

复方三七纳米颗粒对颅脑损伤大鼠 TNF- α 、IL-2 及 IL-6 的影响*

张 富, 杨国强, 田爱林

(河北省唐山市玉田县医院, 河北玉田 064100)

【摘 要】目的: 探讨复方三七纳米颗粒对颅脑损伤大鼠血清 TNF- α 、IL-2 及 IL-6 的影响, 验证复方三七纳米颗粒对颅脑损伤后机体的保护作用。方法: 将 96 只大鼠随机分为假手术组、创伤模型组、复方三七纳米颗粒组和尼莫地平组, 分别予生理盐水、生理盐水、复方三七纳米颗粒、尼莫地平灌胃 5d, 于造模后第 1、3、5d 腹主动脉穿刺取血留取标本, 观察四组血清 TNF- α 、IL-2 及 IL-6 含量。每组每个时相点随机选 8 只完成检测。结果: 四组血清 TNF- α 、IL-2 及 IL-6 比较, 时间主效应和干预主效应差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 复方三七纳米颗粒可降低颅脑损伤大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 含量, 增加 IL-2 的表达。

【关键词】复方三七纳米颗粒; 颅脑损伤; TNF- α ; IL-2; IL-6

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2012)06-0017-04

颅脑损伤可以导致患者体内细胞因子水平失衡, 并可使炎症反应持续放大, 影响血脑屏障的稳定性。目前有研究证实^[1]活血化瘀药物可以透过血脑屏障, 扩张脑血管, 改善脑血流, 加快颅内血肿的吸收和脑水肿的消除, 维护脑损伤时血脑屏障的结构完整, 改善其功能。笔者在临床实践中发现复方三七纳米颗粒佐治颅脑损伤患者有很好的治疗效果, 并在前期动物实验中发现: 复方三七纳米颗粒可改善颅脑损伤大鼠认知功能及延长生存时间, 同时发现该药具有抗血栓形成, 且不增加出血风险的作用。为进一步探讨复方三七纳米颗粒治疗颅脑损伤作用机制, 我们复制了颅脑损伤大鼠模型, 并在此模型基础上观察复方三七纳米颗粒剂对颅脑损伤大鼠血清 TNF- α 、IL-2、IL-6 含量的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年雄性 SD 大鼠 96 只, 体重 200 ~ 220g, 由河北医科大学实验动物中心提供; 动物等级: 一级; 合格证: 712101。

1.2 药品与试剂

复方三七纳米颗粒 (中药配方颗粒广东一方制药有限公司, 批号 0708001); 尼莫地平片 (拜

耳医药保健品有限公司, 国药准字 H20003010); TNF- α 、IL-2、IL-6 放射免疫试剂盒由北京科美东雅生物技术有限公司提供。

1.3 模型制备^[2]

实验前大鼠禁食 12h, 饮水自由。将大鼠称重麻醉后固定于解剖台上, 剪去大鼠顶部毛发, 消毒后于矢状正中切开头皮, 剥离骨膜, 暴露左侧顶骨, 在冠状缝后 1.5mm, 中线旁左侧 2.5mm 处, 用牙科钻钻 1 个小孔, 并扩大为直径 5mm 的骨窗, 保持硬脑膜完整; 将一圆形钢板垫 (直径约 4.5mm, 厚度 3.5mm) 置于硬膜外, 用 50g 击锤从 20cm 高处沿套管呈自由落体冲击于致伤垫, 造成顶叶局部性脑挫裂伤, 打击后, 骨蜡封闭骨窗, 缝合头皮, 致伤动物苏醒后原笼喂养。

1.4 分组及给药

将 96 只大鼠随机分为假手术组、创伤模型组、复方三七纳米颗粒剂组和尼莫地平组, 每组各 24 只, 建立颅脑损伤动物模型, 假手术组给予假手术处理。假手术组给予生理盐水 2mL 灌胃, 创伤模型组给予生理盐水 2mL 灌胃, 复方三七纳米颗粒组按复方三七纳米颗粒 $1.33\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 相当于生药量 $2.4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 制成水溶液 2mL 灌胃, 尼莫地平组每

