

呼吸波振幅变化率评价麻杏石甘汤平喘作用初步研究

李文宏¹,徐国良^{2*},余日跃¹,王跃生²,刘波¹,黄丽萍¹,屈飞¹,江硕丹¹

(1. 江西中医学院,南昌 330006; 2. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330006)

[摘要] 目的:建立生物信号采集系统分析、评价哮喘过程的新方法,以此观察麻杏石甘汤(MXSGT)的平喘作用。方法:采用生物信号采集系统记录豚鼠磷酸组胺引喘前后呼吸波的变化,并常规肉眼观察、记录其哮喘潜伏期、哮喘持续时间,根据肉眼观察结果,找出引喘后首次和末次抽搐波与正常呼吸波振幅变化率的特征差异,初步确定哮喘潜伏期和持续时间的判别标准;动物灌服 MXSGT 5 d 后,同法记录引喘 30 min 呼吸波,依据上述判别标准,分析 MXSGT 对动物哮喘潜伏期和持续时间的影响。结果:与正常呼吸波相比,首次和末次抽搐波平均振幅变化率分别为 2465% 和 159%;MXSGT 有较好的平喘作用,能延长哮喘潜伏期,缩短哮喘持续时间。结论:采用生物信号采集系统以呼吸波振幅变化率评价能较客观、规范地分析与评价哮喘指标,适用于观察药物的平喘作用。

[关键词] 麻杏石甘汤;平喘作用;生物信号采集系统
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0209-04
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121012.0908.002.html>
[网络出版时间] 2012-10-12 9:08

Anti-asthmatic Effects of Maxing Shigan Decoction Based on Biological Signal Acquisition and Processing System

LI Wen-hong¹, XU Guo-liang^{2*}, YU Ri-yue¹, WANG Yue-sheng², LIU Bo¹,
HUANG Li-ping¹, QU Fei¹, JIANG Shuo-dan¹

(1. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330003, China;
2. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education,
Jiangxi College of TCM, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective:** A new method was established to analyze and evaluate the progress of asthma based on the biological signal acquisition and processing system, which was used to observe the anti-asthmatic effects of Maxing Shigan decoction. **Method:** The biological signal acquisition and processing system was used to record the difference of breath wave before and after asthma induced by histamine phosphate, asthmatic latency and duration was recorded by the routine method at the same time, amplitude variations between the first or the last convulsive wave and the normal breath wave were determined according to the result observed by naked eye, then the diagnostic standard of asthmatic latency and duration were established preliminarily. Breath wave of Guinea pigs was recorded 30 minute at the same way after Maxing Shigan decoction was given for 5 days, influences of Maxing Shigan decoction in the asthmatic latency and duration were analyzed based on the above standard. **Result:** The average amplitude variation between the first or the last convulsive wave and the normal breath wave was 2 465% or 159% , Maxing Shigan decoction could delay the asthmatic latency and reduce the asthmatic duration, that showed that it had obvious anti-asthmatic effects. **Conclusion:** The anti-asthmatic effects of drugs can be observed objectively and standardly by the biological signal acquisition and processing system.

[收稿日期] 20120317(001)
[基金项目] 国家重点基础研究发展计划 973 项目(2010CB530603)
[第一作者] 李文宏,博士,副教授,主要从事中药药理学研究,Tel:0791-87118919,E-mail:liwhong0311@163.com
[通讯作者] * 徐国良,博士,教授,主要从事中药复方研究,Tel:0791-87118919,E-mail: xuguoliang6606@126.com

[**Key words**] Maxing Shigan decoction; anti-asthmatic effects; biological signal acquisition and processing system

