

2.3 两组治疗前后 X 线胸片比较:治疗组 X 线胸片改善较对照组明显,经检验两组改善率有显著性差异 ($P < 0.05$),见表 3。

表 3 治疗前后 X 线胸片比较
Table 3 Comparison of chest X-ray
before and after treatment

组别	例数	全部吸收		部分吸收		无变化或恶化		改善率
		/例	/%	/例	/%	/例	/%	/%
治疗	74	19	25.6	51	68.9	4	5.4	94.5*
对照	72	14	19.4	47	65.0	11	15.3	84.7

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

2.4 不良反应:治疗组发生不良反应 4 例,其中食欲减退 2 例,腹泻 1 例,皮疹 1 例,治疗组不良反应发生率 5.4%。对照组发生不良反应 3 例,其中食欲减退 1 例,腹泻 1 例,皮疹 1 例,对照组不良反应发生率 4.2%。两组比较不良反应发生率无显著性差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

世界卫生组织 20 世纪 90 年代的统计资料表明,各种感染性疾病仍然是威胁人类健康的杀手,占世界人口死因的 32.75%。其中,呼吸系统感染位居榜首。造成这种问题的核心是病原菌的耐药性。文献报道的下呼吸道感染的病原菌仍以细菌感染为主,如肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌为主

要病原,肺炎支原体、衣原体、病毒占有一定比例。

痰热清注射液为纯中药制剂,其组成为黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘等。熊胆具有解痉、平喘、镇咳之功效;山羊角有较强的解热作用;黄芩、金银花近年来被许多研究者证实有抗菌、抗病毒、提高免疫力和化痰祛瘀能力,并被引用到抗 HIV 的中药当中^[1-3]。药效学实验表明,痰热清注射液对肺炎球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌、流感病毒等均具有明显的抑制作用,具有抗病毒、抑菌的双重作用,对感染所致的急性肺损伤、肺泡炎性渗出和微血管损伤的低氧血症等病理状态有明显的药理作用,具有良好的退热、祛痰、镇咳、缓解呼吸道平滑肌痉挛的作用^[4],因而该药联合第三代头孢菌素注射用头孢唑肟钠对于治疗下呼吸道感染有明显的协同治疗作用,可以提高疗效,缩短疗程,减少耐药性及二重感染的机率,而且安全,无明显不良反应。

参考文献:

- [1] 赵 晶,张致平.黄芩苷元及衍生物制备与抗人免疫缺陷病毒实验研究[J].药学学报,1997,32(2):140-143.
- [2] 石小玲,应小平.中医药治疗艾滋病研究进展[J].山西医药,2004,4(20):57-59.
- [3] 张奉学,邓文娣,胡英杰.中药艾可清体外抑制猴免疫缺陷病毒活性观察[J].广州中医药大学学报,1999,7,16(2):127-129.
- [4] 邓道伟,明 华.痰热清注射液的临床应用概况[J].中国中医急症,2006,15(6):649-651.

白术多糖对大鼠创伤性脑损伤后脑水肿的影响及其机制探讨

王光伟^{1*},丰 昀²,邱细敏¹,刘永乐^{3*}

(1. 湖南师范大学医学院,湖南 长沙 410006; 2. 长沙市中心医院,湖南 长沙 410004;

3. 长沙理工大学生物与食品工程学院,湖南 长沙 410015)

摘要:目的 探讨白术多糖对颅脑外伤继发性脑组织水肿的影响及其机制。方法 采用自由落体撞击模型,大鼠随机分为假手术组、模型组、蒸馏水组(溶剂对照)及白术多糖组,每组再根据伤后不同生存时间随机分为 3 个亚组。取各组动物伤灶区脑组织,分别检测其含水量和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)活性。结果 模型组、蒸馏水组及白术多糖组各时间点脑组织含水量均较假手术组明显增加 ($P < 0.01$),但白术多糖组各时间点含水量均显著低于模型组及蒸馏水组 ($P < 0.01$)。模型组、蒸馏水组及白术多糖组各时间点脑组织 iNOS 活性均较假手术组明显升高 ($P < 0.01$),但白术多糖组各时间点 iNOS 活性均显著低于模型组及蒸馏水组 ($P < 0.01$)。结论 白术多糖可能通过下调伤灶区 iNOS 的表达,而减轻创伤性脑损伤后继发性脑水肿的程度。

关键词:白术多糖;脑损伤;脑水肿;一氧化氮合酶

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)06-0948-03

* 收稿日期:2008-11-20

基金项目:湖南省自然科学基金项目(08JJ3024);长沙市科技局科技计划项目(K069062-12)

* 通讯作者 王光伟(1970—),男,湖南湘乡人,副教授,医学博士,博士后,主要研究方向为颅脑外伤、脑血管疾病、脑肿瘤的基础与临床研究,在该领域已发表论文 18 篇。Tel: 13017292141 E-mail: wanggwmmq323@163.com

