

的机制之一。上述结果表明, 中剂量为最佳剂量。之所以未表现为剂量依赖性, 可能与胃肠安丸采用通因通用治疗原则有关。

肠黏膜通透性^[6]是指某一特定物质在肠黏膜表面通过非易化扩散方式渗透的能力。一般以单位时间内某种物质(如糖分子)从肠腔吸收入血并从尿液排出的量来表示。糖类是目前应用较多的分子探针, 通过测定尿液中 L/M 值, 探讨药物对肠黏膜通透性的影响。本研究对实验大鼠尿液 L/M 值检测结果显示: 模型组由于肠黏膜屏障损伤, L/M 值显著升高 ($P < 0.05$), 说明其存在黏膜通透性增高, 屏障保护作用下降; 而胃肠安丸组 L/M 值显著降低, 提示胃肠安丸可能通过降低肠黏膜通透性, 保护肠黏膜屏障, 从而有效阻止病原微生物及其毒素经肠腔进入消化道以外的器官, 发挥止泻作用。

长期以来, 胃肠动力异常被认为是 IBS 症状产生的主要病理基础, 且 IBS 患者胃肠动力异常具有广泛性、高反应性的特点。本研究对模拟 IBS-D 大鼠的餐后空肠平滑肌运动检测结果显示: 模型大鼠平滑肌运动幅度较对照组显著增大, 出现肠动力紊乱; 而胃肠安丸可使平滑肌运动幅度显著下降。结合血清 NO 测定结果推测, 胃肠安丸可能通过降低空肠平滑肌运动的幅度、缓解平滑肌痉挛、干预或调整小肠传输功能紊乱, 延长肠内容物在肠腔内停留时间, 从而促进乳糜及水分吸收, 达到止泻目的。

胃肠安丸由木香、麝香、檀香、沉香、朱砂、川朴、枳壳、大黄、巴豆霜、川芎、大枣 11 味中药组成, 其中木香、檀香、沉香、川朴、枳壳具有行气调中止痛之功, 朱砂逐痰涎除中恶腹痛, 川芎、麝香活血以行气, 大黄、巴豆霜攻下积滞, 大枣调和诸药, 综观全方具有芳香化浊、理气止痛、健胃导滞等功效, 组方注重攻补兼施, 寒热并用, 临床常用于治疗多种消化系统疾病。研究表明该方作为一个中药复方制剂, 是从多方面发挥其对 IBS-D 的治疗作用, IBS 的病因未明确、病理改变复杂, 胃肠安丸对 IBS-D 的作用机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Natalia Nieto, Marla Dolores Mesa. Contribution of polyunsaturated fatty acids to intestinal repair in protein energy malnutrition [J]. *Dig Dis Sci*, 2007, 52(6): 1485-1496
- [2] 徐海珍, 谢建群, 施 斌. 腹泻型肠易激综合征大鼠结肠黏膜炎症细胞因子的表达及温中健脾方对其影响的研究 [J]. *上海中医药杂志*, 2007, 41(6): 69-72
- [3] 周干南. 小鼠腹泻模型的制备及与腹泻指数应用 [J]. *中草药*, 1994, 25(4): 195-199
- [4] Powell A K, Bywater R A. Endogenous nitric oxide release modulates the direction and frequency of colonic migrating motor complexes in the isolated mouse colon [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2001, 13(3): 221
- [5] 王继峰. 生物化学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007
- [6] 尚晓滨, 吴成中, 李东华, 等. 活血化瘀中药对清醒通下中药增效作用的实验研究 II [J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2006, 12(2): 125-128

八味沉香胶囊对大鼠局灶性脑缺血的保护作用及其机制探讨

李月玲¹, 杨玉梅^{1*}, 钱立娜¹, 崔成立¹, 王玉华²

(1 包头医学院, 内蒙古 包头 014060; 2 内蒙古医学院, 内蒙古 呼和浩特 010059)

