

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.16.005
文章编号: 1005-8982 (2022) 16-0025-05

实验研究·论著

甘草酸对大鼠急性肺水肿的影响*

雷艳丽, 张俊, 黎伟华, 杨丽

(宁夏医科大学 实验动物中心, 宁夏 银川 750004)

摘要: **目的** 探讨甘草酸对大鼠急性肺水肿呼吸指数的调控。**方法** 将18只大鼠随机分为正常组、模型组、甘草酸组。大鼠腹腔注射6%氯化铵复制急性肺水肿模型, 通过肺功能仪测定大鼠的肺功能指标, 湿重/干重衡量水肿程度, HE染色观察肺组织病理损伤情况。**结果** 模型组肺功能残气量、最大变化压力、最大变化体积、低于正常组和甘草酸组($P < 0.05$)。各组大鼠阻塞时间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。模型组弦性顺应性、深吸气量、肺活量低于正常组、甘草酸组($P < 0.05$)。模型组最大呼气流速、用力呼吸残气量、100毫秒用力呼气容积高于正常组($P < 0.05$), 但低于甘草酸组($P < 0.05$), 模型组用力肺活量低于正常组、甘草酸组($P < 0.05$)。各组大鼠20毫秒用力呼气容积比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。模型组肺组织含水率高于正常组、甘草酸组($P < 0.05$)。HE染色结果显示, 肺组织水肿程度明显降低, 肺泡间隔缩小。**结论** 甘草酸可通过改善肺通气量, 减弱肺表面的水肿程度来缓解大鼠急性肺水肿, 减少炎症细胞浸润。

关键词: 急性肺损伤; 甘草酸; 肺功能检测; 氯化铵; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

Effect of glycyrrhizin on acute pulmonary edema in rat models*

Yan-li Lei, Jun Zhang, Wei-hua Li, Li Yang

(Laboratory Animal Center, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

Abstract: **Objective** To explore the role of glycyrrhizin in regulating the respiratory index of rats with acute pulmonary edema. **Methods** Eighteen rats were randomly divided into normal group, model group and glycyrrhizin group. Rats were intraperitoneally injected with 6% ammonium chloride to establish the acute pulmonary edema models. The pulmonary function parameters of the rats were measured. The degree of edema was measured by wet/dry weight ratio. The pathological damage of lung tissues was observed by H&E staining. **Results** The FRC, DP_{max} , and DV_{max} were lower in the model group than those in the normal group and glycyrrhizin group ($P < 0.05$). There was no difference in the Tocclude among the groups ($P > 0.05$). The Cchord, IC, and VC were lower in the model group than those in the normal group and glycyrrhizin group ($P < 0.05$). The PEF, FERV, and $FEV_{0.1}$ were higher in the model group than those in the normal group, but were lower than those in the glycyrrhizin group ($P < 0.05$). The FVC in the model group was lower than that in the normal group and glycyrrhizin group ($P < 0.05$). There was no difference in the $FEV_{0.02}$ among the groups ($P > 0.05$). The wet/dry weight ratio of the lung tissues was higher in the model group than that in the normal group and glycyrrhizin group ($P < 0.05$). After H&E staining, glycyrrhizin altered the edema fluid and cellular components in the lung tissues, reduced the number of red blood cells, and narrowed the alveolar septa. **Conclusions** The glycyrrhizin ameliorates the acute pulmonary edema in rats by enhancing the vital capacity and reducing the degree of edema on the lung surface as evaluated via the spirometry.

收稿日期: 2021-06-28

* 基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金(No: 2021AAC03140); 宁夏医科大学校级科研项目(No: XM2019011); 宁夏高等学校科研项目(No: NGY2018-95)

[通信作者] 杨丽, E-mail: 550120497@qq.com

Besides, the infiltration of inflammatory cells can also be effectively mitigated.

