维普资讯 http://www.cqvip.com

Pharmacokinetics study of lomefloxacin hydrochloride capsules in healthy volunteers

Lin Lianfang, et al
Faculty of Laboratory Medicine

Serum and urine drug concentrations were detected by HPLC method in 9 healthy volunteers after oral administration of 400 mg lomefloxacin hydrochloride capsules. The serum drug concentration－time profile conformed to the one－compartment open model. Cmax was 2.32±0.47μg/ml, Tmax was 3.20±1.19h, $T_{1/2}$ was 6.18 ±1.09 h and AUC was 27.96±5.35μg/ml.h. The total clearance rate for 36h was 56.10%.

KEY WORDS Lomefloxacin; HPLC; Pharmacokinetics

18-22

快速点燃大鼠海马的光镜和超微结构观察

R742.102

基础医学院 生理教研室 杨 谊 周保和
中心实验室 邱宗荫

提 要 本实验采用快速点燃致痫模型，对点燃即刻、点燃后2天和7天大鼠海马进行了光镜和超微结构的观察。结果显示：点燃即刻，光镜和电镜下大鼠海马结构正常，功能活动明显增强。点燃后两天，海马内出现明显的神经元变性和脱失。点燃后7天仍有神经元的变性和脱失，但病变程度减轻，正常神经元数比点燃2天时有明显增加，同时有大量胶质细胞增生。这些改变提示，点燃的发生与海马结构损伤无关，点燃后出现的神经元变性是点燃的结果。点燃后动物脑细胞的长期改变可能与点燃后神经元的变性、脱失、神经纤维出芽、突触重建和胶质细胞增生有关。

关键词 点燃；海马；神经元
中图分类号 R338.2

(b)

点燃(kindling)被公认为研究癫痫的一种理想的动物模型，其致痫性增高具有永久的保留能力，并较好地模拟了人类癫痫的进行性发展和长期反复的自限性发作形式。以往的研究显示，在受电刺激的脑区内没有病理改变，因此认为点燃动物的脑功能障碍与脑组织结构损伤无关[1]。但近年来的研究发现，点燃能导致脑组织形态学的改变，例如海马内可见神经元脱失、苔藓纤维出芽和突触重建，胶质斑痕的形成等[2]，有人认为，由点燃导致的这些形态学改变产生了新的突触联系，这正是产生神经元异常兴奋和癫痫发作的原因[1,2]。

快速点燃致痫模型是在传统点燃的基础上发展起来的，能在几小时内点燃动物，并具有同传统点燃一样的属性。本实验采用快速点燃模型，对点燃即刻，点燃后2天和7天大鼠海马进行了光镜和超微结构的观察，以探讨快速点燃的发生和发展过程中大鼠海马形态学改变的特点及其在发病机理中的意义。

1 材料和方法

14只雄性Wistar大鼠随机分为4组。1.对照组(2只)：在一侧海马内埋植电极，但不给电刺激。2.实验组又分为点燃即刻、点燃后2天和7天3组(各4只)，分别在一侧海马内埋植电极。术后1周给于阈下致惊强度的电刺激刺激海马，刺激停止后记录大鼠海马脑电活动，同时观察大鼠的行为表现。当大鼠出现5次以上Racine分级法的Ⅳ～Ⅴ级痫性行为，海马脑电出现棘波(见图1)时为快速点燃达标，实验组12只大

