

2 结果

2.1 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH、GnRH 受体蛋白表达的影响

表 1 示,染毒后下丘脑 GnRH 及受体蛋白表达上调,滋阴泻火中药可使 GnRH 及受体蛋白表达上调。

表 1 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH 及其受体蛋白表达的影响 (μm^2 , $\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GnRH 阳性细胞面积	GnRH 受体阳性细胞面积
染毒组	10	7128.56 $\pm$ 721.03*	8218.58 $\pm$ 612.31*
治疗组	10	3452.14 $\pm$ 628.12 [#]	4281.56 $\pm$ 721.34 [#]
对照组	10	1358.73 $\pm$ 278.82	2825.38 $\pm$ 328.12

注:同对照组比较, * $P<0.05$; 同染毒组比较, $\#P<0.05$

2.2 滋阴泻火中药对垂体 GH、FSH、LH 蛋白表达的影响

表 2 示,染毒后垂体 FSH、LH 蛋白表达上调,对 GH 的蛋白表达无明显影响;滋阴泻火中药可使 FSH、LH 蛋白表达下调。

表 2 滋阴泻火中药对 GH、FSH、LH 的蛋白表达的影响 (μm^2 , $\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GH 阳性细胞面积	FSH 阳性细胞面积	LH 阳性细胞面积
染毒组	10	9285.23 $\pm$ 765.32	7432.87 $\pm$ 872.15*	8128.45 $\pm$ 721.15*
治疗组	10	9389.18 $\pm$ 526.38	4612.58 $\pm$ 421.38 [#]	5134.28 $\pm$ 821.43 [#]
对照组	10	9924.36 $\pm$ 282.53	2415.16 $\pm$ 526.26	1421.18 $\pm$ 526.32

注:同对照组比较, * $P<0.05$; 同染毒组比较, $\#P<0.05$

2.3 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH 及其受体 mRNA 表达的影响

表 3 示,染毒可使 GnRH 及受体 mRNA 表达增加,滋阴泻火中药可使 GnRH 及受体 mRNA 表达减少。

表 3 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH 及受体 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GnRH mRNA 表达	GnRH 受体 mRNA 表达
染毒组	10	0.5132 $\pm$ 0.007*	0.5018 $\pm$ 0.1248*
治疗组	10	0.3982 $\pm$ 0.066 [#]	0.3712 $\pm$ 0.1124 [#]
对照组	10	0.1258 $\pm$ 0.008	0.2022 $\pm$ 0.1086

注:同对照组比较, * $P<0.05$; 同染毒组比较, $\#P<0.05$

2.4 滋阴泻火中药对 GH、FSH、LH mRNA 表达的影响

表 4 示,染毒可使 FSH、LH mRNA 表达增加,滋阴泻火中药可使 FSH、LH mRNA 表达减少,对 GH mRNA 表达无影响。

表 4 滋阴泻火中药对 GH、FSH、LH mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GH mRNA	FSH mRNA	LH mRNA
染毒组	10	0.2823 $\pm$ 0.1120	0.6428 $\pm$ 0.072*	0.5556 $\pm$ 0.078*
治疗组	10	0.2128 $\pm$ 0.1723	0.3518 $\pm$ 0.046 [#]	0.3729 $\pm$ 0.082 [#]
对照组	10	0.2189 $\pm$ 0.1011	0.2325 $\pm$ 0.063	0.2158 $\pm$ 0.079

注:同对照组比较, * $P<0.05$; 同染毒组比较, $\#P<0.05$

3 讨论

研究发现,给予大鼠口服 BPA 后,用高效液相色谱法可在血浆、下丘脑、垂体、子宫、卵巢、及脑脊液等多个器官中检测到 BPA,提示 BPA 在体内分布广泛,并且可穿过血脑屏障。分别给予大鼠 3 种不同剂量 (0.1、10、100mg/kg) 的 BPA 口服,30min 可在下丘脑和垂体及血浆中检测到 ^{14}C -BPA。有研究显示, BPA 可使动物下丘脑 GnRH 及其受体的 mRNA 表达增加,且有剂量依赖性。而 NP 则对 GnRH 及其受体的 mRNA 表达无明显影响。也有研究显示, BPA 可以降低垂体 LH 的分泌,这与本研究的结论不同,可能与 BPA 在体内的浓度有关。本研究显示, EEDs 可以上调大鼠下丘脑 GnRH 及 GnRH 受体的基因和蛋白表达,但对垂体 GH 的表达无影响,提示 EEDs 可能使下丘脑垂体性腺轴提前启动,而对生长轴影响不大。

