DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.07.032
第23卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 7
2001年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2001

文章编号:1000-5404(2001)07-0821-03

论著

活血化瘀中药对脑挫裂伤的治疗作用及其机制的实验研究

童建国,王宪荣,朱 刚,冯 华 (第三军医大学附属西南医院神经外科,重庆 400038)

提 要:目的 验证活血化瘀中药对脑挫裂伤的治疗作用及其机制。方法 采用家兔自由落体致脑挫裂伤模型,观察活血化瘀中药对脑伤灶大小、病理改变,微血管构筑及血脑屏障通透性的影响。结果 活血化瘀中药可减小脑伤灶体积,防治微血栓形成,减轻间质及细胞水肿,改善微血管构筑和血脑屏障通透性。结论 活血化瘀中药能促进脑挫裂伤灶吸收,减轻脑水肿和神经细胞损害。其机制可能与通过多种途径改善微循环有关。

关键词:脑挫裂伤;血脑屏障;病理改变;活血化瘀
中图法分类号:R243;R642.05;R651.150.5 文献标识码:A

Experimental study on the therapeutic effect and mechanism of Huoxuehuayu-Mixture in contusion and laceration of the brain

TONG Jian-guo, WANG Xian-rong, ZHU Gang, FENG Hua (Department of Neurosurgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract **Objective** To investigate the therapeutic effect and its mechanism of Huoxuehuayu(HXHY)-Mixture a tranditional chinese medicine mixture for promoting blood circulation to remove blood stasis on hemorrhagic contusion and laceration of the brain (HCCL). **Methods** Contusion was made by inflicting on the right brain hemisphere of rabbits. At different time after trauma, the extension and the pathological changes of traumatic focus, permeability of blood-brain barrier(BBB), microvascular architecture were observed before and after the administration of HXHY. **Results** Smaller traumatic area, decreased ischemic pathological changes and thrombosis, and improved permeability of BBB and the cortical microvessel density and morhology were observed in the therapeutic group. **Conclusion** HXHY-Mixture could promote the absorption of the traumatic focus and reduce the brain edema and the damage of neurons in HCCL. The mechansim might be due to improved microcirculation of traumatic brain tissues by HXHY.

Key words: brain contusion and laceration; blood-brain barrer; pathologic change; Huoxuehuayu

脑挫裂伤主要病理损害是脑组织的碎化、出血、坏死、水肿和脑微血管栓塞,继而导致脑伤灶及周围组织进行性缺血、缺氧、酸中毒及脑细胞变性坏死,影响着伤情的转归和伤员的生存质量[1,2]。大量研究证实活血化瘀中药具有改善血液流变学性质、抗氧化及细胞保护、双向调节凝血-纤溶机制、降低毛细血管通透性、增强机体免疫功能和机体单核-巨噬细胞吞噬功能、调节血管舒缩等多方面的功效,且有作用平稳持久,副作用小及作用于多靶点的特点[3]。本课题通过动物实验对活血化瘀中药脑血康灵口服液在脑挫裂伤治疗中的确切疗效进行研究,并探讨其作用的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

1.1.1 动物 健康家兔100只,雌雄不拘,体重2.5~3 kg。由第三军医大学实验动物中心提供。

1.1.2 分组 实验动物分为对照组(假伤组)、致伤组、治疗组。致伤组及治疗组观察伤后3、7、15 d 3个时相点,测伤灶体积增加观察受伤当时及伤后21 d两个时相点,见表1。

表1 实验动物分组(只)

Tab 1 Grouping of animals

	0 d	3 d	7 d	15 d	21 d	Total
Traumatic group						
Volume of traumatic focus	4	4	4	4	4	20
Permeability of blood-brain barrier		3	3	3		9
Pathology		3	3	3		9
Microvascular architecture		3	3	3		9
Therapeutic group						
Volume of traumatic focus	4	4	4	4	4	20
Permeability of blood-brain barrier		3	3	3		9
Pathology		3	3	3		9
Microvascular architecture		3	3	3		9
Control	6					6
Total	14	26	26	26	8	100

1.2 实验器材及试剂

自由落体撞击器仿Feeney法[4]自制。恒冷箱冰冻切片机。光学显微镜。荧光显微镜(Olympus Bx-60型)。MIAS-400图像分析仪。

脑血康灵口服液:由桃仁、红花、川芎、赤芍、黄芪、茯苓、泽泻、当归等11味中药组成,由本院药剂科制成浓煎剂,每毫升相当于生药0.4 g。

1.3 动物模型制备

所有动物于实验前1周以2%戊巴比妥钠30 mg/kg耳缘静脉注射麻醉后,无菌操作下行胃造瘘术置内径2 mm硅胶管固定于背部。致伤组和治疗组动物致伤前如前法麻醉后俯卧固

