DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.08.019

文章编号:1000-5404(2004)08-0707-03

论著

可乐定对严重烫伤大鼠心肌 Giα 表达的影响

魏 斌,李晓辉,李淑惠 (第三军医大学基础医学部药理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨可乐定对严重体表烫伤大鼠心肌抑制性G蛋白α亚基(Giα)表达的作用及机制。方法 通过建立大鼠背部30%体表面积Ⅲ度烫伤模型,分别采用间接酶法、Western blot测定了烫伤大鼠早期心肌AC活性、Giα水平。结果 可乐定0.3、1、3 mg/kg,可剂量依赖性地抑制烫伤后心肌Giα的增加。可乐定0.3~3 mg/kg还可显著升高烫伤后心肌AC基础活性,而1~3 mg/kg可明显升高心肌Gpp(NH)p刺激活性,0.3 mg/kg对心肌Gpp(NH)p刺激活性无明显影响;I_1咪唑啉受体阻断剂efaroxan(5、10 mg/kg)可部分逆转可乐定抑制烫伤大鼠心肌Giα升高的作用。结论 可乐定可抑制烫伤后心肌Giα的升高,其机制可能与可乐定激动I_1咪唑啉受体有关。

关键词:可乐定;烧伤;G蛋白α亚基;腺苷酸环化酶;I_1咪唑啉受体
中图法分类号:R322.11;R644;R972.4 文献标识码:A

Effects of clonidine on the expression of myocardial Giα after severe scald in rats

WEI Bin, LI Xiao-hui, LI Shu-hui (Department of Pharmacology, College of Basic Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of clonidine on the expression of myocardial α subunit of inhibitory G-protein (Giα) in severely-scalded rats and the mechanisms. Methods A scald model of 30% total body surface area Ⅲdegree burn on the back of rats was established. The basal and Gpp(NH)p, forsklin-stimulated activity of adenylate cyclase (AC), and Giα in cardiac myocytes were determined by indirect enzyme-radiochemical assay and Western blotting, respectively. Results Clonidine at the dosage of 1—3 $mg\cdot kg^{-1}$ inhibited significantly the increase in the myocardial Giα levels. Clonidine at the dosage of 0.3—3 $mg\cdot kg^{-1}$ partially reversed the decrease in the basal activity, and clonidine at the dosage of 1—3 $mg\cdot kg^{-1}$ showed the similar effect on the decrease in the Gpp(NH)p-stimulated activity. Efaroxan, an I_1 imidazoline receptor antagonist, could partially reverse the inhibitory effect of clonidine on myocardial Giα levels. Conclusion Clonidine can inhibit the elevation of myocardial Giα levels, and the mechanisms of the inhibition may possibly be associated with the stimulatory effect of clonidine on I_1 imidazoline receptors.

Key words: clonidine; scald; α subunit of inhibitory G-protein; adenylate cyclase; I_1 imidazoline receptor

严重体表烫伤或烧伤常有明显的心功能障碍,表现为心脏舒缩功能降低,心输出量减少,是严重烧伤病人组织灌流量不足以及死亡的重要原因[1]。一些研究表明,心力衰竭病人[2]及持续输入儿茶酚胺的动物[3]心肌组织Giα亚单位的含量明显升高,并认为是心肌对儿茶酚类药物反应性低下的重要原因,但Giα的这种变化是否会在严重体表烫伤后心肌舒缩机能障碍中发生并具有意义。

可乐定具有降压镇痛作用,主要用于治疗高血压、阿片类药物戒断症状等。传统认为可乐定是一种α2-AR激动剂,最近发现可乐定与I_1-咪唑啉受体(I_1-imidazoline receptor, I_1R)具有很高的亲和力,且发现可乐定通过激动I_1-咪唑啉受体而抑制外周交感活性[4],而可乐定对α2-AR的激动作用是其产生不良反应的原因。本研究以30%体表面积背部皮肤Ⅲ度烫伤大鼠为模型,在既往发现严重体表烫伤时动物心肌AC活性降低、Giα表达上调[5]的基础上,进一步探讨可乐定对Giα亚单位的调节作用及机制。

1 材料与方法

1.1 动物模型的制备、分组及给药方法

成年健康雄性Wistar大鼠64只,体质量(200±20) g(本校实验动物中心提供),随机分为8组,每组8只,分别为对照组、烫伤后12 h组、烫伤后12 h+可乐定组0.3 mg/kg、烫伤后12 h+可乐

