

## 脑心通对大鼠脑缺血海马CA1区神经元损伤的保护作用

脑血管疾病以其高发病率、高死亡率、高致残率、高复发率已成为严重威胁人类生命与健康的主要疾病之一。脑血管疾病主要包括缺血性和出血性脑卒中，其中缺血性脑卒中最常见，约占70%~80%[1]。对于缺血性脑卒中，目前还没有确切疗效的治疗方法。神经保护研究是当今神经科学研究领域的热点之一，但截至目前，在国际上尚未有一种临床上用于治疗脑卒中的神经元保护药物[2][3][4]。因而寻找应用于临床的神经保护剂是神经科学研究的重大课题之一。本研究选用临床上常用的脑心通、中风回春丸等中药制剂并与尼莫地平作对照来评价中药制剂的神经保护作用。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验动物模型的制备及分组

雄性Wistar大鼠(SPF级)，体质量(200±20)g，由南方医科大学实验动物中心提供。参造改良的Pulsinelli四血管闭塞法[5]制作前脑缺血模型。实验分4组，分别是：(1)生理盐水组；(2)脑心通组；(3)中风回春丸组；(4)尼莫地平组。每组6只动物。

#### 1.2 给药方法

脑心通胶囊选用市售的步长脑心通胶囊(国药准字Z20025001，0.4g/粒，咸阳步长制药有限公司)；中风回春丸选用市售中风回春丸(ZZ5341国药准字ZF20000235，广州敬修堂药业股份有限公司)。按照参考文献[6]的有关剂量估计换算方法，取人常用量，算出200g大鼠对应于人的常用量剂量均为0.09g/d，分别溶于12ml生理盐水中，于缺血前4d分早、中、晚3次灌胃给药，每次4ml。尼莫地平注射液选用市售尼立苏(95卫药准字X-121号，2mg/10ml，山东新华制药股份有限公司)，按3mg/kg[7][8]用生理盐水稀释后于缺血前1h灌胃给药，4ml/次，3次/d。生理盐水组给予生理盐水4ml/次，3次/d。各实验组均连续给药或生理盐水7d。在脑缺血/再灌注7d后处死动物。

#### 1.3 光学显微镜观察

取大鼠，用中性福尔马林缓冲液(0.1mol/L PB、4%甲醛的混合液，pH=7.2)经主动脉灌注固定后取脑，制作脑部冠状冰冻切片(8μm)，cresyl violet染色，光镜下观察CA1区组织病理学变化，并计存活锥体细胞密度(个/mm)。

#### 1.4 统计学处理

采用SPSS8.0软件，实验数据以平均数±标准差表示，所有计量资料间比较确定方差齐性后，采用One-Way ANOVA分析，两两比较用SNK法。

### 2 结果

低倍镜下，缺血/再灌注7 d后，生理盐水组海马CA1区锥体细胞碎片呈散乱无规则状，核固缩，有少量细胞存活，存活的锥体细胞密度为 $(23.5 \pm 17.3)$ 个/mm；脑心通组、尼莫地平组海马CA1区均可见到较多的细胞存活，锥体细胞密度分别为 $(42.3 \pm 7.7)$ 和 $(47.1 \pm 17.3)$ 个/mm，均明显高于生理盐水组( $P < 0.05$ 和 $P < 0.001$ )，但两组之间无明显差别( $P > 0.05$ )；中风回春丸组海马CA1区也可见到少量细胞存活，其锥体细胞密度为 $(16.1 \pm 10.5)$ 个/mm，与生理盐水组相比无明显差异。各组药物对海马CA1区神经元保护作用的组织切片见图1。

