

尼莫地平对脑缺血再灌注损伤大鼠海马部位的作用

莫志贤 马平勃¹ 周小祝¹(广州 510515 第一军医大学中医系;¹ 广州 510515 第一军医大学南方医院药材料)

摘要 目的:研究尼莫地平对大鼠脑缺血再灌注损伤的海马组织的影响。方法:采用 Pulsinelli 法,阻断大鼠脑组织供血结 30min 后再灌注 60min,复制大鼠脑缺血再灌注模型,测定海马组织的丙二醛(MDA)值(硫代巴比妥酸法),超氧化物歧化酶(SOD)活性(邻苯三酚自氧化法),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性(DTNB 法),过氧化氢酶(CAT)活性(H_2O_2 分解法),ATP 和乳酸含量,以及脑的含水量(干-湿重法)。结果:尼莫地平 0.25mg/kg 或 0.5mg/kg(动脉给药)可明显提高缺血脑组织海马部位的 SOD, GSH-Px 和过氧化氢酶活性,降低组织中的 MDA 及乳酸含量,减少 ATP 的消耗,减轻脑水肿。结论:尼莫地平对缺血再灌注引起的海马组织损伤具有改善作用。

关键词 尼莫地平;海马;缺血再灌注

Effects of nimodipine on hippocampus of ischemia - reperfusion in rats

Mo Zhixia(Mo ZX), Ma Pingbo(Ma PB), Zhou Xiaozhu(Zhou XZ) (Department of Traditional Chinese Medicine, First Military Medical University, Guangzhou 510515)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of nimodipine(Nim) on hippocampus of cerebral ischemia - reperfusion in rats. **METHOD:** According to pulsinielli's method, a cerebral ischemia - reperfusion model in rats was established through occlusion bilateral common carotial arteries for 30 min and the re - open for 60 min. The contents of malondialdehyde(MDA) was measured with thiobarbituric acid method, superoxide dismutase(SOD) activity with pyrogallol autoxidation method, glutathione peroxidase (GSH - Px) with DTNB method, catalase (CAT) with H_2O_2 decomposition method. The dry - wet weight method was used for estimation of brain water content. Adenosine triphosphate (ATP) and lactate were assayed with test kits. **RESULTS:** Nim 0.25 or 0.5mg/kg protected activities of SOD, GSH - Px and CAT, decreased MDA and lactate content, increased ATP level in hippocampus of cerebral ischemia - reperfusion and diminished brain water content of ischemia model in rats. **CONCLUSION:** Nim had a beneficial effect on hippocampus of cerebral ischemia - reperfusion injury.

KEY WORDS nimodipine, hippocampus, cerebral ischemia - reperfusion

尼莫地平(Nimodipine, Nim), 第二代双氢吡啶类钙通道阻断剂, 对脑血管有选择性扩张作用^[1], 临床上用于治疗缺血性脑损伤具有一定的疗效^[2,3]。但亦有研究表明 Nim 对脑缺血的作用不确切^[4], 治疗脑缺血类疾病效果不可靠^[5]。为探讨 Nim 对脑缺血损伤的影响, 本文通过大鼠脑缺血再灌注模型, 观察 Nim 对大鼠缺血的海马组织自由基及能量代谢的影响, 以此对 Nim 在脑缺血损伤中的作用作一评价, 为 Nim 的临床使用提供药理学的依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

尼莫地平(粉剂, 广州兴华制药厂)。硫代巴比妥酸(TBA)、1,1,3,3-四乙氧基丙烷(TEP)及福林-酚试剂(Fluka 公司)。5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)

(DTNB)、ATP 及乳酸测试药盒(Sigma 产品)。邻苯三酚(Farco 产品)。

1.2 动物

SD 大鼠, ♂, 体重 $235 \pm 38g$ (第一军医大学动物实验中心)。

1.3 方法

取 SD 大鼠 40 只, 随机分成 4 组: ①假手术组(除不结扎血管外, 其余处理同其它组); ②脑缺血再灌注模型组; ③尼莫地平低剂量组(0.25mg/kg); ④尼莫地平高剂量组(0.5mg/kg)。各组大鼠在 20% 乌拉坦麻醉下(1mg/kg, ip), 仿 Pulsinelli 法^[6]制作大鼠脑缺血模型。先行颈部手术, 暴露第一颈椎及横突, 在双侧翼小孔位置, 用双极凝固器永久凝固双侧椎动脉。然后沿气管两侧分离并夹闭两侧颈总动脉。在缺血 30min 后,

③-④组由颈动脉注射尼莫地平,①-②组给予同容量生理盐水。给药后立即松开动脉夹,再灌注 60min。再灌注结束后即断头取脑,迅速剔出两侧海马组织放入液氮中。剩余的脑组织用于测定脑含水量(干-湿重法)。

海马组织匀浆后,离心,取上清液测定如下指标: SOD 活性(邻苯三酚自氧化法)^[7]、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性(DTNB 法)^[8]、过氧化氢酶(CAT)活性(H₂O₂ 分解法^[9]、MDA 含量(TBA 法)^[10]、ATP 和乳酸含量(按药盒说明书方法)。组织匀浆上清液蛋白含量用福林-酚试剂测定,以牛血清白蛋白作标准品。

1.4 统计学处理

所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因

表 1 各组脑含水量及海马组织 MDA、SOD、GSH-Px、ATP 和乳酸量变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

