

速效救心丸通过肥大细胞促进胎鼠宫内发育的作用

李秀富^{1,2}, 高登慧², 姚红艳², 欧德渊²

(1.铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554300; 2.贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025)

摘要:为探讨速效救心丸(QAHR)通过肥大细胞及其主要介质促进宫内胎儿生长发育的作用, 将 140 只雌性小鼠随机分正常对照组、速效救心丸 250 mg/kg、500 mg/kg 和 750 mg/kg 给药组。当小鼠妊娠至 16 d 时脱颈椎处死小鼠, 对其子宫组织分别进行组胺(HA)含量和一氧化氮合酶(NOS)活力测定, 子宫肥大细胞(MC)、肝素阳性细胞显色及微血管密度(MVD)测定。结果表明, 500 mg/kg 和 750 mg/kg 的速效救心丸给药组小鼠子宫 MC 数、肝素阳性细胞数、子宫 MVD 和 NOS 活力较对照组显著($P<0.05$)升高, 而子宫 HA 含量显著($P<0.05$)低于对照组。提示速效救心丸可能通过增加小鼠子宫组织内 MC 数量及其主要介质的释放, 改善血液循环和促进微血管生成, 从而促进宫内胎儿的生长发育。

关键词:速效救心丸(QAHR); 肥大细胞(MC); 介质; 小鼠

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 0439-8114(2015)04-0920-03

DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2015.04.037

Effects of Quick-acting Heart Reliever on Intrauterine Growth of Fetal Mice through Mast Cells

LI Xiu-fu^{1,2}, GAO Deng-hui², YAO Hong-yan², OU De-yuan²

(1.Tongren Polytechnic College, Tongren 554300, Guizhou, China; 2.College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: To study the effects of quick-acting heart reliever (QAHR) on the intrauterine growth of fetal mice through mast cells and its main medium, 140 female mice were randomly divided into 4 groups and fed with the diet added 0, 250 mg/kg, 500 mg/kg and 750 mg/kg QAHR. After pregnancy of 16th day, the mice were sacrificed and detected about the content of histamine, activity of nitric oxide synthase, mast cells in uterus, heparin-positive cells staining, and microvessel density (MVD) test. The results showed that the number of the mast cells, the heparin-positive cells, the activity of NOS and the microvessel density in the uterus pregnancy mice in 500 mg/kg and 750 mg/kg QAHR groups were significantly higher ($P<0.05$) than that in the control group. The content of histamine was significantly low ($P<0.05$). It is indicated that the QAHR improved blood circulation and the generation of blood vessel might promote the numbers of mast cells and release its vasoactive mediators, and then affect the intrauterine growth of fetal mice.

Key words: quick-acting heart relieve; mast cells; medium; mice

胎儿在子宫内的生长和发育是一个复杂的生物学过程。宫内发育迟缓(Intrauterine growth retardation, IUGR)是哺乳动物胚胎、胎儿或其器官在妊娠期间生长和发育受阻的现象, 主要受遗传、环境以及母体和胎儿间营养物质供给的影响^[1], 最终均导致子宫胎盘发育障碍及循环功能障碍, 而妊娠期子宫胎盘的血液循环主要靠血管周围的活性介质和增加微血管生成来维持其低张状态^[2]。IUGR 对产

后胎儿的生长发育及其饲料利用效率方面均有永久性的阻碍作用, 对机体组成、肉质及其运动能力也存在长期的负面影响, 给畜牧生产造成较大的经济损失, 也是医学领域尚未能完全解决的一大难题^[3]。速效救心丸(Quick-acting heart reliever, QAHR)由川芎和冰片组成。具有行气活血、祛瘀止痛、增加冠脉血流量、缓解心绞痛、舒张血管平滑肌等作用。本试验通过 QAHR 对孕鼠子宫肥大细胞

收稿日期: 2014-06-16

基金项目: 贵州省自然科学基金项目(黔科合 J 字[2012]2146 号)