颅脑外伤后伤灶区脑组织会出现不同程度的缺血缺氧,缺血缺氧导致继发性脑损伤,一氧化氮(NO)在其中起重要作用,而一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)则是合成NO的关键因素。目前NOS主要分3种亚型,即神经元型NOS(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)、内皮型NOS(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、诱导型NOS(inducible nitric oxide synthase, iNOS)。在生理条件下nNOS、eNOS即有表达,产生适量NO而调节正常生理功能,二者合称为结构型NOS(constitutive nitric oxide synthase, cNOS);iNOS在病理条件下表达,在脑缺血时合成大量NO而起损害作用。白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的根茎,具有健脾益气、燥湿利水、止汗安胎等功效^[1]。白术多糖是从白术根茎中提取的多糖类物质。本研究应用白术多糖对创伤性脑损伤大鼠进行治疗,观察伤灶区脑组织含水量、iNOS活性的变化,了解其对脑水肿的影响并探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物:雄性SD大鼠,体质量250~270 g,由中南大学湘雅医学院实验动物部提供。

1.2 仪器:紫外可见分光光度计(UV-2501型,日本岛津),电热恒温干燥箱(600-BS型,上海市跃进医疗器械厂)。

1.3 药物与试剂:平江白术(湖南药材公司),iNOS试剂盒(南京建成生物工程研究所),其余试剂均为市售分析纯。

1.4 白术多糖的提取:参考邱细敏等^[2]所采用的白术多糖提取方法。称取白术粗粉50 g,置于1 000 mL量瓶中,加6倍量70%乙醇回流2 h,滤过。取滤渣加8倍蒸馏水提取2 h,趁热滤过。在滤渣中加6倍量水提取1 h,趁热滤过。再在滤渣中加3倍量水提取1 h,趁热滤过,合并3次滤液,浓缩至100 mL,加无水乙醇至乙醇体积分数达85%,再用75%乙醇冲洗,离心,反复6次,去溶液取沉淀。加水溶解,用5% ZnSO₄ 4 mL和饱和Ba(OH)₂溶液16 mL振摇,离心去蛋白,反复10次。将所得溶液置于冰箱中过夜,次日取出溶解,8 000 r/min离心15 min,反复4次。用氯仿-正丁醇(4:1)与溶液按5:1的比例混合搅拌15 min,离心,反复3次,得澄清液即白术多糖溶液。以蒸馏水进一步配制成质量分数为4%白术多糖溶液,经灭菌处理后4保存备用。

1.5 动物分组与模型制备:雄性SD大鼠84只,体质量250~270 g,随机分为4组:假手术组、模型组、蒸馏水组(溶剂对照)及白术多糖组,每组21只,每组再根据伤后生存时间随机分为3个亚组,每亚组7只。模型组、蒸馏水组及白术多糖组的脑损伤实验动物模型采用自由落体撞击模型^[3]。SD大鼠用3%戊巴比妥钠按30 mg/kg行ip麻醉,经俯卧固定、常规消毒,头正中切开皮肤,分离骨膜,暴露左侧顶骨,于矢状缝旁开2.5 mm,冠状缝后1.5 mm钻一骨孔,直径5.0 mm,显露硬脑膜,在硬脑膜上放置一与骨孔大小吻合的垫片,以40 g的铁质圆柱体自25 cm高自由落体撞击垫片,造成脑组织挫裂伤,然后用骨蜡封闭骨窗,缝合头皮并再次消毒。假手术组除不予打击外其余处理同模型组。白术多糖组于伤后10 min用4%白术多糖溶液按40 mg/kg(预试验得到的最佳剂量)经左侧股静脉缓缓注入,蒸馏水组则注入等体积的蒸馏水,假手术组及模型组不进行任何治疗。整个实验过程中持续给予体温(肛温)监测,应用灯光加热使动物体温维持在(37±0.5)℃,直至麻醉苏醒。实验前后动物能自由获得饮水和食物。

1.6 脑组织含水量测定:各组动物于实验进行1、3、5 d后采用3%戊巴比妥钠按30 mg/kg行ip麻醉,迅速断头、取脑,取伤灶区脑组织,一部分用于测定脑组织含水量,其余部分则用于测iNOS活性。采用干湿法检测脑组织含水量,即首先将待测脑组织称湿质量,再放入恒温烤箱(104~110℃)内烘烤24 h后称其干质量,按公式[(湿质量-干质量)/湿质量×100%]计算含水量。

1.7 脑组织iNOS活性检测:iNOS活性采用比色法检测,用考马斯亮蓝法测定脑组织蛋白量。具体操作按试剂盒说明书进行。

1.8 统计学分析:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用SPSS 10.0统计软件,各组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较用 q 检验。

2 结果

2.1 各组实验动物脑组织含水量:模型组、蒸馏水组及白术多糖组各时间点脑组织含水量均较假手术组明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.01$);白术多糖组各时间点脑组织含水量显著低于模型组及蒸馏水组相应时间点,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。各组实验动物脑组织含水量具体数据见表1。

2.2 各组实验动物脑组织iNOS活性:模型组、蒸

馏水组及白术多糖组各时间点脑组织 iNOS 活性均较假手术组明显升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$);白术多糖组各时间点脑组织 iNOS 活性显著低于模型组及蒸馏水组,其差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。各组实验动物脑组织 iNOS 活性具体数据见表 2。

