

加味四物汤对白细胞减少症大鼠超氧化物歧化酶活力及脂质过氧化物含量的影响

乔为平*, 王和生, 夏 铭
(贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 观察加味四物汤对白细胞减少证大鼠血及组织中超氧化物歧化酶(SOD)、脂质过氧化物(LPO)的影响。方法: 选用 wistar 大鼠 60 只, 随机分成 6 组: 即生理盐水组、模型对照组、鲨肝醇组、中西药组、大剂量中药组、小剂量中药组。除生理盐水组外, 其余 5 组均予环磷酰胺(Cy)腹腔注射。第一周按 0.01 g/kg 体重, 给药二次; 第二周按 0.015 g/kg 体重, 给药一次; 造成白细胞减少模型。从造模之日起分组进行治疗。第 18 天处死大鼠, 测定大鼠血和组织中氧自由基清除能力和脂质过氧化物含量。结果: 各治疗组均能增加血和组织中 SOD 活力, 降低血及组织中 LPO, 与模型组比有显著差异 $P < 0.01$ 。中西药组疗效优于大剂量中药组和鲨肝醇组 ($P < 0.01, P < 0.05$)。结论: 加味四物汤能增加清除氧自由基能力, 降低脂质过氧化物, 而中西药组疗效最好。从而为中西医结合治疗白细胞减少症提供了理论依据。

[关键词] 白细胞减少症; 加味四物汤; 超氧化物歧化酶; 脂质过氧化物

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)12-0051-03

Effect of Jia Wei Si Wu Tang on Oxygen Radicals and LPO Leukopenia of Mice

QIAO Wei-ping*, WANG He-sheng, XIA Ming
(Guiyang Traditional Chinese Medical College, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effect of the prescription of Jia Wei Si Wu Tang SOD and LPO in blood and tissue. **Method:** Sixty rats divided into physiological saline contrast group; model contrast group; Batioloi group; intergrated Chinese and western medicine group; big dose traditional Chinese medicine group; small dose traditional Chinese medicine group. The five groups were injected cyclophosphamide (CTX 0.01 g/kg) two times in the first week, they in the second week cytoxan (CTX 0.015 g/kg) a time. At the same time, all rats were treated separately. Meanwhile, in the 18th day animals was executed to detect the level of LPO and SOD. **Results:** The prescription can significantly increase the SOD level of blood and tissue and decrease the level of LPO compared with the model group. Among the treated groups, the group of Chinese and western medicine was the best. **Conclusion:** The prescription of substances can improve the ability of free scavenge. Treated group of Chinese and western medicine was better than other three treated groups, which provides the useful to treat the symptom of leukocyte decrease.

[Key words] leukopenia; Jia Wei Si Wu Tang; SOD; LPO

白细胞减少症(Leukopenia)是指外周血白细胞计数持续低于 $4.0 \times 10^9/L$, 是临床上较为常见的血

液病。其发病机理, 最常见的影响因素有: 药物损伤、抗肿瘤药和免疫抑制剂、化学药物及放射线、免疫性疾病及全身感染等诱因, 导致抵抗力降低。或直接损伤骨髓, 抑制造血功能; 或直接杀伤增殖细胞群, 抑制和干扰粒细胞的合成^[1]。该类病人多数病

[收稿日期] 2006-03-01

[通讯作者] * 乔为平, Tel: (0851) 5629282

史较长,为消耗性疾病,体质较弱。临床多用鲨肝醇、利血生、升白胺等药物治疗,但疗效较差,且副作用较大。近年来采用粒细胞集落刺激因子(Leucomax GM-CSF; rhGM-CSF)等虽有一定疗效,但由于价格昂贵,副作用较多,限制了本类药物的推广^[2]。而采用中西药结合治疗,对提高升白类药物的治疗效果,降低其毒副作用,增强机体免疫力,具有较好的协同作用。据此,我们对四物汤进行了该项实验研究,报告如下:

1 实验材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,月龄 2~3 月,体重(180±20)g,雌雄各半,共 60 只。由贵阳医学院实验动物中心提供。

1.2 药物

1.2.1 加味四物汤制备 加味四物汤(贵阳中医学院第二附属医院药剂科提供)由当归 12 g、白芍 15 g、熟地 20 g、川芎 9g、淫羊藿 12 g、枸杞 12 g、西洋参 30 g、黄芪 15 g 等全方共 500 g,用煎煮法提取,过滤。按临床用药比例配制成大剂量中药浓缩液含生药 3.2 g/mL 和小剂量中药浓缩液 0.8 g/mL,4℃冰箱中保存备用。

1.2.2 环磷酰胺注射剂(上海华联制药有限公司,批号:040105)用 0.9% 氯化钠注射液(四川蜀乐药业股份有限公司,批准文号:国药准字 H51021694,批号:0403024)稀释成 1 mg/mL 待用。

