

要物质之一,也是 DNA 合成中不可缺少的小分子巯基化合物,具有消除氧自由基、维持细胞内正常的氧化还原环境和蛋白质的结构与功能等多方面的作用,广泛存在于真核细胞中,影响 GSH 合成的因素主要包括半胱氨酸 (Cysteine, Cys) 的供给和合成限速酶谷氨酰半胱氨酸合成酶 (glutamylcysteine synthetase, GCS) 的活性。辐射的直接效应是引起细胞中氧自由基的增加,损伤细胞核及膜成分。GCS 转录增加, GSH 水平升高修复氧化损伤是辐射应激反应的一个组成部分^[7]。实验结果显示银杏叶提取物能不同程度提高实验小鼠的 GSH 活性,降低辐射对实验小鼠的损害。

以上几个方面实验结果均表明银杏叶提取物对辐射损伤的实验小鼠具有较强保护作用,其作用机制可能与银杏叶提取物抗氧化作用以及免疫影响有关,但其他作用机制以及银杏叶提取物中银杏内酯

的相关作用正在进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 洪森荣,尹明华. 银杏叶提取物对缺血再灌注小鼠脑细胞凋亡的保护作用 [J]. 中草药, 2007, 38(12): 1864-1867
- [2] 李年生,钟志莲,姜德建. 银杏叶提取物的心肌延迟保护作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2007, 38(7): 1046-1050
- [3] 臧海霞,李军霞,王永利. 银杏叶提取物对缺血再灌注大鼠脑线粒体的保护作用 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1380-1383
- [4] 王宁,李应东,刘凯. 当归、黄芪及其有效成分抗辐射作用研究概况 [J]. 中国辐射卫生, 2008, 3(17): 121-122
- [5] 路晓钦,高月,刘永学,等. 四物汤对辐射小鼠造血功能影响的初步探讨 [J]. 中国中医药科技, 2002, 9(4): 216-218
- [6] 肖引,陈崇尚,华君,等. 五加双参片对辐射和化学物质损伤细胞的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2006, 27(14): 133F-1333
- [7] 邓海平,愈诗源,陈玉琴,等. X 射线辐射对仔鼠体重、皮毛生长及肝、肾脏组织 SOD、CAT 活力及 MDA 含量的影响 [J]. 动物学报, 2008, 54(6): 1029-1037

注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注损伤的影响

姚丽梅,段启*

(广东食品药品职业学院,广东广州 510520)

摘要:目的 观察注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注损伤的影响。方法 建立沙鼠全脑缺血再灌注损伤模型,观察注射用夏天无总碱对沙鼠脑卒中指数、脑指数、脑组织含水量及脑组织病理变化的影响。结果 注射用夏天无总碱高、中剂量均能显著降低沙鼠全脑缺血再灌注损伤脑卒中指数、脑组织含水量,减轻脑组织病变程度,但对脑指数无明显影响。结论 注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注损伤具有治疗作用。

关键词:注射用夏天无总碱;脑缺血;再灌注;沙鼠

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)08-1342-03

夏天无为罂粟科植物伏生紫堇 *Corydalis decumbens* (Thunb.) Pers. 的干燥块茎,味苦、微辛,性温,归肝经,具有活血通络、行气止痛的功效,用于中风偏瘫、跌打损伤、风湿性关节炎、坐骨神经痛。夏天无的主要活性成分为生物碱^[1],已有研究表明^[2-6],夏天无总碱对大鼠实验性脑缺血具有保护作用;可抑制大鼠实验性脑血栓形成,减轻脑栓塞引起的伊文思蓝染和脑水肿;对小鼠脑缺血损伤有保护作用,可降低脑组织内乙酰胆碱酯酶活性,保护神经元、抗神经元凋亡。注射用夏天无总碱是由从夏天无中提取的总生物碱制成的冻干粉针剂,可显著降

低家兔全血黏度、红细胞压积和红细胞聚集指数,抑制二磷酸腺苷、花生四烯酸和胶原诱导的血小板聚集,具有改善家兔血液流变性、活血化瘀的作用^[7]。本实验采用沙鼠全脑缺血再灌注损伤模型,进一步观察注射用夏天无总碱对脑缺血的治疗作用。

