

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.11.004

丹参酮Ⅱ_A磺酸钠对缺血性脑卒中大鼠受损组织的保护作用研究*

杜维平¹, 邓礼娟^{2△}, 贾毅敏², 赖翔宇²

(1. 重庆三峡中心医院, 重庆 404000; 2. 重庆大学附属肿瘤医院·重庆市肿瘤研究所·重庆市肿瘤医院, 重庆 400030)

摘要:目的 探讨丹参酮Ⅱ_A磺酸钠治疗缺血性脑卒中的疗效,并分析其可能产生的不良反应。方法 以SD大鼠为实验对象,采用在体脑微透析技术观察丹参酮Ⅱ_A磺酸钠在大鼠脑部的转运情况。将80只SD大鼠随机分为假手术组、缺血性脑卒中组、丹参酮Ⅱ_A磺酸钠预处理组和丹参酮Ⅱ_A磺酸钠实验组,每日晨给予处理组大鼠30 mg/kg丹参酮Ⅱ_A磺酸钠腹腔注射。用改良的Pulsinelli's四血管阻断法建立缺血性脑卒中动物模型。观察各组大鼠脑梗死面积、脑含水量、乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平;并观察发热、白细胞反应、皮疹等不良反应发生情况。结果 丹参酮Ⅱ_A磺酸钠平均回收率较丹参酮Ⅱ_A单体低($t=9.268, P<0.05$);4组大鼠间脑梗死面积和脑含水量比较,差异有统计学意义,且缺血性脑卒中组大鼠的上述指标高于预处理组和实验组($F=7.952, 9.164, P<0.05$),而预处理组和实验组之间无明显差异($F=13.297, 8.325, 9.128, P>0.05$);缺血性脑卒中组大鼠LDH和MDA水平高于预处理组和实验组,而SOD水平则较低,预处理组和实验组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);4组大鼠发热、白细胞反应的发生率无明显差异,而预处理组和实验组大鼠皮疹发生率明显高于其余两组($P<0.05$)。结论 丹参酮Ⅱ_A磺酸钠的利用率较丹参酮Ⅱ_A单体高,可通过降低LDH和MDA水平,提高SOD水平而对缺血的脑组织起到保护作用,且不良反应较小,具有较高的临床研究价值。

关键词:丹参酮Ⅱ_A;磺酸钠;缺血性脑卒中;脑梗死;大鼠

中图分类号:R965.2;R973+.2

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)11-0012-03

Study on Protective Effect of Tanshinone II_A Sulfonate on Damaged Tissue in Rats with Ischemic Stroke

Du Weiping¹, Deng Lijuan², Jia Yimin², Lai Xiangyu²

(1. Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing, China 404000; 2. Chongqing University Cancer Hospital & Chongqing Cancer Institute & Chongqing Cancer Hospital, Chongqing, China 400030)

Abstract: Objective To investigate the clinical effect of sodium tanshinone II_A sulfonate in the treatment of ischemic stroke, and to analyze its possible adverse reactions. **Methods** The SD rats were taken as the experimental subjects, the intracerebral microdialysis was used to observe the transport of tanshinone II_A sulfonate in the brains of rats. Totally 80 rats were randomly divided into sham operation group, ischemic stroke group, sodium tanshinone II_A sulfonate pretreated group and sodium tanshinone II_A sulfonate experimental group. Every morning, the rats in the treatment group were intraperitoneally injected with 30 mg/kg sodium tanshinone II_A sulfonate. The animal model of ischemic stroke was established by modified Pulsinelli's four vessel blocking method. The cerebral infarct size, brain water content, levels of LDH, SOD and MDA were observed in different groups. The fever, leukocytic reaction, rash and other adverse reactions were observed. **Results** The average recovery rate of sodium tanshinone II_A sulfonate was lower than that of tanshinone II_A monomer ($t=9.268, P<0.05$). The difference of cerebral infarction area and brain water content in the four groups was statistically significant, and the above indexes in the ischemic stroke group were higher than those of the pretreated group and the experimental group ($F=7.952, 9.164, P<0.05$), but there was no significant difference between the pretreated group and the experimental group ($F=13.297, 8.325, 9.128, P>0.05$). The levels of LDH and MDA of the ischemic stroke group were higher than those in pretreated group and the experimental group, but the levels of SOD were lower than those in pretreated group and the experimental group, there was no significant difference between the pretreatment group and the experimental group ($P>0.05$). There was no significant difference in the incidence rates of fever and leukocyte reaction among the four groups, but the incidence rates of rash in the pretreated group and the experimental group were significantly higher than those in the other two groups ($P<0.05$). **Conclusion** The utilization rate of tanshinone II_A sulfonate is higher than that of tanshinone II_A monomer, it can protect the ischemic brain tissue by reducing the levels of LDH and MDA and improving the level of SOD, and it has less adverse reaction and high clinical value.

