

脑脉舒康胶囊对大鼠血瘀合并脑缺血模型能量代谢的影响

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大鼠血瘀合并脑缺血模型能量代谢的影响。**方法:**采用注射地塞米松复制血瘀模型,模型大鼠灌服脑脉舒康胶囊 0.9, 0.6, 0.3 g·kg⁻¹连续 10 d,于第 11 天给药后 1 h,结扎大鼠两侧颈总动脉 30 min,制造脑缺血模型;取大鼠脑组织匀浆,检测脑匀浆液 Na⁺ K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase 活力、乳酸(LD)含量、乳酸脱氢酶(LDH)活力。**结果:**脑脉舒康胶囊 3 个剂量组均可以提高模型大鼠脑组织 ATP 活力($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),高剂量和中剂量组可以降低 LD 含量($P < 0.01$),中剂量和低剂量组可以提高 LDH 活力($P < 0.01$)。**结论:**脑脉舒康胶囊对大鼠血瘀合并脑缺血模型能量代谢有改善作用,减少乳酸堆积,可以减轻组织结构及功能损伤。

[关键词] 脑脉舒康胶囊; 血瘀; 脑缺血; 能量代谢

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0209-03

Effects of Naomai Shukang Capsule on Rat Stasis Model Combined Cerebral Ischemia in the Energy Metabolism

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

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Naomai Shukang capsule on energy metabolism in rat blood stasis with cerebral ischemia models. **Method:** Blood stasis model was replicated with injection of dexamethasone. Model rats were administrated orally with Naomai Shukang capsule according to dosages of 0.9, 0.6, 0.3 g·kg⁻¹ for 10 d. After the rats were administrated with drugs for 1 h on the 11th day, Cerebral ischemia models were made by ligating both sides of the common carotid arteries of rats for 30 min. Na⁺-K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase activity, lactic acid (LD) content and lactate dehydrogenase (LDH) activity of brain homogenates were measured. **Result:** Three doses of Naomai Shukang capsule can improve the ATP activities ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The high and medium dose can reduce the LD content ($P < 0.01$). The medium and low dose can increase the LDH activity ($P < 0.01$). **Conclusion:** Naomai Shukang capsule can improve brain energy metabolism in rat blood stasis with cerebral ischemia models and reduce lactic acid accumulation and damage to brain tissue.

[Key words] Naomai Shukang capsule; blood stasis; cerebral ischemia; energy metabolism

脑脉舒康胶囊是在临床经验方基础上结合现代最新研究成果研制而成的中药复方制剂,由西洋参、五味子、山楂、葛根、地黄、何首乌等中药组成。临床研究表明,脑脉舒康胶囊对脑缺血发作疗效较好。

脑缺血疾病与脑能量代谢密切相关,深入研究脑能量代谢及其调节机制对于揭示脑缺血发病机制和提高临床疗效具有重要意义^[1]。作者在探讨肌注地塞米松复制大鼠瘀血模型^[2]的基础上,观察脑脉舒

[收稿日期] 20111228(001)

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

[第一作者] 白明, 硕士, 副教授, 从事中药药理学研究工作, Tel:0377-65962546, E-mail:baiming666@126.com

[通讯作者] * 苗明三, 博士, 教授, 从事中药药理学研究工作, Tel:0377-65962546, E-mail:miaomingsan@126.com

康胶囊对血瘀性脑缺血模型大鼠脑组织能量代谢的影响,为探讨脑脉舒康胶囊的脑保护机制提供依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,雄性,体重 180 ~ 200 g,河南医学动物实验中心提供,许可证号豫医动管(证)字 410116。

1.2 药物与试剂 脑脉舒康胶囊,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;地塞米松磷酸钠注射液,江苏涟水制药,批号 0302273;ATP 检测试剂盒,批号 20040311;LD 检测试剂盒,批号 20030928;LDH 测定试剂盒,批号 20030716;均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 75-2 分光光度计(上海第三分析仪器厂);LD5-10B 离心机(北京医用离心机厂)。

2 方法

2.1 大鼠血瘀合并脑缺血模型制作^[2] 雄性 Wistar 大鼠适应性饲养至体重 180 ~ 200 g,随机分为 8 组,每组 10 只。其中 7 组造血瘀模型,另有一组做空白对照组。第 1 天开始,每日于大鼠大腿内侧肌肉注射地塞米松溶液 0.2 mg·kg⁻¹ 制作血瘀模型,空白对照组仅注射同体积生理盐水。连续给药

