

黄芪三七药对抑制炎症级联反应减轻大鼠脑缺血再灌注损伤的机制研究

徐思思¹, 王本国², 刘星辰^{1,2}, 王绮婧¹, 刘奕娴¹

(1. 广州中医药大学, 广东广州 510405; 2. 广州中医药大学附属中山中医院, 广东中山 528400)

摘要:【目的】探讨黄芪三七药对大鼠脑缺血再灌注后炎症级联反应的抑制作用及神经保护作用。【方法】将50只SD大鼠随机分为假手术组、模型组、黄芪组、三七组、黄芪三七组, 每组10只。假手术组仅行游离血管操作, 不做插线处理, 其他各组采用改良Longa法构建大鼠脑中动脉闭塞(MCAO)大鼠模型, 缺血2 h, 再灌注24 h后, 进行神经功能缺损评分, 苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠脑组织病理改变, 原位末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)标记(TUNEL)染色法测定脑组织神经元细胞的凋亡情况, 免疫组织化学法检测脑组织核转录因子 κ B p65(NF- κ B p65)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)的表达。【结果】与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能缺损评分升高, 脑组织可见明显的病理损伤, 神经元坏死率、神经元凋亡率增加, 脑组织NF- κ B p65、TNF- α 、MMP-9的表达水平均显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 黄芪组、三七组、黄芪三七组神经功能缺损评分均降低, 脑组织损伤不同程度得到改善, 神经元坏死率、神经元凋亡率均减小, 脑组织NF- κ B p65、TNF- α 、MMP-9的表达水平均显著降低, 其中黄芪三七组的差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。【结论】黄芪三七药对可有效减轻大鼠脑缺血再灌注损伤, 其神经保护作用机制可能与抑制炎症级联反应, 减少神经元的凋亡有关, 且疗效优于黄芪、三七单药。

关键词: 药对; 黄芪; 三七; 脑缺血再灌注; 炎症反应; 神经保护; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)03-0576-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.03.025

Mechanism Study on Herbal Pair of Radix Astragali and Radix Notoginseng for Alleviating Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats via Inhibiting Inflammatory Cascade Reaction

XU Si-Si¹, WANG Ben-Guo², LIU Xing-Chen^{1,2},
WANG Qi-Jing¹, LIU Yi-Xian¹

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Zhongshan Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan 528400 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the inhibitory effect of herbal pair of Radix Astragali and Radix Notoginseng on inflammatory cascade reaction after cerebral ischemia-reperfusion injury in rats and the neuroprotective effect. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into 5 groups, namely sham-operation group, model group, Radix Astragali group, Radix Notoginseng group and Radix Astragali-Radix Notoginseng group, 10 rats in each group. The rats in the sham-operation group were given only isolating middle cerebral artery, and no inserting thread operation, and the rats in the other groups were induced into middle cerebral artery occlusion (MCAO) model by Longa method. After ischemia for 2 h and reperfusion for 24 h, the neurological deficit scores were calculated, pathological features of brain tissues were observed by haematoxylin-eosin staining, and apoptosis of nerve cells in brain tissues was measured by terminal deoxyribonucleotidyl transferase (TdT)-mediated biotin-16-dUTP nick-end

收稿日期: 2020-09-09

作者简介: 徐思思(1995-), 女, 硕士研究生; E-mail: 935901458@qq.com

通讯作者: 王本国, 男, 博士, 主任医师; E-mail: wbgzhongshan@126.com

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(编号: 2016A030313367); 广东省医学科研基金资助项目(编号: A2015239); 广东省建设中医药强省项目(编号: 20151128); 广东省中医药局科研项目(编号: 20173033); 广东省中山市科技计划项目(编号: 2015B1021)

