

补气活血饮对急性脑缺血模型大鼠血液流变学及肿瘤坏死因子 α 的影响

崔书克¹ 刘成藏¹ 王 辉²

(1. 河南中医学院第三附属医院, 郑州市金水路 1 号, 450008 2. 河南中医学院药学院)

[摘要] 目的 观察补气活血饮对急性脑缺血模型大鼠的干预作用。方法 将 SD 大鼠 60 只随机分为假手术组、模型组、尼莫地平组、补气活血饮高、中、低剂量组, 每组 10 只。除模型组和假手术组外给予药物灌胃, 灌胃 5 天后, 第 6 天制备急性脑缺血模型, 造模前 1h 最后一次给药, 第 6h、12h、24h 后腹主动脉取血进行肿瘤坏死因子 α (TNF α) 测定, 第 24h 后进行血液流变学检查。结果 与模型组比较, 尼莫地平组与补气活血饮高、中剂量组全血高切黏度、全血低切黏度、红细胞聚集指数均有所降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 纤维蛋白原均升高 ($P < 0.01$); 与尼莫地平组相比, 补气活血饮高剂量组红细胞聚集指数、纤维蛋白原的改善均由于尼莫地平组 ($P < 0.05$)。与假手术组比较, 模型组血清 TNF α 含量于 6h 开始升高, 12h 达到高峰。与同时时间点模型组比较, 各治疗组血清 TNF α 含量均有不同程度的下降, 补气活血饮中、低剂量组在 6h、12h 有效地降低了 TNF α 含量, 而补气活血饮高剂量在 24h 仍使 TNF α 含量保持在较低的水平上 ($P < 0.01$), 且在 12h 时优于尼莫地平组 ($P < 0.05$)。结论 补气活血饮能改善大鼠急性脑缺血血液流变学病理改变和抗炎症损伤, 尤其是 12h 起给与高剂量治疗效果更好。

[关键词] 补气活血饮; 急性脑缺血; 肿瘤坏死因子 α ; 血液流变学; 大鼠

Effect of Buqi Huoxue Decoction on the Hemorheology and Tumor Necrosis Factor- α of Model Rats with Acute Cerebral Ischemia
CUI Shuke¹, LIU Chengzang¹, WANG Hui²

(1. The Third Affiliated Hospital, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008; 2. Pharmacy school, Henan University of Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To observe the interference action of Buqi Huoxue Decoction (Herbal decoction for reinforcing qi and activating blood) on the model rats with acute cerebral ischemia. **Methods** Sixty SD rats were randomized into 6 groups, i. e. sham operation group, model group, nimodipine group, and Buqi Huoxue Decoction groups of high, middle, and low dosages, with 10 rats in each. Except the model and sham operation groups, the others were given Buqi Huoxue Decoction through intragastric gavage for 5 days. The acute cerebral ischemia models were made on the sixth day. One hour before modeling, the last medication was applied. At the time point 6h, 12h, and 24h, the blood sample was taken from the aorta abdominalis for detecting the tumor necrosis factor- α (TNF- α). After 24h, the hemorheology test was performed. **Results** Compared with the model group, the whole blood viscosity including the high shear rate and low shear rate and erythrocyte aggregation index of the Nimodipine group and Buqi Huoxue Decoction groups of high and middle dosages were lowered ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), fibrinogen increased ($P < 0.01$). Compared with the Nimodipine group, the erythrocyte aggregation index of the Buqi Huoxue group of high dosage and the improvement of fibrinogen were both better than those of Nimodipine group ($P < 0.05$). Compared with the sham operation group, plasma TNF- α content in the model group started to increase at the time point of 6h and reached to the peak at 12h. Compared with the same time point in the model group, plasma TNF- α content in all treated groups was decreased, the TNF- α content of Buqi Huoxue groups of middle and low dosages at 6h and 12h was effectively decreased, while the TNF- α content of Buqi Huoxue group of high dosage was still kept at a low level at 24h ($P < 0.01$), and at 12h it was better than that of the Nimodipine group ($P < 0.05$). **Conclusion** Buqi Huoxue Decoction can improve the pathological changes of hemorheology and the anti-inflammation damage of the rats with acute cerebral ischemia, particularly, a better effect can be achieved with the high dose given if starting from the 12 hours after the damage.

