

活血化瘀中药对 COPD 血管重塑的干预作用

张伟¹, 谷明明^{2*}, 孙璐璐², 韩佳², 姚玉强²

(1. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011; 2. 山东中医药大学, 济南 250014)

[摘要] **目的:**观察慢性阻塞性肝病(COPD)模型大鼠应用活血化瘀药物后肺血管的病理变化,探讨活血化瘀中药对 COPD 血管重塑的干预作用。**方法:**用气管内注入脂多糖(LPS)及烟熏方法制作慢性阻塞性肺疾病模型。第 29~42 天,H 组大鼠腹腔注射川青溶液 8 mg·kg⁻¹,每天 1 次,C 组大鼠给予等体积生理盐水。于第 6 周处死 3 组大鼠,观察 COPD 模型大鼠应用活血化瘀药物后肺血管的病理变化。**结果:**C 组和 H 组均有 COPD 特征性改变,但程度不同。H 组血管平滑肌细胞轻度增生,管壁轻度增厚,血管平滑肌细胞厚度/血管壁厚度比值、血管壁面积/血管面积比值与 N 组、C 组比较均有显著差异($P < 0.01$)。电镜下观察 N 组内皮细胞、基底膜、线粒体、板层小体正常;C 组则出现明显变化,内皮细胞吞饮小泡增多,线粒体水肿或空泡变性,胞核有明显固缩倾向,毛细血管腔内见多形核白细胞堵塞;H 组内皮细胞、基底膜、线粒体、板层小体基本正常,毛细血管腔内可见少量多形核白细胞。**结论:**活血化瘀药物能够延缓或者改善 COPD 大鼠模型的血管重塑,指导临床慢阻肺从痰论治,根据其发展过程中的不同阶段并结合病情和体质进行辨证施治,灵活地运用活血化瘀药物,科学地看待活血化瘀在防治慢阻肺中的重要作用,以提高临床疗效。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 活血化瘀中药; 血管重塑

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0254-04

[doi] 10.11653/syfyj2013080254

[收稿日期] 20121008(014)

[基金项目] 山东省自然科学基金项目(Y2006C114)

[第一作者] 张伟,主任医师、教授,博士,博士生导师,从事呼吸系统疾病的中西医结合临床诊疗及基础理论研究,Tel:0531-68617606,E-mail:huxizhijia@126.com

[通讯作者] * 谷明明,Tel:15098928096,E-mail:mingming0821@126.com

[参考文献]

[1] 徐寅,郭璇,王小娟,等.舒胃汤对功能性消化不良大鼠 P 物质与胃窦 Cajal 间质细胞的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(6):206.

[2] 岳利峰,丁杰,陈家旭.肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价[J].北京中医药大学学报,2008,31(6):396.

[3] 谢鸣,杨卫红,刘月.小柴胡汤对高脂血症性模型大鼠的作用观察[J].浙江中医药大学学报,2010,34(1):54.

[4] 李佃贵,戎士玲,王凤丽,等.凉润通络方及其拆方对糖尿病大鼠胃肠运动影响[J].中国中医药远程教育,2008,6(10):1162.

[5] 安丽,曹国强,张照兰.张照兰教授治疗功能性消化不良临床经验[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(24):278.

[6] 胡学军,黄穗平,邓时贵.健脾理气方对功能性消化不良大鼠胃肠运动功能及胃动素、胃泌素的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):214.

[7] 庞秀花.疏肝健脾法治疗功能性消化不良临床研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(9):105.

[8] 王艳,孙鹏,张学栋,等.柴胡对胃肠运动的影响[J].今日药学,2011,21(7):442.

[9] 张红霞,王军.生姜醇提物药理学研究进展[J].中医研究,2008,21(3):60.

[10] 张翼轸,张文驹,穆青,等.人参化学成分的药理活性及其含量积累的研究进展[J].安徽农业科学,2011,39(20):12158.