labelling (TUNEL) assay, and expression levels of nuclear factor- κ B (NF- κ B) p65, tumor necrosis factor α (TNF- α), and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) in brain tissues were detected by immunohistochemical method. **Results** Compared with the sham-operation group, the scores of neurological deficit were increased, obvious pathological damage in brain tissues was seen, apoptosis rate of neurons and apoptosis rate of neurons in brain tissues were enhanced, and expression levels of NF- κ B p65, TNF- α and MMP-9 in brain tissues were raised in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the scores of neurological deficit were decreased, pathological damage in brain tissues was improved to varying degrees, apoptosis rate of neurons and apoptosis rate of neurons in brain tissues were lowered, and expression levels of NF- κ B p65, TNF- α and MMP-9 in brain tissues were reduced in the Radix Astragali group, Radix Notoginseng group and Radix Astragali-Radix Notoginseng group, of which the differences were significant in the Radix Astragali-Radix Notoginseng group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Radix Astragali-Radix Notoginseng pair is effective for alleviating the cerebral ischemia reperfusion injury in rats, and its neuroprotective mechanism may be related to inhibiting inflammatory cascade reaction and reducing neuron apoptosis, the improvement effect being superior to Radix Astragali or Radix Notoginseng alone.

Keywords: herbal pair; Radix Astragali; Radix Notoginseng; cerebral ischemic reperfusion injury; inflammatory reaction; neuroprotection; rats

缺血性脑卒中发生后,及时进行血管开通、恢复血流再灌注治疗能够挽救缺血半暗带内濒死的神经细胞,是目前公认的最有效的治疗方法。然而,血流再灌注治疗可能加重缺血的神经细胞损伤及神经功能缺损症状,造成脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI),炎症级联反应作为CIRI中的核心环节发挥着关键的作用。目前,对于CIRI尚无明确有效的抑制炎症级联反应的治疗药物。中药复方具有多组分、多靶点、多途径的特点,有着潜在的治疗靶向及复方“鸡尾酒”治疗优势。黄芪与三七配伍是临床上常用的益气活血药对,本课题组前期研究^[1]发现,黄芪三七汤能够改善脑梗塞患者神经功能缺损症状,并且有效降低中风后出血转化的发生率。动物药理实验^[2]亦表明,黄芪与三七的主要有效组分配伍具有协同抗CIRI的作用,但其发挥神经保护的具体作用机制尚不清楚。国内外诸多基础研究^[3]显示,缺血再灌注后可引起多种炎症因子的过量表达并加重缺血损伤。因此,结合其他学者前期的研究^[4-5],本研究构建了CIRI的大脑中动脉闭塞(MCAO)大鼠模型,探讨黄芪三七药对基于抑制炎症级联反应作用而发挥抗CIRI的机制,以期为临床应用黄芪三七药对治疗CIRI提供理论依据,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物 50只SPF级雄性SD大鼠,体质量120~140 g,由广东省医学实验动物中心提供,动物质量合格证号:SCXK(粤)2013-0002。饲养于SPF级实验室,温度25℃,湿度50%。实验前喂养至体质量在250 g以上,不限制饮水及进食,本研究经过广州中医药大学附属中山中医院伦理委员会许可。

1.2 药物 黄芪饮片(产地:甘肃;生产批号:180301)与三七饮片(产地:云南;生产批号:180501)均购于中山市中智药业集团有限公司。经广州中医药大学附属中山中医院曾聪彦教授鉴定其基原植物分别为伞科植物黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的根和五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen 的根,且符合《中华人民共和国药典》2015年版标准。

1.3 主要试剂与仪器 一抗:抗核转录因子 κ B p65(NF- κ B p65)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)等抗体(美国Abcam公司);二抗:生物素化山羊抗兔IgG、生物素化山羊抗小鼠IgG(博士德生物技术有限公司);3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(博士德生物技术有限公司);原位末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)标记(TUNEL)试剂盒(美国Roche公司);苏木素-伊红(HE)染液、返蓝液、分化液(武汉Servicebio公

司)。Ultra Pure UF型和泰凯弗隆实验室纯水系统(上海和泰仪器有限公司);CU-420型电热恒温水浴箱(上海一恒科技有限公司);DV300-1型显微镜(广州粤显光学仪器有限责任公司);TS-8型转移脱色摇床(江苏海门市其林贝尔仪器制造有限公司);旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司)。