Key words: tanshinone II_A; sodium sulfonate; ischemic stroke; cerebral infarction; rats

缺血性脑卒中是临床常见的脑血管疾病,如何有效保护脑细胞、减轻神经功能缺损程度一直是治疗的研究热点^[1]。丹参是活血化瘀类中药的代表,临床应用历史

悠久,其活血祛瘀、凉血消痈、除烦安神等功效已有多年临床验证。近年来,对丹参的有效成分、药理作用的现代研究不断深入。丹参单体物质丹参酮Ⅱ_A脂溶性较强,经

*基金项目:重庆市卫生计生委中医药科技项目[ZY201702039]。

第一作者:杜维平,副主任药师,研究方向为医院药学,(电话)023-58355436(电子信箱)2480447080@qq.com。

△通信作者:邓礼娟,硕士研究生,主管药师,研究方向为临床药学,(电话)023-58103233(电子信箱)672980702@qq.com。

磺化后水溶性较强,更易被人体吸收。丹参酮Ⅱ_A可改善侧支循环、解除微血管痉挛、改善局部组织缺血缺氧所致的代谢障碍,在心脑血管疾病的治疗中应用前景良好^[2]。本研究中通过动物实验探讨了丹参酮Ⅱ_A 磺酸钠治疗缺血性脑卒中的疗效及不良反应,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物、仪器与试剂

动物:SD大鼠,周龄10~12周,动物合格证编号为201602065。饲养条件保持整洁、干燥,室温21~25℃,相对湿度50%~60%;动物房内安置白炽灯,维持正常昼夜规律,喂养饲料为标准饲料,大鼠和饲料均购自重庆医科大学动物实验中心。

仪器:OLS4100型倒置显微镜(日本奥林巴斯公司);BSM-620.3型电子精密天平(上海卓精电子科技有限公司);BPZ-6000LC型恒温干燥箱(上海和呈仪器有限公司);LC-20A型高效液相色谱仪(日本岛津公司);SP-100E型酶标仪(上海闪谱生物科技有限公司)。

试剂:水合氯醛(分析纯,南京森贝伽生物科技有限公司,批号为140217);林格注射液(杭州民生药业有限公司,国药准字H33020035,批号为140514);乳酸脱氢酶(LDH,批号为20140424)、超氧化物歧化酶(SOD,批号为20140924)、丙二醇(MDA,批号为20140315),试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;丹参酮Ⅱ_A 磺酸钠(上海第一生化药业有限公司,国药准字H31022558,规格为每支2 mL:10 mg)。

1.2 方法

分组:采用随机数字表法将80只大鼠均分为假手术组(A组)、缺血性脑卒中组(B组)、丹参酮Ⅱ_A 磺酸钠预处理组(C组)和丹参酮Ⅱ_A 磺酸钠实验组(D组),各20只。4组大鼠的性别、周龄和体质量均无明显差异($P>0.05$),具有可比性。

建模与给药:A组做切皮、分离血管手术,手术前腹腔注射无菌生理盐水2 mL。B组实施改良的Pulsinelli's四血管阻断法建立模型,手术前腹腔注射无菌生理盐水2 mL。C组实施改良的Pulsinelli's四血管阻断法建立模型,手术前腹腔注射丹参酮Ⅱ_A 磺酸钠30 mg/kg。D组实施改良的Pulsinelli's四血管阻断法建立模型,术后2 h开放血流时腹腔注射丹参酮Ⅱ_A 磺酸钠30 mg/kg。

1.3 评价指标

不良反应:给药后观察各组发热、白细胞反应、皮疹等不良反应的发生情况。

脑部利用率:将大鼠腹腔注射水合氯醛麻醉后固定,将脑探针植入左侧皮质,林格液以2 μL/min的流速灌流,平衡时间为2 h。连续收集3个空白透析液样品后尾静脉注射丹参酮Ⅱ_A 磺酸钠和丹参酮Ⅱ_A 单体,并收

集样品。每隔15 min收集脑透析液。以林格液稀释2倍后进样采用高效液相色谱化学发光检测(HPLC-CL)法分析系统测定。

脑梗死面积:将大鼠处死后,取脑组织切薄片,进行TTC染色,拍摄染色标本照,使用计算机图像分析软件(HPIAS-1000)计算梗死区面积。

脑含水量:于再灌注后24 h,处死大鼠,取出完整大脑,留梗死半球。采用电子精密天平测量湿重,再将标本置于恒温干燥箱烘干至恒重后测干重。脑含水量=(湿重-干重)/湿重。

