

黄竹清脑颗粒对痰热腑实证脑出血急性期大鼠血清 MDA 及血浆 TNF- α 的影响*

★ 刘淑霞^{1**} 任惠锋² 石春明² 白雅² (1. 陕西中医学院 咸阳 712046; 2. 陕西中医学院硕士研究生 咸阳 712046)

摘要:目的:探讨黄竹清脑颗粒对脑出血急性期大鼠血清中 MDA 及血浆中 TNF- α 的影响。方法:70 只 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、二陈汤组、鲜竹沥组、黄竹清脑颗粒大、中、小剂量组,造模成功后,开始灌胃给药,日 1 次,连续 7 d。然后抽取血样,测定血清中 MDA 及血浆中 TNF- α 的含量。结果:ICH 大鼠脑内血肿形成后,动物均有神经系统症状;模型组与空白组相比,血浆中 TNF- α 及血清中 MDA 明显升高,提示造模成功;黄竹清脑颗粒大、中剂量明显优于二陈汤组和鲜竹沥组。结论:黄竹清脑颗粒具有抗氧化,抑制炎症反应,保护脑出血急性期脑神经细胞的作用,并对中风病痰热腑实证有明显改善作用。

关键词:黄竹清脑颗粒;脑出血;丙二醛;肿瘤坏死因子- α

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

凋亡抑制现象。绝大多数常规抗癌药物很难诱导 MDR 细胞凋亡。为解决这一问题,我们用白花蛇舌草乙酸乙酯提取液,作用于粒细胞性白血病 HL-60/ADR 的多药耐药细胞株,结果显示,很小的剂量就可以诱导其凋亡。

白血病细胞耐药机制很复杂,其机制有很多种,如 P-糖蛋白(P-gp)的过表达,多药耐药相关蛋白(MRP)等等。HL-60/ADR 的耐药机制为 MRP。调控该蛋白的基因为多药耐药相关蛋白基因 1(MRP1)位于 16 号染色体短臂 1 区三带一亚带(16p^{13.1}),白花蛇舌草乙酸乙酯提取液,主要含有黄酮类化合物,可上调 p⁵³ 及下调 Bcl-2 和 NF- κ B(P⁶⁵)蛋白的表达^[6-7],对白血病细胞敏感株(U937)细胞有抑制其增殖和诱导其凋亡作用^[8],能预防和阻止白血病细胞(K562)耐药形成,并能逆转耐药细胞的耐药性^[9]。其如何作用 MDR 细胞的多药耐药相关基因,还在研究当中。白花蛇舌草乙酸乙酯提取液,成份复杂,药理作用广泛,或许可以通过多部位,多靶点,作用 MDR 细胞,其中诱导 MDR 白血病细胞凋亡,是此药物发挥作用的重要机制。为临床上治疗多药耐药粒细胞性白血病提供了可靠的实验依据。

参考文献

- [1]尹小明,朱大诚.蟾蜍治疗白血病成活 31 年 1 例[J].实用中西医结合临床,2005,5(1):41.
- [2]朱大诚,尹小明.蟾酥诱导白血病细胞凋亡的研究进展[J].实用癌症杂志,2004,19(4):447.
- [3]Thompson C B. Apoptosis in the Pathogenesis and Treatment of Disease [J]. Science,1995,267:1456.
- [4]Takara K,Sakaeda T,Okumura K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy [J]. Curt Pharm Des,2006,12(3):273-286.
- [5]Beck WT. The cell biology of multiple drug resistance[J]. Biochem Pharmacol,1987,36(18):2879-2887.
- [6]韦星,万福生,涂硕,等.白花蛇舌草注射液诱导人肺癌细胞株 SPC-A-1 凋亡及其分子机制的研究[J].中国老年学杂志,2007,27(1):110-112.
- [7]许明君,施华球,苏晓蓉,等.白花蛇舌草注射液逆转 K562/ADM 细胞多药耐药的作用和机制[J].中成药,2008,39(3):327-329.
- [8]林圣云,叶宝东,胡美薇,等.白花蛇舌草提取物诱导(U937)细胞凋亡的实验研究[J].中国现代应用药学杂志,2007,24(2):89-92.
- [9]陈进伟,陶师,骆蓉,等. Puerarin 逆转 K560/AO₂ 耐药的分子机制[J].中南大学学报(医学版),2008,33(3):216-221.

