

· 实验研究 ·

川芎嗪对熏烟致宫内发育迟缓胎鼠脑发育的影响

卢岩¹, 李书琴¹, 吴旭²

(1. 中国医科大学附属第二医院中心实验室, 辽宁 沈阳 110004; 2. 中国医科大学法医学院, 辽宁 沈阳 110001)

[摘要] 目的 宫内发育迟缓(IUGR)患儿常有脑发育的异常。川芎嗪能改善脑部微循环,已被应用于新生儿缺氧缺血性脑损伤的治疗。被动吸烟法造大鼠 IUGR 模型,母鼠在孕 8~20 d 给予川芎嗪,了解其对胎鼠宫内发育迟缓及其脑发育的影响,并探讨其作用机理。方法 孕鼠随机分为 4 组(均 $n=9$):对照组,模型组,小剂量(40 mg/kg)川芎嗪治疗组、大剂量(80 mg/kg)川芎嗪治疗组。后 3 组孕鼠予以被动吸烟导致胎鼠宫内发育迟缓。孕 21 d 剖宫取胎,观测胎鼠体重、脑重、肝重、身长及尾长;检测胎鼠脑组织中一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性。结果 对照组、模型组与小剂量、大剂量川芎嗪治疗组胎鼠 IUGR 发生率分别为 3.9% (4/105), 55.0% (50/106), 11.8% (11/103) 和 5.4% (5/99)。模型组胎鼠体重(3.1 ± 0.3 g vs 3.8 ± 0.6 g)、脑重(0.144 ± 0.012 g vs 0.176 ± 0.018 g)、肝重(0.29 ± 0.06 g vs 0.34 ± 0.07 g)均较对照组明显降低,差异有显著差异(均 $P < 0.01$),小、大剂量川芎嗪治疗组与模型组相比各指标均有所改善。模型组胎鼠脑组织 NO(52.4 ± 1.4 $\mu\text{mol/g}$ vs 43.7 ± 6.7 $\mu\text{mol/g}$)和 MDA(273.5 ± 8.5 $\mu\text{mol/g}$ vs 249.6 ± 6.2 $\mu\text{mol/g}$)水平较对照组明显增高(均 $P < 0.01$),而 SOD 活性比对照组明显降低 29.7 ± 2.6 U/mg vs 36.5 ± 3.9 U/mg ($P < 0.01$)。川芎嗪治疗组与模型组相比,MDA 水平降低而 SOD 活性增高(均 $P < 0.01$),较模型组进一步增高。结论 川芎嗪可有效防治被动吸烟诱导的胎鼠 IUGR 及其脑发育障碍,其机制可能与其纠正机体的氧化与抗氧化失衡有关。

[中国当代儿科杂志, 2005, 7(5): 439-442]

[关键词] 川芎嗪; 胎儿发育迟缓; 一氧化氮; 氧化-还原; 超氧化物歧化酶

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2005)05-0439-04

Effect of ligustrazine on the development of brain in rats with fetal growth retardation

Yan LU, Shu-Qin LI, Xu WU. Central Laboratory, Second Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China (Li S-Q, Email: lisq@cmu2h.com)

Abstract: Objective Intrauterine growth retardation (IUGR) may contribute to the disorder of brain development of fetuses. Because ligustrazine has been proved to be effective in improving blood circulation and relieving clot formation, it has been used to treat hypoxic-ischemic brain damage of the newborn. This study aimed to explore the effect of ligustrazine on the brain development in fetal rats with IUGR induced by passive smoking and its mechanism. **Methods** Thirty-six pregnant rats were randomly assigned into four groups: Control, Model, Low dose (40 mg/kg ligustrazine) and High dose (80 mg/kg ligustrazine) ($n=9$ each). IUGR was induced by passive smoking in rats from the last three groups. Ligustrazine was administered for the last two groups between day 8 and day 20 of gestation. On day 21 of gestation, the fetal rats were delivered by cesarean section. The body weight, brain weight, liver weight, body length and tail length of fetal rats were measured. The levels of nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity in the brains of fetal rats were examined. **Results** The incidence of IUGR in the Control, Model, and the Low and High dose ligustrazine treated groups was 3.9% (4/105), 55.0% (50/106), 11.8% (11/103) and 5.4% (5/99) respectively. The average body weight (3.1 ± 0.3 g vs 3.8 ± 0.6 g), brain weight (0.144 ± 0.012 g vs 0.176 ± 0.018 g) and liver weight (0.29 ± 0.06 g vs 0.34 ± 0.07 g) of fetal rats in the Model group were all significantly lower than those of the Control group ($P < 0.01$). Those in the two treatment groups were significantly higher than in the IUGR group. The levels of NO (52.4 ± 1.4 $\mu\text{mol/g}$ vs 43.7 ± 6.7 $\mu\text{mol/g}$) and MDA (273.5 ± 8.5 $\mu\text{mol/g}$ vs 249.6 ± 6.2 $\mu\text{mol/g}$) in the brains of fetal rats of the Model group increased significantly compared with those of the Control group (both $P < 0.01$), but the activity of SOD of the Model group decreased compared with the Control group (29.7 ± 2.6 U/mg vs 36.5 ± 3.9 U/mg).

