

龙胆泻肝胶囊对肝胆湿热型分泌性中耳炎患者 PAF, ET-1 含量的影响

文凤妮¹, 黄文柱¹, 陆扬光¹, 刘小晶¹, 朱原², 李灼宏¹, 张继平^{3*}

(1. 佛山市第五人民医院, 广东 佛山 528000; 2. 南方医科大学 中医药学院, 广州 510515;
3. 南方医科大学 附属佛山医院, 广东 佛山 528000)

[摘要] **目的:**探讨龙胆泻肝胶囊对肝胆湿热型分泌性中耳炎患者血清和积液中血小板活化因子(PAF)与内皮素-1(ET-1)含量的影响。**方法:**选取 60 例佛山市第五人民医院门诊诊断为肝胆湿热型分泌性中耳炎患者,按随机数字表法分为对照组与试验组,各 30 例,两组治疗前抽取患者静脉血并保留中耳积液,经离心后保存于 -80 ℃ 冰箱保存。对照组采用鼓膜穿刺,并予头孢克洛缓释胶囊联合氯雷他定片口服治疗,试验组采用鼓膜穿刺,并予龙胆泻肝胶囊口服;治疗 7 d 后再次抽取患者静脉血离心保存,评价临床疗效并测量血清及积液中 PAF 与 ET-1 含量。**结果:**治疗组总体疗效优于对照组($P < 0.05$),与对照组比较,治疗组再次穿刺治疗抽出积液率较低($P < 0.05$);与治疗前比较,两组治疗后血清与积液中 PAF, ET-1 含量均明显降低($P < 0.05$),其中以龙胆泻肝胶囊效果更显著。**结论:**龙胆泻肝胶囊治疗分泌性中耳炎的作用显著,其机制可能与抑制 PAF, ET-1 表达有关。

[关键词] 分泌性中耳炎; 龙胆泻肝胶囊; 血小板活化因子; 内皮素-1

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0158-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016100158

Effect of Longdan Xiegan Capsule on Platelet Activating Factor and Endothelin-1 Levels in Patients with Secretory Otitis Media of Liver and Gallbladder Dampness-Heat Type

WEN Feng-ni¹, HUANG Wen-zhu¹, LU Yang-guang¹, LIU Xiao-jing¹,
ZHU Yuan², LI Zhuo-hong¹, ZHANG Ji-ping^{3*}

(1. Foshan Fifth People's Hospital, Foshan 528000, China;

2. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

3. Foshan Hospital Affiliated to Southern Medical University, Foshan 528000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Longdan Xiegan capsules on platelet activation factor (PAF) and endothelin-1 (ET-1) levels in patients with secretory otitis media of liver and gallbladder dampness-heat type. **Method:** The 60 patients with secretory otitis media of liver and gallbladder dampness-heat type in Foshan Fifth People's Hospital were divided into control group and experimental group according to the random number table method, 30 cases in each group. The samples of venous blood were taken before treatment, and middle ear effusion of patients was stored at -80 ℃ in refrigerator after centrifugation. Patients in control group were treated with the tympanic membrane puncture and cefaclor capsules combined with loratadine tablets by oral administration, while patients in experimental group were treated with the tympanic membrane puncture and Longdan Xiegan capsules by oral administration. After 7 days treatment, the venous blood of patients was collected

[收稿日期] 20151023(012)

[基金项目] 佛山市医学类科技攻关项目(201208079)

[第一作者] 文凤妮, 硕士, 主任中医师, 从事中西医结合临床耳鼻咽喉方向研究, E-mail: wfnys@163.com

[通讯作者] * 张继平, 硕士生导师, 主任中医师, 药学研究员, 从事中药药理与临床研究, E-mail: fszjping@163.com

again, clinical efficacy was evaluated and PAF and ET-1 levels in serum and effusion were determined. **Result:** The total clinical efficacy of experimental group was better than that of control group ($P < 0.05$), with a lower rate of effusion extraction after re-puncturing in experimental group ($P < 0.05$). There was no significant difference in PAF and ET-1 levels in serum and effusion between control group and experimental group before treatment. The PAF and ET-1 levels in serum and effusion in both groups were significantly reduced after treatment ($P < 0.05$), and Longdan Xiegan capsules had a more significant effect than the control group. **Conclusion:** Longdan Xiegan capsules had significant effect in the treatment of secretory otitis media, and its mechanism may be related to inhibiting the expression levels of PAF and ET-1.