(收稿日期:2008-11-03)

* 基金项目:陕西省教育厅专项科研基金项目(07JK224)

** 作者简介:刘淑霞(1953-),女,汉族,教授,主任医师,硕士生导师,主要从事脑血管病科研与临床工作。

Effect of MDA In serum and TNF- α In Plasma by Huangzhuqingnao Pellet on The Acute Intracerebral Hemorrhage Rat

LIU Shu-xia¹, REN Hui-feng², SHI Chun-ming², BAI Ya²

1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046

2. Graduate Student of Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046

Abstract: Objective: To research the effect of MDA in serum and TNF- α in plasma by Huang Zhu Qing Nao Pellet (HZQNP) on acute intracerebral hemorrhage (ICH). Method: 70 adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control group, model control group, Er Chen Tang group, Xian Zhu Li group, HZQNP high-dose treatment group, HZQNP medium-dose treatment group, HZQNP low-dose treatment group. After model founded successfully, began irrigating medicine into stomach once a day and last 7 days. Then the extraction blood sample, measure MDA content in serum and TNF- α content in plasma. Results: During acute stage of ICH, HZQNP may obviously reduce MDA in serum and TNF- α in plasma of rats with ICH. Conclusion: HZQNP is provided with some function such as peroxidation, repress burning to respond an ect. and protect brain neurocyte. And has the distinct improvement function to the stroke sickness phlegm hot internal organs real diagnosis.

key words: Huangzhuqingnao Pellet; intracerebral hemorrhage; Malonic aldehyde (MDA); Tumor necrosis factor- α (TNF- α)

脑出血是指非外伤性脑实质内出血,是一种发病率和致死率都非常高的疾病。笔者运用温胆汤化痰治疗脑出血急性期痰热腑实证取得较好的疗效,经总结定方定量,研制出黄竹清脑口服液。通过急毒实验,未发现有明显毒副作用。通过对黄竹清脑口服液药物及剂型的改良,制成黄竹清脑颗粒。鉴于前期已做过黄竹清脑口服液的急毒、药效部分动物实验及临床研究,本文拟通过复制大鼠的脑出血-痰热腑实证模型,来探讨中成药黄竹清脑颗粒对急性脑出血大鼠的脑保护作用。

1 材料与方

1.1 材料与动物

胶原酶 I (Sigma 公司产品); 肝素 (市售); 黄竹清脑颗粒 (陕西中医学院附属医院制剂科提供)。雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 70 只, 体重 250 ~ 300g, 由第四军医大学实验动物中心提供, 动物编号: 08020 号, 动物合格证书: 医动字 SCXK (军) 2007-007 号。将 70 只大鼠随机分组。分为空白对照组、痰热腑实证模型对照组、鲜竹沥对照组、二陈汤提取液对照组、黄竹清脑颗粒大、中、小剂量组, 共 7 组, 每组 10 只。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备 脑出血及痰热腑实证模型制备方法: 除空白对照组外, 其余各组参考文献^[1]复制脑出血模型。大鼠称重后, 用 10% 水合氯醛腹腔内注射麻醉 (4 μ l/g), 俯卧位固定在立体定位仪上。备皮, 在头顶正中做一纵行切口, 血管钳钝性分