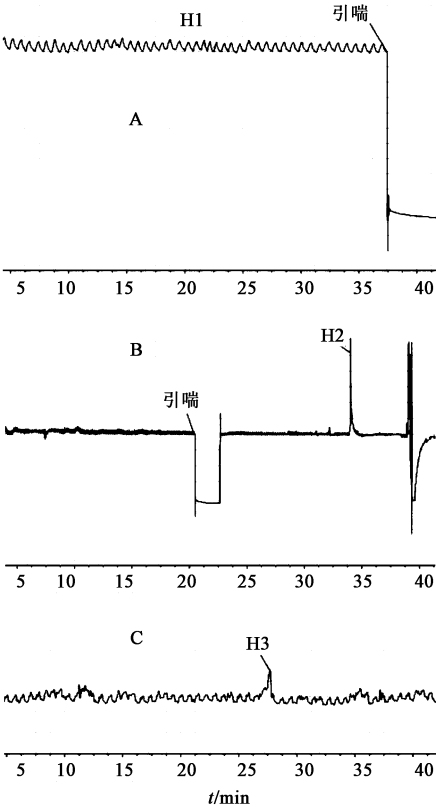
支气管哮喘(简称哮喘)是一种由多因素引起的免疫变态反应性疾病,其发病率、死亡率呈逐年上升的趋势。据世界卫生组织统计,全球约有哮喘患者 1.6 亿,每年约 10 万人死于哮喘,其中有近 50% 为难以控制的哮喘,与其复杂、多因素的发病机制有关^[1]。因此,加速防治哮喘新药的研发有重大的现实意义。现有实验方法以小鼠出现呼吸急促深快、烦躁呛咳及点头运动等症状^[2]或豚鼠/大鼠出现烦躁不安、打喷嚏、大小便失禁、抓耳朵、紫绀等症状^[3]为哮喘模型成功的标准,并将“哮喘”反应按程度分为四级:Ⅰ级呼吸加速,Ⅱ级呼吸困难,Ⅲ级抽搐,Ⅳ级跌倒,记录喷雾开始至症状出现的时间(以抽搐、跌倒为准)作为哮喘潜伏时间。该方法存在明显的缺陷:①方法主观性大:结果由实验者凭肉眼观察所得,且难以准确观察哮喘持续时间等其他指标;②结果误差大:哮喘四级反应中,Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ级之间无明显界限,故对出现反应的时间难以准确判断。因此,寻找更客观、规范的哮喘实验研究方法是研制防治哮喘新药的必然要求。生物信号采集分析系统可采集、分析动物的多种生理信号,是常用的实验仪器^[4]。本实验拟采用生物信号采集分析系统记录、分析豚鼠引喘后呼吸波的变化,结合肉眼观察的结果,找出引喘呼吸波与正常呼吸波的特征差异(振幅变化率),以此作为判别指标分析引喘呼吸波的哮喘潜伏期和哮喘持续时间,并采用该方法观察麻杏石甘汤(MXSGT)的平喘作用。通过上述研究,以期为现有哮喘实验研究方法的改进提供初步的实验依据。

- 1 材料
- 1.1 药物及试剂 麻杏石甘汤(麻黄:杏仁:石膏:甘草 3:3:12:3),药材饮片由中药固体制剂制造技术国家工程研究中心提供,自提,水煎后滤液浓缩至 1 g 饮片/mL,分装冻存;氯化乙酰胆碱(上海晶纯试剂有限公司,批号 21205);磷酸组胺(上海晶纯试剂有限公司,批号 22270),生理盐水(NS)。
- 1.2 仪器 MD3000 生物信号采集分析系统(淮北正华生物仪器设备有限公司),ZH-100 呼吸换能器(淮北正华生物仪器设备有限公司);402A1 超声雾化器(江苏巨跃医疗设备股份有限公司),3.5 L 玻璃钟罩等。
- 1.3 动物 雄性健康豚鼠 60 只,体重 250 ~ 300 g,
- 湖南省长沙市开福区东创实验动物科技服务部提供,合格证号 SCXK(湘)2006-0001。
- 2 方法
- 2.1 动物分组 豚鼠 60 只按文献方法^[3]筛选后,随机分为模型组 10 只,地塞米松组、MXSGT 高、中、低剂量组,每组 8 只。
- 2.2 引喘呼吸波哮喘指标判别标准的初步确定^[5] 经筛选的豚鼠 10 只,胸廓绑定呼吸换能器(调节张力约 1 ~ 2 g,使呼吸波振幅在 1 ~ 2 mV),将换能器连于生物信号采集分析系统,动物置于连有超声雾化器的密闭玻璃钟罩内,开启采集系统记录一段正常呼吸波后,以 2% 氯化乙酰胆碱 + 0.4% 磷酸组胺等体积混合液喷雾 15 s,流速 15 L·min⁻¹,连续记录 30 min 内豚鼠的引喘呼吸波。同时,肉眼观察、记录喷雾开始至症状出现的时间(以首次抽搐为准)作为哮喘潜伏期,喷雾开始至呼吸恢复正常的时间(以末次抽搐为准)作为哮喘持续时间。实验结束后,以肉眼观察结果为导向、引喘呼吸波振幅变化率为考察对象,经数据分析、比较引喘呼吸波与正常呼吸波(自身前后比较)的特征差异,分别找出引喘呼吸波中哮喘潜伏期和哮喘持续时间的判别标准。
- 振幅变化率 = $\frac{\text{抽搐波振幅}(H_{2.3}) - \text{正常呼吸波振幅}(H_1)}{\text{正常呼吸波振幅}(H_1)} \times 100\%$
- H_1 :一段正常呼吸波的平均振幅(若豚鼠因抽搐而挣脱时,以重新绑定后的正常呼吸波计算);
 H_2 :肉眼观察到的首次抽搐对应引喘呼吸波上抽搐波的振幅; H_3 :肉眼观察到的末次抽搐对应引喘呼吸波上抽搐波的振幅。
- 2.3 麻杏石甘汤的平喘作用^[6-7] 各组豚鼠分别灌服等容量(2 mL/只)如下药液:模型组 NS;MXSGT 18.7,28,42 g·kg⁻¹;地塞米松 1 mg·kg⁻¹。每天 1 次,连续 5 d,末次给药 1 h 后,将豚鼠胸廓绑定呼吸换能器,置连于超声雾化器的密闭玻璃钟罩内,开启采集系统记录一段正常呼吸波后,以 2% 氯化乙酰胆碱 + 0.4% 磷酸组胺等体积混合液喷雾 15 s,流速 15 L·min⁻¹,连续记录 30 min 内豚鼠的引喘呼吸波,观察 MXSGT 对哮喘豚鼠哮喘潜伏期及哮喘持续时间(超过观察期的以 30 min 计)的影响。
- 2.4 数据统计 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用 SPSS 11.5 统计软件进行统计学处理,组间比较用 t 检验。 $P <$

