

小儿寒喘合剂抗气道炎症作用的实验研究

任勤¹, 张师愚²

(1 天津中医学院第一附属医院, 天津 300193; 2 天津中医学院, 天津 300193)

摘要: 观察小儿寒喘合剂镇咳、排痰、平喘的作用及对气道粘膜变应性炎症的作用, 阐明小儿寒喘合剂抗气道炎症、降低气道高反应的机制。

关键词: 镇咳; 排痰; 平喘; 肺泡灌洗液; 超微结构

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2002)04-0041-03

小儿寒喘合剂是我院哮喘门诊经过十余年的临床及实验, 总结出的治疗小儿哮喘寒喘证的有效方剂, 为了探讨其作用机制, 我们进行了抗气道炎症等方面药理作用的观察, 现报道如下:

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, 体重 18 至 22 克, 雌雄不拘, 天津药物研究院提供。健康豚鼠, 雄性, 体重 250 ± 50g, 由军科院四所提供。

1.2 药物 小儿寒喘合剂: 由麻黄、桂枝、细辛、桃仁、川芎、苏子、莱菔子、黄芩、蝉衣、地龙、远志等按 (2: 2: 1: 3: 3: 3: 3: 3: 2: 3: 3) 组成, 混合煎煮, 过滤浓缩至每 ml 含生药 1.5g, 天津中医学院第一附属医院制药厂提供。

1.3 试剂 可待因, 青海制药厂。强的松: 天津市力生制药厂生产。10% 卵蛋白溶液: 由中国军事医学科学院血液病研究所提供。

1.4 仪器 CM-1 型超声雾化器, 北京医用电子仪器厂产品。722-光栅分光光度计, 上海第三分析仪器厂生产。120T-MP 型电子天平, 西德产。

2 方法

2.1 镇咳实验 按文献^[1]方法, 取小鼠 40 只, 随机分为 4 组, 每组 10 只。合剂大剂量组, 每只小鼠给合剂 25g 生药/kg/d (相当于临床用量的 12.5 倍); 合剂小剂量组, 每只小鼠给合剂 12.5g 生药/kg/d; 可待因组, 每只小鼠给可待因 15mg/kg (相当于临床用量的 10~15 倍); 对照组给等体积生理盐水。各组分别按上述剂量灌胃给药, 体积均为 0.3ml, 用药 1h 后, 将小鼠逐个放入 4L 玻璃罩内, 开始接受恒压

400mgHg 浓氨水喷雾, 5s 后, 立即取出小鼠观察, 视其腹肌收缩, 张大口为咳嗽指标, 记录咳嗽潜伏期时间和 2min 咳嗽次数。

2.2 化痰实验 用气管段酚红法^[1], 小鼠分组同上。合剂大小剂量组灌胃给药同上, 西药改为氯化铵, 每只小鼠灌胃给氯化铵 0.6g/kg/d, 对照组灌胃给等体积生理盐水。给药前 12h, 小鼠禁食不禁水。给药后 1h, 每鼠腹腔注射 0.5% 酚红溶液 0.5ml/鼠, 30min 后将小鼠颈椎脱臼处死, 分离气管, 插入 7 号磨平针头, 用 5% NaHCO₃ 灌洗 3 次 (0.5ml/次), 合并灌洗液, 722-型分光光度计 546nm 处比色, 测定光密度值 (OD)。

2.3 对哮喘豚鼠模型的作用 取 80 只豚鼠, 随机分为 5 组。a 空白对照组; b 模型组; c 合剂大剂量 25g/kg/d; d 合剂小剂量组 12.5g/kg/d; e 强的松 15mg/kg/d。空白对照组、模型组给予蒸馏水 2ml/100g 灌胃。其他各组灌胃相应不同药物, 容量均为 2ml/100g。按吕宝璋方法^[2]造模。以 11% 卵蛋白溶液 1ml 腹腔注射 b c d e 各组豚鼠致敏, 14d 后, 将豚鼠逐个放入 4L 玻璃钟罩内, 以 10% 卵蛋白溶液 40-0mmHg 恒压气雾喷入罩内, 持续喷雾 30s, 罩内时间共为 50s。各组每天上午灌胃给药, 下午雾化吸入卵蛋白, a 组吸入生理盐水, 连续 7d, 最后一次雾化吸入后记录动物发生气喘的潜伏期, 后用 25% 乌拉坦 2.5g/kg 腹腔麻醉, 开胸气管插管, 分次注入生理盐水 10ml 并收集支气管肺泡灌洗液 (BALF), 记数细胞总数及分类。取血涂片查 EC 和 MC 脱颗粒率, 另取 2 只豚鼠不做灌洗, 直接涂片, 透射电镜下观察气道上皮损伤及粘膜内嗜酸性细胞浸润程度。以上各组动物于最后处死, 取胸腺、脾、肾上腺, 用西德产 120T-MP 型万分之一精密电子分析天平称其湿重。

