DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.14.016
第26卷第14期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 14
2004年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2004

文章编号:1000-5404(2004)14-1265-04

论著

倍他司汀对豚鼠内耳缺血模型的影响

李洪涛,周定蓉 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所耳鼻咽喉头颈外科,重庆市内耳疾病研究所,重庆 400042)

提 要:目的 观察倍他司汀(betahistine hydrochloride, BH)改善耳蜗供血的作用,探讨其在耳蜗缺血性疾病中的应用。方法 通过磁微粒定向栓塞豚鼠内耳微血管,造成内耳缺血模型。模型动物10只,分为BH组、对照组各5只,经胃管分别注入0.1%盐酸倍他司汀(BH组)或等量生理盐水(对照组),观察耳蜗血流量(cochlear blood flow, CBF)、听脑干诱发电位(auditory brainstem responses, ABR)、螺旋韧带血管纹血管内磁栓及听毛细胞琥珀酸脱氢酶(succinic dehydrogenase, SDH)变化。结果 WTBZ对照组共10耳,CBF平均为基础值(50±7)%,7耳ABR阈值升高,螺旋韧带及血管纹血管内广泛分布羰基铁微粒聚集形成的磁栓,SDH染色外毛细胞呈点片状缺失。BH组10耳,CBF平均为基础值的(81±11)%,3耳ABR阈值升高,螺旋韧带及血管纹血管内磁栓较对照组少,SDH染色外毛细胞散在缺失,染色缺失之毛细胞数与对照组间差异有非常显著性意义。结论 BH可增加耳蜗血流量、减轻耳蜗缺血损伤,并部份改善了缺血耳蜗的听功能。

关键词:倍他司汀;迷路;豚鼠;血液供应
中图法分类号:R764.3;R972.4 文献标识码:A

Effects of betahistine on guinea pig model of ischemic inner ear

LI Hong-tao, ZHOU Ding-rong (Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the improving effect of betahistine hydrochloride (BH) on the cochlear blood supply in guinea pig and the potential use in cochlear ischemia. Methods The guinea pig model of ischemic inner ear was established by ferromagnetic embolization of the target microvessels of the cochlea. A total of 10 model guinea pigs were divided into BH group and control group (n=5 in each group). Guinea pigs in BH group were treated with 0.1% BH through gastric canal, and those in the control group with the identical volume of saline. At 24 h after treatment, the cochlear blood flow (CBF), auditory brainstem responses (ABR), ferromagnetic emboli in the microvessels of cochlear lateral wall, and the hair cell succinic dehydrogenase (SDH) activity were detected. Results CBF in 10 ears in the control group was (50±7)%, and the elevated ABR threshold was found in 7 ears (70%). Ferromagnetic emboli confirmed by carbonyl iron spheres were extensively distributed in the microvessels in the cochlear lateral wall. Spot-like lesion of the outer hair cells was found in SDH stained basic membrane. However, in BH group, CBF was (81±11)%. Elevated threshold of ABR was found in only 3 ears, and the ferromagnetic emboli in the microvessles in the cochlear lateral wall were less than those in the control group. Scattered lesions of the outer hair cells were found in SDH stained basic membrane. There was significant difference in the number of deleted hair cells between the BH group and the control group. Conclusion The preliminary results indicated that BH may increase CBF and attenuate the cochlear lesion due to ischemia, resulting in partial protection of hearing.

Key words: betahistine; labyrinth; guinea pig; blood supply

倍他司汀(betahistine hydrochloride, BH)为治疗眩晕的常用药,普遍认为其抗眩晕作用与:①舒张前庭终器及脑血管;②增强中枢神经系统组胺能神经元的递质释放,而加速前庭代偿;③抑制前庭核神经元异常放电有关[1]。文献[2]报道BH在不产生舒张压下降等系统效应的低剂量下,即可增加前庭终器、耳蜗及脑供血,表明BH的血管舒张作用存在器官或组织特异性,因此,临床上常以之治疗内耳及脑的缺血性疾病。但多应用于眩晕症状为主的内耳疾病,而对突发性耳聋[3]等耳蜗症状为主的血管性因素密切相关的内耳疾病的应用,目前缺乏充分的实验依据。且有研究表明[4],临床治疗剂量的BH舒血管作用微弱,其治疗眩

作者简介:李洪涛(1969-),男,辽宁省东港市人,博士,主治医师,主要从事耳科学方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68757240,E-mail:chenxm@mail.tmmu.com.cn