作者简介: 李秀富(1980-), 男, 贵州思南人, 讲师, 硕士, 主要从事畜牧兽医教学和组织胚胎学研究, (电话)15286773536(电子信箱)

lsx00000@126.com; 通信作者, 欧德渊, (电子信箱)oyl1000@sina.com。

(Mast cell, MC) 及其主要介质影响的研究, 揭示 QAHR 通过 MC 及其主要介质对宫内胎儿生长发育的作用, 旨在为综合防治 IUGR 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 从贵阳医学院实验动物中心购进昆明系[scxk(黔)2002-0001]同批、同饲养条件小白鼠 210 只, 体重(35.0±3.0) g, 雌雄比 2:1。

1.1.2 主要仪器 TP1020 型自动组织脱水处理机、RM2125 型旋转式切片机, 德国 LEICA; Mias 图像采集系统, 四川大学计算机系图像图形研究所; 930A 型荧光分光光度计, 上海三科仪器有限公司。

1.1.3 主要试剂 速效救心丸, 天津中新药业集团公司第六中药厂, 批号: 617046; Toluidine Blue O, Sino-American Biotech, 批号: bs1091; 一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, NOS)试剂盒, 南京建成生物工程研究所, 批号: 20090703; CD34 抗体, 武汉博士德生物工程有限公司, 批号: 20090809; 常规试剂等。

1.2 方法

将 140 只体重(35.0±3.0) g 雌性小白鼠随机分为 4 组, 每组 35 只(每笼 2 只), 对照组饲喂基础日粮, QAHR 给药组分为 3 个剂量组(即在基础日粮中分别按 250、500、750 mg/kg 的量拌饲 QAHR), 小鼠均自由采食饮水, 饲养室温光条件与环境一致。预饲 1 周后, 按雌雄比例 2:1 配种, 当晚将雄鼠放进雌鼠笼内, 次日早晨检查母鼠, 若有阴栓的判定为怀孕第一天。妊娠至第 15 天时禁食 24 h, 脱颈椎处死母鼠, 用吸水纸吸取多余的水分后分别测每组胎仔数, 用电子天平测每个胎仔重、子宫胎盘重, IUGR 数(即低于正常胎鼠平均体重 10% 的胎鼠数); 用荧光光度法测子宫组胺(HA)含量; NOS 试剂盒测子宫组织 NOS 活力; Carnoy's 固定, 甲苯胺蓝染色

(Toluidine blue, TB) 显示 MC; NBF 固定, 吖啶橙(Acridine-Orange, AO) 显示子宫肝素阳性细胞; CD34 试剂盒进行微血管密度(Microvessel density, MVD)显色。

1.3 数据处理

各组试验数据均以平均数±标准误表示, 用 SPSS13.0 软件中 One-way ANOVA 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 小鼠胚胎生长发育指标测定结果

由表 1 可见, 500 mg/kg 和 750 mg/kg QAHR 组平均胎仔重较对照组显著($P<0.05$)增加; 子宫胎盘重随拌饲的 QAHR 剂量升高而增高, 且 750 mg/kg QAHR 组较对照组显著($P<0.05$)增加; 750 mg/kg QAHR 组胎仔数较对照组显著($P<0.05$)增加; 500 mg/kg 和 750 mg/kg QAHR 组 IUGR 数较对照组显著($P<0.05$)减少。而 250 mg/kg QAHR 组与对照组相比各项指标差异均不显著。

表 1 小鼠胚胎生长发育指标测定结果 ($n=35$)

组别	胎仔数 只	平均胎仔重 g	子宫胎盘重 g	IUGR 数 只
对照组	12.97±0.53	0.34±0.01	3.25±0.23	1.50±0.22
250 mg/kg QAHR	13.31±0.59	0.38±0.02	3.55±0.13	0.96±0.18
500 mg/kg QAHR	13.78±0.46	0.39±0.02*	3.68±0.13	0.83±0.16*
750 mg/kg QAHR	14.58±0.17*	0.43±0.01*	3.83±0.18*	0.66±0.21*

注: 与对照组比较, “*”表示差异显著($P<0.05$), 下表同。

2.2 小鼠子宫 MC 和肝素阳性细胞的分布

经 TB 与 AO 染色的切片观察, 孕小鼠子宫 MC 及肝素阳性细胞均主要分布于肌层近血管处, 外膜中较少, 内膜内极少(图 1~5); 由表 2 可见, 500 mg/kg 和 750 mg/kg QAHR 组小鼠子宫 MC 及肝素阳性细胞数较对照组均显著($P<0.05$)增加, 250 mg/kg QAHR 组小鼠子宫 MC 及肝素阳性细胞数与对照组相比差异不显著。

