

芪蛭通络胶囊及其9味活血化瘀药拆方对脑缺血再灌注损伤模型大鼠的保护作用^Δ

武晓伟*,刘 聪,李 佳,李 祥,倪 艳[#](山西省中医药研究院,太原 030012)

中图分类号 R285;R289 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)19-2674-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.19.16

摘要 目的:研究芪蛭通络胶囊及其9味活血化瘀药拆方对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用,为通过拆方的方法研究芪蛭通络胶囊活性成分奠定基础。方法:将60只SD大鼠随机分为假手术组(0.5%羧甲基纤维素钠)、模型组(0.5%羧甲基纤维素钠)、芪蛭通络胶囊缺活血化瘀药味组[0.389 g/(kg·d)]、芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组[0.253 g/(kg·d)]和芪蛭通络胶囊成品组[0.500 g/(kg·d)],每组12只;各组大鼠均灌胃给药,每天1次,连续14 d;末次给药2 h后,除假手术组外,其余各组大鼠均采用线栓法复制脑缺血再灌注损伤模型。缺血2 h再灌注24 h后,依据Bederson评分法对各组大鼠进行神经功能评分,氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法计算其脑梗死面积,生化法测定大鼠脑组织中一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)的含量,酶联免疫吸附法检测大鼠脑组织中白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的含量。结果:与假手术组比较,模型组大鼠的神经功能评分显著升高($P<0.05$),脑梗死面积和脑组织中NO、MDA、LDH、IL-1 β 、TNF- α 含量均显著增加($P<0.05$),脑组织中SOD含量显著减少($P<0.05$)。与模型组比较,各给药组大鼠神经功能评分均显著降低($P<0.05$),脑梗死面积和脑组织中NO、MDA、LDH、IL-1 β 、TNF- α 含量均显著减少($P<0.05$),脑组织中SOD含量显著增加($P<0.05$)。与芪蛭通络胶囊成品组比较,芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组和芪蛭通络胶囊缺活血化瘀药味组大鼠脑梗死面积和脑组织中NO、MDA、LDH、IL-1 β 、TNF- α 含量均显著增加($P<0.05$),SOD含量均显著减少($P<0.05$)。结论:芪蛭通络胶囊的全方及其9味活血化瘀药(或不含9味活血化瘀药)的拆方对大鼠脑缺血再灌注损伤均具有一定的保护作用,活血化瘀药拆方的保护作用虽不及全方,但全方缺活血化瘀药味后其保护作用也明显下降,表明活血化瘀药在全方发挥保护脑缺血再灌注损伤功能中具有重要作用,将活血化瘀药物拆分出来研究对阐明芪蛭通络胶囊全方的作用具有一定的意义。

关键词 芪蛭通络胶囊;拆方;活血化瘀;脑缺血再灌注损伤;大鼠

Protective Effects of Qizhi Tongluo Capsules and Their 9 Ingredients Decomposed Recipes for Promoting Blood Circulation and Removing Blood Stasis on Cerebral Ischemia-reperfusion Injury Model Rats

WU Xiaowei, LIU Cong, LI Jia, LI Xiang, NI Yan (Shanxi Provincial Academy of TCM, Taiyuan 030012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effects of Qizhi tongluo capsules and their 9 ingredients decomposed recipes for promoting blood circulation and removing blood stasis (PBCRBS) on cerebral ischemia-reperfusion injury model rats, and to lay a foundation for studying the active components of Qizhi tongluo capsules through decomposed recipes. METHODS: Totally 60 SD rats were randomly divided into sham operation group (0.5% CMC-Na), model group (0.5% CMC-Na), Qizhi tongluo capsules without the ingredients for PBCRBS group [0.389 g/(kg·d)], the ingredients of Qizhi tongluo capsules for PBCRBS group [0.253 g/(kg·d)] and Qizhi tongluo capsules group [0.500 g/(kg·d)], with 12 rats in each group. The rats were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 14 d. 2 h after last medication, except for sham operation group, cerebral ischemia-reperfusion injury model was induced by suture method in each group. The neurological function score was measured according to Bederson score 2 h after ischemia and 24 h after reperfusion. The area of cerebral infarction was calculated by TTC staining. The contents of NO, MDA, LDH and SOD in cerebral tissue of rats were measured by biochemical method. The contents of IL-1 β and TNF- α in cerebral tissue of rats were detected by ELISA. RESULTS: Compared with sham operation group, the neurological function score, the infarct area and the contents of NO, MDA, LDH, IL-1 β and TNF- α in cerebral tissue were significantly increased in model group ($P<0.05$). The content of SOD in cerebral tissue were decreased significantly ($P<0.05$). Compared with model group, the neurological function score of rats was decreased significantly in each administration group ($P<0.05$); the area of cerebral infarction, the contents of NO, MDA, LDH, IL-1 β and TNF- α in cerebral tissue were decreased significantly ($P<0.05$), while the content of SOD in cerebral tissue was increased significantly ($P<0.05$). Compared with Qizhi

