

伊洛前列素对低氧性肺动脉高压大鼠肺部内皮素-1 表达的影响*

官莉, 金柱, 陈世雄, 向光明, 高宝安[△]

(三峡大学呼吸病研究所/湖北省宜昌市中心人民医院呼吸内科, 湖北宜昌 443003)

[摘要] **目的** 探讨伊洛前列素对低氧性肺动脉高压(HPH)大鼠肺部内皮素-1(ET-1)的影响。**方法** 雄性 SD 大鼠 32 只, 分为正常(NC)组, 正常治疗(NT)组, 低氧(HC)组, 低氧治疗(HT)组, 每组 8 只。NC 组和 NT 组在常氧条件下饲养 3 周; HC 和 HT 组放置于低氧舱(O₂ 浓度 10%)进行缺氧处理 3 周(8 h/d); NT 和 HT 组每天进行伊洛前列素雾化吸入治疗(2 μg/kg)。第 3 周结束时, 测量各组平均肺动脉压(mPAP), 右心室收缩期末压力(RVSP), 右心室肥厚指数。HE 染色观察各组肺动脉形态学变化, 计算肺小动脉的血管壁厚百分比(WT%), RT-PCR 分析各组肺组织匀浆中 ET-1 的变化趋势。**结果** HC 组大鼠血流动力学指标较其他组明显升高, HT 组相关指标表达与 NC 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。HC 组较其他组肺动脉管壁增厚, 管腔狭窄明显; HT 组则有不同程度逆转。HC 组大鼠肺组织匀浆中 ET-1 表达较 NC 组明显升高, HT 组中 ET-1 表达与 NC 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 伊洛前列素对 HPH 有明显的治疗作用, 可以降低 HPH 大鼠肺部 ET-1 的释放, 阻止肺血管重塑。

[关键词] 高血压, 肺性; 缺氧; 伊洛前列素; 内皮素-1**[中图分类号]** R543.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)06-0735-03**Effects of iloprost on expression of Endothelin-1 in lung in rats with hypoxic pulmonary hypertension***Guan Li, Jin Zhu, Chen Shixiong, Xiang Guangming, Gao Baoan[△]

(Institute of Respiratory Disease of Three Gorges University/Department of Respiratory Medicine, Yichang Central People's Hospital, Yichang, Hubei 443003, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the influence of iloprost on the expression of lung endothelin-1(ET-1) in rats with hypoxic pulmonary hypertension(HPH). **Methods** Thirty-two male SD rats were randomly divided into four groups: normal control (NC) group, normal treatment(NT) group, hypoxia control(HC) group, hypoxia treatment(HT) group. NC group and NT group raised under normal Oxygen conditions 3 weeks. HC and HT group placed in a low Oxygen chamber (O₂ 10%) were treated 3 weeks of hypoxia 8 hours per day. NT and HT group were treated daily iloprost by inhalation therapy (2 μg/kg). After three weeks, measured mean pulmonary arterial pressure (mPAP), right ventricular systolic pressure (RVSP), index of right ventricular hypertrophy. HE staining was used to observe the morphological changes of pulmonary arteries and image analysis system was used to calculate the percentage of vascular wall thickness of small pulmonary arteries in each group, RT-PCR technique was used to assess the trends of ET-1 in lung tissue homogenates. **Results** The hemodynamics in HC group was significantly higher than other groups($P<0.05$), there was no significant statistically difference of the hemodynamics in HT group compare with normal control group. Pulmonary arteries morphology, vessel wall thickening and vessel lumina stenosis in HC group than NC, NT, group. These indicators were significant improved in HT group. ET-1 expression in lung tissue were significantly increased in HC group than NC groups. No significant difference was found between and NC group HT group. **Conclusion** Aerosol inhalation of iloprost has exact therapeutic effect for rats with HPH. Iloprost reduced ET-1 overexpression in lung tissue in HPH rats and prevent pulmonary vascular remodeling.