1.2.3 鲨肝醇(中外合资江苏鹏鹞药业有限公司,批号:020816) 25 mg/片。研碎,溶于蒸馏水制备成 2.7 mg/mL 药液待用。

1.2.4 SOD 测试盒,批号:20040724;MDA 测试盒,批号:20040721,均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 主要仪器 721B 型分光光度计,上海第三分析仪器厂;电热恒温水浴箱,上海医疗器械七厂;电动离心机,北京医用离心机厂;电动匀浆器,上海第一医院医疗仪器厂;OLYMPUS-BHB211 显微镜,日本制造。

2 实验方法

2.1 模型制作^[3] 用环磷酰胺注射液予大鼠腹腔注射,第 1 周 0.01 g/kg 给药 2 次;第 2 周 0.015 g/kg 给药 1 次。共给药 2 周,造成白细胞减少模型。通过预实验,筛选出白细胞下降明显且较长时间内维持在低水平的大鼠 60 只。实验过程中每日观察大

鼠大便形状、食欲、毛发、活动状况等。

2.2 分组及给药 将 60 只大鼠随机分成 6 组,雌雄各半,每组 10 只。即生理盐水组、模型对照组、鲨肝醇组、中西药组(鲨肝醇与加味四物汤合用)、大剂量中药组、小剂量中药组。除生理盐水组外,其余 5 组均用环磷酰胺腹腔注射。第 1 周每 0.01 g/kg 体重,给药 2 次;第 2 周 0.015 g/kg 体重,给药 1 次,造成白细胞减少模型。从造模之日起分别给予生理盐水、鲨肝醇、中西药组、大剂量中药组、小剂量中药组。按大鼠 1 mL/100 g 体重灌胃,每日 1 次。生理盐水组、模型对照组均按大鼠体重 1 mL/100 g 生理盐水灌胃,鲨肝醇组按临床成人与等效剂量换算成大鼠每日剂量为 0.68 mg/kg 体重灌胃,中西药组予鲨肝醇 0.68 mg/kg 体重和大剂量中药浓缩液 1 mL/100 g 体重分别于上下午各灌胃 1 次,大剂量中药组予 400% 中药浓缩液 1 mL/100 g,小剂量中药组予 100% 中药浓缩液 1 mL/100 g。以上各组均分笼饲养。全疗程为 17 d。用生理盐水组正常鼠作对照观察。

2.3 检测项目和方法

2.3.1 血清及组织超氧化物歧化酶 SOD 活力测定

(1)血清 SOD 活力测定:于造模结束后第 18 d,各组鼠分别断头取血 3 mL,离心分离血清,采用 SOD 测试盒进行测定。

(2)组织 SOD 活力测定:于造模结束后第 18 d,依次处死大鼠,剖腹,细心取其肝、脾、胰腺等脏器;剪去其周围脂肪组织,并用滤纸吸净残余血液,分别称重,用匀浆器磨成匀浆,用生理盐水配制成 10% 的浓度,注入离心管内,置离心机以 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,按照 SOD 测试盒说明进行各组织 SOD 活力测定。

2.3.2 血清及组织脂质过氧化物 LPO 测定

(1)血清 LPO 含量测定:血清标本取样同实验项目 2.3.1(1),采用 MDA 测试盒进行测定。

(2)组织 LPO 含量测定:组织标本取样同实验项目 2.3.1(2),采用 MDA 测试盒进行测定。

2.4 统计学处理

所测数据用 SPSS11.5 统计软件包处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间用 *t* 检验。

3 结果

由表可见:1)生理盐水组血清及组织 SOD 活力明显高于模型对照组,模型组 MDA 含量升高($P <$

0.01), 说明造型成功。2) 中西药组、鲨肝醇组及大小剂量中药组均能显著降低血及组织中 MDA 含量, 与模型组比有显著差异 ($P < 0.01$), 中西药组作用优于其余 3 个治疗组 ($P < 0.05$ 及 $P < 0.01$)。除小剂量中药组外, 其余 3 个治疗组均能使血及组织中 SOD 活力增高 ($P < 0.05$ 及 $P < 0.01$), 其中大剂量中药组和中西药组作用较好, 而中西药组作用优于鲨肝醇组 ($P < 0.01$)。

表 1 加味四物汤对白细胞减少症大鼠血清及组织 SOD 活力比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	血清 (U/mL)	组织 (U/g)		
		肝	脾	胰腺
生理盐水组	309.2 ± 8.6 ²⁾	64.2 ± 5.3 ²⁾	90.2 ± 5.3 ²⁾	178.5 ± 11.6 ²⁾
模型对照组	158.9 ± 71.2	44.0 ± 1.8	68.3 ± 1.8	158.9 ± 13.6
Cy+ 鲨肝醇组	219.7 ± 59.7 ¹⁾	50.2 ± 7.0 ¹⁾	80.3 ± 5.3 ¹⁾	170.3 ± 14.4 ¹⁾
Cy+ 中西药组	312.4 ± 9.4 ^{2,4)}	62.8 ± 4.9 ^{2,4)}	91.6 ± 4.7 ^{2,4)}	210.4 ± 12.3 ^{2,4)}
Cy+ 大剂量中药组	271.4 ± 50.9 ²⁾	58.1 ± 8.0 ²⁾	85.6 ± 5.3 ²⁾	181.1 ± 13.1 ²⁾
Cy+ 小剂量中药组	190.1 ± 54.3	49.3 ± 6.5 ¹⁾	82.1 ± 3.9 ²⁾	169.5 ± 12.9

