

清脑片对小鼠脑膜微循环及血瘀模型的影响

郝少君, 孔学军, 陈维亮, 管志江, 李文俊, 范莉莉, 张正臣^{*}(中国人民解放军第三七一医院, 河南 新乡 453000)

摘要: 目的 观察清脑片对小鼠脑膜微循环及血瘀模型的影响。方法 60 只昆明种小鼠, SPF 级, ♀♂各半, 随机分为清脑片组、脑络通组(高、中、低剂量脑络通胶囊混悬液)、空白组及模型组 6 组, 灌服给药, 空白组及模型组灌服同体积的生理盐水, 连续给药 10 d, 记录小鼠平静后 2 min 内的血流灌注量。取结扎(空白组做假手术)前 110~120 s 的血流灌注量平均值作为结扎前的平均灌注量, 取 230~240 s 的血流灌注量平均值作为结扎后的平均灌注量, 并进行分析。另取 60 只 KM 小鼠, SPF 级, ♀♂各半, 随机分为 6 组, 给药方法同前, 每天给药 1 次, 连续灌服 15 d。除空白组每天后腿肌注射生理盐水外, 其他 5 组每天后腿肌注射地塞米松 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续肌注 15 d。于第 16 天灌药及肌注后 1 h, 小鼠摘眼球取血, 测全血黏度。结果 与空白组比较, 模型组脑膜微循环血流量显著减少($P<0.01$)。脑络通组和清脑片高剂量组可显著改善双侧颈总动脉结扎所致的小鼠脑血流量减少($P<0.01$); 清脑片中剂量明显改善双侧颈总动脉结扎所致的小鼠脑血流量减少($P<0.05$)。高剂量清脑片组可显著降低高切和中切黏度($P<0.01$), 中剂量清脑片组可明显减低高切和中切黏度($P<0.05$); 高、中剂量清脑片组可明显降低低切黏度($P<0.05$)。结论 清脑片对小鼠脑膜微循环以及小鼠血瘀模型有良好的改善作用。

关键词: 清脑片; 脑膜微循环模型; 血瘀模型; 脑络通胶囊

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)05-0684-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.014

引用本文: 郝少君, 孔学军, 陈维亮, 等. 清脑片对小鼠脑膜微循环及血瘀模型的影响[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(5): 684-687.

Effect of Qingnao Tablet on the Model of Meningeal Microcirculation and Blood Stasis in Mice

HAO Shaojun, KONG Xuejun, CHEN Weiliang, GUAN Zhijiang, LI Wenjun, FAN Lili, ZHANG Zhengchen^{*}
(The 371st Central Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Xinxiang 453000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effect of Qingnao tablets on meningeal micro-circulation and blood stasis model of mice. **METHODS** Sixty Kunming mice, SPF, male and female in half, were divided into 6 groups: Qingnao tablets (large, medium, small dose), Naoluo tong capsule, the blank group and the model group. The blank and model groups were drenched normal saline of the equal volume. Then the amount of blood perfusion within 2 minutes were recorded after the mice quiet. The blood perfusion average value of 110–120 s before ligation and 230–240 s after ligation were recorded as the average perfusion value respectively. Another sixty mice, SPF, male and female half, were divided into 6 groups randomly. They were also drenched as above-mentioned method and administrated once a day for 15 d. The mice of blank group were injected with normal saline into the muscle of the back legs, while the other 5 groups were injected with an intramuscular injection of dexamethasone with a dose of $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for 15 d. The mice's eyeballs were picked to take blood and measure the whole blood viscosity within one hour after the intramuscular injection 16 days later. **RESULTS** Compared with the blank group, the blood flow volume of meningeal micro-circulation in model groups was decreased significantly ($P<0.01$). The Naoluo tong and Qingnao Tablets in large dose significantly improved the reduction of the mice's brain blood flow volume caused by the ligation of the bilateral carotid artery ($P<0.01$). The Qingnao tablets in medium dose significantly improved the reduction of the mice's brain blood flow volume caused by the ligation of the bilateral carotid artery ($P<0.05$). The Qingnao group in large dose significantly decreased high shear and medium shear viscosity ($P<0.01$). The Qingnao group in medium dose significantly decreased high shear and medium shear viscosity ($P<0.05$). The Qingnao group in large and medium dose significantly decreased low shear viscosity ($P<0.05$). **CONCLUSION** The Qingnao tablets can well improve the meningeal microcirculation and the blood stasis model of mice. **KEY WORDS:** Qingnao tablet; meningeal microcirculation model; blood stasis model; Naoluo tong capsule

