

参蛭疏血滴丸对大鼠局灶性脑缺血的保护作用

张晓双^{1*}, 赵林涛², 宋延平², 申昕¹

(1. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西省中医药研究院, 西安 710003)

[摘要] **目的:**考察参蛭疏血滴丸对大鼠局灶性脑缺血模型的影响。**方法:**采用线栓法阻塞大鼠中动脉制备大鼠局灶性脑缺血模型,将造模成功后48只大鼠随机分为假手术组、模型对照组、阳性对照组(血塞通片 $0.04\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和参蛭疏血滴丸高、中、低剂量组($0.936, 0.468, 0.234\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组8只,各组均ig给药,1次/d,给药体积 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,连续给药14 d。测定神经行为学评分、脑梗死面积比及血清超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量。**结果:**与模型对照组比较,参蛭疏血滴丸高、中剂量组、阳性对照组可降低大鼠神经行为学评分,缩小脑梗死面积比、SOD活性明显升高($P < 0.05, P < 0.01$),参蛭疏血滴丸高、中、低剂量组、阳性对照组MDA含量明显降低, ($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**参蛭疏血滴丸对大鼠局灶性脑缺血有保护作用,其作用机制可能与抗自由基有关。

[关键词] 参蛭疏血滴丸;局灶性脑缺血;超氧化物歧化酶;丙二醛

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0173-03

Protective Effect of Shenzhi Shuxue Drop Pills on Focal Cerebral Ischemia in Rats

ZHANG Xiao-shuang^{1*}, ZHAO Lin-tao², SONG Yan-ping², SHEN Xin¹

(1. Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

2. Traditional Chinese Medicine Research Institute of Shaanxi Province, Xi'an 710003, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of Shenzhi Shuxue drop pills on focal cerebral ischemia model in rats. **Method:** The local cerebral ischemia in rat was made by middle cerebral artery occlusion, Successful model 48 rats were randomly divided into sham operation group, model control group, positive group (Xuesaitong tablets $0.04\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Shenzhi Shuxue drop pills high, medium and low dose group ($0.936, 0.468, 0.234\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), in each group 8 rats. Rats were given above medicines of $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ intragastrically once a day for 14 days. Neurological score, infarct size ratio and superoxide dismutase (SOD) activity, malondialdehyde (MDA) content in inserum were observed. **Result:** Shenzhi Shuxue drop pills high, medium dose group and positive group could decrease neural behavioral score, reduce infarct area ratio, increase the activity of SOD content in serum ($P < 0.05, P < 0.01$). Shenzhi Shuxue drop pills high, medium and low dose group and positive group could decrease MDA content in serum ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion:** Shenzhi Shuxue drop pills has protective effect on focal cerebral ischemia in rats, and its mechanism may be related to scavenging of free radical.

[Key words] Shenzhi Shuxue drop pills; focal cerebral ischemia; superoxide dismutase; malondialdehyde

参蛭疏血滴丸是依据中医理论及临床经验、针对中风恢复期(中医辨证属气虚血瘀证)制成的纯中药制剂,具有益气活血、化瘀通络之功效,用于中风所致半身不遂、肢体麻木、口眼歪斜、言语蹇涩等。

本研究参蛭疏血滴丸对大鼠局灶性脑缺血保护作用,为脑血管疾病临床用药提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠, SPF 级, 体重 $250 \sim 280\text{ g}$, 西安交通大学医学院实验动物中心提供, 质量许可证号 SCXK(陕)2007-001。

1.2 药物及试剂 参蛭疏血滴丸由灯盏细辛、人参、水蛭、地龙、冰片 5 味药物组成, 河南大学中药研

[收稿日期] 20110711(006)

