

卒中散对脑出血大鼠抓握能力的改善及血清 S100B 水平的影响

范录平¹ 叶华¹ 郭蕾² 张有超¹

(1 浙江省温州市第三人民医院 温州 325000; 2 温州医学院附属第二医院 浙江温州 325000)

摘要:目的:探讨卒中散对脑出血大鼠抓握能力的改善及血清 S100B 水平的影响,为其临床应用提供理论依据。方法:40 只 SD 大鼠随机分成假手术组、手术组、卒中散组、脑复康组,参照 Rosenberg 法制作大鼠脑出血模型,造模第 2 天测定大鼠抓握能力,用 ELISA 法检测造模后 24h 及 48h 血清 S100B 水平。结果:(1)卒中散组大鼠抓握能力明显好于手术组,两者比较有显著差异($P<0.05$)。(2)卒中散组大鼠血清 S100B 水平明显低于手术组,两者比较有显著差异($P<0.05$)。结论:卒中散能明显改善脑出血大鼠抓握能力,降低血清 S100B 水平,具有神经保护作用。

关键词:卒中散;脑出血;大鼠;动物模型;S100B;实验研究

Abstract: Objective: to investigate the Improvement of Hold-abilities of Zuzhong-powder on the intracerebral hemorrhage(ICH) rats and its effect on the serum levels of S100B protien.to provide theory basis for its clinical application. Methods: 40 SD rats were randomly divided into sham-operation group,operation group,Zuzhong-powder group,Piracetam group,The ICH model of rats were made by Rosenberg method, S100B protien was detected by ELISA method at24h、48h. to examine the Hold-abilities of rats at the second day. Results: (1) Zuzhong-powder could significantly improve the Hold-abilities of ICH rats ,comparing to the operation group ($P<0.05$). (2) The serum levels of S100B protein of Zuzhong-powder was significantly lower compared to the operation group ($P<0.05$).Conclusion: Zuzhong-powder can significantly improve the Hold-abilities of ICH rats,to decrease the serum levels of S100B protein,and protect the intracerebral nerves.

Key Words: zuzhong-powder; intracerebral hemorrhage;S100B;SD rat;rat model;experimental study

中图分类号: R 743.34

文献标识码: B

文献编号: 1671-4040(2007)02-0009-02

脑出血是中老年人的常见脑血管病,占全部脑卒中的 20%~30%,具有高发病率、高复发率、高致残率、高死亡率、低治愈率的特点,以往临床治疗多主张止血为主,而国内近年在对脑出血的临床与实验研究中取得很大进展。中医学在“瘀血不去,出血不止,新血不生”理论指导下,大胆引入中药活血化瘀法治疗脑出血,取得了令人瞩目的成绩。S100B 是 Moore^[1]于 1965 年首先从牛脑中提取的一种酸性蛋白,因其中性饱和硫酸铵中可完全溶解而得名,由 α 和 β 2 个亚单位组成,相对分子量是 20~25KD,属钙组合蛋白,具有重要的生物活性。它广泛分布于神经系统胶质细胞,血清含量少较难检出,而在血脑屏障破坏时血清水平可大量提高,可作为神经损伤的标志。卒中散由水蛭、大黄、地龙等组成,具有活血化瘀、利尿消肿的功效,是在中医治疗中风的理论指导下

杂志,1996, 16(10): 639

[7]张喜平.大黄素的药理作用研究概况[J].中国药理学通报,2003,19(8): 851~854

[8]Chang LC,Sheu HM,Huang YS,et al.A novel function of emodin : enhancement of the nucleotide excision repair of UV- and cisplatin-induced DNA damage in human cells [J].Biochem Pharmacol, 1999,58(1): 49

[9]黄涛,卢宏达,费雁,等.黄芪防护高剂量顺铂所致肾毒性的动物实验[J].中国医院药学杂志,1999, 19(11): 647

[10]刘文,陈军,贾彦焱,等.黄芪注射液对顺铂化疗肾毒性减毒增效作用的临床观察[J].天津中医学院学报,2001, 20(4): 12~14

[11]孔庆志,黄涛,费雁,等.黄芪对大剂量顺铂所致肾毒性防护的临床研究[J].中国肿瘤临床与康复, 1999,6(3): 9~10

[12]刘美彦,侯凤英,王军芬,等.黄芪注射液对预防顺铂致早期肾损害的临床观察[J].中成药,2001,23(4): 367

[13]郑丰,杨俊伟,黎磊石.冬虫夏草治疗肾毒性急性肾功能衰竭[J].中国病理生理杂志,1994,10(3): 314~318

[14]陈妍,何伟民.冬虫夏草对顺铂所致肾损害保护的临床观察 - 附

下,经临床实践总结出的一个有效方剂。本实验旨在为其临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组及给药方法 健康雄性 SD 大鼠 40 只,体重(320 $\pm$ 30)g,随机分成假手术组、手术组、卒中散治疗组及脑复康对照组,卒中散治疗组按生药 1g/100g 体重灌胃,脑复康按 1g/kg 体重灌胃,假手术组及手术组每天以生理盐水灌胃,3mL/次,连续灌胃 10d 后建立动物模型,造模后第 2 天观察大鼠抓握能力,并检测手术后 24h 及 48h 血清 S100B 水平。

