

大承气汤对肠梗阻大鼠离体结肠平滑肌⁴⁵Ca内流影响的实验研究

天津医学院药理教研室(天津 300070) 康 毅 郭世铎 吴威中

天津中西医结合急腹症研究所 周文洛 王民宪 伍孝先

内容提要 本实验观察了正常对照组和实验性结肠梗阻组大鼠离体结肠平滑肌⁴⁵Ca的内流,并研究了大承气汤对实验性结肠梗阻大鼠离体结肠平滑肌⁴⁵Ca内流的影响。结果表明:结肠梗阻组大鼠结肠平滑肌⁴⁵Ca内流显著增加,大承气汤能明显抑制梗阻结肠⁴⁵Ca内流,对正常结肠平滑肌⁴⁵Ca内流无明显影响。提示肠梗阻的发生与发展和平滑肌内Ca²⁺浓度升高有一定关系。大承气汤抑制梗阻结肠平滑肌⁴⁵Ca内流增加可能是该方剂治疗急性肠梗阻的离子机制之一。

关键词 实验性结肠梗阻 ⁴⁵Ca内流 大承气汤

肠梗阻是外科急腹症中的常见病。中医学采用“通里攻下”法治疗肠梗阻取得了肯定的疗效,大承气汤为常用的治疗方剂。实验证明大承气汤对胃肠道各部分的影响不尽一致,但一般认为它具有普遍降低胃肠道张力,对大肠还兼具促进收缩等作用^①。近年来,组织细胞在病理状态下,细胞内Ca²⁺浓度的变化日益为学者们重视^②。但迄今为止,实验性急性肠梗阻时肠道平滑肌Ca²⁺浓度的变化以及大承气汤对细胞内Ca²⁺影响的研究尚未见报道。本实验研究正常大鼠和实验性结肠梗阻大鼠结肠平滑肌⁴⁵Ca内流的变化,并研究大承气汤对实验性肠梗阻大鼠结肠平滑肌⁴⁵Ca内流的影响,试求对大承气汤治疗急性肠梗阻的离子机制做初步探讨。

材料与方法

一、动物及分组:健康 Sprague-Dawley 大鼠,雌雄兼用,体重 210±30g ($\bar{x} \pm S$),由天津内分泌研究所提供。随机分为四组。I组:正常大鼠,给予生理盐水;II组:正常大鼠,给予大承气汤;III组:实验性结肠梗阻大鼠,给予生理盐水;IV组:实验性结肠梗阻大鼠,给予大承气汤。

二、实验性结肠梗阻模型:大鼠12只,乙醚轻度麻醉下,沿腹正中下1/3处做切口,暴露回盲部,自该部向下1cm处用粗丝线结扎肠管,造成结肠完全性梗阻。缝合腹壁后置单笼分养,收集24小时粪便。

三、结肠平滑肌标本制备:参照 Godfraind 氏方法^③,于结扎结肠24小时后处死动物,腹正中下1/3处打开腹腔,迅速自结扎部位向上剪取梗阻肠管(对照组亦取自相应处)1cm左右,剔除周围血管及结缔

组织,沿纵轴剪开肠管,制成重量大致相等的肠片,分置于容积5ml的自制平底试管内(1.5×7cm)。

四、⁴⁵Ca内流测定

1. 实验用液:(1)PSS缓冲液,组成及含量(mM):NaCl 118, KCl 14.7, CaCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25.0, MgCl₂ 2.0, Glucose 10.0。(2)无Ca²⁺PSS缓冲液,用2.0mM EGTA取代CaCl₂,其余成份同PSS;(1)、(2)两液均用无离子水配制,pH7.4。(3)⁴⁵Ca溶液:北京原子能研究院提供(890501),放射比度8.6mCi/gCa²⁺,比浓度2.0mCi/ml,上述溶液0.5ml加无离子水0.5ml,制成贮备液冰箱保存。实验时,取贮备液100μl加无离子水10ml,配制成工作液(1μCi/100μl)。

2. 实验步骤:将盛有 PSS 5ml 的肠片试管置于37℃恒温水浴中,持续通以95%O₂+5%CO₂混合气,平衡30min后,分别加入生理盐水或大承气汤(天津急腹症研究所提供,每ml含生药总量1g,各味药重量比例:大黄15g,枳实12g,厚朴10g,芒硝10g)各0.5ml,与标本作用10min,加入⁴⁵Ca工作液100μl,10min后取出标本。另置5ml无Ca²⁺PSS里终止反应(30min)。滤纸吸干后称重。标本移入液闪瓶内,依次加入高氯酸100μl和H₂O₂200μl,75℃水浴中消化至液体澄清为止,自然冷却至室温。液闪瓶中加入0.8%Butyl-PBD二甲苯闪烁液7ml,混匀轻摇后在LKB-1211液闪仪上测定标本dpm值。