[通讯作者] * 张晓双, 讲师, 硕士, 从事心脑血管药理研究, Tel:13992019151, E-mail: sxzyxyzs@126.com

究所提供,批号 20090210,临床用量:3 次/日,1 袋/次,1.17 g/袋。血塞通片,云南维和药业股份有限公司,批号 090203。2,3,5-三苯基氯化四氮唑,国药集团化学试剂有限公司,批号 F20080416。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒,批号 20090325,南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 UV1102 紫外分光光度仪,上海天美科学仪器有限公司生产。Forma-86c ULT Ffreezer 超低温冰箱, Hhermo Electron CORPORATION 生产, ImagePro Plus 6.0 图像分析软件。

2 方法

2.1 造模^[1] 水合氯醛 350 mg·kg⁻¹ ip 麻醉,仰位固定,在无菌操作下分离出右侧颈总动脉(CCA),小心剥离附着于 CCA 上的迷走神经和肌肉,绕 CCA 穿 2 根 4 号手术线,以备结扎,沿着 CCA 向头部方向分离出颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA),绕 ECA 穿一根 4 号手术线,分别用手术线结扎 CCA 和 ECA,另有一线留于 CCA 做固定栓子线(鱼线)用。用血管夹夹闭 ICA,用眼科剪在 CCA 近心端开一小口,开口处离 ECA 和 ICA 分叉处 0.5 cm,从切口处插入前端磨成球形(栓子)的栓子线(直径 0.28 mm,距头端 18 mm 处作标记),插入深度 18 mm(所记标记基本位于 ECA 和 ICA 分叉处),此时感觉有阻力感时停止进线,这样阻塞大脑中动脉导致脑缺血,结扎固定栓子线,剪去剩余部分,消毒后,逐层缝合肌肉和皮肤。假手术组仅进行麻醉和血管分离,不插入栓子线。

2.2 分组与给药 造模成功的 48 只大鼠进行神经行为学评分,并按照评分均衡原则(8 只假手术组、40 只模型成功)分成 6 组:假手术组、模型组、参蛭疏血滴丸高、中、低剂量组(0.936, 0.468, 0.234 g·kg⁻¹,分别为临床用量的 16, 8, 4 倍)和阳性对照组(血塞通片 0.04 g·kg⁻¹,临床用量的 8 倍),每组 8 只。各组均 ig 给药,1 次/d,给药体积为 10 mL·kg⁻¹,给药 14 d,模型对照组和假手术组给予同体积蒸馏水。

2.3 指标检测

2.3.1 神经行为学评分 造模后、给药 14 d 后按评分标准^[1]进行神经行为学评分。①0 分:无神经功能缺损症状。②1 分:轻度局灶性神经功能缺损(不能完全伸展左侧前肢)。③2 分:中度局灶性神经功能缺损(行走向左侧旋转)。④3 分:重度局灶性神经功能缺损(自主运动时向左侧倾倒)。⑤4 分:不能自发行走,意识障碍。

2.3.2 TTC 染色法测定脑梗死面积^[2] 处死大鼠,取出完整脑组织,去除嗅脑和小脑,于超低温冰箱中速冻(小于 10 min),将大脑切成 2 mm 厚度的冠状切片,将脑组织切片浸入含有 2% TTC 溶液的棕色小瓶中,37 °C 恒温振荡器中孵育 30 min;其间,每隔 10 min 将组织切片翻动 1 次,使染色均匀。将脑组织切片取出后平铺于培养皿中,数码相机拍照后用 ImagePro Plus 6.0 图像分析软件计算总面积和梗死面积,并计算面积比。

$$\text{面积比} = \text{梗死面积}(\text{mm}^2) / \text{总面积}(\text{mm}^2) \times 100\%$$

2.3.3 血清中 SOD 活性和 MDA 含量 大鼠用 10% 水合氯醛钠(400 mg·kg⁻¹) ip 麻醉后颈总动脉取血,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取血清,然后按照 SOD 和 MDA 试剂盒操作说明书测定吸光度值,按照公式计算含量。

2.4 统计方法 采用 SPSS 13.0 统计软件,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 神经行为学评分 给药前(造模后),与假手术组比较,模型对照组神经行为学评分升高($P < 0.01$),说明造模成功。给药后,与模型对照组比较,参蛭疏血滴丸高、中剂量组、阳性对照组评分明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

