

大黄䷔虫丸对大鼠肺纤维化形成阶段肺与脑组织中神经递质的影响

宋建平^{1*} 谢忠礼¹ 李伟¹ 李瑞琴¹ 张瑞² 杨美凤³

(1. 河南中医学院基础医学院, 河南省郑州市金水路 1 号, 450008;

2. 河南中医学院教务处; 3. 河南省濮阳市中医院)

基金项目: 河南省科技攻关项目(0424410103)

* 通讯作者: jc_sjping@hactcm.edu.cn, (0371)65934070

[摘要] **目的** 探讨大黄䷔虫丸对大鼠肺纤维化形成阶段神经递质的干预作用。 **方法** 普通级 Wistar 大鼠 36 只, 随机分为正常组、模型组、大黄䷔虫丸组各 12 只, 除正常组外, 其余 2 组均采用气管内注入平阳霉素复制肺纤维化模型, 大黄䷔虫丸组灌胃浓度为 80mg/ml 药液 1.5ml/100g 体重, 模型组灌胃等量蒸馏水, 每天给药 1 次, 各组于造模后第 28 天处死, 比较各组大鼠肺、下丘脑及海马组织中多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)含量。 **结果** 模型组大鼠肺与下丘脑组织中 NE、DA、5-HT 及海马组织中 5-HT 含量均与正常组有统计学差异 ($P<0.05$); 大黄䷔虫丸组肺、下丘脑 NE、DA、5-HT 含量及海马组织中 NE、5-HT 含量均与模型组有统计学差异 ($P<0.05$)。 **结论** 肺纤维化形成阶段肺与下丘脑 DA、NE、5-HT 及海马组织中 5-HT 含量升高, 大黄䷔虫丸能调节肺纤维化模型大鼠肺及脑组织中 NE、DA、5-HT 的含量。

[关键词] 肺纤维化; 大黄䷔虫丸; 去甲肾上腺素; 多巴胺; 5-羟色胺

Influence of Dahuang Zhechong Pills on Neurotransmitter in the Lung and Brain Tissues in the Formation Stage of Pulmonary Fibrosis of Rats

SONG Jianping¹, XIE Zhongli¹, LI Wei¹, LI Ruiqin¹, ZHANG Rui², YANG Meifeng³

(1. College of Preclinical Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008; 2. Deahs Office, Henan University of Chinese Medicine; 3. Puyang Municipal TCM Hospital, Henan Province)

ABSTRACT **Objective** To explore the intervention effect of Dahuang Zhechong Pills [Pills containing Dahuang (Rhubarb) and Tubiechong (Ground Beetle) for dissolving blood stasis] on neurotransmitter in the formation stage of pulmonary fibrosis of rats. **Methods** Female Wistar rats were randomized into normal group, model group, and Dahuang Zhechong Pills group, with 12 in each. Except the normal group, the other rats were made pulmonary fibrosis models through endotracheal injection with Pingyangmycin (PYM). The Dahuang Zhechong Pills group was treated with Dahuang Zhechong Pills solution in the density of 80mg/ml according to 1.5ml/100g body weight for intragastric feeding, while the model group was given the same amount distilled water for intragastric feeding, once a day. On the 28th day after modeling, the rats were put to death. The contents of dopamine (DA), norepinephrine (NE), and serotonin (5-HT) in the lung, hypothalamus, and hippocampus tissues of rats of all groups were compared with each other. **Results** The contents of NE, DA, and 5-HT in the lung and hypothalamus tissues and 5-HT in the hippocampus tissues of the rats of model group were statistically different from those of the normal group ($P<0.05$). The contents of NE, DA, and 5-HT in the lung and hypothalamus tissues and NE, 5-HT in the hippocampus tissues of the rats of Dahuang Zhechong Pills group were statistically different from those of the model group ($P<0.05$). **Conclusion** In the formation stage of pulmonary fibrosis, the contents of DA, NE, and 5-HT in the lung and hypothalamus tissues and 5-HT in the hippocampus tissues are increased. Dahuang Zhechong Pills is effective in adjusting the contents of DA, NE, and 5-HT in the lung and brain tissues of rat models of pulmonary fibrosis.