10 d。造模组分别灌服高、中、低剂量脑脉舒康胶囊(0.9,0.6,0.3 g·kg⁻¹)。分别相当于尼莫地平混悬液(0.02 g·kg⁻¹),复方血栓通(0.9 g·kg⁻¹);空白组(不造血瘀模型但作手术)、手术组(造血瘀模型也作手术)及假手术组(造血瘀但不作手术)灌服同体积生理盐水,每天给药 1 次。于第 11 天给药后 1 h(禁食 10 h),10% 水合氯醛 0.35 mL/10 g 腹腔注射麻醉,作颈部正中切口,钝性分离双侧颈总动脉并结扎 30 min 后处死(空白对照组只分离双侧颈总动脉,不做结扎)。

2.2 指标检测 大鼠处死后,快速取脑,取部分脑组织称重,加 9 倍生理盐水匀浆,制成 10% 的脑匀浆,用时再稀释成 2% 的脑匀浆,按试剂盒说明分别测 Na⁺ K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase 活力、LD 含量、LDH 活力。

2.3 统计学方法 采用 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 脑脉舒康胶囊对脑细胞 Na⁺ K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase 活力的影响 取大鼠脑匀浆按试剂盒说明操作测定 Na⁺ K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase 活力($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$),结果见表 1。

表 1 脑脉舒康胶囊对大鼠脑细胞 ATP 活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

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

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Na ⁺ K ⁺ -ATP	Ca ²⁺ -ATP	Mg ²⁺ -ATP
空白	-	7.625 ± 0.298	7.250 ± 0.367	7.368 ± 0.163
手术	-	7.539 ± 0.321	7.310 ± 0.405	7.616 ± 0.243
假手术	-	10.122 ± 0.618 ²⁾	9.965 ± 0.257 ²⁾	10.140 ± 0.366 ²⁾
脑脉舒康	0.90	8.658 ± 0.508 ²⁾	8.343 ± 0.393 ¹⁾	8.726 ± 0.543 ¹⁾
	0.60	10.653 ± 0.463 ²⁾	10.154 ± 0.440 ²⁾	10.518 ± 0.621 ²⁾
	0.30	8.976 ± 0.399 ²⁾	8.456 ± 0.303 ²⁾	9.285 ± 0.400 ²⁾
尼莫地平	0.02	8.626 ± 0.332 ¹⁾	8.342 ± 0.252 ¹⁾	9.262 ± 0.347 ²⁾
血栓通	0.90	10.614 ± 0.677 ¹⁾	9.996 ± 0.467 ²⁾	10.316 ± 0.653 ²⁾

注:与手术组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

从表 1 可以看出,假手术组的 Na⁺ K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase 的活力高于手术组($P < 0.01$),说明模型制作比较成功,提示缺血对能量代谢的影响远远高于血瘀,缺血是造成能量代谢低下的重要因素;与手术组比,脑脉舒康胶囊高、中、低剂量组、尼莫地平组和复方血栓通组能够提高模型大鼠 Na⁺ K⁺-ATPase 含量($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);对提高模型大鼠 Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase 的活力作用同样明显($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。但是脑脉舒康胶囊高、中、低剂量组对各类 ATP 能量代谢作用不呈现剂量依赖关系。

3.2 脑脉舒康胶囊对脑细胞 LD 含量、LDH 活力的影响 取大鼠脑匀浆,按试剂盒说明操作测定 LD 含量、LDH 活力,结果见表 2。

从表 2 可以看出,与手术组比,假手术组的 LD 含量明显较低($P < 0.01$),LDH 活力高于手术组($P < 0.01$);与手术组比,脑脉舒康胶囊高、中剂量组、尼莫地平组和复方血栓通组可以降低模型大鼠的 LD 含量($P < 0.01$),中、低剂量组、尼莫地平组和复方血栓通组可以明显提高 LDH 的活力($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。脑脉舒康胶囊高、中、低剂量组对 LD 及 LDH 的改变没有明显量效关系。

