

## 健脑益智胶囊对颅脑损伤大鼠血清 NSE 含量的影响

范小璇,赵晓平,周振国,张毅,畅涛,柏鲁宁,侯文,方永军,周峰  
(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颅脑损伤后大鼠血清 NSE 含量的影响。方法:将 SD 大鼠按照随机原则分成 4 组,即:A 组(假手术组),B 组(模型对照组),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。采用自由落体方法造模后,C 组给予吡拉西坦治疗,D 组给予健脑益智胶囊治疗,造模后第 1d、3d、5d、7d、10d 观察大鼠一般状况(精神状态、进食量、行为活动度)和血清 NSE 的含量变化并分析。结果:颅脑损伤后大鼠血清 NSE 水平较假手术组明显升高( $P < 0.01$ ),受伤后大鼠血清 NSE 水平随时间的推移逐渐降低;C 和 D 组 NSE 下降水平较明显;第 7d,D 组血清 NSE 水平较 B 组和 C 组明显降低,有显著差异( $b、c: P < 0.05$ ),接近 A 组,两组无明显差异( $a: P > 0.05$ );第 10d,C 组和 D 组血清 NSE 水平较 B 组明显降低,两组间有明显差异( $f、g: P < 0.05$ ),接近 A 组,两组间无明显差异( $d、e: P > 0.05$ )。结论:健脑益智胶囊在受伤后能促进 TBI 后大鼠血清 NSE 含量的降低,改善 TBI 后症状,可能与其能减轻脑组织及神经细胞的继发性损伤有关。

**关键词:**健脑益智胶囊;颅脑损伤;神经元特异性烯醇化酶

中图分类号:R285.5 文献标志码:A 文章编号:1673-7717(2013)05-1066-03

## Effect of Jiannao Yizhi Capsules on Blood NSE in Modle Rats with Traumatic Brain Injury

FAN Xiaoxuan ZHAO Xiaoping ZHOU Zhenguo ZHANG Yi CHANG Tao ,

BAI Luning HOU Wen FANG Yongjun ZHOU Feng

(Neurosurgery Department ,Affiliated Hospital of Shaaxi University of Traditional Chinese Medicine ,Xianyang 712000 ,Shaanxi ,China)

**Abstract:** Objective: This study was to discuss the influence of Jiannao Yizhi Capsule on serum level of NSE of rats with traumatic brain injury. Methods: SD rats were randomly divided into four groups: A group( sham operation group) ,B group( model control group) ,C group( piracetam group) ,D group( Jiannao Yizhi Capsule group) . Each group was randomly divided into four sub - groups according to the sample collecting times( A1、A2、A3、A4; B1、B2、B3、B4; C1、C2、C3、C4; D1、D2、D3、D4) with 10 in each group. After modeling with the method of free falling ,C group was given piracetam and D group was given Jiannao Yizhi Capsule. On the 1st 3rd 5th 7th the day the common conditions of rats were observed( mental state food - intake and behavior activity) and NSE changes in serum were analyzed. Results: The NSE level in serum was obviously increased in sham operation after traumatic brain injury(  $P < 0.01$  ) and the NSE level was gradually decreased as the time passing. The decrease of NSE in C and D groups was more obvious. On 7th day the NSE level in serum in D group was significantly decreased than that in B and C groups and there was obvious difference(  $b、c: P < 0.05$  ); and the NES level in D group was similar to that in A group and there was no difference(  $a: P > 0.05$  ) . On 10th day the NSE level in serum in C and D groups were obviously decreased than that in B group and there was significant difference(  $f、g: P < 0.05$  ); and the NSE level in C and D groups was similar to that in A group without differences(  $d、e: P > 0.05$  ) . Conclusion: After traumatic brain injury ,Jiannao Yizhi Capsules can improve the decrease of NSE in serum and relieve the symptoms after TBI. It may be related to relieving brain tissue injury and secondary injury of nerve cells.

**Key words:** Jiannao Yizhi Capsules; traumatic brain injury; neuron specific enolase

颅脑损伤( Traumatic Brain Injury ,TBI) 无论是平时还是战时 都是最常见的损伤 ,已成为青少年伤病致死的首位原因。随着国民经济和交通的迅速发展 ,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( Severe Traumatic Brain Injury ,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%<sup>[1]</sup> 。降低 TBI 的死亡率成为医务工作者追求的目标。我们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 ,设计本项研究 ,现报道如下。

收稿日期:2012-12-20

基金项目:陕西省教育厅自然科学专项资助项目(09JK392);陕西省科技统筹创新工程计划项目(2011KTCL03-02)

