

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.01.003

芪蝎活血通络汤对局灶性脑缺血再灌注损伤模型大鼠神经功能、氧化应激及炎症因子的影响*

李雨铮^{1,2} 陈林榕² 吴其標^{1Δ} 刘鸿宇³ 谢锐填³

(1 澳门科技大学中医药学院 澳门 999078;

2 广东省中医院珠海医院中医内科 广东 珠海 519000; 3 普宁市人民医院中西医结合科 广东 普宁 515300)

摘要 目的:探讨芪蝎活血通络汤对局灶性脑缺血再灌注损伤模型大鼠神经功能、氧化应激及炎症因子的影响。**方法:**50 只 SD 大鼠随机选取 40 只采用线栓法构建脑缺血再灌注模型,其中 36 只成功,4 只死亡。随机数字表法将 36 只脑缺血再灌注模型大鼠分为模型组、低剂量组(芪蝎活血通络汤 2.0 mg/kg 灌胃处理)、中剂量组(芪蝎活血通络汤 4.0 mg/kg 灌胃处理)和高剂量组(芪蝎活血通络汤 8.0 mg/kg 灌胃处理),每组 9 只,剩余 10 只大鼠仅切开皮肤分离和夹闭血管(对照组)。建模后芪蝎活血通络汤各剂量组给予相应剂量灌胃,对照组和模型组给予同剂量生理盐水灌胃,持续 4 周。用药 4 周后测评各组大鼠神经功能缺损程度、双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间,并测定各组大鼠脑组织中含水量、脑梗死面积以及氧化应激[超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)]和炎症因子[白细胞介素-1 β (IL-1 β),白细胞介素-6(IL-6),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]指标。**结果:**与对照组比较,模型组大鼠 mNSS 评分、脑组织含水量、MDA 含量、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平升高($P<0.05$),双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间延长($P<0.05$),脑梗死面积增大($P<0.05$),SOD、GSH-Px、CAT 活性降低($P<0.05$);与模型组比较,芪蝎活血通络汤各剂量组大鼠 mNSS 评分、脑组织含水量、MDA 含量、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平降低($P<0.05$),双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间缩短($P<0.05$),脑梗死面积缩小($P<0.05$),SOD、GSH-Px、CAT 活性升高($P<0.05$);与低剂量组比较,中、高剂量组大鼠 mNSS 评分降低($P<0.05$),双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间缩短($P<0.05$);高剂量组大鼠脑梗死面积、脑组织 MDA、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 低于低剂量组($P<0.05$),SOD、GSH-Px、CAT 高于低剂量组($P<0.05$)。**结论:**芪蝎活血通络汤可降低大鼠脑缺血再灌注损伤,改善神经功能,其治疗作用可能与抗氧化、抗炎作用有关,8.0 mg/kg 剂量效果最显著。

关键词:芪蝎活血通络汤;局灶性脑缺血;缺血再灌注;神经功能;氧化应激;炎症因子

中图分类号:R-33;R743;R243 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)01-16-05

Effects of Qixie Huoxue Tongluo Decoction on Nerve Function, Oxidative Stress and Inflammatory Factors in Rats with Focal Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury*

LI Yu-zheng^{1,2}, CHEN Lin-rong², WU Qi-biao^{1Δ}, LIU Hong-yu³, XIE Rui-tian³

(1 College of Traditional Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau, 999078, China;

2 Internal Medicine of Traditional Chinese Medicine, Zhuhai Hospital of Guangdong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhuhai, Guangdong, 519000, China;

3 Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Puning People's Hospital, Puning, Guangdong, 515300, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of Qixie Huoxue Tongluo decoction on nerve function, oxidative stress and inflammatory factors in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods:** 40 SD rats were randomly selected from 50 SD rats to construct a cerebral ischemia reperfusion model by wire bolt method, among which 36 rats were successful, and 4 died. 36 rats of cerebral ischemia reperfusion model were divided into model group, low dose group (Qixie Huoxue Tongluo decoction 2.0 mg/kg lavage treatment), medium dose group (Qixie Huoxue Tongluo decoction 4.0 mg/kg lavage treatment) and high dose group (Qixie Huoxue Tongluo decoction 8.0 mg/kg lavage treatment) by random number table method, with 9 rats in each group, the remaining 10 rats were separated and clipped by skin incision only (control group). After modeling, each dose group of Qixie Huoxue Tongluo decoction was given corresponding dose by gavage, and the control group and the model group were intragastric with normal saline of the same volume, for 4 weeks. 4 weeks after treatment, the degree of neurological impairment, double side sticker removal time, the balance beam bar time of each group were measured. Brain tissue water content, cerebral infarct volume, oxidative stress [superoxide dismutase (SOD),

