

表 3 乙醇组和对照组相比,错误次数显著增多,跳台潜伏期明显缩短 ($P < 0.01$)。不同浓度的夏天无口服液及胶囊剂组与乙醇组比较,可不同程度减少跳台错误次数及延长跳台潜伏期。夏天无 1 mg/kg 以上可显著改善小鼠学习记忆能力 ($P < 0.05$)。

表 3 夏天无对乙醇造成记忆再现障碍小鼠跳台实验的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of RCD on ethanol induced memory retrieval balk in step-down test in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	动物数	错误次数/次	潜伏期/s
对照	-	12	0.25±0.45*	149.42±66.03*
模型	-	12	2.83±1.95	54.83±55.77
双益平	0.4	12	2.25±2.05	69.58±70.69
口服液	0.5	11	1.36±1.63	73.36±62.38
	1.0	11	1.27±0.90	93.36±65.44
	2.0	11	0.64±0.81*	131.27±70.50*
胶囊剂	0.5	11	1.73±1.85	94.55±80.95
	1.0	11	1.27±1.85	116.36±78.87
	2.0	12	0.73±1.27*	133.64±68.89*

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

4 讨论

中枢胆碱能系统是学习记忆的重要生理基础,人衰老过程及血管性痴呆病程中伴有的记忆减退主要是由于胆碱能系统的全面衰退^[1],脑内 Ach 含量降低, AchE 活性升高,胆碱乙酰转移酶活性降低, M 和 N 胆碱受体数量减少均可能造成学习记忆障碍。东莨菪碱是中枢 M 胆碱受体拮抗剂,可阻断 M₁和 M₂受体,降低海马中乙酰胆碱含量,使记忆形成过程发生障碍^[7],本实验中小鼠 ip 2 mg/kg 东莨菪碱出现了明显的记忆障碍,而夏天无制剂可明显

拮抗东莨菪碱引起的小鼠记忆获得障碍,并能显著降低小鼠脑内 AchE 的活性,提示夏天无可能是一种 AchE 抑制剂,而其促智作用的原理是通过影响中枢胆碱能神经系统的功能实现的。

乙醇影响记忆的机制较复杂,涉及到脑内蛋白质、RNA 胆碱能及多巴胺等方面^[8],所以很难作出进一步分析。至于夏天无改善学习记忆的确切作用机制,有待进一步研究。

综上所述,夏天无具有显著的促智作用,夏天无可能作为一种治疗老年性痴呆的新药应用于临床。

References

- [1] Bartus R T, Dean R L, Beer B, et al. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction [J]. *Science*, 1982, 217: 408.
- [2] Chen R, Yang S H, Tang X L. Advances in the studies on *Corydalis decumbentis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(2): 948-949.
- [3] Xu S Y, Bian R L, Chen X, et al. *Experimental Methods in Pharmacology* (药理实验方法学) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [4] Zhang Y, Zhang H Y, Li W P, et al. Effects on Anjufu on increase intelligence [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1995, 11(3): 233-236.
- [5] Cheng W S, Xu J P, Li L, et al. Studies on nootropic activity and mechanism of emodin-8-O-β-D-glucopyranoside [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(1): 39-41.
- [6] Liu T, Bian H M, Liu X F. Influence of modified SAN JIA-SAN on balk of study and memory disturbance of mice induced by scopolamine [J]. *China J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 1999, 5(2): 18-20.
- [7] Bymster F P, Health L, Hendrix J C, et al. Comparative behavioral and neurochemical activities of cholinergic antagonist in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1993, 267: 16-24.
- [8] Gerhard F. Chronic central nervous system toxicity of alcohol [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1973, 13: 217-235.