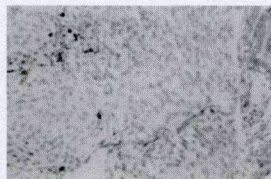


图 1 对照组小鼠子宫, 箭头所指为 MC(TB, ×100)



图 2 500 mg/kg QAHR 组小鼠子宫, 箭头所指为 MC(TB, ×100)



图 3 对照组小鼠子宫, 箭头所指为 MC(AO, ×100)



图 4 500 mg/kg QAHR 组小鼠子宫, 箭头所指为 MC(AO, ×100)



图 5 750 mg/kg QAHR 组小鼠子宫, 箭头所指为 MC(AO, ×100)

表 2 小鼠子宫 MC 和肝素阳性细胞数测定情况 ($n=35$)

组别	MC 数/个/mm ²	肝素阳性细胞数/个/mm ²
对照组	26.01±1.27	27.40±0.68
250 mg/kg QAHR	27.16±0.99	28.80±0.58
500 mg/kg QAHR	31.97±0.75*	31.00±1.30*
750 mg/kg QAHR	38.36±0.95*	31.60±1.08*

2.3 小鼠子宫 HA 含量与 NOS 活力测定

由表 3 可见,500 mg/kg 和 750 mg/kg QAHR 组小鼠子宫 HA 含量较对照组显著 ($P<0.05$) 降低,而子宫组织 NOS 活力较对照组显著 ($P<0.05$) 升高,250 mg/kg QAHR 组小鼠子宫 HA 含量和 NOS 活力与对照组相比差异不显著。

2.4 子宫微血管的分布

CD34 具有染色强、背景清晰、易计数的特点。



图 6 对照组小鼠子宫,箭头所指为血管 (CD34, ×100)



图 7 500 mg/kg QAHR 组小鼠子宫,箭头所指为血管 (CD34, ×100)



图 8 750 mg/kg QAHR 组小鼠子宫,箭头所指为血管 (CD34, ×100)

表 4 小鼠子宫 MVD 数测定 ($n=10$)

组别	子宫 MVD/条/mm ²
对照组	730.13±22.55
250 mg/kg QAHR	781.35±29.73
500 mg/kg QAHR	833.06±13.73*
750 mg/kg QAHR	845.73±18.07*

3 小结与讨论

3.1 QAHR 对孕鼠子宫 MC 及其主要介质的影响

子宫内 MC 的研究是生殖学的重要内容^[4],其释放的活性介质 HA 具有舒张血管平滑肌和松弛子宫平滑肌的作用,HP 有改善低氧血症和微循环等作用^[5],NO 有舒张血管和降低血管阻力的作用,而且还有促血管生成的作用^[6]。

本试验中,AO 染色显示的小鼠子宫肝素阳性细胞与 TB 染色显示的 MC 形态与分布十分相似,主要分布于肌层近血管处,外膜中较少,内膜中极少而不易看见,形态多样,大小不一,胞浆内有大小不等的颗粒。MC 和肝素阳性细胞在数量上随 QAHR 呈剂量依赖性升高,肝素是 MC 合成和分泌的主要介质^[7],NOS 是调节内源性 NO 产生的关键因素^[8]。本试验中小鼠子宫、胎盘 HA 随 QAHR 剂量的升高而降低,NOS 活力随 QAHR 剂量的升高而升高。且本试验中小鼠胚胎生长发育相关指标随 QAHR

表 3 小鼠子宫组织 HA 含量和 NOS 活力 ($n=10$)

组别	子宫组织 HA 含量 ng/g	子宫组织 NOS 活力 U/mg prot
对照组	3.318 3E3±80.02	1.17±0.12
250 mg/kg QAHR	3.073 8E3±53.80	1.29±0.03
500 mg/kg QAHR	2.937 3E3±82.51*	1.57±0.11*
750 mg/kg QAHR	2.766 2E3±44.77*	1.51±0.11*

