

脑脉舒康胶囊对短暂性脑缺血模型小鼠的影响

白明, 高小玲, 苗明三*
(河南中医学院, 郑州 450003)

[摘要] **目的:**探讨脑脉舒康胶囊对短暂性脑缺血发作小鼠模型的影响。**方法:**采用昆明种小鼠,分为脑脉舒康胶囊组(1.8, 0.9, 0.45 g·kg⁻¹)、模型组、假手术和阳性药(血栓通 1.125 g·kg⁻¹、尼莫地平 0.03 g·kg⁻¹)对照组,各组连续灌胃7 d,于第8天给药1 h后,结扎两侧颈总动脉30 min,并进行再灌注15 min制备短暂性脑缺血模型;眼球取血,测定超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量;取部分小鼠脑组织匀浆,检测脑匀浆液Na⁺-K⁺-三磷酸腺苷酶(ATPase), Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP, Ca²⁺-ATPase活力;部分脑组织称重后计算脑含水量。**结果:**脑脉舒康胶囊可以增强Na⁺-K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP, Ca²⁺-ATPase活力,降低MDA含量,提高SOD的活性,减轻脑缺血引起的脑组织间质水肿。**结论:**脑脉舒康胶囊可提高脑组织ATP能量,稳定离子泵功能,清除氧自由基,缓解脑水肿,具有保护脑细胞的作用。

[关键词] 脑脉舒康胶囊; 短暂性脑缺血发作; 能量代谢; 抗氧化; 脑水肿

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0166-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120813.1213.056.html>

[网络出版时间] 2012-08-13 12:13

Experimental Study of Naomai Shukang Capsule on Transient Ischemic Attack in Mice

BAI Ming, GAO Xiao-ling, MIAO Ming-san*
(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Naomai Shukang capsule on transient ischemic attack in mice. **Method:** Kunming mice were divided into Naomai Shukang capsule group (1.8, 0.9, 0.45 g·kg⁻¹), the model group, sham operation control group, and the positive control group (Xueshuantong 1.125 g·kg⁻¹, nimodipine 0.03 g·kg⁻¹), mice were fed Naomai Shukang capsule for 7 d, on the 8 d, after 1 h of administration, both sides of the common carotid artery were ligatured for 30 min and reperfusion for 15 min to make transient cerebral ischemia model; superoxide dismutase (SOD) and malonaldehyde (MDA) content were determined; section of brain tissue was homogenated, Na⁺-K⁺-adenosine triphosphatase (ATPase), Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP, Ca²⁺-ATPase activity of brain homogenate were measured, part of brain tissue was calculated after weighing for brain water content. **Result:** Naomai Shukang capsule could enhance Na⁺-K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-Mg²⁺-ATP, Ca²⁺-ATPase activity in brain, and decrease MDA content, increase SOD activity, brain edema was relieve induced by cerebral ischemia. **Conclusion:** Naomai Shukang capsule can improve ATP energy of brain, scaveng oxygen free radicals, relieve cerebral edema, protect brain cells, reduce brain structure and function damage.

[Key words] Naomai Shukang capsule; transient cerebral ischemia; energy metabolism; oxidation resistance; cerebral edema

[收稿日期] 20120208(006)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项项目(2009ZX09103-324); 河南省重大科技攻关项目(0422031000)

[第一作者] 白明, 副教授, 硕士生导师, 从事方药中药药理学研究, Tel:0377-65962546, E-mail: baiming666@126.com

[通讯作者] * 苗明三, 教授, 医学博士, 从事药理学的教学与科研, Tel:0377-65962546, E-mail: miaomingsan@126.com

短暂性脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)是指在脑血管病损的基础上多因素导致的脑局部短暂性血流受阻或中断,产生一过性局限性神经系统症状和体征。TIA是缺血性中风的临床早期表现,与祖国医学文献中记载的“小中风”,“中风先兆”等极为相似。中医药防治TIA损伤的作用机制主要是通过改善脑循环与能量代谢,降低兴奋性神经递质毒性作用和纠正神经递质的异常,阻断自由基连锁反应与抑制脂质过氧化反应,降低细胞内钙离子超载等^[1]。

