

参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典(上册). 上海:上海科学技术出版社,1985:985
- 2 吴祯久,等. 延边医学院学报,1994;17(1):16
- 3 周春风,等. 中草药,1994;25(1):28
- 4 廖福龙主编. 临床血液流变学. 天津:天津科技翻译出版公司,1987:173
- 5 翁维良,等编著. 血液流变学研究方法及其应用. 北京:科学出版社,1989:30
- 6 徐金和,等. 中草药,1994;25(1):30
- 7 陈奇主编. 中药药理研究方法论. 北京:人民卫生出版社,1993:118
- 8 翁维良. 山西医药杂志,1987;16(1):26

(1998-03-21 收稿)

Effects of n-Butanol Extract of *Divaricate Saposhnikovia* (*Saposhnikovia divaricata*) on Blood Rheology in Rat

Zhu Huijing, Zhang Hongying, WuGuang, *et al.* (Affiliated Hospital of Medical College, Yanbian University, Yanji 133000)

Abstract n-Butanol extract of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. (BSDS) was found to lower high and low whole blood shear viscosity, plasma viscosity, fibrinogen content, hematocrit and whole blood reduction viscosity when given intramuscularly at a dose equivalent to 5.6 g/kg/d of the medicinal herb to rats for 10 consecutive days. But it showed no obvious effects on blood sedimentation, K value in blood sedimentation equation, maximum aggregation rate and depolymerization rate in 1 minute. These results suggested that BSDS could promote blood circulation to remove blood stasis.

Key words *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. blood rheology blood shear viscosity fibrinogen content

柴胡注射液对小鼠灌流肝脏缺氧复氧损伤的保护作用

重庆医科大学卫生毒理学教研室(400016) 汤兵* 吴逸人** 康格非***

摘要 采用小鼠离体肝灌流术在 Krebs-Henseleit(K-H)灌流液中加入柴胡注射液,观察柴胡对肝缺氧(1h)复氧(1h)的影响。结果表明:柴胡组与缺氧组相比,光镜电镜下肝组织损伤较轻,且肝组织乳酸脱氢酶(LDH)漏出量显著减少,脏/体比、还原型谷胱甘肽(GSH)及黄嘌呤氧化酶(XOD)含量有显著性差异,丙二醛(MDA)生成延迟。揭示柴胡对小鼠离体灌流肝缺氧复氧损伤有明显拮抗作用,其机制与抑制氧自由基形成有关。

关键词 柴胡 氧自由基 缺氧复氧 损伤

肝脏的缺血再灌注损伤是导致肝功能不良的重要因素,氧自由基的形成在此过程中发挥了重要作用^[1]。柴胡作为一种传统中药,具有和解退热、疏肝解郁的功效。近年来,研究发现柴胡对实验性肝损伤有保护作用^[2]。我们采用小鼠离体肝灌流术做成肝缺氧复氧模型,观

察柴胡在此过程中对肝抗缺氧复氧损伤的影响,并初步探讨其作用机制,为获得一种安全有效且价廉的器官移植保存液作基础性研究。

1 材料与方法

1.1 动物:139只NIH小鼠,雌雄各半,体重18~22g,由重庆医科大学动物实验中心

* Address:Tang Bing, Department of Hygiene Toxicology, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing
汤兵 1990年毕业于华西医科大学公共卫生学院,获医学学士学位,在重庆医科大学卫生毒理教研室任教。1997年重庆医科大学医学检验系临床检验诊断学获医学硕士学位,仍在重庆医科大学卫生毒理教研室任教,讲师,专业研究方向为肝脏生化毒理。

劳动卫生教研室 *医学检验系临床生化教研室

提供。

1.2 药物与试剂:柴胡注射液(1 g 生药/mL)购于成都制药六厂;酚嗪二甲酯硫酸盐(PMS)和 5,5'-硫代双(-二硝基苯甲酸)(DTNB)均为 Fluka 公司产品;其余试剂均为国产分析纯。

