

实验性偏头痛动物模型的应用 评价与中医药治疗探讨*

宋慧荣¹,任小巧¹,罗亚敏¹,李 冉¹,高明慧¹,顿 珠²,陶晓华^{1,2*}

(1. 北京中医药大学 北京 100029; 2. 西藏藏医学院 拉萨 850000)

摘 要:本文主要目的是评价中医药研究中实验性偏头痛动物模型选择的合理性,提出合理选择动物模型的建议。采用文献分析方法,结合中医药对偏头痛的认识(即不同的偏头痛中医证型采用相应的动物模型和中医药治疗手段),对当前偏头痛动物模型的应用和选择进行分析、评价,探讨模型选择的合理性。目前中医药治疗偏头痛实验研究中动物模型的选择存在一些实际问题,建议在实验中选择模型时首先根据要解决的临床问题、研究内容或是研究药物的作用特点来选择恰当的动物模型;在中医药理论的指导下,根据该模型的形成机理和自身特点以及药物的作用特点来选择恰当的药物。

关键词:偏头痛 动物实验 模型应用 中医药治疗

doi: 10.11842/wst.2018.01.012 中图分类号: R91 文献标识码: A

偏头痛是一种常见且复杂的多因素、多基因疾病^[1],属于中医学“头风”范畴,其表现为一侧或双侧头部反复发作的搏动性疼痛,可伴有恶心、呕吐、视物异常等先兆性神经症状和高敏反应,其发生与遗传、内分泌、饮食及精神因素等有一定关系。偏头痛是一种疼痛综合征,是人的一种主观感受,其发病机理一直是学术界研究难点之一,如何更好的应用动物模型来评价医疗技术的疗效,是学术界研究探讨的重点,本文主要针对中医药治疗研究偏头痛时动物模型的选择进行探讨,以期对中医药治疗偏头痛研究有所启示。

1 中药治疗偏头痛动物模型的研究

实验性偏头痛动物模型的研究是偏头痛机理探讨和药物作用机制探讨的重要手段,也是连接实验研究与临床应用的桥梁。中药治疗偏头痛的有效性和安全性已经得到了广泛认同,但由于中药研究的特殊性,要

求实验动物模型不但在发病机制方面与疾病本身有相似性,而且要有证候相似性,模型选择正确与否,直接影响研究的成败^[2]。我国目前建立的偏头痛模型^[1-3]有:基于血管学说的硝酸甘油模型和利血平化低5-HT(5-羟色胺)模型,基于神经血管源性学说的三叉神经模型、硬脑膜模型和上矢窦区硬脑膜模型,基于皮层扩散性抑制学说的皮层扩散性抑制(Cortical Spreading Depression, CSD)模型,基于基因因素的基因工程模型以及原发性偏头痛模型等。这些偏头痛模型在偏头痛机制及药物研究方法的应用起到了积极的作用。现将中药治疗部分偏头痛模型的研究整理如下:

1.1 平抑肝阳、祛风止痛类药物的研究

该型偏头痛多由风阳上扰或肝阳上亢,病人常见症状为两侧头部胀痛、急躁易怒、面红目赤等,这与“血管扩张”^[4]为机理的硝酸甘油模型动物症状“双耳发红、前肢频繁搔头、爬笼次数增多、烦躁不安”^[5]相似。该模型多用于研究平抑肝阳、祛风止痛类药物,任永欣

收稿日期:2017-10-14

修回日期:2018-01-20

* 西藏自治区科技厅重点项目(2015XE0IG68):藏药如意珍宝丸干预偏头痛的药效学研究,负责人:陶晓华。

** 通讯作者:陶晓华,教授,硕士研究生导师,主要研究方向:《伤寒论》病证辨治规律研究。

等人^[4]用硝酸甘油模型进行偏头痛大鼠实验研究,显示头风饮(川芎、天麻)能显著抑制偏头痛模型增强的c-fos、c-jun表达,提示头风饮具有治疗实验性偏头痛动物模型的作用。李智等^[5]研究经天麻钩藤饮治疗后偏头痛肝阳上亢证大鼠下丘脑蛋白表达上具有差异,而所鉴定的这5个蛋白质可能与天麻钩藤饮的治疗机制有关。

