

通心络对低氧低压性肺动脉高压大鼠的治疗作用及其机制

王 卓^{1*}, 马巧亚², 刘宁周³

(1. 北京外国语大学医院中医科 北京 100089; 2. 西安交通大学第二附属医院干部科, 陕西 西安 710004;
3. 北京朝阳区中医院科教科, 北京 100000)

摘要: 为探讨通心络治疗低氧低压性肺动脉高压大鼠的效果及其作用机制。选取健康成年 SD 雄性大鼠随机分为模型组、对照组及通心络组, 模型组和通心络组采用低压低氧环境喂养, 对照组采用常规环境喂养, 通心络组每天给予通心络灌胃, 连续干预 4 周; 对比各组大鼠的肺血管重塑指标 (WT%、WA%)、肺血流动力学指标 (mPAP、RVSP) 及 NO、ET-1、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 的含量。实验结果显示, 通心络降低 NO、ET-1 水平, 对低氧低压性肺动脉高压大鼠具有显著的治疗效果, 可以改善氧化应激功能。

关键词: 通心络; 低氧; 低压; 肺动脉高压

中图分类号: R543.2

文献标识码: A

Therapeutic effect and mechanism of Tongxinluo on rats with hypoxic hypobaric pulmonary hypertension

WANG Zhuo^{1*}, MA Qiaoya², LIU Ningzhou³

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, Beijing Foreign Studies University Hospital, Beijing 100089, China; 2. Cadres Section, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi, China; 3. Science and Education, Beijing Chaoyang District Hospital of Chinese Medicine, Beijing 100000, China)

Abstract: To explore the effect and mechanism of Tongxinluo in the treatment of hypoxic and hypobaric pulmonary hypertension in rats. Healthy adult SD male rats were randomly divided into model group, control group and Tongxinluo group. The model group and Tongxinluo group were fed with low-pressure hypoxic environment, the control group was fed with regular environment, and the Tongxinluo group was given daily. The rats were intragastrically administrated for 4 weeks. The WT%, WA%, mPAP, RVSP, NO, ET-1, SOD and MDA of each group were compared. The experimental results show that Tongxinluo reduces the levels of NO and ET-1, and has significant therapeutic effects on hypoxic and hypotensive pulmonary hypertension rats, which can improve oxidative stress.

Key words: Tongxinluo; hypoxia; hypotension; pulmonary hypertension

肺动脉高压是由慢性阻塞性肺疾病发展成为肺源性心脏病的关键环节^[1]。低氧低压性肺动脉高压 (HPH) 发病机制复杂, 主要的病理性改变是肺动脉血管收缩和后期肺血管的改变^[2]。目前有研究报道^[3]炎症、免疫反应和氧化应激反应参与 HPH 的发病全过程且经过抗炎、抗氧化治疗后, 患者的临床症状得到显著改善。通心络是以中国古代中医经络病理理论为基础研制的具有抗氧化、抗动脉粥样硬化、改善内皮功能及改善缺血损伤等功能的

复方中药制剂^[4]。研究报道通心络广泛应用于治疗心脑血管疾病, 逆转缺血再灌注损伤, 保护心脑血管, 疗效肯定, 且在治疗慢性肺源性心脏病引起的肺动脉高压具有较好的治疗效果^[5-6]。但关于通心络对低氧低压性肺动脉高压的治疗作用机制尚未阐明。为此, 本研究通过建立低氧低压性肺动脉高压大鼠动物模型, 探讨通心络在低氧低压性肺动脉高压的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取 SPF 级健康成年 SD 雄性大鼠 36 只, 10 周

龄,体重 210.4 ± 8.6 g, 饲养于室温 $23 \sim 25$ °C、相对湿度 45% ~ 60%、每日光照 12 h 的环境中。

1.2 药品与试剂

通心络(石家庄以岭药业股份有限公司)、羧甲基纤维素钠、多聚甲醛、苏木素、伊红液、一抗、二抗等购于深圳艾美洁科技有限公司。

1.3 动物分组

健康成年 SD 雄性大鼠按照随机数字法随机分为对照组、模型组及通心络组。模型组和通心络组在低氧低压舱内喂养、对照组采用常规环境喂养。

参照文献[7]的方法建立低氧低压性肺动脉高压大鼠模型,将大鼠置于低氧低压舱(大气压 50 kpa 氧气浓度 10%),持续 4 周。通心络组:通心络干预剂量为每天 1.2 g 生药/kg。用 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶解配成浓度为 0.12 g 生药/mL 混悬液,每次按 0.1 mL/10 g 体重灌胃。模型组给予相同体积的 0.5% CMC-Na 溶液灌胃。

1.4 HE 染色

将肺组织(厚度 $4 \sim 6$ μ m)用 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋、切片;二甲苯脱蜡后用不同浓度的乙醇水洗;苏木素染后 5 min 水洗;盐酸乙醇分化 30 s;置于温水中 5 min 后放入伊红液 2 min,紧接着切片脱水,透明依次用各级乙醇和二甲苯封片。