1.3 动物模型及分组:动物禁食 24 h,称重后用 1%戊巴比妥溶液 ip 麻醉(90 mg/kg),小鼠按门静脉插管术进行肝灌注,流速为 4 mL/min,温度 37 °C ± 0.5 °C,灌流液采用 pH7.4 不含血红蛋白的 K-H 液,灌流液灌洗肝脏内部稳定 20 min 后正式取样。充氧组:K-H 灌流液充以 95% O₂ 和 5%CO₂ 的混合氧作饱和灌流肝 2 h。缺氧组:K-H 灌流液充以 95%N₂ 和 5%CO₂ 的混合氮作饱和灌流肝 1 h,再充以同样混合氧作饱和灌流肝 1 h 做成肝缺氧复氧损伤模型。柴胡实验组:在 K-H 灌流液中加入柴胡注射液 4 mL/L,其余同缺氧组。

1.4 测定方法:灌流插管完后 20 min,立即

收集灌注流出液,以后每隔 10 min 收集一次,直至 120 min,用乳酸基质法测灌流液中 LDH 活力^[3],按 Buege JA 法测肝组织中 MDA 含量^[6],灌注 20、40、60、80、100、120 min,分别取肝按张平法测肝组织中 GSH 含量^[4],按吴晓生的方法测肝组织中 XOD 活力^[5],按 Buege JA 法测肝组织中 MDA 含量^[6],灌流 120 min 后分别测肝的脏/体比及取肝组织作光镜和电镜检查。

2 结果

2.1 肝灌流液 LDH 漏出量的变化:结果见表 1。缺氧组从 40 min 起显著增加,与柴胡组和充氧组都有显著性差异,而柴胡组 LDH 漏出量明显减少($P < 0.01$),柴胡组与充氧组在整个灌流过程均无显著性差异。

2.2 肝组织中 GSH 含量的变化:结果见表 2。缺氧给 20 min GSH 含量开始显著下降,柴胡组 60~120 min GSH 含量与缺氧组有显著性差异($P < 0.01$),80 min 后才与正常值有显著性差异。

表 1 LDH 漏出量变化比较(U/h · g 肝, $\bar{x} \pm s$)

组别	t (min)										
	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
缺氧组	859±132	947±179	1093±193	1418±380	2564±1294	3476±1432	3923±935	3460±1007	2628±1460	1819±974	1507±629
柴胡组	889±91	939±207	938±169*	1016±102**	1113±145**	1436±330**	1476±193**	1335±207**	1278±222**	1257±250*	1099±191
充氧组	833±77	880±158	861±161**	989±116**	1075±186**	1189±211**	1238±202**	1141±212**	1061±130**	1016±156**	941±76**

n=10,与缺氧对照组相比:* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表 2 肝组织 GSH 含量变化比较(nmol/mg 肝, $\bar{x} \pm s$)

组别	t (min)						
	0 (n=10)	20 (n=6)	40 (n=6)	60 (n=6)	80 (n=6)	100 (n=6)	120 (n=10)
缺氧组	12.95±0.66	12.11±1.04	11.58±1.03	8.12±1.04	4.60±0.47	3.67±0.46	3.46±0.64
柴胡组		12.57±0.51	12.14±1.02	11.58±0.70**	11.14±0.72**	10.88±0.57**	10.51±1.02**
充氧组		12.58±0.52	12.31±0.47	12.38±0.35**	11.01±0.69**	10.98±0.99**	10.91±1.01**

与缺氧对照组相比:** $P < 0.01$

2.3 肝组织中 XOD 含量的变化:结果见表 3。缺氧组 20 min XOD 开始下降与柴胡组有

显著性差异($P < 0.01$),柴胡组与充氧组在整个灌流过程均无显著性差异。

表 3 肝组织 XOD 含量变化比较(U/g 肝, $\bar{x} \pm s$)

组别	t (min)						
	0 (n=10)	20 (n=6)	40 (n=6)	60 (n=6)	80 (n=6)	100 (n=6)	120 (n=10)
缺氧组	16.55±1.01	14.59±0.87	12.15±1.11	8.75±0.91	7.69±0.87	7.14±0.84	6.11±0.64
柴胡组		16.96±0.50**	15.86±1.16**	15.51±0.74**	14.43±1.27**	13.30±0.92**	12.50±1.20**
充氧组		16.82±0.83**	16.57±0.95**	15.33±1.21**	14.82±1.13**	12.93±1.18**	11.75±1.30**

