

颈椎病模型大鼠接受电脉冲联合中药敷贴：活血化瘀作用及机制

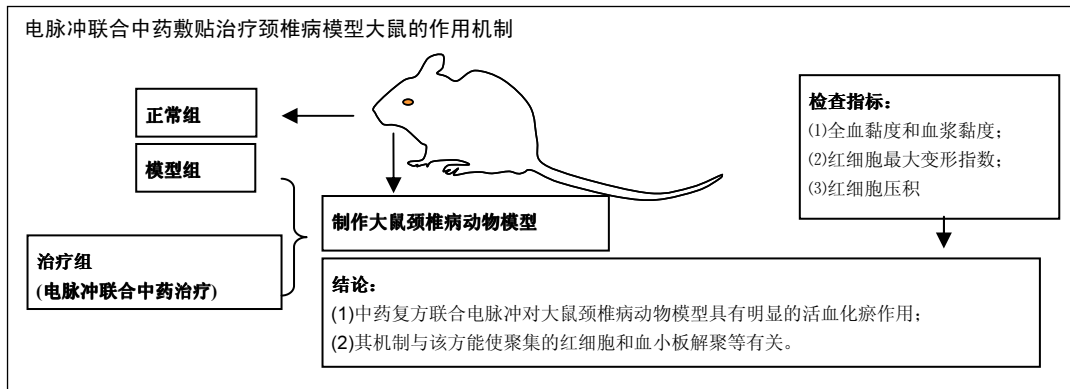
朱传武¹, 杨芳² (¹南方医科大学中医药学院, 广东省广州市 510515; ²南方医科大学南方医院药剂科, 广东省广州市 510515)

引用本文: 朱传武, 杨芳. 颈椎病模型大鼠接受电脉冲联合中药敷贴: 活血化瘀作用及机制[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(32): 5177-5182.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2017.32.016

ORCID: 0000-0001-9140-3865(朱传武)

文章快速阅读:



朱传武, 男, 1974年生, 安徽省合肥市人, 汉族, 2004年第一军医大学毕业, 硕士, 讲师, 主治医师, 主要从事中药药理研究。

通讯作者: 杨芳, 硕士, 主管药师, 南方医科大学南方医院药剂科, 广东省广州市 510515

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2017)32-05177-06

稿件接受: 2017-08-07

文题释义:

中频电脉冲: 中频电疗法(Medium frequency electrotherapy), 应用频率为 1 000-100 000 Hz 的脉冲电流治疗疾病的方法, 称为中频电疗法。临床常用的有干扰电疗法、调制中频电疗和等幅正弦中频(音频)电疗法 3 种。近年来, 随着计算机技术的应用, 已有电脑中频电疗机、电脑肌力治疗机问世, 并应用于临床。

全血黏度: 全血黏度是一个综合性指数, 它是血浆黏度、血细胞压(比)积、红细胞变形性和聚集能力、血小板和白细胞流变特性的综合表现, 是血液随不同流动状况(切变率)及其他条件而表现出的黏度, 切变率低时血黏度高, 随切变率的逐渐升高黏度逐渐下降, 最后趋向一个平稳的数值。

摘要

背景: 乌龙丹系国家级名老中医臧堃堂教授临床经验方, 在临床上常用于治疗脑梗死、短暂性脑缺血发作、脑出血恢复期、颈椎病等缺血性脑病, 效果显著使用安全。

目的: 观察中药复方联合电脉冲对其血液流变性的影响, 探讨其作用机制。

方法: 雄性 SD 大鼠共 24 只, 被随机分为 3 组: 正常组、治疗组及模型组各 8 只。除正常组外其余大鼠制作动物模型, 造模后 3 d 治疗组大鼠给予电脉冲联合中药治疗: 将棉布经中药液浸泡后, 拧至半干放置于治疗组大鼠颈部, 将 2 块电极板覆盖其上固定电极板进行电脉冲治疗, 每天 20 min, 20 d 为 1 个疗程; 模型组不做此处理。用血液黏度测试仪测定全血黏度和血浆黏度; 用红细胞变形仪测定红细胞最大变形指数; 用微量高速离心法测定红细胞压积。

结果与结论: ①与正常组比较, 模型组在 1 s^{-1} 、 5 s^{-1} 、 30 s^{-1} 、 150 s^{-1} 四种切变率下全血黏度指标均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 治疗组在 1 s^{-1} 、 5 s^{-1} 、 30 s^{-1} 、 150 s^{-1} 四种切变率下全血黏度指标均显著降低 ($P < 0.01-0.05$); ②与正常组和治疗组比较, 模型组血浆黏度均显著升高 ($P < 0.01$); ③与正常组比较, 模型组和治疗组红细胞聚集指数均显著升高 ($P < 0.01$), 治疗组和模型组无显著性差异; ④治疗组红细胞压积较模型组好转但依旧显著高于正常组; ⑤正常组和治疗组血小板聚集率均显著低于模型组 ($P < 0.01$); ⑥治疗组血小板聚集率显著高于正常组 ($P < 0.01$); ⑦结果说明, 中药复方联合电脉冲对大鼠颈椎病动物模型具有明显的活血化瘀作用, 其机制与该方能使聚集的红细胞和血小板解聚等有关。

