

川芎对急性实验性脑缺血大白兔血浆和脑脊液中强啡肽A1-13含量的影响

第二军医大学附属长海医院神经内科 (200433)

刘 众 史荫绵 陈达仁 府 军 田桂琴 宫 杰

内容提要 应用放射免疫测定法测定了急性实验性脑缺血大白兔脑缺血前后血浆和脑脊液中强啡肽 A1-13 样免疫活性物质(ir-Dyn A1-13) 含量的变化。发现脑缺血后血浆和脑脊液中 ir-Dyn A1-13 的含量明显升高 ($P < 0.01$)；应用川芎治疗能显著地改善血浆和脑脊液中 ir-Dyn A1-13 含量变化，并能显著地减轻大白兔脑组织缺血性损害和神经系统功能障碍。本文进一步探讨了脑缺血的病理生理机制及川芎防治脑缺血的作用机理。

关键词 脑缺血 川芎 强啡肽A1-13

内源性阿片肽在脊髓损伤和脑缺血的病理生理过程中发挥着重要作用。近年来，近多研究表明强啡肽(Dynorphin, Dyn) 与脑缺血的病理生理机制具有非常密切的关系^[1,2]。我们应用放射免疫测定法测定了急性实验性脑缺血大白兔脑缺血前后血浆和脑脊液(CSF)中Dyn A1-13样免疫活性物质(ir-Dyn A1-13)含量，并观察应用活血化瘀中药川芎治疗对脑缺血后血浆和CSF中ir-Dyn A1-13含量及脑组织缺血性损害的影响，以进一步探索脑缺血的病理生理机制以及川芎防治脑缺血的作用机理。

材料与方法

一、动物分组与模型建立：取 18 只体重 2.5~3.0kg 健康无孕纯种新西兰大白兔，雌雄不拘。在水和饲料充足条件下饲养 1 周。然后随机分成三组：川芎治疗组(川芎组)、生理盐水治疗组(盐水组)和对照组，每组 6 只。川芎组经耳静脉注射 20% 川芎注射液 1ml (我院药厂制备，批号：890226)；盐水组经耳静脉注射生理盐水 1ml，每日注射 1 次，共注射 14 天。对照组不使用任何药物。各组动物在完全相同的条件下饲养。

将动物固定在手术台上，先用塑料无菌注射器分别从三组动物的右心室内抽血 2ml，然后在 2% 奴夫卡因局部麻醉下作颈正中切口，切开皮肤和皮下组织，分离并同时结扎双侧颈总动脉，造成大白兔双侧大脑半球部分性脑缺血。对照组动物只分离双侧颈总动脉，未予结扎。手术后川芎组和盐水组动物立即再经耳静脉分别注射 20% 川芎注射液和生理盐水各 1ml。对照组动物仍不使用任何药物。密切观察各组

大白兔脑缺血后的神经系统体征。手术 1 小时后，用塑料无菌注射器分别从三组动物的右心室内抽血 2ml，并从大白兔的小脑延髓池中抽取脑脊液 0.5ml。将动物断头处死，随即开颅取脑，放入 10% 中性福尔马林溶液中固定，待进行组织形态学检查。

二、标本制备与测定：将抽取的血液标本放入预冷的含有 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ (5mg/ml 血) 和抑肽酶 (500u/ml 血) 的塑料试管中，充分混匀，并迅速离心 (4°C , 3000 转/分) 15 分钟，吸出血浆。CSF 标本放入含有抑肽酶 (500u/ml CSF) 的塑料试管中。血浆和 CSF 标本均在 -40°C 低温冰箱中保存，于 1 周内用放免测定法测定 ir-Dyn A1-13 的含量。各组用成对资料 t 检验比较两组之间差异的显著性。

