

天舒胶囊对电刺激硬脑膜诱导偏头痛模型大鼠神经递质的影响

孙晓萍^{1,2,3}, 陈健^{1,2,3}, 陈春苗^{1,2,3}, 刘露^{1,2,3}, 周军^{1,2,3}, 许治良^{1,2,3}, 王振中^{1,2,3}, 萧伟^{1,2,3*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

3. 江苏省企业院士工作站, 江苏 连云港 222001

摘要: **目的** 研究天舒胶囊对电刺激大鼠上矢状窦区硬脑膜诱导偏头痛模型的影响, 并探讨其作用机制。**方法** 雄性SD大鼠, 脑部电极植入术后, ig给予天舒胶囊(1.08、0.36、0.18 g/kg), 阳性药对照组ig琥珀酸舒马普坦片(9.72 mg/kg), 除对照及假手术组外, 行电压10 V、频率3 Hz、脉宽0.25 ms、时间1 h电刺激, 对照组不予手术, 并于刺激0、30、60 min进行眼眶采血, 采血后取脑组织。采用放射免疫法检测血浆和脑组织中降钙素基因相关肽(CGRP)、P物质和去甲肾上腺素(NE)水平。**结果** 假手术组与对照组比较大鼠脑组织中CGRP、P物质和NE水平均无显著性差异; 与假手术组相比, 模型组大鼠脑组织中CGRP明显升高、P物质和NE水平明显降低($P < 0.05$), 提示模型成功。与模型组相比, 天舒胶囊可以显著提高大鼠血浆和脑中NE水平($P < 0.05$), 降低CGRP水平($P < 0.05$), 阳性药舒马普坦可以明显降低血浆中CGRP水平($P < 0.05$)。**结论** 天舒胶囊对电刺激上矢状窦区硬脑膜大鼠脑部损伤具有显著改善作用, 其作用机制之一为调节神经递质释放。

关键词: 天舒胶囊; 偏头痛; 硬脑膜; 降钙素基因相关肽; P物质; 去甲肾上腺素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)20-2963-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.20.018

Effect of Tianshu Capsule on neurotransmitter in rat model of dura mater following electrical stimulation

SUN Xiao-ping^{1,2,3}, CHEN Jian^{1,2,3}, CHEN Chun-miao^{1,2,3}, LIU Lu^{1,2,3}, ZHOU Jun^{1,2,3}, XU Zhi-liang^{1,2,3}, WANG Zhen-zhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of Pharmaceutical New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China

3. Enterprises Academician Workstations in Jiangsu Province, Lianyungang 222001, China

Abstract: **Objective** To study the effect of Tianshu Capsule on the rat dura mater model of superior sagittal sinus following electrical stimulation and discuss its mechanism. **Methods** Male SD rats after brain electrode implantation were started on Tianshu Capsule at the doses of 1.08, 0.36, and 0.18 g/kg. Sumatriptanm Tablets at the dose of 9.72 mg/kg were ig given as a positive drug. Except control and Sham groups, the electrical stimulation was carried out in a voltage of 10 V, frequency of 3 Hz, pulse width of 0.25 ms, and time of 1 h. No operation was taken in the control group. The orbital blood was taken after 0, 30, and 60 min of the stimulation than taking brain tissue. The contents of calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P, and norepinephrine (NE) in plasma and brain tissue were detected by radio immunoassay. **Results** Compared with the control group, there was no significant difference of CGRP, substance P, and NE contents in brain tissue of rats in the Sham group. Compared with the Sham group, CGRP in the brain tissue of rats in normal group was increased obviously, while substance P and NE levels were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the Tianshu Capsule could increase the content of NE in plasma and brain tissue ($P < 0.05$) while decrease CGRP level ($P < 0.05$). And Sumatriptanm Tablets could reduce the content of CGRP in plasma ($P < 0.05$). **Conclusion** The Tianshu Capsule could significantly improve the damage of rat dura mater of superior sagittal sinus following electrical stimulation by releasing neurotransmitter, which may be the mechanisms of migraine treatment.