与缺氧对照组相比:** $P < 0.01$

2.4 肝组织中MDA含量的变化:结果见表4。缺氧组40 min MDA开始上升,60 min达

峰值,而后又下降,柴胡组MDA在80 min才开始上升,100 min时达峰值。

表4 肝组织MDA含量变化比较(nmol/g肝, $\bar{x} \pm s$)

组别	t (min)						
	0 (n=10)	20 (n=6)	40 (n=6)	60 (n=6)	80 (n=6)	100 (n=6)	120 (n=10)
缺氧组	6.31±1.53	7.26±1.38	9.55±1.77	20.30±3.98	13.25±1.97	10.26±1.95	10.54±1.54
柴胡组		6.09±1.20	7.05±1.40**	7.69±1.95**	11.43±1.59	13.14±2.65*	11.35±2.51
充氧组		5.98±1.38	6.67±1.55**	7.27±2.13**	9.30±1.98**	8.65±1.85	9.17±1.77

与缺氧对照组相比: *P<0.05 **P<0.01

2.5 肝脏脏/体比(g/100g):缺氧组为6.52±0.66,柴胡组为4.76±0.45,充氧组为4.40±0.30,各组动物均为10只,柴胡组和充氧组与缺氧组相比都有显著性差异(P<0.01)。

2.6 肝组织光镜和电镜检查:结果见表5。缺氧组光镜下病变总积分最高,但3个组无显著性差异,3组肝组织透射电镜检查,缺氧组肝细胞内有大量空泡,多集中在肝细胞核周,内皮及整个血窦损伤严重;柴胡组内皮损伤较轻,肝细胞内有空泡,空泡内容物电子密度与血窦腔中电子密度一样;充氧组肝细胞内空泡较少,但内皮损伤较严重。3组都有肝细胞内紧密连接破坏,毛细胆管打开,线粒体损伤不明显的特点,这与灌流时间长造成的肝组织机械损伤有关。

表5 光镜检查结果比较

组别	胞浆小空泡			空泡变性			点状坏死			灶性坏死			间质性炎症			总积分
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
缺氧组	1	1	0	0	2	1	3	2	3	3	3	0	0	1	0	20
柴胡组	1	0	2	0	1	3	1	1	3	1	1	0	0	0	0	14
充氧组	0	1	0	1	0	2	1	2	1	1	1	1	0	0	0	11

0:- 1:+ 2:++ 3:+++ A,B,C为动物代号

3 讨论

由于小鼠离体肝脏已排除了来自其他脏器的干扰,流出液中LDH含量随时间变化是检查肝细胞坏死的灵敏指标^[7],柴胡在缺氧1h复氧1h过程中能很好地防止肝细胞的破坏。

XOD活力在复氧后没有升高,3组XOD活力都有不同程度下降,缺氧组下降更多,提示肝缺氧复氧时氧自由基的产生主要不是通过黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶系统产生,或

是由于肝中黄嘌呤脱氢酶(XDH)向XOD转化速度很慢,也可能是长时间灌流导致XOD失活。目前许多研究认为,中性粒细胞及枯否氏细胞产生的活性氧在缺氧复氧损伤中发挥了重要作用^[3]。

缺氧组GSH 40 min~100 min下降明显,提示此时段氧自由基生成较多,而柴胡组能有效地防止GSH的消耗,阻止大部分氧自由基生成,但柴胡组与充氧组在80 min以后与正常值相比有显著性差异,说明均不能完全阻止GSH的消耗。

缺氧组在60 min时MDA生成达峰值后下降,提示复氧过程中脂质过氧化程度较少。柴胡组在100 min MDA生成达峰值,生成量相对减少,使缺氧复氧过程中的脂质过氧化作用延迟。

结合脏/体比,光镜、电镜观察结果,缺氧组肝组织水肿较明显,肝细胞及血窦损伤均较严重,肝细胞内空泡的形成是缺氧损伤肝组织酶释放的结果。充氧组血窦损伤较柴胡组严重,柴胡组肝细胞内空泡可能与灌流液渗透压增大有关,柴胡组内皮损伤较轻,这对于整个缺氧复氧过程至关重要,目前认为血窦内皮及枯否氏细胞损伤激活是整个缺血再灌损伤的始发因素^[9]。因此,本实验结果提示柴胡注射液对小鼠离体肝缺氧复氧损伤有较好的保护作用,其作用机制与阻止氧自由基的形成有关。

参考文献

- 程斌. 中华器官移植杂志,1992;13(1):47
- 李廷利,等. 中医药学报,1988;(1):45
- 湖南医学院第二附属医院检验科编. 临床生化检验.

