

痛风液对微晶型尿酸钠诱导的家兔急性痛风性关节炎具有明显的保护作用。

4 讨论

痛风性关节炎发作的主要原因是尿酸钠沉积于关节组织中,诱使炎症细胞聚集到关节周围发生吞噬反应,在吞噬反应过程中吞噬细胞破裂释放出多种致炎致痛因子,引起局部组织血管扩张、充血、毛细血管通透性增加,炎性物质大量渗出,使关节周围组织发生广泛的炎症反应,局部关节表现为明显的红肿热痛。因此抑制炎症细胞聚集,控制炎性物质渗出,降低毛细血管通透性是治疗急性痛风性关节炎的重要措施。

痛风液是由丽江山茨菇、七叶莲茎叶、黄柏等 8 味中药组成的复方制剂,具有消肿止痛之功效,主治痛风性关节炎,临床用于治疗痛风性关节炎。为了验证该制剂的临床疗效,本研究采用与人类痛风性关节炎发病机制相似的大鼠、小鼠痛风性关节炎模型、

家兔急性痛风性关节炎模型对其进行主要的药效学研究。结果证明痛风液对微晶型尿酸钠诱导的小鼠足肿胀和大鼠、家兔痛风性关节炎具有显著的抑制作用,表现为明显减轻致炎部位的肿胀程度,显著降低急性痛风性关节炎家兔关节腔中的白细胞数量和改善关节软组织的病理损伤程度;但痛风液对痛风性关节炎大鼠关节软组织中的 $IL-1\beta$ 、 $TNF-\alpha$ 和尿酸水平无明显影响。结果提示,痛风液可能是通过抑制白细胞聚集、减少炎性物质渗出、降低毛细血管通透性,而对急性痛风性关节炎产生抑制作用。

致谢:本研究是在梅学仁教授悉心指导下完成的。

参考文献:

- [1] 王四旺,施新猷. 中药药效学研究及评价 [M]. 陕西:陕西科学技术出版社, 2005
- [2] 唐春萍,江涛,田伟,等. 痛风舒胶囊对痛风模型动物抗炎作用及机制的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(8): 1225-1228

藿香正气软胶囊提取物对腹泻型肠易激综合征大鼠胃肠激素的调节作用

吕妍,徐芳,李丹,唐方*
(天津医科大学总医院 中医科,天津 300052)

摘要:目的 从胃肠激素水平探讨藿香正气软胶囊提取物对腹泻型肠易激综合征 (D-IBS) 模型大鼠肠动力紊乱的调节作用。方法 以 ig 番泻叶水煎剂和四肢束缚应激 2 h,连续 6 d,建立 D-IBS 大鼠模型。同时用药各组分别 ig 804、536、268 mg/kg 藿香正气软胶囊提取物。采用硝酸还原酶法、ELISA 法、免疫组化法及放免法测定 D-IBS 模型大鼠血清 NO、5-羟色胺 (5-HT)、结肠黏膜嗜铬细胞 (EC)、血浆胃动素、结肠组织生长抑素 (SS) 的水平。结果 藿香正气软胶囊提取物能够提高 D-IBS 模型大鼠血清 NO 水平 ($P < 0.01$),有效降低 5-HT 浓度 ($P < 0.05$),使 EC 数量减少 ($P < 0.01$),下调血浆胃动素、结肠组织 SS 水平 ($P < 0.01$),以中剂量组效果最为显著。结论 藿香正气软胶囊提取物对 D-IBS 模型大鼠胃肠激素具有调节作用。

关键词:藿香正气软胶囊提取物; 腹泻型肠易激综合征; 胃肠激素

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)09-1507-04

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS)^[1] 是临床最常见的一种胃肠道功能紊乱性疾病,近年已被公认为系一类具有特殊病理心理基础的身心疾病,是一组包括腹痛、腹胀、以大便习惯改变为主要特征,并伴大便性状异常,持续存在或间歇发作,而又缺乏形态学和生物化学异常改变可解释的临床症状,大致可分为腹泻型、便秘型、腹泻便秘交替型和腹痛型。有关 IBS 的发病机制,涉及胃肠

动力异常、内脏感觉异常、肠道感染、应激事件、行为因素等多方面。目前认为,胃肠动力异常是症状发生的主要病理基础。藿香正气软胶囊提取物源自宋代《太平惠民和剂局方》的藿香正气散,目前广泛用于现代医学的胃肠型感冒、慢性肠炎等^[2-3]。本课题组通过观察藿香正气软胶囊提取物对腹泻型肠易激综合征 (D-IBS) 模型大鼠胃肠激素的影响,旨在阐释中医经典方药对 D-IBS 模型大鼠肠动力紊乱