1 材料与方法

1.1 试验药物:注射用夏天无总碱(冻干粉针,含总生物碱>90%)(TACDI),2 mg/瓶,由石家庄华康制药有限公司提供,批号 050508,试验前用 0.9% 氯化钠注射液配制;灯盏细辛注射液,云南生物谷灯盏花药业有限公司生产,10 mL/支(含总黄

* 收稿日期:2010-01-04

作者简介:姚丽梅(1975-),女,河南漯河人,讲师,硕士,主要从事中药教学科研工作。

Tel: (020) 28854936 13711409229 E-mail: yaolm@gdzy.edu.cn

* 通讯作者 段启

酮 45 mg), 批号 20050322。

1.2 动物: 雄性长爪沙鼠 60 只, 体质量 (60 ± 10) g, 浙江省实验动物中心提供, 合格证号: SCXL (浙) 2003-0001。

1.3 仪器: LIBROR AEL-160 电子分析天平 (日本岛津公司); LEICA RM2135 切片机、LEICAH11210 漂片机、LEICAH11220 烤片机, LEICA EG1160 包埋机 (德国 LEICA 公司); YG-12T 生物组织电脑脱水机 (湖北阳光医疗有限责任公司)。

1.4 方法

1.4.1 分组造模及给药: 60 只沙鼠随机分为 6 组, 分别为模型组, 假手术组, 灯盏细辛注射液 (10 mg/kg) 组, 注射用夏天无总碱高、中、低剂量 (0.88、0.44、0.22 mg/kg) 组, 每组 10 只。参照文献方法^[8-10], 10% 水合氯醛 (0.35 g/kg) ip 麻醉沙鼠, 仰位固定, 常规消毒皮肤, 颈部正中切开, 钝性分离双侧颈总动脉, 用无创动脉夹夹闭 12 min, 然后去除动脉夹恢复血流, 再灌注 24 h, 建立沙鼠全脑缺血再灌注损伤模型, 消毒缝合皮肤。假手术组除不夹闭双侧颈总动脉外, 其余操作相同。各组于恢复血流再灌注同时舌下 iv 给药, 模型组和假手术组给予生理盐水, 给药容量均为 4 mL/kg。

1.4.2 神经损伤症状评分: 参照文献方法^[11], 于再灌注后 24 h 采用单盲法对沙鼠进行神经损伤症状评分, 评分标准见表 1, 并计算脑卒中指数。按卒中指数分值划分神经损伤症状等级: 0 级: 0 分; I 级: 1 分; II 级: 2 分; III 级: 3 分; IV 级: 4 分及 4 分以上。

表 1 脑卒中指数评分标准

Table 1 Grading standard of stroke index

症状	卒中指数	症状	卒中指数
竖毛震颤	1	眼睑下垂	1
运动减少	1	后肢瘫痪	3
听力减弱	1	旋转运动	3
抬头征	3	癫痫	3
眼球固定	3	昏迷	6

1.4.3 脑指数及脑组织含水量测定: 动物断头取脑, 去除小脑、硬脑膜及表面血管, 生理盐水洗净, 滤纸吸干, 称质量, 计算脑指数 (脑指数 = 脑湿质量/体质量 × 100); 沿左右大脑半球正中线纵向切开, 取左侧大脑半球称湿质量, 置 105 °C 烘箱 72 h, 烘至恒重, 计算脑组织含水量 [脑组织含水量 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量 × 100%]。

1.4.4 脑组织病理观察: 将右侧大脑半球用 10% 中性甲醛固定, 乙醇逐级脱水, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 光镜下观察海马结构及海马 CA1 区细胞形态

变化。按以下等级判定脑组织病变程度。0 级: 未见明显病理改变; I 级: 脑组织或脑膜轻度充血或脑膜及脑组织轻度充血或海马 CA1 区神经细胞数量轻度减少; II 级: 脑组织或脑膜轻度充血或脑膜及脑组织轻度充血 + 海马 CA1 区神经细胞数量轻度减少; III 级: 脑组织或脑膜轻度充血或脑膜及脑组织轻度充血 + 海马 CA1 区神经细胞轻度排列紊乱及数量轻度减少; 或海马 CA1 区神经细胞轻度排列紊乱及神经细胞数量减少。