基金项目:第三军医大学科研基金资助课题(1997001)
Supported by the Research Project Sponsored by Third Military Medical University (1997001)
作者简介:魏 斌(1972—),男,四川省简阳市人,硕士,实验师,主要从事抗炎免疫和新药开发方面的研究。电话:(023)68752236—801
收稿日期:2003-05-19;修回日期:2003-07-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

定 1 mg/kg 组、烫伤后 12 h+可乐定 3 mg/kg 组、烫伤后 12 h+可乐定 1 mg/kg+efaroxan 2.5 mg/kg 组、烫伤后 12 h+可乐定 1 mg/kg+efaroxan 5 mg/kg 组、烫伤后 12 h+可乐定 1 mg/kg+efaroxan 10 mg/kg 组。Ⅲ度伤动物模型制备见文献[5]。对照组除不予烫伤外，其余处理同烫伤组。可乐定粉剂、efaroxan 均以取灭菌生理盐水配成相应浓度，其中可乐定对照组、烫伤后 12 h+可乐定组于烫伤前 20 min 经腹腔注射给药；烫伤后 12 h+可乐定 1 mg/kg+efaroxan 组于烫伤前 50 min 给予 efaroxan，烫伤前 20 min 给予可乐定；正常对照组及烫伤组给予等量的生理盐水。

1.2 AC 活性的测定

放射免疫法测定心肌细胞膜 AC 基础活性及 10 μmol/L Gpp(NH)p 与 10 μmol/L 法司可林孵育 10 min 后的刺激活性。

1.3 Giα 含量测定

所有动物均断头处死，取心室组织置－80 ℃保存，参照文献[6]提取膜蛋白并定量，并对心肌组织的 Giα 的进行 Westem blot 分析，以正常对照组 Giα 的积分光密度值为 100%，与各实验组进行比较。

1.4 统计学方法

实验计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，应用 SPSS 10.0 对进行单因素方差分析，及均数间两两比较，计数资料用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 可乐定对烫伤大鼠心肌 Giα 的影响

由于 Giα 在伤后 12 h 变化最为显著[5]，我们观察了可乐定对该时相点 Giα 含量变化的影响，可乐定 0.3 mg/kg 组可使心肌 Giα 降低，但无显著差别($P>0.05$)，可乐定 1 mg/kg 组和可乐定 3 mg/kg 组可明显降低烫伤心肌 Giα 的含量($P<0.01$，$P<0.05$)(表 1)。

表 1 不同剂量可乐定对烫伤后 12 h 大鼠心肌 Giα 含量的影响

Tab 1 Effects of clonidine on the content of myocardial Giα at 12 h after scald

	Control	12 h after scald	Clonidine		
			0.3 mg/kg	1.0 mg/kg	3.0 mg/kg
Giα	100	165.9±17.8 **	151.2±13.5 **	142.2±13.3 **+	128.4±11.5 *++

*：$P<.05$，**：$P<0.01$，*vs* control；+：$P<0.05$，++：$P<0.01$，*vs* 12 h after scald

2.2 I_1 咪唑啉受体阻断剂 efaroxan 对可乐定调节心肌 Giα 效应的作用

Efaroxan 10 mg/kg 组和 5 mg/kg 组可部分逆转可乐定对烫伤心肌 Giα 的降低作用($P<0.05$)，而 efaroxan 2.5 mg/kg 组对可乐定调节心肌 Giα 的效应无明显作用($P>0.05$)(表 2)。

2.3 可乐定对严重烫伤后 12 h 大鼠心肌 AC 活性的影响

与伤后 12 h 相比，给予可乐定 0.3，1，3 mg/kg 分别使基础活性上升 41.9%($P<0.05$)、81.2%($P<0.01$)、93.3%($P<0.01$)。可乐定 0.3 mg/kg 组的 Gpp(NH)p 刺激活性未发生明显变化($P>0.05$)，而可乐定 1～3 mg/kg 分别使 Gpp(NH)p 的刺激活性升高。不同剂量的可乐定对法司可林刺激活性无明显差别。

表 2 不同剂量 efaroxan 对可乐定(1 mg/kg)调节烫伤后 12 h 大鼠心肌 Giα 作用的影响

Tab 2 Effects of efaroxan on the modulation of rat myocardial Giα by clonidine (1 mg/kg) at 12 h after scald