* 收稿日期: 2010-01-21

基金项目: 天津市科委科技创新专项基金资助项目 (07FDZDS H01001)

作者简介: 吕妍 (1969-), 女, 天津人, 副主任医师, 硕士, 研究方向为消化系统疾病及肾脏疾患。E-mail: doctorydongxiu@163.com

的调节作用。

1 材料

1.1 动物: SPF 级 Wistar 大鼠, 体质量 (160±10) g, 雌性, 购于中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心, 许可证号 SCXK-(军) 2002-001。实验大鼠适应饲养 3 d 后用于实验。

1.2 药物: 藿香正气软胶囊提取物由中新药业天津达仁堂制药厂提供, 质量浓度 53.6 mg/mL; 番泻叶水煎剂, 由天津医科大学总医院中药房提供, 质量浓度 0.2 g/mL; 10% 水合氯醛, 由天津医科大学总医院制剂室提供。

1.3 主要试剂和仪器: NO 试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所; 5-羟色胺 (5-HT) ELISA 试剂盒, 美国 ADI 公司; 胃动素、生长抑素 (SS) 放免试剂盒、7.5% EDTA 二钠、抑肽酶, 北京普尔伟业生物科技有限公司。Thermo, Multiskan MK3 酶标仪, 芬兰; Leica DM3000 智能型生物显微镜, 德国; 放射免疫 γ 计数器, 中国科大中佳公司; TL-18M 台式高速冷冻离心机, 上海; HZS-H 水浴振荡器, 上海; 电子天平, 日本。

2 方法

2.1 分组: 实验动物随机分为 5 组, 每组 8 只, 分别为对照组, 模型组, 藿香正气软胶囊提取物高、中、低剂量 (804、536、268 mg/kg, 分别相当于成人临床剂量的 30、20、10 倍) 组。

2.2 模型建立: 对照组自由饮用蒸馏水, 自由摄食, 未做任何处理。参照文献方法^[4,5] 略做改变, 将模型组、给药组大鼠 ig 25 °C 番泻叶水煎剂 2 mL, 5 min 后, 使用统一拉力强度橡皮筋 (300 g, 相当环绕 5 圈), 将大鼠四肢末端固定于 18 cm × 25 cm 的木板上, 大鼠仰面向上, 使其活动受限, 木板垂直放置, 2 h 后解除束缚。给药组 ig 不同剂量藿香正气软胶囊提取物, 对照组和模型组 ig 同等剂量的蒸馏水, 为消除生物节律影响, 于每日同一时间应激 1 次, 连续 6 d。

2.3 NO 及 5-HT 水平测定: 实验结束后大鼠腹主动脉取血, 制备血清, 采用硝酸还原酶法及双抗体夹心 ABC-ELISA 法, 具体操作严格按照说明书进行。

2.4 肠嗜铬细胞 (EC) 染色与结果判断: 实验结束后, 将大鼠距回盲部 2 cm 处结肠组织切片, 采用 M-Ag 法进行特染: 浓氨水逐滴加入 10% 硝酸液直至呈微乳白色, 加蒸馏水并滤过, 用前静置滤过, 切片放入二甲苯中, 蒸馏水洗后入银液, 暗处静置过夜, 蒸馏水充分洗 2 次, 再入 5% 硫代硫酸钠中 5

min, 自来水洗 5 min 后, 入 1% 中性红对比染色 2 min, 最后进行脱水、透明、封固。结果判定: 棕色素为结肠亲银细胞, 为 5-HT 阳性分泌颗粒着色。在光学显微镜下 ($\times 400$), 每例检体随机连续计数 10 个视野内嗜铬细胞数, 求取平均值作为每例检体嗜铬细胞个数 (每个视野)。

2.5 胃动素及 SS 水平测定: 实验结束后腹主动脉取血, 制备血浆, 待测胃动素水平。取距回盲部 2 cm 处结肠组织 100 mg, 纵行剖开, 4 °C 生理盐水制成 10% 组织匀浆, 取上清, 测定 SS 水平。所有样本均在同一批中完成测定, 具体操作严格按照说明书进行。

2.6 统计学处理: 采用 SPSS 13.0 统计软件, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析, 相关分析采用 Pearson 相关系数。