收稿日期: 2001-11-21

基金项目: 天津市卫生局中医、中西医结合科研基金资助课题 (97027)

数据采用 $\bar{X} \pm S$ 表示,用方差分析(F 检验和 Q 检验)做统计学处理,比较组间差异的显著性意义。

3 结果

3.1 镇咳实验 各组小鼠咳嗽潜伏期、咳嗽次数比较见表 1 所示。结果表明,合剂大、小剂量组和可待因组均能明显延长咳嗽潜伏期,减少咳嗽次数,与对照组比较,均有显著性差异, $p < 0.01$ 。合剂高剂量作用大于低剂量作用, $p < 0.01$,与中药药物剂量成正相关关系,与西药组比较无显著性差异, $p > 0.05$ 。

表 1 各组小鼠咳嗽潜伏期、咳嗽次数比较($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量	潜伏期 s	咳嗽次数(次/min)
对照组	等容量	31.8 ± 2.94	51.9 ± 5.69
合剂大	25g/kg/d	69.9 ± 7.14*	20.5 ± 2.17*
合剂小	12.5g/kg/d	56.0 ± 4.4* [△]	26.2 ± 3.77* [△]
可待因	15mg/kg/d	70.6 ± 7.44*	19.2 ± 1.55*

注:与对照组比较: * $P < 0.01$; 与合剂大剂量组比较: $\Delta P < 0.01$

3.2 化痰实验 各组药物对小鼠呼吸道排泌的影响见表 2 所示。结果表明给药 3 组与对照组比较有显著性差异,其中合剂高剂量作用大于低剂量作用 $p < 0.01$,与中药药物剂量成正相关关系,与西药组比较无显著性差异, $p > 0.05$ 。

表 2 各组药物对小鼠呼吸道排泌的影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量	酚红排泌量(g/ml)
对照组	等容量	1.78 ± 0.08
合剂大	25g/kg/d	2.88 ± 0.13*
合剂小	12.5g/kg/d	2.41 ± 0.12* [△]
氯化铵	0.6g/kg/d	2.70 ± 0.11*

3.3 小儿寒喘合剂对哮喘豚鼠模型的作用

3.3.1 一般情况及引喘潜伏期 经喷雾后可以观察到罩内的豚鼠呼吸急促、深大呼吸、膈肌收缩,跌

倒乃至死亡。我们将超过 6min 仍不发作哮喘反应的豚鼠,其潜伏期以 360s 计算。引喘潜伏期见表 3。结果显示:小儿寒喘合剂高、低剂量,西药组均能延长豚鼠引喘潜伏期,与模型组比较,差异显著($p < 0.01$);小儿寒喘合剂大剂量作用大于低剂量组($p < 0.01$),与药物剂量成正相关关系,与西药组比较无显著性差异($p > 0.05$)。

表 3 各组豚鼠引喘潜伏期比较($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量	潜伏期(s)
模型组	等容量	98.4 ± 6.42
合剂大	25g/kg/d	195.4 ± 10.1*
合剂小	12.5g/kg/d	164.1 ± 8.99* [△]
强的松	15mg/kg/d	192.8 ± 27.6*

3.3.2 肺泡灌洗液细胞学变化 以 1500r/min 离心 10min,取离心沉淀物涂片, Giemsa 染色,用光镜进行细胞记数和分类,结果见表 4,模型组中细胞总数、嗜酸性细胞、巨噬细胞均较对照组明显升高;给药各组肺泡灌洗液中细胞总数明显低于模型组($P < 0.01$),合剂高剂量组与西药组无显著性差异($p > 0.05$),较合剂小剂量组效果更加明显($p < 0.01$),说明药效与药物剂量成正相关关系。

3.3.3 嗜酸性细胞(EC)和肥大细胞(MC)脱颗粒比较 取血涂片、染色、镜检、记数,各给药组 EC 数明显低于模型组($P < 0.01$),MC 脱颗粒也低于模型组($P < 0.01$),给药各组之间无显著性差异。见表 5。

3.3.4 形态学变化 对照组豚鼠气道上皮细胞结构正常,粘膜内无嗜酸细胞浸润,哮喘组上皮细胞溶解,连接间隙增宽,纤毛脱落,并有嗜酸细胞浸润及颗粒脱落。中药组细胞连接正常,纤毛脱落及嗜酸细胞浸润明显减少。

表 4 肺泡灌洗液细胞学变化情况($n = 10$)

