

色甘酸钠、硝苯啶对致敏大鼠心脏及腹腔 肥大细胞释放组胺的影响

王振南 曹于平 芮菁 吴燕

(本校制药厂)

组胺是一种速发型变态反应的介质,具有广泛的生理活性。内源性组胺的大量释放是哮喘、气管炎和心律失常的主要诱因之一^[1]。体外心性变态反应引起组胺释放已有研究^[2],但对主动致敏后心脏组胺的释放尚无报道,本文建立了大鼠心性变态反应的在体模型,并用高效液相色谱法研究了色甘酸钠、硝苯啶对主动致敏大鼠心脏及腹腔中组胺释放的影响。

材料和方法

天花粉(上海生化制药厂),色甘酸钠(上海第二十一制药厂),硝苯啶(上海延安制药厂),磷酸组胺标准品(北京药品生物制品检定所),WATERS 高效液相色谱仪,420 荧光检测器,740 数据处理机,大白鼠(南京皮肤病研究所动物房提供)。

取 175 ± 25 g 雄性大鼠 32 只,随机均分 4 组,甲组为正常对照,另三组每足掌皮下注射抗原天花粉 0.1 ml (1 mg/鼠),然后腹腔注射百日咳杆菌疫苗 10 亿,致敏 14 d,乙组直接 iv 天花粉攻击,丙、丁组分别 iv 色甘酸钠 (50 mg/kg)、及 ip 硝苯啶 120 mg/kg,各在 10 min 及 30 min 后尾静脉注射天花粉 (2.5 mg/kg) 进行攻击,攻击后 20 min 股动脉放血处死大鼠,吸取腹腔肥大细胞并摘取心脏进行组胺提取。

1. 腹腔肥大细胞中组胺的提取^[3] 将大鼠处死后,剪开腹部皮肤,将皮片向两侧翻开,然后向腹腔内注入 Hank's 液 10 ml,轻轻按

摩腹部 5 min,打开腹腔,定量收集腹腔液,置冰浴内冷却,然后以 600 r/min 离心 10~15 min,定量吸取上清液。

2. 心脏中组胺的提取 大鼠处理后,剖开胸腔摘取心脏,洗净心脏中血液,称湿重,剪碎匀浆,以 600 r/min 离心 10~15 min,定量吸取上清液。

3. 组胺的测定^[4] 取上述上清液 5 ml,加入 5 mol/L HClO_4 0.3 ml 摇匀,离心 15 min (3000 r/min),吸取上清液 4 ml 于 15 ml 离心管中(内含 5 mol/L NaOH 0.5 ml、NaCl 15 g、正丁醇 10 ml),振摇 5 min,离心 15 min (3000 r/min);吸取有机相 8 ml 于 0.1 mol/L HCl 4 ml 中,振摇 5 min 后,离心 15 min (3000 r/min);弃去有机相,吸取水相 1 ml,加入 2 mol/L NaOH 0.2 ml,然后加入 0.1% 的邻苯二甲醛 (OPT) 0.1 ml 摇匀,于暗处反应 4 min 后,加入 0.5 mol/L H_2SO_4 0.4 ml 中止反应。进样 20 μl ,根据标准曲线 $y = 0.0111x - 0.00024$ ($r = 0.9999$) 和回收率 91.06%,计算出每毫升腹腔液中及每克心肌组织中组胺的释放量。

结 果

结果(见表 1)表明主动致敏大鼠心脏及腹腔中组胺的释放量相比正常组高 2.4 倍和 3.2 倍,并出现挠鼻,呼吸急促等症状。色甘酸钠和硝苯啶均能显著抑制致敏大鼠心脏及腹腔肥大细胞释放组胺,且不出上述症状。

Tab 1. Effect of iv disodium cromoglycate and ip nifedipine on the released histamine in peritoneal cavity fluid (PCF) and heart of rats ($\bar{X} \pm SD$, $n=8$)

	Drug	Challenging with antigen	Histamine level	
			PCF, $\mu\text{g}/\text{ml}$	heart, $\mu\text{g}/\text{g}$
Non-sensitized	saline	-	$0.55 \pm 0.15^{***}$	$2.79 \pm 0.84^{***}$
Sensitized	saline	+	1.73 ± 0.58	7.10 ± 2.31
Sensitized	CR	+	$0.70 \pm 0.30^{***}$	$2.16 \pm 1.31^{***}$
Sensitized	nif	+	$0.38 \pm 0.28^{***}$	$2.23 \pm 1.26^{***}$

*** $p < 0.01$, vs saline control; CR: disodium cromoglycate; nif: nifedipine

讨 论

本文用天花粉致敏大鼠后,再用抗原攻击建立了大鼠心性变态反应的在体模型,并用高效液相色谱法测定了大鼠心脏及腹腔肥大细胞中组胺释放量,方法简便、可靠,定量准确,可用于抗变态反应药物的研究。

心性变态反应可致心脏内源性组胺大量释放。色甘酸钠能稳定肥大细胞膜,防止肥大细胞脱颗粒释放组胺而发挥抗变态反应作用,目前研究表明,肥大细胞脱颗粒与 Ca^{2+} 内流有关^[5,6]。硝苯啶抑制组胺释放可能与其阻断细胞外 Ca^{2+} 向膜内转运有关。钙拮抗剂能否成为一类新的抗变态反应药物尚有待进一步研究。

关键词 组胺;心性变态反应;肥大细胞;天花

粉;色甘酸钠;硝苯啶

参 考 文 献

- 1 李文汉,李凤林.药理学进展.北京:人民卫生出版社 1982:65-81
- 2 Qiu R, Guo ZG. Protective effects of histamine H_1 and H_2 antagonists adensine and hydrocortisone on cardiac anaphylaxis. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10: 34-8
- 3 王振南,吴燕,李淑卿等.利喘贝对小鼠、大鼠被动皮肤过敏反应的抑制作用.南京药学院学报 1986; 17(3): 229-30
- 4 王振南,吴燕,曹于平等.利喘贝抑制被动过敏肥大细胞释放组胺的作用.中国药科大学学报 1989; 19(3): 210-2
- 5 张洪泉,卞如濂.戊脉安抗过敏反应慢反应物质的作用.中国药理学报 1985; 6(2): 110-3
- 6 Chand N, Pillar J. *In vitro* inhibition of allergic histamine release by calcium antagonists. *Eur J Pharmacol* 1985; 107: 353-8

The Effect of Disodium Cromoglycate and Nifedipine on the Released Histamine from Cells in the Rat Peritoneal Cavity and the Rat Heart

Wang Zhennan, Cao Yuping, Rui Jing, Wu Yan

Pharmaceutical Factory

The pathological model *in vivo* of cardiac anaphylaxis in rats was established. The released histamine from the heart and peritoneal cavity of normal and sensitized rats was determined by HPLC. The results showed that the amount of released histamine, from the heart and peritoneal cavity of sensitized rats by challenging with antigen, was 2.39 and 3.51 times more than that of normal rats respectively. The histamine release was inhibited significantly by injection of 50 mg/kg disodium cromoglycate iv and 120 mg/kg nifedipine ip.

Key words Histamine; Cardiac anaphylaxis; Mast cells; Trichosanthin; Disodium cromoglycate; Nifedipine