2 结果

2.1 对脑卒中指数的影响: 注射用夏天无总碱高、中剂量均能显著降低沙鼠全脑缺血再灌注损伤脑卒中指数, 见表 2。

表 2 注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注损伤脑卒中指数的影响

Table 2 Effect of TACDI on stroke index of cerebral ischemia reperfusion injured gerbil

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	等级					P 值
		0	I	II	III	IV	
模型	-	1	2	3	2	2	-
假手术	-	10	0	0	0	0	< 0.01
灯盏细辛注射液	10	5	5	0	0	0	< 0.01
注射用夏天无总碱	0.88	2	6	1	1	0	< 0.05
	0.44	4	4	2	0	0	< 0.05
	0.22	3	1	3	2	1	> 0.05

与模型组比较 (P) 值, 表 4 同

Compared with model group (P value), Table 4 is same

2.2 对脑指数及脑组织含水量的影响: 注射用夏天无总碱高、中剂量组脑组织含水量显著下降, 但对脑指数无明显影响, 见表 3。

表 3 注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注脑指数及脑组织含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of TACDI on cerebral index, cerebral water content of cerebral ischemia reperfusion injured gerbil ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	脑指数	脑组织含水量/%
模型	-	1.45 ± 0.10	79.17 ± 0.65
假手术	-	1.39 ± 0.08	78.16 ± 0.86
灯盏细辛注射液	10	1.42 ± 0.12	78.36 ± 0.91*
注射用夏天无总碱	0.88	1.40 ± 0.09	78.33 ± 0.99*
	0.44	1.43 ± 0.03	78.57 ± 0.37*
	0.22	1.41 ± 0.10	78.73 ± 0.73

与模型组比较: * P < 0.05

* P < 0.05 vs model group

2.3 对脑组织病理变化的影响: 模型组沙鼠脑组织轻度充血, 大多样本海马 CA1 区神经细胞轻度排列紊乱及数量减少。假手术组灰白质界限清楚, 灰质区神经细胞及胶质细胞丰富, 白质区可见色深、界限

清楚的神经纤维束及胶质细胞; 大脑神经细胞、胶质细胞、神经纤维未见明显改变, 海马 CA1 区神经细胞形态、数量未见明显改变。灯盏细辛注射液组少数样本脑组织轻度充血, 偶见海马 CA1 区神经细胞减少。注射用夏天无总碱高、中剂量组少数样本脑组织轻度充血, 偶见海马 CA1 区神经细胞减少; 低剂量组大多样本脑组织充血, 海马 CA1 区神经细胞减少。注射用夏天无总碱各剂量组脑组织病变均比模型组轻, 其中高、中剂量效果较好。见表 4 及图 1。

