

益气活血片对脑卒中前状态内皮细胞黏附分子表达的影响

朱根福¹, 陈根成¹, 谭玉群², 程敏宜¹

1. 广州中医药大学第三附属医院, 广东 广州 510360; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

[摘要] 目的: 探讨益气活血片对脑卒中前状态内皮细胞黏附分子表达的影响。方法: 采用双肾双夹法建立肾血管性高血压大鼠模型; 治疗组给予益气活血片, 对照组给予阿司匹林, 模型组及空白组给予蒸馏水喂养; 采用免疫组化检测血管细胞黏附分子-1、细胞间黏附分子-1和P-选择素水平。结果: 治疗后, 治疗组血压较治疗前低 ($P < 0.05$); 治疗组大鼠血管内皮细胞黏附分子水平低于对照组和模型组 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义。结论: 长期持续的高血压损害了大鼠脑血管内皮细胞的调控功能, 益气活血片能有效改善血压水平, 降低脑血管内皮细胞黏附分子的表达, 抑制黏附反应, 对脑卒中有预防作用。

[关键词] 脑卒中前状态; 益气活血片; 细胞黏附分子-1 (VCAM-1); 细胞间黏附分子-1 (ICAM-1); P-选择素; 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 05-0280-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.05.132

脑血管内皮损伤是促使高血压晚期(脑卒中前状态)大鼠脑卒中发生发展的重要因素, 脑卒中前状态是预防脑卒中的重要时期, 在控制血压的同时改善脑血管内皮细胞的调控功能, 对预防脑卒中具有重要意义。本研究通过观察益气活血片对高血压晚期大鼠脑血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和P-选择素表达的影响, 明确益气活血片对卒中前状态脑血管内皮细胞黏附分子表达的作用, 以探讨益气活血片对高血压大鼠脑卒中的预防作用, 同时也为活血化痰中药预防脑卒中提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及处理 SPF级SD纯种雄性大鼠80只, 重80~120g(广州中医药大学实验动物中心提供), 许可证号(广东省实验动物检测所检测): SCXK(粤)2008-0020。采用双肾双夹法^[1]制作易卒中中型肾血管性高血压性大鼠模型。具体方法: 采用10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔麻醉, 备皮, 清洁消毒, 铺孔巾, 沿剑突下1~2 cm部位向下划开2~3 cm的切口, 依次打开腹腔, 先定位左侧肾脏, 再定位右侧肾脏, 自制小夹钳夹双侧肾动脉, 回纳胃肠于腹中合适位置, 依次缝合, 独立饲养1天。用ALC-NIBP无创血压测量分析系统(上海奥尔科特生物科技有限公司), 经尾动脉测定大鼠收缩压, 造模后每周测量1次, 并正确记录血压值, 造模成功标准为血压峰值达到并稳定在20 Kpa以上。在高血压模型术前随机抽取20只大鼠作为空白对照组(D组); 在高血压早期即模型术后14天将高血压模型大鼠随机分为: A组-益气活血片组; B组-

阿斯匹林组; C组-模型组。在高血压早期即模型术后14天开始给药。A组: 益气活血片1.89 g/kg灌胃, 每天1次; B组: 拜阿斯匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司, 中国北京, 产品批号: BJ08409)溶于0.5%羧甲基纤维素钠中, 制成悬浊液, 用时摇匀, 用量为80 mg/kg灌胃, 每天1次; C组: 蒸馏水2 mL灌胃, 每天1次; D组: 自由饮用蒸馏水。4组大鼠连续灌服至模型术后112天。

1.2 血压测定 大鼠血压由ALC-NIBP无创血压测量分析系统测定。

1.3 内皮细胞黏附分子水平测定 将大鼠用水合氯醛(10%, 300 mg/kg)麻醉后, 经左心室向升主动脉插管, 剪开下腔静脉。同时快速灌注肝素化生理盐水(50 U/mL)120 mL(滴速为10 mL/min)以清除血管内血液。断头取脑, 冰箱-20℃冷冻10 min后由嘴侧至尾侧每2 mm切成一冠状薄片, 固定于40 g/L多聚甲醛溶液中8 h, 常规脱水, 石蜡包埋, 连续切片, 视交叉层面每8张取1张切片作免疫组化检测VCAM-1、ICAM-1、P-选择素水平。因视交叉层面符合中动脉特征的血管为大脑中动脉(MCA), 按血管外径分为小MCA($75 \mu\text{m} \leq D < 150 \mu\text{m}$)、中MCA($150 \mu\text{m} \leq D < 200 \mu\text{m}$)、大MCA($D \geq 200 \mu\text{m}$)^[2], 本研究切片的大MCA较少, 故不做分析。脑内血管30~50 μm 为微血管^[3]。

1.4 统计学方法 采用SPSS13.0进行统计学处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组比较采用方差分析, 先行方差齐性检验, 方差齐, 各组间两两比较采用 q 检验; 方差不齐, 则采用秩和

