

三化汤对脑缺血再灌注大鼠神经功能、 脑含水量及脑组织病理改变的影响

樊凯芳¹, 唐迎雪^{2*}, 李晓亮³

(1. 山西中医学院, 太原 030024; 2. 山东中医药大学,
济南 250355; 3. 山西中医学院第二中医院, 太原 030024)

[摘要] **目的:**观察三化汤对脑缺血再灌注大鼠神经功能、脑含水量及脑组织病理形态学的影响。**方法:**将大鼠随机分为假手术组、模型组、三化汤低、高剂量组(7.2, 14.4 g·kg⁻¹)ig、尼莫地平组(8.1 mg·kg⁻¹)ig, 每日 1 次, 连续 7 d, 给药 1 周后采用线栓法制备脑缺血再灌注大鼠模型。缺血 2 h 再灌注 24 h 后按照 Zealanga 5 级法对大鼠神经受损症状评分; 并取脑称量脑湿重和脑干重, 计算脑含水量; HE 染色分析脑组织病理学改变。**结果:**与假手术组比, 模型组大鼠神经受损症状严重($P < 0.01$), 脑含水量明显升高($P < 0.01$), 光镜见神经细胞明显肿胀、变性、坏死、炎细胞浸润及血管扩张等病理改变; 与模型组比, 三化汤高剂量组大鼠神经受损症状明显减轻($P < 0.05$), 大鼠脑组织含水量明显降低($P < 0.01$)。**结论:**三化汤对大鼠脑缺血再灌注损伤具有一定的保护作用。

[关键词] 三化汤; 脑缺血再灌注; 神经功能; 脑含水量; 脑组织病理

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0159-04

The Effect of Sanhua Decoction on Neurological Function, Brain Water Content and Brain Morphology of Cerebral Ischemia-reperfusion in Rat

FAN Kai-fang¹, TANG Ying-xue^{2*}, LI Xiao-liang³

(1. Shanxi College of Traditional Chinese Medicine(TCM), Taiyuan 030024, China;

2. Shandong university of TCM, Jinan 250355, China;

3. The Second Affiliated Hospital of Shanxi College of TCM, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:**To observe the effect of sanhuatang on neurological function, brain edema and brain morphology of cerebral ischemia-reperfusion in rat. **Method:**The rats were randomly divided in sham operation group, model group, low dose group of sanhuatang, large dose group of sanhuatang and nimodipine group every group were medicated once each day and lasted for 7 days. The cerebral ischemia reperfusion model was established by blocking middle cerebral artery of rat with suture method prepare. The score of nervous symptoms in rats was made by Zealanga 5 class. The brain water content was calculated through weighing anhydrous brain and hydrous brain. The pathological changes of brain tissue was analyzed by HE staining. **Result:** In model group the neurological symptoms were severer than in the sham group($P < 0.01$), brain water content was significantly higher($P < 0.01$), swelling, denaturation, necrosis, inflammatory cell infiltration and vasodilator od never cells were observed. In large dose group neurological symptoms of rats was significantly relieved ($P < 0.05$), brain water content were significantly reduced ($P < 0.01$). **Conclusion:** Sanhua decocotiom can protect injure of cerebral ischemia

[收稿日期] 20110627(013)

[基金项目] 山东省教育厅资助课题(J06L18)

[第一作者] 樊凯芳, 博士, 主要从事中药及复方的理论和应用研究, Tel:18935153825, E-mail: fankaiyang108@163.com

[通讯作者] * 唐迎雪, E-mail: doctoryxt@sina.com

reperfusion in rats.

[**Key words**] Sanhua decoction; cerebral ischemia-reperfusion; neurological function, brain water content; brain tissue morphology

脑缺血再灌注后引起的脑损害不仅见到神经功能行为异常,而且存在脑水肿、脑组织形态结构改变等病理变化,是研究脑血管病发病机制的首要问题。三化汤出自《素问病机气宜保命集·中风论第十》,为金元医家刘完素所创,由大黄、枳实、厚朴、羌活组成,用于中风外有六经之形证,内有便溺之阻格,是治疗中风病之名方。本文通过实验观察其对脑缺血再灌注大鼠神经功能行为、脑组织含水量、脑组织病理改变的影响,以探讨三化汤治疗急性中风病的有效性和作用机制,为临床应用三化汤治疗急性中风提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 90 只 SD 雄性大鼠,体重 250 ~ 300 g,由山东中医药大学动物实验中心提供,符合普通实验动物质量标准。生产许可证号 SCXK(鲁)2005-0015。使用许可证号 SYXK(鲁)20050043。

