

• 论著 •

健脑益智胶囊对脑出血大鼠血清及脑组织中
SOD 和 MDA 的影响

赵晓平, 范小璇, 余小波

(陕西中医学院附属医院神经外科, 中西医结合神经外科研究室, 陕西 咸阳 712000)

【摘要】 目的 探讨健脑益智胶囊对脑出血大鼠脑保护作用的机制。**方法** 采用自体血注入法建立大鼠脑出血模型。将 50 只 SD 大鼠按照随机原则分为假手术组、模型组及健脑益智胶囊小、中、大剂量治疗组(分别为 0.5、1.0、2.0 g/kg, 每日 1 次), 均给药 14 d。用 Longa 评分法和 Bederson 评分法观察各组大鼠行为学评分变化。术后 14 d 处死大鼠, 分别检测血清和脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平。**结果** 药物治疗 14 d, 大鼠运动能力的改善与治疗药物的剂量呈正相关, 大剂量组 Bederson 评分显著低于假手术组和模型组($P < 0.05$)。药物治疗大剂量组血清和脑组织中 SOD 活性均高于其他各组, MDA 含量均低于其他各组, 与假手术组和模型组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), 与小、中剂量治疗组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 健脑益智胶囊能升高脑出血模型大鼠血清和脑组织中 SOD 活性, 降低 MDA 含量, 对脑出血后氧自由基的清除有明显作用。

【关键词】 脑出血; 氧自由基; 健脑益智胶囊

中图分类号: R285.5; R743.34 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.03.010

Effect of Jiannao Yizhi capsule (健脑益智胶囊) on serum and brain tissue superoxide dismutase and malondialdehyde in rats with cerebral hemorrhage ZHAO Xiao-ping, FAN Xiao-xuan, YU Xiao-bo. Department of Neurosurgery (NS) and NS Lab of Combination of TCM and Western Medicine, the Affiliated Hospital, Shanxi University of TCM, Xianyang 712000, Shanxi, China
Corresponding author: FAN Xiao-xuan, Email: fxx19791201@163.com

【Abstract】 Objective To approach the protective mechanism of Jiannao Yizhi capsule (健脑益智胶囊) on the brain in rats with cerebral hemorrhage. **Methods** The cerebral hemorrhage model was induced by injection of auto-blood. Fifty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into sham operation group, model group and three treatment groups: Jiannao Yizhi capsule low-, middle- and high-dose groups (0.5, 1.0 and 2.0 g/kg, once a day). The therapeutic course was 14 days in each group. Longa and Bederson's scores were used to evaluate the score of rats' behavior or ethology in each group. The rats were executed 14 days after the operation. The serum and brain tissue levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were measured respectively. **Results** The level of SOD in high-dose group was significantly higher and the level of MDA and Bederson's score at 14 days, obviously lower than that respectively in the other groups, compared with the sham operation group and model group, the differences being statistically significant ($P < 0.05$), and compared with the middle- and low-dose groups, the differences being of no statistical significance (all $P > 0.05$). **Conclusion** Jiannao Yizhi capsule can elevate SOD and decrease MDA levels in the serum and brain tissue of rat model with cerebral hemorrhage, and possesses marked effect on clearing the oxygen free radical after cerebral hemorrhage.

【Key words】 cerebral hemorrhage; oxygen free radical; Jiannao Yizhi capsule

脑实质内出血(ICH)是临床常见的疾病,其病死率和致残率均很高。目前在治疗和改善预后方面,中西医结合治疗已经表现出明显的优势。我们根据

临床经验研制的健脑益智胶囊,在治疗 ICH 后语言、运动功能、感觉障碍等方面表现出了良好的作用。为进一步研究其机制进行本实验,以期为临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型制备:选择 3 月龄 SD 大鼠 50 只,体重 350~400 g(由第四军医大学实验动物中心

基金项目:陕西省咸阳市科技局基金项目(08-xy0276);陕西中医学院课题(200729)

