

复聪片及其拆方拮抗庆大霉素耳毒性反应的实验研究*

徐绍勤 彭斌 刘佳运 曾省三 朱梅菊
李凡成 谭奕 谭敬书

内容提要 目的:观察中药复方复聪片及拆方后方内补肾、益气养血、活血祛瘀、通窍聪耳等主要药物对豚鼠庆大霉素(GM)耳毒性反应的拮抗作用。方法:豚鼠每日肌肉注射 GM80mg/kg,同时每日喂服复聪片或等效剂量各拆方组药物,连续 20 日,测定用药前后听觉脑干诱发电位(ABR)阈值,耳蜗基底膜铺片外毛细胞计数,螺旋韧带铺片观察血管纹血流状况及耳蜗超微结构电镜观察等,评价药物的拮抗效果及对耳蜗结构的保护作用。结果:复聪片及其拆方之补肾、益气养血、活血祛瘀药物可减轻 GM 所致耳蜗外毛细胞损伤率($P < 0.05$),保护耳蜗结构及功能,拮抗 GM 所致之听阈升高($P < 0.05$)。结论:复聪片及方中补肾、益气养血、活血祛瘀药物可有效减轻 GM 的耳毒性反应。

关键词 复聪片 感音神经性聋 耳蜗

Effect of Fucong Tablets and Its Ingredients on Ototoxicity of Gentamycin in Guinea Pigs Xu Shaoqin, Peng Bin, Liu Jiayun, et al *The Second Affiliated Hospital, Hunan TCM College, Changsha (410005)*

Objective: To assess the antagonistic effect of Fucong Tablet (FCT) and its ingredients on ototoxicity of gentamycin in guinea pigs. **Methods:** The guinea pigs were given gentamycin 80mg/kg intramuscularly once daily for 20 days and FCT or its ingredients separately oral taken for 20 days. The auditory brain stem evoked response (ABR) threshold, vascular stria blood circulation condition, outer hair-cell count and cochlear ultrastructure of guinea pigs were observed before and after treatment to assess the antagonistic effect and protective effect of FCT on cochlear structure. **Results:** FCT and its ingredients of tonifying Kidney, replenishing Qi and blood, promoting blood circulation could lower the impairment ratio of outer hair-cell induced by gentamycin ($P < 0.05$), protect morphosis and function of cochlea and lower the elevated ABR threshold ($P < 0.05$). **Conclusions:** FCT and its ingredients could reduce the toxic damage on ear induced by gentamycin effectively.

Key words Fucong Tablet, sensory neural deafness, cochlea

复聪片为我院谭敬书教授所拟治疗神经性耳聋的中药复方,具补肾活血、益气养血、通窍聪耳之功效。我们将复聪片及方内主药分别进行对豚鼠庆大霉素(GM)耳毒性反应的拮抗研究,以探讨其对药物中毒性聋的防治效果及作用机理。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 健康杂色豚鼠 105 只,由湖南医科大学实验动物中心提供,体重 300 ~ 350g,平均体重

336g,雌雄各半,耳廓反射灵敏,鼓膜检查正常。

1.2 药物 将复聪片之主药依功效分为补肾(熟地、骨碎补、淫羊藿)、益气养血(黄芪、当归)、活血祛瘀(水蛭、丹参、川芎)、通窍聪耳(石菖蒲、磁石)等 4 组份。各组药物在复聪片总生药量中所占比例为补肾 22%、益气养血 22%、活血祛瘀 25%、通窍聪耳 18%。复聪片每片含生药量 1g,拆方之前 3 组制成每片含生药量 0.25g 的片剂,通窍聪耳组制成每毫升含生药量 0.25g 的浓缩煎剂。对照组服由面粉、糊精组成的空白药片,均由本院药剂科提供。GM 注射液为同一批量一次性购得(河南焦作市第二制药厂,批号 950828-2)。

1.3 主要仪器 ZEP-300 型脑干诱发电位仪,

*国家自然科学基金资助课题(No. 39370853)

湖南中医学院第二附属医院(长沙 410005)

Olympus-BH2 型显微摄影仪,日立 H-800 型电镜。

2 方法

2.1 动物造模及分组 105 只豚鼠随机分为 7 组,每组 15 只。分别为正常对照组、GM 对照组、复聪片组、补肾组、益气养血组、活血祛瘀组、通窍聪耳组。动物测脑干诱发电位(ABR)阈值后,正常对照组每日肌肉注射等量生理盐水,其余各组每日肌肉注射 GM80mg/kg,同时正常对照组、GM 对照组每日喂服空白药片,其余各组喂或灌服等效剂量相应药物(按生药量计复聪片 2.79g/kg、补肾组 0.60g/kg、益气养血组 0.63g/kg、活血祛瘀组 0.70g/kg、通窍聪耳组 0.49g/kg),连续 20 日。实验结束时再测 ABR 阈值后快速断头处死,取出听泡制作耳蜗基底膜铺片、螺旋韧带铺片,每组各制作 3~5 个耳蜗扫描及透射电镜标本。

