

实验研究

寒喘宁口服液对实验性
哮喘豚鼠血清炎性介质的影响^{*}

罗世杰 张 玲 陈苏静 张 娜 刘冬琴 王 苗

(陕西中医学院附属医院儿科, 陕西 咸阳 712000)

摘 要:目的 观察寒喘宁口服液对支气管哮喘豚鼠血清中神经源性气道炎性介质 P 物质(SP)、血栓素 B₂(TXB₂)、白三烯 B₄(LTB₄)、6-酮-前列腺素 F1 α (6-keto-PGF1 α)的影响,探讨其平喘机理。方法 选 50 只体重为 250-300 g 的雄性幼龄豚鼠,通过随机数字表法分成正常对照组、地塞米松组、哮喘模型组、中药大剂量组、中药小剂量组,每组各 10 只。造模后各组按要求用药,测定血清中 SP、TXB₂、LTB₄、6-keto-PGF1 α 的含量。结果 哮喘模型组与正常对照组比较,SP、TXB₂、LTB₄ 均显著升高($P<0.01$),6-keto-PGF1 α 显著降低($P<0.01$);与哮喘模型组比较,各治疗组 SP、TXB₂、LTB₄ 均降低或显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),6-keto-PGF1 α 升高或显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 寒喘宁口服液平喘的机制之一可能是影响实验性哮喘豚鼠血清中炎性介质的含量,使 SP、TXB₂、LTB₄ 均降低,使 6-keto-PGF1 α 升高。

关键词:寒喘宁口服液;哮喘;SP;TXB₂;LTB₄;6-keto-PGF1 α

中图分类号: R 289.5 文献标识码: A 文章编号: 1002-168X(2015)02-0068-03

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2015.02.027

Influences of HanChuanNing Oral Liquid over Serum Inflammatory
Mediators of Experimental Guinea Pigs with Asthma

LUO Shijie, ZHANG Ling, CHEN Sujing, ZHANG Na, LIU Dongqin, WANG Miao

(Pediatrics Department of the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

Abstract Objective To observe the effects of HanChuanNing oral liquid on the serum inflammatory mediators of neurogenic airway as SP, TXB₂, LTB₄ and 6-keto-PGF1 α and explore its mechanisms of relieving asthma. **Methods** The 50 young male guinea pigs weighed from 250g to 300g were divided into normal control group, dexamethasone (DXM) group, asthma model group, heavy and light doses of Chinese medicine groups with 10 cases in each. The SP, TXB₂, LTB₄ and 6-keto-PGF1 α contents were determined after the models established and perfused with medicines according to the demands. **Results** The SP, TXB₂ and LTB₄ contents markedly increased($P<0.01$) and 6-keto-PGF1 α decreased significantly($P<0.01$) in asthma model group, compared with normal control group. Compared with asthma model group, in the treatment groups all the SP, TXB₂ and LTB₄ contents decreased or significantly decreased($P<0.05$ or $P<0.01$), 6-keto-PGF1 α increased or markedly increased($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** One of the asthma-relieving mechanisms for HanChuanNing oral liquid may be associated with its influence over the contents of serum inflammatory mediators to decrease SP, TXB₂ and LTB₄ levels and increase the levels of 6-keto-PGF1 α .

