

- [2] 戴令娟, 侯杰, 蔡后荣, 等. 川芎嗪当归治疗肺间质纤维化的实验研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1996, 19 (1): 26-28.
- [3] 朱建伟, 李贵海, 丹参、当归对小鼠肺纤维化的抑制作用 [J]. 山东中医学院学报, 1995, 19 (4): 267-269.

- [4] 刘卫敏, 徐启勇, 林宇辉, 等. 浓当归注射液对博莱霉素致鼠肺纤维化治疗作用的研究 [J]. 医学新知杂志, 2001, 11 (1): 20-23.

水蛭、疏血通、甘利欣对博莱霉素小鼠肺纤维化的干预作用

Intervention effect of leech and drugs “Shuxuetong” and “Ganlixin” on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice

盛丽, 王莉, 姚岚, 马智, 陈颖萍

SHENG Li, WANG Li, YAO Lan, MA Zhi, CHEN Ying-ping

(辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

摘要: 采用气管内注入博莱霉素 (BLM₅) 复制小鼠肺纤维化模型, 以肺指数、肺组织病理及肺组织羟脯氨酸 (HYP) 为观测指标, 观察水蛭、疏血通、甘利欣对小鼠实验性肺纤维化的干预作用。结果显示, 水蛭可以降低肺指数, 改善肺炎及肺纤维化程度, 降低肺组织 HYP 含量。提示水蛭粉剂能缓解 BLM₅ 所致的小鼠肺纤维化。

关键词: 肺纤维化; 水蛭; 疏血通; 甘利欣; 小鼠

中图分类号: R563 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2006)03-0185-03

肺间质纤维化是多种慢性肺部疾病的共同结局, 是一种终末性质的肺纤维化过程, 呈进行性发展, 最终因呼吸衰竭而死亡。本实验观察中药水蛭粉剂、疏血通注射剂、甘利欣注射剂对实验性小鼠肺纤维化的干预作用, 以探讨其临床价值。

1 材料与与方法

1.1 材料

昆明种小白鼠, 雌性 75 只, 体重 18~22 g, 中国医科大学实验动物室提供。博莱霉素 (BLM₅), 哈尔滨博莱制药有限公司生产, 批号: 04040201, 8 mg/支; 羟脯氨酸测试盒南京建成生物工程研究所。水蛭粉剂经沈阳市中医研究所中药鉴定室鉴定。疏血通注射液, 牡丹江友博药业有限责任公司, 批号: 041107-1。甘利欣注射剂, 正大天晴药业有限公司, 批号: DJ1224。

1.2 方法

将小鼠随机分为 5 组, 正常组、模型组、水蛭组、甘利欣组、疏血通组。按 Szapiel 法^[1]制造模型。模型组及各治疗组气管内注入 BLM₅ 8.5 mg/kg, 正常组气管内注入等容生理盐水。造模 24 h 后, 开始给药干预。正常组、模型组以等容积生理盐水灌胃, 水蛭组 1.28 g/kg 灌胃, 甘利欣组 16.2 mg/kg 腹腔注射, 疏血通组 0.8 ml/kg 腹腔注射。分别于 7、14、28 d 处死动物, 每组每次取 5 只。取全肺组织称重, 测定肺质量系数。肺质量系数=肺重/体重。取右肺下叶组织做病理。取右肺中叶组织 0.02 g, 于 -20℃ 冰箱保存, 备测定肺组织羟脯氨酸。

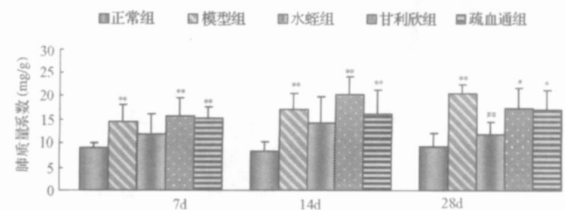
1.3 统计方法

实验统计数据计量资料, 用 *t* 检验。使用 SPSS10.0 软件统计。

2 结果

2.1 肺质量系数变化比较

7 d, 除水蛭组外各组与正常组比较肺质量系数均明显增加 ($P < 0.01$); 各用药组与模型组间差异无显著性 ($P > 0.05$)。14 d, 除水蛭组外, 各组与正常组比较差异均有显著性 ($P > 0.01$); 与模型组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。28 d, 除水蛭组外, 各组与正常组间差异均有显著性 ($P < 0.05$); 水蛭组与模型组比较差异有显著性 ($P < 0.05$); 余各用药组与模型组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。见图 1。



与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;

