

丹红注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用

韩永鹏¹, 安 芸²

1 北京市中西医结合医院, 北京 100039;

2 菏泽医学专科学校, 山东 菏泽 274030

摘 要 **目的:** 研究丹红注射液对大鼠缺血再灌注损伤的保护作用。**方法:** 采用线栓法建立大鼠脑缺血再灌注模型, 观察丹红注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能评分、脑组织中一氧化氮合酶 (NOS)、一氧化氮 (NO)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 等的影响。**结果:** 丹红注射液可显著降低脑缺血再灌注大鼠的神经功能评分, 减轻脑组织损伤程度; 提高 SOD 活力, 降低 MDA 和 NO、NOS 水平。**结论:** 丹红注射液对大鼠缺血再灌注损伤具有明显的保护作用。

关键词 丹红注射液; 脑缺血再灌注损伤; 大鼠; 神经功能

中图分类号: R743.31 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2010)05-0388-03

Protection of Danhong Injection on cerebral ischemia-reperfusion injury of rats

HAN Yong-peng¹, AN Yun²

1 Beijing Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Beijing 100039, China;

2 Heze Medical College, Heze 274030, China

Abstract **Objective:** To investigate the protection of Danhong Injection on the cerebral ischemia-reperfusion injury of rats. **Methods:** The models of focal brain ischemia-reperfusion injury were prepared by middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats. The effects of Danhong Injection on the cerebral ischemia-reperfusion injury of rats, such as nerve function grade and contents of NOS, NO, SOD, and MDA in brain tissues, were observed. **Results:** Danhong Injection could decrease the nerve function grade, improve the vigor of SOD, depress the levels of MDA, NO, and NOS. **Conclusion:** Danhong Injection can protect the brain from ischemia-reperfusion injury in rats.

Key words Danhong Injection; cerebral ischemia-reperfusion injury; rat; nerve function

丹红注射液是由传统中药丹参、红花提取制成的中药注射剂, 含有丹参素、丹酚酸、红花黄色素等有效成分, 具有改善微循环、抗氧化、抑制血小板聚集等抗血栓作用^[1,2], 能明显缓解心绞痛症状, 改善心肌缺血状况。本实验采用动脉栓塞 (MCAO) 模型考察丹红注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用, 为临床应用提供实验参考。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

丹红注射液 (菏泽步长制药有限公司, 批号为 091105); MDA 试剂盒、一氧化氮 (NO) 试剂盒、SOD 试剂盒、一氧化氮合成酶 (NOS) 试剂盒 (南

京建成生物研究所); 水合氯醛 (中国医药 (集团) 上海化学试剂公司, 批号: 2009011)。

1.2 动物及分组

雄性 SD 大鼠 50 只 (菏泽医学专科学校实验动物中心提供), 体质量 260~300 g, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为假手术组 (对照组)、模型组、丹红注射液低剂量组 (2 mL / (kg · d)、丹红注射液中剂量组 (4 mL / (kg · d)、丹红注射液高剂量组 (8 mL / (kg · d))。

1.3 给药方法

ip 给药; 假手术组和模型组于相同时间给予同体积的生理盐水。

收稿日期: 2010-06-05

作者简介: 韩永鹏 (1982—), 北京中医药大学附属北京市中西医结合医院, 研究方向为临床药学。联系电话: 13811560299 E-mail: han1210@163.com

1.4 脑缺血再灌注模型制备

10%水合氯醛 (3 mL/kg) ip 给药麻醉大鼠后, 分离右颈总动脉并剪一小口, 将长 50 mm、直径 0.2 mm、顶端烫制成光滑球状的尼龙线作为栓子插入, 以颈总动脉分叉处计算进线深度为 (18.0±0.5) mm, 至大脑中动脉起始部以完全阻断血供。缺血 3 h 后, 拔线栓, 再灌注 24 h。假手术组只进行麻醉和血管分离术, 不结扎血管及导入尼龙线。以上过程均在室温恒定 (24~25℃) 情况下进行。

