

川芎嗪拮抗激素所致兔血管内皮细胞功能失调

尹良军, 王爱民, 蒋 静*

(第三军医大学附属大坪医院, 重庆 400042)

摘要: 目的 探讨川芎嗪拮抗糖皮质激素引起的血管内皮细胞功能失调。方法 健康雄性家兔 40 只, 随机分为 A 组(注射生理盐水)、B 组(短期注射地塞米松)及 C 组(短期注射地塞米松+ 川芎嗪)。在实验前及实验 15、30、60 d, 观察 3 组家兔血小板数量、血浆血栓素、前列环素、组织纤溶酶原激活物及纤溶酶原激活物抑制物的变化。结果 实验前 3 组的各项检测指标均无显著差异。用药后, 3 组的血小板数量未发生有意义的变化。B 组 tPA/PAI 比值显著降低。TXB₂/PGI₂ 含量比值长期升高。C 组 tPA/PAI 比值各阶段均显著高于 B 组, 而 TXB₂/PGI₂ 比值各阶段均显著低于 A、B 组。结论 川芎嗪能够有效拮抗大剂量地塞米松造成的兔血管内皮细胞功能失调, 可能对某些糖皮质激素并发症的临床防治有一定效果。

关键词: 川芎嗪; 地塞米松; 血管内皮细胞; 功能失调

中图分类号: R 285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)10-0921-03

Correcting effect of tetramethylpyrazine on Dexamethasone-induced functional disorder of vascular endothelial cell in rabbit

YIN Liang-jun, WANG Ai-min, JIANG Jing

(Affiliated Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Key words: tetramethylpyrazine; Dexamethasone; vascular endothelial cell; functional disorder

血管内皮细胞在维持组织正常循环中发挥重要作用。已经发现糖皮质激素可导致血管内皮细胞功能失调, 即内皮细胞产生和释放的一氧化氮(NO)/内皮素(ET)、血栓素 A₂(TXA₂)/前列环素(PGI₂)等平衡失调^[1~3], 这可能与糖皮质激素的许多严重并发症有关。川芎嗪(tetramethylpyrazine)是中药伞形科植物川芎的有效成分, 为一种生物碱单体, 化学结构为四甲基吡嗪。川芎嗪在临床上广泛用于治疗组织器官血液循环障碍性疾病, 疗效肯定^[4]。它是否能有效拮抗糖皮质激素引起的血管内皮细胞功能失调, 从而具有对某些糖皮质激素并发症的临床防治效果尚未见文献报道, 本实验旨在探索这一问题。

1 材料和方法

1.1 动物分组与模型制作: 实验动物采用第三军医大学大坪医院实验动物中心提供的成年健康家兔 40 只, 体重(2.6±0.3) kg, 均为雄性, 随机分为 A、B、C 3 组进行平行实验。A 组: 空白对照组, 10 只, 分别于 1、2、7、8 d sc 生理盐水 2 mL/(kg·d)。B 组: 标准对照组, 15 只, 分别于 1、2、7、8 d sc 地塞米松磷酸钠 10 mg/(kg·d)。C 组: 川芎嗪组, 15 只, 分别于 1、2、7、8 d sc 地塞米松磷酸钠 10 mg/(kg·d) 和 1~28 d sc 盐酸川芎嗪 10 mg/(kg·d)。地塞米松磷

酸钠注射液: 由湖北襄樊恒生药业有限公司生产。盐酸川芎嗪注射液: 由无锡市第七制药厂生产。

1.2 观察项目: 实验前及实验 15、30、60 d 从家兔耳中央动脉采血, 根据各项指标具体的标本采集规定进行收集处理, 供实验检测。

1.2.1 血小板测定: 用日本 Sysmex 公司的 K-4500 型全自动血细胞计数仪进行检测。

1.2.2 血浆组织纤溶酶原激活物(tPA)、纤溶酶原激活物抑制物(PAI)检测: 采用福建太阳生物技术公司提供的试剂盒, 利用发色底物法, 在 DG3022 型酶联免疫仪 450 nm 波长处测吸光度值, 分别检测血浆中组织 tPA、PAI 的活性。

1.2.3 血浆前列环素(PGI₂)、血栓素 A₂(TXA₂)检测: 采用北京东亚免疫技术研究所生产的试剂盒, 用放免自动计数仪进行非平衡法放射免疫测定, 分别检测血浆中 PGI₂ 和 TXA₂ 的稳定代谢产物 6-keto-PGF₁ 和 TXB₂ 的含量。

