

. 实验研究 .

丹红注射液对大鼠蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的影响

旷仁钊 唐晓平 漆建 苟章洋

【摘要】目的 探讨丹红注射液对大鼠蛛网膜下腔出血(SAH)后脑血管痉挛(CVS)的防治作用。方法 将 84 只健康成年 SD 大鼠随机分成 4 组:正常组(n=12)、生理盐水组(n=24)、SAH 组(n=24)和丹红组(n=24);后 3 组根据造模后取材时间,各分为造模后 3 d 和 7 d 两亚组,每亚组 12 只大鼠。采用枕大池二次注血法建立大鼠 SAH 模型。丹红组在造模后每天给予一次丹红注射液腹腔注射治疗。按上述时间点灌注固定后取大鼠脑桥段基底动脉,行 HE 染色,400 倍光镜下观察,并测量基底动脉内径、血管壁厚度。结果 造模后 3 d、7 d,生理盐水组基底动脉内径、管壁厚度与正常组均无明显变化( $P>0.05$ )。造模后 3 d,与生理盐水组相比,SAH 组和丹红组基底动脉内径明显缩小,管壁厚度明显增加( $P<0.05$ );但 SAH 组和丹红组之间无统计学差异( $P>0.05$ )。造模 7 d 后,SAH 组基底动脉内径进一步缩小( $P<0.05$ ),管壁厚度进一步增加( $P<0.05$ );而丹红组基底动脉内径较 SAH 组明显增加( $P<0.05$ ),管壁厚度明显变薄( $P<0.05$ )。结论 丹红注射液对大鼠 SAH 后 CVS 有一定的缓解作用。

【关键词】蛛网膜下腔出血;脑血管痉挛;丹红注射液;大鼠

【文章编号】1009-153X(2015)11-0683-04 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 743.9; R 744

Effects of Danhong on cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rats

KUANG Ren-zhao, TANG Xiao-ping, QI Jian, GOU Zhang-yang. Department of Neurosurgery, The Affiliated Hospital, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China

【Abstract】Objective To explore the preventive and therapeutic effects of Danhong on the cerebral vasospasm (CVS) after subarachnoid hemorrhage(SAH) in rats. Methods Eighty-four healthy SD rats were divided into 4 groups, i.e. the normal control group (n=12), saline group (n=24, where saline was injected into the cisterna magna), SAH group (n=24) and Danhong group (n=24, where the rats with SAH were treated by Danhong). Saline, SAH and Danhong groups were divided again into two subgroups respectively, i.e. the saline subgroups 3 and 7 days after the second injection of the blood. These subgroups included 3 and 7 days subgroups, 3 and 7days SAH sub-groups, and 3 and 7 days Danhong subgroups. There were 12 rats in each subgroup. The model of SAH was established by two injections of autogenic blood into the cerebellar cisterna magna. The changes in the morphology of the basilar arteries were observed and the inner diameter and vascular walls thickness of the basilar arteries were determined in all the groups. Results The inner diameter and the vascular walls thickness of the basilar arteries were  $(210.01\pm20.62)\mu\text{m}$  and  $(15.2\pm0.58)\mu\text{m}$  respectively in the 3 days SAH group, and their inner diameter and vascular walls thickness were  $(218.07\pm21.85)\mu\text{m}$  and  $(14.32\pm0.37)\mu\text{m}$  respectively in 3 days Danhong group. The inner diameter and vascular walls thickness of the basilar arteries were  $(157.71\pm25.13)\mu\text{m}$  and  $(18.3\pm0.45)\mu\text{m}$  respectively in 7 days SAH group, and their inner diameter and vascular walls thickness were  $(222.38\pm17.29)\mu\text{m}$  and  $(12.67\pm0.55)\mu\text{m}$  respectively in 7 days Danhong group. There were significant differences in the inner diameter and vascular walls thickness of the basilar arteries between 3 days SAH and Danhong sub-groups, and 7 days SAH and Danhong sub-groups. Conclusion it is suggested that Danhong has a role in the mitigation of CVS after SAH in rats.

