

## 通窍活血汤通过调节星形胶质细胞 Glu-Gln 循环降低 Glu 兴奋性毒性改善 CIRI 大鼠的神经功能

张立娟<sup>1</sup>, 张蕾<sup>1</sup>, 娄原<sup>1</sup>, 姜雅楠<sup>1</sup>, 韩冰冰<sup>1,2</sup>, 马珂<sup>1,2</sup>, 赵海军<sup>1,2</sup>, 王世军<sup>1,2</sup>, 王媛<sup>1,2\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东省中医经典名方协同创新中心, 济南 250355)

**[摘要]** 目的:观察并比较3种不同方法制备的通窍活血汤对脑缺血再灌注损伤(CIRI)大鼠的保护作用,并从星形胶质细胞谷氨酸(Glu)代谢通路探讨其作用机制。方法:选用SPF级雄性SD大鼠,以改良线栓法建立CIRI模型,将造模成功的大鼠随机分为模型组、通窍活血汤水煎组、通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤醇提组,并设假手术组,分别给予对应药物灌胃,连续治疗7 d。通窍活血汤3个组的灌胃剂量为 $6.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,假手术组和模型组给予同体积生理盐水灌胃。末次灌胃结束后,以神经功能缺损评分(mNSS)检测大鼠神经功能恢复情况,苏木素-伊红(HE)染色观察缺血脑组织的形态学变化,高效液相色谱法(HPLC)检测大鼠缺血脑组织中Glu含量的变化,免疫组织荧光法检测缺血脑组织中谷氨酸转运体-1(GLT-1)和胶质纤维酸性蛋白(GFAP)及谷氨酰胺合成酶(GS)和GFAP的共表达情况;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测缺血脑组织中GFAP、GLT-1和GS蛋白的表达情况。结果:与假手术组比较,模型组大鼠mNSS评分显著升高( $P < 0.01$ ),缺血脑组织皮质大片坏死,细胞排列紊乱、边界模糊,出现细胞水肿及炎性浸润;缺血脑组织中Glu的含量显著增加( $P < 0.01$ ),GLT-1与GFAP共表达及GS与GFAP共表达显著降低( $P < 0.01$ ),GFAP蛋白表达显著升高( $P < 0.01$ ),GLT-1、GS蛋白表达明显降低( $P < 0.05, P < 0.01$ );与模型组比较,3种方法制备的通窍活血汤组mNSS评分均显著降低( $P < 0.01$ ),大鼠缺血脑组织皮质及海马神经细胞的损伤程度均有所减轻;缺血脑组织中Glu的含量均明显减少( $P < 0.05, P < 0.01$ ),GLT-1与GFAP共表达均明显升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),GFAP、GLT-1蛋白表达均明显升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤醇提组GS与GFAP共表达明显增加( $P < 0.05, P < 0.01$ ),GS蛋白的表达显著升高( $P < 0.01$ )。与通窍活血汤水煎组比较,通窍活血汤醇提组GLT-1和GFAP共表达及GS和GFAP共表达明显增加( $P < 0.05$ ),通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤醇提组GS蛋白表达明显升高( $P < 0.05$ ),通窍活血汤醇提组Glu含量显著降低( $P < 0.01$ ),GFAP、GLT-1蛋白表达明显升高( $P < 0.05, P < 0.01$ );与通窍活血汤酒煎组比较,通窍活血汤醇提组GFAP、GLT-1蛋白表达升高( $P < 0.05, P < 0.01$ )。结论:3种方式制备的通窍活血汤皆可改善CIRI大鼠的神经功能,其作用可能通过促进星形胶质细胞的进一步活化,增加GLT-1和GS表达,促进星形胶质细胞通过Glu-Gln循环清除突触间隙中Glu的过度堆积,降低Glu兴奋性毒性作用而实现。通窍活血汤醇提组在降低缺血脑组织Glu含量、促进星形胶质细胞活化、增强GLT-1和GS蛋白表达方面优于通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤水煎组。

**[关键词]** 通窍活血汤; 脑缺血再灌注损伤; 兴奋性毒性损伤; 谷氨酸; 星形胶质细胞

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R289;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)22-0031-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20212102

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20210923.1713.005.html>

**[网络出版日期]** 2021-09-24 20:12

### Tongqiao Huoxuetang Improves Neurological Deficits in CIRI Rats by Regulating Glu-Gln Circulation to Reduce Glutamate Excitotoxicity of Astrocytes

ZHANG Li-juan<sup>1</sup>, ZHANG Qiang<sup>1</sup>, LOU Yuan<sup>1</sup>, JIANG Ya-nan<sup>1</sup>, HAN Bing-bing<sup>1,2</sup>, MA Ke<sup>1,2</sup>,

ZHAO Hai-jun<sup>1,2</sup>, WANG Shi-jun<sup>1,2</sup>, WANG Yuan<sup>1,2\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jinan 250355, China;

**[收稿日期]** 20210701(017)

**[基金项目]** 山东省高等学校青创科技支持计划项目(2019KJK013);济南市高校院所创新团队项目(2020GXRC012);山东中医药大学青年科研创新团队(2020-54-17);山东省高校青创人才引育计划项目(鲁教人字[2019]9号-202/201)

