

中风 1 号对实验性脑缺血的改善作用

郝迪, 李旭, 王梓, 康利, 王蕾, 种影影, 陈卫平*
(天津市医药科学研究所, 天津 300020)

[摘要] **目的:**观察中风 1 号对小鼠急性脑缺血和大鼠局灶性脑缺血引起的脑梗死的保护作用。**方法:**小鼠按体重均匀分为 5 组:空白对照组、尼莫地平阴性对照组、中风 1 号高、中、低剂量组($31.74, 15.87, 7.94 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 给药 8 d 后, 采用小鼠双侧颈总动脉合并迷走神经结扎法制备小鼠急性脑缺血模型, 观察小鼠呼吸维持时间;大鼠按体重均匀分为假手术对照组、模型对照组、尼莫地平组以及中风 1 号($24.78, 12.39, 6.20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组, 预给药 3 d 后采用线栓阻断大脑中动脉血供造成大鼠局灶性脑缺血模型(MCAO), 观察中风 1 号对脑缺血大鼠神经功能评分和脑梗死比例的影响。**结果:**中风 1 号高剂量组能延长急性脑缺血小鼠呼吸维持时间, 与模型对照组有显著差异($P < 0.05$)。与模型对照组比较, 中风 1 号高、中剂量组能不同程度降低局灶性脑缺血大鼠脑梗死率($P < 0.001, P < 0.01$), 并能明显改善神经功能损伤症状。**结论:**中风 1 号对小鼠和大鼠不同脑缺血模型都有很好的作用, 能延长小鼠呼吸维持时间, 明显缩小大鼠脑缺血梗死率并改善神经损伤症状。

[关键词] 中风 1 号; 脑缺血; 中风; 动物模型

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0250-04

[doi] 10.11653/syfy2013210250

Amelioration Effect of Zhongfeng 1 on Experimental Cerebral Ischemia

HAO Di, LI Xu, WANG Zi, KANG Li, WANG Lei, CHONG Ying-ying, CHEN Wei-ping*
(Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Science, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the neuroprotection effect of Zhongfeng 1 on cerebral infarction caused by acute cerebral ischemia in mice and focal cerebral ischemia in rats. **Method:** Acute cerebral ischemia model in mice was induced by ligaturing the bilateral carotid arteries and vagus nerve, and breathing duration was observed. Cerebral ischemia and infarction in rats were induced by middle cerebral artery occlusion (MCAO). The effects of Zhongfeng 1 were evaluated in the two models. The different doses of Zhongfeng 1 were administrated before modeling ($31.74, 15.87, 7.94 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $24.78, 12.39, 6.20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectively for mice and rats). In mice, Zhongfeng 1 was given for 8 days before modeling. In rats, Zhongfeng 1 was given for 3 days before modeling. Nimodipine was used as the positive control. **Result:** Each dose group of Zhongfeng 1 could prolong the breathing duration in mice with acute cerebral ischemia, and the effect was dose-dependent, but without significant difference among different dose groups. Both Zhongfeng 1 high dose group and middle dose group, compared with the model control group, could significantly reduce the proportion of cerebral focal infarction ($P < 0.001, P < 0.01$) and significantly improve symptoms of nerve function injury in rats. **Conclusion:** Zhongfeng 1 has good pharmacological effects on cerebral ischemia in mice and rats. It can prolong the maintenance of mice breathing, significantly reduce infarction ratio of cerebral ischemia, and improve the symptoms of nerve damage.

[Key words] Zhongfeng 1; cerebral ischemia; stroke; animal model

脑血管疾病的发病率随着人口年龄结构的老龄化而逐年增加, 缺血性脑血管疾患严重危害着人类

[收稿日期] 20120531(006)

[第一作者] 郝迪, 硕士, 助理研究员, 从事心脑血管药物药理研究, Tel:022-27236137, E-mail:haod2005@126.com

[通讯作者] * 陈卫平, 副研究员, 从事心脑血管药物研发研究, Tel:022-27236137, E-mail:weiping9679@163.com

生命健康。大量临床与实验资料证实^[1],中医药在脑缺血、脑梗死的预防和治疗方面有一定疗效^[2]。天津市武清中医院根据多年临床经验将化痰息风、滋阴清热之剂天麻钩藤饮与善治风痰上扰证的半夏白术天麻汤相结合组成中风1号方。中风1号方对实验性脑缺血的保护作用尚无文献报道,笔者采用小鼠急性脑缺血和大鼠局灶性脑缺血模型,观察中风1号对实验性脑缺血的保护作用,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雌雄兼用,体重18~20 g,由中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所动物实验中心提供,许可证号SCXK(军)2009-003;SD大鼠,雄性,体重220 g左右,由北京大学医学部实验动物科学部提供,动物许可证号SCXK(京)2006-0008。屏障环境,动物使用许可证号SYXK(津)2011-0003。由北京科澳协力饲料有限公司提供符合国家标准的动物饲料。动物饮用纯净水。

