

[文章编号] 1671-587X(2011)06-0976-05

沉默视黄酸核受体 α 损伤大鼠原代海马神经元的钙兴奋性

江伟^{1,2,3}, 喻琴^{1,2}, 龚敏^{1,2}, 毕扬^{1,2}, 张贇^{1,2}, 陈立^{1,2}, 瞿平^{1,2},
魏小平^{1,2}, 刘友学^{1,2}, 陈洁^{1,2}, 李廷玉^{1,2}

(1. 重庆医科大学附属儿童医院儿童营养中心, 重庆 400014; 2. 重庆医科大学儿童发育疾病省部共建教育部重点实验室, 重庆 400014; 3. 重庆医科大学附属儿童医院康复中心, 重庆 400014)

[摘要] 目的: 了解视黄酸核受体 α (RAR α) 对大鼠神经元功能的必要性。方法: 采用组织消化原代贴壁法分离培养大鼠原代海马神经元, 利用腺病毒载体特异沉默 RAR α ; 利用 Real-Time PCR 分析沉默 RAR α 对神经元视黄酸 (RA) 信号各受体以及神经细胞标志物的影响; 利用活细胞钙影像分析沉默 RAR α 对神经元钙兴奋性的影响。结果: 免疫荧光显示, 分离培养的细胞 90% 表达神经元标志物神经元特异性烯醇化酶 (NSE), 腺病毒转染效率可达 80%。PCR 结果显示, RAR α 沉默后 RAR α 表达降低 75% ($P < 0.01$), 其他受体均显著降低 ($P < 0.01$), 但 RAR β 显著上调 ($P < 0.05$)。活细胞钙影像显示, 沉默组钙兴奋性显著降低 ($P < 0.05$), 全反式视黄酸 (ATRA) 预处理 24 h 能显著增强钙兴奋性 ($P < 0.01$)。结论: RAR α 的缺失能显著降低原代海马神经元的神经元标志物 NSE 的表达, 并显著损伤神经元的钙兴奋性。

[关键词] 原代海马神经元; 视黄酸; 视黄酸核受体 α ; 钙兴奋性; 基因沉默

[中图分类号] R338; R361 **[文献标志码]** A

Calcium excitability of rat primary hippocampal neuron damaged by silenced retinoic acid receptor α

JIANG Wei^{1,2,3}, YU Qin^{1,2}, GONG Min^{1,2}, BI Yang^{1,2}, ZHANG Yun^{1,2}, CHEN Li^{1,2}, QU Pin^{1,2},
WEI Xiaoping^{1,2}, LIU You-xue^{1,2}, CHEN Jie^{1,2}, LI Ting-yu^{1,2}

(1. Children Nutrition Center, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China; 2. Key Laboratory of Developmental Diseases in Childhood, Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China; 3. Rehabilitation Center, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

Abstract: **Objective** To study the necessary of retinoic acid receptor α (RAR α) for rat neuron function. **Methods** Tissue digestion was used to isolate and cultivate the rat primary hippocampal neurons, and the adenovirus vector was used to specifically silence the RAR α ; Real-Time PCR was used to analyze the influence of silenced RAR α in retinoic acid (RA) receptors and the markers of nerve cells; live cell imaging analysis was performed to analyze the influence of the calcium excitability of neurons silenced RAR α . **Results** The immunofluorescence results showed that 90% of the isolated cells expressed the neuron marker neuron-specific enolase (NSE), the adenoviral transfection efficiency was up to 80%. The PCR results showed the expression of RAR α in silenced RAR α neuron was decreased by 75% ($P < 0.01$), the other receptors were significantly decreased ($P < 0.01$), but RAR β was significantly increased ($P < 0.05$). The live cell calcium imaging results showed the calcium excitability in silent group was significantly reduced ($P < 0.05$), however all-trans retinoic acid (ATRA) pretreatment for 24 h could significantly enhance the calcium excitability ($P < 0.01$). **Conclusion** The absence of

[收稿日期] 2011-06-29

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目资助课题 (30830106); 国家自然科学基金青年基金资助课题 (81100454)

[作者简介] 江伟 (1981-), 男, 四川省达州市人, 医学博士, 医师, 主要从事脑损伤及神经发育研究。

[通信作者] 李廷玉 (Tel: 023-63623604, E-mail: tyli@top.sina.com)

RAR α can significantly reduce the neuron marker NSE expression of the primary hippocampal neurons, and significantly damage the neuronal calcium excitability.