1.3 统计学处理: 全部实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各組同一指标之间采用 *t* 检验分析。

2 结果

2.1 血小板的变化: 见表 1。B 组在 15 d 明显低于 A 组(*P* < 0.01), 其余均无显著变化(*P* > 0.05)。

表 1 各组血小板数量变化

组别	血小板数量(× 10 ⁹ /L)			
	实验前	实验 15 d	实验 30 d	实验 60 d
A	543 ± 58	571 ± 58	609 ± 27	581 ± 25
B	513 ± 53	404 ± 43*	540 ± 69	555 ± 41
C	533 ± 59	494 ± 48	592 ± 44	557 ± 45

与 A 组相比: * $P < 0.01$

表 2 血浆 tPA、PAI 活性的变化

指 标	组 别	实验前	实验 15 d	实验 30 d	实验 60 d
tPA 活性(IU/L)	A	29.10 ± 4.36	301.50 ± 42.5	303.00 ± 23.0	309.00 ± 29.5
	B	29.40 ± 4.00	838.60 ± 115.2*	42.10 ± 16.4*	112.50 ± 26.3*
	C	27.30 ± 8.66	2 863.50 ± 332.0*	510.20 ± 56.7*	226.50 ± 36.9*
PAI 活性(× 10 ² AU/L)	A	9.05 ± 0.96	90.30 ± 6.4	87.90 ± 6.0	99.60 ± 5.3
	B	8.70 ± 0.38	232.50 ± 9.6*	225.00 ± 16.4*	104.70 ± 10.5
	C	9.03 ± 0.61	231.30 ± 22.8*	174.20 ± 14.3*	100.80 ± 1.5
tPA/PAI(× 10 ⁻² IU/AU)	A	3.21 ± 0.43	3.36 ± 0.56	3.46 ± 0.30	3.12 ± 0.44
	B	3.40 ± 0.57	3.36 ± 0.41	0.19 ± 0.07*	1.10 ± 0.35*
	C	3.05 ± 0.61	12.51 ± 1.92*	2.94 ± 0.26*	2.25 ± 0.23*

与 A 组相比: * $P < 0.01$; 与 B 组相比: $P < 0.01$

表 3 血浆 TXB₂、6-keto-PGF_{1α}含量的变化

指 标	组 别	实验前	实验 15 d	实验 30 d	实验 60 d
TXB ₂ 含量(ng/L)	A	826.0 ± 38.6	834.7 ± 35.9	791.4 ± 26.3	789.5 ± 36.5
	B	787.8 ± 27.6	670.7 ± 53.2*	78.1 ± 15.6*	250.3 ± 43.6*
	C	799.5 ± 31.6	77.4 ± 27.8*	31.8 ± 22.7*	201.2 ± 115.5*
6-keto-PGF _{1α} 含量(ng/L)	A	1 295.0 ± 27.1	1 350.3 ± 199.6	1 365.4 ± 74.8	1 361.1 ± 58.7
	B	1 299.2 ± 112.9	320.5 ± 72.8*	266.9 ± 75.5*	502.9 ± 12.9*
	C	1 269.1 ± 66.6	487.4 ± 167.9*	1 026.2 ± 312.5	880.8 ± 96.4*
TXB ₂ /6-keto-PGF _{1α}	A	0.613 ± 0.020	0.628 ± 0.084	0.579 ± 0.035	0.574 ± 0.017
	B	0.608 ± 0.041	2.223 ± 0.597*	0.136 ± 0.076*	0.502 ± 0.092
	C	0.632 ± 0.042	0.175 ± 0.074*	0.040 ± 0.035*	0.241 ± 0.151*

