

活血化瘀法对慢性阻塞性肺疾病大鼠模型肺组织缺氧诱导因子 1 α 表达的干预作用

钟亮环, 刘小虹, 谢翠英, 钟小文, 黄纯美, 单丽因

广州中医药大学, 广东 广州 510006

[摘要] 目的: 通过建立规范慢性阻塞性肺疾病大鼠模型, 观察活血化瘀中药对肺泡灌洗液中缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 含量的影响。方法: 健康清洁级 wistar 大鼠 45 只, 雌雄不限, 鼠龄 4~8 周, 体重 (220 \pm 20) g, 随机分为空白对照组、模型组和中药干预组, 每组各 15 只。模型组、中药干预组采取强迫游泳、熏烟等方法建立慢性阻塞性肺疾病动物模型。造模成功后中药干预组予活血化瘀中药灌胃, 空白对照组和模型组大鼠予生理盐水灌胃。观察各组大鼠肺泡灌洗液缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 的浓度。结果: 与空白对照组比较, 模型组大鼠活动能力下降, 活动较少, 对外来刺激反应迟钝, 常拱背蜷卧, 有撮毛, 食欲减, 体重增幅减低, 口鼻分泌物增多, 常呼吸急促, 有咳嗽, 偶可闻及痰鸣音, 鼻部、唇周及爪甲变暗变紫。中药干预组大鼠的状况优于模型组。模型组与中药干预组 HIF-1 α 均显著升高, 与空白对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。中药干预组低于模型组, 差异也有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 活血化瘀中药可以降低大鼠 HIF-1 α 水平, 消减炎症程度, 改善肺功能。中药干预 HIF-1 α 的表达有可能成为治疗 COPD 新的治疗思路。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病 (COPD); 缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α); 活血化瘀法

[中图分类号] R563 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 07-0270-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.07.120

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是呼吸系统疾病的常见病和多发病, 在全球范围患病率和死亡率较高。因肺功能进行性减退, 严重影响患者的劳动力和生活质量^[1]。COPD 的发病过程中伴随着肺组织的慢性炎症及局部缺氧, 目前研究发现缺氧诱导因子(HIF-1 α)是普遍存在于人和哺乳动物细胞内的缺氧应答调控因子, 其与缺血/缺氧状态下机体众多炎症因子表达、免疫反应的各种应答机制有密切的关系, 推测 HIF-1 α 在慢性阻塞性肺疾病中具有重要调节作用^[2-3]。

1 材料与方

1.1 动物分组及处理 健康清洁级 wistar 大鼠 45 只, 雌雄不限, 鼠龄 4~8 周, 体重(220 \pm 20)g, 由广州中医药大学动物实验中心提供。由动物实验中心配置常规饲料喂养, 饮用自来水。随机分为空白对照组、模型组和中药干预组, 每组各 15 只。参照李泽庚等^[4]、肖诗亮等^[5]造模方法, 每天将模型组及中药干预组的大鼠放入恒温水槽(43 \pm 1) $^{\circ}$ C 中强迫游泳 30 min, 使其过劳而损耗肺气; 然后置于 1 m³ 熏烟箱内, 每天熏香烟 1 h, 每次 20 支去过滤嘴香烟。最后将大鼠置于常压低氧装置内(7 h/d), 通入氮气, 用自动测氧仪调控氧浓度至 (10 \pm 0.5)% , 二氧化碳传感器控制舱内二氧化碳始终维持在

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 $^{\circ}$ C。蒸气由变色硅胶吸收, 装置有一小孔与外界相通, 确保舱内的常压状态, 舱体由透明有机玻璃制造, 可观察大鼠进食、饮水活动等情况。造模每周进行 6 天, 第 7 天暂停, 连续 28 天。

各组动物灌胃治疗均在造模完成的第 1 天开始进行, 连续灌胃 14 天。动物灌胃药物剂量按体表面积换算为成人剂量的 7 倍换算。中药干预组予活血化瘀中药合剂 7.5g 生药/kg 灌胃, 每天 1 次, 每次 2 mL, 连续 14 天; 空白对照组和模型组大鼠每天 1 次予生理盐水 2 mL, 连续灌胃 14 天。

1.2 药品与试剂 中药处方: 陈皮、白芥子、甘草各 6 g, 法半夏、莱菔子、紫苏子、浙贝母、北杏仁、桃仁各 12 g, 茯苓、毛冬青各 15g。制剂由广州中医药大学第一附属医院中药制剂中心提供。水煎浓缩为浓度 0.75 g/mL 的浓缩液, 通过流通蒸汽灭菌, 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。大鼠缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 检测试剂盒, 美国 Sigma 公司(48T/96T)。

1.3 仪器与设备 动物实验低氧装置、动物强迫游泳装置、熏烟箱, 广州中医药大学自制; 37 $^{\circ}$ C 温箱; 洗板机, 普朗 DNX-9620; 酶标仪(WD2102A), 加样器, 多道移液器; 白沙

[收稿日期] 2015-01-22

[基金项目] 广东省中医药局建设中医药强省科研课题 (20112138)