1.5 检测指标

1.5.1 神经功能评分

参考 Bederson 等^[3]的方法对各组动物的行为缺陷进行神经功能评分, 评分标准如下: 0 分, 提尾悬空时, 动物的两前肢均伸向地板方向且无其他行为缺陷; 1 分, 提尾悬空时, 动物的手术侧前肢表现为腕肘屈曲、肩内旋、肘外展、紧贴胸壁; 2 分, 将动物置于光滑平面上, 推手术侧肩向对侧移动时阻力降低; 3 分, 动物自由行走时, 向手术侧环转或转圈。

1.5.2 脑组织中 SOD、NOS、NO、MDA 检测^[4]

大鼠于缺血再灌注 24 h 后, 乙醚麻醉后断头取脑, 全脑称重后, 用冰冷的生理盐水冲洗, 放入匀浆管中, 加入适量 4℃生理盐水进行匀浆, 上下转动研磨制成 10%的组织匀浆。以 4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 分为 3 份, 分别测定脑组织匀浆 SOD、NOS、NO、MDA。

1.6 统计学分析

全部实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 采用方差分析, $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 显示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丹红注射液对脑缺血再灌注大鼠神经功能的影响

脑缺血再灌注 24 h 后, 大鼠均出现了不同程度的行为障碍, 模型组行为学评分为 (2.39±0.39), 中、高剂量组与模型组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 0.01), 结果见表 1。

表 1 丹红注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能的影响
Table 1 Effect of Danhong Injection on the nerve function of cerebral ischemia-reperfusion injured rats

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	神经功能评分
假手术组	—	0.00±0.00
模型组	—	2.39±0.39**
丹红注射液组	2	2.27±0.41
	4	1.75±0.44 [▲]
	8	1.32±0.34 ^{▲▲}

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs sham group; [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs model group

2.2 丹红注射液对脑缺血再灌注大鼠脑组织 SOD、NOS、NO、MDA 的影响

大鼠脑缺血 3 h 再灌注 24 h 后引起脑组织 NO 和 NOS 水平的升高, 丹红注射液各个剂量组均能显著降低脑组织内 NO 的量 ($P < 0.05$, 0.01), NOS 的量亦呈现下降趋势, 中、高剂量组与模型组比较有明显差异 ($P < 0.05$, 0.01)。大鼠脑缺血再灌注 24 h 后 MDA 水平明显升高, SOD 的量明显下降, 丹红注射液能降低 MDA 的量、升高 SOD 的量, 中、高剂量组与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 0.01), 结果见表 2。

表 2 丹红注射液对脑缺血再灌注大鼠脑组织 SOD、NOS、NO、MDA 的影响
Table 2 Effect of Danhong Injection on levels of SOD, NOS, NO, and MDA in brain tissue of cerebral ischemia-reperfusion injured rats

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	NOS/(U·mL ⁻¹)	NO/(μmol·L ⁻¹)	MDA/(nmol·L ⁻¹)
假手术组	—	98.54±12.32	2.03±0.53	0.76±0.12	1.55±0.37
模型组	—	46.34±8.77**	4.05±1.02**	2.95±0.53**	3.52±1.02**
丹红注射液组	2	55.15±9.59	3.77±0.97	2.38±0.41 [▲]	2.77±0.88 [▲]
	4	68.33±10.92 [▲]	3.23±0.78 [▲]	1.85±0.37 [▲]	2.06±0.56 ^{▲▲}
	8	82.39±12.03 ^{▲▲}	2.65±0.66 ^{▲▲}	1.21±0.20 ^{▲▲}	1.59±0.58 ^{▲▲}

与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham group; [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs model group

3 讨论

脑血管病是临床常见病、多发病,是目前三大致死疾病之一,是首位致残因素,且其发病率、病死率及致残率有逐年上升的趋势,其中缺血性脑血管病占绝大部分^[5]。溶栓疗法可使血管再通恢复血供,但同时亦可导致更为严重的脑缺血再灌注损伤,寻找具有能减轻脑缺血再灌注损伤的药物意义重大。

