

• 论著 •

益气活血中药对急性肺损伤大鼠血浆血管活性物质的影响

王文明¹, 杨明会², 张海燕², 刘毅², 李绍旦²

(1. 北京中医药大学, 北京 100700; 2. 解放军总医院中医研究所, 北京 100853)

【摘要】 目的 观察益气活血中药黄芪与丹参对急性肺损伤(ALI)大鼠血浆血管活性物质的影响,探讨中药的肺保护作用机制。方法 将30只雄性SD大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、中药组,每组10只。采用脂多糖(LPS, 1 mg/kg)200 μ l经气管滴入法制备大鼠ALI模型,对照组滴入等量生理盐水。中药组于制模前连续1周每日灌胃含黄芪和丹参的中药液2 ml,对照组和模型组灌胃等量生理盐水。制模后3 h取静脉血,采用放射免疫法检测血浆降钙素基因相关肽(CGRP)、内皮素-1(ET-1)、血栓素B₂(TXB₂)、6-酮-前列腺素F_{1 α} (6-keto-PGF_{1 α})含量。结果 与对照组比较,模型组血浆CGRP、6-keto-PGF_{1 α} 含量明显降低[CGRP (ng/L): 29.04 $\pm$ 5.27比45.05 $\pm$ 8.11, 6-keto-PGF_{1 α} (ng/L): 121.64 $\pm$ 17.72比236.05 $\pm$ 35.18], ET-1、TXB₂含量明显升高[ET-1(ng/L): 83.66 $\pm$ 7.36比49.23 $\pm$ 4.71, TXB₂(ng/L): 1 259.09 $\pm$ 32.72比882.81 $\pm$ 44.95, 均 P <0.01];与模型组比较,中药组血浆CGRP[(38.19 $\pm$ 4.79) ng/L]、6-keto-PGF_{1 α} [(222.58 $\pm$ 30.06) ng/L]含量明显升高, ET-1[(53.78 $\pm$ 5.10) ng/L]、TXB₂[(902.35 $\pm$ 40.07) ng/L]含量明显降低(P <0.05或 P <0.01),且与对照组无明显差异(均 P >0.05)。结论 益气活血中药黄芪与丹参可能是通过促进CGRP合成与释放、抑制ET-1的生成及释放,维持TXA₂/PGI₂相对平衡,从而起到对ALI大鼠的防治作用。

【关键词】 肺损伤,急性; 益气活血中药; 降钙素基因相关肽; 内皮素; 血栓素; 前列腺素

中图分类号: R285.5; R256.1 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2011.03.006

Effect of supplementing Qi and activating blood circulation (益气活血) herbs on vasoactive substance in plasma of rats with acute lung injury WANG Wen-ming*, YANG Ming-hui, ZHANG Hai-yan, LIU Yi, LI Shao-dan. * Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China
Corresponding author: YANG Ming-hui, Email: ymh9651@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To observe the effect of supplementing Qi and activating blood circulation (益气活血) herbs, Astragalus mongholicus (黄芪) and Salvia miltiorrhiza (丹参) on vasoactive substance in plasma of rats with acute lung injury (ALI), and to investigate their mechanism of protective effect on lung. Methods Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into control, model and herbs groups by random number table (each n =10). The ALI model was reproduced by lipopolysaccharide (LPS, 1 mg/kg) 200 μ l dripped into the trachea, while in the control group, the same volume of normal saline (NS) was administered into the trachea. Before the establishment of ALI model, 2 ml of a decoction of Astragalus mongholicus and Salvia miltiorrhiza was administered intragastrically in herbs group daily for 1 week, and in the model group and control group, the same volume of NS was given daily via the same route for 1 week. Three hours after ALI model formation, venous blood was collected to measure the contents of calcitonin gene-related peptide (CGRP), endothelin-1 (ET-1), thromboxane B₂ (TXB₂) and 6-keto-prostaglandin F_{1 α} (6-keto-PGF_{1 α}) in plasma of rats by radioimmunoassay. Results CGRP and 6-keto-PGF_{1 α} in plasma of model group were decreased obviously compared to those in control group [CGRP (ng/L): 29.04 $\pm$ 5.27 vs. 45.05 $\pm$ 8.11, 6-keto-PGF_{1 α} (ng/L): 121.64 $\pm$ 17.72 vs. 236.05 $\pm$ 35.18], ET-1 and TXB₂ were increased significantly [ET-1 (ng/L): 83.66 $\pm$ 7.36 vs. 49.23 $\pm$ 4.71, TXB₂(ng/L): 1 259.09 $\pm$ 32.72 vs. 882.81 $\pm$ 44.95, all P <0.01]; CGRP [(38.19 $\pm$ 4.79) ng/L] and 6-keto-PGF_{1 α} [(222.58 $\pm$ 30.06) ng/L] in plasma of herbs group were increased markedly, while ET-1 [(53.78 $\pm$ 5.10) ng/L] and TXB₂[(902.35 $\pm$ 40.07) ng/L] were decreased remarkably (P <0.05 or P <0.01) compared to those in model group. There were no statistical significant differences between herbs group and control group (all P >0.05). Conclusion The mechanisms of herbs for supplementing Qi and activating blood circulation, Astragalus mongholicus and Salvia miltiorrhiza, in prevention and treatment of ALI in rats are possibly via promoting synthesis and release of CGRP, inhibiting the synthesis and release of ET-1 and maintaining the balance of TXA₂/prostacyclin (PGI₂).