0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 引喘呼吸波哮喘指标的判别标准 引喘后豚鼠均出现抽搐、甚至跌倒症状,在引喘呼吸波上表现为平稳的呼吸波上突然出现大而尖锐的波形(抽搐波),其振幅显著高于正常呼吸波(图 1B),模型组 H₂ 的平均振幅变化率是 2 465%,拟以喷雾开始至振幅变化率≥1 000%抽搐波首次出现的时间为哮喘潜伏期。经过一定时间的哮喘发作期后,动物呼吸逐渐恢复平静,间或出现轻微的抽搐症状,在引喘呼吸波上则表现为平稳的呼吸波上间杂有节律性的抽搐波,其振幅亦明显高于正常呼吸波(图 1C),模型组 H₃ 的平均振幅变化率是 159%,拟以喷雾开始至振幅变化率≥100%抽搐波末次出现的时间为哮喘持续时间。见表 1。



A. 正常呼吸波;B. 首次抽搐波;C. 末次抽搐波
图 1 生物信号采集系统记录豚鼠呼吸波变化

表 1 引喘呼吸波哮喘指标判别标准的确定 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

判定标准	正常波振幅 H ₁ /mV	抽搐波振幅 H ₂ /mV	平均振幅 变化率/%	拟采用 标准/%
哮喘潜伏期	1.35 ± 0.26	34.45 ± 10.33	2 465	≥1 000
哮喘持续期	0.86 ± 0.35	2.23 ± 1.09	159	≥100

3.2 麻杏石甘汤的平喘作用 依据 3.1 确定的判别标准分析 MXSGT 的平喘作用,磷酸组胺引起的速发相哮喘豚鼠模型组均出现抽搐、甚至跌倒等哮喘症状,且持续较长时间,部分动物在 30 min 观察期内呼吸仍未恢复正常。地塞米松组能显著延长哮喘潜伏期、缩短哮喘持续时间 ($P < 0.01$)。MXSGT 中、高剂量组可明显延长哮喘潜伏期 ($P < 0.05$),且各剂量组均可显著缩短哮喘持续时间 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 麻杏石甘汤对磷酸组胺致豚鼠哮喘的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	哮喘潜伏期 /s	哮喘持续 时间/min
模型	10	—	62.2 ± 20.9	26.5 ± 1.76
地塞米松	8	1 × 10 ⁻³	110.2 ± 34.3 ²⁾	13.5 ± 1.87 ²⁾
MXSGT	8	18.7	84.2 ± 38.2	13.3 ± 4.84 ²⁾
	8	28	103.6 ± 37.2 ¹⁾	13.7 ± 4.47 ²⁾
	8	42	84.4 ± 31.9 ¹⁾	12.9 ± 4.73 ²⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

生物信号采集分析系统能实时采集、记录引喘后至恢复正常整个过程的呼吸波变化情况,方法更客观,避免了肉眼观察等主观因素对实验结果的干扰。引喘后豚鼠呼吸波会出现多种异常波形,其中典型的是较大而尖锐的抽搐波贯穿始终,实验以振幅变化率≥1 000%的抽搐波首次出现的时间为标准判定哮喘潜伏期、以振幅变化率≥100%的抽搐波末次出现的时间为标准判定哮喘持续时间,能较规范、准确地反应哮喘发生、发展及恢复的全过程。且该方法可长时间、同时观察 4 只以下豚鼠(4 通道),工作效率高。但是须注意,实验前应详细制定、并在仪器操作中严格遵守生物信号采集分析系统 SOP 之规定;实验过程中应及时记录动物出现的各种异常症状,动物挣脱换能器重新绑定时要调节适当的张力;结果分析时,应根据实验记录仔细区分有节律的抽搐波与运动波等其他干扰波的差别,尽量避免各种影响因素给实验带来的干扰。