【Key words】Subarachnoid Hemorrhage(SAH); Cerebral Vasospasm; Basilar artery; Danhong; Rats

脑血管痉挛(cerebral vasospasm, CVS)是导致蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)患者死亡、残疾的重要原因,SAH 后 CVS 的发生率为 20%

~80%<sup>[1]</sup>。CVS 发生的病理生理机制复杂多样。丹红注射液由丹参与红花提取物组成,临床上主要用于缺血性脑卒中的脑保护。我们采用枕大池二次注血法建立大鼠 SAH 模型,观察丹红注射液对 SAH 后 CVS 的防治作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 健康成年 SD 大鼠 84 只,雌雄

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2015.11.014  
作者单位:637000 四川南充,川北医学院附属医院神经外科(旷仁钊、唐晓平、漆建、苟章洋)  
通讯作者:唐晓平, E-mail:txping1971@163.com

不限,体重260~310 g,由川北医学院动物实验中心提供,以标准环境饲养。84只SD大鼠随机分为4组:正常组(12只),不予任何处理;生理盐水组(24只),以生理盐水替代自体动脉血进行动物造模,分别于造模后3、7 d处死,各12只;SAH组(24只),造模成功后3、7 d处死,各12只;丹红组(24只),造模成功后,自二次注血后2 h开始予以丹红注射液(根据成人静脉日用量20~40 ml/次,按体重剂量换算系数折算大鼠给药剂量0.5 ml/kg,并用生理盐水稀释;菏泽步长制药有限公司)腹腔注射,以后每天1次,造模后3、7天处死,各12只。

1.2 动物模型的建立 采用枕大池二次注血法制备大鼠SAH模型。取健康成年SD大鼠,用3%戊巴比妥钠2.3 ml/kg腹腔内注射麻醉,于枕外隆凸以下约2 cm正中直切口,暴露寰枕筋膜,1 ml注射器斜行刺入寰枕筋膜约1 mm,穿入枕大池抽出脑脊液约0.3 ml,在2 min内将抽取好的0.3 ml自体股动脉血按以上穿刺法向枕大池缓慢注入,注血后,俯卧位头低30°约30 min。48 h后重复上述过程。生理盐水组:方法同上,两次在枕大池注入温生理盐水0.3 ml。

1.3 HE染色 按上述时间点用4%多聚甲醛灌注固定后取脑,然后用4%多聚甲醛溶液后固定24 h。取包含脑桥的基底动脉,石蜡包埋切片,HE染色。400倍镜下观察基底动脉形态学变化,测量基底动脉的最长外径(A)、最长内径(B)、最短外径(C)、最短内径(D),参照Oruckaptan等<sup>[2]</sup>方法,计算基底动脉的校正内径,以减少血管形态改变导致的误差,校正内径=(B×D)1/2,管壁厚度=[(A-B)+(C-D)]/4。

1.4 统计学处理 应用SPSS 17.0软件进行处理;计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 丹红注射液对SAH后大鼠行为及神经功能的影响 正常组无异常。生理盐水组仅在手术当天麻醉醒后,有精神差、反应迟钝、摄食减少等异常,次日无异常。SAH组大鼠均有不同程度的行为异常,表现为精神差、反应迟钝、摄食减少、毛发蓬松、呈头低位蜷缩状,颈项强直,少部分动物出现意识障碍,行走不协调,不能完全站立;二次注血后3~7 d症状显著加重。丹红组动物神经功能症状较SAH组减轻,恢复亦较快,尤以5~7 d较为明显。

2.2 丹红注射液对大鼠SAH后基底动脉管腔和管壁形态学的影响 正常组(图1A)和生理盐水组造模3

d后(图1B)基底动脉管壁平滑,内皮细胞结构完整,内膜未见皱褶或断裂;中膜主要是平滑肌细胞及其周围的细胞外基质,平滑肌层较薄,平滑肌细胞呈长梭形环绕血管腔;外膜平滑,主要由成纤维细胞和疏松的结缔组织构成。SAH组造模3 d后(图1C)基底动脉痉挛,管腔缩小,血管壁增厚且结构紊乱;内膜出现皱褶或断裂,厚薄不均,内皮细胞变形、肿胀;中膜明显变厚,平滑肌细胞肥大,排列紊乱,细胞外基质增多;外膜变厚,出现中性粒细胞、淋巴细胞及单核细胞等炎性细胞浸润。丹红组造模3 d后(图1D)基底动脉痉挛,管腔略有缩小,血管壁有所增厚,厚薄不均,内膜略有皱褶,轻度向管腔突出,平滑肌细胞的肥大、变形较SAH组造模3 d后有所减轻,外膜轻度增厚,血管外膜炎性细胞浸润较轻。SAH组造模7 d后(图1E)基底动脉痉挛更严重,管腔进一步缩小,血管壁进一步增厚,内膜皱褶或断裂更严重,炎性细胞浸润更为明显。丹红组造模7 d后(图1F)基底动脉痉挛明显缓解,管腔略有缩小,血管壁略有增厚,内膜略有皱褶,平滑肌细胞的肥大、变形明显减轻,少部分可见较轻的血管外膜炎性细胞浸润。