表 1 参蛭疏血滴丸对局灶性脑缺血大鼠神经行为学评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	行为评分/分	
		给药前	给药后
假手术	-	0 ²⁾	0 ²⁾
模型对照	-	2.38 ± 0.52	2.42 ± 0.52
血塞通	0.04	2.25 ± 0.46	1.65 ± 0.74 ¹⁾
参蛭疏血滴丸	0.936	2.35 ± 0.66	1.18 ± 0.64 ²⁾
	0.468	2.38 ± 0.52	1.46 ± 0.52 ²⁾
	0.234	2.45 ± 0.46	1.95 ± 0.64

注:与模型对照组比较 ¹⁾ $P < 0.05, ^{2)}$ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

3.2 脑梗死面积 与假手术组比较,模型对照组脑梗死面积、面积比明显升高($P < 0.01$),说明模型成功;与模型对照组比较,参蛭疏血滴丸高、中剂量、阳性对照组脑梗死面积、面积比明显减少($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

3.3 血清 SOD 和 MDA 测定 与假手术组比较,模型对照组 SOD 活性明显降低($P < 0.01$),MDA 含量升高($P < 0.05$);与模型对照组比较,参蛭疏血滴丸高、中剂量、阳性对照组 SOD 活性明显升高($P < 0.05, P < 0.01$),参蛭疏血滴丸 3 个剂量组、阳性对照组 MDA 含

量明显降低, ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

表 2 参蛭疏血滴丸对局灶性脑缺血大鼠脑梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	总面积 /mm ²	梗死面积 /mm ²	面积比 /%
假手术	-	5 062.9 ± 176.2	0 ± 0 ²⁾	0 ± 0 ²⁾
模型对照	-	5 024.3 ± 156.6	1 350.9 ± 96.6	26.91 ± 2.16
血塞通	0.04	4 992.4 ± 261.4	1 196.4 ± 123.5	23.95 ± 1.97 ¹⁾
参蛭疏血滴丸	0.936	5 024.6 ± 236.9	876.4 ± 271.7 ²⁾	17.41 ± 5.15 ²⁾
	0.468	4 978.9 ± 249.9	1 027.2 ± 334.5 ¹⁾	20.56 ± 6.43 ¹⁾
	0.234	5 039.4 ± 224.1	1 322.9 ± 209.3	26.15 ± 3.13

表 3 参蛭疏血滴丸对局灶性脑缺血大鼠血清 SOD 活性和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量	SOD	MDA
	/g·kg ⁻¹	/U·mL ⁻¹	/nmol·mL ⁻¹
假手术	-	155.56 ± 5.69 ²⁾	14.33 ± 1.47 ¹⁾
模型对照	-	76.92 ± 34.88	17.43 ± 3.20
血塞通	0.04	114.51 ± 32.49 ¹⁾	13.15 ± 2.57 ¹⁾
参蛭疏血滴丸	0.936	132.42 ± 26.69 ²⁾	12.22 ± 2.92 ²⁾
	0.468	128.52 ± 33.54 ²⁾	12.92 ± 3.27 ¹⁾
	0.234	114.05 ± 38.53	13.85 ± 2.53 ¹⁾