其他:观察在体脑微透析下丹参Ⅱ_A 单体和丹参Ⅱ_A 磺酸钠的回收率。比较LDH,SOD,MDA水平。

1.4 统计学处理

采用SPSS 11.5统计软件处理。计量资料采用均数±标准差($\bar{X} \pm s$)表示,计数资料采用百分率表示,运用单因素方差分析和 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丹参Ⅱ_A 磺酸钠的脑部利用率

通过在体脑微透析技术发现,丹参Ⅱ_A 磺酸钠平均回收率为(7.37±8.26)%,较丹参酮Ⅱ_A 单体的(11.51±5.23)%低($t=9.268$, $P<0.05$),说明丹参Ⅱ_A 磺酸钠较丹参酮Ⅱ_A 单体更易吸收。

2.2 脑梗死面积和脑含水量

由表1可见,4组大鼠间脑梗死面积和脑含水量比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。且B组大鼠的上述指标高于C组和D组($P<0.05$),而C组和D组之间无明显差异($P>0.05$)。

表1 4组大鼠脑梗死面积及脑含水量比较($\bar{X} \pm s$,%, $n=20$)

组别	脑梗死面积	脑含水量
A组	0	72.36±6.24
B组	35.23±5.69	88.43±5.87
C组	26.12±4.53 [*]	80.17±6.22 [*]
D组	25.88±4.85 [*]	79.85±5.86 [*]
F值	7.952	9.164
P	<0.01	<0.01

注:与A组比较,^{*} $P<0.05$;与B组比较,^{*} $P<0.05$ 。表2同。

2.3 LDH,SOD,MDA水平

由表2可见,B组大鼠LDH和MDA水平均高于C组和D组,而SOD水平低于C组和D组($P<0.05$),C组和D组之间无明显差异($P>0.05$)。

2.4 不良反应发生情况

由表3可见,4组大鼠发热、白细胞反应的发生率无明显差异($P>0.05$),而C组和D组大鼠皮疹发生率明显高于其余两组($P<0.05$)。

表2 4组大鼠LDH,SOD,MDA水平比较($\bar{X} \pm s, n=20$)

组别	LDH(U/L)	SOD(U/mL)	MDA(nmol/mL)
A组	2 435.56 ± 234.32	235.64 ± 11.37	12.33 ± 1.56
B组	3 892.12 ± 346.84	226.12 ± 12.23	14.98 ± 1.07
C组	3 223.46 ± 245.56**	258.35 ± 13.28**	7.11 ± 0.83**
D组	3 224.13 ± 263.41**	259.10 ± 13.16**	6.97 ± 0.25**
F值	13.297	8.325	9.128
P	<0.01	<0.01	<0.01

表3 4组大鼠不良反应发生情况比较(只, $n=20$)

组别	发热	白细胞反应	皮疹
A组	1	0	0
B组	5	1	0
C组	3	2	3
D组	2	3	4
χ^2 值	3.689	3.604	7.984
P值	0.297	0.308	0.046

3 讨论

缺血性脑卒中是由缺血引起的局灶性神经功能缺失,常突然起病、进展迅速,具有高发病率、高死亡率、高致残率等特点^[3]。脑组织在缺氧状态下细胞供氧不足,造成ATP减少、细胞内酸中毒、膜电位改变、细胞骨架紊乱等缺血性损伤^[4]。迅速恢复缺血区的再灌注对改善患者预后具有重要作用,血流恢复后受炎症反应影响,又会造成缺血-再灌注损伤,可进一步加重脑组织损伤,甚至造成广泛的神经元坏死^[5]。

丹参具有活血祛瘀、养血安神之功效,应用历史悠久、疗效确切。古籍有“一味丹参散,功同四物汤”之说,足见其活血养血之效果^[6]。近年来,丹参已有片剂、滴丸剂、注射剂等剂型,现代药理学研究发现,丹参对免疫功能有双向调节作用,可改善微循环、清除氧自由基,并具有抗炎、抗肿瘤、镇痛、降压等药理作用^[7]。丹参酮Ⅱ_A是从丹参中分离出的脂溶性二萜醌类化合物,是丹参的主要活性成分^[8-9]。丹参酮Ⅱ_A有助于改善冠状动脉侧支循环,解除微血管痉挛,改善代谢障碍,清除氧自由基,减少炎症细胞浸润,治疗心血管疾病显著效果^[10]。其还可作为病毒性肝炎、肺纤维化、糖尿病等疾病的辅助用药^[11]。丹参酮Ⅱ_A脂溶性强,到达脑组织的药物较少,可采用基团修饰方法改变其性质^[12-13]。丹参酮Ⅱ_A磺酸钠是将丹参酮Ⅱ_A经磺化而得到的衍生物,将丹参酮Ⅱ_A的脂溶性改变成水溶性,使其具有更高的生物利用率^[14-16]。

