

# 加减补肺汤对慢性阻塞性肺病 大鼠血管内皮功能的影响

李逊\*

(遵义医学院第一附属医院, 贵州 遵义 563003)

**[摘要]** 目的:观察加减补肺汤对慢性阻塞性肺病(COPD)肺气虚证大鼠血浆中内皮素(ET)及一氧化氮(NO)含量,探讨其作用机制。方法:Wistar大鼠随机分出正常组20只,其余80只采用烟熏复合木瓜蛋白酶雾化吸入法造模。将造模成功的大鼠分为模型组、加减补肺汤高、低剂量组(20, 10 g·kg<sup>-1</sup>)、桂龙咳喘宁组(1.125 g·kg<sup>-1</sup>);正常组和模型组(0.9%氯化钠溶液10 mL·kg<sup>-1</sup>);5组均于停止烟熏当天开始灌胃,连续15 d,用放免法测定血浆ET, NO含量,并进行组间比较。结果:与模型组比较,各治疗用药组大鼠血浆ET含量降低、NO含量升高( $P < 0.05$ ),加减补肺汤高剂量组血浆ET含量明显降低( $178.98 \pm 4.86$ ) ng·L<sup>-1</sup>,  $P < 0.05$ ; NO显著升高( $37.03 \pm 0.83$ ) μmol·L<sup>-1</sup>,  $P < 0.05$ 。结论:加减补肺汤能显著提高血浆NO含量,降低ET含量,调节血管内皮功能,在一定程度上控制慢性炎症反应,延缓肺动脉高压的形成。

**[关键词]** 加减补肺汤; 肺气虚证; 慢性阻塞性肺病; 内皮素; 一氧化氮

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0254-03

## Effect of Jiajian Bufei Decoction on Content of ET and NO in Blood Plasma of Rats Model which Have Chronic Obstructive Pulmonary Disease

LI Xun\*

(First Affiliated Hospital, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Jiajian Bufei decoction on plasma endothelin (ET) and nitric oxide (NO) in rats which have chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and traditional Chinese medicine (TCM) syndrome such as 'Lung deficiency'. **Method:** The rats were divided randomly into groups and were given the medicine. Blood was detected for the contents of plasma endothelin-1 (ET) and nitric oxide (NO) and comparisons were made between the groups. **Result:** The NO level in the large dosage group was markedly higher than that in the pathology control group. ET level in all treatment groups were both markedly lower than that in the pathology control group. **Conclusion:** Jiajian Bufei decoction can raise the NO and reducing the content of ET in blood plasma. Jiajian Bufei decoction can regulate the balance of ET and NO, thus prevent and treat COPD.

**[Key words]** Jiajian Bufei decoction; lung deficiency; COPD; endothelin-1; nitric oxide

慢性阻塞性肺病(COPD)在肺部表现为不可逆气流受限,呈进行性发展。COPD患者不仅肺泡受到破坏,而且肺泡间隔组织中微血管、毛细血管前微

动脉也受到损害,引起肺血管内皮功能紊乱。血管内皮功能失调时,各种血管活性物质和因子异常,凝血异常,引起肺血管收缩,肺血管重建及原位血栓的形成,进而形成肺动脉高压。加减补肺汤是临床治疗COPD的有效方。我们观察了其对COPD肺气虚证大鼠血管内皮功能的影响,以进一步探讨加减补肺汤对慢性阻塞性肺疾病的作用机制。