[Key words] hypoxic hypertension, pulmonary; anoxia; iloprost; endothelin-1

肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)是一种复杂的, 由遗传因素及多种病因引起的病理过程^[1]。低氧性肺动脉高压(hypoxic pulmonary artery hypertension, HPAH)是属于 PAH 分类的第三大类, 由高原疾病或肺部疾病所致的慢性持续缺氧诱发, 有着很高的病死率^[2]。HPAH 特点是异常的肺血管收缩(hypoxic pulmonary vasoconstriction, HPV)和肺血管重塑(pulmonary artery remodeling, PAR)。这两个过程导致肺血管阻力逐步增加, 最终致使患者右心衰竭而死亡^[3]。长时间持续性缺氧诱导会使血管内皮细胞受损, 导致其合成和分泌各种血管舒缩因子失调。在病变早期引起 HPV, 后期则导致不可逆 PAR。PAR 是 HPAH 持续发展的关键因素, 而内皮损伤及功能紊乱是血管重塑的起点。如何逆转和减轻 PAR, 一直以来就是医学研究的热点和难点^[4]。内皮素-1

(endothelin-1, ET-1)是调节心血管功能的重要因子, 对维持基础血管张力与心血管系统稳态起重要作用, 是已知最强缩血管物质。低氧时内皮细胞功能失衡, ET-1 显著增加, 诱发 PAR^[5]。伊洛前列素是类前列环素药物, 与前列环素受体有良好的亲和力, 有超强的选择性扩张肺血管作用。吸入型伊洛前列素在国内外已经用于治疗原发 PAH^[6-7], 但其在低氧性 PAH 动物模型中的疗效报道很少。资料显示前列环素类药物可拮抗 ET 的生成和分泌, 改善血管内皮功能紊乱。伊洛前列素对 HPAH 有效性及其对 ET-1 的影响是本研究的重点。本实验通过建立 HPAH 大鼠模型, 研究伊洛前列素对动物 HPAH 的治疗作用, 以及伊洛前列素对大鼠肺组织 ET-1 在低氧环境中分泌合成的影响, 为 HPAH 的治疗和新药开发提供新的实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 雄性 6 周龄 SD 大鼠 32 只, 体质量 200~250 g, 健康无疾病, 由三峡大学医学院实验动物中心提供。吸入用伊洛前列素溶液 (2 mL : 20 μ g, 西班牙 Bayer Pharma AG 公司), 兔抗大鼠 ET-1 多克隆抗体 (美国 Genetex 公司), 低氧舱 (Oxycycler model A84XOV, 美国 Biospherix 公司), Nikon & Spot 图像采集处理系统 (日本 Nikon 公司), RM-6280 多道智能生理信号记录系统 (成都仪器厂), 鱼跃牌 403C 压缩空气式雾化器 (中国江苏鱼跃医疗设备股份有限公司), 总 RNA 提取试剂盒 (美国 Life Technologies 公司), cDNA 第一链合成试剂盒 (美国 Axygen Biosciences 公司), 定量 PCR 试剂盒 (美国 Axygen Biosciences 公司)。

1.2 方法 通过血流动力学测定及肺动脉形态学测量血管壁厚百分比 (percent wall thickness, WT%) 验证造模是否成功。

1.2.1 大鼠 HPAH 模型的建立及分组 32 只大鼠采用随机数字表法均匀分为 4 组: 正常组 (NC 组), 正常治疗组 (NT 组), 低氧组 (HC 组), 低氧治疗组 (HT 组), 每组 8 只。每组平均体质量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。NC 和 NT 组在常氧条件下饲养 3 周; HC 组和 HT 组置入一体化低氧舱中, 调节氧气 (O_2) 浓度恒定为 10%, 每天 8 h, 持续 3 周; NT 组和 HT 组每天置入一大一小为 30 cm \times 20 cm \times 20 cm 亚克力密闭容器内雾化吸入治疗, 伊洛前列素加入氧气雾化器中按 220 ng \cdot kg⁻¹ \cdot h⁻¹ 剂量雾化吸入, 氧流量为 3 L/min (折算氧浓度为 33%) 每次持续 7.5 min, 每次伊洛前列素总剂量达 1 μ g/kg, 每天早晚各 1 次, 持续 3 周。所有实验动物均自由摄取食水。