* 基金项目:澳门特别行政区科学技术发展基金资助项目(130/2017/A3;0099/2018/A3)

作者简介:李雨铮(1999-),女,本科,住院医师,研究方向:中医治疗心脑血管疾病,E-mail: liyuzheng8520@163.com

Δ 通讯作者:吴其標(1962-),男,博士,教授,研究方向:胸肺疾病、肿瘤中西医结合治疗的循证和实验研究,E-mail: qbwu@must.edu.mo

(收稿日期:2021-06-23 接受日期:2021-07-18)

glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA)] and inflammatory factors [interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α)] indexes in each group rats were measured. **Results:** Compared with control group, mNSS score, the brain tissue water content, MDA content, IL-6, IL-1 β , TNF- α levels in model group were increased ($P<0.05$), the double side sticker removal time, the balance beam bar time were prolonged ($P<0.05$), cerebral infarction volume was increased ($P<0.05$), SOD, GSH-Px and CAT activity were decreased ($P<0.05$). Compared with model group, mNSS score, the brain tissue water content, MDA content, IL-6, IL-1 β , TNF- α levels in each dose group of Qixie Huoxue Tongluo decoction were decreased ($P<0.05$), the double side sticker removal time, the balance beam bar time were shortened ($P<0.05$), cerebral infarction volume was reduced ($P<0.05$), SOD, GSH-Px and CAT activity were increased ($P<0.05$). Compared with the low dose group, the mNSS score of the medium and high dose groups were decreased ($P<0.05$), the double side sticker removal time, the balance beam bar time were shortened ($P<0.05$). The cerebral infarction area, MDA, IL-6, IL-1 β , TNF- α in the high dose group were lower than those in the low dose group ($P<0.05$), while SOD, GSH-Px and CAT in the high dose group were higher than those in the low dose group ($P<0.05$). **Conclusion:** Qixie Huoxue Tongluo decoction can reduce cerebral ischemia-reperfusion injury, and improve nerve function in rats, and its therapeutic effect may be related to antioxidant and anti-inflammatory effects. The 8.0 mg/kg dose has the most significant effect.

Key words: Qixie Huoxue Tongluo decoction; Focal cerebral ischemia; Ischemia-reperfusion; Neurological function; Oxidative stress; Inflammatory factors

Chinese Library Classification(CLC):R-33; R743; R243 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)01-16-05

前言

缺血性脑卒中是临床常见的致死、致残性脑血管疾病,是由脑动脉系统血管痉挛、闭塞导致的局部循环障碍,患者可出现肢体运动障碍、感觉或意识障碍等神经缺损表现^[1-3]。缺血再灌注损伤是缺血性脑卒中致残、死亡的主要因素之一,脑组织损伤程度随缺血时间延长和强度增加而加重,而缺血再灌注损伤可进一步加重脑组织和神经缺损程度^[4,5]。氧化应激是缺血再灌注损伤的重要病理生理基础,缺血再灌注时大量氧涌入介导的广泛氧化应激反应可继发急性病理损伤^[6,7]。炎症反应在缺血再灌注损伤中同样扮演重要角色,缺血后大量炎性因子激活,促使级联反应,导致再灌注时继发脑损害^[8]。芪蝎活血通络汤具有活络通络,补气益气、化痰止痛等功效,治疗脑血栓具有显著临床效果^[9]。本研究拟探讨芪蝎活血通络汤对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能、氧化应激以及炎症因子表达的影响,旨在为临床治疗缺血性脑卒中提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

成年 SD 大鼠 50 只,8 周龄,体重 260~300 g,购自中山大学实验动物中心[许可证号 SCXK(粤)20160029]。12 h 昼夜节律,恒温(22-24℃)恒湿(50-55%)环境饲养 2 周,自由活动 and 进食水。芪蝎活血通络汤:黄芪 120 g,全蝎 20 g,川芎 15 g、当归 15 g、赤芍 15 g、桃仁 15 g、地龙 15 g、鸡血藤 30 g、丹参 30 g、红花 10 g、甘草 10 g。制备浓缩水煎剂 50 mL,药液浓度 10.0 g/mL。由我院中药房提供药物并制备煎剂。白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)试剂(广州艾肽尔生物科技有限公司,货号:JM-03336H1)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂(广州艾肽尔生物科技有限公司,货号:JM-03204H1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor Alpha, TNF- α)试剂(广州艾肽尔生物科技有限公司,货号:JM-03277H1)。过氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂(广州艾肽尔生物科技有限公司,货号:

JM-03545H1)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂(广州艾肽尔生物科技有限公司,货号:JM-0644H1)、过氧化氢酶(catalase, CAT)试剂(广州艾肽尔生物科技有限公司,货号:JM-05056H1)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂(广州艾肽尔生物科技有限公司,货号:JM-05358H1)。线栓(北京西浓生物技术有限公司,2838-A4 型),紫外分光光度计(上海美谱达仪器有限公司,UV-3000 型),酶标仪(BIO-RAD 公司,美国,BIORAD-680 型)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 随机选择 40 只 SD 大鼠建立脑缺血再灌注模型,方法如下:腹腔注射水合氯醛 4 mL/kg 麻醉,麻醉起效后仰位固定,红外灯维持大鼠体温在 37℃左右,沿颈正中切开,暴露颈总动脉(CCA)及颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA),沿颈中线切口分离并用动脉夹夹闭左 CCA、ICA,结扎 ECA,于 ECA 残端开一小口,将浸润肝素栓插入 CCA,插入栓线至 ICA 至左侧 CCA 分叉以上约 18~20 mm 处以闭塞大脑中动脉,丝线结扎 ECA 插口近端,2 h 后小心取出栓线,缝合伤口,腹腔注射氨苄青霉素 30 mg 预防感染,将动物放回笼中。由于操作不当 40 只大鼠中死亡 4 只,其余 36 只成功建立脑缺血再灌注模型。采用随机数字表法将 36 只大鼠分为四组,每组 9 只,分别为模型组,低剂量组(芪蝎活血通络汤 2.0 mg/kg)、中剂量组(芪蝎活血通络汤 4.0 mg/kg)和高剂量组(芪蝎活血通络汤 8.0 mg/kg)剩余 10 只大鼠为对照组,进行假手术,仅切开皮肤分离血管不夹闭血管,均存活。

1.2.2 给药方法 芪蝎活血通络汤各剂量组术后第 1d 开始给予相应剂量芪蝎活血通络汤剂灌胃,对照组和模型组灌注同体积 0.9%氯化钠溶液,每天给药 1 次,持续给药 4 周。

1.2.3 检测指标与方法 ① 神经功能缺损评分:用药 4 周后采用 mNSS 评分^[10]从运动试验、感觉试验、反射丧失和不正常运动、癫痫、肌阵挛、肌张力障碍评估大鼠神经缺损程度,满分 0~18 分,分数越高缺损越严重。② 贴纸去除及平衡木行走实验:采用 10 mm×10 mm 黏性纸粘住大鼠 2 只前掌面,记录大鼠

去除粘于两侧前掌的黏性纸的时间为双侧贴纸去除时间。制作一 105 cm×4 cm×3 cm 平衡木, 离地 80 cm, 起始点为陡峭平台, 终点为一平台, 记录大鼠通过平衡木的总时间为平衡木过杆时间。④ 脑组织中氧化应激和炎症因子指标含量检测: 腹腔注射乌拉坦麻醉, 断头取出脑组织, 去掉嗅球、小脑和低位脑干后立即取 2 mL 大脑组织剪碎后加入冷裂解液研磨匀浆, 4℃、3000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 紫外分光光度计平行测定各组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT 活性和 MDA 含量。酶标仪采用酶联免疫吸附试验测定脑组织中 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平。⑤ 脑组织含水量和脑梗死面积测量: 取大鼠组织制作 5 个冠面切片, 置于 2% TTC 染色液(pH7.2 磷酸缓冲液配制)中 37℃ 恒温避光孵育 30 min, 取出置于 10% 甲醛液中避光保存并拍照。以红色区域为未梗死区、苍白色为梗死区, 图像导入 Imagepro Plus 6.0 图像分析系统, 计算梗死区面积, 梗死面积为梗死区占总面积百分比。取剩余脑组织称重, 记为湿重量(W), 后置于 110℃ 恒温干燥箱中 48 h 后称重[为干质量(D)], 脑组织含水量 = [(W-D)/W]×100%。

1.3 统计学分析

以 SPSS 25.0 进行数据分析。经 D-W 检验符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析及 LSD-t 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠 mNSS 评分、双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间比较