1.2 药品与试剂 中风1号,由天津市医药科技研究制剂中心制成浸膏,临用时配成所需浓度。阳性对照药尼莫地平(天津市中央药业有限公司,批号H20043915)。红四氮唑(TTC,天津市瑞金特化学品有限公司,批号津Q/HX3251-2003)。

1.3 仪器与材料 S-648-恒温水浴箱(上海医疗器械厂),PL203-精密电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。MCAO栓线(北京沙东生物技术有限公司提供)。

2 方法

2.1 小鼠急性脑缺血实验

2.1.1 分组及给药 小鼠按体重均匀分为5组:模型对照组,阳性对照组(尼莫地平溶液 $1.2 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),中风1号高、中、低剂量组($31.74, 15.87, 7.94 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组10只,雌雄各半。连续灌胃给药8 d。给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.1.2 急性脑缺血模型制备^[3-4] 小鼠给药8 d后,于末次给药0.5 h后,10%水合氯醛麻醉,仰卧位固定,分离并结扎左右两侧颈总动脉、迷走神经,之后远心端剪断。

2.1.3 观察指标 记录小鼠呼吸维持时间即小鼠存活时间。

2.2 大鼠局灶性脑缺血实验

2.2.1 分组及给药 大鼠按体重分为6组:假手术对照组(纯净水)、模型对照组(纯净水)、阳性药组

(尼莫地平溶液 $9 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、以及中风1号高、中、低剂量组($24.78, 12.39, 6.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,其中高剂量组相当于临床用量的14倍),每组10只。造模前连续给药5 d,1次/d,造模后继续给药3 d。均灌胃给药,受试药物于使用前用纯净水配制,给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.2.2 线栓法制备局灶性脑缺血(MCAO)大鼠模型^[5-6] 按照Zea Longa的线栓造模方法进行部分改良。10%水合氯醛 $3.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip麻醉。大鼠仰卧位固定于手术台上,常规消毒,颈部正中切口,暴露右侧颈总动脉和颈外动脉,小心分离与颈总动脉伴行的迷走神经,用5/0丝线结扎颈总动脉和颈外动脉,在距离分叉处0.5 cm左右用眼科剪将颈总动脉剪一小切口,将备用线栓送入切口,向内推行,将线栓沿颈总动脉、颈内动脉顺行至中动脉,遇到阻力时停止,从颈总动脉分叉处计算插入深度(1.8 ± 0.5) cm,造成大鼠大脑中动脉血供阻断。动物造模苏醒后出现明显偏瘫症状、身体倾斜、爬行旋转视为造模成功^[6-7]。

2.2.3 观察方法和指标

2.2.3.1 脑缺血大鼠神经行为评分^[7-8] 在造模后6,24,48 h对大鼠进行神经行为评分,评分标准:0分,无神经缺陷,活动正常;1分,左前爪不能充分伸展;2分,大鼠向左侧转圈;3分,大鼠向左侧倾倒;4分,不能自发行走,意识丧失。

2.2.3.2 缺血脑组织梗死率 造模后72 h末次药后1 h,将大鼠断头处死,迅速取出大脑,用冷盐水冲洗后,快速于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中放置10 min,待脑组织稍硬后,取出,切掉嗅球、垂体、低位脑干,由前向后冠状切片,均匀切成2 mm厚脑片,等分切成5片,置于1% TTC溶液中, $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光孵育30 min,每隔5 min左右翻动1次。TTC可与正常组织内的脱氢酶系统反应被还原为玫瑰红色而使正常组织染呈玫瑰红色,梗死组织呈白色,且界限分明,眼科镊精确剥离梗死部位,电子天平精密称取总重并记录。计算脑梗死率。

$$\text{脑梗死率} = (\text{梗死部分质量} / \text{全脑质量}) \times 100\%$$

2.3 统计学分析 采用SPSS 11.5统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠急性脑缺血的影响 与模型对照组比较,中风1号高剂量组能显著延长急性脑缺血小鼠的存活时间($P < 0.05$),说明中风1号对急性脑缺

