

填精补血化瘀方对局灶性脑缺血 脑保护作用的研究

黄 晖 颜正华* 徐秋萍*

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

摘要 观察了填精补血化瘀方对光化学诱导局灶性脑缺血大鼠的脑保护作用。结果表明,该方可明显抑制脑缺血后脑水肿的发生发展,改善血管通透性,提高琥珀酸脱氢酶(SDH)活性,减轻脑组织损害,其效果优于尼莫地平。

关键词 填精补血化瘀方 脑缺血 脑水肿 血管通透性 琥珀酸脱氢酶

Protecting Effect of Tianjing Buxue Huayu Decoction on Focal Cerebral Ischemia

Huang Hui, Yan Zhenghua, Xu Qiuping

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

Abstract: A protecting effect of Tianjing Buxue Huayu decoction was investigated on focal cerebral ischemia induced by a photochemical method in rats. Following the medication with the decoction, inhibition on cerebral edema, improvement of vascular permeability, increase of succinate dehydrogenase activity, and alleviation of cerebral damage, were observed in the rats with cerebral ischemia. The protecting effect of the decoction appeared to be more potent than that of nimodipine.

Key words: Tianjing Buxue Huayu decoction, Cerebral ischemia, cerebral edema, vascular permeability, Succinate dehydrogenase

大脑半球局部血流供应的阻断常伴有特征性的神经心理学方面的表现,改善脑血流量可明显提高记忆活动^[1]。而自由基连锁反应则是脑缺血的核心病理环节^[2]。填精补血化瘀方是根据颜正华教授多年的临床经验总结的抗衰老益智有效方剂,对缺血性脑血管病、冠心病治疗有效率达 87% 以上。实验研究也表明该方有显著清除自由基、提高学习记忆的功能^[3,5]。为此,我们观察了该方对光化学诱导大鼠局灶性脑缺血的脑保护作用,结果如下。

1 材料与方

1.1 动物及分组 Wistar 雄性大鼠,体重 220~250g,随机分为正常对照组(未经任何处理)、单纯光照组(暴露颅骨,不注射玫瑰红 B,单纯光照 10min)、脑缺血模型组、尼莫地平对照组、填精补血化瘀方组各 16 只。

1.2 给药 填精补血化瘀方(由熟地、何首乌、枸杞子、黄精、人参、川芎、当归按 3 : 2.5 : 2 : 2 : 3 : 2 : 2 比例组成),由北京永定中药厂加工成口服液(每 ml 含生药 1g)供试,给药剂量 10ml(g)/kg;尼莫地平剂量 20mg/

kg, 采取灌胃给药 8d, 造模后继续给药至处置。其余对照组均同法饲以等容量饮用水。

1.3 制模 采用光化学诱导法^[6], 以 400w 金属卤化灯(由北京电光源所特制)为发光光源, 循环水直接冷却, 并用滤光片滤去紫外与红外线, 聚光, 使光波长 $560 \pm 60\text{nm}$, 光照射距离 6cm, 光束投射范围 0.5cm^2 , 局部照射强度 $0.5\text{w}/\text{cm}^2$, 照射温度 28°C 。化学诱导剂系荧光染料四碘四氯荧光素二钠(rose bengal, 玫瑰红 B), 北京化工厂生产。

诱导方法: 除正常组及单纯光照组外, 其余大鼠均以 3.5% 水合氯醛($0.35\text{g}/\text{kg}$)ip 麻醉大鼠, 常规皮肤消毒, 头正中切开皮肤, 暴露颅骨, 经尾静脉注射玫瑰红 B($25\text{mg}/\text{kg}$)后, 将暴露的头颅(右侧额部)置光源下照射 10min, 缝合头皮。

1.4 脑组织水份含量的测定 脑缺血 24h, 各组取 5 只大鼠迅速断头取脑, 按 Gotoh 等^[7]方法在冰板上切取右脑半球, 以万分之一天平称量, 置 90°C 烘干至恒重, 再称干重, 计算百分含水量。

