

低 5-羟色胺状态介导的 NO 超敏实验 及大川芎丸的干预作用

杨洪军, 李 耿, 边宝林

(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 目的: 观察低 5-羟色胺(5-HT) 状态下脑血管对一氧化氮(NO) 的敏感性增高现象, 及大川芎丸的干预作用。方法: 运用微循环技术观察软脑膜血管管径。腹腔注射对氯苯丙胺酸(PCPA) 造成低 5-HT 状态, 以观察脑血管对 NO 的超敏现象; 连续灌胃大川芎丸 7d 后, 以观察该药对正常状态和低 5-HT 状态扩张血管的干预作用。结果: 低 5-HT 状态下, NO 扩张脑血管的作用明显强于正常状态。大川芎丸可以抑制低 5-HT 状态下 NO 导致的脑血管的过度扩张。结论: 低 5-HT 状态下, 脑血管对 NO 的反应性增强; 大川芎丸可以抑制脑血管的过度扩张, 可能是其治疗偏头痛的作用机制之一。

关键词: 5-羟色胺; 一氧化氮; 大川芎丸; 偏头痛

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)01-0028-03

Nitric Oxide Supersensitivity induced by hyposerotonin and the Pharmacological Effect of Dachuanxiong Pill

YANG Hong-jun, LI Geng, BIAN Bao-lin

(Institute of Chinese Materia Medica Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

Abstract: Objective: To observe the enhanced sensitivity of the cerebral vascular NO under hyposerotonin and the pharmacological effect of Dachuanxiong Pill. Method: the diameter of piamatral vascular was observed using microcircular technique; The hyperserotonin was establishal by intraperitoneal injection of PCPA in rats; Intervention of Dachuanxiong Pill in vascular oliation induced by NO under normal and hyposerotonin state was inverstigaterol after intragastric administration of Dachuanxion Pill for seven days. Result: The vascular dilation induced by NO under hyposerotonin is more obvious than in normal state. Dachuanxiong Pill showed antagonism to excessive vasodilatation induced by No under hyposerotonin. Conclusion: Hyposerotonin has significan enhance of cerebral vascular to No; Dachuanxiong Pill an inhibition of the cerebral vascular dilation, which may one of for treatment of migraine indicated.

Key words: 5-HT; Nitric Oxide; Dachuanxiong Pill; Migraine

发头痛,而且使部分人产生具有偏头痛特征的发作,偏头痛患者对 GT 比无偏头痛症状者敏感得多^[2]。但是,偏头痛对 GT 敏感的机制,尚不清楚。

偏头痛发病过程中,存在 5-HT 的代谢紊乱,在发作期,5-HT 含量较正常降低^[3]。而 5-HT_{1B/D} 受体的激动剂是顿挫偏头痛发作的首选药物^[4]。那么低 5-HT 状态可能对 NO 作用的发挥有何影响?偏头痛对 NO 敏感性增高是否通过 5-HT 的降低来介导存?这些问题的研究,将有助于揭示偏头痛对 GT 敏感的原因,探讨 5-HT 与 NO 在偏头痛发病中的相互关系。并通过大川芎丸干预作用的观察,探寻其治疗偏头痛的作用环节。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Wistar 大鼠,体重 200~250g,雌雄兼用,购自北京大学医学部动物中心。

1.1.2 药物和试剂 川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎,天麻为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* BL. 的根茎,分别粉碎并过 100 目筛,把二者按 4:1 的比例混匀,用蒸馏水配成 0.5g/mL 的浓度。

硝酸甘油注射液 广州明星制药厂 生产批号:20000205;对氯苯丙胺酸(*para*-chlorophenylalanine PCPA) ACROS 公司

人工脑脊液(ACSF)配制^[5]:以双蒸水配制,终浓度(mmol/L):NaCl 122.5, KCl 3 CaCl₂ 1.3, MgCl₂ 1.1, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 0.5, 尿素 2.2。所用试剂,均为国产分析纯。

1.1.3 仪器 XTS-30 型连续变倍体视显微镜 北京泰克光学仪器有限公司。双头冷光源 北京泰克光学仪器有限公司。SPV-2401 型 CCD 摄象机 日

本松下。

1.2 实验方法 软脑膜血管直径的观察 参照的 Anan Srikiatkachorn 实验方法^[6]

