

啡依赖戒断症状。一些钙离子通道阻断剂,如地尔硫草等已显示出可减轻阿片类药物戒断的严重程度^[10,11]。

本实验结果表明丹参的甲醇提取物能在一定程度上抑制吗啡依赖小鼠纳洛酮催促后的戒断症状,并且自身不存在潜在的身体依赖性。国内已有人在临床合用纳洛酮和丹参来治疗阿片类药物中毒,并取得了很好的疗效^[12]。多种机制可能参与了丹参提取物的抗戒断作用,在现阶段很难推测其确切机制,这有待于结合药理实验筛选出其活性成分并进行深入研究。

References:

- [1] Hosseinzadeh H, Lary P. Effect of *Salvia leriifolia* leaf extract on morphine dependence in mice [J]. *Phytother Res*, 2000, 14(5): 384-387.
- [2] Umathi T, Nayeem M, Balakrishna K, et al. Alcoholic extract of *Bacopa monniera* reduces the *in vitro* effects of morphine withdrawal in guinea-pig ileum [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 82(2-3): 75-81.
- [3] Zafar S, Ahmad M A, Siddiqui T A. Effect of roots aqueous extract of *Delphinium denudatum* on morphine-induced tolerance in mice [J]. *Fitoterapia*, 2002, 73(7-8): 553-556.
- [4] Fu X Q, Cai Z W, Li X C, et al. Study of *Salvia miltiorrhiza* multifunctions of regulating and treating to central nervous system (CNS) [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中国中医药学刊), 2003, 21(3): 373-375.
- [5] Zhang K H. Methods in animal experiment on drug dependence (一) [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 1999, 8(1): 23-26.
- [6] Lee C M, Wong H N, Chui K Y, et al. Miltirione, a central benzodiazepine receptor partial agonist from a Chinese medicinal herb *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Neurosci Lett*, 1991, 127: 241-273.
- [7] Wang H W, He W, Zhu X W, et al. Effect of the level of central cAMP on morphine withdrawal syndromes in rats [J]. *Chin J Pain Med* (中国疼痛医学杂志), 1999, 5(1): 24-27.
- [8] Kohda T, Tanaka S, Seiji Y, et al. Isolation of inhibitors of adenylate cyclase from danshen, the root of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37: 1287-1290.
- [9] Tao Y. Effect of *Salvia miltiorrhiza* Compositae on phosphoinositides metabolism in acute myocardial ischemia [J]. *Chang Kuo Chang His Chieh Ho Iso Chin*, 1993: 354-355.
- [10] Gao J F, Zhao H Y, Wang S X, et al. Inhibitory effect of Diltiazem hydrochloride on morphine withdrawal syndromes and serum monoamines in morphine dependent mice [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 2001, 10(2): 101-103.
- [11] Ahmet D, Unal Z. The role of T-type calcium channels in morphine analgesia, development of antinociceptive tolerance and dependence to morphine, and morphine abstinence syndrome [J]. *Life Sci*, 2002, 71: 725-734.
- [12] Han A L, Yuan J P. Application of naloxone and compound Danshen Injection on emergency of internal medicine [J]. *Chin J Integrated Tradit West Med Intens Crit Care* (中国中西医结合急救杂志), 1999, 6(12): 573-574.

黄芪丹参复方成分对一氧化氮合成阻滞孕鼠胎盘滋养细胞单核细胞趋化蛋白 mRNA 表达的影响

王若光, 尤昭玲, 陈学东, 李春梅, 贺福元, 刘小丽, 刘惠萍

(湖南中医学院 中西医结合系, 湖南 长沙 410007)

摘要:目的 研究黄芪丹参复方成分提高胎盘血供的分子机制, 为临床有效防治胎盘血供不足所致妊娠并发症提供思路。方法 提取分离黄芪丹参复方有效成分, 运用一氧化氮合酶 (NOS) 阻滞剂 L-精氨酸甲酯 (L-NAME) 制备一氧化氮合成阻滞大鼠模型, 核酸原位杂交法检测胎盘局部滋养细胞单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) mRNA 表达的变化。结果 一氧化氮合成阻滞模型组滋养细胞 MCP-1 mRNA 表达染色明显增强, 空白组、黄芪丹参复方成分治疗组及硝酸甘油对照组均能减弱 MCP-1 mRNA 的表达, 与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$)。结论 黄芪丹参复方成分降低母胎界面妊娠免疫反应, 抑制胎盘免疫病理损伤, 可能与抑制 MCP-1 mRNA 表达及母胎界面炎性细胞游走、浸润有关, 是其能够提高胎盘血液供应的机制之一。

