

参芪提取物对闭合性脑外伤作用的试验研究

李宝春*

(安徽科技学院动物科学学院, 安徽 凤阳 233100)

[摘要] 目的: 观察参芪提取物(SQE)对闭合性脑外伤的作用。方法: 选用昆明种小鼠, 随机分成模型组、脑复康(NFK)组(0.24 g·kg⁻¹)、参芪提取物(SQE)高、中、低剂量组(0.282, 0.141, 0.071 g·kg⁻¹, 按公斤体重计, 相当于人用量的 20, 10, 5 倍), 并设正常组。采用自由落体法复制闭合性脑外伤小鼠模型, 分别于造模后 8, 24 h 测定耐缺氧时间、脑组织含水量、脑指数和血脑屏障(BBB)通透性。结果: 参芪提取物能明显降低闭合性脑外伤模型小鼠脑组织含水量、脑指数和血脑屏障通透性, 与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$); 明显提高模型小鼠耐缺氧时间, 与模型组比较有显著性差异($P < 0.01$)。结论: 参芪提取物(SQE)对小鼠闭合性脑外伤有一定的保护作用。

[关键词] 参芪提取物; 颅脑损伤; 耐缺氧; 伊文思蓝; 血脑屏障

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)09-0041-03

The Experimental Study of Shenqi Extraction on Craniocerebral Injury

LI Bao-chun*

(School of Animal Science, Anhui Science & Technology University, Fengyang, 233100, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of SQE on craniocerebral injury. **Methods:** The mice were randomly divided into model group, NAOFUKANG(NFK) group(0.24 g·kg⁻¹), three SQE groups(0.282, 0.141, 0.071 g·kg⁻¹) and control group. The model was produced by the freely falling object. Endure time of anoxia, the content of brain water, brain index, and penetrability of blood-brain-barrier(BBB) were measured. **Results:** SQE can obviously decrease the content of brain water, brain index, and penetrability of BBB and improve the endure time of anoxia. **Conclusion:** SQE has the protective effects on craniocerebral injury.

[Key words] SQE; craniocerebral injury; endure time of anoxia; evans blue; blood-brain-barrier

参芪提取物(SQE)是由黄芪、丹参经现代工艺提取, 按一定比例配伍而成。丹参具有祛瘀止痛、凉血消痈、清心除烦等作用, 临床用于治疗冠心病、缺血性中风等病症; 黄芪具有补中益气、固表利水等功效, 多用于心脑血管疾病, 消化系统疾病等。本文采用自由落体法制造闭合性脑外伤小鼠模型, 观察参芪提取物对闭合性脑外伤的作用, 为进一步开发研究提供实验依据。

1 材料

1.1 药品及试剂 参芪提取物, 安徽科技学院中药学教研室提供, 用时以新鲜配制的 0.5% CMC-Na(CN)制成混悬液; 脑复康, 上海华氏制药有限公司, 批号 031204, 用时以新鲜配制的 CN 制成混悬液; 伊文思蓝, 中国医药(集团)上海化学试剂公司, 批号 020913, 用时以氨水乙醇(1:2)稀释成 2.5 mg·mL⁻¹溶液; 氨水, 徐州试剂总厂, 批号 020918; 无水乙醇, 蚌埠化学试剂厂, 批号 040212。

1.2 动物 昆明种小鼠, 河南医科大学实验动物中心提供, 合格证号: 豫医动字第 410117 号。

1.3 仪器 自由落体打击器(自行设计制造); 800 型离心沉淀器, 上海手术机械十厂生产; SHZ-3 循环

[收稿日期] 2006-11-20

[通讯作者] * 李宝春, Tel: (0550) 6732040; E-mail: libc1973@

126.com

水真空泵, 上海华光仪表厂生产; FA1004 电子分析天平, 上海精科天平厂生产; 752W 型紫外分光光度计, 上海市第三分析仪器厂生产。

2 方法

2.1 闭合性脑外伤小鼠模型的制备^[1] 将小鼠分别麻醉后固定在自制的自由落体脑损伤装置的底部平台上, 用直径约 4 mm 的撞击锤尖端顶在小鼠颅脑矢状面左侧(2~ 4) mm 处, 取 50 g 砝码, 从 15 cm 高处自由落下, 通过撞击锤复制闭合性脑外伤小鼠模型。