脑脉舒康胶囊主要由西洋参、山楂、五味子、葛根、何首乌组成,具有益气化痰、活血通络、健脑安神之功。可以抗氧化,清除自由基,抑制过氧化脂质形成,改善脑细胞能量代谢障碍,减少血栓形成,防止TIA的再发生,促进脑损伤的恢复^[1]。本课题通过对小鼠双侧颈总动脉结扎再灌造成短暂性脑缺血发作TIA小鼠模型,探索脑脉舒康胶囊对短暂性脑缺血发作造成脑损伤的拮抗作用。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雌雄各半,体重19~21 g,河南医学动物实验中心提供,许可证号豫医动管(证)字410113。

1.2 药物 脑脉舒康胶囊(西洋参、山楂、五味子、葛根、何首乌),河南中医学院第一附属医院制剂科,批号010908;复方血栓通,广州众生制药厂,批号031129;尼莫地平,山东新华制药股份有限公司,批号0307118。

1.3 试剂 肝素钠(上海生物化学试剂公司,批号20020509),柠檬酸三钠(天津市四通化工厂,批号20031025),生理盐水(郑州化学药业有限公司,批号030809),三磷酸腺苷(ATP)检测试剂盒(批号20040311),超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(批号030912),丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号030912),以上均购自南京建成生物工程研究所。

1.4 仪器 75-2分光光度计(上海第三分析仪器厂),玻璃匀浆器(上海玻璃仪器厂),恒温水浴锅(北京市光明仪器厂),离心机(北京医疗仪器修理厂)。

2 方法

2.1 小鼠短暂性脑缺血模型制作及给药 昆明种小鼠70只,雌雄各半,体重19~21 g,随机分为7组,分别ig高、中、低剂量脑脉舒康胶囊1.8,0.9,

0.45 g·kg⁻¹,配成浓度为90,45,22.5 g·L⁻¹;尼莫地平0.03 g·kg⁻¹,配成1.5 g·L⁻¹;复方血栓通1.125 g·kg⁻¹,配成56.25 g·L⁻¹;及ig同体积生理盐水(20 mL·kg⁻¹)的手术组和假手术组。每天给药1次,连续ig给药7 d,于第8天给药后1 h,禁食10 h后,4%水合氯醛10 mL·kg⁻¹ ip麻醉,固定,作颈部正中切口,分离双侧颈总动脉,动脉下各置一条合适长度的手术线,把直径约为0.3 mm的针灸针与血管一起结扎,10 min后轻轻抽出针灸针,完成再灌注,其中空白组作假手术处理,即除了不结扎双侧颈总动脉外,其他操作同造模各组。再灌15 min后进行处理。

2.2 指标检测 灌注结束后,小鼠眼球取血,3 000 r·min⁻¹,离心10~15 min,取血清按试剂盒说明操作分别测定SOD,MDA;快速取脑,取出的脑矢正中缝切开,一半作冠状切片,称重后放于80℃恒温箱中,24 h后开始称重,待恒重后计算脑含水量。脑含水量=(脑湿重-脑干重)/脑湿重×100%。另一半脑称重,生理盐水匀浆,制成2%的脑匀浆,按试剂盒说明操作分别测定Na⁺-K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase和Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase活力。

2.3 统计学方法 数据分析用SPSS 10.0统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对脑能量代谢的影响 结果与模型组比,假手术组,脑脉舒康胶囊中、低剂量组,尼莫地平组和复方血栓通组各组ATP活性的变化差异显著($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。表明脑脉舒康胶囊对小鼠短暂性脑缺血的各ATP活性有改善作用,对脑缺血小鼠能量代谢障碍有拮抗作用。见表1。

3.2 对脑组织中抗氧化能力影响 与模型组比,假手术组,脑脉舒康胶囊高、中、低剂量组,尼莫地平组和复方血栓通组SOD活性和MDA含量的变化差异显著($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。脑脉舒康胶囊能够提高对小鼠短暂性脑缺血模型SOD活性,降低MDA含量。见表2。

3.3 对脑水肿的影响 脑脉舒康胶囊除小剂量组外,与模型组比,各组脑含水量降低具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明脑脉舒康胶囊有预防小鼠短暂性脑缺血模型发生脑水肿的作用。见表3。