Key words: primary hippocampal neurons; retinoic acid; retinoic acid receptor α ; calcium excitability; gene silence

视黄酸 (retinoic acid, RA) 信号在神经发育中起着重要作用^[1], RA 信号通过 RA 与其核受体结合激活进而通过转录或非转录调节相关靶基因或下游信号通路。本课题组前期研究发现: 受体亚型 RAR α 在中枢神经系统中是优势受体^[2], RAR α 的表达水平是否影响以及如何影响神经元的功能成熟, 目前尚不清楚。现已知记忆的基础是长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 和长时程抑制 (long-term depression, LTD), 神经元的钙兴奋性是 LTP 的首要因素, 本研究通过在原代神经元水平控制 RAR α 表达水平试图了解 RA 信号对神经元钙兴奋性的影响。

1 材料与方法

1.1 原代海马神经元分离培养 SPF 级 Wistar 大鼠购自第三军医大学附属大坪医院实验动物中心。取 1 d 龄新生鼠, 快速处死后剥离海马组织, 放入 15 mL 离心管中, 加入 4 mL 胰酶 (Gibco, 12605, USA) 于 37°C 消化震荡 200 r · min⁻¹ × 30 min, 1 500 r · min⁻¹ 离心 5 min 得到细胞沉淀物。将细胞接种于 6 孔板中, DMEM/F12 + 10% FBS 培养过夜, 第 2 天半量更换为含有 2% B27 (Gibco, 12587, USA) 的 Neural basal medium (Gibco, 10888, USA), 第 3 天全量换液, 此后每 3 d 换一次培养液, 连续培养 7 d 用于后续实验。

1.2 siRNA 腺病毒转染神经元 设计并合成 3 对针对 RAR α 的 siRNA 序列: RAR α -1 Fwd 5'-CCAAGGAGTCGGTGCAGAAA-3', RAR α -1 Rev 5'-TTTCGCACCGACTCCTTGG-3'; RAR α -2 Fwd 5'-GCAAGTACACTACGAACAA-3', RAR α -2 Rev 5'-TTGTTCTAGTGTACTTGC-3'; RAR α -3 Fwd 5'-CCTCATCTGTGGAGACCGA-3', RAR α -3 Rev 5'-TCGGTCTCCACAGATGAGG-3'。在培养的第 6 天, 沉默组将原代海马神经元用 3 对 siRNA-RAR α pool (腺病毒 pSES-HUS 报告荧光为 RFP 红色荧光) 感染 24 h, 次日用 PBS 冲洗, 对照组转染带 RFP 报告荧光的空载腺病毒 pSES-HUS, 再培养 12 h 收集细胞提取 mRNA 或活细胞钙影像检测。