2.3 丹红注射液对大鼠SAH后基底动脉内径、管壁厚度的影响 造模后3 d、7 d,生理盐水组基底动脉内径、管壁厚度与正常组均无明显变化( $P>0.05$ )。造模后3 d,与生理盐水组相比,SAH组和丹红组基底动脉内径明显缩小,管壁厚度明显增加( $P<0.05$ );但

表1 各组大鼠SAH后不同时间点基底动脉内径变化(μm,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	SAH后3 d	SAH后7 d
正常对照组		244.17±20.39
生理盐水组	248.53±21.61	243.15±20.76
SAH组	210.01±20.62*	157.71±25.13*
丹红组	218.07±21.85*	222.38±17.29**

注:与生理盐水组相应值比,\*  $P<0.05$ ;与SAH组相应值比,#  $P<0.05$ ;SAH:蛛网膜下腔出血

表2 各组大鼠SAH后不同时间点基底动脉管壁厚度变化(μm,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	SAH后3 d	SAH后7 d
正常对照组		9.34±0.35
生理盐水组	9.39±0.74	9.45±0.43
SAH组	15.2±0.58*	18.3±0.45*
丹红组	14.32±0.37*	12.67±0.55**

注:与生理盐水组相应值比,\*  $P<0.05$ ;与SAH组相应值比,#  $P<0.05$ ;SAH:蛛网膜下腔出血

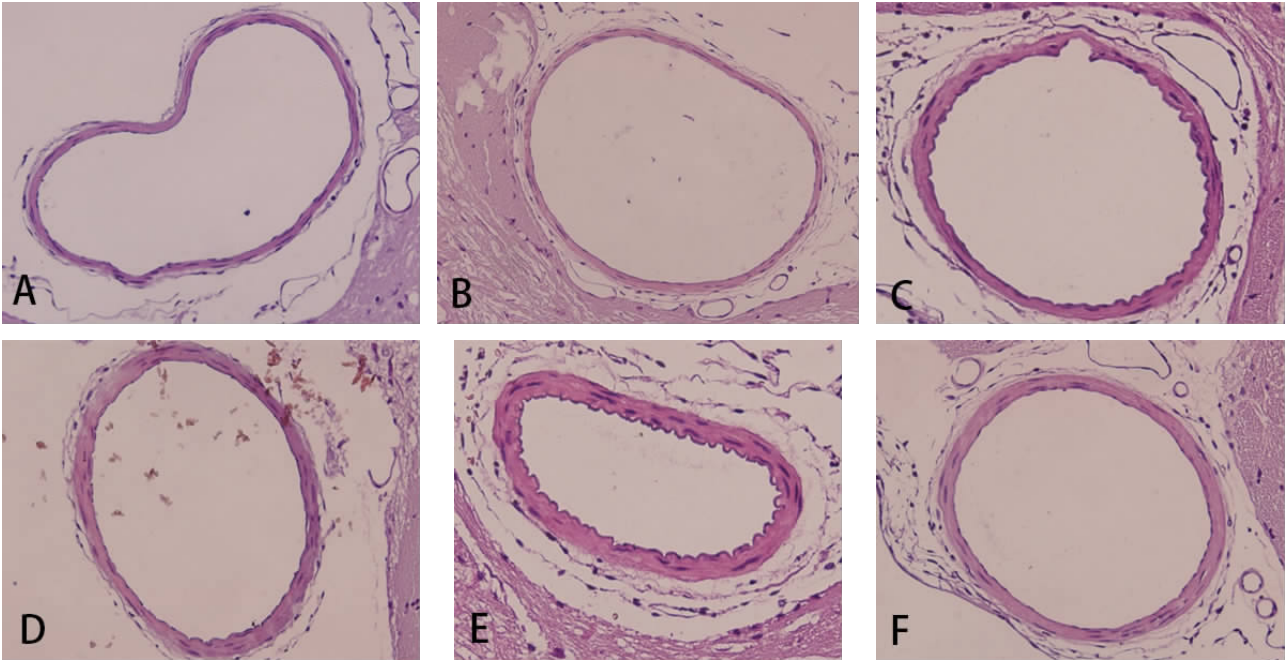


图1 各组大鼠基底动脉形态学观察(HE,×400)