作者简介:童建国(1965—),男,湖北省罗田市人,硕士,主治医师,讲师,主要从事颅内肿瘤及创伤的诊治方面的研究。电话:13068301003
收稿日期:2000-07-30;修回日期:2000-12-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

定在实验台上，中线右侧冠状缝后各2 mm作长2 cm直切口，剥离骨膜，用牙科钻行颅骨钻孔，并扩大骨窗至7 mm×7 mm，参照Feeney[4]自由落体撞击的方法，造成右顶叶脑挫裂伤。致伤面积5 mm×5 mm，打击深度5 mm，打击能量80×80 cm·g。致伤动物苏醒后原笼喂养。对照组除不用自由落体撞击外，其它步骤与上述相同。

1.4 治疗

治疗组动物伤后6 h即经胃造瘘管注入脑血康灵口服液，8 ml·kg^{-1}·d^{-1}，分3次给药。致伤组与对照组仅注入等量生理盐水。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 脑伤灶体积测定 动物在预定时相点快速断头处死，迅速完整取脑，3%福尔马林液中固定。冰冻切片机连续冠状切片，脑片厚度100 μm。国产MIAS-400图像分析仪测定脑片伤区面积，并计算整个脑伤灶体积。计算范围包括出血及细胞变性坏死区，不包括水肿带。

1.5.2 病理观察 动物断头处死后立即取右侧半脑投入10%福尔马林液中固定，于4 ℃保存。按常规石蜡包埋组织，冠状切片，厚5 μm。分别作HE，PTAH，尼氏体染色。光镜观察。

1.5.3 脑微血管构筑 标本取材固定保存同1.5.2，采用恒冷箱冰冻切片机连续切片，厚度为100 μm，按DAB法行微血管染色[5]。光学显微镜观察。

1.5.4 血脑屏障通透性观察[6] 在各时相点动物麻醉后，按50 mg/kg体重从耳缘静脉注入2%伊文思蓝(EB)，30 min后深麻下由左心室以生理盐水灌洗，压力10 kPa，至流出液无色为止(共约1 000 ml)。开颅取脑(右半球)立即置－40 ℃冰冻保存。恒冷箱冰冻切片机连续冠状切片。片厚30 μm，直接贴于载玻片，不封片，在Olympus BX-60荧光显微镜G激发状态下观察。

1.6 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示，采用t检验或χ^2检验。

2 结果

2.1 两组动物脑伤灶体积变化

致伤后两组动物伤灶体积基本一致($P>0.05$)具可比性。伤后3 d两组脑伤灶体积均增大，但致伤7 d以后治疗组脑伤灶体积减小，而致伤组伤灶体积继续增大，于第15天达最大，至21 d减小，两组于伤后第7、15、21天均相差显著($P<0.01$)，见表2。

表2 活血化瘀中药对家兔脑伤灶体积的影响(mm^3)

Tab 2 Effect of HXHY-Mixture on the volume of traumatic focus(mm^3)

	0 d(n=4)	3 d(n=4)	7 d(n=4)	15 d(n=4)	21 d(n=4)
Traumatic group	213.1±16.1	248.8±21.3	236.4±15.6 ##	282.6±22.4 ##	143.3±11.2 ##
Therapeutic group	212.6±15.8	256.2±19.8	155.4±16.8 **	83.5±9.8 **	1.4±3.6 **

**: $P<0.01$ *vs* traumatic group; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* 0 d

2.2 病理改变

HE染色：致伤组各时相点均可见脑组织出血，缺血表现：伤灶内可见红细胞堆积，至7 d以后溶解，伤道周围有散在出血。伤灶出血边缘可见间质水肿，染色变浅，神经细胞疏散；细胞间距增宽，胞浆空泡化。血管周围间隙增宽，血管内可见微血栓形成。缺血性改变以伤后第3、7天为重。治疗组上述病理改变较致伤组为轻，尤以第7天明显，并可见吞噬细胞明显增多。

尼氏体染色：伤后两组均有皮质神经元尼氏体减少，胞浆空泡化，细胞间隙增大，间质水肿，以伤后第3、7天明显。治疗组上述改变较轻，恢复较早。

PTAH染色：伤后第3天两组均见有蓝色血栓形成，为纤维素性，栓塞血管周围水肿明显。致伤组血栓较治疗组色深致密；7 d时致伤组仍有血栓，但较疏松；治疗组血栓消失。15 d时两组血栓均已溶解，同时血管周围水肿消退。