	Control	Dosage of efaroxan (mg/kg)			
		0	10	5	2.5
Giα	100	142.2±13.3 *	161.7±14.2 *+	157.8±13.8 *+	145.5±12.4 *

*：$P<0.01$，*vs* control；+：$P<0.05$，*vs* dosage of efaroxan (mg/kg)

3 讨论

本实验表明，可乐定有效抑制烫伤大鼠心肌 Giα 的升高，可能是其剂量依赖性显著升高 AC 的基础活性和 Gpp(NH)p 的活性的重要原因。可乐定可抑制烫伤后心肌 Giα 含量的升高，可使 Giα 对β-肾上腺素受体-AC 途径的抑制作用减弱，从而改善烫伤大鼠心肌β-肾上腺素受体和 AC 偶联障碍；另外 Giα 对 AC 活性的抑制作用减弱，使 AC 活性升高，cAMP 生成增加，均可改善烫伤后心肌舒缩机能障碍[7]。可乐定不能使烫伤心肌 Giα 完全恢复正常，可能是因为 Giα 的表达受多种因素调节有关，如心肌受体环节(如腺苷 A_1 受体、胆碱 M_2 受体)[8] 以及 Gi 蛋白与β受体-Gs 信号传导系统的受体交互作用等因素有关[9]。咪唑啉受体分布以中枢为主，可分为 I_1R 和 I_2R 两种类型，而尾端延髓腹外侧区(caudal ventrolateral medulla，CVLM)的 I_1R 可和 α_2 受体共同参与调节可乐定的中枢降压效应[10]。Schafer 等[11] 发现 I_1R 与 α_2 受体一起通过突触前效应促进去甲肾上腺素的释放而对调控心血管效应。Efaroxan 是 I_1R 特异性阻断剂，有研究表明 efaroxan 可通过阻断中枢 I_1R 而显著减弱乙醇对可乐定降压的抑制效应[12]。Musgrave 等[13] 认为，可乐定可激动 RVLM 的 C1 区的 I_1 受体，而 RVLM 的 C1 区与孤束核存在功能上的密切联系，两者可通过影响植物神经系统的功能而对心血管系统的活动起重要的调节作用。本实验表明 efaroxan 可部分逆转可乐定抑制心肌 Giα 升高的作用，可能与其阻断 RVLM 的 C1 区的 I_1 受体的效应有关，提示可乐定激动中枢 I_1 受体可能是导致烫伤心肌 Giα 的表达水平下调的原因之一。

本实验结果表明，可乐定改善烫伤大鼠心肌舒缩机能障碍的效应与其抑制烫伤后心肌 Giα 含量升高有关，该效应可能主要通过激动中枢 I_1 咪唑啉受体而实现。这一机制的发现，为寻找一类新的具有治疗心肌舒缩机能障碍的信号调节药物提供新思路。

参考文献：

[1] Horton J W, Carcia N M, White D J, *et al*. Postburn cardiac contractile function and biochemical markers of postburn cardiac injury[J]. J Am coll