表 1 脑组织含水量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

Table 1 Comparison of water content in brain ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	含水量/%		
		1 d	3 d	5 d
假手术	-	78.23 ± 0.33	78.47 ± 0.84	78.27 ± 0.32
模型	-	81.37 ± 0.42 **	82.39 ± 0.43 **	81.41 ± 0.47 **
蒸馏水	-	81.42 ± 0.40 **	82.41 ± 0.43 **	81.50 ± 0.37 **
白术多糖	40	80.31 ± 0.42 **	81.34 ± 0.38 **	80.30 ± 0.32 ** ##

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $P < 0.01$

与蒸馏水组比较: ## $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs Sham group $P < 0.01$ vs model group

$P < 0.01$ vs distilled water group

表 2 脑组织 iNOS 活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

Table 2 Comparison of iNOS activity in brain ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	iNOS 活性/(U·mg ⁻¹)		
		1 d	3 d	5 d
假手术	-	0.56 ± 0.06	0.57 ± 0.85	0.56 ± 0.09
模型	-	2.21 ± 0.13 **	3.22 ± 0.19 **	4.49 ± 0.26 **
蒸馏水	-	2.17 ± 0.14 **	3.18 ± 0.18 **	4.39 ± 0.27 **
白术多糖	40	1.41 ± 0.10 **	2.41 ± 0.15 **	2.19 ± 0.16 ** ##

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $P < 0.01$

与蒸馏水组比较: ## $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs Sham group $P < 0.01$ vs model group

$P < 0.01$ vs distilled water group

3 讨论

随着国民经济的发展,颅脑外伤发生率居高不下,患者常因脑组织缺血缺氧引起脑水肿等继发性脑损害而致残、致死。NO 是一种重要的生物信息分子和效应分子,在体内广泛参与多种生理、病理过程,如调节脑血流、参与神经传递、介导炎症和免疫反应等。NO 在脑缺血区的病理生理反应中起重要作用,它一方面可通过扩张脑血管改善损伤区血供、抑制血小板聚集和白细胞黏附等对脑组织具有神经保护作用;另一方面可通过损伤 DNA、产生毒性更强的氧自由基等起神经毒性作用^[4~6]。NOS 则是合成 NO 的关键因素。NOS 的 3 种亚型 nNOS、eNOS、iNOS 均在中枢神经系统中得到证实,包括

胶质细胞、小胶质细胞、内皮细胞、巨噬细胞、血管平滑肌细胞及神经元等均可产生 NOS。在脑缺血时 eNOS 活性升高,进而引起 NO 生成增多,NO 导致缺血区脑血管扩张,改善缺血区的血供,从而对缺血脑组织起保护作用。与之相反,nNOS、iNOS 在脑缺血后起损害作用,不过两者在脑缺血后起作用的时程不一样,前者在脑缺血较早阶段起损害作用,而在脑缺血稍后阶段开始的损害作用则主要由后者引起。

因 NO 半衰期很短,仅几秒钟,直接检测尚有一定困难。NOS 是 NO 生物合成的关键因素,因此,人们常通过对 NOS 活性的检测来间接判断 NO 的变化。本实验通过检测 NOS 活性,研究创伤性脑损伤后应用白术多糖对脑组织中 NO 的影响。

通过分析实验结果发现,模型组、蒸馏水组及白术多糖组各时间点动物脑组织含水量和 iNOS 活性均较假手术组明显升高,但白术多糖组各时间点脑组织含水量和 iNOS 活性明显低于模型组及蒸馏水组相应时间点。这些结果表明,颅脑外伤后都会出现继发性脑水肿,以及由于缺血缺氧使损伤灶区 iNOS 表达量增多,但应用白术多糖能明显减轻损伤灶区脑水肿程度及下调 iNOS 的表达。

综上所述,已知 iNOS 活性增高使 NO 大量产生,NO 致使大量的氧自由基产生,氧自由基引起脂质过氧化,后者增加细胞膜的通透性而导致脑水肿。结合本研究,推测白术多糖可能是通过下调 iNOS 的表达,从而减少氧自由基产生,进而减轻创伤性脑损伤后继发性脑水肿的程度。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2000.
- [2] 邱细敏,卢岳华,沈品,等. 不同产地白术多糖含量测定[J]. 中国药业, 2005, 14(4): 40-41.
- [3] 王光伟,刘运生,梁有明,等. 重型颅脑外伤灶低温疗法的实验研究[J]. 医学临床研究, 2004, 21(6): 616-619.
- [4] Lipton S A, Choi Y B, Pan Z H, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds [J]. Nature, 1993, 364(6438): 626-632.
- [5] Wink D A, Hanbauer I, Krishna M C, et al. Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(21): 9813-9817.
- [6] Nowicki J P, Duval D, Poignet H, et al. Nitric oxide mediates neuronal death after focal cerebral ischemia in the mouse [J]. Eur J Pharmacol, 1991, 204(3): 339-340.