

虎杖提取物对实验性脑梗死大鼠脑组织炎症因子的影响

李晓莉¹, 卢志刚^{1,2*}, 陈梅¹, 蔡志平³

(1. 荆楚理工学院医学院, 湖北 荆门 448000; 2. 荆楚理工学院附属荆门市
第一人民医院, 湖北 荆门 448000; 3. 河北医科大学, 石家庄 050017)

[摘要] 目的: 研究虎杖提取物对大鼠局灶性脑缺血再灌注炎症损伤的保护作用。方法: 将 SD 大鼠随机分为 6 组 ig 给药, 假手术组和模型组给予等量生理盐水; 尼莫地平组按 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予尼莫地平; 虎杖提取物低、中、高剂量组分别按 5, 10, 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予虎杖提取物。给药 7 d 后制作大鼠大脑中动脉闭塞模型, 观察大鼠行为学改变; 取大脑并用氯化四唑染色后测定梗死百分比和含水量; 进行大脑组织学检查, 制作脑匀浆测定白介素(IL)-1 β , IL-6, IL-8 和一氧化氮(NO)的含量。结果: 虎杖提取物高、中剂量组的行为学评分分别为 (2.6 ± 0.9) , (2.2 ± 1.1) 分; 梗死率分别为 $(37.6 \pm 1.9)\%$, $(30.2 \pm 4.2)\%$; 脑含水量分别为 $(78.1 \pm 5.6)\%$, $(71.2 \pm 3.9)\%$, 均较模型组显著降低 ($P < 0.01$); IL-1 β 分别为 (0.64 ± 0.28) , $(0.65 \pm 0.31) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; IL-6 分别为 $(7.2 \pm 2.7) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $(8.8 \pm 2.2) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, IL-8 分别为 $(12.6 \pm 2.5) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $(15.2 \pm 2.1) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NO 分别为 (2.9 ± 1.3) , $(3.2 \pm 1.1) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 较模型组均明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论: 虎杖提取物对脑缺血再灌注炎症损伤有一定的保护作用。

[关键词] 虎杖提取物; 脑缺血; 再灌注; 保护作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0226-04

Protective Effects of Extract from *Polygonum cuspidatum* on Focal Cerebral Ischemia-reperfusion Injury in Rats

LI Xiao-li¹, LU Zhi-gang^{1,2*}, CHEN Mei¹, CAI Zhi-ping³

(1. School of Medicine, Jingchu College of Science and Technology, Jingmen 448000, China;
2. The First Hospital of Jingmen, Jingchu College of Science and Technology, Jingmen 448000, China;
3. Hebei Medicinal University, Shijiazhuang 050017, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of extract from *Polygonum cuspidatum* on focal cerebral ischemia-reperfusion (I/R) injury in rats. **Method:** SD rats were randomly divided into 6 groups: sham operated group, model group, nimodipine group ($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and 3 groups treated with extract from *P. cuspidatum* (5, 10, 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). The rat model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was induced to observe the changes in cerebral function score, infarction area, water content, and histological modifications in rat brain. The levels of Interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), nitric oxide (NO) were also measured. **Result:** Extract from *P. cuspidatum* at different doses could obviously decrease the cerebral function score, infarction area and water content. It also alleviated the pathological injury of focal cerebral I/R injury in rats. For extract from *P. cuspidatum* groups, IL-1 β , IL-6, IL-8 and NO in brain tissue were significantly decreased. **Conclusion:** Extract from *P. cuspidatum* has protective effects on cerebral I/R injury.

[收稿日期] 20101007(004)

[第一作者] 李晓莉, 硕士, 主要从事中西医结合心脑血管疾病的基础研究, Tel: 13972860886, E-mail: Lixiaoli19761130@163.com

[通讯作者] * 卢志刚, 主治医师, 讲师, 博士, 主要从事中西医结合脑血管疾病的基础和临床研究, Tel: 13797981906, E-mail: 13797981906@139.com

[Key words] extract from *Polygonum cuspidatum*; brain ischemia; reperfusion; protective effect