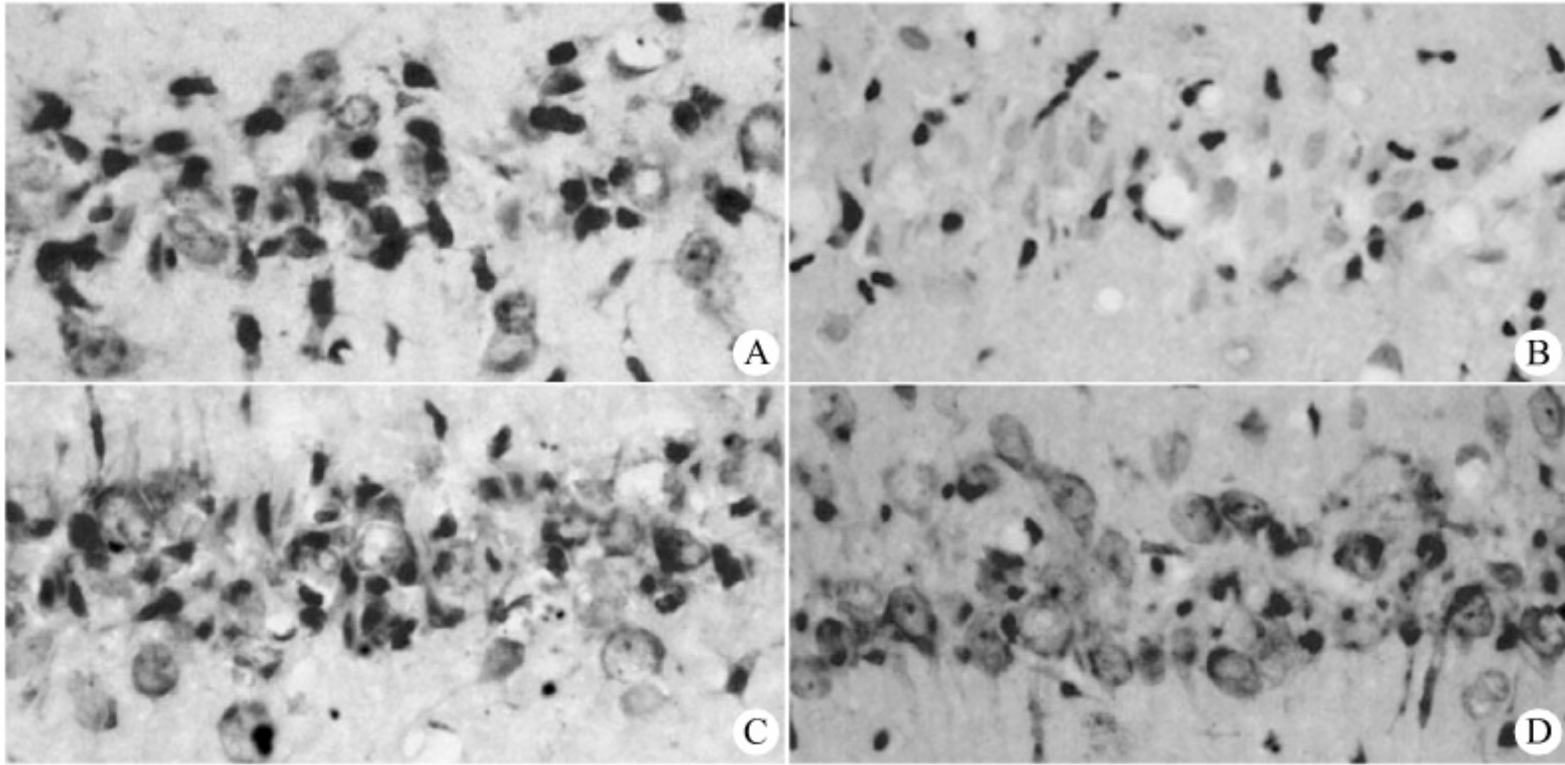


图1 各组药物对海马CA1区神经元保护作用的组织切片(原放大倍数:  $\times 400$ )

Fig.1 Neuroprotective effects of different drugs on neuronal injury in CA1 region of rat hippocampus (Original magnification:  $\times 400$ )

Cresyl violet staining of the CA1 pyramidal layer in saline (A), Zhongfenghuichunwan (B), Naoxintong (C) and nimodipin(D) groups

### 3 讨论

对于缺血性脑卒中目前还没有确切疗效的治疗方法，现行的治疗方法主要是溶栓，但溶栓又多有局限：一是时间窗的限制，仅有不足2%的患者受益于溶栓疗法[9]；二是用于溶栓的药物(如t-PA)本身就有神经毒性[10]。所以，近些年来神经元保护剂的研究是当今神经科学研究领域的热点之一。脑卒中神经元保护治疗着眼于尽可能多地保存因缺血、缺氧而致损伤的有功能的神经元，从而改善患者的神经功能，提高治愈率、降低致残率，显示了治疗上的巨大优势。在前脑缺血/再灌注动物模型上，大量的实验研究表明：应用NMDA受体阻断剂如MK-801没有发现有神经保护作用；AMPA受体阻断剂如NBQX有40%的保护率；钙通道阻断剂如尼莫地平有50%的神经保护作用；自有基清除剂的神经保护作用也在25%~50%之间等[11]。但是，这些受体阻断剂或自有基清除剂虽然在动物模型上对缺血诱导的神经元损伤有明显或显著的保护作用，却在临床试验中因副作用大或无明确疗效而失去开发价值。“中医药是一个伟大的宝库”，是一门临床医学，开展中药制剂的神经元保护作用评价，不仅是一个全新的领域，也必将为脑卒中的治疗带来变革性的突破。

