

宽叶缬草治疗局灶性脑缺血的实验研究*

王云甫¹, 严洁¹, 罗国君¹, 孙圣刚², 何国厚¹

(1. 郧阳医学院附属太和医院神经科, 湖北 十堰 442000; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院神经科)

【摘要】 目的 探讨宽叶缬草对局灶性脑缺血的影响。方法 60只健康、雄性 Wistar 大鼠分为正常组、假手术组、大脑中动脉闭塞组(MCAO组)、对照组(NS组)、宽叶缬草组(VOL组),制作可复流大脑中动脉闭塞大鼠模型。NS组、VOL组大鼠大脑中动脉闭塞后2h分别以生理盐水及宽叶缬草灌胃,每8h1次;术后第5d进行Nissl、TTC染色及脑梗死体积比测定。结果:VOL组的脑梗死体积比显著低于MCAO组;VOL组海马各区及大脑皮层神经元损伤轻,丢失相对较少。结论:宽叶缬草可以减轻局灶性脑缺血后脑组织病理学损害,具有脑保护作用。

【关键词】 脑梗死;神经保护剂;宽叶缬草;大鼠

【中图分类号】 R743.31 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1001-2001(2004)03-0137-02

Effects of Valeriana Officinalis Var Latifolia Miq in the Treatment of Cerebral Infarction in Rats WANG Yun-fu, YAN Jie, LUO Guo-jun, et al. Department of Neurology, Taihe Hospital of Yunyang Medical College, Shiyan 442000, China.

【Abstract】 Objective: To evaluate the effect of Valeriana officinalis var latifolia miq (VOL) on brain injury in experimental reversible middle cerebral artery occlusion (MCAO). Methods: Eighty male Wistar rats were randomly divided into 5 groups: normal group, sham operation group, MCAO group, MCAO + normal saline group (NS group) and MCAO + VOL group (VOL group). MCAO rats were induced by intraluminal suture occlusion. The drugs, such as VOL or normal saline, were administered through gastrogavage at second h after MCAO in NS group and VOL group, once every 8 h. The rats were sacrificed on 5th day after MCAO. Then Nissl staining and TTC staining were performed. The numerical density (ND) of Nissl staining neurons and the percent of infarction volume in hemisphere volume were measured by CIAMS image analysis system. Results: The percent of infarction volume in hemisphere volume was markedly reduced in VOL group (31.34 ± 6.55) as compared with MCAO group (48.97 ± 7.21). The ND of Nissl staining neurons in hippocampal and cortex were decreased significantly after MCAO, and the neuron loss was greatly alleviated after the treatment with VOL. Conclusion: VOL could attenuate the neuron damage induced by MCAO and play a brain protective role against ischemic injury.

【Key words】 cerebral infarction; neuroprotection; Valeriana officinalis var latifolia miq; rat

宽叶缬草(Valeriana officinalis var latifolia miq, VOL)为多年生草本植物,具有镇静、止痛等作用^[1]。本文选用大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)动物模型,通过采用VOL治疗后,检测MCAO的梗死体积及神经元数目的变化,探讨VOL对局灶性脑缺血的治疗作用。

1 材料与方法

1.1 材料 健康、雄性 Wistar 大鼠 60 只,体重 280 ~ 350 g,分为正常组 6 只、假手术组 6 只、MCAO 组 16 只、MCAO + 生理盐水灌胃组(NS组)16 只及 MCAO + VOL 灌胃组(VOL组)16 只。

1.2 方法 ①模型制作 除正常组外,其余组大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉成功后,采用 Longa^[2]线栓法成功制作可复流 MCAO 大鼠模型,手术在 30 min 内完成。MCAO 后 2 h 将丝线小心拔出约 10 mm。假手术组插线时不将尼龙单丝线送入大脑中动脉开口处,而只到达颅底。②治疗: MCAO 后 2 h, VOL 组以 VOL 酊剂 1 ml 酊剂相当于生药 500 mg)1 ml/kg 及生理盐水稀释至 3 ml 灌胃, NS 组仅以生理盐水 3 ml 灌胃,均每 8 h 1 次,治疗 5 d;正常组、假手术组及 MCAO 组大鼠均不作任何治疗。③标本采集:氯化三苯四氮唑(2,3,5 triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色及脑组织取材^[3], MCAO 后第 5 d,每组各 10 只大鼠以 1% 戊巴比妥钠腹腔麻醉后,迅速断头取脑,均匀切成 2 mm 厚的脑片(发生蛛网膜下腔出血及成活时间 < 3 d 除外)

【基金项目】 * 湖北省教育厅重点资助项目(99A115)

【收稿日期】 2003-10-23

【作者简介】 王云甫(1971-),男,副主任医师,主要从事神经免疫的临床与基础研究。

放入 37℃ 的 TTC 染液中染色 30 min, 待用; Nissl 染色, 各组余下大鼠以 4% 多聚甲醛灌注固定取脑, 石蜡包埋。将已脱蜡入水的石蜡切片置 CVTMT 混合 Nissl 染液中, 室温下 12h 后, 脱水、透明、中性树脂封片, 待用。

1.3 检测指标 ①TTC 染色及梗死体积比测定: 应用 CIAMS 图像分析系统对 TTC 染色进行定量分析, 结合脑组织片的厚度, 计算梗死灶占半球体积的百分比。②Nissl 染色结果分析: 应用 CIAMS 图像处理系统进行图像分析, 测出每个视野神经元的数密度值。