结 果

一、脑组织形态学改变：川芎组动物的脑膜和脑实质中小血管轻度扩张充血，大脑白质、脑干、海马回和内囊区域可见少量软化灶形成，部分神经细胞尼氏小体减少。盐水组动物的脑膜和脑实质中小血管明显扩张充血，在大脑白质、脑干、海马回和内囊有少量软化灶，胶质细胞小结形成，大脑皮质的神经元细胞呈现广泛的不同程度的尼氏小体减少或细胞融合现象，部分呈固缩改变。对照组动物的脑组织形态学检查未见异常改变。

二、神经系统体征：根据脑缺血后大白兔瘫痪的程度将其分为：轻度：四肢无力，但能缓慢行走；中度：四肢明显无力，但能移动肢体，行走困难；重度：双耳下垂，四肢完全无力，仅能回缩肢体，不能行走。川芎组大白兔脑缺血后瘫痪程度较轻，其中轻

度瘫痪4只(66.7%),中度瘫痪2只(33.3%);盐水组大白兔脑缺血后中度瘫痪5只(83.3%),重度瘫痪1只(16.7%)。对照组大白兔未见神经系统损害体征。

三、血浆与CSF中ir-Dyn A1-13含量的变化:结扎大白兔双侧颈总动脉,以致双侧大脑半球部分性脑缺血后,盐水组血浆和CSF中ir-Dyn A1-13的含量分别为 $154.2 \pm 4.7 \text{ pg/ml}$ ($\bar{x} \pm S$,下同)和 $63.7 \pm 1.5 \text{ pg/ml}$,均显著地高于对照组(血浆 $123.0 \pm 3.6 \text{ pg/ml}$ 和CSF $54.2 \pm 1.9 \text{ pg/ml}$), $P < 0.01$ 。川芎组血浆和CSF中ir-Dyn A1-13的含量分别为 $135.0 \pm 2.6 \text{ pg/ml}$ 和 $55.9 \pm 1.1 \text{ pg/ml}$,与对照组相比仅略有升高($P > 0.05$),但与盐水组相比均显著降低($P < 0.01$)。脑缺血后血浆和CSF中ir-Dyn A1-13含量变化的趋势基本一致,见附表。

附表 脑缺血前后血浆和CSF中ir-Dyn A1-13含量的变化 ($\bar{x} \pm S$)

组别	血浆中ir-Dyn A1-13(pg/ml)		CSF中ir-Dyn A1-13(pg/ml)
	脑缺血前	脑缺血后	脑缺血后
川芎	121.3 ± 2.7	$135.0 \pm 2.6^{**}$	$55.9 \pm 1.1^{**}$
盐水	125.1 ± 3.8	$154.2 \pm 4.7^*$	$63.7 \pm 1.5^*$
对照	124.3 ± 4.2	123.0 ± 3.6	54.2 ± 1.9

*与对照组相比, $P < 0.01$; **与生理盐水治疗组相比, $P < 0.01$

讨 论

强啡肽是一种作用强烈的内源性阿片肽,广泛地分布于中枢和周围神经系统,其中垂体含量最高,下丘脑次之^[3]。近年来,许多研究表明Dyn与脑缺血的病理生理机制具有非常密切的关系^[1,2]。我们在结扎大白兔双侧颈总动脉,使其双侧大脑半球部分性脑缺血之后,发现血浆和CSF中ir-Dyn A1-13的含量显著升高($P < 0.01$)。提示脑缺血时,Dyn释放入血和CSF增多。这与其他作者的研究结果是一致的^[4]。

中医理论重视气、血、津液的正常运行,认为气滞不行则有血瘀。脑缺血就是由于气滞血瘀,血脉不通,从而导致神经系统功能障碍。川芎为“血中气药”,味薄气雄,性最流通,辛散走窜作用甚强,能升能散,上升头目,旁达四肢,下行血海,具有活血化瘀、行气定痛之功效,主治中风入脑头痛,半身不遂等病症。实验研究证明川芎能够扩张小动、静脉,调节血管张力,降低红细胞和血小板的聚集性,改善血流状态,增加微循环血流量^[7~9]。史荫绵等研究发现