五、数据处理:将各标本重量(mg)和相应dpm值同步输入Apple-II微机,用自编同位素计算程序处理,结果分别用dpm或⁴⁵CaμM/g湿重组织($\bar{x} \pm S$)表示,各组间差异用t检验显示。

结 果

一、实验性结肠梗阻：结肠梗阻 24h，大鼠无 1 例死亡。梗阻以上部位肠管呈明显膨胀，亦见充血，偶见坏死灶。粪便日排量，正常对照组（体重 190 ± 32 g）为 905 ± 36 mg/日，肠梗阻组（体重 207 ± 19 g）仅为 358 ± 23 mg/日，与正常对照组比较，粪排量明显减少（ $P < 0.01$ ）。

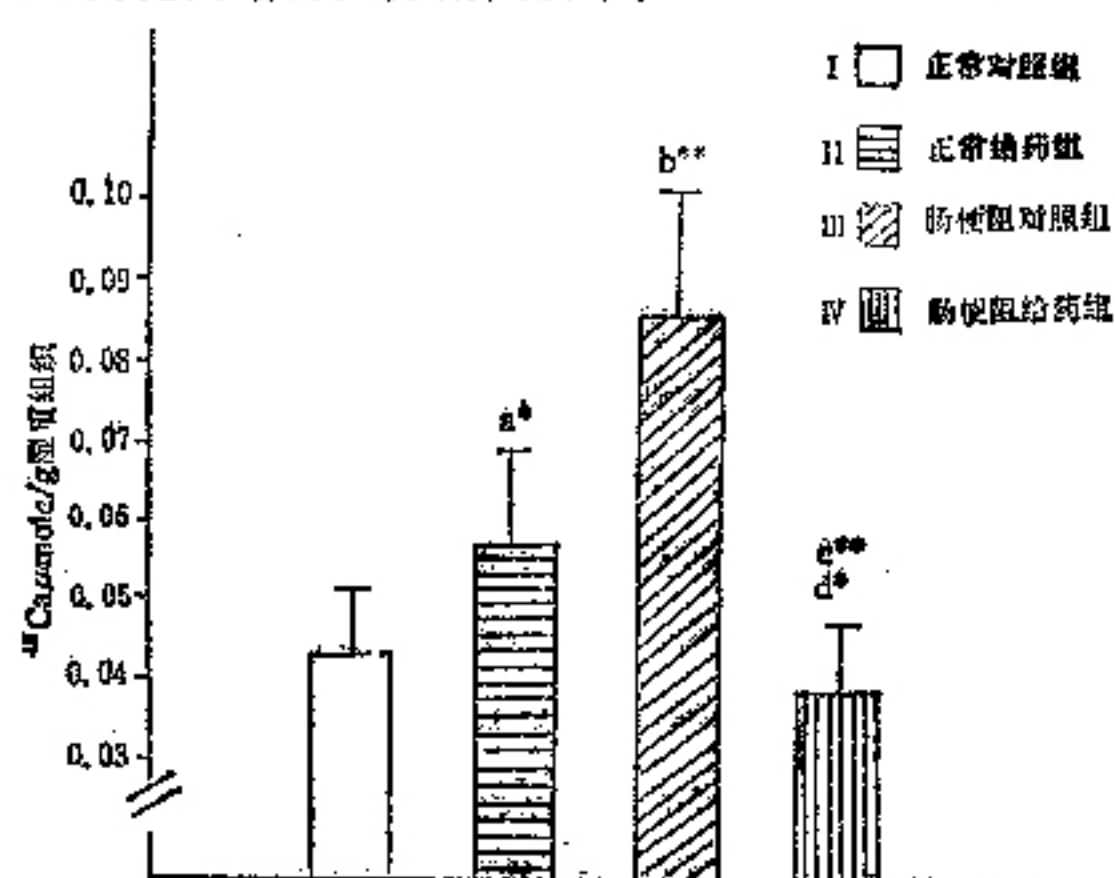
二、 ^{45}Ca 内流变化：实验各组结肠标本放射活性由附表显示，可见梗阻标本的放射活性明显高于其它各组。