2.2 对闭合性脑外伤模型小鼠脑缺氧的保护作用
取体重(20± 2) g 昆明种小鼠 60 只, 雌雄各半, 适应性饲养 1 周。随机分为 6 组, 即参芪提取物高、中、低剂量组(0.282, 0.141, 0.071 g·kg⁻¹), 脑复康组(0.24 g·kg⁻¹), 模型组和正常对照组, 每组 10 只。灌胃给药, 每天 1 次, 连续 3 d 给药容量均为 0.02 mL·g⁻¹ 体重, 正常组给等容量 CN 溶液。末次给药后 40 min, 按 1.2.1 方法造模。造模后 8 h, 用剪刀在小鼠双耳连线处快速断头, 记录喘息时间。

2.3 对闭合性脑外伤模型小鼠血脑屏障的影响
取体重(20± 2) g 昆明种小鼠 60 只, 雌雄各半, 适应性饲养 1 周。随机分为 6 组, 分组、给药及造模方法同上。于造模后 18 h, 尾静脉注射伊文思蓝溶液(剂量 25 mg·kg⁻¹, 容量为 0.01 mL·g⁻¹ 体重)。注射后 6 h, 颈椎脱臼处死小鼠, 取脑组织烘干。比色法测定干脑组织伊文思蓝含量。

2.4 标准曲线的制备 以氨水乙醇液(1: 2) 将伊文思蓝配成浓度(C) 为 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 μg·mL⁻¹ 的标准液, 用紫外分光光度计(605 nm) 测定各标准液的吸光度(A), 两次测定的吸光度结果与浓度经回归处理得标准直线方程^[2]。

2.5 脑组织伊文思蓝含量测定 将干脑组织置研磨器中, 加无水乙醇 4 mL, 用研磨器研碎, 置离心管中, 3 000 r·min⁻¹ 离心 3 min, 弃去上清液, 在沉淀物中加无水乙醇 3 mL, 用液体快速震荡器震荡 1 min, 再离心 3 min, 弃去上清液, 重复 3 次。用 30 倍于干脑重的氨水乙醇液(1: 2) 加入沉淀物中, 震荡 3 min, 离心 5 min, 取上清液, 用 3 mL 比色杯, 在波长 605 nm 处测定吸收度。空白对照管为未注射伊文思蓝的脑组织, 处理方法同上。把测定的吸收度 A 代入标准方程, 再乘以 30, 所得值即为该标本的伊文思蓝含量(μg)。

2.6 对闭合性脑外伤模型小鼠脑指数和脑组织含水量的影响 取体重(20± 2) g 昆明种小鼠 60 只, 雌雄各半, 适应性饲养 1 周。随机分为 6 组, 分组、给药及造模方法同上。造模后 8 h, 颈椎脱臼处死小鼠, 迅速剖开颅骨取脑组织称湿重, 将湿脑组织置 50 °C 烘箱中烘烤 24 h, 称重。计算脑组织含水量和脑指数。脑组织含水量 = (湿重 - 干重)/湿重 × 100%, 脑指数 = 脑湿重 × 100/体重。

2.7 数据分析 试验结果以平均值 ± 标准差表示, 用 Excel 2000 对试验数据进行统计分析, 差异显著时用 Duncan 进行多重比较。

3 结果

3.1 参芪提取物对闭合性脑外伤模型小鼠脑缺氧的保护作用 由表 1 可见, 参芪提取物高、中、低剂量组均能显著延长模型小鼠喘息时间, 与模型组比较有显著性差异; 脑复康组亦能延长模型小鼠的喘息时间, 与模型组比较有显著性差异。

表 1 参芪提取物对闭合性脑外伤模型小鼠脑缺氧的影响 (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	喘息时间(s)
正常组	—	30.44 ± 4.27
模型组	—	25.87 ± 4.96
脑复康组	0.24	31.58 ± 7.80 ¹⁾
SQE	0.282	36.08 ± 7.33 ²⁾
SQE	0.141	32.61 ± 7.73 ¹⁾
SQE	0.071	29.34 ± 3.07 ¹⁾