1.3 Real-Time PCR 原代神经元实验每组纳入

3 批次细胞, 提取细胞 mRNA。mRNA 提取采用 EZgenoTM 的 RNA 提取试剂盒 (Genemega D6311, USA), 操作依照指南。提取的 RNA 被 RQ1 RNase-free DNase 处理 (Promega, USA) 去除 DNA 的污染。检测 RNA 浓度 (Thermo, USA)。使用 PrimeScript 逆转录试剂盒 (TaKaRa DRR037A, Japan) 将纯化的 mRNA 逆转录成 cDNA。在冰上操作, 500 ng RNA 加入逆转录酶试剂使逆转体系为 20 μ L。逆转录反应为 3 个循环 37°C 下 15 min, 然后 85°C、5 s, 得到 cDNA。3 复孔 cDNA 的实时荧光定量 PCR 检测采用 StepOne2.1 实时 PCR 仪 (ABI, USA), 试剂采用 RealMasterMix (SYBR Green, TIANGEN BIOTECH, China)。PCR 循环如下: 95°C 变性 10 min; 95°C、15 s, 60°C、60 s, 72°C、30 s, 45 个循环, 溶解曲线分析。引物序列分别采用引物设计软件 primer-5 设计如下: RAR α 5'-GACTC-CGCTTTGGAATGG-3', 5'-ACTGCTGCTCT-GGGTCTCG-3'; RAR β 5'-ACAATGCTGGCT-TCGGTCTC-3', 5'-CTCAAGGTCCTGGCGGT-CTC-3'; RAR γ 5'-CTGACCCTGAACCGAAC-CCA-3', 5'-TCCACAGATGAGGCAGATAGCA-3'; RXR α 5'-CGCACTCCATGTCGGTAC-3', 5'-TCCTCACTGCTGCTCACG-3'; RXR β 5'-CTTC-CCAGTCATCAGTTCTTCC-3', 5'-GGTGGCT-TCACATCTTCAGG-3'; RXR γ 5'-GGAACCAA-AGACCGAATC-3', 5'-CTCAACAAGGGTGAA-GAGC-3'; NSE 5'-CTGTTTGCTGCTCAAG-GTC-3', 5'-TCCCCTACGAGGTCTGC-3'; GFAP 5'-GAAGGTCTATTCCTGGTTGC-3', 5'-GGCGATACTCCGTACATG-3'; Nesting 5'-GGGCAAGTGGAACGTAGA-3', 5'-TCCCAC-CGCTGTTGATTT-3'; β -actin 5'-GCATAGC-CACGCTTGTCTTGAAG-3', 5'-GAACCGCT-CATTGCCGATAGTG-3'。计算公式: 以 β -actin 作为对照, 阈值 (CT) 为参数, 基因改变倍数 = $2^{-\Delta(\Delta CT)}$, 其中 $\Delta CT = CT_{\text{target}} - CT_{\beta\text{-actin}}$, $\Delta(\Delta CT) = \Delta CT_{\text{实验组}} - \Delta CT_{\text{对照组}}$ 。资料分析采用 StepOne 2.2 分析软件 (ABI 公司, USA), 最终获得相对数量 (RQ), 评估各目的基因表达水平。

1.4 活细胞钙影像 使用 Fura-2 荧光染料标记 Ca^{2+} , 培养 7 d 的原代神经元每孔给予 $200 \mu\text{L}$ $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Fura-2 (Sigma, USA), 37°C 孵育 1 h [在 ATRA 组孵育 Fura-2 前要用 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 全反式视黄酸 (Sigma, R2625, USA) 预处理 24 h]。每孔加 D-hank's buffer ($2 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 和 $1 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2) 1 mL 平衡 5 min。Fura-2 标记好的样本上机检测, CCD (CoolSNAP HQ2, USA) 每 8 s 拍照 1 次, 记录 340 和 380 nm 波段荧光。 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 刺激每个样本, 然后 CCD 每 8 s 拍照记录, 连续记录 8 min。分析 3 批次神经元, 每批次随机选取 5 个神经元的 F340 nm/F380 nm 荧光强度比值, 此比值作为跨细胞 Ca^{2+} 浓度, 峰值同基线的差异值作为 Ca^{2+} 震荡效应, 使用 Nikon AR3.2 Software 分析。

1.5 统计学分析 采用 SAS 8.1 统计软件进行统计学处理。各组的基因表达水平及钙兴奋性以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间样本均数比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 原代海马神经元培养鉴定 神经元标志物神经元特异性烯醇化酶 (NSE) 的免疫荧光染色鉴

