

宁对组胺的释放及其引起毛细血管通透性增加、水肿均有明显抑制作用,因而达到风疹块消,这与中医祛风清热理湿治则相符,也和方中苦参、白鲜皮、地龙、甘草等药的抗过敏作用一致。对二甲苯耳水肿,蛋清足肿胀的抑制作用稍强于息斯敏,上述其他作

用稍弱于息斯敏。

参考文献:

- [1] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1991.
- [2] 向军俭,陈华粹. 组胺的荧光测定法的研究[J]. 中国医学科学院学报,1981,3(3): 183-186.

大承气颗粒抑制脂质过氧化反应的实验研究

孟林,靳珠华,林秀珍*

(天津医科大学,天津 300070)

腹腔感染及内毒素血症时,需氧生物细胞产生大量的自由基,破坏细胞膜及溶酶体膜,经脂质过氧化作用引起多脏器的细胞损伤,因此清除过多的自由基,抑制脂质过氧化作用在急腹症的救治中起着重要作用。大承气汤是《伤寒论》中重要方剂之一,由大黄、枳实、厚朴、芒硝4味中药组成,功擅通胃结,救胃阴,承顺胃气之下行,散结通便,临床用于急腹症的治疗。为进一步完善大承气汤通里攻下作用的机制,本文观察了大承气颗粒对腹膜炎大鼠血液及肝脏、肠组织中MDA含量和超氧化物歧化酶(SOD)水平的影响。

1 材料与方法

1.1 动物与分组: Wistar大鼠,雌雄各半,体重190~220g,由军事医学科学院实验动物中心提供。将动物随机分为5组:空白对照组,腹膜炎模型组,大承气颗粒大、中、小3个剂量治疗组。

1.2 药品与试剂:大承气颗粒由广州中医药大学制剂室提供,用4%阿拉伯胶配制成所需浓度;TBA试剂:瑞士Fluka Chemika产品,分析号:286281/1392;1,1,3,3-四乙氧基丙烷:瑞士Fluka Chemika产品,分析号:281485/1189;SOD测定试剂盒:南京建成生物工程研究所提供;大肠杆菌O₁₁₁B干燥菌购自中国药品生物制品检定所;其他试剂均为市售优级纯或光谱纯。

1.3 方法

1.3.1 腹膜炎模型的制作及标本的采集:采用大肠杆菌以常规方法进行菌株的复活与增菌,制成菌数为 $\times 10^9$ cfu/mL悬液备用。在严格消毒条件下,给大鼠ip大肠杆菌悬液1.0 mL/100g,以0.3%琼

脂牛肉膏汤作为佐剂,造成腹膜炎模型。于48h后处死,收集血液分离血清,并采集肝脏、肠组织作成10%匀浆液,低温离心后取上清液, -20℃冰箱保存。

1.3.2 给药方法:中药治疗组给大承气颗粒,剂量分别为1.22, 2.43, 4.86 g/kg,空白对照组及模型组给等量生理盐水。ig给药3d后,除空白对照组外,模型组及各给药组均给予注射菌液造模,以后各给药组连续给药,于48h后将动物处死,收集血液,分离血清,并采集肝脏、肠组织标本。

1.3.3 MDA测定:采用硫代巴比妥酸化学发光法测定血清及组织中MDA^[1,2]。实验采用日本岛津RF-510型荧光分光光度计测定,测定条件: λ_{ex} 为515 nm, λ_{em} 为553 nm,血清MDA单位nmol/mL,组织MDA单位nmol/g, w. w. (每克组织湿重)。SOD测定采用UV-9100型紫外可见光分光光度计,按试剂盒要求进行。

1.4 统计学处理:结果采用SPSS统计软件进行处理,各组实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据之间的差异采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 血清中MDA和SOD水平:与空白对照组比较,模型组血清中MDA水平明显高于空白对照组($P < 0.01$),而SOD活性明显降低($P < 0.01$)。大承气颗粒小剂量就可使血清中MDA含量下降,大剂量及中剂量组与模型组相比有非常显著的差异($P < 0.01$);大承气颗粒也可使血清中SOD活性增加($P < 0.05$),大剂量与模型组相比有非常显著的差异($P < 0.01$),见表1。

* 收稿日期:2001-12-03

基金项目:国家中医药管理局“九五”国家科技攻关计划项目(No. 969030105)

作者简介:孟林,女,副教授,毕业于天津医科大学。现从事中西医结合中药药理及中药新药的开发研究工作。

表 1 大承气颗粒对腹膜炎大鼠血清

MDA 和 SOD 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 (g /kg)	MDA (nmol /mL)	SOD 浓度 (nU /mL)
空白对照	—	4.74± 1.24 *	101.32± 27.13 *
模型	—	19.03± 5.06	56.67± 19.15
大承气颗粒	1.22	12.78± 1.24 *	67.34± 11.30
	2.43	10.83± 1.23 *	81.73± 10.17
	4.86	9.49± 2.73 *	97.48± 12.15 *