1.4 灌胃药物制备 采用热回流醇提取法制备提取液。基于对文献挖掘结果以及前期预实验结果,黄芪、三七按照3:1的配比制备提取液。步骤:称取适量黄芪饮片,加入10倍量体积分数70%乙醇浸泡后,热回流提取2次(2 h、1.5 h),提取液合并过滤,减压浓缩后,加蒸馏水溶解,得黄芪提取液。三七饮片粉碎后,加10倍量体积分数70%乙醇浸泡,热回流提取3次(每次1.5 h),合并滤过并减压浓缩,加水适量溶解,得三七提取液。另外按比例称取黄芪饮片和三七粉,混合,提取方法同三七提取法,得黄芪三七提取液,最后根据质体比计算生药量。所有提取液冷藏保存,并于每次灌胃前配制成相应浓度的稀释液。

1.5 造模 参照Longa法^[5]并改良,构建大鼠中动脉闭塞(MCAO)模型。步骤:给予大鼠100 g/L水合氯醛(3 mL/kg)麻醉后,沿正中切开颈前皮肤,钝性分离右侧颈总动脉、颈外动脉,分别永久结扎颈外动脉及颈总动脉近心端。以微动脉夹暂时夹闭颈总动脉远心端后,在颈总动脉上开一小口,插入末端包裹石蜡的鱼线,并推入至大脑中动脉的起始部造成局部血流中断。2 h后,缓慢拔出尼龙线恢复血流再灌注。假手术组仅行游离血管操作,不做插线处理。

1.6 动物分组与给药 将SD大鼠按体质量随机分为5组,每组10只:假手术组、模型组、黄芪组、三七组、黄芪三七组。各组大鼠均于造模前7 d开始灌胃给药,每日1次。以临床成人常用剂量(黄芪30 g、三七10 g)的不同倍数进行动物预实验,结果发现以相当于临床成人2倍剂量灌胃给药时效果最佳,故在正式实验中分别以黄芪5.4 g/kg、三七1.8 g/kg、黄芪三七药对7.2 g/kg的剂量给予大鼠灌胃,灌胃药液体积均为10 mL/kg,模型组与假手术组给予相同体积的蒸馏水灌胃。

1.7 观察指标与方法

1.7.1 大鼠神经功能缺损评分 每组大鼠均于再灌注24 h后按照Longa法^[5]评分,具体标准:①正常,无神经功能缺失症状,计0分;②患侧前爪蜷

缩,不能完全伸展,计1分;③向患侧转圈,计2分;④爬行时向患侧倾倒,计3分;⑤不能自发行走,意识丧失,计4分。评分在1~3分者入选实验。

1.7.2 脑组织病理学改变的观察 以100 g/L水合氯醛麻醉大鼠,经左心室用40 g/L多聚甲醛溶液灌注固定后,完整取出两侧大脑半球,并浸泡于40 g/L多聚甲醛溶液中固定24 h以上。取出后,石蜡包埋,制作冠状切片,约4 μ m厚度。常规HE染色后,随机选取缺血侧脑组织不重叠的4个视野(包括海马区和皮质区),计算神经元坏死率,取平均值。

1.7.3 免疫组织化学法检测脑组织NF- κ B p65、TNF- α 、MMP-9表达 将石蜡包埋的脑组织常规切片,脱蜡,体积分数3%过氧化氢(H_2O_2)室温封闭,修复抗原。滴加体积分数为5%牛血清白蛋白(BSA)封闭液,依次滴加相应适合浓度的一抗与二抗,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,再滴加链霉素亲和素-生物素-过氧化酶复合物免疫组织化学试剂(SABC),最后DAB显色。光镜下检查,采用Image-Pro Plus 6.0软件分析计算积分光密度(IOD)值。

1.7.4 TUNEL染色法测定脑组织神经元细胞的凋亡情况 取脑组织切片,脱蜡,滴入体积分数3% H_2O_2 封闭后,加热,先加TUNEL反应混合液,PBS溶液浸洗,再加Converter-POD反应液,冲洗,最后滴加DAB显色液,以去离子水冲洗终止反应。在400倍高倍镜下观察,胞核呈棕色为阳性凋亡细胞,分别选取5个不重复视野计算凋亡率,取平均值。