收稿日期:2003-06-11;修回日期:2003-09-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

晕作用主要在对中枢组胺能神经元递质释放的调节。为明确倍他司汀改善耳蜗供血的作用，进而探讨其在缺血因素相关的耳蜗疾病中的应用，本研究以豚鼠磁微粒栓塞内耳缺血模型为对象，观察 BH 对模型动物耳蜗血流量、听脑干诱发电位、螺旋韧带血管纹血管内磁栓及听毛细胞琥珀酸脱氢酶活性的影响。

1 材料与方法

10 只纯白色豚鼠，雌雄不限，体质量 250～350 g，耳郭反射灵敏，由第三军医大学实验动物中心提供。造模后，分为 BH 组和对照组，每组 5 只（各 10 耳）。

1.1 造模型及给药方法

豚鼠磁微粒栓塞内耳缺血模型方法参照文献[5,6]，即 1% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔注射，麻醉后颈静脉插管，注入羰基铁微粒混悬液，外耳道置磁铁 30 min。BH 组经胃管注入 0.1% 盐酸倍他司汀（Italy R&D）生理盐水（0.74 mg/kg），3 次/d（成年人 0.133 mg/kg 的等效剂量）；对照组动物注等量的生理盐水。

1.2 检测 CBF

动物麻醉后，腹侧径路开放听泡，暴露耳蜗，激光多普勒血流仪（LDF-2 型，天津）探头固定于推进器上，移至耳蜗壁 2～3 回表面并固定，LDF 信号输出端接 x-y 台式记录仪，测试 3 min，计算信号电压均值。以造模前均值为基础值（100%），计算 CBF 的相对值。

1.3 检测 ABR 阈值

麻醉效果满意后，安放皮下针形电极，记录极置于颅顶正中，参考极、地极分别置给声侧、对侧耳廓下方。以听脑干诱发电位检测仪（Nicolet，美国）测试造模前、干预后 ABR 阈值。短声（click）刺激，刺激频率 20 次/s，耳机给声，扫描时间 10 ms，滤波范围 150～2 000 Hz，叠加 1 000 次，测试自高向低强度进行，至无反应波形时，上升 5 dB，观察出现反应的最低强度作为 ABR 阈值。

1.4 观察螺旋韧带及血管纹血管内的磁栓

断头处死豚鼠，快速取颞骨，10% 甲醛蔗糖溶液灌流耳蜗数次后，入相同固定液中过夜，解剖显微镜下取耳蜗螺旋韧带血管纹，伊红及铁盐染色后铺片，光镜下观察。

1.5 听毛细胞 SDH 染色

配制琥珀酸脱氢酶组织化学染色作用液及空白对照液[7]，断头处死豚鼠，快速取颞骨，以作用液灌流耳蜗数次，将颞骨置作用液中 37 ℃孵育 1 h，10% 甲醛蔗糖溶液固定过夜，解剖显微镜下取基底膜铺片，光镜下观察，并计数染色缺失的听毛细胞数。

1.6 统计学处理

采用 t 检验。

2 结果

2.1 CBF 检测

BH 组 10 耳，用药 24 h，CBF 为基础值的（81±11）%，对照组为（50±7）%，两组间差异有非常显著性意义（$t=4.57$，$P<0.01$）。

2.2 ABR 阈值

BH 组 10 耳，用药 24 h，ABR 阈值升高（3.0±1.5）者仅 3 耳（30%）；而对照组 7 耳（70%）阈值升高（10.0±4.3），两组间变化的差异有非常显著性意义（$t=4.36$，$P<0.01$）。

2.3 耳蜗微血管内的磁栓

光镜下，BH 组螺旋韧带及血管纹血管内磁栓分布稀少（图 1）。对照组耳蜗螺旋韧带及血管纹血管内广泛分布羰基铁微粒聚集形成的磁栓，铁盐染色呈蓝色（图 2）。

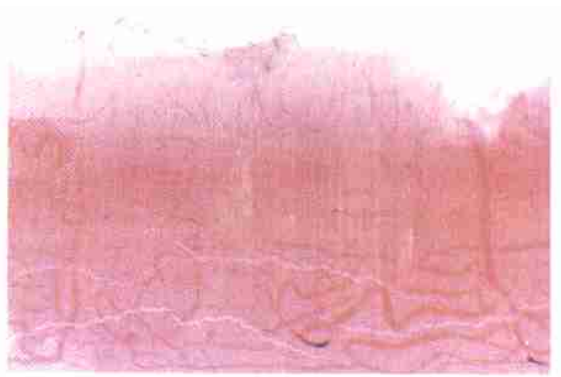


图 1 BH 组豚鼠耳蜗螺旋韧带及血管纹血管内磁栓分布稀少，铺片（伊红及铁盐染色×200）

Fig 1 Ferromagnetic emboli in microvessels of cochlear spiral ligaments and stria were scarce in BH group, stretched preparation (Eosin and iron salt staining× 200)