[收稿日期] 2014-12-19

[基金项目] 广州市医药卫生科技项目 (20132A011042)

[作者简介] 朱根福 (1982-), 男, 医学博士, 医师, 研究方向: 脑血管病临床与基础研究。

检验。

2 实验结果

2.1 各组大鼠血压比较 见表1。治疗前，C组、A组、B组血压水平明显高于D组($P < 0.05$)；A组、B组和C组之间，血压无明显差异($P > 0.05$)。治疗后，A组血压低于B组、C组($P < 0.05$)；C组血压与B组无明显差异($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠 ICAM-1、VCAM-1、P-选择素水平比较 见表2。治疗后，A组各指标水平均低于C组($P < 0.05$)；与B组比较，A组各指标水平均较低($P < 0.05$)；B组与C组比较，各指标水平无明显差异($P > 0.05$)。B组、C组与D组比较，各指

组别	样本数	治疗前	治疗后
A组	18	25± 2 ^②	20± 1
B组	17	25± 1 ^②	24± 2 ^{①②}
C组	18	24± 2 ^②	27± 1 ^{①②}
D组	20	14± 1	14± 2

与A组比较，^① $P < 0.05$ ；与D组比较，^② $P < 0.05$ 。标水平均较高($P < 0.05$)；A组与D组比较，各指标水平无明显差异($P > 0.05$)。

表2 各组大鼠 ICAM-1、VCAM-1、P-选择素水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	ICAM 1			VCAM 1			P-选择素		
	微	小	中	微	小	中	微	小	中
D组	46± 3	57± 4	35± 2	52± 2	58± 4	64± 2	28± 2	34± 4	28± 2
C组	80± 2 ^{①②}	69± 1 ^{①②}	47± 3 ^{①②}	67± 5 ^{①②}	75± 2 ^{①②}	90± 2 ^{①②}	38± 2 ^{①②}	50± 2 ^{①②}	36± 3 ^{①②}
B组	78± 4 ^{①②}	67± 4 ^{①②}	45± 4 ^{①②}	66± 3 ^{①②}	73± 5 ^{①②}	88± 4 ^{①②}	36± 4 ^{①②}	48± 4 ^{①②}	34± 4 ^{①②}
A组	48± 3	55± 3	33± 5	50± 4	60± 1	65± 3	27± 3	35± 3	28± 4

与A组比较，^① $P < 0.05$ ；与D组比较，^② $P < 0.05$

3 讨论

脑卒中已成为严重威胁人类健康的主要疾病，其发病率、死亡率呈逐渐增长趋势。研究发现，在严重的脑血管病变基础上，加之其它因素的共同作用，更易于促发脑卒中^[4]。卒中发生前出现的由各种原因引起的有可能导致短期内卒中发作的内环境失稳态，称为卒中前状态^[5]。有效防止卒中前状态的出现和发展对预防卒中发作具有重要的意义。

基础和临床研究均表明，炎症反应在心脑血管疾病的发生发展中起重要作用^[6-7]，白细胞穿越血脑屏障进入脑实质是脑内炎症反应发生的关键步骤，而黏附分子能协助白细胞黏附并跨越内皮细胞迁移。研究表明，高血压可增加血管内皮细胞的切变力，引起内皮功能紊乱。ICAM-1、VCAM-1、P-选择素与高血压、动脉粥样硬化、脑卒中之间关系密切^[8-9]；ICAM-1、VCAM-1和P-选择素的表达增高能促进脑卒中的炎症反应和加剧脑卒中的损伤^[10]。因此，针对卒中前状态(高血压晚期)大鼠黏附分子进行干预，改善细胞调控功能，抑制黏附反应，从而抑制炎症发生发展，可达到预防卒中的作用。

益气活血片由黄芪、川芎、当归、益母草、全蝎、石菖蒲、冰片组成。课题组前期实验已证明益气活血片可诱导中枢神经系统产生有利的微环境促进神经再生^[11]；临床试验亦表明其可明显改善中风患者神经功能评分，具有促进中枢神经功能恢复的作用^[12]。本实验结果表明，血压水平与黏附分子表达呈正相关，长期持续的高血压损害了大鼠脑血管内皮细胞的调控功能，血压越高调控功能越差；服用益气活血片治疗后，A组大鼠血压与治疗前比较，有明显改善；且A组大鼠各级血管ICAM-1、VCAM-1和P-选择素水平均低于B组和C组，

提示益气活血片可有效改善卒中前状态大鼠血压水平，并能降低脑血管内皮细胞 ICAM-1、VCAM-1 和 P-选择素表达水平，改善内皮细胞调控功能，抑制黏附反应，从而抑制炎症的发生发展。这可能是益气活血片有效预防脑卒中的机制之一。

[参考文献]

[1] 曾进胜, 黄如训. 易卒中肾血管性高血压大鼠模型及其应用[J]. 中山医科大学学报, 1996, 17(4): 241-244.

[2] Ibayashi S, Ogata J, Sadoshima S, et al. The effect of long-term antihypertensive treatment on medial hypertrophy of cerebral arteries in spontaneously hypertensive rats [J]. Stroke, 1986, 17(3): 515-519.