* 收稿日期: 2012-01-02 修回日期: 2012-05-16

作者简介: 张富 (1963 ~), 男, 河北玉田人, 副主任医师。研究方向: 颅脑损伤的早期干预。

只大鼠每天 100g 体重 0.1mg 尼莫地平片（制成水溶液）灌胃 2mL。

1.5 取材及指标检测

分别于造模后第 1、3、5d，2% 戊巴比妥钠（上海西唐生物技术有限公司提供）腹腔麻醉（3mL/kg），迅速从大鼠腹主动脉取血 5mL 待测 TNF- α 、IL-2、IL-6，TNF- α 、IL-2、IL-6 量测定采用放射免疫法，具体实验步骤按试剂盒说

明书操作。

1.6 统计学处理

所得数据均输入数据库，采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学处理，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表 1 各组大鼠治疗前后血清 TNF- α 含量 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n /只	伤后 1d (n=8 只) TNF- α / (ng/mL)	伤后 3d (n=8 只) TNF- α / (ng/mL)	伤后 5d (n=8 只) TNF- α (ng/mL)
假手术组	24	0.92 $\pm$ 0.23	1.03 $\pm$ 0.29	1.05 $\pm$ 0.31
模型组	24	1.98 $\pm$ 0.36 $^{\Delta}$	2.87 $\pm$ 0.41 $^{\Delta}$	2.13 $\pm$ 0.40 $^{\Delta}$
尼莫地平组	24	1.48 $\pm$ 0.50 *	1.93 $\pm$ 0.51 *	1.66 $\pm$ 0.47 *
复方三七纳米颗粒剂组	24	1.13 $\pm$ 0.47 $^{**\Delta}$	1.19 $\pm$ 0.45 $^{**\Delta}$	1.07 $\pm$ 0.43 $^{**\Delta}$

$^{\Delta}P < 0.05$ 与假手术组相比； $^{*}P < 0.05$ 与模型组相比； $^{**}P < 0.01$ 与模型组相比； $^{\Delta}P < 0.05$ 与尼莫地平组相比

与假手术组相比，模型组各时间点内 TNF- α 含量均有明显升高，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.05$ ）；与模型组相比，尼莫地平组各时间点内 TNF- α 含量均下降，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.05$ ），复方三七纳米颗粒剂组各时间点内

TNF- α 含量均下降，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.01$ ）；与尼莫地平组相比，复方三七纳米颗粒剂组各时间点 TNF- α 含量均下降，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.05$ ）。

表 2 各组大鼠治疗前后血清 IL-6 含量 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n /只	伤后 1d (n=8 只) IL-6/ (ng/mL)	伤后 3d (n=8 只) IL-6/ (ng/mL)	伤后 5d (n=8 只) IL-6 (ng/mL)
假手术组	24	32.07 $\pm$ 9.04	32.91 $\pm$ 9.04	32.07 $\pm$ 9.32
模型组	24	66.89 $\pm$ 13.17 $^{\Delta\Delta}$	71.09 $\pm$ 13.41 $^{\Delta\Delta}$	69.39 $\pm$ 12.36 $^{\Delta\Delta}$
尼莫地平组	24	48.94 $\pm$ 13.27 *	42.93 $\pm$ 13.77 *	41.86 $\pm$ 13.07 *
复方三七纳米颗粒剂组	24	36.28 $\pm$ 11.75 $^{**\Delta}$	35.38 $\pm$ 12.87 $^{**\Delta}$	34.13 $\pm$ 12.09 $^{**\Delta}$

$^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 与假手术组相比； $^{*}P < 0.05$ 与模型组相比； $^{**}P < 0.01$ 与模型组相比； $^{\Delta}P < 0.05$ 与尼莫地平组相比

与假手术组相比，模型组各时间点内 IL-6 含量均有明显升高，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.05$ ）；与模型组相比，尼莫地平组各时间点内 IL-6 含量均下降，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.05$ ），复方三七纳米颗粒剂组各时间点内 IL-6

含量均下降，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.01$ ）；与尼莫地平组相比，复方三七纳米颗粒剂组各时间点 IL-6 含量均下降，两两比较均有统计学差异（ $P < 0.05$ ）。