脑缺血再灌注损伤是脑血管病治疗中常见的病理生理过程,是缺血性脑中风治疗的关键问题。在此过程中脑细胞内过度的炎症反应起到很重要的作用。其中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β)、白介素 8 (IL-8)、抑制性一氧化氮合酶 (iNOS) 和白细胞介素-6 (IL-6) 等在神经损伤中起重要作用。虎杖具有明显的抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗高血脂症、抗脂质过氧化、抗血小板聚集^[1]等多种生物活性作用,将其应用于血栓性疾病的防治已成为人们关注的研究课题,但其是否对细胞因子的调节因子有调节作用,目前还不清楚。因此,本研究通过观察实验大鼠脑缺血再灌注后 IL-1 β , IL-6, IL-8 和 NO 含量的变化及虎杖提取物对其干预的影响,从而探讨虎杖提取物对大鼠脑缺血再灌注后炎性损伤的脑保护作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康 3 月龄雄性 SD 大鼠 60 只,体质量 180 ~ 200 g,动物质量合格证号 SCXK (冀) 2003-1-003。动物由河北医科大学实验动物中心负责饲养,医学实验动物环境设施合格许可证 SCXK (沪) 2006-0010。

1.2 药物与试剂 虎杖提取物胶囊购自西安冠宇生物技术有限公司提供,批号 20040907,每粒 160 mg,含 50% 虎杖苷。尼莫地平购自山西亚宝药业集团股份有限公司。IL-1 β , IL-6, IL-8 放射免疫分析药盒购自北京普尔伟业生物科技有限公司。

1.3 仪器 全波长酶标仪 (美国 Thermo 公司), 恒温干燥箱 (北京市朝阳区来广营医疗器械厂), RMA2135 型石蜡切片机 (德国 Leica)。

2 方法

2.1 动物分组 将 SD 大鼠按体质量随机分为 6 组,每组 10 只,分别为假手术组给予等量生理盐水;模型组给予等量生理盐水;尼莫地平组按 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予尼莫地平;虎杖提取物低、中、高剂量组分别按 $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予虎杖提取物。以上各组给药时均将药物按所需剂量溶解于生理盐水 ($5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后 ig 给药。于实验前 7 d 开始 ig 给药, 1 次/d, 第 7 日于缺血前 60 min 给药。

2.2 造模 参照 Longa 等^[3-5] 的线栓法制作大鼠右侧大脑中动脉闭塞 (MCAO) 模型。大鼠麻醉后仰卧

位固定,取颈部正中切口分离右侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉;在颈外动脉残端剪一小口,将制备好的线栓插入,线栓正好插至颅内的大脑前动脉,堵住大脑中动脉的开口。假手术组模型制作步骤同 MCAO 模型,血管分离后不插线栓。

2.3 指标测定 术后 24 h 采用改良的 Longa 分级法^[3] 进行行为学评分。

$$\text{梗死率} = \frac{\text{苍白区质量}}{\text{苍白区质量} + \text{非苍白区质量}} \times 100\%$$

$$\text{脑组织含水量} = \left(1 - \frac{\text{脑组织干质量}}{\text{脑组织湿质量}} \right) \times 100\%$$

按试剂盒说明书酶联免疫吸附法 (ELISA 法) 检测大鼠组织中炎性因子 IL-1 β , IL-6, IL-8, NO 的含量。

2.4 统计学方法 结果数据均采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,神经功能评分采用 Mann-Whitney U 检验;脑组织含水量、梗死体积和 mRNA 含量结果多组间比较采用单因素方差分析和 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对局灶性脑缺血-再灌注大鼠的行为学评分、梗死率、脑含水量的影响 虎杖提取物对局灶性脑缺血-再灌注大鼠的行为学评分、梗死百分比、脑含水量的影响同假手术组相比,模型组的 MCAO 大鼠脑卒中评分、梗死率和脑含水量明显增大 ($P < 0.01$),表明造模成功。同模型组相比,虎杖提取物高、中剂量组能显著降低 MCAO 大鼠的脑卒中评分,并能明显减少局灶性脑缺血大鼠脑的梗死率和降低脑含水量 ($P < 0.01$),虎杖提取物 3 个剂量随浓度增加而作用增强。见表 1。