本实验研究发现,丹红注射液对脑缺血再灌注大鼠的神经行为学具有明显的改善作用,对大鼠脑缺血再灌注损伤具有一定的保护作用,并具有剂量效应关系。丹红注射液能够提高脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织中的超氧化物歧化酶(SOD)活力,降低 NOS、NO、MDA 水平,对抗氧自由基的毒害作用^[6],从而减轻脑缺血损伤。丹红注射液的脑保护作用机制还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 韩在虹. 丹红注射液对急性脑梗死患者血清细胞因子水平的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29 (9): 29-30.
- [2] 赵广荣, 田莉莉, 王长松. 丹参素的抗癌活性研究[J]. 药物评价研究, 2010, 33(3): 180-182.
- [3] Bederson J B, Pitlis L H, Tsun M, *et al*. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of aneurologic examination [J]. *Stroke*, 1986, 17 (3): 472- 476.
- [4] 姜德华, 金男革, 玄汉石, 等. 大鼠急性局灶性脑缺血再灌注脑组织 NO 含量和 NOS 活性的变化[J]. 临床神经病学杂志, 2000, 13 (4): 201-203.
- [5] 韩 敏, 刘艳凯, 薛 茜. 脑缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 河北北方学院学报, 2006, 23 (5): 75-78.
- [6] 赵 旭, 范英昌, 杜 云. 丹酚酸 B 对局灶性脑缺血/再灌注大鼠血清超氧化物歧化酶活力和丙二醛含量的影响[J]. 天津中医药, 2008, 25 (1): 63-65.

《中草药》杂志 2011 年征订启事

《中草药》杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级期刊, 月刊, 国内外公开发刊。

本刊创始于 1970 年 1 月, 1992 年荣获首届全国优秀科技期刊评比一等奖; 2001 年荣获中国期刊方阵“双奖期刊”; 2003 年荣获第二届国家期刊奖; 2005 年荣获第三届国家期刊奖提名奖; 2004—2009 年连续 5 年荣获“百种中国杰出学术期刊”; 2008 年度荣获“中国精品科技期刊”; 2009 年荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”。本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊。多年来一直入选“CA 千刊表”, 并被美国《国际药文摘》(IPA)、美国《医学索引》(IM/MEDLINE)、荷兰《医学文摘》(EM)、波兰《哥白尼索引》(IC)、英国《质谱学通报(增补)》(MSB-S)、荷兰《斯高帕斯数据库》(Scopus)、《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JST)、《英国皇家化学学会系列文摘》(RSC)、美国《乌利希期刊指南》(Ulrich PD)等国际著名检索系统收录。

本刊主要报道中草药化学成分; 药剂工艺、生药炮制、产品质量、检验方法; 药理实验和临床观察; 药用动、植物的饲养、栽培、药材资源调查等方面的研究论文, 并辟有中药现代化论坛、综述、短文、新产品、企业介绍、学术动态和信息等栏目。

承蒙广大作者、读者的厚爱和大力支持, 本刊稿源十分丰富。为了缩短出版周期, 增加信息量, 2011 年本刊由 A4 开本每期 168 页扩版为 208 页, 定价 35.00 元。国内邮发代号: 6—77, 国外代号: M221。请到当地邮局订阅。

欢迎广大作者踊跃投稿, 欢迎广大读者订阅, 欢迎与中外制药企业合作, 宣传推广、刊登广告(包括处方药品广告)。

中草药杂志社开通网上在线投稿系统。<http://www.中草药杂志社.中国或www.tiprpress.com> 点击进入 4 刊网页, 在页面左侧有“作者登录”链接, 第一次登陆按操作说明注册后进行在线投稿; 作者可通过点击“作者登录”进行稿件查询。

编辑部地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号(300193)

电话: (022) 27474913 23006821

传真: (022) 23006821

E-mail: zcy@tiprpress.com

网址: www.中草药杂志社.中国, www.tiprpress.com