定: 90% 细胞为原代海马神经元, 表明分离培养的细胞为神经元, 符合实验要求 (图 1, 见封二)。

2.2 神经元 siRNA 腺病毒转染率 红色荧光表示转染成功表达 RFP, 原代海马神经元的腺病毒感染率达 80%, 符合实验要求 (图 2, 见封二)。

2.3 沉默 RAR α 神经元的 RA 受体及神经细胞标志 mRNA 水平 特异沉默 RAR α 的神经元, RAR α mRNA 水平较对照组显著降低 ($P < 0.01$), 仅为对照组的 25%, 沉默效率符合实验要求, 并且发现 RA 的其他受体 RAR γ ($P < 0.01$)、RXR α ($P < 0.01$)、RXR β ($P < 0.01$) 和 RXR γ ($P < 0.01$) 表达均显著低于对照组, 但神经组织特异表达的 RAR β 显著上调 ($P < 0.05$)。进一步发现神经元的标志物 NSE ($P < 0.05$)、胶质细胞标志物 GFAP ($P < 0.01$) 以及神经干细胞的标志物 Nestin 表达 ($P < 0.01$) 均显著低于对照组。见表 1。

2.4 钙影像 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NMDA 激发的神经元钙兴奋性, siRAR α 组神经元 (0.1134 ± 0.0276) 低于对照组神经元 (0.4917 ± 0.0649 , $P < 0.01$), 对照组神经元低于 ATRA 处理组神经元 (1.4182 ± 0.1840 , $P < 0.01$), 但高于沉默组神经元 ($P < 0.05$), ATRA 处理组神经元钙兴奋性最高 ($P < 0.01$)。见图 3。

表 1 RAR α 沉默与对照神经元 RA 受体、NSE、GFAP 和 Nestin mRNA 水平比较

Tab. 1 Comparisons of RA receptors, NSE, GFAP and Nestin mRNA between RAR α silence and control neuron

($n=9, \bar{x} \pm s$)

Group	RAR α	RAR β	RAR γ	RXR α	RXR β
Control	1.000 ± 0.031	0.229 ± 0.005	1.236 ± 0.057	0.323 ± 0.012	0.142 ± 0.007
siRNA	$0.214 \pm 0.008^{**}$	0.381 ± 0.010	$0.480 \pm 0.032^*$	$0.157 \pm 0.001^*$	$0.070 \pm 0.005^{**}$
Group	RXR γ	NSE	GFAP	Nestin	
Control	0.636 ± 0.036	4.681 ± 0.212	1.793 ± 0.101	0.736 ± 0.062	
siRNA	$0.139 \pm 0.002^{**}$	$3.079 \pm 0.158^*$	$1.048 \pm 0.073^{**}$	$0.396 \pm 0.047^{**}$	

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group.

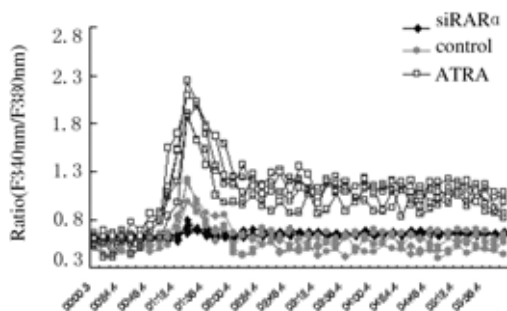


图 3 各组神经元钙兴奋性比较

Fig. 3 Comparison of Ca^{2+} excitability between various groups

3 讨论

RA 信号是神经系统发育成熟、功能维持的必要因素之一, 其中 ATRA 是其最重要的亚型。大量研究已证实: RA 信号的缺失可导致神经系统发育的畸形以及功能的损伤^[3]。但 RA 信号对神经影响的机制目前尚不完全清楚。本课题组前期研究已发现: RA 的前体物质维生素 A 缺乏可损伤大鼠的学习记忆能力^[4], 但其具体机制尚不清楚。目前的主流观点认为: 记忆的产生和维持主要定位于边缘系统的海马组织, 记忆的机制主要认为有 LTP 和

LTD, LTP 主要映射记忆的产生和维持, LTD 主要映射记忆的清除和整理^[5]。而 LTP 的产生和维持的分子机制中, Ca^{2+} 的从胞外入胞内激活 Ca 信号通路是其核心^[6]。