与 A 组相比: * $P < 0.01$; 与 B 组相比: $P < 0.01$

溶,还可抑制和裂解血小板聚集^[5]。PAI 是 tPA 的相应拮抗剂,血浆中 PAI 活性主要由 PAI-1 表现,它主要由血管内皮细胞合成并释放入血,与 tPA 快速形成 1:1 分子比的复合物,从而使 tPA 灭活^[6]。正常情况下,血浆中 tPA/PAI 保持着平衡状态,PAI-1 水平增高与血栓形成疾病的发生有关^[5]。对于糖皮质激素对血液纤溶功能的长期影响尚不清楚。本实验观察到家兔应用地塞米松后,以 tPA 和 PAI 为标志的血液纤溶功能出现长期失调。B 组家兔应用糖皮质激素后,实验 15 d tPA 和 PAI 活性均升高约 2.5 倍,纤溶功能处于平衡状态。因为糖皮质激素的直接作用是下调 tPA 的合成,提示这一阶段存在其他因素刺激血管内皮细胞,tPA 与 PAI 的合成同比例增加,tPA/PAI 比值保持不变。或者可能通过某些途径,如血液中纤维蛋白对 tPA 的直接激活作用来实现。实验 30 d tPA/PAI 比值剧烈下降,血液处于纤溶抑制最严重阶段,至 60 d 血液纤溶抑制略减轻。而同时应用川芎嗪后,有效地拮抗了地塞米松对 C 组兔血液纤溶功能的抑制作用。实验 15

2.2 血浆 tPA、PAI 活性的阶段性变化:见表 2。

2.3 血浆 TXB₂、6-keto-PGF_{1α}含量变化:见表 3。

3 讨论

tPA 和 PAI 活性水平反映了血液纤溶功能的状况。tPA 主要由血管内皮细胞合成,在纤维蛋白存在时高效激活纤溶酶原生成纤溶酶,启动生理性纤

溶, C 组 tPA、PAI 活性均升高, tPA 活性与其它各组相比升高最多,约是 A 组的 9 倍, PAI 活性则与 B 组在同一水平,提示川芎嗪不影响地塞米松引起的 PAI 活性升高,但是显著地增高 tPA 活性水平。其机制可能是通过增加血管内皮细胞对 tPA 的合成,从而增加血液中 tPA 的总含量和总活性,或者是进一步激活现存的 tPA。实验 30、60 d,伴随着川芎嗪用量的减少和停用, C 组家兔血浆 tPA/PAI 活性比值逐渐下降,但是均显著高于 B 组,表明川芎嗪能够拮抗大剂量糖皮质激素引起的家兔血液纤溶抑制状态,其作用可能与川芎嗪的剂量及疗程有关。

TXA₂ 和 PGI₂ 均是来源于花生四烯酸的前列腺素。TXA₂ 主要由血小板产生,也可由血管内皮细胞合成,是强效的致血小板聚集和血管收缩物质, TXB₂ 为其稳定代谢产物。 PGE₂ 主要由血管内皮细胞合成和释放,可抗血小板聚集和舒张血管, 6-keto-PGF_{1α} 为其稳定代谢产物。本实验观察到应用大剂量糖皮质激素后, B 组家兔血浆 TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 平衡失调。 TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 阶段性平衡

失调分别主要由实验 15 d 的 PGI_2 含量下降和 30 d 的 TXB_2 含量下降引起。提示大剂量糖皮质激素可通过 $\text{TXB}_2/\text{PGI}_2$ 平衡失调而造成较长期的血管痉挛或/和血栓前状态。其机制可能与地塞米松抑制环氧化酶、磷脂酶 A_2 活性, 减少 TXB_2 和 PGI_2 的合成有关^[7]。应用川芎嗪的 C 组家兔, 地塞米松对血管内皮细胞的这一作用受到拮抗, 引起血浆 TX/PGI_2 平衡发生有益于组织微循环的变化。实验各个阶段, C 组血浆 TXB_2 含量均显著低于其它各组。可能原因有两种: 川芎嗪选择性抑制 TXA_2 合成酶的活力, 减少血栓素的合成^[8]; 或者是川芎嗪抑制了血管内微血栓形成, 血小板释放的 TXB_2 没有增加, 从而使地塞米松对 TXB_2 的抑制作用表现出来。C 组血浆 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 含量在实验 30, 60 d 均显著高于 B 组, 可能与川芎嗪增加血管内皮细胞合成、分泌 PGI_2 有关^[4]。在川芎嗪抑制血栓素合成和促进前列环素分泌的双重作用下, C 组 $\text{TXB}_2/6\text{-keto-PGF}_{1\alpha}$ 比值在实验中各阶段均显著低于 A、B 组。提示川芎嗪能够拮抗大剂量地塞米松引起的血管内皮细胞分泌 TX/PGI_2 失调, 从而抑制血管痉挛。而本实验剂量的川芎嗪甚至使兔的微血管在一段时期内处于舒张状态。