模型组大鼠 mNSS 评分高于对照组 ($P<0.05$), 双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间长于对照组 ($P<0.05$)。芪蝎活血通络汤各剂量组鼠神经功能评分低于模型组 ($P<0.05$), 双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间短于模型组 ($P<0.05$)。芪蝎活血通络汤各剂量组比较, 中、高剂量组大鼠 mNSS 评分低于低剂量组 ($P<0.05$), 中、高剂量组之间比较无统计学差异 ($P>0.05$), 中、高剂量组双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间短于低剂量组 ($P<0.05$), 高剂量组短于中剂量组 ($P<0.05$), 见表 1。

表 1 各组大鼠 mNSS 评分、双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间差异 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Differences in mNSS score, double side sticker removal time and balance beam bar time among groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	mNSS score(score)	Double side sticker removal time(s)	Balance beam bar time(s)
Control group	10	0.00±0.00	25.35±4.79	2.02±0.43
Model group	9	8.12±0.35 ^a	96.35±12.35 ^a	19.35±4.27 ^a
Low dose group	9	6.03±0.53 [▲]	79.52±8.46 [▲]	12.35±3.26 [▲]
Medium dose group	9	5.12±0.43 ^{▲*}	62.13±6.49 ^{▲*}	8.42±2.34 ^{▲*}
High dose group	9	4.89±0.31 ^{▲*}	50.34±4.49 ^{▲**}	4.15±0.43 ^{▲**}
F		643.933	115.070	65.174
P		0.000	0.000	0.000

Note: compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with model group, [▲] $P<0.05$. Compared with low dose group, ^{*} $P<0.05$. Compared with medium dose group, ^{**} $P<0.05$.

2.2 各组大鼠脑组织含水量和脑梗死面积比较

模型组大鼠脑组织含水量高于对照组 ($P<0.05$), 脑梗死面积大于对照组 ($P<0.05$)。芪蝎活血通络汤各剂量组脑组织含水量低于模型组 ($P<0.05$), 脑梗死面积小于模型组 ($P<$

0.05)。芪蝎活血通络汤各剂量组比较, 低、中、高剂量组大鼠脑组织含水量比较无统计学差异 ($P>0.05$), 高剂量组大鼠脑组织脑梗死面积小于低剂量组 ($P<0.05$), 中、低剂量组之间比较无统计学差异 ($P>0.05$), 见表 2。

表 2 各组大鼠脑组织含水量和脑梗死面积差异 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Differences of cerebral tissue water content and cerebral infarction area in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Water content(%)	Cerebral infarction area(%)
Control group	10	72.35±4.05	0.00±0.00
Model group	9	83.35±8.65 ^a	42.35±4.65 ^a
Low dose group	9	75.19±5.43 [▲]	38.04±3.56 [▲]
Medium dose group	9	74.04±4.07 [▲]	36.04±3.07 [▲]
High dose group	9	73.02±4.03 [▲]	34.02±2.43 ^{▲*}
F		8.105	184.788
P		0.001	0.000

Note: compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with model group, [▲] $P<0.05$. Compared with low dose group, ^{*} $P<0.05$.

2.3 各组大鼠脑组织氧化应激指标比较

模型组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT 活性低于对照组 ($P<0.05$),MDA 含量高于对照组 ($P<0.05$)。芪蝎活血通络汤各剂量组脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT 活性高于模型组

($P<0.05$),MDA 含量低于模型组 ($P<0.05$)。芪蝎活血通络汤各剂量组比较,高剂量组大鼠脑组织 SOD、GSH-Px、CAT 高于低剂量组 ($P<0.05$),MDA 低于低剂量组 ($P<0.05$),其它各组间比较无统计学差异 ($P>0.05$),见表 3。

表 3 各组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT、MDA 水平差异 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Differences of SOD, GSH-Px, CAT and MDA levels in brain tissues of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	SOD(u/mg)	GSH-Px(u/mg)	CAT(u/mg)	MDA(μ mol/L)
Control group	10	16.32 $\pm$ 3.26	18.24 $\pm$ 3.49	4.95 $\pm$ 1.27	4.68 $\pm$ 1.28
Model group	9	7.42 $\pm$ 1.82 ^a	9.68 $\pm$ 2.78 ^a	2.03 $\pm$ 0.42 ^a	12.35 $\pm$ 4.24 ^a
Low dose group	9	9.49 $\pm$ 2.15 [▲]	13.25 $\pm$ 3.92 [▲]	2.97 $\pm$ 0.83 [▲]	8.42 $\pm$ 3.16 [▲]
Medium dose group	9	10.24 $\pm$ 3.56 [▲]	15.12 $\pm$ 4.25 [▲]	3.52 $\pm$ 0.91 [▲]	6.41 $\pm$ 2.34 [▲]
High dose group	9	13.24 $\pm$ 4.72 ^{▲*}	18.15 $\pm$ 4.77 ^{▲*}	3.94 $\pm$ 0.99 ^{▲*}	4.83 $\pm$ 1.35 ^{▲*}
F		10.745	7.868	12.772	12.827
P		0.000	0.000	0.000	0.001

Note: compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with model group, [▲] $P<0.05$. Compared with low dose group, ^{*} $P<0.05$.

