

- reperfusion injury through interfering with the mitochondria-dependent apoptotic pathway [J]. Chin Pharmacol Bull, 2007, 23(5): 635-641.
- [5] Clerk A, Cole SM, Cullingford TE. The relationship of Gi or Go with PKC transduction[J]. Pharmacol Ther, 2003, 97: 223-261.
- [6] Dougherty CJ, Kubasiak LA, Prentice H. Mechanism of selenium-glutathione Peroxidase and its inhibition by mercaptocarboxylic acid and other mercaptans[J]. Biochem J, 2002, 362: 561-571.
- [7] Zhao J, Renner O, Wightman L, et al. The Expression of constitutively active isotypes of protein kinase C to investigate preconditioning[J]. J Biol Chem, 1998, 273: 23072-23079.
- [8] 吴玉兰. 酸枣仁炮制品中总皂苷对高脂血症大鼠实验动物模型的影响[J]. 江苏中医药, 2004, 25(5): 55-57.
- [9] 张典, 袁秉祥, 孙红. 酸枣仁总皂甙对原发性高血压大鼠的降压作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2003, 24 (1): 59-60.
- (编辑: 邓响潮)

祛风定痛方对小鼠偏头痛模型的影响

林艳艳, 卢 燕, 聂 克(山东中医药大学基础医学院, 山东 济南250355)

摘要: **目的** 探讨祛风定痛方对小鼠偏头痛模型的作用。**方法** 复制利血平致低五羟色胺(5-HT)偏头痛模型, 观察祛风定痛方对模型小鼠脑组织5-HT水平、凝血时间的影响及其止痛效果。**结果** 祛风定痛方高、中、低剂量组与模型组比较均能明显升高利血平致低5-HT模型小鼠脑组织中5-HT水平($P < 0.05$), 明显延长小鼠凝血时间($P < 0.05, P < 0.01$), 有效抑制福尔马林致小鼠疼痛反应, 减少小鼠 I 时相舔足时间($P < 0.01$), 但不能减少小鼠 II 时相舔足时间; 祛风定痛方能够提高电刺激致大鼠疼痛阈, 其高剂量组在给药后 30, 60, 90, 120 min 时与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 中剂量组在给药后 60, 90 min 时与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$), 小剂量组在给药后 60 min 时与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 祛风定痛方治疗偏头痛可能与升高脑组织5-HT水平、延长偏头痛小鼠凝血时间有关, 提示其有良好的镇痛作用。

关键词: 祛风定痛方; 小鼠偏头痛模型; 止痛效果; 凝血时间; 5-HT

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)02-0139-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.009

Effect of *Qufeng Dingtong* Recipe on Mice Migraine

LIN Yanyan, LU Yan, NIE Ke (School of Basic Medical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355 Shangdong, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of *Qufeng Dingtong* Recipe (QDR) on mice migraine. **Methods** The 5-hydroxytryptamine (5-HT) migraine mice models were induced by reserpine. After the modeling, we observed the effect of QDR on cerebral 5-HT level and clotting time of migraine mice, and also investigated its analgesic action. **Results** Large-, middle- and small-dose of QDR significantly increased cerebral 5-HT level ($P < 0.05$), prolonged the clotting time ($P < 0.05, P < 0.01$), relieved the pain induced by formalin, shortened mice licking paw time of phase I ($P < 0.01$), but had no effect on the licking time of phase II. QDR increased the pain threshold induced by electric stimulation, and the effect of large-dose QDR group 30, 60, 90, 120 min after the medication differed from that in the blank control group ($P < 0.01$). Middle-dose QDR increased the threshold of pain in 60, 90 min ($P < 0.01, P < 0.05$) and small-dose QDR increased the threshold of pain in 60 min compared with the blank control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The therapeutic mechanism of QDR for migraine is probably related with the increase of

收稿日期: 2012-11-16

作者简介: 林艳艳, 女, 硕士研究生, 研究方向: 从事中药药理研究。Email: linyanyan1113@163.com。通讯作者: 聂克, 教授, 博士生导师, 研究方向: 主要从事中药药理研究。Email: nicknk@hotmail.com。

cerebral 5-HT level, prolongation of clotting time and enhancement of analgesic action.

