

健脑益智胶囊对颅脑损伤大鼠血清 S₁₀₀B 蛋白含量的影响*

范小璇 柏鲁宁 赵晓平 张毅 周振国 畅涛

(陕西中医学院附属医院·咸阳 712000)

摘要 目的:观察健脑益智胶囊对颅脑损伤大鼠血清 S₁₀₀B 蛋白含量的影响。方法:将 SD 大鼠照随机分成 4 组,假手术组、模型对照组、吡拉西坦治疗组、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,每组 10 只。采用自由落体方法造模,造模后第 1、3、5、7、10 天,进行大鼠一般状况评分,并 ELISA 法检测血清 S₁₀₀B 蛋白含量。结果:两用药组一般情况较模型组明显改善,益智胶囊组效果较西药组明显。各损伤组大鼠血清 S₁₀₀B 蛋白含量在第 5 天出现波峰后逐渐回落,第 3 天胶囊组较模型组明显降低($P < 0.05$);第 5 天两用药组明显低于模型组($P < 0.05$),胶囊组较西药组水平低($P < 0.05$)。结论:健脑益智胶囊在大鼠颅脑损伤后能抑制血清 S₁₀₀B 蛋白含量的增高,改善颅脑损伤后症状。

关键词 颅脑损伤/中医药疗法 @ 健脑益智胶囊/治疗应用 大鼠

颅脑损伤(Traumatic Brain Injury, TBI)具有高致残率、病死率特点。笔者经过临床实践总结的经验方健脑益智胶囊通过临床观察,对 TBI 的治疗具有明显的效果,为了揭示其作用机理,进行本实验研究,现报告如下。

1 材料与方

1.1 动物及分组 选 SPF 级健康 SD 大鼠 160 只,雌雄各半,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。依次编号后按照随机原则分成 4 组,即:假手术组、模型对照组、吡拉西坦治疗组(西药对照组)、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,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。S₁₀₀B 蛋白 ELISA 试剂盒:武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 药物 吡拉西坦:湖北宜昌人福药业有限公司生产,批号:100415;健脑益智胶囊:陕西中医学院附属医院制剂中心提供。

1.4 造模方法 10%水合氯醛(3.8ml/kg)行大鼠腹腔注射麻醉后固定大鼠在鼠板上,头部剃毛、皮肤消毒后,沿正中线切开头皮并剥离骨膜,切口长 2cm,暴露右顶骨,用牙科钻于冠状缝后 1.5mm,中线右旁 2.5mm 处钻一直径为 5mm 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 Feeny 法^[1]用 20g 击锤从 30cm 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。

1.5 给药处理 动物造模 24 小时后开始给药。假手术组和模型组给予常规喂养,西药组给予吡拉西坦(3.6g/kg·d⁻¹)灌胃,治疗组给予健脑益智胶囊(6.0g/kg·d⁻¹)灌胃。

1.6 观察指标及测定

1.6.1 大鼠一般情况 一般状况的评价(自拟)标准:活动度(反应敏捷计 4 分,反应较迟钝计 3 分,反应迟钝计 2 分,自主活动差计 1 分);进食量(进食量不少于 30g 计 4 分,进食量小于 30g 大于 10g 计 3 分,进食量小于 10g 但能进食计 2 分,无自主进食计 1 分);精神状态(精神正常计 4 分,精神欠佳计 3 分,精神萎靡计 2 分,嗜睡计 1 分)。

1.6.2 血清 S₁₀₀B 蛋白含量测定 ELISA 法检测。1 天时于大鼠尾部采血,3、5、7、10 天各时间点处死大鼠前心脏采血,按试剂盒说明操作。

1.7 统计方法 应用 SPSS13.0 软件进行分析与检验,各组合计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间样本均数比较用 t 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况 实验过程中共死亡大鼠 45 只,其中 23 只在造模后 24 小时内死亡(考虑与打击有关),治疗过程中模型组死亡 15 只,西药组死亡 3 只,胶囊治疗组死亡 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。大鼠精神状态、进食量、活动度评分见表 1~3。

表 1 各组大鼠不同时段精神状态评分的比较($\bar{x} \pm s$, $n = 6$, 分)

组别	1d	3d	5d	7d	10d
假手术组	3.4±0.22	3.7±0.29	3.6±0.37	3.7±0.23	3.8±0.04
模型组	1.3±0.62**	1.5±0.44**	1.5±0.44**	1.9±0.71*	2.8±0.64
阳性组	1.8±0.52**	2.4±0.75*	2.4±0.72*	2.8±0.31 Δ	3.6±0.34
胶囊组	1.9±0.61**	2.5±0.64*	2.5±0.64*	3.6±0.28 Δ	3.8±0.08