[3] Ando H, Zhou J, Macova M, et al. Angiotensin II AT1 receptor blockade reverses pathological hypertrophy and inflammation in brain microvessels of spontaneously hypertensive rats [J]. Stroke, 2004, 35 (7): 1726-1731.

[4] 林健雯, 施晓耕, 廖松洁, 等. 人工寒潮时不同血压水平大鼠脑卒中发病的实验研究[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2005, 31(3): 180-184.

[5] 黄如训. 卒中前状态和启动因子[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2005, 31(1): 73-74.

[6] Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms[J]. Nutrition, 2006, 83(2): 456-460.

[7] Chamorro A, Hallenbeck J. The Harms and Benefits of Inflammatory and Immune Responses in Vascular

- Disease[J]. Stroke, 2006, 37: 291-293.
- [8] Simundic AM, Basic V, Topic E, et al. Soluble adhesion molecules in acute ischemic stroke [J]. Clin Invest Med, 2004, 27(2): 86-92.
- [9] Kisucka J, Chauhan AK, Zhao BQ, et al. Elevated levels of soluble P-selectin in mice alter blood brain barrier function, exacerbate stroke and promote atherosclerosis[J]. Blood, 2009, 113(23): 6015-6022.
- [10] Htun P, Fateh-Moghadam S, Tomandi B, et al. Course of Platelet Activation and Platelet-Leukocyte Interaction in Cerebrovascular Ischemia [J]. Stroke, 2006, 37: 2283.
- [11] 陈根成, 胡金城, 朱成全, 等. 益气活血片对脑缺血神经细胞凋亡及相关基因表达的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2003, 20(2): 147-149.
- [12] 朱根福, 叶让斐, 陈根成. 益气活血法治疗中风恢复期临床疗效观察[J]. 西部中医药, 2014, 27(7): 64-66.
- (责任编辑: 骆欢欢)

◆文献研究论著◆

寿胎丸药理作用研究进展

李婧¹, 赵颖², 罗颂平²

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405

[关键词] 寿胎丸; 药理; 生殖; 综述

[中图分类号] R285 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2015) 05-0282-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.05.133

寿胎丸出自清末民初著名医家张锡纯^[1]《医学衷中参西录》中治女科方中, 菟丝子炒熟四两, 桑寄生二两, 川续断二两, 真阿胶二两。用于治滑胎。滑胎指堕胎、小产连续发生3次或以上; 相当于西医妇产科的习惯性流产。

1 组方成分的药理作用研究

菟丝子(Cuscutae semen), 始载于《神农本草经》, 2010年《中华人民共和国药典》^[2]收录为旋花科植物南方菟丝子 *Cuscuta australis* R.Br.或菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam.的干燥成熟种子。味甘, 温; 归肝、肾、脾经; 具有滋补肝肾, 固精缩尿, 安胎, 明目, 止泻的功效; 用于遗精, 尿有余沥, 遗尿尿频, 腰膝酸软, 目昏耳鸣, 肾虚胎漏, 胎动不安, 脾肾虚泻。有研究表明, 菟丝子具有多种药理作用。生殖系统方面, 马红霞^[3]实验研究发现, 菟丝子可降低溴隐亭致SD孕鼠流产模型的流产率, 并能逆转流产胎盘、蜕膜结构的病理改变, 黄酮类有效部位可能是菟丝子补肾安胎的主要物质基础。彭

守静等^[4]通过精子毛细管穿透试验, 测定精子运动速度和活力指数, 发现菟丝子水煎液可明显提高人精子体外活动功能, 而对精子的膜功能无明显不良影响。内分泌系统的方面的影响: 马红霞^[5]研究表明, 菟丝子总黄酮可能通过调节母胎界面内分泌-免疫网络平衡而起到维持早孕的作用。王晓敏等^[6]研究表明, 菟丝子黄酮通过升高雌激素水平和促进主动脉平滑肌细胞凋亡, 发挥其对老年血管的保护作用。免疫系统方面的作用, 张庆平等^[7]发现, 菟丝子可促进小鼠免疫器官脾脏、胸腺增长, 并提高巨噬细胞吞噬功能; 促进淋巴细胞增殖反应; 诱导白细胞介素产生。菟丝子具有增强小鼠机体免疫功能和免疫调节作用。

桑寄生(Taxilli herba), 原名桑上寄生, 始载于《神农本草经卷一》, 列为上品。《本经》云“主腰痛、小儿背强、痲肿、安胎、充肌肤、坚发齿、长须眉”。2010《中华人民共和国药典》^[2]收录, 为桑寄生科植物桑寄生 *Taxillus chinensis* (DC.)

[收稿日期] 2014-11-20

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助课题 (81273795)

[作者简介] 李婧 (1987-), 女, 实验技术员, 研究方向: 中药新药研发。

[通讯作者] 罗颂平, E-mail: songpingluo@hotmail.com。