【Key words】 Acute lung injury; Herbs for supplementing Qi and activating blood circulation; Calcitonin gene-related peptide; Endothelin; Thromboxane; Prostacyclin

危重病人在临床上常出现急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS),病死率较高,其发病机制尚未完全阐明,目前无特效的治疗手段。有研究

表明,中药对ALI/ARDS具有防治作用^[1-2]。在ALI病理过程中,肺血管内皮细胞损伤,各种炎性细胞聚集,血管通透性增加,引起肺小血管充血和肺间质水肿,肺泡通气不足,肺顺应性降低,通气/血流比例失调,导致缺氧性肺血管收缩(HPV)^[3-4];同时降钙素基因相关肽(CGRP)、内皮素-1(ET-1)、血栓素A₂

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30873344)

通信作者:杨明会,Email:ymh9651@yahoo.com.cn

作者简介:王文明(1981-),男(汉族),辽宁省人,博士研究生。

(TXA₂)、前列环素(PGI₂)等血管活性物质在此过程中发挥重要作用^[5-6]。本研究中以益气活血中药黄芪与丹参对脂多糖(LPS)诱导 ALI 模型大鼠进行干预,观察大鼠血浆 CGRP、ET-1、TXB₂ 及 6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-keto-PGF_{1α})含量的变化,探讨益气活血中药防治 ALI 的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物、药品及试剂:2 月龄健康清洁级雄性 SD 大鼠 30 只,体重(200±20)g,由解放军总医院医学实验动物中心提供〔动物合格证号:HCXX(京)2006-0094〕。益气活血中药由生黄芪和丹参以 1:1 组成,由解放军总医院中药房采购及鉴定,由总后卫生部药品检定所制成含生药 0.25 g/ml 的药液。LPS 为美国 Sigma 公司产品;速眠新 I 注射液由解放军军需大学兽医研究所生产〔兽药试字(2004005013)〕;CGRP、ET-1、TXB₂、6-keto-PGF_{1α} 放射免疫试剂盒均购自北京普尔伟业生物科技有限公司。

1.2 动物分组及模型制备:按照随机数字表法将 30 只大鼠分为对照组、模型组、中药组,每组 10 只。肌肉注射速眠新 I 麻醉大鼠,采用 LPS(1 mg/kg) 200 μl 经气管滴入法^[7]制备动物 ALI 模型,对照组滴入等量生理盐水。中药组于制模前连续 1 周每日灌胃中药注射液 2 ml;对照组和模型组灌胃等量生理盐水。所有大鼠于制模后 3 h 取静脉血分离血浆进行相关指标检测。

本研究中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法:取静脉血 2 ml 置入含 7.5% 乙二胺四乙酸(EDTA)-Na₂ 30 μl 和抑肽酶 40 μl 的试管中混匀,4 ℃ 离心 10 min,分离血浆置于-70 ℃ 的低温冰箱中保存。采用放射免疫法检测血浆 CGRP、ET-1、TXB₂、6-keto-PGF_{1α} 含量,按试剂盒说明书步骤进行操作。

1.4 统计学方法:计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 12.0 统计软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表 1 结果显示,与对照组比较,模型组大鼠血浆 CGRP、6-keto-PGF_{1α} 含量均明显降低,ET-1、TXB₂ 含量均明显升高(均 $P < 0.01$)。与模型组比较,中药组血浆 CGRP、6-keto-PGF_{1α} 含量均明显升高,ET-1、TXB₂ 含量均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);但中药组与对照组比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表 1 3 组大鼠血浆 CGRP、ET-1、TXB₂、6-keto-PGF_{1α} 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	CGRP(ng/L)	ET-1(ng/L)
对照组	10	45.05±8.11	49.23±4.71
模型组	10	29.04±5.27 ^a	83.66±7.36 ^a
中药组	10	38.19±4.79 ^b	53.78±5.10 ^c
组别	动物数	TXB ₂ (ng/L)	6-keto-PGF _{1α} (ng/L)
对照组	10	882.81±44.95	236.05±35.18
模型组	10	1 259.09±32.72 ^a	121.64±17.72 ^a
中药组	10	902.35±40.07 ^c	222.58±30.06 ^c

