

# 川芎嗪对脑梗塞患者脑脊液及血浆中一氧化氮含量的影响

李德洋 石义亭 陈玉萍 李 茹 戴 锋

**内容提要** 目的:探讨一氧化氮(NO)在缺血性脑损伤中的意义及川芎嗪对其影响。方法:采用 Griess 法测定了 20 名对照者和 62 例动脉粥样硬化性血栓性脑梗塞患者(川芎嗪组和普通组)治疗前后脑脊液(CSF)、血浆中 NO 的含量。结果:治疗前患者 CSF 中 NO 含量为重型>中型>轻型>对照组( $P<0.05$ ),并与脑梗塞灶大小呈正相关( $P<0.01$ ),血浆 NO 含量与对照组无显著性差异( $P>0.05$ ),但有随病情加重而下降的趋势。治疗后川芎嗪组疗效和血浆 NO 含量均显著高于普通组( $P<0.05$ ),两组 CSF 中 NO 含量与对照组比较均无显著性差异( $P>0.05$ )。结论:脑组织产生过量的 NO 和血浆 NO 的不足参与了缺血性脑损伤的过程。川芎嗪可选择性地升高血浆中 NO 含量。

**关键词** 川芎嗪 脑梗塞 一氧化氮

**Effect of Ligustrazine on Nitric Oxide Contents in Cerebrospinal Fluid and Plasma of Patients with Cerebral Infarction** Li Deyang, Shi Yiting, Chen Yuping, et al *Tengzhou people's Central Hospital, Shandong (277500)*

**Objective:** To probe into the significance of Nitric Oxide (NO) in ischemic cerebral damage and effect of ligustrazine on it. **Methods:** The NO contents in cerebrospinal fluid (CSF) and plasma of 20 controls and 62 patients with arteriosclerotic thrombotic cerebral infarction (ligustrazine group and common treatment group) were determined with Griess method before and after treatment. **Results:** The NO content in CSF before treatment was higher in severe type, it was higher than that in moderate type, and than that in mild type, again higher than that in control group (all  $P<0.05$ ) and was positively correlated with the size of infarction ( $P<0.01$ ). There was no significant difference between the plasma NO content of patients and that of control group ( $P>0.05$ ), but there was a trend that plasma NO content decreased as the patient's condition worsened. After treatment, the curative effect and plasma NO content of ligustrazine group were both markedly higher than those of common treatment group ( $P<0.05$ ). There were no significant differences between CSF NO contents of the two groups, respectively, and that of control group ( $P>0.05$ ). **Conclusions:** Excessive NO produced in brain tissue and insufficient plasma NO participate the course of ischemic brain damage. Ligustrazine could increase the contents of plasma NO selectively.

**Key words** ligustrazine, cerebral infarction, nitric oxide

一氧化氮(NO)是近年发现的一种细胞间和细胞内信息传递分子,能广泛参与和调节体内多种生理和病理活动<sup>(1)</sup>。它与缺血性脑损伤的关系正日益引起人们的注意。本研究观察了动脉粥样硬化性血栓性脑梗塞(下称脑梗塞)患者脑脊液(CSF)、血浆中 NO 的含量及川芎嗪对其的影响,并探讨 NO 在急性脑梗塞中的作用。

## 资料与方法

1 临床资料 62 例脑梗塞患者均为 3 日内首次发病的住院病例,符合全国第二届脑血管病会议修订的诊断标准<sup>(2)</sup>,经颅脑 CT 证实为非出血性脑梗塞,并除外糖尿病,慢性阻塞性肺病,严重心、肝、肾疾病及近 2 周伴发感染性疾病。治疗前、治疗中均未应用硝普钠、硝酸酯类药物。病变部位均限于颈内动脉系统。随机分为两组:(1)川芎嗪组(30 例),男 19 例,女 11 例;年龄 43~77 岁,平均  $64 \pm 7$  岁。(2)普通组(32

例),男 17 例,女 15 例;年龄 42~80 岁,平均  $64 \pm 8$  岁。另设对照组(20 名),男 12 名,女 8 名;年龄 39~76 岁;平均  $63 \pm 7$  岁;其中神经衰弱综合征 5 名,腹股沟斜疝 6 名,健康人 9 名,均无心、脑、肝、肾、肺疾病、高血压病及生化指标异常。三组间年龄、性别无显著性差异( $\chi^2 = 0.43, 0.69, P > 0.05$ )。

