

· 药 学 进 展 ·

补阳还五汤治疗脑出血急性期的实验研究进展*

楚灿星¹, 刘泰²

(1.广西中医药大学, 南宁 530023; 2.广西中医药大学第一附属医院神经内科, 南宁 530023)

摘 要 脑出血发病急骤, 进展快, 病死率及致残率高, 目前对其进展机制, 尤其是继发性损伤机制及其干预的研究成为热点。近年来动物实验研究表明, 补阳还五汤具有促进血管新生、缓解脑水肿、抑制细胞凋亡, 从而保护脑神经功能的作用, 这给早期使用该方治疗脑出血急性期提供实验依据。

关键词 补阳还五汤; 出血, 脑; 急性期

中图分类号 R289

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2018)06-0718-03

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.06.016

Experimental Research Progress of Buyanghuanwu Decoction on Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage

CHU Canxing¹, LIU Tai² (1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 2. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

ABSTRACT Cerebral hemorrhage occurs and progresses quickly, and has high morbidity and mortality. At present, the research on its mechanism of progress, especially secondary injury mechanism and its intervention has become a hotspot. In recent years, the experimental study has shown that Buyanghuanwu decoction has the effect of promoting angiogenesis, alleviating brain edema, inhibiting cell apoptosis and protecting brain function, which provides the experimental basis for the early use of this method in the treatment of acute cerebral hemorrhage.

KEY WORDS Buyanghuanwu decoction; Hemorrhage, cerebral; Acute phase

脑出血(intracerebral hemorrhage)是临床常见危重病,指原发性脑实质出血,占脑卒中20%~30%,发病急性期内病死率高达30%~40%。该病病情变化快,具有发病率、病死率、致残率、复发率及治疗费用高的特点^[1],大多发病后留有明显后遗症,显著影响患者生活质量,往往给患者及家属带来沉重压力,故采取及时有效治疗措施对治疗效果、疾病预后,及提高患者生活质量都具有重要意义,长期以来都是临床治疗和实验研究需要突破的重点。补阳还五汤具有益气活血通络之效,通补并行。临床上补阳还五汤在缺血性脑卒中的治疗上较多应用,并且取得良好的效果^[2-3]。是否可应用于脑出血?为此,近年来诸多学者在补阳还五汤应用于脑出血急性期的动物实验方面做了许多研究,并取得较大进展,为临床应用补阳还五汤治

疗急性脑出血提供实验依据,特综述如下。

1 促进组织修复及血管新生

血肿周围组织修复和新血管生成是影响脑出血预后的重要因素。血肿对周围产生压迫,同时出现占位损伤,致使血流灌注量下降,局部微血管系统难以维持组织所需灌注,病灶区缺血缺氧进一步损伤,继而出现脑水肿持续甚至恶化,出现一系列临床症状,采取积极措施干预血管新生对脑出血预后有益。补阳还五汤帮助维持受损区血流循环,有效恢复灌注,缓解水肿及损伤,依靠血管内皮的自身增殖和新生血管与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)二者间的作用。血肿周围外基质中Ⅳ型胶原、纤连蛋白、层粘连蛋白1等表达增强,能对新生血管形成产生积极效应,能促进脑血管新生,加强微血管系统重建,有利于修复损伤组织,其中Ⅳ型胶原作为细胞外基质重要组成参与血管新生。补阳还五汤能促进Ⅳ型胶原的表达,还能推迟Ⅳ型胶原的下调时间,保证微血管新生的时间,对重建微血管系统,维持局部血流灌注和控制脑水肿具有积极意义^[4]。

整合素是ECM主要受体并参与到血管新生过程。有学者^[5-7]研究补阳还五汤调节血肿周围新生血管整

收稿日期 2017-05-15 修回日期 2017-08-18

基金项目 * 广西自然科学基金项目资助 (2013GXNSFAA019125)

作者简介 楚灿星(1992-),女,湖南湘潭人,在读硕士,研究方向:脑血管病的中医诊治研究。E-mail:chucx5@163.com。

通信作者 刘泰(1959-),男,广西桂林人,主任医师,教授,从事脑血管疾病的中西医结合临床、科研和教学工作。电话:0771-5848502, E-mail:liutai590216@163.com。