Key words: Tianshu Capsule; migraine; dura mater; calcitonin gene-related peptide; substance P; norepinephrine

收稿日期: 2014-05-09

基金项目: 国家科技部重大新药创制(2011ZX09401-097)

作者简介: 孙晓萍(1981—), 女, 硕士, 从事药物作用机制与药物代谢研究。Tel: (0518)85521946 E-mail: sunxiaoping721@163.com

*通信作者 萧伟, 博士, 研究员级高级工程师, 研究方向为中药新剂型的研究与开发。Tel: (0518)85521956 E-mail: wzzh-nj@tom.com

偏头痛是人类常见的顽疾之一,但发病机制尚不明确,近年来,随着对偏头痛研究的不断深入,人们将其分为3种学说,尤以神经源性炎症学说得到广泛认可^[1-4]。由不同的发病机制而建立的偏头痛模型中,电刺激大鼠上矢状窦区硬脑膜可激活大鼠脑部三叉神经血管系统,诱发硬脑膜神经源性炎症,导致血流量增加,形成电刺激硬脑膜偏头痛动物模型,该模型最具偏头痛发作时病理生理特征。

天舒胶囊源自《宣明论方》中所记载的大川芎方,由川芎和天麻组成,具有活血通络、息风止痛之功效。临床主治偏头痛、紧张性头痛、颈性眩晕所致头痛等。研究表明^[5-7],天舒胶囊对硝酸甘油所致的大鼠偏头痛有显著改善作用,该药可抑制软脑膜血管的异常扩张,平衡与疼痛相关的神经递质的释放。同时,天舒胶囊也可扩张脑血管,增加脑部血流量,改善脑膜微循环。孙晓萍等^[8]通过研究天舒胶囊对利血平致小鼠偏头痛的影响,证明该药对利血平低化5-HT致小鼠偏头痛有显著改善作用,其平衡神经递质释放、抑制偏头痛发作期血管过度扩张可能是作用机制之一。但天舒胶囊对神经源性炎症所致偏头痛的作用机制尚不明确。本实验选择刺激大鼠脑部上矢状窦区硬脑膜,频率3 Hz,刺激时间1 h,并在刺激0、30 min和1 h对大鼠进行眼眶采血,1 h后取大鼠脑组织,检测血浆和脑组织中降钙素基因相关肽(CGRP)、P物质和去甲肾上腺素(NE),研究天舒胶囊对电刺激大鼠上矢状窦区硬脑膜的影响,探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

Medlab-v/8c生物信号采集处理系统(南京美易科技有限公司),r-911全自动放免计数器(中国科技大学实业总公司生产),68006双臂脑立体定位仪(深圳市瑞沃德科技有限公司生产),台式牙科钻(深圳市瑞沃德科技有限公司生产),BS224S电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司),5804R Eppendorf冷冻离心机,MIDMARL 91805112气体麻醉机,PowderLab8/35生物信号采集系统-激光多普勒血流仪,ZH—ZKL小动物活体显微镜。

天舒胶囊,规格0.34 g/粒,批号100801,江苏康缘药业股份有限公司;琥珀酸舒马普坦片,规格100 mg/片,批号2F6915T,天津华津制药有限公司;CMC-NE(300~800 mPa·s,化学纯500 g),国药集团化学试剂有限公司;0.9%生理盐水注射液,山

东洁晶药业有限公司;异氟烷,山东新时代药业有限公司;水合氯醛,国药集团化学试剂有限公司;肝素钠,效价>170 U/mg,国药集团化学试剂有限公司;义齿基托树脂(II型自凝型),规格100 mL/瓶,上海二医张江生物材料有限公司;注射用青霉素钠,山东鲁抗医药股份有限公司。CGRP、P物质和NE放免疫试剂盒,北京华英生物有限公司。

1.2 动物及分组处理

SD健康雄性大鼠,43只,体质量400~450 g,SPF级,上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号SCXK(沪)2008-0016。SD大鼠随机分为7组,即天舒胶囊高、中、低剂量(1080、360、180 mg/kg)组及琥珀酸舒马普坦(9.72 mg/kg)组、对照组、假手术组和模型组,模型组为7只,其他每组6只。