作者简介:范小璇(1979-),男,陕西凤翔人,主治医师、讲师,硕士,研究方向:颅脑损伤和脑血管病中西医结合外科治疗的基础与临床。

1 材料与方

1.1 动物分组 选 SPF 级健康 Sprague - Dawley( 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) 适应性喂养 1 周后进行实验。依次编号后按照随机原则分成 4 组 即: A 组( 假手术组) , B 组( 模型对照组) , 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  $\gamma$  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  $^{\circ}$ C 亚低温冰箱( 陕西中医学院基础课部实验中心) 、NSE ELISA 试剂盒( 武汉博士德生物工程有限公司) 。

1.3 造模方法 参照动物实验标准 用 10% 水合氯醛( 3. 8 mL/kg) 行大鼠腹腔注射麻醉后固定在鼠板上 头部剃毛、皮肤消毒后 沿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<sup>[2]</sup> 用 20 g 击锤沿从 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。

1.4 治疗方法 动物造模 24 h 后开始治疗。A 组和 B 组给予常规喂养 C 组在常规治疗的基础上给予吡拉西坦片剂( 宜昌人福药业有限责任公司生产 批号: 100415 按人与实验用鼠比为 1 : 50 进行换算后以 3. 6 g/( kg · d) 剂量灌胃) 进行治疗 D 组在常规治疗的基础上给予健脑益智胶囊( 由陕西中医学院附属医院制剂中心提供 用量按 6. 0 g/( kg · d) 比例温开水溶解后灌胃给药) 进行治疗。

1.5 结果观察 观察造模前后和造模后第 1 d、3 d、5 d、7 d、10 d 大鼠一般状况( 精神状态、进食量、行为活动度) 和血清 NSE 含量( ELISA 法) 变化( 24 h 在 A4、B4、C4、D4 大鼠尾部采血 其余时间点处死动物前心脏采血) 。应用 SPSS 13. 0 软件进行分析与检验 各组计量资料数据均数以(  $\bar{x} \pm s$ ) 表示 两组间样本均数比较用 *t* 检验 检验水准取  $\alpha = 0. 05$ 。

2 结果

实验过程中共死亡大鼠 45 只( 死亡率 28. 1%) 其中 23 只在造模后 24 h 内死亡( 考虑与打击有关) 治疗过程中 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。

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

结果( 表 1) 表明 治疗第 7 d 治疗组大鼠的精神状态

和进食量明显优于模型组合对照组。大鼠血清 NSE 含量( 表 2) 假手术组一直维持在一个较低的水平 其余各组在造模后大鼠血清 NSE 水平较假手术组明显升高(  $P < 0. 01$ ) 受伤后大鼠血清 NSE 水平随时间的推移逐渐降低; C 和 D 组血清 NSE 下降水平较明显; 第 7 d D 组血清 NSE 水平较 B 组和 C 组明显降低 有显著差异( b、c:  $P < 0. 05$ ) , 接近 A 组 两组无明显差异( a:  $P > 0. 05$ ) ; 第 10 d C 组和 D 组血清 NSE 水平较 B 组明显降低 两组间有明显差异( f、g:  $P < 0. 05$ ) 接近 A 组 两组间无明显差异( d、e:  $P > 0. 05$ )

表 1 大鼠治疗前后一般状况比较

一般状态	造模前				第 1 d				第 3 d				第 5 d				第 7 d				第 10 d			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D				
精神状态	4	4	4	3	1	2	2	3	1	2	2	3	1	2	2	3	4	2	3	4	4			
进食量	4	4	4	3	1	2	2	3	2	3	2	3	3	2	3	3	4	2	3	4	4			
活动度	4	4	4	3	1	2	2	3	1	2	2	3	4	3	3	4	2	3	3	4	3			

注: \* 治疗第 7 d 治疗组大鼠的精神状态和进食量明显优于模型组 优于对照组。

表 2 治疗前后大鼠血清 NSE 含量比较(  $\mu$ g/L)

组别	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d
A 组	8. 08 ± 1. 25	8. 09 ± 1. 08	8. 09 ± 1. 06	8. 10 ± 0. 99 <sup>a</sup>	8. 01 ± 1. 04 <sup>de</sup>
B 组	30. 21 ± 5. 52	28. 62 ± 5. 17	25. 58 ± 5. 20	20. 87 ± 4. 50 <sup>b</sup>	13. 04 ± 1. 96 <sup>fg</sup>
C 组	31. 63 ± 6. 54	28. 53 ± 6. 41	23. 75 ± 5. 01	17. 71 ± 4. 77 <sup>c</sup>	9. 51 ± 1. 33 <sup>df</sup>
D 组	31. 90 ± 6. 11	27. 66 ± 5. 99	19. 64 ± 4. 40	10. 91 ± 2. 78 <sup>abc</sup>	8. 55 ± 1. 16 <sup>eg</sup>