维普资讯 http://www.cqvip.com

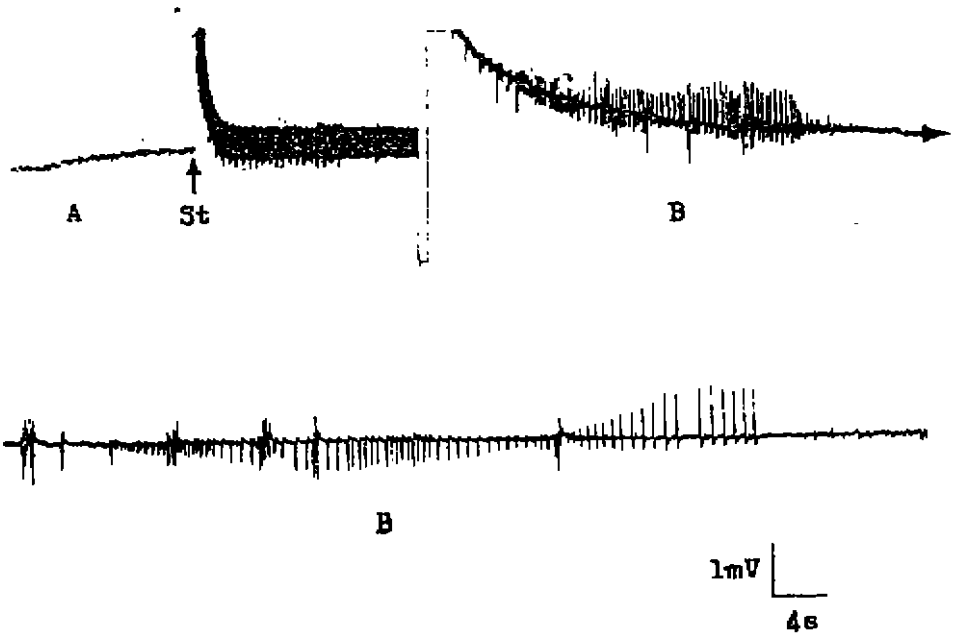


图1 海马癫性脑电 A.自发脑电 B.癫性脑电
Fig1.Epileptiform wave of hippocampaus A.Auto—EEG B.Epileptiform—EEG

鼠全部点燃达标。分别于点燃即刻、点燃后2天和7天处死动物，对照组于术后1周处死，迅速取脑分离出左右海马，光镜标本立即用10%甲醛溶液固定，石蜡包埋，每一海马连续切片四张，切片作HE染色，观察CA_{1-4}区和齿状回结构的改



图2 神经元内高尔基复合体肥大(箭头)×15000
小泡增多×30000

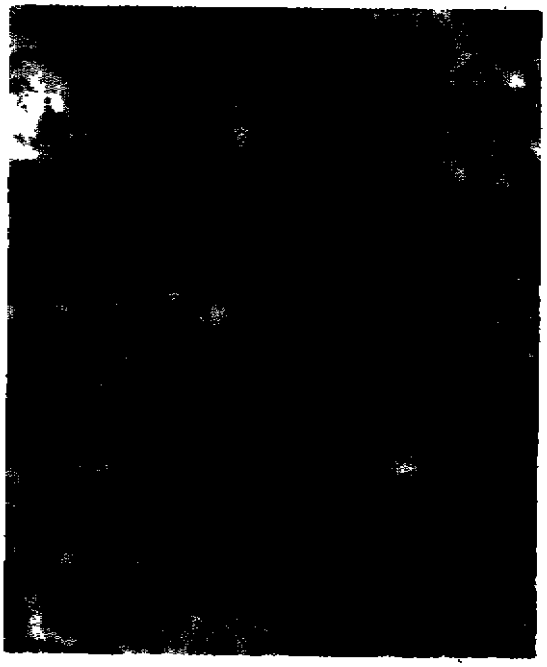


图3 神经毡内多突触前结构中圆型突触

维普资讯 http://www.cqvip.com



图4 暗神经元增多，胞质深染，粗面内质网增生充满胞质，线粒体肿胀空化×6000



图5 亮神经元坏死、溶解，暗神经元结构正常×5000

变，电镜标本立即固定于4%戊二醛溶液中，按电镜要求制备样品，每一海马取三个样品头子，分别切片用日立600型透射电镜观察。

2 结果

2.1 光镜下海马结构的变化

光镜下对照组大鼠海马内神经元形态结构正常，除埋植电极一侧海马内有胶质细胞增生和嗜中性粒细胞浸润外，未见病理改变。和对照组比较，点燃即刻组大鼠两侧海马内神经元形态无明显改变。点燃后2天，大鼠两侧海马内出现明显的神经元变性，脱失。病变神经元体积缩小，胞质着色深，核固缩，神经元周围出现空隙，尤以CA_1区和齿状回锥体细胞的病变更为明显。点燃后7天，除上述变化外，双侧海马内胶质细胞增生伸入脱失细胞区，还可见在变性神经元周围有数个胶质细胞存在。锥体细胞层的神经元明显减少，但细胞形态的变化较点燃后2天时有好转。损伤仍以CA_3区和齿状回更为严重。从点燃即刻至点燃7天，海马内微血管未见异常变化。

