DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.04.030

小叶女贞提取物－M_2自由基清除剂作用的实验研究

洪 新 杨肇享 周向东 （第三军医大学附属大坪医院呼吸内科）重庆,630042

提 要 采用豚鼠哮喘模型,通过检测血浆、肺组织及支气管肺泡灌洗液(BALF)中脂质过氧化物(LPO)含量和BALF中各种细胞计数的变化,观察中药小叶女贞提取的有效成分M_2腹腔注射两天的防治效果,结果发现M_2能显著减少血浆、肺组织及BALF中的LPO含量,并减少BALF中上皮细胞的数量。结果提示M_2具有清除自由基的作用,并可能对气道上皮损伤有保护作用。

关键词 哮喘;氧自由基;小叶女贞;地塞米松

中图法分类号 R282.71;R562.25

我院在70年代初期对中草药小叶女贞的临床和实验研究中发现它具有显著的止咳平喘作用,从小叶女贞中提取的有效成份M_2动物实验及药理、药效学实验也证明其具有确切的治疗作用。本实验采用豚鼠哮喘模型,通过检测血浆、肺经脂及支气管肺泡灌洗液(BALF)中脂质过氧化物(LPO)含量的变化,发现M_2具有清除自由基的作用,并能减少BALF中上皮细胞的数量。现将结果报告如下:

1 材料与方法

1.1 动物模型

体重250～300 g雄性豚鼠,随机分4组,每组9～10只。哮喘组:参照Hutson[1]方法面罩雾化吸入1%卵蛋白3 min,第1,4,7天各致敏一次,于第21～28天之中诱发哮喘。诱发前2天用0.9%NaCl 0.5 ml腹腔注射,每日2次,诱发前30 min再注射一次,同时另用苯海拉明10 mg·kg^{-1},诱发用2%卵蛋白吸入5 min,使动物出现典型哮喘发作;正常对照组:除致敏用0.9%的NaCl吸入外,其余均同哮喘组;M_2及地塞米松防治组:除腹腔注射分别用20%M_2 0.5 ml·kg^{-1}及地塞米松1 mg·kg^{-1}外,其余各步均同哮喘组。诱发哮喘24 h后,清醒动物四肢固定,剪开股动脉取血6～7 ml,分离血浆,－20℃保存,用于检测LPO的水平。放血毕作气管插管,支气管肺泡灌洗两次,合并两次BALF。取1 ml作细胞分类,其余BALF离心,取1 ml上清液用于检测LPO量。支气管肺泡灌洗毕立即胸取肺组织0.5 g,加生理盐水2 ml后匀浆,980×g离心3 min,上清液－20℃保存用于检测LPO的含量。

LPO含量测定用Ohkawa法[2],蛋白质含量测定用Lowry法[3]。BALF细胞分类计数采用白细胞分类计数法。

1.2 统计学处理

采用非配对计量资料t检验。

2 结果

从表1可见,哮喘动物无论血浆、肺组织还是BALF中的LPO均有显著增高,用M_2及地塞米松预先用药2 d均能显著减少LPO的产生。

从表2可见,哮喘组BALF中细胞总数、嗜酸粒细胞数、中性粒细胞数及上皮细胞数较正常组分别升高1.1、10.1、2.3、1.9倍,差别非常显著($P<0.01$),单核细胞增加25%,但无显著差别。

表1 哮喘豚鼠血浆、肺组织及BALF中LPO的含量及M_2、地塞米松的防治作用($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Contents of LPO in plasma, pulmonary tissue and BALF and the effect of M_2 and dexamethasone

Groups	n	Plusma (nmol/L)	BALF (nmol/ml)	Pulmonary tissue (nmol/mg)
Normal	8	28.74±9.86	0.465±0.056	24.54±3.78
Asthmatic	8	45.43±12.88*	0.681±0.148*	34.87±6.54*
M_2 treatment	7	17.38±8.43++	0.549±0.094+	27.80±5.92+
Dexamethasone treatment	7	21.37±6.90++	0.503±0.051+	24.80±5.76+

