

力,增强机体免疫力,防止发生菌群失调。我们通过给 COPD 患者口服中药止咳清肺口服液,检查痰液中性粒细胞、IL-8、TNF- α 的变化来评价中药治疗 COPD 慢性炎症的作用。结果表明,治疗组应用止咳清肺口服液后临床症状、肺功能指标均显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而对照组治疗前后变化不明显。痰液中细胞总数、中性粒细胞和 IL-8、TNF- α 水平与治疗前比均明显降低($P<0.01$)。

参考文献

1 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾

病诊断指南.中华结核和呼吸杂志,2002,25(8):453~460.

- 2 Keatings VM, Collins PD, Scott DM, et al. Differences in interleukin 8 and tumor necrosis factor- α in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. Am J Respir Crit Care Med, 1996, 153(2):530~534.
- 3 Rutgers SR, Timens W, Kaufmann HF, et al. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. Eur Respir J, 2000, 15(1):109~115.
- 4 Griffiths CE, Voorhees JJ, Nickoloff BJ. Characterization of intercellular adhesion molecular-1 and HLA-DR expression in normal and inflamed skin: modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor. J Am Acad Dermatol, 1989, 20(4):617~629.

旱黑口服液延缓皮肤组织衰老的作用

丁玉琴* 刘萍*

旱黑口服液是由墨旱莲和黑豆组成,主要有养肝益肾、凉血止血的功效,《本草纲目》记载墨旱莲乌须发,益肾阴,味甘、酸、寒。归肾、肝经,临床观察其有抗衰老作用。我们采用 D-半乳糖衰老模型小鼠观察了旱黑口服液对皮肤衰老相关指标的影响。现将结果报告如下。

1 材料

墨旱莲、黑豆购于河南省南阳市医药公司,由南阳医学高等专科学校药剂教研室制备成旱黑口服液;D-半乳糖购于上海恒信制药厂,批号 20010218,用灭菌的生理盐水配成 5% 浓度,丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、Na⁺-K⁺-ATP 酶、超氧化物歧化酶(SOD)、羟脯氨酸检测试剂盒以及蛋白定量试剂盒均由南京建成生物制品研究所生产。6~8 周龄昆明种小鼠,体重(22±2)g,雌雄兼用,由南阳医学高等专科学校实验动物中心提供。饲养环境安静,室温(20±1)℃,自然照明。

2 方法

2.1 旱黑口服液的制备:旱黑口服液是由墨旱莲、黑豆按比例组方,煎制、过滤、浓缩至 1g/ml 的水煎剂(以生药计,下同),高压灭菌,4℃ 冰箱保存备用。

2.2 动物分组、造模及给药:取昆明种小白鼠 50 只,称重随机分成 5 组,每组 10 只。分空白对照组、造模组、旱黑口服液高浓度组、旱黑口服液中浓度组、旱黑口服液低浓度组。空白对照组、造模组每日生理盐水 0.5ml 灌胃;旱黑口服液高浓度组每日旱黑口服液 20g/kg 灌胃、旱黑口服液中浓度组每日旱黑口服液 10g/kg 灌胃、旱黑口服液低浓度组每日旱黑口服液 6g/kg 灌胃。除空白对照组每天给予 0.9% NaCl 溶液 0.3ml 颈背部皮下注射;其余各组均给予 5% D-半乳糖 0.3ml 颈背部皮下注射。连续给药 42 天,自由取食,饮用自来水,室温保持(20±1)℃,自然光照下饲养。

2.3 标本取材方法:在末次给药造模干预 2 小时后,断头处死动物,取全血,取背部皮肤去除皮下脂肪和其他结缔组织分 3 部分,(1)皮肤组织块 100mg 左右,经预冷生理盐水漂洗,拟作皮肤组织匀浆用。(2)用 1:1 丙酮-乙醚脱脂,切碎晾干,精密称取

200mg。拟作羟脯氨酸含量的测定。(3)取两肩胛间区皮肤 1cm×2cm 做组织切片用。

2.4 皮肤组织 SOD、MDA、GSH-Px 酶测定:参照试剂盒说明书方法步骤测定。取经预冷生理盐水漂洗并以滤纸拭干的组织块 100mg 左右,用眼科剪剪碎组织块后倒入匀浆器中,量取该组织块 9 倍重量预冷生理盐水,先取少量倒入装有组织块内切式匀浆中,约匀浆 15 分钟(在冰水中进行),然后将余下的生理盐水加入,制成 10% 的组织匀浆。

2.5 小鼠皮肤切片:每只小鼠在背部肩胛之间去毛取一块皮肤约 1cm×2cm,用 20% 的甲醛溶液固定,HE 染色切片,在显微镜下进行皮肤组织观察。

3 结果

3.1 旱黑口服液对衰老小鼠皮肤组织中抗氧化指标的影响:结果显示,模型组与空白对照组比较皮肤中 MDA 明显升高($P<0.01$),SOD、GSH-Px 活性、羟脯氨酸含量减少($P<0.01$ 或 $P<0.05$),提示造模成功。旱黑口服液中、高剂量组使衰老小鼠皮肤中 SOD、GSH-Px 活性、羟脯氨酸的含量升高,MDA 含量降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。提示旱黑口服液有较强的抗氧化和清除自由基、有延缓皮肤衰老的作用(相关资料略)。

3.2 组织切片结果:镜下可见,模型组小鼠皮肤变薄,表皮角化上皮角缩短,真皮层成纤维细胞数目减少,汗腺、皮脂腺、毛囊萎缩,数目减少。旱黑口服液组小鼠各剂量皮肤变厚,表皮角化上皮角延长,真皮层成纤维细胞数目增多,汗腺、皮脂腺、毛囊数目增多。提示旱黑口服液可明显对抗衰老模型小鼠的皮肤衰老。

4 讨论

本实验采用的 D-半乳糖致小鼠衰老模型为抗衰老研究中常用的模型,结果稳定可靠,本实验亦证实了该模型可导致小鼠皮肤出现明显衰老。造模 2 周后我们观察到造模组小鼠行动迟缓,小鼠皮毛松散、无光泽;结果显示,造模组小鼠皮肤中 MDA 明显升高, SOD、GSH-Px 活性降低,羟脯氨酸含量和成纤维细胞数目减少。而经过旱黑口服液治疗后衰老小鼠皮毛浓密光亮。皮肤抗氧化测试中 SOD、GSH-Px 活性降低,其中高剂量组的作用尤为明显($P<0.01$),说明旱黑口服液有较强的抗氧化和清除自由基的作用,同时还可以刺激皮肤成纤维细胞活性,增加羟脯氨酸含量,促进胶原蛋白合成,延缓皮肤衰老。

* 南阳医学高等专科学校,河南省南阳市车站南路 505 号 (473058)

收稿日期:2005-06-06