脑动脉供血不足导致眩晕发作在临床上较多见。现代医学认为, 其与脑部微循环功能障碍、血液流变学异常、细胞内自由基损伤等诸多因素有关。脑供血不足在中医学上属于“眩晕”范畴。

基金项目: 河南省科技发展计划项目(132102310408); 河南新乡市重点科技创新发展专项项目(CXGG16054)

作者简介: 郝少君, 男, 主任药师 Tel: 13803738526 E-mail: haosj371@sohu.com *通信作者: 张正臣, 男, 主任药师 Tel: 13903730299 E-mail: xxzcc2010@126.com

虽然目前治疗该病的药物很多,但疗效并不理想^[1-3]。医院根据临床经验自制制剂清脑片^[4-8],该方由白芷、当归、川芎、勾藤、细辛、龙骨、薄荷等组成,诸药合用具有活血、行气通窍、止痛、清利头目的作用,临床用于治疗头痛、头晕、脑震荡后遗症等疗效较好。为探究其机制,本研究进行了清脑片对小鼠脑膜微循环及血瘀模型影响的研究。

1 材料

1.1 试剂与药品

清脑片由中国人民解放军第三七一中心医院提供,批号:20141125。制法:取白芷 50 g、当归 75 g、川芎 75 g 粉碎成 100 目细粉备用。剩余白芷、当归、川芎及其余各味药材粉碎成 10 目粗粉,加 8 倍水煎煮 2 次,每次 2 h,合并煎煮液,滤过,滤液浓缩至相对密度 1.15~1.30(80 ℃)。加入细粉、淀粉适量,混匀,干燥成干膏,粉碎,用稀糖浆经 14~16 目筛制粒,50~60 ℃烘干,用 14 目筛整粒,加入 1%硬脂酸镁混匀,压片(每片 0.3 g),包衣,制成 1 000 片即得。

脑络通胶囊(阳性药,河南龙都药业有限公司,批号:150309);生理盐水(河南双鹤华利药业有限公司,批号:130906B);水合氯醛(天津市光复精细化工研究所,批号:20120707);盐酸肾上腺素注射液[远大医药(中国)有限公司,批号:150512];地塞米松磷酸钠注射液(山东新华制药股份有限公司,批号:1504282)。

1.2 仪器

JM 1000 电子秤(余姚记铭称重校验设备有限公司);AL204 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];PeriCam PSI 型散斑全帧实时扫描成像仪(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);BCD-248T 型冰箱(新飞电器有限公司);LG-R-80 电脑血液黏度测试仪(北京世帝科学仪器公司);LG-PABER 型血小板聚集及凝血因子分析仪(北京世帝科学仪器公司)。

1.3 动物

KM 小鼠,♀♂各半,18~21 g,SPF 级,合格证号:3700920000013。由山东鲁抗医药股份有限公司提供,许可证号:SCXK(鲁)20130001。实验室合格证:SYXK(豫)2015-0005。23 ℃恒温,湿

度为 60%,人工照明 12 h 白天与 12 h 黑夜交替,给予常规的实验室饮食,不限制饮水。

2 方法

2.1 清脑片对小鼠脑膜微循环的影响

取 60 只小鼠,18~21 g,♀♂各半,随机分为 6 组,即高、中、低剂量清脑片组(2.24, 1.12, 0.56 g·kg⁻¹, 0.01 mL·g⁻¹相当于临床 30, 15, 7.5 倍),脑络通组(0.75 g·kg⁻¹, 0.01 mL·g⁻¹相当于临床 15 倍),模型组和空白组(灌服同体积生理盐水 0.01 mL·g⁻¹),每天给药 1 次,连续给药 10 d。于第 10 天早上给药 1 h(禁食不禁水 12 h)后开始测定。以 5%水合氯醛 0.003 mL·kg⁻¹腹腔注射麻醉,俯卧位固定,将颅骨正中皮肤矢状切开,用止血钳将两侧皮肤拉开,使大脑脑膜完全暴露,用标记笔在小鼠脑部矢状缝与冠状缝交叉处作一标记,将小鼠置于散斑全帧实时扫描成像仪的推荐距离范围内,并使仪器与监测部位平行,光束照在标记处,并与检测部位垂直,调整仪器距离与设定距离相一致,圈定扫描面积,记录小鼠平静后 2 min 内血流灌注量。测量完小鼠正常脑部血流量后,松开小鼠,仰卧位固定,各组小鼠结扎双侧颈总动脉(空白组做假手术,只分离双侧颈总动脉,不做结扎处理),结扎后再次记录小鼠平静后 2 min 内原圈定扫描面积内的血流灌注量。取结扎前 110~120 s 的血流灌注量平均值作为结扎前的平均灌注量,取结扎后 230~240 s 的血流灌注量平均值作为结扎后的平均灌注量,导出报告,并进行分析。