**[收稿日期]** 20111019(009)

**[通讯作者]** \*李逊,硕士学位,副教授,从事中医内科临床及教学,慢性阻塞性肺疾病的中医药防治, Tel: 13518528357, E-mail: 13518528357@163.com

## 1 材料

**1.1 动物** 健康清洁级 Wistar 大鼠 100 只,由贵阳中医学院动物所提供,体重(250 ± 20)g,雌雄各半。合格证号 0200869。

**1.2 药物与试剂** 加减补肺汤(黄芪 20 g,党参 10 g,补骨脂 15 g,百部 10 g,桑白皮 10 g,丹参 15 g),药物由贵阳中医学院一附院药剂科提供。方中药物加水浸泡 2 h,首煎煮沸 30 min,次煎 20 min,两煎合一,纱布过滤后,装入烧杯,放入 40 °C 的恒温水浴箱中,浓缩至含生药 2 g·mL<sup>-1</sup>,4 °C 冰箱保存。使用前加热至常温。桂龙咳喘宁胶囊(山西桂龙药业有限公司出品,批号 20030221),实验时用蒸馏水配制成质量浓度为 0.09 g·mL<sup>-1</sup>的混悬液。一氧化氮(NO)测定采用硝酸还原酶法,试剂由南京建成生物研究所提供。内皮素(ET)测定采用放射免疫分析法,试剂盒来自中国人民解放军科技开发中心。批号分别为 20030805,20030608。

**1.3 仪器** 超声雾化器(德国白瑞公司产品),自制 1 m<sup>3</sup> 烟室,自制透明雾化箱 40 cm × 40 cm × 40 cm,恒温水浴箱(贵阳中医学院药理教研室),低速冷冻离心机(贵阳中医学院一附院检验科)。

## 2 方法

**2.1 动物分组** 将 Wistar 大鼠随机分为 5 组,每组 20 只,雌、雄各半。①正常对照组:0.9% 氯化钠溶液 ig 10 mL·kg<sup>-1</sup>,每日 1 次;②模型对照组:0.9% 氯化钠溶液 ig 10 mL·kg<sup>-1</sup>,每日 1 次;③加减补肺汤高剂量组 ig 20 g·kg<sup>-1</sup>(相当于成人常规临床用量的 15 倍),每日 1 次;④加减补肺汤组低剂量组 ig 10 g·kg<sup>-1</sup>(相当于成人常规临床用量的 7.5 倍),每日 1 次;⑤桂龙咳喘宁组 ig 1.125 g·kg<sup>-1</sup>(相当于成人常规临床用量的 15 倍),每日 1 次;上述 5 组均于停止烟熏当天开始 ig,连续 15 d。

**2.2 造模** 实验前 1 周将 Wistar 大鼠置于实验环境中喂养,室温 11 ~ 17 °C。造模各组采用《实用中医证候动物模型学》之“烟熏法肺气虚证动物模型”复制法<sup>[1]</sup>,并复合木瓜蛋白酶雾化吸入法<sup>[2]</sup>复制 Wistar 大鼠 COPD“肺气虚证”模型。具体方法如下:将以上 4 组大鼠分别置于特制的 1 m<sup>3</sup> 烟室中,用刨花、锯末、烟叶各 30 ~ 50 g,点燃烟熏,每日 2 次,每次 30 min,注意适当通风,以防大鼠窒息。造模期 60 d。于造模开始后第 30,32,34,36 天给以上各组大鼠木瓜蛋白酶雾化吸入,每次将 5 只大鼠放入一 40 cm × 40 cm × 40 cm 与超声波雾化器相连的透明雾化箱中,通过雾化管向箱中喷入用 0.9%

NaCl 稀释为 3 g·L<sup>-1</sup> 的木瓜蛋白酶,每次雾化量 2 mL。

**2.3 指标测定** 灌药结束后第 2 天,采股动脉血,立即以 3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,取血浆,-20 °C 冻存待检。NO 测定采用硝酸还原酶法。ET 测定采用放射免疫分析法。

**2.4 统计学方法** 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 SPSS 11.5 统计软件对各组进行处理,组间比较用单因素方差分析及 SNK 检验;均以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