tongluo capsules group, the area of cerebral infarction, the contents of NO, MDA, LDH, IL-1 β and TNF- α in cerebral tissue were increased in the ingredients of Qizhi tongluo capsules for PBCRBS group and Qizhi tongluo capsules without the ingredients for PBCRBS group ($P<0.05$), the

^Δ 基金项目:山西省科技攻关项目(No.2016ZD0402)

* 硕士研究生。研究方向:中药新药开发。E-mail:491885472@qq.com

[#] 通信作者:主任药师,硕士生导师。研究方向:中药化学及药效物质基础。E-mail:niyan_01@hotmail.com

content of SOD was decreased significantly ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: The formulation of Qizhi tongluo capsules and their 9 ingredients decomposed recipes for PBCRBS (without 9 ingredients for PBCRBS) have protective effects on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. Although the protective effects of decomposed recipes for PBCRBS is not as good as that of the whole prescription, the protective effects of whole formulation were decreased significantly. It shows that the drugs for PBCRBS play an important role in protecting the function of cerebral ischemia reperfusion injury. It is of certain significance to separate the ingredients for PBCRBS to clarify the effect of Qizhi tongluo capsules.

KEYWORDS Qizhi tongluo capsules; Decomposed recipes; Promoting blood circulation and removing blood stasis; Cerebral ischemia reperfusion; Rat

芪蛭通络胶囊全方由黄芪、水蛭、人参等26味药组成,兼顾气、血、风、痰、虚、瘀等多个病理因素,配伍攻补兼施,寒温并用,集气血津液同治于一方,诸药合用,共奏补气活血、化痰通络之功,适用于中风恢复期后遗症的治疗^[1]。该药在临床上有近20年的应用史,已开展了多项临床研究,证明了其对高血脂、心肌梗死、脑中风等多种心脑血管疾病均具有良好的辅助治疗作用,且在同类产品中具有明显的优势^[2-4],但缺乏药效物质基础的研究。而药效物质基础是实现中药现代化、国际化的关键,通过药效物质基础研究能够在一定程度上科学解释芪蛭通络胶囊的功效,促进其进一步的开发利用。

拆方研究是目前中药复方研究的常用方法,通过拆方能够简化复方研究的难度,可为发现复方的活性部位和活性成分奠定基础^[5]。脑中风病因虽多而复杂,但血瘀为其发展的决定主因,贯穿于疾病的各个阶段,活血化瘀乃中风的基本治法^[6-7]。脑中风又有缺血性脑中风和出血性脑中风两种形式,其中以缺血性脑中风最为常见。在缺血性脑中风再灌注的治疗过程中,会生成大量的氧自由基,诱发脑细胞的凋亡和坏死,加重脑损伤^[8]。因此,能否对治疗过程中氧自由基损伤起到保护作用,是中风药是否具有良好疗效的关键因素。本研究依据各味药功效,将芪蛭通络胶囊中9味活血化瘀药单独拆分出来,通过观察芪蛭通络胶囊全方、芪蛭通络胶囊活血化瘀药组方、芪蛭通络胶囊全方缺活血化瘀药组方对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用,为9味活血化瘀药拆方提供理论依据,并为后续通过拆方研究芪蛭通络胶囊药效物质奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

Synergy H1 多功能微孔板检测仪(美国Bio-Tek公司);KDC-2046 低速冷冻离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司);754紫外-可见分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);RE5298A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);DZF-6050 真空干燥箱(南京沃环科技实业有限公司);FW-100 高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司);SE402F 电子分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司];HH-1 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪

器有限公司)。

1.2 药品与试剂

水蛭、川芎、土鳖虫、丹参、郁金、红花、鸡血藤、姜黄、泽兰、黄芪、人参、麦冬、五味子、何首乌、当归、赤芍、毛冬青、全蝎、天麻、胆南星、猪牙皂、冰片、羌活、肉桂、地龙、僵蚕共26味药均购自山西省中医院药房,经山西省中医药研究院倪艳教授鉴定均符合2015年版《中国药典》(一部)规定;芪蛭通络胶囊(山西振东制药股份有限公司,批号:20171101,规格:0.5 g);考马斯亮蓝试剂盒(批号:20181119)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号:20181119)、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(批号:20181119)、一氧化氮(NO)检测试剂盒(批号:20181119)均购自南京建成生物工程研究所;白细胞介素1 β (IL-1 β)酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(批号:201809)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)ELISA检测试剂盒(批号:201809)、乳酸脱氢酶(LDH)ELISA检测试剂盒(批号:201809)均购自黄石市艾恩斯生物科技有限公司;羧甲基纤维素钠(CMC-Na,天津市光复精细化工研究所);2%氯化三苯基四氮唑(TTC)染液(北京索莱宝科技有限公司,批号:20180710)。

1.3 动物

清洁级健康成年SD大鼠60只,♂,体质量250~280 g,8~10周龄,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0002,动物批号:11401500037956。清洁级动物饲养环境由山西省中医药研究院提供,饲养温度维持在(25±2)℃,噪音≤60 dB,相对湿度维持在(50±10)%,昼夜温差≤2℃,昼夜交替时间为12 h/12 h。实验动物用水为纯化水,每天更换1次;垫料为混合型木屑,每周更换2次;饲养笼经清洗灭菌后,每周更换1次。本实验所有研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

2 方法

2.1 药液的制备

(1)芪蛭通络胶囊活血化瘀组:包括水蛭、川芎、土鳖虫、丹参、郁金、红花、鸡血藤、姜黄、泽兰9味药,依据芪蛭通络胶囊制备工艺制备后,用0.5%CMC-Na溶液制备成质量浓度为25.3 g/L的溶液。(2)芪蛭通络胶囊缺活

血化瘀药味组:包括黄芪、人参、麦冬、五味子、何首乌、当归、赤芍、毛冬青、全蝎、天麻、胆南星、猪牙皂、冰片、羌活、肉桂、地龙、僵蚕17味药,依据芪蛭通络胶囊制备工艺制备后,用0.5%CMC-Na溶液制备成质量浓度为38.9 g/L的溶液。(3)芪蛭通络胶囊成品组:取成品芪蛭通络胶囊,用0.5%CMC-Na溶液制备成质量浓度为50 g/L的溶液。

2.2 分组与给药

将60只SD大鼠适应性饲养1周后随机分为5组,即假手术组[灌胃等量0.5%CMC-Na溶液]、模型组(0.5%CMC-Na溶液)、芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组[0.253 g/(kg·d)]、芪蛭通络胶囊缺活血化瘀药味组[0.389 g/(kg·d)]和芪蛭通络胶囊成品组[0.500 g/(kg·d)],每组12只,其中6只用于脑梗死率的测定,6只用于实验室指标的检测。药物组大鼠灌胃剂量均根据该方的组成换算的等效剂量,每天灌胃给药1次,连续给药14 d。末次给药2 h后,复制脑缺血再灌注损伤大鼠模型。