**[第一作者]** 张立娟,硕士,从事心脑血管疾病基础研究,E-mail:zlj15628929506@126.com

**[通信作者]** \*王媛,博士,副教授,硕士生导师,从事心脑血管疾病的中西医结合防治研究,E-mail:demi0531@163.com

2. Shandong Co-Innovation Center of Classic TCM Formula, Jinan 250355, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe and compare the protective effects of Tongqiao Huoxue decoction (TQHX) prepared by three methods against cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI), and to explore its mechanism through the glutamate (Glu) metabolic pathway in astrocytes. **Method:** The male SD rats of SPF grade were subjected to CIRI model induction by the modified middle cerebral artery occlusion method. The model rats were randomly divided into a model group, a sham operation group, and water-decocted, wine-decocted, and alcohol-extracted TQHX ( $6.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) groups. The rats were treated correspondingly for 7 days. Those in the sham operation group and the model group were treated with an equal volume of normal saline by gavage. After the final treatment, the neurological function of rats was assessed by the modified neurological severity score (mNSS). Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the morphological changes of ischemic brain tissues in rats. High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to detect glutamate (Glu) in ischemic brain tissues. The expression of glutamate transporter-1 (GLT-1) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) and co-expression of glutamine synthetase (GS) and GFAP in ischemic brain tissues were detected by immunofluorescence assay. Western blot was used to detect the protein expression of GFAP, GLT-1, and GS. **Result:** Compared with the sham operation group, the model group showed increased mNSS ( $P < 0.01$ ), large necrosis of cerebral cortex in ischemic brain tissues with disordered cell arrangement, obscure boundary, intracellular edema, and inflammatory infiltration, elevated Glu in ischemic brain tissues ( $P < 0.01$ ), declining GLT-1-GFAP co-expression and GS-GFAP co-expression ( $P < 0.01$ ), up-regulated expression of GFAP protein, and reduced protein expression of GLT-1 and GS ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the TQHX groups showed decreased mNSS ( $P < 0.01$ ), relieved injury in the cerebral cortex and hippocampal nerve cells in ischemic brain tissues, reduced Glu expression ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), elevated co-expression of GLT-1 and GFAP ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), and up-regulated protein expression of GFAP and GLT-1 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The co-expression of GS and GFAP ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and the expression of GS ( $P < 0.01$ ) were increased in the wine-decocted and alcohol-extracted TQHX groups. Compared with the water-decocted TQHX group, the alcohol-extracted group showed increased GLT-1-GFAP and GS-GFAP co-expression ( $P < 0.05$ ); the wine-decocted and alcohol-extracted TQHX groups exhibited elevated GS protein expression ( $P < 0.05$ ); the alcohol-extracted TQHX group displayed declining Glu content ( $P < 0.01$ ) and increased protein expression of GFAP and GLT-1 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the wine-decocted TQHX group, the alcohol-extracted TQHX group showed increased protein expression of GFAP and GLT-1 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** TQHX prepared by three methods can improve neurological deficits in CIRI rats. The effect is presumedly achieved by promoting the further activation of astrocytes, increasing the expression of GLT-1 and GS, promoting the clearance of Glu accumulated in the synaptic cleft by astrocytes through the Glu-glutamine (Gln) circulation, and reducing the excitotoxicity of Glu. The alcohol-extracted TQHX group was superior to the water-decocted and wine-decocted TQHX groups in reducing the content of Glu in ischemic brain tissues, promoting the activation of astrocytes, and enhancing the protein expression of GLT-1 and GS.

**[Keywords]** Tongqiao Huoxue decoction; cerebral ischemia-reperfusion injury; excitotoxicity injury; glutamate; astrocytes

脑卒中是世界范围内致残及死亡的一大重要原因,缺血性脑卒中占脑卒中的80%以上,其最常用的治疗方法是尽快在“时间窗”内静脉溶栓,缩小梗死灶范围,从而挽救濒死神经元<sup>[1-2]</sup>。但当血流恢复后,其功能不但不能恢复,反而会出现更加严重

的脑功能障碍,神经功能缺损加重,这种现象称脑缺血再灌注损伤(CIRI)<sup>[3]</sup>。CIRI病理机制复杂,主要与谷氨酸(Glu)兴奋性毒性损伤、细胞内钙超载、自由基生成增多、炎症反应等机制有关<sup>[4]</sup>。其中,Glu兴奋性毒性损伤是CIRI后神经功能障碍的重要

机制<sup>[5-6]</sup>。星形胶质细胞在控制细胞外Glu含量,防止其兴奋性毒性的产生中发挥着至关重要的作用。胶质纤维酸性蛋白(GFAP)是星形胶质细胞活化的标志,研究显示,CIRI后活化的星形胶质细胞通过调节谷氨酸转运体-1(GLT-1),谷氨酰胺合成酶(GS)表达,促进Glu-谷氨酰胺(Gln)循环,清除Glu,拯救缺血半暗带区濒死神经元<sup>[7-9]</sup>。

在CIRI的治疗中,中药复方因毒副作用小、疗效显著而广受关注。通窍活血汤出自《医林改错》,为活血通窍的经典名方,有通络开窍,活血化瘀之功,现代临床研究显示其在改善脑缺血损伤患者的神经功能方面疗效显著,实验研究表明其作用可能与降低Glu的兴奋性毒性有关,但是否通过调节星形胶质细胞Glu-Gln循环而发挥其保护作用尚未见报道<sup>[10-15]</sup>。本实验以改良线栓法建立CIRI大鼠模型,模拟在临床常用的水煎、酒煎和醇提3种方法制备通窍活血汤,连续灌胃治疗7d,通过进行神经功能缺损评分(mNSS),观察缺血脑组织形态学变化,以及GLT-1和GFAP,GS和GFAP的蛋白共表达情况,检测缺血脑组织中Glu的含量,GFAP,GLT-1,GS蛋白的表达量的变化情况,比较3种不同方式制备的通窍活血汤对CIRI的治疗效果,并从星形胶质细胞Glu-Gln循环角度探讨通窍活血汤改善神经功能损伤的作用机制,为通窍活血汤治疗CIRI的临床应用提供一定的实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 体质量270~300g,成年雄性SD大鼠,共162只,SPF级,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2016-0006。动物饲养室内常规饲养,温度为21~25℃,湿度维持在50%±10%。动物自由摄食、饮水,按照昼夜节律自然照明。实验操作过程中严格遵守山东中医药大学实验动物伦理标准,动物实验伦理委员会的编号SDUTCM20210305014。

**1.2 药物及试剂** 通窍活血汤组成药物桃仁、红花、赤芍、川芎、生姜、大枣,购自山东中医药大学新中鲁医院,并由山东中医药大学刘红燕副教授鉴定符合2020年版《中华人民共和国药典》规范。通窍活血汤水煎液、通窍活血汤酒煎液、通窍活血汤醇提液由山东省中医经典名方协同创新中心制备;大脑中动脉栓塞(MCAO)栓线(北京西浓科技有限公司,批号2038-A5);75%乙醇消毒液,碘伏(山东利尔康医疗技术有限公司,批号分别为201017,201101);0.9%氯化钠注射液(山东齐都药业有限公

司,批号2B20010309);异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,批号20120701);RIPA裂解液,BCA蛋白测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号分别为P0013B,HP202302);10%快速免染丙烯酰胺制胶试剂盒(美国Bio-Rad公司,批号#1610183);无水乙醇(昆山金城试剂有限公司,批号XK13-011-00087);EAAT2抗体,谷氨酰胺合成酶(Glutamine Synthetase)抗体(英国Abcam公司,批号分别为ab205248,Ab73593);GFAP抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号bsm-33065M);二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号GB23303);山羊血清(美国Thermo Fisher Scientific公司,批号50062Z);苏木素染液(北京索莱宝科技有限公司,批号G1080);伊红(上海沪试实验室器材股份有限公司,批号71014460)。

**1.3 仪器** R500型小动物气体麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);5427R型台式高速冷冻离心机,VT 05404-0998型酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);KZ-II型高速组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);041BR157122型电泳仪,690BR019078型转膜仪,731BR03474型蛋白分析表达系统(美国Bio-Rad公司);DX45型显微镜(日本Olympus公司);NIKON ECLIPSE C1型荧光显微镜(日本尼康公司);ACQUITY UPLC BEH C18型色谱柱(美国Waters公司)。

## 2 方法

**2.1 通窍活血汤的制备** 根据《医林改错》中通窍活血汤的药物组成及配伍比例,川芎3g,赤芍3g,大枣七枚约21g,红花9g,桃仁9g,生姜9g,老葱6g,麝香0.15g,黄酒250mL。以上为成人每日剂量,按大鼠体表系数6.3折算可得等效剂量为3g+3g+21g+9g+9g+9g+6g+0.15g=60.15g,60.1g/60kg×6.3≈6.3g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>