2 治疗方法 (1)川芎嗪组:低分子右旋糖酐注射液(山东淄川制药厂生产,批号 950814)500ml 加盐酸川芎嗪注射液(北京第四制药厂生产,批号 950848,每支 40mg/2ml)120mg 静脉滴注,每日 1 次,疗程为 14 天。有颅内高压者酌情使用脱水剂等对症处理。(2)普通组:除不用川芎嗪外其他治疗措施及疗程同川芎嗪组。(3)对照组不作任何处理。

### 3 观察指标

3.1 CSF 和血浆中 NO 测定 脑梗塞患者治疗前后及对照组均在上午 7:00~9:00 时空腹采集标本。先取肘静脉血 2ml 加入肝素化试管中,混匀,分离血浆;再腰穿采集 CSF 2ml,经 4℃,3000r/min 离心 10min,取上清液与血浆一并置 4℃ 冰箱备测。采用 Griess 法<sup>[3]</sup>,通过测定 NO 稳定的代谢终产物  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ,计算出 NO 的含量。药盒购自南京建成生物工程研究所,使用 Clinical System 700 生化分析仪(美国 Beckman 公司),操作步骤按药盒说明书进行。

3.2 脑梗塞灶体积 按 Pullicino 公式<sup>[4]</sup>测定,即脑梗塞灶体积 = 长 × 宽 × CT 扫描阳性层数/2。

3.3 神经功能缺损程度评分 治疗前根据文献<sup>[2]</sup>标准进行评分分型。其中川芎嗪组轻型 9 例,中型 12 例,重型 9 例。普通组轻型 10 例,中型 16 例,重型 6 例。两组之间临床病情轻重无显著性差异( $\chi^2 = 1.16, P > 0.05$ )。治疗后复评,根据文献<sup>[2]</sup>的临床疗效评定标准,计算出两组患者神经功能缺损积分值的减少分数来比较两组的临床疗效。

4 统计学处理 组间资料比较采用成组  $t$  检验,方差分析和  $q$  检验,梗塞灶大小与 NO 的关系采用直线相关分析。

## 结 果

1 各组 CSF、血浆中 NO 含量测定结果 见表 1。治疗前两治疗组 CSF 中 NO 含量均显著高于对照组( $P < 0.001$ ),血浆 NO 含量两治疗组均低于对照组,但均无显著性差异( $P > 0.05$ )。治疗后川芎嗪组血浆 NO 含量显著高于普通组( $P < 0.05$ ),而两组 CSF 中 NO 含量与对照组比较均无显著性差异( $P > 0.05$ )。

2 临床病情与治疗前脑脊液、血浆中 NO 含量的

表 1 各组治疗前后 CSF、血浆中 NO 含量比较 ( $\mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$ )

| 组 别 | 例数  | NO                |                        |
|-----|-----|-------------------|------------------------|
|     |     | 脑脊液               | 血浆                     |
| 对 照 | 20  | $0.65 \pm 0.12$   | $6.68 \pm 1.24$        |
| 普 通 | 治疗前 | $1.08 \pm 0.28^*$ | $6.23 \pm 1.46$        |
|     | 治疗后 | $0.71 \pm 0.23$   | $6.03 \pm 1.43$        |
| 川芎嗪 | 治疗前 | $1.10 \pm 0.31^*$ | $6.19 \pm 1.38$        |
|     | 治疗后 | $0.69 \pm 0.21$   | $6.99 \pm 1.21^\Delta$ |

注:与对照组比较, \*  $P < 0.001$ ;与普通组治疗后比较,  $^\Delta P < 0.05$

关系 见表 2。经方差分析,普通组 3 型与对照组间及川芎嗪组 3 型与对照组间 CSF 中 NO 含量均有显著性差异( $P < 0.01$ );而血浆 NO 含量均无显著性差异( $P > 0.05$ ),但普通组、川芎嗪组血浆 NO 含量均有随病情加重而下降的趋势。经  $q$  检验,普通组、川芎嗪组 CSF 中 NO 含量均为重型 > 中型 > 轻型 > 对照组( $P < 0.05$ )。