2.2 清脑片对小鼠血瘀模型的影响^[9]

取 KM 种小鼠 60 只,♀♂各半,体质量 18~21 g,随机分为 6 组:清脑片高、中、低剂量组(2.24, 1.12, 0.56 g·kg⁻¹),脑络通组(0.75 g·kg⁻¹),模型组和空白组(同体积的生理盐水 0.01 mL·g⁻¹)。各组每天给药 1 次,连续灌服 15 d。从灌药第 1 天开始,除空白组每天每鼠后腿肌注生理盐水外,其他 5 组小鼠每天后腿肌肉注射地塞米松磷酸钠注射液 0.8 mg·kg⁻¹,每天肌注 1 次,连续肌注 15 d。于第 16 天灌药及肌注后 1 h,小鼠摘眼球取血,肝素抗凝后测全血黏度。使用 LG-R-80 电脑血液黏度测试仪测定其高切 150 s⁻¹、中切 60 s⁻¹、低切 10 s⁻¹下的全血黏度。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 21 软件进行统计处理, 各组计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异显著的标准; 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异显著的标准。

3 结果

3.1 清脑片对小鼠脑膜微循环的影响

小鼠颈总动脉结扎前脑血流量差异无统计学意义, 说明分组均匀。颈总动脉结扎后, 与空白组比较, 模型组脑膜微循环血流量减少($P < 0.01$), 说明造模型成功。与模型组比较, 高剂量清脑片组和脑络通组可显著改善结扎颈总动脉所致脑血流量的减少($P < 0.01$), 显著增加脑血流量($P < 0.01$); 中剂量清脑片组可明显改善结扎所致小鼠脑血流量的减少($P < 0.05$), 明显增加脑血流量($P < 0.05$); 低剂量清脑片组仅有改善结扎所致小鼠脑血流量减少的趋势, 有增加脑血流量的趋势, 但差异不具有统计学意义。结果见表 1。

表 1 清脑片对小鼠脑膜微循环的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of Qingnao tablet on mice piamatral microcirculation($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脑血流量/%		脑血流下降 幅度/%
		结扎前	结扎后	
空白组	—	281.87±9.29	256.03±13.74	9.15±4.24
模型组	—	284.53±13.73	80.52±18.73 ¹⁾	71.66±6.79 ¹⁾
脑络通组	0.75	283.88±22.51	142.33±14.79 ³⁾	49.41±8.26 ³⁾
清脑片				
高剂量组	2.24	281.80±13.86	157.69±22.95 ³⁾	42.86±9.46 ³⁾
中剂量组	1.125	279.98±17.37	109.52±12.87 ²⁾	60.81±4.65 ²⁾
低剂量组	0.5625	285.53±16.57	97.65±12.35	65.70±4.79

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the blank group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 清脑片对小鼠血瘀模型的影响

与空白组相比较, 模型组高、中、低切黏度均显著升高($P < 0.01$), 说明造模成功。与模型组相比, 高剂量清脑片组和脑络通组可显著降低高切和中切黏度($P < 0.01$), 中剂量清脑片组可明显减低高切和中切黏度($P < 0.05$); 高、中剂量清脑片组可明显降低低切黏度($P < 0.05$), 脑络通组可显著降低低切黏度($P < 0.01$); 低剂量清脑片组仅有降低高切、中切和低切黏度的趋势, 但差异不具有统计学意义。结果见表 2。

表 2 清脑片对小鼠血瘀模型的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of Qingnao tablet on mouse model of blood stasis syndrome($n=10, \bar{x} \pm s$)

分 组	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全血黏度/ $\text{mPa} \cdot \text{s}$		
		高切/ 150 s^{-1}	中切/ 60 s^{-1}	低切/ 10 s^{-1}
空白组	—	3.35±0.24	3.89±0.38	5.77±0.38
模型组	—	4.41±0.38 ¹⁾	5.10±0.38 ¹⁾	8.81±0.4 ¹⁾
脑络通组	0.75	3.93±0.31 ³⁾	4.63±0.34 ³⁾	8.11±0.37 ³⁾
清脑片				
大剂量组	2.24	3.95±0.32 ³⁾	4.66±0.26 ³⁾	8.37±0.38 ²⁾
中剂量组	1.12	4.08±0.32 ²⁾	4.77±0.29 ²⁾	8.46±0.32 ²⁾
小剂量组	0.56	4.30±0.41	4.99±0.38	8.78±0.32

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the blank group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