与假手术组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与阳性组比较# $P < 0.05$ (下同)

* 陕西省教育厅自然科学专项 No. 09JK392

陕西省教育厅自然科学专项 No. 2010JK481

表 2 各组大鼠不同时段进食量评分的比较($\bar{x} \pm s$ $n=6$,分)

组别	1d	3d	5d	7d	10d
假手术组	3.6±0.19	3.7±0.16	3.7±0.16	3.7±0.19	3.6±0.23
模型组	1.0±0.71 ^{***}	1.8±0.69 ^{***}	1.8±0.69 ^{***}	2.0±0.53 ^{***}	2.4±0.66 [*]
阳性组	1.7±0.38 ^{**}	2.8±0.67 ^{*△}	2.8±0.67 ^{*△}	3.0±0.63 ^{△△}	3.2±0.26 [△]
胶囊组	1.6±0.53 ^{***}	3.0±0.47 [△]	3.0±0.47 [△]	3.7±0.22 ^{△△}	3.7±0.19 ^{△#}

表 3 各组大鼠不同时段活动度评分的比较($\bar{x} \pm s$ $n=6$,分)

组别	1d	3d	5d	7d	10d
假手术组	3.3±0.34	3.5±0.42	3.5±0.42	3.5±0.37	3.7±0.18
模型组	1.2±0.54 ^{**}	1.3±0.34 ^{**}	1.3±0.39 ^{**}	1.8±0.47 ^{***}	3.1±0.43 [*]
阳性组	2.0±0.43 ^{**}	2.5±0.53 ^{*△}	2.5±0.53 ^{*△}	2.8±0.47 ^{*△}	2.9±0.51 [*]
胶囊组	2.1±0.72 ^{**}	2.3±0.50 ^{*△}	2.3±0.50 ^{*△}	3.1±0.46 ^{*△}	3.2±0.32

2.2 各组大鼠血清 S₁₀₀ 蛋白含量的变化 结果见表 4。

表 4 各组大鼠血清 S₁₀₀ B 蛋白含量变化($\bar{x} \pm s$ $n=6$,μg/L)

组别	1d	3d	5d	7d	10d
假手术组	0.15±0.03	0.11±0.03	0.08±0.02	0.09±0.03	0.12±0.04
模型组	1.35±0.11 [*]	2.36±0.12 ^{**}	2.56±0.19 ^{**}	1.91±0.20 [*]	1.54±0.13 [*]
阳性组	1.41±0.09 [*]	2.15±0.08 ^{**}	2.28±0.15 ^{**△}	1.71±0.11 [*]	1.35±0.12 [*]
胶囊组	1.33±0.07 [*]	1.96±0.16 ^{*△}	2.04±0.12 ^{*△#}	1.62±0.11 ^{*△}	1.17±0.09 ^{*△}

与假手术组比较* P<0.05, ** P<0.01; 与模型组比较△P<0.05; 与阳性组比较#P<0.05

3 讨论

中医学认为“脑为髓之海”、“元神之府”、“诸阳之泉”、“五脏六腑精气皆上注于脑”，故颅脑外伤后，伤及髓脑，脑之经络、血脉受损，脑内气血运化失常，脑脉受损，血溢脉外而成瘀血，经络被伤，气机不畅，气滞血瘀，水运不畅，留而为痰浊，瘀血、痰瘀互结是颅脑损伤的根本病机之所在。根据临床经验，拟定豁痰利水、化痰开窍的方药——健脑益智胶囊，方中水蛭咸、苦、平而归肝经，破血、逐瘀、通经，使溢于脉外之血消散，闭阻之经络畅通；白茅根甘、寒，凉血止血、清热利水，使热散而血止，湿渗则水利；郁金辛、苦、寒而归肝、胆、心经，活血行气，助水蛭活血以祛瘀，并且能解郁清心，为解郁安神第一品，与开窍豁痰、醒神益智之石菖蒲合用，能使心神安定、情志调畅；葛根活血化瘀之功古人虽描述不多，但现代药理研究证明葛根有扩管通脉之效^[2]。全方共奏豁痰开窍、活血化瘀、通脉益智之效。

本项研究中 4 个亚组进行了 5 次采血，在造模后 24 小时在第 4 亚组大鼠尾部采血，10 天再次处死该组大鼠采血进行检测。有研究表明，颅脑损伤大鼠在 10 天进行两次采血对于检测结果没有影响^[3]。

