

状、哑铃状,核仁常边集,胞浆中可见片状或块状不规则空泡变性、坏死,线粒体大小不一,粗面内质网扩张,表明肝纤维化形成。秋水仙碱组,肝细胞外形不规则,核形规则,光面内质网增生,可见空泡样变性。大蒜素组,肝脏结构基本接近正常,线粒体发达,未见明显肝细胞坏死。

3 讨论

前期研究表明大蒜素对DMN致大鼠肝纤维化具有防治作用^[1],秋水仙碱作为抗肝纤维化阳性对照药物已得到国内外一致认可,本研究以秋水仙碱为对照,进一步研究大蒜素对肝纤维化模型大鼠肝功能和肝细胞病理学的影响,观察大蒜素作为抗氧化剂对DMN所致肝损伤的防治作用。

DMN是一种具有肝毒性的化学制剂^[2],目前用DMN ip制备急性肝损伤、肝纤维化模型,是国内外一致认可较为理想的制备动物模型的方法^[3]。ip DMN后7d开始出现中央小叶肝细胞纤维化和出血坏死,14d可见中性粒细胞浸润,伴随肝细胞脂肪变性、胆管增生、桥样坏死并可观察到肝纤维化在中央静脉周围形成^[4]。本实验光镜及电镜结果均表明模型组肝纤维化已经形成。研究表明DMN在肝纤维化动物模型中对肝细胞损伤作用与脂质过氧化有关^[5]。大蒜素能明显增强还原型谷胱甘肽(GSH)及其相关酶活性确保GSH氧化还原过程顺利进行,加速对肝内毒物的代谢和灭活^[6]。大蒜素作为抗氧化剂,其抗化学毒物致肝损伤机制主要在于其抗氧化活性而抑制脂质过氧化物对膜结构的损伤。

肝细胞坏死几乎是各型肝硬化形成的基本因素,肝细胞坏死为点状或灶状时则通过肝细胞再生而迅速修复,如反复的点状、灶状坏死,纤维增生则变得活跃,坏死为带状或大块时,由于网状支架塌陷,网状纤维互相聚集,黏合形成胶原纤维。本实验模型组大鼠肝脏切片光镜、电镜下均提示肝细胞内和细胞间大量脂滴沉积,肝细胞脂肪变性,肝细胞之间见炎性细胞浸润。大蒜素可使DMN所致肝细胞脂肪样变性、炎症、坏死明显减轻,生化检查表明其使AST、ALT活性降低,TG、TC含量减少,肝ALB合成增加,表示肝细胞再生和合成功能进一步加强。由此可见,大蒜素较秋水仙碱具有较好的肝脏保护作用,可以阻止肝纤维化的进一步发展,对肝纤维化的防治起积极作用。

References

- [1] Zhu L X, Cheng W C, Liu S Z, et al. Studies on effect of garlicin on experimental liver fibrosis rats [J]. *Chin J Dig* (中华消化杂志), 2003, 23(7): 441-443.
- [2] Huang J A, Ding H. Effect of allitridin on ethanol-induced hepatotoxicity in mice [J]. *World Chin J Dig* (世界华人消化杂志), 1999, 7(5): 427-428.
- [3] George J, Chandrakasan G. Biochemical abnormalities during the progression of hepatic fibrosis induced by DMN [J]. *Clin Biochem*, 2000, 33(7): 563-570.
- [4] George J, Rao K R, Stern R, et al. Dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats the early desposition [J]. *Toxicology*, 2001, 156(2): 129-138.
- [5] Chen Q X, Wang S H, Xu Y C. The effects of DMN on lipid peroxidation in rats [J]. *Cancer* (癌症), 1997, 16(5): 338-340.
- [6] Wang H, Peng R X, Kong R. Effect of allicin on ethanol-induced hepatotoxicity in mice [J]. *J Hyg Res* (卫生研究), 1998, 27(6): 415-416.