活血化瘀注射液对急性重型胰腺炎大鼠 小肠 CD11b/CD18表达的影响

张艳军¹, 金华¹, 赵连根², 吴咸中^{2*}

(1. 天津中医学院 中药系, 天津 300193; 2. 天津市中西医结合急腹症研究所, 天津 300100)

活血化瘀注射液 (HHH) 可改善犬肠、胰腺的血液动力学,并证实与抑酶注射液 (YHI) 合用能延长急性重型胰腺炎 (SAP) 家兔存活时间,提高存活率^[1,2]。HHH 可抑制 SAP 大鼠白细胞在肠系

膜毛细血管后静脉的滚动、粘附^[3],笔者推测可能对 SAP 病理生理过程中白细胞内皮细胞相互作用有影响。白细胞与内皮细胞粘附以及经内皮迁移需要粘附分子的表达,为揭示 HHH 对粘附分子

CD11b/CD18表达的影响进行了实验研究。

1 材料与方法

1.1 试剂和药物: CD11b, CD18 山羊抗鼠多克隆抗体 (一抗, Santa Cruz 公司); 生物素化兔抗山羊 IgG (二抗, Vector 公司); 辣根酶标记链亲合素 (三抗, Vector 公司); OCT 包埋剂 DAB 封闭用兔血清工作液 (北京中山公司); Tris, 30% 过氧化氢 (医科院血研所科技公司); 牛磺胆酸钠 (Sigma 公司); HHH 由南开医院药厂制备; 复方丹参注射液由上海第一生化制药公司生产, 批号 971002

1.2 实验动物与分组: 健康 Wistar 大鼠 (购于军事医学科学院四所) 160 只, 体重 220~300 g, 雌雄各半。在实验动物室适应环境 1 周后开始实验。将实验动物随机分为假手术对照组 (n=10), SAP 模型组 (n=50), SAP+ HHH 组 (n=50), SAP+ 复方丹参注射液组 (n=50), 后 3 组又分为 1, 3, 6, 12, 24 h 亚组, 每亚组 10 只。

1.3 检测指标: 免疫组织化学方法检测各组动物胰腺、小肠组织 CD11b, CD18 的表达。40x10 视野下每一切片随机观察 5 个视野, 记录每个视野下阳性白细胞数, 以其平均数表示 CD11b, CD18 的表达情况。

1.4 实验方法: 实验前禁食 1 夜。实验日将大鼠以 20% 乌拉坦 0.5 mL/kg 麻醉。无菌条件下进行手术, 右颈静脉插管 (PE50 医用塑料管, 内径 0.5 mm, 外径 0.8 mm, 日本夏目制作所制) 以备输液用。开腹, 其中 SAP 组、SAP+ HHH 组、SAP+ 丹参组结扎大鼠总胆管, 经十二指肠乳头将 PE50 医用塑料管插入胆胰管 0.5 cm, 逆行注入 5% 牛磺胆酸钠溶液 0.1 mL/(100 g·min), 制造 SAP 模型, 注射完毕后松开结扎总胆管的丝线。随即用微量蠕动泵分别经颈静脉插管输入生理盐水、HHH 和复方丹参注射液, 2 mL/h, 给药剂量按 60 kg 成人每公斤体重剂量的 15 倍换算。各亚组分别于 1, 3, 6, 12, 24 h 颈椎脱臼处死大鼠。假手术组不复制 SAP

模型, 仅经颈静脉输入生理盐水, 12 h 后颈椎脱臼处死。动物处死后取胰腺、小肠, OCT 包埋, 液氮冷冻 30 s, -25℃ 保存, 以备免疫组织化学检测。

1.5 免疫组织化学检测: 将 OCT 包埋的组织做 8 μm 的冰冻切片, 4℃ 冷丙酮固定后, -25℃ 保存, 以备免疫组织化学染色。过程如下: 切片恢复室温, TAB (0.05 mol/L, pH 7.4) 洗 5 min x 2 次, 以含 0.3% 过氧化氢的 TBS 室温孵育 20~30 min, 以消除内源性过氧化物酶的活性; 蒸馏水冲洗, TBS 洗 5 min x 2 次; 5% 正常兔血清 (TBS 稀释) 封闭, 室温湿盒内孵育 30 min; 倾去血清, 分别滴加适当比例稀释 (1:50~200, TBS 稀释) 的一抗, 4℃ 湿盒内过夜; TBS 洗 5 min x 3 次, 滴加适当比例稀释 (1:100, TBS 稀释) 的二抗, 室温湿盒内孵育 1 h; TAB 洗 5 min x 3 次, 滴加适当比例稀释 (1:100, TBS 稀释) 三抗, 室温湿盒内孵育 1 h; TBS 洗 5 min x 3 次, DAB 显色; 自来水充分冲洗, 复染, 封片。