3 讨论

脑血管疾病是目前危害人类健康的三大疾病之

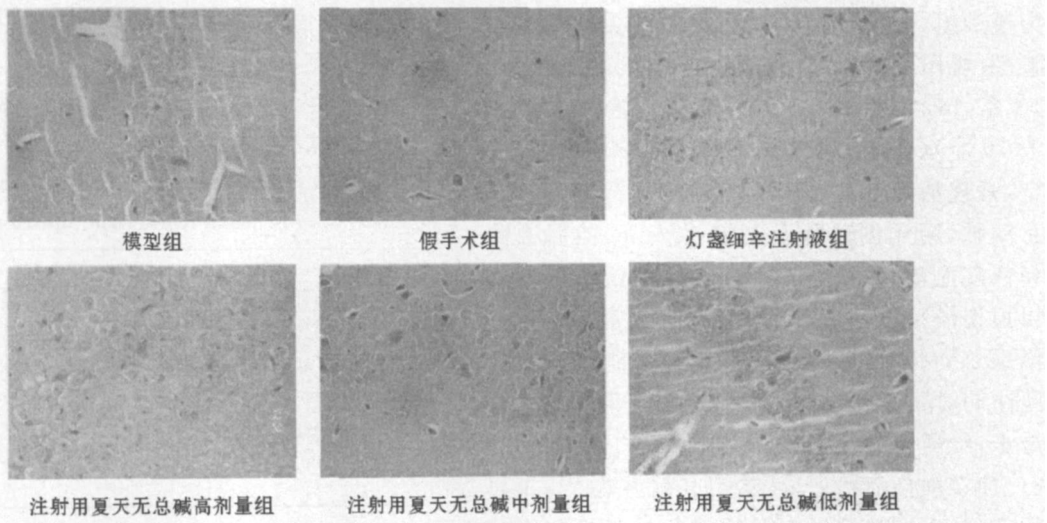


图 1 脑组织病理观察

Fig. 1 Cerebral pathological observation

一, 其中缺血性脑血管疾病以其高发病率、高致残率和高死亡率而严重危害人们的健康。缺血性脑血管病, 其本质就是动脉供血减少或中断而引起脑组织缺血或梗死, 导致神经细胞变性、坏死, 临床表现为各种症状和体征。再灌注损伤是指缺血组织恢复血流供应后, 引起该组织原有病变加重, 使缺血脑组织水肿, 细胞变性坏死, 加重动物神经功能障碍等。沙鼠由于缺乏完整的 Willis 环, 后交通动脉和前交通动脉十分细小甚至缺乏, 结扎双侧颈总动脉可引起前脑完全性缺血, 被广泛用于脑缺血研究及脑缺血药物的筛选。本实验采用夹闭双侧颈总动脉 12 min 再灌注 24 h, 建立沙鼠全脑缺血再灌注损伤模型。观察注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注损伤的作用, 结果表明注射用夏天无总碱能降低全脑缺血再灌注损伤沙鼠脑卒中指数和脑组织含水量, 减轻脑组织海马 CA1 区细胞损伤, 说明注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注损伤具有治疗作用。

表 4 注射用夏天无总碱对沙鼠全脑缺血再灌注损伤脑组织病理变化的影响

Table 4 Effect of TACDI on cerebral pathology change of cerebral ischemia reperfusion injured gerbil

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	等级				P 值
		0	I	II	III	
模型	-	0	2	5	3	-
假手术	-	10	0	0	0	< 0.01
灯盏细辛注射液	10	5	4	1	0	< 0.01
注射用夏天无总碱	0.88	4	5	1	0	< 0.01
	0.44	5	3	2	0	< 0.01
	0.22	1	6	3	0	< 0.05

参考文献:

- [1] 曾文亮, 张玲, 尚立霞. 夏天无化学成分的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(5): 665-666
- [2] 胡雪勇, 孙安盛, 余丽梅, 等. 夏天无总碱抗实验性脑缺血的作用 [J]. 中西医结合学报, 2005, 3(1): 46-49
- [3] 张国玺, 石京山, 余丽梅, 等. 夏天无注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤及 ICAM-1 mRNA 表达的影响 [J]. 遵义医学院学报, 2007, 30(1): 14-17
- [4] 高健, 顾振纶, 王天佑. 夏天无总碱对大鼠实验性脑血栓形成的影响 [J]. 中国血液流变学杂志, 2003, 13(4): 325-356
- [5] 盛瑞, 顾振纶, 蒋航, 等. 夏天无对小鼠学习记忆及脑内乙酰胆碱酯酶的影响 [J]. 中草药, 2003, 34(6): 543-545
- [6] 余丽梅, 文国容, 邓江. 夏天无注射液对小鼠脑缺血和神经元保护作用的实验研究 [J]. 上海中医药杂志, 2006, 40(9): 70-72
- [7] 孟庆玉, 戴岳, 林海, 等. 夏天无总碱对家兔血液流变性及血小板聚集的影响 [J]. 中药药理与临床, 2009, 25(3): 32-33
- [8] 张均田. 现代药理实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998
- [9] 马仁强, 陈键文, 庞建新. 赤芍总苷对沙土鼠全脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 第一军医大学学报, 2005, 25(4): 471-473
- [10] 张红梅, 李义召, 袁海鹰. 阿司匹林对沙土鼠全脑缺血再灌注后脑内一氧化氮合酶及一氧化氮的影响 [J]. 中国现代神经疾病杂志, 2004, 4(2): 87-89
- [11] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002