离骨膜, 暴露前囟及进针点。靶点定位于前囟前 0.2 mm、中线右侧旁开 4.0 mm。调整固定在定位仪上的微量注射器针头于钻孔处, 垂直进针 5.5 mm, 缓慢注射胶原酶 VII 肝素混合液 1.25 μ l (含胶原酶 10.5 U, 肝素 7 U), 注射时间 10 min, 留针 10 min, 以防止血液顺针道返流。碘伏消毒, 缝合皮肤。同时参考文献^[2]采用灌胃自体粪便复制实热便秘模型。每日收集粪便 1 次, 观察粪便性状, 记录粪便粒数, 粪便重量。空白对照组和痰热腑实证脑出血模型组以等体积凉开水灌胃, 1 次/d, 连续 3 d。以药测证组在灌胃自体粪便后第 3 d 开始, 分别用黄竹清脑颗粒大、中、小剂量和二陈汤提取液灌胃, 连续 7 d; 其余两组用等体积凉开水灌胃, 1 次/d, 连续 7 d。常规青霉素抗感染 3 d, 随后喂养 3 d 后进行标本采集和指标检测。

1.2.3 标本采集及测定 给药 7 d 后采集标本, 股动脉穿刺取血, 离心分别取血浆和血清, 血清中 MDA 采用硫代巴比妥酸法, 血浆中 TNF- α 采用放射免疫分析法测定, 按测定盒使用说明书操作并计算结果。

1.2.4 神经体征及临床症状 动物苏醒后, 各组均按照 Bederson 等的神经缺损分级评分标准进行神经功能缺失评分。标准如下: (见表 1) 室温控制在 20 ~ 25 $^{\circ}$ C, 以后于造模后 12、24 h 进行评分。1 ~ 3 分的动物入选本实验, 术后动物分笼饲养, 正常进食进水。

表1 ICH大鼠模型神经病学评分标准

分级	症状	评分
0	无任何症状或仅有同侧眼裂缩小	0
I	提尾时对侧肢体屈曲内收	1
II	抗侧方推力减弱并伴有I级症状	2
III	爬行时对侧划圈并伴有II级症状	3
IV	意识丧失不能行走	4

(1)除空白对照组外,其余模型大鼠均有明显的神经缺损体征。

(2)同时观察到模型大鼠出现粪便干结、烦躁、饮水多、粪便粒数和重量明显增加、鼻分泌物多、喉中痰鸣等热腑实证表现。

1.2.5 统计方法 计量资料以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,实验数据先做方差齐性检验,方差齐者两组样本均数间比较用 t 检验,多组样本均数间比较用 F 检验,组间比较用 q 检验;方差不齐者作数据转换变为方差齐再行上述检验。

2 结果

见表2。

表2 黄竹清脑颗粒对大鼠脑出血后MDA和TNF- α 的影响

分组	动物数(n)	MDA含量 / $\mu\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$	TNF- α / $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白组	8	1.23 \pm 0.13	2.083 \pm 0.042
模型组	8	2.09 \pm 0.10	3.184 \pm 0.032
二陈汤组	8	2.01 \pm 0.05	3.08 \pm 0.05
鲜竹沥组	8	2.06 \pm 0.05	3.077 \pm 0.05
黄竹清脑大剂量组	8	1.74 \pm 0.22	2.461 \pm 0.048
黄竹清脑中剂量组	8	1.76 \pm 0.25	2.695 \pm 0.056
黄竹清脑小剂量组	8	2.04 \pm 0.07	2.917 \pm 0.046