1.8 统计方法 采用SPSS 21.0统计软件进行数据分析。所有计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多个样本均数的比较用单因素方差分析法,两两比较采用LSD法;神经功能学评分采用非参数Kruskal-Wallis检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能缺损评分的比较 缺血再灌注24 h后,假手术组大鼠均无神经功能缺损症状,模型组与各治疗组大鼠均出现不同程度神经功能缺损。与假手术组比较,模型组大鼠神经功能缺损评分显著升高,差异有统计学意义($P <$

0.01), 表明模型大鼠存在明显的神经功能障碍表现, 提示造模成功。与模型组比较, 各治疗组的神经功能评分均有所降低, 其中黄芪三七组的神经功能缺失评分最低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 黄芪组、三七组的差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明黄芪三七药对可改善CIRI大鼠神经功能障碍, 疗效优于黄芪、三七单药。具体结果见表1。

2.2 各组大鼠脑组织病理学变化比较 假手术组可见脑组织神经细胞密集, 胞核圆形居中, 核仁清晰, 胞质淡染, 无变性坏死; 模型组大鼠皮质层梗死周边区可见神经元数目减少, 细胞间隙增大, 胞核皱缩, 核仁不清, 胞浆深染, 呈现为大片的“红色神经元”; 黄芪组、三七组与黄芪三七组缺血区脑组织病理损伤较模型组有不同程度改善。见图1。

与假手术组比较, 其他各组神经元坏死率均

表1 各组大鼠神经功能缺损评分的比较

Table 1 Comparison of scores of neurological deficit in various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	神经功能缺损评分(分)
假手术组	10	0
模型组	10	2.60 ± 0.52^{①}
黄芪组	10	2.00 ± 0.82
三七组	10	1.90 ± 0.74
黄芪三七组	10	1.30 ± 0.48^{②}

① $P < 0.05$, 与假手术组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

增加($P < 0.05$); 与模型组比较, 黄芪组、三七组、黄芪三七组神经元坏死率均减小, 其中黄芪三七组的差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

以上结果表明, 黄芪三七药对可改善CIRI大鼠脑组织病理损伤, 减轻神经元的坏死, 疗效优于黄芪、三七单药。

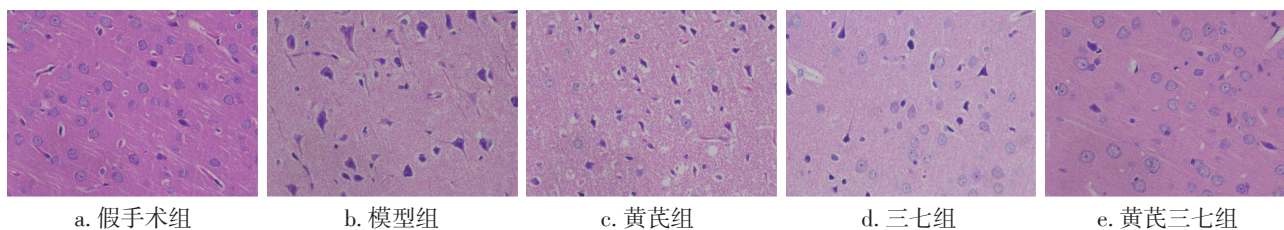


图1 各组大鼠脑组织病理形态学变化比较(HE染色法, ×400)

Figure 1 Comparison of pathological features of rat brain tissues in various groups (by HE staining, ×400)

表2 各组大鼠脑组织神经元坏死率的比较

Table 2 Comparison of necrosis rate of neurons in brain tissues in various groups ($\bar{x} \pm s$)