1.2.2 血流动力学测定 在第 3 周末对所有大鼠进行处理, 10% 水合氯醛腹腔注射 (0.3 mL/100 g) 麻醉后进行固定, 开放颈部, 内充肝素溶液 (生理盐水 + 肝素 10 U/mL) 的聚乙烯塑料微导管 (直径 1 mm) 缓慢插入右侧颈外静脉, 导管另外一端连接压力传感器以便监测压力变化。由血管走行方向及压力波形引导, 导管途经上腔静脉进入右心房、三尖瓣口、右心室, 直至肺动脉干, 待波形稳定后测量平均肺动脉压 (mPAP) 及右心室收缩期末压力 (RVSP), RM-6280 多道生理信号采集处理系统采集记录信号。测压结束后, 解剖出大鼠心脏, 剪去

心房组织, 分离出右心室 (RV) 和左心室 + 室间隔 (LV+S) 后滤纸吸干, 称量 RV 和 LV+S 的质量, 计算右心肥厚指数, 右心肥厚指数 = RV/(LV+S)。

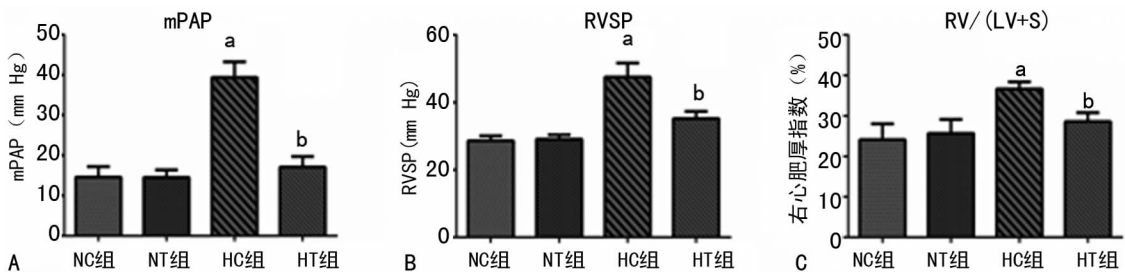
1.2.3 肺动脉形态学指标观察 各组大鼠处死后, 从右肺下叶相同部位取一组织块, 放置于中性甲醛溶液 (100 g/L, pH=7.4) 固定 1 周时间。标本石蜡包埋、连续切片及 HE 染色, 于 400 倍光镜下观察中小肺动脉 (管径: $>15 \sim <150 \mu$ m) 的形态变化。应用 Nikon & Spot 图像采集处理系统分析计算血管 WT%, 公式: (外弹力膜直径 - 内弹力膜直径) / 外弹力膜直径 \times 100%。每组大鼠测量 10 个中型肺动脉及小型肺动脉取其均值。

1.2.4 ET-1 表达检测 使用逆转录 PCR (RT-PCR) 技术检测肺组织中 ET-1 表达变化。ET-1 正向引物 5'-TGC TCC TGC TCC TTG AT-3' 和反向引物 5'-TGG TCT GTG GTC TTT GTG GG-3'。将肺组织标本剪成小块放入装满液氮的研钵中匀浆, 使用总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 提取成功后, 使用 cDNA 第 1 链合成试剂盒进行逆转录, 定量 PCR 试剂盒进行 PCR 扩增检测, 具体步骤为预变性 95 $^{\circ}$ C 1 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 58 $^{\circ}$ C 20 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 40 个循环; 末段延伸 72 $^{\circ}$ C 5 min; 溶解曲线 72~95 $^{\circ}$ C, 每 20 s 升温 1 $^{\circ}$ C, 得到结果后对扩增曲线进行分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