除对照组大鼠外,其余大鼠ip给予1 mL青霉素钠(80万单位/5 mL,0.9%生理盐水配制),ip给予10%水合氯醛麻醉。以大鼠脑部十字缝交叉点前4 mm和交叉点后6 mm,分别用台式牙科钻钻开2个直径约1 mm的圆孔,在上下2个圆孔中打入1 mm×3 mm圆头螺丝钉,颅面干燥后,用齿科粉和义齿基托树脂(II型自凝型)将螺丝钉以及导线固定于大鼠颅骨表面,干凝后,涂撒青霉素,导线于皮外留出8 mm左右备用。术后2 d ip给予青霉素钠。术后大鼠单笼饲养,自由进食进水。

1.3 大鼠脑部上矢状窦区硬脑膜电刺激参数的选择

将术后第3天模型组1只大鼠ip 10%水合氯醛麻醉,一侧颞部皮肤局部消毒后沿其上缘做一水平横切口,组织钳钝性分离颞肌,显露出颞骨骨质,手术电钻于外耳道前上方颞骨鳞部行颅骨开窗^[9],开窗时用冷生理盐水冲洗以减少组织热损伤,小动物活体显微镜下观察硬脑膜中动脉分支。

刺激前10、5 min利用激光多普勒血流仪对大鼠硬脑膜中动脉分支进行血流量测定,而后行电压10 V、频率3 Hz、脉宽0.25 ms电刺激^[10],每间隔5 s升高电压1 V,利用激光多普勒血流仪测量大鼠硬脑膜中动脉分支每升高电压1 V后电刺激的血流量,每时间点测3次,取平均值,取刺激前后的硬脑膜血流量均值计算刺激后血流量的增长率。

血流量增长率=(刺激后硬膜血流量均值-刺激前硬膜血流量均值)/刺激前硬膜血流量均值

结果10 V电刺激时,脑部血流量增长最大,因此选择电压10 V、频率3 Hz、脉宽0.25 ms进行

电刺激。

1.4 大鼠脑部电刺激及血样、脑组织采集

琥珀酸舒马普坦及天舒胶囊均以 0.5% CMC-NE 配制。大鼠脑部电极植入术后第 3 天,琥珀酸舒马普坦组及天舒胶囊高、中、低剂量组大鼠于刺激前按 100 mL/kg 进行 ig 给药后经气体麻醉机麻醉,行电压 10 V、频率 3 Hz、脉宽 0.25 ms、时间 1 h 电刺激,模型组大鼠麻醉后只进行电刺激,假手术组行脑部电极植入术但不予电刺激,各组于刺激 0、30、60 min 时进行大鼠眼眶采血,用肝素管收集约 1 mL 全血,并置于冷冻离心机中离心(4 ℃, 1.4×g 离心 10 min),取上层血浆,1 h 后取各组大鼠脑组织,与血浆共同置于-20 ℃冰箱中保存,备用。对照组和假手术组大鼠麻醉后均在相应的时间点取血和脑组织。

1.5 放射免疫法检测 CGRP、P 物质和 NE

血浆样本处理:每 1 毫升血浆加 2 mL 冷丙酮(4 ℃),混匀,4 ℃离心,0.4×g 离心 20 min。取上清加 4 mL 冷石油醚,混匀后再次离心。吸弃上相,下相用氮气吹干后干燥密封,待测。

脑组织处理:取大小适宜的组织块,立即称定质量,于煮沸的生理盐水(1 mL)中煮沸 3 min 再

加 0.5 mL 冰醋酸 1 mol/L 于匀浆器中匀浆提取,再用 0.5 mL 1 mol/L NEOH 中和,0.8×g 离心 15 min。取上清液储存于-20 ℃待测。

放免计数器对血浆及脑组织样本进行 CGRP、P 物质和 NE 检测。

1.6 统计方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,量反应资料采用 Kolmogorov-Smirnova 进行正态性检验,组间差异采用单因素方差分析,统计软件 SPSS 17.0。

