

• 论著 •

健脑益智胶囊对创伤性颅脑损伤大鼠血浆降钙素基因相关肽含量的影响

赵晓平, 范小璇, 侯文, 张毅, 周振国, 柏鲁宁, 方永军

(陕西中医学院附属医院神经外科, 中西医结合神经外科研究室, 陕西 咸阳 712000)

【摘要】 目的 研究健脑益智胶囊对创伤性颅脑损伤(TBI)大鼠血浆降钙素基因相关肽(CGRP)含量的影响。方法 将160只SD大鼠按随机数字表法均分成A组(假手术组)、B组(模型组)、C组(吡拉西坦组)、D组(健脑益智胶囊组)。采用自由落体方法复制大鼠TBI模型,A组大鼠仅切开头部皮肤后缝合,C组制模后给予吡拉西坦灌胃,D组给予健脑益智胶囊灌胃。伤后3、5、7、10 d用放射免疫试验检测大鼠血浆CGRP含量。结果 随着伤后时间的延长,B组血浆CGRP含量(ng/L)逐渐下降(3 d: 113.16±1.70,5 d: 83.49±1.53,7 d: 73.16±1.48,10 d: 67.26±1.62);C组先降后升(3 d: 81.23±1.64,5 d: 68.23±1.88,7 d: 88.23±1.54,10 d: 83.13±1.23);D组则逐渐升高(3 d: 82.51±1.73,5 d: 88.51±1.68,7 d: 97.56±1.32,10 d: 98.42±1.08);治疗3、7、10 d时,C组、D组CGRP与B组比较差异有统计学意义(均 $P<0.05$),10 d D组明显高于C组($P<0.05$)。结论 健脑益智胶囊在伤后早期能抑制TBI大鼠血浆CGRP含量的快速增高,后期则能促进血浆CGRP含量的升高。

【关键词】 健脑益智胶囊; 颅脑损伤, 创伤性; 降钙素基因相关肽

中图分类号: R285.6; R651.15 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2012.05.010

Effect of Jiannao Yizhi capsules on plasma levels of calcitonin gene-related peptide in rats with traumatic brain injury ZHAO Xiao-ping, FAN Xiao-xuan, HOU Wen, ZHANG Yi, ZHOU Zhen-guo, BAI Lu-ning, FANG Yong-jun. Department of Neurosurgery, the Affiliated Hospital and Combination of Traditional Chinese Medicine with Western Medicine Neurosurgical Lab, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xiayang 712000, Shaanxi, China

Corresponding author: FAN Xiao-xuan, Email: fxx19791201@163.com

【Abstract】 Objective To study the effect of Jiannao Yizhi capsules on plasma levels of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in rats with traumatic brain injury (TBI). **Methods** The Sprague-Dawley (SD) rats were divided randomly into A group (sham operation group), B group (model group), C group (piracetam tablets group) and D group (Jiannao Yizhi capsules group) evenly. The rat TBI model was made by free body fall to impact the head, the rats in A group were prepared only by incision of head skin and then suturing it, after modeling, the rats of C group were gavaged with piracetam tablets, and the rats of D group were gavaged with JianNao YiZhi capsules. The levels of plasma CGRP in rats were detected by radioimmunoassay on the 3rd, 5th, 7th and 10th day after treatment. **Results** With the extension of administration time, the level of plasma CGRP (ng/L) of B group was gradually declined (3rd day: 113.16±1.70, 5th day: 83.49±1.53, 7th day: 73.16±1.48, 10th day: 67.26±1.62); the level of plasma CGRP of C group was lowered at beginning and subsequently risen (3rd day: 81.23±1.64, 5th day: 68.23±1.88, 7th day: 88.23±1.54, 10th day: 83.13±1.23); the plasma CGRP of D group was gradually risen (3rd day: 82.51±1.73, 5th day: 88.51±1.68, 7th day: 97.56±1.32, 10th day: 98.42±1.08); compared to B group, the plasma levels of CGRP in C and D groups had significant differences from the levels in B group on the 3rd, 7th and 10th day after injury (all $P<0.05$); the plasma CGRP of D group was significantly higher than that of C group on the 10th day ($P<0.05$). **Conclusion** Jiannao Yizhi capsules can inhibit the rapid increase of plasma CGRP level in rats with TBI at early stage, and can encourage its increase in later period.