Key Words pulmonary fibrosis; Dahuang Zhechong Pills [Pills containing Dahuang (Rhubarb) and Tubiechong (Ground Beetle) for dissolving blood stasis]; Norepinephrine (NE); dopamine (DA), serotonin (5-HT)

弥漫性肺间质纤维化(简称肺纤维化), 以弥漫性肺泡炎、肺间质炎症和间质纤维化为组织学改变特点, 是多种弥漫性肺间质疾病的不良转归。近年其患病率和死亡率日趋增长, 我们既往研究显示^[1-5], 大黄䷔虫丸能减轻平阳霉素复制大鼠肺纤

维化模型不同阶段肺泡炎及纤维化的程度。本实验通过观察大黄䷔虫丸对肺纤维化模型形成阶段(14-28 天)肺及脑中去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)的影响, 了解其对肺纤维化形成阶段神经、内分泌等系统的干预作用。

1 材料及方法

1.1 实验动物

普通级健康雌性 Wistar 大鼠 36 只, 体重 (200±20)g, 由河南省动物实验中心提供, 动物许可证号 410116。饲养于河南中医学院动物实验中心, 室温 (22±2)℃, 相对湿度 60%, 常规饲料喂养。

1.2 主要实验药品

平阳霉素: 哈尔滨博莱制药有限公司产品, 批号 07010203, 规格: 8mg/支, 按 3mg/kg 体重给药, 使用时用生理盐水配制成 3mg/ml, 按 0.1ml/100g 气管内给药。大黄廑虫丸: 广东阳江制药厂有限公司产品, 批号 070407, 按 1.2g/kg 体重给药, 使用时用蒸馏水配制成 80mg/ml, 按 1.5ml/100g 灌胃给药。DA 标准品: 阿法埃莎(天津)化学试剂有限公司, 批号 10097602。5-HT 标准品: 阿法埃莎(天津)化学试剂有限公司, 批号 10119987。NE 标准品: 阿法埃莎(天津)化学试剂有限公司, 批号 10131292。正丁醇: 天津化学试剂一厂, 批号 20070406。浓盐酸: 洛阳昊华化学试剂厂, 批号 20060208。正庚烷: 天津化学试剂一厂, 批号 20050828。邻苯二甲醛: 天津化学试剂一厂, 批号 20060403。

1.3 主要实验仪器

F-4500 荧光分光光度计, 日本日立公司产品。752N 型紫外可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司产品。

1.4 动物分组、造模及给药方法

实验大鼠正常饲养 3 天后, 按体重采用随机数字表方法将其分为正常组、模型组、大黄廑虫丸组, 每组 12 只。除正常组正常饲养不作任何处理外, 模型组及大黄廑虫丸组按文献[6]方法造模, 选用大鼠气管内一次性注入平阳霉素复制肺纤维化模型。从造模后第 14 天开始, 大黄廑虫丸组灌胃药液 1.5ml/100g 体重, 模型组灌胃等量蒸馏水。每天给药 1 次, 1 周后复查动物体重以调整给药量, 各组于造模后第 28 天处死。

1.5 观察指标与方法

实验结束时快速断头取全脑, 在经冰冻处理的玻片上分离出下丘脑和海马, 置于聚丙烯管中于 -80℃ 保存直至测定; 取右肺组织 0.5g, 研磨成匀浆; 采用荧光分光光度法检测肺、下丘脑和海马组织匀浆液中 NE、DA、5-HT 含量, 操作程序见文献[7]。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件处理, 服从正态分布

的计量资料数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时用 LSD 法, 方差不齐时用 Dunnett T₃ 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠肺组织 NE、DA、5-HT 含量比较