眩晕是指以头晕目眩为主要临床表现的一种疾病, 轻者闭目即止, 重者如乘舟车, 旋转不定, 不能站立或伴有恶心、呕吐, 甚至昏倒等症状。现代医学认为其与脑部微循环功能障碍、血液流变学异常、细胞内自由基损伤等诸多因素有关。

中医学认为, 眩晕的病位在脑, 与肝脾肾三脏有关, “瘀血”“痰浊”滞留机体, 痰浊妨碍血行可致瘀, 瘀碍气行, 阻塞脑络而致清阳之气不得舒展, 脑窍失荣而发眩晕。清脑片, 方中白芷, 辛、温, 具有解表散风、通窍止痛的作用, 为君药。当归, 辛、温, 归肝、心、脾经, 具有补血、活血、止痛、清利头目的作用; 川芎, 辛、温, 具有活血行气、祛风止痛的功效; 钩藤, 性味甘、微寒, 具有息风止痉、清热平肝之功效; 细辛, 性味辛、温, 具有祛风散寒、通窍止痛的功效; 四药合用为臣药。龙骨, 性味甘、涩、平, 归心、肝、肾经, 具有镇惊安神、平肝潜阳, 收敛固涩的作用, 为佐药。薄荷, 性味辛、凉, 具有疏散风热, 清利头目之功效, 为使药。以上七药合用, 具有活血、行气、通窍止痛, 清利头目之作用, 用于治疗头痛、头晕、脑震荡后遗症, 临床试验显示疗效较好^[10-12]。

参考相关文献^[13-14], 研究清脑片对小鼠脑膜微循环及血瘀模型的影响, 结果表明颈总动脉结扎后, 清脑片可使小鼠脑膜微循环血流量显著减少, 高剂量清脑片和脑络通均可显著改善双侧颈总动脉结扎所致的小鼠脑血流量减少, 中剂量清脑片可明显改善双侧颈总动脉结扎所致的小鼠脑

血流量减少,说明清脑片对小鼠脑膜微循环有良好的改善作用。高剂量清脑片组可显著降低高切和中切黏度,中剂量清脑片组可明显减低高切和中切黏度;高、中剂量清脑片组可明显降低低切黏度。提示清脑片组小鼠血瘀模型有好的改善作用。本研究为清脑片的临床应用提供了应用依据。

REFERENCES

- [1] WEI W. Methodology of Pharmacological Experiment(药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010.
- [2] CHEN Q. Methodology on Chinese Medicine Pharmacology (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.
- [3] LI Y K. Methodology on Traditional Chinese Medicine Pharmacology Experiment(中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006.
- [4] XIE G Q, SHANG W B, GAO Y L. Effect of Qingnao tablet on hemorheology of blood stasis model rats [J]. Acta Chin Med(中医学报), 2016, 31(11): 1738-1741.
- [5] XIE G Q, LI W J, HAO S J. Effect of Qingnao tablets on blood rheology of rats with acute blood stasis [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2017, 35(4): 971-974.
- [6] XIE G Q, HAO S J, SU F. Effect of Qingnao tablet on the balance of wheel running and rotating rod of mice [J]. Pract Pharmacy Clin Remed(实用药物与临床), 2016, 19(10): 1232-1234.
- [7] WANG F, XIE G Q, MA Z Z. Effect of Qingnao tablets on disturbance of microcirculation in auricles of mice induced by adrenaline [J]. Pharm J Chin PLA(解放军药学报), 2016, 32(5): 434-436.
- [8] LI D D, XIE G Q, GAO Y L. Preventive effect of Qingnao tablet on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. China Pharmacy(中国药房), 2017, 28(16): 2198-2201.
- [9] 苗明三, 程再兴, 白明. 小鼠血瘀合并脑缺血模型的建立[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(2): 73-75.
- [10] 曾祥龙, 钟仪端. 清脑片防治脑外伤后综合征疗效分析[J]. 中原医刊, 1984(5): 26-27.
- [11] 耿秀丽, 段光明, 郝少君. 自制清脑片与养血清脑颗粒治疗脑震荡后头痛的效果比[J]. 实用医药杂志, 2013, 30(3): 238-239.
- [12] 孙有树, 谢国旗, 徐鹏. 清脑片治疗脑损伤后综合征 168 例疗效观察[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2016, 19(15): 129-130.
- [13] ANG J W, TENG X M, ZHANG Z Q. Effect of *Gynura Segetum* Merr. on the counts of white blood cell, its classification and the content of ET, NO, TNF- α and IL-1 β in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(9): 1051-1055.
- [14] LIU X X, WANG Z W, LIU C M. Effects of Ronggu Dingtong Ointments on inflammatory cells and cytokines in rats with osteoarthritis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(7): 777-780.

收稿日期: 2017-09-13

(本文责编: 蔡珊珊)