血有保护作用。见表 1。

表 1 中风 1 号对小鼠急性脑缺血呼吸维持时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	呼吸维持时间/s
模型	-	324.10 ± 165.03
中风 1 号	31.74	637.50 ± 378.45 ¹⁾
	15.87	573.30 ± 359.98
	7.94	517.90 ± 352.53
尼莫地平	1.2×10^{-2}	717.70 ± 319.82 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对大鼠局灶性脑缺血的影响

3.2.1 对大鼠神经功能行为评分的影响 模型组 6, 24, 48 h 内神经行为评分与假手术对照组有显著差异($P < 0.01$), 说明模型制备成功。与模型对照组比较, 中风 1 号高、中剂量组在术后 6, 24, 48 h 评分较模型组评分明显下降($P < 0.001, P < 0.01, P < 0.05$)。中风 1 号低剂量组与模型对照组无显著性差异。见表 2。

3.2.2 对大鼠脑梗死率的影响 模型组大鼠脑冠状切面大多数可见较大面积苍白区, 与正常组织界限明显, 各组大鼠脑组织染色见图 1。中风 1 号高、中剂量组均可显著缩小脑缺血大鼠梗死率

表 2 中风 1 号对模型大鼠神经功能评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) 分

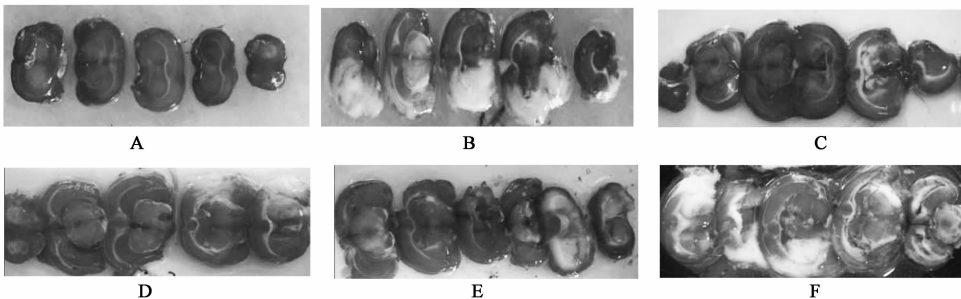
组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	行为学评分		
		6 h	24 h	48 h
假手术	-	0	0	0
模型	-	2.70 ± 0.48	2.30 ± 0.48	2.30 ± 0.48
中风 1 号	24.78	1.60 ± 0.52 ³⁾	1.50 ± 0.53 ²⁾	1.30 ± 0.48 ³⁾
	12.39	2.00 ± 0.67 ²⁾	1.70 ± 0.67 ¹⁾	1.70 ± 0.48 ²⁾
	6.20	2.20 ± 0.92	2.00 ± 0.82	1.90 ± 0.57
尼莫地平	9×10^{-3}	1.90 ± 0.57 ²⁾	1.40 ± 0.7 ³⁾	1.20 ± 0.63 ³⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05, ^{2)}$ $P < 0.01, ^{3)}$ $P < 0.001$ (表 3 同)。

($P < 0.001, P < 0.01$), 与模型组相比, 分别降低了 57.26% 和 52.02%。见表 3。

表 3 中风 1 号对模型大鼠脑梗死率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脑梗死率/%	梗死缩小率/%
假手术	-	0	0
模型	-	26.70 ± 11.11	0
中风 1 号	24.78	11.41 ± 10.09 ³⁾	57.26
	12.39	12.81 ± 10.96 ²⁾	52.02
	6.20	18.55 ± 12.24	30.52
尼莫地平	9×10^{-3}	4.96 ± 4.09 ³⁾	81.42



A. 假手术组; B. 模型对照组; C. 尼莫地平 $9 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 中风 1 号 $24.78 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 中风 1 号 $12.39 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 中风 1 号 $6.20 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图 1 中风 1 号对大鼠 MACO 模型梗死面积的影响

4 讨论

作者根据“百病兼痰”、“久病多瘀”、“痰瘀同源”及“痰瘀相关”学说, 结合舌苔、脉象、临床表现等观察到, 中风病最多见的证候是痰瘀交结, 其次是肝肾阴虚。痰瘀互结贯穿于本病的全过程^[9-11]。本研究将化痰息风、滋阴清热之剂天麻钩藤饮(出自《杂病证治新义》)与善治风痰上扰证的半夏白术天麻汤(出自《医学心语》)相结合组成中风 1 号。方中天麻、钩藤平肝潜阳、祛风通络, 加入地龙、全蝎助二药息肝风、通经络之力; 丹参、赤芍凉血活血, 三七助其活血又可防止出血; 黄芩、半夏、瓜蒌、胆南星清化痰热、通调胃腑、使气机降顺; 茯苓健脾补中, 而无