表 1 示, 模型组肺组织 NE、DA、5-HT 含量均高于正常组 ($P < 0.05$), 大黄廑虫丸组 NE、DA、5-HT 含量均低于模型组 ($P < 0.05$), 其中 NE 含量低于正常组 ($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠肺组织中 NE、DA、5-HT 含量比较 (ng/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NE	DA	5-HT
正常组	12	26.91±1.90	20.59±6.68	20.31±4.24
模型组	12	37.01±4.99*	60.57±8.47*	88.87±5.02*
大黄廑虫丸组	12	20.40±3.86*△	18.46±4.27△	23.80±3.96△

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, △ $P < 0.05$

2.2 各组大鼠下丘脑 NE、DA、5-HT 含量比较

表 2 示, 模型组下丘脑 NE、DA、5-HT 含量均高于正常组 ($P < 0.05$), 大黄廑虫丸组 NE、5-HT 含量均低于模型组, DA 含量高于模型组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠下丘脑中 NA、DA、5-HT 比较 (ng/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NE	DA	5-HT
正常组	12	18.68±2.70	17.40±1.30	184.42±20.29
模型组	12	38.75±5.28*	57.95±6.81*	672.48±65.78*
大黄廑虫丸组	12	22.75±2.97*△	68.30±14.17*△	175.50±20.76△

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, △ $P < 0.05$

2.3 各组大鼠海马组织 NE、DA、5-HT 含量比较

表 3 示, 3 组大鼠海马组织中 DA 含量无明显差异 ($P > 0.05$); 模型组 NE 含量略高于正常组但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 5-HT 明显高于正常组差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 大黄廑虫丸组 NE 含量高于模型组与正常组, 5-HT 含量低于模型组 ($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠海马组织中 NE、DA、5-HT 含量比较 (ng/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NE	DA	5-HT
正常组	12	38.67±5.90	47.55±8.24	22.17±3.56
模型组	12	41.47±6.50	47.70±5.51	48.04±6.00*
大黄廑虫丸组	12	73.95±5.90*△	48.27±6.02	24.19±1.35△

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, △ $P < 0.05$

3 讨论

目前认为神经、内分泌与免疫系统通过共有的化学信息分子与受体实现互相联系与调控, 形成一

个复杂的神经-内分泌-免疫网络。NE、DA 和 5-HT 是参与神经、内分泌与免疫系统调节的重要物质,张芳杰等^[8]发现神经系统在肝纤维化的发生与发展过程中发挥重要作用,NE 能促进肝纤维化的发生发展。肺是呼吸器官,对许多活性物质具有灭活、激活、储存、释放及生成的作用,是调节 NE、DA、5-HT 等活性物质使机体内环境稳定的重要器官。俞善昌^[9]提出当肺对血管活性物质的清除(灭活)功能不足或释放过多,可能是急性呼吸窘迫综合征或肺慢性疾患(如肺纤维化)的重要发病因素。在肺纤维化发展过程中,局部淋巴结在识别病因抗原后使特异性淋巴细胞发生克隆性增生,增生活化后的淋巴细胞再循环到肺脏,启动特异性免疫反应。各种炎症细胞引起肺泡免疫性炎症反应,炎症细胞释放的毒性氧化物、蛋白酶类、细胞黏附分子等造成广泛的肺损伤。与肺损伤同时,复杂的修复和纤维化过程也在进行^[10]。

大黄廑虫丸缓消瘀血,用于久病血瘀,是中医经典《金匱要略》中的名方。肺纤维化形成阶段肺部病理变化与中医所论血瘀关系密切。本实验结果表明,肺纤维化形成阶段模型肺组织 NE、DA、5-HT 含量均高于正常组,可能是由于肺部病理损害而影响了其对 DA、NE、5-HT 的灭活;大黄廑虫丸能阻止模型肺组织 NE、DA、5-HT 含量的升高,可能是通过减轻肺部病理损害而保护了肺对上述物质的调节功能,肺纤维化形成阶段肺组织 DA、NE、5-HT 含量升高对肺纤维化病变及整体生命活动的影响有待进一步研究。