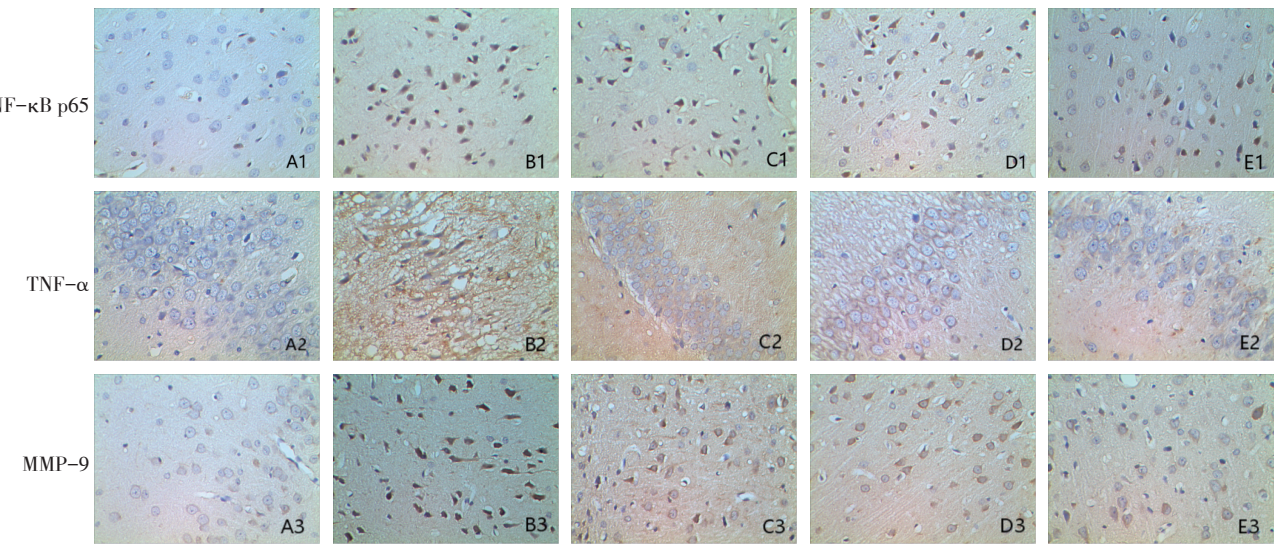
组别	鼠数(只)	神经元坏死率(%)
假手术组	3	2.50 ± 0.50
模型组	5	47.72 ± 9.51^{①}
黄芪组	4	41.53 ± 17.46^{①}
三七组	4	39.90 ± 16.41^{①}
黄芪三七组	4	25.23 ± 16.48^{②}

① $P < 0.05$, 与假手术组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

2.3 各组大鼠脑组织NF- κ B p65、TNF- α 、MMP-9表达比较 与假手术组比较, 模型组、黄芪组、三七组、黄芪三七组大鼠脑组织中NF- κ B p65、TNF- α 与MMP-9的表达水平均明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 3个治疗组中的NF- κ B p65与TNF- α 表达水平均有所下降, 其中黄芪三七组

的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。表明黄芪三七药对可抑制CIRI大鼠脑组织的炎症反应, 疗效优于黄芪、三七单药。与模型组比较, 3个治疗组MMP-9的表达水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 而与三七组比较, 黄芪三七组MMP-9的表达水平更低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。表明黄芪与三七配伍对抑制CIRI大鼠脑组织MMP-9的表达具有协同增效的作用。具体结果见图2、表3。

2.4 各组大鼠脑组织神经元凋亡情况比较 与假手术组比较, 模型组、黄芪组、三七组、黄芪三七组大鼠脑组织可见大量神经元坏死, 神经细胞凋亡率明显升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 3个治疗组神经细胞凋亡率不同程度下降, 其中, 三七组、黄芪三七组的差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 黄芪组差异无统计学意义($P > 0.05$)。以上结果说明, 黄芪三七配伍可有效抗CIRI大鼠脑组织神经元凋亡, 疗效优于黄芪、三



A1 ~ A3: 假手术组; B1 ~ B3: 模型组; C1 ~ C3: 黄芪组; D1 ~ D3: 三七组; E1 ~ E3: 黄芪三七组

图2 各组大鼠脑组织NF-κB p65、TNF-α与MMP-9阳性细胞分布(免疫组织化学法, ×400)