附表 大承气汤对正常和实验性肠梗阻大鼠结肠平滑肌 ^{45}Ca 放射活性影响 ($\bar{x} \pm S$)

组 别	例数	放射活性 (dpm/g 湿重组织)
正常对照(I)	6	32758.58 ± 6945.80
正常给药(II)	6	$43903.29 \pm 8918.74^*$
肠梗阻对照(III)	6	$66417.62 \pm 12268.74^{**}$
肠梗阻给药(IV)	6	$28748.03 \pm 5124.03^{***}$

注 *与 I 比较, $P > 0.05$; **与 I 比较, $P < 0.05$; ***与 III 比较, $P < 0.05$; 与 II 比较, $P > 0.05$

实验各组的 ^{45}Ca 内流亦呈不同变化。大承气汤并不明显影响正常大鼠结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流（ $P > 0.05$ ），但能显著抑制实验性肠梗阻大鼠结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流的增加，如附图所示。



附图 大承气汤对结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流的影响 ($\bar{x} \pm S$)

注: a、b 均与 I 组比较, c、d 分别与 III 和 II 组比较, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$

讨 论

在中西医结合治疗急腹症研究中，一般多采用动物在体肠管碳末推进率和离体肠管收缩实验等方法研究中药对肠道平滑肌的作用⁽⁴⁾。本实验运用同位素技

术，研究大鼠在生理（正常）和病理（实验性结肠梗阻）状态下，离体结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流的变化，并初步观察了大承气汤对不同状态平滑肌 ^{45}Ca 内流的影响。应用本方法有助于研究中药及其有效成分对平滑肌等组织中 Ca^{2+} 的影响，为阐明药物作用的离子机制提供实验依据。

本实验表明：实验性结肠梗阻大鼠，其结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流明显高于正常对照组。而 Ca^{2+} 含量增加是引起细胞内 Ca^{2+} 升高的原因之一。急性肠梗阻时，梗阻以上部位肠管膨大，管壁变薄，随之出现肠管的缺血、缺氧及水肿炎症等变化⁽¹⁾。这将导致受损伤肠管平滑肌细胞通透性增加，有助于细胞外 Ca^{2+} 大量的进入，此与组织损伤时细胞内 Ca^{2+} 浓度异常升高的观点相一致⁽²⁾，也解释本实验中结肠梗阻时，平滑肌 ^{45}Ca 内流增加的现象（如附图示）。实验证明： Ca^{2+} 浓度增加与急性肠梗阻的发生和发展有一定关系。

中医学认为：肠为消化之腑，以通降下行为顺，以滞塞上逆为病。大承气汤是通里攻下的代表方剂，临床用于治疗以里实热证为主要特征的各种肠梗阻。实验室研究曾证明：大承气汤能增强小白鼠胃肠道推进功能，提高碳末在消化道中的推进率⁽⁵⁾。另也有报道大承气汤可减弱家兔肠道张力。用大鼠离体自发肠电测定方法亦证明大承气汤尚能抑制大肠电位活动和收缩运动。这表明大承气汤的作用较为复杂，且与动物种属及作用部位等有关。本实验还发现大承气汤对结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流的影响亦与肠道平滑肌功能状态有关。正常情况时，其对 ^{45}Ca 内流作用不甚明显，在肠梗阻时，则表现出明显地抑制 ^{45}Ca 内流作用。

正如许多疾病的最初病理变化往往伴有 Ca^{2+} 进入细胞内增多的现象一样，本实验亦发现结肠梗阻时，结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流显著升高，这一方面提示可能与梗阻肠道平滑肌运动亢进有关，另一方面，平滑肌细胞内 Ca^{2+} 的增加也可能与肠道的损伤相关。有关大承气汤的既往研究多以证明其通里攻下作用为主。本工作提示大承气汤治疗急性肠梗阻似与抑制 Ca^{2+} 内流，减少组织细胞内 Ca^{2+} 浓度相关。我们新近工作亦表明大承气汤尚具有抗过氧化脂质，提高自由基清除剂活性的作用，表明了大承气汤治疗急性肠梗阻的作用可能有生化机制参与。大承气汤减少结肠梗阻时结肠平滑肌 ^{45}Ca 内流，有利于减轻梗阻时因高 Ca^{2+} 对肠道组织的损伤，缓解肠梗阻的有关症状，这在治疗急性肠梗阻中可能有一定意义。大承气汤由大黄、枳实、厚朴、芒硝所组成，其代表药为大黄。这些单味药在抑制 ^{45}Ca 内流作用中各自的效应以及大承气汤抑制肠梗