长沙:湖南科学出版社,1983:227

- 4 张平,等. 中华实验外科杂志,1989;6(3):141
5 吴晓生,等. 生物化学与生物物理进展,1986;5:65
6 Buege J A, *et al.* Microsomal Lipid Peroxidation
Vol. LII, Methods in Enzymology. Biomembrane. New

York:Academic Press, 1978:302

- 7 Lemasters JJ, *et al.* J Cell Biol, 1983;97:778
8 Caraceni P. *et al.* Am J Physiol, 1994;266(5):G799
9 Langdale L A. *et al.* J Leukoe Biol, 1993;53(5):511

(1998-05-04 收稿)

Protective Effect of Chaihu Injection on Hypoxia-reoxygenation-induced Mouse Liver Injury

Tang Bing, Wu Yiren and Kang Gefei (Department of Hygiene Toxicology, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016)

Abstract By using isolated mouse liver perfusion model, the protective effect of Chaihu injection on hypoxia-reoxygenation liver injury was studied. The activity of lactate dehydrogenase (LDH) in perfusion liquid, the activity of xanthine oxidase (XOD), the content of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in liver homogenate were investigated at different time courses. Liver pathology by light microscopy and electronic microscopy were observed after perfusion. The result implied that Chaihu injection has a significant protective effect on mouse liver injury induced by hypoxia-reoxygenation perfusion. The mechanism of action may be related to its inhibitory effect on the formation of free radicals.

Key words Chaihu injection oxygen free radicals hypoxia-reoxygenation injury

乌杞蝎精酒对失血性血虚动物的补血作用

河南省医学科学研究所(郑州 450052) 华海婴* 叶启霞 戈士文

摘要 乌杞蝎精酒对急性失血模型小鼠及慢性失血模型大鼠均具有明显的改善作用,可加速动物 RBC 及 Hb 的恢复,并可有效地刺激网织红细胞的生成。

关键词 乌杞蝎精酒 红细胞(RBC) 血色素(Hb) 网织红细胞(Ret)

乌杞蝎精酒是由首乌、枸杞、全蝎、山药、大枣等多味中药配伍,经低度曲酒炮制而成的口服药酒。具有补气健脾、养血和营、活血化瘀等功效。临床用于治疗面色苍白、头目眩晕、心悸怔忡、失眠健忘、四肢麻木等证候,根据该制剂的功能主治,我们对其治疗失血性血虚证的作用进行了实验研究。

1 实验材料

1.1 乌杞蝎精酒:药酒含生药为 30%,赋形剂为 35°曲酒,由河南省宝丰县东亚钳蝎研究所提供,批号 940904。铁维隆口服液,河南省安阳市保健品厂生产,批号 920918。

1.2 动物:健康昆明种小鼠,体重 21 g~23

g;健康 Wistar 远交系大鼠,体重 300 g~330 g,雌雄兼用。由河南省实验动物中心提供。常规饲料喂养,自由饮水。实验室环境温度为 22℃~25℃。

2 方法与结果

2.1 对急性血虚模型小鼠红细胞(RBC)及血色素(Hb)的影响^[1]:取 50 只健康小鼠,随机分为 5 组,每组 10 只。将每鼠尾部以 70%酒精反复擦拭,使之充血后剪去尾尖 0.5 cm~0.75 cm,即刻采血测定 RBC 及 Hb 的正常值。采血后同期置小鼠尾部于 40℃左右定量温水的刻度试管内,使其出血量达 0.5 mL。2 h 后重复采血检测,观察造型结果,必

* Address: Hua Haiying, Henan Institute of Medical Sciences, Zhengzhou