合素及其亚基的表达,三个实验均是将 150 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型对照组、益气组(补阳还五汤益气组分)、活血组(补阳还五汤活血组分)、益气活血组(补阳还五汤全方),通过立体定向脑内苍白球注入Ⅶ型胶原酶 $0.5\text{ U}^{[6-7]}$ 或注入新鲜自体动脉血 $100\text{ }\mu\text{L}^{[5]}$ 建立脑出血模型,假手术组和模型对照组以纯化水灌胃,余组分别灌予指定药物,通过免疫组织化学方法分别检测各组术后 3,7,14,21,28 d 血肿周围整合素 $\alpha\text{V}\beta 3$ 和 $\beta 3$ 亚基、整合素 $\alpha 5\beta 1$ 及整合素 $\alpha 1\beta 1$ 的表达。免疫组化结果示,除假手术组,各组整合素 $\alpha 1\beta 1$ 和 $\alpha 1$ 亚基、整合素 $\alpha\text{V}\beta 3$ 和 $\beta 3$ 亚基、整合素 $\alpha 5$ 亚基的表达趋势大致相近,整合素 $\alpha 1\beta 1$ 和 $\alpha 1$ 亚基的表达,14 d 时各组表达达到高峰,21,28 d 时高峰持续,益气活血组各时点的表达较模型对照组增高;整合素 $\alpha\text{V}\beta 3$ 和 $\beta 3$ 亚基的表达趋势大致相近,7 d 时各组表达达到高峰,益气活血组高峰延长至 14 d,且各时点的表达较模型对照组增高;整合素 $\alpha 5$ 亚基表达趋势大致相近。3 d 时各组差异无统计学意义。7 d 时各组表达均增高。14 d 时达到峰值,21 d 时持续高表达,28 d 时显著下降;7,14,21 d 时,益气活血组表达高于同一时间点模型对照组,28 d 时益气组和活血组表达均高于同一时间点模型对照组。研究结果表明血肿周围新生血管整合素及其亚基能促进新生血管形成,并参与重建微循环系统,其中整合素 $\alpha\text{V}\beta 3$ 和 $\beta 3$ 亚基在血管新生的早期发挥作用;整合素 $\alpha 5\beta 1$ 主要作用于早中期,参与新生血管管腔结构形成;而整合素 $\alpha 1\beta 1$ 在血管新生的中后期发挥作用,维持血管完整性^[5-7]。此外,将补阳还五汤拆分后的益气组分和活血组分均对整合素 $\alpha 5$ 亚基的表达影响不明显,提示在治疗脑出血的过程中,益气与活血两部分作用相辅相成^[7]。血管内皮生长因子(VEGF)是影响 3 种整合素的主要刺激因子,也与其他生长因子共同作用。

内皮细胞和巨噬细胞分泌的凝血酶敏感蛋白-1(thrombin-sensitive protein-1, TSP-1)可与受体 CD36 结合通过诱导血管内皮细胞凋亡等机制从而抑制血管新生^[8]。陈柏林等^[9]将 155 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、假手术组、模型对照组、益气活血组(补阳还五汤全方)、益气组(补阳还五汤益气组分)、活血组(补阳还五汤活血组分),其中正常对照组 5 只,其余组各 30 只。通过Ⅶ型胶原酶诱导脑出血,各组予以相应的灌服处理,分别在 1,4,7,14,21,28 d 取脑组织,并用免疫印迹法分析 TSP-1 及 CD36 的表达。结果示正常对照组和假手术组在不同时间点 TSP-1 及 CD36 表达无明显变化,模型对照组在出血后 1 d TSP-1 开始表

达,4 d 达到高峰,而 CD36 分别在 4,28 d 达到高峰,益气活血组 TSP-1 的表达在 1,4 d 均低于模型对照组,CD36 的表达在 4 d 低于模型对照组,在 28 d 高于模型对照组。提示补阳还五汤影响出血后损伤区 TSP-1 及其受体 CD36 的表达作用大致分两个阶段,新血管再生初期,通过降低 TSP-1 和受体 CD-36 表达,加强微血管系统再生;新生过程后期促进 CD36 的表达,阻止新血管进一步增生,高效完成整个再建过程,达到保护大脑和促进恢复的目的。

