

加味玉屏风散对被动吸烟大鼠肺损伤的保护作用

邓 云¹, 张 晋², 王立金¹, 梅仁彪¹, 孙善才¹, 徐广绪¹

(1. 安徽理工大学医学院生理学教研室, 安徽淮南 232001; 2. 安徽省淮南市第一人民医院, 安徽淮南 232001)

摘要:目的 观察加味玉屏风散对被动吸烟大鼠肺组织损伤的影响。方法 以烟熏法制备被动吸烟大鼠模型, 以病理切片法、生化分光光度法等分别观察加味玉屏风散对肺组织病理形态学、肺平均动脉压以及对肺组织中一氧化氮(NO)含量、一氧化氮合酶(NOS)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量的影响。结果 加味玉屏风散可以明显改善模型大鼠的肺组织病理学改变, 降低肺平均动脉压, 并提高肺组织中 NO 含量、NOS 活性、SOD 活性以及降低 MDA 含量。结论 加味玉屏风散对被动吸烟大鼠所致肺损伤具有一定的保护作用。

关键词: 加味玉屏风散; 被动吸烟大鼠; 病理形态学; 平均动脉压; 生化代谢

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)03-0021-03

Protective Effects of JWYPFS on Lung Injury Cashed by Passive Smoking in Rats

DENG Yun, ZHANG Jin, WANG Li-jin, MEI Ren-biao, SUN Shan-cai, XU Guang-xu

(1. Department of Physiology, Medical College, Anhui University of Science and Technology, huainan, Anhui 232001; 2. The People's Hospital in Huainan City, Anhui province, 232007)

Abstract: AIM: To study the protective effects of JWYPFS on lung injury caused by passive smoking in rats. METHODS: The model of passive smoking rat was caused by cigarette smoke. The influence of JWYPFS on pathomorphology of lung tissue, mean arterial pressure of lung, activity of NOS, SOD and content of No, MDA in lung tissue were observed. Results: JWYPFS obviously improved the pathomorphology of lung tissue, decreased the mean arterial pressure of lung, increased the content of NO, the activity of NOS and SOD, decreased the content of MDA in lung tissue. Conclusion: JWYPFS had the protective effects on lung injury of rats caused by passive smoking.

Key words: JWYPFS; passive smoking rat; pathomorphology; mean arterial pressure; biochemical metabolism

吸烟危害健康, 尤其是被动吸烟对人体损伤更为严重, 常导致呼吸系统疾病如慢性阻塞性肺疾病(COPD)的产生。但目前对引起 COPD 的机理尚不完全清楚, 并且临床上对 COPD 的发生也没有比较特殊的早期防治方法。因此, 积极寻找能够对抗由被动吸烟引起肺损伤的药物具有重要的意义。

玉屏风散是中医扶正固表的经典方剂, 出自元代《丹溪心法》。由黄芪、白术、防风组成, 具有益气固表止汗、扶正祛风御风等作用, 主治表虚自汗、易感风邪者。本课题以传统古方玉屏风散为基础方, 重用方中黄芪, 并加入五味子、熟地黄组成复方加味玉屏风散, 观察研究其对被动吸烟所致大鼠肺损伤模型的保护作用。

1 实验材料

1.1 动物 Wistar 大鼠, 雄性, 体重 260~280g, 由安

徽医科大学实验动物中心提供。

1.2 药品与试剂 中药加味玉屏风散(JWYPFS)系由黄芪 120g、白术 60g、防风 40g、五味子 100g、熟地黄 100g 按一定比例组成, 由合肥大药房提供。以水浸泡 2h, 煮沸后文火煎煮 40min, 取一煎液, 再加水煎煮 15min 后取二煎液, 二液合并浓缩成含生药分别为 2.1g/ml、4.2g/ml、8.4g/ml 的药液, 按公斤体重计算分别相当于人临床日用量的 3、6、12 倍。即小、中、大三剂量。NO、NOS、SOD、MDA 检测试剂盒均购于南京建成生物医学工程研究所; 香烟是由合肥市烟草专卖局提供的合肥卷烟厂生产的九华山香烟, 焦油含量为中。

1.3 仪器 400R 低温离心机, 德国 Heraeus 产品; HZQ-C 空气浴振荡器, 哈尔滨市东明医疗仪器厂产品; 722 型光栅分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司分析仪器总厂生产; AEG-220 型电子天平(万分), 日本 SHIMADZO 产品; 多导生理记录仪, 由日本