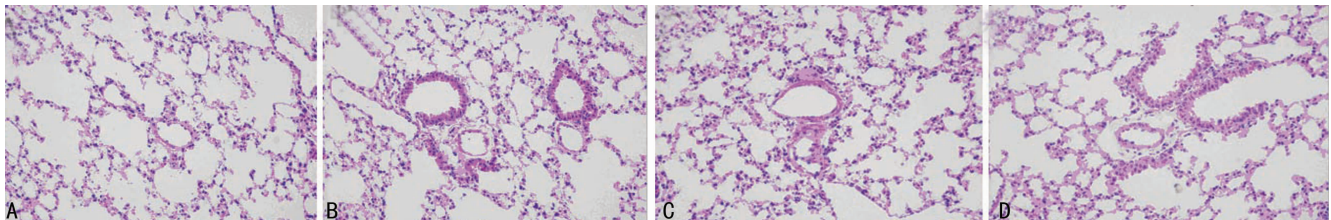
2 结 果

2.1 血流动力学指标的测定 HC 组 mPAP 较 NC 组 [(14.6 \pm 3.7) mm Hg] 和 NT 组 [(14.5 \pm 2.5) mm Hg] 显著升高 ($P < 0.05$), HT 组 [(17.1 \pm 2.1) mm Hg] 相对于 HC 组明显降低 ($P < 0.05$)。HC 组 [(47.5 \pm 5.9) mm Hg] RVSP 高于 NC 组 [(28.6 \pm 2.1) mm Hg] 及 NT 组 [(29.1 \pm 1.8) mm Hg, $P < 0.05$], 亦高于 HT 组 [(35.2 \pm 3.0) mm Hg, $P < 0.05$], 见图 1B。HC 组右心肥厚指数也反映了同样的趋势, HC 组 (36.7 \pm 2.4)%, NC 组 (23.8 \pm 4.9)%, NT 组 (25.7 \pm 4.7)%, HT 组 (28.7 \pm 3.1)%, 见图 1C。



A: mPAP; B: RVSP; C: 右心肥厚指数; ^a: $P < 0.05$, 与 NC、NT 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 HC 组比较。

图 1 各组大鼠血流动力学指标的比较



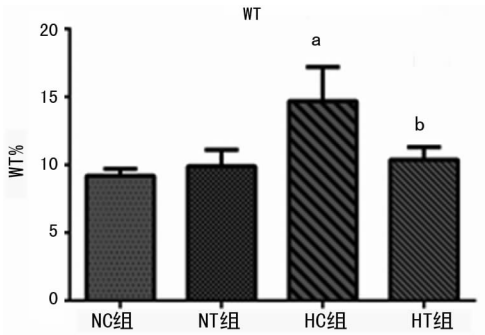
A: NC 组; B: NT 组; C: HC 组; D: HT 组。

图 2 各组大鼠肺动脉形态学变化 (HE \times 400)

2.2 肺动脉形态学指标的变化 光镜下观察 HE 染色后的肺组织切片中显色较好, 弹力层清晰的中小肺动脉。NC 组大鼠

肺动脉内膜完整光滑、管壁薄、肌层无增厚, HC 组大鼠肺动脉出现管壁及中膜明显增厚, 管腔狭窄, 细小动脉肌化等血管重

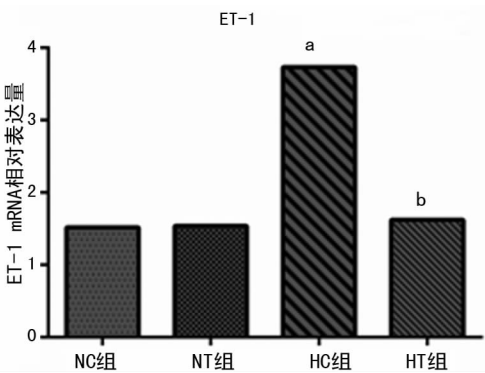
塑的变化特点,见图 2。然而 HT 组有部分血管可以恢复到和 NC 组相当的水平,说明伊洛前列素抑制了低氧肺血管重塑。相对于 NC 组,HC 组的 WT% 明显升高 ($P < 0.05$),HT 组 WT% 比 HC 组明显降低 ($P < 0.05$),HT 组与 NC 组的 WT% 相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 3。



a: $P < 0.05$, 与 NC、NT 组比较; b: $P < 0.05$, 与 HC 组比较。

图 3 各组大鼠 WT% 比较

2.3 各组大鼠肺组织 ET-1 表达的检测 PT-PCR 扩增曲线分析显示,HC 组 ET-1 表达相对于 NC 组明显升高 ($P < 0.05$),HT 组 ET-1 表达比 HT 组明显降低 ($P < 0.05$),HT 组与 NC 组的 WT% 相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 4。