2 减轻脑水肿,降低颅内压

脑出血后血肿周围区域会呈现缺血性改变,导致脑组织体积呈明显水肿增大,容易出现颅内压升高,甚至出现脑疝,这也是导致脑出血死亡及残疾的重要危险因素,在临床上处理脑出血患者时,应对脑水肿采取及时有效的干预措施。补阳还五汤能帮助解除脑水肿,降低颅内压,同时有利于神经功能的恢复^[10]。

孙皓等^[11]将 SD 大鼠随机分为假手术组、模型对照组、治疗组,用自体血注入法制作右侧纹状体出血大鼠模型,治疗组术前予补阳还五汤 $1\text{ mL}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 灌胃 3 d,其余组予等量 0.9%氯化钠溶液,在相应时间点进行神经功能缺损评分,并处死大鼠,采用免疫组化法检测水通道蛋白 4(aquaporin4, AQP4)及原位杂交法检测 AQP4 mRNA 的表达。结果显示出血后 6 h 起,水肿区域出现 AQP4 和 mRNA 的阳性表达,其后表达逐渐增加,治疗组和模型对照组逐渐高于假手术组,一直持续到出血后 7 d,期间表达峰值出现在出血后 3 d;在 3 和 7 d 时,治疗组表达水平明显低于模型对照组,神经功能情况与 AQP4 的表达呈负相关性,表明补阳还五汤可能下调 AQP4 的表达水平,同时能够加强神经功能修复,且各组大鼠均未出现继发脑出血等明显不良反应。补阳还五汤调控 AQP4 极性表达,可能与其激活 PI3K/AKT 信号转导通路有关^[12]。

3 维持正常自噬,抑制细胞凋亡

在继发脑损伤过程中,除脑水肿及颅内压增高等外,细胞凋亡也不容忽视,自噬活动在调节细胞凋亡过程中发挥重要作用,防治脑组织细胞凋亡时可考虑干预自噬活动^[13]。细胞自噬是机体自身调节的保护手段之一,但在脑出血中,易发生过度自噬,致大量细胞凋亡,产生严重的脑组织损害。仇志富等^[14]研究补阳还五汤对出血后自噬信号传导通路与自噬体标记蛋白 Beclin-1 表达的影响,实验将 SD 大鼠按 Rosenberg 法建立脑出血模型,分别予以补阳还五汤、银杏叶片及 0.9%氯化钠溶液灌胃给药,采用 Western blotting 法检测 Beclin-1 蛋白,免疫组化方法检测 PI3K、AKT、细胞

基质衍生因子 1、CXCR-4 蛋白表达, TUNEL 法检测细胞凋亡情况。结果显示补阳还五汤组神经细胞凋亡数量减少, 出血后几个小时 Beclin-1 蛋白、PI3K、AKT、细胞基质衍生因子 1、CXCR-4 蛋白等表达上调, CXCR4-PI3K 自噬轴信号转导通路激活。

补阳还五汤能够激活自噬轴信号转导通路, 让细胞发生自噬时, 使细胞尽可能维持正常自噬状态, 避免过度自噬导致大量细胞凋亡。此外, 还可以降低血脑屏障通透性, 改善脑水肿情况, 激活 PI3K/AKT 信号转导通路, 进而影响 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 和 BAX 蛋白比值, 起到抑制神经元凋亡、保护脑组织的作用^[15-16]。

4 展望

脑出血后神经功能缺损不仅受血肿压迫、占位影响, 还与发生在周围组织的继发性缺血变化有关, 出血后周围神经、胶质细胞机械性破裂, 损伤区血流灌注减少, 神经细胞及组织坏死损伤。

出血后损伤机制极其复杂, 受多因素协同影响, 目前治疗手段相对单一, 可通过对继发损伤机制深入研究, 寻求其他有效的治疗方法。促进受损局部血管新生、微血管系统重建和恢复足量的脑血流灌注是保护神经细胞及神经系统、修复脑组织的有效途径。