关键词:

组织构建; 组织工程; 电脉冲; 中药; 颈椎病; 动物模型

主题词:

脉冲疗法; 药物; 中草药; 颈椎; 组织工程

基金资助:

广东省中医药局基金(20130601); 广州市海珠区科技计划项目(2013-cg-34)

Zhu Chuan-wu, Master, Lecturer, Attending physician, School of TCM, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Corresponding author: Yang Fang, Master, Pharmacist-in-charge, Department of Pharmacy, Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Chinese herbal compound combined with electrical pulse for cervical spondylosis in a rat model: microcirculation improvement and the underlying mechanism

Zhu Chuan-wu¹, Yang Fang² (¹School of TCM, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China; ²Department of Pharmacy, Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: *Wulong Dan*, a clinical prescription designed by Professor Zang Kun-tang, has been used to treat ischemic encephalopathies including cerebral infarction, transient ischemic attack, convalescent stage of cerebral hemorrhage and cervical spondylosis, showing overt curative efficacy and safety.

OBJECTIVE: To investigate the therapeutic effect of Chinese herbal compound combined with electrical pulse on hemorrheology and the underlying mechanism.

METHODS: Twenty-four male Sprague-Dawley rats were randomized into normal, treatment and model groups ($n=8$ per group). The models of cervical spondylosis induced by unbalanced dynamic and static forces were established in the rats in the latter two groups. At 3 days after modeling, the rats in the treatment group received Chinese herbal compound combined with electrical pulse: a damp-dry cotton cloth after immersed in Chinese herbal was put on the rat neck which was then covered with two electrode plates and fixed for electrical pulse therapy, 20 minutes daily, 20 days a course. The model group was given no treatment. The whole blood viscosity and plasma viscosity were detected using blood viscosity tester; the maximum erythrocyte deformation index was detected by erythrocyte detector; the hematocrit was detected using high speed centrifugation.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the normal group, the whole blood viscosity at shear rates of 1, 5, 30 and 150 s^{-1} was significantly increased in the model group, and the whole blood viscosity in the model group was significantly higher than that in the treatment group ($P < 0.01-0.05$). Compared with the normal and treatment groups, the plasma viscosity was significantly increased in the model group ($P < 0.01$). There was significantly elevated erythrocyte aggregation in the model and treatment groups compared with the normal group ($P < 0.01$), but there was no significant difference in the erythrocyte aggregation between model and treatment groups. The hematocrit in the treatment group was significantly improved compared with the model group, but it was still significantly higher than that in the normal group. The order of platelet aggregation rate was as follows: the model group > treatment group > normal group ($P < 0.01$). These results suggest that Chinese herbal compound combined with electrical pulse can significantly improve microcirculation by aggregating red blood cells and depolymerizing palates in a rat model of cervical spondylosis.

Subject headings: Pulse Therapy, Drug; Drugs, Chinese Herbal; Cervical Vertebrae; Tissue Engineering

Funding: the Foundation of Traditional Chinese Medicine Bureau of Guangdong Province, No. 20130601; the Science and Technology Program of Haizhu District in Guangdong Province, No. 2013-cg-34

Cite this article: Zhu CW, Yang F. Chinese herbal compound combined with electrical pulse for cervical spondylosis in a rat model: microcirculation improvement and the underlying mechanism. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2017;21(32):5177-5182.

0 引言 Introduction

颈椎病又称颈椎综合征, 是一种以退行性病理改变为基础的临床综合征, 属于祖国医学中“痹证”“头痛”“眩晕”“颈强”等范畴^[1]。颈椎病常见类型包括椎动脉型和神经根型, 椎动脉型颈椎病临床上以眩晕为主要表现^[2-3], 并伴有偏头痛、耳鸣、听力减退等症状。好发于中老年人, 男性多于女性, 且具有年轻化趋势^[4]。神经根型颈椎病占颈椎病患病人群的60%-70%^[5], 其主要临床表现为神经根放射性疼痛、麻木无力等, 其发病可能与相应节段背根神经节受到物理机械压迫和化学炎症刺激, 以致发生慢性损伤有关。