1.2 药物

1.2.1 中药 三化汤由大黄、枳实、厚朴、羌活各等分组成。各药均购于山东中医药大学门诊部,经山东中医药大学中药鉴定教研室李峰教授鉴定,符合《中国药典》2010 年药品标准。使用前按传统方法做成水煎液,并浓缩至含生药 0.72, 1.44 g·mL⁻¹。

1.2.2 阳性对照药 尼莫地平,山东健康药业有限公司,生产批号 0501068。使用前用生理盐水溶解成浓度为 0.81 g·L⁻¹ 的混悬液。

1.3 仪器 直径 0.22 ~ 0.28 mm 进口尼龙鱼线(日本第一株式会社),微血管夹(苏州医疗器械厂),JA5003 型电子分析天平(上海精科天平厂),GZY-DH 型电热恒温干燥箱(宁波医疗器械二厂),AO 切片机(美国光学仪器公司),CS-III 生物组织烤片机(湖北省医用电子仪器厂),BM-V 生物组织包埋机(湖北省孝感市电子仪器厂),Olympus 显微镜(日本)。

1.4 试剂 生理盐水(山东齐都药业有限公司,批号 1D07091609);10% 水合氯醛(山东济南千佛山医院,批号 080408);多聚甲醛(上海太平洋化工集团公司溶剂厂,批号 080708);苏木精(上海化学试剂公司进口分装,批号 F20000609);中性树胶(上海标

本模型厂)。

2 方法

2.1 分组 实验动物按随机数字表分为假手术组、模型组、三化汤低、高剂量组、尼莫地平组,每组 18 只。

2.2 给药方法 动物常规饲养 3 d 后进行预防性给药,药物剂量按人、鼠体表面积折算等效比率计量表^[1],计算出大鼠的等效剂量。三化汤低、高剂量组(7.2, 14.4 g·kg⁻¹) ig;尼莫地平组给予等效剂量 8.1 mg·kg⁻¹ ig;各给药组 ig 体积均为 10 mL·kg⁻¹,假手术组、模型组大鼠给予 10 mL·kg⁻¹ ig 生理盐水。各组均为每日 1 次,连续 7 d,给药 1 周后进行大鼠脑缺血再灌注模型的建立。

2.3 模型建立与评估

2.3.1 大鼠脑缺血再灌注模型建立 参照 ZeaLonga 等^[2] 人的线栓法。将直径约 0.22 ~ 0.28 mm 的尼龙线沿右侧颈总动脉(CCA)分叉处插入颈内动脉(ICA)约 17 ~ 18 mm,阻断大鼠大脑中动脉(MCA),形成 MCA 供血中断,缺血 2 h 后拔出线栓约 15 mm 形成大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型(简称 MCAO),再灌注 24 h 后处死动物进行观察。假手术组鱼线插入 CCA 深度为 5 mm,其余操作均同手术组。

2.3.2 大鼠脑缺血再灌注模型评估(TTC 染色) 取缺血 2 h 再灌 24 h 后的模型大鼠,麻醉,开胸暴露心脏,用生理盐水约 150 mL 经心脏快速灌注冲洗 3 ~ 5 min。断头取脑,放入 -20 °C 冰箱冷冻 5 min,将脑从额极至枕叶连续冠状切面,厚约 3 mm,共 5 层,将厚脑片置于 2% TTC 溶液中染色,37 °C 孵育 30 ~ 60 min,然后置于 4% 多聚甲醛溶液,4 °C 固定。TTC 染色的检测标准:红色区域为正常脑组织,白色区域为缺血脑组织。

2.4 指标观察

2.4.1 神经功能行为学评分测定 给药 7 d 后,除假手术组外各组均行大脑中动脉缺血 2 h 再灌注 24 h 手术,术毕按照 Zealonga 5 级法^[2] 对动物的神经功能行为进行评分。0 分:无神经系统损伤症状;1 分:不能完全伸展对侧前爪;2 分:向对侧转圈;3 分:向