阳性细胞呈棕黄色条索状排列,广泛分布于子宫组织的毛细血管内皮细胞,许多含有多层平滑肌成分的厚壁大腔血管内皮细胞同时也着色(图 6~8)。由表 4 可见,500 mg/kg 和 750 mg/kg QAHR 组小鼠子宫 MVD 较对照组显著 ($P<0.05$) 增多,而 250 mg/kg QAHR 组小鼠子宫 MVD 与对照组相比差异不显著。

添加剂量的升高均有升高,IUGR 数减少。综合分析认为可能是 QAHR 促进孕鼠子宫 MC 调控其主要介质释放共同调节孕鼠子宫微血管生成、改善低氧血症、改善微循环、促进子宫平滑肌舒张和调节胚胎发育的结果^[9,10]。

3.2 QAHR 对孕鼠子宫微血管生成的促进作用

妊娠期间,血管发生和血管化是胚胎生长发育的基础^[11]。MC 可以刺激血管内皮细胞增生,NO 能促使血管内皮生长因子等物质产生^[9];HA 在体内外均有促血管生成的作用;HP 能特异性刺激毛细血管内皮细胞迁移和血管构成^[11];QAHR 对鸡胚尿囊膜血管生成也有明显的促进作用^[12]。

本研究采用内皮细胞特异性较高的 CD34 抗原标记子宫微血管,可见阳性细胞呈棕黄色,广泛分布于子宫组织的毛细血管内皮,许多含有多层平滑肌的血管也有着色,具有染色强、背景清晰、易计数的特点。在数量上,小鼠子宫 MVD 有随 QAHR 剂量增加呈依赖性升高的趋势。由此可见,QAHR 可能通过调节子宫内 MC 促血管生成因子的释放和其本身的促血管生成作用双向调节血管生成,使子宫内微血管数目增加,进而促进母仔间的营养供给和加速代谢产物排除,为子宫内胎儿的生长发育提供充足的氧和营养素,这可能是 QAHR 防治 IUGR 的部分机理。

(下转第 930 页)

测到,种类最多,主要有四大家鱼、鳊、赤眼鳟,未发现刀鲚。朱广其^[7]在 2009 年对鄱阳湖水道 3 个点进行调查,研究发现鲢、草鱼等江湖洄游性鱼类在 7~10 月数量最多。因此,鄱阳湖水道屏峰水域(位于水道中段)洄游鱼类种类数在夏、秋季丰水期多于春、冬季枯水期。夏、秋季丰水期是定居性鱼类产卵繁殖的季节,同时也是江湖洄游性鱼类幼鱼入湖的时期,以及鱼类的繁殖活动与洄游的高峰期。

在相对丰度方面,洄游鱼类的重量丰度在 3 月最高,随后逐渐降低;至 7 月逐渐增大,到 9 月中旬均维持较稳定的水平。数量丰度在 7 月中下旬最大。研究表明,在水位上升时期,洄游鱼类进入鄱阳湖水道时,其占总渔获物相当大的比重。此次调查结果有力地说明了洄游鱼类在渔获物中的组成变化规律与此观点相符。另外,由于调查区域附近采砂活动的影响,导致鱼类的生态环境发生变化,形成了四大家鱼的越冬场,这较好地解释了四大家鱼在冬季和春季初的渔获物中占较大的比例这一现象。

4)渔业保护和利用措施。通江湖泊在维持长江水系生物多样性方面具有重要作用,应加强对鄱阳湖的保护,保持、维护和控制其自由通江状态。对通江水道洄游鱼类群落结构变化的研究表明,长江与其连通水体可形成良好生境互补,保持水文自然连通对补充湖泊鱼类资源,维持鱼类自然种群有着重要意义。

就长江中下游泛滥平原洄游鱼类保护来说,要做到以下几点:①从长江流域的角度出发,维持江湖自然连通,适时实施水文调度;②完善保护和管

理措施,如延长禁渔期以完全覆盖其洄游时间;③对于鄱阳湖的渔业增殖保护,严令禁止盲目围湖造田,湖内严禁筑堤垦殖,扩大湖区植被覆盖率,加大水土保持力度,减少泥沙入湖淤积;④加强渔政管理,坚决打击非法捕捞和网具的使用,逐步减少直至完全取缔天然捕捞;⑤继续加强资源动态监测,掌握洄游鱼类资源的变动趋势,以便于更好地保护、开发和利用。