Keywords: *Qufeng Dingtong* Recipe; Mice migraine model; Analgesic action; Clotting time; 5-HT

祛风定痛方由白芷、羌活、徐长卿等组成,具有祛风、活血、止痛作用,是临床治疗偏头痛的经验方。本文旨在研究该方对偏头痛小鼠脑组织5-HT水平、凝血时间的影响及其镇痛作用,为临床用药提供药理学依据。

1 材料与方法

1.1 药品 祛风定痛方,由山东中医药大学药剂实验室提供;福尔马林,莱阳经济技术开发区精细化工厂,批号:20060729;盐酸曲马多,多多药业有限公司,批号:11082113;利血平注射液,广东邦民制药厂有限公司,批号:110303;正天丸,华润三九医药股份有限公司,批号:1109017H;考马斯亮蓝试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号:20120921;小鼠5-HT ELISA试剂盒,美国RB公司,批号:201209。

1.2 仪器 MedLab-U/4C501H生物信号采集处理系统,南京美易科技有限公司;NK3型酶标仪,赛墨飞世尔(上海)仪器有限公司;H1850R台式高速冷冻离心机,长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司;Forma8500系列超低温冰箱,美国FS公司。

1.3 动物 健康成年昆明种小鼠,雌雄各半,体质量18~22 g,健康成年Wistar大鼠,雌雄各半,体质量180~220g,均由山东鲁抗医药股份有限公司质检中心实验动物室提供,合格证号:SCXK(鲁)20080002。

1.4 方法

1.4.1 复制利血平致低5-HT型小鼠偏头痛模型^[1] 健康成年昆明种小鼠60只,雌雄各半,按体质量随机分为6组,每组10只,分别为正常对照组,模型组,阳性对照组(正天丸组),祛风定痛方高、中、低剂量组,正常对照组皮下注射1 mL·kg⁻¹生理盐水,其余各组按照文献^[1]皮下注射1 mL·kg⁻¹利血平注射液(1 mg·mL⁻¹),然后灌胃给药,正常对照和模型组灌胃蒸馏水,正天丸组灌胃正天丸(3 g·kg⁻¹),祛风定痛方高、中、低剂量组分别灌胃15, 7.5, 3.75 g·kg⁻¹的药液,灌胃体积20 mL·kg⁻¹,每天均皮下注射和灌胃给药1次,连续7 d。末次给药1 h后,用眼科弯镊迅速摘除小鼠一侧眼球,于载玻片两端各滴一滴血,血滴直径约5 mm,立即用秒表计时,每隔30 s用清洁大

头针自血滴边缘向里轻轻挑动1次,观察有无血丝挑起,从采血开始至挑起血丝止,所经历的时间为凝血时间。另一滴血供最后复验,记录凝血时间^[2]。脱颈椎处死小鼠,迅速取出下丘脑及包含中缝核和蓝斑的脑干,液氮速冻,-70℃保存,组织匀浆。用考马斯亮蓝试剂盒检测脑匀浆中蛋白质含量,用小鼠5-HT ELISA试剂盒检测脑匀浆中5-HT含量。

1.4.2 祛风定痛方的镇痛作用(福尔马林法)^[3] 健康昆明种小鼠60只,按体质量随机分为6组,每组10只,分别为正常对照组,模型组,阳性对照组(盐酸曲马多组),祛风定痛方高、中、低剂量组。其中正常对照组和模型组灌胃蒸馏水,盐酸曲马多组灌胃盐酸曲马多(50 mg·kg⁻¹),祛风定痛方高、中、低剂量组分别灌胃15, 7.5, 3.75 g·kg⁻¹的药液,灌胃体积20 mL·kg⁻¹,每天给药1次,连续3 d。末次给药后30 min后小鼠右后足跖皮下注射浓度为2.5%的福尔马林20 μL(正常对照组除外),立即置入5000 mL大烧杯内,烧杯下方置倾斜30°左右的大镜子,从镜面观察动物足部运动。记录小鼠给福尔马林后第Ⅰ时相(0~5 min)和第Ⅱ时相(10~60 min)内小鼠舔右后足的累计时间。

1.4.3 祛风定痛方的镇痛作用(电刺激法)^[3] 健康成年Wistar大鼠50只,按体质量随机分为5组,每组10只,分别为正常对照组,阳性对照组(盐酸曲马多组)及祛风定痛方高、中、低剂量组。正常对照组灌胃蒸馏水,盐酸曲马多组灌胃盐酸曲马多(30 mg·kg⁻¹),祛风定痛方高、中、低剂量组分别灌胃(9, 4.5, 2.25 g·kg⁻¹),灌胃体积为15 mL·kg⁻¹。灌胃后大鼠固定器固定,在距尾尖1/3处用酒精棉球擦洗并涂抹生理盐水,用两导电性良好的铅管套在涂抹过生理盐水部位,两管距离约0.5 cm,将连有串脉波导线的夹子分别夹住两个铅管,给予时程为100 ms、波宽为0.5 ms、频率为100 Hz的电刺激,刺激电压从15 V开始,每隔2 s增加1 V,记录引起大鼠甩尾和嘶叫反应的电压强度作为痛反应指标,连续测定3次,每两次间隔5 min,两次引起甩尾或嘶叫电压值即为疼痛阈,比较给药前后大鼠所承受的刺激电压强度的变化。