[收稿日期] 2005-05-11; [修回日期] 2005-07-05

[基金项目] 辽宁省自然科学基金资助项目(9910500709)。

[作者简介] 卢岩(1974-),女,博士,助理研究员。主攻方向:出生缺陷。

[通讯作者] 李书琴,中国医科大学附属第二医院中心实验室,邮编 110004。

($P < 0.01$). In the Ligustrazine treated groups, the levels of MDA decreased and the levels of SOD activity increased compared with the Model group (both $P < 0.01$), but the levels of NO were higher than those of Model group. **Conclusions**

Administering ligustrazine during pregnancy can decrease the incidence of fetal IUGR induced by passive smoking and improve the brain development of fetal rats. The effect of ligustrazine works possibly by redressing the unbalance between oxidate and antioxidate system.

[Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(5):439-442]

Key words: Ligustrazine; Fetal growth retardation; Nitric oxide; Oxidation-reduction; Superoxide dismutase

胎儿宫内发育迟缓 (intrauterine growth retardation, IUGR) 是围产期主要并发症之一, 患儿不仅体格发育落后, 而且常同时伴有脑发育异常, 导致生存质量的下降^[1]。川芎嗪 (ligustrazine) 是从中药川芎根茎中提取的有效成分, 其基本化学结构为四甲基吡嗪, 具有活血化瘀、抗血小板聚集的功能, 能扩张动脉、改善微循环, 孕期应用可改善子宫胎盘血供。川芎嗪可通过血脑屏障, 对缺氧缺血性脑损伤有保护作用, 其机制与清除自由基, 增强谷胱甘肽活力, 保护 ATP 酶活性有关^[2~4]。本研究通过被动吸烟制造胎鼠 IUGR 模型, 并在母鼠孕中晚期给予不同剂量川芎嗪, 观察胎鼠 IUGR 发生率、体重、脑重、肝重、身长、尾长及脑组织中一氧化氮 (nitric oxide, NO) 含量、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活力的变化, 观察川芎嗪对胎鼠宫内发育迟缓及其脑发育的影响, 并探讨作用机理。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

Wistar 雌性大鼠 36 只, 体重 220 ~ 260 g (购自中国医科大学实验动物中心), 按 2:1 雌雄比与雄鼠合笼。次日早晨阴道涂片镜检, 以发现精子作为妊娠第 1 天。孕鼠随机分为 4 组: 对照组, 模型组, 小剂量川芎嗪治疗组和大剂量川芎嗪治疗组, 每组 9 只。后 3 组予以烟熏诱导胎鼠 IUGR^[5], 具体如下: 孕 8 d 起至孕 20 d (相当于孕中晚期), 每天将孕鼠放入自制烟箱中吸烟 (每次 8 ~ 10 只)。烟箱体积为 0.5 m × 0.5 m × 1 m, 密闭, 有进出风口, 两风口之间用密闭塑料管相连。启动风机后在烟箱中点燃香烟, 用抽吸法将主烟气注入烟箱内, 和在烟箱内自燃的侧烟气一起与空气混匀, 20 min 内连续抽吸 3 支, 然后关闭送风机, 切断烟箱的进出风口, 造成密闭环境。孕鼠在此环境中被动吸烟 2 h。所用香烟为湖南常德卷烟厂生产的银象牌香烟 (烤烟型, 每支含焦油 17 mg, 烟气烟碱量 1.2 mg)。模型组孕鼠每天腹腔注射生理盐水 2 mL。小、大剂量川芎嗪治疗组孕鼠每天分别腹腔注射川芎嗪 40 mg/kg 和 80

mg/kg。对照组孕鼠在孕 8 d 起至孕 20 d 每天在无烟的烟箱中密闭 2 h, 腹腔注射生理盐水 2 mL。

1.2 实验药品及试剂

盐酸川芎嗪注射液 (上海第一生化药业有限公司, 批号: 040301); NO 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号: 040607); MDA、SOD 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号: 040610)。