Keywords HanChuanNing oral liquid; asthma; SP; TXB₂; LTB₄; 6-keto-PGF1 α

寒喘宁方是笔者治疗小儿寒性哮喘的有效方剂,将其制成口服液,以观察其对实验性哮喘豚鼠

炎性介质的影响,探讨其平喘机理。

1 材料与方法

1.1 实验动物 取 50 只体重为 250–300 g 幼龄雄性豚鼠,购于西安交通大学实验动物中心,许可证号 SCXK(陕)2007–0010。

1.2 药品及试剂 寒喘宁口服液由炙麻黄、桂枝、葶苈子、干姜、桃仁、五味子、甘草按 2 : 2 : 2 : 1 : 2 : 2 : 1 比例组成(中药大剂量组每 100 mL 含生药 100 g;中药小剂量组每 100 mL 含生药 50 g),由陕西中医学院药物研究所提供;卵白蛋白:上海励瑞生物科技有限公司生产;SP 试剂盒,西安永屹生物技术有限公司生产,国药准字 20130315;TXB₂ 试剂盒,西安永屹生物技术有限公司生产,国药准字 20130405;LTB₄ 酶联免疫测定试剂盒,西安永屹生物技术有限公司生产,国药准字 20130326;6–keto–PGF1 α 酶联免疫测定试剂盒,西安永屹生物技术有限公司生产,国药准字 20130314。

1.3 实验仪器 微量电子天平(日本岛津 AECT220 型),MPF–4 型荧光分光光度计(Made in Japan),自动酶标仪(美国 Bio–Rad 公司),电热恒温干燥箱(上海博讯实业有限公司),数显恒温水箱(上海博讯实业有限公司),超声雾化器(402B 型,江苏鱼跃医疗设备股份有限公司)。

1.4 实验方法 取 50 只体重为 250–300 g 的幼龄雄性豚鼠,适应性喂养 1 w,通过随机数字表法将其分成 5 组,即正常对照组、地塞米松组、哮喘模型组、中药大剂量组、中药小剂量组,每组各 10 只。参考文献方法复制哮喘模型^[1–2],用卵白蛋白致敏和攻击造模。在实验第 1 d,用卵白蛋白致敏和攻击复制哮喘模型。在寒冷气温条件下,将哮喘模型组、地塞米松组、中药大剂量组、中药小剂量组的豚鼠置于室外环境中施加“形寒”的刺激,每日

12 h,同时饮用加了冰块的水,食用冷冻的饲料和蔬菜。对哮喘模型组、中药大剂量组、中药小剂量组、地塞米松组豚鼠采用腹腔注射 10 % 卵白蛋白 1 mL 致敏,正常对照组腹腔注射生理盐水 1 mL。自注射第 14 d 将哮喘模型组、中药大剂量组、中药小剂量组、地塞米松组豚鼠每日上、下午各一次逐个置于雾化箱内,喷入 1 % 卵白蛋白雾化 15 ~ 20 秒,激发至哮喘发作,豚鼠表现为烦躁、颤抖、气急、点头、伏地、扎堆、流涕、喷嚏、唇周青紫、爪甲紫暗为哮喘寒证造模成功。正常对照组每日 2 次用生理盐水雾化激发。豚鼠灌胃给药与诱发哮喘同步进行,地塞米松组、中药大剂量组、中药小剂量组在当天每次激发后 2 h 内给药,每日 2 次,每次 3 mL,(大剂量组 20 g/Kg · d 相当于生药 6 g/d;小剂量组 10 g/Kg · d 相当于生药 3 g/d;地塞米松组 3.5 mg/Kg · d,即地塞米松片混悬液 1 mg/d)。正常对照组和哮喘模型组每日 2 次均用生理盐水 3 mL 灌胃。每组共灌胃 2 周。

1.5 标本采集与指标检测 末次给药后 2 小时,豚鼠称重,用 20 % 乌拉坦 6 mL/kg 腹腔内注射,麻醉成功后常规消毒,首先沿豚鼠颈正中线剪开皮肤,钝性分离,游离气管,打开胸腔,暴露心脏,将针头垂直刺入心脏,由于心脏的搏动,血液可自动进入注射器。如无血液流出,拔出针头后重新穿刺,用干净试管收集血液,室温凝固 30 分钟,1000 rpm 离心 15 min,收集血清。

1.6 统计学处理 所有数据均用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较用 *t* 检验。均用 SPSS17.0 统计软件处理。