1.5 血管通透性试验 脑缺血 48h, 各组取 8 只大鼠尾静脉注射 1% 伊文思蓝溶液 $4\text{ml}/\text{kg}$, 1h 后断头取脑, 放入硫代硫酸钠-丙酮溶液(3:7)内匀浆并浸泡 48h 后, 离心, 上清液于 721 分光光度计(610nm)测光密度。

1.6 琥珀酸脱氢酶组化染色分析 脑缺血 48h 后各组取 2 只大鼠, 迅速断头取脑, 冰冻切片, 按 Pearson 法^[8]行组织染色, 在光镜下观察 SDH 活性。

1.7 病理组织 HE 染色光镜分析 脑缺血 48h 后各组取 1 只大鼠快速断头取脑, 固定于 10% 中性福尔马林溶液中, 取额极侧厚约 1mm 的冠状切片, 经脱水、包埋、切片、HE 染色后, 行光镜观察。

2 结果

2.1 各组脑含水量变化(见表 1)

表 1 所示, 模型对照组梗塞侧大脑半球含水量比正常对照组明显增加, 提示缺血脑

组织有明显水肿; 单纯光照组与正常组之间无明显差异; 尼莫地平组脑含水量也明显高于正常组, 有显著差异, 但又低于模型组, 差异显著; 填精补血化瘀方组脑含水量高于正常组, 差异显著, 但低于尼莫地平组, 与模型组比较, 有非常显著性差异。

表 1 对照组与实验组脑含水量变化

分 组	N	梗塞侧大脑半球百分含水量(%) ($\bar{X} \pm \text{SD}$)
正常对照组	5	73.58 ± 0.38
单纯光照组	5	73.84 ± 0.58
模型对照组	5	$79.21 \pm 0.81^{**}$
尼莫地平组	5	$77.03 \pm 0.58^{**\#}$
填精补血化瘀组	5	$76.23 \pm 0.59^{**\#\#}$

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。(下同)

表 2 对脑血管通透性(AD)影响

分 组	N	梗塞侧大脑半球 AD($\bar{X} \pm \text{SD}$)
正常对照组	8	0.92 ± 0.26
单纯光照组	8	1.07 ± 0.45
模型对照组	8	$1.97 \pm 0.81^{**}$
尼莫地平组	8	$1.41 \pm 0.73^{**\#}$
填精补血化瘀组	8	$1.43 \pm 0.64^{**\#\#}$

2.2 填精补血化瘀方对血管通透性的影响(见表 2) 从表 2 可知, 模型组梗塞侧大脑半球 AD 比正常对照组明显增高, 有非常显著性差异, 提示模型组光照侧脑血管通透性发生明显梗塞; 单纯光照组与正常对照组之间无明显差异; 尼莫地平组和填精补血化瘀组 AD 也比正常对照组高, 但均低于模型对照组, 有显著性差异, 说明尼莫地平 and 填精补血化瘀方均有改善脑血管通透性的作用。

2.3 SDH 组化染色光镜观察 SDH 主要定位于线粒体内膜, 光镜下酶活性部位于胞浆内呈兰紫色颗粒。脑缺血模型组出现神经细胞大片溶化, SDH 染色较正常对照组浅, 细胞周围染色颗粒不清楚, 且数量减少; 而填精补血化瘀方组酶染色颗粒清晰, 并较尼莫地

平组染色深而数量多,表示填精补血化瘀方可提高 SDH 活性,加强神经细胞的有氧化。

2.4 HE 染色光镜观察组织学变化 光镜观察正常对照组和单纯光照组脑组织细胞结构清楚,核仁存在,无病理学改变。脑缺血模型组光镜下显示有明显的缺血性变,表现为神经元核质固缩、核仁消失,胞浆疏松、染色变浅,胞浆及血管周围空化,毛细血管损伤渗漏,血栓物质形成,坏死灶周围有急性炎症,细胞浸润;填精补血化瘀方组脑皮质有浅表的局灶坏死,周围可见到正常的神经元区,脑皮质中、深层神经元无明显坏死表现;尼莫地平组脑皮质有浅表性局灶坏死,周围也可见到正常神经元,皮质坏死区可见到扩张的毛细血管,无血管渗漏。