参考文献:

- [1] 张堂林,李钟杰.鄱阳湖鱼类资源及渔业利用[J].湖泊科学,2007,19(4):434-444.
- [2] 崔奕波,李钟杰.长江流域湖泊的渔业资源与环境保护[M].北京:科学出版社,2005.
- [3] 钱新娥,黄春根,王亚民,等.鄱阳湖渔业资源现状及其环境监测[J].水生生物学报,2002,26(6):612-617.
- [4] 熊小英,胡细英.鄱阳湖渔业资源开发及其可持续利用[J].江西水产科技,2002(4):7-11.
- [5] 胡茂林,吴志强,刘引兰.鄱阳湖湖口水域鱼类群落结构及种类多样性[J].湖泊科学,2011,23(2):246-250.
- [6] 陈文静,张燕萍,赵春来,等.近年长江湖口江段鱼类群落组成及多样性[J].长江流域资源与环境,2012,21(6):684-691.
- [7] 朱其广.鄱阳湖通江水道鱼类夏秋季群落结构变化和四大家鱼幼鱼耳石与生长的研究[D].南昌:南昌大学,2011.
- [8] 胡茂林.鄱阳湖湖口水位、水环境特征分析及其对鱼类群落与洄游的影响[D].南昌:南昌大学,2009.
- [9] 朱海虹,张 本.鄱阳湖[M].合肥:中国科学技术大学出版社,1997.
- [10] 张 本.鄱阳湖自然资源及其特征[J].自然资源学报,1989,4(4):308-318.
- [11] 鄱阳湖研究编委员会.鄱阳湖研究[M].上海:上海科学技术出版社,1988.
- [12] 黄 亮.水工程建设对长江流域鱼类生物多样性的影响及其对策[J].湖泊科学,2006,18(5):553-556.

(责任编辑 屠 晶)

(上接第 922 页)

参考文献:

- [1] BEHRMAN R E, KLEGMAN R, JENSON H B. Nelson Text-book of Pediatrics[M]. 16th edition. United States: W B Saunders Co, 2000. 477-485.
- [2] FOX S B, KHONG T Y. Lack of innervation of human umbilical cord: An immunohistological and histochemical study[J]. Placenta, 1990, 11(1): 59-62.
- [3] 周根来. 新生仔猪小肠发育及胎儿宫内发育迟缓对其的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2003. 8-54.
- [4] 张文学, 张新胜, 薛德明, 等. 孕鼠子宫肥大细胞分布、数量和组化性质的动态变化[J]. 解剖学杂志, 2000, 23(3): 225-227.
- [5] 鲁月娥. 肝素临床应用的新进展[J]. 中国医药导报, 2005(11): 28-29.
- [6] ZERVOU S, KLENTZERIS L D, OLD R W. Nitric oxide synthase expression and steroid regulation in the uterus of women with menorrhagia[J]. Mol Hum Reprod, 1999, 5(11): 1048-1054.
- [7] 郭俊峰, 高登慧, 欧德渊. 鸡胚发育中免疫器官肝素阳性细胞的观察[J]. 中国家禽, 2011, 33(22): 25-27.
- [8] 胡琅琳. 不同频率电针“内关”对心肌缺血模型大鼠相关经穴皮肤血流量与相关分子(NOS/NO/CaM)变化的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [9] 詹新林. 黄芩丹参复方成分对 NO 合成阻滞模型孕鼠影响的实验研究[D]. 长沙: 湖南中医学院, 2002. 9-21.
- [10] 向 萌, 殷莲华. 肥大细胞与血管新生[J]. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2004, 24(3): 251-253.
- [11] 邹冰玉, 谢 兰, 陈 廉, 等. 血管内皮生长因子在妊娠高血压综合征患者胎盘和蜕膜组织中的表达[J]. 四川医学, 2004, 25(8): 868-869.
- [12] 李朝武, 刘新泳, 张 蕊, 等. 川芎醇对血管内皮细胞增殖与损伤保护作用的研究[J]. 山东大学学报(医学版), 2003, 41(4): 403-407.

(责任编辑 曾德芳)