阻大鼠结肠平滑肌⁴⁵Ca内流, 增加在寒下法“通里攻下”治则中的地位有待深入探讨。

参 考 文 献

1. 天津南开医院主编. 新急腹症学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 418—420.
2. 郑广华. 细胞内信使系统. 第1版. 广州: 广东教育出版社,

- 1988: 160—162.
3. Godfraind T, et al. Sodium-calcium sites in smooth muscle and their accessibility to lanthanum. *J Physiol* 1975; 260: 21.
4. 吴威中. 急腹症研究. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1988: 186—193.
5. 李乐天. 下法治疗急腹症的初步实验研究. 中医杂志 1980; 21(6): 71.

浓当归注射液治疗突发性聋患者 甲皱微循环观察

北京市耳鼻咽喉科研究所(北京 100005) 蔡正华 冯 彦 廉能静 刘 铤

本文报告了30例突发性聋患者, 在应用浓当归注射液治疗前后甲皱微循环的变化情况。以探讨突发性聋的发生机理及浓当归注射液的治疗作用。

临床资料 对照组: 50例, 均为无耳病、心血管病、糖尿病、结缔组织疾病史的健康人, 其中男20例, 女30例; 年龄17~71岁。治疗组: 30例, 参照刘铤等所述的标准诊断(中华耳鼻咽喉科杂志 1983; 18: 205), 其中男18例, 女12例; 年龄21~73岁。两组受检者均选用无甲皱皮层过厚、皮肤粗糙及破损者。

方 法 两组受检者在观察前先休息30min。然后在室温22~32℃条件下, 采用国产半导体温度计测量指温, 定标志血管, 最后在徐州医用光学仪器厂生产的WX-753型微循环显微镜下进行观察并摄影做文字记录。治疗组初次观察后, 静脉注射浓当归注射液20ml加30%葡萄糖20ml, 休息30min后再观察, 记录, 摄影。

结 果 (1) 突发性聋在发病早期有甲皱微循环不良现象。正常情况下, 甲皱微循环在显微镜下应该是视野清晰, 约有≥70%的血管袢呈发夹状排列整齐, 异形管袢一般<30%, 而镜下血流速度>350mm/s。经观察突发性聋组在发病初期有80%患者存在甲皱微循环不良。其表现为微血管的通透性增加, 使得血管袢轮廓不清, 镜下视野模糊; 同时随着血流速度的减慢, 异形管袢增多而平均管袢长度明显变短。经比较两组的甲皱微循环在血管形态、管袢长度及血流速度等方面, 均有显著性差别 $P < 0.01$ 。(2) 突发性聋组用浓当归注射液治疗后, 甲皱微循环可以得到改善, 同时患者听力也有不同程度的提高(包括好转、显效、痊愈), 此类患者占总数的75%。观察结果见附表。

附表 两组治疗前后甲皱微循环的状态

组 别	清 晰 度 (%)		血 管 形 态 (%)		管袢长度 (mm)	血 流 速 度 (mm/s, %)	
	清晰	模糊	发夹	异形	($\bar{x} \pm S$)	>350	<350
对 照	84	16	88	12	0.179±0.046	84	16
前	37	63	47	53	0.148±0.049	30	70
后	63	37	—	—	—	67	33

注: “—”为改善不明显

讨 论 目前很多人从症状学、治疗学和动物试验等方面提出, 突聋的直接原因可能是内耳微循环功能不良。从本结果可见, 突聋组有80%在发病初期存在不同程度的微循环功能不良, 并以血管袢顶端瘀血, 管袢变短及流速减慢为特征。根据这些结果可以推测, 突发性聋的发生可能是由于微循环障碍而引起内耳血液供应突然减少, 而导致患者听力突然下降造成耳聋和前庭功能障碍。在治疗中发现: 患者用浓当归注射液加30%的葡萄糖20ml静脉注射30min后, 患者的甲皱微循环就可以得到改善, 表现为镜下视野清晰度明显增强, 血流速度逐渐加快。然而, 只用30%葡萄糖40ml给患者静脉注射30min后, 患者的甲皱微循环不论是在血管形态或血流速度上均无明显改变。