2.3 造模

参照文献方法^[9-10]复制脑缺血再灌注损伤大鼠模型。术前禁食不禁水12 h,适量戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉后,将大鼠固定于鼠板上,剃除颈部毛,酒精消毒颈部皮肤,颈部正中作约2.5 cm的切口,使大鼠左侧颈动脉三角暴露,然后采用钝性分离法逐层分离组织,找出左侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA)。在CCA下插入两根长度约10 cm的缝合线,在ECA和ICA下分别插入一根长度约10 cm的缝合线备用。分别结扎CCA和ECA下一根缝合线(注意不要结扎到白色的迷走神经),用动脉夹封闭ICA,在CCA近心端用眼科剪剪开一小口(注意不要剪断CCA)。用手拉扯CCA下未结扎的缝合线,通过导线针将鱼线从缺口内插入(体质量为260~280 g的大鼠选用直径为0.254 mm的鱼线,体质量为280~300 g的大鼠选用直径为0.286 mm的鱼线,将鱼线剪成6 cm的长度,分别在2、3、4、5 cm处用黑色标记笔作一标记,插入前浸泡在生理盐水中,于95℃烘箱中烘干,使鱼线具有一定的硬度,并在鱼线前端沾适量石蜡,避免鱼线前端上的毛刺划伤大鼠大脑),放开ICA上的动脉夹,轻推鱼线,使之由CCA通过分叉部进入ICA,直至大脑中动脉的起点,阻断大脑中动脉的血液供应,插入深度由分叉处计算约20 mm(鱼线上2 cm标记大致位于分叉处),结扎ICA下的鱼线,固定鱼线的位置。手术完成后,逐层缝合颈部切口,用碘酒消毒。注意在手术过程中和手术结束后都要维持大鼠的体温在37℃左右。缺血2 h后拔除鱼线,再灌注24 h。假手术组大鼠手术过程与模型组相同,但不插入鱼线。

2.4 检测指标

2.4.1 神经功能评分 待大鼠清醒后,参照Bederson评分方法^[11]对各组大鼠的神经功能进行评分。评分标准如下:无神经损伤症状,0分;悬尾试验中不能完全伸展对侧前爪,1分;前肢抵抗对侧推力能力下降,2分;自由行走时向对侧转圈,3分。得分越高表明神经功能受损程度越高。

2.4.2 脑梗死率测定 手术结束后大鼠断头取脑,去除嗅球、小脑和低位脑干,将取出的鼠脑用4℃生理盐水冲洗后放在脑模上,连同脑模一起放入-20℃冰箱中冷冻。20 min后取出鼠脑及脑模,用刀片连续冠状切片(约2 mm),将脑切片置于2% TTC染液中,于37℃烘箱中避光温育15 min,染色后,正常组织呈现红色,梗死组织呈现白色。将脑片放在深蓝色的背景上,数码相机拍照,照片用Image Pro Plus 6.0软件处理分析,计算大鼠脑梗死率:脑梗死率(%) = $\frac{\Sigma \text{梗死面积}}{\Sigma \text{全脑片面积}} \times 100\%$ 。

2.4.3 脑组织中NO、LDH、MDA、SOD和炎症因子IL-1 β 、TNF- α 含量的测定 大鼠缺血2 h再灌注24 h后,适量乌拉坦麻醉,断头取脑,称定全脑的质量,用4℃生理盐水冲洗后,将全脑放入匀浆管中,加入全脑质量9倍体积的4℃生理盐水进行匀浆,制成10%的组织匀浆。将组织匀浆在4℃下以3 000 r/min离心20 min,取上清液,备用。按照相应试剂盒说明操作,分别对脑组织匀浆中NO、LDH、MDA、SOD、IL-1 β 和TNF- α 的含量进行测定。

2.5 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,先进行方差齐性检验,若方差齐性,组间比较采用LSD-*t*检验;若方差不齐性,则组间比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠神经功能评分结果

与假手术组比较,模型组大鼠的神经功能评分显著升高($P < 0.05$),表明模型复制是成功的(评分在2分以上即可说明模型复制成功)。与模型组比较,芪蛭通络胶囊成品组、芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组以及芪蛭通络胶囊缺活血化瘀药味组大鼠的神经功能评分均显著降低($P < 0.05$),但三组间差异无统计学意义($P > 0.05$),说明各组对脑缺血再灌注大鼠神经功能均具有改善作用。各组大鼠神经功能评分结果见表1。

3.2 大鼠脑梗死率测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠脑梗死率显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较,芪蛭通络胶囊成品组、芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组和芪蛭通络胶囊缺活血化瘀药味组大鼠的脑梗死率均显著降低($P < 0.05$),说明各组对脑缺血再灌注大鼠脑梗死均具有改善作用。其中,芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组大鼠脑梗死率降低程度

表1 各组大鼠神经功能评分结果($\bar{x} \pm s, n=12$)