通信作者:范小璇, Email: fxx19791201@163.com

作者简介:赵晓平(1963-),男(汉族),陕西省人,主任医师。

提供),按随机数字表法分为假手术组、模型组及健脑益智胶囊小、中、大剂量治疗组。采用二次退针法尾状核注射自体血制备大鼠脑出血模型^[1],术后皮肤消毒,每只大鼠注射青霉素钠 100 kU 预防感染。假手术组只开颅不注血。

1.2 给药方法:将健脑益智胶囊用 25 ℃ 温水溶化,3 个药物治疗组术后当日开始给药,分别按照 0.5、1.0、2.0 g/kg 剂量灌胃给药,每日 1 次,共 14 d。

1.3 检测指标及方法:术后 14 d,用水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,摘取眼球采血 2 ml,然后断头处死大鼠取脑,在基底节部位血肿区切取约 0.5 cm×0.5 cm 大小的脑组织,用滤纸吸取标本上的组织液,称湿重,加 9 倍标本重量的生理盐水制成脑组织匀浆备用。分别检测血清和脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。

1.4 行为学变化观察:在术后 1、3、7、14 d 分别用 Longa 评分法^[2](0~4 分)和 Bederson 评分法^[3]I~IV 级(0~4 分)进行行为学评分。

1.5 统计学方法:使用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,计数资料以百分率(%)表示,采用 *t* 检验和 χ^2 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验前后动物存活情况:实验过程中因各种原因死亡 11 只、存活 39 只,其中 2 只术后出现明显的精神症状被剔出,实际实验样本 37 只。37 只动物中,假手术组 7 只,模型组 8 只,小剂量治疗组 7 只,中剂量治疗组 7 例,大剂量治疗组 8 只。

2.2 行为学变化评分(表 1):各组 Longa 评分比较差异无统计学意义,可能是因为制模时打击一侧大脑的顶叶,制模后样本中有意识障碍的大鼠较少。14 d 时大鼠运动能力的改善与药物剂量呈正相关,大剂量组 Bederson 评分显著低于假手术组和模型组(*P* 均<0.05)。

2.3 各组大鼠术后 14 d 血清和脑组织的 SOD 活

性及 MDA 含量比较(表 1):随着药物治疗剂量的增加,血清和脑组织中 SOD 活性逐渐升高,MDA 含量逐渐降低,大剂量治疗组与假手术组和模型组比较差异均有统计学意义(*P* 均<0.05);但中剂量治疗组血清 MDA 却出现了一个升高的反弹。

3 讨论

脑出血在祖国医学中属于“中风”范畴,其病机可以归纳为本虚标实。本虚为肝肾阴虚和气血不足,标实者为风、火、痰、瘀为患;风火相煽,气血逆乱,升降失调,导致血之与气,并走于上,冲脑损络,离经之血瘀于脑府,阻碍气血运行,使脑髓壅滞,髓海失养,元神被困,脏腑失统,肢体失和,故瘀血是重要的病理因素。清代王清任以气虚血瘀为理论,创立了补阳还五汤治疗中风偏瘫等后遗症,开创了活血化瘀治疗中风之先河。近年来,活血化瘀的单味药、复方和中药注射液对脑出血的治疗作用研究颇多^[4-5]。基于此理论,我们根据临床经验,总结出健脑益智胶囊方剂(成分为水蛭、葛根、白茅根、石菖蒲、郁金),临床取得一定的疗效。

现代医学认为,血肿的形成与血小板、血脂、前列腺素和血液流变学等因素有关,而在这些因素的病理变化过程中,自由基又起到了至关重要的作用。而因此 SOD 和 MDA 的水平一定程度上可以反映脑出血后脑组织损伤和修复的程度。

本实验表明,使用健脑益智胶囊后脑出血模型大鼠血清及脑组织 SOD 明显升高,MDA 明显降低,以大剂量组的效果最好。说明健脑益智胶囊能有效升高脑出血后大鼠机体内 SOD 活性,提高机体清除氧自由基、抗氧化的能力,使机体中 MDA 含量降低,减少了脑出血后对脑组织的损伤,加快了对已损伤脑组织的修复,表明其对脑出血有较好的治疗作用。大鼠运动功能与剂量的相关性也证实了其治疗作用。这些作用可能与以下原因有关:水蛭咸、苦、平而归肝经,破血、逐瘀、通经,使溢于脉外之血消散,闭塞之经络畅通;白茅根甘、寒,凉血止血,清热利