1.2.1 实验步骤 大鼠用 20% 的乌拉坦,以 1.2g/kg 的用量麻醉,固定在自制简易大鼠固定架上;沿颅骨正中切开皮肤,暴露颅骨,运用平底电动钻头磨薄颅骨;利用眼科弯镊去除颅骨暴露硬脑膜,间断滴加 ACSF 保持湿润;放置在体式显微镜下,通过 CCD 摄象机,将图象引到单色监视器进行观察;图象稳定后,运用显微标尺法,测量动静脉直径;经腹腔按 8mg/kg 的剂量注射硝酸甘油,连续 1h 观察并测量软脑膜动静脉直径。

1.2.2 实验分组

(1) 空白组每天灌胃生理盐水;

(2) PCPA 组每天灌胃生理盐水,于实验前 3 天腹腔注射 300mg/kg PCPA;

(3) 单纯中药组每天灌胃大川芎丸 5g/kg,连续 7d;

(4) 中药+ PCPA 组每天灌胃大川芎丸 5g/kg 灌胃连续 7d,于实验前 3d 腹腔注射 300mg/kg PCPA。

1.2.3 实验数据分析及处理 利用录象带记录的脑血管图象,通过微标尺法测量微动脉直径的变化,实验数据运用可重复测量设计的方差分析进行统计学检验,SPSS.10 软件分析。

2 实验结果

低 5-HT 状态(PCPA 组)软脑膜动脉对 NO 的反应性明显增高,表现为血管的扩张程度和持续时间与正常状态明显不同, $P < 0.001$;大川芎丸对正常状态下,NO 导致的血管扩张,没有影响, $P > 0.05$;但是大川芎丸对低 5-HT 状态下血管对 NO 反应性增高,有拮抗作用, $P < 0.05$ 。

表 1 低 5-HT 介导的血管对 NO 敏感性增高及大川芎丸的干预作用($\bar{x} \pm s$)

组别	造模前血管直径(μm)	造模后血管直径(μm)				
		5min	15min	30min	45min	60min
空白组	46.51 \pm 3.79	58.19 \pm 5.94	55.95 \pm 4.19	56.08 \pm 5.21	53.01 \pm 2.98	53.01 \pm 2.98
PAPC 组	45.75 \pm 3.66	57.81 \pm 5.21	61.75 \pm 6.57	71.63 \pm 7.28	70.38 \pm 7.14	69.01 \pm 6.86
中药组	45.53 \pm 3.45	60.11 \pm 6.42	52.99 \pm 4.68	58.86 \pm 5.59	55.36 \pm 4.73	53.97 \pm 4.47
中药+ PAPC 组	46.35 \pm 3.87	59.04 \pm 6.74	61.84 \pm 6.33	59.14 \pm 6.67	58.13 \pm 5.49	54.76 \pm 4.87

注:PCPA 组与空白组相比 $P < 0.001$;中药组与空白组相比 $P > 0.05$;中药+ PCPA 组与 PCPA 组 $P < 0.05$ 。

3 讨论

3.1 软脑膜微循环观察的方法 由于脑的特殊结构,如何保证既能清晰观察,又能保持脑组织的生理状态以及血管的反应性,是软脑膜微循环研究的关

键问题。较早应用的开放式颅窗,该方法存在一系列的问题^[7],往往难以保持局部组织的生理状态。闭合式颅窗法国内外已经有报道,但是制作复杂,易受各种因素的影响而难以完成。结合本实验的具体

目的,采用硬脑膜完整型的颅窗模型。该模型操作简单,不伤及脑组织和软脑膜的血管,保持了很好的生理状态,图象的清晰度尚可。

3.2 NO 与偏头痛的关系 近年来发现 NO 在偏头痛和其它血管性头痛的产生机制中起十分关键的作用^[1]。NO 是极端重要的内皮衍生松弛因子,由于 NO 半衰期极短,不能用于实验研究。硝酸甘油(GT)的生物学作用是通过生成 NO 而表现出来的,所以常用它进行有关 NO 的实验研究。

