

Effects of Certain Drugs on the Expression of Antigens

on Human Pulmonary Giant Cell Carcinoma

Zhang Peitong, Pei Yingxia, Qi Xin, *et al.* (Guang'anmen Hospital, Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100053)

Abstract Effects of tetramethylpyrazine(I), tanshinone I A(II), hirudin(III) and thrombin(IV) on the expression of CD9, CD24a, CD63 and TSP on human pulmonary giant cell carcinoma (PGCL3) were investigated by Boyden Chamber covered with Matrigel with the aid of flow cytometry. Results showed that anti-CD9 antibody significantly augmented, while the other three antibodies (anti CD42a, anti CD63 and anti TSP), impaired the invasive potentials of PGCL3. I decreased the expression of CD9 and the number of CD9⁺, CD42a⁺ and TSP⁺ cells; II increased the expression of CD9, but decreased the expression of CD63 and CD42a as well as the number of CD42a⁺ and TSP⁺ cells; III decreased both the expression of CD9, CD63 and CD42a and the number of CD42a⁺ and CD63⁺ cells; and IV decreased the expression of CD9, CD42a and the number of CD42a⁺ cells. The different effects of these drugs on the expression of antigens immunologically related to platelet on PGCL3 cell surface may be related to their different influential actions on the adhesion and invasion of PGCL3 cells.

Key words tetramethylpyrazine tanshinone I A hirudin thrombin flow cytometry antigen immunologically related to platelet adhesion and invasion

清开灵和 654-2 对谷氨酸神经毒性脑水肿的影响[△]

湖南医科大学湘雅医院儿科(长沙 410008) 岳少杰* 罗自强** 邓世林***

虞佩兰 夏令伟***

摘要 采用侧脑室注射谷氨酸诱发脑水肿,观察清开灵和 654-2 对谷氨酸神经毒性脑水肿的影响,结果发现:侧脑室注射谷氨酸可引起双侧大脑弥漫性脑组织水和钠含量增加,而伊文思蓝含量无明显的变化;大剂量清开灵可减轻谷氨酸所致脑组织水及钠含量的增加,而小剂量清开灵和 654-2 无明显作用,提示清开灵具有直接抗谷氨酸神经毒性作用,其作用与其剂量有关。

关键词 脑水肿 谷氨酸盐类 654-2 清开灵注射液

谷氨酸是中枢神经系统中一种重要的兴奋性神经递质,但当其细胞外浓度过高时,可产生兴奋性神经毒性,造成神经元的损伤。近年来的研究表明,谷氨酸的兴奋性神经毒性在多种脑损伤中起着重要的作用^[1,2]。因此,寻找有效的抗谷氨酸神经毒性的中西药物是目前脑损伤防治研究的活跃领域。我们在谷氨酸神经毒性脑水肿的模型上,观察了清开

灵和 654-2 对谷氨酸神经毒性的影响,以探讨清开灵和 654-2 的脑保护机制,为临床小儿脑水肿的防治探索新的途径。

1 材料

SD 大鼠由我校实验动物中心提供。清开灵注射液(北京中医学院实验药厂,批号:9103102)主要组成:牛黄、水牛角、黄芩、银花、栀子等。谷氨酸钠(Sigma 公司)。654-2 注

* Address: Yue Shaojie, Xiangya Hospital, Hunan University of Medical Sciences, Changsha

岳少杰 副教授,1983 年获医学学士学位,1993 年获医学博士学位。主要从事新生儿疾病及小儿脑水肿防治的临床及实验研究。曾主持卫生部青年基金及国家自然科学基金青年基金课题各 1 项。已发表论文 10 余篇,并获湖南省科学进步三等奖。

** 本大学生理教学研究 *** 本大学测试中心

△ 卫生部青年基金资助项目(93073) 国家自然科学基金资助项目(39700193)

注射液(北京制药厂,批号:90062224)。

2 方法

2.1 谷氨酸神经毒性脑水肿动物模型制备:SD大鼠ip 20%乌拉坦(0.5 mL/100g)麻醉,用立体定位仪固定头部,在冠状缝向后旁开2 mm,矢状缝旁开3.5 mm处钻一2 mm的小孔,垂直进针4 mm,进入右侧脑室内,注入谷氨酸50 μmol,诱发谷氨酸神经毒性脑水肿。对照组同法注射等体积NaCl液50 μmol。各组均于实验前iv 2%伊文思蓝生理盐水溶液0.2 mL/kg,作为血脑屏障通透性指示剂,4 h后断头取脑,观察脑组织的蓝染范围和程度,并取左、右大脑半球备用。