图 2 对照组豚鼠耳蜗外侧壁血管内广泛分布羰基铁微粒积聚而成的磁栓，铺片（伊红及铁盐染色，×200）

Fig 2 Ferromagnetic emboli conformed by carbonyl iron spheres were widely distributed in cochlear lateral wall microvessels in control group, stretched preparation (eosin and iron salt staining× 200)

2.4 听毛细胞 SDH 染色

BH 组 SDH 染色听毛细胞呈深蓝色，较均一，外毛细胞呈散在点状染色缺失（图 3）。对照组听毛细胞从深蓝色至浅蓝色不等，外毛细胞呈点片状染色缺失，内毛细胞染色浅淡（图 4）。SDH 染色之毛细胞缺失数，BH 组与对照组间差异有非常显著性意义（表 1）。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

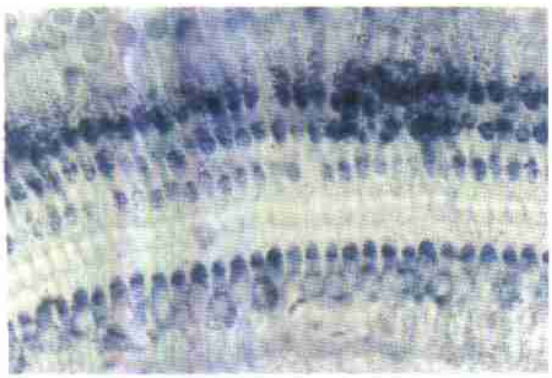


图 3　BH 组外毛细胞散在性缺失, 基底膜铺片　(SDH× 400)

Fig 3　Scattered out hair cell lesion in basic membrane in BH group　(stretched preparation, SDH× 400)



图 4　对照组外毛细胞呈点片状缺失, 内毛细胞着色浅淡, 基底膜铺片　(SDH× 400)

Fig 4　Spotted or patchy out hair cell lesion and light colored inner hair cells in basic membrane of control group　(stretched preparation, SDH× 400)

表 1　SDH 染色听毛细胞缺失数 (/mm, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Numbers of deleted auditory hair cells by SDH staining of the basic membrane (/mm, $\bar{x}\pm s$)

Group	IHC	OHC_1	OHC_2	OHC_3
BH	3.6±2.4**	50.4±22.6**	30.4±11.2**	63.2±27.5**
Control	62.3±2.1	224.3±2.1	201.2±15.2	231.8±16.8

**: $P<0.01$, *vs* control; IHC: Inner hair cell; OHC: Out hair cell

3　讨论

BH 为组胺 H_3 受体(突触前膜的自身负反馈受体)的强拮抗剂, 并具有 H_1 受体的弱激动效应, 通过阻抑 H_3 受体, 增加内源性组胺释放, 产生舒张血管、增加局部供血的作用。BH 的舒血管作用有明确的剂量依赖性, 成人口服 16 mg tid 可明显改善椎基底动脉系统的血液供应[8], 其作用点在蜗轴动脉及以上分枝[9]。磁微粒栓塞内耳缺血动物模型通过磁场作用下的羰基铁微粒在内耳微血管(主要在耳蜗)内聚集形成微栓子, 阻断部分微血管血流, 其耳蜗血流量降低, 耳蜗复合动作电位水平下降, ABR 阈值升高, 并引起耳蜗的缺血性病理变化。磁微粒栓塞内耳缺血模型主要在蜗轴动脉以下的放射性微动脉形成栓子, 阻断部分血流, 且呈可逆性过程[10]。

实验结果表明, BH 在等效剂量下可增加模型豚鼠耳蜗血流, 其可能的机制为: ①扩张蜗轴动脉, 增加了下游无栓子微血管的血流, 使 CBF 升高; ②部分栓塞放射状微动脉内的微粒在去掉磁场后逐渐解聚, 血管复通, BH 可能通过舒张蜗轴动脉及以上分支, 加速了栓子内微粒的解聚及血管复通的过程。实验表明 BH 组螺旋韧带及血管纹血管内磁栓分布稀少可能与此有关。

