

参碱对 PLA₂活性的抑制,可能是其抗炎机制之一。

有研究认为苦参碱的抗炎症作用主要表现在对 TNF 与 IL-6 的抑制作用^[5],我们的前期工作也证实 TNF α 的确参与了 LPS 的肝损害过程,但有报道认为 PLA₂ 参与了 TNF α 的产生机制,并且 sPLA₂ 特异抑制剂 Quinacrine 及 cPLA₂ 特异抑制剂 NDGA 都能降低血中 TNF α 的水平^[6],由此可见苦参碱的抗炎作用机制中,对 PLA₂ 活性的抑制可能是更上游的调节因素 Ca²⁺ 在其中的作用可能是把它们联系起来的关键,外周血白细胞内 Ca²⁺ 在用了苦参碱后的浓度反而有所增加说明了这一点,而这可能与苦参碱有 Ca²⁺ 通道激活作用相关。

寻找一种合适的 PLA₂ 抑制剂应用在炎症损伤病理过程中是人们普遍关心的问题,因为 PLA₂ 不但是炎症作用的关键酶,也是正常生理活动中必不可少的,怎样抑制过多产生的 PLA₂ 而不影响正常

生命过程是问题的关键 苦参碱作为一种中草药的天然成分,可能为此问题的解决开辟新思路

参考文献:

- [1] Nakazato Y, Simonson M S, Herman W H, *et al*. Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis in serum-activated mesangial cells by induction of a non-pancreatic (Type II) phospholipase A₂ [J]. J Biol Chem, 1991, 266: 14119-14127.
- [2] 邱耕,涂植光,唐旭. [³H]花生四烯酸掺入大肠杆菌膜检测细胞内外磷脂酶 A₂ 活性 [J]. 中华核医学杂志, 2001, 21 (4): 242-243.
- [3] 方福德. 现代医学实验技巧全书 [M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1995.
- [4] 徐叔云,卞如瀛,陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.
- [5] 林文,张俊平,胡振林,等. 苦参碱对细菌脂多糖诱导大鼠枯否细胞释放肿瘤坏死因子及白细胞介素-6的影响 [J]. 药理学报, 1997, 32 (2): 93-96.
- [6] Mohri M, Spriggs D K, Kufe D, *et al*. Effects of lipopolysaccharide on phospholipase A₂ activity and tumor necrosis factor expression in HL-60 cells [J]. J Immunol, 1990, 144: 2678-2682.

“五子四物瓜石汤”对雷公藤多苷所致雄性大鼠生殖系统毒性的对抗作用及其机制研究

杨静娴¹,徐红¹,韩国柱¹,梁文波²,李传勋^{1*}

(1. 大连医科大学 药理教研室,辽宁 大连 116023; 2. 大连大学医学院 药理教研室,辽宁 大连 116022)

摘要:目的 研究自拟中药复方“五子四物瓜石汤”(WT)对雷公藤多苷(GTW)所致雄性大鼠生殖系统毒性的对抗作用及其机制。方法 雄性大鼠分别 ig 大、中、小剂量的 WT 与固定剂量的 GTW,连续给药 80 d,以单独 ig GTW 或 NS 为对照,观察各组雄性大鼠睾丸脏器指数、精子数、精子活率、睾丸病理结构的变化,并用免疫放射分析法(IRMA)测定各组雄性大鼠血清性激素水平。结果 与单用 GTW 组比较,大或中剂量 WT 可使睾丸重量明显增加,精子数明显升高,精子活率显著提高,其中大剂量 WT 可完全对抗 GTW 对生殖上皮的损害,使睾丸结构完全正常,血清睾酮维持于正常水平。结论 “五子四物瓜石汤”能显著对抗雷公藤多苷对雄性大鼠生殖系统的毒性作用,其对抗作用与 WT 保护睾丸生精上皮免受 GTW 的损害,并使血清睾酮水平维持于正常有关。

关键词: 雷公藤多苷;五子四物瓜石汤;毒性;睾丸脏器指数

中图分类号: R285.53 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)07-0632-03

Studies on counteractive effects of WUZI SIWU GUASHITANG* against GTW-induced genital system toxicity in male rats and its mechanism

YANG Jing-xian¹, XU Hong¹, HAN Guo-zhu¹, LIANG Wen-bo², LI Chuan-xun¹

(1. Department of Pharmacology, Dalian University of Medical Sciences, Dalian 116023, China;