2.3 脑微血管构筑

正常对照组动物皮质血管密度较高，分布均匀，管径较一致，走行自然。伤后血管袢数目减少，分布不匀，血管部分扩张，畸形，血管内可见血细胞节段性聚集，部分血管血细胞串珠之间出现空白，以第3天明显，第7天开始恢复，至15 d血管密度仍较正常低。治疗组与致伤组比较上述改变较轻，7 d以后趋于正常。

2.4 血脑屏障通透性改变

正常对照组未见EB漏出。致伤后3 d见EB呈浸润性漏出，形成片状红色光团，与脑组织混杂。7 d以后见光团范围及数目减少，但至15 d仍有红色光团出现。治疗组EB光团较致伤组同时相点减少，尤以第7、15天明显，至第15天已偶见。

3 讨论

3.1 活血化瘀中药对实验动物脑伤灶体积变化的影响及意义

脑挫裂伤动物伤灶主要构成包括出血、碎化及变性坏死脑组织。本实验通过图像分析仪较准确地测量计算出伤后不同时相点动物伤灶的体积，结果显示脑挫裂伤后动物伤灶体积变化的自然过程是致伤3 d后体积增大，15 d达峰值，以后逐渐减小，至第21天时明显减小。治疗组则于第7天时即减小，且与致伤组比较于伤后第7、15、21天均差别显著($P<0.05$)，说明活血化瘀中药能有效缩小脑挫裂伤动物的伤灶体积。

脑挫裂伤后伤灶体积的变化，取决于机体对伤灶的修复作用和继发性损伤作用[1]。前者使伤灶体积变小，后者则相反。机体对脑伤灶的修复，主要通过脑组织内增生的小胶质细胞等吞噬作用和循环中的单核—巨噬细胞吞噬损伤坏死的脑细胞和血细胞，并通过循环予以清除来完成，所遗脑缺损区由星形胶质细胞增生来填补。继发性损伤主要是缺血缺氧通过多种途径致继发血肿和脑细胞变性坏死。本实验结果所示脑血康灵口服液减小脑挫裂伤伤灶体积，以及病理显示可促进血肿液化吸收，减轻间质水肿和神经元缺血性损害的效果，表明活血化瘀中药具有促进机体对脑损伤的修复和减轻继发性脑损伤的作用。这对缓解颅内压，保护神经细胞功能、改善预后和提高伤员的生存质量具有重要意义。此外，本实验中尚未发现该药使脑挫裂伤伤灶出血加重的动物，从一个侧面解除了对脑挫裂伤治疗中早期使用活血化瘀药物可能诱发或加重

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

出血的顾虑, 为临床应用该类药物提供了实验依据。

3.2　活血化瘀中药促进脑挫裂伤动物伤灶吸收及保护神经细胞的可能机制

活血化瘀治疗可减轻脑挫裂伤后的脑微血管栓塞: 近年来研究认为, 微血栓形成是原发性脑损伤后引起继发性脑损害的主要环节[7,8]。脑挫裂伤后出血灶的压迫、脑组织内小动脉的痉挛等致早期微循环障碍, 缺血、缺氧立即激活了内皮细胞内血管活性物质和自由基, 诱发血小板附着和内皮细胞反应, 导致血管内外凝血, 加重了微循环障碍, 使血管内凝血扩大至伤灶远处甚至整个伤侧半球, 以致脑缺血、缺氧进一步加重, 血脑屏障开放, 产生脑水肿, 栓塞远端神经元缺血性变性坏死; 近端小动脉扩张后毛细血管及静脉内压力增大, 在血管壁内皮受损及灌注压升高时致再出血, 形成恶性循环。本实验结果显示伤后有微血栓形成, 而治疗组微血栓减少, 消散时间提前, 同时脑缺血、缺氧性改变亦减轻, 说明活血化瘀中药具有防止脑损伤后微血栓形成和/或溶解微血栓的作用, 减轻了微血管的栓塞, 从而改善微循环, 促进了脑组织的供血供氧及对坏死脑组织和积血的清除, 有助于伤灶的吸收和神经元的保护。

活血化瘀治疗可改善出血性脑挫裂伤后脑微血管构筑: 脑组织毛细血管十分丰富, 正常功能状态下约只有 15% ~20%参与血液循环, 其余处于储用状态。脑损伤后由于血肿、水肿的压迫, 可使部分循环微血管受压关闭, 同时微血栓形成致远端无血供。有研究发现伤后 10 ~ 30 min 即发生伤区周围微血管减少, 出现"微无血管区", 3 h 后损伤半球微血管密度降低[9]。本实验显示脑血康灵口服液不仅可增加伤后脑皮质微血管数量, 而且可改善其形态和分布。其机制可能与该药减轻脑水肿, 促进血肿吸收从而缓解了颅内压和局部压力, 促进侧枝循环开放和闭塞血管再通有关。循环微血管的增加或恢复, 有利于水肿的吸收、坏死物的运输清除、缓解脑组织的缺血缺氧、增加营养物质供给、减轻继发性神经细胞损伤; 由于循环中单核-巨噬细胞的进入, 亦可促进脑损伤的修复。

