及白头翁汤组大于模型组($P < 0.05$);二七方组与白头翁汤组比较虽有升高,但差异无统计学意义。

2.4 小肠组织NO、SOD、MDA测定 结果(表3)表明:模型组MDA及NO含量均较正常组升高,SOD活性下降($P < 0.05$);二七方组NO及MDA含量较模型组或白头翁汤减低,SOD活性升高($P < 0.05$)。

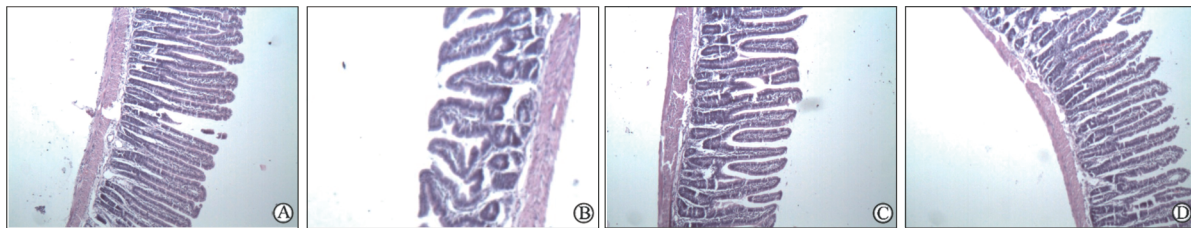


图 1 各组大鼠肠黏膜组织 H-E 染色结果

Fig 1 Mucosa tissues of rats in each group (H-E staining)

A: Normal group; B: Model group; C: *Baitouwengtang* group; D: *Erqi* decoction group. Original magnification: $\times 100$

表 2 各组小肠组织形态学比较

Tab 2 Comparison of intestinal histomorphology of different groups

Group	N	Villus height	Crypt depth	Thickness of mucosa	Entire wall thickness
Normal	15	252±14*	179±20*	462±24*	616±29*
Model	8	211±21	142±10	420±37	569±21
BTWT	9	238±14*	160±16*	450±24*	592±16*
EQD	10	243±9*	171±12*	460±21*	609±19*

BTWT: *Baitouwengtang*; EQD: *Erqi* decoction. * $P < 0.05$ vs model group

表 3 各组小肠组织 NO、SOD、MDA 值比较

Tab 3 Comparison of NO, SOD and MDA in the intestine of different groups

Group	N	NO($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	SOD z_B ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)	MDA($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)
Normal	15	0.49±0.046*	234±11*	2.46±0.13*
Model	8	1.65±0.12	150±11	4.75±0.24
BTWT	9	1.17±0.09*	195±12*	3.43±0.12*
EQD	10	0.88±0.11* Δ	212±13* Δ	3.20±0.12* Δ

BTWT: *Baitouwengtang*; EQD: *Erqi* decoction. * $P < 0.05$ vs model group, $\Delta P < 0.05$ vs BTWT group

3 讨论

由于放射治疗史较短,中医文献中无放射性肠炎的相关记载,现多认为此病属中医“泄泻”、“痢疾”、“肠癖”范畴。病机总属本虚标实,虚实夹杂。放射性肠炎的发生既存在肿瘤正气亏虚之本,同时有癌毒结聚之实性包块,加之外邪放射线——“热毒”侵犯,故脾气亏虚,水湿不化,痰瘀互结且肠络灼伤而湿热毒邪结聚。湿热侵袭大肠,胶结不解,气机壅滞,故腹痛、里急后重。湿热熏灼,伤及气血,脉络损伤,血腐为脓,故下利脓血^[1]。《成方便读》有云:“夫痢之为病,固有寒热之分,然热者多寒者少,总不离邪滞蕴结,以致肠胃之气不宣,酿为脓血稠黏之属。虽有赤白之分,寒热之别,而初起治法皆可通因通用”。因此,我们认为急性放射性肠炎患者虽存在肿瘤正气亏虚之本,然急性放射性肠炎属热毒侵犯所致湿热毒邪结聚,肿瘤属痼疾,“急则治其标”,治疗应以清热解毒利湿为主,泻下通腑为辅。

白头翁汤是中医治疗热毒痢疾的经典方剂,功能清热解毒、凉血止痢,历来被认为是治热毒血痢的首选之方。现代药理学研究亦证明白头翁汤具有抗菌、抗炎、抗溃疡作用^[2]。目前治疗急性放射性肠炎,临床多以白头翁汤为基本方加减,具有良好的疗效^[3],故选为阳性对照。二七方中蜈蚣七等清热解毒、止血止泻,黄柏等清热利湿,大黄通腑泻热,祛积破瘀,全方共奏解毒利湿,凉血止痢之功。本实验结果表明,经二七方治疗的大鼠腹泻、黏液血便较模型组减少,说明该方有良好的缓解急性放射性肠炎临床症状的作用。

急性放射性肠炎主要表现为黏膜损害。本实验结果显示,模型组大鼠绒毛水肿,炎性细胞浸润,部分绒毛上皮细胞脱落及糜烂,绒毛高度和隐窝深度降低,隐窝内细胞有丝分裂相少见;二七方组绒毛结构较完整,黏膜水肿较轻,未见溃疡和炎性渗出物,隐窝内细胞有丝分裂相多见,绒毛高度和隐窝深度较大,黏膜厚度和全层厚度均较模型组升高;与白头

