

不同厂家葛根素注射剂防治实验性大鼠脑损伤的比较研究

高善荣¹, 杜闻伟¹, 曹 丽², 罗申南²

(1 中国中医研究院西苑医院, 北京 100091;

2 中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

摘要: 目的: 对数种不同厂家的葛根素注射剂产品防治实验性大鼠缺血性脑损伤的作用进行比较。方法: 应用三氯化铁诱导大鼠大脑中动脉血栓栓塞模型, 观察葛根素对大鼠的脑梗塞范围及脑含水量的影响。结果: 葛根素可以改善 FeCl₃ 诱导的大脑中动脉血栓栓塞模型大鼠的脑缺血症状, 缩小其脑梗塞范围。结论: 葛根素对大鼠的实验性脑损伤具有良好的防治作用, 各不同厂家的葛根素注射剂之间疗效未见明显差异。

关键词: 葛根素; 大脑中动脉; 脑损伤

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)05-0031-02

葛根素为中药葛根的主要活性成分, 临床用于缺血性心脏病如冠心病, 心绞痛, 心肌梗塞, 缺血性脑血管病症等。治疗时常采用静脉滴注, (200~600) mg/d, 每日 1 次, 一般 10~20d 为一疗程。本文对数种不同厂家的葛根素注射剂防治实验性大鼠缺血性脑损伤的作用进行了比较, 现将结果报告如下。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 60 只, 雌雄兼用, 体重 (200~250) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供(合格证号: SCXK(京)2002-0003)。

1.2 主要药剂与试剂 受试药物葛根素注射剂: A 组: 北京四环科宝制药有限公司, 批号 20030316, 0.2g/支; B 组: 江西东亚药业有限责任公司, 批号 2003110241, 0.5g/250mL; C 组: 浙江康恩贝制药股份有限公司, 批号 030809, 0.25g/5mL; D 组: 山东瑞阳制药有限公司, 批号 03032701, 0.1g/支。实验中药物剂量均为 40 mg/kg。化学试剂: 红四氮唑(TTC), 淡黄色粉末, 北京马氏精细化学品有限公司产品, 批号 011102。其他药品与试剂均为市售分析纯。

1.3 仪器 XTT 实体显微镜, 云南光学仪器厂产品; DF-206 型电热鼓风干燥箱, 北京京通设备厂产品。

2 方法

2.1 对大脑中动脉血栓栓塞(middle cerebral artery thrombosis, MCAT)模型大鼠神经症状及脑梗塞范围的影响

2.1.1 MCAT 大鼠模型的制备 按刘小光^[1] 的方法, 稍加改进。大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛溶液 (0.35g/kg) 麻醉, 右侧卧位固定, 在眼外眦和外耳道连线中点作一弧形切口, 长约 1.5cm, 夹断颞肌并切除, 暴露颞骨, 于实体显微镜下, 在颞骨与颞鳞骨接合处靠近口侧 1mm 处作一直径 2.5 mm 的骨窗, 清理残渣, 暴露大脑中动脉(位于嗅束及大脑下静脉之间)。将吸有 50% 氯化铁溶液 10μL 的小片定量滤纸敷在此段大脑中动脉上, 30 min 后取下滤纸, 用生理盐水冲洗局部组织, 逐层缝合, 回笼饲养。室温控制在 24℃。假手术组除不滴加氯化铁溶液外, 其余手术步骤同模型组。

2.1.2 分组及给药 实验动物按体重随机分为 6 组, 即 MCAT 模型组、假手术组 A、B、C、D 四组给药组。给药方式: 手术后立刻尾静脉注射给药, 给药体积为 0.4mL/100g 体重。假手术组和 MCAT 模型组注射等体积生理盐水。

2.1.3 神经症状评分方法 对试验动物在术后 6h 和 24h, 按 Bederson^[2] 的方法稍加改进, 进行行为检测。评分标准: ①提鼠尾观察前肢屈曲情况, 如双前肢对称前伸, 记为 0 分; 如手术对侧前肢出现肩屈曲、肘屈曲、肩内旋或兼具, 记为 1 分。②将动物置于平面上, 分别推双肩向对侧移动, 检查阻力。如双

侧阻力对等且有力记为 0 分;如手术对侧阻力下降,记为 1 分。③将动物两前肢置一金属网上,观察肌张力。双侧肌张力对等且有力为 0 分;手术对侧前肢肌张力下降记为 1 分。④提鼠尾,动物有不停地向手术对侧旋转者,记为 1 分。根据以上标准评分,满分为 4 分,分数越高,动物的行为障碍越严重。

2.1.4 脑梗塞范围的评定方法 动物经行为评分后,断头取脑。去掉嗅球、小脑和低位脑干,剩余部分在 4℃以下冠状切成 5 片。迅速将脑片置于 TTC 染液中(每 5mL 染液中含 4% TTC 1.5mL, 1 M K₂HPO₄ 0.1mL, 其余加蒸馏水至刻度), 37℃避光温孵 30min, 取出后置于 10% 甲醛液中避光保存 24 h。经染色后非缺血区为玫瑰红色,梗塞区为白色。将白色组织仔细挖下称重,以梗塞组织重量占全脑重量及患侧脑重量的百分比作为脑梗塞范围(%)。