【Key words】 Jiannao Yizhi capsule; Traumatic brain injury; Calcitonin gene-related peptide

创伤性颅脑损伤(TBI)无论是平时还是战时,都是最常见的损伤,已成为发达国家青少年伤病致死的首位原因。随着交通的迅速发展,我国TBI的发生率、致残率和病死率也逐年增加。流行病学调查资料显示,当今我国TBI的发病率已超过100/10万人口,其中重型颅脑损伤(STBI)占18%~20%。TBI的基础

和临床防治应用研究取得了很大的进步,新的理论不断产生和发展,但STBI的病死率和致残率仍居高不下,总病死率一直保持在30%~50%^[1]。降低TBI的病死率和致残率成为人们追求的目标。本课题组在临床实践中总结了经验方“健脑益智胶囊”,通过临床观察,该方对TBI的治疗具有明显的效果,为了揭示其作用机制,设计本项研究,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物分组:选择SPF级健康SD大鼠160只,雌

基金项目:陕西省中医药管理局自然科学基金项目(2009jc21);陕西省教育厅自然科学基金专项经费项目(2010JK481)

通信作者:范小璇,Email:fxx19791201@163.com

作者简介:赵晓平(1963-),男(汉族),陕西省人,主任医师。

雄各半,体重(280±20)g,由第四军医大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK-(军)2007-007,适应性喂养 1 周后进行实验。依次编号后按照随机数字表法分成 A 组(假手术组)、B 组(模型组)、C 组(吡拉西坦治疗组)、D 组(健脑益智胶囊治疗组),每组再按照标本采集时间随机分为 4 个亚组(即 A1、A2、A3、A4; B1、B2、B3、B4; C1、C2、C3、C4; D1、D2、D3、D4),每组 10 只。

1.2 主要仪器和试剂: FJ-2003PS 型 γ 放射免疫计数器(西安核仪器厂)、大鼠立体定位仪(陕西中医学院基础课部实验中心)、自由落体打击架(自制)、牙科钻(SKH4C,上海岭之崎精密工具技术有限公司)、-20℃冰箱(陕西中医学院基础课部实验中心)、降钙素基因相关肽(CGRP)放射免疫试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 制模方法:参照动物实验标准,用 10% 水合氯醛(3.8 ml/kg)腹腔注射麻醉大鼠,沿头部正中中线切开头皮并剥离骨膜,切口长 2 cm,暴露右顶骨,用牙科钻于冠状缝后 1.5 mm、中线右旁 2.5 mm 处钻一直径为 5 mm 的圆形骨窗,保持硬脑膜完整。假手术组不予打击,直接缝合头皮;其余各组安装自由落体打击架后,参考 Feeney 法^[2]用 20 g 击锤从 30 cm 高处自由落下,造成右顶叶脑组织损伤,骨蜡封闭骨窗,缝合头皮,伤口涂抹红霉素软膏,放回鼠笼喂养。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 治疗方法:动物制模 24 h 后开始给药。A 组和 B 组给予常规喂养;C 组给予吡拉西坦(宜昌人福药业有限责任公司生产,批号:100415,按人与动物比 1:50 换算后以 3.6 g·kg⁻¹·d⁻¹ 剂量灌胃);D 组给予健脑益智胶囊(由陕西中医学院附属医院制剂中心提供,按 6.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃给药)。

1.5 观测指标及方法:观察大鼠的死亡情况,采用放射免疫试验检测大鼠伤后 3、5、7、10 d 血浆 CGRP 的含量变化。

1.6 统计学处理:应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析与检验,各组计量资料数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间样本均数比较用 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 死亡率:实验过程中共死亡 45 只大鼠(死亡率 28.1%),其中 23 只在制模后 24 h 内死亡(死亡原因考虑与打击有关),实验过程中 B 组死亡 15 只、C 组死亡 3 只、D 组死亡 4 只(死亡原因考虑与脑水肿反应和灌胃时误吸有关)。样本数最少的亚组 6 只,故

在结果统计时各亚组选样本均为 6 只,其余剔除。

2.2 CGRP 变化(表 1):伤后 3 d B 组 CGRP 含量明显高于其他各组(均 $P<0.05$);伤后 5 d 各组比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$);伤后 7 d A 组与 B 组 CGRP 含量差异无统计学意义($P>0.05$),C 组和 D 组 CGRP 含量均明显高于 B 组(均 $P<0.05$);伤后 10 d C 组、D 组 CGRP 含量均较 B 组明显升高,且 D 组升高更显著(均 $P<0.05$)。