表 1 各组大鼠 Longa 评分、Bederson 评分以及术后 14 d 血清和脑组织内 SOD 活性、MDA 含量比较

组别	动物数	Longa 评分($\bar{x}$,分)				Bederson 评分(分)				血清 SOD ($\bar{x}\pm s$,kU/L)	脑组织 SOD ($\bar{x}\pm s$,U/mg)	血清 MDA ($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	脑组织 MDA ($\bar{x}\pm s$,nmol/mg)
		1 d	3 d	7 d	14 d	1 d	3 d	7 d	14 d				
假手术组	7	2	1.5	1.5	1.5	11.2	10.0	9.0	9.0	82.4±9.2	42.5±11.2	12.0±3.6	6.6±1.4
模型组	8	2	1.5	1.0	0.5	10.3	9.3	7.0	6.0	79.9±11.4	37.1±10.7	9.6±1.4	7.3±2.1
小剂量治疗组	7	2	1.5	1.0	0.5	11.4	9.3	6.0	4.0	85.0±23.2	41.0±8.2	9.5±5.2	6.8±1.0
中剂量治疗组	7	2	1.5	1.0	0.5	10.3	10.0	8.0	2.0	94.3±8.2	45.7±8.3	10.6±4.3	5.5±2.4
大剂量治疗组	8	2	1.5	1.0	0.5	10.6	9.2	7.0	1.4 ^{ab}	99.1±13.7 ^{ab}	54.4±9.1 ^{ab}	8.6±1.9 ^{ab}	4.7±1.4 ^b

注:与假手术组比较,^a*P*<0.05;与模型组比较,^b*P*<0.05

水,使热散而血止,湿渗则水利;郁金辛、苦、寒而归肝、胆、心经,活血行气,助水蛭活血以祛瘀,并且能解郁清心,为解郁安神第一品,与开窍豁痰、醒神益智之石菖蒲合用,能使心神安定,情志调畅。葛根活血化瘀之功效古人虽描述不多,但现代药理研究,葛根有扩管通脉之效。全方共奏活血化瘀、通脉益智之效。葛根素本身的两个羟基可以清除自由基,对抗氧化应激。研究表明葛根素能降低脑出血后脑组织 MDA 含量、提高 SOD 活性^[6],说明葛根素有抗脂质过氧化损伤和抗自由基损伤的作用,其作用机制与可能改善脑出血后的脑缺血状态、提高脑缺血半暗带组织供氧有关。同时,葛根素在不影响细胞代谢的前提下使氧自由基生成减少,增加氧自由基清除率,减轻其对内皮细胞的损伤^[7]。葛根素能部分抑制脑出血后脑内补体的活化及后续的炎症反应,减轻脑水肿,以保护大脑组织^[8];还能提高脑缺血/再灌注损伤大鼠脑组织的抗氧化活性,减轻大脑局灶性缺血性损伤的程度。侯群等^[9]将葛根素用于急性脑出血的治疗,发现葛根素能明显促进血肿的吸收,并改善脑出血患者的神经功能。

郁金提取液能够保护或提高抗氧化酶的活性;减少脂质过氧化物的产生,发挥抗自由基损伤的作用^[10]。常压耐缺氧为特异性缺氧状态,在这种状态下,脑血流供应中断,但脑中原有的血和营养物质尚能使脑功能维持一段时间。实验结果显示,郁金能使脑耗氧减少并显著延长了小鼠的存活时间,对断头小鼠脑缺氧产生保护作用^[11]。现代研究表明,郁金提取液可使辐射导致的抗过氧化酶流行性降低得到明显抑制,损伤细胞中的 CuZn-SOD、Mn-SOD 活性升高^[12]。推测郁金提取液可能是通过保护或提高抗氧化酶的活性,减少脂类过氧化物产生,发挥抗自由基损伤的作用。