Keywords: acute lung injury; glycyrrhizin; pulmonary function test; ammonium chloride; rats

急性肺损伤由脓毒症、肺炎、急性胰腺炎及外伤等造成^[1-2]。其伴有急性炎症、微血管损伤,增加肺血管和上皮细胞通透性,引起呼吸衰竭,可能发展为致命性急性呼吸窘迫综合征^[3]。甘草作为经典的呼吸疾病治疗中药,具有镇咳祛痰、治疗咳嗽、支气管炎等作用。甘草酸又名甘草甜素,是甘草的甜味成分亦是含量最高的苷类化合物^[4],主要用于抗肝炎病毒、抗艾滋病毒、抗癌、防癌、增强免疫力等领域^[5-6]。有关研究表明,甘草酸保护急性肺损伤的主要机制是通过其类激素样抗炎作用^[7],关于甘草酸对呼吸参数的影响尚未见到文献报道。本研究拟通过氯化铵诱导大鼠急性肺损伤模型,观察模型大鼠肺功能指标的变化,探讨甘草酸对大鼠急性肺水肿的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

DSI Buxco PFT 肺功能检测仪(美国 DSI 公司),ABS210S 电子天平(德国 Sartorius 公司),ASP200S 全自动密闭组织脱水机、HistoCore Arcadia 组织包埋机、RM2245 半自动石蜡切片机(德国 Leica 公司),Milli-Q 超纯水处理系统(美国 Millipore 公司)。甘草酸原料药(批号 JZ20131026,纯度 90%,南京景竹生物科技有限公司),氯化铵(批号 20170806,上海光诺化学科技有限公司),0.9% 氯化钠注射液(山东科伦药业有限公司),4% 多聚甲醛溶液(北京雷根生物技术有限公司),实验用水均为超纯水。

1.2 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,18 只,6~8 周龄,体重 180~220 g,购自宁夏医科大学实验动物中心,实验动物使用许可证号 SYXK(宁)2020-0001,实验动物生产许可证号 SCXK(宁)2020-0001。饲养环境温度 18~22℃,湿度 40%~70%,保持自然昼夜节律光照(12 h/12 h),大鼠自由摄食饮水。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与药物处理 将大鼠随机分为对照组、模型组、甘草酸预防组^[8-9]。甘草酸组灌胃

100 mg/kg 的甘草酸 7 d,对照组和模型组口服灌胃等体积水。模型组和甘草酸组大鼠第 8 天腹腔注射 6% 氯化铵(100 g/0.6 mL),复制急性肺水肿模型;对照组注射等体积生理盐水。注射 30 min 后,观察各组大鼠的状态、行为。

1.3.2 大鼠肺功能检测 待行为学观察结束后,大鼠腹腔注射 10% 乌拉坦,麻醉后切开颈部皮肤,钝性分离暴露气管,气管 T 字开口并插管,采用手术缝合线结扎开口(保证密闭性),将大鼠放入肺功能仪自带密闭腔体中,气管插管与气路连接,通过 DSI Buxco PFT 肺功能检测仪实时监测并记录大鼠肺功能指标,包括一般指标^[10-11]:肺功能残气量(FRC)、最大变化压力(DP_{max})、最大变化体积(DV_{max})、阻塞时间(Tocclude);肺内压力-容积:静态肺顺应性(Cchord)、深吸气量(IC)、肺活量(VC);肺内呼气流速-容积:最大呼气流速(PEF)、用力肺活量(FVC)、用力呼吸残气量(FERV)和 20 毫秒用力呼气容积(FEV_{0.02})和 100 毫秒用力呼气容积(FEV_{0.1})。

1.3.3 动物取材 打开大鼠胸腔,完整剪取肺组织,用预冷生理盐水冲洗,使用滤纸吸干、拍照。再将肺组织分为左、右叶。右叶肺组织用 4% 多聚甲醛固定,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,左肺组织上叶用电子天平称湿重后置于玻璃皿中测定肺含水量,左肺组织下叶于-80℃冰箱冷冻保存,用于其他指标的检测^[12-13]。

1.3.5 肺损伤及其肺水肿评估 根据 SD 大鼠肺叶组织的湿重/干重(W/D)评估肺水肿程度^[14]。①湿重测量:取出处死大鼠右肺下叶组织,使用无菌纱布吸取表面组织液体,天平测量其湿重;②干重测量:将处理后的肺叶组织放入 80℃恒温烤箱烘烤 48 h,待其衡重后称重。肺组织含水率(%)=(肺组织湿重-肺组织干重)/肺组织湿重×100%。

1.3.6 肺组织病理学观察 取右叶肺组织,用 4% 多聚甲醛溶液固定,固定组织应充分展开,切勿挤压和冷冻,室温固定 3 d 后,切取肺组织块 2~4 mm,常规脱水,石蜡包埋、切片、HE 染色后,在光学显微镜下观察大鼠肺泡间隔病变、炎症细胞浸润、