**2.1.1 水煎组通窍活血汤的制备** 精密称取赤芍、川芎、桃仁、红花、老葱、生姜、大枣,按照药物比例为1:1:3:3:2:3:7,共用中药600g,加蒸馏水6000mL,浸泡2h,煮沸1h,过滤,滤渣加入蒸馏水4800mL煮沸1h,过滤,合并滤液,滤液浓缩至适宜浓度后加入麝香1.5g快速搅拌混匀,补水定容至生药质量浓度为2g·mL<sup>-1</sup>的提取液。

**2.1.2 酒煎组通窍活血汤的制备** 精密称取原方10倍量的通窍活血汤,以10倍量黄酒浸泡1h,煮沸1h,过滤,加入麝香1.5g快速搅拌混匀,两沸后将滤液浓缩至适宜浓度,补水定容成生药质量浓度为

2 g·mL<sup>-1</sup>的提取液。

**2.1.3 醇提组通窍活血汤的制备** 精密称取原方10倍量的通窍活血汤,加入原方10倍量75%乙醇混匀,浸泡1 h,回流提取2 h,过滤提取后加入8倍量的75%乙醇回流提取1 h,过滤,合并2次的滤液,浓缩至无醇味,提取液中加入麝香1.5 g,补水定容成生药质量浓度为2 g·mL<sup>-1</sup>的提取液。

**2.2 CIRI大鼠模型的建立** 本研究参照LONGA等<sup>[16]</sup>改良线栓法建立CIRI的大鼠模型,用小动物气体麻醉机诱导麻醉成功后,换用麻醉面罩维持麻醉状态,将大鼠颈部脱毛备皮,使大鼠仰卧位固定于手术台上,碘伏、乙醇常规消毒,颈部正中偏左切口,钝性剥离左侧颈总动脉(CCA),颈内动脉(ICA)及颈外动脉(ECA)。结扎ECA远心端,CCA,并用微动脉夹夹闭远端ICA。在ECA残端下备线,用眼科剪在ECA两线间剪一V形切口,插入栓线,将备线适度打结至适宜的松紧度,线栓从ECA经CCA进入ICA,直至出现少许阻力感即线栓到达大脑中动脉入口处。从ICA与ECA分叉处算起线栓约插入18 mm,并结扎ECA,伤口常规清洁并缝合,预留部分栓线于皮肤外。缺血2 h后,拔出栓线,系紧颈外动脉下方的细线,并解开CCA上的结使血流恢复再灌注。缝合切口,常规消毒。假手术组大鼠只分离血管,不进线。待大鼠苏醒后进行mNSS神经功能障碍评分,分数11~14分为造模成功,纳入实验。

**2.3 动物分组及给药** 将大鼠随机分为假手术组和造模组。造模组大鼠进行CIRI模型复制,将造模成功大鼠随机分为模型组、通窍活血汤水煎组、通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤醇提组,每组12只。通窍活血汤水煎组、通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤醇提组大鼠每天以6.3 g·kg<sup>-1</sup>剂量灌胃,假手术组和模型组给予等体积的生理盐水灌胃,连续给药7 d。

**2.4 检测指标**

**2.4.1 大鼠mNSS评分** 具体评分细则见表1。

**2.4.2 苏木素-伊红(HE)染色观察脑组织病理形态学变化** 取大鼠脑组织置于4%多聚甲醛固定,24 h后石蜡包埋组织切片,行HE染色,镜下观察脑组织形态学变化。

**2.4.3 免疫组织荧光染色检测大鼠缺血脑组织中GFAP, GLT-1, GS表达情况** 将脑组织按取材、脱水和包埋的步骤制成蜡块;接着将脑组织蜡块切成5 μm厚的切片,按照常规步骤将组织切片脱蜡并浸入蒸馏水中;在EDTA抗原修复缓冲液中煮沸15 min进行抗原修复;切片在含有5%山羊血清的

表1 mNSS评分细则

Table 1 Standard of mNSS neurofunction defect score

实验名称	评分细则	分数/分
提尾实验(3分)	前肢屈曲	1
	后肢屈曲	1
	头部在30 s内偏离垂直轴>10°	1
直线行走实验(3分)	将大鼠放置地板上,正常行走	0
	将大鼠放置地板上,不能直线行走	1
	将大鼠放置地板上,向轻瘫侧转圈	2
	将大鼠放置地板上,向轻瘫侧倾倒	3
感觉实验(2分)	视觉测试或触觉测试:取一支笔在大鼠眼前快频率转动,观察是否有眨眼反应;取一棉签在大鼠腹部轻划,观察是否存在腹壁反射。无眨眼反应、无腹壁反射或二者皆不存在者加1分	1
	本体感觉测试:向桌子边缘压鼠爪刺激肢体肌肉,深感觉消失者加1分	1
平衡木实验(6分)	四肢在平衡木上稳定平衡姿势	0
	四肢紧抓平衡木边缘	1
	紧抱平衡木,一肢体从平衡木垂落	2
	紧抱平衡木,二肢体从平衡木垂落或在平衡木上旋转(>60 s)	3
	试图在平衡木上平衡但跌落(>40 s)	4
	试图在平衡木上平衡但跌落(>20 s)	5
反射丧失和正常运动(4分)	耳廓反射(接触外耳道时摇头为正常,无摇头者加1分)	1
	角膜反射(用棉签轻触角膜时眨眼为正常,无眨眼者加1分)	1
	惊恐反射(对快弹硬纸板的噪音有运动反应为正常,无运动反应者加1分)	1
	癫痫、肌阵挛	1

PBS 37 °C封闭40 min;孵育一抗GLT-1(1:250),GS(1:100)4 °C孵育过夜;加GFAP抗体(1:200)室温孵育2 h;滴加与一抗相应种属的二抗(1:200),37 °C中孵育1 h;DAPI复染细胞核,避光室温孵育7 min;自发荧光淬灭剂5 min,抗荧光淬灭剂封片,通过荧光扫描仪检测免疫荧光。

**2.4.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠缺血脑组织中GFAP, GLT-1, GS表达情况** 以颅底Willis环定位为取材部位,切取缺血侧脑组织。取适量脑组织加入裂解液、蛋白酶抑制剂等,用高速组织研磨仪匀浆(60 Hz, 120 s),将匀浆液4 °C条件下12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min(离心半径8.5 cm),取

上清液,提取脑组织蛋白,BCA法检测蛋白浓度,计算蛋白的上样量,GFAP抗体,EAAT2抗体,Glutamine Synthetase抗体(一抗稀释比例分别为1:1 000,1:1 000,1:3 000,二抗稀释比例为1:4 000),使用Bio-Rad TGX免染技术对印迹中的总蛋白信号进行定量,以实现靶蛋白的归一化分析。Bio-Rad V3蛋白表达分析系统显影并测定各条带的灰度值,目标蛋白的相对含量以目标蛋白/总蛋白的灰度值表示。