川芎能够显著地增加脑血流量,其作用甚至优于罂粟碱和低分子右旋糖酐^[10]。我们应用四川省灌县产川芎(*Ligusticum wallichii* Franch)之干燥根茎,由我院药厂制成20%川芎注射液,其1ml相当于生药0.2g,可供肌肉或静脉注射。我们给一组大白兔应用20%川芎注射液预先用药14天,然后同样结扎其双侧颈总动脉,使双侧大脑半球部分性脑缺血,可见该组大白兔神经系统功能障碍和脑组织形态学改变与盐水组相比明显减轻,其血浆和CSF中ir-Dyn A1-13的含量仅比对照组略高,但比盐水组降低。说明应用川芎治疗能够减轻脑组织缺血性损害,改善神经系统功能障碍。提示血浆和CSF中ir-Dyn A1-13含量的变化与脑组织血液循环的障碍或改善具有密切的关系。

关于脑缺血时Dyn的病理生理意义,Baskin等发现皮下注射Dyn A1-13 2 mg/kg能显著地延长猫脑缺血后的存活时间^[1]。Levallorphan是一种k-受体激动剂,同时又是一种u-受体拮抗剂,给轻度脑缺血沙土鼠的腹腔内注射Levallorphan和Dyn A,在同一动物模型上,Levallorphan和Dyn A对于动物的运动功能障碍都具有显著的改善作用^[2]。说明Dyn A1-13通过k-受体的介导,可能对脑缺血具有一定的保护作用。但Faden等发现神经组织在缺血情况下,脊髓可内源性产生Dyn A,作用于k-受体,加重脊髓损伤或缺血^[5]。而Holaday等证明去掉Dyn A N-端几个与k-受体结合的氨基酸后再给动物鞘内注射,仍能导致瘫痪。这种作用不能被纳络酮或Win44,441所阻断,但它们却能有效地治疗脊髓由于缺血或损伤所致的瘫痪^[6]。因此,Dyn在脑缺血的病理生理过程中究竟发挥何种作用,尚需要进一步研究。

血浆和CSF中的Dyn A1-13可能是由缺血的脑组织合成,并释放入血和CSF;或者是通过由于脑缺血而激活的某种机制合成与释放。应用活血化瘀中药川芎治疗,由于改善了脑组织的血流量,使脑组织缺血减轻,因而Dyn A1-13的合成与释放也随之减少,进一步证明川芎对脑缺血具有积极的防治作用。

参 考 文 献

1. Baskin DS, et al. Dynorphin (1-13) improves survival in cats with focal cerebral ischemia. *Nature* 1984; 312 (5994):551.
2. Handa N, et al. Levallorphan and dynorphin improve motor dysfunction in Mongolian gerbils with unilateral carotid occlusion, the first application of the inclined plane method in the experimental cerebral ischemia. *Life Sci* 1988; 42 (19):1825.

(下转第163页)

表2 各组血小板最大聚集率上升百分数($\bar{x} \pm S$)

组 别	血小板最大聚集率上升率(%)	
	24小时	48小时
疫 苗	200.0 $\pm$ 114.9	708.2 $\pm$ 657.5
生理盐水	-25.9 $\pm$ 21.2	-14.8 $\pm$ 44.6
开 腹	-29.3 $\pm$ 47.1	-13.5 $\pm$ 120.0
大 黄	-4.5 $\pm$ 48.7	50.6 $\pm$ 116.0

三、胰腺肉眼及显微镜下改变：疫苗组8只肉眼均可见胰腺点状出血，其中4只并有融合的片状出血；生理盐水及开腹组胰腺未见出血；大黄组2只未见出血，6只可见出血，但出血程度较轻，仅为点状，无片状融合。镜下疫苗组可见出血主要发生在小血管明显瘀滞扩张基础上；大黄组瘀滞扩张程度较轻；生理盐水及开腹组未见瘀血及出血。