光电公司生产。

2 实验方法与结果

2.1 分组与给药 实验动物按体重随机分为五组,即正常对照组、吸烟模型组、JWYPFS 大、中、小剂量组,药物均用蒸馏水配制,每日吸烟前 1h 灌胃给药,给药容积为 5ml/kg,正常对照组和吸烟模型组灌胃等量的蒸馏水,大鼠连续灌胃给药并被动吸烟 60 天。

2.2 被动吸烟大鼠模型的制备 参照文献方法^[1],将大鼠放入 80cm × 60cm × 60cm 自制的有机玻璃染毒箱内,在其右上角开一个直径为 1cm 的通气孔,每天吸烟 2 次,每次 16 支,每次间隔 4h,每次 30min,连续吸烟 60d,一只箱内每次可同时放入大鼠四只。被动吸烟方法:将点燃的香烟通过三通开关将烟雾抽吸入 100ml 的注射器中,关闭吸烟通路一端,再打开三通的另一端将烟雾注入染毒箱内进行大鼠被动吸烟染毒。香烟采用九华山牌香烟(合肥卷烟厂生产)。

2.3 光镜标本制备 于吸烟实验结束次日,各组随机取大鼠 5 只,取相同部位肺组织,用 4% 甲醛固定,做病理切片,光镜下观察肺组织病理变化情况。

2.4 平均动脉压测定 按文献方法^[2],将大鼠经右颈外静脉插入微导管,连接生理多导记录仪,测定肺平均动脉压。结果见表 1。

表 1 加味玉屏风散对被动吸烟大鼠肺平均动脉压的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肺平均动脉压 mmHg
正常对照组	12	15.21 ± 4.36
吸烟模型组	12	19.52 ± 3.76 [△]
JWYPFS 小剂量组	11	16.98 ± 3.61
JWYPFS 中剂量组	12	16.01 ± 3.62 [*]
JWYPFS 大剂量组	11	16.28 ± 3.23 [*]

注:与空白组相比[△] P < 0.05, ^{△△} P < 0.01; 与模型组相比^{*} P < 0.05, ^{**} P < 0.01(下表同)

2.5 生化指标检测 于吸烟实验结束次日,将大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛溶液(0.35g/kg)进行麻醉,颈总动脉插管取血,以 1% 肝素抗凝,3000rpm 离心

10min 制备血浆;然后打开胸腔,取出大鼠右肺组织约 1g,用冷生理盐水制成 10% 的肺组织匀浆。匀浆中 NO 含量、NOS 活性、SOD 活性、MDA 含量的测定均按试剂盒方法进行。结果见表 2。

2.5 实验结果 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果用 SPSS 软件统计,以组间 t 检验进行比较。

2.5.1 光镜观察: 光镜下观察发现,正常对照组的肺组织结构清晰、完整,支气管、粘膜上皮、肺泡壁等均未见异常病理改变。吸烟模型组的肺内细支气管、终末细支气管均出现不同程度的慢性炎性细胞浸润,粘膜上皮细胞严重受损,纤毛细胞变性、坏死;杯状细胞增生,肺边缘可见支气管扩张,肺泡壁也明显扩张,呈现明显的肺气肿。而加味玉屏风散各剂量组均可见细支气管部分上皮增生,有部分脱落缺失,肺泡腔充气良好,腔内有少量吞噬细胞;支气管炎变化明显较轻,只有少量炎性细胞浸润。

2.5.2 各项检测指标测定结果

结果表明,加味玉屏风散能改善被动吸烟大鼠的肺组织病理学改变,降低肺平均动脉压,提高肺组织中 NO 含量、NOS 活性、SOD 活性,并降低 MDA 含量(P < 0.05, P < 0.01)。

3 讨论

现已公认,吸烟为慢性阻塞性肺疾病(COPD)的最主要的致病因素。吸烟能使支气管上皮纤毛变短、不规则、纤毛运动发生障碍,能削弱肺泡吞噬细胞的吞噬、灭菌作用,能降低局部及全身免疫力,能引起支气管痉挛、增加气道阻力,从而形成 COPD 的病理过程。但是目前对于吸烟引起 COPD 的发生机理还不十分清楚。

目前多数学者认为,长期吸烟可导致肺血管、肺动脉高压^[3],以及自由基代谢损伤。本实验中观察到,长期被动吸烟大鼠体内 NOS 活性降低,NO 合成和释放减少,同时体内氧化与抗氧化失衡,自由基清除剂减少,脂质过氧化物产生增多,从而造成肺动脉高压、肺组织病理学改变,肺内的保护机制被破坏,促使 COPD 的发生。