表 1 各组大鼠伤后不同时间点血浆 CGRP 含量变化($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	伤后 3 d	伤后 5 d	伤后 7 d	伤后 10 d
A 组	6	93.46±2.29	73.42±1.96	70.42±1.91	59.34±1.79
B 组	6	113.16±1.70 ^a	83.49±1.53	73.16±1.48	67.26±1.62
C 组	6	81.23±1.64 ^b	68.23±1.88	88.23±1.54 ^b	83.13±1.23 ^b
D 组	6	82.51±1.73 ^b	88.51±1.68	97.56±1.32 ^b	98.42±1.08 ^{bc}

注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 B 组比较,^b $P<0.05$;与 C 组比较,^c $P<0.05$

3 讨论

中医认为,脑部受到外伤后,气机逆乱,或脑气不通;脉络破损,营血离经,积而成瘀,瘀阻脑络,气血失运,清阳不升,浊阴不降,元神失聪而癫狂、昏厥;痰结瘀阻,阻滞脉络,气血不能上荣于脑,脑失所养,出现各种异常行为表现。经验方健脑益智胶囊由白茅根、石菖蒲、郁金、水蛭、葛根组成,具有豁痰利水、化瘀开窍之功效。本方以破血通经逐瘀之要药水蛭为君,开窍豁痰;醒神益智之石菖蒲和郁金为臣,助水蛭活血以祛瘀,并能解郁清心、安定心神、调畅情志;佐以凉血止血、清热利水之药白茅根;葛根虽为解表之品,但现代药理学研究表明,葛根扩张血管作用非常明显,临床效果肯定,用为佐药。全方共用,可达化瘀开窍,豁痰利水,醒神通脉之功效。临床观察表明,健脑益智胶囊对 TBI 患者的临床症状具有显著改善作用,其疗效可能与药物作用后脑组织的血液循环改善有关。

CGRP 是迄今所知体内最强的舒血管物质。研究表明:CGRP 可降低海马神经元对缺氧的易感性,对神经元细胞缺氧损伤可产生直接的保护作用,能显著改善缺血脑组织血流,缩小大鼠局灶缺血体积,缓解血管痉挛,改善脑缺血,调节脑循环^[3],其水平很大程度上反映了组织周围的血运情况。据贾志亮等^[4]报道,在损伤初期脑组织损伤区周边 CGRP 即急剧上升,随着病情进展,CGRP 表达持续上升。焦炎等^[5]研究表明,TBI 后血浆 CGRP 含量急剧升高,且与脑组织受伤严重程度呈正相关,随时间延长

CGRP 含量逐渐下降, 伤后 1 d CGRP 含量均处于高水平, 轻、中度组在 5 d 内、重度组在 7 d 内伤者血浆 CGRP 含量仍处于相对较高水平。朱曦等^[6]研究表明, TBI 后继发性脑损伤的两个最重要因素是脑缺血和缺氧, 在直接损伤脑组织的同时, 还与其他继发性损伤机制相互促进, 从而加重对脑组织的损害。颅脑损伤后血浆中血管紧张素和精氨酸加压素迅速升高, 使全身血管收缩^[7]; 因此, 改善脑血流、减轻脑缺血、保持脑灌注压是维持颅脑损伤后脑组织正常代谢的基本条件^[8]。CGRP 具有强大的扩血管作用, 虽有加重损伤脑组织水肿的弊端, 但仍有明显的积极作用。TBI 后期, 由于 CGRP 的扩血管作用, 改善了脑组织血流量, 使得脑组织在疾病发展后期能够得到有效的血液供应, 为其修复提供良好条件。本研究表明, 模型组在受伤 3 d 后 CGRP 水平明显高于其他各组, 这与以上研究结果一致。吡拉西坦组和健脑益智胶囊组在伤后 3 d CGRP 水平并无明显升高, 这可能与 TBI 早期上述药物有减轻受伤脑组织水肿的作用有关。屈志炜等^[9]研究发现, 较大剂量应用吡拉西坦时 (1 g/kg) 能明显降低大鼠脑组织水肿, 其作用与同剂量甘露醇相当。

临床应用中发现, 健脑益智胶囊具有减轻 TBI 后脑组织水肿的作用, 可能与其主要成分水蛭具有破血逐瘀的作用有关。水蛭的主要成分为水蛭素, 能抑制凝血酶在急性脑出血时对脑组织的损伤作用, 从而减少出血后脑组织水肿和离子含量^[10]。李展^[11]研究表明, 在 TBI 急性期、恢复期血液均处于高凝状态, 并贯穿于 TBI 的病程中, 活血化瘀药物的应用是合理并且是安全的。