1.5 统计学处理方法 实验数据以GraphPad Prism 4

软件(GraphPad Software, Inc., USA)处理, 实验结果用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 电刺激实验数据采用双因素方差分析进行检验, 其余数据采用单因素方差分析进行检验, $P < 0.05$ 时为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 祛风定痛方对利血平致低 5-HT 偏头痛模型小鼠脑 5-HT 的影响 见表 1。祛风定痛方高、中、低剂量均能明显升高利血平致低 5-HT 模型小鼠脑组织中 5-HT 水平, 与模型组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与正常对照组和正天丸组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 祛风定痛方对利血平致偏头痛模型小鼠脑组织5-HT水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of QDR on cerebral 5-HT level of migrainous mouse induced by reserpine

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	5-HT / ng·g ⁻¹
正常对照组	-	74.34 ± 18.39
模型组	-	49.50 ± 17.09*
正天丸组	3	71.41 ± 16.36▲
祛风定痛方高剂量组	15	68.24 ± 21.24▲
祛风定痛方中剂量组	7.5	77.51 ± 17.41▲
祛风定痛方低剂量组	3.75	72.87 ± 21.62▲

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

2.2 祛风定痛方对利血平致低5-HT偏头痛模型小鼠凝血时间的影响 见表2。祛风定痛方高、中、低剂量均能够明显延长小鼠凝血时间, 与模型组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$), 与正常对照组和正天丸组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明祛风定痛方抗凝血效果良好。

表2 祛风定痛方对利血平致偏头痛模型小鼠凝血时间的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of QDR on clotting time of migrainous mouse induced by reserpine

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	凝血时间 / s
正常对照组	-	100.3 ± 49.04
模型组	-	58.99 ± 14.53**
正天丸组	3	99.41 ± 29.46▲
祛风定痛方高剂量组	15	104.5 ± 18.30▲
祛风定痛方中剂量组	7.5	98.47 ± 42.95▲▲
祛风定痛方低剂量组	3.75	105.9 ± 28.46▲

注: 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$ 。

2.3 祛风定痛方的镇痛作用(福尔马林法) 见表3。祛风定痛方高、中、低剂量均能有效抑制福尔马林

致小鼠疼痛反应, 明显减少小鼠 I 时相舔足时间, 与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 但祛风定痛方不能够减少小鼠 II 时相舔足时间。

表3 祛风定痛方对福尔马林致小鼠舔足时间的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of QDR on licking time induced by formalin

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	第 I 时相舔足时间 / s	第 II 时相舔足时间 / s
正常对照组	-	0 ± 0	6.36 ± 3.79
模型组	-	67.68 ± 17.34**	205.16 ± 159.27**
盐酸曲马多组	0.05	16.71 ± 7.38**▲▲	56.26 ± 54.52▲
祛风定痛方高剂量组	15	23.95 ± 13.44**▲▲	214.21 ± 142.34**△△
祛风定痛方中剂量组	7.5	35.03 ± 15.66**▲▲△△	208.60 ± 133.27**△△
祛风定痛方低剂量组	3.75	25.37 ± 8.46**▲▲	166.74 ± 86.04*△△

注: 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; 与盐酸曲马多组比较, △△ $P < 0.01$ 。

2.4 祛风定痛方的镇痛作用(电刺激法) 见表4。祛风定痛方能够有效防治电刺激致大鼠疼痛, 高、中、低剂量均能提高电刺激致大鼠疼痛痛阈, 其中高剂量组在给药后30, 60, 90, 120min时与正常对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$), 中剂量组在给药后60, 90min时与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$), 低剂量组在给药后60 min 时与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表4 祛风定痛方对电刺激致大鼠疼痛痛阈的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of QDR on threshold of pain induced by electrical stimulation

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	痛阈 / V				
		给药前	30 min	60 min	90 min	120 min
正常对照组	-	19.7 ± 2.2	20.5 ± 2.3	20.6 ± 2.1	20.6 ± 2.4	20.3 ± 2.4
盐酸曲马多组	0.03	21.6 ± 3.0	34.5 ± 9.9**	40.6 ± 4.2**	39.3 ± 3.7**	34.5 ± 5.9**
祛风定痛方高剂量组	9	21.8 ± 1.8	27.4 ± 3.3**△△	28.8 ± 3.6**△△	27.7 ± 4.0**△△	26.8 ± 3.0**△△
祛风定痛方中剂量组	4.5	20.7 ± 3.3	24.5 ± 4.5△△	26.8 ± 3.8**△△	25.8 ± 3.1*△△	24.7 ± 3.7△△
祛风定痛方低剂量组	2.25	20.8 ± 3.2	23.7 ± 3.4△△	25.4 ± 3.9*△△	25.0 ± 3.8△△	24.2 ± 3.7△△