讨 论

1984年我们已观察到，将一定量麻疹活疫苗注入家兔胰腺包膜内，24小时静脉注射去甲肾上腺素，可造成胰腺明显肉眼可见的出血，该组胰腺病理切片镜下可见微循环停滞、小血管扩张瘀血、淋巴及胰腺导管高度扩张、间质水肿等⁽²⁾。提示病毒可通过提高胰腺小血管对儿茶酚胺类物质反应性，而促成胰腺微循环瘀滞及出血。通过肝微循环障碍在病毒所致肝损伤中作用的研究⁽³⁾，我们观察到，将一定量麻疹活疫苗注入家兔门脉，24小时可见肝小血管收缩反应性明显上升；注入耳缘静脉，24小时可见血小板聚集、粘附功能显著增强；同时注入门脉和耳缘静脉，则24小时可见肝微循环障碍及肝功能损伤。提示病毒对某靶器官

的侵袭及病毒血症同时存在，一定时间后当聚集反应性增强的血小板循环至收缩反应性升高的小血管分布器官，就可在该器官发生微循环障碍及器官功能异常。本研究沿相同途径，仅将病毒侵袭器官改为胰腺，亦观察到了胰腺瘀血、出血、血小板聚集功能增强、血清淀粉酶升高。结果不仅支持病毒对胰腺的侵袭可通过促发胰腺微循环障碍造成出血型胰腺炎，亦再次提示病毒侵袭某器官及病毒血症的同时或短期内前后存在，可能是病毒感染时器官功能障碍的机理之一。本研究观察到胰腺导管阻塞不是出血型胰腺炎发生的主要因素。

国外有人观察到内毒素侵袭家兔胰腺24小时，再静注一次内毒素可造成出血坏死性胰腺炎模型⁽⁴⁾，支持细菌或病毒可通过类似途径促成出血型胰腺炎。

本研究大黄治疗组同时可观察到血小板聚集及血清淀粉酶的升高受到阻抑，胰腺瘀血、出血亦较轻，说明大黄是治疗出血性胰腺炎的有效药物，并提示大黄抑制血小板聚集、减轻胰腺微循环障碍是其有效机理之一。

参 考 文 献

1. 王宝恩, 等. 急性出血坏死性胰腺炎的中西医结合治疗. 中华内科杂志 1988; 27(1):25.
2. 任世光, 等. 家兔疫苗—去甲肾上腺素急性出血型胰腺炎模型的建立及其微循环障碍环节的认识. 中国急救医学 1984; 4(5):4.
3. 任世光, 等. 肝微循环障碍在病毒所致肝损伤中作用的研究. 中国病理生理杂志 1989; 5(1):21.
4. Thal A, et al. Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced by local shwartzman reaction. JAMA 1954; 155:569.
5. Goldstein A, et al. Dynorphin-(1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76:6666.
6. Andrews BT, et al. Levels of endogenous opioids and effects of an opiate antagonist during regional cerebral ischemia in rat. J Pharmacol Exp Ther 1988; 247(3):1248.
7. Faden AI, et al. Opiate antagonists Win44, 441-4 stereospecifically improves neurologic recovery after ischemic spinal injury. Neurology 1985; 35:1311.
8. Holsday JW, et al. Endogenous opioids and peptides in shock, spinal trauma and stroke. Elsevier Science Publishers BV 1986:45—58.
9. 史荫绵, 等. 川芎活血化瘀作用的临床和实验研究. 解放军医学杂志 1979; 4(2):98.
10. 史荫绵, 等. 川芎对球结膜和软脑膜慢性微循环障碍的影响. 中华医学杂志 1986; 60(10):623.
11. 史荫绵, 等. 用¹³³Xe吸入法测定川芎对兔脑血流量的影响. 中华核医学杂志 1987; 7(1):41.
12. 史荫绵, 等. 川芎防治急性实验性脑缺血的研究. 中医、中西医结合论文汇编. 上海: 长海医院, 1989:85.

(上接第161页)