模型组大鼠血浆 ET 含量均较正常组明显升高,血浆 NO 含量明显降低( $P < 0.05$ );治疗各组血浆 ET 含量均低于模型组,血浆 NO 含量均高于模型组;加减补肺汤高剂量组较低剂量组及桂龙咳喘宁组作用显著( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 加减补肺汤对慢性阻塞性肺病大鼠血浆 ET,NO 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	ET /ng·L <sup>-1</sup>	NO /μmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	136.32 ± 2.88 <sup>1)</sup>	40.78 ± 1.96 <sup>1)</sup>
模型	-	208.93 ± 4.94	28.21 ± 1.42
加减补肺汤	20	178.98 ± 4.86 <sup>1,2,3)</sup>	37.03 ± 0.83 <sup>1,2,3)</sup>
	10	195.33 ± 2.09 <sup>1)</sup>	34.81 ± 1.79 <sup>1)</sup>
桂龙咳喘宁	1.125	195.00 ± 2.25 <sup>1)</sup>	34.23 ± 2.10 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与加减补肺汤 10 g·kg<sup>-1</sup> 组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ;与桂龙咳喘宁 1.125 g·kg<sup>-1</sup> 组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ 。

## 4 讨论

加减补肺汤是治疗 COPD 的临床经验方,是在补肺汤的基础上减去酸甘滋腻之五味子、熟地黄,以党参易温燥的人参,加入补肾助阳的补骨脂,活血化瘀的丹参,以祛痰止咳的百部易紫菀而成。方中重用黄芪、丹参,黄芪对免疫功能具有双向调节作用,既能显著增强非特异性免疫和特异性免疫功能,但是同时也有很强的免疫抑制作用的成分,能够调节 Th1/Th2 型细胞因子的平衡及 TNF-α 含量<sup>[3]</sup>。丹参为活血化瘀之要药,研究表明,丹参具有抑制血小板黏附、聚集及释放的作用。丹参的有效成分丹参酮能减轻缺氧对血管内皮的损伤,阻抑腺泡内肺动脉中膜平滑肌肌化增强和血管壁细胞增生,提示丹参具有阻抑肺细小动脉原位血栓形成的功效,从而减轻肺动脉高压<sup>[4]</sup>。也有研究显示丹参粉针通过降低 COPD 患者的血液黏度及提高凝血酶原时间,从而减轻肺动脉高压<sup>[5]</sup>。诸药同用,能够益气补虚,

祛瘀化痰,减轻临床症状,延缓肺动脉高压的形成,从而阻止疾病的进一步发展。

研究表明<sup>[6]</sup>,ET 和 ET 受体广泛地存在于肺组织血管、气管、支气管上皮细胞及肺组织中的巨噬细胞内,肺既是 ET 的靶器官,又是 ET 合成和代谢场所。ET 在支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病、肺动脉高压等发病机制中起着十分重要的角色,其对人体和动物支气管有强烈的收缩作用,尤以 ET-1 作用最强,并能增加肺血管通透性,调节炎性细胞的激活,诱导 PAF、LTs、组胺等炎性介质产生,进一步增强 ET 的收缩支气管作用,加重气道炎症反应。NO 是由气道和肺的上皮、内皮细胞以及炎症细胞包括肺泡巨噬细胞等合成和释放的一种生物活性因子,与多种呼吸疾病及其他疾病的发生、发展关系密切<sup>[7]</sup>。低浓度的 NO 促进细胞凋亡,NO 含量过低可以造成血管过度扩张和渗漏、气道充血、加重气道炎症反应和组织损伤。

李君<sup>[8]</sup>等的实验结果表明,肺气虚证模型大鼠血浆 ET 含量大大高于健康大鼠( $P < 0.01$ ),认为血浆 ET 含量可作为肺气虚证的客观辨证指标之一。有报道血浆 NO 测定可以作为 COPD 病情严重程度的指标,增加 NO 的合成、释放能力已为预防和治疗 COPD 的新途径<sup>[9]</sup>。有研究证实 COPD 患者均存在 ET-1、NO 的变化,且合并肺动脉高压者的变化更为明显,说明存在 ET-1 与 NO 的失衡,提示这种失衡引起的血流动力学及病理结构的变化,可能是 COPD 形成肺动脉高压的机制之一<sup>[10]</sup>。