摘要:目的 观察八味沉香胶囊对大鼠局灶性脑缺血的保护作用, 初步探讨其作用机制。方法 采用改良的线栓法制作大鼠大脑中动脉栓塞模型 (MCAO), 进行大鼠的神经行为学评分, 测定丙二醛 (MDA) 水平、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 病理切片观察神经元形态结构的改变, 免疫组织化学方法检测核因子 κB (NF- κB) 蛋白的表达。结果 八味沉香胶囊能减少局灶性脑缺血大鼠的神经功能评分, 降低局灶性脑缺血后血清中 MDA 水平, 提高 SOD 活性, 神经细胞形态的改变与模型组比较明显减轻, 并且抑制 NF- κB 的表达。结论 八味沉香胶囊对大鼠局灶性脑缺血有明显的保护作用, 其机制可能是通过有效地拮抗自由基损伤, 提高脑组织抗氧化能力, 抑制炎症与免疫反应来实现的。

关键词: 八味沉香胶囊; 局灶性脑缺血; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; NF- κB

中图分类号: R286 10 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2010)12-2043-03

收稿日期: 2010-05-21

基金项目: 内蒙古自然科学基金重点项目 (200508010902)

作者简介: 李月玲 (1979—), 女, 锡伯族, 辽宁省新民县人, 讲师, 硕士, 从事药理学的教学、科研工作。

Tel: (0472) 7167843 E-mail: yueyue_lyl@126.com

* 通讯作者 杨玉梅 Tel: (0472) 7167824 Fax: (0472) 7167824 E-mail: yym457@yahoo.com.cn

八味沉香胶囊是由沉香、肉豆蔻、丁香、广枣、木香等组成的蒙药制剂,具有平息气血相搏、止痛、补心益气之功效,用于气血相搏、心区疼痛、昏厥、心悸、失眠、急躁不安、健忘症、癫痫等的治疗。笔者系统研究了八味沉香胶囊对大鼠心脑血管功能的影响^[1]。本研究拟观察八味沉香胶囊对脑缺血损伤的保护作用并初步探讨其作用机制,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物和试剂:八味沉香胶囊内容物(含槲皮素 68.32 $\mu\text{g/g}$),内蒙古医学院药学院提供,临用时充分研磨后用蒸馏水配成混悬液。尼莫地平片(西安博爱制药有限责任公司,批号 E07034);2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色剂(北京化学试剂公司);超氧化物歧化酶(SOD)测试盒、丙二醛(MDA)测试盒(南京建成生物工程研究所);核因子- KB (NF- KB)试剂盒(北京百奥泰斯公司)。

1.2 动物:健康 Wistar 大鼠,清洁级,由内蒙古大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(蒙)2002-0001。

1.3 主要仪器:721-B 型分光光度计(上海第三分析仪器厂);离心机(北京医疗仪器修理厂);数码相机(日本 Sony);BI-2000 图像分析系统(成都盟泰科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组与给药:健康雌性 Wistar 大鼠 72 只,体重(220 $\pm$ 50) g,随机分为假手术组(生理盐 20 mL/kg),模型组(生理盐水 20 mL/kg);尼莫地平组(0.024 g/kg);八味沉香胶囊大、中、小剂量(1.2、0.6、0.3 g/kg)组;每组 12 只。各组大鼠均 ig 给药,连续 24 d,1 次/d,于末次给药 1 h 后开始造模。

2.2 大鼠局灶性脑缺血模型的制备:采用改良的栓线法制备局灶性大鼠脑缺血模型^[2]。室温(22 $^{\circ}\text{C}$)条件下,3%戊巴比妥钠 30 mg/kg ip 麻醉大鼠后,仰卧固定于手术台上。颈正中切开,分离左侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA),结扎 ECA、CCA 近心端;在 CCA 近动脉分叉处剪一小口,提起 ECA、CCA 以便止血^[3]。缓慢向 ICA 插入栓线(向内上方角度插入,否则易误入翼腭动脉),直到有阻力不能再插入为止,回抽少许,栓线插入深度为(20 $\pm$ 2) mm(自 CCA 分叉处算起)。结扎 ICA,缝合皮肤。假手术组仅切开皮肤和剥离血管,不进行栓线处理,其余操作同他组。术后大鼠