壅滞之嫌; 石菖蒲辛香芳华, 有豁痰开结、醒神开窍之功。实验结果表明, 中风 1 号高剂量组能显著延长急性脑缺血小鼠的生存时间; 减轻 MCAO 大鼠的神经功能障碍, 缩小脑梗死范围, 该作用可能与本药“血行风自灭”有关, 该作用为化痰通络法组方治疗缺血性脑中风提供了依据, 其机制是否通过促进侧支循环的建立、改善微循环、增加血流量等方面来实现的, 需进一步研究探讨。

[参考文献]

[1] 程学铭. 脑血管疾病[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993: 4.

鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝组织 TGF- β_1 /smad 通路的影响

程新燕*

(广西壮族自治区人民医院, 南宁 530021)

[摘要] 目的:研究鬼针草总黄酮(TFB)对肝纤维化大鼠肝组织中转化生长因子 β_1 /smad(TGF- β_1 /smad)通路表达的影响。方法:四氯化碳(CCl₄)复制肝纤维化大鼠模型,随机分为5组:模型组、阳性药秋水仙碱组(0.2 mg·kg⁻¹)、TFB低、中、高剂量组(60, 120, 240 mg·kg⁻¹),并设正常组,连续灌胃30 d。检测大鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、门冬氨酸转氨酶(AST)和总胆红素(TBil)的水平,以及测定肝组织中透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、III型前胶原(PCIII)和羟脯氨酸(Hyp)的含量。免疫组化检测肝组织中转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)阳性细胞的表达,Western blot法测定肝组织中smad2和smad3表达,Masson染色观察肝组织病理学变化。结果:与模型组比较,TFB可有效降低肝纤维化大鼠血清中AST,ALT,TBil水平($P < 0.01$),降低肝组织中HA, LN, PCIII和Hyp含量($P < 0.01$);TGF- β_1 阳性细胞数量明显减少($P < 0.01$),以及肝组织中smad2和smad3有效地下调($P < 0.01$),并减轻肝纤维化病变。结论:鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠具有防治作用,其机制可能与调节TGF- β_1 /smad通路而抑制胶原生成有关。

[关键词] 鬼针草;总黄酮;肝纤维化;TGF- β_1 /smad通路;胶原

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0253-05

[doi] 10.11653/syjf2013210253

Effect of Total Flavonoids of *Bidens bipinnata* on TGF- β_1 /smad Pathway of Liver Tissue in Rats with Liver Fibrosis

CHENG Xin-yan*

[收稿日期] 20130319(005)

[基金项目] 广西研究生教育创新计划项目(2011105981002M173)

[通讯作者] *程新燕,主管药师,硕士,从事治疗肝损伤药物研究工作, Tel:13977184535, E-mail:chengxinyan201210@163.com

- [2] 尚远宏,徐晓玉. 中药及其提取物对脑缺血保护作用的实验研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8):1109.
- [3] 刑景根,皋聪,李瑞. 蝙蝠葛苏林碱对小鼠和大鼠脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学通报, 1998, 14(1):18.
- [4] 张予阳,于庆海,游松,等. 银杏内酯对小鼠和大鼠脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2001, 17(6):667.
- [5] 李小凤,孙圣刚,董萼塘. 大鼠可逆性局灶性脑缺血模型复制方法的改进[J]. 华中医学杂志, 2000, 24(4):192.
- [6] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社, 2010:998.
- [7] 刘宗涛,刘江,李继斌. 等. 安宫牛黄丸对实验性大鼠脑缺血模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23):288.
- [8] Bederson J B, Pitts L H, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion; evaluation of the model and development of a neurological examination[J]. Stroke, 1986, 17:472.
- [9] 赵虹,张秋娟,汪涛,等. 中风解毒方对急性脑缺血大鼠脑梗死面积和神经功能缺损的影响[J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(6):54.
- [10] 王丽萍,白雪,杨思进. 祛风药治疗缺血性中风的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2006, 4(2):146.
- [11] 李金环,张聪恪. 消痰通络丸对急性脑梗死模型大鼠生化指标的影响[J]. 中医药临床杂志, 2007, 19(5):445.

[责任编辑 李玉洁]