[Key words] secretory otitis media; Longdan Xiegan capsule; platelet activating factor; endothelin-1

分泌性中耳炎(SOM)是以鼓室积液,传导性耳聋为主要特征的中耳非化脓性疾病,为耳科常见病,发病率较高^[1-2];其发病机制主要包括中耳负压学说、感染学说、变态反应学说等^[3],近年来,随着中耳积液中炎性介质的发现,炎性介质与SOM的关系不断受到重视;前期研究发现血小板活化因子(PAF),内皮素-1(ET-1)与SOM发病密切相关,对SOM辨证分型具有一定参考价值^[4-6];龙胆泻肝汤源于清代医家汪昂的《医方集解》,具有泻肝而不伤肝,利湿而不伤阴的特性,对SOM具有较好的疗效^[7],而其作用于分泌性中耳炎的作用机制有待阐述;研究发现PAF在分泌性中耳炎的发病中具有重要作用,且ET-1可能参与分泌性中耳炎的发病进程^[8];为了探讨龙胆泻肝汤治疗分泌性中耳炎的疗效,及其作用机制与相关炎性介质的关系,本研究拟使用龙胆泻肝胶囊治疗SOM肝胆湿热型患者,测定治疗前后血清及积液中PAF与ET-1含量变化,并与对照组比较,探讨龙胆泻肝胶囊治疗分泌性中耳炎的疗效优势同时确定其可能作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2013年12月—2015年9月在佛山市第五人民医院门诊治疗属肝胆湿热型的分泌性中耳炎患者60例,按随机数字表法随机分为试验组与对照组,各30例,试验组男性16例,女性14例,年龄(39.5 ± 12.4)岁;对照组男性17例,女性13例,年龄(33.3 ± 11.8)岁,两组间性别、年龄无显著性差异;试验组病程(9.9 ± 0.4) d;对照组病程(10.2 ± 0.4) d,两组病程无显著差异,具有可比性。试验过程中,试验组脱落5例,对照组脱落2例。

1.2 诊断标准 中医诊断标准参照文献^[9]选取肝胆湿热患者,主要症状如下:耳内胀闷堵塞感,耳内微痛,耳鸣,自听增强,听力下降;烦躁易怒,口苦口干,胸胁苦闷;舌红苔黄腻,脉弦数。西医诊断标准参照《耳鼻咽喉科诊断学》^[10]诊断标准:①上呼

吸道感染后出现耳堵塞感、闷胀感等主要症状,或伴有听力减退,或自听过强,或耳内疼痛,或低频耳鸣;②纯音测听为传导性耳聋;③声导抗测试为平坦型(B型)鼓室导抗图;④鼓膜有积液。具有第①项和第②~④项其中之一者即可诊断为本病。

1.3 纳入标准 由2名中级职称以上中医师同时辨证符合以上肝胆湿热证型并符合分泌性中耳炎诊断标准,年龄16~60岁,签署知情同意书并配合治疗。

1.4 排除标准 年龄 < 16 岁或 > 60 岁患者;因妊娠、哺乳期不能接受治疗患者;鼻咽癌导致反复中耳积液患者;有高血压、糖尿病等循环系统及内分泌系统疾病引起血清中炎性介质改变的患者;鼻咽部肿大可能引起中耳积液的疾病患者;其他可能引起鼓室积液的疾病。

1.5 疗效评定标准 参照文献^[11]将疗效分为治愈、显著改善、改善及无效4个等级,按表1评定。

表 1 分泌性中耳炎疗效判定标准

Table 1 Efficacy criteria of secretory otitis media

指标	治愈	显著改善	改善	无效
症状	消失	消失	减轻	无缓解
鼓膜	正常	正常	接近正常	无缓解
咽鼓管	通畅	通畅	功能改善	无改善
听力状况	恢复正常	提高 ≥ 15 db	提高 < 15 db	无提高
鼓室曲线	A 型	A 型或 As 型	As 型	B 或 C 型

1.6 治疗方法 试验组采用鼓膜穿刺,并予龙胆泻肝胶囊(四川新鹿制药有限公司,批号140106,1.0 g/次, tid)口服;对照组采用鼓膜穿刺,并予头孢克洛缓释胶囊(扬子江药业集团有限公司,批号14030611,0.375 g/次, bid)联合氯雷他定片[万特制药(海南)有限公司,批号20141102,10 mg/次, qd]。

1.7 PAF 与 ET-1 含量测定 抽取肘静脉血 2 mL, 4 °C, 3 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清, -80 °C 冰

箱保存,采用人 PAF 与 ET-1 酶联免疫含量测定试剂盒(上海酶免生物科技有限公司,批号分别为 201508,201510)测定患者血清及积液中 PAF,ET-1 含量,操作过程严格按照试剂盒说明书进行。

1.8 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件,计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料先进行正态性检验,服从采用 *t* 检验,不服从采用秩和检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 治疗 1 周后,试验组总有效率为 84.0%,对照组 78.6%,试验组优于对照组($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者临床疗效比较