3 讨论

临床上脑梗塞大多发生在大脑半球的一些区域,尤其是老年记障碍的病人主要为局部脑缺血,且脑部缺血的区域与学习记忆的内容相关,学习记忆与皮层顶叶,颞叶局部血流量变化密切相关。因此,我们选择光化学诱导局灶性(右侧额部)脑缺血动物模型,该模型是利用光敏性染料(玫瑰红 B)经尾静脉注射于血管内,通过某局部在特定波长的光线作用下,发生光化学反应,释放单链氧(自由基),引起血管壁内皮细胞不饱和脂肪酸发生脂质过氧化,直接损伤血管内皮细胞的完整性,使血小板粘附于血管内表面并发生释放反应,激发凝血过程,导致光照区血管的血栓形成、血管阻塞,照射区脑实质及软脑膜的供血及吻合支动脉均闭塞,血液成分外漏及局部脑组织因缺血、缺氧导致脑梗塞坏死,酷似人脑血栓形成过程,且制作简单,相对非侵入性,可控制梗塞灶的大小和部位^[9,6]。本实验观察到,脑缺血模型组在术后 24h 出现典型的局灶性脑梗塞病理改变,表现为脑水肿、光镜下观察到脑血管内皮损伤、外漏、炎细胞浸润及血管内血栓物质,SDH 活性减低,神经

元细胞溶解。而填精补血化瘀方能明显抑制缺血后脑水肿的发生、发展,改善血管通透性,提高 SDH 活性,减轻脑不可逆损害,表明该方对脑缺血具有良好的脑保护作用。

现代医学研究发现,脑缺血时机体内自由基增多,尤其是在脑缺血后再灌注,自由基的产生达到高峰。这些自由基很容易与细胞膜、线粒体及溶酶体膜上的不饱和脂肪酸发生过氧化反应,导致细胞损伤,加重脑水肿,故在缺血早期重建供血对病情是非常不利的^[2]。应用抗氧化剂则可降低脑梗塞体积,减轻脑水肿。中医认为缺血性脑梗塞其病机主要为肝肾阴虚,精血亏耗,导致筋脉失养,或阴虚阳亢、灼津为痰,或精不化气,气虚血瘀,痰瘀阴窍。故治当以滋阴填精养血为主,化瘀涤痰熄风为辅。现代药理研究已表明,绝大多数补肝肾、填精养血中药具有清除自由基、抑制过氧化脂质的作用^[10]。本实验结果则证实,由补肾填精、养血通脉药物组配的填精补血化瘀方对于局灶性脑缺血具有良好的脑保护作用,从而为临床进一步研究滋补肝肾、填精养血中药治疗脑血管疾病提供了一定的科学依据。

参 考 文 献

- [1]吴瑞良. 心理科学通讯,1983;(4): 43
- [2]姜德波等. 国外医学. 神经病学神经外科学分册,1991;(2): 61
- [3]郑虎占等. 北京中医学院 91 届博士研究生学位论文,1991,61
- [4]黄晖等. 中成药, 1995;(12): 28
- [5]黄晖等. 中药药理与临床,1995;(1): 17
- [6]胡常林等. 中华医学杂志,1991;71(11): 627
- [7]Gotoh O, et al. Stroke. 1985;16: 101
- [8]Pearson, B. J. Histochem, Cytochem, 1958;(6): 112
- [9]赵纲等. 国外医学. 脑血管疾病分册,1993;1(3): 134
- [10]李春生. 中医杂志,1988;(1): 59~62