**2.4.5 高效液相色谱法(HPLC)检测缺血脑组织中Glu的表达** 液相色谱条件:色谱柱为进样量5 μL,柱温40℃,流动相A-10%甲醇水(含0.1%甲酸),B-50%甲醇水(含0.1%甲酸)。梯度洗脱条件为0~6.5 min,10%~30%B;6.5~7 min,30%~100%B;7~8 min,100%B;8~8.5 min,100%~10%B;8.5~12.5 min,10%B。流速:0~8.5 min,0.3 mL·min<sup>-1</sup>;8.5~12.5 min,0.3~0.4 mL·min<sup>-1</sup>。质谱条件:电喷雾电离(ESI)源,正离子电离模式。离子源温度500℃,离子源电压5 500 V,碰撞气6 psi,气帘气30 psi,雾化气和辅助气均为50 psi(1 psi≈6.89 kPa)。采用多重反应监测(MRM)进行扫描。

**2.5 统计学方法** 采用SPSS 22.0统计软件分析数据,实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组间均数的比较采用完全随机单因素方差分析(One-way ANOVA),治疗前后组内比较采用配对样本 $t$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对CIRI大鼠神经功能的影响** 治疗前后对各组大鼠进行mNSS评分,评价神经功能缺损及恢复情况。与本组治疗前比较,假手术组及模型组

mNSS评分差异无统计学意义;3种方式制备的通窍活血汤治疗组mNSS明显降低( $P<0.05$ )。连续治疗7 d后,与假手术组比较,模型组大鼠mNSS评分显著升高,出现明显的神经功能损伤( $P<0.01$ );与模型组比较,通窍活血汤水煎组、通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤醇提组mNSS评分显著降低,神经功能有所改善( $P<0.01$ )。3种方式制备的通窍活血汤治疗组间比较,醇提组较酒煎组、水煎组mNSS神经功能评分有下降趋势,但差异无统计学意义。见表2。

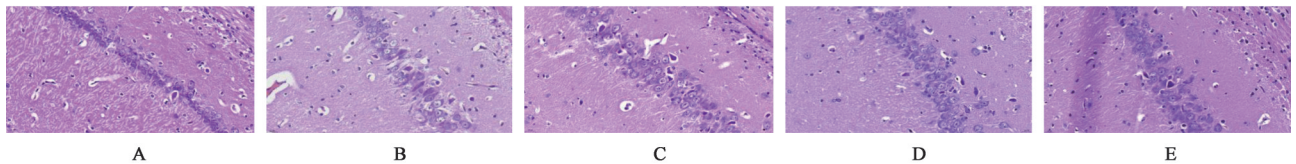
表2 通窍活血汤对CIRI大鼠mNSS评分的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of Tongqiao Huoxuetang on mNSS neurofunction defect score in CIRI rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	治疗前	治疗后
假手术		0.00±0.00	0.00±0.00
模型		12.17±0.75 <sup>2)</sup>	13.17±1.94 <sup>2)</sup>
通窍活血汤水煎	6.3	12.33±1.21	7.00±1.10 <sup>4,9)</sup>
通窍活血汤酒煎	6.3	12.17±1.17	6.67±0.82 <sup>4,9)</sup>
通窍活血汤醇提	6.3	12.33±1.51	6.00±1.10 <sup>4,9)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ ;与通窍活血汤水煎组比较<sup>5)</sup> $P<0.05$ ,<sup>6)</sup> $P<0.01$ ;与通窍活血汤酒煎组比较<sup>7)</sup> $P<0.05$ ,<sup>8)</sup> $P<0.01$ ;与本组治疗前比较<sup>9)</sup> $P<0.05$ (表3~6同)。

**3.2 对CIRI大鼠脑组织病理形态学的影响** HE染色结果显示,假手术组大脑皮质及海马神经细胞排列整齐、形态结构完整、细胞大小正常,核仁清晰;模型组大脑皮质呈现坏死,排列紊乱、细胞边界模糊,出现细胞水肿及炎性浸润;与模型组比较,3种方式制备的通窍活血汤治疗组大脑皮质及海马神经细胞形态结构改善,损伤程度有所减轻。见图1。



A. 假手术组;B. 模型组;C. 通窍活血汤水煎组;D. 通窍活血汤酒煎组;E. 通窍活血汤醇提组(图2~4同)

图1 通窍活血汤对CIRI大鼠脑皮质及海马神经细胞的影响(HE,×400)

Fig. 1 Effect of Tongqiao Huoxuetang on CIRI cerebral cortex and hippocampus nerve cells (HE,×400)

**3.3 对CIRI大鼠脑组织中Glu表达的影响** HPLC结果显示,治疗后,与假手术组大鼠比较,模型组大鼠脑组织Glu含量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,通窍活血汤水煎组、通窍活血汤酒煎组缺血脑组织中Glu含量降低( $P<0.05$ ),通窍活血汤醇提组缺血脑组织中Glu含量显著降低( $P<0.01$ );与水煎

组比较,醇提组大鼠脑组织Glu含量显著降低( $P<0.01$ )。水煎组、酒煎组差异无统计学意义。与酒煎组相比,醇提组脑组织Glu含量明显降低( $P<0.05$ )。见表3。

**3.4 对CIRI大鼠脑组织GLT-1与GFAP共表达,GS与GFAP共表达的影响** 与假手术组比较,模型组

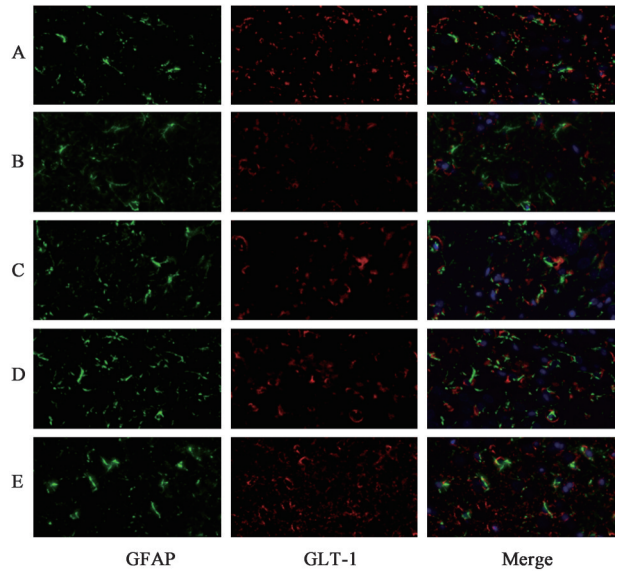
表3 通窍活血汤对CIRI大鼠脑组织Glu含量的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of Tongqiao Huoxuetang on expression of Glu in brain tissues of CIRI rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Glu/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
假手术		1 643.29±143.11
模型		2 118.35±143.19 <sup>2)</sup>
通窍活血汤水煎	6.3	1 963.06±97.72 <sup>3)</sup>
通窍活血汤酒煎	6.3	1 905.40±96.89 <sup>3)</sup>
通窍活血汤醇提	6.3	1 751.22±124.38 <sup>4,6,7)</sup>