1.4 统计学处理 数据应用 SPSS 10.0 软件处理, *F* 及 *q* 检验。

2 结果

2.1 TTC 染色及脑梗死体积比 本文成功制作 48 只可复流 MCAO 大鼠模型, 术后 2 h 进行神经功能缺损评分, 均提示有不同程度的神经功能缺损。术后第 5 d, MCAO 组、NS 组及 VOL 组各 10 只进行 TTC 染色, 均有大小不同的梗死区呈苍白色, 梗死体积 VOL 组显著低于 MCAO 组, 而 MCAO 组与 NS 组之间差异无显著性, 见表 1。

2.2 Nissl 染色结果比较 正常组海马各区神经元排列规则, 形态完整, 经 Nissl 染色后, 尼氏体清晰可见; MCAO 组海马各区(尤其是 CA₁ 区)神经细胞肿胀、排列散乱, 尼氏体消失, 数密度下降; VOL 组神经元肿胀减轻, 细胞轮廓相对清晰, 海马各区及大脑皮层神经元的数密度值较 MCAO 组均有不同程度的增高, 但仍低于正常组; 而 NS 组海马各区及大脑皮层的数密度值与 MCAO 组比较差异无显著性, 见表 2。

表 1 各组脑梗死体积的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	<i>n</i>	脑梗死体积/半球体积(%)
MCAO 组	10	48.97 ± 7.21
NS 组	10	49.61 ± 6.69
VOL 组	10	31.34 ± 6.55 ^①

与 MCAO 组比较^①*P* < 0.05

表 2 各组海马区及大脑皮层神经元的数密度比较

$\bar{x} \pm s, \times 10^{-4} \mu\text{m}^2$

组别	<i>n</i>	CA ₁	CA ₃	CA ₄	DG	Cor
正常组	12	11.2 ± 2.5	19.3 ± 5.9	11.5 ± 4.1	20.5 ± 7.6	12.7 ± 4.3
假手术组	12	10.7 ± 3.5	18.6 ± 5.8	12.2 ± 3.6	21.7 ± 7.6	12.3 ± 4.0
MCAO 组	12	6.2 ± 2.0 ^①	10.1 ± 5.9 ^①	8.2 ± 3.0 ^①	13.4 ± 5.7 ^①	6.4 ± 3.8 ^①
NS 组	12	6.7 ± 2.3	10.6 ± 3.5	8.2 ± 2.2	14.4 ± 6.1	6.7 ± 3.5
VOL 组	12	9.6 ± 2.4 ^②	15.6 ± 5.3 ^③	10.9 ± 2.7 ^③	18.1 ± 6.3	10.9 ± 3.3 ^②

n 表示所观察的视野数, 与正常组及假手术组比较^①*P* < 0.05, 与 MCAO 组比较^②*P* < 0.01, ^③*P* < 0.05

3 讨论

中医认为急性缺血性脑血管病发生机制为“痰瘀阻络”, 对各型脑梗死均强调早期化痰通络的治疗原则。本文 VOL 组的脑梗死体积比显著低于 MCAO 组, 海马各区及大脑皮层神经元的数密度值较 MCAO 组均有不同程度的增高; 而 NS 组的脑梗死体积比、海马各区及大脑皮层神经元的数密度值均与 MCAO 组差异无显著性。表明 VOL 可以减轻局灶性脑缺血后脑组织病理学损害, 减少神经元的丢失, 具有脑保护作用。

VOL 属败酱科草植物, 含有多种有效成分, 如缬草醇、缬草酮、缬草二醇乙酸酯, 根及根状茎制成药片或挥发油有行气、活血、解痉等作用^[1,4]。近年来的研究表明 VOL 具有清除氧自由基, 保护血管内皮细胞, 抑制平滑肌细胞增殖等作用^[5]。薛存宽等^[6]在鼠脑微循环衰竭的模型上发现 VOL 能降低血管的通透性、抑制红细胞聚集、改善微循环。急性脑梗死治疗的焦点就是挽救缺血半暗带, 半暗带神经元损伤涉及到兴奋毒性、梗死周围去极化、炎症、程序性死亡等机制。现在认为参与脑缺血损伤的分子机制有兴奋性氨基酸的释放、钙离子稳态失衡、自由基的形成、蛋白酶的激活、基因表达的改变等^[7,8]。VOL 对局灶性脑缺血后的神经保护作用可能与清除氧自由基、保护血管内皮细胞、改善微循环等有关, 其确切的作用机制尚待进一步的研究。

【参考文献】

[1] 陈训. 宽叶缬草研究[M]. 贵州: 贵州科技出版社, 1997. 77 - 77.

[2] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rat[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84 - 91.

[3] Rederson JB, Pitts LH, Germano SM, et al. Evaluation of 2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats[J]. Stroke, 1986, 17(6): 1304 - 1308.

[4] 鄢建坤, 屈会化, 栾新慧. 缬草属植物化学成分及药理研究概况[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(10): 729 - 733.

[5] 任世兰, 于龙顺, 裴宁. 宽叶缬草对平滑肌和心血管的药理研究[J]. 中草药, 1982, 13(3): 23 - 24.

[6] 薛存宽, 蒋彦章, 胡富河, 等. 神农缬草挥发油改善微循环防治急性肺水肿、抗心肌缺血及减少心肌梗塞范围的实验研究[J]. 医学研究通讯, 1988, 17(2): 43 - 46.

[7] 廖维靖. 脑缺血损伤的病理生理机制——损伤级联反应[J]. 国外医学·脑血管疾病分册, 1998, 4(4): 197 - 202.

[8] 颜建云, 吴伟康. 脑缺血损伤的分子机制研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(3): 423 - 426.