2 结果

2.1 电刺激上矢状窦区硬脑膜大鼠血浆及脑组织 CGRP 水平

在电刺激 0、60 min 时,与对照组比较,假手术组血浆及脑组织 CGRP 水平无显著性差异,与模型组相比,阳性药及天舒胶囊各剂量组大鼠血浆中 CGRP 水平无显著性差异。在电刺激 30 min 时,与对照组大鼠相比,假手术组大鼠血浆和脑组织中 CGRP 水平无显著性差异,与假手术组相比,模型组血浆和脑组织 CGRP 水平显著升高($P < 0.05$),与模型组相比,天舒胶囊高、中、低剂量组均显著性降低电刺激大鼠血浆及脑组织中 CGRP 水平($P < 0.05$),琥珀酸舒马普坦组显著降低大鼠血浆 CGRP 水平($P < 0.05$),结果见表 1。

表 1 天舒胶囊对电刺激大鼠脑组织和血浆中 CGRP 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 1 Effects of Tianshu Capsule on content of CGRP in brain tissue and plasma in electrically stimulated rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	血浆中 CGRP / (ng·L ⁻¹)			脑组织中 CGRP / (ng·g ⁻¹)
		0 min	30 min	60 min	
对照	—	52.12 ± 12.79	58.97 ± 4.24	63.50 ± 8.03	6.08 ± 1.33
假手术	—	53.11 ± 10.76	60.21 ± 20.42	65.73 ± 8.13	5.49 ± 0.91
模型	—	54.90 ± 17.77	84.80 ± 8.92*	55.30 ± 13.93	7.66 ± 1.14*
天舒胶囊	1 080	61.84 ± 10.49	64.06 ± 11.35 [▲]	65.67 ± 12.18	4.23 ± 1.39 [▲]
	360	63.88 ± 13.53	62.47 ± 12.18 [▲]	65.03 ± 19.34	4.33 ± 1.39 [▲]
	180	54.22 ± 6.90	62.62 ± 16.80 [▲]	64.07 ± 10.02	4.39 ± 1.07 [▲]
琥珀酸舒马普坦片	9.72	69.24 ± 16.11	61.95 ± 14.16 [▲]	65.90 ± 18.23	6.96 ± 0.77

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [▲] $P < 0.05$, 下表同

* $P < 0.05$ vs Sham group; [▲] $P < 0.05$ vs model group, same as below

2.2 电刺激上矢状窦区硬脑膜大鼠血浆及脑组织 P 物质水平

表 2 结果显示,电刺激 0、30、60 min 后对照组大鼠血浆及脑组织 P 物质与假手术组相比无明显差异。模型组大鼠血浆中 P 物质与假手术组相比也无显

著性差异,但 P 物质的量有下降趋势;与模型组大鼠相比,天舒胶囊各给药组及琥珀酸舒马普坦组大鼠血浆中 P 物质水平均无显著性差异。电刺激 60 min 后模型组大鼠脑组织中 P 物质与假手术组相比显著降低($P < 0.05$),与模型组相比,天舒胶囊高、中剂量

表 2 天舒胶囊对电刺激大鼠脑组织和血浆中 P 物质水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 Effects of Tianshu Capsule on content of substance P in brain tissue and plasma of electrically stimulated rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	血浆中 P 物质 / (ng·L ⁻¹)			脑组织中 P 物质 / (ng·g ⁻¹)
		0 min	30 min	60 min	
对照	—	41.06 ± 5.87	44.94 ± 6.16	42.92 ± 9.30	2.37 ± 0.86
假手术	—	40.97 ± 7.76	37.38 ± 12.48	36.18 ± 7.75	2.29 ± 0.49
模型	—	33.23 ± 4.70	35.97 ± 4.47	29.99 ± 7.16	1.07 ± 0.53*
天舒胶囊	1 080	32.75 ± 6.94	37.19 ± 9.80	32.68 ± 4.47	2.37 ± 0.75 [▲]
	360	24.95 ± 1.89	35.29 ± 8.74	38.26 ± 9.10	2.33 ± 0.70 [▲]
	180	35.69 ± 7.52	38.57 ± 4.66	31.03 ± 6.09	1.71 ± 0.54
琥珀酸舒马普坦片	9.72	35.63 ± 13.06	35.51 ± 5.08	31.12 ± 4.43	1.65 ± 0.42