表 3 各组大鼠治疗前后血清 IL-2 含量 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n /只	伤后 1d (n=8 只) IL-2/ (ng/mL)	伤后 3d (n=8 只) IL-2/ (ng/mL)	伤后 5d (n=8 只) IL-2 (ng/mL)
假手术组	24	5.94 $\pm$ 0.81	6.03 $\pm$ 0.76	6.85 $\pm$ 0.78
模型组	24	3.08 $\pm$ 0.63 ^{$\Delta\Delta$}	3.26 $\pm$ 0.71 ^{$\Delta\Delta$}	3.73 $\pm$ 0.70 ^{$\Delta\Delta$}
尼莫地平组	24	4.89 $\pm$ 0.83 [*]	5.17 $\pm$ 0.82 [*]	5.53 $\pm$ 0.79 [*]
复方三七纳米颗粒剂组	24	5.56 $\pm$ 0.74 ^{**Δ}	5.96 $\pm$ 0.79 ^{**Δ}	6.65 $\pm$ 0.80 ^{**Δ}

^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ 与假手术组相比; ^{*} $P < 0.05$ 与模型组相比; ^{**} $P < 0.01$ 与模型组相比; ^{Δ} $P < 0.05$ 与尼莫地平组相比

与假手术组相比, 模型组各时间点内 IL-2 含量均有明显下降, 两两比较均有统计学差异 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 尼莫地平组各时间点内 IL-2 含量均升高, 两两比较均有统计学差异 ($P < 0.05$), 复方三七纳米颗粒剂组各时间点内 IL-2 含量均升高, 两两比较均有统计学差异 ($P < 0.01$); 与尼莫地平组相比, 复方三七纳米颗粒剂组各时间点 IL-2 含量均升高, 两两比较均有统计学差异 ($P < 0.05$)。

3 结论

颅脑损伤后, 各种原因激活中性粒细胞、单核巨噬细胞等产生多种炎症递质。研究表明^[3], TNF- α 和 IL-6 等的大量生成促进炎症细胞的聚集和激活, 导致脑血管结构和血脑屏障的破坏, 使局部血管扩张、通透性增加, 补体、急性期蛋白等随血浆外渗, 从而进一步加剧颅脑损害的发生。TNF- α 能介导 IL-2 及 IL-6 的产生, 并通过这些介质影响几乎所有的免疫细胞、内皮细胞, 参与炎症反应和组织损伤^[4]。IL-6 介导的炎症反应在颅脑损伤中扮演着重要角色, Mark-lund^[5]认为 IL-6 在损伤发生后即刻就上升, 而且损伤程度越重, 血中 IL-6 的水平越高。有研究发现^[6]人类的中性粒细胞浸润发生在脑出血后 5~72h, 渗出的中性粒细胞能够释放各种细胞因子, 如 TNF- α 、IL-6 等, 加重脑损伤。研究发现^[7], 颅脑损伤后 IL-2 处于抑制状态, 且在 7d 内均处于低水平表达, 但 IL-2 浓度随时间延长其含量持续升高, 且 IL-2 和 IL-6 同样是患者伤情轻重的表现之一。

《黄帝内经》中有述: “若有所堕坠, 恶血留内”, 颅脑损伤发生病理基础为外伤致脑中蓄血, 属中医学中“巅顶骨折、血瘀、血证”之“实证”范畴, 治疗上应注重活血化瘀, 如瘀血留于脑内不

去则重生变故, 《重订广温病论》曰: “盖以脑为元神之府, 心为藏神之脏, 但为瘀热所蔽, 血毒所攻, 则心灵有时而昏, 甚至昏狂、昏颠、昏闭、昏痉、昏厥, 而全不省人事矣”。复方三七纳米颗粒主要取材于五加科人参属植物三七的根茎, 三七是经典的活血化瘀良药, 《玉揪药解》中指出本品可: 和营止血, 通脉行瘀, 行瘀血而敛新血, 其中所含的主要成分为三七总苷, 三七总苷对大鼠的炎症有明显的对抗作用, 并能对抗缓激肽、组织胺、5-羟色胺等所致毛细血管通透性增加及炎症组织前列腺素的释放^[8]。且复方三七纳米颗粒制作过程中采用表面化学方法对三七纳米药粒表面进行修饰, 提高其靶向能力, 控制药物在体内的分布与释放, 同时增加其亲水亲油性, 提高三七的生物有效性、靶向性和疾病治疗的特异性。本实验结果表明: 颅脑损伤后大鼠第一天血清中 TNF- α 、IL-6 含量较假手术组明显升高, 2d 内持续升高, 5d 时开始下降, 血清中二者浓度呈相关性, 这表明颅脑损伤后促炎细胞因子表达活跃, 且在 5d 内呈持续扩大状态, 加重颅脑损伤; IL-2 含量较假手术组明显降低, 且 5d 内均处于低水平表达; 复方三七纳米颗粒可降低颅脑损伤大鼠血清各时间点的 TNF- α 、IL-6 的含量, 增加 IL-2 的表达, 考虑与前期研究中发现的复方三七纳米颗粒对抗去甲肾上腺素收缩脑血管, 增加脑血流量, 改善脑水肿有关。