缺血脑组织中GLT-1与GFAP共表达显著减少( $P<0.01$ );与模型组比较,通窍活血汤水煎组GLT-1与GFAP共表达明显增加( $P<0.05$ ),通窍活血汤酒煎组、通窍活血汤醇提组GLT-1与GFAP共表达显著增加( $P<0.01$ )。与通窍活血汤水煎组比较,通窍活血汤酒煎组GLT-1与GFAP共表达差异无统计学意义,通窍活血汤醇提组GLT-1与GFAP共表达明显增加( $P<0.05$ );与通窍活血汤酒煎组比较,通窍活血汤醇提组GLT-1与GFAP共表达有升高趋势,但差异无统计学意义。见图2,表4。与假手术组比较,模型组脑组织中GS与GFAP共表达明显减少( $P<0.01$ );与模型组比较,通窍活血汤水煎组GS与GFAP共表达有升高的趋势,但差异无统计学意义,通窍活血汤酒煎组GS与GFAP共表达增加( $P<0.05$ ),通窍活血汤醇提组GS与GFAP共表达显著增加( $P<0.01$ )。与通窍活血汤水煎组比较,通窍活血汤酒煎组GS与GFAP共表达无显著性差异,通窍活血汤醇提组GS与GFAP共表达明显增加( $P<0.05$ );与通窍活血汤酒煎组比较,通窍活血汤醇提组GS与GFAP共表达有升高的趋势,但差异无统计学意义。见图3,表5。

**3.5 对CIRI大鼠脑组织GFAP, GLT-1, GS蛋白表达的影响** 与假手术组比较,模型组GFAP表达煎煮升高,GLT-1表达显著降低( $P<0.01$ ),GS表达明显降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,通窍活血汤水煎组GFAP, GLT-1表达明显升高( $P<0.05$ ),通窍活血汤水煎组GS表达有升高趋势,但差异无统计学意义;通窍活血汤酒煎组GFAP, GLT-1表达明显升高( $P<0.05$ ),通窍活血汤酒煎组GS表达显著升高( $P<0.01$ );通窍活血汤醇提组GFAP, GLT-1, GS表达显著升高( $P<0.01$ )。与通窍活血汤水煎组比较,通窍活血汤酒煎组GFAP, GLT-1表达差异无统计学意义,通窍活血汤酒煎组GS表达明显升高( $P<0.05$ );通窍活血汤醇提组GFAP表达显著升高( $P<0.01$ ),通窍活血汤醇提组GLT-1, GS表达明显升高( $P<$



缺血半暗带脑组织中GLT-1呈红色荧光,GFAP呈绿色荧光,GLT-1与GFAP共表达部位呈黄色荧光

图2 通窍活血汤对CIRI大鼠缺血脑组织中GFAP与GLT-1共表达的影响(免疫荧光,×100)

Fig. 2 Effect of Tongqiao Huoxuetang on colocalization of GLT-1 and GFAP in CIRI rats Ischemic brain tissue(IF, ×100)

表4 通窍活血汤对CIRI大鼠缺血脑组织中星形胶质细胞GLT-1阳性表达率的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

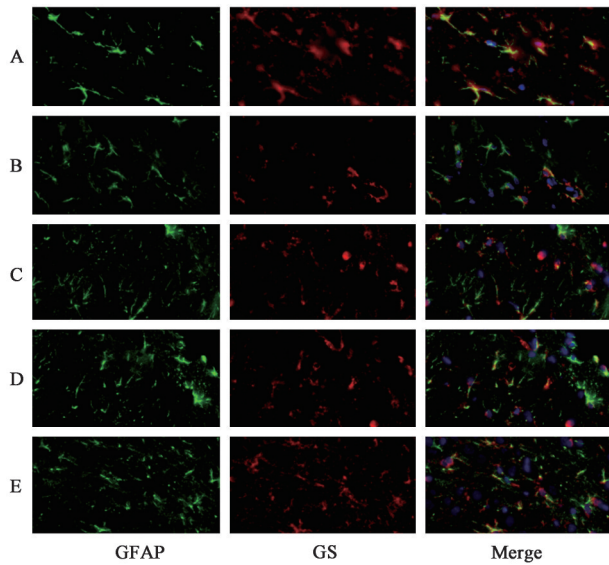
Table 4 Effect of Tongqiao Huoxuetang on positive expression of GLT-1 astrocytes in ischemic brain tissue in CIRI rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	GLT-1阳性表达比率
假手术		0.40±0.01
模型		0.34±0.02 <sup>2)</sup>
通窍活血汤水煎	6.3	0.36±0.01 <sup>3)</sup>
通窍活血汤酒煎	6.3	0.36±0.01 <sup>4)</sup>
通窍活血汤醇提	6.3	0.38±0.02 <sup>4,5)</sup>

0.05)。与通窍活血汤酒煎组比较,通窍活血汤醇提组GFAP表达显著升高( $P<0.01$ ),通窍活血汤醇提组GLT-1表达明显升高( $P<0.05$ ),通窍活血汤醇提组GS表达差异无统计学意义。见图4,表6。

#### 4 讨论

在中医学中无CIRI的病名,根据其临床症状归属中医学“中风”的范畴。中风病位在脑,脑为元神之官,贵在清灵通利,脑窍清灵则元神得安,脏腑生理功能正常,诸形体官窍得以濡养而功能正常行使。若受痰、热、瘀邪侵犯巅顶,阻滞经络,脑脉不通则出现运动及认知功能障碍等神经功能损伤的症状。中风病理机制复杂,虚实夹杂,但不论风、火、痰、瘀、虚何因所致,最终皆可导致脉络不通,血行不畅<sup>[17]</sup>,故活血通窍为中风的重要治法。通窍活



缺血半暗带脑组织中 GS 呈红色荧光, GFAP 呈绿色荧光, GS 与 GFAP 共表达部位呈黄色荧光

图 3 通窍活血汤对 CIRI 大鼠缺血脑组织中 GFAP 与 GS 共表达的影响(免疫荧光,  $\times 100$ )

Fig. 3 Effect of Tongqiao Huoxuetang on the colocalization of GS and GFAP in CIRI rats Ischemic brain tissue CIRI rats (IF,  $\times 100$ )

表 5 通窍活血汤对 CIRI 大鼠缺血脑组织中星形胶质细胞 GS 阳性表达率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 5 Effect of Tongqiao Huoxuetang on positive expression of GS astrocytes in ischemic brain tissue in CIRI rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	GS 阳性表达比率
假手术		0.47 $\pm$ 0.01
模型		0.43 $\pm$ 0.01 <sup>2)</sup>
通窍活血汤水煎	6.3	0.45 $\pm$ 0.02
通窍活血汤酒煎	6.3	0.46 $\pm$ 0.01 <sup>3)</sup>
通窍活血汤醇提	6.3	0.47 $\pm$ 0.02 <sup>4,5)</sup>