1.2 温经散寒、活血化瘀类药物的研究

该型偏头痛多由寒凝血瘀所致,病人常见症状为:头痛如刺、固定不移、畏寒肢冷、精神不振等,与“血管扩张后收缩痉挛”^[2]为机理的利血平化低5-HT模型症状“闭目、倦伏少动、腹泻、体温降低、进食量少、弓背、全身颤抖、强迫性偏头、翻滚、抽搐”^[6]相似。该类模型多用于研究温经散寒、活血化瘀类药物,潘旭鸣等^[7]研究发现少腹逐瘀汤、补阳还五汤及血府逐瘀汤3种活血化瘀方均能显著提高偏头痛小鼠痛阈值,升高肛温,其中少腹逐瘀汤能升高脑组织5-HT的含量,证明此3种活血化瘀方对利血平所致偏头痛模型小鼠均有一定的治疗作用,其中少腹逐瘀汤的作用机制可能与调节模型小鼠脑内5-HT等单胺类神经递质有关,初步反证利血平所致偏头痛小鼠模型中医证型与寒凝血瘀证较为接近。吴燕川等^[8]研究发现温经散寒,化湿降逆的吴茱萸汤能升高虚寒型模型鼠脑组织内5-HT、DA(多巴胺),血清内NO(一氧化氮)含量,降低脑组织内NO含量,能有效治疗偏头痛。

1.3 逐瘀通络、熄风化痰类药物的研究

该型偏头痛多由痰瘀络阻所致,病人常见症状为:头痛攻冲作痛或刺痛、目眩畏光、恶心呕吐、偏身麻木,或急躁易怒,反复发作,与“皮层电活动异常、脑血流量改变”为机理的CSD模型“偏身麻木、闪光幻觉、黑朦等先兆症状和亢奋性偏头痛症状”,以及“刺激神经血管系统释放炎症介质”为机理的神经血管源性模型先兆性症状和头痛症状“恶心、呕吐、畏光和头部甩动、前肢频繁挠头”^[11]相类似。该模型多用于研究逐瘀通络、熄风化痰类药物。如杨洪军等^[9]用皮层扩展性抑制模型研究发现5-HT可以明显延长CSD的持续时间,具有祛风通络止痛作用的大川芎丸可以降低正常状态CSD的幅度和出现个数,缩短高5-HT状态下的CSD持续时间,证明5-HT对CSD具有明显的增强作用,大川芎丸可以抑制CSD,可能是其治疗偏头痛的作用机制之一。刘婷^[10]采用电刺激三叉神经模型研究发现具有熄风涤痰、逐瘀止痛的头痛宁胶囊可明显抑制急性偏

头痛大鼠颈静脉血CGRP的含量、减少脑膜血流量,从而有效地治疗偏头痛。

1.4 清肝泻火、解郁安神类药物的研究

原发性头痛模型鼠和偏头痛患者有以下相似性^[1]:阵发性的三叉神经痛阈值的改变;痛阈值降低的体征可以遗传;对降钙素基因相关肽CGRP等头痛诱发剂高敏;对声音敏感;能被临床使用的发作期药物和预防性药物缓解。这些特征症状与中医肝郁化火型偏头痛症状(头痛剧烈、急躁烦乱或精神抑郁、睡眠不安)相类似。肝为“将军之官”,主疏泄条达,主人之情志,主升主动,相火寄于肝脏之中,不良情绪刺激容易引起肝郁化火,即肝的疏泄功能失常,相火不得散布流通于全身,郁于经脉之间,气火沿肝经逆冲,升发太过,而扰动清窍而病发。目前在中医药研究中的此模型应用很少,从临床研究^[11]发现,使用丹栀逍遥散化裁方治疗后患者心烦、失眠、喜太息等精神症状的缓解明显,该方能够有效的改善不良心理状态,缓解精神压力等疏肝理气、调节情志以及促进患者睡眠质量提高的宁心安神作用。

2 中药治疗偏头痛实验模型的评价

上述所论偏头痛模型的形成机理各不相同,与中医偏头痛的不同证型的病机尚不能完全对应,因此,基于中医药理论正确选择合适的偏头痛模型是中医药治疗偏头痛有效性、安全性评价的基本要求。