表 1 脑脉舒康胶囊对各组小鼠模型脑细胞能量代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

$/\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$	$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$	$\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$	$\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$
模型	-	16.44 ± 2.83	13.28 ± 1.49	17.20 ± 3.52	15.37 ± 3.19
假手术	-	29.16 ± 3.35 ²⁾	25.29 ± 4.30 ²⁾	29.05 ± 4.15 ²⁾	26.77 ± 5.79 ²⁾
脑脉舒康胶	1.8	21.09 ± 2.51	20.62 ± 13.41	21.92 ± 2.71 ¹⁾	21.83 ± 3.47 ¹⁾
	0.9	26.86 ± 10.65 ²⁾	27.02 ± 9.32 ²⁾	24.56 ± 3.43 ²⁾	22.85 ± 5.91 ²⁾
	0.45	24.24 ± 2.85 ¹⁾	23.06 ± 10.16 ¹⁾	24.34 ± 2.96 ²⁾	23.50 ± 4.38 ²⁾
尼莫地平	0.03	24.37 ± 3.00 ¹⁾	18.84 ± 2.02 ¹⁾	23.07 ± 3.86 ²⁾	21.94 ± 3.18 ¹⁾
血栓通	1.125	26.79 ± 4.41 ²⁾	26.55 ± 8.92 ²⁾	26.36 ± 2.81 ²⁾	27.78 ± 4.56 ²⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

表 2 脑脉舒康胶囊对各组小鼠模型抗氧化能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	MDA/ $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$
模型	-	250.70 ± 11.54	3.64 ± 0.31
假手术	-	301.71 ± 27.97 ²⁾	3.24 ± 0.18 ²⁾
脑脉舒康胶	1.8	266.23 ± 27.97 ¹⁾	3.55 ± 0.20
	0.9	287.90 ± 10.85 ²⁾	3.31 ± 0.10 ²⁾
	0.45	276.53 ± 14.15 ²⁾	3.45 ± 0.13 ¹⁾
尼莫地平	0.03	268.00 ± 8.10 ¹⁾	3.42 ± 0.12 ²⁾
血栓通	1.125	281.79 ± 4.58 ²⁾	3.38 ± 0.04 ²⁾

表 3 脑脉舒康胶囊对小鼠短暂性脑缺血模型脑含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脑含水量/%
模型	-	83.32 ± 3.06
假手术	-	79.92 ± 2.52 ²⁾
脑脉舒康胶	1.8	81.02 ± 1.46 ¹⁾
	0.9	80.67 ± 2.10 ¹⁾
	0.45	81.05 ± 3.45
尼莫地平	0.03	80.90 ± 2.15 ²⁾
血栓通	1.125	80.81 ± 2.17 ²⁾

4 讨论

研究表明,脑神经功能与脑能量代谢密切相关,局部的脑缺血障碍,会使脑缺血、缺氧,引起脑组织损伤^[2]。脑细胞能量代谢障碍是 TIA 缺血性脑损伤的主要原因之一^[3]。脑缺血发生后首先影响能量代谢,继而引发乳酸堆积, Ca^{2+} 超载^[4] 等病理生理变化,导致脑功能的严重损伤^[5]。因此,逆转或改善脑缺血后的能量代谢异常是药物治疗的主要目标之一。本实验结果表明,脑脉舒康胶囊能对抗 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 等活性降低,维持 ATP 酶的活性在较高的水平,减少乳酸在脑缺血

组织中的堆积,减轻其对脑组织的损害,这对防止脑水肿、酸中毒等脑功能紊乱,都具有十分重要的意义。

缺血过程中细胞代谢产生的自由基及其脂过氧化物参与了脑缺血后神经细胞损害。MDA 是自由基损伤细胞形成的脂质过氧化物,可反映细胞氧化损伤的程度, SOD 是最有效的抗氧化剂和自由基清除剂,可通过歧化方式清除超氧阴离子自由基^[6]。本实验结果中,脑脉舒康胶囊组动物脑组织 MDA 含量减少, SOD 的活性提高,说明该药可以提高机体防御机能,增强对自由基的清除能力,从而抑制脂质过氧化损害,以减轻脑损伤。TIA 模型组动物血清 MDA 含量显著升高, SOD 活力明显下降。其原因可能是因为脑缺血时, ATP 减少,膜泵功能障碍,再灌注时,大量氧分子随血液进入缺血组织,产生大量的氧自由基,过多消耗抗氧化剂,使 SOD 活力失代偿性下降,从而启动自由基连锁反应,作用于膜磷脂、蛋白质、核酸、等细胞成分,造成神经细胞结构和功能的破坏。因此,MDA 和 SOD 的变化可能是 TIA 发生和发展的一个重要生物化学原因。