保温。

2.3 观察指标:大鼠清醒后立刻观察动物行为障碍程度;采取双盲法并参考 Longa 等^[4]的方法对大鼠行为障碍分级评分。脑缺血 24 h 后,3%戊巴比妥钠 30 mg/kg ip 麻醉大鼠,取血制备血清,用 721-B 分光光度计按试剂盒说明书测定 SOD 活性及 MDA 水平。取血后断头取脑,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱快速冷冻 20 min;去除嗅球、小脑和低位脑干,冠状切片,每片厚 2 mm,将脑片置于玻璃皿中,加入 1% TTC 溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中避光孵育 20 min,待显色完全后置于甲醛溶液中固定。将梗死区与切下的 5 等份脑分别称质量,计算梗死区占总脑切片的质量百分比,即梗死范围。其余脑组织进行固定,石蜡包埋。每个组织块连续切片进行 HE 染色和免疫组织化学染色。免疫组织化学染色按试剂盒说明书进行,用 BI-2000 图像分析系统进行图像分析,检测分析阳性细胞。

2.4 统计学处理:SPSS 11.5 统计软件进行数据处理分析,所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异的显著性检验用 t 检验。

3 结果

3.1 一般情况:实验期间各组大鼠摄食、进水及生长状况良好,给药 24 d 未有大鼠死亡。手术过程中共死亡 9 只。实验开始与结束各组大鼠体质量无显著差异。

3.2 八味沉香胶囊对脑缺血大鼠神经功能的影响:与模型组比较,八味沉香胶囊各组 and 尼莫地平组均有降低神经功能评分的趋势,但差异无统计学意义,结果见表 1。

3.3 八味沉香胶囊对脑缺血大鼠血清中 SOD 活性和 MDA 水平的影响:与模型组比较,八味沉香胶囊各剂量和尼莫地平均可明显提高血清中 SOD 活性,降低 MDA 水平($P < 0.05$)。见表 1。

3.4 八味沉香胶囊对脑缺血大鼠脑梗死范围的影响:与模型组比较,八味沉香胶囊各剂量和尼莫地平均可使脑梗死范围缩小($P < 0.01$)。见表 1。

3.5 八味沉香胶囊对脑缺血大鼠脑病理组织学的影响:经 HE 染色后,光镜下可见假手术组大鼠脑组织神经元基本正常,核居中,无神经元变性、坏死,无细胞水肿及间质水肿;模型组神经元变性、坏死,结构模糊、胞体肿胀,有不同程度的核深染、核固缩、核溶解,神经元数目明显减少,有神经细胞自溶及坏死,间质水肿明显,细胞及血管周围间隙增大;尼莫地平组细胞间隙增宽,神经细胞和神经胶质细胞水

表 1 八味沉香胶囊对脑缺血大鼠神经功能、血清 MDA 和 SOD、梗死范围和 NF-κB 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effect of Bawei Chenxiang Capsula on neurological function, MDA and SOD in serum, cerebral infarction range, and NF-κB protein expression of focal cerebral ischemia injury in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	神经功能评分	SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	梗死范围/%	阳性细胞数/个
假手术	—	12	0	160.58±6.08	6.73±1.72	0	5.25±1.42
模型	—	10	2.2±0.92	128.76±10.71 [#]	10.43±2.91 [#]	38.88±5.98 [#]	27.70±4.22 [#]
尼莫地平	0.024	10	1.8±0.92 ^{**}	156.53±6.99 [*]	6.44±1.60 ^{**}	24.92±6.24 ^{**}	12.70±2.58 ^{**}
八味沉香胶囊	1.2	10	1.6±0.70 ^{**}	159.60±8.44 [*]	7.45±2.01 [*]	30.26±3.31 [*]	14.20±3.26 [*]
	0.6	10	1.9±0.74 ^{**}	159.55±8.53 [*]	8.03±2.05 [*]	31.63±3.84 ^{**}	18.10±3.14 ^{**}
	0.3	11	1.9±0.83 ^{**}	158.74±8.99 [*]	8.39±1.87 [*]	33.84±5.13 [*]	22.27±2.72 ^{**}

与假手术组比较: [#] $P < 0.01$; 与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$
[#] $P < 0.01$ vs Sham operation; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group

肿及间质疏松程度均明显减轻; 八味沉香胶囊大剂量组神经细胞排列基本整齐, 少数细胞轻度肿胀, 核仁清楚, 胞膜连续; 中剂量组神经细胞及胶质细胞仅有轻微水肿, 核仁清晰, 胞膜完整, 个别细胞坏死溶解; 小剂量组神经细胞和神经胶质细胞有轻度水肿。见图 1。