[11] 罗莉,玉崧成,王金水,等.大枣多糖结构及药理活性的研究进展[J].安徽农业科学,2010,38(30):16860.

[12] 孙晓宁,刘晓梅.功能性消化不良患者血浆胃肠激素水平研究[J].海南医学院学报,2005,11(4):248.

[13] 江家赞,吴淑玲,程宏辉.疏肝健脾中药治疗功能性消化不良临床研究[J].安徽中医学院学报,2011,30(3):26.

[责任编辑 邹晓翠]

Intervention Effect of Activating Blood Circulation and Eliminating Stasis Chinese Herbals on Vessel Remodeling of COPD

ZHANG Wei¹, GU Ming-ming^{2*}, SUN Lu-lu², HAN Jia², YAO Yu-qiang²

(1. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250011, China;

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** Observe the pulmonary vascular pathological change in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rat models of application for activating blood circulation and eliminating stasis drugs, explore the vascular remodeling of COPD. **Method:** Make COPD models by dropping lipopolysaccharide (LPS) into tracheal and passive smoking method. From 29th to 42th days, group H are gave intraperitoneal injection of Chuanqing solution 8 mL·kg⁻¹·day⁻¹; group C are gave volumetric saline. Execute the three groups rats in sixth weeks, observe the pathological changes of pulmonary vessels in rat models applied activating blood circulation and eliminating stasis drugs. **Result:** Compared to group N there are characteristically changes in group C and H, but different in degree. Compared to group N and C, vascular smooth muscle cells of group H have mild hyperplasia, the wall was thickened slightly, the ratio of blood vessel wall/blood vessel wall and hemal wall area/vascular area are significantly ($P < 0.01$). Under the electron microscopy observation, the endothelial cells, the basement membrane, mitochondria and shelf small body of group N are normal; group C appear obvious changes. The pinocytotic vesicles of endothelial cells increased, mitochondrion edema or vacuoles degenerate. The nuclei have become obvious tendency of becoming pyknotic. Many nucleation white blood cells are blocked in the capillary lumen; endothelial cells, the basement membrane, mitochondria and lamellar body in group H are basically normal. There are a few nucleation white blood cells in the capillary lumens. **Conclusion:** Traditional Chinese medicine for activating blood circulation and eliminating stasis can slow or improve the blood vessels remodeling of COPD. It guides the treat should accord to its different stages in the process of development and combined with illness, use the drugs for activating blood circulation and eliminating stasis flexibly, give a scientific understanding of the importance in control of COPD to improve the clinical effect.

[Key words] chronic obstructive pulmonary disease; traditional Chinese medicine for activating blood circulation and eliminating stasis; vascular remodeling

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary diseases, COPD) 是一种非常普遍的慢性呼吸系统疾病,该病是具有气流阻塞特征的慢性支气管炎和(或)肺气肿,以不完全可逆的气流受限为特点,其气流阻塞呈进行性发展,但部分有可逆性,可能伴有气道高反应^[1]。在中医学中,慢性阻塞性肺疾病属于“咳嗽”、“哮病”、“喘证”、“肺胀”等范畴,气虚血瘀是病情发展过程的主要病理因素。本文旨在观察 COPD 模型大鼠应用活血化痰药物后肺血管的病理变化,探讨活血化痰中药对 COPD 血管重塑的干预作用。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 24 只,鼠龄 10~12 周,体重(200±20)g,由山东大学实验动

物中心提供[动物合格证号 SCXK(鲁)20090001]。

1.2 试剂 指定品牌香烟,脂多糖(LPS)(美国 Sigma 公司),10%水合氯醛(山东大学齐鲁医院,批号 20120305);PBS 缓冲液(pH 7.4)(北京康为世纪生物科技有限公司),盐酸川芎嗪注射液(哈尔滨三联药业有限公司)。