3.2 对局灶性脑缺血-再灌注大鼠脑匀浆生化指标的影响 与假手术组相比,模型组的 MCAO 大鼠脑内 IL-1 β , IL-6, IL-8 和 NO 明显增多 (表 2), ($P < 0.01$)。与模型组相比,虎杖提取物高、中剂量组可使局灶性脑缺血大鼠再灌注损伤的脑组织内的 IL-1 β , IL-6, IL-8 和 NO 含量显著降低 ($P < 0.01, P < 0.05$)。虎杖提取物 3 个剂量随浓度增加而作用增强。同模型组相比,尼莫地平组也能显著降低脑组织内 IL-1 β , IL-6, IL-8 和 NO 的含量 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 1 杖提取物对局灶性脑缺血-再灌注大鼠的行为学评分、梗死率、脑含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	行为学评分	梗死率/%	脑含水量/%
假手术	-	0.0 ± 0.0 ²⁾	-	69.0 ± 1.3 ²⁾
模型组	-	3.5 ± 0.8	40.1 ± 1.7	81.5 ± 2.1
尼莫地平	1	1.8 ± 1.2 ²⁾	19.8 ± 3.3 ²⁾	69.8 ± 3.2 ²⁾
虎杖提取物	20	1.9 ± 0.7 ²⁾	25.1 ± 2.5 ²⁾	70.6 ± 4.7 ²⁾
	10	2.2 ± 1.1 ²⁾	30.2 ± 4.2 ²⁾	71.2 ± 3.9 ²⁾
	5	2.6 ± 0.9	37.6 ± 1.9	78.1 ± 5.6

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01(表 2 同)。

表 2 虎杖提取物对局灶性脑缺血-再灌注大鼠脑匀浆炎症因子指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-1β/μg·L ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹	IL-8/μg·L ⁻¹	NO/mmol·L ⁻¹
假手术	-	0.59 ± 0.45 ²⁾	5.9 ± 2.3 ²⁾	10.8 ± 1.5 ²⁾	2.1 ± 0.5 ²⁾
模型	-	0.88 ± 0.37	11.2 ± 1.6	19.7 ± 1.9	4.2 ± 1.2
尼莫地平	1	0.63 ± 0.42 ²⁾	6.8 ± 1.5 ²⁾	12.3 ± 1.2 ²⁾	2.3 ± 0.8 ²⁾
虎杖提取物	20	0.64 ± 0.28 ²⁾	7.2 ± 2.7 ²⁾	12.6 ± 2.5 ²⁾	2.9 ± 1.3 ²⁾
	10	0.65 ± 0.31 ²⁾	8.8 ± 2.2 ¹⁾	15.2 ± 2.1 ¹⁾	3.2 ± 1.1 ¹⁾
	5	0.73 ± 0.78	9.7 ± 1.9	16.1 ± 1.6	3.6 ± 0.9

动脉阻塞的方法复制出大鼠全脑缺血再灌注模型。大量研究表明,脑缺血再灌注可激活炎症反应,再灌注的炎症反应促进了继发性的脑损害,是脑缺血再灌注损伤的主要原因之一^[6]。

IL-1β 主要是由单核细胞和巨噬细胞产生^[7],又名淋巴细胞活化因子、前炎症反应细胞因子,其可刺激内皮细胞表达 IL-8 和白细胞黏附因子,IL-8 可促进中性粒细胞的跨膜游出。IL-6 又名 B 细胞刺激因子,主要由 T 细胞、内皮细胞、单核细胞产生,可以增加在炎症反应中花生四烯酸的释放,从而在 RAW264.7 中刺激 PGE₂ 的生成^[8-9]。IL-8 是免疫性炎症反应过程中的炎性趋化细胞因子,在脑缺血和缺血再灌注损伤中起着重要作用,是第一个被发现的具有活化趋化作用的细胞因子,有由多种参与炎症反应的细胞产生,如巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和内皮细胞等,是最强的 PMN 和 T 淋巴细胞激活和趋化因子,它的血浆水平被认为是严重组织损伤的标志^[10]。

本研究结果表明,虎杖对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤有保护作用。通过抑制 NF-κB 产生,抑制炎症因子 IL-1β, IL-6, IL-8 和 NO 活性,降低脑缺血再灌注后中性粒细胞在脑组织中的浸润,抑制局部脑组织炎症反应,降低脑缺血再灌注后脑组织含水量,减轻脑水肿,是其治疗脑缺血损伤的机制之一。

3 讨论

缺血性脑血管病是常见病、多发病,病死率和致残率均高。MCAO 是缺血性脑卒中的常见部位。脑缺血后损伤是一个复杂的病理级联反应,其发病机制包括细胞内炎症反应,氧化应激, Ca²⁺ 稳态失调等,其中过度炎症免疫反应存在于脑梗死后坏死及缺血区域,导致炎症损伤,因此,减轻炎症损伤成为治疗急性脑梗死的主要途径之一。炎症反应的激活是脑缺血再灌注损伤的重要机制。本研究以大鼠中

本研究发现其抑制作用与其虎杖剂量有依赖关系,推测其能减少再灌注后炎症因子的含量,起到对缺血性脑组织起到脑保护作用。

[参考文献]

[1] Chen Peng, Yang Lichuan, Leiweiya, et al. Effects of polydatin on platelet aggregation and platelet cytosolic calcium[J]. Natural Product R&D, 2005, 17(1): 21.