A. 正常组,管壁平滑,内膜结构完整外膜平滑;B. 生理盐水组,造模后3 d,管壁平滑,内膜结构完整,外膜平滑;C. SAH组,造模后3 d,管腔缩小,管壁增厚,断裂,厚薄不均,外膜变内膜稍有皱褶厚,出现炎性细胞浸润;D. 丹红组,造模后3 d,管腔略缩小,管壁稍增厚内膜出现皱褶或厚薄不均,外膜轻度增厚,炎性细胞浸润较轻;E. SAH组,造模后7 d,管腔进一步缩小,管壁明显增厚,内膜出现严重皱褶或断裂,外膜严重增厚,炎性细胞浸润明显;F. 丹红组,造模后7 d,管腔略缩小,管壁略增厚,内膜稍有皱褶,外膜稍增厚,炎性细胞浸润较轻

SAH组和丹红组之间无统计学差异( $P>0.05$ )。造模7 d后,SAH组基底动脉内径近一步缩小( $P<0.05$ ),管壁厚度进一步增加( $P<0.05$ );而丹红组基底动脉内径较SAH组明显增加( $P<0.05$ ),管壁厚度明显变薄( $P<0.05$ )。详表1、2。

3 讨论

CVS是SAH最严重的并发症之一。临床上, CVS通常在SAH后第3~5天开始出现,第7~10天达高峰。目前认为CVS是一个复杂的多因素、多机制参与的病理生理过程。红细胞分解产物、内皮细胞功能障碍、一氧化氮、内皮素(endothelin, ET)、蛋白激酶C、Rho 激酶、血栓烷 A2 (thromboxane A2, TXA2)和前列环素(prostacyclin, PGI2)的平衡、胆红素氧化产物、自由基的产生及炎症和免疫反应等都参与了CVS的发生<sup>[3]</sup>。目前国内外主要是用钙通道阻滞剂尼莫地平来缓解CVS,主要针对钙超载而起作用,而针对其它机制的药物如法舒地尔、ET合成抑制剂、激素、他汀类药物、自由基清除剂等尚在临床试验中,尚未完全推广。因此,针对以上各种机制来研发有效、副作用少的药物,来缓解CVS、改善生存质量、降低死亡率具有非常重要的意义。

丹红注射液为传统中药丹参与红花的复方制剂。目前,丹红注射液治疗脑梗死、脑卒中、缺血性脑病等疾病的脑保护机制已有很多基础及临床研究证实。研究表明,丹红减轻血管痉挛作用的机制<sup>[4、5]</sup>: ①调节钙通道的稳定性,减轻钙超载;②降低血浆ET,减轻血管收缩;③清除氧自由基,促进损伤细胞修复;④抑制血管内皮细胞凋亡,促进内皮细胞生长,导致新生血管形成;⑤调节细胞因子分泌,抑制炎性介质释放;⑥抗血小板聚集,调整TXA2/PGI2的平衡,并且可降低血浆TXA2水平,兴奋PGI2合成酶活性。由此推断,丹红注射液可能对SAH后CVS的多种病理生理机制起作用。曹国彬等<sup>[6]</sup>通过对93例SAH患者的临床研究表明,丹红注射液可少轻症状性CVS的发生,并可提高自发性SAH患者的预后良好率,降低其致残率和死亡率。

本实验发现,SAH后,大鼠基底动脉管腔缩小,内膜皱褶或断裂,内皮细胞变形、肿胀,中膜平滑肌细胞肥大,外膜炎性细胞浸润等表现。这些表现在SAH后7 d较3 d更明显,这表明本实验的SAH模型与人类的SAH表现相似。同时,丹红组较SAH组病理形态学上表现均有所减轻,特别在第7天更明显。这提示丹红注射液对大鼠SAH后CVS有较明



显的缓解作用。由于本实验仅通过一种剂量来研究丹红注射液对 CVS 的有效性,因此其疗效是否与剂量相关,以及与尼莫地平联用是否有增效作用还有待进一步深入研究。

【参考文献】

[1] 王 硕. 脑血管痉挛防治神经外科专家共识[J]. 中国卒中杂志, 2008, 3(5): 356-362.