1.3 仪器 AE200 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),全自动脱水机(LEICA ASP 300 德国);全自动包埋机(LEICA EG 1160 德国),LEICA 型石蜡切片机(RM 2135 德国),CS-III 型生物组织摊片烤片机(湖北省医用电子仪器厂制造);CX41-32rfI 型病理图像分析(Olympus),日本电子 JEM-1200EX 透射电镜,美国 GATAN CCD 图像处理系统。

2 方法

2.1 动物模型的建立 大鼠适应性饲养 7 d 后,采用随机数字表法分为 3 组:空白组(N),COPD 模型组(C),活血化痰药物组(H)。

C 组及 H 组大鼠分别于第 1,14 天气管内注入脂多糖 200 μg (200 μL),第 2~28 天(第 14 天除外)将大鼠放入 80 cm \times 60 cm \times 50 cm 大小的有机玻璃熏箱内被动吸烟,^[2]每次点燃烟丝的质量为 9.03 g(每支烟烟丝质量为 0.645 g),每天 2 次烟熏,每次 10 支香烟,时间持续 1 h,2 次熏烟间隔时间 4 h。第 29 天起,给予 H 组大鼠腹腔注射川芎嗪溶液 8 mg \cdot kg⁻¹,每天 1 次,连续 2 周。C 组大鼠给予等体积生理盐水,每天 1 次,连续 2 周。N 组大鼠隔离饲养,不给予烟熏及药物干预,正常饲养。于第 6 周处死全部大鼠取肺组织行病理观察及指标检测。

2.2 肺血管超微结构的检测

2.2.1 肺组织切片制作 用 10% 水合氯醛(0.003 mL \cdot g⁻¹)麻醉后,快速取出左肺上叶,用 PBS 缓冲液冲洗组织周围的血液等污物,留取左肺门 1 mm³ 大小组织块。取 2.5% 戊二醛固定的肺组织块,予 1% 锇酸后固定,用乙醇-丙酮系列梯度脱水后 Epon812 包埋,超薄切片机常规切片,经醋酸铅及枸橼酸铅双重染色后,在透射电镜下观察肺组织形态结构的改变。将用福尔马林溶液固定的肺组织以混合固定液(乙醇、福尔马林各半)固定 2 h,乙醇梯度脱水。脱蜡水化、苏木素染液浸 5~10 min,流水洗去苏木素染液 10 min,盐酸酒精(70% 酒精 99 mL,浓盐酸 1 mL)分化数秒钟,水洗 1~2 s,用 1% 氨水返蓝 5~10 s,流水水洗 1~20 s,蒸馏水 1~2 s,最后脱水、透明、封固,光镜下观察病理改变。

2.2.2 病理检测 用美国 GATAN CCD 图像处理系统进行图像分析,测量与呼吸性细支气管及肺泡管伴行的肺小动脉外径、管壁厚度、血管总面积及管壁面积,计算出血管平滑肌厚度/血管壁厚度及各组血管壁面积/总血管面积的百分比,反映肺小动脉管壁增厚程度。

2.3 统计学处理 全部数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 18.0 统计软件进行处理。采用单因素方差分析,并进一步用 LSD 法两两比较,以 $P < 0.05$ 表示有统计学差异。

3 结果

3.1 大鼠一般情况变化 实验过程中由于感染、缺氧窒息等死亡大鼠 2 只(C 组、H 组各 1 只)。3 组大鼠实验前各组间体重无显著差异。实验后 3 组大

鼠体重 C 组与 N 组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),H 组与 N 组比较无显著差异(图 1)。N 组精神状态良好,活动灵敏,皮毛光滑,未闻及喘息,饮水进食情况良好;C 组精神状态差,活动欠灵敏,皮毛黄染,可闻及喷嚏、喘息,饮水进食情况差;H 组精神状态一般,活动尚灵敏,皮毛黄染,偶可闻及喷嚏、喘息,饮水进食情况一般。