Figure 2 Comparison of distribution of cells with NF-κB p65, TNF-α, MMP-9 positive expression in brain tissues in various groups (by immunohistochemical method, ×400)

表3 各组大鼠脑组织中NF-κB p65、TNF-α、MMP-9积分光密度值的比较

Table 3 Comparison of IOD of NF-κB p65, TNF-α, MMP-9 in brain tissues in various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	NF-κB p65	TNF-α	MMP-9
假手术组	3	2.28 ± 0.07	2.55 ± 0.85	4.60 ± 0.13
模型组	6	25.39 ± 8.08 ^①	22.17 ± 9.45 ^①	72.87 ± 13.68 ^①
黄芪组	6	23.11 ± 8.00 ^①	20.43 ± 6.48 ^①	44.74 ± 16.36 ^{①③}
三七组	6	22.07 ± 8.47 ^①	19.48 ± 4.60 ^①	55.25 ± 17.15 ^{①②}
黄芪三七组	6	15.54 ± 5.90 ^{①②}	13.15 ± 2.13 ^{①③}	37.74 ± 10.71 ^{①③④}

①P < 0.05, 与假手术组比较; ②P < 0.05, ③P < 0.01, 与模型组比较; ④P < 0.05, 与三七组比较

七单药。见图3、表4。

3 讨论

脑缺血再灌注损伤(CIRI)是脑血流再灌注治疗后常见的临床病理过程, 可导致脑梗死面积增大、脑水肿加重、脑出血转化等并发症, 严重影响患者的预后。深入探讨CIRI的机制、寻找有效的防治措施, 减少再灌注损伤导致的严重并

症, 对于提高其整体临床疗效具有重要意义。CIRI的发病机制复杂, 涉及多个环节的相互作用, 炎症级联反应作为CIRI的重要环节可能发挥关键作用^[6]。在脑组织发生缺血再灌注时, 神经系统固有的小胶质细胞被快速激活, 释放氧自由基以及多种促炎介质, 诱导黏附因子的表达, 促进外周血中的白细胞粘附并跨内皮细胞迁移。白细胞释放大量的促炎症介质, 如NF-κB、TNF-α、

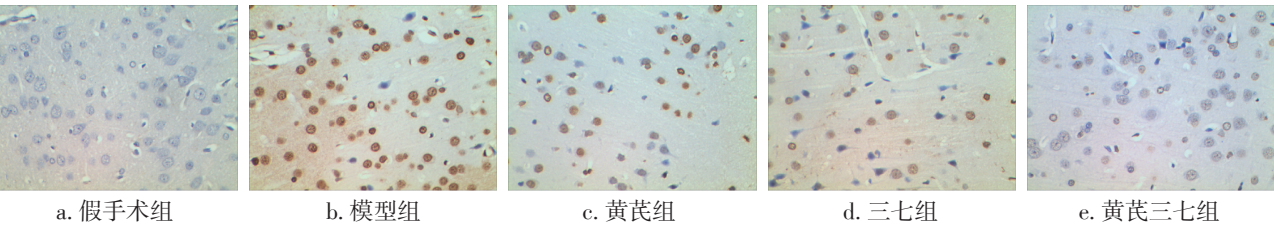


图3 各组大鼠脑组织凋亡神经元分布比较(TUNEL法, ×400)

Figure 3 Comparison of distribution of neurons in brain tissues in various groups (by TUNEL assay, ×400)

表4 各组大鼠脑组织神经元凋亡率比较

Table 4 Comparison of apoptosis rate of neurons in brain tissues in various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	神经元凋亡率(%)
假手术组	3	3.75 ± 0.38
模型组	6	48.91 ± 7.55 ^①
黄芪组	5	40.89 ± 5.27 ^①
三七组	6	38.86 ± 4.33 ^{①②}
黄芪三七组	6	34.91 ± 9.00 ^{①③}

① $P < 0.05$, 与假手术组比较; ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$, 与模型组比较

IL-1 β 等。不同的炎症因子之间通过级联反应失控性释放,形成“瀑布效应”,加剧局部炎症反应,最终导致血脑屏障的破坏、脑水肿、神经元的坏死以及出血转化^[7]。