青龙衣提取物对荷瘤小鼠细胞膜流动性的影响

季宇彬, 马宏图*

(哈尔滨商业大学药物研究所 博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 探讨青龙衣提取物对S₁₈₀和H₂₂荷瘤小鼠细胞膜脂流动性的影响。方法 选取S₁₈₀和H₂₂作为瘤株,于正常小鼠腋下接种S₁₈₀瘤液,腹腔接种H₂₂瘤液,荷瘤小鼠分别每天ip青龙衣冷醇提取物(191.37、95.68、47.84 mg/kg)、热醇提取物(121.17、60.58、30.29 mg/kg)、环磷酰胺(20 mg/kg,为阳性对照)、生理盐水(阴性对照),给药7d后处死小鼠,制备肿瘤细胞和红细胞悬液。以1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH)为探针剂,用荧光偏振法测定荧光偏振度(P)值和微黏度(η),观察青龙衣提取物对细胞膜脂流动性的影响。结果 青龙衣冷醇、热醇提取物均能使S₁₈₀小鼠的肿瘤细胞膜流动性提高,使H₂₂小鼠的肿瘤细胞膜流动性降低,与生理盐水组比较,两种提取物均能降低H₂₂小鼠红细胞膜流动性($P < 0.05$)。结论 青龙衣提取物可能通过对肿瘤细胞膜的影响起到抑瘤作用,而对维持红细胞膜的稳定性起积极作用。

* 收稿日期: 2004-04-01

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目

作者简介: 季宇彬(1956—),男,博士,教授,博士生导师,多年来一直致力于中药药理、肿瘤药理、分子药理学研究。

关键词: 青龙衣提取物; 膜流动性; 红细胞膜

中图分类号: R 286. 91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)12-1387-04

Effect of Qinglongyi extracts on cell membrane fluidity of tumor-bearing mice

J I Yu-bin, MA Hong-tu

(Postdoctoral Programme, Institute of Materia Medica, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: **Object** To study the effects of the different Qinglongyi extracts (QE) on cell membrane fluidity of S₁₈₀ and H₂₂ tumor-bearing mice. **Methods** The tumor models of S₁₈₀ and H₂₂ were used. The oxter of the normal mice were injected S₁₈₀ tumor cell liquid and the abdomen of those were injected H₂₂ tumor cell liquid. Tumor-bearing mice were given QE by ip cold alcohol extract (191.37, 95.68, 47.84 mg/kg), hot alcohol extract (121.17, 60.58, 30.29 mg/kg), and cytoxan (20 mg/kg as positive control), normal saline (as negative control) for 7 d then the mice were killed, and the tumor cell membrane liquids were made according to the methods. The membrane fluidity was studied with fluorescence polarization (*P*) and microviscosity (η) with 1,6-dipheyl-1,3,5-hexatriene (DPH) as a probe. **Results** The QE by both cold and hot alcohol can make the membrane fluidity of S₁₈₀ tumor cell improve, the membrane fluidity of H₂₂ tumor cell decline. Compared with the normal saline control group, QE by both cold and hot alcohol can make the membrane fluidity of RBC (red blood cell) decline ($P < 0.05$). **Conclusion** The inhibitory effects of QE on tumor cell can be through influencing the tumor cell membrane and the actions of maintaining the membrane stability of RBC can be active.

Key words: Qinglongyi extracts (QE); membrane fluidity; membrane of red blood cell

前期研究表明, 青龙衣提取物具有抗肿瘤作用并对荷瘤小鼠细胞膜唾液酸含量有影响^[1]。为进一步研究青龙衣提取物的抗肿瘤作用及机制, 本实验以 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH) 为荧光探针剂, 通过测定 S₁₈₀ 和 H₂₂ 荷瘤小鼠肿瘤细胞膜和红细胞膜的荧光偏振度 (*P*) 和微黏度 (η), 观察青龙衣提取物对细胞膜流动性的影响。

1 材料

1.1 动物: 昆明种小鼠, 体重 18~22 g, 雌雄兼用, 由黑龙江中医药大学动物室提供。

1.2 药物及试剂: 青龙衣冷醇提取物 (含胡桃醌 45.6%) 及热醇提取物 (含胡桃醌 55.5%) 均由哈尔滨商业大学药物研究所博士后科研工作站自制, 应用时以生理盐水配制。环磷酰胺 (上海旭东海普药业有限公司, 批号 000706); DPH (Sigma), 蛋白定量试剂盒 (购自南京建成生物公司)。