血管瘀血状况等组织病理学变化^[12-13]。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验或方差分析, 进一步两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肺功能一般指标比较

各组大鼠 FRC、 DP_{\max} 、 DV_{\max} 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 模型组低于正常组和甘草酸组。各组大鼠 Tocclude 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠肺内压力-容积比较

各组大鼠肺 Cchord、IC、VC 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 模型组低于正常组、甘草酸组。见表 2。

2.3 各组大鼠肺内呼气流速-容积比较

各组大鼠 PEF、FVC、FERV、 $FEV_{0.1}$ 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 模型组 PEF、FERV、

表 1 各组大鼠肺功能一般指标比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	FRC/mL	$DP_{\max}/\text{cmH}_2\text{O}$	DV_{\max}/mL	Tocclude/s
正常组	8.993 ± 0.152	34.013 ± 1.119	0.340 ± 0.009	5.533 ± 0.173
模型组	6.619 ± 0.854	18.729 ± 1.586	0.128 ± 0.041	6.608 ± 0.193
甘草酸组	9.304 ± 0.411	19.967 ± 0.844	0.202 ± 0.012	5.977 ± 0.724
F 值	31.991	167.552	59.501	1.255
P 值	0.000	0.000	0.000	0.320

表 2 各组大鼠肺内压力-容积比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	Cchord/(mL/cmH ₂ O)	IC/mL	VC/mL
正常组	1.443 ± 0.039	18.961 ± 0.491	21.730 ± 0.397
模型组	0.737 ± 0.253	11.813 ± 1.425	13.242 ± 1.835
甘草酸组	0.964 ± 0.014	12.896 ± 0.096	15.650 ± 0.080
F 值	18.404	60.780	50.522
P 值	0.000	0.000	0.000

$FEV_{0.1}$ 高于正常组, 但低于甘草酸组, 模型组 FVC 低于正常组、甘草酸组。各组大鼠 $FEV_{0.02}$ 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠肺内呼气流速-容积比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	PEF/(mL/s)	FVC/mL	FERV/mL	$FEV_{0.02}/\text{mL}$	$FEV_{0.1}/\text{mL}$
正常组	81.349 ± 2.769	19.699 ± 0.260	0.228 ± 0.095	0.574 ± 0.384	6.790 ± 0.684
模型组	100.833 ± 7.358	12.310 ± 1.801	0.649 ± 0.343	0.766 ± 0.373	8.350 ± 1.258
甘草酸组	118.473 ± 1.490	14.748 ± 0.035	1.912 ± 0.102	1.014 ± 0.022	10.157 ± 0.081
F 值	57.679	40.049	67.949	2.564	16.449
P 值	0.000	0.000	0.000	0.118	0.000

2.4 各组大鼠肺组织变化

正常组大鼠呼吸均匀, 无异常现象, 解剖无异常。模型组注射 6% 氯化铵后, 大鼠口角流出血色泡沫, 解剖发现呼吸道内充满泡沫液体, 说明血浆透过肺血管进入呼吸道。模型组肺组织外形肿大, 中间有淤血, 部分肺组织边缘还有明显的损伤或坏死。甘草酸组大鼠口角未见太多泡沫, 活动正常, 解剖发现肺组织水肿程度明显降低, 出血点显著减少或消失, 且未见模型组中所观察到的肺损伤或坏死现象。见图 1。

2.5 各组大鼠 W/D 比较

正常组、模型组、甘草酸组大鼠肺组织含水

率分别为 $(4.56 \pm 1.57)\%$ 、 $(7.83 \pm 0.86)\%$ 、 $(5.24 \pm 0.66)\%$, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=15.796, P=0.004$), 模型组高于正常组、甘草酸组。

2.6 各组大鼠肺组织的病理切片

正常组大鼠的肺组织结构完整、纹理清晰、肺泡腔完全无水肿, 无特殊的改变。模型组大鼠肺中出现大量水肿, 肺泡壁断裂, 肺泡隔显著变大。口服甘草酸预防治疗后, 上述现象得到了改善。见图 2。