本研究成功分离培养大鼠原代海马神经元, 运用腺病毒 pSES-HUS 有效地转染神经元; RAR α 成功沉默, 表达量约为对照组的 25%, 同时 RAR γ 、RXR α 、RXR β 和 RXR γ 也显著下调, 但 RAR β 却出现表达上调。RAR α 在中枢神经系统中是 RA 优势受体^[2], 而 RAR β 是脑组织特异表达的一类 RA 受体, RAR β 敲出小鼠脑发育明显畸形^[3]。Agudo 等^[7] 研究也发现: RAR β 拮抗剂能损伤神经元轴突的生长。就此推断在中枢神经系统中 RA 信号的激活可能主要通过 RAR α 和 RAR β 来实现, 所以当 RAR α 被人为沉默后, RAR β 可能代偿性增高来补偿 RAR α 的缺失。本研究进一步发现: RAR α 沉默后能显著下调神经细胞的标志物表达水平。Sakimura 等^[8] 在 PC12 细胞研究发现 NSE 的上游序列有 RAR 的结合序列; Jang 等^[9] 在脐血干细胞成神经元和胶质细胞分化研究中发现 RAR α 、 β 介导 RA 信号促进神经元和胶质细胞 Marker 的表达, 提示 RAR α 参与了神经细胞的生成和成熟。本实验利用 RAR α 特异沉默细胞模型发现: RAR α 抑制后 NMDA 激发的神经元的钙震荡效应较对照组和 ATRA 诱导组明显受损。NMDA 结合 NMDA 受体打开 NMDA 离子通道, Ca^{2+} 从高浓度的胞外迅速进入低浓度的胞内, 从而激活 Ca^{2+} 信号通过诱导下游 CaM kinase 以及 cAMP 等系列的生化分子反应产生和维持 LTP^[10]。已有研究发现: RA 通过 RAR 影响 Ca^{2+} 内流^[11-12], Tozaki-Saitoh 等^[13] 在大鼠 PC12 细胞也发现 RA 能显著增强跨细胞 Ca^{2+} 内流。本课题组前期研究^[14] 发现: 在大鼠的生后发育阶段维生素 A 缺乏可显著抑制 NMDA 受体-NR1 的表达。这样从体外和体内信息推断 RAR α 的低表达抑制 RA 信号进而下调了 NMDA 受体的表达, 从而导致 NMDA 激发的 Ca^{2+} 内流震荡效应抑制。这将显著损伤神经元 LTP 的产生和维持, 最终损伤神经系统的高级认知功能。RAR β 虽然显著上调试图代偿缺失的 RAR α 功能, 但钙影像结果显示并未代偿成功, 也提示在神经系统中 RA 的受体亚类中 RAR α 是其 RA 信号通路的一个关键因素, 也符合本课题组前期的发育研究结果^[2]。但 RA 通过 RAR α 是否直接转录调控 NMDA-NR1 进而影响 Ca^{2+} 需要后续实

验进一步探讨。

综上所述, 本实验结果已发现 RAR α 的缺失能抑制神经细胞标志物的表达并显著损伤神经元钙兴奋性, 沉默 RAR α 后仅导致 RAR β 的代偿上调, 但 RAR β 的代偿并未实现功能上对 RAR α 的代偿。这将有助于对 RA 信号通路中各个受体亚型具体生物学作用的认识。

[参考文献]