颈椎病临床发病率呈逐年升高趋势, 特别是智能电子产品的广泛使用, 严重影响患者生活质量。中医药在治疗颈椎病脑供血不足方面具有一定优势, 中药口服、外敷等疗法都有一定效果。但中药口服制剂从生物药剂学角度看很难在病变部位达到有效血药浓度, 影响了药物疗效的发挥。

中医药“内病外治”理论历史悠久, 积累了大量良方、验方, 利用现代制剂技术开发疗效显著持久, 使用方便的外用中药制剂成为中药现代化的一个重要课题。

乌龙丹系国家级名老中医臧堃堂教授临床经验方, 为南方医科大学南方医院使用多年的医院制剂品种, 在临床上常用于治疗脑梗死、脑栓塞、短暂性脑缺血发作、脑出血恢复期、脑动脉硬化、脑萎缩及高血压头晕头痛、颈椎

病(椎-基底动脉供血不足型)、颅脑损伤或手术后遗症等缺血性脑病, 效果显著使用安全。

本研究拟简化乌龙丹, 选取方中治疗颈椎病慢性脑供血不足的主效药物丹参、葛根、川芎、三七、冰片作为处方药物; 制成外用液。结合电脉冲刺激。应用于大鼠颈椎病动物模型, 观察上述药物对颈椎病大鼠模型的影响, 借以探讨乌龙丹治疗颈椎病的抗炎作用机制。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年9月至2016年9月在南方医院脑外科实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 动物和分组 取成年SPF级雄性SD大鼠共24只, 雌雄各半, 体质量(250 ± 30) g。大鼠由南方医科大学南方医院动物中心提供, 许可证号: scxk(粤)2011-0015。无特定病原菌实验室饲养1周。

1.3.2 中药 乌龙丹主要由丹参、葛根、川芎、三七、冰片作为处方药物, 制成外用液, 由南方医科大学南方医院提供。

1.3.3 仪器和试剂 江湾 I 型C大鼠立体定向仪(上海), R-80A型自动冲洗血液黏度测试仪(北京世帝科学仪器公司), LG-B190型红细胞变形仪(北京世帝科学仪器公司),

LG-PABER- I 型血小板聚集凝血因子分析仪(北京世帝科学仪器公司); 肝素钠注射液(徐州万邦生化制药有限公司), 红细胞变形性试剂(北京世帝科学仪器公司), 二磷酸腺苷标准品(ADP, 美国Sigma公司, 色谱纯)。

1.4 实验方法

1.4.1 分组方法 随机将动物分为3组: 正常组8只; 治疗组8只; 模型组8只, 正常组不进行造模, 正常饲养, 其余2组均需造模。

1.4.2 造模方法 选择动静力失衡型颈椎病模型^[6], 将模型组及治疗组大鼠按0.1 g/kg剂量行盐酸氯胺酮肌肉注射麻醉, 颈后部剪毛, 碘伏消毒, 取颈背部正中纵向切口, 长2.0–2.5 cm, 切开皮肤后, 充分游离各层肌肉, 横向切断深层颈夹肌和头、颈、寰最长肌, 完全切除颈髓肋肌和头半脊肌, 然后再依次切断C₂₋₇棘上和棘间韧带。彻底止血、庆大霉素冲洗后缝合皮肤, 红霉素软膏外涂切口, 防止感染。

1.4.3 电脉冲联合中药治疗操作方法 大鼠造模后3 d进行治疗, 事先将治疗组大鼠固定于大鼠立体定向仪上, 取2块1 cm×1 cm棉布, 将棉布浸泡到中药液中, 拿出后拧至半干放置于治疗组大鼠颈部, 将2块电极板覆盖其上固定电极板, 检查输出电路是否相符。调节机器功率1 W、频率20 Hz及波形为连续波。治疗时间为20 min, 20 d为1个疗程, 1次/d。

1.4.4 血液流变学指标测定 治疗组大鼠治疗20 d后, 3组大鼠均由腹主动脉取血, 用血液黏度测试仪测定37 °C时1 s⁻¹、5 s⁻¹、30 s⁻¹、150 s⁻¹4种切变率下全血黏度和100 s⁻¹下的血浆黏度; 用红细胞变形仪测定红细胞最大变形指数; 用微量高速离心法测定红细胞压积。

1.4.5 对ADP诱导的大鼠血小板聚集的测定 治疗组大鼠治疗20 d后, 3组大鼠均由腹主动脉取血3 mL, 按照文献方法^[7], 用38 g/L柠檬酸钠溶液(0.1 mol/L)按1:9抗凝。以800 r/min, 离心3 min, 制备富血小板血浆。吸取血浆300 μL, 加搅拌子一粒, ADP诱导剂(终浓度为3 μmol/L)10 μL, 以3 000 r/min, 离心10 min, 制备贫血小板血浆。吸取血浆300 μL, 测定5 min血小板最大聚集率(%)。