1.3 观测指标

各组孕鼠孕 21 d 剖宫取胎, 计数活胎数、死胎及吸收胎数, 测量活胎鼠身长、尾长, 称体重、脑重及肝重。胎鼠 IUGR 诊断标准: 体重低于对照组活胎鼠平均体重减去 2 个标准差。每组各取 8 只 IUGR 胎鼠, 按照试剂盒要求制备 10% 的胎脑组织匀浆, 比色法测定胎鼠脑组织中的 NO、MDA 含量及 SOD 活力。

1.4 统计学分析

数据结果采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 率的比较采用 χ^2 检验, 计量资料比较采用单因素方差分析, 各组均数的两两比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 各组胎鼠生长发育情况

与对照组比较, 模型组死胎、吸收胎发生率和 IUGR 发生率显著增高 ($P < 0.01$)。小剂量和大剂量川芎嗪治疗组死胎、吸收胎发生率及 IUGR 发生率与模型组相比显著下降 ($P < 0.01$), 但两治疗组间差异无显著意义 (表 1)。

表 1 各组胎鼠死胎、吸收胎及 IUGR 发生情况

组别	胎鼠总数	例数 (%)	
		死胎与吸收胎	IUGR
对照组	105	3 (2.9%)	4 (3.9%)
模型组	106	15 (14.2%) ^a	50 (55.0%) ^a
小剂量治疗组	103	10 (9.7%)	11 (11.8%) ^b
大剂量治疗组	99	6 (6.1%)	5 (5.4%) ^b

a 与对照组比较 $P < 0.01$; b 与模型组比较 $P < 0.01$

与对照组比较, 模型组胎鼠体重、脑重、肝重、身长、尾长等指标均显著降低 ($P < 0.01$); 小剂量和大

剂量川芎嗪治疗组各项指标均较模型组显著增加 ($P < 0.01$), 但两治疗组间差异无显著意义 (表 2)。

2.2 各组胎鼠脑组织中 NO、MDA 含量及 SOD 活力

与对照组比较, 模型组胎鼠脑中 NO 和 MDA 水

平显著增高, 而 SOD 活性降低 ($P < 0.01$); 小剂量和大剂量川芎嗪治疗组与模型组相比, MDA 水平降低, SOD 活性增高 ($P < 0.01$), 但 NO 水平比模型组和对照组均显著增高 ($P < 0.01$)。两治疗组间差异无显著意义 (表 3)。

表 2 各组胎鼠体重、脑重、肝重、身长及尾长

($\bar{x} \pm s$)

	活胎鼠数	体重 (g)	脑重 (g)	肝重 (g)	身长 (mm)	尾长 (mm)
对照组	102	3.84 ± 0.55	0.176 ± 0.018	0.34 ± 0.07	36.4 ± 2.0	15.7 ± 1.3
模型组	91	3.07 ± 0.33 ^b	0.144 ± 0.012 ^b	0.29 ± 0.06 ^b	33.3 ± 1.3 ^b	13.4 ± 1.2 ^b
小剂量治疗组	93	3.45 ± 0.29 ^{a, d}	0.157 ± 0.012 ^{b, c}	0.31 ± 0.04 ^{a, d}	34.7 ± 1.8 ^{a, d}	14.7 ± 1.1 ^{a, d}
大剂量治疗组	93	3.54 ± 0.64 ^{a, d}	0.163 ± 0.016 ^{a, d}	0.32 ± 0.09 ^d	35.6 ± 2.0 ^d	14.9 ± 0.9 ^d

与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; 与模型组比较, c $P < 0.05$, d $P < 0.01$

表 3 各组胎鼠脑组织中 NO、MDA 含量及 SOD 活力

($n = 8, \bar{x} \pm s$)