本研究显示滋阴泻火中药可以下调 EEDs 染毒动物下丘脑 GnRH 及垂体 GnRH 受体的基因和蛋白表达,继而下调 LH 和 FSH,影响外周靶器官。以往的临床研究表明,滋阴泻火中药可治疗 EEDs 导致的儿童性早熟,使其子宫、卵巢体积明显缩小,可能与滋阴泻火中药直接作用于外周靶器官有关。本研究表明滋阴泻火中药可作用于 EEDs 染毒大鼠的下丘脑垂体,使其 GnRH 分泌减少, LH 和 FSH 分泌减少,这可能是中药的治疗机制之一。

* 上海市松江区中心医院儿科 (201600)

藿香单品对腹泻型肠易激综合征大鼠胃肠激素的影响

吕妍* 李丹* 唐方*

肠易激综合征 (IBS) 是临床常见的胃肠功能性疾病,按照罗马 II 标准依据其症状基础分为腹泻型 (D-IBS)、便秘型 (C-IBS) 和交替型 (A-IBS) 3 种类型。IBS 属中医的“泄泻”、“便秘”、“腹痛”等病症范畴,中医药具有治疗优势,有关中药治疗 IBS 临床疗效多见报道并引起关注。本研究选择藿香水提液、挥发油 2 成分作为实验用药,旨

在通过 D-IBS 大鼠血浆及结肠组织胃动素 (MOT)、生长抑素 (SS) 含量变化,从激素水平探讨芳香类药物调节 D-IBS 肠运动功能作用机制。

1 材料与仪器

1.1 动物

SPF 级 Wistar 大鼠,平均体重 (160 $\pm$ 10) g 雌性。购

于中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心, 许可证号 SCXK-(军)2002-001。实验大鼠平衡饲养 3 天后用于实验。

1.2 药物

番泻叶, 产地广西, 由天津医科大学总医院中药房提供; 藿香, 产地广东, 购自天津医科大学总医院中药房; 藿香水提液, 由天津医科大学总医院中药制剂室低温煎制而成; 藿香挥发油, 采用蒸馏法提取, 由天津中新药业集团有限公司达仁堂制药厂提供。

1.3 试剂

MOT 放免试剂盒, 北京普尔伟业生物科技有限公司; SS 放免试剂盒, 北京普尔伟业生物科技有限公司; 10% 水合氯醛, 天津医科大学总医院制剂室。

1.4 主要仪器

放射免疫 γ 计数器, 中国科大中佳公司; TL-18M 台式高速冷冻离心机, 上海; 电子天平, 日本; 18cm $\times$ 25cm 的木板。

2 实验方法

2.1 分组

实验动物随机分为空白对照组 (N)、模型组 (C)、藿香水提液 10 倍组 (HXW10)、藿香水提液 20 倍组 (HXW20)、藿香挥发油 10 倍组 (HXO10)、藿香挥发油 20 倍组 (HXO20)、藿香水油混合 10 倍组 (HXWO10)、藿香水油混合 20 倍组 (HXWO20) 共 8 组, 每组 8 只。

2.2 药物制备

藿香水提液制成 1g/ml 原液, 藿香挥发油制成含生药浓度 5g/100g 原液, 冷藏待用, 将两组原液于投药前 1h 按比例稀释, 水提液用蒸馏水稀释, 挥发油用 Tween 80 稀释。

2.3 模型制备

N 组自由饮用蒸馏水, 正常进食, 未做任何处理。C 组用药组参照文献 [1] 进行改良, 将 C 组、用药组大鼠灌服 25℃ 番泻叶水煎剂 2ml 5min 后, 使用统一拉力强度橡皮筋 (5 圈), 将大鼠四肢末端固定于 18cm $\times$ 25cm 的木板上, 大鼠仰面向上, 使其活动受限, 木板直立 90° 放置, 2h 后解除束缚。用药组按 200mg/kg 体重的 10 倍、20 倍计算, 分别为 2000mg/kg (HXW10、HXO10、HXWO10)、4000mg/kg (HXW20、HXO20、HXWO20) 灌胃, 各组大鼠灌胃量均按照 1ml/100g 体重计算, 空白对照组和模型组给予高压灭菌蒸馏水, 各组连续灌胃 6 天。

2.4 血浆的制备及结肠组织匀浆制备

2.4.1 血浆制备 模型制备结束, 各组大鼠禁食 12h 经 10% 水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血 2ml 注入含 7.5% EDTA 二钠 30 μ l 和抑肽酶 40 μ l 的试管中, 混匀, 4℃ 静置 3h 4℃ 3000r/min 离心 10min 分离血浆, -20℃ 保存待

