

乌龙丹对多梗塞性痴呆模型大鼠血液粘度、内皮素及一氧化氮水平的影响

彭 康 臧莹莹

摘要 目的:通过复制多梗塞性痴呆(MID)大鼠模型,探讨乌龙丹对多梗塞性痴呆模型大鼠血液粘度、一氧化氮(NO)及内皮素(ET)的影响。方法:将SD大鼠分为空白对照组、模型组、乌龙丹高剂量组、低剂量组,分别观察大鼠学习记忆能力、血液粘度、NO、ET的变化。结果:模型组大鼠全血粘度显著升高,血浆ET含量和ET/NO增高,NO则下降;给药组大鼠全血粘度与模型组比较差异有显著性($P<0.01$),血浆ET、NO含量及ET/NO与模型组比较差异均有显著性($P<0.01$)。结论:血液粘度升高,血管及神经细胞等分泌的ET、NO失调参与了多梗塞性痴呆病理发展过程,且相互影响。乌龙丹对多梗塞性痴呆模型大鼠血液粘度升高、NO和ET分泌异常有对抗和调节作用。

主题词 痴呆,多发性梗塞性/中医药疗法 痴呆,多发性梗塞性/血液 @ 乌龙丹

血瘀是多梗塞性痴呆(MID)病理过程中的一个重要环节,对血瘀的认识从血液流态到血液成分的改变,进而到血管内皮细胞功能逐渐深入。我们采用大鼠颈内动脉推注干血悬液的方法造模,以其行为表现、病理改变及学习记忆水平作为模型成立的判定指标。用健脾补肾、活血化瘀通络的临床经验方乌龙丹制剂对MID大鼠进行干预治疗,以血液粘度、血浆内皮素(ET)和一氧化氮(NO)含量的变化作为主要观察指标,观察乌龙丹对多梗塞性痴呆大鼠上述指标的影响。

1 材料和方法

1.1 材料:清洁级SD大鼠70只,雌雄各半,体重 $270\text{g}\pm 30\text{g}$,由第一军医大学实验动物中心提供。实验前先进行Y型迷宫智力测试,对16次之内学会躲避电击的,选为学习记忆合格大鼠(共54只),并作记录(第1次)。

干血悬液的配制:取同种属的大鼠血,无菌自然干燥、研末,过200目筛,制成干血粉。将其溶于生理盐水中,浓度为1:200(即1g干血溶于200ml生理盐水中),混匀即为干血悬液。

乌龙丹的制作:方中制何首乌20g,黄芪30g,生晒

参10g,丹参10g,当归10g,川芎10g,地龙10g,葛根30g,全蝎6g等药物,用水煮醇提法提取浓缩,高剂量组配成4g/ml(即1ml药液中含生药4g),低剂量组为1g/ml。设备:R-80B血液粘度仪为中勤世帝公司产品。

试剂:ET放免药盒 NO试剂盒均购自北京东亚免疫技术研究所。

1.2 分组及实验方法:模型制作:参考文献[1]并做改进,常规麻醉、消毒,分离一侧颈内动脉,推注1:200干血悬液0.8ml。对照组仅分离一侧颈内动脉,不结扎,推注等量生理盐水。

给药方法:造模前3天开始灌胃给药直至造模后第8天。乌龙丹高、低剂量组大鼠灌胃给药,每次2ml,每日1次。对照组、模型组给予等量生理盐水。

学习记忆测试:应用Y型迷宫进行测试^[2]。(1)学习测试:造模后第7天,大鼠进行Y型迷宫学习测试,记录大鼠连续9次学会躲避电击的次数(第2次)。(2)记忆测试:已进行过学习测试的大鼠,于接下来的两天进行记忆测试,并记录(第3次、第4次)。

大鼠血液粘度测定:采用锥板法。模型制作8天后,大鼠腹主动脉取血,放入含有少量肝素钠的离心管中。以R-80B血液粘度仪测定其全血比粘度和血浆比粘度。

大鼠血浆ET测定:采用放射免疫法。模型制作8天后,大鼠腹主动脉取血2ml,注入含10%乙二胺四乙酸二钠30 μl 和抑肽酶40 μl 的试管中,混匀,4℃,3000r/min离心10min,分离血浆,-20℃保存待测。

大鼠血浆NO的测定:采用镉还原比色法。模型制作8天后,大鼠腹主动脉取血3ml,37℃温育1h,2000r/min离心5min,分离血浆,-44℃保存待测。

统计学方法:实验数据采用SPSS软件的单因素方差分析、完全随机设计的方差分析等进行分析。

2 结果

2.1 学习记忆测试:表1示,模型组躲避电击错误次数最多,乌龙丹组的错误次数明显减少($P<0.01$);用药组和模型组自身造模前后比较,大鼠的学习记忆水平差异有显著性($P<0.01$)。用药组与模型组比较,差异有显著性($P<0.01$),但仍未达到对照组水平。

基金项目:国家中医药管理局基金课题(95Y2121)

第一军医大学中医系,广东省广州市同和(510515)

收稿日期:2002-07-16;修回日期:2002-08-30

表 1 各组大鼠 Y 型迷宫测试结果比较(次, $\bar{x} \pm s$)

组 别	鼠数	第 1 次(实验前)	第 2 次	第 3 次	第 4 次
对照组	10	14.857±1.574	14.571±2.070	15.000±2.445	13.143±2.193
模型组	10	13.571±2.299	26.571±2.507*◆	26.429±3.690*◆	25.286±2.289*◆
高剂量组	10	15.286±1.800	19.000±3.109*▲◆	20.857±2.138*▲◆	14.413±2.268▲
低剂量组	10	14.125±2.900	20.875±2.100*▲◆	20.250±2.375*▲◆	21.250±2.605*▲◆