2. Department of Pharmacology, Medical College of Dalian University, Dalian 116022, China)

Abstract **Object** To study the effects of WUZI SIWU GUASHITANG (WT) against multi-glycosides of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. (GTW)-induced genital system toxicity in male rats and its mechanism. **Methods** Male rats in treatment groups were treated respectively with a 80-days oral administration of large-, middle- and small-doses of WT plus a fixed dose of GTW. The rats as control were

* 收稿日期: 2001-12-04

基金项目: 大连市科委资助项目, 现已通过成果鉴定, 并获大连市科技进步三等奖

作者简介: 杨静娴 (1963-), 女, 辽宁大连人, 大连医科大学药理教研室副教授, 博士研究生。辽宁省教委基金课题主持人, 国家自然科学基金

基金项目主要完成者, 主要从事抗炎免疫药理及心血管药理研究, 曾发表论文 10 余篇, 专著 2 部。Tel (0411) 4664538

E-mail: xiaoyang999@sina.com

treated with GTW alone or saline. Thereafter, the changes in testis organ index, the number of spermatozoa, the rate of movable spermatozoa and the structure of spermatogenic cell epithelium were observed and the serum testosterone level was determined by IRMA. Then the comparison was made between treatment and control groups as to above variables. **Results** As compared with GTW group, large- or middle-dose of WT significantly increased the weight of testis, the number of spermatozoa and the rate of movable spermatozoa. Large dose of WT could relieve the damage of GTW to the spermatogenic cell epithelium completely and keep the serum testosterone at normal level. **Conclusion** The combined use of GTW with WT is very useful in relief of GTW-induced adverse reactions of genital system in male rats. The mechanism by which WT exerts the counteractive effects is related to protecting the spermatogenic cell epithelium from being damaged by GTW, and keeping the serum testosterone at normal level.

Key words multi-glycosides of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. (GTW); WUZI SIWU GUASHITANG (WT); toxicity; testis organ index

* WUZI SIWU GUASHITANG (WT) consists of *Fructus Trichosanthis*, *Herba Dendrobii*, *Radix Paeoniae Alba* etc. It is used in the treatment of autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis.

雷公藤多苷 (multi-glycosides of *Tripterygium wilfordii* Hook. f., GTW) 用于治疗各种自身免疫性疾病如类风湿性关节炎等疗效显著。但同时毒副作用也很大, 其中对生殖系统的毒性尤为严重, 从而影响了该药的广泛应用和对相关疾病的治疗。为扩大 GTW 的临床应用范围, 提高安全性, 我们根据中医理论自拟中药复方“五子四物瓜石汤” (WT) 与 GTW 合用, 旨在不妨碍其治疗作用的发挥而对抗 GTW 的毒性, 我们曾报道过 WT 对 GTW 所致雌性大鼠生殖系统毒性具有显著的对抗作用^[1], 且 WT 不妨碍 GTW 的抗炎、免疫调节和改善血液流变性等有益作用的发挥^[2,3]。本文报道 WT 对 GTW 所致雄性大鼠生殖系统毒性的对抗作用及可能机制。

1 材料

1.1 动物: 健康 SD 大鼠, 雄性, 体重 180~220 g, 由大连医科大学实验动物中心提供。

1.2 药物: 雷公藤多苷 (GTW): 江苏泰州制药厂, 批号 960101 “五子四物瓜石汤” (WT): 瓜蒌、石斛、白芍、川芎、生地、当归、五味子、菟丝子、枸杞子、车前子、覆盆子组成, 药材均购自大连市药材公司。WT+GTW: 将每千克体重应给剂量的相当药量的 WT 加水煎提并浓缩至 10 mL/kg, 再分别加入 GTW 30 mg/kg 制成混悬液, 冰箱保存备用。

1.3 主要仪器: LXJH 型离心机, 上海医用分析仪器厂生产; BH2.2-PM-10AD-C 35AD 摄影生物显微镜, 日本产; BH-OLYMPUS 光学显微镜, 日本产; 库尔特 JT 型血球计数仪, 美国贝克曼公司生产; GAMMA-G2 计数仪, 美国德普公司生产。