Table 2 Comparison of clinical efficacy between two groups

组别	例数	有效/例			无效/例	有效率/%
		治愈	显著改善	改善		
试验	25	9	8	4	4	84.0 ¹⁾
对照	28	8	9	5	6	78.6

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 4 同)。

表 4 两组患者 PAF、ET-1 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of levels of ET-1 and PAF between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	积液中 PAF 含量	血清 PAF 含量	血清 ET-1 含量
试验	治疗前	25	296.99 ± 34.85	192.01 ± 44.46	1.56 ± 0.64
	治疗后		173.36 ± 57.37 ^{1,2)}	97.14 ± 67.90 ^{1,2)}	0.74 ± 0.33 ^{1,2)}
对照	治疗前	28	280.16 ± 39.56	197.13 ± 45.80	1.68 ± 0.73
	治疗后		193.14 ± 52.74 ¹⁾	134.66 ± 60.53 ¹⁾	1.13 ± 0.57 ¹⁾

注:与治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$;与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

分泌性中耳炎属耳科常见病,发病率较高,其发病机制复杂。研究发现 PAF 可能通过增加咽鼓管开放压力与减少咽鼓管局部血流、促进病理性黏液糖蛋白的分泌而增加积液黏稠度,延长分泌性中耳炎病程,抑制中耳至咽鼓管的黏液纤毛清除,延缓中耳的清除,诱导细胞因子产生等机制参与分泌性中耳炎的发生发展^[12-16]。PAF 作为重要炎性介质在分泌性中耳炎发病中起着显著的作用,PAF 能显著增加白细胞介素-8(IL-8)含量,PAF 抑制剂与白三烯抑制剂又有协同治疗分泌性中耳炎的作用^[17];此外,PAF 拮抗剂及 PAF 乙酰水解酶在分泌性中耳炎治疗中亦具有重要作用^[18]。因此,PAF 的改变可能是中医药治疗分泌性中耳炎的重要机制。而 ET-1 是调节心血管功能的重要因子,对维持基础血管张

2.2 两组患者治疗后是否有积液比较 治疗 3 d 后,试验组含积液率为 80.0%,对照组 85.7%,试验组含积液率低于对照组($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者治疗后含积液率比较

Table 3 Comparison of effusion rate between two groups

组别	含积液/例	无积液/例	含积液率/%
试验	20	5	80.0 ¹⁾
对照	24	4	85.7

2.3 两组患者治疗前后血清及积液 PAF,ET-1 含量比较 与治疗前比较,两组治疗后血清及积液中 PAF 含量明显降低($P < 0.05$);试验组治疗后血清中 ET-1 含量明显减少($P < 0.05$)。试验组治疗后血清及积液 PAF 较对照组降低更明显($P < 0.05$);试验组治疗后血清 ET-1 含量较对照组降低更明显($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 两组患者血清与积液中 PAF 含量相关性分析 Pearson 相关分析发现,血清与积液中 PAF 含量呈正相关($r = 0.678, P < 0.05$),线性回归方程 $Y = 22.48 + 0.598X$ ($r = 0.678, P < 0.05$);即血中 PAF 含量与耳中 PAF 含量存在一定正相关关系。

力与心血管系统稳态起重要作用^[8],研究发现,ET-1 在分泌性中耳炎发病中具有重要作用,且在分泌性中耳炎微观辨证中具有一定意义^[6]。PAF 与 ET-1 作为重要的炎性介质,其在分泌性中耳炎治疗进程的作用仍不明确,龙胆泻肝胶囊作为重要的中医方剂,对湿热型分泌性中耳炎具有一定疗效,但其机制不明确。本课题组在有关分泌性中耳炎微观辨证研究中发现肝胆湿热型分泌性中耳炎患者中耳积液中 PAF,ET-1 含量最高^[5],而 PAF 具有改善咽鼓管局部血流及血管通透性,增加咽鼓管开放压力,损害咽鼓管功能,诱导炎性介质释放等诸多功能,与分泌性中耳炎发病密切相关,ET-1 能通过调节血管功能干预分泌性中耳炎的发病进程。

