

疏肝活血方药对实验性动脉粥样硬化血清 钙离子及环核苷酸浓度的影响[△]

天津中医学院病理教研室(300193) 范英昌* 陆一竹 胡利明 朱 钧

摘 要 采用胆固醇饲喂日本大耳白家兔 3 个月,以造成主动脉粥样硬化病变模型,在建立动物模型的同时,给予疏肝活血方中药,待实验结束时,取血测试,观察该中药对血钙浓度,血浆环核苷酸浓度的影响,结果显示,该中药可明显降低 Ca^{2+} 浓度,升高环磷酸腺苷(cAMP)/环磷酸鸟苷(cGMP)比值。提示疏肝活血方对动脉粥样硬化(As)的防治起到积极作用。

关键词 疏肝活血方 动脉粥样硬化 血清钙 环核苷酸

随着年龄的老化,动脉粥样硬化(As)已成为威胁人类健康的主要疾病,本病发病机理极为复杂,参与因素很多。虽然学者们多年来不断地研究防治措施,但尚未获得较满意的结果。祖国医学对 As 的认识有其独到之处,我们在“辩证论治”原则指导下,从贯穿中医理论的整体观入手,认为 As 的发生存在着“肝郁气滞、瘀血内停”的病理机制,因此在推出益肾健脾、涤痰散结法治疗本病的成果基础上,进而提出用疏肝活血法治疗 As,临床上已经取得良好的治疗效果。为了观察该法方药对 As 发病过程中的影响,我们拟以疏肝活血方药用于动物实验,从血清钙离子及环核苷酸浓度方面进行研究。

1 材料和方法

1.1 动物及分组:选取 5 月龄健康日本大耳白家兔 60 只,雌雄各半(天津实验动物中心提供),体重 2.5~3 kg,随机分为 3 组:实验模型组,中药组,正常对照组。实验模型组:每日晨给予胆固醇(进口分装,批号 910318),1 g/只加入基础饲料内。中药组:同样饲料,其中添加疏肝活血方药(主要由杭芍、泽兰、女贞子、陈皮、海藻、枸杞子,三棱等药组成),按

成人剂量 20 倍水煎提取(每日每公斤体重家兔服用 1.76 g 生药浸液),按 1.76 g 生药浸液加入 5 g 饲料比例,早晨以每公体重家兔 5 g 含药饲料饲喂,待吃完后,添加普通饲料。正常对照组:仅给基础饲料饲喂动物。以上各组均自由进水。

1.2 测试指标:实验至 3 个月时,测定血清钙离子浓度及血浆环核苷酸水平。

1.2.1 血清钙离子浓度的测定:由耳缘静脉取血 2 mL,制备成血清,取 50 μL 加入 0.1%氯化镧 3 mL 稀释,采用原子吸收光谱法进行测定(仪器用美国产 IL-Video 原子吸收分光光度计)。

1.2.2 血浆环核苷酸的测定:由耳缘静脉取血 3 mL,用 0.5 mol/L EDTA 生理盐水抗凝,离心,分出血浆。取 50 μL ,按药盒说明书处理,用 ^3H -cAMP 掺入,使用蛋白竞争结合法,液闪计数器测定血浆 cAMP 水平。取血浆 0.5 mL,经乙醇处理,取上清以 0.25 mL 醋酸钠缓冲液溶解,取 50 μL 上清液,按药盒说明书处理,用 ^3H -cGMP 掺入,使用放射免疫法,液闪计数器测定血浆 cGMP 水平。(药盒由北京原子能研究所提供。进口日本产

* Address: Fan Yingchang, Department of Pathology, Tianjin College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin

[△] 天津市自然科学基金项目

所取得的检测数据均作统计学处理。

2 结果

2.1 Ca^{2+} 浓度的变化:取血检测 Ca^{2+} 浓度,给药组 Ca^{2+} 浓度(86.125 ± 5.703)明显低于实验模型组(102.869 ± 16.438),说明疏肝活血方能够降低 As 模型家兔组 Ca^{2+} 浓度,见表 1。