1.3 瘤株: 小鼠肝癌 (H₂₂)、肉瘤 (S₁₈₀) 均由黑龙江肿瘤研究所提供, 本所移植传代。

1.4 仪器: RF-540 荧光分光光度计, 日本岛津公司生产, 低速离心机 (北京离心机厂), 低温高速离心机 (Beckman)。

2 方法

2.1 分组 荷瘤小鼠模型的建立及给药^[2]: 选择体重 (20±2) g 昆明种小鼠, 雌雄各半, 随机分为青龙衣冷醇提取物 (191.37, 95.68, 47.84 mg/kg) 组

青龙衣热醇提取物 (121.17, 60.58, 30.29 mg/kg) 组、环磷酰胺 20 mg/kg 组、生理盐水组, 每组 8 只。各组小鼠于右前腋皮下常规接种 S₁₈₀ 瘤细胞悬液 0.2 mL, 约 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 个细胞 (H₂₂ 瘤细胞悬液由腹腔接种)。小鼠接瘤 24 h 后 ip 给药, 每日 1 次, 连续给药 7 d。停药次日处死动物, 测定相关指标。

2.2 细胞膜的制备

2.2.1 肿瘤细胞膜的制备: 对于实体瘤 S₁₈₀ 型则取瘤组织经研磨稀释制成一定浓度的细胞悬液, 对腹水瘤 H₂₂ 型则抽取小鼠腹水 0.5 mL, 800 r/min 离心 10 min, 弃上清液。加入 0.85% NH₄Cl 除去红细胞, 适量 PBS 洗涤 3 次, 蒸馏水破膜 1 h。再以 3 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 最后将沉淀悬浮在适量 PBS 液中。

2.2.2 红细胞膜的制备: 取小鼠全血, 生理盐水 3 000 r/min 离心, 生理盐水 (1:3) 洗涤 3 次, 悬浮在生理盐水 (1:1) 中。加入 5 mmol/L NaHCO₃ (1:20), 同时加入蛋白酶抑制剂 PM SF, 4 溶血 1 h, 12 000 r/min 离心 30 min, 弃上清液。5 mmol/L NaHCO₃ 洗涤 3 次, 悬浮在 5 mmol/L NaHCO₃、0.15 mol/L NaCl 溶液 (1:1) 中。

2.3 膜流动性的测定

2.3.1 细胞膜的荧光标记: 取新配制的 2 mmol/L DPH 四氢呋喃液 10 μ L, 分别加入 10.0 mL 红细胞 (RBC) 膜缓冲液 (膜蛋白总量 980 μ g/mL) 及

10.0 mL 瘤细胞悬液, 25 ℃ 温浴 30 min, 用 PBS 液洗涤 1 次, 最后将细胞悬浮于 4.0 mL PBS 液中, 即得 DPH 标记的细胞膜。

2.3.2 P 和 η 的测定: 细胞膜的流动性用 P 和 η 表示。 λ_{ex} : 362 nm, λ_{em} : 432 nm, 狭缝 10 nm, 测量温度 25 ℃, 按公式计算 P 值和 η 值^[3]。膜蛋白定量采用考马斯亮蓝法。

3 结果

青龙衣提取物对荷瘤小鼠细胞膜流动性的影

响: 结果见表 1~ 3。与生理盐水组比较, 青龙衣两种提取物均能使 S_{180} 小鼠肿瘤细胞膜的 P 值降低, η 减小, 而膜脂流动性 (L FU) 则增大, 表明膜的流动性在提高; 对于 H_{22} 小鼠则恰恰相反, 青龙衣提取物能使其肿瘤细胞膜流动性降低。结果还可以看出, 与 S_{180} 相比, H_{22} 小鼠肿瘤细胞膜流动性明显升高, 青龙衣提取物对其作用更明显。表 3 结果表明青龙衣提取物对 H_{22} 小鼠的红细胞膜的流动性有降低作用, 但其幅度较小。

