维普资讯 http://www.cqvip.com

241-244

(9)

碱性成纤维细胞生长因子对局灶性脑缺血的脑保护作用

R743.3/015

临床学院神经内科 杨 琴* 胡常林

提 要 **目的** 研究碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)对局灶脑缺血的治疗作用。**方法** 采用线栓法制备右侧大脑中动脉闭塞局灶性脑缺血模型。术后即刻分别腹腔注射bFGF和生理盐水，连用7天，测定缺血前后血压心率，术后24小时梗塞体积百分比，术后第1+3、5、7天神经功能评分和局部脑血流量(rCBF)并观察病理学改变。**结果** bFGF组梗塞体积百分比、神经功能评分较对照组低，rCBF较对照组高，组织病理学较对照组有显著改善，而血压心率无显著性差异。**结论** bFGF能减小梗塞体积，促进神经功能恢复，改善rCBF和组织病理，但不影响血压心北。

关键词 碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)；脑梗塞
中图分类号 R743

脑缺血 . 保护作用

碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor.bFGF)是18KD的阴离子活性多肽，与高亲合力受体结合，能发挥多种生物活性，并具有促进神经元存活及生长作用[1]。研究旨在局灶脑缺血后连续应用bFGF，观察bFGF对脑缺血的治疗作用，为临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

成年Wistar大白鼠，体重250g～300g，鼠龄3个月，由重庆医科大学实验动物中心提供。术前12小时禁食，自由饮水，bFGF购自广州微观生物工程有限公司，红四氮唑(TTC)系美国Sigma公司产品，其余试剂均为国产分析纯。求积仪LASICO－L10型系美国Los Angeles Sientific Instrument Co.Inc产品，激光微循球血流仪LDF－3型系天津南开大学电子仪表厂产品。

1.2 动物模型及分组

用3.5%水合氯醛(0.35g/kg)腹腔注射麻醉，采用经颈外动脉插入线栓法制备右侧大脑中动脉闭塞(MCAO)局灶性脑缺血模型，动物随机分正常组、缺血对照组(腹腔注射生理盐水)、缺血治疗组(bFGF100μg/kg溶于生理盐水腹腔注射)。于首次缺血后即刻给药，以后每日一次，连用7天。

1.3 监测指标

1.3.1 血压心率：采用电脑大鼠血压心率仪测定缺血前，缺血20分钟、40分钟、4小时的血压心率。

1.3.2 神经功能评分：缺血后1、2、3、5、7天按Bederson评分法行神经功能评分。

1.3.3 脑梗塞体积：缺血后24小时断头取脑，切厚2mm的切片，2%TTC染色，梗塞区呈苍白色，非梗塞区呈红色。求积仪测定梗塞体积和全脑体积，以梗塞体积与全脑体积百分比作统计参数。

1.3.4 局部脑血流量(rCBF)：采用激光微循环血流仪LDF－3型测定缺血前、缺血后30分钟、60分钟、90分钟、2小时、3小时、6小时、12小时、24小时、2天、3天、5天、7天的rCBF。

1.3.5 组织病理：缺血后第1、2、3、5、7天断头取脑，固定，常规方法制片，染色，观察和摄片。

1.4 **数据处理** 所有测定值均用$\bar{x}\pm s$表示，采用非配对t检验。

2 结果

2.1 **血压心率** 缺血前后两组血压心率比较无显著性差异($P>0.05$)，说明bFGF对血压心率无明显影响(见表1)

2.2 **神经症状** 正常组大鼠麻醉药醒后进食、行为均表现正常，无神经功能缺失征。缺血组及缺血对照组麻醉药醒生表现为提尾时左前肢屈曲，抗侧方推力减弱，爬行时向左侧划圈。缺血后1～7天治疗组和对照组神经功能均有不程度的恢复，但对照组较治疗组恢复缓慢。缺血后1～7天，bFGF组的平均神经功能评分较对照组有显著性降低($P<0.01$和$P<0.01$)，说明bFGF具有促进神经功能恢复的作用(见表2)。

2.3 **梗塞体积百分化** 正常组未见苍白区，缺血

* 女，1970－07出生，研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 缺血前后对照组和治疗组的血压、心率($\bar{x}\pm s$)

时间	心率(次/min)		平均动脉压(kPa)	
	bFGF组(n=8)	对照组(n=8)	bFGF组(n=8)	对照组(n=8)
pre	366.25±27.20	272.80±19.88	11.47±1.63	11.42±1.49
120min	372.80±16.83	368.00±39.50	11.83±1.27	11.47±1.67
140min	371.20±19.47	371.20±18.63	11.56±1.71	11.72±1.78
14 h	3688.80±20.86	364.00±22.45	11.81±1.71	11.73±1.37

