

◆文献研究论著◆

水蛭治疗缺血性脑卒中作用机制研究进展

刘抒雯¹, 刘敬霞², 虎喜成¹, 任非非¹

1. 宁夏医科大学研究生院, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏医科大学中医学学院, 宁夏 银川 750004

[关键词] 缺血性脑卒中; 水蛭; 作用机制; 文献研究

[中图分类号] R743 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2015) 06-0284-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.06.131

水蛭为水蛭科动物蚂蝗(*Whitmania pigra* Whitman)、水蛭(*Hirudo nipponica* Whitman)或柳叶蚂蝗(*Whitmania acranulata* Whitman)的干燥全体。水蛭始载于《神农本草经》,谓水蛭:“味咸,平”。《本草纲目》曰其:“入肝经血分”。汉代张仲景首先将水蛭用于临床,立抵当汤、大黄丸破血逐瘀,治疗各种瘀血顽疾。综合医家所述,水蛭味苦咸而腥,性微寒,入肝、膀胱两经,功能破血瘀、散积聚、通经脉、利水道。水蛭中主要含两类成分:一类是以水蛭素为代表的多肽及蛋白类大分子成分,其水解氨基酸含量达49.4%;另一类是嘌呤等小分子化学成分,共同发挥抗炎、抗血小板聚集、抑制血栓形成、扩张血管及改善微循环等作用,尤以多肽及蛋白类大分子研究较广泛。近年来发现水蛭除作用于血液系统外,其对缺血性脑卒中引起的脑损伤也具有积极地修复治疗作用,这无疑对进一步深化水蛭既往功效的认识,并对探索利用其新的药理作用具有积极的意义。

1 抑制血小板聚集,抗血栓形成

水蛭中的水蛭素是迄今发现最强的凝血酶特异性抑制剂,通过和凝血酶的直接结合而发挥抗凝作用,亲和力极强、反应速度极快、形成的共价复合物极其稳定,是天然的凝血酶特效抑制剂。Alibeik等^[1]研究发现,水蛭素可有效地防止纤维蛋白和血细胞结合形成血凝块,并且抑制游离的和凝血块上的凝血酶,防止血栓的形成与延伸,最终达到抗凝、抗栓、纤溶的目的。邱全等^[2]采用钳夹颈总动脉方法建立急性脑缺血损伤模型,通过研究水蛭颗粒对急性脑缺血大鼠血液流变学影响,发现水蛭可明显降低大鼠高、中、低切变率下的全血黏度、血浆黏度,减轻红细胞压积,同时降低纤维蛋白原浓度,抑制血小板聚集,增强红细胞变形能力,改善血液浓、黏、凝、聚状

态,其作用效果与西药曲克芦丁无明显差别。隋在云等^[3]也发现,脑缺血再灌注组大鼠的全血黏度、血浆血管性血友病因子(vwF)和纤溶酶原激活剂抑制物-1(PAI-1)含量均明显升高;水蛭微粉各剂量组可降低全血黏度及血浆vwF、PAI-1含量,说明水蛭微粉能够改善大鼠血液流变性,具有显著的活血化瘀作用,其作用机制可能与降低大鼠血浆vwF、PAI-1含量有关。此外,水蛭对血栓的形成具有明显的溶解作用,如钟山等^[4]发现水蛭注射液对体外血栓有明显的溶解作用,且呈明显量-效关系。

2 抑制炎症因子的表达

水蛭提取液含有抗炎酶,是产生抗炎作用的主要机制之一^[5]。李克明等^[6]采用大鼠局灶性脑缺血模型(MCAO)研究水蛭微粉对脑缺血再灌注损伤大鼠的炎症因子的影响,其结果显示:水蛭粗粉组和水蛭微粉组的细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子(VCAM-1)水平显著低于模型组,而且与粗粉组比较,微粉高剂量组的ICAM-1、血小板源生长因子(PDGF)降低更为明显,表明水蛭微粉可以减少炎症因子的产生,减轻炎症反应,从而改善脑缺血。刘玉华等^[7]探讨复方水蛭合剂对局灶性脑缺血大鼠细胞免疫损伤的保护作用,结果显示:脑缺血6、24h模型组脑匀浆肿瘤坏死因子(TNF- α)、一氧化氮(NO)较正常组显著增高,提示脑缺血可使脑组织中炎症介质TNF- α 、NO等释放,而复方水蛭合剂组脑匀浆TNF- α 、NO与模型组比较显著较低,说明复方水蛭合剂能降低脑缺血所致的TNF- α 、NO水平,对脑缺血后TNF- α 、NO的损伤有保护作用;梁健芬等^[8]也证实了水蛭注射液可降低炎症细胞因子TNF- α 、IL-1 β 和ICAM-1的表达,抗脑缺血后炎症反应,发挥脑保护作用。此外,黏结合蛋