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与盐酸曲马多组比较, △△ $P < 0.01$ 。

3 讨论

偏头痛是一种以一侧或双侧反复发作性、搏动性剧烈头痛为主要临床表现的神经内科常见病、多发病。该病反复发作, 迁延难愈, 疼痛剧烈, 其发作具有无规律性和随机性, 并经常伴有恶心、呕吐、面色苍白、出汗、畏光等症状, 给病人的身心健康带来严重危害^[4]。近年来关于偏头痛发病机制主要有三种学说, 即血管源性学说, 神经源性学说和三叉神经血管学说, 对偏头痛机制的实验研究主要集中

在血管、血液、神经递质等方面^[4-5]。

5-HT与偏头痛的发生关系密切,偏头痛发作前,血液中5-HT水平升高,从而使颅内血管收缩,继而血液中5-HT被迅速代谢而减少,导致颅外血管病理性扩张,引起搏动性头痛^[6]。偏头痛也与血流变异常有关,张晓霞等^[7]发现,偏头痛患者血流变异常者占91.67%,血液处于高黏高凝状态。李华^[8]通过对偏头痛患者发作期、间歇期的血小板聚集、血流变学的跟踪观察,并与正常人作对照,结果发现,偏头痛患者头痛发作期、间歇期的全血黏度、血浆比黏度、血小板第一相及第二相聚集率均显著高于对照组。

本实验室前期研究结果显示,祛风定痛方在2.25~9 g·kg⁻¹剂量范围内,可以显著提高大鼠脑血流量、改善去甲肾上腺素所致的小鼠软脑膜微循环障碍、抑制ADP诱导的大鼠血小板聚集。提示祛风定痛方防治偏头痛与改善脑血流量、改善脑部微循环、抑制血小板聚集有关^[9]。

本研究在前期实验基础上,观察了祛风定痛方对利血平致偏头痛小鼠脑组织5-HT含量及凝血时间的影响,对福尔马林致小鼠疼痛和电刺激致大鼠甩尾反应的影响。结果表明,祛风定痛方大、中、小剂量均能明显升高利血平致偏头痛小鼠脑组织5-HT水平,延长偏头痛小鼠凝血时间,能够减少福尔马

林致小鼠舔足时间,提高电刺激致大鼠疼痛阈。提示祛风定痛方发挥其治疗偏头痛作用可能与提高脑组织5-HT水平、延长凝血时间及良好的镇痛作用有关。

参考文献:

- [1] 曾贵荣,马丽,郭建生,等. 芎麻汤不同提取物对小鼠偏头痛模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 162-164.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 481.
- [3] 徐淑云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 884-888.
- [4] 张春生. 中医治疗偏头痛临床疗效观察[J]. 中外医疗, 2012, (36): 144-166.
- [5] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 2714-2717.
- [6] 李月华,张大芳,魏振林. 偏头痛的中西医诊断与治疗[M]. 北京: 中国中医药出版社. 1999: 12.
- [7] 张晓霞,李德光. 偏头痛的血液流变学观察[J]. 中风与神经疾病杂志, 1994, 5(1): 31-32.
- [8] 李华. 偏头痛患者血小板聚集和血液流变性观察[J]. 中国微循环, 2001, 3(5): 51-52.
- [9] 卢燕,林艳艳,聂克. 祛风定痛方对大鼠脑血流量和血小板聚集的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(5): 195-197.

(编辑: 邓响潮)

楂芪降糖汤对糖尿病肾病大鼠肾脏NF-κB及Desmin表达的影响

李晓萍, 李 进, 黄学宽(重庆医科大学中医药学院, 重庆 401331)

摘要:目的 观察楂芪降糖汤对糖尿病肾病(DN)大鼠肾脏核转录因子(NF-κB), 结蛋白(Desmin)表达的影响, 探讨其部分作用机制。方法 链脲佐菌素诱导建立DN大鼠模型, 成模大鼠随机数字法分组。同时设正常对照组。各组按相应药物剂量灌胃。10周末, HE染色及透射电镜观察肾组织病理形态和超微结构改变; 免疫组化观察肾组织NF-κB及Desmin的表达。结果 光镜和电镜下模型组肾组织病理变化显著, 且模型组肾组织NF-κB、Desmin表达均明显增加; 楂芪降糖汤高剂量组和优降糖组表达较模型组显著下调, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 楂芪降糖汤对DN大鼠肾损害有保护作用, 其机制可能是通过降低NF-κB、Desmin表达实现的。

关键词: 楂芪降糖汤; 糖尿病肾病; 核转录因子-κB; 结蛋白

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)02-0142-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.010

收稿日期: 2012-11-19

作者简介: 李晓萍, 女, 硕士研究生, 研究方向: 糖尿病发病机理与治疗。Email: ligadou@163.com。通讯作者: 李进, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 糖尿病发病机理与治疗。Email: Lj-68451997@126.com。

基金项目: 重庆市卫生局科技项目(2009-B-144)。