2.2 检测指标

2.2.1 ABR 阈值 以长 40mm 针灸针作电极,应用 ZEP-300 型脑干诱发电位仪测试。带通滤波为 100-3kHz,重复率 10 次/s,叠加 256 次,扫描时程

10ms。观察 III 波以确定阈值。

2.2.2 耳蜗基底膜铺片及外毛细胞计数 按改良耳蜗基底膜硬铺片术^[1]取出基底膜,硝酸银染色,光镜下观察,以高倍视野(400×)为单位,自基底膜起始端起顺次计数 20 个视野缺失及总外毛细胞数,得出外毛细胞损伤率。

2.2.3 耳蜗螺旋韧带铺片血管纹观察 按耳蜗螺旋韧带硬铺片术^[1]取出螺旋韧带,0.5%复制伊红染色,光镜下观察血管纹血管及血流状况。

2.2.4 电镜标本制作 取出听泡后,常规灌流、固定,取出基底膜,1%锇酸后固定。透镜样品用梯度丙酮脱水,包埋、切片、铅铀染。扫描样品用梯度酒精脱水、干燥、喷镀白金。在日立 H-800 型电镜下观察。

结 果

1 一般情况 各组均有 1~3 只动物于给药后 4~17 天死亡,经解剖证实死于肺炎及肠炎。

2 ABR 阈值 见附表。

结果表明,复聪片及其拆方中补肾、益气养血、活

附表 各组 ABR 阈值及外毛细胞损伤率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	ABR 阈值(dB SPL)		外毛细胞损伤率 (%)
	用药前	用药后	
正常对照	—	—	0(12)
GM 对照	51.25 ± 3.77(12)	87.91 ± 22.12(12)	66.64 ± 18.13(12)
复聪片	51.07 ± 4.01(14)	64.28 ± 14.12(14)*	35.46 ± 33.67(12) [△]
补 肾	50.77 ± 3.44(13)	66.92 ± 13.31(13)*	35.09 ± 29.87(10) [△]
益气养血	51.15 ± 3.63(13)	70.77 ± 18.69(13)*	49.89 ± 14.76(13) [△]
活血祛瘀	51.71 ± 3.31(14)	71.07 ± 14.70(14)*	54.79 ± 18.56(12)
通窍聪耳	51.07 ± 4.46(14)	75.36 ± 11.17(14)	55.22 ± 20.41(10)

注:与 GM 组同期比较,* $P < 0.05$;与 GM 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$;()内为动物数

血祛瘀药物可有效降低 GM 所致 ABR 阈值($P < 0.05$),说明上述药物具有拮抗 GM 耳毒性反应的作用。通窍聪耳药物单独使用时无明显拮抗作用,可能与实验中所用为复聪片方中的等效剂量,药量不足及未发挥协同作用有关。

3 外毛细胞损伤率 见附表。复聪片及补肾、益气养血组外毛细胞损伤率显著低于 GM 对照组,说明上述药物可有效保护外毛细胞。

4 血管纹观察 正常对照组血管纹内毛细血管充盈良好且无红细胞滞留瘀积现象。GM 对照组血管纹均有不同程度的缺血,红细胞充盈减少呈粒流或断流,甚者出现空血管区,这种缺血区又常与血管瘀血区并见。复聪片、活血祛瘀组血管纹网状血管内血流基本正常。说明 GM 对血管纹的损害在形态学上主要表现为缺血及部分血管段的血流瘀滞,复聪片及活血祛

瘀药物可改善耳蜗血流状况。

5 耳蜗扫描及透射电镜观察 扫描电镜下正常对照组三排外毛细胞排列整齐,支持细胞表面结构完整。GM 对照组外毛细胞纤毛缺失严重,残余外毛细胞纤毛及内毛细胞纤毛多肿胀、融合或倒伏。各药物组尤以复聪片及补肾组外毛细胞损伤明显为轻,多为散在性缺失且多局限于第一排,但纤毛肿胀,尖顶粘连仍较多见。透射电镜下正常对照组毛细胞表皮板下各细胞器及细胞核清晰可辨。GM 对照组多见细胞肿胀,表皮板下区吞噬溶酶体增多、肿胀,线粒体肿胀,嵴紊乱或断裂、消失,呈空泡样变,胞浆内出现密集小泡及大水泡,尚可见胞膜破裂,胞浆溢出,支持细胞亦出现线粒体肿胀及胞浆空化,各药物组尤以复聪片组较少见到上述损害。说明复聪片及方内主要药物可减轻毛细胞变性坏死,稳定溶酶体和线粒体等亚细胞结构的