	NO ($\mu\text{mol/g}$)	MDA (nmol/mg)	SOD (U/mg)
对照组	43.7 ± 6.7	250 ± 6	36.5 ± 3.9
模型组	52.4 ± 1.4 ^b	273 ± 9 ^b	29.7 ± 2.6 ^b
小剂量治疗组	87.8 ± 4.2 ^{b, c}	258 ± 8 ^c	37.3 ± 4.7 ^c
大剂量治疗组	80.4 ± 4.8 ^{b, c}	257 ± 4 ^c	38.0 ± 2.7 ^{a, c}

与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; c 与模型组比较, $P < 0.01$

3 讨论

不匀称型 IUGR 大多是各种原因导致子宫胎盘血流障碍, 影响胎盘功能及胎儿营养供应所致。香烟中含有多种有害物质, 如一氧化碳、尼古丁、酚类等。一氧化碳可降低血红蛋白的携氧能力, 使得机体处于低氧状态; 尼古丁可刺激血管收缩; 烟气中还含有大量多种类型的氧化剂和自由基^[6], 可损伤胎盘内皮细胞及血管内皮细胞, 使其分泌的血管活性物质减少, 导致血管痉挛、收缩甚至微血栓形成, 这些均可造成子宫胎盘血流灌注量下降。同时烟气中的有害物质还可直接影响机体细胞的生长和分化, 使脑、肝等重要脏器发生一系列病理生理变化, 胎儿生长发育迟缓。以往研究提示, 人类不匀称 IUGR 其胎盘主要病理改变是“缺氧性微血管病”、滋养层动脉内膜炎、毛细血管管腔狭窄、内膜增厚、物质交换障碍及胎盘分泌功能降低, 胎盘血管痉挛、血流量减少, 这些改变影响氧和营养物质的输送导致 IUGR。因此孕鼠被动吸烟与人类不匀称 IUGR 有相似的病理生理变化, 是研究干预药物的理想模型^[7]。

在本研究中, 模型组与对照组相比 IUGR 发生率明显增高, 胎鼠体重、脑重、肝重、身长、尾长均明

显下降, 说明被动吸烟法造模成功。与 IUGR 模型组相比, 川芎嗪治疗组胎鼠 IUGR 发生率降低, 体重、脑重、肝重等指标均有改善, 说明川芎嗪可以有效防治胎鼠 IUGR 的发生。IUGR 模型组与对照组相比, 胎鼠脑中 NO 和 MDA 水平显著增高, 而 SOD 活性降低; 川芎嗪治疗组与模型组相比, 脑组织 MDA 水平降低, SOD 活力增高。MDA 是一种重要的脂质过氧化产物, 其水平间接反映了机体细胞受自由基攻击损伤的严重程度。SOD 是一种重要的自由基清除酶, 可以清除超氧阴离子自由基 (O_2^-), 保护细胞免受损伤, 其活性反映了机体清除自由基的能力。因此川芎嗪防治 IUGR 的作用可能与其增加胎鼠脑组织内源性 SOD 活性, 增强机体清除氧自由基的能力, 减少自由基对内皮细胞的损伤有关。NO 又称内皮衍生舒张因子, 具有扩张血管、增加脑血流量、保护脑组织正常发育的作用; 同时, NO 的化学性质不稳定, 过量 NO 能迅速与超氧化阴离子作用产生过氧化硝基阴离子 (ONOO^-), 具有神经毒性作用。川芎嗪治疗组 NO 含量明显增加, 与对照组和模型组均有显著性差异。我们推测在治疗组中, 大量氧自由基被清除的情况下, NO 不形成或少形成 ONOO^- , 其神经毒性作用减少而主要发挥舒张血管的作用, 有助于胎盘和脑局部的血流供应, 促进了胎鼠体格及脑的生长发育。文献报道, 川芎嗪临床应用于治疗缺血性心脑血管病的用药剂量自 40 mg 至 2 000 mg, 鲜有不良反应发生, 说明其安全剂量范围较大。本研究发现小剂量的川芎嗪即可起到防治 IUGR 的作用, 大剂量川芎嗪治疗组各项指标与小剂量治疗组相比, 差异均无显著性意义。分析原因可能是由于 IUGR 的发生发展是多种因素共同作用的结果, 川芎嗪只对其中一部分导致 IUGR 的有害因素起治疗作用。动物模型与人类临床在药物