[2] Oruckaptan HH, Caner HH, Kilinc K, *et al.* No apparent role for neutrophils and neutrophil-derived myeloperoxidase in experimental subarachnoid haemorrhage and vasospasm: a preliminary study [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2000, 142(1):

83-90.

[3] 刘承基, 凌 锋. 脑脊髓血管外科学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2013. 124-149.

[4] 金 波, 刘安东, 李 刚, 等. 丹红注射液对大鼠脑缺血再灌注后损伤的保护作用及机制研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2009, 1(17): 3-5.

[5] 王桂英. 丹红注射液临床应用研究现状[J]. 天津医学, 2012, 24(6): 57-60.

[6] 曹国彬, 陆永建, 刘 刚, 等. 丹红注射液穴位注射防治蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(9): 1065-1066.

(2015-07-08 收稿, 2015-08-20 修回)

(上接第 682 页)

与传统额下入路相比,经眶上锁孔入路治疗前颅底脑膜瘤具有以下优势:①皮肤切口明显缩小。我们采用的锁孔手术皮肤切口长 4~5 cm(而传统额下入路皮肤切口长 20~30 cm),而且切口位于眉弓内,能够减少损伤眶上神经、面神经额支、颞浅动脉的风险,同时皮肤切口不易察觉,病人易接受。②开颅骨窗大小仅 2~3 cm,可以减少对正常脑组织、脑血管的暴露及损伤,缩短了开、关颅时间,显著节约了手术时间。③锁孔手术病人术中出血量及平均住院时间亦明显小于传统额下入路,且肿瘤全切率和术后并发症的发生率同传统额下入路并无明显差异。④开颅骨窗紧贴前颅窝底,能够获得和传统额下入路相似的显露效果,术中充分利用颅内自然腔隙,轻抬额叶即可到达肿瘤组织,可以减轻对正常脑组织的牵拉及损害。然而,眶上锁孔入路仍有不足之处,主要有:①术前需要根据影像技术精确定位颅内病灶,术中高度依赖显微镜、神经内镜等,对医疗设备要求高、依赖高,基层医院难以普及;②由于骨窗小,导致手术操作空间小,当遇到术区大量出血等意外情况时,难以及时处理;③对术者水平要求高,要求术者能够熟练掌握锁孔入路相关的神经解剖知识,熟练使用显微镜、神经内镜,且能够在显微镜及神经内镜下进行娴熟的手术操作。

综上所述,经眶上锁孔入路切除前颅窝底脑膜瘤安全有效,手术效果满意,同传统额下入路对比具有创伤小、手术时间短、术中出血量少、住院时间短等优势,且病人恢复快,皮肤切口不易察觉,病人满意度高,是一种安全有效切除前颅窝底脑膜瘤的微

侵袭神经外科手术方式。

【参考文献】

[1] Wilson DH. Limited exposure in cerebral surgery: technical note [J]. *J Neurosurg*, 1971, 34: 102-106.

[2] Brock M, Dietz H. The small frontolateral approach for the microsurgical treatment of intracranial aneurysms [J]. *Neurochirurgia (Stuttgart)*, 1978, 21(6): 185-191.

[3] 齐 巍, 张懋植, 张 伟, 等. 眶上额外侧锁孔入路治疗前颅窝底和鞍区肿瘤[J]. 首都医科大学学报, 2005, 26(1): 74-76.

[4] Van Lindert E, Perneczky A, Fries G, *et al.* The supraorbital keyhole approach to supratentorial aneurysms: concept and technique [J]. *Surg Neurol*, 1998, 49: 481-490.

[5] Wilson DA, Duong H, Teo C, *et al.* The supraorbital endoscopic approach for tumors [J]. *World Neurosurg*, 2014, 82(6 Suppl): S72-80.

[6] Rächinger W, Grau S, Tonn J. Different microsurgical approaches to meningiomas of the anterior cranial base [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2010, 15: 931-939.

[7] Igressa A, Pechlivanis I, Weber F, *et al.* Endoscope-assisted keyhole surgery via an eyebrow incision for removal of large meningiomas of the anterior and middle cranial fossa [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2015, 129: 27-33.

[8] 林毅兴, 史继新, 印红霞, 等. 眶上锁孔入路的颅外应用解剖[J]. 中华神经医学杂志, 2007, 6(8): 791-793.

(2015-07-09 收稿, 2015-08-07 修回)