能显著升高脑组织中 P 物质的量 ($P < 0.05$)。

2.3 电刺激上矢状窦区硬脑膜大鼠血浆及脑组织 NE 水平

电刺激 0、30、60 min 后, 对照组与假手术组相比, 大鼠血浆及脑组织 NE 水平无显著性差异。电刺激 0、60 min 时, 模型组与假手术组相比, 大鼠血浆 NE 水平无显著性差异, 与模型组大鼠相比,

天舒胶囊高、中、低剂量组和琥珀酸舒马普坦组大鼠血浆中 NE 水平均无显著性差异; 在电刺激 30 min 时, 与假手术组相比, 模型组大鼠血浆及脑组织中 NE 水平显著降低 ($P < 0.05$), 与模型组相比, 天舒胶囊高、中、低剂量组大鼠血浆及脑组织 NE 水平显著升高 ($P < 0.05$), 舒马普坦组大鼠血浆及脑组织 NE 水平无显著性差异, 结果见表 3。

表 3 天舒胶囊对电刺激大鼠上矢状窦区硬脑膜脑组织和血浆中 NE 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 3 Effects of Tianshu Capsule on content of NE in in brain tissue and plasma in electrically stimulated rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	血浆中 NE / (ng·L ⁻¹)			脑组织中 NE / (ng·g ⁻¹)
		0 min	30 min	60 min	
对照	—	491.02 ± 22.91	482.42 ± 37.48	399.68 ± 80.21	36.68 ± 3.82
假手术	—	481.02 ± 23.61	489.02 ± 24.76	328.74 ± 35.07	36.11 ± 4.16
模型	—	478.59 ± 54.87	318.58 ± 50.53*	349.47 ± 62.36	27.92 ± 3.18*
天舒胶囊	1 080	473.40 ± 52.01	433.40 ± 42.10 [▲]	375.97 ± 59.77	37.23 ± 9.86 [▲]
	360	481.04 ± 32.61	422.13 ± 40.69 [▲]	345.85 ± 45.72	36.04 ± 5.52 [▲]
	180	488.52 ± 18.56	413.40 ± 52.01 [▲]	378.46 ± 81.09	35.71 ± 3.96 [▲]
琥珀酸舒马普坦片	9.72	474.91 ± 56.53	318.76 ± 52.97	298.11 ± 39.24	34.30 ± 6.93

3 讨论

天舒胶囊由天麻、川芎配伍而成, 临床上对偏头痛预防^[11]和治疗^[12]都有极佳的作用。Chen 等^[13]通过对天麻研究表明, 天麻可调节多巴胺 (DA) 的循环, 利用 DA 参与合成 NE, 平衡神经递质释放, 从而抑制引发血管过度扩张相关物质。同时, 川芎可对抗脑血管血流动力学参数的病变, 对脑血管功能具有保护作用^[12], 并且可以提高脑内 P 物质的量, 具有镇痛功效。

CGRP 和 P 物质是偏头痛发作时引发血管扩张的主要肽类物质。CGRP 具有极强的舒张血管的能力, 长久以来一直被认为是研究偏头痛的病理生理

基础。本研究采用电刺激大鼠上矢状窦区硬脑膜, 并在刺激过程中, 行大鼠眼眶采血, 实验结果表明, 与对照组大鼠相比, 假手术组大鼠血浆及脑组织中 CGRP、P 物质和 NE 水平均无显著性差异, 表明脑部电极植入术未对实验产生影响。与假手术组相比, 电刺激大鼠上矢状窦区硬脑膜 30 min 后模型组大鼠血浆中 CGRP 水平显著升高 ($P < 0.05$), NE 水平显著降低 ($P < 0.05$), 血浆 P 物质只有下降趋势而无显著差异。电刺激 60 min 后脑组织中 CGRP 水平显著升高 ($P < 0.05$), NE、P 物质显著降低 ($P < 0.05$), 而刺激 60 min 时, 各指标血浆中的量并无显著差异。根据董钊等^[14]的研究, 在电刺激进