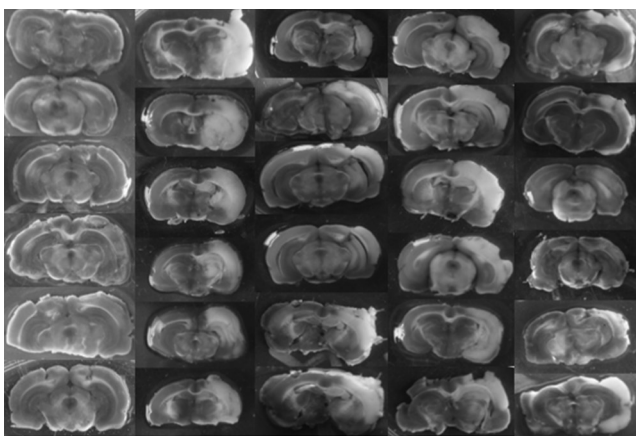
Tab 1 The neurological function score of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量, g/(kg·d)	神经功能评分, 分
假手术组		0
模型组		2.86 ± 0.36*
芪蛭通络胶囊活血化癥药味组	0.253	2.14 ± 0.36*
芪蛭通络胶囊缺活血化癥药味组	0.389	2.07 ± 0.26*
芪蛭通络胶囊成品组	0.500	2.00 ± 0.00*

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$

Note: vs. sham operation group, * $P < 0.05$; vs. model group, # $P < 0.05$

虽不及芪蛭通络胶囊成品组($P < 0.05$),但芪蛭通络胶囊全方缺活血化癥药味后的保护作用显著减弱(脑梗死率显著升高)($P < 0.05$),减弱到与单独使用活血化癥药味的效果相近,这表明活血化癥药对芪蛭通络胶囊全方发挥降低脑梗死率功效具有重要作用。各组大鼠TTC染色结果见图1,脑梗死率测定结果见表2。



A.假手术组 B.模型组 C.芪蛭通络胶囊活血化癥药味组 D.芪蛭通络胶囊缺活血化癥药味组 E.芪蛭通络胶囊成品组

图1 各组大鼠TTC染色结果

Fig 1 TTC staining results of rats in each group

表2 各组大鼠脑梗死率测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Determination of cerebral infarction rate of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量, g/(kg·d)	脑梗死率, %
假手术组		0
模型组		30.62 ± 4.19*
芪蛭通络胶囊活血化癥药味组	0.253	23.10 ± 2.92 [△]
芪蛭通络胶囊缺活血化癥药味组	0.389	20.36 ± 4.64 [△]
芪蛭通络胶囊成品组	0.500	11.00 ± 4.33*

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$;与芪蛭通络胶囊成品组比较, [△] $P < 0.05$

Note: vs. sham operation group, * $P < 0.05$; vs. model group, # $P < 0.05$; vs. Qizhi tongluo capsules group, [△] $P < 0.05$

3.3 大鼠脑组织中NO、LDH、MDA及SOD含量测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中NO、LDH、

MDA含量显著增加($P < 0.05$),SOD含量显著减少($P < 0.05$)。与模型组比较,芪蛭通络胶囊成品组、芪蛭通络胶囊活血化癥药味组和芪蛭通络胶囊缺活血化癥药味组大鼠脑组织中NO、LDH、MDA含量均显著减少($P < 0.05$),SOD含量均显著增加($P < 0.05$)。其中,芪蛭通络胶囊活血化癥药味组大鼠脑组织中上述指标的增加/减少程度虽不及芪蛭通络胶囊成品组($P < 0.05$),但芪蛭通络胶囊全方缺活血化癥药味后对脑组织中上述指标的增加/减少作用明显减弱($P < 0.05$),其效果减弱至与单独使用活血化癥药味相近,表明了活血化癥药对芪蛭通络胶囊全方发挥抗脑组织氧化功效具有重要作用。各组大鼠脑组织中NO、LDH、MDA和SOD含量测定结果见表3。