2.1 硝酸甘油模型在中医药研究中的应用评价

文献显示,硝酸甘油模型是研究偏头痛的首选模型,最大优点是造模因素单一,只需注射定量硝酸甘油即可,简单易操作、活体观察,因此,应用广泛;但细究其用于中医药的研究却存在理法方药未明而差强人意。如在行为学指标的采集方面,付先军^[12]等人建立了一套行为学评价体系,但耗时长、计数方法不明,人为计数观察偏倚大;有些研究存在药物作用机制与模型选择不符的现象,如有学者^[13]用该模型研究正天丸对偏头痛的治疗作用,正天丸中的当归、桃仁、红花、细辛、麻黄、附片、鸡血藤等药物活血祛瘀、温阳止痛,与硝酸甘油模型扩张血管的机理有所差异。其引用文章^[14]的表述为“正天丸能降低血管阻力、增加脑血流量、改善微循环”,但运用的模型为多巴胺和硝酸甘油联合造模,血管呈现先收缩后舒张,模拟血管收缩异常的偏头痛症状,值得深究。

2.2 利血平化低5-HT模型在中医药研究中的应用评价

利血平化低5-HT模型模拟了血管扩张和收缩的全过程,但在实施过程中只着重了血管收缩:如上述“吴茱萸胶囊”和“少腹逐瘀汤”的偏头痛实验研究主要针对该模型后期血管收缩,模糊了药物在血管扩张时的功效;再者,该模型造模方法周期长,操作技术要求高、繁琐,既要用单胺类递质耗竭剂利血平诱发偏头痛,又局部注射凝血块诱发脑血管痉挛^[2],动物死亡率较高,不适宜在实验中大批量复制。

2.3 CSD模型在中医药研究中的应用评价

CSD模型会出现一系列的偏头痛先兆症状,杨洪军^[9]等在老鼠麻醉状态下用钴颅注射氯化钾直接作用于皮层造成血流改变,模拟头痛发作时的血液流变,技术要求较高,钴颅过程中易可能引起炎症,造成误差,且大鼠始终处于麻醉状态,仅适用于研究实验指标而无法观察偏头痛的先兆期和发作期症状特点。

2.4 神经血管源性模型在中医药研究中的应用评价

神经血管源性模型中三叉神经模型最为常见,通过刺激三叉神经释放降钙素基因相关肽(CGRP)、P物质等神经肽引起血管扩张和通透性增加,有效模拟了偏头痛的发作过程,刘婷^[10]运用电刺激三叉神经节,出现刺激侧大鼠咀嚼肌收缩,口鼻分泌物增多前肢频繁搔头,烦躁不安等症状为造模成功,结果侧脑膜血管扩张,脑膜血流量增加,并实时监测血流变化。但研究也有一定片面性,实验过程中不仅三叉神经可产生疼痛,中枢疼痛调控紊乱也可产生疼痛;且电刺激法对技术操作和仪器设备要求较高,难以在短时间内大量复制。

2.5 基因工程模型在中医药研究中的应用评价

现已有通过转基因技术建立FHM1和FHM2两种基因剔除小鼠的模型^[1],研究发现血液中神经递质的增流与可能神经兴奋相关,该模型从基因角度研究偏头痛机理,发展前景广阔,但技术要求高,研究正在进展中。

2.6 原发性偏头痛模型在中医药研究中的应用评价

与上述五种人为造成的继发性偏头痛动物模型相比,该模型具有自发性特点,无需人工干预即可还原偏头痛发作性的痛、视、听、嗅及面部触觉敏感性增高的现象。此模型很可能帮助研究者回答偏头痛是如何自发产生的,甚至提出新的假说,找到对声、光等敏感的易患基因^[1],是最有前景的动物模型。但这种大鼠模型如何获取或如何复制也将是研究者需要解决的问题。

3 讨论与结论

3.1 根据干预手段的主要作用机制选择偏头痛动物模型

影响动物模型选择的因素有研究内容、研究药物的特点和自身的实验条件等,不同的偏头痛模型有不同的造模机制,中医药治疗手段不同,其作用机制亦明显不同,开展中医药干预偏头痛作用机制研究时,应该充分考虑药物的作用机制与模型的造模机制是否相符,避免研究的盲目性。