a: $P < 0.05$, 与 NC、NT 组比较; b: $P < 0.05$, 与 HC 组比较。

图 4 各组大鼠肺组织 ET-1 表达的比较

3 讨论

PAH 原在高原地区常见,但随着近年来空气污染的加重,肺部基础疾病增多,继发性 HPAH 慢性在非高原地区亦有增多。持续慢性低氧引起 HPV,进一步引起 PAR。由于内皮损伤后功能失调,造成多种血管活性因子分泌合成紊乱,如 ET-1,血管紧张素 II,血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 等,这种现象加重血管损伤,促进 PAR^[8]。在血管重塑过程中,会出现无肌型动脉向肌型动脉转化,细动脉肌型化,中小动脉中层增厚、管腔狭窄等一系列的典型改变。随着 PAR 进一步进展,肺动脉压力持续升高,终点为右心衰竭,机体死。HE 染色中血管形态的改变,以及右心指数的升高,都验证了肺动脉高压模型的成功建立。

ET 是 1988 年由 Yanagisawa 等^[9]发现的由 21 个氨基酸残基组成的多肽,是已知最强缩血管物质,分为 ET-1、ET-2 和 ET-3 三类。ET-1 是惟一存在于血管内皮细胞的 ET,能够引起强力而持久的血管收缩,对平滑肌细胞和成纤维细胞生长也具有强烈的促进作用。肺部是 ET-1 作用和代谢的最重要的器官。在低氧时,内皮细胞释放 ET-1 增加,进一步与血管平滑肌上的 ETA、ETB 受体结合,促进 Ca²⁺ 内流,引起平滑肌过度收缩痉挛,还促使某些与细胞增殖有关的原癌基因如 c-fos, c-myc 的表达增加,多方面促进血管重塑^[10]。研究发现,肺动

脉高压患者血浆 ET-1 水平明显升高,并且与肺血流量和心排出量呈负相关。动物实验显示,肺动脉高压大鼠肺动脉和肺组织匀浆中 ET 前体和 ET-1 及其受体 ETA 和 ETB 的 mRNA 表达均明显增多,均提示 ET-1 在 HPAH 形成中扮演着重要的角色。

伊洛前列素是人工合成的前列腺素类似物,作用部位是血管内皮细胞和平滑肌细胞^[11]。发挥作用的机制为激活腺苷酸环化酶,使环磷腺苷 (cAMP) 水平升高,激活过氧化物酶增殖物激活受体 (PPAR γ) 发挥生物学效应,使血管扩张,因此伊洛前列素有很强的扩张肺血管作用^[12]。相对于其他前列腺素药物,伊洛前列素优点在于可以优先到达通气良好的肺泡,直接选择性作用于肺动脉血管床,避免肺内分流,维持氧合稳定^[13]。此外伊洛前列素还有抑制血栓形成,抗增殖活性和抗纤维化活性。在缺氧环境下伊洛前列素能拮抗炎症性介质 (如缓激肽、5-羟色胺、组胺等) 引起的免疫反应,降低血管内皮通透性,维持内皮完整性^[14]。在本实验中,持续缺氧时伊洛前列素对低氧肺动脉高压有确切的疗效,抑制 ET-1 的过度增加,延缓乃至逆转肺血管重塑,这可能是通过保护内皮细胞发挥作用的。但是伊洛前列素通过何种途径影响内皮细胞的 ET-1 合成和释放,具体调节机制如何,都待进一步研究。