2.2 对大脑中动脉血栓栓塞性大鼠脑组织含水量的影响

2.2.1 分组 给药及造模方法 同 2.1.1 2.1.2。

2.2.2 脑组织含水量的测定方法 术后 24 h 断头取脑,左右半脑分开,用滤纸吸干表面水分,分别称量左、右脑湿重,105℃ 烘烤 48h 至恒重,精确称量干重,依据下式计算脑水含量。

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

2.3 统计学处理 实验数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果用 SPSS10.0 统计软件包进行统计,组间比较,进行 *t* 检验。

3 结果

3.1 对 MCAT 大鼠神经症状评分和脑梗塞范围的影响 结果见表 1。

表 1 对 MCAT 大鼠神经症状及脑梗塞范围的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量 (mg/kg)	脑梗塞范围(%)		神经症状评分	
		占全脑重	占患侧脑重	6h	24h
模型对照组	—	4.85 ± 1.93	9.32 ± 3.54	3.33 ± 0.78	2.92 ± 0.90
假手术组	—	0 ± 0 ²⁾	0 ± 0 ²⁾	0.17 ± 0.39 ²⁾	0.17 ± 0.39 ¹⁾
A 组	40	2.53 ± 2.01 ¹⁾	4.92 ± 3.95 ¹⁾	2.00 ± 0.74 ¹⁾	1.49 ± 0.52 ¹⁾
B 组	40	2.66 ± 1.81 ¹⁾	5.03 ± 3.52 ¹⁾	2.05 ± 0.75 ¹⁾	1.51 ± 0.39 ¹⁾
C 组	40	2.78 ± 1.98 ¹⁾	5.40 ± 3.91 ¹⁾	1.93 ± 0.58 ¹⁾	1.53 ± 0.49 ¹⁾
D 组	40	2.55 ± 1.01 ¹⁾	4.98 ± 1.94 ¹⁾	2.01 ± 0.45 ¹⁾	1.50 ± 0.65 ¹⁾

注:与模型组相比,¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01

从上表可以看出,各给药组 40 mg/kg 均可明显改善 MCAT 模型大鼠造模后 6 h 和 24 h 的神经症状 (*P* < 0.01),且可明显缩小模型大鼠脑血栓形成 24 h

的脑梗塞范围(*P* < 0.05)。结果显示葛根素对局灶性脑缺血损伤有抑制作用,且组间差异不明显。

3.2 对大脑中动脉血栓栓塞性大鼠脑组织含水量的影响 结果见表 2。

表 2 对 MCAT 大鼠脑组织含水量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量 (mg/kg)	健侧脑含水量 (%)	患侧脑含水量 (%)
模型对照组	—	79.29 ± 0.57	81.06 ± 0.72 ²⁾
假手术组	—	79.31 ± 0.43	79.57 ± 0.31 ²⁾
A 组	40	79.41 ± 0.35	80.45 ± 0.57 ^{1) 3)}
B 组	40	79.66 ± 0.97	80.44 ± 0.82 ^{1) 3)}
C 组	40	79.81 ± 0.85	80.45 ± 0.51 ^{1) 3)}
D 组	40	79.36 ± 0.40	80.35 ± 0.94 ^{1) 3)}

注:与模型组比较,¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, 与同组健侧脑相比,³⁾ *P* < 0.01

从上表可见,与同组大鼠健侧脑相比,术侧脑含水量明显增加(*P* < 0.01),各给药组 40 mg/kg 可以抑制模型大鼠术侧脑水肿,降低脑含水量(*P* < 0.05)。

4 讨论

大脑中动脉血栓模型可以比较客观地模拟临床脑梗塞多发生在大脑中动脉这一事实,手术过程中易控制局部条件,复制成功率高,血栓部位固定,且与临床脑血栓形成的病理过程相似,因此,该模型常用于观察药物对脑梗塞的防治作用。本实验结果显示,模型组大鼠术后 6 h 24 h 出现明显偏瘫样症状,脑血栓侧半球含水量明显增加,TTC 染色可见明显的梗塞灶。本实验中,葛根素可改善模型大鼠神经症状,降低脑梗塞范围,减轻脑水肿程度,与模型组相比有显著性差异。结果提示葛根素对大鼠的实验性脑损伤具有良好的防治作用,此结果与以往文献报道的结果想符合。研究结果还发现,各不同厂家生产的制剂疗效基本相同,未见明显差异。该文结果对临床用药具有一定的指导意义。

参考文献:

[1] 刘小光,徐理钠.一种能评价溶栓药和抗栓药的大鼠大脑中动脉血栓模型[J].药学报,1995,30(9):662-665.

[2] Bederson JB, Pittis LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(3): 472-476.