硝酸甘油模型的机理为脑血管过度扩张,与肝阳上亢类偏头痛类似,故此模型适用于研究某种收缩血管或平抑肝阳的药物,又因为模型动物处于清醒状态有利于行为学观察方便,故着重观察动物偏头痛行为学变化时可选用,实验动物可选用易于观察行为学的大鼠;利血平化低5-HT模型的机理为血管扩张后又产生收缩和痉挛,与寒凝血瘀类偏头痛类似,故此模型适用于研究某种扩张血管或温阳散寒的药物,因实验中动物精神萎靡,不适合观察行为学,但可用于研究PGE2(前列腺素)、5-HT等外周血炎症因子,其动物选用大鼠、小鼠皆可;CSD模型的机理为人为直接刺激皮层,造成神经元紊乱、皮层电活动异常,神经血管性模型的机理为人为直接刺激神经血管系统释放神经肽引起血管扩张和通透性增加,此两类模型与痰瘀阻络类偏头痛类似,故适用于研究某种逐瘀通络、熄风化痰的药物,因实验过程中动物处于麻醉或抑制状态,适合于实时观测动物血流变化或是测定脑组织中CGRP、P物质以及各类神经肽或受体的含量,从免疫组织化学技术或基因水平方面研究偏头痛的机理,实施这两类实验模型要具备大型实验设备和熟练的实验人员,其动物可选用易于操作的大鼠;基因工程模型和原发性偏头痛模型偏向于基因和遗传性,对偏头痛的发病机理还原性高,但对技术要求高,高端深度研究者可量力选择。

3.2 根据偏头痛动物模型特点选择治疗药物

临床治疗偏头痛时患者往往希望快速止痛,因此对于治疗偏头痛药物(主要是西药)的起效时间要求较高。中医药治疗偏头痛效果的显现往往需要较长的周期,因此,应用偏头痛模型研究中中医药抗偏头痛的疗效时,需要考虑药物的药物作用特点和时效性。

硝酸甘油模型着重于动物在一定的时间段内的亢奋性行为变化,要从平抑肝阳、祛风止痛类药物中选用短时效药物,如川芎之属,其性辛温又秉升散之性,善上行头目而疏风止痛;药理方面研究表明其挥发油具

有镇痛镇静、改善血管功能、保护神经细胞、解热等作用^[15],而且经口给药方式可使川芎挥发油快速分布于脑部^[16],故可快速改善头部疼痛症状,不必长期用药;利血平化低5-HT模型着重于偏头痛发作抑制性行为表现,症状持续时间长,选用温经散寒、活血化瘀类药物,如吴茱萸、延胡索之属,吴茱萸辛温入脾经而散寒止痛,现代药理研究表明吴茱萸次碱具有舒张血管、抗炎镇痛等作用^[17];延胡索辛散,行上下四经活血散结止痛,《本草纲目》言之“能行血中气滞,气中血滞,故专治一身上下诸痛”,现代药理研究认为:延胡索生物碱具有较强的镇痛、扩张冠状动脉,增加冠脉血流量等药理作用^[18],长期服用这类药物均可改善脑部血流量,缓解头痛症状;神经血管源性模型和CSD模型都属于直接刺激脑膜神经或皮层,血流变化或头痛症状持续存在,要从逐瘀通络、熄风化痰类药物中选用起效时间快、作用时间长的药物,如钩藤、天麻之属,两者入肝经,可息

风止痉缓解急性头痛,现代药理研究表明钩藤能阻断钙离子通道,保护神经细胞^[19],且能降低偏头痛状态下产生的NO、前列腺素E、白细胞介素1 β 细等物质^[20],天麻素可以改善小脑前下动脉、小脑后下动脉、椎基底动脉、迷路动脉以及内耳供血不足,保护神经细胞^[21],两类药物均可改善血管内环境,有效缓解偏头痛症状,又可持续修复病灶;基因工程偏头痛模型和原发性头痛模型表现与临床最接近,不可急于求成,需用补益肝肾、解郁养血安神类药物,如何首乌、白芍、熟地之属,这类药物偏于长期服用以补益肝肾,改善自身头痛敏感基因,改善体内环境,逐渐恢复平和体质,达到治疗效果。

通过对各类偏头痛模型应用的评价以及对模型和药物治疗的选择性建议,为本课题藏药如意珍宝丸的药效学研究做好前期工作,恰当的选择偏头痛动物模型进一步研究如意珍宝丸对偏头痛的治疗作用。