1.5 观察指标及检测方法

根据 HE 染色切片,计算血管厚度与血管外径之比(WT%)和管壁面积占血管总面积的百分比(WA%);参照文献对^[8]血流动力学指标平均肺动脉压(mPAP)、右室收缩压(RVSP)进行检测。

采用试剂盒分别检测 ET-1、NO、SOD 和 MDA 的水平,操作步骤严格按照说明书进行。

1.6 统计学方法

统计软件采用 SPSS16.0 版本,计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析法,组间两两比较采用 LSD-t 检验;以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠肺动脉组织病理学观察

如图 1 所示,在 HE 染色后,光镜下观察,对照组大鼠的肺动脉壁薄且光滑,内皮细胞扁平;肺动脉高压组的肺动脉内膜及中膜肥厚,平滑肌细胞增殖明显、排列比较紊乱、管腔变的狭窄、可见较多的炎性细胞浸润;通心络干预组的上述情况较模型组均有显著的改善。

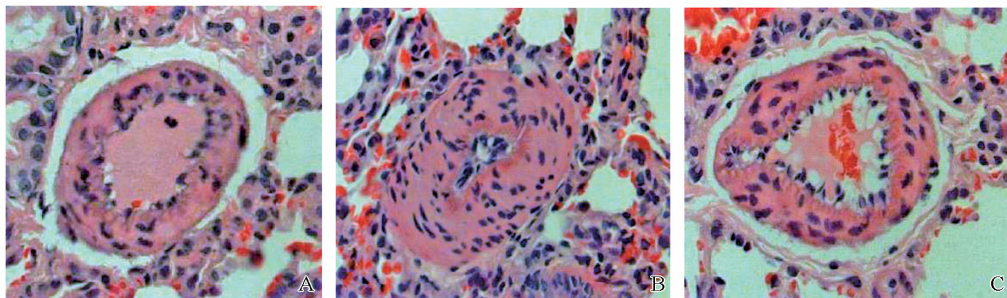


图 1 各组大鼠肺动脉 HE 染色结果

A:对照组;B:模型组;C:通心络组(HE 200 $\times$)

2.2 各组大鼠的肺动脉压力变化相关指标比较

表 1 所示,与对照组相比,模型组大鼠的 WT%、WA%、mPAP、RVSP 的测定值均显著增高,给予通心络干预 4 周后,大鼠的 WT%、WA%、mPAP、RVSP 的测定值均显著降低。

2.3 各组大鼠的血清 NO、ET-1 水平比较

表 2 所示,干预 4 周后,与对照组相比,模型组大鼠血清 ET-1 水平的测定值均显著升高,血清 NO 水平降低($P < 0.05$);给予通心络干预后,大鼠的血清 ET-1 水平显著降低,血清 NO 水平显著的升高。

表 1 各组大鼠的肺动脉压力变化相关指标比较

组别	WT%	WA%	mPAP (mmHg)	RVSP (mmHg)
对照组	23.49 ± 4.09	46.74 ± 4.10	17.43 ± 1.63	27.54 ± 3.84
模型组	48.28 ± 6.80^a	78.59 ± 9.88^a	33.28 ± 2.80^a	46.91 ± 7.74^a
通心络组	33.71 ± 3.83^{ab}	54.20 ± 6.17^{ab}	24.16 ± 2.21^{ab}	35.84 ± 5.80^{ab}
F	19.846	22.004	26.842	24.108
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ ($n = 12$)

表 2 各组大鼠的血清 NO、ET-1 水平比较

组别	NO (μmol/L)	ET-1 (pg/ml)
对照组	43.66±3.02	77.40±18.94
模型组	30.71±2.85 ^a	176.30±30.15 ^a
通心络组	38.94±2.99 ^{ab}	110.2±23.05 ^{ab}
F	19.550	48.164
P	<0.01	<0.01

与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ ($n=12$)

2.4 各组大鼠的肺组织中 SOD、MDA 水平比较

表 3 所示,干预 4 周后,与对照组相比,模型组大鼠肺组织 MDA 的测定值均显著增高,肺组织中 SOD 显著降低($P<0.05$);与模型组比较,通心络组大鼠的肺组织 MDA 测定值均显著降低,肺组织中 SOD 显著的增高($P<0.05$)。

表 3 各组大鼠的肺组织中 SOD、MDA 表达水平比较

组别	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)
对照组	44.20±2.27	0.74±0.14
模型组	22.51±1.40 ^b	0.86±0.12 ^b
通心络组	37.04±2.05 ^{ab}	1.16±0.19 ^{ab}
F 值	31.163	28.553
P 值	<0.01	<0.01

与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ ($n=12$)