关键词:妊娠; 一氧化氮; 滋养细胞; 单核细胞趋化蛋白-1; 黄芪; 丹参; 胎盘

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)05-0723-04

Effect of components in *Radix Astragali-Radix Salviae Mil Tiorrhizae* Compound on expression of monocytic chemotactic protein mRNA on placental trophocyte of nitrogen oxide synthesis blocking pregnant rats

WANG Ruo-guang, YOU Zhao-ling, CHEN Xue-dong, LI Chun-mei,

HE Fu-yuan, LIU Xiao-li, LIU Hui-ping

收稿日期: 2004-11-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30000225); 国家中医药管理局基础项目 (2000-J-T-17); 湖南省教委青年资助项目 (01B014)

作者简介: 王若光 (1967—), 男, 河南遂平县人, 教授, 医学博士, 中南大学生物科学与技术学院生物学博士后, 湖南省高校青年骨干教师, 湖南省中医药跨世纪人才, 入选湖南省新世纪 121 人才工程, 主要从事中药成分分子药理学研究。

Tel: (0731) 5381292 5381112 13055188116 E-mail: dplnw@public.cs.hn.cn

(Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan College of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

Key words: pregnancy; nitrogen oxide (NO); trophocyte; monocytic chemotactic protein-1 (MCP-1); *Radix Astragali*; *Radix Salviae Mil Tiorrhizae*; placenta

妊娠高血压综合征(简称妊高征,PIH)和胎儿宫内生长迟缓(即胎萎不长,IUGR)是导致孕产妇和婴儿病率及死亡率升高的主要原因,严重影响人口质量,确切病因均尚未明确。本实验在前期研究^[1~4]基础上,进一步从胎盘滋养细胞单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)mRNA表达角度,探讨黄芪丹参复方有效成分对母胎界面免疫监视及胎盘免疫病理损伤的影响及机制。

1 材料

1.1 动物:中国科学院上海实验动物中心提供清洁级SD系大鼠110只(实验动物合格证:中科动管003号)。雌雄2:1分笼饲养,鼠龄100~120 d,体重200~250 g。

1.2 药物:以益气化瘀立法黄芪丹参复方组分(黄芪提取黄芪甲苷、黄酮类;丹参提取丹参酮、丹参酸,各成分比例约5:1:2:2,其中黄芪甲苷质量浓度为0.32 mg/mL),25%乙醇作溶媒,离心后上清液用0.22 μ m微孔滤膜滤过,由湖南中医学院药学院制成注射液,相当于生药量为2 g/mL,灭菌冷藏备用。硝酸甘油,批号20010924,北京明兴制药厂出品。

1.3 试剂:*L*-精氨酸甲酯(*L*-NAME, *L*-ornithine, USA Cayman Chemical 公司产品)。原位杂交检测试剂盒为Boster公司产品(产品编号:MCP-1 MK1404;保存:4℃;工作量:100张切片;有效期:1年;适用种属:人和大鼠、小鼠等动物,大鼠、小鼠和人靶基因序列相同)。

2 方法

2.1 动物模型制备:雌鼠按妊娠顺序随机分为模型组、空白组、阳性对照组、治疗组,每组15只。除空白组大鼠于妊娠第10天开始sc双蒸水外,其他各组均于妊娠第10天起sc *L*-NAME,每天125 mg/kg,分别至妊娠第18天。治疗组同期ip黄芪丹参复方组分6 mL/kg。对照组同期ip硝酸甘油1350 μ g/kg。妊娠第18天,各组大鼠于25%乌拉坦麻醉下,剖腹,取胎及胎盘。

2.2 原位杂交及染色:采用多相寡核苷酸探针和高敏感标记技术,配合敏感性加强型的原位检测方法,灵敏、清晰,结果准确、可靠。MCP-1的寡核苷酸探针,经地高辛标记。MCP-1寡核苷酸探针序列:(1)