Key Words Buqi Huoxue Decoction (Herbal decoction for reinforcing qi and activating blood); Acute cerebral ischemia; Tumor necrosis factor- α (TNF- α); Hemorheology; Rats

中风病的发病率高, 病死率高, 致残率高, 其中缺血性中风占全部脑中风的 80%^[1], 如何准确把握时机, 适时治疗对缺血性中风预后有着十分重要的意义。中

药补气活血饮在防治缺血性中风急性期方面应用多年, 疗效肯定。研究表明, 肿瘤坏死因子 α (TNF α) 作为一种多功能的细胞因子, 与缺血性脑血管病关系密切^[2]。血液流变学的异常在中风发病中也有重要意义^[3]。因此, 本研究拟动态观察补气活血饮对急性脑血管病模型的干预作用, 以探索其作用机制。

基金项目: 河南省教育厅自然科学研究资助计划项目 (2008 A360010)

通讯作者: 崔书克, shuke618@ yahoo.com.cn, 13607698516

1 材料与方法

1.1 药物与试剂

补气活血饮由当归 10g 阿胶 5g 川芎 15g 丹参 15g 天麻 12g 胆南星 10g 伸筋草 8g 络石藤 12g 川牛膝 15g 组成,药材均一次性购于河南省药材公司,均经河南中医学院药学院进行药材鉴定。制备方法:各组药物以总体积的 4 倍量水冷浸 1h,煮沸 40min,共 2 次,合并滤液,文火浓缩制成(含生药)浓度为 2.7g/ml,按等容原则,每只大鼠每日灌胃 3ml/100g(分 2 次),把浓缩液按药与蒸馏水 5:1 2:1 1:1 的比例,配制为高剂量(2.25g/ml) 中剂量(1.8g/ml) 低剂量(1.35g/ml)的浓缩液,瓶装置 4℃ 冰箱备用;尼莫地平片(20mg 粒),国药准字 H10910080,购自河南省医药公司,把药片碾碎加入蒸馏水制成 20% (100ml 蒸馏水中加入 1 片尼莫地平)混悬液;20^u g/ml 蛋白酶 K(郑州康桥生物技术有限公司);TNF-α 试剂盒(北京东亚免疫技术研究所,批号:2004924)。

1.2 主要仪器

LGR80A 血液流变学仪(北京中勤公司生产)。

1.3 实验动物与分组

选用 SD 健康大鼠 60 只,体重(300±20)g,雌雄各半(由河南省实验动物中心提供,许可证号:050906),随机分为 6 组:假手术组、模型组、尼莫地平组、补气活血饮高、中、低剂量组,每组 10 只。试验室温(22±2)℃,相对湿度 60%,常规饲料喂养,饮水量不限。实验前置动物于室内适应环境 1 周,室温控制在 20~25℃,采用架式分笼喂养,标准饲料,饮水为自来水。

1.4 模型制备

按照经典造模方法[4]制备急性脑缺血大鼠模型。用 10% 水合氯醛腹腔内注射麻醉大鼠,颈部正中剃毛后切口,分离右侧颈总、颈外、颈内(ICA)动脉及其分支,右侧颈总动脉远端置线结扎,近端备线;在颈内外动脉分叉处结扎颈外动脉起始段,结扎颈内动脉的分支翼腭动脉,并用电凝灼断和颈内动脉并行的分支小动脉。于颈总动脉上距分叉处约 0.5cm 斜形切口,插入

直径约为 0.26mm 的栓线。栓线进入 ICA,穿过大脑中动脉(MCA)起始端至大脑前动脉近端,阻断 MCA 的所有血流来源,扎紧颈总近端备线,固定栓线,缝合伤口。死亡者剔除。假手术组仅分离不结扎不插线,余同手术组。动物清醒后按照 Longa 的 5 分法评分(0 分:无神经缺损症状;1 分:左前肢不能完全伸直;2 分:向左旋转;3 分:向左侧倾倒;4 分:不能自己行走或昏迷)。1~4 分为有效模型。

1.5 给药方法

补气活血饮高、中、低剂量组分别给予临床用药量的 25、20、15 倍水煎浓缩液灌胃,用量均按人与大鼠体表面积等效剂量折算,各组动物每日给予 3ml/100g 等溶灌胃给药,每天 2 次,每次 1.5ml/100g。每组每日给药量为:假手术组,给予蒸馏水 3ml/100g;模型组,给予蒸馏水 3ml/100g;尼莫地平组,给予尼莫地平混悬液 3ml/100g(0.6mg/100g);补气活血饮高剂量组,给予补气活血饮 3ml/100g(6.75g/100g);补气活血饮中剂量组,给予补气活血饮 3ml/100g(5.4g/100g);补气活血饮低剂量组,给予补气活血饮 3ml/100g(4.05g/100g)。灌胃 5 天后,第 6 天采用线栓法复制大鼠急性脑缺血模型,造模前 1h 最后一次给药。