行时,神经末梢会释放大类物质,因此,在血浆中浓度会逐渐升高,在缓解期时,肽类物质因代谢而量减少,神经末梢处于排空,血中 CGRP 浓度无法得到及时补充而降低,NE 水平在偏头痛发作期下降,这一变化与利血平致小鼠偏头痛模型中 NE 的变化一致^[8]。此外,采用电刺激或化学刺激软脑膜可以促进 P 物质释放^[15],Goadsby 等^[16]电刺激猫三叉神经节时,P 物质释放量也可以增加,而刺激上矢状窦区硬脑膜时,P 物质的量却没有改变。因此,在仅刺激硬脑膜时,外周血浆中 P 物质释放可能无法显著性增加。

曲坦类药物为 5-羟色胺(5-HT)受体激动剂^[13],主要通过刺激三叉神经突触前 5-HT_{1D} 受体抑制硬脑膜神经源性炎症反应,能降低偏头痛发作时血中的 CGRP 水平。本实验采用琥珀酸舒马普坦作为阳性药,可显著降低电刺激时血浆中 CGRP 水平,但对血浆和脑组织 P 物质和 NE 无显著提升作用。天舒胶囊各剂量组可显著降低脑组织 CGRP 水平,升高脑部 P 物质及 NE 水平,电刺激 30 min 时可显著降低血浆 CGRP 水平,升高血浆中 NE 水平,通过调节神经递质及神经多肽的释放缓解头痛,这与之前的单味药药效研究结果一致。

参考文献

- [1] 吴敏,陈美娟.偏头痛发病机制的研究进展[J].四川生理科学杂志,2007(4):173-176.
- [2] 任旭,牛争平.降钙素基因相关肽在偏头痛发病机制中的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2004,2(4):229-231.
- [3] Williamson J D, Richard J. Hargreaves neurogenic inflammation in the context of migraine [J]. *Microsc Res Tech*, 2001, 53: 167-178.
- [4] 杜艳芬,王纪佐.偏头痛发病机制研究进展[J].中国临床神经科学,2002,10(3):631-633.
- [5] 张勤,周沐科.天舒胶囊对偏头痛大鼠血浆 β 内啡

肽、五羟色胺含量及其脑组织 c-fos 表达的影响[J].临床神经病学杂志,2008,21(5):368-370.

- [6] 张勤,杨天华,周沐科.天舒胶囊对偏头痛动物模型血浆一氧化氮、一氧化氮合酶、降钙素基因相关肽含量及血流动力学的影响[J].临床神经病学杂志,2008,21(4):279-282.
- [7] 陈忠伦,段劲峰,吴孝萍,等.天舒胶囊对小鼠软脑膜微循环影响的研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2007,5(10):967-969.
- [8] 孙晓萍,吕新勇,刘丽娜,等.天舒胶囊对利血平致小鼠偏头痛的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(16):202-204.
- [9] 朱晓凤.热凝脑膜中动脉对偏头痛大鼠 CGRP、SP 水平和 c-fos 基因表达的影响[D].济南:山东大学,2007.
- [10] 董钊,姜磊,于生元,等.不同参数电刺激上矢状窦对大鼠硬脑膜血流量的影响[J].微循环学杂志,2008,18(1):13-14.
- [11] 柳于介,萧伟,刘福友,等.天舒胶囊预防性治疗偏头痛[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(10):535-536.
- [12] 高焕民,柳耀泉,王少萍,等.天舒胶囊治疗偏头痛 40 例[J].中成药,2006,28(5):680-682.
- [13] Chen P J, Hsieh C L, Su K P, *et al.* The antidepressant effect of *Gastrodia elata* Bl. on the forced-swimming test in rats [J]. *Am J Chin Med*, 2008, 36(1): 95-106.
- [14] 董钊,姜磊,于生元,等.电刺激大鼠上矢状窦旁硬脑膜后血浆降钙素基因相关肽和 P 物质的变化[J].中国康复理论与实践,2011,17(4):334-336.
- [15] Edvinsson L, Rosendahl-Helgesen S, Uddman R. Substance P: localization, concentration and release in cerebral arteries, choroid plexus and dura mater [J]. *Cell Tissue Res*, 1983, 234: 1-7.
- [16] Goadsby P J, Edvinsson L, Ekman R. Release of vasoactive peptides in the extra cerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system [J]. *Ann Neurol*, 1988, 23: 193-196.