测定指标	假手术组	缺血再灌注模型组	尼莫地平组(0.25mg/kg)	尼莫地平组(0.5mg/kg)
脑含水量(%)	74.2±1.4 ^{*1}	76.8±1.9	75.1±1.5 ^{*1}	74.6±1.4 ^{*1}
MDA(μmol/g 蛋白)	1.32±0.18 ^{*2}	1.66±0.21	1.45±0.22 ^{*1}	1.41±0.21 ^{*1}
SOD(U/g 蛋白)	7584±1108 ^{*2}	5634±1073	6872±1494 ^{*1}	7056±1455 ^{*1}
GSH-Px(U/g 蛋白)	17.72±4.53 ^{*1}	13.06±3.56	14.84±3.27	15.85±2.13 ^{*1}
CAT(U/g 蛋白)	2506±517 ^{*1}	1635±442	2108±526 ^{*1}	2234±727 ^{*1}
ATP(μmol/g 蛋白)	2.35±0.64 ^{*1}	1.52±0.42	1.87±0.51	2.08±0.53 ^{*1}
乳酸(μmol/g 蛋白)	194.6±54.3 ^{*1}	265.2±61.7	243.5±47.5	256.2±59.1 ^{*1}

注:与缺血再灌注模型组比较,^{*1} $P < 0.05$; ^{*2} $P < 0.01$

3 讨论

完全阻断大鼠脑血流 30min 后再灌注 60min,大鼠脑组织含水量明显增加,提示与脑水肿有关。脑的海马组织是脑缺血的敏感部位之一,该部位的神经细胞极易因缺血缺氧而受损^[11],从而引起相应的脑功能障碍。本研究结果表明,脑缺血再灌注可导致海马组织的抗氧化酶,如 SOD、GSH-Px、CAT 等活性下降,过氧化脂质丙二醛含量增多。同时,脑组织的能量代谢紊乱,ATP 含量明显下降,并有大量乳酸堆积,这些结果均可能严重影响中枢神经系统的正常功能。

在脑缺血后给大鼠注射尼莫地平,能减少脑含水量,缓解脑组织的水肿。尼莫地平对缺血再灌注引起的自由基反应具有明显的抑制作用,能提高 SOD、GSH-Px 和 CAT 的活性,降低 MDA 含量,对能量代谢紊乱也有一定的纠正作用,提高 ATP 水平,减低组织中的乳酸含量,有助于改善缺血部位的能量供应,促进神经细胞功能的恢复。

本实验结果还表明,尼莫地平对脑缺血后再灌注引起的自由基损伤有抑制作用,对能量代谢障碍有改善作用。这是尼莫地平保护缺血脑组织,促进神经功

素方差分析。由 SPSS 统计软件进行统计处理。

2 结果

与假手术组比较,模型组大鼠脑组织含水量明显增多,海马组织中的 MDA 及乳酸量也显著提高,而 SOD、GSH-Px 及 CAT 活性则明显降低(表 1)。尼莫地平高低两剂量组脑含水量较模型组明显减少,MDA 及乳酸含量也有下降, $P < 0.05$,差异显著。尼莫地平给药组海马组织的 SOD 和 CAT 活性较模型组提高。尼莫地平高剂量(0.5mg/kg)组 GSH-Px 活性及 ATP 水平平均比模型组高 $P < 0.05$ 。而尼莫地平低剂量(0.25 mg/kg)组这两个指标未见明显增高,与模型组比, $P > 0.05$,见表 1。

能恢复的作用机理之一。尼莫地平对脑缺血损伤的作用可能与降低细胞内 Ca^{2+} 浓度有关。尽管尼莫地平抗脑缺血作用与其扩张脑血管作用之间的关系尚未明确,但本研究表明,尼莫地平对海马部位的作用有利于对脑缺血损伤的治疗,表明该药用于脑缺血性损伤性疾病具有一定的治疗意义。

参考文献

- 1 张均田. 钙通道拮抗 1,4 双氢吡啶类第二代新药——尼莫地平. 中国药理学通报,1987,3(4):235.
- 2 Gelmer HJ, Gorter K, Weerd CJ, et al. A controlled trial of nimodipine in acute ischemic stroke. N Engl J Med, 1988, 318:203.
- 3 吴笃初, 吕传真, 戴超量. 尼莫地平对急性脑梗死中层得脑血流动力学的影响. 中国临床药理学杂志, 1998, 7(2):60.
- 4 杜力军, 马立森, 於兰, 等. 不同剂量三七对小鼠脑膜微循环的影响. 中国药理与临床, 1995, 11(6):25.
- 5 Uematsu D, Greenberg JH, Hickey WF, et al. Nimodipine attenuates both increase in cytosolic free calcium and histologic damage following focal cerebral ischemia and

reperfusion in cats. *Stroke*, 1989, 20:1531.

- 6 Pulsinelli Wa, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*, 1970, 10:267.
- 7 Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*, 1974, 47:469.
- 8 Hafemen DG, Sunde RA, Hoekstra WG. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the

rat. *J Nutr*, 1974, 104(5):580.

- 9 Abei HG. catalase. In: Bergmeyer HU, editor. *Method of Enzymatic Analysis Vol III*. 1 st ed. Weinheim (Germany): Verlag Chemic, 1983:273.
- 10 Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med*, 1976, 15:212.
- 11 Takefumi G, kazuki M, Motohiko U. Changes in extracellular concentration of amino in the hippocampus during cerebral ischemia in stroke - prone SHR, stroke - resistant SHR and normotensive rats. *Neuroscience Letters*, 1992, 135:184.