血汤为活血通窍的经典名方,方中麝香味辛性温,功专开窍通闭,解毒活血,为君药;方中赤芍、川芎行血活血,桃仁、红花活血通络,葱、姜通阳,黄酒通络,佐以大枣缓和芳香辛窜药物之性,功专通络开窍,活血化瘀,原方主治“头面血瘀证”,现临床治疗

CIRI 得到广泛应用。

现代药理学研究显示通窍活血汤中组成药物麝香,其有效成分麝香酮,能减少 Glu 转运体谷氨酸转运蛋白 1(EAAC1)的逆向转运,同时调节脑内 Glu 和抑制性神经递质的平衡,从而保护缺血缺氧的脑组织<sup>[18-19]</sup>;川芎有效成分川芎嗪可抑制 Glu 等兴奋性氨基酸过度释放,对 CIRI 具有明显的保护作用<sup>[20]</sup>。还有研究显示川芎和赤芍有效成分能够上调缺血脑组织中 GLT-1 蛋白的表达,降低 Glu 兴奋性毒性<sup>[21]</sup>。桃仁、生姜及红花其有效成分抗缺氧及血栓形成,减少自由基生成,下调凋亡蛋白的表达,对缺血脑损伤发挥保护作用<sup>[22]</sup>,由此可见,通窍活血汤改善脑缺血损伤与降低 Glu 的兴奋性毒性作用密切相关,而 GLT-1 是星形胶质细胞将 Glu 由细胞间隙转运入细胞内的关键蛋白,且转运入星形胶质细胞的 Glu 大部分经 Glu-Gln 循环代谢,所以推测通窍活血汤通过调节星形胶质细胞 Glu-Gln 循环,清除细胞间隙过度堆积的 Glu,从而改善了 CIRI 所致的神经功能损伤。

研究显示通窍活血汤改善 CIRI 患者神经功能疗效显著<sup>[23]</sup>,但其制备方式不尽相同,大致分为以下 3 类:①按照《医林改错》原方药物配伍比例及煎煮方法制备;②按照《医林改错》原方药物配伍比例,忽略黄酒,水煎制备;③按照《医林改错》原方药物配伍比例,应用现代工艺以乙醇回流提取<sup>[24-27]</sup>。由此,本实验设置了 3 种不同制备方式的通窍活血汤治疗组,比较三者治疗 CIRI 的疗效,并探讨其机制差异。通窍活血汤酒煎组按照《医林改错》原方药物比例配置,用黄酒半斤,将前七味煎一钟,去渣,将麝香入酒内,再煎二沸,旨在模拟《医林改错》中通窍活血汤的原方原貌;通窍活血汤水煎组乃通窍活血汤原方药物配伍比例,去黄酒,经水煎制备而成,旨在模拟现代临床应用。通窍活血汤醇提组的制备药物组成及配伍比例与水煎组相同,但经

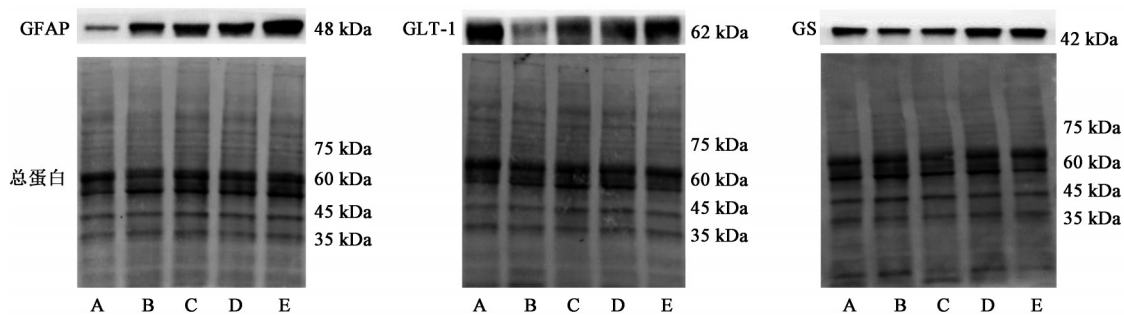


图 4 各组大鼠脑组织 GFAP, GLT-1, GS 蛋白表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of GFAP, GLT-1 and GS protein expression in brain tissues of each group rats

表6 通窍活血汤对CIRI大鼠脑组织GFAP, GLT-1, GS蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 6 Effect of Tongqiao Huoxuetang on expression of GFAP, GLT-1 and GS protein in brain tissues of CIRI rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	GFAP/总蛋白	GLT-1/总蛋白	GS/总蛋白
假手术		0.08±0.02	0.51±0.17	0.37±0.11
模型		0.23±0.04 <sup>2)</sup>	0.18±0.06 <sup>2)</sup>	0.25±0.05 <sup>1)</sup>
通窍活血汤水煎	6.3	0.29±0.04 <sup>3)</sup>	0.34±0.01 <sup>3)</sup>	0.29±0.08
通窍活血汤酒煎	6.3	0.30±0.04 <sup>3)</sup>	0.35±0.13 <sup>3)</sup>	0.40±0.08 <sup>4,5)</sup>
通窍活血汤醇提	6.3	0.38±0.08 <sup>4,6,8)</sup>	0.50±0.11 <sup>4,5,7)</sup>	0.41±0.12 <sup>4,5)</sup>

75%的乙醇回流提取,此设置旨在模拟现代临床应用,为经典名方的二次开发提供一定理论基础。

本实验采用改良线栓法建立局灶性CIRI的大鼠模型,mNSS神经功能损伤评分及HE染色观察通窍活血汤对CIRI大鼠的神经保护作用。mNSS评分可以从意识、运动、视觉、感觉、共济及神经反射等方面反应大鼠的神经功能损伤情况。分值为0~18分,神经功能缺损程度与评分高低成正比,评分越高,说明神经系统功能损伤越严重。本研究将mNSS评分在11~14分的大鼠纳入实验范畴,模型复制成功的CIRI大鼠出现偏瘫甚至运动时向右侧转圈,精神萎靡,腹壁反射减弱或消失,感觉障碍,平衡失调,神经反射减弱等症状。经3种方式制备的通窍活血汤治疗后,CIRI大鼠的mNSS评分降为7分左右,mNSS评分较模型组(13分)皆显著降低,大鼠的肢体运动、感觉、协调能力及精神状态等方面有所改善,神经功能逐渐恢复。江颖等<sup>[28]</sup>亦通过mNSS评分观察了通窍活血汤对CIRI大鼠的神经功能改善作用,结果与本实验一致。