有报道大鼠慢阻肺模型的血清、肺组织及 BALF 中 ET-1 含量较正常对照组明显升高( $P < 0.01$ ),NO 含量则低于正常对照组( $P < 0.01$ )。表明在慢阻肺发生发展过程中,气道炎症促使血管内皮细胞和气道上皮细胞释放 ET-1,ET-1 过多合成,又进一步加重了气道的炎症反应和组织损伤,而 NO 释放减少,又使得其舒张支气管和肺血管平滑肌的因素以及对血管平滑肌增殖的抑制作用减弱,从而导致慢性炎症的产生<sup>[11]</sup>。同样有研究表明:模型组血清、肺组织中 NO 含量明显降低,ET-1 含量明显升高。证明中药肺心通能提高 NO 的含量,降低 ET-1 的含量,从而防止肺血管收缩及肺小动脉痉挛,降低肺血管阻力,减缓肺动脉高压的形成<sup>[12]</sup>。

本实验结果也证实,模型组大鼠血浆 ET 含量均较正常组明显升高( $P < 0.05$ );治疗各组含量均低于模型组( $P < 0.05$ );补高组含量低于桂龙组与补低组( $P < 0.05$ )。血浆 NO 含量在模型组大鼠含

量均较正常组明显降低( $P < 0.05$ );治疗各组含量均高于模型组( $P < 0.05$ );补高组含量高于桂龙组与补低组( $P < 0.05$ ),表明加减补肺汤提高 NO 含量的作用显著。有报道证实补益固本和化痰祛瘀的共同作用较单纯的补益固本,更能保护肺血管内皮,调节 NO,ET 的水平,对减轻肺动脉的收缩,降低肺动脉压更有利<sup>[13]</sup>。本结果证实,基于补益肺脾肾、祛瘀涤痰为组方原则的加减补肺汤,能调节 ET 和 NO 的平衡,调节血管内皮功能,维持血管舒缩平衡,改善微循环和局部组织缺血、缺氧状态,减轻气道炎症反应,延缓肺动脉高压的形成。这可能是本方治疗 COPD 的作用机制之一。

### [参考文献]

- [1] 陈小野.实用中医证候动物模型学[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1993.
- [2] 韩春生,张洪春,杨道文,等.中医虚喘动物模型的建立[J].北京中医药大学学报,1999,2(1):7.
- [3] 栾增强,曹文富.黄芪防治肺纤维化的研究现状[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):275.
- [4] 任微,方胜,彭波,等.丹参粉针治疗慢性肺源性心脏病临床观察[J].临床肺科杂志,2007,12(2):195.
- [5] 姚建,秦俭.丹参粉针对慢性阻塞性肺病患者血栓前状态的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(12):239.
- [6] 杨新良.内皮素在肺部的作用及其研究进展[J].国外医学:呼吸学分册,1998,18(2):104.
- [7] 李志斌,罗祝泉,邹霞英.一氧化氮对慢性低氧大鼠肺循环组织细胞增殖/凋亡的影响[J].中国病理生理杂志,2002,18(9):1144.
- [8] 李君,徐锡鸿,戴关海,等.肺气虚证大鼠模型内皮素含量变化的实验研究[J].辽宁中医杂志,2000,27(5):237.
- [9] 张伟平.慢性阻塞性肺病患者血浆一氧化氮的变化[J].现代中西医结合杂志,2001,10(12):1108.
- [10] 章琳,杨渭临,郑华东,等.老年慢性阻塞性肺病稳定期血浆 ET-1,NO 水平与肺动脉高压的相关性[J].山西医科大学学报,2011,42(7):572.
- [11] 张念志,李泽庚,季红燕.参七虫草胶囊对慢性阻塞性肺疾病大鼠模型内皮素和一氧化氮水平的影响[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(10):39.
- [12] 孙杰,王俊霞,赵鸿亮,等.肺心通对慢性肺源性心脏病模型大鼠一氧化氮、内皮素-1 及血管内皮细胞生长因子的影响[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(8):36.
- [13] 吴国珍,刘红健,高山凤.固本化痰祛瘀汤治疗 COPD 缓解期的临床疗效及其对 NO,ET 的调节作用和意义[J].中国实验方剂学杂志,2003,9(3):40.

[责任编辑 聂淑琴]