2.4 各组大鼠脑组织炎症因子指标比较

模型组大鼠脑组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平高于对照组 ($P<0.05$), 芪蝎活血通络汤各剂量组脑组织 IL-6、IL-1 β 、

TNF- α 水平低于模型组 ($P<0.05$)。芪蝎活血通络汤各剂量组比较,高剂量组大鼠脑组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 低于低剂量组 ($P<0.05$),其它各组间比较无统计学差异 ($P>0.05$),见表 4。

表 4 各组大鼠脑组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平差异 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Differences of IL-6, IL-1 β and TNF- α levels in brain tissues of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	IL-6(pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
Control group	10	19.35 $\pm$ 4.21	4.02 $\pm$ 0.98	38.42 $\pm$ 5.59
Model group	9	35.35 $\pm$ 7.35 ^a	15.49 $\pm$ 6.35 ^a	59.13 $\pm$ 9.35 ^a
Low dose group	9	28.16 $\pm$ 6.01 [▲]	9.35 $\pm$ 3.26 [▲]	48.42 $\pm$ 8.49 [▲]
Medium dose group	9	25.42 $\pm$ 5.12 [▲]	7.42 $\pm$ 3.01 [▲]	42.35 $\pm$ 7.35 [▲]
High dose group	9	22.13 $\pm$ 4.49 ^{▲*}	5.12 $\pm$ 2.28 ^{▲*}	40.24 $\pm$ 6.34 ^{▲*}
F		11.536	14.608	11.479
P		0.000	0.000	0.000

Note: compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with model group, [▲] $P<0.05$. Compared with low dose group, ^{*} $P<0.05$.

3 讨论

缺血性脑卒中是由脑组织血液供应异常导致的脑缺血性疾病,可引起神经细胞坏死或凋亡,出现相应的神经缺损症状^[11]。缺血性脑卒中后大量超氧化物自由基的产生是造成神经损伤的主要原因之一,氧自由基损伤神经细胞、细胞膜,影响大脑神经元活性,且作为炎症反应启动因子,可促进炎症因子释放,加重炎症反应损伤^[12]。缺血性脑卒中发生后积极降低氧化应激和炎症反应水平是避免和减轻神经功能损伤的关键。中医药在缺血性脑卒中治疗方面具有独特的优势,缺血性脑卒中属于中医“中风”范畴,其病因机制为气血亏虚,肝风内动,风热上扰,导致痰瘀阻络,治疗应以活血化瘀通络之法^[13]。芪蝎活血通络汤通过活络、益气补血,是治疗缺血性脑卒中的常用经验方剂。现代研究显示芪蝎活血通络汤可扩血管、降低血液粘滞度、抗血栓^[9],并具有神经保护作用,改善缺血再灌注损伤^[14]。

本研究结果显示给予芪蝎活血通络汤治疗大鼠神经功能

评分低于模型组,双侧贴纸去除时间、平衡木过杆时间短于模型组,脑梗死面积和含水量低于模型组,提示芪蝎活血通络汤可改善局灶性缺血再灌注损伤程度及其介导的神经损伤程度,具有神经保护作用。临床报道同样显示芪蝎活血通络汤可降低脑血栓患者美国国立卫生研究院卒中量表评分,提高临床治疗效果^[9]。动物实验研究显示芪蝎活血通络汤中川芎主要成分川芎嗪可通过降低 Bax 蛋白表达,增加 Bax-2 表达,抑制神经细胞凋亡,起到神经保护作用^[15]。

氧化应激反应是缺血再灌注损伤进展的关键^[16,17],大量超氧化物自由基产生损伤神经细胞、细胞膜,影响大脑神经元活性,氧化物自由基作为炎症反应启动因子,可促进炎症因子释放,加重炎症反应损伤^[18],因此降低氧化应激水平可缓解缺血再灌注损伤,减轻神经功能损伤。本研究结果显示给予芪蝎活血通络汤治疗可降低脑组织中 MDA 含量,提高抗氧化酶 SOD、GSH-Px、CAT 的活性,说明芪蝎活血通络汤可降低缺血再灌注损伤大鼠脑组织的氧化应激损伤。分析机制为:四甲基