1.5 主要观察指标 ①各组大鼠全血黏度、血浆黏度; ②各组大鼠红细胞聚集指数、红细胞压积; ③ADP诱导的大鼠血小板聚集功能结果。

1.6 统计学分析 应用SPSS 10.0软件处理, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间均数比较采用方差分析, 组内均数比较采用配对 t 检验。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠24只, 分为3组, 实验过程无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 大鼠一般表现 观察造模后动物生理情况: 大鼠活动度多减少, 身体蜷缩, 时常眯眼并且多有眼屎, 毛发杂乱、

不愿整理, 毛色粗糙无光泽, 身体逐渐消瘦, 摄食量减少, 上述尤以手术后大鼠明显; 至第4周时全部动物出现颈椎缩短、偏斜甚至扭曲, 粪便等未见异常。

2.3 各组大鼠全血黏度 见表1。

表1 各组大鼠全血黏度(切变率分别为1 s⁻¹、5 s⁻¹、30 s⁻¹、150 s⁻¹)结果 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, mPa·s)

Table 1 Whole blood viscosity of the rats at shear rates of 1, 5, 30 and 150 s⁻¹ in each group

组别	1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	30 s ⁻¹	150 s ⁻¹
正常组	12.77±1.37 ^b	8.12±0.88 ^b	5.63±0.29 ^b	5.46±0.44 ^b
治疗组	16.46±1.94 ^a	9.20±0.67 ^a	6.51±0.34 ^b	6.56±0.28 ^a
模型组	18.44±1.30	10.06±0.61	7.13±0.12	6.99±0.44
F值	27.142	14.266	62.826	32.337

表注: 与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与治疗组比较, ^c $P < 0.01$ 。

与正常组比较, 模型组在1 s⁻¹、5 s⁻¹、30 s⁻¹、150 s⁻¹四种切变率下全血黏度指标均显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 治疗组在1 s⁻¹、5 s⁻¹、30 s⁻¹、150 s⁻¹四种切变率下全血黏度指标均显著降低($P < 0.01-0.05$)。表明电脉冲联合中药治疗对颈椎病大鼠模型的全血黏度异常有对抗和治疗作用。

2.4 各组大鼠血浆黏度 见表2。

表2 各组大鼠血浆黏度 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, mPa·s)

Table 2 Plasma viscosity of the rats in each group

组别	血浆黏度
正常组	1.63±4.05 ^{ab}
治疗组	1.83±8.94 ^a
模型组	2.10±0.21
F值	25.031

表注: 与模型组比较, ^a $P < 0.01$; 与治疗组比较, ^b $P < 0.05$ 。

与正常组和治疗组比较, 模型组血浆黏度均显著升高($P < 0.01$); 表明颈椎病大鼠模型血液出现浓、黏、聚、集, 经电脉冲联合中药治疗后出现改善。

2.5 各组大鼠红细胞聚集指数、红细胞压积 见表3。

表3 各组大鼠红细胞聚集指数、红细胞压积 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, %)

Table 3 Erythrocyte aggregation and hematocrit of the rats in each group

组别	红细胞聚集指数	红细胞压积
正常组	2.46±0.37 ^{bc}	44.75±2.82 ^{bc}
治疗组	3.07±0.40	49.38±3.70 ^a
模型组	3.38±0.15	52.38±1.77
F值	16.281	14.308

表注: 与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与治疗组比较, ^c $P < 0.01$ 。

与正常组比较, 模型组和治疗组红细胞聚集指数均显著升高($P < 0.01$), 治疗组和模型组无显著性差异; 红细胞压积方面, 模型组指标显著高于正常组和治疗组, 治疗组依

旧显著高于正常组, 表明经电脉冲联合中药治疗后, 颈椎病大鼠模型的红细胞聚集指数和红细胞压积等指标均出现好转。

2.6 ADP诱导的大鼠血小板聚集功能结果 见表4。正常组和治疗组血小板聚集率均显著低于模型组($P < 0.01$); 治疗组血小板聚集率显著高于正常组($P < 0.01$)。表明模型大鼠经治疗后, 血小板聚集功能得到改善, 但依旧未恢复正常水平。

表4 ADP诱导的大鼠血小板聚集功能结果 ($\bar{x} \pm s, n=8, \%$)
Table 4 Platelet aggregation in rats induced by adenosine diphosphate