1.2 动物模型的建立 参照 Rosenberg 法^[2]制作大鼠脑出血模型,用 10%水合氯醛腹腔注射(3mL/kg 体重),麻醉后固定于脑立体定向仪,切开额顶部中线皮肤,暴露颅骨,以前囟为

42 例临床数据[J].江苏中医药,2003,24(12): 15~16

[15]黄穗,陈福雄,陈涛.尿微量蛋白联合尿酶检测对早期肾损害诊断初步探讨[J].广州医学院学报, 2002,30(1): 68~69

[16]欧阳涓,姜悦.肾脏的损伤性诊断[J].中华检验医学杂志, 2005, 28(8): 877~878

[17]朱新兴,王永文,郑红英,等.肾小管损害各种早期诊断指标的评价[J].检验医学,2005,20(3): 271~273

[18]徐琴,徐笑红,范云,等.肺癌患者大剂量顺铂疗法前后血尿 β_2 微球蛋白变化观察[J].肿瘤研究与临床,2002, 14(1): 31~32

[19]林青,阮诗玮,许少锋,等.尿微量蛋白联合尿酶诊断肾脏早期损伤[J].中华医学检验杂志,1999,22(1): 23~25

[20]任莉,周清华,邱萌,等.顺铂肾毒性的早期诊断[J].癌症,2000,19(8): 789~791

[21]Soejima A,Inoue t,Suzuki M, et al. Clinical investigation of cis-platinum nephrotoxicity in 249 case of primary lung cancer [J]. The Japanese Journal of Nephrology,1992,34 (7): 801

(收稿日期: 2006-10-30)

中心,向右旁开 2.9mm,向后 0.2mm,在颅骨表面钻孔,用微量进样器垂直插入脑组织,深度 6.0mm(尾状核位置),用推进器注入含胶原酶Ⅶ的生理盐水 2μL,留针 15min 退针,缝合皮肤,每天用青霉素肌注抗感染。假手术组不注入药物。

1.3 观察指标

1.3.1 抓握能力评估 参照 Rosenberg 法进行抓握能力评估,采用长 20cm、高 20cm 无盖铁笼测试。Ⅰ级,不能攀高,不能抓东西;Ⅱ级,不能攀高,但能抓东西;Ⅲ级,能攀高但抓而不牢;Ⅳ级,能攀高,抓而不牢,但较有抵抗力;Ⅴ级,活动敏捷,攀越近于正常。

1.3.2 血清 S100B 测定 造模后 24h 及 48h 抽取大鼠股动脉血清,采用酶联免疫吸附法测定血清 S100B 水平,试剂盒购自美国 Sigma 公司。

1.4 统计学处理 所有数据均采用 SPSS 10.0 统计软件包进行统计,计量资料均以均数±标准差($\bar{X} \pm S$)表示,计量资料多组间比较用 F 检验,其中两组比较用 q 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义;等级资料用 Ridit 分析。

2 结果

2.1 大鼠抓握能力 实验结果表明卒中散组脑出血大鼠的抓握能力明显好于手术组,两者比较有显著差异($P < 0.05$),且优于脑复康组,两者比较有显著差异($P < 0.05$),如表 1 所示。

表 1 各实验组大鼠抓握能力的评定 例

组别	n	程度					R 值
		Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级	Ⅳ级	Ⅴ级	
假手术组	10	0	0	0	7	3	0.84
手术组	10	2	2	6	0	0	0.32
卒中散组	10	0	3	4	3	0	0.47**
脑复康组	10	1	3	5	1	0	0.37

注:与手术组比较,有显著差异,* $P < 0.05$;与脑复康组比较,有显著差异,** $P < 0.05$ 。

2.2 大鼠血清 S100B 水平 假手术组手术后 24h 及 48h 血清 S100B 测不出,而手术组手术后 24h 及 48h 血清 S100B 浓度明显升高,脑复康组手术后 24h 及 48h 血清 S100B 浓度亦明显升高,两者之间比较无显著差异($P > 0.05$),卒中散组手术后 24h 及 48h 血清 S100B 浓度亦升高,但比手术组明显降低,两者比较有显著差异($P < 0.05$),亦较脑复康组降低,两者比较有显著差异($P < 0.05$),如表 2 所示。