3 结果

3.1 大体观察结果: 模型制备过程中, 对照组排颗粒状粪便, 模型组和用药组均出现间断性腹泻。应激过程中, 实验大鼠极度烦躁, 尖叫躁动, 甚至应激结束后, 仍互相对峙、扭打撕咬。至实验结束, 对照组大鼠体形丰满、活泼好动、食欲旺盛、精神饱满、被毛光泽; 模型组表现为腹泻、消瘦、纳呆、精神不振、倦怠不动、被毛枯槁; 用药组表现为腹泻、消瘦、纳差、精神欠佳、被毛晦暗乏泽, 总体情况较模型组改善。

3.2 各组大鼠血清 NO、5-HT 水平比较见表 1。模型组大鼠血清中 NO 明显降低, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.01$); 经藿香正气软胶囊提取物高、中剂量干预后, 血清 NO 明显提高 ($P < 0.01$), 与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$), 低剂量组与模型组间未见统计学差异。模型组血清 5-HT 浓度较对照组显著升高 ($P < 0.05$); 藿香正气软胶囊提取物

表 1 藿香正气软胶囊提取物对 D-IBS 大鼠血清 NO 和 5-HT 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Huoxiang Zhengqi Soft Capsula extract on NO and 5-HT in serum of D-IBS rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	NO/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	5-HT/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
对照	-	59.45 ± 9.86 ^{△△}	102.87 ± 52.75
模型	-	25.50 ± 9.73 ^{**}	195.97 ± 54.79 [*]
藿香正气软胶囊 提取物	804	54.54 ± 11.81 ^{△△}	148.43 ± 58.63
	536	48.71 ± 14.41 ^{△△}	106.62 ± 53.39 [△]
	268	43.04 ± 17.55	142.06 ± 44.78

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

$\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

剂量可有效降低血清 5-HT 浓度,与模型组间差异显著 ($P < 0.05$),高、低剂量组与模型组相比无统计学差异。

3.3 结肠黏膜 EC 分布及数量变化:EC 形态多样,颜色基本为棕黄色,对照组 EC 细胞数量较少,体积较小,模型组 EC 细胞数量明显增多,细胞形态饱满,体积较大。藿香正气软胶囊提取物中剂量组 EC 细胞数量减少,体积没有明显改变,细胞体伸向腺腔,且多数细胞内充满 5-HT 阳性的分泌颗粒。EC 细胞分布在肠腺腔内,与杯状细胞相邻,以肠腺隐窝部位为多。与对照组相比,模型组结肠黏膜 EC 数量明显增多 ($P < 0.01$),藿香正气软胶囊提取物中剂量组结肠黏膜 EC 数量减少,与模型组间具有统计学差异 ($P < 0.01$)。见表 2。

3.4 胃动素、SS 水平比较:模型组血浆胃动素、结肠组织匀浆 SS 水平与对照组相比显著上升 ($P < 0.01$)。藿香正气软胶囊提取物中剂量组胃动素、SS 水平明显下降,与模型组相比差异显著 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 藿香正气软胶囊提取物对 D-IBS 大鼠 EC、胃动素、SS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 2 Effect of Huoxiang Zhengqi Soft Capsula extract on EC, motilin, and SS of D-IBS rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	EC/个	胃动素/(pg·mL ⁻¹)	SS/(pg·mL ⁻¹)
对照	-	2.38±1.06	63.41±10.16	80.04±13.04
模型	-	7.38±2.67**	106.60±10.14**	119.20±11.16**
藿香正气软胶囊提取物	536	3.75±1.04 ^{△△}	77.81±9.84 ^{△△}	90.90±10.39 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

4 讨论

NO 是近年来发现的重要生物活性物质,其 NO 能神经是非肾上腺素非胆碱能神经(NANC 能神经)中的重要成分之一,它是介导平滑肌松弛的重要抑制性神经递质,在胃肠道蠕动反射中产生下行性抑制作用^[6],是消化道动力调节的重要生物活性物质。

胃肠激素是指分布在胃肠道管壁上和胰腺内的嗜铬细胞分泌的一组小分子或肽类高效能生物活性物质,其种类繁多,正常人体内各种兴奋性及抑制性胃肠激素处于一种平衡状态,其与神经系统一起调节消化器官的运动、分泌和吸收,对其他器官也有广泛的影响,包括对人的精神及行为的调节。5-HT 被认为是参与 IBS 发病的胃肠激素之一,是目前研究的热点。5-HT 在体内的合成和储存主要在结肠黏膜的肠 EC,当结肠内压力升高时,EC 细胞释放