参考文献

- 1 吴小芳,张梅奎.偏头痛动物实验模型的研究现状.医学综述,2013,19(18):3288-3291.
- 2 王玲玲,范吉平.实验性偏头痛动物模型的证候特征及应用探讨.中医研究,2006,19(12):6-7.
- 3 周莉,蔡秀英,倪建强.偏头痛实验动物模型的行为学评价.中国疼痛医学杂志,2016,22(4):293-297.
- 4 任永欣,彭成,姚干.头风饮对实验性偏头痛动物模型c-fos、c-jun基因表达的影响.成都中医药大学学报,2000,23(3):34-36.
- 5 李智,李炜,陈泽奇,等.天麻钩藤饮对偏头痛肝阳上亢证大鼠下丘脑蛋白质的影响.中国临床康复,2006,10(47):45-48.
- 6 王玲玲,范吉平.偏头痛动物模型在中药研究中的应用.中华中医药学刊,2007,25(4):760-762.
- 7 潘旭鸣,黄益麒,鲍晓东.3种活血化瘀方对利血平致偏头痛模型小鼠的影响.甘肃中医药大学学报,2016,33(4):11-14.
- 8 吴燕川,潘学强,龚慕辛,等.吴茱萸汤治疗虚寒型偏头痛小鼠模型的研究.第十三次临床药理大会论文汇编,101.
- 9 杨洪军,边宝林,王永炎.5-羟色胺对皮层扩展性抑制的影响及大川芎丸的干预作用.中国中医基础医学杂志,2005,11(1):22-24.
- 10 刘婷.头痛宁对电刺激三叉神经节大鼠脑膜血流与CGRP的影响.南京:南京医科大学硕士学位论文,2010.
- 11 欧阳迪.丹栀逍遥散化裁方治疗慢性紧张型头痛(肝郁化火证)的临床疗效研究.南宁:广西中医药大学硕士学位论文,2016.
- 12 付先军,宋旭霞,周永红,等.硝酸甘油型实验性偏头痛大鼠模型行为学评价.中华神经医学杂志,2005,4(5):449-451.
- 13 白方会,李慧,姜婷婷,等.正天丸对偏头痛模型大鼠三叉神经二级神经元P2X₂受体表达的影响研究.中国全科医学,2016,19(15):1828-1832.
- 14 李涛,范吉平,曹克刚,等.正天丸对多巴胺、硝酸甘油诱导的偏头痛大鼠模型脑干神经递质影响.中华中医药杂志,2014,29(2):444-446.
- 15 杜笙畅,谢晓芳,熊亮,等.川芎挥发油的化学成分与药理活性研究进展.中国中药杂志,2016,41(23):4328-4333.
- 16 Guo J, Duan J A, Shang E X, et al. Determination of ligustilide in rat brain after nasal administration of essential oil from Rhizoma Chuanxiong. *Fitoterapia*, 2009, 80(3): 168-172.
- 17 段徐,凌峰.吴茱萸次碱的药理作用.中华中医药学刊,2007,25(9):1857-1859.
- 18 鲁春梅,张春森,姜立勇.延胡索化学成分及药理作用研究进展.中国现代药物应用,2011,5(15):126-127.
- 19 Zhou J Y, Zhou S W. Isorhynchophylline: a plant alkaloid with therapeutic potential for cardiovascular and central nervous system diseases. *Fitoterapia*, 2012, 83(4): 617-626.
- 20 Song Y, Qu R, Zhu S, et al. Rhynchophylline attenuates LPS-induced pro-inflammatory responses through down-regulation of MAPK/NF- κ B signaling pathways in primary microglia. *Phytother Res*, 2012, 26(10): 1528-1533.

Application and Evaluation of Experimental Migraine Animal Model and Treatment of Traditional Chinese Medicine

Song Huirong¹, Ren Xiaoqiao¹, Luo Yamin¹, Li Ran¹, Gao Minghui¹, Dun Zhu², Tao Xiaohua^{1,2}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Tibet College of Medicine, Lhasa 850000, China)

Abstract: This study was aimed to evaluate the rationality of animal model selection of experimental migraine in traditional Chinese medicine (TCM) research, and to propose the reasonable choice of animal model. This study used the method of literature analysis to evaluate the application of animal model and to discuss how to choose it rationally, in combination with TCM understanding on migraine (that is, different TCM syndrome types of migraine model and TCM treatment methods). It was concluded that there were some suggestions for choice of animal model in the experimental study of migraine, according to clinical problems, research contents or drug characteristics to choose the appropriate animal model as well as the appropriate drug treatment based on the formation mechanism and characteristics of the model and drug characteristics.

Keywords: Migraine, animal experiment, model application, traditional Chinese medicine treatment

(责任编辑:郭嫦娥,责任译审:王 晶)