

灯盏花注射液对大鼠肺纤维化作用的初步研究

谢于鹏¹,毛孙忠²,叶进燕¹,方周溪²,范小芳²,陈少贤¹ (1.温州医学院附属第一医院呼吸科,浙江 温州 325000; 2.温州医学院,浙江 温州 325000)

摘要:目的 探讨灯盏花注射液对博来霉素诱导的肺纤维化大鼠肺组织氧自由基和显微结构的影响。方法 SD大鼠经气管内灌注博来霉素诱导肺纤维化,随后每日腹腔注射灯盏花注射液 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,另一组每日注射地塞米松。于注药 28 d后处死。通过 HE染色和透射电镜检查肺组织,并测定肺组织 SOD,MDA来评价干预效果。结果 灯盏花组结果与地塞米松组相似,与博来霉素组相比,肺组织 SOD下降,MDA升高,光镜结果提示肺纤维化程度减轻。结论 灯盏花注射液能减轻大鼠肺纤维化,部分机制与抗氧化有关。

关键词:肺纤维化;博来霉素;氧自由基;灯盏花

中图分类号: R965.1; R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)03-0179-02

Effect of Breviscapus Injection on Pulmonary Fibrosis in Rats

XIE Yu-peng¹, MAO Sun-zhong², YE Jin-yan¹, FANG Zhou-xi², FAN Xiao-fang², CHEN Shao-xian¹ (1. Department of Respiriology, The First Affiliated Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China; 2. Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of Breviscapus Injection on changes of in oxyradical contents and microstructure of the pulmonary tissue of rats with pulmonary fibrosis induced by pouring bleomycin into the lungs. **METHODS** Thirty-two Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups: control, bleomycin (BLM), breviscapus (BRE) and dexamethasone (DXM) group, with 8 rats in each group. After 28 days, the MDA and SOD of lung were measured, and the histology was examined. **RESULTS**

In the BRE group, the concentration of was significantly lower than which of BLM group ($P < 0.01$), and the degree of fibrosis was more mitigative than BLM group when examined by microscope, similar to that in the DXM group. **CONCLUSION** Breviscapus can reduce the damage caused by oxygen-derived free radicals in bleomycin. Treatment with breviscapus may be useful in inhibiting pulmonary fibrosis.

KEY WORDS: pulmonary fibrosis, bleomycin, oxyradical, breviscapus

近年来肺纤维化的发病率有增高的趋势^[1]。糖皮质激素是主要的治疗药物之一,但不良反应较大。笔者用博来霉素(Bleomycin, BLM)制作大鼠的肺纤维化模型,观察其肺组织氧自由基以及显微结构的变化,并观察灯盏花注射液的作用。

1 材料和方法

1.1 动物、药品和试剂

清洁级 SD大鼠 32只,购自温州医学院试验动物中心,体重(200 ± 20)g,动物合格证号 02624。博来霉素购自日本化药株式会社,灯盏花注射液购自云南生物制药厂, SOD, MDA试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 分组

将试验动物随机分为 4组,每组各 8只:①正常对照组,

基金项目:浙江省中医药管理局基金项目 (No. 2002C079)

作者简介:谢于鹏,男,硕士,主治医师

Tel: (0577) 88069213

E-mail: xieyp2002@126.com

气管内注入 0.9%生理盐水 0.5 mL以作对照;②博莱霉素组,气管内注入博莱霉素 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,注药后将大鼠向各个方向旋转以使药液尽可能均匀分布于肺内;③灯盏花组,于气管内注入博莱霉素 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后次日开始腹腔注射灯盏花注射液($4\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,qd);④地塞米松组,于气管内注入博莱霉素 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后次日开始腹腔注射地塞米松针($3.33\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,qd)。以上动物均常规饲养,于投药 28 d后放血处死。

1.3 肺组织丙二醛含量、谷胱甘肽过氧化物酶活性测定

大鼠放血处死,立即完整取出肺,用滤纸吸干水分,测定肺重。计算肺系数(肺系数=肺重/体重 $\times 100\%$)。取右下肺组织制成 10%匀浆,硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量,DTNB法测定谷胱甘肽过氧化物酶活性。

1.4 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间差异采用 *t* 检验进行分析, $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 灯盏花注射液对大鼠肺系数、肺组织 MDA、SOD 的影响

气管内滴入博莱霉素 28 d后,肺系数、大鼠肺组织 MDA 较对照组、灯盏花组和地塞米松组明显增高,肺组织 SOD 较对照组明显降低,较灯盏花组和地塞米松组也有下降,见表 1。

表 1 各组大鼠肺系数、SOD、MDA 的变化($n=8$, $\bar{x}\pm s$)
Tab 1 Changes of lung coefficient, SOD and MDA in different groups($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

