

实验研究

中风星蒺通腑胶囊对急性脑缺血大鼠
脑组织中氨基酸平衡的影响刘向哲¹ 指导:王新志¹ 傅蔓华²

摘要 目的:观察中风星蒺通腑胶囊对急性脑缺血大鼠脑组织中氨基酸平衡的影响。方法:以急性全脑缺血大鼠为模型,用华佗再造丸作阳性对照,将 72 只普通级 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性对照组及中风星蒺通腑胶囊高、中、低剂量组,分别灌胃取材后,测定脑组织中兴奋性氨基酸(EAA),即谷氨酸(Glu)、天门冬氨酸(Asp)和抑制性氨基酸(IAA),即 γ -氨基丁酸(GABA)、甘氨酸(Gly)含量。结果:急性脑缺血损伤后,模型组大鼠脑组织中 Glu、Asp、GABA 及 Gly 含量明显升高,在降低脑组织 Glu、Asp 方面,中风星蒺通腑胶囊高、中、低剂量组均效果显著,与模型组比较,差异有显著性($P < 0.01$),同时高、中剂量组也使升高的 GABA、Gly 降低($P < 0.01$),华佗再造丸组对 Glu、Asp、GABA 及 Gly 含量影响均不明显($P > 0.05$)。结论:中风星蒺通腑胶囊具有调节 EAA/IAA 平衡的作用,而且其作用优于华佗再造丸。

主题词 脑缺血 中医药疗法 氨基酸类/药物作用 @ 中风星蒺通腑胶囊

急性缺血性中风是严重危害中老年人身体健康的主要疾病之一。为了探讨中风星蒺通腑胶囊治疗急性缺血性中风的作用机理及其调节兴奋性氨基酸(EAA)/抑制性氨基酸(IAA)平衡的作用,我们对该制剂作了深入研究,现报道如下。

1 材料

1.1 实验动物:Wistar 大鼠 72 只,普通级,雌雄兼用,体重 300 ± 10 g。

1.2 实验药物:中风星蒺通腑胶囊[郑药制剂(2001)BW-10203]由大黄、胆南星、瓜蒌、枳实、丹参等组成,0.5g/粒,由河南中医学院一附属医院制剂室提供。批号:010305。将该药的浸膏粉加入由蒸馏水制成的 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液中,分别配制成浓度为 37.5%、25%和 12.5%的混悬药液,按 3.75g/kg、2.5g/kg、1.25g/kg 灌胃,相当于成人量的 30 倍、20 倍和 10 倍,依次为高剂量组、中剂量组和低

剂量组。华佗再造丸[粤卫药准字(1996)第 115066 号],每粒 0.16g,由广州奇星药业有限公司生产。批号:0105259。将该药研细面,加入由蒸馏水制成的 0.5%CMC-Na 溶液中,配制成浓度为 27.6%的混悬药液,按 2.76g/kg 灌胃,相当于成人量的 10 倍。

1.3 主要实验试剂与仪器:乌拉坦由上海曹杨第二中学化工厂生产,批号:990411。CMC-Na 为上海化学试剂分装厂分装,批号:9801275。谷氨酸(Glu)、天门冬氨酸(Asp)、 γ -氨基丁酸(GABA)、甘氨酸(Gly)标准品为 Sigma 公司生产,批号:010306。932 型电热烧灼器由上海医疗器械厂生产。LD-TA 型离心机由北京医用离心机制造厂生产。CS-9301PC 型薄层扫描仪由日本 SHIMADZU 公司生产。

2 方法

2.1 动物分组及给药方法:Wistar 大鼠随机分为 6 组,即假手术组、模型组、华佗再造丸组和中风星蒺通腑胶囊高、中、低剂量组各 12 只。除假手术组外,其余各组均施行全脑缺血手术,术前 5 天给予相应药物灌胃,每日 1 次。各组最后一次给药均在手术前 1h 进行。假手术组和模型组大鼠给予 0.5%CMC-Na 灌胃,与其它组动物同期喂养(均给普通饮食),同时处死。