表2 脑脉舒康胶囊对大鼠脑细胞LD含量、LDH活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	LD/mmol·g ⁻¹	LDH/U·g ⁻¹
空白	-	0.479 ± 0.072	13 775.797 ± 2 964.342
手术	-	0.505 ± 0.038	12 904.337 ± 2 621.571
假手术	-	0.405 ± 0.013 ²⁾	17 486.631 ± 3 280.589 ²⁾
脑脉舒康	0.90	0.445 ± 0.023 ²⁾	14 123.588 ± 7 118.716
	0.60	0.436 ± 0.020 ²⁾	16 940.978 ± 1 960.752 ²⁾
	0.30	0.460 ± 0.052 ²⁾	16 601.847 ± 6 352.831 ²⁾
尼莫地平	0.02	0.443 ± 0.041 ²⁾	15 186.333 ± 1 204.273 ¹⁾
血栓通	0.90	0.441 ± 0.026 ¹⁾	15 194.511 ± 2 261.922 ¹⁾

4 讨论

大鼠血瘀性脑缺血模型是在血瘀的基础上建立的,模型成功率较高,动物死亡较少,缺血程度也较轻,符合缺血性脑血管病的发病机制,模型适合应用于中医中药防治缺血性脑血管疾病的研究。缺血性脑血管疾病在脑血管病中所占比例相当大,许多医家认为血瘀是造成缺血性脑血管病的主要因素^[3]。大量研究表明,能量代谢障碍是脑缺血损伤发病的基础。脑细胞能量代谢障碍是缺血性脑损伤的主要原因之一,脑缺血发生后首先影响能量代谢,导致ATP的合成减少,从而导致Na⁺K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase的活性下降,直接引起神经元细胞线粒体本身的损伤^[4],最终引起细胞变形、肿胀,而导致神经元细胞的死亡^[5]。已有研究表明,脑缺血造成LD的大量堆积,激活神经细胞的Na⁺-H⁺交换,造成细胞内Na⁺增多而引起细胞肿胀^[6]。LDH是标志脑血管疾病时脑组织损害最敏感的酶之一,在缺血性脑损伤组织中,受损脑细胞释放出LDH^[7],在释放到细胞间隙后,再扩散入脑脊液,通过受损的血-脑屏障进入血液^[8]。因此,观察Na⁺K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase, LD, LDH的变化对于预防和治疗缺血性脑血管疾病具有重要的意义。

研究表明,脑脉舒康胶囊可显著提高脑匀浆

Na⁺K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase活性,能维持ATP酶的活性在较高的水平,使脑组织能量代谢升高,脑神经细胞得到明显恢复。实验结果表明,脑脉舒康胶囊减少LD堆积,增强LDH活性。乳酸堆积亦与乳酸脱氢酶活性有关,乳酸脱氢酶活性增加可减轻乳酸堆积,脑脉舒康胶囊可增加乳酸脱氢酶活性,这可能是其减少乳酸堆积的机制之一。提示脑脉舒康胶囊可明显改善大鼠血瘀性脑缺血模型脑缺血状况,对于防止脑水肿、酸中毒等脑功能紊乱,都具有十分重要的意义,为其在治疗缺血性脑血管疾病方面的应用提供了重要的实验依据。

[参考文献]

- [1] 方永奇,莫镇涛.脑能量代谢调节机制研究新进展[J].广州中医药大学学报,2011,28(3):328.
- [2] 苗明三,程再兴,宰炎冰,等.大鼠血瘀合并脑缺血模型的建立[J].中药新药与临床药理,2007,18(1):1.
- [3] 薛慎五.缺血性脑血管病的研究进展[M].郑州:黄河出版社,2002:89.
- [4] 张秋霞,赵晖.侯氏黑散对大鼠大脑中动脉闭塞模型缺血脑组织Na⁺-K⁺-ATP酶及一氧化氮合酶活性的影响[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(7):31
- [5] De Cristóbal J, Cárdenas A, Lizasoain I. Inhibition of glutamate release via recovery of ATP levels accounts for a neuroprotective effect of aspirin in rat cortical neurons exposed to oxygen-glucose deprivation[J]. Stroke, 2002, 33(1):261.
- [6] 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.
- [7] 郭翠平,董秀兰,闵连秋.缺血预处理对局灶性脑缺血-再灌注大鼠乳酸脱氢酶和肌酸激酶的影响[J].中国脑血管病杂志,2007,4(8):374.
- [8] 邱丽颖,杜斌,范红斌.阿司匹林对脑缺血-再灌注大鼠脑能量代谢的影响[J].中国脑血管病杂志,2008,5(9):403.

[责任编辑 古云侠]