与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图 1 各组肺质量系数比较

2.2 肺病理形态学变化

肉眼观察肺组织外观形态, 正常组双肺呈淡粉色, 表面光滑, 弹性好, 模型组肺体积缩小, 质地硬, 颜色暗红。各用药组肺颜色略暗, 触之弹性尚好, 体积无明显缩小。显微镜下病理学所见, 正常组各期肺结构清晰, 仅有少量炎细胞浸润。模型组各期均有肺炎改变, 以 7 d 最重。肺泡腔及间质大量炎细胞浸润、间隔水肿、增宽; 14 d、28 d 肺炎有所减轻, 间质胶原纤维增生呈带状, 间隔增厚, 肺泡腔变窄, 肺组织胶原沉积, 形成肺纤维化改变。水蛭组肺炎及肺纤维化均较模型组轻, 7 d 呈中、重度肺炎改变, 14 d、28 d 少量胶原纤维增生, 间隔轻度增宽, 肺泡结构接近正常。甘利欣组与疏血通组, 7 d 呈中、重度肺炎改变, 14 d、28 d 胶原纤维增生, 间隔增宽, 肺泡结构部分破坏, 呈中度肺纤维化改变。见图 2。

2.3 肺组织匀浆羟脯氨酸测定

收稿日期: 2005-10-10; 修回日期: 2006-02-16

作者简介: 盛丽 (1959-), 女, 主任中医师, 博士在读。

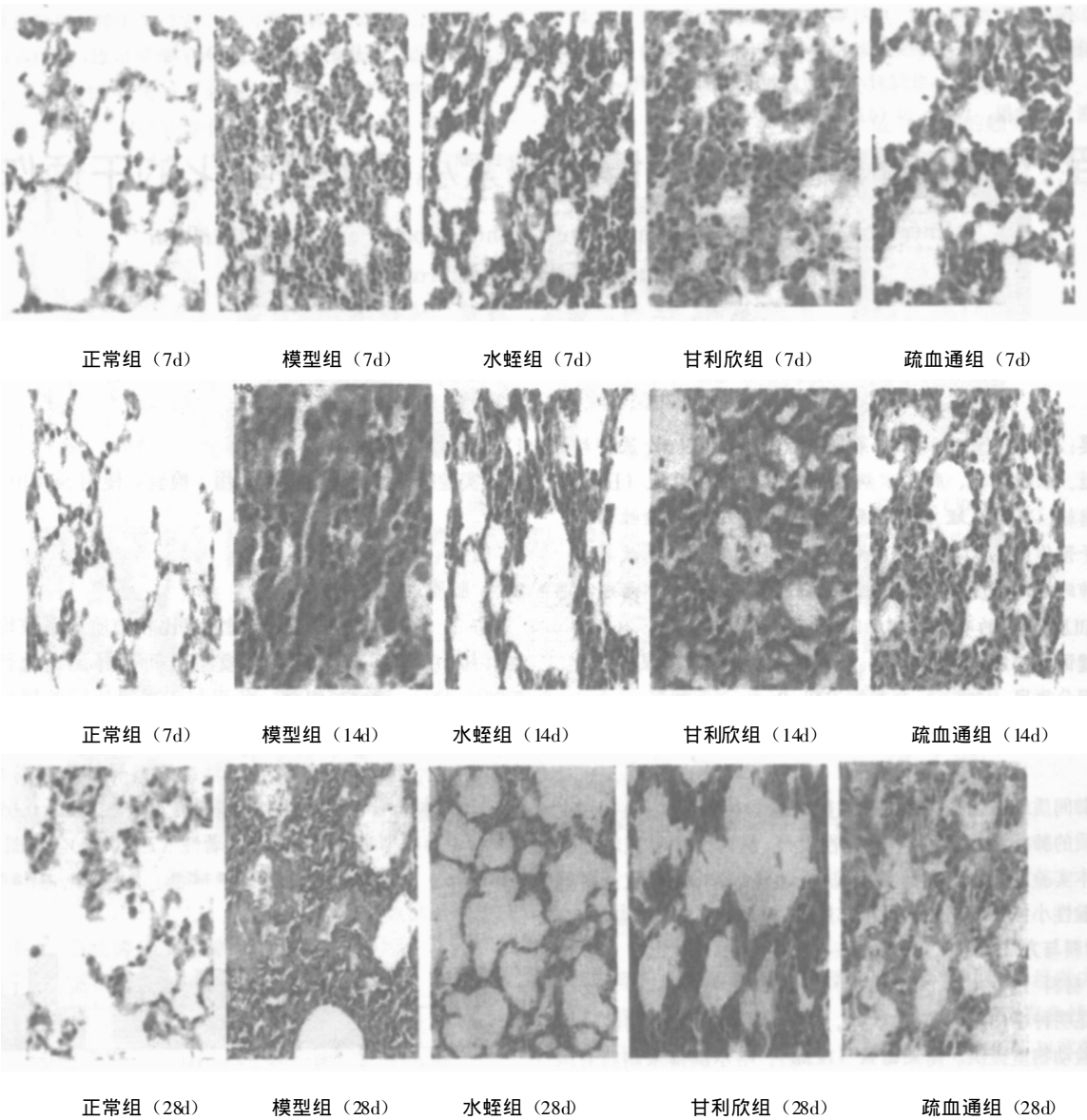


图 2 各组肺组织病理学改变 (HE10× 10)

