

当归对大鼠脑缺血损伤保护作用的实验研究[△]

湖北医科大学附属第二医院(武汉 430071)

廖维靖* 杨万同 周云峰

德国柏林洪堡大学莎丽特医学院神经科

Frank Wiegand Ulrich Dirnagl

摘要 探讨当归对大鼠脑缺血损伤是否具有保护作用。阻断大鼠右颈总动脉和大脑中动脉 90 min 后恢复再灌,给予 25% 当归注射液 7.5 mL 静脉滴注 6 h。术后第 8 天用图像处理技术测定脑梗死体积。结果显示当归治疗组梗死体积显著小于实验对照组。本实验首次证实当归具有缩小脑梗死体积的作用,其作用机制待深入研究阐明。

关键词 脑缺血 当归 脑梗死

研究脑缺血损伤保护剂是国内外一直关注的课题,有效且无副作用的神经保护剂是中西医共同追求的目标。中医活血化瘀药对脑缺血的保护作用引起西医的兴趣,活血化瘀则引起西方国家的重视。MEDLINE 检索迄今未见当归能否作为脑缺血损伤保护剂的系统实验研究报道。为探讨当归对脑缺血的保护作用,作者在德国洪堡大学莎丽特医学院进行脑缺血损伤保护机制的合作研究时,在德方实验室动物缺血模型的基础上试用当归治疗,同期观察 MK-801 的作用,旨在探讨当归对脑缺血损伤是否具有保护作用,并为今后从活血化瘀药中筛选脑保护剂及确定单一有效成分奠定基础。

1 材料和方法

1.1 动物造模:雄性 Wistar 大鼠 32 只,体重 250~300 g。所有动物均进行右颈总动脉(Carotid common artery, CCA)和大脑中动脉(Middle cerebral artery, MCA)短暂阻断的手术,随机分为 2 组。一组不进行任何治疗用作实验对照组(13 只);另一组采用当归治疗(19 只)。动物在 Halothane 持续麻醉下置

于加热垫上,将体温探头插入直肠测体温。切开鼠尾,将塑料导管插入尾动脉后固定,测量术中血压。切开颈部皮肤,暴露左颈静脉,插入导管并固定。在背部皮肤穿一小孔将导管引出,放置备用。仔细分离肌肉暴露 CCA 用橡胶细管结扎。切开头颅右 MCA 体表投影区皮肤,分离肌肉。用颅钻钻孔后,小心刺破硬脑膜并剥离。用弧型丝钩提起 MCA,并用固定力量牵拉造成 MCA 短暂阻断,持续 90 min。小心将 MCA 放回原处恢复再灌,缝合皮肤。松开结扎 CCA 的橡胶管,缝合皮肤。术中测体温、血压、血糖、血氧、血二氧化碳分压、血酸碱度等生理参数,体温维持在(37±0.5)℃。

1.2 给药:25% 当归注射液,湖北医科大学附属第二医院药厂生产,批号分别为 940614、970214 和 970924。将 7.5 mL 当归注射液加入固定压力注射泵,调定速度,6 h 滴注完毕。滴注中每 2 h 测体温。剪去暴露体表的导管,牢固结扎后胶布固定。

1.3 取材:术后第一天评定肢体功能,测体温、血糖、血细胞压积,其后每天测体温,第 8

* Address: Liao Weijing, The Second Affiliated Hospital, Hubei University of Medical Sciences, Wuhan

廖维靖 男,副教授,1984 年咸宁医学院医疗系本科毕业,学士。1991 年同济医科大学康复医学专业研究生毕业,硕士。现在湖北医科大学附属第二医院康复医学科从事科研、医疗和教学工作。1993~1995 年完成湖北省教委青年科学基金资助课题 1 项。1996~1997 年德国柏林洪堡大学莎丽特医学院访问学者。已发表论文、综述 29 篇,待发表英文论文 4 篇。1995 年 12 月任中国康复理论与实践杂志青年编委。