测。

2.4.2 结肠组织匀浆制备 各组大鼠取血后, 断颈处死, 剖开腹腔, 摘取回盲部 2cm 处的结肠组织 100mg 纵行剖开, 4℃ 生理盐水冲洗, 滤纸吸干, 尽快加入 1ml 生理盐水碾磨, 制成 10% 的组织匀浆, 4℃ 3000r/min 离心 15min 留取上清液, -20℃ 保存待测。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件, 实验数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析。

3 实验结果

3.1 血浆 MOT 含量

表 1 示, C 组血浆中 MOT 含量明显高于 N 组 ($P < 0.01$)。藿香挥发油和水油混合各浓度组均可有意降低 D-IBS 模型鼠血浆 MOT 含量, 其中 HXO20 组和 HXWO10 组与 C 组相比有统计学差异 ($P < 0.05$)。而藿香水提液对 D-IBS 模型鼠血浆 MOT 含量无改善 ($P > 0.05$)。

3.2 结肠组织 SS 含量

表 1 示, 与 N 组相比, C 组结肠黏膜组织 SS 含量显著上升 ($P < 0.01$)。除 HXWO20 倍组外, 余各用药组均有降低 D-IBS 模型鼠结肠黏膜 SS 含量的趋势, 其中 HXW10 组与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), HXO20 组有显著差异 ($P < 0.01$)。

表 1 藿香对 D-IBS 大鼠 MOT、SS 含量变化的影响 ($\text{pg/ml } \bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	MOT	SS
N	8	63.407 $\pm$ 10.164	80.04 $\pm$ 13.042
C	8	106.6 $\pm$ 10.141*	119.198 $\pm$ 11.159*
HXW 10	8	114.468 $\pm$ 7.519	90.492 $\pm$ 9.029 Δ
HXW 20	8	104.668 $\pm$ 14.66	117.165 $\pm$ 11.94
HXO10	8	89.835 $\pm$ 11.304	107.085 $\pm$ 15.537
HXO20	8	79.25 $\pm$ 18.723 Δ	70.772 $\pm$ 7.221 $\Delta\Delta$
HXWO10	8	82.177 $\pm$ 14.602 Δ	98.647 $\pm$ 15.339
HXWO20	8	96.622 $\pm$ 13.084	130.048 $\pm$ 23.69

注: 与 N 比较, * $P < 0.01$; 与 C 比较, $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

4 讨论

胃肠激素是指分布在胃肠道管壁上和胰腺内的嗜银细胞分泌的一组小分子或肽类高效能生物活性物质, 种类繁多, 正常人体内各种兴奋性及抑制性胃肠激素处于一种平衡状态, 其与神经系统一起调节消化器官的运动、分泌和吸收, 对其他器官也有广泛的影响, 包括对人的精神及行为的调节。MOT 主要分布于十二指肠和上段空肠。胃动素为消化间期激素, 外源性或内源性胃动素均可引起下食管括约肌紧张性收缩, 引起胆囊及 Oddi 括约肌收缩及十二指肠运动, 加强回肠及结肠运动, 使结肠的压力和电活动增强。SS 作为胃肠激素, 由胃肠分泌细胞 (D 细胞) 产生和分泌, 广泛分布于胃肠道的肠肌神经丛和中间神经元的细胞体和神经纤维中, 并大量分布于

中枢神经系统。SS对消化道的生物作用均为抑制性作用。主要抑制各种胃肠道激素、胃酸分泌,抑制胃肠道及胆道平滑肌的运动,减少小肠对水、电解质及营养物质的吸收。目前,IBS和SS关系的研究结果不尽一致。多数文献报道,IBS患者血浆和结肠黏膜中SS水平均显著高于空白对照组,提示IBS患者可能存在内分泌细胞分泌SS的异常增多。腹泻型IBS患者肠黏膜中SS含量的升高,可能与继发于胃肠运动的增强或副交感神经的兴奋相关。

以藿香为代表的芳香类药物对胃肠运动具有多方位调节作用。但该作用的发挥是否与胃肠激素相关联尚未见报道。为此,选择芳香类代表药物—藿香水煎剂、挥发油²成分,通过对D-IBS模型鼠血浆及结肠黏膜中MOT、

SS水平进行了比较观察。结果表明,藿香水提液和挥发油均可有意降低D-IBS模型鼠血浆MOT含量,结肠黏膜组织SS含量,其中尤以藿香挥发油4000mg/kg剂量组作用显著($P<0.01$)。由此证实,藿香对胃肠动力的调节作用,尚包括胃肠激素的参与调节。

参考文献

- [1] Williams CL, Villar RG, Peterson JM, et al. Stress induced changes in intestinal transit in the rats-A model for irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 1988, 94 (3): 611—621.