注: 大鼠血清 NSE 含量( 表 2) 假手术组一直维持在一个较低的水平 其余各组在造模后大鼠血清 NSE 水平较假手术组明显升高(  $P < 0. 01$ ) 受伤后大鼠血清 NSE 水平随时间的推移逐渐降低; C 和 D 组血清 NSE 下降水平较明显; 第 7 d D 组血清 NSE 水平较 B 组和 C 组明显降低 有显著差异( b、c:  $P < 0. 05$ ) 接近 A 组 两组无明显差异( a:  $P > 0. 05$ ) ; 第 10 d C 组和 D 组血清 NSE 水平较 B 组明显降低 两组间有明显差异( f、g:  $P < 0. 05$ ) 接近 A 组 两组间无明显差异( d、e:  $P > 0. 05$ ) 。

3 讨论

中医学认为“脑为髓之海”、“元神之府”、“诸阳之会”、“五脏六腑精气皆上注于脑” 故颅脑外伤后 伤及髓、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<sup>[3]</sup> 痰瘀互结是颅脑损伤的根本病机之所在。我们经验 拟定豁痰利水、化痰开窍的方药——健脑益智胶囊 其组成是水蛭、葛根、白茅根、石菖蒲、郁金。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。葛根活血化痰之功古人虽描述不多 但现代药理研究 葛根有扩管通脉之效。全方共奏豁痰开窍 活血化痰 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 24h 时在 A4、B4、C4、D4 大鼠尾部采血 10 d 再次处死 A4、B4、C4、D4 组大鼠采血进行检测。有研究表明 颅脑损伤大鼠在 10 d 进行两次采血对于检测结果没有影响<sup>[4]</sup>。

神经元特异性烯醇化酶( neuron specific enolase, NSE)

在脑内占全部可溶性蛋白的 1.5%<sup>[5]</sup>。在中枢神经系统中,NSE 只存在于神经元中,且含量较高,约占人脑皮层烯醇化酶的 40%~65%<sup>[6]</sup>。当颅脑损伤时,大量神经细胞受到创伤破坏,NSE 被释放出细胞外,同时透过受损的血脑屏障进入血循环,致血清中 NSE 水平升高。颅脑损伤越重,血脑屏障受损程度越高,神经元释放入血的 NSE 越多,血清中 NSE 含量就越高<sup>[7-8]</sup>。监测颅脑损伤后血清 NSE 含量的变化可为诊断病情评价预后指导治疗提供有实用价值的客观依据<sup>[9]</sup>。

廖创新等<sup>[10]</sup>研究表明,颅脑损伤后大鼠血清的 NSE 含量受伤后逐渐升高到 24 h 达到高峰,由于本项研究没有涉及 24 h 内的研究,没有观察到这一特点。本项研究表明,颅脑损伤后大鼠血清 NSE 含量从 24 h 开始逐渐降低,这与屈洪艳<sup>[5]</sup>和侯博儒<sup>[9]</sup>等的研究结果是一致的,随着神经损伤的减轻和血脑屏障的恢复血清 NSE 水平逐渐趋于正常。本项研究结果表明,第 7 d,D 组血清 NSE 水平较 B 组和 C 组明显降低,接近 A 组,第 10 d,C 组和 D 组血清 NSE 水平较 B 组明显降低,接近 A 组。这一结果与大鼠的一般状况的改变一致,说明吡拉西坦和健脑益智胶囊对血清 NSE 具有降低作用,健脑益智胶囊组的血清 NSE 水平较吡拉西坦组先接近假手术组,说明健脑益智胶囊的治疗作用明显优于吡拉西坦。有研究表明<sup>[11]</sup>颅脑损伤急性期过后,血清 NSE 水平升高主要由于继发性脑损害所致,创伤后脑缺血水肿影响脑血流改变,可进一步加重脑损害,因此,本项研究结果这可能与健脑益智胶囊在 TBI 早期减轻继发性损伤、促进血脑屏障恢复的作用有关。我们认为,这一作用可能是通过以下途径来实现的:①清除氧自由基,抗自由基损伤作用。研究表明<sup>[12-13]</sup>葛根和郁金使其具有清除氧自由基,发挥抗自由基损伤的作用。前期实验研究表明:健脑益智胶囊能降低脑出血后脑组织 MDA 的含量、提高脑组织 SOD 活性,减少了自由基的损伤,减少了 BBB 通透性的增加。②抑制凝血酶的破坏作用。研究表明<sup>[14]</sup>水蛭的主要成分水蛭素能够明显降低脑出血后血脑屏障开放的程度,通过特异性抑制凝血酶的作用,可显著减轻早期的脑水肿,早期应用既能使血块易于溶化吸收,又可减少脑水肿的形成,并可长期(1~28 d)改善神经功能缺损,明显降低出血后致残率,改善预后<sup>[15]</sup>。③改善微循环,减少继发性缺血损伤。研究证明,水蛭可以提高血瘀动物的血浆纤溶酶原激活物(t-PA)活性,降低抑制物(PAI)的活性<sup>[16]</sup>,具有抗凝的作用。石菖蒲使脑组织内皮素含量明显下降,降钙素基因含量明显升高,有舒张脑血管,改善脑供血作用<sup>[17]</sup>。④减轻再灌注损伤。研究表明<sup>[18]</sup>葛根素能降低脑缺血再灌注大鼠低、中、高切变率全血黏度、红细胞压积和血沉,改善血液流变性,有利于减轻血液流变学异常对脑组织的损伤;葛根素可能通过减轻星形胶质细胞肿胀而改善脑微循环葛根素有扩张脑血管的作用,可通过降低血流阻力增加吻合支的血流量而改善大脑中动脉阻断后脑组织细胞的缺血状态,减轻脑细胞的缺血再灌注损伤<sup>[19]</sup>,并对急性脑缺血再灌注所致的脑细胞损伤具有保护作用。

