

开心解郁汤对双侧颈总动脉结扎大鼠行为学及脑血流量的影响^{*}

□吴 巍^{**} 王彦云 黄世敬^{**} 郑 军

李多娇 潘菊华 张先慧 崔翰明 王玉磊

(中国中医科学院广安门医院中药研发中心 北京 100053)

摘 要:目的:通过建立脑缺血大鼠模型,观察开心解郁汤对双侧颈总动脉结扎大鼠行为学及脑血流量(CBF)的影响。方法:采用双侧颈总动脉永久结扎制备脑缺血动物模型;应用激光多普勒血流仪检测各组大鼠术后额叶、顶叶脑血流量;利用 Morris 水迷宫方法检测各组大鼠记忆功能。结果:与假手术对照组相比较,双侧颈总动脉永久结扎大鼠额叶、顶叶 CBF 明显降低,记忆功能显著下降。给予培元开郁中药 3 天后,与模型对照组比较,CBF 加大,记忆功能障碍有所改善,但尚未达到统计学意义。结论:本实验通过建立脑缺血大鼠模型,证实了双侧颈总动脉结扎的适用性,同时说明开心解郁汤治疗双侧颈总动脉永久结扎大鼠的脑缺血有一定疗效,但尚需进行深入观察。

关键词:脑白质损害 开心解郁汤 水迷宫 脑血流量

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.04.015

脑白质损害(White Matter Lesion, WHL)是血管性抑郁、血管性痴呆、淀粉样血管病变的主要脑部病理改变,由于人口老龄化和脑血管疾病发病率增加,脑 WHL 严重威胁着人类的健康。国际大型研究发现,65 岁以上老年人中 28% 有 WHL 的证据。Joost 等^[1]发现晚发抑郁(约 95% 为血管性抑郁)皮质下脑 WHL 的发生率高达 47%。脑 WHL 者易患抑郁和痴呆,是独立和明显的抑郁预报因子,与抑郁症状的发

生发展及治疗结局均密切相关,这对老年抑郁的防治具有重要意义^[2]。因此,在抑郁、痴呆的防治中,脑 WHL 已成为国外近年研究的热点。

脑 WHL 大多是慢性脑缺血作用的结果。根据脑 WHL 的临床特征和前期研究,通过建立脑 WHL 大鼠模型,研究开心解郁汤对双侧颈总动脉结扎大鼠行为学及脑血流量的影响。

一、材料与方法

1. 动物模型制备

收稿日期:2009-12-03

修回日期:2009-12-16

* 国家自然科学基金(30672696):益气开郁法对血管性抑郁症的干预与疗效机理研究,负责人:黄世敬;北京市自然科学基金(2093129):慢性缺血脑白质损害凋亡基因活化及信号转导与中药干预,负责人:黄世敬。

** 联系人:吴巍,住院医师,主要研究方向:中医心脑血管疾病,Tel:010-88001179, E-mail:ww223841@163.com;黄世敬,研究员,硕士生导师,主要研究方向:中医心脑血管疾病与基础,Tel:010-88001179, E-mail:gamsj@126.com。

选用中国医学科学院动物实验研究中心提供的健康雄性 SD 大鼠 50 只,清洁级,体重 210~220g。动物适应性饲养 1 周后,随机分为手术组和假手术对照组,手术组又分为模型对照组和中药治疗组。采用双侧颈总动脉永久结扎方法制备脑缺血模型,具体方法如下:大鼠术前禁食 12h。用水合氯醛($350\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉,保证手术期间有自主呼吸。仰卧固定,颈部去毛、强力碘消毒后沿颈正中切开,分离双侧颈总动脉,并套以“5-0”号线。分别结扎双侧颈总动脉的远近端,并从中间剪断,以确保阻断动脉血流。手术注意保温,待动物清醒后送至有通风和空调设备的动物房饲养。假手术对照组除不结扎不剪断双侧颈总动脉外,其余过程与实验组相同。

2. 中药供试品制备及应用

(1) 实验供试品的制备。

受试药由本院中药研发中心药学实验室提供,批号:090421,按开心解郁配方比例将市售药材烘干后粉碎,制成超微药粉。按 18g 微药粉(即 18g 生药)加 0.5% CMC-Na 至 100mL 的方法配制。给药量为 1.8g 生药/kg·d。

(2) 实验供试品的应用。

术后次日,中药治疗组大鼠给予开心解郁方 1mL/100g·d 灌胃,连续 3 天;模型对照组和假手术对照组的大鼠予饮用水 1mL/100g·d 灌胃,连续 3 天。