5'-TGAGT GGGGC GTTGA TTGCA TCTGG CTGAG-3';(2) 5'-AGCTT CTTTG GGACA CTTGC TGCTG GTGAT-3',新鲜胎盘标本修整0.2~0.5 cm²放入4%多聚甲醛中固定10 min,取出,30%蔗糖液脱水至沉;取出,OCT(甲基纤维素)包裹,异戊烷-液氮法速冻。用YO-202型冰冻切片及一次性切片刀(浙江金华益迪医疗设备厂)分别切成5、20 μ m切片;载玻片清洗、硅化、多聚赖氨酸包被;切片以纯丙酮固定15 min,0.5% H₂O₂-甲醇溶液浸泡30 min,灭活内源性过氧化物酶。切片上滴加3%柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶,37℃消化30~120 s,暴露mRNA片段。0.5 mol/L PBS洗3次,每次5 min。蒸馏水洗1次。预杂交:湿盒准备一干的杂交盒底部加20%甘油20 mL以保持湿度。按每张切片20 μ L加预杂交液。置恒温箱37~40℃2~4 h。吸取多余液体,不洗。杂交:按每张片20 μ L杂交液,加在切片上。将ISH专用盖玻片的保护膜揭开后,盖在切片上。恒温箱40~42℃杂交过夜。杂交后洗涤,揭掉盖玻片,30~37℃水温的2×SSC洗涤,5 min×2次;0.5×SSC洗涤,15 min×1次;0.2×SSC洗涤,15 min×1次。滴加封闭液,37℃、30 min。甩去多余液体,不洗。滴加生物素化地高辛,37℃、60 min或20℃左右、120 min。0.5 mol/L PBS洗5 min×4次。滴加SABC,37℃、20 min或20℃左右、30 min。0.5 mol/L PBS洗5 min×3次。不用其他缓冲液和蒸馏水洗涤。滴加生物素化过氧化物酶,37℃、20 min。0.5 mol/L PBS洗5 min×4次。DAB显色20~30 min。蒸馏水充分洗涤。酒精脱水,二甲苯透明,封片。结果观察MCP-1 mRNA的细胞胞浆着色呈棕黄色。原位杂交的阳性等级按以下方法计算:①阳性细胞数:阳性细胞≤10%、≤30%、≤70%和>70%分别计1、2、3和4分;②阳性着色强度:杂交信号强度可分为弱、中、强3级,分别计1、2和3分,上述两种计分相加,1~3分者为阴性,4~5分者为阳性,6~7分者为强阳性。每组选5个不同个体标本,每个标本随机取10张切片,每个切片400倍光镜下观察3个视野,共计30个视野,积分累计进行统计分析。

2.3 统计方法:数据输入 SPSS10.0 进行方差分析。

3 结果与分析

通过积分比较,空白组孕鼠胎盘滋养细胞 MCP-1 mRNA 表达与一氧化氮合成阻滞模型组差异显著 ($P<0.01$),黄芪丹参复方成分治疗组、硝酸甘油对照药物组与模型组比较差异显著 ($P<0.01$)。见表 1。各组阳性表达见图 1。