表 1 青龙衣提取物对 S_{180} 小鼠肿瘤细胞膜流动性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 1 Effect of QE on tumor cell membrane fluidity of S_{180} mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组 别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	P	η	L FU
生理盐水	-	0.199 0 ± 0.021 1	1.537 8 ± 0.294 5	7.654 5 ± 0.634 8
环磷酰胺	20	0.181 1 ± 0.019 4	1.307 7 ± 0.234 0	9.726 0 ± 0.479 5*
冷醇提取物	191.37	0.181 0 ± 0.018 5	1.312 5 ± 0.253 2	9.564 2 ± 0.513 2*
	95.68	0.184 2 ± 0.017 6	1.339 8 ± 0.213 4	9.231 1 ± 0.485 0*
	47.84	0.189 0 ± 0.019 1	1.395 0 ± 0.265 0	8.612 2 ± 0.594 2*
热醇提取物	121.17	0.175 0 ± 0.017 9	1.230 5 ± 0.215 5	10.653 3 ± 0.462 1*
	60.58	0.179 4 ± 0.018 3	1.279 6 ± 0.195 2	9.986 3 ± 0.512 3*
	30.29	0.190 2 ± 0.019 7	1.412 3 ± 0.207 7	8.632 1 ± 0.433 3

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs NS group

表 2 青龙衣提取物对 H_{22} 小鼠肿瘤细胞膜流动性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 2 Effect of QE on tumor cell membrane fluidity of H_{22} mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组 别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	P	η	L FU
生理盐水	-	0.157 7 ± 0.007 4	1.027 5 ± 0.086 3	14.951 5 ± 1.583 6
环磷酰胺	20	0.176 5 ± 0.007 8	1.249 6 ± 0.089 5	10.511 9 ± 1.646 9*
冷醇提取物	191.37	0.179 0 ± 0.009 8	1.274 1 ± 0.101 9	10.017 3 ± 1.675 6*
	95.68	0.180 8 ± 0.006 9	1.296 9 ± 0.082 9	9.887 5 ± 1.502 1*
	47.84	0.154 7 ± 0.006 5	1.015 0 ± 0.078 5	14.519 1 ± 1.425 5
热醇提取物	121.17	0.175 1 ± 0.010 2	1.233 0 ± 0.112 9	10.709 8 ± 1.713 4*
	60.58	0.167 9 ± 0.008 9	1.184 7 ± 0.105 6	11.479 2 ± 1.694 1*
	30.29	0.167 7 ± 0.008 3	1.147 0 ± 0.095 6	11.828 9 ± 1.601 2

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs NS group

表 3 青龙衣提取物对 H_{22} 小鼠红细胞膜流动性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 3 Effect of QE on RBC membrane fluidity of H_{22} mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组 别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	P	η	L FU
生理盐水	-	0.226 7 ± 0.006 3	1.945 8 ± 0.105 2	5.331 4 ± 0.432 7
环磷酰胺	20	0.237 4 ± 0.008 9	2.139 4 ± 0.167 9	4.681 2 ± 0.583 1*
冷醇提取物	191.37	0.226 4 ± 0.007 4	1.939 1 ± 0.132 2	4.610 9 ± 0.453 1*
	95.68	0.235 0 ± 0.006 8	2.094 9 ± 0.113 9	4.825 7 ± 0.419 9*
	47.84	0.238 8 ± 0.008 5	2.167 4 ± 0.154 8	5.341 7 ± 0.496 0
热醇提取物	121.17	0.236 5 ± 0.004 3	2.117 4 ± 0.080 2	4.715 9 ± 0.256 0*
	60.58	0.232 0 ± 0.009 2	2.048 1 ± 0.195 5	5.052 8 ± 0.596 0*
	30.29	0.227 3 ± 0.007 9	1.864 5 ± 0.127 8	5.686 7 ± 0.574 1

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs NS group

4 讨论

前期实验表明青龙衣冷、热醇提取物均对实验性肿瘤小鼠确有明显的抑瘤作用^[1]。已有的研究表

明, H_{22} 小鼠肿瘤细胞膜的流动性与正常小鼠相比异常增高, 而 S_{180} 小鼠的肿瘤细胞膜流动性比正常低^[3,4]。本实验研究表明, 青龙衣两种提取物对 S_{180}

小鼠的肿瘤细胞膜流动性有显著提高作用,而对 H₂₂ 小鼠的肿瘤细胞膜流动性有显著降低作用,表明青龙衣对肿瘤细胞具有一定的抑制作用,其作用之一是改变了细胞膜的力学特征,从而干扰肿瘤细胞膜的功能而达到抗肿瘤的目的,提示青龙衣对肿瘤细胞膜的作用可能是其抗肿瘤作用的机制之一。