本研究发现, 伤后模型组血浆 CGRP 水平逐渐降低, 7 d 与假手术组比较差异无统计学意义, 这与 Dragunow 等^[12]的结论一致; 7 d 吡拉西坦组和健脑益智胶囊组大鼠的一般状况明显好于模型组, 同时血浆 CGRP 含量均高于模型组, 这一结果表明, 在伤后 7 d 给药组大鼠血浆中的扩血管物质 CGRP 含量较高, 血管的扩张程度优于模型组, 从而说明大鼠机体组织的血供优于模型组。治疗后大鼠的一般

状况改善明显, 可能是由于血浆 CGRP 含量较高所致的机体血供特别是脑组织微循环改善的结果。伤后 10 d 结果表明, 健脑益智胶囊组大鼠血浆 CGRP 含量均高于模型组和吡拉西坦组, 说明健脑益智胶囊对 TBI 后大鼠的扩血管作用优于吡拉西坦。

综上所述, 健脑益智胶囊在伤后早期能抑制 TBI 大鼠血浆 CGRP 含量的快速增高, 后期能促进 TBI 大鼠血浆 CGRP 含量的升高, 可以认为, 健脑益智胶囊能改善 TBI 临床症状, 其作用机制之一是早期抑制血管的扩张而减轻脑组织水肿, 后期通过扩张血管, 改善血流量特别是受伤组织微循环来实现的, 其作用效果优于吡拉西坦。

参考文献

[1] 韦玉. 重型颅脑损伤的诊治进展状态. 中国医药指南, 2009, 7 (9): 51-53.

[2] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury: I. methodology and local effects of contusions in the rat. Brain Res, 1981, 211 (1): 67-77.

[3] 梁敏, 梁宁, 白令君. 纳络酮对急性颅脑损伤患者血浆内皮素降钙素基因相关肽和氧自由基的影响. 中国危重病急救医学, 2000, 12 (12): 755-756.

[4] 贾志亮, 刘跃亭, 段虎斌. CGRP 受体拮抗剂 CGRP8-37 对颅脑创伤后大鼠保护作用的研究. 中西医结合心脑血管病杂志, 2010, 8 (1): 85-86.

[5] 焦炎, 李银琦, 梁新华, 等. 颅脑损伤血浆降钙素基因相关肽含量变化及法医学意义. 中国法医学杂志, 2009, 24 (3): 151-153.

[6] 朱曦, 王振宇, 谢京城. 重型脑损伤后脑氧代谢的变化及意义. 中国危重病急救医学, 2006, 18 (5): 285-289.

[7] 雷鸣, 姜晓冬, 王大鹏, 等. 血必净注射液对重度颅脑损伤患者血浆内皮素影响的研究及临床意义. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15 (4): 225-228.

[8] 谭翱. 重型颅脑损伤的治疗进展. 中国危重病急救医学, 2006, 18 (5): 317-319.

[9] 屈志炜, 吴俊芳, 王洁. 脑复康对大鼠局灶性脑缺血引起的脑水肿及神经功能变化的影响. 中国临床神经外科杂志, 2006, 11 (1): 41-43.

[10] Möller T, Hanisch UK, Ransom BR. Thrombin-induced activation of cultured rodent microglia. J Neurochem, 2000, 75 (4): 1539-1547.

[11] 李展. 用中西医结合方法探讨颅脑损伤与血瘀证的相关性. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18 (3): 149-151.

[12] Dragunow M, Sirimanne E, Lawlor PA, et al. Accumulation of calcitonin-gene related peptide-like immunoreactivity after hypoxic-ischemic brain injury in the infant rat. Brain Res Mol Brain Res, 1992, 14 (3): 267-272.

(收稿日期: 2012-06-11)

(本文编辑: 李银平)

欢迎订阅《中华危重病急救医学》杂志 CN 12-1430/R

2013 年《中国危重病急救医学》更名为《中华危重病急救医学》

中文核心期刊 中国科技论文统计源期刊 中华医学会主办

全国各地邮局订阅, 邮发代号: 6-58 定价: 每期 14 元 全年 168 元

2012 年以前的刊物可在本刊社邮购部购买, 电话: 022-23197150