* $P<0.05$ *vs* normal control; + $P<0.05$, ++ $P<0.01$ *vs* asthmatic group

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表2 哮喘豚鼠 BALF 中细胞计数(10^6/L)及 M_2、地塞米松的作用($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Cellular counts in BALF of asthematic guinea pig (10^6/L) and effect of M_2 and dexamethasone

Group	n	Total cells	Eosiphinol	Neutrophil	Monocyte	Epithellium
Normal control	8	9.41±1.74	0.55±0.29	0.88±0.63	7.46±1.57	0.286±0.156
Asthmatic	8	19.84±3.02**	6.13±1.95**	2.92±1.52	9.32±2.46	0.822±0.420**
M_2 treatment	7	16.88±4.01	4.83±1.65	2.79±1.44	8.06±1.19	0.342±0.289++
Dexamethasone treatment	7	11.07±1.96++	1.80±0.67**++	2.40±2.22	6.27±0.84	0.307±0.316++

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ *vs* normal control; + $P<0.05$, ++ $P<0.01$ *vs* asthmatic group

与哮喘组比较,M_2治疗组炎细胞数量无显著变化,但上皮细胞减少55%($P<0.01$);地米治疗组细胞总数、嗜酸细胞数和上皮细胞分别减少44%、71%和63%($P<0.01$)。

3 讨论

我院自70年代起对中药小叶女贞进行了广泛的研究,并在80年代对其有效成份进一步进行分离提取鉴定,M_2是其有效成分之一。通过动物实验发现 M_2具有显著的止咳祛痰和快速的平喘作用,且无明显的毒副作用。经数百例患者的临床试用也证实其疗效确实。然而其作用机理尚未明了。有学者报告 M_2的同类物具有清除自由基的作用[4,5]。从本实验的结果来看,M_2预先用药2 d 显著地减少血浆、肺及 BALF 中的 LPO,特别是血浆中 LPO 含量,证实 M_2确有自由基清除剂样作用,其作用类似于地塞米松。此外,M_2还能显著减少 BALF 中上皮细胞的数量,还可能与其作为自由基清除剂的作用有关,通过阻断气道的脂质过氧化损伤,减轻气道上皮的损害,减少上皮细胞的脱落。但 M_2对气道炎细胞(如嗜酸性、噬中性粒细胞等)的浸润无明显作用。相反,地塞米松不仅减少 BALF 中的上皮细胞数,而且也显著地减少 BALF 中的炎细胞数量,即抑制气道中的炎细胞的浸润。M_2的自由基清除剂样作用是否与其止咳祛痰、解痉平喘的作用有关有待进一步探讨。

参考文献

1 Hutson PA, Church MK, Clay TP et al. Early and late-phase bronchoconstriction after allergen challenge of nonanesthetized guinea pigs. Am Rev Respir Dis, 1988; 137: 548

2 Ohkawa H, Crowl F, Lynn WS. Assay for lipid peroxides in animal tissues by the thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem, 1979; 95: 351

3 Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr Al et al. Protein measyerment with the Folin phenol reagent. J Bio Chem, 1951; 193: 263

4 Chaslett S, Harry G. Cellular mechanism of acute lung injury. Thorax, 1992; 47: 26

5 Burton KP. Evidence of direct toxic effects of free radical on the myocardium. Free Radic Biol Med, 1988; 4: 15

(收稿:1995-07-01;修回:1995-07-26)

The effect of extract of Ligustrum quihoui carr M_2 on free radical clearance

Hong Xin, Yang Zhaoheng, Zhou Xiangdong (Department of Respiratory Disease, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The lipid peroxide levels of plasma, pulmonary tissue and bronchoaveolar lavage fluid (BALF) and cellular counts in BALF were studied in an asthmatic model of guinea pig. And the preventive effect of intraperitoneal injection of effective extracts (M_2) and dexamethasone on the asthmatic guinea pig was evaluated for two days. The results showed that after injection of M_2, the LPO levels of plasma, pulmonary tissue and BALF were markly reduced and epithelial counts in the BALF were also reduced. It suggests that M_2 can clear up the free radicals and prevent airway epithelium from damage.

Key words Oxidation-redution; Asthma; Ligustram quihoui carr; Dexamethasone

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net