[△] 湖北省自然科学基金课题

天再次评定肢体功能并处死动物。麻醉下断头取脑,将脑置于液氮预冷的一30℃异戊烷(isopentan)中固定20 s,然后迅速移入一80℃冰箱储放待处理。一20℃恒冷箱中冠状连续切片,片厚40 μm。将每20片中的第1、2张贴于一张玻璃片。每脑约做20张玻片。切片干燥过夜,酸性复红染色,梯度乙醇脱水,封片。采用德国Polaroid图像处理系统(Sprint Scan 35 Plus)测量每张切片的面积(mm²)。观察有梗死的切片张数可计算出梗死的长度,算出梗死的体积,单位为mm³。

1.4 统计处理:实验数据用($\bar{x}\pm s$)表示,输入Excel 7.0 软件进行t 检验。

2 结果

实验对照组13 只动物,1 例因梗死灶出血体积显著大而被剔除,1 例因梗死灶体积小于6 mm³ 剔除。这2 例可能是手术误差所致。治疗组动物死亡5 例,1 例因梗死灶出血被剔除,1 例也因体积小于6 mm³ 被剔除。统计分析时对照组实际例数是11 只,治疗组12 只。940614 批号动物4 只,970214 批号7 只,970924 批号4 只。术中、术后生理参数变化未见显著性差异,术后第1、8 天肢体功能未见显著性差异。对照组、治疗组脑梗死体积变化见表1。

表1 脑梗死体积变化($\bar{x}\pm s$)

组 别	例数	梗死体积(mm ³)	梗死缩小(%)
对照组	11	123.84±59.31	
当归治疗组	12	74.72±37.46*	39.7

与对照相比较: * P<0.05

结果显示当归对脑缺血损伤具有保护作用。与MK-801 缩小梗死的结果相比,当归优于MK-801。MK-801 的资料将由德方发表在英文期刊。

3 讨论

测定梗死面/体积是观察梗死大小最直

接客观的指标,体积指标较面积准确,用计算机进行图像处理更易做到精确量化。深入研究应观察功能、代谢指标以全面反映梗死变化。采用缺血/再灌模型较完全阻断血供的模型更能模拟人体发病的情况。术后第8 天是梗死发展成最大的时间,且组织水肿消除,此时测定梗死体积最准确。

近年研究认为脑缺血损伤的病理生理机制是损伤级联反应,即兴奋性毒性、梗死周围去极化、炎症和程序性细胞死亡4 个过程^[1]。钙、谷氨酸、氧自由基、NO 等涉及这些过程。中医认为缺血是瘀症,其治则为化瘀,活血是化瘀的前提。MEDLINE 检索迄今未见当归作脑保护剂的研究。本文结果首次显示当归具有缩小脑梗死体积的作用。文献报道当归能够清除自由基^[2],本实验可能是当归清除自由基的作用结果。当归注射液的成分超过40 种^[3],当归成分之一的阿魏酸(ferulic acid)具有抗氧化损伤的作用^[4],本结果是否为阿魏酸的作用有待证实。

本实验预实验时,不同批号(次)的药液缩小梗塞的差异较大,可能与中药制剂质量不稳定有关,也可能是手术本身的原因。本实验所用剂量是通常文献报告剂量的一半,这是依动物实际体重、给药方式及便利而定,并非最适剂量。一次给药方法与传统的每天给药习惯不同,以便跟MK-801 进行比较,结果提示当归潜在的保护作用相当大,同时说明药物治疗效不一定是治疗时间越长越好,剂量越大越好。

参 考 文 献

1 廖维靖,等. 国外医学-脑血管疾病分册,1998,6(4): 197
2 胡永欣,等. 第二军医大学学报,1993,14(1):48
3 李家仁. 中草药,1983,14(8):41
4 林迎晖,等. 药学报,1994,29(3):171

(1998-06-04 收稿)

An Experimental Study on the Neuroprotective Effects of Chinese Angelica
(*Angelica sinensis*) on Cerebral Ischemia Injury in Rat