形态及功能。

讨 论

药物中毒性聋属中医耳聋范畴。肾主耳,若肾元亏虚,耳窍失养,兼以药毒浊邪内犯,滞而不去,上干耳窍,则可致听力失聪。浊邪上犯,窍络闭阻,久而成瘀。故本病多虚瘀交织,缠绵难愈。治当补肾活血,益气养血,通窍聪耳。据此组方的复聪片经实验证实可有效拮抗 GM 的耳毒性反应。

药物中毒性聋的机制至今尚未彻底阐明,近年的研究国内外看法较一致的有氨基糖甙类抗生素(AmAn)干扰葡萄糖代谢及能量利用学说⁽²⁾。复聪片中补肾药物如骨碎补、淫羊藿等可促进 ATP 酶及琥珀酸脱氢酶合成,黄芪等补气药可提高 ATP 酶活性,丹参可提高琥珀酸脱氢酶活性,从而促进毛细胞能量代谢。AmAn 可特异性抑制毛细胞内线粒体的能量合成,并由此造成细胞内能量危机。复聪片中活血祛瘀药如川芎可抑制磷酸二酯酶,使耳中 cAMP 分解减少,丹参可提高体内 cAMP 水平;黄芪、骨碎补、淫羊藿等可促进细胞 DNA 合成,促进蛋白质合成,而保护耳蜗的结构及功能。AmAn 可通过使内源性自由基清除系统失活,或者在内耳代谢产生自由基而引起耳毒性⁽²⁾。复聪片中黄芪、淫羊藿、熟地、丹参、当归等均有清除自由基,阻止脂质过氧化反应作用,故可有效减轻和防止耳

蜗组织由于自由基产生而导致的耳蜗组织过氧化损伤,保持细胞膜的完整性。AmAn 对血管纹的晚期作用在临床耳毒性效应中起重要作用,GM 对血管纹的损害主要表现为缺血⁽³⁾。复聪片中水蛭可扩张毛细血管,抑制血液凝固。川芎、丹参可解除血管痉挛,降低血液粘滞度,增加微循环血流速度,增加耳蜗血流量,以保证毛细胞的能量供应。GM 进入体内后,主要经肾脏排泄,当肾功能障碍时,药物在体内蓄积,内耳淋巴液中的浓度随之逐渐增高,即产生耳毒性损害。复聪片中补肾药物如熟地、骨碎补、淫羊藿及益气活血药物黄芪、川芎、丹参等具有促进肾脏代谢,保护及改善肾功能的作用,可加快 GM 排泄,减轻 GM 蓄积对毛细胞和血管纹的损害。故我们认为复聪片拮抗 GM 耳毒性反应的机理,可能与其促进能量代谢及蛋白质合成、清除自由基、改善耳蜗血液供应、保护及改善肾功能有关。

参 考 文 献

1. 丁大连,姜泗长.豚鼠内耳解剖检验技术手册.第1版.上海:学林出版社,1989:36—38.
2. 孔维佳.氨基糖甙类抗生素耳毒性作用机理.临床耳鼻喉科杂志 1991;5(1):59—62.
3. 赵纪余,丁大连.利尿酸对豚鼠耳蜗血管纹微循环的影响.上海第二医科大学学报 1988;8(1):34—36.

(收稿:1997-05-19 修回:1997-08-20)

河北石家庄冀中医学专修学校(原华中医士学校) 面向社会招收 98 级自费生

我校是一所全日制医学专业学校。中西医结合,理论联系实际,采用全国统编教材,由专家、教授、讲师任教。中专中西医结合专业及医疗专业:学制3年(含实习1年),学费、住宿费、实验费两年共5100元,成绩及格颁发省教委验印的中专毕业证书,国家承认学历(1997年及格率达96.8%)。大专中西医结合专业:学制3年(含实习1年),学费、住宿费、实验费两年共计5400元,学习期间部分学科参加省考院统考,成绩及格颁发大专毕业证书,国家承认学历,各专业毕业生由卫生部门考核颁发技术职称证书和行医证,可申请开业和参加人才市场交流,品学兼优可留校或向用人单位推荐。即日起初、高中应届、往届毕业生持毕业证明、单位介绍信、照片6张来人来信报名均可。交报名费10元,预交学费200元,按报名顺序录取,额满为止,9月21日开学(有接站)。校址及报名联系地址:河北省石家庄市栾城段干冀中医学专修学校。校长:王志;联系人:王天、张云芝;邮政编码:051430;电话:(0311)5481406,5481807;电挂:石家庄市栾城:5664。来人由石家庄火车站南侧汽车站院内乘202路(东线)段干站下车,或由河北饭店门口乘石家庄市炼油厂班车八方站下车。