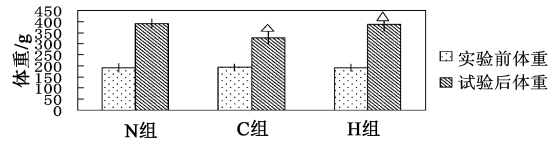
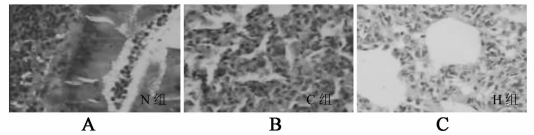


图 1 实验前后大鼠体重变化($\bar{x} \pm s$)

3.2 腺泡内肺动脉病理改变

3.2.1 光镜观察结果 ①N 组:血管平滑肌均匀、无增生,血管壁无增厚,周围无炎症细胞浸润。②C 组:血管平滑肌增生明显,几乎占据整个血管管壁,周围有大量炎症细胞浸润。③H 组:血管平滑肌轻度增生、血管壁轻度增厚,周围有少量炎症细胞浸润(图 2)。



A. N 组; B. C 组; C. H 组

图 2 病理组织切片照片(HE \times 200)

3.2.2 各组血管平滑肌厚度/血管壁厚度比较及各组血管壁面积/总血管面积比较 C 组和 H 组均有 COPD 特征性改变,但程度不同。H 组血管平滑肌细胞轻度增生,管壁轻度增厚,血管平滑肌细胞厚度/血管壁厚度比值、血管壁面积/血管面积比值与 N 组、C 组比较均有显著差异($P < 0.01$)(图 3)。

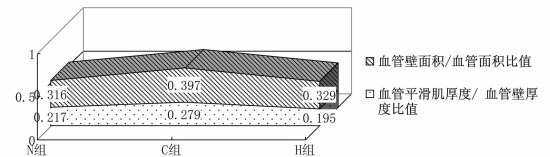
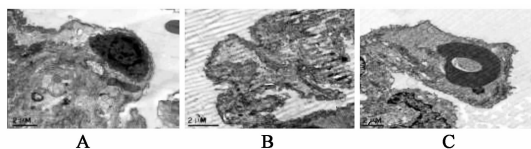


图 3 血管壁变化观察比较

3.2.3 电镜观察结果 ①N 组:毛细血管内皮细胞结构正常,连接紧密,基底膜完整,线粒体嵴清楚,板层小体数量未见改变,微绒毛完整;②C 组:肺微小动脉内皮细胞胞浆内吞饮小泡增多,线粒体出现水肿或空泡变性,内膜下可见基底膜水肿,部分内皮细胞悬空;肺毛细血管内皮细胞肿胀,可见核染色质聚集并靠核膜周边分布,胞核有明显固缩倾向,核间隙明显增大,毛细血管腔内可见多形核