3.6 八味沉香胶囊对大鼠局灶性脑缺血损伤后 NF-κB 蛋白的影响: 免疫组化结果显示, 缺血损伤可以增加 NF-κB 在脑组织中的表达; 与模型组比较, 八味沉香胶囊各剂量和尼莫地平均可明显抑制 NF-κB 的表达 ($P < 0.05$)。见图 2 和表 1 (表达 NF-κB 的阳性细胞为光镜下见胞核内有棕黄色颗粒)。

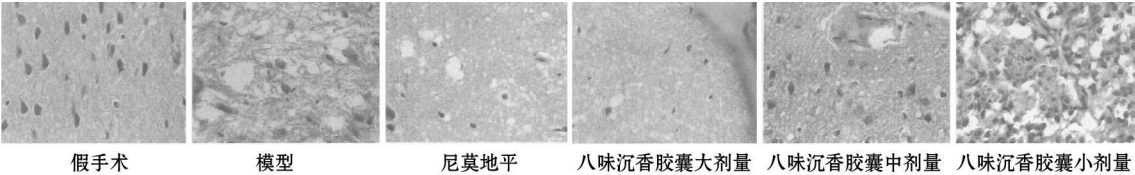


图 1 八味沉香胶囊对脑缺血大鼠大脑病理组织学的影响

Fig. 1 Effect of Bawei Chenxiang Capsula on pathological change of focal cerebral ischemia injury in rats

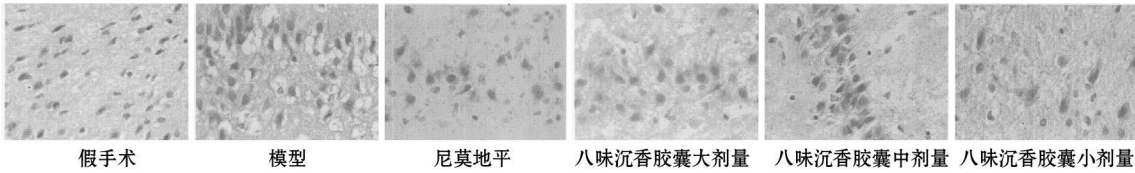


图 2 八味沉香胶囊对脑缺血大鼠脑组织中 NF-κB 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of Bawei Chenxiang Capsula on NF-κB protein expression of focal cerebral ischemia injury in rats

4 讨论

本实验结果显示, 八味沉香胶囊能减轻脑缺血大鼠的神经功能障碍, 明显提高脑缺血后血清中 SOD 活性, 降低 MDA 水平; 明显抑制 NF-κB 的表达, 减轻缺血神经元功能损害, 对局灶性脑缺血损伤具有明显的保护作用。近年来的研究表明, 脑缺血损伤与炎症反应密切相关, 当脑缺血时氧自由基和其他信使刺激可激活 NF-κB、趋化因子和炎性细胞因子等。活化的 NF-κB 又可与多种炎性介质基因上的启动子或增强子中的 κB 序列作用, 诱导炎性介质的表达, 促使炎性细胞在脑组织中浸润引起损伤^[5]。本实验结果提示, 八味沉香胶囊对氧自由基的产生具有抑制作用, 同时也增强内源性氧自由基清除系统的功能, 减轻脂质过氧化反应, 并且抑制炎

症与免疫反应, 从而达到对缺血脑组织的保护作用。

参考文献:

[1] 杨玉梅, 覃建民, 李月玲, 等. 八味沉香胶囊对大鼠血栓形成和微循环的影响 [J]. 中国民族医药杂志, 2010, 16(3): 43-44.
[2] 冯新红, 沈霞, 袁伟, 等. 栓线法制作局灶性大鼠脑缺血再灌注模型的改进及效果 [J]. 徐州医学院学报, 2003, 23(6): 483-485.
[3] 何学令. 插线法制作大鼠局灶性脑缺血再灌注模型方法的改进 [J]. 四川动物, 2003, 22(3): 178-179.
[4] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
[5] Seegers H, Grillon E, Triouillier Y, et al. Nuclear factor kappa B activation in permanent intraluminal focal cerebral ischemia in the rat [J]. Neurosci Lett, 2000, 288(3): 241-248.