Pulsinelli建立的大鼠短暂性前脑缺血模型是目前国际上研究缺血性脑损伤后继发性神经元死亡普遍采用的模型之一。短暂性前脑缺血后，实验动物海马CA1区锥体神经元发生迟发性死亡，即脑缺血再灌注2~3 d后，

光镜下才见到CA1区锥体细胞的死亡,而同一区的中间神经元及CA3区的锥体细胞则几乎不受损害。该模型创立于20世纪80年代初,目前已被广泛用于评价化合药物的神经保护作用。本研究中,生理盐水组海马CA1区神经元明显死亡,而具有神经保护作用的中、西药脑心通、尼莫地平治疗组海马CA1区可见到部分细胞存活。因而,我们认为该模型也可用于中药神经保护作用的评价。

从本研究的结果来看,脑心通具有明显的神经保护作用,其作用与尼莫地平的作用相近,显示了中药制剂在中风临床治疗中发挥神经保护作用的价值,但产生这一作用的机制有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 徐沛虎. 中医脑病学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998. 344-66.
- [2] Lee JM, Zipfel GJ, Choi DW. The changing landscape of ischaemic brain injury mechanisms[J]. *Nature*, 1999, 399(Suppl): A7-14.
- [3] Lee JM, Grabb MC, Zipfel GJ, et al. Brain tissue responses to ischemia[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(6): 723-31.
- [4] Choi DW. Exploratory clinical testing of neuroscience drugs[J]. *Nat Neurosci*, 2002, 5(Suppl): 1023-5.
- [5] Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat[J]. *Stroke*, 1979, 10(3): 267.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 33.
- [7] Taya K, Watanabe Y, Kobayashi H, et al. Nimodipine improves the disruption of spatial cognition induced by cerebral ischemia[J]. *Physiol Behav*, 2000, 70(1-2): 19-25.
- [8] Stuiver BT, Douma BR, Bakker R, et al. In vivo protection against NMDA-induced neurodegeneration by MK-801 and nimodipine: combined therapy and temporal course of protection[J]. *Neurodegeneration*, 1996, 5(2): 153-9.
- [9] McCulloch J, Dewar D. A radical approach to stroke therapy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(20): 10989-91.
- [10] Traynelis SF, Lipton SA. Is tissue plasminogen activator a threat to neurons[J]? *Nat Med*, 2001, 7(1): 17-8.
- [11] Peter L. Ischemic cell death in brain neurons[J]. *Physiol Rev*, 1999, 79(4): 1432-568.

#### 参考文献:

- [1] 徐沛虎. 中医脑病学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998. 344-66.
- [2] Lee JM, Zipfel GJ, Choi DW. The changing landscape of ischaemic brain injury mechanisms[J]. *Nature*, 1999, 399(Suppl): A7-14.
- [3] Lee JM, Grabb MC, Zipfel GJ, et al. Brain tissue responses to ischemia[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(6): 723-31.
- [4] Choi DW. Exploratory clinical testing of neuroscience drugs[J]. *Nat Neurosci*, 2002, 5(Suppl): 1023-5.
- [5] Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat[J]. *Stroke*, 1979, 10(3): 267.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 33.
- [7] Taya K, Watanabe Y, Kobayashi H, et al. Nimodipine improves the disruption of spatial cognition induced by cerebral ischemia[J]. *Physiol Behav*, 2000, 70(1-2): 19-25.
- [8] Stuiver BT, Douma BR, Bakker R, et al. In vivo protection against NMDA-induced neurodegeneration by MK-801 and nimodipine: combined therapy and temporal course of protection[J]. *Neurodegeneration*, 1996, 5(2): 153-9.

- [9] McCulloch J, Dewar D. A radical approach to stroke therapy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20): 10989- 91.
- [10] Traynelis SF, Lipton SA. Is tissue plasminogen activator a threat to neurons[J]? Nat Med, 2001, 7(1): 17-8.
- [11] Peter L. Ischemic cell death in brain neurons[J]. Physiol Rev, 1999, 79(4): 1432-568.
- 

[回结果列表](#)