综上所述,健脑益智胶囊在受伤后能促进 TBI 后大鼠血清 NSE 含量的降低,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] 韦玉. 重型颅脑损伤的诊治进展状态[J]. 中国医药指南, 2009, 7(9): 51-53.
- [2] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury methodology and local effects of contusions in the rat[J]. Brain Res, 1981, 211(1): 67-67.
- [3] 王广, 周柯鑫, 杨亚鹏, 等. 脑苏冲剂治疗急性颅脑损伤的临床疗效观察[J]. 北京中医药大学学报(中医临床版), 2003, 10(4): 20-21.
- [4] 车兆义, 邹悦, 宋清斌. 大鼠实验中几种常用采血方法的探讨[J]. 局部手术学杂志, 2008, 17(2): 84-85.
- [5] 屈洪艳, 彭翔, 蔡润. 颅脑损伤患者血清 NSE 的含量变化及临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2007, 12(12): 734-735.
- [6] Joseph J, Felix F, Cruz - Sanchez, et al. Enolase activity and isoenzyme distribution in human brain regions and tumors [J]. J Neurochem, 1996, 66: 2484-2490.
- [7] Vos PE, Lamers KJ, Hendriks JC. Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury [J]. Neurology, 2004, 62(8): 1303-1310.
- [8] Pineda JA, Wang KK, Hayes RL. Biomarker of proteolytic damage following traumatic brain injury [J]. Brain Pathol, 2004, 14(2): 202-209.
- [9] 侯博儒, 任海军, 高俊玮, 等. 亚低温对重型颅脑损伤后血清 NSE 的影响及其临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2009, 14(3): 153-155.
- [10] 廖创新, 叶惠韶, 郭泽龙. 醒脑注射液对颅脑损伤后大鼠血清 S100B、NSE 的干预作用[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2006, 11(9): 416.
- [11] Lims JE, Takayanagui OM, Garcia LV, et al. Use of neuron specific enolase for assessing the severity and outcome in patients with neurological disorders [J]. Braz J Med Biol Res, 2004, 37(1): 19-26.
- [12] 殷利春, 黄晓明, 杜杭根, 等. 葛根素对实验性脑出血大鼠脑水肿及脂质过氧化的反应影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(6): 358-360.
- [13] 兰凤英. 郁金的药理作用及临床应用[J]. 长春医学, 2006, 4(4): 68-69.
- [14] XI G, WAGNER K R, KFFP R F, et al. Role of blood clot formation on early edema development following experimental intracerebral hemorrhage [J]. Stroke, 1998, 29: 2580-2586.
- [15] 时宏娟, 沈霞, 荣良群, 等. 局部应用重组水蛭素治疗脑出血后脑水肿的实验研究[J]. 徐州医学院学报, 2006, 26(1): 61-63.
- [16] 李克明, 张国, 武继彪. 水蛭的药理研究概况[J]. 中医研究, 2007, 20(2): 62-64.
- [17] 王淑英, 陈弈芝, 方若鸣, 等. 石菖蒲配伍冰片对高脂血症大鼠内皮素和降钙素基因肽的影响[J]. 实用中医药杂志, 2003, 19(12): 619.
- [18] 张小花, 张兰. 葛根素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 安徽医学, 2007, 11(8): 688-689.
- [19] 王世军, 姬广军, 史仁华, 等. 葛根素、川芎嗪、丹参注射液对大鼠中动脉阻断大鼠脑微循环血流量的影响[J]. 中成药, 2000, 6: 426-428.