- [1] Lane MA, Bailey SJ. Role of retinoid signalling in the adult brain [J]. *Prog Neurobiol*, 2005, 75 (4): 275-293.
- [2] Jiang W, Wen EY, Gong M, et al. The pattern of retinoic acid receptor expression and subcellular, anatomic and functional area translocation during the postnatal development of the rat cerebral cortex and white matter [J]. *Brain Res*, 2011, 1382: 77-87.
- [3] Maden M. Retinoic acid in the development, regeneration and maintenance of the nervous system [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8 (10): 755-765.
- [4] 毛春婷, 李廷玉, 刘友学, 等. 边缘型维生素 A 缺乏对幼鼠学习记忆的影响及干预效果 [J]. *中华儿科杂志*, 2005, 43 (7): 526-530.
- [5] Collingridge GL, Peineau S, Howland JG, et al. Long-term depression in the CNS [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11 (7): 459-473.
- [6] Collingridge GL, Bliss TV. Memories of NMDA receptors and LTP [J]. *Trends Neurosci*, 1995, 18 (2): 54-56.
- [7] Agudo M, Yip P, Davies M, et al. A retinoic acid receptor beta agonist (CD2019) overcomes inhibition of axonal outgrowth via phosphoinositide 3-kinase signalling in the injured adult spinal cord [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 37 (1): 147-155.
- [8] Sakimura K, Kushiya E, Ogura A, et al. Upstream and intron regulatory regions for expression of the rat neuron-specific enolase gene [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1995, 28 (1): 19-28.
- [9] Jang YK, Park JJ, Lee MC, et al. Retinoic acid-mediated induction of neurons and glial cells from human umbilical cord-derived hematopoietic stem cells [J]. *J Neurosci Res*, 2004, 75 (4): 573-584.
- [10] Papadia S, Stevenson P, Hardingham NR, et al. Nuclear Ca^{2+} and the cAMP response element-binding protein family mediate a late phase of activity-dependent neuroprotection [J]. *J Neurosci*, 2005, 25 (17): 4279-4287.
- [11] Brown AM, Riddoch FC, Robson A, et al. Mechanistic and functional changes in Ca^{2+} entry after retinoic acid-induced differentiation of neuroblastoma cells [J]. *Biochem J*, 2005, 388 (Pt 3): 941-948.
- [12] Feliciano DM, Edelman AM. Repression of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase IV signaling accelerates

- retinoic acid-induced differentiation of human neuroblastoma cells [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (39): 26466-26481.
- [13] Tozaki-Saitoh H, Koizumi S, Sato Y, et al. Retinoic acids increase P2X2 receptor expression through the 5'-flanking region of P2rx2 gene in rat pheochromocytoma PC-12 cells [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70 (1): 319-328.
- [14] Zhang X, Chen K, Chen J, et al. Effect of marginal vitamin A deficiency during pregnancy on retinoic acid receptors and N-methyl -d-aspartate receptor expression in the offspring of rats [J]. *J Nutr Biochem*, 2011, Feb 1 [Epub ahead of print].

破血化瘀、豁痰开窍及通腑泄热为主治疗出血性中风 18 例临床观察

吉林省松原市中医院内科(吉林 松原 131200) 杨亚波

吉林油田总医院(吉林 松原 131106) 丰立忠

出血性中风即西医学之脑出血,是临床常见急危重症之一。吉林省松原市中医院内科与长春中医药大学脑病科协作,采用中医破血化瘀、豁痰开窍及通腑泄热为主治疗出血性中风 18 例,疗效满意,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本组 18 例均为中小量脑出血(出血量 ≤ 30 mL)的住院患者,其中男性 14 例,女性 4 例;年龄 43~75 岁,平均 64.7 岁;病程 0.5~24 h,平均 2.5 h;出血部位:基底节 9 例,丘脑 6 例,小脑半球 2 例,脑干 1 例。出血量 ≤ 10 mL 者 7 例,11~20 mL 者 9 例,21~30 mL 者 2 例;入院时嗜睡或意识模糊 10 例,有高血压病 15 例,冠状动脉粥样硬化性心脏病 10 例,高脂血症 11 例,糖尿病 5 例。

1.2 诊断标准 诊断依据 1994-01 国家中医药管理局医政司制定的《中医内科急症诊断规范》及全国第 4 次脑血管病学术会议制订的《各类脑血管病诊断要点》的标准,并经颅脑 CT 证实。