基金项目:天津市科委科技创新专项基金项目(07FDZDSH01001)

* 天津医科大学总医院中医科(300052)

葛根素预处理对心脏瓣膜置换术中血清肌钙蛋白-T及IL-6、IL-8浓度的影响

周玉娟* 魏继承* 张建军* 陈跃*

尽管心肌缺血再灌注损伤的机制目前还不十分清楚,但大量证据表明细胞因子失衡及全身炎症反应综合征(SRS)在其发生发展中起着重要作用,通过调控致炎性细胞因子的表达可有效减轻损伤。本研究观察了葛根素预处理对体外循环(CPB)下成人心脏瓣膜置换手术中心肌损伤标志物血清肌钙蛋白-T及炎症细胞因子IL-6、IL-8浓度的影响。

1 材料与方法

1.1 实验对象

选择2006年12月~2007年8月ASAⅡ~Ⅲ级、NY-HAⅠ~Ⅱ级的成年风湿性心脏病患者40例。随机分为葛根素预处理组(实验组20例)和生理盐水组(对照组20例)。实验组男/女性别比为5/5例,年龄(35.4 ± 11.6)岁,体重(56.3 ± 7.5)kg;对照组男/女性别比为5/5例,年龄(37.3 ± 8.8)岁,体重(55.6 ± 9.3)kg。

1.2 麻醉与体外循环

术前半小时常规肌肉注射安定0.2mg/kg和东莨菪碱 $6\mu\text{g/kg}$ 。入室后静脉输注极化液250ml加环磷酰苷40mg。监测无创血压(NBP)、心电图(ECG)、脉氧饱和度(SpO_2)及呼末二氧化碳浓度(ETCO_2)。静脉注射咪达唑仑 $0.1\sim0.2\text{mg/kg}$ 、维库溴铵 $0.15\sim0.2\text{mg/kg}$ 、芬太尼 $5\sim10\mu\text{g/kg}$ 完成麻醉诱导,气管内插管后经颈内静脉作深静脉穿刺置管监测中心静脉压(CVP),经桡动脉穿刺置管监测直接动脉压(IBP)。麻醉维持均采用芬太尼加咪唑安定加维库溴铵静脉内连续输注(芬太尼速率 $0.05\sim0.1\mu\text{g/kg}\cdot\text{min}$)。术中定期、不定期监测血气、血电解质、Hb、红细胞压积(Hct)、ACT等。两组均采用膜肺及

全胶体液预充,且使用相同配方高钾停搏液冠脉灌注冷停跳。CPB期间鼻咽温度降至(28 ± 0.3) $^{\circ}\text{C}$ 。Hct控制在(23 ± 2)%,动脉血二氧化碳分压(PaCO_2)维持在 $35\sim38\text{mmHg}$ 。

1.3 葛根素的准备与使用

患者入室后,将注射用葛根素粉剂(安欣达,浙江震元制药有限公司)0.4g用生理盐水稀释至10ml实验组以 4mg/kg 抽取药液并加入上述极化液静脉输注,对照组则加入等量生理盐水输注。CPB前全部输入。

1.4 血管活性药物的使用

主动脉开放后,经中心静脉连续输注多巴胺 $5\sim10\mu\text{g/kg}\cdot\text{min}$ 、硝普钠 $1\sim3\mu\text{g/kg}\cdot\text{min}$ 按需调整。

1.5 临床观察与标本采集

采用双盲法观察。连续监测并在CPB前、主动脉开放后1h、2h、4h记录CVP、IBP以及HR。经动脉导管(A-line)采集两组血标本,4ml/次,采集时点均为CPB前(T_1);主动脉开放后1h(T_2);主动脉开放后2h(T_3);主动脉开放后4h(T_4)。抽取后立即注入干燥肝素抗凝试管中, -20°C 冷藏,采集完成后经高速离心(3000r/min ,10min),取上层血清注入PT管,于 -80°C 冻存。

1.6 实验室检测

血清心肌特异性肌钙蛋白-T(specific myocardial troponinT, c-TNT)浓度采用电化学发光法测定;血清IL-6、IL-8浓度采用酶联免疫吸附实验(ELISA)测定。

1.7 统计学结果

计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较应用单因素方差分析,组内比较应用配对t检验。所有分析采用