SDH 染色反映毛细胞有氧代谢活力, 为判断毛细胞损伤的敏感指标, BH 组听毛细胞只有散在缺失, 对照组则呈点片状缺失且内毛细胞着色浅淡, SDH 染色缺失之毛细胞数, 两组间差异有非常显著性意义, 表明 BH 的干预减轻了模型动物耳蜗的缺血损伤。模型动物 ABR 阈值升高反映了耳蜗缺血损伤的功能改变, BH 组阈值升高的仅 3 耳, 少于对照组的 7 耳, 与 SDH 染色观察 BH 组听毛细胞损伤减轻的结果相符合。此外, 耳蜗的换能器作用与血管纹功能密切相关, BH 亦可能通过增加 CBF, 改善了血管纹功能状态, 使缺血耳蜗的听觉阈降低。Lamm 等[11] 发现 BH 干预豚鼠噪声性聋耳蜗缺血模型时, 其蜗内氧分压虽无明显上升, 但微音器电位、复合动作电位及 ABR 阈值均部分改善, 提示 BH 可能通过增加 CBF, 改善血管纹功能, 进而使缺血耳蜗电生理功能部分恢复。

本研究结果初步证实在成人等效剂量下, BH 增加磁微粒栓塞豚鼠内耳缺血模型的耳蜗血流量, 减轻耳蜗的缺血损伤, 并部分改善了缺血耳蜗的听功能。为临床应用其改善耳蜗供血, 治疗突发性耳聋、噪声性耳聋等血管性因素密切有关的耳蜗症状为主的疾病提供了实验依据。

参考文献:

[1] Lacour M, Sterkers O. Histamine and betahistine in the treatment of vertigo: elucidation of mechanisms of action[J]. CNS Drugs, 2001, 15(11): 853－870.

[2] Miller J M, Ren T Y, Nuttall A L. Studies of inner ear blood flow in animals and human beings[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 1995, 112(1): 101－113.

[3] Schweinfurth J M, Cacace A T. Cochlear ischemia induced by circulating iron particles under magnetic control: an animal model for sudden hearing loss[J]. Am J Otol, 2000, 21(5): 636－640.

[4] Laurikainen E, Hussain S, Miller J M, *et al*. Non-specific effect of betahistine on cochlear electrophysiology in guinea pig[J]. Acta Otolaryngol,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

1997, 529(Suppl): S77—79.
[5] 李洪涛, 周定蓉. 豚鼠内耳磁微粒栓塞缺血模型初探[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2002, 37(2): 106—108.
[6] Scheibe F, Haunt H, Grunert H. Laser Doppler measurements of inner ear blood flow during experimental thrombosis of cochlear blood vessels in the guinea pig[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 1997, 254(2): 86—90.
[7] 孙建和. 内耳显微解剖和铺片术[A]. 见: 姜泗长 主编. 耳解剖学与颞骨组织病理学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1999. 237—245.
[8] Krishna B A, Kirtane M V, Sangeeta T. *et al*. Pre and post betahistine therapy 99m Tc-HMPAO brain spect studies in patients with vertigo[J]. Neurol India, 2000, 48(3): 255—259.
[9] Laurikainen E, Miller J F, Pyykko I. Betahistine effects on cochlear blood flow: from the laboratory to the clinic[J]. Acta Otolaryngol, 2000, 544(Suppl): 5—7.
[10] Galic M, Giebel W, Badrljiza S. Experimental studies of ischemia of the cochlea. Part 3: Pathophysiology[J]. Laryngorhinootologie, 1992, 71(5): 267—270.
[11] Iamm K, Arnold W. The effect of blood flow promoting drugs on cochlear blood flow, perilymphatic pO(2) and auditory function in the normal and noise-damaged hypoxic and ischemic guinea pig inner ear[J]. Hear Res, 2000, 141(1—2): 199—219.