[2] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84.

[3] Liu Y, Zhang X J, Yang C H, et al. Oxymatrine protects rat brains against permanent focal ischemia and downregulates NF-κB expression [J]. Brain Research, 2009, 1268: 174.

[4] Yang C H, Zhang X J, Fan H G, et al. Curcumin upregulates transcription factor Nrf2, HO-1 expression and protects rat brains against focal ischemia[J]. Brain Research, 2009, 1282: 133.

[5] Gu W P, Xiao H, Li W, et al. The NF-κB p56 express of atorvastatin calcium on focalcerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Stroke Nerv Dis, 2007, 14(1): 3.

[6] 谷文萍,肖慧,李伟,等.阿托伐他汀钙对大鼠脑缺血再灌注后 NF-κB p56 表达的影响[J].卒中与神经疾病, 2007, 14(1): 3.

保济丸对胃肠运动功能的影响

吴君¹, 韩芸², 吴清和¹, 黄萍^{1*}, 操红缨¹

(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006; 2. 广东省中医院, 广州 510120)

[摘要] 目的: 研究保济丸对胃肠运动功能的作用。方法: 通过观察保济丸(0.15, 0.3, 0.6 g·kg⁻¹)对正常小鼠小肠推进功能、对肠肌运动亢进小鼠的小肠运动、对正常小鼠胃排空、对阿托品致胃肠运动功能低下小鼠胃排空的影响来评价保济丸对胃肠功能的作用。结果: 保济丸能明显抑制小鼠胃排空, 增加胃中酚红的残留率; 抑制正常小鼠及肠功能亢进小鼠的小肠推进作用, 明显抑制推进距离和推进率。结论: 保济丸具有解痉作用。

[关键词] 保济丸; 胃肠运动; 阿托品

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0229-03

Effects of Baoji Wan on Gastrointestinal Motility

WU Jun¹, HAN Yun², WU Qing-he¹, HUANG Ping^{1*}, CAO Hong-yin¹

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Baoji Wan on gastrointestinal motility. **Method:** Impacts of Baoji Wan on gastrointestinal motility were evaluated through observing the small intestine function in normal mice, the intestinal movement of mice with hyperactive muscle movemen in small intestinet, gastric emptying in normal mice, the lower gastric emptying gastrointestinal motility induced by atropine. **Result:** Baoji Wan could significantly inhibit gastric emptying and increase the retention rate of phenol red in stomach; suppress normal mice and mice with hyperthyroidism intestine of small intestine function, significantly inhibit the rate of advance and promote distance. **Conclusion:** Baoji Wan have antispasmodic effects, which provide an experimental basis for clinical application.

[Key words] Baoji Wan; gastrointestinal motility; atropine

保济丸由钩藤、菊花、蒺藜、厚朴、木香、苍术、天

花粉、广藿香、葛根、茯苓、薄荷、化橘红、白芷、薏苡仁、神曲、稻芽组成, 具有解表, 去湿, 和中的功效。用于腹痛吐泻, 噫食酸, 恶心呕吐, 肠胃不适, 消化不良, 舟车晕浪, 四时感冒, 发热头痛。本研究主要对保济胶囊的有效性作出科学的评价, 为临床使用保济丸提供一定的药理学基础。

[收稿日期] 20101126(007)

[基金项目] 吴君, 医学博士研究生, 从事中药复方药理研究, E-mail: 625468162@qq.com

[通讯作者] * 黄萍, 教授, 医学硕士, 博士研究生导师, 从事中药复方药理研究, Tel: 020-39358086

[7] Hamasaki K, Nakao K, Matsumoto K, et al. Short interfering RNA-directed inhibition of hepatitis B virus replication[J]. FEBS Letters, 2003, 543: 51.

[8] Duffield J S. The inflammatory macrophage: a story of Jekyll and Hyde[J]. Clin Sci, 2003, 104: 27.

[9] Ohta K, Yamagami S, Taylor A W, et al. IL-6

antagonizes TGF-beta and abolishes immune privilege in eyes with endotoxin-induced uveitis [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 41: 2591.

[10] Joost J O, Chemokine R H. Medical immunology [M]. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2002: 167.

[责任编辑] 聂淑琴