本实验结果表明,本方有很强的清除氧自由基的作用,其中葛根和郁金起了重要作用,这与已有的药理研究是一致的。同时本方药物还有抑制凝血酶产生、减轻脑水肿、抑制和延缓神经细胞凋亡、扩张脑血管、增加脑血流量、改善微循环、防治再灌注损伤等作用(相关研究另行报道),全方共同作用,促使了脑出血大鼠模型的恢复,这与实验中大鼠行为学变化是一致的。

参考文献

- [1] 周中和,曲方,何祥,等.一种改良大鼠自体脑出血模型:二次注血/退针法[J].中国临床神经科学,2004,12(4):406.
- [2] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1):84-91.
- [3] Berdson JB, Pitts LH, Tsuiji 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.
- [4] 王钰,黄晓明,张歌心.破裂出血法治疗急性脑出血疗效观察[J].浙江中西医结合杂志,2002,12(10):607-608.
- [5] 李如奎,赵虹,张云云,等.丹参注射液治疗急性高血压脑出血 15 例疗效观察[J].中国中西医结合急救杂志,1999,6(10):462-465.
- [6] 股利春,黄晓明,杜杭根,等.葛根素对实验性脑出血大鼠脑水肿及脂质过氧化的反应影响[J].中国中西医结合急救杂志,2004,11(6):358-360.
- [7] 贾丛林.葛根素治疗脑挫裂伤致脑水肿 41 例[J].浙江中西医结合杂志,2005,15(2):106.
- [8] 张建飞,王长松,晋光荣,等.葛根素对大鼠脑出血后脑水肿、C3 和 C9 的影响[J].甘肃中医,2007,20(4):46-49.
- [9] 侯群,王钰,张歌心,等.葛根素治疗脑出血的临床疗效[J].中国临床药理学杂志,2002,11(4):204-206.
- [10] 李宗花,何凤云,王成文.郁金对低张性缺氧小鼠脑组织的保护作用[J].长春医学,2006,4(3):21-23.
- [11] 金惠铭.病理生理学[M].5 版.北京:北京人民卫生出版社,2000:81.
- [12] 兰凤英.郁金的药理作用及临床应用[J].长春医学,2006,4(4):68-69.

(收稿日期:2008-11-25 修回日期:2009-01-20)

(本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

新型自由基清除剂依达拉奉通过降低高迁移率族蛋白 B1 水平延长脓毒症生存期

自由基在脓毒症炎症反应过程中扮演重要角色。研究者设想,新型自由基清除剂依达拉奉可以通过减轻炎症反应,延长盲肠结扎穿孔术(CLP)脓毒症模型动物的生存期。他们将 32 头小猪麻醉后进行机械通气,其中 11 头小猪单纯行 CLP,10 头 CLP 后 30 min 给予依达拉奉治疗,另外 11 头 CLP 后 30 min 给予生理盐水作为对照。分别于 CLP 前及术后 1、3 和 6 h 检测平均动脉压(MAP)、心率(HR)、心排血量、血气分析指标、血清总过氧化物、亚硝酸盐(NOx)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)以及高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)。结果显示:与单纯 CLP 组相比,依达拉奉治疗组 CLP 后 1 h HR、血清总过氧化物较低,3 h HR、NOx 较低,6 h NOx 较低、MAP 较高。单纯 CLP 组术后 1 h 和依达拉奉治疗组术后 3 h TNF-α 水平均明显升高。依达拉奉治疗组 HMGB1 始终未发生改变,单纯 CLP 组术后 6 h HMGB1 水平升高。与单纯 CLP 组相比,依达拉奉治疗组生存时间较长[(15.4±1.4)h比(10.2±1.0)h, $P<0.005$]。研究者认为,依达拉奉能清除自由基,延缓 TNF-α 释放,预防 HMGB1 升高,维持血压稳定,延长脓毒症生存期。

白慧颖,编译自《Shock》,2009 年 3 月(电子版);胡 森,审校