P值均>0.05;pre:缺血前;I:缺血;min:分钟;h:小时

表2 三组神经功能评分($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	pre	11d	12d	13d	15d	17d
正常组	8	3					
对照组	8	3	2.86±0.46	2.75±0.35	2.62±0.52	1.81±0.50	1.37±0.52
bFGF组	8	3	1.87±0.64	1.50±0.44	1.37±0.50	1.00e0.75	0.62±0.74

**:P<0.01.与同一时间点结照组比较;*:P<0.05.与同一时间点对照组比较。

pre:缺血前;I;缺血;n:例数;d:天

24小时bFGF组梗塞体积百分比(18.19±6.23%)较对照组显著减少38%(P<0.001),说明以bFGF连续治疗能减少缺血性脑梗塞体积。

2.4 局部脑血流量(rCBF) 缺血后30分种到7天bFGF组rCBF均较对照组高,有显著性差异(P<0.05)。缺血后2～3小时bFGF较对照组升高44%,此时达高峰,之后渐下降,24小时最低,第2天又回升,第7天较对照组升高22%。说明bFGF能有效改善缺血区脑组织rCBF(见表3)

2.5 病理学变化 缺血后1～7天bFGF组局灶脑缺血区神经元脱失,脑组织水肿均显著轻于对照组;第5、7天bFGF组可见较多新开放的微小血管,

表3 缺血前后脑组织rCBF($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	pre	130min	160min	190min	12 h	13 h	16 h
对照组	8	152.50	72.96	72.30	71.90	71.50	70.00	70.32
		±9.91	±7.64	±7.70	±6.04	±7.95	±6.38	±7.36
bFGF组	8	153.00	87.38*	92.63*	98.00*	100.50*	100.63*	95.75*
		±10.65	±5.18	±5.95	±9.06	±7.67	±8.35	±10.08

续表3

组 别	112 h	124 h	12d	13d	15d	17d
对照组	69.00	67.55	69.88	73.32	76.00	84.00
	±4.80	±4.95	±6.10	±6.84	±7.28	±6.19
bFGF组	88.88**	84.13*	85.25*	91.75*	98.00*	103.00*
	±4.67	±6.38	±7.50	±7.00	±9.13	±7.89

*:P<0.05.与同一时间点对照组比较。

pre:缺血前;I:缺血;n:例数;min:分钟;h:小时;d:天。

维普资讯 http://www.cqvip.com

说明bFGF能保护脑组织，减少神经元脱失，减轻脑组织水肿，促进毛细血管增生或促使关闭状态的血管开放。

3 讨论

bFGF是10KD的阴离子多肽，在正常情况下，不易穿过完整的血脑屏障(BBB)；在缺血后，可经受损的BBB到达脑内。在MCAO后3小时静脉注射$^{111}In-bFGF$，缺血7小时处死动物，取脑进行放射自显影，于新生鼠、成年鼠缺和血侧大脑半球MCG供血区见到放射活性，非缺血侧半球却没见到；使用特殊的抗－bFGF血清检测进脑内的$^{111}In-bFGF$结合物，结果证实^{111}In仍与bFGF处于合状态，这充分说明bFGF在缺血的最初24小时内就可穿过BBB进入脑内[2,3]。

我们的结果显示脑缺血后使用bFGF治疗，可减少便塞体积。Nozaki采用新生鼠局灶性低氧/缺血模型，预防性腹腔给药[4]；Koketsu采用预防性侧脑室给药，剂量为4.8μg和25μg[5]；Tanaka是在MCAO后5分钟同侧颈总动脉给药，剂量为100 ng[6]，均显示24小时的情况，这不能说明bFGF在缺血24小时后有无作用[8]。一般来说，实验性脑缺血性发为在72小时内最严重，以后逐渐恢复。我们观察了缺血早期和后期bFGF对神经功能的影响，发现bFGF能促早期和后期的神经功能恢复，这在观察时间上更为充足。