近年来动物实验研究表明, 补阳还五汤能通过调节 ECM、整合素、血管内皮细胞生长因子受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、基质金属蛋白酶 (MMPs)、IV 型胶原、TSP-1 及其受体 CD36 等一系列表达, 影响继发的局部新生血管形成过程, 有利于损伤区的微循环保护和重建, 有效恢复缺损区域血流灌注, 修复受损脑组织, 也能发挥解除脑水肿, 有效降低颅内压、抑制细胞凋亡及胶质瘢痕形成作用。上述动物实验研究表明补阳还五汤对脑出血尤其是继发性损伤具有积极影响, 为脑出血急性期使用该方提供依据, 但现阶段仍需更多临床证据支持, 关于合理干预时间和具体剂量的界定也值得继续探讨。此外, 联合应用方面, 例如与西医常规治疗、手术治疗、其他中药联合应用的效果也可作为研究推进的方向。

参考文献

- [1] ADEOYE O, BRODERICK J P. Advances in the management of intracerebral hemorrhage [J]. Nat Rev Neurol, 2010, 6(11): 593-601.
- [2] 黎洪展, 吕永恒, 陈琪, 等. 加用补阳还五汤治疗急性脑梗死的临床疗效评价[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(12):

2408-2409.

- [3] 阮艳梅. 补阳还五汤联合针灸治疗缺血性脑卒中的疗效观察[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(5): 1194-1195.
- [4] 罗娟, 唐涛, 吴季, 等. 益气活血法对脑出血大鼠脑组织 IV 型胶原表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(15): 2882-2884.
- [5] 杨阿莉, 吴季, 崔寒尽, 等. 补阳还五汤对脑出血大鼠脑内整合素 $\alpha 1\beta 1$ 和 $\alpha 1$ 亚基表达的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2015, 32(9): 811-815.
- [6] 吴季, 唐涛, 薛俐, 等. 补阳还五汤对脑出血大鼠血肿周围新生血管整合素 $\alpha V\beta 3$ 和 $\beta 3$ 亚基表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(4): 402-406.
- [7] 吴季, 张海男, 唐涛, 等. 益气活血法对脑出血大鼠血肿周围新生血管内皮整合素 $\alpha 5$ 亚基表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(22): 4933-4935.
- [8] MORGAN-ROWE L, NIKITOROWITZ J, SHIWEN X, et al. Thrombospondin-1 in hypoxia-conditioned media blocks the growth of human microvascular endothelial cells and is increased in systemic sclerosis tissues [J]. Fibrogen Tiss Rep, 2011, 4(1): 13.
- [9] 陈柏林, 邢之华, 唐涛, 等. 益气活血法对脑出血大鼠脑内凝血酶敏感蛋白-1 及其受体 CD36 表达的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(4): 342-345.
- [10] 孙皓, 郭富强, 王多姿, 等. 补阳还五汤化裁对大鼠脑出血后脑水肿的影响[J]. 中国医药导报, 2013, 10(12): 22-23, 26.
- [11] 孙皓, 郭富强, 王多姿, 等. 中药补阳还五汤对脑出血大鼠脑组织水通道蛋白 4 表达的影响[J]. 临床神经病学杂志, 2012, 25(2): 115-118.
- [12] 刘绍晨, 吴晓光, 杨岚, 等. 补阳还五汤对脑出血大鼠脑组织水通道蛋白 4 表达及血-脑脊液屏障通透性的影响研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(21): 2557-2561.
- [13] TAN C C, YU J T, TAN M S, et al. Autophagy in aging and neurodegenerative diseases: implications for pathogenesis and therapy [J]. Neurobiol Aging, 2014, 35(5): 941-957.
- [14] 仇志富, 吴晓光, 祖炳学, 等. 补阳还五汤对脑出血模型大鼠脑组织 CXCR4-PI3K 自噬信号传导通路及 Beclin-1 的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(27): 3992-3998.
- [15] 吴晓光, 仇志富, 孟杰, 等. 补阳还五汤对脑出血模型大鼠脑组织 PI3K、Akt、Bcl-2、BAX 蛋白表达的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(40): 5933-5938.
- [16] 仇志富, 吴晓光, 孟杰, 等. 补阳还五汤提取物灌胃对脑出血大鼠脑组织中 PI3K、AKT、Caspase-3 表达的影响[J]. 山东医药, 2016, 56(9): 29-31.