下丘脑和边缘系统作为神经内分泌和自主神经系统的调控中心,组成神经免疫调节的重要解剖基础,对外周的单胺能神经系统也具有调节作用,是执行神经内分泌免疫调节的高级中枢。本研究发现,模型组下丘脑 NE、DA、5-HT 含量均高于正常组,提示下丘脑 NE、DA、5-HT 能神经的活动在肺纤维化形成阶段发生了变化;大黄廑虫丸组下丘脑 NE、5-HT 含量均低于模型组而 DA 含量高于模型组,提示大黄廑虫丸防治肺纤维化机制可能与调节下丘脑 NE、DA、5-HT 能神经活动有关。

海马是边缘系统的重要结构,有研究表明,免疫应答可能使下丘脑和海马中儿茶酚胺能神经的活动加强^[11]。本研究表明,在肺纤维化形成阶段,模型组海马 NE、DA 与正常组无明显差异,而 5-HT 含量高于正常组,大黄廑虫丸组 NE 含量高于正常组、

模型组,5-HT 含量低于模型组。提示在肺纤维化形成阶段海马区 5-HT 能神经活动发生了变化;大黄廑虫丸能阻止海马 5-HT 含量的升高,并能提高 NE 含量,其减轻大鼠肺纤维化程度的机制可能与调节海马 NE、5-HT 能神经活动有关。

神经内分泌免疫网络功能的紊乱在许多疾病过程中可能起着重要作用,本实验结果提示,在肺纤维化形成阶段肺、下丘脑与海马组织中去甲肾上腺素能神经、多巴胺能神经和 5-HT 能神经活动可能发生变化,具有活血化瘀作用的大黄廑虫丸能影响这些变化,在肺纤维化形成过程中神经、内分泌、免疫系统的变化及相互作用和其与中医所论血瘀的关系以及中药对上述变化的影响等问题尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 宋建平,李瑞琴,李伟,等.《金匱要略》不同方药对肺纤维化模型早期阶段的影响(一)[J]. 中华中医药杂志,2006,21(11):692-694.
- [2] 宋建平,李伟,李瑞琴,等.《金匱要略》不同方药对肺纤维化模型早期阶段(7天)肺、脑组织 NE、DA、5-HT 含量的影响[J]. 中华中医药杂志,2009,24(5):568-571.
- [3] 李瑞琴,宋建平,李伟,等.大黄廑虫丸对肺纤维化模型形成阶段肺组织中 TNF- α 表达的影响[J]. 时珍国医国药,2010,21(1):105-106.
- [4] 李瑞琴,张瑞,李伟,等.大黄廑虫丸对肺纤维化模型形成阶段的防治作用[J]. 中医研究,2009,22(7):12-15.
- [5] 李瑞琴,鲁光华,李伟,等.大黄廑虫丸抗大鼠肺纤维化的作用及对外周血 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国药理学通报,2009,25(9):1258-1259.
- [6] 何冰,赵桂荣,刘新民,等.白细胞介素-1 受体拮抗剂对肺间质纤维化的影响[J]. 中华结核和呼吸杂志,1994,17(1):21-23.
- [7] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:207-208.
- [8] 张芳杰,晏维,高啸,等.肝炎平对肝纤维化肝组织中去甲肾上腺素和多巴胺的影响[J]. 中西医结合肝病杂志,2006,16(2):84-86.
- [9] 俞善昌. 呼吸系统的非呼吸功能[J]. 实用儿科杂志,1991,6(1):12.
- [10] 施毅,陈正堂. 现代呼吸病治疗学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:437.
- [11] 彭聿平,邱一华,程纯,等.免疫应答期间脑和淋巴器官内儿茶酚胺代谢的动态变化[J]. 南通医学院学报,2000,20(3):225-227.