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

3 讨论

对 ALI/ARDS 发病机制的深入探讨及中西医结合治疗有效药物的筛选,在很大程度上依赖于与人类 ALI/ARDS 病理改变相似的实验动物模型的建立和应用^[8]。采用 LPS 气管滴入法制备的 ALI 动物模型已广泛应用于 ALI 发病机制和预防治疗的研究中。本研究中采用此模型来探讨益气活血中药黄芪与丹参防治 ALI 的作用机制。

《神农本草经》中记载,黄芪味甘、性温,有补气升阳、固表止汗、托毒排脓、利水消肿等功能。李瑜等^[9]发现大剂量黄芪可改善 ALI 兔的血流动力学指标,提高机体内超氧化物歧化酶(SOD)活性,降低丙二醛(MDA)含量,清除氧自由基;并能抑制肺动态顺应性的下降,起到保护肺脏的作用。曹慧玲等^[10]的研究显示,维生素 C、参麦、葛根素、清开灵等注射液具有抗氧化作用,对 ALI 大鼠具有保护作用。

CGRP 是一种血管活性多肽,主要存在于神经系统、心血管系统、肺神经内分泌细胞及神经上皮体中,在肺内分布较为广泛,在各级肺血管平滑肌上存在大量的 CGRP 受体。CGRP 可直接作用于肺血管平滑肌上的 CGRP 受体,能强有力并长时间扩张肺动脉血管,舒张缺氧所致收缩状态的肺血管,对血管系统和神经系统具有重要的调节作用^[11]。CGRP 还具有抑制炎症反应作用,是一种抗炎因子,并参与呼吸道的自我修复等过程。其机制是通过减轻肺泡 I 型上皮细胞(AEC I)的氧化损伤,促进 AEC I 增殖,减少细胞凋亡,促进肺泡表面活性蛋白 C(SPC)的基因表达,调控蛋白激酶 Ca/核转录因子-κB 信号途径等起到保护肺组织^[12-13]、减轻 ALI 的作用^[14]。本研究结果显示,中药组大鼠血浆 CGRP 含量明显高于模型组,且与对照组比较无明显差异,提示益气活血中药黄芪与丹参可能是通过促进 CGRP 的合成与释放,扩张血管,改善肺组织微循环,调节肺通

气/血流比例,抑制炎症介质释放及炎症反应,从而起到防治 ALI 的作用。

ET-1 是已知最强烈的血管和支气管收缩剂,肺血管、内皮、气管上皮、肺泡吞噬细胞均能合成 ET-1,肺内血管和气管平滑肌尤其是肺动脉含有大量的 ET 受体^[18]。内毒素引起 ALI,其机制可能与内毒素引起肺局部 ET 水平升高,ET-1 可促进支气管平滑肌收缩,增加气道阻力,降低肺顺应性,大量 ET-1 释放,可提高肺毛细血管压力,造成肺水肿^[6]。ET-1 的表达上调和水平增高,可引起肺血管平滑肌发生强烈的收缩,导致肺血管张力和阻力均增加,在 ALI/ARDS 所致急性肺动脉高压、肺微循环体系压力增高、非心源性肺水肿等病理过程中发挥重要作用^[16]。有研究表明,CGRP 是内源性 ET 拮抗剂,ET 和 CGRP 作为内皮系统依赖的收缩和舒张因子,在正常生理条件下处于动态平衡,某些病理情况下两者含量发生变化,平衡被打破^[17]。本研究结果显示,益气活血中药黄芪与丹参可能是通过抑制 ET-1 生成及释放,并通过促进 CGRP 含量的升高加强拮抗 ET-1 的作用,减少肺血管、支气管收缩,降低肺血管张力和阻力,改善肺组织微循环,进而起到防治 ALI 的作用。

TXA₂、PGI₂ 是调节血小板和血管功能的一对重要因子。TXA₂ 主要由血小板、白细胞分泌合成,是体内作用较强的缩血管物质之一,也是较强的血小板聚集剂,能够促进血小板聚集及血栓形成;PGI₂ 主要来源于内皮细胞,有很强的扩张血管和抗血小板聚集作用,有拮抗 TXA₂、抑制血小板聚集、扩张血管的作用。正常生理状态下血浆 TXA₂ 和 PGI₂ 浓度处于相对平衡状态,对维持机体内环境稳定起着重要的作用。当 TXA₂/PGI₂ 平衡被打破时,会导致血管收缩、血小板聚集及血栓形成。由于 TXA₂ 和 PGI₂ 在体内极不稳定,迅速代谢为稳定而又无活性的 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α},因而可通过测定 TXB₂、6-keto-PGF_{1α} 评估 TXA₂、PGI₂ 的水平。本研究结果显示,中药组大鼠血浆 TXB₂ 含量低于模型组,6-keto-PGF_{1α} 含量高于模型组,提示益气活血中药黄芪与丹参可通过调节 TXA₂ 和 PGI₂ 的浓度,维持 TXA₂/PGI₂ 相对平衡,抑制血小板聚集,扩张血管,改善肺组织微循环,从而起到防治 ALI 的作用。