表3 各组大鼠脑组织中NO、LDH、MDA和SOD含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Results of content determination of NO, LDH, MDA and SOD in cerebral tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量, g/(kg·d)	NO, $\mu\text{mol/g prot}$	LDH, ng/mL	MDA, nmol/mg prot	SOD, U/mg prot
假手术组		2.04 ± 0.52	23.65 ± 1.02	5.84 ± 0.31	260.91 ± 17.85
模型组		8.39 ± 0.63*	42.93 ± 2.11*	11.26 ± 0.43*	165.25 ± 8.24*
芪蛭通络胶囊活血化癥药味组	0.253	6.74 ± 0.43 [△]	35.39 ± 1.45 [△]	8.20 ± 0.24 [△]	206.87 ± 12.58 [△]
芪蛭通络胶囊缺活血化癥药味组	0.389	6.81 ± 0.29 [△]	35.81 ± 1.34 [△]	8.06 ± 0.33 [△]	209.49 ± 11.35 [△]
芪蛭通络胶囊成品组	0.500	4.15 ± 0.39*	32.22 ± 1.54*	6.87 ± 0.31*	239.63 ± 7.35*

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$;与芪蛭通络胶囊成品组比较, [△] $P < 0.05$

Note: vs. sham operation group, * $P < 0.05$; vs. model group, # $P < 0.05$; vs. Qizhi tongluo capsules group, [△] $P < 0.05$

3.4 大鼠脑组织中炎症因子IL-1 β 和TNF- α 含量测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中IL-1 β 、TNF- α 含量显著增加($P < 0.05$)。与模型组比较,芪蛭通络胶囊成品组、芪蛭通络胶囊活血化癥药味组、芪蛭通络胶囊缺活血化癥药味组大鼠脑组织中IL-1 β 、TNF- α 含量均显著减少($P < 0.05$),其中芪蛭通络胶囊活血化癥药味组大鼠脑组织中IL-1 β 和TNF- α 含量的减少程度虽不及芪蛭通络胶囊成品组($P < 0.05$),但芪蛭通络胶囊全方缺活血化癥药味后其减少脑组织中IL-1 β 、TNF- α 含量的作用明显减弱($P < 0.05$),减弱至与单独使用活血化癥药味相近,这表明活血化癥药对全方发挥抗脑组织炎症反应功效中具有重要作用。各组大鼠脑组织中炎症因子IL-1 β 、TNF- α 含量测定结果见表4。

4 讨论

芪蛭通络胶囊是由26味药组成的大复方,想要一次阐明其药效物质基础是很难实现的。拆方研究是目前研究中药复方时较为常用的一种方法,通过拆方的手

表4 各组大鼠脑组织中炎症因子IL-1 β 、TNF- α 含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 4 Results of content determination of inflammatory factors IL-1 β and TNF- α in cerebral tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量,g/(kg·d)	IL-1 β , pg/mL	TNF- α , pg/mL
假手术组		5.78 \pm 0.38	102.02 \pm 3.23
模型组		25.24 \pm 1.76*	186.84 \pm 2.52*
芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组	0.253	16.82 \pm 0.81 [△]	156.23 \pm 3.21 [△]
芪蛭通络胶囊缺血活血化瘀药味组	0.389	17.50 \pm 1.63 [△]	157.50 \pm 4.67 [△]
芪蛭通络胶囊成品组	0.500	10.81 \pm 1.72 [△]	125.91 \pm 3.33 [△]

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与芪蛭通络胶囊成品组比较,[△] $P<0.05$

Note: vs. sham operation group, * $P<0.05$; vs. model group, [#] $P<0.05$; vs. Qizhi tongluo capsules group, [△] $P<0.05$

段,能够在一定程度上减轻复方研究的难度。本实验研究的是芪蛭通络胶囊拆分后的活血化瘀药味组。通过评价芪蛭通络胶囊活血化瘀药味组对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用,能够在一定程度上为芪蛭通络胶囊的拆分分组提供理论依据,从而为在芪蛭通络胶囊复杂的大组方中找寻药物活性部位和活性成分奠定基础。