目前认为bFGF减少梗塞体积，促进神经功能恢复的机制有：(1)直接营养神经元，神经胶质细胞和血管内皮细胞。bFGF能促进神经元的存活及突起生长，是胶质细胞、血管内皮细胞的促有丝分裂原[1]。胶质细胞产生、释放的生长和营养因子，有助神经元和其它细胞的存活及殖。内皮细胞分化，毛细血管增生使侧支循环形成而促进缺血性病灶早日修复。病理观察发现bFGF治疗后神经元脱失显著减少，有新的小血管出现，支持上述的看法。(2)调节血管舒缩状态及局部脑流量(rCBF)。我们发现在缺早期(缺血后30分钟)bFGF就能改善脑血流量，此时不可能有新生的或开放的毛细血管。因而其改善rCBF可能主要是扩张血管。有实验显示静脉注射bFGF具有可使包括软脑膜小血管在内的全身血管扩张作用[7]。本次研究发现bFGF对系统血压、心率无影响。因此，bFGF扩张脑血管作用强于扩张其它张其它血管的作用而引起rCBF的增加。在缺血手3、5、7天，bFGF组rCBF也显著高于对照组，此时脑血流量的改善可能主要是毛细血管增生和关闭状态的脑微血管开放而引起。这与梗塞后5、7天病理学见到显著增多的开放微小血管有一致性。因而bFGF可能是在梗塞早期以扩张血管为主，在梗塞后期以促血管增生，使未开放微血管开放而明显改善MCAO周围半影区rCBF，增强脑组织对缺血的耐受力。rCBF的增加，系梗塞体积减少的重要因素之一。(3)稳定Ca^{2+}稳态，拮抗有害物质的素性而保护神经元。bFGF与受体特异结合后，激活酪氨酸激酶影响谷氨酸受体蛋白、Ca^{2+}结合蛋白等表达而稳定Ca^{2+}稳态，拮抗缺氧、兴奋性氨基酸、自由基等的损害而保护神经元[8]。(4)阻止迟发性细胞死亡和/或促进新的神经元芽生及突触形成。Yamada环池内重复注射bFGF能阻止远隔的丘脑神经元可建立新的功能联系而促进神经功能的恢复[10]。而离体和活体研究均表明bFGF能促进神经元的存活及突起生长。我们的病理学观察也见bFGF治疗后神经元脱失显著减少。因此bFGF促进树突、轴突的生长可加速神经功能的恢复。

总之，脑缺血后使用bFGF治疗能减少梗塞体积，促进神经功能恢复，改善脑血流量和组织病理变化，但不影响系统血压、心率。这为bFGF治疗脑血管疾病提供了有力的理论依据，但bFGF治疗作用的分子及细胞机制尚待进一步深入阐明。

参考文献

1.汪浩勇，等.多肽生长因子基础与临床 1992;P209
2.Kirschner PB, et al.J Cereb Blood Flow Metab

维普资讯 http://www.cqvip.com

1995;15:619
3.Fisher M. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1995;15:953
4.Nozaki K. et al. Nature 1988;332:360
5.Koketsu N. et al. Ann Neurol 1994;35:451
6.Tanaka R. et al.Stroke 1995;26:2154
7.Rosenblatt S. et al. J Gereb Blood Flow Metab 1994;14:70
8.Cheng B. et al. Stroke 1003;24(suppl I):I
9.Yamada K. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1991; 11;472
10.Jones TA. et al. J Neurosci 1994;14:2.140

(收稿日期 1997－10－30)

Effect of basic fibroblast growth factor(bFGF) on focal cerebral ischemia in the rat

Yang Qin, et al
Institute of Neurology, College of Clinical Medicine

The aim of this study was to investigate the therapeutic effect of basic fibroblast growth factor(bFGF) on focal cerebral ischemia.Methods: The aminal models of permanent occlusion of the right middle cerebral artery(MCA) were established by suture method. bFGF(100μg/kg)in vehicle or vehicle(n=8, respectively) alone. was injected intraperitoneally for 7 days immediately after MCA occlusion. We investigated the blood pressure and heart rate before and after ischemia.infarct volume percentage at 24h; neurological deficit score. regional cerebral blood flow(rCBF). and pathological changes for the first. sencond. third' fifth and seventh day after MCA occlusion.Results:Infarct volume percentage and neurological deficit score in bFGF group decreased significantly, rCBF in the bFGF group decreased significantly, rCBF in the bFGF group improved significantly in comparison with that in the control group, but there was no significant difference in blood pressure and heart rate between the bFGF andcotrel group. Conclusion:This study suggested that bFGF had reduced infarct volume, promoted the recovery of neurological function' improved rCBF and pathology, but had no effect on blood pressure and heart rate.

KEY WORDS Cerebral infarction; Basic fibroblast growth factor