2.2 海马超微结构的变化

电镜下对照组大鼠海马内神经元形态正常，核及核膜、线粒体、内质网等亚细胞结构和神经毡结构未见异常变化。和对照组比较，点燃即刻组全部样本神经元形态、结构和染色等未见异常。但可见神经元内高尔基复合体肥大(见图2)，神经毡内突触前膜内有明显增多的圆形运输小泡(见图3)。1例样本中见到个别胞质染色较正常神经元稍深的神经元，其线粒体有轻度肿胀。神经毡结构正常。

点燃后2天，所有样本除见少数正常神经元外都有明显的神经元变性发生。病变神经元分为两种：一种为亮神经元(Light Neuron)，其胞质明亮，核及核周围细胞器基本正常，但可见线粒体肿胀。此类神经元在病变神经元中占少数。另一种为暗神经元(Dark Neuron)，暗神经元胞质呈黑色，胞浆和核均致密，胞浆内线粒体肿胀，空化，粗面内质网增生密集成排，有的扩张充满胞质，嵴断裂，核蛋白体解聚，但细胞形态基本正常(图4)。点燃后2天大

维普资讯 http://www.cqvip.com

鼠海马内以暗神经元为主，形态和结构正常的神经元少见，神经元内有脂褐素沉积。神经毡结构正常，与点燃即刻比较，突触前膜内运输小泡明显减少。

点燃后7天，大鼠海马暗神经元相对于点燃2天时减少，病变程度有所减轻，但亮神经元却出现坏死、溶解(图5)，髓鞘有轻度分层。神经毡结构正常，突触前膜内圆形运输小泡又明显增加。同时可见增多的形态和结构均显示正常的神经元。从点燃即刻至点燃后7天，大鼠左右海马的病变是一致的。

3 讨论

对癫痫的研究已证实，癫痫是由于中枢神经系统兴奋性异常升高所致，与脑内多种神经递质系统功能活动异常有关。本实验结果表明，点燃即刻，无论在光镜和电镜下，海马神经元结构均显示正常。电镜下，神经元高尔基体肥大，神经毡内突触膜中圆形运输小泡较对照组有明显增加，提示在点燃发生过程中，兴奋性神经元的活动亢进，兴奋性神经递质释放增加。这和我们以前的实验是一致的，在点燃发生时，兴奋性氨基酸和第二信使cAMP含量增加，而抑制性氨基酸和cGMP却下降。有报道称，从点燃后1～2天，海马内锥体细胞有脱失[4,5]，Pulsinelli等在研究脑缺血引起的神经元损伤时观察到，缺血引起的神经元损伤最初表现为胞质内膜性器官的增生和呈黑色致密物质增多，逐渐变为暗神经元，在缺血后1～2天暗神经元继续发展为坏死神经元而消失，称迟发性神经元死亡(Delayed Neuronal Death)[6]。我们在点燃后2天发现，大鼠海马内出现大量的暗神经元，胞质内充满增生的内质网和黑色致密物、线粒体空化、核蛋白体解聚。光镜下还可见有锥体细胞脱失。说明在点燃后两天大鼠海马内出现了以暗神经元为主的病变和神经元脱失，即迟发性神经元损伤。但是与脑缺血不同的是，到点燃后7天，并未发现暗神经元的进一步变性坏死，相反病变程度有所减轻，同时可见正常神经细胞数增加。上述点燃致痫发生发展过程中大鼠海马神经元结构变化的特点提示，在点燃的发生过程中，脑组织没有病理改变，脑功能的异常改变与结构损伤无关，而可能与脑内兴奋性神经递质活动异常增高有关；点燃后的发展过程中出现的海马神经元坏死则可能是癫痫发作的结果，损伤的产生与神经元兴奋性异常增高有关。此外，本实验还观察了未受刺激一侧海马即“镜象灶”的结构改变。发现“镜象灶”侧海马虽未受直接电刺激，但在点燃的发生发展过程中其结构的变化与受刺激一侧海马一致，这一结果进一步证明，点燃的产生与海马结构损伤无关。

