

通解定风片对大鼠局灶性脑缺血的防治作用

张硕峰¹, 沈欣², 于丽¹, 孙建宁¹

(1 北京中医药大学, 北京 100029; 2 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 用三氯化铁局部涂抹损伤血管形成的大鼠大脑中动脉血栓模型(MCAT), 观察通解定风片预防给药、治疗给药对行为障碍、脑梗塞范围、脑水肿程度的影响。结果表明通解定风片 6、3、1.5g/kg 组预防给药七天, 可使脑梗塞范围分别减少 62%、63%、20%, 并使脑含水量下降, 改善行为障碍程度; 治疗给药五次, 通解定风片 6g/kg 组, 亦对脑缺血各项指标具有改善作用。由此可见通解定风片对大鼠大脑中动脉血栓所致局部脑缺血具有一定的预防和治疗作用。

关键词: 通解定风片; 大脑中动脉; 脑缺血; 脑梗死; 脑水肿

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2000)-04-0043-03

通解定风片为临床经验方的改良制剂, 由生黄芪、赤芍、当归、鹿蹄草、栀子组成, 经名老中医多年临床实践证明具有益气活血, 通络解毒之功效, 主治气虚血瘀、瘀毒互结脑络之证。本文通过大鼠局灶性脑缺血模型, 探索了本药对实验性脑缺血的治疗和预防作用。

1 材料与方法

1.1 动物 Wistar 大鼠, 雌雄兼用, 体重 190~210g, 合格证号: 医动字第 01-30080 由中国医学科学院动物中心繁育场提供。

1.2 药物与试剂 受试药: 通解定风片实验用其浸膏, 为棕色粘稠液体, 为本院制剂室提供(6.23g 生药/ml)。实验前用生理盐水配制。阳性对照药: 天保宁 康恩贝集团制药有限公司生产, 批号: 980902。红四氮唑(TTC): 北京化工厂生产, 批号: 950221; 红细胞变形性试剂: 北京市世帝科学仪器公司提供, 批号: 9907。

1.3 模型制作 实验动物随机分为六组, 即假手术对照组、大脑中动脉血栓模型 Middle Cerebral Artery Thrombosis MCAT 模型组、通解定风片 6g、3g、1.5g/kg 组、天保宁

20mg/kg 组。大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛溶液(350mg/kg) 麻醉。按 Tamura^[1] 等方法, 暴露大脑中动脉(位于嗅束及大脑下静脉之间), 置一小片塑料薄膜保护血管周围组织, 将吸有 50% 氯化铁溶液(1mol/L 盐酸) 10 μ l 的小片定量滤纸敷在此段大脑中动脉上^[2], 30min 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 23~25 $^{\circ}$ C。假手术组, 除不滴加氯化铁溶液外, 其余手术步骤同模型组。预防试验的动物先连续灌胃给药七天, 每天一次, 其中假手术组和血栓模型组灌服等量的生理盐水, 第七天给药后 60 分钟施行手术, 术后停止给药。治疗试验的动物造模后灌胃给药三天, 每天两次, 共五次, 其中假手术组和血栓模型组灌服等量的生理盐水。

1.4 通解定风片预防、治疗给药对 MCAT 大鼠神经症状的影响 预防试验的动物在术后不同时间(6h, 24h), 治疗试验的动物术后 24h、48h 进行行为检测。按 Bederson 等^[3] 的方法并加以改进, 对动物进行行为评分。①提鼠尾离开地面约一尺, 观察前肢屈曲情况, 如双前肢对称伸向地面, 记为 0 分; 如手术对侧前肢出现肩屈曲、肘屈曲、肩内旋或既有腕肘的屈曲又有内旋者, 记为 1 分。②将动物置于

平滑地面上,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;如向手术对侧推动时阻力下降者,记为1分。③将动物两前肢置一金属网上,观察两前肢的肌张力。双侧肌张力对等且有力者为0分;手术对侧前肢肌张力下降记为1分。④提鼠尾离开地面约一尺,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。

1.5 通解定风片预防、治疗给药对MCAT大鼠脑梗塞范围的影响 动物经末次行为评分后,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, 1M K₂HPO₄ 0.1ml), 37℃避光温孵30分钟,取出后置于10%甲醛液中避光保存。经染色后非缺血区为玫瑰红色,梗塞区为白色^[4]。将白色组织仔细挖下称重,以梗塞组织重量占总脑重量的百分比作为脑梗塞范围。

1.6 通解定风片预防给药对MCAT大鼠脑组织水含量的影响 术后24h断头取脑,切取大脑中间部分(前后各去除3毫米),左右分开,用滤纸吸干表面水分,分别称量左右脑片湿重。105℃烘烤48h至恒重,精确称量干重,计算含水量^[1]。

公式-1:

$$\text{含水量} = \frac{\text{湿重} - \text{干重}}{\text{湿重}} \times 100\%$$

公式-2:

$$\text{含水量变化率} = \frac{\text{右脑含水量} - \text{左脑含水量}}{\text{左脑含水量}} \times 100\%$$