组别	血小板聚集率
正常组	31.38±1.41 ^{ab}
治疗组	37.63±1.92 ^a
模型组	41.75±1.49
F值	82.971

表注: 与模型组比较, ^a $P < 0.01$; 与治疗组比较, ^b $P < 0.01$ 。

3 讨论 Discussion

颈椎病引起脑供血不足是临床常见与多发的疑难病症。流行病学调查表明, 中国颈椎病的发病率越来越高。调查显示, 全国有7%-10%的人患颈椎病。而且, 颈椎病发病出现低龄化趋势, 其中中小学生的颈椎病发病率急速上升。

颈椎病的主要诱因包括年龄及职业, 目前比较一致的看法是: 颈椎病是中老年人的常见病、多发病, 患者高峰在40-60岁之间, 在成人中发病率为10%左右, 但现有报道颈椎病的发病年龄有年轻化的趋势。职业因素方面, 低头伏案与颈椎病的关系非常密切, 尤其是会计、微机人员、刺绣工人、电焊工、司机等为高患人群。

一般而言, 颈椎病的治疗方法主要分为非手术疗法及手术治疗两类。目前大多数的医学专家主张非手术治疗, 手术治疗周期长、费用高、痛苦大, 且易复发等缺点, 使其受到限制, 因此只有少数病例需手术治疗。

非手术治疗包括西药、中医药、物理治疗等方法。西药主要包括消炎止痛药, 如消炎痛, 泼尼松, 芬必得等, 还有扩血管药。在急性软组织根性疼痛时运用一些止痛药可阻止疼痛神经反射传导, 减少疼痛物质释放, 消炎消肿, 达到止痛的目的。扩血管药物在脑供血受到影响时较常应用。很多观点认为, 颈椎病的西药治疗不良反应较多, 效果不明显。因此, 应在临床和基础研究上积极探索中医药和物理方法对颈椎病的治疗手段。

颈椎病的研究方面, 其中一个重要的影响因素就是颈椎病的动物模型的选择。目前报道颈椎病动物模型的造模方法有多种, 如注射法, 直接压迫法^[8], 机械性压迫与化学物质刺激法等^[9]。动静力平衡法, 通过切除大鼠颈背部伸肌群, 导致伸颈功能丧失, 动物始终呈屈颈状态, 颈椎生物力学平衡的破坏, 颈椎间盘退变, 促进了颈椎病的发生、发展^[10]。

长期的低头状态, 较好地模拟了人类颈椎病的发病过程, 与人类引发颈椎病的重要因素如前屈的工作、睡眠与生活体位等类似^[11]。因此, 本实验选择动静力失衡法作为大鼠颈椎病动物模型。

目前在临床上开展的对于颈椎病患者的非药物疗法有针刺、艾灸、火罐、推拿手法、穴位注射、颈椎牵引等, 有大量实验及临床研究表明, 电刺激等物理治疗方法在治疗疼痛方面有其独特的优势^[12]。

物理治疗方法包括电疗可扩张血管, 改善局部血液循环, 消炎止痛, 解除肌肉和血管的痉挛, 消除神经根和脊髓的水肿, 减轻粘连, 调节自主神经功能, 促进神经和肌肉功能恢复, 常见的物理治疗常见方法包括低中频电疗、超声波等。其中以中频电脉冲多见, 国内国际市场上有大量相关产品可供选用。

电脉冲治疗目前在临床上广泛用于各种慢性疼痛的治疗, 尤见于颈椎病、腰椎间盘突出症、肩周炎等。科学家认为这种效果可能是通过改变患者脑脊液中阿片肽、SP、CCK等的代谢和释放速率; 调节阿片受体、NK1和CCK8等受体的可塑性变化而发挥作用的。设备方面, 一般为袖珍型的仪器。仪器设有多个通道输出, 每通道电流强度可独立调节; 脉冲宽度为可调, 频率可调; 输出方式上还设有常规模式、低频针刺样模式、脉冲群模式。国内已有多种型号的仪器生产。电极大多数使用碳-硅材料电极, 可裁剪成不同大小和形状。其次是用Karaya胶和合成聚合物的自粘型电极。此外, 还有一次性电极、棉电极等。

电脉冲疗法不仅有明显的镇痛效果, 且可以改善局部组织微循环, 促进神经再生作用, 是一种无创、无痛苦、使用方便、适应证广泛、不受人限制非药物疗法, 已应用于临床很多领域, 尤其多用来治疗各种慢性疼痛如颈椎病。但电脉冲治疗仪大多数使用碳-硅材料电极或者Karaya胶和合成聚合物的自粘型电极, 只发挥单纯的经皮电刺激治疗作用。因此, 如果能将中药的有效成分结合在电脉冲治疗上, 就会使电脉冲治疗效果得到明显提高。

中药疗法治疗颈椎病有中药口服、中药外用等治疗手段, 在治疗颈椎病脑供血不足方面具有一定优势, 中药口服、外敷等疗法都有一定效果。中药治疗作用包括改善血液流变学和微循环、扩血管作用、改善血流动力学。某些中药具有清除自由基、对抗炎性递质的作用。