脑水肿是脑缺血发生过程中重要的病理生理变化,是反映脑缺血的重要指标^[7]。严重的脑水肿危及脑微循环并加重缺血过程,使神经细胞变性、坏死,阻碍重新灌注后血流的恢复,使初期仅有功能损害的脑组织转变为梗死,因此脑水肿的严重程度和持续时间直接影响着脑缺血的预后。本实验结果提示,脑脉舒康胶囊可以明显减轻模型小鼠脑细胞水肿发生程度,可能与其改善血液供应,减轻脑组织的功能损伤有关。

综上所述,脑脉舒康胶囊能够改善脑缺血再灌注小鼠的能量代谢障碍,清除氧自由基,减轻脑水肿,对预防和治疗小鼠短暂性脑缺血的发作有良好的作用,我们将在以后的研究中进一步探讨其作用机制。

活血解毒方对糖尿病大鼠视网膜病变 内皮素-1 表达的影响

姚青^{1,2}, 韩静¹, 黄黎明¹, 余俊达¹, 王伟^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 宁夏医科大学, 银川 750004)

[摘要] 目的:探讨活血解毒方对糖尿病大鼠视网膜病变血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)和内皮素-1(endothelin-1, ET-1)的影响。方法:采用链脲佐菌素(65 mg·kg⁻¹)1次性 ip 的方法建立糖尿病大鼠模型,随机分为模型组和活血解毒方高、中、低剂量组(15.4, 7.70, 3.85 g·kg⁻¹)及导升明组(0.167 g·kg⁻¹), ig 给药,20 周后处死,取血清检测 AngⅡ和 ET-1 的含量。摘除眼球应用免疫组织化学标记抗生蛋白连菌素法(LSAB)法检测大鼠视网膜全层 ET-1 的表达。取大鼠视网膜组织,采用实时聚合酶链反应 Real-time PCR 检测 ET-1 mRNA 的表达。结果:糖尿病模型组大鼠血清 AngⅡ和 ET-1 含量分别为(417.95 ± 156.11), (330.12 ± 81.59) ng·L⁻¹, 比正常组升高(P < 0.01)。糖尿病模型组大鼠视网膜 LSAB 法标记染色病理切片中 ET-1 蛋白的表达升高,积分吸光度(IA)为(53.45 ± 15.67),与正常组相比(12.76 ± 3.27)显著升高(P < 0.01),活血解毒方各剂量组及导升明组与模型组相比显著降低(P < 0.01)。模型组 ET-1 mRNA 的表达显著高于正常组,活血解毒方各剂量组的表达明显低于模型组,与模型组相比有显著性差异。结论:活血解毒方可能通过降低视网膜 ET-1 的表达,延缓糖尿病大鼠视网膜病变的发展。

[关键词] 活血解毒方; 糖尿病视网膜病变; 内皮素-1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0169-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120813.1129.050.html>

[网络出版时间] 2012-08-13 11:29

Effect of Huoxue Jiedu Formula on Endothelin-1 in Retina of Diabetic Rats

YAO Qing^{1,2}, HAN Jing¹, HUANG Li-ming¹, YU Jun-da¹, WANG Wei^{1*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Huoxue Jiedu formula on angiotensinⅡ(AngⅡ) and

[收稿日期] 20120307(011)

[基金项目] 国家重大新药创制课题(2009ZX09103-320);科技部国际科技合作项目(2008DFA30610)

[第一作者] 姚青,博士研究生在读,讲师,从事中药药理学研究,Tel:18910378726,E-mail:yaoqing726@163.com

[通讯作者] *王伟,博士,教授,博士生导师,从事中药药理学研究,Tel:010-64286283,E-mail:wangwei26960@126.com

[参考文献]

- [1] 王灿. 脑脉舒康胶囊对短暂性脑缺血动物模型的影响[D]. 郑州:河南中医学院,2005.
- [2] 胡国恒,祝美珍. 活血化瘀法防治脑缺血损伤的理论探讨[J]. 中华中医药杂志,2008,23(6):513.
- [3] 蔡紫峰,杨卓. 脑缺血损伤的研究进展[J]. 继续医学教育,2004,18(4):53.
- [4] McConkey D J, Nutt L K. Calcium flux measurements in apoptosis[J]. Methods Cell Biol,2001,66:229.

- [5] 刘明,孙建宁,董世芬,等. 大鼠脑缺血不同时间脑能量代谢的变化研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):218.
- [6] 王志琪,王晓洪,陈立峰,等. 加味芎归汤对大鼠全脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):206.
- [7] 王垣芳,孙富家,刘同慎. 鸭跖草水提取物对小鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床,2011,27(3):67.

[责任编辑 聂淑琴]