注: 与模型组比: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 中西药组与鲨肝醇组比: ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 大剂量组与小剂量组比: ⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (下同)

表 2 加味四物汤对白细胞减少症大鼠血清及组织 MDA 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	血清 (U/mL)	组织 (U/g)		
		肝	脾	胰腺
生理盐水组	4.45 ± 0.5 ²⁾	201.9 ± 20.9 ¹⁾	136.0 ± 29.0 ¹⁾	100.7 ± 32.1 ¹⁾
模型对照组	5.25 ± 0.4	232.9 ± 24.1	171.0 ± 28.2	136.9 ± 31.6
Cy+ 鲨肝醇组	3.70 ± 0.4 ²⁾	101.3 ± 30.6 ²⁾	99.8 ± 15.2 ²⁾	93.6 ± 7.3 ²⁾
Cy+ 中西药组	2.90 ± 0.3 ^{2,4)}	68.2 ± 23.2 ^{2,3)}	57.3 ± 14.5 ^{2,4)}	60.1 ± 5.2 ^{2,4)}
Cy+ 大剂量中药组	3.10 ± 0.7 ^{2,6)}	79.7 ± 34.4 ²⁾	82.9 ± 17.1 ²⁾	87.0 ± 7.5 ²⁾
Cy+ 小剂量中药组	3.96 ± 0.6 ²⁾	96.4 ± 29.8 ²⁾	97.2 ± 16.3 ²⁾	90.4 ± 6.40 ²⁾

4 讨论

引起白细胞减少症的诱因颇多, 祖国医学虽无白细胞减少症之名, 但根据其乏力、头晕目眩、舌淡脉细或低热等临床表现, 将其归属于虚劳或血虚等范畴。其发病机理或因先天禀赋不足, 脏腑失于濡养; 或因后天失调, 损伤脾胃, 气血生化不足; 或因房劳伤肾; 或因外邪直入营血, 伤及骨髓等⁴⁾ 导致阴阳失调。临床以肝脾肾虚为主。症见头晕乏力、心悸

气短、腰膝酸软、饮食不佳、抵抗力下降、舌淡、舌体胖嫩有齿、脉沉细无力。治疗以“补虚”为基本原则, 根据脏腑及阴阳之盛衰分别采用补养气血, 滋养肝肾, 温肾健脾等法⁵⁾, 以达补虚扶正之目的。

四物汤是中医经典补血养血方, 本方在此基础上增加了淫羊藿、枸杞、西洋参等益气滋阴壮阳之品。其中熟地、枸杞养血滋阴, 有补肾填精之效; 当归补血活血, 补阴中之阳; 西洋参、黄芪补中益气; 川芎行气活血, 理血中之气; 白芍滋阴养血; 淫羊藿补肾壮阳。拟健脾补肾、气血双补、平调阴阳。具有增强体质, 提高免疫力的功能, 对化疗引起的白细胞减少症具有协同治疗作用。

超氧化物歧化酶(SOD) 是存在于生物体内的一种抗氧化酶, 它能清除超氧阴离子, 催化超氧自由基分解成 H_2O_2 , 进而在过氧化氢酶的作用下分解成水和氧分子, 并能使含巯基的蛋白质氧化后酶再还原, 恢复其原来的活性, 以保护细胞膜。研究表明: 西洋参、黄芪、枸杞、白芍能增加 SOD 活力, 降低 MDA 含量⁶⁾ 加味四物汤正是在此基础上, 抑制了氧自由基的产生。

本实验提示该验方还可通过以上的酶促作用机理, 对白细胞减少症起着清除氧自由基的作用, 而中西药组在增效及协同治疗方面效果最优, 从而为拓宽中西医结合治疗白细胞减少症提供了理论依据。

[参考文献]

[1] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 2179-2180.

[2] 姚尔固, 徐世荣, 董作仁. 新编白血病化疗学[M]. 天津: 科学技术出版社, 1999. 98-130.

[3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 1103-1105, 1010-1011.

[4] 田金洲, 韩明向. 现代中医临床辨病治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 408-409.

[5] 孙伟正, 刘丽波, 孙凤. 中医血液病学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000. 159-160.

[6] 赵克然, 杨毅军, 曹道俊. 氧自由基与临床[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000. 563-575.