注:大、中剂量组均优于二陈汤组、鲜竹沥组($P < 0.01$),小剂量组与二陈汤组、鲜竹沥组无显著性差异。

3 讨论

脑出血是临床常见的急危重症,急性期的救治对挽救患者生存质量至关重要。急性期病人多有大便秘结,腑气不通,因此通腑化痰是治疗大法。笔者认为在出血性中风早期,病性多见本虚标实,上盛下虚实并存。本虚为肝肾阴虚于下,标实为上盛浊气上蒙清窍,同时下有腑实,所以在下虚实并存。针对腑气不通,采用通腑泻下,一则清除阻滞于胃肠的痰热积滞,使浊邪不得上扰神明,气血逆乱得以纠正,达到防闭防脱之目的;二则通畅腑气,祛痰达络,敷布气血,使半身不遂等症进一步好转。正确掌握和运用通腑泻下对于治愈率、生存质量、降低死亡率至关重要^[3]。黄竹清脑颗粒是在黄竹清脑口服液组方的基础上将赤芍改为当归,当归具有补血活血,润肠通便的功效。在补血活血的同时又兼顾通腑,一举两得。本实验是在黄竹清脑口服液临床^[4]及药理学^[5]研究的基础上,作进一步探讨。通过用黄竹清

脑颗粒和鲜竹沥,二陈汤进行对比观察,对脑出血大鼠神经病学评分及血浆中TNF- α 和血清中MDA的测定,发现黄竹清脑颗粒大中剂量组能显著降低脑出血急性期大鼠血浆中TNF- α 含量,降低MDA含量,黄竹清脑颗粒大中剂量组的疗效明显优于对照组的竹沥水和二陈汤。由于竹沥水为单味药制剂,主要功效是清热化痰。二陈汤是黄连温胆汤的基础方,是黄竹清脑颗粒药物组成的一部分,主要功效是燥湿化痰,二者都无通腑之功效,所以在治疗脑出血急性期痰热腑实证方面力度有限。因此本实验符合预期的结果,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)在炎症反应中作为一种关键的炎症介质,参与了从动脉粥样硬化到脑出血及脑出血后脑损伤的一系列过程。脑出血患者急性期血浆中TNF- α 含量明显升高,与出血量成正比,且有时间依赖性。丙二醛(MDA)的含量可直接反映受损脑组织中自由基的含量和脂质过氧化程度,间接反映自由基对组织的损伤程度。脑出血后机体氧化应激增强,抗氧化防御系统相对薄弱,清除自由基能力下降,受损脑组织局部、脑脊液及血中MDA含量增加。本研究通过药物对照比较,表明黄竹清脑颗粒具有较强的抗炎症,抗脂质过氧化反应的效用,从而保护神经元。同时观察到黄竹清脑颗粒根据给药剂量的不同,对神经体征和痰热腑实证表现有不同程度的减轻。与对照组药物相比,大、中剂量组效果更明显。

据本实验研究,本药临床应从中剂量(10g/次3次/日)起用。黄竹清脑颗粒对中药治疗脑出血急性期痰热腑实证提供了理论和实验依据。进一步实验可考虑中西药结合的对比研究,深入探讨脑出血急性期证候演变规律及通腑化痰法的作用机理,加强黄竹清脑颗粒的药理研究,指导临床。相信经过多层次、全方位、细致深入的前瞻性研究,可促使该病的病死率、致残率进一步降低,使脑出血急性期中西医结合治疗水平得到更大提高。

参考文献

- [1] Brown MS, Kornfeld M, Mun-Bryce S. Comparison of magnetic resonance imaging and histology in collagenase-induced hemorrhage in the rat[J]. J Neuro imaging, 1995, 5(1): 23-33.
- [2] 陈小野. 实用中医动物症候模型学[M]. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993: 307-308.
- [3] 刘淑霞, 刘振松, 杜晓泉. 通腑泻下法用于出血性中风临证体会[J]. 陕西中医学院学报, 1999, 22(4): 17-18.
- [4] 刘淑霞, 白宇望. 黄竹清脑口服液治疗出血性中风急性期的临床研究[J]. 全国中医脑病学术研讨会论文集, 2008: 77-80.
- [5] 王梅. HPLC测定黄竹清脑口服液中盐酸小檗碱的含量[J]. 陕西中医学院学报, 2006, 29(3): 63.

(收稿日期: 2009-01-04)