NF- κ B和TNF- α 被认为是CIRI中的强效炎症因子,是炎症级联反应的始动因素^[8-9]。CIRI发生后,存在于多种细胞中的“静息态”NF- κ B被激活,与促炎基因的启动子结合,诱导TNF- α 、IL-1及MMP-9等炎症介质的转录^[8],促进炎症细胞的粘附与浸润。这些炎症介质反过来又成为NF- κ B的激活因素,通过正反馈作用形成恶性循环,使炎症反应不断加剧。此外,活化的NF- κ B还可通过与凋亡相关基因结合、诱导促凋亡信号释放促进神经元的凋亡^[9]。TNF- α 是CIRI时主要由浸润的免疫细胞与受损细胞分泌的细胞因子,具有多效促炎性及神经毒性作用^[10]。它通过刺激内皮细胞、神经胶质细胞等,诱导其他炎症细胞因子的合成、分泌与释放,同时,可激活磷脂酶,水解神经元细胞膜而造成神经元的损伤,并上调基质金属蛋白酶(MMPs),增加毛细血管通透性。

血脑屏障破坏是CIRI关键的病理改变。大量研究报道,血脑屏障功能障碍导致的脑水肿、出血转化等可造成脑卒中预后不良^[11]。除了炎症因子大量表达造成激烈的炎症反应损伤内皮细胞,对血脑屏障造成直接的损伤外,MMP-9在这一过程中亦发挥了关键性作用。已有大量研究^[12]表明,MMP-9与CIRI密切相关。脑缺血再灌注后,NF- κ B、TNF- α 及INF- γ 可以在基因转录水平上调MMP-9的表达^[13-14]。MMP-9通过降解血脑屏障基膜的层黏蛋白和纤黏蛋白成分,破坏血脑屏障的结构,引起血脑屏障通透性增加。血脑屏障的

完整性受损,不仅导致血管源性水肿,还可能加速和诱导炎症细胞的进一步浸润以及炎症因子的释放,放大损伤部位的炎症级联反应。

CIRI归属于中医学“中风”范畴,基本病机为阴阳失调,气血逆乱。历代医家对中风病发病机制的阐述中,尤其重视“虚”与“瘀”两大因素,又以气虚血瘀为最主要的病理机制,故益气活血法是治疗中风病的基本大法^[15]。中医医家历来重视配伍使用药物以达增效减毒等作用。药对作为方剂的最小单位,因组分相对较少,配伍结构简单,便于深入的科学研究而备受关注。黄芪三七药对以“补气圣药”黄芪与“活血要药”三七相配伍,既补气以助血行,又化瘀生新使气血畅通,符合中风病益气活血之治法。现代药理研究证明,黄芪与三七的有效成分具有抗炎、抗氧化、改善能量代谢障碍等作用,在脑血管疾病中发挥一定的神经保护作用^[16]。李静娴等^[2]发现,使用黄芪与三七有效成分配伍治疗CIRI大鼠,可延长药物在其体内的滞留时间,使生物利用度增加,达到协同增效的作用。本研究发现,MCAO大鼠在脑缺血再灌注24 h后,脑组织中NF- κ B、TNF- α 、MMP-9的表达水平显著升高,缺血区域的炎症反应、病理损伤明显,同时伴有大量神经元的坏死与凋亡。给予黄芪三七配伍治疗后,NF- κ B、TNF- α 、MMP-9的表达水平皆明显降低,且神经元的坏死与凋亡现象、神经功能缺损症状显著改善,且改善作用优于黄芪、三七单药。