中医辨证认为颈椎病多为寒湿热邪入侵肢体经络, 气血不畅所致, 此病由虚实夹杂而成病, 为本虚标实之证。中药在治疗颈椎病方面有着重要的经验, 补气、补血、活血、发散风寒的中药对神经根型颈椎病的治疗有着明显疗效^[13]。相对来说, 对于颈椎病、关节炎、皮肤病、腰椎间盘突出、肩周炎等局部损伤比较明显的疾病, 中药口服制剂从生物药剂学角度看很难在病变部位达到有效血药浓度, 影响了药物疗效的发挥。中医药“内病外治”理论历史悠久, 积累了大量良方、验方, 利用现代制剂技术开发疗效显著持久, 使用方

便的中药外用制剂治疗颈椎病等上述疾病成为中药现代化的一个重要课题。

本研究中的处方药物源自名老中医经验方乌龙丹, 该方系国家级名老中医臧堃堂教授临床经验方, 为南方医科大学南方医院使用多年的医院制剂品种, 在临床上常用于治疗脑梗死、脑栓塞、短暂性脑缺血发作、脑出血恢复期、动脉硬化、脑萎缩及高血压头晕头痛、颈椎病(椎-基底动脉供血不足型)、颅脑损伤或手术后遗症等缺血性脑病, 效果显著使用安全。

传统医学认为脑缺血后神经元损害是中风病理变化过程的一部分, 近现代医家普遍认为中风的发病机制为肝阳化风、气血并逆、直冲犯脑。臧堃堂教授认为中风的受病部位在脉管与脑髓, 尤以脉管的病变为其关键, 气血不足与血脉瘀阻是病机的主要方面, 与诸脏腑经络的病变及中风后的痰饮瘀毒、正气亏虚三者之间又有因果的关系。概之, 本病病机主要为各种内外病因致诸脏腑经络之病变, 殃及脑部脉管与脑髓, 产生痰饮瘀毒及正气亏虚等病理变化过程, 主张以益气活血、养阴补肾、化瘀通络为其治疗要点。

臧堃堂教授根据对缺血性脑血管病的病因病机理解, 从益气活血、养阴补肾、化瘀通络法拟制出经验方乌龙丹, 全方由生黄芪、葛根、生晒参、白术、制首乌、川芎、当归、丹参、地龙、全蝎、制僵蚕、水蛭、石菖蒲、女贞子等十四味药组成, 其组方用药主要从两方面着手: 脉管病变为气血亏虚与血脉瘀阻, 故治用大剂量的生黄芪、生晒参、白术大补脾胃之气, 扶后天以助化机, 益气以生血; 丹参、当归、川芎、地龙、水蛭养血活血、化瘀通络, 配用葛根以鼓动气血上行进入脑缺血区以祛瘀生新。脑髓病变为髓海亏虚与痰饮瘀毒, 故治用制首乌、女贞子养阴补肾填髓, 僵蚕、全蝎、石菖蒲平肝熄风解痉、祛痰开窍。以上诸药合用共奏益气活血、养阴补肾、化瘀通络之功, 从而达到治疗缺血性脑血管病的目的。

课题组前期一直从事乌龙丹研究。临床研究上, 如吴绪祥等^[14]进行了乌龙丹治疗椎动脉型颈椎病75例临床观察, 临床治愈(自觉症状及体征完全消失, 半年内未复发者)42例; 显效(主要症状和体征消失, 半年内复发者)19例; 有效(症状及体征部分减轻者)1例; 无效(治疗前后症状及体征无变化者)3例。

本研究选取方中治疗颈椎病慢性脑供血不足的主效药物丹参、葛根、川芎、三七、冰片作为处方药物, 其中丹参的功效有活血调经、祛瘀止痛、凉血消痈、清心除烦、养血安神^[15]。现代研究认为丹参可抗血栓形成, 提高纤溶酶活性; 延长出、凝血时间; 抑制血小板聚集(提高血小板内cAMP水平抑制TXA₂合成); 改善血液流变学特性(血黏度降低、红细胞电泳时间缩短)^[16]。现代研究发现方中药物丹参可降低SAH后脑中过氧化脂质的含量, 提示它有很强的抗氧化作用。从丹参提取出的一种单体IH764-3治疗兔症状性脑血管痉挛, 证实IH764-3可缓解脑血管痉挛的发