S₁₀₀ B 是 S₁₀₀ 蛋白家族成员之一，主要由神经胶质细胞合成和分泌，特别是星形胶质细胞和少突胶质细胞；在外周神经的雪旺细胞和卫星细胞中也富含 S₁₀₀ B 蛋白；另外 S₁₀₀ B 蛋白也存在于非神经系统中，包括黑色素细胞、朗格汉斯细胞、软骨细胞、肾上腺卫星细胞等^[4]。血清 S₁₀₀ B 蛋白的浓度与以下三种因素有关^[5-6]：(1) 脑损伤的严重程度及范围；(2) 巨噬细胞或蛋白酶引起的降解作用；(3) 血-脑脊液屏障被破坏的程度。S₁₀₀ B 蛋白虽然具有神经营养作用，但是高浓度的 S₁₀₀ B 蛋白却有神经毒性作用，参与神经退化机制，如 Scot - to 等^[7] 研究发现细胞外高浓度的 S₁₀₀ B 蛋白可以刺激

致炎细胞因子表达，导致细胞凋亡，并能通过一氧化氮(NO) 依赖途径诱导神经元细胞死亡；Sandler 等^[8] 的临床研究表明，脑损伤死亡病人血清高浓度 S₁₀₀ B 蛋白可能参与了创伤后的神经变性过程。S₁₀₀ 是星形胶质细胞激活的标志之一。在各种脑损伤中，反应性星形胶质细胞增生和活化产生大量的 S₁₀₀，S₁₀₀ 本身也刺激星形胶质细胞的增殖，从而形成正反馈作用。

本项研究结果表明，颅脑损伤后大鼠血清的 S₁₀₀ B 蛋白含量均高于假手术组，这与 Lo 等^[9-10] 报道是一致的。本研究中只观察到一次表达高峰，出现在第 5 天。有研究表明，由原发性损伤所致的高峰发生在 24 小时以内，第二次高峰发生在第 5 天，为继发性损伤所致。本项研究由于在 24 小时内未设观察点，所以未能观察到第 1 个高峰的出现。

本项研究结果表明，两用药组大鼠一般状况评分均较模型组明显改善，在第 3、5、7、10 天，治疗组血清 S₁₀₀ B 蛋白的含量均低于模型组，说明健脑益智胶囊对血清 S₁₀₀ B 蛋白具有降低作用，健脑益智胶囊的作用明显优于吡拉西坦，表明健脑益智胶囊对颅脑损伤具有保护作用，降低 S₁₀₀ B 蛋白含量可能是其作用机制之一，其他作用机制有待进一步探讨。

综上所述，健脑益智胶囊在颅脑损伤后能抑制 TBI 后大鼠血清 S₁₀₀ B 蛋白含量的增高，改善 TBI 后临床症状，可能与其能减轻脑组织及神经细胞的继发性损伤和促进血脑屏障的修复有关。

参考文献

- [1] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury: methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain Res*, 1981, 211(1): 67.
- [2] 张小花, 张兰. 葛根素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用. *安徽医学*, 2007, 11(8): 688.
- [3] 车兆义, 邹悦, 宋清斌. 大鼠实验中几种常用采血方法的探讨. *局部手术学杂志*, 2008, 17(2): 84.
- [4] 李季林, 盛罗平. S₁₀₀ B 蛋白与颅脑损伤研究的新进展. *创伤外科杂志*, 2011, 13(2): 177.
- [5] Raabe A, Kopetsch O, Woszczyk A, et al. Serum S₁₀₀ B protein as a molecular marker in severe traumatic brain injury. *Restor Neurosci*, 2003, 21(34): 159.
- [6] 黄平, 刘岩峰, 托娅, 等. 大鼠弥漫性脑损伤后 S100β 表达与损伤时间关系. *法医学杂志*, 2006, 22(1): 4.
- [7] Scotto C, Deloulme JC, Rousseau D, et al. Calcium and S100 regulation of p53 - dependent cell growth arrest and apoptosis. *Molcell Biol*, 1998, 18(7): 4272.
- [8] Sandler SJ, Figaji AA, Adelson PD. Clinical applications of biomarkers in pediatric traumatic brain injury. *Childs Nerv Sys*, 2010, 26(2): 205.
- [9] Lo TY, Jones PA, Minns RA. Pediatric brain trauma outcome prediction using paired serum levels of inflammatory mediators and brain - specific proteins. *J Neurotrauma*, 2009, 26(9): 1479.
- [10] Pelinka LE, Toegel E, Mauritz W, et al. Serum S100β: a marker of brain damage in traumatic brain injury with and without multiple trauma. *Shock*, 2003, 19(3): 195.

(收稿: 2011 - 12 - 24)