表 2 临床病情与治疗前 CSF、血浆中 NO 含量的比较 ( $\mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$ )

| 组 别 | 例数 | NO                |                 |
|-----|----|-------------------|-----------------|
|     |    | 脑脊液               | 血浆              |
| 对 照 | 20 | $0.65 \pm 0.12$   | $6.68 \pm 1.24$ |
| 普 通 | 轻型 | $0.86 \pm 0.20^*$ | $6.63 \pm 1.21$ |
|     | 中型 | $1.11 \pm 0.27^*$ | $6.35 \pm 1.61$ |
|     | 重型 | $1.37 \pm 0.26^*$ | $5.85 \pm 0.88$ |
| 川芎嗪 | 轻型 | $0.82 \pm 0.34^*$ | $6.81 \pm 1.41$ |
|     | 中型 | $1.10 \pm 0.28^*$ | $5.90 \pm 1.75$ |
|     | 重型 | $1.35 \pm 0.33^*$ | $5.61 \pm 1.55$ |

注:与对照组比较, \*  $P < 0.01$

3 脑梗塞灶大小与治疗前 CSF 中 NO 含量关系 治疗前脑梗塞灶大小与 CSF 中 NO 含量呈正相关( $\gamma = 0.396, P < 0.01$ ),与治疗前血浆 NO 含量未见相关性( $\gamma = -0.112, P > 0.05$ )。

4 神经功能缺损评分 川芎嗪组治疗前(分,  $\bar{x} \pm s$ )为  $18.12 \pm 8.96$ ,治疗后为  $10.80 \pm 8.25$ ,积分下降  $7.32 \pm 5.12$ ;普通组治疗前为  $17.69 \pm 9.01$ ,治疗后为  $13.32 \pm 8.65$ ,积分下降  $4.37 \pm 4.06$ 。两组积分下降有显著性差异( $P < 0.05$ )。

## 讨 论

内源性 NO 由 L-精氨酸和  $\text{O}_2$  经一氧化氮合酶(NOS)催化生成。业已明确,NOS 有内皮细胞型 NOS(eNOS)、神经元型 NOS(nNOS)和诱导型 NOS(iNOS)3 种亚型,分别存在于内皮细胞、神经元和巨噬细胞等组织细胞中。生理情况下生成的 NO 通过激活可溶性

鸟苷酸环化酶使细胞内 cGMP 水平升高,产生舒张血管平滑肌,调节血管张力,抑制血小板聚集,神经信息传递等多种生物学效应<sup>[1]</sup>。

本研究发现,治疗前脑梗塞患者 CSF 中 NO 含量显著升高,治疗后降至正常,表明急性期缺血脑组织有 NO 的生成过量,与动物实验结果一致<sup>[5]</sup>。这可能是脑缺血时谷氨酸释放增加,激活 N-甲基-D-天冬氨酸受体,  $\text{Ca}^{2+}$  内流增多,从而大量激活 NOS 产生过量的 NO<sup>[6]</sup>。有人发现,选择性 nNOS 抑制剂 7-硝基吡唑能缩小大鼠脑梗塞灶,该保护作用可被 NO 合成底物 L-精氨酸逆转<sup>[7]</sup>。我们也发现,治疗前 CSF 中 NO 含量与脑梗塞灶大小呈正相关,临床病情愈重,CSF 中 NO 含量愈高,表明缺血脑组织产生过量的 NO 具有神经毒性。Huang 等<sup>[8]</sup>报道, nNOS 基因敲除的小鼠能明显耐受由大脑中动脉阻断所造成的缺血性损伤,进一步证实了上述观点。缺血脑组织产生过量的 NO 致神经毒性的机理是:(1)介导兴奋性氨基酸的神经毒性。(2)抑制多种与线粒体中电子传递链和三羧酸循环有关的酶,从而抑制线粒体呼吸和能量代谢。(3)与  $\text{O}_2^-$  反应生成强毒性的 ONOO<sup>-</sup>,并进一步生成 ONOOH,后者分解生成强毒性的羟和二氧化氮自由基<sup>[6,7]</sup>。川芎嗪是具有活血化瘀作用川芎的有效成分,我们发现川芎嗪(含低分子右旋糖酐)对急性脑梗塞有显著疗效,优于单用低分子右旋糖酐,与文献报道一致<sup>[9]</sup>。我们还发现治疗前脑梗塞患者血浆 NO 比对照组虽无显著降低,但有随病情加重而下降的趋势。治疗后,川芎嗪组血浆 NO 显著高于普通组,而 CSF 中 NO 两组差异不显著。提示急性脑梗塞患者血浆 NO 存在着不足,并可能参与了缺血性脑损伤的过程。还提示川芎嗪是通过选择性地升高血浆 NO 而发挥治疗作用。血浆 NO 的不足可能与粥样硬化的动脉存在着 NO 合成障碍及急性脑梗塞时所产生的大量  $\text{O}_2^-$  过多降解 NO 有关<sup>[10,11]</sup>。由于血浆 NO 的不足,使 NO 的正常生理功能受到影响,引起血小板聚集,脑血管痉挛,局部脑血流量下降,使缺血性脑损伤加重。Lo 等<sup>[12]</sup>发现 eNOS 基因敲除的小鼠大脑中动脉阻断后缺血中心区比野生鼠明显扩大,而缺血半影区明显减小,且缺血半影区相对灌注指数亦明显低于野生鼠。也说明内皮源性 NO 缺乏或不足参与了缺血性脑损伤的过程。有人发现,川芎嗪具有直接清除  $\text{O}_2^-$  及促进内皮细胞合成 NO 的作用<sup>[13,14]</sup>。我们推测川芎嗪选择性地升高脑梗塞患者血浆 NO 的机理是通过直接清除