生, 其对血管壁的保护作用优于尼莫地平^[17]。

川芎, 性味归经: 辛, 温。归肝、胆、心包经。功效: 活血行气, 祛风止痛。《本经》云: 主中风入脑头痛, 善治头脑诸疾。主要化学成分包括藜本内酯、川芎嗪等, 川芎嗪又称为四甲基吡嗪(Tetramethylpyrazine, TMP)是川芎的主要药理活性成分, 现代研究证实, 川芎嗪、阿魏酸钠具有活血化瘀功效, 可扩张冠状动脉, 增进冠脉流量, 缓解心绞痛, 并具有抗血栓形成作用^[18-19]。另外, 川芎、川芎总生物碱和川芎嗪均能使麻醉犬血管阻力下降, 使脑、股动脉及下肢血流量增加。用³H标记示踪, 经小鼠尾静脉注入, 在8 min时, ³H-川芎嗪可较多透过血脑屏障, 并达到高峰, 表明大脑是川芎嗪的重要靶器官之一^[20]。研究表明TMP是一种具有钙拮抗效应的中药有效成分, 它能活化血管膜上的钙泵, 使血小板内Ca²⁺浓度降低, 阻断Ca²⁺对血小板的激活; 能够抑制血管平滑肌细胞的增殖, 从而抑制平滑肌的痉挛, 其作用机制及疗效表现与尼莫同相同。这可能是TMP能够缓解脑血管痉挛的主要原因^[21]。另外, 川芎嗪能有效地抑制血管壁炎症因子的表达, 川芎嗪通过减少增多的白细胞和小胶质细胞从而减轻炎症反应。抑制细胞因子诱导的内皮细胞黏附分子表达的增加和白细胞浸润, 抑制平滑肌细胞和成纤维细胞增生, 进而保护了脑血管壁的完整性; 起到了抗炎的作用^[22]。

众所周知, 三七为伤科要药, 现代研究发现, 三七是唯一活血而不破血的药物, 有双向调节的作用, 能够化瘀, 延缓衰老, 扩张血管, 改善血液循环^[23-25]。冰片常入丸散剂, 外用多见, 有良好的镇痛醒脑作用。全方合用, 主治颈椎病患者的疼痛, 脑供血不足, 眩晕等症状。葛根可解肌退热、透疹、生津、升阳、止泻。可主治项背强痛, 《神农本草经》提出葛根能主治诸痹^[26], 张仲景则配伍组方成葛根汤以治项背强, 颇似患者颈项抵抗的临床症状^[27]。《别录》记载葛根功效疗伤寒中风头疼^[28]。现代研究认为葛根素对周围微血管和脑血管障碍的血流量具有明显的改善作用, 减少血管阻力, 增加血流量等作用^[29]。

葛根素是从葛根中的提取的有效成分, 自1959年由柴田承二等分离得到以来, 对它的研究日渐增多, 发现其具有扩张心脑血管、改善微循环、促进血流恢复、抑制血小板聚集和血栓形成等作用, 在临床上被广泛应用于心脑血管疾病。现代临床与实验研究表明, 葛根素可能通过促进蛛网膜下腔出血患者血液吸收速度, 改善脑血供以防治脑血管痉挛, 从而进一步减少患者神经功能缺损, 缓解头痛症状, 改善预后^[30]。另有研究表明葛根素能降低颈椎病患者血管痉挛的发病率, 其防治血管痉挛的作用可能是通过升高血管内皮舒张因子水平, 降低血管内皮收缩因子水平以扩张脑血管, 增加脑血流量, 改善脑灌注, 减少颈椎病的发生, 最终改善患者的预后^[31]。

研究中, 作者发现, 将名中医经验方乌龙丹中治疗颈椎病慢性脑供血不足的主效药物丹参、葛根、川芎、三七、

冰片结合电脉冲治疗仪。可明显改善该颈椎病动物模型大鼠血液流变性异常,降低血液黏度、抑制红细胞聚集并改善其变形性、抑制血小板聚集。表明上述治疗可提高血流灌注,改善微循环,增加组织和器官的血液供应,疏通脑络,纠正脑缺血缺氧所致的神经元代谢紊乱,从而减轻脑水肿和继发性脑损害,促进神经功能的恢复,具有明显的活血化瘀作用。