既往有学者以黄芪、三七的有效成分配伍研究其药理作用,尚未能很好地具体指导临床上黄芪三七药对的实际应用。本研究根据临床广泛使用的黄芪、三七按照3:1配伍的经验基础上,采用黄芪三七汤剂灌胃对CIRI大鼠进行干预,且使用剂量与临床用药剂量相近,以期对临床实践有较大幅度的指导意义。结果发现,单味黄芪或三七对NF- κ B、TNF- α 、MMP-9的表达抑制作用不显著,但两药联合使用时,却可有效地降低NF- κ B、TNF- α 、MMP-9的表达,改善大鼠神经功能症状、脑组织缺血坏死。提示对于病机复杂的中风病,单独进行活血或益气治疗效果欠佳,益气活血药对配伍使用则能发挥“1+1>2”的效应,对于减轻CIRI的炎症级联反应具有协同增效作用,优于单药使用。

综上所述,黄芪三七药对具有减轻大鼠CIRI的作用,其机制可能与降低促炎介质的表达与释放,抑制炎症级联反应,减少神经元的坏死与凋亡有关。益气活血药对黄芪与三七的配伍使用,对于CIRI、脑水肿及出血转化等脑梗死并发症的早期防治具有重要意义,本研究结果为临床提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 钟原,王本国,杨楠,等.黄芪三七汤对心源性脑栓塞致MMP-9升高及其出血转化的临床研究[J].中医临床研究,2018,10(4):4-6.
- [2] 李静娴,杨筱倩,唐标,等.黄芪甲苷和三七总皂苷配伍抗大鼠脑缺血再灌注损伤及其药动学的研究[J].中国中药杂志,2017,42(19):3786-3794.
- [3] 张国倩,徐士欣,刘运德.缺血再灌注损伤大鼠脑组织及外周血炎症细胞因子分析[J].中国卫生检验杂志,2019,29(6):654-657.
- [4] 卢金冬.黄芪和三七主要有效成分配伍对小鼠脑缺血/再灌注后炎症反应的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2015.
- [5] 任周新,孙建宁,罗永明,等.三七总皂苷合用黄芪总皂苷对MCAO再灌注大鼠脑组织NF- κ B表达的抑制作用[J].中国中药杂志,2009,34(14):1869-1872.
- [6] CHEN Y, ZHANG L, NI J, et al. LLDT-8 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by suppressing post-stroke inflammation[J]. J Pharmacol Sci, 2016, 131(2): 131-137.
- [7] LAKHAN S E, KIRCHGESSNER A, HOFER M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches [J]. J Transl Med, 2009, 7: 97.
- [8] RIDDER D A, SCHWANINGER M. NF- κ B signaling in cerebral ischemia[J]. Neuroscience, 2009, 158(3): 995-1006.
- [9] ZHANG Q, HUANG W D, LYU X Y, et al. Ghrelin protects H9c2 cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis through NF- κ B and mitochondria-mediated signaling[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 654(2): 142-149.
- [10] 吕敬雷,王鹏,隋雪琴,等.缺血后处理对脑缺血再灌注大鼠TNF- α 和IL-1 β 表达影响[J].齐鲁医学杂志,2012,27(4):319-322.
- [11] KIM T, KOO J, KIM S, et al. Blood-brain barrier permeability assessed by perfusion computed tomography predicts hemorrhagic transformation in acute reperfusion therapy [J]. Neurological Sciences, 2018, 39(9): 1579-1584.
- [12] PICCARDI B, BIAGINI S, IOVENE V, et al. Blood biomarkers of parenchymal damage in ischemic stroke patients treated with revascularization therapies [J]. Biomarker Insights, 2019, 14: 2138405462.
- [13] ZHU X, LIU Q, WANG M, et al. Activation of Sirt1 by resveratrol inhibits TNF- α induced inflammation in fibroblasts[J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27081.
- [14] JANG J W, LEE J K, LEE M C, et al. Melatonin reduced the elevated matrix metalloproteinase-9 level in a rat photothrombotic stroke model[J]. J Neurol Sci, 2012, 323(1-2): 221-227.
- [15] 李祥,杨文明.缺血性中风气虚血瘀证理论探讨[J].中医药临床杂志,2015,27(5):601-603.
- [16] 孟胜喜,霍清萍,王兵,等.中药有效成分对缺血性脑血管病作用研究进展[J].中国中医药信息杂志,2015,22(12):130-134.

【责任编辑:侯丽颖】