[收稿日期] 2015-01-04

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81260569)

[作者简介] 刘抒雯(1988-),女,在读硕士研究生,研究方向:中医老年病学。

[通讯作者] 刘敬霞, E-mail: ljx199566@163.com。

白多糖-1(syndecan-1)也参与了急性脑梗死炎性细胞浸润和脑细胞肿胀的形成。有研究结果显示,水蛭地龙萃取液可上调大鼠缺血性脑梗死 syndecan-1 的表达,尤以 72 h 最明显,说明水蛭地龙萃取液通过上调 syndecan-1 的表达,从而发挥抗炎、抗脑细胞水肿的作用^[9]。

3 抑制氧自由基活性

王希等^[10]采用线栓法制备 MCAO 模型,观察缺血再灌注损伤后 24 h 脑含水量、缺血面积及自由基损伤程度,结果显示:脑缺血再灌注后脑组织中丙二醛(MDA)含量均明显增加,超氧化物歧化酶(SOD)活性明显降低,水蛭多肽治疗后,脑含水量降低,脑梗死面积缩小,脑组织内 MDA 含量均下降,而 SOD 活性增高,尤以高剂量组明显,存在一定量-效关系,提示水蛭可能通过抑制脑缺血再灌注后 SOD 的失活,同时降低脑组织内 MDA 含量,从而抑制大鼠脑组织缺血再灌注后的脂质过氧化反应,提高抗氧化酶活性,发挥脑保护作用。李克明等^[11]也发现水蛭组治疗后 SOD 活力明显高于模型组,NO、MDA 水平明显低于模型组,尤以微粉高剂量组 SOD 活力最高,NO、MDA 水平最低,说明微粉水蛭可能更有效地对脑缺血再灌注损伤有明显改善作用。此外,杨文清等^[12]观察了脑血栓形成后不同时间 MDA、SOD 水平的变化,发现脑缺血后 4 h 时 MDA 明显增高,并持续上升,说明脑血栓形成后组织的破坏呈进行性发展,与组织的 MDA 水平成平行关系,SOD 活力下降与 MDA 增多有关,而水蛭提取物组与模型组相比 MDA 水平显著降低,SOD 活性升高。因此水蛭对脑保护作用与清除自由基,抑制脂质过氧化反应密切相关。

4 降低血脂,抗动脉粥样硬化(AS)斑块形成

高丽娟等^[13]采用高脂饮食法建立高脂血症大鼠模型,水蛭粉可不同程度降低大鼠体重,并显著降低大鼠肝脏指数、脂肪指数,提示水蛭粉对内脏肥胖型大鼠有一定降脂作用,可减少体内脂肪沉积,调节脂质代谢,改善机体代谢紊乱,抑制 AS 的形成,且水蛭微粉更有利于消化吸收,降血脂作用更明显。陈国伟等^[14]以载脂蛋白 E 基因敲除(apoE^{-/-})小鼠给予高脂饮食后建立的中晚期 AS 模型,观察血脂变化及小鼠体内斑块形成程度及成分组成的特点,发现水蛭组小鼠主动脉 AS 斑块面积及斑块中脂质含量减少,斑块中血管平滑肌细胞(SMC)比例显著减少,证明水蛭粉喂食可能通过降低 apoE^{-/-} 小鼠的血脂及炎症水平,进一步抑制 AS 斑块中 SMC 增殖而发挥抗 AS 的功能机制。