7、14、28 d 模型组与正常组比较差异均有显著性 ($P<0.05$ 及 $P<0.01$); 水蛭组与模型组比较差异均有显著性 ($P<0.05$ 及 $P<0.01$)。甘利欣组、疏血通组仅 28 d 与模型组比较差异有显著性 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组肺组织羟脯氨酸变化比较 ($\bar{x}\pm s$)		mg/g 肺组织		
组别	n	7 d	14 d	28 d
正常组	5	0.93±0.14	0.93±0.15	0.99±0.12
模型组	5	1.37±0.19*	1.64±0.29**	1.78±0.22**
水蛭组	5	0.95±0.14#	1.02±0.12##	1.14±0.18##
甘利欣组	5	1.01±0.37	1.21±0.27#	1.29±0.37#
疏血通组	5	1.07±0.30	1.17±0.31#	1.43±0.19***

与正常组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较 # $P<0.05$, ## $P<0.01$

3 讨论

肺纤维化是一种难治性呼吸疾病, 目前尚无有效的治疗手段。本研究选择水蛭、甘利欣及疏血通进行抗实验性小鼠肺纤维化的作用研究。采用 BLM₅ 气管注入诱导产生肺损伤模

型, 7 d 出现严重肺泡炎改变; 28 d 形成肺纤维化, 与文献报道一致^[2]。肺质量系数是反应肺纤维化程度的指标之一, 肺质量系数的高低与肺重密切相关。在肺纤维化的形成过程中, 早期肺质量增加是由于细胞肿胀、毛细血管充血等因素造成的, 后期是由于胶原纤维形成, 造成实质的肺质量增加。本实验观察到, 造模后 7 d, 除正常组外, 各组肺质量系数均明显增加, 由此可以推测各组用药对早期的炎症反应抑制不佳。28 d 水蛭组肺质量系数有所下降, 提示水蛭对肺质量系数有明显的降低作用, 而甘利欣、疏血通作用不明显。肺部的病理结果表明, 各治疗组肺泡炎症及纤维化有不同程度的减轻, 其中以水蛭为优。HYP 为胶原纤维中的一类氨基酸, 被广泛应用于肺纤维化的研究^[3,4]。本实验结果表明, 经过 7、14、28 d 造模后, 模型组小鼠肺组织 HYP 含量显著增加; 本研究的 3 种药物均可在不同程度上降低肺组织 HYP, 以水蛭为优。水蛭为活血中药, 其药理作用有抗凝、促纤溶、抗肿瘤等。易文龙等^[5]研究表明, 水蛭等药物能使肝纤维化动物血清 I

型前胶原 (PG-I) 及血清 III 型前胶原 (PG-III) 含量减少, 血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-6 (IL-6) 降低, 肝组织 HYP 下降, 炎细胞浸润减轻, 可加速肝纤维化的逆转和再吸收, 达到逆转肝纤维化的目的。甘利欣注射液为甘草提取物, 主要成分为甘草酸二胺。王氏等^[6]发现甘草酸有明显抑制成纤维细胞 I、III 型前胶原 mRNA 的表达, 可使 I、III 型前胶原的合成减少, 减轻肝细胞炎症反应; 降低 HYP 羟化酶的活力, 使胶原易于分解。本实验提示甘利欣在一定程度上改善了 BLM₅ 小鼠的组织病理状态, 降低了肺组织 HYP。疏血通是水蛭与地龙的混合提取物, 二味药均有活血通络作用。研究表明二者均可以降低血液黏度, 抗纤维蛋白原的作用^[7], 目前尚无抗肝及肺纤维化的报道。本实验提示, 该药可在一定程度上改善博来霉素小鼠的组织病理状态, 降低肺组织 HYP, 但作用强度低于水蛭粉剂, 可能是由于药物提取后抗纤维化的有效成分有所丧失。本次动物实验对水蛭粉剂、甘利欣注射液、疏血通注射液进行了抗肺纤维化的研究, 希望对肺纤维化的临床用药有一定的指导意义。

参考文献:

[1] Szapiel SV, Elson NA, Fulmer JD, et al. Bleomycin-induced interstitial

pulmonary disease in the nude athymic mouse [J]. Am Rev Respir Dis, 1979, 120 (4): 893.