1.6 统计学处理: 方差分析, F 检验

2 结果

各组小肠 CD11b, CD18 表达情况: 见表 1 和 2。CD11b, CD18 在假手术组小肠仅有散在少量表达; CD11b, CD18 在 SAP 组小肠 3, 6 h, 6, 12 h 时间段之间相比, 有显著或非常显著性差异 (P < 0.05, 0.01), 至 24 h 仍保持高表达水平。表达细胞主要为嗜中性粒细胞, 还有部分单核细胞; SAP+ 丹参组表达趋势与 SAP 组没有显著差异; SAP+ HHH 组 CD11b, CD18 表达与 SAP 组、SAP+ 丹参组相比显著减少, 接近假手术组。

3 讨论

白细胞内皮细胞粘附是白细胞向炎症部位聚集并造成组织损伤的关键步骤, 白细胞和内皮细胞表面表达的粘附分子是白细胞粘附到血管内皮细胞以及白细胞跨内皮移行到炎症部位的分子基础。这一过程被白细胞、内皮细胞表面表达的不同家族的粘

表 1 各组动物小肠组织 CD11b 表达情况

Table 1 Expression of CD11b in small intestine of each animal group

组别	阳性细胞 视野				
	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
假手术	-	-	-	3.7 ± 2.2*	-
SAP	5.9 ± 3.8	12.5 ± 3.9 [△]	28.9 ± 6.8 ^{△△}	47.5 ± 16.9 ^{△△}	50.7 ± 14.6
SAP+ 丹参	6.3 ± 4.4	12.1 ± 5.1	24.3 ± 6.7	45.4 ± 9.2	50.2 ± 10.3
SAP+ HHH	3.4 ± 2.2	3.6 ± 2.5 [▲]	4.5 ± 2.7 ^{▲▲}	7.3 ± 3.0 ^{▲▲}	7.0 ± 4.3 ^{▲▲}

与 SAP 组、SAP+ 丹参组 3 h 以后时间段比较: ** P < 0.01; 与同组前一时间段相比: △ P < 0.05 △△ P < 0.01; 与 SAP 组、SAP+ 丹参组同一时间段比较: ▲ P < 0.05 ▲▲ P < 0.01
 ** P < 0.01 vs SAP group and SAP+ Danshen group after 3 h; △ P < 0.05 △△ P < 0.01 vs same group prophase; ▲ P < 0.05 ▲▲ P < 0.01 vs SAP group and SAP+ Danshen group at same time

表 2 各組动物小肠组织 CD18表达情况

Table 1 Expression of CD18 in small intestine of each animal group

组 别	阳性细胞 视野				
	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
假手术	-	-	-	5.2± 3.4*	-
SAP	8.0± 4.2	14.7± 4.7 [△]	33.6± 8.7 ^{△△}	52.7± 14.1 ^{△△}	57.1± 13.6
SAP+ 丹参	7.6± 4.8	14.2± 5.8	26.7± 6.2	46.3± 8.4	51.4± 9.2
SAP+ HHIH	5.1± 2.8	5.4± 3.0 ^{▲▲}	5.5± 4.4 ^{▲▲}	7.1± 4.4 ^{▲▲}	7.4± 4.6 ^{▲▲}

与 SAP组、SAP+ 丹参组 3h以后时间段比较: ** $P < 0.01$; 同组前一时间段相比: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 SAP组、SAP+ 丹参组同一时间段比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs SAP group and SAP+ Danshen group after 3 h; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs same group prophase; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs SAP group and SAP+ Danshen group at same time