3. 行为学检测

本研究采用 Morris 水迷宫法进行大鼠记忆功能的测定。Morris 水迷宫(Morris Water Maze, MWM)由成都泰盟科技有限公司生产,为一不锈钢的圆形水池,直径 130cm,高 50cm。池壁标明 4 个入水点,由此将水池等分为 4 个象限,任选其中 1 个象限,正中放置 1 个直径 10cm、高 23cm 的平台。实验室温度保持在 24~25℃,水面高过安全平台 1cm,水温控制在(26 ± 1)℃。水池四周存在丰富的空间参考线索(门、窗、灯、实验者等),且保持不变以供大鼠定位平台。迷宫上方案装摄像机,并和录像机以及显示器连接,自动录入大鼠游泳轨迹进行分析。测试程序为定位航行试验(Place navigation):历时 6d,每天上午 2 次,将大鼠面向池壁分别从 2 个入水点放入水中,记录其在 90s 内寻找到并爬上平台的时间即逃避潜伏期(Escape latency)。如果大鼠在 90s 未找到平台,则由实验者用手牵引其至平台上,让大鼠停留 10s,再放回笼中,潜伏期记为最高分 90s。手术以后,在术后 3 天重新进

行水迷宫实验,大鼠每次在 90s 内寻找到并爬上平台的时间为大鼠的记忆成绩,当日上午 2 次,计算平均成绩。

4. CBF 测定

手术后第 3 天,大鼠麻醉后固定于脑立体定位仪(成都泰盟科技有限公司生产),按《大鼠脑立体定位图谱》,剪开颅顶皮肤,充分暴露颅骨。将光纤探头 PROBE 418-1 用支架固定,额叶 CBF 测定选择前囟前 3mm、中线旁 2mm 点;顶叶选择前囟后 4mm、中线旁 2mm 点。用生物胶粘于测定点。用瑞典 Perimed AB 公司生产的 PeriFlux System 5000 型激光多普勒血流仪(LDP),激光二极管光源为 2mW 氯-氩激光,波长为 632.8nm。连续测定每只大鼠额叶、顶叶的 CBF 变化 6min,记录 LDP 输出信号,经 PERISOFT 程序处理,计算平均值。

5. 统计学分析

本实验各组资料结果均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,实验组和对照组间比较采用 t 检验,实验组组间两两比较采用单因素方差分析进行统计学处理。

二、结 果

1. 不同组别大鼠双侧颈总动脉永久结扎后记忆能力测定

双侧颈总动脉完全阻断后首先出现短暂惊厥,呼吸减慢;术后早期观察动物运动减少,后肢呈“八字”,走路共济失调,或爬行和转圈。Morris 水迷宫结果可以看出,经过训练已经学会游迷宫的各组大鼠,双侧颈总动脉永久结扎 3 天后,记忆功能下降,游泳时间延长。经统计学比较,模型对照组手术前后差异显著($P<0.05$);中药治疗组和假手术对照组手术前后无显著性差异($P>0.05$);3 个组间手术前均无显著性差异($P>0.05$);3 个组间手术后数据比较:模型对照组手术后与中药治疗组手术后无显著性差异($P>0.05$),模型对照组手术后与假手术对照组手术后差

表 1 大鼠水迷宫实验成绩

组别	手术前	手术后 3 天
模型对照组	17.25±12.15	48.91±31.89
中药治疗组	19.43±11.89	37.71±28.47
假手术对照组	19.56±11.32	23.63±10.02*

注: * 术后与模型对照组术后对比 $P<0.05$ 。

异显著($P<0.05$), 中药治疗组手术后与假手术对照组手术后无显著性差异($P>0.05$)。结果见表 1。

2. 不同组别大鼠双侧颈总动脉永久结扎后 CBF 的测定

大鼠双侧颈总动脉永久结扎后 3 天, 3 个组别额叶皮质的 CBF 数据比较: 模型对照组与中药治疗组之间无显著性差异($P>0.05$); 模型对照组与假手术对照组之间差异显著($P<0.05$); 中药治疗组与假手术对照组之间差异显著($P<0.05$)。3 个组别顶叶皮质的 CBF 数据比较: 模型对照组与中药治疗组之间无显著性差异($P>0.05$); 模型对照组与假手术对照组之间差异显著($P<0.05$); 中药治疗组与假手术对照组之间差异显著($P<0.05$)。结果见表 2