[参考文献]

[1] 尹明华, 徐晓虹. 灯盏花素对缺血性记忆障碍和血脑屏障的保护作用 [J]. 浙江师范大学学报 (自然科学版), 2008, 31 (1): 72.
[2] FEENEY D M, BOYESON M G, LINN R T, et al. Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects

- of contusions in the rat [J]. Brain Res, 1981, 211 (1): 67-77.
- [3] 张文斗, 杨晋生. 氯胺酮对颅脑损伤大鼠血清 TNF- α 、IL-6 及神经细胞凋亡的影响 [J]. 现代预防医学, 2009, 36 (12): 2348-2349.
- [4] 玛斌, 韩树生, 王丽萍, 等. 急性颅脑损伤患者 TNF、ET 及 CGRP 含量变化及意义 [J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2007 (6): 520-522.
- [5] Marklund N, Keck C, Hoover R, et al. Administration of mono-clonal antibodies neutralizing the inflammatory mediators tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 does not attenuate acute behavioral deficits following experimental traumatic brain injury in the rat [J]. Restor Neurol Neurosci, 2005, 23 (1): 31-42.
- [6] Mengzhou Xue, Marc R, Del Bigio. Intracerebral hemorrhage injury in rats: Relationship between blood fraction and brain cell death [J]. Stroke, 2000, 31 (1): 1721-1725.
- [7] 韦俐, 周鹏, 袁志诚. 急性颅脑损伤后血清 TNF- α 和 IL-18 的含量变化及临床意义 [J]. 实用临床医药杂志, 2009, 13 (2): 51-54.
- [8] 熊进文, 刘忠民, 陈耿臻, 等. 三七总苷对重症急性胰腺炎大鼠 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 水平的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19 (20): 3099-3102.
- (编辑: 岳胜难)

Effects of Compound Notogin Sengnano Drug on Inflammatory Cytokines TNF- α , IL-2 and IL-6 on Brain Injury Rats

ZHANG Fu, YANG Guo-qiang, TIAN Ai-lin

(1. Hebei Tangshan YuTian Hospital Neurosurgery;

2. Hebei Tangshan YuTian Hospital Intervention YuTian hebei 064100)

[**ABSTRACT**] Objective: To explore the compound notogin sengnano drug to head injury rat serum tumor necrosis factor- α , interleukin-2 and interleukin-6, the effects of the compound notogin sengnano drug validation of head injury after the body of protection. Methods: 96 mouse randomly divided into the sham group, the trauma model group, notogin sengnano drug group and nimodipine groups, namely to physiological saline、physiological saline、notogin sengnano drug、nimodipine irrigation stomach 5d, made in the 1, 3, 5d abdominal aortic blood samples taken puncture enrol your biometrics, observing four groups serum tumor necrosis factor- α , interleukin-2 and interleukin-6 content. Each group of each phase to choose only 8 random complete detection. Results: Four group serum tumor necrosis factor- α , interleukin-2 and interleukin and comparison, the effect and time intervention main effects are statistically significant difference ($P < 0.05$). Conclusion: Notogin sengnano drug can reduce head injury in serum rat tumor necrosis factor- α , interleukin-6 content and increase interleukin-2 expression.

[**KEY WORDS**] compound notogin sengnano drug; head injury; tumor necrosis factor- α ; interleukin-2; interleukin-6; experimental study

欢迎订阅，欢迎投稿！