因此,上述两种非手术治疗方法有效结合,可实现优势互补,从而形成一套安全有效、操作简便、无痛苦、患者易接受的治疗方法,具有很强的创新性,为广大患者带来福音。

作者贡献: 设计、实施、评估者均为第一作者朱传武,盲法评估。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在戊巴比妥钠麻醉下进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《动物实验体内实验研究报告规范指南》(ARRIVE 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 郑春水,黄萍萍,廖军.电针对颈椎病模型大鼠椎间盘细胞 β -catenin 和 Axin 蛋白表达的影响[J].时珍国医国药,2015,26(5):1259-1261
- [2] Feng MS, Gao JH, Zhu LG, et al. Analysis of X-ray signs of cervical spondylosis between vertebral artery type and radiculopathy. Zhongguo Gu Shang. 2015; 28(4):330-334.
- [3] Yong CL, Bao GP. Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Cervical Vertigo. Pain Physician. 2015; 18(4):583-595.
- [4] 刘智勇,郝阳泉.椎动脉型颈椎病的病因病机研究进展[J].实用中西医结合临床,2015,15(4):88-90.
- [5] 巩彦龙,宋敏,刘涛.3种方法评价椎动脉型颈椎病大鼠模型[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2016,37(6):497-502.
- [6] 柯尊华,王静怡.颈椎病流行病学及发病机理研究进展[J].颈腰痛杂志,2014(1):62-64.
- [7] 施杞,郝永强,彭宝淦,等.动静力平衡失调与颈椎病-颈椎病动物模型的实验研究[J].上海中医药大学学报,1993,13(1):53-56.
- [8] 赵定麟,陈德玉,沈强.实验性颈椎病模型的设计[J].中华外科杂志,1993,31(8):453-455.
- [9] 蔡钦林,黄云钟,杨文,等.慢性压迫性颈脊髓超微病理变化的研究[J].中国脊柱脊髓杂志,1996,6(6):254-255.
- [10] 张军,孙树椿.神经根型颈椎病(急性期)动物模型的建立[J].中国中医骨伤科杂志,2000,8(1):12-16.
- [11] 郝永强,施杞,郑松国.大鼠颈椎病理实验模型的设计与建立[J].中国矫形外科杂志,1999,6(4):282-284.
- [12] 戎利民,李佛保,蔡道章.脊髓型颈椎病动物模型的初步建立[J].解剖学研究,2001,23(4):313-315.
- [13] 陈元川,王翔,庞坚,等.单纯口服中药治疗神经根型颈椎病用药分析[J].上海中医药杂志,2014,48(6):78-80.
- [14] 吴绪祥,钟洪,臧坤堂.乌龙丹治疗椎动脉型颈椎病75例[J].湖北中医杂志,1999,21(10):465
- [15] 高丽娜,崔元璐,延阔.丹参红花配伍研究进展[J].中草药,2016,47(4):671-679.
- [16] 徐玲.丹参的药用成分与药理作用探析[J].健康前沿,2016,23(7):278,214.
- [17] 胡波,范红伟,马广骏.丹参有效单体IH764-3药理作用研究及其临床应用前景述评[J].白求恩医学杂志,2016,14(2):233-235.
- [18] 杜旌畅,谢晓芳,熊亮,等.川芎挥发油的化学成分与药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(23):4328-4333.
- [19] 刘旭,程艳芹,崔晓博.中药川芎心肌缺血保护作用的谱效学研究[J].中国药业,2016,25(15):9-12.
- [20] 刘絮,姜秀文,王立英.川芎生物碱对大鼠脑缺血-再灌注损伤的保护作用[J].北华大学学报(自然),2016,17(3):339-343.
- [21] 高海军,白焕焕,雷廷.川芎嗪在脑缺血再灌注损伤中的保护作用[J].中国老年学,2015,35(17):5019-5023.
- [22] 张红兵,李强,冯靖.川芎嗪下调炎症和黏附基因的表达而抑制血管新生内皮的形成[J].中国临床药理学杂志,2014,30(4):340-343.
- [23] 赵文萃,张宁,周慧琴,等.三七总黄酮对高血脂大鼠血脂的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,(8):143-147.
- [24] 刘苗苗,罗仕华,李中伟.三七断骨巴布膏对膝关节骨性关节炎患者膝关节功能的影响[J].河北中医,2016,38(5):679-681.
- [25] 朱少琴,江小萍.三七总皂苷对动脉粥样硬化患者颈动脉内膜中层厚度和斑块的影响观察[J].江西中医药,2017,48(4):40-41.
- [26] 尹金磊.浅谈葛根的临床应用[J].中国社区医师:综合版,2005,(6):9-9.
- [27] 刘旭.小议张仲景麻黄葛根先煎之理[J].国医论坛,2007,22(4):44-45.
- [28] 易增兴,周复辉.葛根临床应用体会[J].陕西中医,2006,27(11):1453-1454
- [29] 潘洪平,杨嘉玲,莫祥兰,等.葛根素注射液对急性脑缺血模型大鼠脑细胞损伤的保护作用[J].中国中药杂志,2005,30(6):457-459.
- [30] 齐学军.葛根素治疗脑血管痉挛性头痛120例疗效观察[J].浙江实用医学,2003,8(3):170-171.
- [31] 高尔,王金红,李洪军.乳化葛根素对高脂血症家兔血清NO及PGI₂的影响[J].潍坊医学院学报,2001,23(1):1-3.