综上所述, 大剂量糖皮质激素可造成兔血管内皮细胞功能失调, 可能引起微血管痉挛、血液低纤溶, 这可能与糖皮质激素的许多严重并发症有关。川芎嗪能够有效拮抗这些作用, 可能对某些糖皮质激素并发症的临床防治有一定效果。

川芎嗪的剂量参考自多篇文献^[8~10], 本实验仅采用单一剂量来探讨它对地塞米松的拮抗作用, 具体的量效关系尚待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Zon M H, Bacheschmid M. Hypoxia-reoxygenation triggers coronary vasospasm in isolated bovine coronary arteries via tyrosine nitration of prostacyclin synthase [J]. *J Exp Med*, 1999, 190(1): 135-139.
- [2] Saruta T. Mechanism of glucocorticoid-induced hypertension [J]. *Hypertens Res*, 1996, 19(1): 1-8.
- [3] Jun S S, Chen Z, Pace M C, *et al*. Glucocorticoids downregulate cyclooxygenase-1 gene expression and prostacyclin synthesis in fetal pulmonary artery endothelium [J]. *Circ Res*, 1999, 84(2): 193-200.
- [4] 何红兵, 仲剑平, 叶必远. 川芎嗪促进静脉内皮细胞产生前列环素的研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 1990, 4: 163-164.
- [5] Christ G, Kostner K, Zehetgruber M, *et al*. Plasmin activation system in restenosis: role in pathogenesis and clinical prediction? [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 1999, 7(3): 277-285.
- [6] Zhu Y, Carmeliet P, Fay W P. Plasminogen activator inhibitor-1 is a major determinant of arterial thrombolysis resistance [J]. *Circulation*, 1999, 99(23): 3050-3055.
- [7] Rosenstock M, Katz S, Danon A. Glucocorticoids regulate both phorbol ester and calcium ionophore-induced endothelial prostacyclin synthesis [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1997, 56(1): 1-8.
- [8] 吴余升, 陈可冀. 活血化瘀复方和川芎嗪抑制血栓素 A_2 生物合成的研究 [J]. *中西医结合杂志*, 1985, 5(3): 169-171.
- [9] Chang F C, Huang Y T, Lin H C, *et al*. Beneficial effects of combined terlipressin and tetramethylpyrazine administration on portal hypertensive rats [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 1999, 77(8): 618-624.
- [10] Zeng Z, Zhu W, Zhou X, *et al*. Tetramethylpyrazine, a Chinese drug, blocks coronary vasoconstriction by endothelin-1 and decreases plasma endothelin-1 levels in experimental animals [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, 31(suppl 1): 313-316.

龟叶草抗炎镇痛作用的实验研究

叶丽卡, 陈妍妍, 任常顺, 王慧芬*

(解放军 202 医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110003)

摘要: 目的 研究龟叶草抗炎镇痛作用。方法 抗炎实验采用小鼠耳廓肿胀法、大鼠足肿胀等方法; 镇痛实验选用热板法和醋酸扭体法。结果 龟叶草水煎液 ip 0.5, 2.0 g/kg 及醇提液 2.0 g/kg 均能非常显著地抑制小鼠耳廓肿胀作用, 抑制率分别为 60.23%, 72.31% 及 30.11%。龟叶草醇提液 ip 2 g/kg 在 1, 2, 3, 4 h 对大鼠足肿胀有很明显的抑制作用, 抑制率分别为 91.7%, 68.1%, 37.6%, 43.6%; 剂量为 0.5 g/kg 时抑制率分别为 44.3%, 44.9%, 27.5%, 18.7%。水煎液 ip 0.5, 2 g/kg 对热板致小鼠痛阈有显著提高, 能使醋酸致小鼠扭体反应有显著抑制作用, 抑制率分别为 29.7%, 57.0%。结论 龟叶草有较强的抗炎、镇痛作用。

关键词: 龟叶草; 抗炎; 镇痛

中图分类号: R 286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)10-0923-04

* 收稿日期: 2001-08-27

作者简介: 叶丽卡(1961-), 女, 沈阳人, 副主任药师, 药理学硕士, 主要从事中药药理学和临床药物动力学研究, 已发表论文 20 余篇, 获军队科技成果进步三等奖 4 项。Tel: (024) 23053871 E-mail: yelika@163.com