哮喘在发作阶段可分为早期相和晚期相两类反应,前者发作快,消失也快,主要是由 IgE 介导的肥大细胞和嗜碱细胞脱颗粒释放胺类介质引发,磷酸组胺所致哮喘主要是通过激动支气管平滑肌上的 H₁ 受体、引起平滑肌痉挛导致哮喘症状,与哮喘早期相反应类似。麻杏石甘汤对支气管平滑肌呈抗组胺作用,其效果与色甘酸二钠近似,并能抑制大鼠腹腔肥大细胞脱颗粒及致敏大鼠肠管释放组胺,对组

表没食子儿茶素没食子酸酯对甲型流感病毒
致宿主细胞氧化应激损伤的影响

卫飞^{1,2}, 凌佳馨¹, 李宁¹, 李金林¹, 陈良君¹, 熊海蓉¹, 罗凡¹, 刘媛媛¹, 肖红¹, 杨占秋^{1*}

(1. 武汉大学医学病毒学研究所, 病毒学国家重点实验室, 国家中医药管理局
中药抗病毒与肿瘤实验室, 食品药品评价研究中心, 武汉 430071;
2. 湖北中医药大学, 武汉 430061)

[摘要] **目的:**研究表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)在体外对甲型流感病毒感染后氧化应激的影响,初步探讨EGCG抗流感病毒的发生机制。**方法:**以 1×10^4 个细胞密度接种96孔板,在体外用MTT法检测不同浓度EGCG对狗肾传代细胞(MDCK)的毒性浓度;病毒感染28 h后,用CPE观察法、血凝法、实时定量荧光PCR法评价EGCG对甲型流感病毒的抑制作用;并通过共聚焦显微技术和流式细胞术,探寻EGCG对甲型流感病毒感染后氧化应激的影响。**结果:**EGCG在体外能有效抑制甲型流感病毒的复制,病毒抑制率与感染后加药时间正相关($P < 0.05$);与病毒对照相比,20 mg·L⁻¹ EGCG处理后流感病毒感染的MDCK细胞中活性氧的水平下降54%,继而有效抑制流感病毒引起的细胞凋亡。**结论:**EGCG主要抑制流感病毒的早期复制,可通过调控氧化应激,抑制流感病毒所致MDCK细胞凋亡。

[关键词] 表没食子儿茶素没食子酸酯; 流感病毒; 抗病毒作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0212-05

[收稿日期] 20120104(007)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873104)
[第一作者] 卫飞,博士研究生,讲师,从事抗病毒药物研究,E-mail:linjiaxin1986@163.com
[通讯作者] * 杨占秋,教授,博士生导师,从事抗病毒药物研究,Tel:02762596052,E-mail:yangzhanqiu@163.com

胺所致气管痉挛有松弛解痉作用,可抑制支气管平滑肌收缩幅度及收缩频率,并可延长哮喘潜伏期^[8-9]。我们的实验结果与文献报道是一致的,麻杏石甘汤对磷酸组胺所致哮喘可延长哮喘潜伏期、缩短哮喘持续时间,从而减轻哮喘症状。表明生物信号采集分析系统能客观、准确地反映麻杏石甘汤的平喘作用,因此,可广泛运用于其他药物的平喘作用研究。

[参考文献]

[1] Heaney L G, Robinson D S. Severe asthma treatment; need for characterizing patients[J]. Lancet, 2005, 365 (9463): 974.

[2] 黄丰,童晓云,张荣华,等. 麻杏石甘汤调节哮喘模型小鼠 Th1/Th2 反应的机制初探[J]. 中药材,2008,31 (10):1519.

[3] 黎同明,朱章志,王桂香. 不同配比麻杏石甘汤对哮喘大鼠 Th1/Th2 类细胞因子分泌的影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2011,13(8):200.

[4] 王佑华,曹敏,周端. 生物信号采集处理系统及其在中医药研究中的应用[J]. 中华中医药学刊,2009,27 (9):1905.

[5] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘诊断标准、临床分期和严重程度分级[J]. 疑难病杂志, 2006,5(3):180.

[6] 陈奇. 中药药理实验方法[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2011:625.

[7] 王北婴. 中药新药研制并开发技术与方法[M]. 上海:上海科学技术出版社. 2001:491.

[8] 陈娜,梁仁. 麻杏石甘汤的现代药理研究及临床应用[J]. 广东药学院学报,2004,20 (5):545.

[9] 尉小慧,张兆旺,孙秀梅. 麻杏石甘汤现代研究概况[J]. 山东中医药大学学报,2003,27(1):72.

[责任编辑 聂淑琴]