表 2 加味玉屏风散对被动吸烟大鼠肺组织中 NO、NOS、SOD、MDA 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NO 含量 (Umol/g prot)	NOS 活性 (U/mg prot)	SOD 活性 (U/mg prot)	MDA 含量 (nmol/mg prot)
正常对照组	12	10.24 ± 5.00	2.18 ± 0.37	109.60 ± 29.02	10.15 ± 2.54
吸烟模型组	12	5.10 ± 4.76 ^{△△}	1.70 ± 0.53 [△]	73.18 ± 32.38 ^{△△}	12.63 ± 1.89 [△]
小剂量组	11	8.46 ± 5.36	1.92 ± 0.55	112.70 ± 39.91 [*]	10.78 ± 2.44 [*]
中剂量组	12	8.43 ± 3.57	2.14 ± 0.46 [*]	111.40 ± 14.50 ^{**}	10.71 ± 1.87 [*]
大剂量组	11	9.12 ± 3.11 [*]	2.00 ± 0.79	101.10 ± 32.45 [*]	10.92 ± 1.94 [*]

NO 是一种相对稳定的气体自由基, 带有一个不配对的电子, 参与机体循环、呼吸、免疫等多种病理生理过程。它可以在体内与许多生物分子发生生化反应, 形成多种产物。体内的 NO 是通过 NOS 催化 L-精氨酸而产生, 主要由内皮细胞合成, NO 兼有细胞内、细胞间的信使及神经递质作用, 具有广泛的生物学特性。它可以松弛血管平滑肌、抑制血小板聚集、参与记忆过程, 以及具有细胞毒效应和免疫调节作用等, 因此 NO 的产生异常与许多种疾病的发生发展密切相关^[4]。当前吸烟对体内 NO 含量的影响, 国内外报道不一, 目前研究普遍认为烟草中的有害物质可以造成血管内皮结构的严重破坏, 致使长期吸烟者血管内皮细胞合成、释放 NO 减少^[5]; 另一方面, 大量吸烟可以导致血液中的血红蛋白携氧能力下降, 造成肺组织的慢性缺氧, 最终导致 NOS 活性降低, NO 生成减少; 同时还有研究认为, NO 可以作为气道和肺部炎症的标志^[6]等。本实验结果中 NO、NOS 的变化与之相符合。

氧自由基是吸烟引起肺损伤的病理基础之一。自由基损伤的主要病理机制是它能攻击体内脂质中的多价不饱和脂肪酸, 使之发生过氧化, 引发起自由基的链锁和增殖反应, 从而可以直接损伤 DNA、蛋白酶和细胞膜结构, 导致组织损伤、生物膜破坏。香烟中含有多种化学物质, 一方面其烟油及烟雾中含有的烷氧自由基, 在氧气通过吸烟气流时可转变为烷过氧自由基; 烟雾中含有的 NO 及其氧化生成的 NO₂ 均可与烟雾中的烃和二烯类有机分子发生过氧化连

锁反应。另一方面, 烟雾中含有的高浓度超氧阴离子自由基、羟自由基等均可直接氧化、攻击和破坏 SOD 等抗氧化酶中的-SH 结构, 使酶活性降低或丧失。本实验观察到长期被动吸烟可造成体内自由基代谢失常, 表现为肺组织中 SOD 活性下降, MDA 含量增多。

本实验结果表明, 加味玉屏风散可以改善被动吸烟大鼠的肺组织病理学改变, 降低肺平均动脉压, 提高肺组织中 NO 含量、NOS 活性、SOD 活性, 以及降低 MDA 含量, 从而提示该药对被动吸烟大鼠所致肺损伤具有一定的保护作用。

参考文献:

- [1] 庞宝森, 王 辰, 翁心植, 等. 被动吸烟致大鼠肺损伤及其对细胞因子的影响. 中华预防医学杂志, 2000, 34(2): 104-105.
- [2] 孙 波, 刘文利. 右心导管测定大鼠肺动脉压的实验方法. 中国医学科学院院报, 1984, 6: 465.
- [3] 王迪浔. 吸烟引起的肺血管反应性变化. 中华结核和呼吸杂志, 1991, 14: 267-268.
- [4] McCall T, Vallance P. Nitric oxide takes centre stage with newly defined roles[J]. TIPS, 1992, 13: 1.
- [5] 张旭晨, 阮英茆, 韩晓男, 等. 肺舒灵对金黄地鼠肺泡巨噬细胞表达一氧化氮合酶和产生一氧化氮的影响[J]. 中国中药杂志, 1999, 40(5): 366-368.
- [6] Af All MK, Howarth Ph. Nitric oxide and the respiratory system in health and disease[J]. Respir Med, 1998, 92(5): 701-705.