1.6 观察指标及测定

各组大鼠于造模后第 6h、12h、24h 后腹主动脉取血进行 TNF-α 测定,第 24h 后进行血液流变学检查。

1.7 统计学方法

采用 SPSS12.0 统计软件处理,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较用 *q* 检验(SNK 法)。

2 结果

2.1 各组大鼠治疗前后血液流变学指标比较

表 1 示,与模型组比较,尼莫地平组、补气活血饮高、中剂量组全血高切黏度、全血低切黏度、红细胞聚集指数均有所降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),纤维蛋白原均升高($P < 0.01$);与尼莫地平组相比,补气活血饮高剂量组红细胞聚集指数、纤维蛋白原的改善均优于尼莫地平组($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠治疗前后血液流变学指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	全血高切黏度 (mPa·s ⁻¹)	全血低切黏度 (mPa·s ⁻¹)	红细胞聚集指数 (%)	纤维蛋白原 (g/L)
假手术组	10	3.90±0.39	9.71±1.50	2.25±0.17	2.89±0.41
模型组	10	7.95±0.90	19.14±1.61	5.07±0.80	7.14±0.96
尼莫地平组	8	5.41±0.65 [*]	16.73±0.86	4.02±0.75 [*]	5.28±0.70 [*]
补气活血饮高剂量组	9	5.34±0.66 [*]	16.57±0.89 [*]	3.60±0.77 ^{*△}	5.54±0.61 ^{*△}
补气活血饮中剂量组	9	6.60±0.80 [*]	17.46±1.18	3.82±0.76	5.65±0.66 [*]
补气活血饮低剂量组	5	7.39±0.54	17.18±1.19	3.80±0.88	5.98±0.78 [*]

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,与尼莫地平组比较,△ $P < 0.05$

2.2 补气活血饮对局灶性脑缺血大鼠血清 TNF-α 的影响

表 2 示,与假手术组比较,模型组血清 TNF-α 含量于 6h 开始升高,12h 达到高峰。与同时点模型组比较,各治疗组血清 TNF-α 含量均有不同程度的下降,补气活血饮中、低剂量组在 6h、12h 有效地降低了 TNF-α 含量,而高剂量在 24h 仍使 TNF-α 含量保持在较低的水平上 ($P < 0.01$),且在 12h 时优于尼莫地平组 ($P < 0.05$)。提示高剂量能够持续地降低脑组织 TNF-α 含量。

表 2 各组大鼠治疗后 3 个时间点 TNF-α 含量比较 ($\mu\text{g/g}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6h	12h	24h
假手术组	10	3.46 $\pm$ 0.31	3.47 $\pm$ 0.32	3.45 $\pm$ 0.41
模型组	10	4.01 $\pm$ 0.46	4.13 $\pm$ 0.32*	4.08 $\pm$ 0.31 [†]
尼莫地平组	8	3.47 $\pm$ 0.42 [△]	3.74 $\pm$ 0.31 [†]	3.70 $\pm$ 0.37
补气活血饮高剂量组	9	3.44 $\pm$ 0.34 ^{△△}	3.68 $\pm$ 0.31 ^{△△▲}	3.67 $\pm$ 0.24 ^{△△}
补气活血饮中剂量组	9	3.47 $\pm$ 0.32 [△]	3.73 $\pm$ 0.29 [△]	3.70 $\pm$ 0.34
补气活血饮低剂量组	5	3.48 $\pm$ 0.33 [△]	3.74 $\pm$ 0.38 [△]	3.70 $\pm$ 0.36

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,* * $P < 0.01$;与模型组比较,[†] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与尼莫地平组比较,▲ $P < 0.05$