本研究结果显示,丹参Ⅱ_A磺酸钠利用率较丹参酮Ⅱ_A单体低,说明丹参Ⅱ_A磺酸钠较丹参酮Ⅱ_A单体更易吸收;采用丹参Ⅱ_A磺酸钠预处理或造模后治疗均可改善缺血性脑卒中大鼠的脑水肿,并缩小梗死灶面积,且两者效果相当。另外,结果还提示,丹参Ⅱ_A磺酸钠对缺血性脑卒中的治疗作用可能是通过清除氧自由基、抗氧

化等机制实现的。4组大鼠发热、白细胞反应的发生率无明显差异,而C组和D组大鼠皮疹发生率明显高于其余两组,提示丹参酮Ⅱ_A磺酸钠可能引起皮疹等不良反应,但其具体作用机制尚有待于进一步研究。

综上所述,丹参酮Ⅱ_A磺酸钠的利用率较丹参酮Ⅱ_A单体高,可降低LDH和MDA水平,提高SOD水平,对缺血的脑组织起到保护作用,不良反应较小,具有较高的临床研究价值。

参考文献:

- [1] 冯雪华,严敏.缺血性进展性脑卒中的危险因素[J].山东医药,2014,54(6):97-98.
- [2] 贺文彬,楚世峰,陈乃宏,等.丹参总酚酸对大鼠缺血性脑卒中后免疫抑制现象的改善作用[J].中国药理学与毒理学杂志,2015,29(3):391-397.
- [3] 中华医学会神经病学分会神经康复学组,中华医学会神经病学分会脑血管病学组,卫生部脑卒中筛查与防治工程委员会办公室,等.中国脑卒中康复治疗指南(2011完全版)[J].中国康复理论与实践,2012,18(4):301-318.
- [4] 李曼,刘丙,营潘东.丹参总酚酸盐联合依达拉奉治疗急性缺血性脑卒中临床研究[J].中国药业,2017,26(1):74-76.
- [5] 李贵琴,王花茹,韩振萍,等.脑卒中并发抑郁特点及治疗效果分析[J].现代中西医结合杂志,2014,3(23):2558.
- [6] Pulgarin-Rivera JD, Younes C, Vargas M. Evaluation of a first return stroke model considering the lightning channel tortuosity[J]. Electric Power Systems Research, 2014, 113(8):25-29.
- [7] 梁素娇,刘如良.丹参及其易混淆品的真伪分析[J].光明中医,2014,2(10):2215.
- [8] 杨志霞,林谦,马利,等.丹参对心血管疾病药理作用的文献研究[J].世界中西医结合杂志,2012,7(2):93-96.
- [9] 何文凤,吕湛,张全波,等.丹参酮在心血管保护中的药理作用机制研究进展[J].中国医药导报,2013,10(29):34-38.
- [10] 张玉方,赵春景.丹参酮Ⅱ_A及其钠盐的药理研究进展[J].中国药业,2008,17(1):1-2.
- [11] 李海燕.争议丹参化学成分及现代药理应用[J].饮食保健,2015,2(9):60-61.
- [12] 梅艳飞,张丹参.丹参酮Ⅱ_A的药理作用及治疗应用研究进展[J].神经药理学报,2014,4(5):55-64.
- [13] 李建恒,乔亚君,侯力峰,等.丹参脂溶性有效成分丹参酮研究进展[J].河北大学学报(自然科学版),2015,35(2):217-224.
- [14] 闫福曼.心肌微环境诱导间充质干细胞通道蛋白表达及丹参酮的干预作用研究[D].广州:广州中医药大学,2009.
- [15] Agunloye AM, Owolabi MO. Exploring carotid sonographic parameters associated with stroke risk among hypertensive stroke patients compared to hypertensive controls[J]. Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine, 2014, 33(6):975-983.
- [16] 林珈好.丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸B与甘草次酸复方脂质体构建及体内外评价研究[D].北京:北京中医药大学,2014.

(收稿日期:2017-12-28)