研究发现,许多疾病除实质性器官的细胞膜病变外,常伴有红细胞膜功能的异常^[5]。细胞膜的流动性是细胞膜的主要动力学特性。许多研究表明,细胞膜的这一特性与细胞的发育、分化、增殖、免疫反应和信息传递等生物学基本功能密切相关^[6]。在细胞周期的不同时期,代谢过程中疾病条件下以及药物作用后都会有流动性的变化。但对恶性肿瘤患者,红细胞膜的改变报道很少。本实验表明,荷瘤小鼠红细胞膜的流动性增加,青龙衣提取物可使其流动性降低,这与有关报道是相符的^[7,8],表明肿瘤的发生及青龙衣提取物的治疗对小鼠红细胞膜组份、分布及

膜中胆固醇与磷脂的比值都有一定的影响。

References:

- [1] Ji Y B, Ma H T, Yang B, et al. Antitumor effects of different extract fractions from Qinglongyi [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(10): 1145-1147.
- [2] Chen Q. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1995.
- [3] Lu S L. Tumor membrane fluidity [J]. *Foreign Med Sci—Oncology* (国外医学·肿瘤学分册), 1987, 1: 20.
- [4] Ji Y B, Gao S Y, Kong Q Q. Effect of sea-algae polysaccharide to tumor cell membrane fluidity [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(5): 435-437.
- [5] Dong W. Red blood membrane and disease study progress [J]. *Physiol Sci* (生理科学), 1985, 8(5): 83.
- [6] Shnitzky M. Microviscosity and protein mobility in biological membrane [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1976, 433: 133.
- [7] Li Z, Li J S. Effects of QINGREJIEDU prescription to red blood membrane fluidity and plasma cAMP level [J]. *Shandong J Biomed Eng* (山东生物医学工程), 2001, 20(3): 9-12.
- [8] Xu L S. Effects of antitumor drug croton alkali and platino to red blood membrane [J]. *Chin J Oncol* (中华肿瘤学杂志), 1995, 17(2): 115-117.

雾化吸入复方丹参注射液对肺切除病人术后痰流变学性质的影响

王建荣, 谷岩梅, 马燕兰*

(解放军总医院 护理部, 北京 100853)

摘要: 目的 探讨超声雾化吸入复方丹参注射液对降低肺叶切除病人术后呼吸道黏液流变学性质的影响。方法 对照组病人常规方案雾化吸入蒸馏水, 实验组病人超声雾化吸入复方丹参注射液。结果 实验组术后(除第 2 日)痰黏性明显低于对照组 ($P < 0.01, 0.001$), 术后 1~2 d 痰弹性明显低于对照组 ($P < 0.001$)。两组病人术后痰屈服应力差异不显著。实验组患者的心率、血压及血氧饱和度在雾化吸入复方丹参注射液前、后 30 min 无明显变化。结论 超声雾化吸入复方丹参注射液有降低肺叶切除病人术后痰黏弹性的作用, 是一种安全可靠的、较常规雾化吸入更为有效的术后排痰措施。

关键词: 肺切除术; 痰流变学; 复方丹参注射液; 雾化吸入

中图分类号: R 286.4

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)12-1390-03

Effect of aerosol inhalation of Compound Salvia Miltiorrhiza Injection on sputum rheology of postoperative patients after pneumotectomy

WANG Jian-rong, GU Yan-mei, MA Yan-lan

(Nursing Department, General Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100853, China)

Abstract: **Object** To study the effects of aerosol inhalation of Compound *Salvia Miltiorrhiza* Injection (CSM I) on the sputum rheology properties in respiratory tract of postoperative patients after pneumotectomy. **Methods** Patients in control group inhaled distilled water by ultrasonic nebulizer, patients in the experiment group inhaled CSM I by the same ultrasonic nebulizer. **Results** The sputum viscosity on the first, third, fourth, and fifth day postoperation ($P < 0.01, 0.001$) and sputum elasticity on the first and second day postoperation ($P < 0.001$) in experiment groups were much lower than those in the control

* 收稿日期: 2004-01-26

基金项目: “九五”全军医药卫生科研基金资助项目 (98M143)

作者简介: 王建荣(1957—), 女, 山西浑源人, 硕士学位, 护理部主任, 主任护师, 教授, 主要从事外科护理和护理管理研究。

Tel: (010) 66939766 Fax: (010) 66939476 E-mail: wangjr@plagh.com.cn