在治疗前有80%患者存在甲皱微循环不良; 用浓当归注射液治疗后, 又有75%的患者在微循环改善的同时听力也得到恢复。提示: 若内耳发生血管痉挛则出现血液循环障碍, 导致突发性聋的发生; 而浓当归注射液之所以能较好地治疗突发性聋, 改善微循环, 是因为它具有扩张血管, 增加局部组织灌流的作用。

by RIA and the parameters of triiodothyronine receptors in rat hepatic cell nucleus by radio-ligand binding assay: Maximal binding capacity (Bmax) and Dissociation constant (Kd). It is found that (1) Yin-tonics can lower serum thyroid hormone levels and Bmax of hepatic nuclear T₃R of hyperthyroxinemia rat from 167.14 ± 25.62 fmol/100 μ g DNA to 98.98 ± 15.24 fmol/100 μ g DNA, $P < 0.001$. (2) Both Yang-tonics I and II can raise serum thyroid hormone levels of hypothyroxinemia rats, but not Bmax of hepatic nuclear T₃R. Yang-tonics I even lowers Bmax. All the Chinese herbs have no effect on the Kd of rat hepatic nuclear T₃R. The results may have some value in studying the effects of Chinese medical drugs.

Key Words hepatic cell nucleus, thyroid hormone receptor, Yin tonics, Yang tonics

(Original article on page 105)

Study of Da Cheng Qi Tang(大承气汤) on ⁴⁵Ca Content of the Isolated Colon Smooth Muscle from Experimental Colon Obstruction Rats

Kang Yi(康毅), Guo Shiduo(郭世铎), Wu Xian-zhong(吴咸中), et al

Dept. of Pharmacology, Tianjin Medical College, Tianjin (300070)

Da Cheng Qi Tang (DCQT) is a classical prescription of Chinese medicine for treatment of acute intestinal obstruction. In this paper, the isolated colon smooth muscle from normal and experimental colon obstruction (CO) rats were used to study the effect of DCQT on ⁴⁵Ca content. The results showed that the ⁴⁵Ca content on isolated colon smooth muscle (μ m/g wet tissue, $\bar{x} \pm S$) was 0.043 ± 0.009 in the normal and 0.057 ± 0.012 in those treated by DCQT respectively. The content of ⁴⁵Ca in CO was higher than the normal, DCQT can reduce the content of ⁴⁵Ca in CO. It is known that the higher level of intracellular Ca⁺⁺ is related to the formation and the development of acute intestinal obstruction. The inhibitory effect of DCQT on ⁴⁵Ca content may play an important role in the treatment of acute colon obstruction.

Key Words Da Cheng Qi Tang, colon smooth muscle, colon obstruction, ⁴⁵Ca content

(Original article on page 107)

Preventive Effect of Re Du Qing(热毒清)on Hepatocytes and Mitochondria Damaged by Lipid Peroxidation in Experimental Rabbits with Endotoxin-Induced DIC

Deng Ze-ming(邓泽明), Ye Wang-yun(叶望云), Li Ming-zhen(李鸣真)

Institute of Integration of TCM and WM, Tongji Medical University, Wuhan (430030)

In this study, the general Shwartzman reaction of rabbits induced by Escherichia Coli endotoxin was made as DIC models. The experiments showed that the levels of lipid peroxide (LPO) in hepatic tissue and mitochondria in the model group were increased significantly compared with the control group ($P < 0.01$), while superoxide dismutase (SOD) activity in hepatic tissue and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in hepatic tissue and mitochondria were decreased significantly ($P < 0.01$). The levels of LPO in hepatic tissue and mitochondria in Re Du Qing (RDQ) group and vitamin E (VE) group were decreased significantly ($P < 0.01$ and $P < 0.05$ respectively) compared with the model group. The levels of LPO in the RDQ group did not differ from the control group ($P > 0.05$), but the levels of LPO in the VE group were still higher than those in the control group significantly ($P < 0.05$). The SOD activity in hepatic tissue and GSH-Px activity in hepatic tissue and mitochondria in both RDQ group and VE group were also significantly higher than those in the model group ($P < 0.01$). These data suggest that the levels of oxygen free radicals were increased in hepatocytes and mitochondria. This is related to the decreased activities of SOD and GSH-Px in the course of pathogenesis of endotoxin-induced DIC. This study indicates that lipid peroxidation might be one of the important mechanisms resulting in hepatocellular and mitochondria from oxidative damage.

Key Words endotoxin, disseminated intravascular coagulation, lipid peroxide, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, Re Du Qing

(Original article on page 110)