白细胞堵塞。③H组:肺微小动脉及毛细血管内皮细胞结构基本正常,连接紧密,基底膜基本完整,线粒体结构基本正常,少数出现水肿,毛细血管内多形核白细胞较少(图4)。



A. N组($\times 6\ 000$);B. C组($\times 7\ 500$);C. H组($\times 5\ 000$)

图4 腺泡内肺动脉超微结构的变化

4 讨论

COPD属久病顽疾,经常反复发作,迁延不愈,病因不外乎外感与内伤两个方面。由于肺系病易虚易实,结合本病的特点,可以概括为肺脾肾虚,痰瘀阻肺。主要病理因素为痰浊、瘀血,两者相互影响,兼见同病,是疾病发生发展的重要环节。课题组认为血瘀贯穿慢性阻塞性肺疾病始终,其他学者也认识到了血瘀在COPD病机中的重要作用并做了相关研究,如吴震东等^[3]对COPD急性发作期患者28例在服用清金化痰汤的基础上加用杏丁注射液,总有效率86%,显著高于对照组,且治疗后全血黏度、血浆比黏度、红细胞压积、血沉等指标均明显下降,能有效改善COPD患者血液的高凝低纤溶活性,对控制COPD的进一步发展有重要的临床意义。连金诗^[4]对COPD急性加重期患者33例,以血栓通注射液干预治疗,血黏度、纤维蛋白原、红细胞压积较治疗前明显下降,疗效优于对照组,血液的流变性得到显著改善。廖小明、钟小兰等^[5]得出活血化瘀法可以通过保护肺血管内皮细胞、降低血液黏度及红细胞聚集而起到改善肺微循环和预防肺小动脉血栓形成的作用,为活血化瘀法在慢性阻塞性肺疾病的应用提供临床依据。川芎为中医常用的活血化瘀药物,具有活血化瘀、祛风止痛之功效,为血中之气药。川芎嗪为川芎中提取的4-甲基吡嗪幢川,为一种新型的钙离子拮抗剂,川芎嗪能扩张支气管和抑制炎性细胞在肺内的聚集,抑制氧自由基的释放^[6],可通过拮抗内皮素、阻断钙通道、A1-受体阻断等作用来扩张血管^[7],能抑制血小板的激活,抑制血小板凝集和释放。由于川芎嗪有抑制血小板聚集和降低血液黏稠度的作用,故用来活血化瘀。^[8]本实验通过观察COPD模型大鼠^[9]应用活血化瘀药物后肺血管的病理变化发现:C组和H组均有COPD特征性改变,但程度不同。H组血管平滑肌细胞轻度增生,管壁轻度增厚,血管平滑肌细胞厚

度/血管壁厚度比值、血管壁面积/血管面积比值与N组、C组比较均有显著差异($P < 0.01$)。电镜下观察:N组内皮细胞、基底膜、线粒体、板层小体正常;C组则出现明显变化,内皮细胞吞饮小泡增多,线粒体水肿或空泡变性,胞核有明显固缩倾向,毛细血管腔内见多形核白细胞堵塞;H组内皮细胞、基底膜、线粒体、板层小体基本正常,毛细血管腔内可见少量多形核白细胞。提示活血化瘀中药可以改善局部微循环及毛细血管通透性^[10],减少渗出及炎症反应,发挥抗炎作用;降低血液黏滞度,促进换气功能,改善缺氧状态;扩张周围血管及肺动、静脉,减少回心血量,降低肺动脉压,能够延缓或者改善COPD大鼠模型的血管重塑,从而控制或预防肺心病的形成和发展。因而慢阻肺从瘀论治,根据其发展过程中的不同阶段并结合体质进行辨证施治,灵活地运用活血化瘀药物,科学地看待活血化瘀在防治慢阻肺中的重要作用,以期提高临床疗效。

[参考文献]

- [1] 中华医学会呼吸病分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J].中华结核和呼吸杂志,2002,25(8):453.
- [2] 张念志,李泽庚,季红燕,等.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.
- [3] 吴震东,李可坚.清金化痰汤合杏丁注射液治疗慢性阻塞性肺疾病急性期疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2007,16(24):3500.
- [4] 连金诗.血栓通注射液对COPD急性加重期患者血液流变学影响的临床观察[J].现代中医药,2007,27(6):18.
- [5] 廖小明,钟小兰.活血化瘀法在慢性阻塞性肺疾病中的运用[J].中国民族民间医药,2009(7):119.
- [6] 张西春,李兴华,董振雷.川芎嗪联合降脂灵治疗高黏血症的疗效观察[J].西北药学杂志,2008,23(1):49.
- [7] 张淑娟,王振涛,韩丽华,等.川芎嗪注射液对心梗后大鼠缺血心肌血管新生及VEGF mRNA表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):170.
- [8] 王国峰,陆峰,赵霞,等.川芎嗪抗家兔动脉粥样硬化作用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(14):202.
- [9] 于绍帅,陈明苍,季宇彬,等.慢性阻塞性肺疾病动物模型在药理研究中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(6):275.
- [10] 邓翠娥.川芎嗪的药理作用及临床应用[J].时珍国医国药,2001,12(7):656.

[责任编辑 邹晓翠]