参考文献

- [1] Guignabert C, Dorfmüller P. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension [J]. Semin Respir Crit Care Med, 2013, 34(5): 551-559.
- [2] Galie N, Hoeper MM, Humbert M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology and the European Respiratory Society, endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT) [J]. Eur Heart J, 2009, 30(20): 2493-2537.
- [3] Wang Z, Chesler NC. Pulmonary vascular wall stiffness: an important contributor to the increased right ventricular afterload with pulmonary hypertension [J]. Pulm Circ, 2011, 1(2): 212-223.
- [4] Montani D, Chaumais MC, Guignabert C, et al. Targeted therapies in pulmonary arterial hypertension [J]. Pharmacol Ther, 2014, 141(2): 172-191.
- [5] Shimoda LA, Sham JS, Liu Q, et al. Acute and chronic hypoxic pulmonary vasoconstriction: a central role for endothelin-1 [J]. Respir Physiol Neurobiol, 2002, 132(1): 93-106.
- [6] Chen YF, Jowett S, Barton P, et al. Clinical and cost-effectiveness of epoprostenol, iloprost, bosentan, sitaxentan and sildenafil for pulmonary arterial hypertension within their licensed indications: a systematic review and economic evaluation [J]. Health Technol Assess, 2009, 13(49): 1-320.
- [7] Kim EK, Lee JH, Oh YM, et al. Rosiglitazone attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. Respirology, 2010, 15(4): 659-668.
- [8] Xu W, Erzurum SC. Endothelial cell energy metabolism, proliferation, and apoptosis in pulmonary hypertension [J]. Compr Physiol, 2011, 1(1): 357-372.
- [9] Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells [J]. Nature, 1988, 332(6163): 411-415. (下转第 741 页)

基础上进一步研究预防卵巢早衰的疗效,建立造模前组及造模中组。认为造模前组及造模中组为卵巢储备功能下降的“未病”阶段,造模后组为卵巢早衰的“已病”阶段,分别给药。

卵巢早衰的发病原因主要是原始卵泡储备过少,卵泡闭锁或者耗竭太快。卵巢血流是维持卵泡生长,类固醇激素分泌及卵泡对促性腺激素敏感性的重要因素^[9],VEGF、bFGF为血管内皮生长因子,可改善受损卵巢血管通透性,尤其可以特异性地促进类固醇激素生成器官的细胞增殖存活和趋化,促进新生血管生成^[10]。

LISA 结果显示:与模型组比较,各给药组在灌胃坤泰胶囊后, E_2 、AMH 水平明显升高($P<0.05$),FSH、LH 水平明显降低($P<0.05$),提示坤泰胶囊能提高血清中 E_2 、AMH 的水平,降低 FSH、LH 的水平,改善卵巢功能。RT-PCR 结果显示:模型组中 VEGF、bFGF 的表达明显减少($P<0.05$),说明卵巢内血流减少,卵泡减少,血管受损。灌胃坤泰胶囊后 VEGF、bFGF 表达明显升高($P<0.05$)。说明坤泰胶囊可保护血管内皮细胞,使卵巢内血液运行通畅,提高卵巢储备能力,防止卵巢早衰。进一步研究发现:致病因素时间不同,VEGF、bFGF 的表达不同。实验表明造模前组的表达及造模中组高于造模后组。

卵巢早衰是妇科常见的内分泌疾病,西医治疗主要结合实验室检查及患者临床表现给予激素替代疗法,此疗法可恢复月经规律,促进生殖器官发育,但长时间用药会导致各种不良反应的发生,增加其他疾病的患病率^[11]。而中成药治疗具有良好的调节作用,也无长期使用激素的不良反应,为卵巢早衰的治疗提供新的治法。和颜坤泰胶囊主要成分为熟地黄、白芍、阿胶、茯苓、黄芩、黄连等六味中药组成。其中熟地黄为君药,滋阴养血、补肾、生精益髓;黄连、白芍、阿胶为臣药,黄连清虚火、清心除烦,与熟地黄配伍,滋阴降火、交通心肾;白芍、阿胶补血养阴,补而不滞,养阴不腻,且能收敛精气,固摄元气;黄芩、茯苓为佐药,黄芩清热泻火,茯苓健脾益气,安神,以上六味中药合用,起到滋阴养血,补精益髓,安神除烦,交通心肾,调节阴阳平衡的作用^[12],通过调补肾阴肾阳可增加卵巢供血及营养,从而达到激活卵巢功能的效果^[13]。其中熟地黄含有的 5-羟甲基糖醛成分具有改善血液循环的作用,阿胶具有补血滋阴的作用二者均可以上调 VEGF、bFGF mRNA 的表达^[13],促进卵泡发育,改善受损卵巢。