对侧倾倒;4分:不能自发行走。

2.4.2 脑组织含水量测定 缺血2 h再灌注24 h后,各组取8只大鼠用10%水合氯醛麻醉,开颅取脑,用滤纸吸干表面水分,电子秤称量脑湿重,然后将其置于105℃的烤箱烘烤48 h至恒重,称量干重,计算脑含水量。

$$\text{脑组织含水量} = (\text{脑湿重} - \text{脑干重}) / \text{脑湿重} \times 100\%$$

2.4.3 脑组织病理形态学观察 缺血2 h再灌注24 h后,各组取10只大鼠用10%水合氯醛麻醉,迅速断头取脑后置于4%多聚甲醛内固定,以备切片使用做常规HE染色。

2.5 统计方法 采用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对脑缺血再灌注大鼠神经功能及脑含水量的影响 结果显示:假手术组大鼠术后无神经受损体征出现,神经功能缺损评分均为0分。模型组大鼠均出现较严重的神经受损症状;与模型组比较,各用药组均明显降低大鼠神经功能缺损症状($P < 0.05$),各用药组之间无显著性差异。

与假手术组比,模型组脑组织含水量明显升高($P < 0.01$);与模型组比,三化汤高剂量组和尼莫地平组脑组织含水量明显降低($P < 0.01$);三化汤低

剂量组与模型组比较无显著性差异;三化汤高剂量组和尼莫地平组比较无显著性差异(表1)。

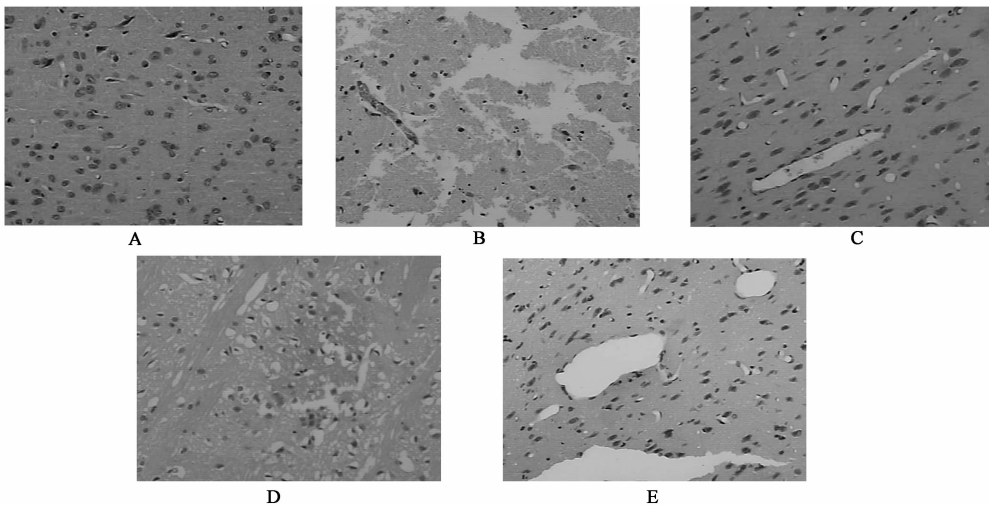
表1 各组大鼠神经功能缺损评分及脑含水量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	神经功能缺损评分	脑含水量/%
假手术	-	0 ²⁾	75.491 ± 1.43 ²⁾
模型	-	2.67 ± 0.97	81.82 ± 0.63
三化汤	7.2	1.67 ± 0.69 ¹⁾	80.92 ± 0.74
	14.4	1.61 ± 0.78 ¹⁾	79.73 ± 1.09 ²⁾
尼莫地平	0.008 1	1.50 ± 0.86 ²⁾	79.51 ± 0.95 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对脑缺血再灌注大鼠脑组织病理改变的影响

光镜下可见假手术组神经细胞、胶质细胞及毛细血管形态正常,结构完整,排列紧密,核仁清晰,胞浆无红染,未见梗死灶、细胞及间质水肿,未见变性、萎缩、炎性细胞浸润。模型组左侧大脑半球无明显异常,右侧大脑可见神经细胞明显肿胀,形成空泡,部分细胞核浓染,细胞周围间隙增大。脑实质内血管及脑室显著扩张,并见灶性出血、坏死、炎细胞浸润、间质细胞增生。各用药组与模型组比神经细胞排列趋于整齐,神经纤维轻度肿胀,神经元变性程度较轻,胶质细胞轻度增生,坏死灶明显减少,炎症细胞浸润较轻,其中三化汤高剂量组改善效果更明显。(见图1)。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 三化汤14.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 三化汤7.2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 尼莫地平0.008 1 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图1 大鼠脑缺血再灌注24 h后脑组织病理改变(HE, ×400)