组别	肺系数/%	SOD/ U $\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{pro}$		MDA/ nmol $\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{pro}$	
对照组	48.62 \pm 13.62 ²⁾	591.89 \pm 155.91 ¹⁾		0.66 \pm 0.21 ¹⁾	
博莱霉素组	74.95 \pm 10.41	402.31 \pm 159.36		0.85 \pm 0.10	
灯盏花组	57.19 \pm 21.26 ¹⁾	478.77 \pm 109.09		0.62 \pm 0.13 ²⁾	
地塞米松组	58.53 \pm 11.08 ¹⁾	477.42 \pm 122.72		0.63 \pm 0.14 ²⁾	

注:和博莱霉素组比,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with the BLM group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

2.2 灯盏花注射液对大鼠显微结构的改变

HE 染色光镜下可见博莱霉素致肺纤维化模型组大鼠的肺泡间隔增厚,肺间质增多,间质内可见大量成纤维细胞,巨噬细胞明显增多。而灯盏花组大鼠的肺组织镜下改变与地塞米松组相似:肺组织纤维化在光镜下较博莱霉素组有不同程度的减轻,电镜下见核固缩以及核膜表面凹凸不平较博莱霉素组有减轻,板层小体明显增多,肺泡间质胶原明显少于博莱霉素组,表面微绒毛比较丰富,但较正常组有所减少。肺泡隔毛细血管管腔舒散,内皮细胞未见明显改变。

3 讨论

博莱霉素制作动物肺纤维化模型是普遍采用的方法,造模后 4 周以肺纤维化为主要病变,其组织病理学和生理学改变与人肺纤维化近似^[2]。本实验表明,气管内注入博莱霉素

4 周后,肺系数明显高于对照组,提示大量胶原沉积。HE 染色显示肺泡间隔增厚,肺间质增多,间质内可见大量成纤维细胞,巨噬细胞明显增多。提示造模成功,而注射灯盏花注射液后较博莱霉素组有不同程度的减轻。

灯盏花注射液的主要成分是灯盏花总黄酮(主要成分是灯盏花乙素),具有抗凝、扩血管、减轻氧自由基损伤等作用^[3]SOD 能清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$,保护细胞免受损伤,可以评估机体的抗氧化水平。MDA 是 LPO 的代谢终产物,故检测 MDA 可以反映 LPO 的水平。笔者在先前的研究发现,灯盏花注射液能减轻低氧性肺动脉高压大鼠的脂质过氧化损伤^[4]。在用博莱霉素气管内滴入制作大鼠肺纤维化模型后,立即用灯盏花注射液干预,发现灯盏花注射液能升高肺匀浆 SOD 含量,同时降低 MDA 含量,提示灯盏花注射液能抑制博莱霉素导致的脂质过氧化反应,显微结构也显示灯盏花注射液能减轻细胞损伤,减少胶原沉积,效果与地塞米松相近。目前已知,氧化抗氧化是肺纤维化的重要发病机制之一。自由基直接参与了肺的损伤过程,可以使 DNA 解链,其代谢产物脂质过氧化物可以使生物膜功能丧失,同时活性氧可增加花生四烯酸的合成,扩大炎症反应,刺激成纤维细胞增殖,而成纤维细胞是肺 I 型胶原产物的主要来源,因此自由基在肺肺炎以及肺纤维化的发病过程中起到重要作用^[5]。而灯盏花注射液可以减轻氧自由基对肺组织的损伤,使得肺内炎症得到一定的控制,从而减轻以后的肺纤维化过程。虽然早期应用糖皮质激素可以减缓肺纤维化的进一步发展,但由于激素有较大的不良反应,因此应用灯盏花注射液对防止肺纤维化进一步恶化有一定的价值。本实验为临床应用灯盏花注射液防治肺间质纤维化提供了一定的实验依据。

REFERENCES

[1] AGOSTINI C, SIVIERO M, SEMENZATO G. Immune effector cells in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Curr Opin Pulm Med. 1997, 3(5): 348-355.
[2] CHAI W S, LI Y C, LIU Y L, et al. Morphologic Study of Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis in Rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin (中国实验动物学报), 2003, 11(2): 77-80
[3] CAI Y M. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica (最新中药药理和临床) [M]. Beijing: huaxia Publishing Company, 1999: 572-574
[4] XIE Y P, WANG C, PANG B S, et al. Experimental Study about the Prophylactic Effect of Breviscapus Injection on Hypoxic Pulmonary Hypertension in Rats [J]. Chin J Tuberc Respir Dis (中华结核和呼吸系疾病杂志), 2001, 24(3): 173-174.
[5] PELUSO G, FEO V D, SIMONE F D, et al. Studies on the inhibitory effects of caffeoylquinic acids on monocyte migration and superoxide anion production[J]. J Nat Prod, 1995, 58(5): 639-646.

收稿日期: 2007-07-24