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

surg, 1995, 181(4): 289－298.
[2] Vatner D E, Sato E, Galper J B, *et al*. Physiological and biochemical evidence for coordinate increases in muscarinic receptors and Gi during pacing-induced heart failure[J]. Circulation, 1996, 94(1): 102－107.
[3] 周元国, 王正国, 朱佩芳, 等. G 蛋白在大鼠心血管去甲肾上腺素脱敏反应中的作用[J]. 中国药理学和毒理学杂志, 1998, 12(2): 117－122.
[4] Seller H, Czachurski J, Zanzinger J. Sympathoinhibitory effects of clonidine are transmitted by the caudinal ventrolateral medulla in cats[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 1999, 33(6): 521－526.
[5] 魏　斌, 李晓辉 李淑惠, 等. 严重烫伤大鼠心肌抑制性 G 蛋白亚基的变化[J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12(8): 492－494.
[6] 熊仁平, 周元国. 蛋白免疫印迹法在检测 G 蛋白中的应用[J]. 第三军医大学学报, 1998, 20(2): 145－148.
[7] Ranu H K, Mak J C, Barnes P J, *et al*. G(i)-dependent suppression of beta(1)-adrenoceptor effects in ventricular myocytes from NE-treated guinea pigs[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 278(6): H1807－1814.
[8] Tucek S, Michal P, Vlachova V. Dual effects of muscarinic M2 receptors on the synthesis of cyclic AMP in CHO cells: background and model[J]. Life Sci, 2001, 68(22-23): 2501－2510.
[9] Hardouin S, Mansier P, Bertin B, *et al*. β-adrenergic and muscarinic receptor expression are regulated in opposite ways during senescence in the rat left ventricle[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(1): 309－319.
[10] 白　洁, 王伟忠, 袁文俊, 等. CVIM 咪唑啉-I 和 α2-肾上腺素受体共同参与可乐定的降压效应[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(1): 26－29.
[11] Schafer U, Burgdorf C, Engelhardt A, *et al*. Presynaptic effects of moxonidine in isolated buffer perfused rat hearts: role of imidazoline-1 receptors and alpha2-adrenoceptors[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2002, 303(3): 1163－1170.
[12] El-Mas M M, Abdel-Rahman A A. Evidence for the involvement of central I1 imidazoline receptor in ethanol counteraction of clonidine hypotension in spontaneously hypertensive rats[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2001, 38(3): 417－26.
[13] Musgrave I F, Badoer E. Harmane produces hypotension following microinjection into the RVLM: possible role of I(1)-imidazoline receptors[J]. Br J Pharmacol, 2000, 129(6): 1057－1059.

（编辑　汪勤俭）

文章编号: 1000-5404(2004)08-0709-01

个案与短篇

益口含漱液治疗复发性口腔溃疡的疗效观察

Therapeutic effect of Yikou gargle on recurrent oral ulcer

杜俊兰, 王林娟, 张　纲, 谭颖徽　（第三军医大学新桥医院口腔科, 重庆 400037）

复发性口腔溃疡(recurrent oral ulcer, ROU)为口腔粘膜常见病, 病因不明。发病率约 10%, 可单发或多发, 容易复发, 疼痛剧烈, 临床治疗效果不佳[1]。为缩短患者的病程, 减轻其疼痛症状, 我科在 2002 年 1 月至 2003 年 6 月期间采用以茶多酚和甘草甜素为主要成份的益口含漱液(成都润兴消毒药业有限公司生产)对 30 例重型 ROU 病人进行治疗, 取得了较好的疗效, 现报告如下。

1　资料和方法

1.1　一般资料

本组 60 例患者, 男 32 例, 女 28 例, 年龄 31～73 岁, 平均 39 岁。病程 6 个月至 15 年, 平均病程 3 年。口腔粘膜单个溃疡面积> 3 cm^2 8 例, 2.0～2.9 cm^2 24 例, < 2 cm^2 18 例。

1.2　方法

60 例患者用随机数字表随机分成治疗组和对照组, 每组 30 例。两组病人都于进食前后及睡前先用温开水漱口, 治疗组患者将 15～20 ml 茶多酚含漱液含入口内 3 min, 每日 6 次; 对照组含漱口泰液, 方法同上。分别于治疗后 5 d 和 7 d 内检查口腔溃疡面愈合和溃疡周围粘膜的充血情况。

1.3　疗效判断标准

治愈: 5 d 内溃疡面完全愈合, 症状消失。好转: 5 d 溃疡面积缩小 50%以上, 疼痛缓解, 溃疡周围充血减轻。无效: 7 d 以上溃疡面积缩小 50%以下, 疼痛无明显好转, 溃疡周围粘膜充血无明显减轻。

1.4　统计学分析

分别计算两组的治愈率、好转率和无效率, 并用 χ^2 检验和精确概率法进行两组率的比较。

2　结果

治疗组治愈率为 76.67%, 显著高于对照组(6.67%)($P<0.01$), 治疗组的无效率为 0%, 而对照组为 50%, 两者亦相差非常显著($P<0.01$)。

表 1　两组治疗效果比较

组别	例数	治愈		好转		无效	
		例数	(%)	例数	(%)	例数	(%)
治疗组	30	23	76.67*	7	23.33	0	0*
对照组	30	2	6.67	13	43.33	15	50

*: 与对照组比, $P<0.01$

（下转 713 页）

作者简介: 杜俊兰(1965－), 女, 重庆市人, 主管护师, 主要从事口腔临床护理方面的研究。电话: (023)68774627

收稿日期: 2003-07-11; 修回日期: 2003-10-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net