1.4 主要试剂: ¹²⁵I 标记免疫放射分析药盒 (睾酮抗体): 上海奥瑞恩诊断试剂有限公司提供。其他试

剂均为市售。

2 方法

2.1 对雄性大鼠睾丸脏器指数的影响: 取雄性健康 SD 大鼠 48 只, 随机分为 6 组, 分别为生理盐水 (NS) 空白对照组, GTW 30 mg/kg 组, WT 11.27 g/kg 组, WT 11.27 g/kg+GTW 30 mg/kg 组, WT 5.64 g/kg+GTW 30 mg/kg 组, WT 2.82 g/kg+GTW 30 mg/kg 组, 按 10 mL/kg 每天 ig 一次, 连续给药 80 d, 每周一次称体重调节给药量。实验结束时用乙醚麻醉, 剖腹, 取双侧睾丸称重, 并换算成睾丸脏器指数 (睾丸重量 g/100 g 体重)^[4]。

2.2 对精子数及精子活率的影响: 取上述雄性大鼠单侧副睾尾, 并将其剪碎, 置于 24 mL 乐氏液中, 37℃ 孵育 15 min, 涂片观察精子活率。另取上述副睾尾液 0.1 mL 加入盛有 2 mL NS 的试管中, 用血球计数板在显微镜下计数精子数, 并换算成每毫升副睾尾的精子数^[5]。

2.3 雄性大鼠睾丸病理改变的显微观察: 将雄性大鼠睾丸以 10% 中性福尔马林固定, 石蜡切片, HE 染色, 光镜检查, 观察有无病理形态改变^[6]。

2.4 对雄性大鼠血清性激素的影响: 将上述雄性大鼠于实验结束时, 腹主动脉采血, 1 500 r/min 离心 10 min, 分离血清, 用双位点免疫放射分析法 (IRMA) 测定雄性大鼠血清睾酮含量^[6-8]。

2.5 数据处理: 数据分别采用成组设计的两样本均数比较的 *t* 检验 (实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示), 两样本率比较的 χ^2 检验进行统计学分析。

3 结果

3.1 对雄性大鼠睾丸脏器指数的影响: 见表 1。GTW 可使睾丸脏器指数明显降低, 而大、中、小 3

种剂量 WT分别与 GTW 合用后,该指数均有不同程度的升高,特别是大剂量组显著高于 GTW 组,说明大剂量 WT可显著对抗 GTW 导致的睾丸脏器指数下降

3.2 对精子数及精子活率的影响:见表 1 NS组及 WT组精子密度高,活动好,而 GTW 组精子密度明显低于 NS组及 WT组,活率为零,说明 GTW 显著降低了精子数并抑制了精子的活动力;而大、中、小 3种剂量 WT分别与 GTW 合用后精子数均高于 GTW 组,活力尚佳,其中尤以大、中剂量组最为显著,说明 WT具有对抗 GTW 导致的精子数减少和活率下降作用,且该作用具有明显的剂量依赖性

3.3 对雄性大鼠睾丸病理变化的影响:光镜下,NS 组、WT组及大剂量 WT+ GTW 组睾丸曲细精管结构正常,管腔饱满,曲细精管内生精上皮细胞生长

表 1 对雄性大鼠睾丸脏器指数、精子数、精子活率及血清睾酮水平的影响

组 别	动物数 (只)	睾丸脏器指数	精子数 ($\times 10^7$ /mL)	精子活率	血清睾酮水平 (pmol/mL)
WT 11.27 g/kg+ GTW 30 mg /g	8	0.94 $\pm$ 0.12 [#]	1.12 $\pm$ 0.12 [#]	> 5%	2.85 $\pm$ 1.86 [#]
WT 5.64 g/kg+ GTW 30 mg /kg	8	0.66 $\pm$ 0.13	1.07 $\pm$ 0.21 [#]	0	2.88 $\pm$ 0.87 [#]
WT 2.82 g/kg+ GTW 30 mg /kg	8	0.66 $\pm$ 0.14	0.91 $\pm$ 0.40 [#]	0	0.67 $\pm$ 2.67
GTW 30 mg/kg	8	0.59 $\pm$ 0.23 [*]	0.43 $\pm$ 0.14 [*]	0	0.64 $\pm$ 0.26 [*]
NS	8	1.41 $\pm$ 0.12	6.30 $\pm$ 0.40	> 85%	2.09 $\pm$ 0.90
WT 11.27 g/kg	8	1.29 $\pm$ 0.11	6.41 $\pm$ 1.24	> 85%	