的吸收和代谢过程上也存在差异,因此具体的用药剂量还需要进一步的研究。综上,被动吸烟的孕鼠孕中晚期予以川芎嗪对胎鼠宫内发育迟缓的防治具有显著效果,可使胎鼠脑发育及其代谢免受影响。川芎嗪在产科各种可致子宫胎盘血流障碍、胎盘功能不足的疾病的治疗中具有良好的前景,可有效防治胎儿生长迟缓。

[参 考 文 献]

- [1] Hack M. Effects of intrauterine growth retardation on mental performance and behavior, outcomes during adolescence and adulthood[J]. Eur J Clin Nutr, 1998, 52(Suppl 1): S65-S70.
- [2] 李新华. 川芎嗪治疗新生儿缺氧缺血性脑病临床效果观察[J]. 中国当代儿科杂志, 2004, 6(1): 64-65.
- [3] 朱芮, 邹典定, 余立平. 川芎嗪治疗新生儿缺氧缺血性脑病的

- 临床评价[J]. 中国当代儿科杂志, 2002, 4(5): 405-406.
- [4] 俞海国, 赵燕, 汤云珍, 丁艳洁, 胡勇. 川芎嗪对新生鼠缺氧缺血性脑损伤 c-fos 基因表达影响的研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2001, 3(2): 204-205.
- [5] 段涛, 毕奴玛, 杨幼明, 黄敏丽. 采用被动吸烟法建立胎仔宫内发育迟缓大鼠模型[J]. 上海实验动物学, 1999, 19(1): 14-17.
- [6] Vayssier M, Banzet N, Francois D, Bellmann K, Polla BS. Tobacco smoke induces both apoptosis and necrosis in mammalian cells: differential effects of HSP70[J]. Am J Physiol, 1998, 275(4 Pt 1): L771-L779.
- [7] 柯志勇, 刘军, 丘小汕. 三种宫内发育迟缓大鼠模型方法的比较[J]. 中国当代儿科杂志, 2000, 2(1): 24-26.
- [8] 赵明, 吴华, 胡健, 许建平. IUGR 孕妇血 E3、HPL、TXB2、6-ke-to-PGF1 α 水平的测定及川芎嗪治疗后改变[J]. 放射免疫学杂志, 1995, 8(1): 6-8.
- [9] 赵永辰, 陈信义. 川芎嗪临床应用研究[J]. 中国医药学报, 2002, 17(1): 53-56.

(本文编辑: 钟乐)

· 消息 ·

《国际神经病学神经外科学杂志》2006 年征订启事

为适应我国神经科学发展的需要及新形势下办刊模式的转变,经国家科技部、国家新闻出版署批准,原《国外医学神经病学神经外科学分册》自 2005 年第 4 期起更名为《国际神经病学神经外科学杂志》,仍由国家教育部主管、中南大学主办、中南大学湘雅医院承办。原《国外医学神经病学神经外科学分册》是国家级专业性学术期刊、神经科学类核心期刊,创刊 32 年来深受广大读者的好评和喜爱。已被《中国学术期刊(光盘版)》全文收录并稳居中国科技期刊被引用频次最高 500 名排行榜。《国际神经病学神经外科学杂志》在保留原有综述栏目的基础上,将以论著、临床研究、疑难病例讨论、病例报道、专家讲座等栏目为主。杂志立足于国内神经病学、神经外科学领域的前沿研究,及时报道国内外神经科学领域最新的学术动态和信息。促进国内外学术的双向交流,为中国神经科学走向世界搭建新的平台。读者对象主要为国内外从事神经病学、神经外科专业及相关专业的医务人员。

《国际神经病学神经外科学杂志》为双月刊,全国公开发行。刊号为 CN43-1456/R,ISSN 1673-2642。邮发代号 42-11。大 16 开,每期定价 9.8 元,全年定价 58.8 元。欢迎各级医师到当地邮局订阅。杂志社也可办理邮购。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号(中南大学湘雅医院内)《国际神经病学神经外科学杂志》编辑部,邮编:410008,电话及传真:0731-4327401, E-mail 地址:neurogxm@public.cs.hn.cn 或 gwyx_neurobjb@163.com。