本研究HE染色结果显示,3种方式制备的通窍活血汤皆可减少炎性浸润,促进缺血脑组织细胞形态的恢复,其中醇提组优于酒煎组,酒煎组优于水煎组。

Glu兴奋性毒性是神经功能障碍的重要机制。脑缺血时,Glu在突触间隙大量堆积,引起一系列病理连锁反应,最终导致神经元损伤和神经功能障碍<sup>[29]</sup>,Glu释放的数量与神经元损伤程度密切相关<sup>[30]</sup>。星形胶质细胞在控制细胞外Glu含量,调节神经胶质和神经递质的稳态、突触重塑、神经细胞再生、防止兴奋性毒性的产生等方面中发挥着至关重要的作用<sup>[31]</sup>。GLT-1和谷氨酰胺合成酶(GS)是星形胶质细胞Glu-Gln循环过程中的2个关键蛋白,GLT-1负责将突触间隙内的Glu转移进入星形胶质细胞,在GS的作用下生成为Gln,Gln重新回到突触前神经元供给能量。研究显示GLT-1负责突触间隙

高达90%Glu的清除<sup>[32]</sup>,而星形胶质细胞占90%~95%<sup>[33]</sup>。研究显示脑缺血损伤数小时后,GFAP表达明显增加,星形胶质细胞被激活,细胞肥大、突起增大变长<sup>[34]</sup>。

本研究结果显示,CIRI大鼠缺血脑组织中Glu含量显著升高,GFAP的表达明显增多,水煎、酒煎、醇提3种方式制备的通窍活血汤皆可改善CIRI大鼠的神经功能,降低缺血脑组织Glu表达量,同时上调GFAP,GLT-1蛋白的表达,其中通窍活血汤醇提组的作用最为明显,通窍活血汤酒煎组与通窍活血汤水煎组比较无统计学差异。此外,通窍活血汤醇提组和酒煎组还可上调GS蛋白的表达,推测可能与醇提法、酒煎法制备的通窍活血汤,其有效成份提取率更高有关。醇提法制备的通窍活血汤采用75%的乙醇回流、过滤提取,可以溶解生物碱、水溶性成分及脂溶性成分,其浸出液含量比水浸出液、酒浸出液含量明显增加,其有效成分可能通过进一步促进星形胶质细胞活化,增强Glu-Gln循环过程中GLT-1对Glu的转运,GS对Glu的转化,降低Glu的兴奋性毒性而发挥保护作用,这可能是醇提法制备的通窍活血汤在促进脑组织细胞形态恢复方面较酒煎法、水煎法显著的原因之一。酒煎法制备的通窍活血汤,能将能溶于酒的有效成份浸出,同时黄酒亦发挥通血脉,行药势、引药直达病所的作用,在增强GS蛋白表达方面较水煎组更为明显,同时与通窍活血汤水煎组相比,有降低Glu兴奋性毒性的趋势。

由此得出结论,通窍活血汤通过调节星形胶质细胞Glu-Gln循环降低Glu兴奋性毒性,改善CIRI大鼠的神经功能,经醇提法制备的通窍活血汤在该机制中的作用优于酒煎法和水煎法。本研究创新性的比较了水煎法、酒煎法、醇提法制备的通窍活血汤对CIRI的作用效果,并探讨了其相关机制,为下一步对通窍活血汤的药效物质基础及有效组分配伍研究提供了依据。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [ 1 ] ZUO G, ZHANG D, MU R, et al. Resolvin D<sub>2</sub> protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Mol Brain*, 2018, doi:10.1186/s13041-018-0351-1
- [ 2 ] 徐榛敏,刘雪梅,曾子修,等. 中医药对缺血性卒中后神经血管单元的保护作用[J]. *世界中医药*, 2018, 13(8):2084-2089.
- [ 3 ] 王博,张晓明,吴松,等. 标本配穴电针预处理抗脑缺血再灌注大鼠炎性损伤的研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47(1):172-174, 222
- [ 4 ] KIM Y, PARK J, CHOI Y K. The role of astrocytes in the central nervous system focused on BK channel and heme oxygenase metabolites: a review [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(5):121.
- [ 5 ] GUO Y, LI Q, YU X, et al. Rhubarb anthraquinone glycosides protect against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by regulating brain - gut neurotransmitters [J]. *Biomed Chromatogr*, 2021, 35(5):e5058.
- [ 6 ] GAO B Y, XU D S, LIU P L, et al. Modified constraint-induced movement therapy alters synaptic plasticity of rat contralateral hippocampus following middle cerebral artery occlusion [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(6):1045-1057.
- [ 7 ] NARANJO V, CONTRERAS A, MERINO B, et al. Specific deletion of the astrocyte leptin receptor induces changes in hippocampus glutamate metabolism, synaptic transmission and plasticity [J]. *Neuroscience*, 2020, 447:182-190.
- [ 8 ] PENG M, LING X, SONG R, et al. Upregulation of GLT-1 via PI3K/Akt pathway contributes to neuroprotection induced by dexmedetomidine [J]. *Front Neurol*. 2019; 10:1041.
- [ 9 ] LI L L, KE X Y, JIANG C, et al. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase participates in the protective mechanism of rat cerebral ischemia-reperfusion through the interaction with glutamate transporter-1 [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2021, doi:10.1111/fcp.12652.
- [ 10 ] 翟燕,汪宁,章亚兵,等. 通窍活血汤含药脑脊液对谷氨酸致PC12细胞损伤的保护作用[J]. *中成药*, 2019, 41(3):526-532.
- [ 11 ] 练志明,简林养,谢伟坚. 通窍活血汤对重型颅脑损伤的疗效及部分机制研究[J]. *世界中医药*, 2020, 15(13):1958-1961, 1966.
- [ 12 ] ZHONG D Y, LI H Y, LI L, et al. Effect of tongqiao huoxue decoction combined with western medicine on ischemic stroke: a systematic review [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, doi: 10.1155/2020/8877998.
- [ 13 ] WU S P, WANG N, ZHAO L. Network pharmacology reveals the mechanism of activity of tongqiao huoxue decoction extract against middle cerebral artery occlusion-induced cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11:572624.
- [ 14 ] 张美蓉,张晶晶,宋晓霞. 醒神通窍活血汤治疗脑梗死后环咽肌弛缓所致吞咽障碍的临床疗效[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20210733.
- [ 15 ] 陈晓光,潘晓峰,王帆,等. 通窍活血汤对大鼠中动脉栓塞模型大鼠神经功能及HPA轴功能影响[J]. *四川中医*, 2021, 39(4):40-44.
- [ 16 ] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91.
- [ 17 ] 向楠. “瘀血生风”假说检验[D]. 济南:山东中医药大学, 2011.
- [ 18 ] 孙蓉,杨倩,尹建伟,等. 麝香及替代品药理作用和含量测定方法研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(3):709-712.
- [ 19 ] 肖珍科,黎贤泰,王保,等. 麝香酮处理后CIRI模型大鼠海马组织中S100 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B表达变化研究[J]. *陕西中医*, 2019, 40(10):1327-1329.
- [ 20 ] GAO H J, LIU P F, LI P W, et al. Ligustrazine monomer against cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(5):832-840.
- [ 21 ] 田淼淼. 川芎赤芍合剂对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤区氨基酸表达的影响[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2018.
- [ 22 ] 秦峥. 羟基红花黄色素A抗兴奋毒性神经元死亡的神保护作用[D]. 广州:南方医科大学, 2012.
- [ 23 ] 温宁,刘万霞,刘建东,等. 半夏白术天麻汤合通窍活血汤治疗急性脑梗死的临床观察[J]. *光明中医*, 2018, 33(10):1377-1378, 1403.
- [ 24 ] 汪光云. 基于细胞自噬信号通路探讨通窍活血汤保护大鼠脑缺血再灌注损伤与自噬的关系[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2016.
- [ 25 ] 陈慧珍,许时良,许电. 针灸联合通窍活血汤对脑梗死恢复期患者脑部循环及肢体功能的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(8):850-852, 856.
- [ 26 ] 李永刚. 通窍活血汤对急性缺血性脑卒中患者氧化应激反应及脑血流的影响[J]. *湖南中医杂志*, 2020, 36(3):36-37.
- [ 27 ] 汪宁,刘青云,彭代银,等. 通窍活血汤对反复脑缺血再灌注小鼠的保护作用及机制的研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2003, 9(5):22-24.
- [ 28 ] 江颖,王凯华,方兴,等. 中药通窍活血汤对脑缺血再