与 NS组比: ** $P < 0.01$; 与 GTW 组比: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

4 讨论

可逆性不育是 GTW 对生殖系统的主要毒性连续服用雷公藤制剂 2个月,可使男性患者精子数明显减少,精子活率下降达不育水平,停药 2个月后可恢复^[9];本实验对雄性大鼠的研究结果表明,GTW (30 mg /kg) 每日 ig 1次,连续给药 80 d使睾丸重量明显减轻,附睾尾精子数明显减少,精子活率下降为 0,出现异常精子,而大或中剂量 WT (11.27或 5.64 g/kg) 与 GTW (30 mg /kg) 合用,可显著对抗 GTW 的上述毒副作用,使睾丸重量明显增加,精子数明显升高,精子活率显著提高 研究还发现,GTW 组睾丸生精上皮有明显损害特征,说明 GTW可直接抑制睾丸生精细胞,以精子细胞和精子最为敏感,其次为精母细胞,精原细胞耐受性最强,提示可能与 GTW 非选择性抑制更新组织有丝分裂有关 血清睾酮水平的下降是生殖上皮受损的结果^[3] 大剂量 WT (11.27 g/kg) 与 GTW (30 mg /kg) 合用,可完全对抗 GTW 对生殖上皮的损害,使睾丸结构完全正常,生精上皮无受损征象,血清睾酮水平维持于正常 实验中发现单独给予 WT

活跃,层次分明 各级生精细胞分布和数量正常,有大量精子形成,支持细胞、间质细胞形态结构正常 而 GTW 组及中、小剂量 WT+ GTW 组曲细精管内空虚无物,各级生精细胞明显减少,初级和次级精母细胞显著减少,精子细胞和精子消失,精原细胞少量存在,可见多核巨细胞形成 说明 GTW对睾丸生精上皮有显著损伤,导致精子的发生明显减少及蜕变,精子发育及成熟障碍,活力下降 而大剂量 WT可完全对抗 GTW 对生精上皮的损伤作用,使睾丸曲细精管结构与正常无异

3.4 对雄性大鼠性激素的影响:见表 1 GTW可使大鼠血清睾酮水平明显降低,而大、中剂量 WT+ GTW 组睾酮水平均较 GTW 组显著提高,说明大、中剂量 WT能显著对抗 GTW 所致的睾酮水平下降,且有使睾酮水平增加的趋势

对正常大鼠生殖系统无影响,仅在 GTW造成生殖系统损害时发挥对抗作用,故可认为 WT的对抗作用机制与其保护睾丸生精上皮免受 GTW 的损害,并使血清睾酮水平维持于正常有关

参考文献:

[1] 梁文波,李维佳,刘俊平,等.中药复方对抗雷公藤多苷毒性的研究Ⅱ.对抗雷公藤多苷对雌性大鼠生殖系统的影响[J].中草药,1999,30(8): 607-608.
[2] 梁文波,杨静娴,刘俊平,等.中药复方对抗雷公藤多苷毒性的研究Ⅲ.对雷公藤多苷抗炎作用的影响[J].中草药,1999,30(12): 916-919.
[3] 杨静娴,梁文波,韩国柱,等.中药复方对雷公藤多苷降粘抗血小板作用的影响[J].中药药理与临床,1999,15(1): 35-36.
[4] 李玲,张益鹤,黄光照,等.雷公藤主要植物化学成分对大鼠生殖器官的影响[J].同济医科大学学报,1998,(1): 49-51.
[5] 方泰惠,徐立,盛颖,等.康精 1号抗雷公藤对雄性大鼠精子数及活力的作用[J].南京中医学院学报,1989,(4): 40-41.
[6] 郑家润,方家麟,徐兰芳,等.雷公藤总苷(TII)对生殖器官的影响Ⅰ.对雄性大鼠的实验[J].中国医学科学院学报,1985,7(1): 1-5.
[7] 马悦,刘辉.研究生免疫学教程[M].大连:大连出版社,1997.
[8] 张均田.现代药理实验方法(下册)[M].北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1999.
[9] 王琴,张红莺.雷公藤毒副反应的病理学基础[J].中草药,1997,28(3): 181-183.