在持续静脉滴注 GT 期间,可引起剂量依赖性的反复发作性头痛,同时发现偏头痛患者对 GT 的敏感性较正常志愿者强^[2]。但是,目前尚未搞清为什么偏头痛患者对 NO 的反应更敏感。偏头痛患者对 GT (不依赖 NOS) 和组胺(依赖 NOS) 的敏感性都增加。因此,如果说偏头痛患者对 NO 敏感性升高,是由于 NOS 活性的增强,不能解释对 GT 敏感性增加的问题。认为偏头痛患者脑内 GT 转变成 NO 的速率加快,无法解释组胺的增敏现象。我们认为,偏头痛发病既然存在 5-HT 的代谢紊乱,而且头痛发作初期,5-HT 的水平急剧下降,而尿中 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA) 和 5-HT 增加,使脑膜扩张。因此,本实验拟从机体低 5-HT 状态,探讨 NO 敏感性增强的原因。

3.3 低 5-HT 状态介导的 NO 敏感性增高 PCPA 是色氨酸羟化酶(TPH) 的抑制剂,能有效阻断 5-HT 的生物合成,是一种理想的工具药,给予大鼠 300mg/kgPCPA,三天后脑内 5-HT 含量可以降低 50% ~ 90%^[8]。本研究利用 PCPA 造成机体低 5-HT 的状态,通过观察软脑膜血管直径的变化和脑皮层微血管内皮细胞超微结构的改变,探讨低 5-HT 状态血管对 NO 的反应性的改变。实验结果显示:低 5-HT 状态(PCPA 组) 软脑膜动脉对 NO 的反应性明显增高,表现为血管的扩张程度和持续时间与正常状态明显不同,统计学处理有非常显著性差异, $P < 0.001$ 。可以推测,偏头痛发病过程中,低 5-HT 状态介导了血管对 NO 的高敏反应。也就是说,低 5-HT 状态可能

是偏头痛患者对 NO 敏感性增高的原因。但是,低 5-HT 状态通过何种机制介导 NO 的增敏,尚不清楚,需要进一步研究。

3.4 大川芎丸的干预作用分析 本实验结果显示,大川芎丸对正常状态下,NO 导致的血管扩张,没有影响, $P > 0.05$;但是大川芎丸对低 5-HT 状态下血管对 NO 反应性增高,有拮抗作用, $P < 0.05$ 。大川芎丸对低 5-HT 状态下,NO 所致的皮层微血管内皮细胞超微结构的改变后明显改善作用。可见,大川芎丸可以有效对抗血管对 NO 的超敏反应。大川芎丸是通过拮抗 5-HT 的降低,达到降低血管对 NO 敏感性的,还是通过其它机制,需要深入研究。

参考文献:

- [1] Olesen J., Thomsen L. L., Iversen H. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches[J]. Trends Pharmacol. Sei, 1994. 15: 149-153.
- [2] Olesen J., Iversen H. K., Thomsen L. L. Nitric oxide supersensitivity: a possible molecular mechanism of migraine pain[J]. NeuroReport, 1993. 4: 1027-1030.
- [3] Johnson. K. W. Phebus L. A, Cohen M. L. Serotonin in migraine: theories, animal models and emerging therapeutics[J]. Prog-Drug-Res. 1998. 51:219-44.
- [4] Diener HC, Limmroth V. Advances in pharmacological treatment of migraine[J]. Expert Opin Investig Drugs 2001, 10(10): 1831-1845.
- [5] Gu M, Sharma S, Ong BY, et al. Mechanism of hypoxia-induced alteration in cerebral arteriolar tone in rats[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 1991. 18: 589-593.
- [6] Anan S, Thiraporn A, Supang M, et al. Hypserotonin induced nitric oxide supersensitivity in the cerebral microcirculation [J]. Headache. 2000. 40: 267-275.
- [7] 王世军, 史仁华, 姬广臣, 等. 软脑膜微循环研究中闭合式颅窗法的应用与体会[J]. 微循环学, 1997, 7(4): 21-23.
- [8] 邹冈. 基础神经药理学[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1999. 249.