3 讨论

缺血性中风发病机制中,虽然虚、火、风、痰、气、血六端互相影响,相互作用,但在急性期以虚、瘀为主,气虚血瘀脉阻为急性缺血性中风的主要病机。依据此病机,本课题组在多年的临床实践中,组方补气活血饮,用于缺血性中风的急性期治疗,常获较好疗效,该方由当归、阿胶、川芎、丹参、天麻、胆南星、伸筋草、络石藤、川牛膝等组成。方中当归、阿胶活血补血,共为君药。川芎、丹参活血化瘀,以去瘀血,当归与枸杞子配伍既能活血,又能补血滋阴,使新血生。新血得生,才能荣养脑脉,润养经络。天麻性甘平,入肝经,有熄风止痉,平抑肝阳,祛风通络之功效。胆南星、伸筋草、络石藤活血通络化痰,熄风止痉。川牛膝引血下行而为使。全方共奏

补气活血,兼以通络熄风之效

脑组织缺血常伴随血液流变学改变^[3],本研究表明,尼莫地平组、补气活血饮高、中剂量组能降低血液黏度 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),与尼莫地平组相比,高剂量组红细胞聚集指数、纤维蛋白原的改善均优于尼莫地平组 ($P < 0.05$)。提示了高剂量的补气活血饮能够较为持久地改善脑缺血的高凝状态。研究表明,脑组织局部缺血灶 TNF-α 基因表达水平增强^[5]。本实验结果显示,脑缺血后各治疗组血清 TNF-α 含量均有不同程度的下降,给与补气活血饮中、低剂量治疗后的 6h、12h TNF-α 含量明显下降,而高剂量在 24h 仍使 TNF-α 含量保持在较低的水平上,且在 12h 优于尼莫地平组 ($P < 0.05$)。提示高剂量能够持续地降低脑缺血后 TNF-α 含量。

综上所述,补气活血饮能够通过降低脑缺血后 TNF-α 含量,改善血液流变学等途径,尤其是缺血后及早给予中药治疗,脑保护作用更好,发挥其对急性脑缺血模型的保护作用。由于急性脑缺血的形成是多因素的^[5],补气活血饮对急性脑缺血模型有效干预作用可能是多方面作用的结果,其作用机理有待深入探讨。

参考文献

- [1] 黄如训. 脑卒中 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1.
- [2] 毛小平, 彭蕾, 李翔. 老年急性脑梗死患者血清肿瘤坏死因子 α 测定的临床意义 [J]. 中华老年医学杂志, 2001, 20(6): 454-455.
- [3] 李积荣, 陈丽萍, 汪晓筠. 脑梗死与氧化低密度脂蛋白和血液流变学指标的关系 [J]. 武警医学, 2004, 15(8): 584-586.
- [4] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1060-1061.
- [5] 黄庆仪, 湛剑飞, 马雅玲, 等. 急性缺血性中风气虚证 TNF-α、IL-6 的相关性探讨 [J]. 吉林中医药, 2001, 2(3): 4-5.

(收稿日期: 2009-11-24; 修回日期: 2010-01-28)

[编辑: 行之]

关于协助医疗机构制剂研发、申报的通知

广州和华中药研究开发有限公司所属中华中医药学会(广东)中医药研发合作中心是一家从事开发和推广中医药科技成果,科技攻关,提供技术咨询,组织重点制剂研发,以中药新产品、新技术、新工艺的研究开发,产业化为特色的机构。中心开展与国际及港澳台地区学术交流,加强同有关国际及地区学术团体与学者的联系,传递最新科技信息。目前我们拥有精通药学、医学知识并谙熟政策法规的研究人员,且聘请学术权威和评审专家,为所研项目把关,从而最大限度地降低新产品研发风险和开发成本,缩短新产品的开发周期。促使中医药科技成果尽快实现产业化。为和华中药的不断发展奠定了良好的基础。

我们为您提供以下的服务:

1. 开发和推广中医药科技成果,组织重点制剂研发,科技攻关,为有关部门提供科技咨询。
2. 开展与国际及港澳台地区学术交流,加强同有关国际及地区学术团体及学者的联系,传递最新科技信息。
3. 协助医院申报剂型的科研项目。
4. 协助医院申报制剂批文,办理批件再注册、续约及相关事宜等全程服务。
5. 授权医院无偿试用我们的科研新成果。
6. 提供合作平台,委托加工药用剂型。

联系地址: 中国广州市沿江中路 298 号江湾商业中心 130 室,邮编: 510110,电话: 020-83283661, 020-83283665, 020-83283669, 13711111917(秦主任),传真: 020-83283667,邮箱: hehuatcm@yahoo.cn,网址: www.hehuatcm.com