附分子的连续活化所调节,主要包括选择素家族、整合素家族和免疫球蛋白超家族^[4]。白细胞能表达 13 种不同的整合素,其中 $\beta 2$ 整合素为重要的白细胞内皮细胞粘附分子。 $\beta 2$ 整合素主要包括 CD11a/CD18, CD11b/CD18等。

SAP所致胰外脏器损害的共同特征是受损脏器中有大量的中性粒细胞浸润,大量研究表明,肠道白细胞聚集在肠道功能障碍病理生理过程中起重要作用。白细胞与肠道微血管内皮细胞过度粘附,在肠组织中大量聚集,产生大量炎性介质和细胞因子,损伤内皮细胞,导致内皮屏障功能障碍,破坏粘膜屏障的完整性。由于白细胞内皮细胞过度粘附可导致明显的微循环障碍,基于现代医学对中医血瘀和血瘀证的大量研究,血瘀证的主要病理基础是微循环障碍,血瘀与现代医学的微循环障碍症以及活血化瘀疗效与现代医学微循环障碍的改善关系密切。所以,我们明确提出抗白细胞内皮细胞过度粘附可能为活血化瘀中药的作用机制之一。HHIH 是我们将临床治疗 SAP有效方剂中的活血化瘀药,通过正交设

计,筛选出最有效药物组分,制成的静脉注射剂,主要由桃仁、赤芍等提取物组成,以往研究表明,HHIH 可抑制急性重型胰腺炎大鼠白细胞在肠系膜毛细血管后静脉的滚动、粘附。本实验结果表明,HHIH 能够抑制 SAP病理生理过程中 CD11b, CD18过度表达,提示 HHIH 通过抑制粘附分子的过度表达从而抑制白细胞内皮细胞的过度粘附,显示出良好的应用前景。

References

[1] Zhao L G, Zhang H, Meng Q Z, et al. Effect of Huoxue Huayu Injection on hemodynamics of canine small intestine [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1989, 9 (12): 173.

[2] Zhao L G, Gao S J, Chen Y L, et al. Effect of Huoxue Huayu Injection on hemodynamics of intestine in canine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993 (3): 140.

[3] Zhao L G, Zhang Y J, Chen Y L, et al. Effect of Huoxue Huayu Injection on intravital microcirculation of mesentery in acute pancreatitis rats [J]. *Chin J Surg Integrated Tradit West Med* (中国中西医结合外科杂志), 2001, (1): 18-20.

[4] Panes J, Granger D N. Leukocyte-endothelial cell interaction: molecular mechanisms and implication in gastrointestinal disease [J]. *Gastroenterol*, 1998, 114 (5): 1066-1090.

山东药圣生物科技(平邑)有限公司荣誉推出“药圣 H+ 1^R天然澄清剂”

“药圣 H+ 1^R天然澄清剂”主要用于: 1. 传统中药“水提醇沉”工艺中乙醇的替代; 2. 传统中药提取物(如银杏叶干浸膏、山楂叶黄酮、叶绿素等)工艺中有机溶媒的水溶媒替代; 3. 中药水针、粉针、冻干粉针的澄清处理; 4. 无菌、无热原的中医药原料、生化原料澄清处理; 5. 中草药、生化药品、保健食品、口服液、果汁、茶饮料、啤酒等产品的澄清处理; 6. 氨基酸类、维生素类、有机酸类、抗生素类发酵液的澄清处理; 7. 对重金属污染的工业废液(水)及其他工业废水的澄清处理; 8. 对出口食品、药品、药材、保健品重金属农药残留超标的有效处理。

收得率分别提高 30% ~ 10倍;含量提高 10% ~ 50%;工厂成本下降 30% ~ 80%;还生产硫酸软骨素、黄连素系列、注射用黄芩苷(95%),双花连翘苷,银杏叶干浸膏、丹参素、丹参川芎浸膏等,以及口服级中药提取物,亦可根据客户要求生产。

地址: 山东平邑县浚河路 78号 电话: 0539-4088727 13355026077 传真: 0539-4089366
四川地址: 青神县用九大厦三楼 电话(传真): 0833-8811413 13568248000 13890355787