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

3.2 参芪提取物对闭合性脑外伤模型小鼠血脑屏障通透性的影响 由表 2 可见, 参芪提取物高、低剂量组和脑复康组能显著降低模型小鼠脑组织伊文思蓝含量, 与模型组比较有显著性差异。

表 2 参芪提取物对闭合性脑外伤模型小鼠血脑屏障通透性的影响 (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	脑组织干重(mg)	吸收度(A)	伊文思蓝含量(μg)
正常组	—	91.4 ± 8.2	0.035 ± 0.009	27.14 ± 7.42
模型组	—	93.8 ± 3.3	0.074 ± 0.028	60.00 ± 20.95
脑复康组	0.24	87.8 ± 5.2	0.033 ± 0.013	24.88 ± 11.19 ²⁾
SQE	0.282	91.6 ± 3.7	0.042 ± 0.012	33.34 ± 10.00 ²⁾
SQE	0.141	87.7 ± 8.7	0.060 ± 0.028	48.76 ± 24.24
SQE	0.071	90.0 ± 3.2	0.046 ± 0.013	36.61 ± 8.70 ²⁾

3.3 参芪提取物对闭合性脑外伤模型小鼠脑指数

的影响 由表 3 可见, 参芪提取物高、中剂量组和脑复康组能显著降低模型小鼠脑指数, 与模型组比较有显著性差异。

表 3 参芪提取物对闭合性脑外伤模型
小鼠脑指数的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脑指数
正常组	—	1.96 ± 0.23
模型组	—	2.22 ± 0.29
脑复康组	0.24	$1.88 \pm 0.38^{1)}$
SQE	0.282	$1.92 \pm 0.39^{1)}$
SQE	0.141	$2.02 \pm 0.17^{1)}$
SQE	0.071	2.01 ± 0.31

3.4 参芪提取物对闭合性脑外伤模型小鼠脑组织含水量的影响 由表 4 可见, 参芪提取物高、中剂量组和脑复康组能显著降低模型小鼠脑组织含水量, 与模型组比较有显著性差异。

表 4 参芪提取物对闭合性脑外伤模型
小鼠脑组织含水量的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	含水量(%)
正常组	—	77.52 ± 0.46
模型组	—	78.20 ± 0.43
脑复康组	0.24	$77.57 \pm 0.12^{2)}$
SOE	0.282	$77.41 \pm 0.32^{2)}$
SQE	0.141	$77.68 \pm 0.64^{1)}$
SQE	0.071	77.80 ± 1.74

4 讨论

闭合性脑外伤不单是中枢神经系统的原发性损伤, 同时有一系列继发性损害, 促使病情恶化。外力

使血脑屏障(BBB) 受损, 脑内环境稳定受到损害, 影响脑的正常代谢和功能, 使自由基产生增多、胞浆中钙离子超载、中枢神经递质紊乱, 加剧了继发性损害^[3]。祖国医学认为颅脑损伤的病机是脑内瘀阻, 兼夹痰热, 导致清窍闭塞、元神失守^[4]。丹参、黄芪在临床上被广泛用于治疗心脑血管疾病^[5], 通过自由落体法建立闭合性脑外伤小鼠模型, 来观察参芪提取物对闭合性脑外伤小鼠的作用。

本实验结果表明, 参芪提取物能显著降低模型小鼠脑组织含水量、脑指数及脑组织伊文思蓝含量, 延长模型小鼠断头喘息时间, 说明参芪提取物能够减轻脑水肿, 降低脑组织毛细血管通透性, 保护脑组织内环境稳定, 提高耐缺氧能力, 对闭合性脑外伤小鼠起到一定程度的保护作用。

[参考文献]

- [1] 种兆钟, 冯亦璞. 丁基苯酞对小鼠闭合性脑外伤后脑组织的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1999, 13(3): 194-195.
- [2] 杨树勤. 卫生统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978. 12, 196.
- [3] 李小勇, 王忠诚. 创伤性颅脑损伤治疗新进展[J]. 中华神经外科杂志, 1999, 15(1): 55.
- [4] 王晓峰, 李拴德, 杨喜民, 等. 应用黄芪治疗重型颅脑损伤的临床研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(1): 3840.
- [5] 雷载权, 张延模. 中华临床中医学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 1099, 1607.