活血化瘀治疗可改善脑挫裂伤后血脑屏障的通透性, 从而减轻脑水肿: 脑损伤后血脑屏障损害有可逆性和不可逆改变两种。可逆性改变随着损伤的好转, 脑水肿的消退、内皮细胞的修复而恢复正常; 反之则可发展为不可逆性损害; 不可逆性改变也存在着脑血管的修复和再生, 血脑屏障可由周围的微血管代偿。本实验显示治疗组伊文氏蓝结合的白蛋白通过血脑屏障浸入脑实质明显减少, 表明该药具有改善脑损伤后血脑屏障通透性的作用。其机制可能与该药中活血化瘀成分具有的降低血液高凝固性、高粘度, 改善微血管内血流障碍, 保护血管内皮和基膜脂质结构稳定性, 以及利水成分(茯苓, 泽泻)具有的脱水作用有关[10]。此外由于该药具有改善微血管形态及促进微血管生成作用, 亦利于不可逆性血脑屏障损伤周围的微血管代偿。随着血脑屏障功能的恢复和代偿, 血浆成分外渗减少或停止, 水肿区减小以至逐渐消失, 颅内压缓解和微循环改善, 减轻脑细胞及血管的缺血缺氧性损害, 伤情向康复方向发展。

参考文献:

[1] McD-Anderson R, Opeskin K. Timing of early changes in brain tranma[J]. Am J Frorensis Med Pathol, 1998, 19(1): 1—9.

[2] Pearl G S. Traumatic neuropathology[J]. Clin Lab Med, 1998, 18(1): 39—64.

[3] 翁维良, 苏庆民. 关于血瘀症与活血化瘀治疗研究方向探析[J]. 中医杂志, 1996, 37(12): 744—746.

[4] Feeney D M, Boreson M H, Linn R T, *et al*. Response to cortical injury I: Methodology and local effects of contusion in the rat[J]. Brain Res, 1981, 211(1): 79—89.

[5] 王元身, 张启东, 刘玉军, 等. 应用内源性过氧化物酶——联苯胺细胞化学法显示中枢神经系统内微血管方法的研究[J]. 首都医学院学报, 1992, 13(1): 27—35.

[6] 邝　芳, 王百忍. 利用伊文思蓝的荧光显示肾上腺素诱发的血脑屏障开放[J]. 中华神经解剖学杂志, 1997, 13(4): 417—420.

[7] Hu B, Liu C, ZiVin J A. Reduction of intracerebral hemorrhaging in a rabbit embolic stroke model[J]. Neurology, 1999, 53(9): 2 140—2 145.

[8] Morris D C, Davies K, Zhang Z. Measurement of cerebral microvessel diameters after embolic stroke in rat using quantitative laser scanning confocal microscopy[J]. Brain Res, 2000, 876(1—2): 31—36.

[9] Schroder M L, Mrizelear J P, Kuta A J. Documented reversal of global ischemia immediately after removal of an acute subdural hematoma[J]. J Neurosurg, 1994, 80(2): 324—327.

[10] 彭　康, 莫孙炼, 郑有顺. 血府逐瘀汤加减方活血化瘀药理研究[J]. 中药药理与临床, 1995, 11(6): 10—12.

(编辑　汪勤俭)

(上接 820 页)

偏头痛有较好疗效[2]。黛安神是三氟噻唑 0.5 mg-四甲蒽丙胺 10 mg 的合剂, 可调节多种中枢神经递质的传导功能, 可提高突触间隙多巴胺的含量、抑制去甲肾上腺素和 5-HT 等神经递质的再摄取, 治疗上有较好的协同作用, 副作用方面相互拮抗, 能有效的改善抑郁和躯体化症状。临床应用取得了较好的效果[3], 较 5-HT 再摄取抑制剂的顺应性好, 价格便宜, 且用药方便, 耐受性好, 值得临床应用。

关键词: 慢性天天头痛; 黛安神　　中图法分类号: R741.041　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 李舜伟. 原发性慢性天天头痛[J]. 中国疼痛医学杂志, 1998, 4(2 增刊): 3—5.

[2] 邵淑琴. 川芎素治疗偏头痛[J]. 中国疼痛医学杂志, 1998, 4(2 增刊): 86.

[3] Eingel E. 临床应用黛安神 15 年经验体会[J]. 深圳新药特药通讯, 1996, 1(9): 7.

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net