- 灌注大鼠神经营养因子及氧自由基的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(7): 3085-3093.
- [29] DING S, WANG X, ZHUGE W, et al. Dopamine induces glutamate accumulation in astrocytes to disrupt neuronal function leading to pathogenesis of minimal hepatic encephalopathy [J]. Neuroscience, 2017, 365: 94-113.
- [30] 桂莉, 段炜, 田洪, 等. 小鼠脑缺血/再灌注诱导的纹状体区谷氨酸释放特点的研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(9): 1056-1058.
- [31] DEVINSKY O, VEZZANI A, NAJJAR S, et al. Glia and epilepsy: excitability and inflammation [J]. Trends Neurosci, 2013, 36(3): 174-184.
- [32] MARTINEZ-LOZADA Z, GUILLEM A M, ROBINSON M B. Chapter six-transcriptional regulation of glutamate transporters: from extracellular signals to transcription factors [J]. Adv Pharmacol, 2016, 76: 103-145.
- [33] FURNESS D N, DEHNES Y, AKHTAR A Q, et al. A quantitative assessment of glutamate uptake into hippocampal synaptic terminals and astrocytes: new insights into a neuronal role for excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2) [J]. Neuroscience, 2008, 157(1): 80-94.
- [34] SIBSON N R, LOWE J P, BLAMIRE A M, et al. Acute astrocyte activation in brain detected by MRI: new insights into T(1) hypointensity [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2008, 28(3): 621-632.
- [责任编辑 周冰冰]

·书讯·

## 口腔正畸治疗牙周疾病致前牙移位的改善分析

——评《口腔临床实践指导》

牙周炎是常见的口腔疾病,牙周病是除了癌症、心血管病之外危害人类健康的最大疾病。牙周炎主要是牙龈及牙周组织炎症,临床表现为形成牙周袋、牙周发炎等症状,而牙周炎的发生常常会导致患者的前牙出现移位、松动情况,不仅使患者的牙齿美观受损,还会让患者的咀嚼变得困难,影响食欲。通常情况下,面对牙周病会采用基础性治疗的方法。同时这方面的研究著作也相继问世,是口腔科医生学习治疗牙周疾病的基础方法。

《口腔临床实践指导》张佐主编,由阳光出版社2017年出版。张佐教授曾任中华口腔医学会第二、三、四届理事会理事,口腔正畸专业委员会第二、三、四、五届委员。享受国务院、自治区政府特殊津贴,其内容融合了张佐教授多年的临床实践经验,并结合中西医诊疗技术和临床案例,撰写了这部兼顾学术性和实用性的医学丛书。该书分为13章,对口腔医学知识做了全面系统的梳理、归纳、筛选、总结了理论上的重要知识点及难点问题,对临床具有指导意义的问题和热点问题,引起当今口腔学界广泛关注、热议的问题,进行了凝练与升华,形成了临床实践指导呈现给读者。本书中较详细的介绍了牙周病致前牙移位应用口腔正畸治疗对患者牙周不良的改善效果。具体方法,口腔正畸一般指牙齿矫正对患者采用方丝带环,在活动的尖牙和切牙上连接托槽,采用医用钛镍圆丝对活动的前牙进行矫正,正畸力大小的调整,应根据患者的反应及牙周支持组织的多少,促进其稳定性的提高。对患者牙周袋深度、出血指数、前牙覆盖度、牙槽骨高度和覆盖度进行详细观察。引导患者如何使用矫治器,叮嘱患者对牙周状况及口腔卫生要特别注意,同样进行3个月的治疗,在牙周疾病引起的前牙移位的治疗中,采用口腔正畸治疗可有效地降低牙周深度。一般来说,在进行口腔正畸治疗之前,先进行炎症的处理治疗,有可能受此影响,使矫正治疗不受其他因素的影响。目前,有效控制牙周病患者的发炎,是牙周病前牙移位治疗的关键环节,如果盲目施以正畸力,不但对畸形牙齿不能起到矫正作用,还可能加重病情。通过正畸治疗,创伤可以去除,关系可以重建,同时在进行口腔治疗时,还需做好口腔维护,保持口腔清洁,防止牙龈发炎的现象。对于牙周疾病引起的前牙移位患者,采用口腔正畸治疗能有效地帮助患者移位后的牙齿恢复到原来的位置。不仅有助于牙周病的治疗,而且使患者的复发率大幅度降低,让患者拥有一口健康的牙齿。患者牙齿恢复健康后,将对患者的生活产生很大影响,可以提高患者的生活质量。经口腔正畸治疗后,可使患者的牙周组织深度明显降低。但是口腔正畸术的疗效与患者的牙周炎炎症程度有很大关系,为确保口腔正畸术的疗效,需要在治疗准备阶段开展有效的抗炎工作。若不能消除炎症,便贸然进行后期修复治疗,不但不能使移位的牙齿复位,还会加重患者的病情。

《口腔临床实践指导》在编写过程中,力求内容全面,层次明确,在本书中作了较为详尽的阐述,提出了许多临床上需要口腔医生高度重视的难题,做出了具体的指导意见。希望能为在口腔临床医学一线工作的广大医生提供更好的帮助。可以作为口腔医生,尤其是口腔全科医生和基层口腔医生临床实践的参考和指南,也可以作为培训口腔全科医生的教材,推广适宜技术,实施口腔科技惠民计划。

(作者杨琴<sup>1</sup>,金费妍<sup>2\*</sup>,1.嘉兴市秀洲区洪合镇卫生院,浙江嘉兴314023;2.浙江省桐乡市妇幼保健院,浙江桐乡314500)