4 讨论

反复自然流产(RSA)、妊娠高血压综合征 MCP-1 mRNA 表达

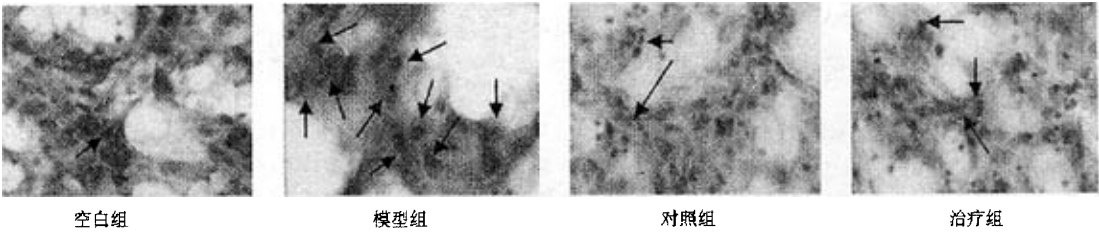


图 1 各组 MCP-1 mRNA 的表达
Fig. 1 Expression of MCP-1 mRNA in every groups

(PIH)、胎儿宫内生长迟缓 (IUGR) 是临床常见的妊娠并发症,确切机制尚未明确,PIH 常并发 IUGR,目前已有的研究证据表明,三者之间存在类似或相同的核心病理变化,即:母胎界面免疫调节失败或相对失败→蜕膜化不足,滋养细胞缺血缺氧→侵入不足,胎盘化血管重铸过程中血管浸润受阻→胎盘浅表着床→子宫胎盘胎儿供血不足→流产或 PIH、IUGR 等并发症^[5,6]。子宫胎盘供血不足,滋养细胞缺血、缺氧是妊娠并发症的发病原因或病理实质^[6]。临床 PIH、IUGR 或严重子痫病例,胎盘部位均存在不同程度的病理损伤。主要表现在胎盘绒毛和子宫胎盘床血管壁 IgA、IgG、IgM 和 C3 阳性表达明显高于正常妊娠妇女,PIH 胎盘免疫复合物和补体沉积处多可见血管内膜增厚、管腔狭窄、纤维素样坏死和急性动脉粥样硬化病变^[7,8]。炎性细胞向蜕膜部位或母胎界面游走增加,单核细胞趋化蛋白 (MCP-1) mRNA 表达增强可能参与胎盘免疫病理损伤及急性螺旋动脉粥样硬化等病理过程。

MCP-1 mRNA 在胎盘滋养细胞表达与母胎界面的免疫监视及妊娠免疫耐受机制有关。本实验结果表明模型组 MCP-1 mRNA 表达明显增加,与黄芪丹参治疗组、阳性药物硝酸甘油组比较差异均非常显著 ($P<0.01$)。可能与 PIH、IUFGF 等妊娠并发症时母胎界面的免疫反应增强有关,MCP-1 mRNA 表达增加,则趋化炎性细胞向母胎界面游走,可能引起胎盘滋养细胞异常凋亡增加、子宫螺旋小动

表 1 各组 MCP-1 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s, n=30$)

Table 1 Comparison of expression of MCP-1 mRNA in every groups ($\bar{x}\pm s, n=30$)

组 别	剂 量	MCP-1 mRNA
空白	—	14.20±2.59
模型	—	49.93±6.65 $\Delta\Delta$
对照	1350 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	19.83±3.68**
治疗	6 mL $\cdot\text{kg}^{-1}$	16.90±3.83**

与空白组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与模型组比较: ** $P<0.01$
 $\Delta\Delta P<0.01$ vs blank group; ** $P<0.01$ vs model group

脉急性粥样硬化、胎盘后出血、坏死增加等一系列病理反应。黄芪、丹参具有较好的调节免疫功能的作用,其可能通过抑制 MCP-1 mRNA 过度表达,而减轻母胎界面免疫反应,阻抑胎盘病理变化的形成。

NO 减少或其活性降低或失活增加是动脉粥样硬化 (AS) 的早期表现之一。MCP-1 是单核细胞重要的趋化、活化因子,与 AS 的发生、发展有关。研究证实,L-精氨酸 (L-Arg) 作为 NO 合成底物,通过 NO 调节 MCP-1 表达作用,而具有抗 AS 作用^[9]。本研究表明,一氧化氮合成阻滞模型大鼠 MCP-1 mRNA 表达明显升高,可能与 NO 的合成不足有关,这可能是导致螺旋动脉管腔狭窄、纤维样坏死和急性粥样硬化病变的原因之一。黄芪丹参复方有效成分可能是通过促进 eNOS 表达,NO 合成增加,从而调节 MCP-1 mRNA 表达,达到治疗目的。

References:

[1] You Z L, Wang R G. Tarin of Chinese medical studies on pregnancy-induced hypertension syndrome (PIH) [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2002, 7: 37.

[2] Liu Z G, Wang R G, You Z L, et al. Nitrogen oxide synthesis to blood change of plasma nitrogen oxide of rat model and intervention of Yiqi Huayu Principle [J]. *Pract Prev Med* (实用预防医学), 2002, 9(6): 36-38.

[3] Liu Z G, Wang R G, You Z L, et al. The Mechanism of composition of Huangqi-danshen on TNF- α of rat model by oxide synthesis [J]. *Pract Prev Med* (实用预防医学), 2002, 9(5): 47-49.

[4] Wang R G, You Z L, Li K X, et al. Study on the effect of Yiqi Huayu principle on the placental morphology of inter uterine growth retardation rat [J]. *Chin J Tradit Med Sci*

- Technol (中国中医药科技), 1997, 4(1): 41-44.
- [5] Fu J, Gao Y M. Studying progress immunological mechanism of the occurrence of pregnancy-induced hypertension syndrome (PIH) [J]. *Chin J Perinat Med* (中华围产医学杂志), 2001, 4(3): 177-179.
- [6] Lin Q D. The recent research on etiology of pregnancy-induced hypertension disorders [J]. *Chin J Obstet Gynecol* (中华妇产科杂志), 2002, 18(5): 288-330.
- [7] Heimarth J, Krawczenko A, Dus D. Increased maternal plasma levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in pregnancy induced hypertension (PIH) [J]. *Ginek-Pol*, 2000, 71(4): 247-250.
- [8] Yu G Y, Deng Z D. The effects of L-arginine and nimodipine on the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in endothelial cells induced by Lipopoly saccharide [J]. *Chin Med J* (中华医学杂志), 1999, 79(9): 669-671.