近年来研究显示,经丹参干预后,ALI 大鼠肺泡灌洗液中蛋白含量、肺组织湿/干重比值、MDA 和 NO 水平均明显降低,而肺组织 SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性则明显升高;黄芪能促进中

性粒细胞趋化、抗感染、清除氧自由基、增强机体免疫功能,使内毒素性 ALI 家兔肺泡淤血、水肿、炎性细胞浸润减轻^[2]。

综上所述,益气活血中药黄芪与丹参可能通过促进 CGRP 合成与释放、抑制 ET-1 的生成及释放,调节 TXA₂ 和 PGI₂ 的浓度,维持 TXA₂/PGI₂ 的相对平衡,扩张血管,改善肺组织微循环,发挥防治 ALI 的作用。中药防治疾病是多途径、多靶点、多环节的,可能存在其他防治 ALI 的作用途径,有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 刘建新,余林中.中药保护急性肺损伤作用机理研究进展.陕西中医学院学报,2009,32(6):83-85.
- [2] 施步,曹同瓦,白春学.急性肺损伤的药物疗法研究进展.中国危重病急救医学,2008,20(10):634-637.
- [3] 孙海鹏,呼彩莲.急性肺损伤发病机制的研究进展.医学信息,2010,23(2):532-533.
- [4] 毛梅.急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的治疗进展.华南国防医学杂志,2010,24(6):505-507.
- [5] 罗佛会,赵为禄,吴菊梅.肺脏局部内皮素水平变化在急性肺损伤发病中的意义.中国危重病急救医学,2009,21(7):438-439.
- [6] 姜忠华,滕燕生,辛苏宁,等.低温海水浸泡大鼠的血气及肺脏前列腺素和降钙素基因相关肽变化的观察.中国危重病急救医学,2002,14(3):141-143.
- [7] 毕锦华,王宝恩,Martina Schafer,等.脂肪乳对内毒素诱导急性肺损伤小鼠的干预作用.中国危重病急救医学,2006,18(12):711-715.
- [8] 方青,高荣,高英杰,等.急性肺损伤动物模型的研究现状.中国畜牧兽医,2010,37(5):50-54.
- [9] 李瑞,李琳,王世端,等.黄芪对兔内毒素性急性肺损伤的保护作用.中国中西医结合急救杂志,2006,13(6):348-350.
- [10] 曹慧玲,吕士杰,姜艳霞,等.急性肺损伤大鼠氧自由基变化及不同中药治疗作用的对比.中国中西医结合急救杂志,2006,13(3):146-149.
- [11] 阮翔,何予工,谢新立,等.慢性肺源性心脏病患者血浆 CGRP 和 SP 水平变化及临床意义.山东医药,2007,47(5):36-38.
- [12] 付红敏,许峰,刘成军,等.高氧对早产鼠肺泡 I 型上皮细胞的影响及降钙素基因相关肽的保护作用.中国危重病急救医学,2008,20(10):578-581.
- [13] 付红敏,李利,王亚军,等.降钙素基因相关肽对高氧暴露下肺泡 I 型上皮细胞增殖及蛋白激酶 Ca 信号途径的调控作用.中国危重病急救医学,2010,22(5):263-266.
- [14] 张丙芳,林允信,戚好文,等.降钙素基因相关肽对油酸型急性肺损伤家兔细胞因子的影响.第四军医大学学报,2002,23(14):1265-1267.
- [15] Comellas AP, Briva A. Role of endothelin-1 in acute lung injury. Transl Res,2009,153(6):263-271.
- [16] 蔡阔,徐军,钟南山.内皮素-1 与急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征.解放军医学杂志,2010,35(5):595-597.
- [17] 王万铁,徐正松,吴成云,等.左旋精氨酸对实验性肺缺血/再灌注损伤中内皮素和降钙素基因相关肽的影响.中国危重病急救医学,2005,17(6):373-374. (收稿日期:2011-05-07)

(本文编辑:李银平)

• 广告目次 •

- ①广东天普药业:天普洛安 封二
- ②珠海健帆:血液灌流器 插页
- ③天津生化制药:琥珀氢可 封三
- ④江苏新晨医药有限公司 封底