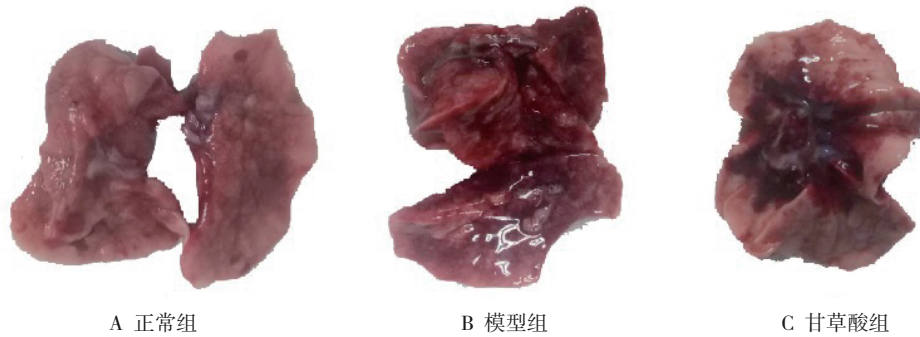


图1 各组大鼠肺组织变化

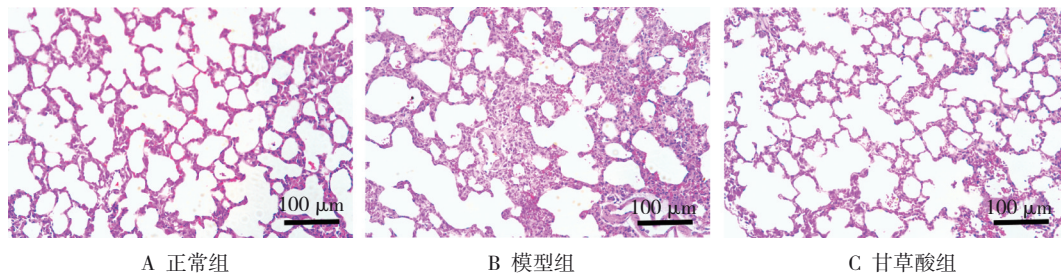


图2 各组大鼠肺组织病理切片 (HE染色)

3 讨论

氯化铵会引起心动过速,进而使得注入左心室的血液无法充分排出,逐渐增大其舒张期末压力,导致右心房压力提高而产生淤血于肺静脉中。在过往研究中,肺水肿可致动物在呼吸过程中,产生难以消除的泡沫,泡沫形成速度快,严重影响呼吸,进而导致呼吸异常甚至致死^[14-15]。所以清除呼吸道内的泡沫可减轻呼吸阻塞,改善呼吸,进而挽救生命。肺水肿是急性肺损伤最显著的特征^[16]。肺水肿导致的顽固性低氧血症对患者影响严重,目前尚无有效的药物治疗,仅有小潮气量肺保护性通气和俯卧位通气2种方法有明显疗效^[17-19]。

我国传统中药甘草的主要活性成分为甘草酸,其为五环三萜皂苷类。临床上用于治疗急性、慢性病毒性肝炎,可用于保肝等^[20]。文献报道,甘草酸对 ALL 具有良好的保护作用,主要是通过降低肺水肿的致死率^[5, 21-23]。本研究发现,经甘草酸预防给药的复制肺水肿模型大鼠肺部炎症明显缓解。甘草酸具有类激素样受体的抗炎作用,文献报道,糖皮质激素改善急性肺损伤小鼠肺功能,可以延缓气道压力升高,增加肺容积、气道阻力、2秒末用力呼气容积、最大呼气中期流速、用力最大呼气流速,减少最大吸气流量、最大呼气中期

时间^[24-25]。

综上所述,SD大鼠给予氯化铵后,肺功能检测仪可全面观测到大鼠肺功能指标的变化。甘草酸可通过改善肺通气量,减弱肺表面的水肿程度来缓解大鼠急性肺水肿,减少炎症细胞浸润。

参 考 文 献 :