$\text{O}_2^-$ , 阻断过多降解 NO 及促进内皮细胞合成 NO 实现的,尚有待进一步研究证实。

## 参 考 文 献

1. 刘耕陶. 一氧化氮的研究前景. 中华医学杂志 1996;76(8): 563—564.
2. 孟家眉. 对脑卒中临床研究工作的建议. 中华神经精神科杂志 1988;21(1):57—60.
3. 张灵芝, 谭敦勇, 周爱儒. 组织细胞一氧化氮含量测定的几种方法. 生物化学与生物物理进展 1993;20(6):412—415.
4. 陈清棠. 东菱精纯克栓酶治疗急性脑梗塞的临床研究. 中风与神经疾病杂志 1996;13(4):213—215.
5. Tominaga T, Sato S, Ohnishi T, et al. Potentiation of nitric oxide formation following bilateral carotid occlusion and focal cerebral ischemia in the rat; in vivo detection of the nitric oxide radical by electron paramagnetic resonance spin trapping. Brain Res 1993;614(1,2):342—346.
6. Schuman EM, Madison DV. Nitric oxide and synaptic function. Annu Rev Neurosci 1994;17:153—183.
7. Dalkara T, Yoshida T, Irikura, et al. Dual role of nitric oxide in focal cerebral ischemia. Neuropharmacology 1994; 33(11):1447—1452.
8. Huang ZH, Huang PL, Panahian N, et al. Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. Science 1994;265(23):1883—1885.
9. 徐理纳. 关于活血化瘀药研究的概况. 中医杂志 1981;22(7):74—77.
10. Luscher TF, Boulanger CM, Yang Z, et al. Interactions between endothelium derived relaxing and contracting factor in health and cardiovascular disease. Circulation 1993;87(suppl V):36—44.
11. Darley-Usmar V, Wiseman H, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals; a question of balance. FEBS Lett 1995;369(2,3):131—135.
12. Lo EH, Hara H, Rogowska J, et al. Temporal correlation mapping analysis of the hemodynamic penumbra in mutant mice deficient in endothelial nitric oxide synthase gene expression. Stroke 1996;27(8):1381—1385.
13. 黄建邦, 刘雪芬, 陈树元. 川芎嗪对人血多形核白细胞呼吸爆发与氧自由基的抑制作用. 中国中西医结合杂志 1994; 14(10):607—609.
14. 曹伟标, 罗慰慈, 郭子健, 等. 川芎嗪及硝酸甘油对犬急性缺氧性肺动脉高压的影响. 中国医学科学院学报 1994;16(2):79—83.

(收稿:1997-11-12 修回:1998-02-05)