3 讨 论

低氧低压性肺动脉高压是慢性阻塞性肺疾病患者发展为肺源性心脏病的重要促进因素。病理改变以肺动脉持续收缩导致的肺动脉高压和平滑肌细胞增生的肺血管结构重建为主^[9]。HPH 发病原因较复杂,目前对 HPH 的发病机制至今未完全阐明,有研究显示^[10],缺氧导致体液因子调节失衡、离子通道活性改变、基因调控异常等均是导致 HPH 发病的原因。NO 和 ET-1 两者的平衡对于血管舒缩功能的维持具有重要意义,生理条件下,NO 对维持内皮正常生理功能具有重要作用^[11]。缺氧条件下,内皮功能紊乱,表现为 eNOS 合成的对机体有益的 NO 减少,而 iNOS 合成的有害的 NO 增加,NO 参与炎症反应对机体产生损害^[12]。文献报道,HPH 主要的病理学改变是肺血管收缩压力升高及后期肺血管结构的改变^[13]。有研究报道低氧低压性肺动脉高压患者血浆中 ET-1 升高,NO 水平降低,肺动脉血管处于高度收缩状态,形成肺动脉高压^[14]。本研究结果显示,模型组大鼠血清 ET-1 水平显著升高,血清 NO 水平降低,通心络干预后可显著降低 HPH 大鼠的血清 ET-1 水平,升高血清 NO 水平,说

明通心络可通过发挥抗炎、改善内皮功能的作用改善 HPH 临床症状机制与降低 ET-1 水平、升高血清 NO 水平有关。SOD 是氧化应激反应中主要的抗氧化剂,SOD 主要存在于细胞表面和细胞外基质。机体抗氧化系统主要受 SOD 和氧化剂 MDA 的动态平衡维持。本研究发现,HPH 大鼠经过通心络干预后,SOD 提高,MDA 下降,说明通心络对低氧低压性肺动脉高压引起的氧化应激反应具有一定的缓解作用,其症状改善与减轻 HPH 大鼠肺动脉病理学改变一致。说明通心络对降低肺动脉高压,改善肺血管结构具有积极作用。

综上所述,通心络治疗低氧低压性肺动脉高压大鼠具有显著的治疗效果,其作用机制与降低 NO、ET-1 水平,改善氧化应激功能有关。

参考文献:

- [1] 盖祥云,林鹏程,何彦峰,等.低氧性肺动脉高压中低氧性肺血管收缩的作用[J].中国药理学通报,2016,32(6):768-72.
- [2] 朱玉蕊,江其敏,沈晓旭,等.ICU 肺动脉高压患者右心功能的超声研究[J].实用医学杂志,2017,33(2):246-9.
- [3] 李宜珊,康睿男,张舒婷,等.慢性低氧性肺动脉高压大鼠凝血纤溶因子的变化[J].国际呼吸杂志,2019,39(6):408-12.
- [4] 刘娜.通心络胶囊联合舒地尔治疗慢性阻塞性肺病患者肺动脉高压的疗效[J].医疗装备,2016,29(15):100-1.
- [5] ZHANG N, DONG M, LUO Y, et al. Danshensu prevents hypoxic pulmonary hypertension in rats by inhibiting the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells via TGF-β-smad3-associated pathway[J].Eur J Pharmacol, 2017, 820(7):1-7.
- [6] 马婷婷,潘磊,王学艳,等.通心络对低氧肺动脉高压大鼠的保护作用及其 NO 机制[J].辽宁中医杂志,2017,11(5):1093-5.
- [7] 杨瑞,张海峰,孙新,等.间歇性低氧预适应延缓大鼠低氧性肺动脉高压发展并改善肺动脉舒张[J].心脏杂志,2016,11(6):647-50.
- [8] TYULKOVA EI, VETROVOY OV, SARIEVA KV, et al. The characteristics of acetylation of histone H3 at Lys24 in the hippocampus and neocortex of rats that were exposed to hypoxic stress at different stages of prenatal development[J].Neurochem J, 2017, 11(4):309-14.
- [9] 杨诚忠,李满满,罗羽莎,等.LIGHT 在低氧性肺动脉高压形成中的作用及机制[J].第三军医大学学报,2018,40(8):643-51.
- [10] 李宜珊,康睿男,张舒婷,等.低氧性肺动脉高压患者凝血纤溶因子和血细胞比容的变化及其意义[J].中国临床研究,2019,32(8):1045-8.
- [11] 张存娟.脂联素在低氧性肺动脉高压发生中的作用及其机制研究[D].西安:第四军医大学,2016.
- [12] 赵晨,姚小燕,薛新颖,等.低氧低氧性肺动脉高压中组织因子致高凝状态的研究[J].中国分子心脏病学杂志,2016,11(6):1920-2.
- [13] 高磊.慢性间歇性低氧对野百合碱诱导大鼠肺动脉高压的预防作用及其机制研究[D].石家庄:河北医科大学,2016.
- [14] 李贺,谷强,王萌萌,等.钙感受受体对低氧诱导的持续性肺动脉高压小鼠肺动脉平滑肌细胞内钙离子浓度的影响[J].中华新生儿科杂志,2018,33(1):59-64.

(本文编辑:秦旭平)