许多实验都发现，点燃动物皮层，海马等首先出现神经元脱失，大约4天后出现海马苔藓纤维出芽，逐渐形成新的突触联系，建立起新的神经通路，并认为这种神经元的可塑性变化是点燃动物具有致痫性进行性发展和永久保留能力的原因[7,8]。由于亮神经元的结构正常，有人认为是具有功能的神经细胞，病灶的异常神经冲动可能由它们产生[9]。本实验结果显示，在点燃后两天出现亮神经元，但数量较暗神经元少，其结构除有线粒体肿胀外基本正常。但到了点燃后7天，亮神经元却出现了坏死、溶解，髓鞘出现分层变化。光镜下也可见锥体细胞数量减少，大量胶质细胞增生。这种神经元脱失和胶质斑痕形成称为海马硬化[4]，有人认为是癫痫的后果，有人认为是抽搐发作的原因[9]从本实验结果分析，我们认为前者的可能性较大，并且有可能与点燃后脑功能长期异常改变有关。Dolby NO.等对海马点燃大鼠进行了免疫组化分析，发现在突触再生和发展中有特异表达的生长相关蛋白(GAP—43)和星形胶质细胞骨架成分之一的胶质纤维酸性蛋白(GFAP)在海马的表达明显增高、认为这与突触再生有很大的相关性[10]。本实验在点燃后7天海马不仅有神经元脱失，髓鞘分层和胶质细胞增生，同时还出现神经毡内突触前膜圆形运输小泡再次明显升高，这些结果支持点燃后突触重建与点燃现象的进行性发展和永久保留相关的论点。

点燃大鼠海马神经毡内运输小泡的含量在点燃即刻有明显升高、点燃后两天又减少，第七天又一次明显增高(同时我们也观察到点燃大鼠在静置期间有自痫性行为出现)，支持该模型能模拟人类癫痫的反复自限性发作的论点。我们在研究兴奋性、抑制性氨基酸和第二信使物质cAMP和cGMP在快速点燃癫痫模型发生发展过程中的作用时也观察到这种现象。此外运输小泡的圆形结构表明小

维普资讯 http://www.cqvip.com

泡所在的神经元是兴奋性神经元，点燃后神经毡内这些突触结构未见损伤，提示，海马中出现的病变神经元可能是抑制性神经元，这和他人报道的结果一致[9]。

光镜显示，点燃后受损神经元主要分布在海马的齿状回和CA_3区，这些脑区都靠近侧脑室。这种分布特点，有人认为可能引起神经元坏死的毒性物质是存在于脑脊液中的[11]。

参 考 文 献

1. Redley T.A. et al. Recent Advances in Epilepsy.Churchill Livingtone.Edinburgh London Melbaurne and New York.1988,21
2. Geinisman Y. et al. Brain Res.1992 Jan 13;569(2):341
3. Vezzani A. et al. Brain Res.1991 Aug 23;557(1—2):210
4. Cavazos J.E. et al. J.Neurosci.1994 May;14(5 Pt2):3106
5. Bertram E.H. et al. Ann.Neurol.1990 Jan;27(1):43
6. Pulsinelli W.A. et al. Ann.Neurol.1982;11:491
7. Rashidk. et al. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.1995 Oct 10;92(21):9495
8. Hosokawa J. et al. Epilepsy Res,1995 Jan;20(1):11
9. 吕长虹，等.中华病理学杂志 1991，20(3):198
10. Dalby N.O. et al. J.Neurosci Res.1995 Aug 1;4115:613
11. 吕长虹.国外医学神经病学神经外科学分册 1993，20(6):289

(收稿日期 1996—07—04)

A light and ultrastructure study on hippocampus of rapid kindling rat

Yang Yi, et al
Department of Physiology, The College of Basic Medical Sciences

Rapid kindling is an animal model of epilepsy in which repeated electrical stimulations lead to progressive and permanent amplification of seizure activity.The present study was designed to observe morphological change in hippocampus of rapid kindling rats which were diveded into 3 groups:immediate, post—two and seven—day groups.Results show:Lightly and ultrastructurally,there are no pathological changes in hippocampus of the immediate group.But abnormal increase of neuronal activity was observed.The 2—day group shows significantly degeneration and the loss of neuron.In seven day group the pathological alteration degree was lightened and the number of normal neuron increased compared with the 2—day group.Meanwhile a number of gliacytes appeared in the lesion area.These suggest that occurene of kindling can be disassociated from a structure lesion of hippocampus.The neuronal degeneration which apeared after kindling is the result of the kindling.The long—lasting brain function change of kindling animal may relate to lose of neurons,nervous fiber axon sprouting,synaptic reorganizition and gliacytes proliferation afterr the kindling.

KEY WOROS Kindling;Hippocampus;Neuron