2.2 动物分组:SD大鼠48只,雌雄不拘,体重200~260 g,随机分为5组:对照组($n=14$)、谷氨酸组($n=11$)、清开灵I组($n=6$)、清开灵II组($n=11$)、654-2组($n=6$)。清开灵I组,取清开灵7 mL/kg分3次分别于侧脑室注谷氨酸前30 min、注谷氨酸后1和2 h ip。清开灵II组,取清开灵7 mL/kg,于侧脑室注射谷氨酸前30 min 1次ip,并于注谷氨酸后2 h追加半量,总量为10.5 mL/kg。654-2组于注射谷氨酸前30 min ip 654-2 20 mg/

kg,以后每隔30 min注射654-2 10 mg/kg,共8次。谷氨酸组ip等量生理盐水作为对照。

2.3 脑组织含水量测定:取脑组织100 mg置105 C烤箱内,48 h至恒重,称干重计算脑水含量。

2.4 脑组织伊文思蓝含量测定:取左、右大脑半球前半部全层脑组织约100 mg,分别加入3 mL甲酰胺,45 C水浴48 h后,632 nm比色,计算伊文思蓝含量。

2.5 脑组织钠、钾含量测定:取脑组织先后加入浓硝酸和高氯酸,加热消化至清亮,用原子吸收分光光度计测定钠、钾含量。

2.6 统计处理:实验结果用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;组内比较采用配对 t 检验。

3 结果

3.1 谷氨酸对脑组织的含水量、钠、钾及伊文思蓝含量的影响:见表1。显示右侧脑室内注入谷氨酸可致双侧脑皮质的含水量及钠含量均明显高于对照组($P < 0.01$),且左右半球无差异($P > 0.05$)。两组大脑半球均未见蓝染,脑组织钾、钙及伊文思蓝含量无明显差异($P > 0.05$)。

表1 谷氨酸对脑组织水、钠、钾及伊文思蓝含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	含水量(%)		钠(mg/g干重)		钾(mg/g干重)		钙(mg/g干重)		伊文思蓝(ng/g湿重)	
		左	右	左	右	左	右	左	右	左	右
对照组	14	79.75±0.45	79.98±0.33	4.24±0.45	4.48±0.33	16.49±0.83	16.28±1.29	0.450±0.041	0.492±0.062	0.077±0.014	0.073±0.015
谷氨酸组	11	81.46±0.79▲	81.60±0.81▲	5.46±0.91▲	5.99±0.62▲	16.63±1.07	16.05±0.96	0.452±0.095	0.495±0.061	0.074±0.014	0.072±0.013

和对照组比:▲ $P < 0.01$

3.2 清开灵和654-2对谷氨酸神经毒性所致脑水肿的影响:清开灵II组脑含水量及钠含量明显低于谷氨酸组($P < 0.01$),且与对照组无明显差异($P > 0.05$);而清开灵I和654-2组的脑水及钠含量与谷氨酸组相比无

明显的差异($P > 0.05$),明显高于对照组($P < 0.01$)。清开灵两组的脑组织钾含量均高于对照组($P < 0.01$)。各组钙含量无明显的差异(见表2)。

4 讨论

表2 清开灵和654-2对谷氨酸神经毒性脑水肿的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	含水量(%)	钠(mg/g干重)	钾(mg/g干重)	钙(mg/g干重)
对照组	14	79.75±0.45	4.24±0.45	16.49±0.83	0.450±0.041
谷氨酸组	11	81.46±0.79▲▲	5.46±0.91▲▲	16.63±1.07	0.452±0.095
清开灵I组	6	81.26±0.92▲▲	5.64±0.98▲▲	17.48±0.82▲	0.451±0.048
清开灵II组	11	80.12±0.92△△★★	4.29±0.36△△★★	17.29±0.68▲	0.426±0.045
654-2组	6	81.78±0.67▲▲	5.07±0.80▲	16.99±2.74	0.455±0.087

和对照组比:▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$; 和谷氨酸组比:△△ $P < 0.01$; 和清开灵I组比:★★ $P < 0.01$