2 结果

各组哮喘豚鼠 SP、TXB₂、LTB₄、6–keto–PGF1 α 的含量($\bar{x}\pm s$)见表 1。

表 1 各组哮喘豚鼠 SP、TXB₂、LTB₄、6–keto–PGF1 α 的含量 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	SP (ng/L)	TXB ₂ (ng/L)	LTB ₄ /(ng/L)	6–keto–PGF1 α /(ng/L)
正常对照组	10	40.08 \pm 2.25	148.95 \pm 26.93	8.7 \pm 1.54	79.98 \pm 13.69
哮喘模型组	10	47.59 \pm 3.29 [▲]	285.75 \pm 51.05 [▲]	15.13 \pm 0.98 [▲]	35.95 \pm 9.61 [▲]
地塞米松组	10	41.13 \pm 3.34 [◆]	169.52 \pm 53.14 [◆]	10.05 \pm 1.40 [◆]	78.10 \pm 9.22 [◆]
中药小剂量组	10	44.12 \pm 2.87 ^{▲▲}	233.45 \pm 56.43 ^{▲▲}	13.89 \pm 1.14 ^{▲▲}	45.36 \pm 9.63 ^{▲▲}
中药大剂量组	10	41.56 \pm 2.12 [◆]	178.35 \pm 55.37 [◆]	10.13 \pm 1.48 [◆]	73.02 \pm 21.68 [◆]

注:与正常对照组比较[▲]*P*<0.01;与哮喘模型组比较^{▲▲}*P*<0.05,[◆]*P*<0.01。

实验结果表明,哮喘模型组与正常对照组比较,SP、TXB₂、LTB₄ 均显著升高(*P*<0.01),6–keto–PGF1 α 显著降低(*P*<0.01)。与哮喘模型组比较,

各治疗组 SP、TXB₂、LTB₄ 均降低或显著降低(*P*<0.05 或 *P*<0.01),6–keto–PGF1 α 升高或显著升高(*P*<0.05 或 *P*<0.01),说明地塞米松和寒喘宁口

服液对豚鼠哮喘均有效。

3 讨论

小儿肺脾肾不足,痰饮伏留,感受外邪,使痰随气升,气因痰阻,相互搏结,阻塞气道,肺管狭窄是哮喘的主要病因病机。若外感风寒,内伤生冷,或素体阳虚、寒痰内伏,则发为寒性哮喘。痰饮的产生在哮喘的发生、发展及预后方面均有重要影响,痰聚则喘急,痰减则喘减,痰除则喘平。痰饮属阴邪,遇阳得温则化,故张仲景提出:“病痰饮者,当以温药和之。”且张景岳提出“肺主皮毛而居上焦,故邪气犯之则上焦气壅而为喘。”说明哮喘与痰饮及肺气逆乱关系密切,故寒性哮喘发作期治当温肺化痰,降逆平喘。寒喘宁口服液由炙麻黄、桂枝、干姜、桃仁、葶苈子、五味子、甘草组成。方中炙麻黄辛、微苦、温,发汗解表、宣肺平喘,由于卫阳郁扼,营阴滞涩,单用麻黄可解卫气之郁,营血之涩却无法缓解,故加温阳化气,透营达卫之桂枝以增强疏散风寒之力,二药共为君药;干姜辛、温,温肺散寒、温运脾阳,化饮化湿;桃仁苦、甘、平,止咳平喘、活血化痰;葶苈子辛、苦,泻肺平喘;三药合用,温肺止咳平喘,畅利肺气,助麻桂降气化痰平喘共为臣药。葶苈子性寒,可制约干姜的温燥;桃仁、葶苈子降肺气而平喘,麻黄宣散肺气而平喘,一宣一降,使肺气调畅而气喘自平。五味子酸、甘、温,敛肺、生津、滋肾,与麻黄、干姜配伍使用,起到散不伤正,敛不留邪,使肺之开合正常,达到止咳平喘的目的,为佐药。甘草甘、平,润肺止咳,补脾益气,缓和药性,为使药。全方温散化痰,活血祛瘀,降气平喘。现代药理研究证明,麻黄平喘的主要有效成分是挥发油和生物碱^[3],伪麻黄碱具有抗炎作用^[4]。桂枝具有抗病毒、抗菌、解热镇痛、抗炎、抗过敏作用^[5]。干姜的镇痛抗炎成分主要是脂溶性姜酚类化合物,还有未知的水溶性成分,干姜还有抗缺氧作用^[6]。桃仁镇咳平喘、抗炎、抗过敏。葶苈子具有:①止咳平喘作用:葶苈子所含芥子苷是其止咳的主要成分。②抗菌作用:葶苈子中的苜基芥子油有广谱的抗菌效果^[7]。五味子止咳祛痰,促进免疫细胞分化,增强免疫功能^[8]。甘草具有抗菌、抗病毒、抗炎、调节免疫的功效。