5 抑制细胞凋亡

董少龙等^[15]制备 MCAO 模型,发现各实验组缺血 2 h 后实行再灌注均存在神经细胞凋亡,但在量上存在明显差异。假手术组可见少数细胞凋亡,生理盐水对照组细胞凋亡发生率明显增加,给予水蛭注射液后凋亡率显著下降,水蛭注射液小剂量组对神经细胞凋亡有一定的抑制作用,而大剂量组可显著抑制神经细胞的凋亡,说明水蛭注射液对脑缺血再灌注后神经

细胞有明显的保护作用。林明宝等^[16]通过流式细胞仪检测水蛭提取物对神经细胞凋亡的影响,给药组神经细胞凋亡率较模型组明显减小,而且水蛭提取物还能促进缺氧性神经细胞 Bcl-2 产生增加,Bax 表达降低及 Bcl-2/Bax 比率增高,各给药组表达 Bcl-2 的神经细胞呈量效依赖性增加关系,可见水蛭提取物抗缺氧性神经细胞凋亡的作用机制与其调节凋亡调控基因的表达有密切关系。易灿辉等^[17]通过建立脑缺血再灌注损伤和后处理模型,观察磷酸化糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β)、内皮一氧化氮合成酶(eNOS)在缺血半暗带区蛋白表达的变化,结果显示,联合水蛭注射液缺血后处理可显著抑制介导凋亡的 GSK-3 β 的表达,增加促进一氧化氮(NO)释放的 eNOS 的表达,两者具有协同作用,其可能是由于水蛭注射液干预缺血后处理,激活 PI3K 信号转导通路,促进 PI3K/AKT 的磷酸化,使其下游的效应蛋白磷酸化增多,抑制 GSK-3 β ,激活 eNOS 的表达,促进内皮细胞的增殖迁移和血管形成,从而发挥对缺血脑组织的保护作用。

综上所述,水蛭对缺血性脑卒中的治疗有着广泛的药理基础,现已广泛运用于临床,具有多靶点、多向调节、防治结合的临床意义。如陈秋月等^[18]探讨水蛭胶囊对动脉硬化症患者颈动脉斑块稳定性及血小板膜糖蛋白分子表达的影响,结果口服水蛭胶囊组颈动脉内-中膜厚度(IMT)、斑块面积、不稳定斑块数量和血小板膜糖蛋白 b/1a 复合物(PAC-1)、选择素 P(CD62P)阳性率下降显著,说明水蛭胶囊有助于颈动脉斑块稳定,降低血小板活化程度。然回顾文献,众多报道仅单纯局限于水蛭抗凝、溶栓、抗纤维化等作用机制的研究,而对治疗缺血性脑卒中的干预机制缺乏系统研究;其次,在细胞凋亡方面仅研究了 Bax/Bcl-2 这组对抗基因,对于其他导致细胞凋亡的机制还未有相应报告;再者,关于水蛭各方面药理研究也多集中于动物体内外的机制探讨上,使具有说服力的临床研究报道较少。针对水蛭本身多靶点多途径的作用,在药效研究上有待制备多因素符合缺血性脑卒中病证结合动物模型,并引进分子生物学、蛋白组学、基因与生物工程学等技术,从细胞、分子等微观水平揭示水蛭对缺血性脑损伤的作用机理,并加强重组水蛭素的活性测定、对水蛭酶工艺的提取及水蛭肽基因克隆等研究,这样既符合神经系统疾病多因素的病理,又有利于突显和客观评价水蛭的药效,从而为临床提供更好服务。

[参考文献]

- [1] Alibeik S, Zhu S, Brash L, et al. Surface modification with PEG and hirudin for protein resistance and thrombin neutralization in blood contact[J]. Colloids Surf Biointerfaces, 2010, 81(2): 389-396.
- [2] 邱全,王海洋.水蛭颗粒对急性脑缺血大鼠血液流变学影响的研究[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(4): 207-208.