[2] 马靖, 何冰, 李楠, 等. 阿奇霉素对博来霉素致大鼠肺损伤的干预作用及其机制的探讨 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25 (7): 392-395.

[3] Iyer S N, Gunjeyalakshmi G, Giri S N. Effect of pirfenidone on procollagen gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis [J]. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1999, 289 (1): 211-218.

[4] Brent E Van Hoozen, Katharine L Grimmer, Gregory P Marelich, et al. Early phase collagen synthesis in lungs of rats exposed to bleomycin [J]. Toxicology, 2000, 147 (1): 1-13.

[5] 易文龙, 陈建明. 水蛭、桃仁、黄芪、当归合剂对小鼠血吸虫性肝纤维化的影响 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2004, 16 (1): 32-34.

[6] 王吉耀, 刘维田, 胡美玉, 等. 甘草酸对成纤维细胞 I、III 型前胶原 mRNA 表达的抑制作用 [J]. 中华消化杂志, 1997, 17 (1): 60-61.

[7] 王浴生, 邓文龙, 薛春生. 中药药理与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 229-404.

两种除草剂对小鼠精母细胞染色体畸变的影响

Effects of two kinds of herbicides on chromosome aberration of spermatocytes in mice

李厚勇¹, 刘永霞¹, 颜冬英², 王筱芬¹, 张树来¹

LI Hou-yong¹, LIU Yong-xia¹, YAN Dong-ying², WANG Xiao-fen¹, ZHANG Shu-lai¹

(1. 山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062; 2. 解放军 71602 部队炮兵旅卫生队, 山东 潍坊 261000)

摘要: 实验发现, 扑灭津及草酮二种除草剂原药对小鼠睾丸初级精母细胞染色体结构畸变及性染色体和常染色体早熟分离率均无明显影响。

关键词: 扑灭津; 草酮; 生殖细胞; 染色体畸变

中图分类号: R139.3 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2006)03-0187-02

扑灭津和草酮是山东省“十五”期间重点开发的除草剂, 它对水田和旱田的禾本科和阔叶类杂草均有很好的除草作用。为了确保安全使用, 我们采用小鼠睾丸初级精母细胞染色体畸变实验对其遗传毒性进行了检测, 结果如下。

1 材料与方法

1.1 材料

扑灭津原药含量为 96%, 化学名为 2-氯-4,6-二(异丙氧基)-1,3,5-三嗪, 主要杂质为乙乙酰胺类化合物。草酮原药含量为 95%, 化学名为 5-特丁基-3-(2,4-二氯-5-异丙氧苯基)-1,3,4-二唑-2-酮, 主要杂质为苯胺类化合物。

实验动物为昆明种性成熟雄性小鼠, 购自山东大学实验动物中心。

1.2 方法

每种除草剂实验各取小鼠 30 只, 体重为 30~35 g, 随机分成 3 组, 每组 10 只。扑灭津给药剂量为 150、750、1500 mg/kg, 草酮给药剂量为 500、1250、2500 mg/kg, 另设阴性对照组和阳性对照组, 阴性对照组不予任何处理, 阳性对照组经口染毒丝裂霉素, 剂量为 2 mg/kg。动物染毒后 12 d 于处死前 6 h 腹腔注射秋水仙素 4 mg/kg。处死后立即取出睾丸, 剥除被膜, 用眼科剪充分剪碎后移入离心管, 加入 0.56% KCl 溶液于 37℃水浴箱中低渗 15 min, 常规离心, 甲醇固定 2 次。最后一次固定期间吸除睾丸组织碎片再离心, 去上清液, 制备细胞悬液, 空气干燥法制片^[1,2], Giemsa 染色 15 min。每个剂量组观察 5 只动物标本, 每只小鼠标本于油镜下观察 100 个处于终变期—中期 I 分裂相细胞, 记录染色体畸变的类型和数量。将断片和易位合并为染色体结构畸变进行统计处理。性染色体和常染色体单价体早熟分离则单独统计处理。

2 结果

扑灭津及草酮原药对小鼠睾丸初级精母细胞染色体畸变实验结果见表 1。由表 1 可见, 阳性对照物丝裂霉素 2 mg/

收稿日期: 2005-06-13; 修回日期: 2005-08-15

作者简介: 李厚勇 (1957—), 男, 研究员, 研究方向: 卫生毒理学。