与对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,▲ $P<0.01$;与本组第 1 次比较,◆ $P<0.01$

表 2 各组血液粘度比较(mPa·s, $\bar{x} \pm s$)

组 别	鼠数	全血比粘度		血浆比粘度
		200s ⁻¹	5s ⁻¹	
对照组	10	3.87±0.97	7.64±1.06	1.44±0.08
模型组	10	7.21±1.02**	11.24±0.93**	2.52±0.15**
高剂量组	10	4.28±0.81△#	8.84±0.79△	1.54±0.11*△##
低剂量组	10	5.22±0.92*△	9.18±0.81*△	2.15±0.09*△

与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.01$;与低剂量组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$

表 3 各组血浆 ET、NO 含量及 ET/NO 比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	鼠数	ET(ng/L)	NO(μmol/L)	ET/NO
对照组	10	103.87±31.97	7.04±2.06	14.71±4.28
模型组	10	167.91±46.87**	2.60±0.43**	64.94±11.14**
乌龙丹高剂量组	10	120.18±34.51△	6.84±0.79△△	31.26±8.41**△△
乌龙丹低剂量组	10	155.32±40.91**	4.79±2.51*△	32.42±6.54**△△

与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$

2.2 各组血液粘度比较:表 2 示,实验大鼠造模后,模型组大鼠全血比粘度和血浆比粘度与对照组比较显著升高($P<0.01$),而给药组大鼠全血比粘度和血浆比粘度与模型组比较差异有显著性($P<0.01$),表明乌龙丹对多梗塞性痴呆模型大鼠血液粘度的升高有一定的对抗和治疗作用,且高剂量组作用较低剂量组更为显著。

2.3 各组血浆 ET、NO 含量及 ET/NO 比较:表 3 示,实验大鼠造模后,模型组大鼠血浆 ET 显著升高($P<0.01$),血浆 NO 含量组明显下降($P<0.01$),ET/NO 显著升高($P<0.01$)。给药组 ET 与模型组比较明显降低($P<0.05$),NO 显著升高($P<0.01$),ET/NO 降低($P<0.01$),表明乌龙丹对多梗塞性痴呆模型血浆 ET 升高和 NO 的降低有一定的对抗和治疗作用。

3 讨论

ET 具有强烈的收缩血管的作用,而 NO 有扩张血管的作用,它们的生理作用是相互拮抗的,两者通过内皮细胞、神经细胞等分泌,在效应细胞中相互作用,相互依赖,共同精细调节血管的舒缩运动。临床研究报道^[3],脑梗塞患者血浆 ET 含量和 ET/NO 增高,NO 则下降。本研究结果亦显示,多梗塞性痴呆模型大鼠血浆 ET 含量和 ET/NO 增高,NO 下降。ET、NO 参与了

梗塞的发生发展过程。同时,ET 和 NO 作为神经介质,广泛分布于中枢神经系统的神经元中,对中枢神经系统有重要的生理作用。NO 能作为神经递质传递细胞间的信息,它与乙酰胆碱一样对记忆的产生及维持具有重要作用。在多梗塞性痴呆模型中,NO 的显著降低,对大鼠的学习记忆功能产生明显的影响。

血瘀证的病理过程中,多有微循环障碍梗塞发生后,ET、NO 的平衡失调,进而使 NO 舒张血管作用、抑制血小板聚集和血栓形成、稳定溶酶体膜、对抗氧自由基损伤等作用减弱,而 ET 收缩血管作用增强。ET 与 NO 的相互平衡和拮抗作用的失调,导致血管收缩,血液瘀滞,血管通透性增加,血细胞聚集,血液呈高凝状态。本研究结果显示,在多梗塞性痴呆模型中,血液粘度显著升高,这与 ET 和 NO 的平衡失调有密切的关系。有研究表明^[3],血瘀证轻、中、重度间,以及血瘀证与非血瘀证 ET、NO 的平衡失调的严重程度亦存在着差异,与血瘀证的程度相平行,因而推测血管内皮细胞的内分泌功能失衡与血瘀证的发病机理密切相关,ET、NO 的比例失调是血瘀证的病理基础之一。

乌龙丹是以益气健脾补肾、活血通络化痰为治则组方的中药制剂。我们认为,MID 的基本病理是本虚标实,本虚即脾肾亏虚,脑髓失养;标实为血瘀痰浊阻滞,经络失活。本实验结果表明,该方对多梗塞性痴呆模型大鼠血液粘度升高以及血浆 ET 升高和 NO 的降低有一定的对抗和治疗作用。此作用与该方的活血化痰功效有关,这对防止 MID 进一步发展和改善学习记忆功能有积极的作用。我们以前的研究工作证实了乌龙丹具有改善大脑微循环、调节单胺类神经递质和抗脑缺血的作用,从本实验的结果可以看出,该方对血管内皮细胞功能的调节作用是其改善大脑微循环、抗脑缺血和改善学习记忆功能作用机制的一部分。

参考文献

1 陈俊抛,田时雨,于薇薇,等. 多发性脑梗塞痴呆的动物模型的研究. 中华神经科杂志,1994,27(5):311-312.
2 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海:上海科学技术出版社,1991:173-186.
3 余运贤,梁晖,黄健,等. 急性脑梗塞血瘀证与一氧化氮、内皮素相关性研究. 中国中西医结合杂志,2000,20(7):501-503.