1.3 辨证标准 中医辨证依据本科所拟中风诊疗常规中的辨证分型为标准。18 例患者中,属痰热内闭清窍者 2 例,痰热腑实者 11 例,风痰阻络者 5 例。

1.4 治疗方法 给予破血化瘀、豁痰开窍、通腑泄热中药。基本方组成:水蛭 8 g,虻虫 5 g,三七 10 g,生大黄(后下) 10 g,瓜蒌 20 g,石菖蒲 15 g,龟板(先煎) 10 g,生蒲黄(包煎) 15 g。随证加减:风火上扰清窍、头痛明显者加天麻 12 g、钩藤(后下) 15 g、菊花 10 g;痰热腑实者生大黄加量至 15~20 g、芒硝(冲服) 10 g;肝火亢盛、血压居高不下者加代赭石(先煎) 30 g、怀牛膝 30 g;痰热内闭心神加羚羊角粉(冲服) 1 g、人工牛黄(冲服) 1 g、远志 10 g、天竺黄 10 g;上消化道出血去水蛭、虻虫加云南白药(冲) 2 g;发热者加羚羊角粉(冲服) 1 g、生石膏(先煎) 30~50 g。每日 1 剂,上药加水 1 000 mL 煎取 300 mL,分 2 次口服或鼻饲。鼻饲患者烦躁不配合或服药 2 d 仍无大便者,予星蒌承气汤加减保留灌肠以通腑泄热。同时给予醒脑静注射液(云南大理药业股份有限公司生产,国药准字 Z53021638) 20 mL 加入 0.9%氯化钠注射液 250 mL 静脉滴注,每日 1 次。以上治疗 14 d 为 1 个疗程。

2 结果

依据全国第 4 届脑血管病学术会议通过的《脑卒中患者临床神经功能程度评分标准·临床疗效评定标准》将疗效分为基本痊愈、显效、有效及无效。本组 18 例患者中,基本治愈 9 例,显效 6 例,有效 3 例,总有效率为 100%;疗程最长者 25 d,最短者 7 d,平均 14 d。

3 讨论

中风分为缺血性中风和出血性中风,《黄帝内经》称之为偏枯、仆击、薄厥、大厥。出血性中风当为现代医学之脑出血,其基本病机是脏腑功能失调,气血逆乱,风挟痰瘀之邪上犯脑窍,脑部脉络瘀阻,血溢脉外,神机受损而致。而痰、瘀、热邪内蕴、肝肾亏虚、阳气亢盛是脑中风发生的主要病因。出血性中风大多表现为意识模糊或昏迷,呼吸气粗,面红目赤,口眼歪斜,半身不遂,大便秘结,舌质红或暗红、苔黄腻,脉弦滑。据舌、脉、症当属痰热内蕴、肝阳亢盛之候。然离经之血,便为瘀血,瘀血不去,新血难生。以往用平肝潜阳、通腑泄热之法治疗出血性中风,虽然取得一定效果,但患者肢体功能恢复慢,颅内血肿吸收也较慢;加用破血化瘀药物以后,加快了颅内血肿的吸收,患肢功能也得到明显改善,缩短了疗程。本科近 1 年运用破血化瘀、豁痰开窍、通腑泄热为主治疗出血性中风,取得良好效果。本方中水蛭、虻虫为破血化瘀药物,破除颅内瘀血,改善颅内血流,使新血再生,为主药;三七、生蒲黄辅主药以化瘀,兼能止血;瓜蒌、石菖蒲豁痰以开窍;生大黄既能辅主药以化瘀,又能荡涤肠胃、推陈致新、通腑泄热。腑气通,胃气得以下降,则肝热胆火亦随之下降以阻断病势。对于肝火亢盛、血压居高不下者,选用代赭石、怀牛膝,代赭石质重坠,善降逆气,平肝潜阳以熄风,怀牛膝以引血下行。灌肠方中大黄、芒硝以泻热通便;瓜蒌、胆星清化热痰,瓜蒌兼能通便;丹参、大黄化瘀通络。纵观全方,共成破血化瘀、豁痰开窍、通腑泄热之功,对出血性中风急性期的治疗有良好的临床效果,总有效率为 100%,值得临床推广使用。另外,醒脑静注射液的主要成分为麝香、郁金、栀子、冰片,是在古方安宫牛黄丸的基础上改制而成的水溶性注射液,具有开窍醒脑、清热豁痰、行气活血功效。