谷氨酸的兴奋性神经毒性在多种脑损伤

中起着重要作用^[1,2]。本研究结果也显示侧脑

室注射谷氨酸可引起脑组织中水、钠含量的增加,表明侧脑室注射谷氨酸可引起弥漫性脑水肿,证实谷氨酸神经的毒性在脑水肿的产生中起着重要作用。但作为血脑屏障通透性指示剂的伊文思蓝含量在谷氨酸组和对照组之间并无明显的差异,提示谷氨酸引起脑水肿时并无明显的血脑屏障损伤。本研究并未发现谷氨酸组脑组织钙含量的增加,可能与本实验观察时间较短有关。

654-2 为人工合成的阿托品类抗胆碱能受体阻断剂,对感染性休克有显著疗效。对实验性大肠杆菌脑膜炎的脑损伤及百日咳菌液脑水肿也有保护作用^[3,4],并能抑制百日咳菌液脑水肿时脑组织谷氨酸含量的降低^[4]。提示 654-2 可通过抑制谷氨酸的大量释放而发挥其抗脑水肿作用。654-2 具有细胞保护作用^[5],本实验结果发现 654-2 并不能减轻对谷氨酸神经毒性所致脑组织水、钠含量的增加,表明 654-2 对谷氨酸的神经毒性脑水肿无保护作用,不能直接拮抗谷氨酸的兴奋性神经毒性。

清开灵注射液系安宫牛黄丸衍化的一种纯中药复方针剂,具有清热解毒、镇静安神、化痰祛瘀、醒脑开窍之功效。自 1975 年研制成功以来已广泛地应用于小儿病毒性脑炎等颅内感染时高热惊厥、昏迷及成人急性脑血管疾病、肝昏迷等多种疾病的临床治疗^[6]。动物实验也证实,清开灵对缺血性^[7]及感染

性^[8]脑损伤均有保护作用,但其抗脑损伤的具体机制尚未完全清楚。有动物实验显示清开灵可影响脑内乙酰胆碱酯酶活性和谷氨酸含量^[7,9],提示清开灵的作用机制可能与脑内中枢神经递质有关。为此,本研究观察了清开灵对谷氨酸兴奋性神经毒性的影响,以探讨其镇静安神、醒脑开窍的脑保护机制。结果显示 ip 大剂量清开灵,可以明显地减轻谷氨酸神经毒性所致脑水及钠含量的增加,首次显示清开灵具有直接抗谷氨酸神经毒性作用,这为临床应用清开灵防治多种中枢神经系统损伤提供了新的线索。小剂量清开灵对谷氨酸神经毒性脑水肿无明显疗效,表明清开灵的脑保护作用与其所用剂量有关,这提示临床应用清开灵防治脑损伤时剂量不宜太小。结果还提示清开灵可促进脑细胞对 K⁺ 的重摄取,提高脑组织钾含量,但其机制尚有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 岳少杰. 国外医学-神经病学神经外科分册,1994,12(4):205
- 2 岳少杰,等. 湖南医科大学学报,1995,20(3):247
- 3 刘一心,等. 中华医学杂志,1993,73(5):289
- 4 Yue Shaojie, et al. Chinese J Integrated Traditional and Western Medicine,1997,3(1):51
- 5 孙秉庸,等主编. 病理生理学进展(五). 北京:科学技术文献出版社,1993:1
- 6 杨建华. 中成药,1994,16(12):20
- 7 蒋玉凤,等. 北京中医药大学学报,1996,19(3):33
- 8 刘涛,等. 江苏中医杂志,1987,6:33
- 9 朱培纯,等. 北京中医学院学报,1980,3:24

(1998-07-14 收稿)

Effect of Qingkailing and 654-2 on Cerebral Edema Induced by Glutamate in Rat

Yue Shaojie, Luo Ziqiang, Deng Shilin, et al. (Department of Pediatrics, Xiangya Hospital, Hunan University of Medical Sciences, Changsha 410008)

Abstract Rat cerebral edema models were prepared by lateral ventricular injection of glutamic acid which induced dispersive bilateral cerebral edema causing water retention and increase of sodium content. Large doses of Qingkailing (an injection made from Chinese crude drugs with the original prescription of Angongniuhuang Pill used in the treatment of cerebral blood vessel disease) (30 mL/kg) can alleviate the accumulation of water and increase of sodium ion in the brain tissues, but lower doses (20 mL/kg) of Qingkailing and 654-2 were without effects. This result suggested that the anti-glutamate induced neurotoxicity of Qingkailing was dose dependent.

Key words cerebral edema glutamate 654-2 Qingkailing