(编辑 陈聪连)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2004)14-1268-02

血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂治疗肾移植后红细胞增多症

Effects of angiotensin Ⅱ receptor antagonists on posttransplant erythrocytosis

王平贤, 王安静, 张艮甫, 黄赤兵, 范明齐 (第三军医大学新桥医院泌尿外科, 全军肾脏病中心, 重庆 400037)

红细胞增多症是肾移植后常见的并发症, 其发生率为 10%~15%[1], 血管紧张素转化酶(cangiotensin converting enzyme, ACE)抑制剂可治疗肾移植后红细胞增多症[2], 但 ACE 抑制剂有致患者咳嗽等激肽系统的副作用。近年来口服血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂已广泛应用于临床, 本研究旨在探讨血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂洛沙坦治疗肾移植后红细胞增多症的有效性和安全性。

1 资料与方法

自 2000 年 1 月至 2002 年 9 月, 15 例肾移植后红细胞增多症的患者接受洛沙坦治疗, 其中男 9 例, 女 6 例, 均因慢性肾小球肾炎、尿毒症而行同种异体肾移植术, 都带有自体肾。15 例患者均为连续 2 次以上检查显示红细胞压积(HCT)≥0.51(2 次检查间隔时间在 1 周以上), 这些患者血红蛋白均大于 150 g/L。患者红细胞增多症的发生时间为肾移植后 2.3~10.5 个月[(5.6±3.7)个月]。使用洛沙坦前红细胞增多症已持续 1~13 个月[(5.5±4.9)个月], 均未发生严重的并发症, 也未作特殊治疗。在发生红细胞增多症期间, 所有患者血肌酐、尿素氮、血白细胞(WBC)和血小板(PLT)等均正常。动脉收缩压为(140±15) mmHg, 除 4 例间断口服心痛定外, 其他病人未使用任何降压药。患者免疫抑制剂的使用方案为: 环孢素 A 2~7.5 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$, 骁悉 500 mg 2 次/d, 泼尼松为 10~15 mg/d。所有患者均不吸烟、无肾动脉狭窄、无慢性阻塞性肺疾患等。

洛沙坦使用剂量从 25 mg/d 开始, 1 周后增至 50 mg/d, 以后依据红细胞压积的情况最多增至 75 mg/d。患者术后 3 个月内, 每 2~4 周复查 1 次血常规和肾功能, 3 个月后则 4~8 周检查 1 次。当 HCT 降至正常(<0.51)时, 则将洛沙坦改为 25 mg/d, 再持续治疗 3 个月。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 行 t 检验。

2 结果

患者在接受洛沙坦治疗 1 个月后, 其过高的红细胞压积降明显下降($P<0.01$), 2 个月后有 10 例红细胞压积降为正常(HCT<0.51), 另 5 例将洛沙坦剂量增至 75 mg/d, 3 个月后共有 13 例 HCT 恢复正常, 另 2 例在洛沙坦治疗 4 个月后降为正常, 此后 HCT 稳定在正常范围内, 不因继续服用洛沙坦而持续下降, 无 1 例发生贫血。不同时期白细胞以及血小板计数比较均无明显变化($P<0.05$), 见表 1。

表 1 使用洛沙坦前后血常规各参数($\bar{x} \pm s$)

	HCT	WBC ($\times 10^9$/L)	PLT ($\times 10^9$/L)
服洛沙坦前	0.538±0.023 **	6.45±2.44	142±57
服洛沙坦后			
1 个月	0.493±0.056	6.37±2.12	139±66
3 个月	0.474±0.046 #	6.97±2.72	154±66
6 个月	0.469±0.039	6.53±2.19	143±67

**: 与服用洛沙坦 1 个月后比较, $P<0.01$;
#: 与服用洛沙坦 6 个月后比较, $P<0.05$

本组有 2 例停用洛沙坦 3 个月后红细胞增多症复发(HCT 分别由 0.47 和 0.49 升至 0.51 以上), 为此再次服用洛沙坦, 其效果与第 1 次服用洛沙坦的反应相似。有 11 例已停止服用洛沙坦 6 个月以上, 至今 HCT 正常。

在接受洛沙坦治疗过程中, 本组有 1 例患者发生过 1 次急性排斥反应, 以地塞米松连续冲击治疗 4 d 后, 血肌酐逐渐降为正常。其他患者移植肾功能均正常(血肌酐<114 μmol/L)。

本组所有患者用药后血压有轻度下降, 动脉收缩压维持在

(下转 1274 页)

作者简介: 王平贤(1964—), 男, 湖南省双峰县人, 硕士, 副主任医师, 副教授, 主要从事器官移植方面的研究, 发表论文 16 篇。电话: (023) 68755141

收稿日期: 2003-01-10; 修回日期: 2003-03-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net