- [3] 隋在云, 刘瑾, 李晓晶. 水蛭微粉对急性血瘀大鼠血液流变性的影响[J]. 河南中医, 2013, 33(3): 353- 355.
- [4] 钟山, 崔征, 王东, 等. 水蛭注射液抗血栓与抗凝血作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(7): 456- 458.
- [5] 杨洪雁, 杜智恒, 白秀娟. 水蛭药理作用的研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(3): 128- 133.
- [6] 李克明, 武继彪, 隋在云, 等. 水蛭微粉对脑缺血再灌注损伤大鼠 ICAM、VCAM、PDGF 的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 136- 137.
- [7] 刘玉华, 张素平, 冯光. 复方水蛭合剂对大鼠局灶性脑缺血细胞因子免疫损伤的保护作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2004, 8(16): 3079- 3081.
- [8] 梁健芬, 董少龙, 窦维华, 等. 水蛭注射液对大鼠脑缺血再灌注后 TNF- α 、IL-1 β 和 ICAM-1 蛋白表达的影响[J]. 陕西医学杂志, 2006, 35(12): 1605- 1607.
- [9] 罗海彦, 胡长林. 水蛭地龙萃取液对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤粘结合蛋白多糖-1 的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(5): 524- 527.
- [10] 王希, 武建卓, 宋淑亮, 等. 水蛭多肽对局灶大鼠脑缺血再灌注损伤保护作用[J]. 中国生化药物杂志, 2010, 31(1): 42- 44.
- [11] 李克明, 武继彪, 隋在云, 等. 微粉水蛭对脑缺血再灌注损伤大鼠的影响[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(4): 56- 58.
- [12] 杨文清, 王俊卿, 谢艳华, 等. 水蛭提取物对大鼠脑血栓后脑组织 MDA、SOD 和 NO 含量的影响[J]. 第四军医大学学报, 2001, 22(2): 116- 118.
- [13] 高丽娟, 高娟, 胡耀红, 等. 水蛭粉对高血脂症大鼠动脉粥样硬化形成过程的干预机制[J]. 中成药, 2014, 36(9): 1962- 1965.
- [14] 陈国伟, 潘阳, 商亮, 等. 水蛭对载脂蛋白 E 基因敲除大鼠动脉粥样硬化斑块的影响[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2013, 34(3): 344- 347.
- [15] 董少龙, 闫珊珊, 窦维华. 水蛭注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤神经细胞凋亡的影响[J]. 广西中医药, 2006, 29(1): 48- 50.
- [16] 林明宝, 张进, 聂荣庆. 水蛭提取物抗新生大鼠大脑皮层神经细胞凋亡的机理研究[J]. 中成药, 2008, 30(12): 1842- 1844.
- [17] 易灿辉, 来要水, 胡跃强. 联合水蛭注射液后处理对脑缺血损伤大鼠 GSK-3 β 、eNOS 蛋白表达的变化[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8): 1844- 1846.
- [18] 陈秋月, 黄米武, 柯绍发, 等. 水蛭胶囊对颈动脉斑块稳定性及血小板膜糖蛋白分子表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(12): 1643- 1645.

(责任编辑: 骆欢欢)

基于现代文献的针灸治疗中风血瘀证型临床证据研究

谢素君, 赵炜嘉, 李万瑶

广州中医药大学, 广东 广州 510405

[关键词] 中风; 血瘀证; 针灸; 循证医学

[中图分类号] R743.3

[文献标志码] A

[文章编号] 0256-7415 (2015) 06-0286-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.06.132

中风病血瘀证多发, 随着临床研究者对血液流变学的认识加深, 对血瘀的概念亦有所扩展。临床研究显示, 针灸对治疗血瘀型的心脑血管疾病、运动系统疾病, 都有明显作用, 针灸对治疗血瘀型的疾病跟微循环的改善程度呈正相关。中风的临床报道逐年增多, 但尚未出现血瘀证下针灸治疗中风的循证医

学分析。据此, 基于国内现有的随机对照试验证据进行分析, 旨在为临床有效合理治疗该病提供循证学证据。

1 资料与方法

1.1 纳入标准 纳入随机对照试验(RCT), 限制中文语种。试验对象: 符合“脑血管病”的临床公认的诊断标准的血瘀证型

[收稿日期] 2015-01-11

[作者简介] 谢素君 (1984-), 女, 助教, 研究方向: 循证针灸学。

[通讯作者] 李万瑶, E-mail: lwy76611@gzucm.edu.cn。