4 讨论

神经功能行为异常、脑水肿、脑组织形态结构改变是脑缺血再灌注导致脑损伤的表现。其中脑水肿是急性脑血管病的共同病理过程,也是急性脑血管

病最常见的并发症,防治和减轻脑水肿是中风急性期治疗的关键。缺血性中风早期,远端血液供应障碍,能量泵衰竭,细胞毒性脑水肿首先形成,当脑血流量严重降低至某一阈水平时,血脑屏障破坏,血

芎麻汤不同提取物对小鼠偏头痛模型的影响

曾贵荣¹, 马丽², 郭建生^{2*}, 王蔷²

(1. 湖南省药物安全评价研究中心, 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学,
湖南省教育厅中药现代化重点实验室, 长沙 410208)

[摘要] 目的: 观察芎麻汤不同提取物治疗偏头痛的药理作用。方法: 采用小鼠皮下注射 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 利血平致小鼠偏头痛模型、醋酸致小鼠扭体模型, 昆明小鼠随机分为阿米替林组 ($0.033 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、芎麻汤水提液组 ($1.4, 5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、芎麻汤醇提组 ($1.4, 5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、芎麻汤挥发油组 ($1.4, 5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 连续给药 7 d, 观察芎麻汤水提液、挥发油、醇提液对偏头痛模型小鼠血清 5-羟色胺 (5-HT) 含量及镇痛作用的影响。结果: 芎麻汤水提液 ($5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 能明显升高利血平化低 5-HT 小鼠模型血清中 5-HT 的含量 ($P < 0.01$), 芎麻汤挥发油 ($1.4, 5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 能明显延长冰醋酸致小鼠扭体潜伏期及减少扭体次数。结论: 芎麻汤水提液对偏头痛小鼠模型有一定的作用, 芎麻汤挥发油具有一定的镇痛作用。

[关键词] 芎麻汤提取物; 偏头痛; 镇痛; 5-羟色胺

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0162-03

Experimental Study on Different Extracts Xiongma Decoction on Reserpine Induced Migraine Model

ZENG Gui-rong¹, MA Li², GUO Jian-sheng^{2*}, WANG Qiang²

(1. Drug Safety Evaluation Center of Hunan, Changsha 410208, China;
2. Hunan Medical University, Key Laboratory of Traditional
Chinese Medicine Modernization, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effects of different extracts from Xiongma decoction on migraine. **Method:** The mice migraine model was induced by, reserpine and acetic acid was used to induce mice writhing model. Mice were injected $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ reserpine to induce migraine model. Mice were randomly divided into amitriptyline group ($0.033 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), extract group of Xiongma decoction ($1.4, 5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), alcohol extract group of Xiongma decoction ($1.4, 5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), volatile oil group ($1.4, 5.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), which were orally given for

[收稿日期] 20100831(005)

[基金项目] 湖南省中医药科研计划项目(2006-070)

[第一作者] 曾贵荣, 博士, 从事药安全性评价研究, Tel: 13787202837, E-mail: caoyutong@yahoo.cn

[通讯作者] * 郭建生, 教授, 博士生导师, 从事中药有效性与安全性及其机制研究, E-mail: gjs7878@126.com

管源性脑水肿形成。另外, 自由基损伤、Ca²⁺离子超载、细胞因子和血管活性物质作用等均可导致脑水肿形成。本实验通过观察三化汤对脑缺血再灌注大鼠神经功能、脑含水量、脑组织病理改变的影响, 结果说明三化汤对中风病急性期的脑损伤具有一定的保护作用, 其治疗机制与减轻脑水肿有关, 为临床应用三化汤治疗急性中风病提供了科学依据。

[参考文献]

- [1] 陈奇, 王建华. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 33.
- [2] 孟宜良. 线栓法大鼠大脑中动脉局灶性脑缺血模型研究现状[J]. 国外医学: 神经病学神经外科学分册, 2002, 29(2): 113.

[责任编辑 聂淑琴]