2.2 血浆环核苷酸的变化:实验对 cAMP 及 cGMP 的浓度分别进行测定,给药组的 cAMP 浓度(43.108 ± 7.31)高于实验模型组(30.491 ± 6.086),而 cGMP 浓度($70.25 \pm$

表 1 血清 Ca^{2+} 浓度($\text{P}/\mu\text{g} \cdot \text{mL}$)

组别	动物数(只)	$\bar{x} \pm s$
实验模型组	13	$102.869 \pm 16.438^{**}$
给药组	11	$86.125 \pm 5.703^{\Delta\Delta}$
正常对照组	12	87.892 ± 12.781

与正常对照组比较 $^{**}P < 0.01$;与实验模型组比较 $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 。

28.367)则相反,低于实验模型组(104.365 ± 33.638),给药组的 cA/cG (0.507 ± 0.134)明显高于实验模型组(0.340 ± 0.162),提示此法方药通过提高 cAMP,降低 cGMP,升高 cA/cG 比值而增强疗效,见表 2。

表 2 血浆环核苷酸浓度及比值($\text{pmol}/40 \mu\text{L}$)($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	cAMP	动物数(只)	cGMP	动物数(只)	cA/cG
实验模型组	11	$30.491 \pm 6.086^{**}$	13	$104.365 \pm 33.638^{**}$	11	$0.340 \pm 0.162^{*}$
给药组	12	$43.108 \pm 7.31^{\Delta\Delta}$	15	$70.25 \pm 28.367^{\Delta\Delta}$	12	$0.507 \pm 0.134^{* \Delta\Delta}$
正常对照组	10	48.070 ± 4.016	12	61.646 ± 27.181	9	0.759 ± 0.15

与正常对照组比较 $^{**}P < 0.01$;与实验模型组比较 $^{\Delta\Delta}P < 0.01$

3 讨论

本实验以胆固醇喂饲家兔,使其发生典型的高脂血症和 As 病变。

cAMP 和 Ca^{2+} 是相关的两个信使。cAMP 的第二信使作用,通过依赖 cAMP 的蛋白激酶,对某些功能性蛋白质或酶进行磷酸化,从而调节细胞内钙的转运过程而致; Ca^{2+} 的第二信使使用由钙调素(CaM)实施,钙-钙调素复合物广泛激活各种酶,包括影响环核苷酸代谢的酶系统。在静息状态下,细胞内 $[\text{Ca}^{2+}] < 10^{-7} \text{mol/L}$, Ca^{2+} 不能与 CaM 的钙结合位点结合,当细胞受到有效刺激时,胞外 Ca^{2+} 大量内流,胞内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 增加, Ca^{2+} 与 CaM 结合,从而调节包括蛋白激酶,核苷酸环化酶及磷酸二酯酶在内的一系列酶的活性^[1,2,4,5],共同参与控制血小板功能。如腺苷酸环化酶系统即可通过降低胞内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 来抑制血小板聚集,从而使 As 的发生缺少了必要条件。此外,细胞内 Ca^{2+} 、CaM 水平的变化,直接影响着细胞周期的进程,通过多种机制对细胞增殖进行调控^[3],而动脉平滑肌细胞(SMC)的增殖,迁移是 As 发生发展的重

要标志之一。冠心病影响到心肌细胞的代谢,致使 cGMP 明显增加,表明 cGMP 与心肌代谢有关。资料表明,甲基强的松龙使高的 cGMP 降低,有利于缺血心脏功能恢复。因此,降低 $[\text{Ca}^{2+}]$,升高 cA/cG 比值对防止 As 的发生具有重要意义。综上所述,使用对 Ca^{2+} , cA/cG 比值产生作用的药物将为 As 的治疗增添新途径。