三、讨 论

根据临床特征, 脑白质损害属于中医郁病、呆病、虚劳等病范畴。本病多因肥甘厚味、或情志内伤, 元气亏耗, 积久成疾, 年迈发病。患者多有精神不振、情绪低落、意志消沉、痴呆健忘、腰膝酸软等元气亏虚、脏腑机能低下症状; 另一方面气血津液运行不利, 留而不行发生郁滞, 出现头痛头晕、胸闷胁胀、肢体瘫痪麻木等症。本病以元气亏虚为本, 气血郁滞为标, “亏虚”与“郁滞”互为因果相互促进, 这种虚实关系可以概括为“虚气留滞”, 即所谓“需其气而留其滞”^[3]。结合其

病机特点, 运用“培元开郁”基本治法, 组成开心解郁汤(人参、远志、菖蒲等), 在血管性抑郁症、血管性痴呆等病的临床治疗中取得了肯定疗效。

通过应用 Morris 水迷宫来对双侧颈动脉永久结扎大鼠的记忆行为学^[4-5]进行检测, 间接反应出手术前后大鼠的脑缺血情况, 以及手术、药物等因素对其影响。研究表明, 双侧颈动脉永久结扎造成大鼠的脑缺血现象十分明显, 但药物对脑缺血的改善不是很明显, 这可能与给药时间短有直接关系, 有待 7 天、21 天给药实验证实。

通过 CBF 的测定, 直接反应出手术前后大鼠的脑缺血情况, 以及手术、药物的因素对其影响。研究表明, 中药对脑缺血大鼠的脑血流量有所改善, 但未达到统计学的显著改善。

通过本实验研究, 可以看出开心解郁汤对双侧颈总动脉永久结扎大鼠的脑缺血有一定治疗作用, 但尚未达到统计学意义, 这可能与给药时间过短有直接关系, 因而该组方的治疗作用还有待于在 7 天、21 天的治疗周期中进一步证明。

参考文献

- 1 Janssen O, Hulshoff Pol, Frank-Erik de Leeuw, et al. Hippocampal volume and subcortical white matter lesions in late life depression: comparison of early and late onset depression. *Neurol*, 2007, 78:638-640.
- 2 Teodorczuk A, O'Brien J.T., Firbank M.J., et al. White matter changes and late-life depressive symptoms: Longitudinal study. *Psychiatry*, 2007, 191:212-217.
- 3 黄世敬, 吴萍. “虚气留滞”与血管性抑郁症. *中国中医基础医学杂志*, 2006, 12(12):901-902.
- 4 孙莉, 金涛, 丁艳华, 等. 慢性前脑缺血致痴呆大鼠脑血流量及行为学对比研究. *中国老年学杂志*, 2009, 29(8):920-921.
- 5 李燕敏, 李馨, 姜玉鑫. 补气活血方治疗老年性痴呆大鼠的行为学实验研究. *黑龙江中医药*, 2009, 1:24-25.

表 2 大鼠双侧颈动脉永久结扎后额叶、顶叶 CBF 测定结果

组别	额叶	顶叶
模型对照组	17.32±8.14	56.50±38.97
中药治疗组	21.64±6.50	62.10±28.88
假手术对照组	56.85±46.48*	126.99±64.51*

注: *假手术对照组分别与模型对照组、中药治疗组对比 $P<0.05$ 。

Therapeutic Effect of Kaixin Jieyu Decoction on the Behavior and Cerebral Blood Flow of Bilateral Carotid Artery-Ligated in Rats

Wu Wei, Wang Yanyun, Huang Shijing, Zheng Jun, Li Duoqiao,
Pan Juhua, Zhang Xianhui, Cun Hanming, Wang Yulei

(Traditional Chinese Drug R&D Center, Guang'anmen Hospital, Academy of Chinese Medical Sciences,
Beijing 100053, China)

Abstract: This work aimed to investigate the effect of Kaixin Jieyu Decoction on the behavior and cerebral blood flows of permanent bilateral carotid artery-ligated rats. The bilateral carotid artery-ligated rats were used as the

animal models. By laser Doppler flowmetry detection, the rat frontal and parietal cerebral blood flow (CBF) were determined. The rat memory function was detected by the Morris water maze. Three days after administration of Kaixin Jieyu, the rat frontal and parietal CBF, as well as memory, of the experimental group were improved, but with no statistic significance. The results show that Kaixin Jieyu Decoction has some therapeutic effect on rat permanent cerebral ischemia caused by bilateral carotid artery ligation, but further investigation is needed.

Keywords: White matter lesion, Kai Xin Jie Yu Decoction, The Morris water maze, Cerebral blood flow

(责任编辑:李沙沙,责任译审:张立崑)