脑缺血再灌注后的一段时间内,氧自由基大量生成^[12-13],而自由基清除功能下降,过量的自由基能够破坏细胞膜的结构和功能,从而加重脑损伤。MDA是自由基脂质过氧化反应的中间产物,SOD是机体是最重要的自由基清除剂之一,当脑组织中自由基含量上升时,脑组织中MDA的含量会增加,而SOD会被大量消耗,导致脑组织中SOD含量的减少。此外,有研究发现^[14],脑缺血再灌注损伤能够导致生物脑组织内NO含量增加,而过量的NO会损害线粒体功能,影响细胞能量供应,加重脑损伤。因此,通过测定脑组织中MDA、SOD以及NO含量能够间接反映脑组织受自由基损害的程度。LDH在脑细胞中广泛存在,其与机体的自动代偿性保护机制有关,当脑缺血再灌注损伤发生时,受伤的脑组织会释放出LDH,导致脑组织中LDH含量的增加^[15]。脑缺血再灌注损伤发生的另一重要原因是脑组织局部过度的炎症反应^[16],而IL(主要是IL-1 β)和TNF- α 是体内最为重要的炎症因子,其表达水平的高低是脑缺血再灌注损伤的一个重要指标。

综上所述,本研究在文献基础上成功复制了大鼠脑缺血再灌注损伤模型,通过比较芪蛭通络胶囊全方、芪蛭通络胶囊全方中活血化瘀药组、芪蛭通络胶囊全方缺血活血化瘀药组对模型大鼠脑缺血梗死率、神经功能评分以及脑组织中MDA、SOD、NO、LDH、IL-1 β 、TNF- α 含量的影响,成功证明了活血化瘀药在全方发挥保护脑缺血再灌注损伤功能中具有重要作用。将其拆分出来研究,

能够在一定程度上降低全方研究的困难,为阐明全方的作用机制及药效物质奠定基础,也为中药在脑血管疾病方面的应用提供了实验依据。

参考文献

- [1] 李霞.芪蛭通络胶囊治疗缺血性脑卒中恢复期的临床研究[D].大连:大连医科大学,2016.
- [2] 丁亮吾.芪蛭通络胶囊治疗脑梗死恢复期(气虚痰瘀络阻证)临床研究[D].郑州:河南中医学院,2012.
- [3] 岳雯,刘英莲,王家辉.芪蛭通络胶囊在输卵管阻塞性不孕症中的应用[J].天津中医药,2012,29(4):341-343.
- [4] 兰鹏,苏锦勋,潘凤仙.芪蛭通络胶囊治疗血管性轻度认知障碍的疗效观察[J].辽宁中医杂志,2016,43(4):752-753.
- [5] 王丽静,贾晓斌,陈彦,等.中药复方拆方研究的思路与方法[J].中成药,2008,30(9):1343-1346.
- [6] 江颖,方兴,张永全.活血化瘀法治疗缺血性卒中的研究进展[J].世界中医药,2016,11(5):936-940.
- [7] 赵军.活血化瘀法治疗缺血性中风的临床效果分析[J].中国中医药现代远程教育,2017,15(11):60-61.
- [8] 陈朝,刘泰,黄一擎,等.疏通脉胶囊对脑缺血再灌注损伤模型大鼠的神经保护作用研究[J].中国药房,2018,29(16):2184-2188.
- [9] LONGA EZ, WEINSTEIN PR, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [10] 刘波,李菲,王丽娜,等.改良线栓法制备SD大鼠局灶性脑缺血再灌注模型研究[J].现代医药卫生,2016,32(2):161-163,166.
- [11] 程发峰,宋文婷,郭少英,等.三种神经功能评分在鼠类局灶性脑缺血模型评价中的比较[J].中国康复医学杂志,2011,26(4):337-341.
- [12] 周晓楠,宋雪兰,李艳,等.对羟基苯甲醛对脑缺血/再灌注损伤的保护作用研究[J].中国药理学通报,2017,33(12):1729-1735.
- [13] 樊开宇,王冰,梅晓乐,等.滁菊总黄酮对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国临床药理学与治疗学,2017,22(1):9-12.
- [14] 黄语悠,房亚兰,刘克建,等.一氧化氮及其衍生物在缺血性脑血管病中的作用[J].首都医科大学学报,2017,38(1):67-71.
- [15] 方卫,李诺,覃斯娜,等.氯化钾溶液对大鼠脑组织缺血再灌注损伤的影响及机制[J].山东医药,2018,58(10):36-38.
- [16] 彭智远,刘旺华,曹雯.脑缺血再灌注损伤细胞凋亡机制的研究进展[J].中华中医药学刊,2017,35(8):1957-1961.

(收稿日期:2019-04-08 修回日期:2019-06-17)

(编辑:林 静)