1.7 统计分析 对各组行为检测打分值、脑梗塞范围、含水量变化率分别与模型组进行t检验。

2 结果

表1结果显示,预防给药大鼠造模后除假手术组未见手术侧脑组织、脑含水量及行为异常改变外,血栓模型组大鼠、通解定风片6、3、1.5g/kg组、天保宁20mg/kg组的大鼠

均有不同程度的梗塞灶、脑水肿及偏瘫样症状(主要表现为手术对侧前肢内收,肩内为,前肢肌张力降低,肩抗力下降)。但给药组可明显减少梗塞程度、手术侧脑含水量变化率亦明显小于模型组,与模型组相比具有显著差异。通解定风片6g/kg组、天保宁20mg/kg组的大鼠在术后6h、24h,其神经症状均有不同程度的改善。通解定风片3g/kg组的大鼠在术后6h,其神经症状有所改善,但在术后24h无统计学意义。通解定风片1.5g/kg组症状与血栓模型组大鼠相似。

表1 通解定风片预防给药对MCAT大鼠神经症状、脑梗塞范围、脑组织含水量的影响

组别	动物数	剂量 (g/kg)	脑梗塞范围 (%)	脑组织含水量 变化率(%)	分值	
					6h	24h
假手术组	10	NS	0 ± 0**	-0.3 ± 0.4***	0 ± 0***	0 ± 0***
模型组	13	NS	8.3 ± 2.2	2.2 ± 0.4	3.4 ± 0.5	3.0 ± 0.9
通解定风片组	12	6	3.1 ± 2.9***	0.8 ± 0.6**	2.6 ± 0.9*	1.9 ± 0.8**
通解定风片组	12	3	3.1 ± 1.3***	1.4 ± 0.8*	2.5 ± 0.8*	2.3 ± 1.0
通解定风片组	11	1.5	6.6 ± 1.3*	1.4 ± 0.9*	3.7 ± 0.5	3.5 ± 0.7
天保宁组	10	0.02	3.6 ± 2.3***	1.4 ± 0.8**	1.9 ± 1.3**	1.9 ± 1.4*

注:与模型组相比* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001。(下同)

表2 通解定风片治疗给药对MCAT大鼠神经症状、脑梗塞范围的影响

组别	动物数	剂量 (g/kg)	脑梗塞范围 (%)	分值	
				24h	48h
假手术组	10	NS	0 ± 0***	0 ± 0***	0 ± 0***
模型组	11	NS	7.0 ± 2.3	3.7 ± 0.4	3.7 ± 0.6
通解定风片组	11	6	4.5 ± 2.1*	2.5 ± 0.5***	2.5 ± 0.7***
通解定风片组	10	3	5.2 ± 2.6	2.9 ± 0.9*	2.9 ± 0.8*
通解定风片组	10	1.5	6.5 ± 2.6	3.7 ± 0.5	3.6 ± 0.8
天保宁组	10	0.02	4.2 ± 2.7*	2.5 ± 0.8**	3.0 ± 0.9

表2结果显示,治疗给药大鼠造模后除假手术组未见手术侧脑组织及行为异常改变外,血栓模型组大鼠、通解定风片6、3、1.5g/kg组、天保宁20mg/kg组的大鼠均有不同程度的梗塞灶及偏瘫样症状。给药组可明显减少梗塞程度,但与模型组相比只有通

解定风片 6g/kg 组、天保宁 20mg/kg 组具有显著差异。通解定风片 6.3g/kg 的大鼠在术后 24h、48h, 其神经症状均有不同程度的改善。天保宁 20mg/kg 组的大鼠在术后 24h, 其神经症状有所改善, 但在术后 48h 无统计学意义。通解定风片 1.5g/kg 组症状与血栓模型组大鼠相似。

3 讨论

脑缺血中医称其为中风病。早在《内经》中就有“击仆偏枯”的提法。本方以丹参、赤芍活血化瘀, 配以鹿蹄草、栀子清热解毒、通络, 并以黄芪益气补血使邪祛而不伤正, 共奏益气活血, 通络解毒之功用, 标本兼顾; 主治气虚血瘀、瘀毒互结脑络之证。实验证明, 通解定风片预防给药七天或治疗给药五次, 可分别减少 MCAT 大鼠脑梗塞范围, 使脑含水量下降, 行为障碍程度得到改善。表明通解定风片对脑缺血具有一定的预防治疗作用。

参考文献:

- [1] Tamura A, Graham DI, McCulluoch J, et al. Focal Cerebral ischemia in the rat. 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle Cerebral artery occlusion [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1981, 1: 53~ 60.
- [2] 刘小光, 徐理纳. 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]. 药学学报, 1995, 30: 662~ 5.
- [3] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle Cerebral artery occlusion: evaluation of the mode and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17: 472~ 6.
- [4] Lundy EF, Solik BS, Frank RS, et al. Morphometric evaluation of brain infarcts in rats and gerbils [J]. Pharmacol Method, 1986, 16: 201 ~ 207.