5-HT,与定位于固有层神经元上的 5-HT 受体结合,传递信号给肠道肌间神经丛,调节蠕动反射^[7]。胃动素为消化间期激素,外源性或内源性胃动素均可引起下食管括约肌紧张性收缩,引起胆囊及 Oddi 括约肌收缩及十二指肠运动,加强回肠及结肠运动,使结肠的压力和电活动增强^[8]。SS 作为胃肠激素,由胃肠分泌细胞(D 细胞)产生和分泌,广泛分布于胃肠道的肠肌神经丛和中间神经元的细胞体和神经纤维中,并大量分布于中枢神经系统。目前,IBS 和 SS 关系的研究结果不尽一致。文献报道,IBS 患者血浆和结肠黏膜中 SS 水平均显著高于对照组,提示 IBS 患者可能存在内分泌细胞分泌 SS 的异常增多^[9]。D-IBS 患者肠黏膜中 SS 的升高,可能与继发于胃肠运动的增强或副交感神经的兴奋相关。

伴随胃肠动力障碍疾病研究的深入展开,胃肠神经内分泌免疫网络学说与胃肠动力的关联与机制研究是近年来关注焦点^[10-11]。为深入阐释藿香正气制剂作用机制,在前期实验^[12]基础上本研究以血清 NO、5-HT、血浆胃动素、结肠组织匀浆 SS 作为指标检查 D-IBS 模型结肠动力状态。结果显示: D-IBS 模型大鼠血清 NO 水平明显降低,5-HT 增加,血浆中胃动素、结肠组织中 SS 量显著增加。提示,5-HT 增加能加快结肠推进速度,增加排便次数,NO 减少是肠道平滑肌舒张减弱,运动节律紊乱或增强的始动因子,肠蠕动的增强与胃肠激素变化密切相关。由于肠道蠕动增快,食物、水、电解质等物质在肠腔内停留时间缩短,重吸收受阻,而发生腹泻的机制与中医学脾胃运化失调,小肠泌别失常,清浊混下理论颇为相近。藿香正气软胶囊提取物可有效调整 D-IBS 模型大鼠血清 NO、5-HT、血浆胃动素、结肠组织 SS 及肠运动异常,起到对肠道功能紊乱正向调节作用。

参考文献:

- [1] 陈灏珠. 实用内科学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2005
- [2] 蒋安源. 藿香正气散的临床应用 [J]. 实用中医内科杂志, 1993, 7(3): 36
- [3] 诸葛丽敏. 藿香正气散治疗夏季急性肠炎临床观察 [J]. 浙江医学院学报, 1994, 18(3): 53
- [4] Williams C L, Villar R G, Peterson J M, et al. Stress induced changes in intestinal transit in the rats: A model for irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 1988, 94(3): 611-621
- [5] 李丹, 吕妍, 唐方. 藿香正气软胶囊提取物对腹泻型肠易激综合征大鼠免疫功能的调节作用 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 440-442
- [6] Powell A K, Bywater R A. Endogenous nitric oxide release modulates the direction and frequency of colonic migrating motor complexes in the isolated mouse colon [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2001, 13: 221-228

[7] 李兆申, 詹丽杏, 邹多武, 等. 肠易激综合征患者分泌 5-羟色胺的肠嗜铬细胞形态及功能的改变 [J]. 中华消化杂志, 2004, 24(2): 94-97.

[8] 梁荣新, 郑琴芳, 梁列新, 等. 肠易激综合征与胃肠激素的关系 [J]. 中国综合临床, 2004, 20(8): 702-703.

[9] 张茹, 王福贤. 肠易激综合征血浆及乙状结肠粘膜中 VIP 及 SS 的含量 [J]. 临床消化病杂志, 2003, 15(5): 210-211.

[10] 杨贵波, 高英杰. 胃肠粘膜神经内分泌免疫网络研究进展 [J]. 上海免疫学杂志, 1996, 16(6): 253-256.

[11] Schmidt H G, Schmid A, Domschke W, et al. Ultrastructural aspects of the neuro endocrine complex in the stomach in patients with either pernicious anemia or the Zollinger-Ellison syndrome [J]. *Gastroenterology*, 1996, 34(7): 428-433.

[12] 吕妍. 藿香正气软胶囊提取物调节腹泻型肠易激综合征模型大鼠水液代谢的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1332-1335.