养血清脑颗粒治疗急性脑梗死临床观察

黄登鹏¹, 彭卫平¹, 潘速跃²

(1. 广东省连州市人民医院 内科, 广东 连州 513400; 2. 第一军医大学南方医院 神经内科, 广东 广州 510516)

摘要:目的 探讨养血清脑颗粒治疗急性脑梗死的临床疗效。方法 将符合诊断的 162 例急性脑梗死患者随机分成治疗 A 组 (n=54)、治疗 B 组 (n=55)、对照组 (n=53)。治疗 A 组在常规综合治疗的基础上加用养血清脑颗粒, 每次 1 包, 一天 3 次; 治疗 B 组加用养血清脑颗粒, 每次 2 包, 一天 3 次; 对照组在常规综合治疗的基础上加用得乐冲剂, 每次 1 包, 一天 3 次, 疗程均为 2 周。治疗前后测定血清超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA), D-二聚体 (D-D)、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 及白细胞介素-6 (IL-6) 水平, 同时观察临床疗效。结果 治疗 A 组、B 组与对照组总有效率分别为 79.6%、92.7% 与 56.6%。治疗 A 组在疗程结束后 MDA、D-D、TNF- α 、IL-6 有所下降, 而 SOD 则有所升高。治疗 B 组各指标改善更明显, 对照组各指标变化不大。结论 养血清脑颗粒治疗急性脑梗死疗效确切, 且疗效随着剂量的增加而增加。

关键词:养血清脑颗粒; 急性脑梗死; 超氧化物歧化酶 (SOD)

中图分类号:R286.10

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)05-0726-03

Clinical observation on treatment of acute brain infarction by Yangxue Qingnao Granula

HUANG Deng-peng¹, PENG Wei-ping¹, PAN Su-yue²

(1. Department of Medicine, Lianzhou People's Hospital, Lianzhou 513400, China; 2. Department of Nervous Medicine, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510516, China)

Key words: Yangxue Qingnao Granula; acute brain infarction; superoxide dismutase (SOD)

急性脑梗死是老年人常见病、多发病, 死亡率高, 病残率亦高, 其治疗对疾病的转归影响深远。本院于 2003 年 3 月—2004 年 6 月用养血清脑颗粒治疗急性脑梗死 (全部为住院病人) 109 例, 取得显著疗效, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料: 入选患者均符合下列条件: ①符合 1995 年全国第四届脑血管病学术会议制定的急性脑梗死的诊断标准, 且均经头颅 CT 或 MRI 证实; ②起病 72 h 内; ③首次发病或者既往虽有卒中史, 但未留下神经功能缺损者; ④入选前未经抗凝、溶栓等治疗。入选者 162 例, 随机分成 3 组, 即治疗 A 组、治疗 B 组、对照组, 分别为 54、55、53 例。162 例中, 男 87 例, 女 75 例; 年龄为 52~81 岁, 平均年龄

(70.6 $\pm$ 7.8) 岁; 梗死部位: 基底节区梗死 66 例, 多发性脑梗死 47 例, 脑叶梗死 23 例, 小脑梗死 20 例, 脑干梗死 6 例; 病程平均为 (2.2 $\pm$ 0.5) d, 神经功能缺损评分为 (22.56 $\pm$ 5.49) 分。3 组病例在性别、年龄、病情严重程度、病程、神经功能缺损评分、梗死部位等方面统计学比较无显著差异。

1.2 治疗方法: 全部病例均给予综合治疗, 如吸氧、抗炎、神经营养药、维持水电解质平衡、抗脑水肿、控制血压等常规治疗, 但均不用钙离子拮抗剂、抗凝剂、溶栓剂等。治疗 A 组在常规治疗的基础上加用养血清脑颗粒 (天津天士力制药股份有限公司生产, 每袋 4 g, 批号 20030212), 每次 1 包, 每天 3 次; 治疗 B 组给予养血清脑颗粒, 每次 2 包, 每天 3 次; 对照组在常规综合治疗的基础上加用得乐冲剂 (丽