- [1] MOKRA D, KOSUTOVA P. Biomarkers in acute lung injury[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2015, 209: 52-58.
- [2] LIU J, CHANG G J, HUANG J, et al. Sodium butyrate inhibits the inflammation of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by regulating the toll-like receptor 4/nuclear factor κ B signaling pathway[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(6): 1674-1682.
- [3] 张娟娟, 胡仕祥, 李华, 等. 川芎嗪对内毒素诱导的急性肺损伤大鼠肺纤维化和炎症反应的调节作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2019, 39(3): 259-264.
- [4] HOU Y Y, YANG Y, YAO Y, et al. Neuro protection of glycyrrhizin against ischemic vascular dementia in vivo and glutamate-induced damage in vitro[J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(2): 125-131.
- [5] 余新华, 阮君山, 王少明. 甘草酸的应用进展[J]. *海峡药学*, 2017, 29(7): 33-35.
- [6] 毛俊, 刘慧茹, 王浩浩, 等. 甘草酸的临床应用和对细胞色素 P450 影响的研究进展[J]. *中国基层医药*, 2021, 28(5): 797-800.
- [7] 张剑锋, 李超乾. 甘草酸对急性肺损伤的保护作用[J]. *国际呼吸杂志*, 2010(20): 1257-1260.
- [8] 曹勤, 蔡瑜, 郭晓玲, 等. 甘草酸对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化

- 肝组织 p53 蛋白表达的影响[J]. 中华消化病与影像杂志(电子版), 2014, 4(6): 10-13.
- [9] 朱丽华, 王芑, 彭信言, 等. 大黄素对急性肺损伤模型大鼠的保护作用[J]. 中国药业, 2021, 30(18): 41-45.
- [10] ELEANOR M. Cardiorespiratory physiotherapy : adults and paediatrics[M]. the Fifth Edition, Edinburgh: Elsevier, 2016.
- [11] 中华医学会呼吸病学分会肺功能专业组. 肺功能检查指南(第二部分)-肺量计检查[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(7): 481-486.
- [12] 栾飞. 藏药螃蟹甲中苯乙醇苷类成分抗高原缺氧作用及机制研究[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2016.
- [13] 夏金婵, 从人愿, 袁静, 等. 黄芩苷通过 p38 MAPK/NLRP3 通路对脂多糖诱导大鼠急性肺损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(2): 79-86.
- [14] 吴妍雯, 陈真真, 胡振红, 等. NO 吸入对急性肺损伤大鼠肺水肿程度及 TLR4 和 TNF- α 表达的影响[J]. 华南国防医学杂志, 2019, 33(3): 150-153.
- [15] 王晓波, 姜爽, 王舒, 等. 肺水肿动物模型的研究进展[J]. 解放军药学学报, 2013, 29(1): 69-71.
- [16] MACHTEI E E, HIRSH I, FALAH M, et al. Multiple applications of flur biprofen and chlorhexidine chips in patients with chronic periodontitis: a randomized, double blind, parallel, 2-arms clinical trial[J]. J Clin Periodontol, 2011, 38(11): 1037-1043.
- [17] MATTHAY M A, ZEMANS R L, ZIMMERMAN G A, et al. Acute respiratory distress syndrome[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 18.
- [18] 朱诗兵, 楼雅芳, 黄小芳, 等. 白藜芦醇对急性肺损伤大鼠的抗炎作用研究[J]. 中国现代医生, 2021, 59(27): 34-36.
- [19] MA K, PATEL K, NADDOUR M, et al. Acute respiratory distress syndrome novel therapies[J]. Crit Care Nurs Q, 2019, 42(4): 411-416.
- [20] 陈阳晔. 甘草酸对 LPS 诱导的急性肺损伤模型血管内皮功能的影响[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2019.
- [21] 瞿利花, 陈阳晔, 李懿, 等. 甘草酸对 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤中 ACE2 的影响[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2020, 17(3): 7-10.
- [22] 郑妮, 汪梦含, 王国玉, 等. 甘草酸对防治急性肺损伤的作用研究[J/OL]. 中华中医药学刊, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20210706.1655.044.html>.
- [23] 李懿. 甘草酸对 LPS 引起的急性肺损伤的作用及机制初探[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2018.
- [24] 李正, 任杨华, 朱同玉, 等. 糖皮质激素对急性肺损伤小鼠肺功能影响研究[J]. 临床军医杂志, 2018, 46(12): 1402-1404.
- [25] 沐宇, 王威, 刘军宁, 等. 急性肺损伤中甘草酸类药物对糖皮质激素受体作用的研究进展[J]. 中国民间疗法, 2021, 29(17): 108-110.

(李科 编辑)

本文引用格式: 雷艳丽, 张俊, 黎伟华, 等. 甘草酸对大鼠急性肺水肿的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(16): 25-29.

Cite this article as: LEI Y L, ZHANG J, LI W H, et al. Effect of glycyrrhizin on acute pulmonary edema in rat models[J]. China Journal of Modern Medicine, 2022, 32(16): 25-29.