4 讨论

参蛭疏血滴丸精选灯盏细辛、人参、水蛭、地龙、冰片 5 味药物,全方具有益气活血、化瘀通络止痛之功效。其中重用灯盏细辛,灯盏细辛能活血通络止痛、祛风散寒为君;人参大补元气、复脉固脱,使活血通络不致太过而伤正,为臣药;地龙清热息风、通行经络,水蛭功善破血逐瘀,此处以 2 味虫药作为方中佐药,取虫类搜剔络中之邪作用,通经透络,又有引药入经之义,可引方中诸药直达病所脉络。此外,虫类药味咸,其与方中活血药同用则有辛咸同用之义,盖辛则通,咸能软坚散结,使血络瘀滞得行、气机调畅、邪去正安。冰片开窍醒神,开通气血郁滞,引药直达病所为使药。全方中诸药合用,可共奏益气活血、化瘀通络止痛之功。研究表明:灯盏细辛有抗脑缺血^[3]、改善脑的微循环,减轻脑组织损伤,脑缺血再灌注神经损伤保护^[4]等作用;人参有抗缺血^[5],抗衰老,双向调节血压、改善认知能力^[6],保护脊髓神经元,降血脂等作用;水蛭有抗凝血及抗血栓^[7],降低血小板表面活性,抑制血小板聚集,降低血小板黏附性,保护脑组织^[8];地龙有抗凝血^[9],抑制血小板聚集,降压作用;冰片能改善缺血脑组织血氧供应,保护缺血的脑组织,降低脑缺血-再灌注损伤^[10],是一种有效的透皮促进剂,可促进药物透过血脑屏障。所以 5 味药物配合,可改善脑微循环,减轻脑组织损伤,抗缺血,抗凝血,抑制血小板聚集,降压的综合作用,促进药物透过血脑屏障。

MDA 是自由基攻击细胞膜不饱和脂肪酸使脂质

过氧化的产物,测定其含量可间接地反映细胞受损伤的程度;SOD 是体内清除自由基重要的酶,测定其含量可反映机体清除自由基能力的强弱。脑缺血时脂质过氧化活跃,MDA 生成增多,SOD 则因消耗而减少,因而 SOD 活性及 MDA 含量可间接反映机体清除氧自由基的能力^[11]。本研究发现,参蛭疏血滴丸可降低大鼠神经行为学评分,缩小脑梗死面积、升高血清 SOD 活性和降低 MDA 含量,揭示其可提高抗氧化酶活性,抑制自由基的产生,并抑制氧自由基引起的脂质过氧化反应,从而对脑缺血起保护作用。

[参考文献]

[1] 李金梁,高鹏翔.三黄中风康胶囊对气虚血瘀型缺血性中风大鼠的影响[J].中国中医急症,2008,17(7):959.

[2] 郭建队.醒脑通络片对气虚血瘀型脑缺血再灌注大鼠作用的实验研究[J].陕西中医学院学报,2007,30(1):46.

[3] Wang J G, Chen Q, Zeng Y M. Effects of brevis capine paraen teral solution on energymetabolism cerebral edema after cerebral is chemia-reperfusion in gerbils [J]. Chin J Clin Rehabil, 2005, 9(45): 177.

[4] 管青山,狄晴,张颖冬,等.磁共振波谱分析灯盏细辛对实验性缺血再灌注脑损伤的影响[J].中国临床康复,2004,8(25):5264.

[5] 李爱红,柯开富,吴小梅,等.人参皂苷 Rb₁, Rb₂, Rg₁对培养皮层神经细胞的抗缺血效应及其机制[J].中风与神经疾病杂志,2004,21(3):231.

[6] Zhang G, Liu A, Zhou Y, et al. Panax ginseng ginsenoside-Rg₂ protects memory impairment via anti-apoptosis in a rat model with vascular dementia [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 115(3):441.

[7] Hamon M. Mechanism of thrombosis: physiopathology of thrombin and its inhibition by modern therapies [J]. Arch Mal Coear Vaiss, 2006, 99(3):5.

[8] 李秀珍.水蛭提取液对实验性脑血肿周围组织热休克蛋白 70 与转移生长因子 1 表达的影响[J].神经病学临床杂志,2006,19(6):435.

[9] 马翰章.蚓激酶治疗急性脑梗塞的疗效与机理[J].现代临床医学生物工程学报,1998,4(2):94.

[10] 何晓静,吕庆杰,刘玉兰.冰片注射液对缺血再灌注大鼠脑内炎症反应的影响[J].华西药理学杂志,2006,21(6):523.

[11] 洪森荣,尹明华.银杏叶提取物对缺血/再灌注小鼠脑细胞凋亡的保护作用[J].中草药,2007,38(12):1864.

[责任编辑 聂淑琴]