Liao Weijing, Frank Wiegand, Yang Wantong, et al. (The Second Affiliated Hospital, Hubei University

Abstract Potential neuroprotective effect of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels on cerebral ischemia injury in rat was investigated. The right carotid common artery (CCA) and middle cerebral artery (MCA) of Wistar rat were temporarily occluded for 90 minutes and reperused afterwards. 7.5 mL of 25% *A. sinensis* extract for injection were dripped iv for six hours after reperfusion. The infarct volume were measured on the eighth day by image processing. The results showed that the infarct volume of the treated group were significantly smaller than that of the control group (74.72 ± 37.46) mm³ vs (123.84 ± 59.31) mm³ ($P < 0.05$). This is the first time to demonstrate by experiment that *A. sinensis* could decrease cerebral infarct volume, but the mechanism of its action need to be further investigated.

Key words *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels cerebral ischemia

槲皮素对压力超负荷所致大鼠心肌肥厚的影响

苏州医学院药理教研室(215007) 秦泰春* 顾振纶 刘世增

摘要 大鼠腹主动脉部分狭窄 5 周后,形成实验性心肌肥厚模型,心肌和左心室重量明显增加,心肌过氧化脂质(LPO)含量显著增加,SOD 活性下降,心肌和主动脉 Ca²⁺ 含量明显增加。给槲皮素 75、150 mg/kg 后均能明显降低心肌和左心室重量,降低心肌 LPO 含量,增加 SOD 活性,降低心肌和主动脉 Ca²⁺ 的含量,提示槲皮素抗心肌肥厚作用与清除氧自由基和钙拮抗有关。

关键词 槲皮素 心肌 肥厚 氧自由基 钙

心肌肥厚是心脏长期负荷过重时的一种慢性代偿机制,现已发现钙拮抗剂和血管紧张素转化酶抑制剂^[1,2]可以有效地防治心肌肥厚,氧自由基可能参予心肌肥厚的发生和发展^[3],应用氧自由基清除剂有助于预防和治疗心肌肥厚。槲皮素(quercetin, Que)为广泛存在于天然植物中的黄酮类化合物,具有降血压、保护心肌缺血再灌注损伤、清除氧自由基、钙拮抗和蛋白激酶 C 抑制^[4~7]等作用。但 Que 对心肌肥厚的影响未见文献报道,我们通过狭窄大鼠腹主动脉形成心肌肥厚模型,观察了 Que 对心肌肥厚的逆转作用并探讨了其作用机制。

1 材料

1.1 动物: Sprague-Dawley 大鼠,雌雄兼用,体重 200~240 g,由苏州医学院实验动物中心提供。

1.2 药品:槲皮素购于中国预防医学科学院劳卫所,批号 911015,维拉帕米(verapamil, Ver)购于连云港制药厂,批号 920516,以二甲亚砷溶解后稀释成所需浓度。

1.3 仪器:原子吸收分光光度计为日立-18080 型,日立公司产品;紫外分光光度计为 752-C 型,上海第三分析仪器厂产品。

2 方法

2.1 心肌肥厚模型的建立和分组:取大鼠 36 只随机分为 5 组:对照组($n=6$),心肌肥厚组($n=12$),Que 75、150 mg/kg(分别 $n=6$)组,阳性对照组 Ver 10 mg/kg($n=6$)。参照文献^[8]制备腹主动脉部分狭窄模型(对照组只行假手术),术后第 2 天开始 ig Que 或 Ver,每日 1 次,对照组给相应容量蒸馏水,连续 5 周。

2.2 心肌重量参数的测定:将大鼠断头处

* Address: Qing Taichun, Department of Pharmacology, Suzhou Medical College, Suzhou

秦泰春 男,28 岁,1998 年于苏州医学院研究生毕业,获药理学专业硕士学位。现工作单位为浙江中医学院,主要从事心血管药物及中药戒毒新产品的开发。