2.2 动物模型的制备:采用四血管阻断法^[1]制造大鼠急性全脑缺血模型,用 20%乌拉坦按 0.5ml/100g 的剂量腹腔麻醉大鼠,先背位固定,颈前备皮,外科消毒,切开颈前区皮肤 2~3cm,沿气管两侧分离左右颈总动脉,穿线备用。然后改为腹位固定,颈后备皮,外科消毒,矢状切开头顶部正中皮肤,沿正中中线分开背阔肌和斜方肌,以第一颈椎横突为标志,分离暴露横突翼小孔,对准翼小孔,用直径 0.5mm 的电凝器烧灼凝固双侧横突孔内的椎动脉,造成永久性阻塞。稳定 3~5 分钟后,用套有硅胶管的动脉夹夹闭双侧颈总动脉,造成弥漫性全脑缺血。缺血 30 分钟后处死,断头取脑,采集标本。假手术组动物仅在双侧颈总动脉下穿线,不进行结扎处理,且分离暴露第一颈椎横突孔后,不电凝椎动脉,余同模型组。

2.3 Glu、Asp、GABA 及 Gly 的测定:参照文献[2,3],

1 河南中医学院第一附属医院脑病一区,郑州市人民路 19 号 (450004)

2 河南省中医药研究院

收稿日期:2003-05-06;修回日期:2003-07-01

表1 对急性脑缺血大鼠脑组织中 Glu、Asp 含量的影响($\mu\text{g/g}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	Glu	Asp
假手术组	12	1231.97 $\pm$ 65.25	293.15 $\pm$ 11.66
模型组	11	1923.26 $\pm$ 63.25**	399.68 $\pm$ 18.48**
华佗再造丸组	10	1883.31 $\pm$ 54.16**	380.08 $\pm$ 32.22**
星蒺通腑高剂量组	12	1259.57 $\pm$ 80.68 [#] Δ	303.84 $\pm$ 24.27 [#] Δ
星蒺通腑中剂量组	10	1284.52 $\pm$ 74.35 [#] Δ	308.59 $\pm$ 33.11 [#] Δ
星蒺通腑低剂量组	11	1303.15 $\pm$ 85.85 [#] Δ	374.81 $\pm$ 19.07** [#]

与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与华佗再造丸组比较, Δ $P<0.01$ 。另外,实验过程中死亡6只大鼠。下表同

表2 对急性脑缺血大鼠脑组织中 GABA、Gly 含量的影响($\mu\text{g/g}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	GABA	Gly
假手术组	12	488.93 $\pm$ 34.69	425.30 $\pm$ 39.87
模型组	11	634.28 $\pm$ 44.57**	580.61 $\pm$ 51.47**
华佗再造丸组	10	619.12 $\pm$ 37.81**	573.76 $\pm$ 42.76**
星蒺通腑高剂量组	12	474.18 $\pm$ 32.73 [#] Δ	439.03 $\pm$ 49.71 [#] Δ
星蒺通腑中剂量组	10	478.87 $\pm$ 41.44 [#] Δ	472.33 $\pm$ 50.94 [#] Δ
星蒺通腑低剂量组	11	575.78 $\pm$ 53.99** [#] Δ	555.29 $\pm$ 41.32**

大鼠断头处死后,迅速剥离大脑,快速于冰盘上分离大脑半球。取右侧半球漂洗、拭干、称重(1min内完成)后,用预冷的80%酸化乙醇在冰浴中制成1:5的脑匀浆,置冰箱内1h,以2300r/min 0℃离心20min,取上清液经乳化、离心、点样、展开、显色后,以薄层扫描仪测定Glu、Asp、GABA及Gly含量,以 $\mu\text{g/g}$ 表示。

2.4 统计学处理:用SPSS10.0 for Windows 统计分析软件处理。计量资料以均数($\bar{x}$) $\pm$ 标准差(s)表示,组间比较采用方差齐性检验及单因素方差分析LSD法。