本课题组在前期研究基础上,使用龙胆泻肝胶囊治疗 SOM 肝胆湿热型患者,测定治疗前后血清及

积液 PAF 含量变化,并与对照组比较,发现龙胆泻肝胶囊对分泌性中耳炎肝胆湿热型患者具有明显疗效,且其治疗效果较对照组好,能有效治疗分泌性中耳炎,减轻症状,有效消除分泌性中耳炎肝胆湿热型患者中耳积液,降低血清及积液中 PAF 含量,认为龙胆泻肝胶囊治疗分泌性中耳炎的可能与降低 PAF 表达有关;不仅如此,其对血清 ET-1 表达也有一定抑制作用,其机制可能与降低 PAF 表达相关;本研究发现血清中 PAF 含量与积液中 PAF 含量存在一定相关性,即血清中炎性介质升高可能导致中耳积液中的炎性介质增高,进而干预分泌性中耳炎发病进程。而血清中 ET-1 水平与积液中的 ET-1 含量可能也存在一定相关性,本研究因积液含量较少,未进行 ET-1 含量检测,存在一定缺陷,但 PAF 作为强炎性介质能诱导其他炎性介质的释放,放大炎性反应过程。因此,龙胆泻肝胶囊抑制炎性介质表达可能是其治疗分泌性中耳炎的主要机制。此外,研究表明龙胆泻肝胶囊能调节细胞内 IL-10 等细胞因子水平^[19],亦可能与龙胆泻肝胶囊干预 PAF 及 ET-1 的生成有关,其机制可能与 PAF 等诱导细胞因子产生,参与分泌性中耳炎的进程有关。未来将探讨龙胆泻肝胶囊对分泌性中耳炎患者血清中相关炎性介质基因表达的影响,探讨其作用靶点。

[参考文献]

[1] Zhang Q, Wei J, Xu M, et al. Prevalence of otitis media with effusion among children in Xi'an, China: a randomized survey in China's mainland [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2011, 120(9) : 617-621.

[2] 陈伟龙,程素玲,张悦英,等. 分泌性中耳炎渗出物病原菌及流行病学研究 [J]. *中国实用医药*, 2013, 8(30) : 99-100.

[3] 韦木春. 分泌性中耳炎的病因及发病机制综述 [J]. *中国医学创新*, 2013, 10(21) : 161-162.

[4] 文凤妮,吴正治,张继平,等. 分泌性中耳炎辨证分型与血清中 PAF 含量的相关性研究 [J]. *新中医*, 2009, 41(2) : 49-50.

[5] 文凤妮,张继平,许育英,等. 分泌性中耳炎患者血清和积液中炎性介质 PAF 含量的微观辨证研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2013, 19(4) : 461-463.

[6] 文凤妮,张继平,吴正治,等. 分泌性中耳炎患者血清中炎性介质 ET-1 微观辨证价值研究 [J]. *新中*

医, 2011, 43(10) : 28-30.

[7] 张琴,阮时宝. 龙胆泻肝汤(丸)的药效及毒理学实验研究概述 [J]. *光明中医*, 2010, 25(4) : 743-744.

[8] 张立杰,彭军. 内皮素-1 与肿瘤坏死因子在分泌性中耳炎中的表达研究 [J]. *河北医药*, 2010, 32(3) : 322-323.

[9] 范小利. 耳胀耳闭中医辨证分型与声阻抗的相关性研究 [D]. 南京:南京中医药大学, 2007.

[10] 郑中立. 耳鼻咽喉科诊断学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1989 : 301.

[11] 姜胤辉,全庆忠,陈珊珊,等. 参苓白术散治疗脾虚型慢性分泌性中耳炎 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(13) : 311-314.

[12] Minami T, Kubo N, Tomoda K, et al. Effects of various inflammatory mediators on eustachian tube patency [J]. *Acta Otolaryngol*, 1992, 112(4) : 680-685.

[13] Lin J, Kim Y, Lees C, et al. Effects of platelet-activating factor (PAF) receptor blockage on mucous glycoprotein secretion in cultured chinchilla middle ear epithelium [J]. *Acta Otolaryngol*, 1996, 116(1) : 69-73.

[14] Ganbo T, Hisamatsu K, Kikushima K, et al. Effects of platelet activating factor on mucociliary clearance of the eustachian tube [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1996, 105(2) : 140-145.

[15] Rhee C K, Park Y S, Long S A, et al. Effects of platelet activating factor on vascular permeability of the middle ear mucosa [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1997, 106(7) : 604-607.

[16] Ogura M, Furukawa M, Tada N, et al. Platelet-activating factor (PAF) induced cytokine production and otitis media with effusion (OME) in the rat middle ear [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2008, 35(3) : 338-343.

[17] Jung T T, Park S K, Rhee C K. Effect of inhibitors of leukotriene and/or platelet activating factor on killed H. influenzae induced experimental otitis media with effusion [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2004, 68(1) : 57-63.

[18] Tsuji H, Furukawa M, Ikeda H, et al. The presence of platelet-activating factor-acetylhydrolase in human middle ear effusions [J]. *Orl J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 1998, 60(1) : 25-29.

[19] 向圣锦,王毓琴,李艳,等. 龙胆泻肝胶囊对 HLA-B27 相关性急性前葡萄膜炎患者血清相关细胞因子水平的影响 [J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(1) : 58-61.

[责任编辑 张丰丰]