组别	剂量 (g/kg/d)	细胞总数 ($\times 10^9/L$)	分类记数(%)			
			嗜酸性细胞	淋巴细胞	中性细胞	巨噬细胞
对照组	等容量	1.15 ± 0.13	6.70 ± 1.06	10.00 ± 1.33	7.90 ± 1.10	75.4 ± 2.07
模型组	等容量	2.65 ± 0.20*	9.70 ± 0.95*	9.30 ± 0.82	7.30 ± 0.95	70.3 ± 1.49*
合剂大	25	1.65 ± 0.12* [*]	9.20 ± 1.14*	9.40 ± 0.84	7.50 ± 0.85	73.8 ± 1.99*
合剂小	12.5	1.95 ± 0.16* ^{*△}	9.90 ± 0.99*	9.30 ± 0.82	7.30 ± 0.95	73.3 ± 1.42*
强的松	15mg	1.75 ± 0.12* [*]	9.00 ± 0.82*	9.20 ± 1.03	7.60 ± 0.97	74.1 ± 1.73*

注:与模型组比较: * $P < 0.01$

表 5 各组豚鼠血 EC 记数和 MC 脱颗粒比较($\bar{x} \pm s$; $n=10$)

级副	剂量	EC(10 ⁶ /L)	MC(%)
对照组	等容量	1.82 ± 0.25	11.38 ± 2.05
模型组	等容量	6.42 ± 1.14 ^{**}	32.41 ± 5.51 ^{**}
合剂大	25g/kg/d	4.34 ± 0.96 ^{**} *	18.26 ± 2.48 ^{**} **
合剂小	12.5g/kg/d	4.54 ± 0.98 ^{**} *	22.87 ± 3.94 ^{**} **
强的松	15mg/kg/d	3.98 ± 0.94 ^{**} **	19.72 ± 3.52 ^{**} **

3.3.5 对免疫器官及肾上腺重量的影响 结果见表 6。对照组、模型组、中药大、小剂量组比较,胸腺、脾、肾上腺重量无显著性差异,强的松组与对照组比较有显著性差异($p < 0.01$),明显降低了胸腺、脾、肾上腺重量。

表 6 各组胸腺、脾、肾上腺重量(mg)的比较($n=10$)

组别	剂量(g/kg/d)	胸腺	脾	肾上腺
对照组	等容量	331 ± 38	796 ± 196	42 ± 16
模型组	等容量	316 ± 31	784 ± 189	42 ± 18
合剂大	25	375 ± 97	824 ± 198	41 ± 15
合剂小	12.5	370 ± 81	791 ± 179	40 ± 16
强的松	15mg	102 ± 19 [*]	568 ± 132 [*]	28 ± 9 [*]

4 讨论

目前普遍认为,哮喘存在气道慢反应性炎症和气道高反应性,类固醇制剂是有效的抗气道变应性炎症药物,可在多个环节阻断气道炎症的发生发展,但不能逆转气道重建及改善周身症状,长期应用有全身性副作用,因此开发中药抗气道变应性炎症,降低气道高反应性,防止气道重建,具有重要意义。

中医学认为,小儿哮喘的发病主因是素体肺、

脾、肾功能失调所致痰饮伏留,日久气道壅塞、血脉瘀痹(气道慢性炎症),复因外感六淫之邪(病毒感染)而诱发。目前国内外以清热平喘法治疗小儿哮喘者居多。通过十余年的临床观察,我们发现小儿哮喘,特别是屡发不愈者多属阳虚,复因气候变化、着凉而诱发,开始表现为寒性哮喘,因此我们研制了以温肺平喘,化痰散瘀为法的小儿寒喘合剂,即能使邪气外达,又有开其痰瘀之路,阻断病情进展而在短时间内收效,临床已经取得较好效果。方中由麻黄、桂枝、细辛、桃仁、川芎、苏子、莱菔子、黄芩、蝉衣、地龙、远志等组成。方中麻黄、桂枝为君,温肺散寒、宣肺平喘;细辛助温经散寒、蠲饮之功,桃仁、川芎,活血化痰祛瘀,共为臣;配合蝉衣、地龙祛风解痉,苏子、莱菔子降气化痰,远志祛痰开窍,黄芩清肺化痰,佐温热药辛温太过。诸药合用,共奏温肺平喘,化痰散瘀之功。

本文结果表明小儿寒喘合剂有很好的止咳、化痰、平喘作用;降低哮喘豚鼠肺泡灌洗液中白细胞总数;减少血液中嗜酸性细胞数量,抑制肥大细胞脱颗粒;改善气道粘膜变应性炎症状态,从而阐明小儿寒喘合剂抗气道炎症,降低气道高反应的作用机制。

参考文献:

- [1] 陈奇,中华药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993.634-648.
- [2] 吕宝璋.豚鼠肺中 β 受体的测定及其在实验性哮喘时的变化[J].中华医学杂志,1985,65(9):385-388.