3 结果

3.1 对急性脑缺血大鼠脑组织中 Glu、Asp 含量的影响:表1示,与假手术组比较,急性脑缺血模型组脑组织中 Glu、Asp 含量均明显升高($P<0.01$),中风星蒺通腑胶囊低剂量组和华佗再造丸组也升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而高、中剂量组与假手术组差异无显著性($P>0.05$)。与模型组比较,中风星蒺通腑胶囊高、中、低各剂量组在降低脑组织中 Glu、Asp 含量方面效果显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3.2 对急性脑缺血大鼠脑组织中 GABA、Gly 含量的影响:表2示,与假手术组比较,急性脑缺血模型组大鼠脑组织中 GABA、Gly 含量明显升高($P<0.01$),中风星蒺通腑胶囊低剂量组和华佗再造丸组 GABA、Gly 也升高($P<0.01$)。与模型组比较,中风星蒺通腑胶囊高、中剂量组在降低脑组织中 GABA、Gly 含量方面效

果显著($P<0.01$)。中风星蒺通腑胶囊低剂量组对于降低脑组织中 GABA 也有显著效果($P<0.01$)。

4 讨论

Glu 和 Asp 是中枢神经系统的兴奋性递质,又称兴奋性氨基酸(EAA)。脑缺血引起突触前膜去极化,Glu 被大量释放到细胞外,而神经胶质和神经元摄取 Glu 的功能由于缺血所致的能量耗竭而下降,使细胞外液 Glu 水平显著升高,呈现兴奋性毒性作用^[4]。GABA 和 Gly 是中枢神经系统的抑制性递质,又称抑制性氨基酸(IAA)。急性脑缺血损伤后,GABA、Gly 明显升高认为是一种保护机制,推测可能是继发于 Glu 升高所致。GABA 可以使氯离子进入细胞,从而使膜超极化,拮抗 EAA 所致的去极化作用,对细胞起到保护性作用,但目前仍有争议。Globus 等人在研究脑缺血损伤机理时,提出了 EAA/IAA 失衡及兴奋性毒性指数(EI)的概念^[6],EI 为 Glu $\times$ Gly/GABA 的比值,认为它才是决定 EAA 毒性的因素。所以,我们认为在研究 EAA 在缺血性脑损伤中的作用时应同时观察 IAA 的变化,观察作为神经递质的氨基酸在缺血性脑损伤的发生发展过程中的相互作用,这对寻求缺血性脑损伤的保护途径可能提供新的方向。

中风星蒺通腑胶囊用于治疗急性缺血性中风痰热腑实证,临床疗效显著^[7]。方中大黄、胆南星为君药,大黄有通腑泻热、活血逐瘀之功,胆南星清热化痰,息风定惊。二药配伍可通腑攻下,化痰清热,活血通络。瓜蒌、枳实、丹参为臣药,共助君药荡涤痰热、通腑下气、活血祛瘀。

总之,中风星蒺通腑胶囊可能具有调节 EAA/IAA 平衡的作用,其确切作用机制有待进一步研究。

参考文献

- Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*, 1979, 10(3):267-272.
- 周羲,赵天睿,南国华.小白鼠脑内某些递质氨基酸的单相下行纸层析法分离和定量. *江西医学院学报*, 1985, 2(3):17-20.
- 章育中,郭希胜.薄层层析法和薄层扫描法.北京:中国医药科技出版社,1990:261-315.
- Nicholls D, Attwell D. The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends Pharmacol Sci*, 1990, 11(11):462-468.
- Globus MY, Busto R, Martinez E, et al. Comparative effect of transient global ischemia on extracellular levels of glutamate, glycine and γ aminobutyric acid in vulnerable and nonvulnerable brain regions in the rat. *J Neurochem*, 1991, 57(2):470-478.
- Globus MY, Busto R, Martine E, et al. Ischemia induces release of glutamate in regions spared from histopathologic damage in the rat. *Stroke*, 1990, 21(Suppl 1):43-47.
- 王新志,李燕梅,刘向哲,等.中风星蒺通腑胶囊治疗急性缺血性中风120例临床疗效观察. *中医药学刊*, 2002, 20(2):153-155.