吡嗪是川芎嗪的生物活性化合物^[19],四甲基吡嗪可通过上调核因子 E2 相关因子 2、谷氨酰半胱氨酸连接酶蛋白表达,促进谷胱甘肽合成,降低活性氧水平^[20]。黄芪具有抗氧化作用,可拮抗一氧化氮升高介导的脑氧化应激反应,降低氧自由基对脑细胞 DNA 损伤^[21,22]。

脑缺血再灌注损伤后,缺血缺氧应激下白细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞合成和释放大炎症因子,如 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 以及趋化因子和黏附分子等,造成微循环堵塞和组织损伤^[23,24]。IL-6 是炎症级联反应上游炎症性细胞因子,在下游炎症反应传播中起关键作用,可诱发内皮细胞表达黏附因子和趋化因子,激活单核细胞释放炎症性细胞因子^[25],TNF- α 、IL-1 β 是典型促炎因子,IL-1 β 可触发免疫和炎症反应,TNF- α 可介导中性粒细胞、淋巴细胞激活以及促使黏附因子表达,进而诱导炎症介质合成,加剧组织损伤^[26]。IL-6、IL-1 β 、TNF- α 在脑缺血再灌注损伤模型中均呈高表达^[27]。本研究芪蝎活血通络汤治疗大鼠脑组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量明显低于模型组,说明芪蝎活血通络汤可抑制脑缺血再灌注损伤时炎症反应,降低脑缺血再灌注损伤。分析机制为:芪蝎活血通络汤中黄芪多糖具有免疫调节、抗炎活性^[28],川芎中洋川芎内酯 A、Z-藁本内酯、新蛇床内酯均具有抗炎活性,可阻碍炎症信号传导,影响下游炎症介质表达,进而发挥抗炎作用^[29,30]。

芪蝎活血通络汤各剂量组之间比较结果显示 8.0 mg/kg 芪蝎活血通络汤灌胃可明显减少大鼠脑梗死面积、减轻脑水肿,降低氧化应激和炎症反应水平,提高抗氧化能力,进而改善神经功能,优于低剂量组和中剂量组,说明 8.0 mg/kg 芪蝎活血通络汤在治疗缺血性脑卒中方面可发挥更显著的临床效果。由于本研究开展时参与人员不多,且研究时间有限,因此未曾设置更多剂量分组去探讨何种剂量芪蝎活血通络汤在缺血性脑卒中治疗效果最佳的问题,今后将增设更加精细的剂量分组,以期获取更为准确的结果。

综上,芪蝎活血通络汤能减轻大鼠脑缺血再灌注损伤,保护神经功能。其治疗作用与芪蝎活血通络汤能抑制脑组织氧化应激、炎症反应有关。8.0 mg/kg 芪蝎活血通络汤在缺血性脑卒中的治疗效果更显著。

参考文献(References)

- [1] Lytton WW, Arle J, Bobashev G, et al. Multiscale modeling in the clinic: diseases of the brain and nervous system [J]. Brain Inform, 2017, 4(4): 219-230
- [2] Herpich F, Rincon F. Management of Acute Ischemic Stroke [J]. Crit Care Med, 2020, 48(11): 1654-1663
- [3] Putaala J. Ischemic Stroke in Young Adults [J]. Continuum (Minneapolis), 2020, 26(2): 386-414
- [4] 刘利娟,周德生,童东昌,等.脑梗死缺血再灌注损伤机制与内质网应激[J].中华中医药学刊,2016,34(9):2217-2221
- [5] Wu MY, Yang GT, Liao WT, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(4): 1650-1667
- [6] 李晓倩,陈凤收,张再莉,等.缺血后处理通过 mdm2-p53 负反馈通路减轻大鼠缺血再灌注损伤后的氧化应激反应[J].实用药物与临床,2019,22(9):916-920
- [7] Li Y, Sun J, Gu L, et al. Protective effect of CTRP6 on cerebral ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammation, oxidative