祖国医学认为 As 的发生存在着“肝郁气滞,瘀血内停”的病理机制,治疗当“疏肝理气、活血化瘀”。肝主疏泄,性喜条达,若肝气失于正常的疏泄,日久则会导致肝郁气滞,气失通畅则不能行血而致瘀血内停,气滞血瘀长期蕴积不散,往往就会导致局部组织的病理变化,瘀血停滞于经脉,则出现 As 斑块,所以我们运用疏肝活血的方药疏肝郁滞之肝气,祛除停滞于经脉的瘀血,从而达到治疗 As 的目的。方用三棱破血祛瘀,行气止痛,配泽兰,杭芍活血祛瘀,取其散滞之功;陈皮乃理气之要药,“气行则血行”,借陈皮之理气而共奏行血之效;加海藻辅以消痰软坚而散结;血瘀日久,瘀血不去,新血不生,方中补以枸

杞子,女贞子滋补肝肾,充盈阴血。实验显示本方可降低血清 Ca^{2+} 浓度,提高 cA/cG 比值,从而抑制血管 SMC 的增生,达到减少 As 发生的目的。实验结果与临床研究结果相互映证,为本方的疗效判定提供了科学的佐证,亦为本方的临床推广应用及进一步研究完善提供了科学依据。

参 考 文 献

1 Laporte P C,et al. Biothemitry,1982,19:3814
2 Tanake T, et al. J Bid Chem,1980,255:11078
3 徐少平,等. 国外医学. 心血管疾病分册,1993,20(3): 131
4 Oate J A. Adv in Prostaglandin Thromboxane and Leukotriene Research. New York;Raver Press,1982. 59
5 Lewis P J,et al. Brit Med Bull,1983,39:281

(1995-09-28 收稿)

Effect of Soothing Liver and Promoting Blood Circulation on Pathogenic Course of Experimental Rabbit Atherosclerosis in Blood Calcium and Cyclic Nucleoside-phosphate

Fan Yingchang,Lu Yizhu,Hu Liming,et al

Atherosclerotic model of rabbit was established by feeding cholesterol for three months. At the same time,part of the animals were treated with prescription to soothe,the liver and promote blood circulation. Blood samples were taken at the end of the experiment to examine the effect on blood calcium concentration and cyclic nucleoside-phosphate content. Results showed that the prescription could significantly reduce blood calcium,and raise cAMP/cGMP ratio which suggested that the prescription could restrain the formation of atherosclerosis effectively,and also delay its development.

薄荷醇与冰片的促透作用

广东医学院药理教研室(湛江 524023) 王 晖* 许卫铭 王宗锐

摘 要 研究薄荷醇和冰片对双氯灭痛的经皮透过作用,发现二者均可使双氯灭痛的透过量增加,但作用较氮酮为弱;同时发现二者的滞后时间比氮酮显著为短。结果提示,薄荷醇和冰片可望作为促透剂在某些药物的透皮给药制剂中得到应用。

关键词 薄荷醇 冰片 氮酮 双氯灭痛 促透剂

薄荷醇和冰片是中医临床较常用的药物,二者均为单萜类物质。已经发现,薄荷醇具有较强的促透作用^[1],根据结构相似,药理作用有可能相同的原理,我们对冰片的促透作用进行研究,并将薄荷醇、冰片与氮酮的促透作用进行比较,以期二者在临床制剂中的使用提供理论依据。

1 材料和仪器

1.1 动物:家兔,雄性,体重为 2.4 kg,由本院动物中心提供。

1.2 药品和试剂;双氯灭痛粉剂,由广东省药检所提供;薄荷醇系上海香料厂生产;氮酮为广州助剂厂产品;合成冰片(龙脑 59.9%,异龙脑 37.5%),广州化工厂生产。

1.3 仪器;ZD85 型气浴恒温振荡器,深圳沙头角国华仪器厂;752 型紫外分光光度计,上海分析仪器厂。

2 方法

2.1 标准曲线的制定:精密称取双氯灭痛粉剂 30 mg,用生理盐水配成 30 mg/100 mL

* Address: Wang Hui,Department of Pharmacology,Guangdong Medical College,Zhenjiang