复方丹参滴丸对高糖高胰岛素诱导培养的兔骨骼肌细胞糖代谢的影响

陈 频, 王艳桥, 徐向进*, 史道华
(南京军区福州总医院, 福建 福州 350025)

摘要:目的 探讨复方丹参滴丸对高糖高胰岛素诱导培养的兔骨骼肌细胞糖代谢的作用及其机制。方法 组织贴块法培养兔骨骼肌细胞, 予正常培养及高糖高胰岛素诱导培养, 分别设对照组、吡格列酮 (0.1 mmol/L) 组、丹参素 (1.0 g/L) 组, 三七皂苷 R₁ (1.0 g/L) 组及复方丹参滴丸浸膏低、中、高剂量 (0.1、0.5、1.0 g/L) 组。采用己糖激酶法测定细胞上清液中葡萄糖水平和 RT-PCR 法测定肌细胞中葡萄糖转运蛋白-4 (Glut-4) mRNA 表达。结果 高糖高胰岛素培养可诱导骨骼肌细胞产生胰岛素抵抗 (IR), 表现为培养基上清液中葡萄糖水平增加 ($P < 0.01$), 骨骼肌细胞 Glut-4 mRNA 表达下降 ($P < 0.01$)。与模拟 IR 状态下对照组比较, 吡格列酮、丹参素及中、高剂量复方丹参滴丸组细胞培养上清液中葡萄糖水平下降 ($P < 0.05, 0.01$), 骨骼肌细胞 Glut-4 mRNA 表达均有增加, 且中、高剂量复方丹参滴丸与吡格列酮 3 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 丹参素的作用弱于吡格列酮 ($P < 0.05$), 低剂量复方丹参滴丸与三七皂苷 R₁ 组影响不显著 ($P > 0.05$)。结论 复方丹参滴丸可以增强高糖高胰岛素诱导的骨骼肌细胞 Glut-4 mRNA 表达, 促进糖利用, 改善 IR。

关键词: 复方丹参滴丸; 骨骼肌细胞; 葡萄糖转运蛋白-4 (Glut-4); 胰岛素抵抗 (IR); 糖代谢
中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)09-1510-04

胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 与胰岛素受体后信号传导缺陷密切相关, 其中葡萄糖转运蛋白-4 (Glut-4) 介导的糖转运是此途径的主要限速步骤^[1]。近年来发现中药在 IR 防治中具有重要开发价值。复方丹参滴丸作为经典活血化瘀复方制剂, 由丹参、三七、冰片组成^[2], 具有清除自由基、抗氧化、改善血管内皮功能、抑制血管平滑肌细胞增殖等改善 IR 的潜在作用^[3-4]。但复方丹参滴丸对 IR 时糖代谢的作用少见报道。本研究通过离体细胞实验观察复方丹参滴丸对高糖高胰岛素诱导培养的兔骨骼肌细胞培养基细胞上清液中葡萄糖水平及肌细胞 Glut-4 mRNA 表达的影响, 探讨复方丹参滴丸改善 IR 的机制。

1 材料

1.1 药品与试剂: 复方丹参滴丸浸膏及吡格列酮原料药分别由天津天士力制药集团有限公司和杭州中美华东制药有限公司惠赠; 丹参素 (批号 110855-

200506) 及三七皂苷 R₁ (批号 110745-200415) 购于中国药品生物制品检定所。葡萄糖检测试剂盒, 宁波美康生物科技有限公司产品; 胰岛素为上海第一生化药业有限公司产品 (批号 060504)。

1.2 药品配制: 精密称取复方丹参滴丸浸膏 200 mg, 溶于 10 mL 亚沸水; 精密称取吡格列酮原料药 19.6 mg, 溶于 400 μL 0.5% 乙醇; 精密称取丹参素 20 mg, 溶于 1 mL 亚沸水; 精密称取三七皂苷 R₁ 20 mg, 溶于 1 mL 亚沸水; 各药品溶液均滤过除菌, 4℃ 保存。

1.3 培养基制备: 取一份 RPMI 1640 粉末及 2 g NaHCO₃, 溶于 1 000 mL 亚沸水中, 调 pH 至 7.0, 滤过除菌。另取一份 RPMI 1640 粉末、2 g NaHCO₃ 及 3 g 葡萄糖 (终浓度为 25 mmol/L), 溶于 1 000 mL 亚沸水中, 调 pH 至 7.0, 滤过除菌, 即得高糖 RPMI 1640 培养基。RPMI 1640 培养基中加入 20% 小牛血清, 双抗, 即得 20% 血清培养基。

* 收稿日期: 2010-01-18
基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2008J0104)
作者简介: 陈 频 (1969-), 女, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向为糖尿病及其慢性血管并发症机制及防治研究。
* 通讯作者 徐向进 E-mail: chenpin@21cn.com