[作者简介] 钟亮环 (1978-), 男, 副研究员, 主要从事呼吸内科临床、教学、科研及医学教育管理工作。

[通讯作者] 刘小虹, E-mail: rsclxh@gzucm.edu.cn。

软鹤翔牌香烟(焦油 13 mg、烟碱量 1.1 mg、CO₁₄ mg, 湖南中烟公司生产)。

1.4 肺泡灌洗液 (BALF) 的采集和 HIF-1 α 的浓度检测 将大鼠用 2% 的戊巴比妥(25mg/kg)麻醉后仰卧固定于操作台, 切开胸部, 暴露出气管和双肺, 结扎右主支气管, 在隆突上用套管针刺至左肺, 缓慢注入无菌生理盐水 3 mL, 每次注入后立即回吸得到 BALF, 重复 3 次。灌洗液纱布过滤, 回收率为 60% ~ 70%。BALF 在 4 $^{\circ}$ C、离心半径 8 cm、1500 r/min 离心 10 min, 取其上清液置入 EP 管保存于 - 20 $^{\circ}$ C 冰箱中待检。HIF-1 α 的浓度检测按说明书使用大鼠 HIF-1 α ELISA 检测试剂盒, 用酶联免疫吸附实验测定 HIF-1 α 的浓度。

1.5 统计学方法 各组计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 全部测量值以 SPSS 12.0 统计学统计软件处理, 组间比较用 q 检验。

2 实验结果

2.1 一般状况 与空白对照组比较, 模型组大鼠活动能力下降, 活动较少, 对外来刺激反应迟钝, 常拱背蜷卧, 有撮毛, 食欲减, 体重增幅减低, 口鼻分泌物增多, 常呼吸急促, 有咳嗽, 偶可闻及痰鸣音, 鼻部、唇周及爪甲变暗变紫。中药干预组大鼠的状况优于模型组。

2.2 各组 HIF-1 α 测定结果比较 见表 1。模型组与中药干预组 HIF-1 α 均显著升高, 与空白对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。中药干预组低于模型组, 差异也有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组 HIF-1 α 测定结果比较 pg/mL

| 组别 | n | HIF-1 α |
|-------|-----|-------------------------------|
| 空白对照组 | 15 | 0.88 \pm 1.42 |
| 模型组 | 15 | 1.78 \pm 1.07 ^① |
| 中药干预组 | 15 | 1.05 \pm 0.88 ^{①②} |

与空白对照组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

3 讨论

本研究中, 模型组大鼠一般状况符合 COPD 痰瘀阻肺证表现。与空白对照组大鼠比较, 模型组大鼠 HIF-1 α 水平明显升高, 提示 HIF-1 α 可能参与调控 COPD 肺血管重构过程, 及肺部炎症反应, HIF-1 α 表达水平与 COPD 严重程度密切相关。

中药干预组 HIF-1 α 水平高于空白对照组, 但比模型组有明显下降, 提示活血化瘀中药可以降低大鼠 HIF-1 α 水平, 消减炎症程度, 改善肺功能。中药干预 HIF-1 α 的表达有可能成为治疗 COPD 新的思路^[7]。方中陈皮理气健脾, 调中, 燥湿, 化痰; 法半夏燥湿化痰; 浙贝母清热化痰, 散结解毒; 北杏仁祛痰宁咳、润肠; 桃仁润肠通便, 止咳平喘; 茯苓利水渗湿, 燥湿化痰; 毛冬青活血通脉, 消肿止痛, 清热解毒; 白芥子温肺利气, 快膈消痰; 紫苏子降气行痰, 使气降而痰不逆; 莱菔子消食导滞, 使气行则痰行。“三子”系行气消痰之品, 根据“以消为补”的原则, 合而为用, 各逞其长, 可使痰消气顺, 喘嗽自平; 再以甘草清热解毒, 祛痰止咳, 调和诸药。中医学在治疗 COPD 方面有着丰富的临床经验与独特的疗效, 长期临床实践证实中医药能缓解其症状, 减少发作次数, 其康复治疗是提高患者生活质量的有效手段, 值得深入研究。

[参考文献]

- [1] 洪秀琴, 肖水源. 慢性阻塞性肺疾病流行病学研究进展[J]. 中国医师杂志, 2009, 11(6): 861- 863.
- [2] 谢翠英, 刘小虹, 钟小文. 中医药对 COPD 患者肺组织缺氧诱导因子 1a 表达作用的研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(3): 245- 247.
- [3] 张红璇, 魏文婷, 于荣秀. 缺氧诱导因子 1 α 与慢性阻塞性肺疾病的相关研究进展[J]. 中国医药, 2009, 4(10): 827- 828.
- [4] 李泽庚, 彭波, 张杰根, 等. 肺气虚证模型大鼠的建立[J]. 北京中医, 2005, 24(1): 53- 55.
- [5] 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.
- [6] 尹婷婷, 李泽庚, 王婕琼. 芪白平肺胶囊对慢性阻塞性肺疾病肺血管收缩大鼠肺功能及内皮素水平 - 1、缺氧诱导因子 1 α 的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2014, 30(10): 793- 795.
- [7] 刘小虹, 单丽囡, 宋阳, 等. 活血化瘀法对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者肺功能和生存质量的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2006, 23(4): 275- 281.

(责任编辑: 骆欢欢)