SP是由感觉神经末梢释放的一种炎性作用很强的速激肽,对气道具有广泛的生理效应,能增强血管通透性导致血浆蛋白渗出和水肿,诱导白细

胞粘附、浸润,调节细胞因子产生,引起支气管平滑肌痉挛等。血栓素 B_2 (TXB_2) 是血栓素 A_2 (TXA_2) 的代谢产物,在气道炎症时, TXA_2 释放能引起哮喘^[9],临床常以 TXB_2 作为观察指示物,在哮喘急性发作时, TXB_2 能激发气道内上皮损伤及炎症渗出而起重要作用。 LTB_4 是目前已知最强的致炎因子和趋化因子,参与气道的炎症过程。6-keto- $PGF1\alpha$ 是前列环素 I_2 (PGI_2) 的代谢产物, PGI_2 是由血管内皮细胞摄取花生四烯酸后被环氧合酶、前列腺素合成酶合成而成,机械性损伤以及化学性刺激和部分药物均能使内皮细胞释放 PGI_2 。 PGI_2 松弛气道血管平滑肌、改善微循环、防治组织缺氧,抑制血小板和白细胞聚集和粘附,但因其人体中含量少且不稳定,很难被检验,极易分解成为无活性的稳定代谢产物 6-keto- $PGF1\alpha$, 因此,测定 6-keto- $PGF1\alpha$ 成为反映体内 PGI_2 水平的一种有效的方法^[9]。

本研究结果表明,寒喘宁口服液平喘的机制之一可能是影响实验性哮喘豚鼠血清中炎性介质的含量,使 SP 、 TXB_2 、 LTB_4 均降低,使 6-keto- $PGF1\alpha$ 升高。

参考文献

- [1] 罗世杰,冯爱民,郭亚雄,等.寒喘宁口服液对实验性哮喘豚鼠支气管肺灌洗液中 NO 和 $TNF-\alpha$ 的影响[J].陕西中医学院学报,2014,37(3):63-65.
- [2] 罗世杰,郭亚雄,张玲,等.热喘平口服液对豚鼠哮喘模型血清炎性介质影响的实验研究[J].中医儿科杂志,2011,7(5):9-11.
- [3] 钟凌云,祝婧,龚千锋,等.炮制对麻黄发汗、平喘药效影响研究[J].中药药理与临床,2008,24(6):53-56.
- [4] 戴贵东,闫琳,余建强,等.伪麻黄碱镇痛、抗炎作用的研究[J].陕西医学杂志,2003,32(7):642.
- [5] 赵菊宏,刘书苑.桂枝的药理作用和临床应用[J].医学信息,2011,4:1575.
- [6] 营大礼.干姜化学成分及药理作用研究进展[M].中国药房,2008,19(18):1435-1436.
- [7] 孟祥凤.葶苈子化学成分及药理作用的研究进展[J].黑龙江科技信息,2013,(34):71.
- [8] 李巧如.五味子药理作用的研究进展[J].西北药学杂志,1995,10(1):46-47.
- [9] 陈燕萍,陈伟斌,韩群,等.复方麻辛剂吸入治疗小儿哮喘的疗效观察与实验研究[J].上海中医药大学学报,2002,16(2):21-23.

(收稿日期:2014-12-30 编辑:文颖娟)