翁汤比较差异无统计学意义。结果表明二七方能减轻急性放射性结肠炎模型大鼠小肠黏膜组织损伤,其作用与白头翁汤相当。

研究表明,NO是放射性结肠炎发生过程中重要的炎症介质之一,可与炎症细胞因子相互激活,加重炎症损伤或使炎症持续存在。NO可介导IL-2使微血管壁通透性增高,促进血管发生,导致结肠组织充血水肿和功能障碍;可激活巨噬细胞发挥细胞毒作用,导致周围组织损伤^[4-5]。Freeman等^[6]研究发现,电离辐射可以通过增加iNOS的活性而诱导NO的产生,腹部放射2h后肠组织iNOS含量即开始升高。王黎等^[7]实验发现,腹部放射后的大鼠肠组织匀浆NO含量明显增高,且肠黏膜厚度明显变薄,肠绒毛紊乱,腺体被破坏。本实验结果显示,模型组大鼠肠组织匀浆中NO含量较正常组明显升高,二七方组NO含量显著低于模型组,与白头翁汤组比较亦显著降低,表明二七方能降低放射后大鼠肠组织NO含量,其作用优于白头翁汤。该方可能通过减少肠组织NO生成,减轻肠黏膜损伤,从而发挥治疗急性放射性结肠炎的作用。

氧自由基与急性放射性肠损伤密切相关。电离辐射可因水辐解产生大量的自由基,氧自由基可通过直接攻击作用或氧化作用造成DNA及蛋白质等生物大分子的损伤,从而造成肠组织损伤^[8-9];此外氧自由基是炎症引发剂,可激活NF- κ B诱导细胞因子及炎症介质的高表达,同时炎症因子又可引发炎症细胞的“呼吸爆发”而产生大量氧自由基,最终形成正反馈环而引发炎症或使炎症长期存在^[9-10]。SOD是生物体内重要的氧自由基清除剂,其活力直接反映机体清除氧自由基、抗脂质过氧化损伤能力。MDA为脂质过氧化分解的主要次级小分子产物,是一种具有很强生物毒性的物质,不仅能反映体内自由基的活性,还能间接反映组织脂质过氧化损伤程度。本实验结果显示,二七方组SOD活性高于模型组,MDA含量低于模型组;与白头翁汤组比较,SOD活性亦升高,MDA含量降低。这说明该方能提高肠组织清除氧自由基的能力,减轻脂质过氧化损伤,从而对抗辐射对肠黏膜的损伤,其作用优于白头翁汤。

现代药理研究证实,二七方中的大黄^[11]、黄柏^[12]等均能提高肠黏膜SOD活性,减轻脂质过氧化损伤。本实验结果表明,经二七方治疗的大鼠肠

黏膜损伤明显减轻,推测该方对肠黏膜保护作用可能与该方补充了外源性抗氧化酶,降低自由基链式反应,减轻氧化损伤有关。

4 利益冲突

所有作者声明本研究不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 张 华,李亚琴. 放射性结肠炎的病机与讨论[J]. 陕西中医, 2006,27:82.
- [2] 韩进庭. 白头翁的药理作用及临床应用[J]. 现代医药卫生, 2007,23:2123-2124.
- [3] 叶海滨,汪德文. 白头翁汤防治放射性直肠炎43例[J]. 河南中医, 2007,27:55.
- [4] Frank S, Kämpfer H, Podda M, Kaufmann R, Pfeilschifter J. Identification of copper/zinc superoxide dismutase as a nitric oxide-regulated gene in human (HaCaT) keratinocytes: implications for keratinocyte proliferation[J]. *Biochem J*, 2000, 346 Pt 3:719-728.
- [5] Cirino G, Distrutti E, Wallace J L. Nitric oxide and inflammation[J]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2006,5:115-119.
- [6] Freeman S L, MacNaughton W K. Ionizing radiation induces iNOS-mediated epithelial dysfunction in the absence of an inflammatory response[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000,278:G243-G250.
- [7] 王 黎,李德杏,张雪力,丁小凡,赵 琳,王 轶. 参芪复方煎剂对急性辐射损伤肠道一氧化氮的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2003,23:125.
- [8] Bergamini C M, Stefania G, Alessia D, Carlo C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage[J]. *Curr Pharmaceut Design*, 2004,10:1611-1626.
- [9] Gill R, Tsung A, Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors[J]. *Free Rad Biol Med*, 2010,48:1121-1132.
- [10] Logan R M, Stringer A M, Bowen J M, Yeoh A S, Gibson R J, Sonis S T, et al. The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: pathobiology, animal models and cytotoxic drugs[J]. *Cancer Treatment Rev*, 2007,33:448-460.
- [11] 刘瑞林,张 嘉,吴 薇,刘牧林. 大黄素对肠缺血/再灌注损害保护作用的实验研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008,15:45-47.
- [12] 孔令东,杨 澄,仇 熙,吴慧平,叶定江. 黄柏炮制品清除氧自由基和抗脂质过氧化作用[J]. 中国中药杂志, 2001,26:244-247.

[本文编辑] 尹 茶