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.2 组织中 MDA 和 SOD 水平: 模型组肠及肝脏组织中 MDA 水平明显高于空白对照组 ($P < 0.01$), 而 SOD 活性降低 ($P < 0.01$)。大承气颗粒能显著降低腹膜炎大鼠肠及肝脏组织中的 MDA, 其中以大、中剂量组非常显著 ($P < 0.01$), 但各给药组均不能使 MDA 水平接近正常。大承气颗粒也可提高 SOD 活性, 在肠组织小剂量即可出现 ($P < 0.05$), 在肝组织中剂量才可出现 ($P < 0.05$), 随剂量增加两种组织的 SOD 值均接近空白对照组, 见表 2、3

表 2 大承气颗粒对腹膜炎大鼠肝脏组织

MDA 和 SOD 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 (g /kg)	MDA (nmol /g)	SOD 浓度 (nU /mg)
空白对照	—	70.27± 25.19 *	300.73± 46.59
模型	—	378.16± 51.28	181.34± 50.96
大承气颗粒	1.22	303.24± 53.03	200.53± 53.21
	2.43	210.80± 133.39	267.45± 60.45
	4.86	138.31± 64.43 *	295.28± 29.62

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表 3 大承气颗粒对腹膜炎大鼠肠组织

MDA 和 SOD 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 (g /kg)	MDA (nmol /g)	SOD 浓度 (nU /mg)
空白对照	—	40.69± 5.95 *	360.54± 43.47 *
模型	—	155.66± 14.17	90.17± 63.45
大承气颗粒	1.22	121.75± 3.95	278.37± 35.16 *
	2.43	84.20± 6.65 *	301.51± 30.87 *
	4.86	81.13± 7.47 *	354.78± 38.79 *

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3 讨论

腹膜感染时, 大肠杆菌等入侵产生的内毒素不仅直接损害组织细胞, 还作为一种强烈的刺激因子, 促使组织细胞活化并产生呼吸爆发, 过度耗氧释放出大量的自由基, 同时加速了体内自由基清除酶的消耗。当自由基生成速率大于其被清除的速率时, 自由基水平呈上升趋势, 根据 Harman 的自由基理论^[4], 过多的自由基会对机体的许多细胞组分造成

损害, 其中超氧化物阴离子自由基 ($\dot{O}_2^-$) 是多种自由基的派生源, 当 $\dot{O}_2^-$ 生成过多或清除不足时, $\dot{O}_2^-$ 及其衍生物就可损伤细胞膜而导致脂质过氧化, 过量的自由基除引起局部组织损伤, 同时也是导致全身性继发病变的主要致损因子。受自由基攻击, 生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化, 产生 MDA 和过氧化脂质, 测定其含量可定量地了解组织细胞氧化损伤的程度。SOD 是体内重要的抗氧化酶, 对机体氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用, 此酶可有效地清除 $\dot{O}_2^-$ 并能稳定细胞膜, 保护细胞免受自由基损伤。

在实验中, 腹腔感染后可见机体血液及组织 SOD 活性下降, 脂质过氧化反应增强, 与文献报道一致^[3]。实验显示大承气颗粒能明显抑制组织和血浆中 MDA 产生并增加 SOD 活性, 用药后使炎症反应减轻, 提示大承气颗粒有清除自由基, 阻遏炎症时过氧化损伤的作用。中药清除自由基损伤的主要环节是终止超氧化物阴离子自由基引起的单电子氧化还原连锁反应, 并活化体内参与阻断自由基反应的酶体系。大承气颗粒即可增加 SOD 活性, 又可降低 MDA 水平, 说明其对以上两个环节都有影响, 具体机制可能是多方面的, 其主药大黄能抑制细胞内钙离子水平升高^[5], 从而抑制了细胞内酶类的磷酸化及线粒体呼吸链的功能, 使自由基产生减少; 同时药物本身存在有许多还原性物质, 也可对已产生的自由基进行清除。现已证明细菌内毒素对组织细胞的破坏作用相当程度上由氧自由基介导^[6], 故推测大承气颗粒在感染性炎症时对肠道的保护作用及对内毒素血症所致组织脏器损伤的对抗作用, 部分是通过清除过多自由基作用而实现的。

参考文献:

- [1] 莫简, 吕问, 孙淑芬, 等. 医用自由基生物学导论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989.
- [2] Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thio-barbituric acid reaction [J]. Anal Biochem, 1979, 95: 351-354.
- [3] Saito T. The role of endotoxin in the pathogenesis of bacteria peritonitis with special reference to superoxide in polymorphonuclear leukocytes stimulated by endotoxin [J]. Nippon Ika Daigaku Zasshi, 1991, 58(6): 630-639.
- [4] 赵宝路. 氧自由基和天然抗氧化剂 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [5] Lin X Z. Effect of Dacheng qi decoction on the cytoplasmic free calcium in peritoneal macrophages of mice of bacteria peritonitis [J]. Chin J Integrated Tradit West Med, 1996, 2(4): 296-298.
- [6] 马利. 内毒素导致肠源性感染发病机理的实验研究 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1990, 12(6): 164-167.