- stress and apoptosis in PC12 cells [J]. Mol Med Rep, 2020, 22(1): 344-352
- [8] 康乐,苗明三,刘慧娟,等.葛花总黄酮对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤炎症因子表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(11): 5081-5085
- [9] 符文雄,陈刚,徐玉婷,等.芪蝎活血通络汤结合奥扎格雷钠注射液治疗脑血栓形成临床研究 [J]. 国际中医中药杂志, 2019, 41(9): 954-957
- [10] 李振均,刘文超,段传志,等.BMSCs 移植对脑缺血恢复期大鼠神经功能缺损的改善作用及 Nogo-A 表达的影响 [J]. 中华神经医学杂志, 2018, 17(2): 117-123
- [11] 李娜,孙克德,唐彦,等.丁苯酞对缺血性脑卒中大鼠脂联素、MCP-1 及 sICAM-1 的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(3): 460-464
- [12] Orellana-Urzu a S, Rojas I, Lf bano L, et al. Pathophysiology of Ischemic Stroke: Role of Oxidative Stress [J]. Curr Pharm Des, 2020, 26(34): 4246-4260
- [13] 王玲玲,杨良锋.益智活血汤治疗缺血性脑卒中 [J]. 中医学报, 2019, 34(4): 800-803
- [14] 沈丽丽,罗虹,徐磊.芪蝎活血通络汤联合奥扎格雷钠治疗脑血栓形成及对改善脑缺血再灌注损伤的作用 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 7(5): 541-542
- [15] 祁存芳,刘勇,张建水,等.川芎嗪对大鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护作用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(25):3908-3909, 3964
- [16] Lu QY, Ma JQ, Duan YY, et al. Carthamin Yellow Protects the Heart Against Ischemia/Reperfusion Injury With Reduced Reactive Oxygen Species Release and Inflammatory Response [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2019, 74(3): 228-234
- [17] Sohn HM, Hwang JY, Ryu JH, et al. Simvastatin protects ischemic spinal cord injury from cell death and cytotoxicity through decreasing oxidative stress: in vitro primary cultured rat spinal cord model under oxygen and glucose deprivation-reoxygenation conditions [J]. J Orthop Surg Res, 2017, 12(1): 36
- [18] Hosoo H, Marushima A, Nagasaki Y, et al. Neurovascular Unit Protection From Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury by Radical-Containing Nanoparticles in Mice[J]. Stroke, 2017, 48(8): 2238-2247
- [19] 高海军,白焕焕,雷廷,等.川芎嗪在脑缺血再灌注损伤中的保护作用[J].中国老年学杂志,2015,35(17):5019-5023
- [20] Guan DS, Su YF, Li YX, et al. Tetramethylpyrazine inhibits CoCl2-induced neurotoxicity through enhancement of Nrf2-GCLC-GSH and suppression of HIF1 α -NOXA-ROS pathways [J]. J Neurochem, 2015, 134(3): 551-565
- [21] 尹晓婷,高伟超,李彦莹,等.黄芪对铅损伤大鼠脑组织抗氧化能力影响的研究[J].长春中医药大学学报,2019,35(5):929-933
- [22] 牛江涛,曹瑞,司昕蕾,等.红芪与黄芪免疫调节和抗氧化作用对比研究进展[J].中华中医药学刊,2021,39(4):21-23
- [23] 李传文,张嵘,侯亮,等.SIRT1/NF- κ B 通路参与白藜芦醇改善大鼠脑缺血再灌注损伤炎症反应[J].安徽医科大学学报,2018,53(1):6-9
- [24] Heinel LA, Rubin S, Rosenwasser RH, et al. Leukocyte involvement in cerebral infarct generation after ischemia and reperfusion[J]. Brain Res Bull, 1994, 34(2): 137-141