实验证明,坤泰胶囊有治疗卵巢早衰的作用,其预防作用更为明显。通过调节激素水平及上调 VEGF、bFGF mRNA 的表达减轻雷公藤多苷片对卵巢功能造成的损害,延缓或阻遏卵

巢早衰,促进卵泡发育,改善卵巢功能。

参考文献

- [1] 杨芸. 坤泰胶囊治疗女性围绝经期综合征的临床观察[J]. 天津药学, 2010, 22(3): 34-35.
- [2] 高慧, 杨涓. 药物型卵巢早衰动物模型的研究[J]. 国医论坛, 2007, 22(3): 22-26.
- [3] 伍义行, 黄利权. 中药生殖药理研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2000, 7(12): 28-30.
- [4] 张丽娟, 陶仕英, 赵丕文, 等. 细胞凋亡途径探讨二仙汤治疗大鼠卵巢早衰实验研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(4): 812-818.
- [5] 刘梅云. 坤泰胶囊治疗卵巢储备功能下降及卵巢早衰的临床研究[D]. 河北: 河北大学, 2014.
- [6] 陈冬丽. 坤泰胶囊治疗卵巢储备功能下降及卵巢早衰的临床研究[D]. 湖北: 湖北中医药大学, 2011.
- [7] 陈玥. “治未病”思想在卵巢储备功能减退中的应用体会[J]. 湖北中医药大学学报, 2016, 18(1): 46-48.
- [8] Malamitsi-Puchner A, Sarandakou A, Tziotis J, et al. Circulating angiogenic factors during periovulation and the luteal phase of normal menstrual cycles[J]. Fertil Steril, 2004, 81(5): 1322-1327.
- [9] Keramidas M, Faudot C, Cibiel A, et al. Mitogenic functions of endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor and Bombesin-like peptide 8 on steroidogenic adrenocortical cells[J]. Endocrinol, 2008, 196(3): 473-482.
- [10] 王玉洁, 宁琳. 四物合剂联合坤泰胶囊治疗卵巢储备功能下降及卵巢早衰的临床观察[J]. 中国医学创新, 2014, 11(10): 118-119.
- [11] 王玮, 张云. 坤泰胶囊对 SD 大鼠生育力和早起胚胎毒性的研究[J]. 中成药, 2012, 34(10): 1869-1873.
- [12] 王瑛, 刘元. 坤泰胶囊治疗雷公藤引起类风湿关节炎卵巢早衰的临床观察[J]. 陕西中医, 2015, 36(7): 773-774.
- [13] 钟瑞华, 周娟颖. 坤泰胶囊对大鼠实验性子官异位内膜生长及其妊娠结局的影响[J]. 生殖与避孕, 2015, 35(8): 517-523.
- [13] Reichenberger F, Mainwood A, Morrell NW, et al. Intravenous epoprostenol versus high dose inhaled iloprost for long-term treatment of pulmonary hypertension[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2011, 24(1): 169-173.
- [14] Li RC, Cindrova-Davies T, Skepper JN, et al. Prostacyclin induces apoptosis of vascular smooth muscle cells by a cAMP-mediated inhibition of extracellular signal-regulated kinase activity and can counteract the mitogenic activity of endothelin-1 or basic fibroblast growth factor[J]. Circ Res, 2004, 94(6): 759-767.

(收稿日期: 2016-10-13 修回日期: 2016-11-16)

(收稿日期: 2016-10-23 修回日期: 2016-11-21)

(上接第 737 页)

- [10] Biasin V, Chwalek K, Wilhelm J, et al. Endothelin-1 driven proliferation of pulmonary arterial smooth muscle cells is c-fos dependent[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2014, 54(8): 137-148.
- [11] Reichenberger F, Mainwood A, Doughty N, et al. Effects of nebulised iloprost on pulmonary function and gas exchange in severe pulmonary hypertension [J]. Respir Med, 2007, 101(2): 217-222.
- [12] Mirza S, Foley RJ. Clinical utility of treprostinil and its overall place in the treatment of pulmonary arterial hypertension[J]. Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med, 2012, 6(1): 41-50.