表 2 各实验组大鼠血清 S100B 水平 ($\bar{X} \pm S$) μg/L

组别	n	手术后 24h	手术后 48h
假手术组	10	—	—
手术组	10	1.120± 0.326	0.965± 0.326
卒中散组	10	0.531± 0.152**	0.415± 0.121**
脑复康组	10	0.986± 0.287	0.841± 0.326

注:与手术组比较,有显著差异,* $P < 0.05$;与脑复康组比较,有显著差异,** $P < 0.05$ 。

3 讨论

脑出血是一种常见多发病,致残率及病死率高,目前尚无特效治疗方法,中医学将脑出血归于“中风”范畴,病机不外虚(阴虚、气虚)、火(肝火)、风(肝风、外风)、痰(风痰)、气(气逆)、血(血瘀)六端,其中中医尤其重视“瘀血”的致病作用。现代医学也证明脑出血急性期即有“瘀血”的病理改变:

(1)血小板聚集性增高,(2)血液黏稠度增高,(3)血液流动性下降。这些变化均可导致病情加重,而脑水肿的发生是其一个重要的病理环节,中医学在“瘀血不去,出血不止,新血不生”理论指导下,大胆引入中医药活血化瘀法治脑出血,取得了令人瞩目的成绩。卒中散由水蛭、大黄、地龙等组成,具有活血化瘀、利尿消肿的功效。水蛭含水蛭素,是目前最强的凝血酶抑制剂,有较强的抗凝血作用而无出血之弊,可减轻脑组织炎性反应和水肿^[3]。大黄具有活血祛瘀、泻火解毒的功效,现代医学证明其有降血压、缩短凝血时间、防止再出血的功能^[4]。地龙清热息风,通络利尿,与水蛭、大黄相配可加强祛瘀止血、通络消肿的作用,止血而不留瘀。

S100B 是神经组织蛋白的一种,具有重要的生物活性:

(1)调节蛋白激酶 C 和钙调蛋白的磷酸化及 RNA 的合成;(2)作为细胞内正常成分参与细胞内外钙离子水平的调节;(3)增强 ATP 酶的活性,构成与维持由磷脂构成的细胞膜表面,参与微管、微丝的解聚;(4)直接作用于神经元起到神经轴突延长因子(NAF)和神经营养因子(NTF)的作用;(5)动物实验研究发现,它在学习、记忆过程中也起到重要作用。在哺乳动物中,S100B 主要分布于中枢神经系统和周围神经系统的星型胶质细胞、雪旺细胞、某些神经元细胞、黑色素瘤细胞、软骨细胞和皮肤朗格汉斯细胞等^[5]。正常成人血清 S100B 浓度小于 0.2μg/L,通常较难检出,其浓度与脑组织损伤、恶性肿瘤等有关,并受细胞因子调节。脑组织损伤相关因素为:(1)脑损伤的范围和严重程度;(2)巨噬细胞或蛋白酶降解程度;(3)血脑屏障被破坏的程度。脑损伤处于无症状的亚临床状态时,受损的神经胶质细胞就会释放 S100B 蛋白进入脑脊液,进而通过血脑屏障进入血液。因此血清 S100B 浓度升高可作为脑损伤的指标,有实验表明脑出血早期,血肿周围组织 S100B 反应阳性细胞明显增加,血清 S100B 浓度明显增高,1~3d 达峰值^[6]。因此早期检测血清 S100B 浓度可以预测脑损伤的程度,而其浓度的降低可作为药物治疗有效的检测指标。本实验卒中散组血清 S100B 浓度在出血后 24h 及 48h 皆明显低于手术组及脑复康组,与后两者比较差异有显著意义($P < 0.05$),说明卒中散能有效保护脑出血大鼠脑神经组织,在抓握能力的评定中,卒中散组与手术组及脑复康组比较差异也有显著意义($P < 0.05$),进一步说明了卒中散可改善脑出血大鼠的神经功能缺损症状。

参考文献

[1]Donato R.Perspectives in S-100protein biology [J]. Review article Cell Calcium,1991,12: 713~726
[2]Rosenberg A,Mun-Bryces,Wesley M,et al.Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats[J].Stroke,1990,21: 801
[3]黄泰康.常用中药成分与药理手册[M].北京:中国医药科学技术出版社,1994.260~646
[4]李仪奎.中药药理学[M].北京:中国中医药出版社,1992.82~144
[5]Michetti F,Cazzlo D.S100B protein in biological fluids: a tool for perinatal medicine [J].Clin Chem,2002,48(12): 2 097
[6]吴碧化,胡长林,王小明.大鼠脑出血后血肿周围组织和血浆 S100B 蛋白的表达[J].国际脑血管病杂志,2006,14(1): 57~60

(收稿日期: 2006-09-25)