- after gastric cancer surgery: An updated meta-analysis [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(14): 1562-1578
- [14] 陈献春. 胃癌患者细胞免疫功能的变化及意义[J]. *山东医药*, 2007, 47(21): 81-82
- [15] Huo J, Wu L, Zang Y. Eleven immune-gene pairs signature associated with TP53 predicting the overall survival of gastric cancer: a retrospective analysis of large sample and multicenter from public database[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 183
- [16] 白玉玮, 陈永学. 不同麻醉方式对老年腹部手术后患者氧化应激状态及免疫功能的影响[J]. *医学临床研究*, 2018, 35(1): 157-159
- [17] 钱晨, 杨丰, 徐英杰, 等. 腹腔镜与开腹胃癌根治术对进展期胃癌患者机体应激反应和细胞免疫功能的影响[J]. *上海医学*, 2019, 42(5): 263-268
- [18] Jung KT, So KY, Kim SC, et al. Effect of Nefopam-Based Patient-Controlled Analgesia with and without Fentanyl on Postoperative Pain Intensity in Patients Following Laparoscopic Cholecystectomy: A Prospective, Randomized, Controlled, Double-Blind Non-Inferiority Trial[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021, 57(4): 316
- [19] Meuser T, Nardi-Hiebl S, Eberhart L, et al. Staff time requirements for postoperative pain management: Comparison of sufentanil sublingual tablet system and intravenous patient-controlled analgesia [J]. *J Opioid Manag*, 2019, 16(1): 33-39
- [20] 范甜, 李珊珊, 李艾芳, 等. 地佐辛联合舒芬太尼对开胸患者术后镇痛镇静效果、血流动力学及免疫功能的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(3): 519-523
- [21] Han L, Su Y, Xiong H, et al. Oxycodone versus sufentanil in adult patient-controlled intravenous analgesia after abdominal surgery: A prospective, randomized, double-blinded, multiple-center clinical trial [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(31): e11552
- [22] 郭智星, 孙莉. 地佐辛复合舒芬太尼用于腹腔镜胃癌根治术患者术后镇痛效果的观察[J]. *中国医师杂志*, 2017, 19(1): 69-71
- [23] Tang X, Wu H, Mao X, et al. The GLP-1 receptor herbal agonist morroniside attenuates neuropathic pain via spinal microglial expression of IL-10 and β -endorphin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 530(3): 494-499
- [24] Qi R, Wang DT, Xing LF, et al. miRNA-21 promotes gastric cancer growth by adjusting prostaglandin E2 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(7): 1929-1936
- [25] Muñoz M, Rosso M, Carranza A, et al. Increased nuclear localization of substance P in human gastric tumor cells[J]. *Acta Histochem*, 2017, 119(3): 337-342
- [26] 王丽, 高艳, 林涵森, 等. 地佐辛超前镇痛对腹腔镜手术患者血清 TNF- α 、IL-6 和 P 物质的影响 [J]. *河北医药*, 2015, 37(13): 1951-1953
- [27] 席文娟, 赵剑秋, 王静, 等. 地佐辛用于术后镇痛的研究进展[J]. *医学综述*, 2015, 21(15): 2811-2813
- [28] 羊黎晔, 肖健, 李永华. 肺癌根治术后自控静脉地佐辛复合舒芬太尼镇痛对患者 T 细胞亚群和 NK 细胞含量的影响[J]. *临床军医杂志*, 2015, 43(6): 613-616
- [29] 谭兴中, 岳永猛, 胡了凡, 等. 地佐辛复合舒芬太尼自控镇痛对肺癌根治术患者应激反应与细胞免疫功能的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2018, 35(8): 1120-1123
- [30] 周琪, 孙义, 张析哲. 地佐辛复合舒芬太尼对老年结肠癌患者结肠切除术后 VAS 评分及胃肠道不良反应的影响 [J]. *中国地方病防治杂志*, 2017, 32(10): 1094, 1152
- [31] Wang C, Li L, Shen B, et al. A multicenter randomized double-blind prospective study of the postoperative patient controlled intravenous analgesia effects of dezocine in elderly patients [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(3): 530-539

(上接第 20 页)

- [25] Li J, Zhao X, Meng X, et al. High-Sensitive C-Reactive Protein Predicts Recurrent Stroke and Poor Functional Outcome: Subanalysis of the Clopidogrel in High-Risk Patients With Acute Nondisabling Cerebrovascular Events Trial[J]. *Stroke*, 2016, 47(8): 2025-2030
- [26] Aktaş HS, Ozel Y, Ahmad S, et al. Protective effects of resveratrol on hepatic ischemia reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 460(1-2): 217-224
- [27] 葛建彬, 卢红建, 宋新建, 等. 枸杞多糖对小鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及其抑制 NF- κ B, TNF- α , IL-6 和 IL-1 β 表达的机制[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(2): 326-331
- [28] 马瑞, 刘王波, 周平. 芪蝎活血通络汤对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的神经保护作用及 SIRT1、PGC-1 表达的影响[J]. *中国中医急症*, 2019, 28(9): 1563-1566, 1597
- [29] 马宁宁, 范姗姗, 李欣, 等. 川芎的抗炎物质筛选及其作用机制分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(18): 140-146
- [30] 陈红阳, 杨志华, 贾壮壮, 等. 基于网络药理学探究黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的作用机制[J]. *云南中医学院学报*, 2021, 44(1): 88-97