DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.03.013

多胺与缺血性神经元损伤的关系及三种药物对神经元的保护作用

郑彩梅 黎红华 吕智勇 (第三军医大学附属西南医院神经内科)重庆,630038

提 要 本实验观察全脑缺血大鼠不同再灌流期脑部多胺含量与缺血性神经元损伤的关系,以及Nimodipine、MK-801、Baclofen治疗对它们的影响。结果发现,腐胺与再灌流神经元损伤密切相关,三种药物均能保护神经元,减轻缺血性损伤,而且又使腐胺含量降低,讨论了作用机理。

关键词 多胺;缺血性神经元损伤;Nimodipine;MK-801;Baclofen

中图法分类号 R322.85;R745

当前缺血缺氧性神经元损伤研究的焦点已着重于最终造成不可逆性细胞损伤的生化机制方面,包括脂质代谢障碍、胞浆Ca^{2+}超载、自由基对膜的损伤与兴奋性氨基酸的毒性等[1]。近几年又关注到多胺可能对缺血性神经元损伤有一定的影响,多胺参与钙的调节,多胺可触发兴奋性氨基酸的释放[2],为进一步探讨多胺与缺血性神经元损伤的关系,寻求对神经元的保护途径,本实验观察了全脑缺血大鼠再灌流期脑部多胺含量与缺血性神经元损伤的关系,并采用了钙拮抗剂——Nimodipine、兴奋性氨基酸的N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂——MK-802和兴奋性氨基酸释放阻滞剂——Baclofen治疗,观察这些药物对神经元的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验方法与分组

采作改良的pulsinelli法[3]作大鼠四血管闭塞的全脑缺血模型,分为缺血20 min组(I_{20min}),缺血20 min后再灌流(I_{20min} R)6 h,2 d,4 d组;又选择再灌流4 d组分别于缺血前后20 min腹腔注射Nimodipine 1 mg/kg、MK-801 1 mg/kg Baclofen 25 mg/kg各一次,并作生理盐水组(SAM)与上述药物的三个治疗组比较。

1.2 病理组织学观察

脑组织福尔马林固定,石蜡包埋,制成5 μm切片,观察新皮层、海马CA_1、CA_2、CA_3与CA_4各区神经元改变,将神经元损害按4级计分:正常为0分;少数神经损害为1分;较多神经元损害为2分;极多神经元损害为3分。并计算海马CA_1区锥体细胞层每毫米长度中含有正常神经元与坏死神经元的数目。

1.3 多胺测定

迅速取脑后,在冰盘上分离皮层与海马置液氮中保留待测,测定时将脑组织加入甲醇制成匀浆,再加0.6 mol/L高氯酸500 μl在4℃下、2000×g离心30 min,取上清液以3 mol/L KOH中和后再离心一次,其上清液采用高效液相色谱仪进行色谱分析,测定多胺中腐胺(putrescine)、精胺(spermine)、亚精胺(spermidine)三种成份。

2 结果

2.1 脑缺血与再灌流期不同脑区多胺含量

表1 多胺含量结果

Tab 1 The content of Polyamine (nmol/mg protein)

$n=6$	Putrescine	Spermidine	Spermine
Neocortex			
SAM	0.707±0.285	23.357± 4.292	64.217±10.435
I_{20min}	1.737±0.304	38.380± 9.300	58.828± 9.250
I_{20min} R6 h	3.407±0.489※※	53.570± 9.300	51.290± 5.590
I_{20min} R2 d	2.405±0.435※※	22.897± 5.611	56.518±21.521
I_{20min} R4 d	4.146±1.347※※	27.210±15.289	76.740±19.570
Hippocampus			
SAM	1.132±0.760	1.377±24.485	57.745±14.781
I_{20min}	1.517±0.363	58.026± 6.939	64.370± 9.191
I_{20min} R6 h	3.170±0.412※※	63.770±10.810	70.060± 7.950
I_{20min} R2 d	2.410±0.812※	42.274±25.479	56.850±26.262
I_{20min} R4 d	4.726±2.010※※	24.156± 8.410※※	77.266±27.090

※:$P<0.05$,※※:$P<0.01$ vs SAM

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

由表1可见，缺血期脑部多胺成分无显著改变，再灌流期腐胺含量显著增高。

2.2 再灌流期神经元损伤

在再灌流早期，随再灌流时间延长，神经元损伤加重，以新皮层与海马 CA_1 区为著。再灌4 d 时 CA_1 区神经元损害尤为显著（见表2），进一步观察该区神经元的密度（见表3），正常神经元明显减少，胶质细胞增生。

表2 不同脑区神经元损伤的组织学计分

Tab 2 The score of histologic change of Neuronal damage in different cerebral area

($n=8$)	Neocortex	Hippcoampus			
		CA_1	CA_2	CA_3	CA_4
SAM	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
I_{20min} R6 h	0.92±0.20	0.17±0.26	0.08±0.20	0.25±0.41	0.63±0.43
I_{20min} R2 d	2.00±0.00※※	2.125±0.99※※	0.75±0.46※※	0.75±0.46※※	1.38±0.74※※
I_{20min} R4 d	1.44±0.53※※	3.00±0.00※※	0.33±0.50	0.67±0.71※	1.00±0.87※

※：$P<0.05$，※※：$P<0.01$ *vs* SAM

表3 海马 CA_1 区神经元密度

Tab 3 The density of normal and necrosis neuron in CA_1 subfield of Hippocampus

($n=8$)	No. of necrosis Nenron/mm	No of normal Nenron/mm
SAM	0.00± 0.00	202.50±14.30
I_{20min} R6 h	10.67± 6.02※※	176.33±14.39
I_{20min} R2 d	70.25±57.71※	92.88±76.46※※
I_{20min} R4 d	137.78±25.62※※	2.44± 2.96※※

※：$P<0.05$，※※：$P<0.01$ *vs* SAM

2.3 Nimodipine、MK－801、Baclofen 对缺血性神经元和腐胺含量的影响

Nimodipine 与 MK－801治疗组计分均明显减少、Baclofen 组影响较小，三组治疗后腐胺含量均降低（见图1），其降低程度与其对神经元的保护作用有关。三种神经治疗对缺血性神经元损伤计分的影响（见图2）。

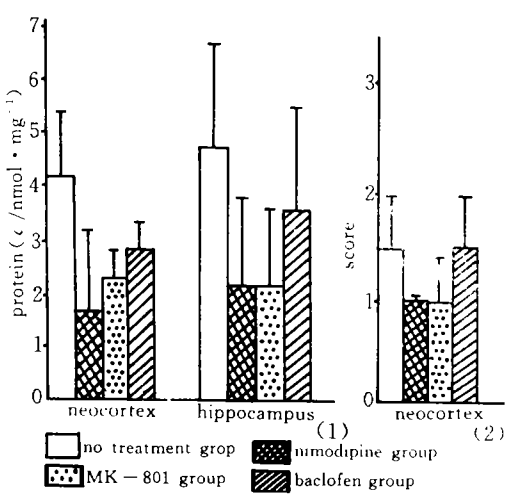


图1 各治疗组腐胺含量

Fig 1 The content of Putrescine in different treatment groups

图2 各治疗组缺血性神经元计分

Fig 2 The score of ischemic neuron in different treatment groups

3 讨论

实验结果揭示再灌流期皮层与海马腐胺含量增高，缺血性神经元损伤亦较严重，其中再灌流第4天海马 CA_1 区神经元损伤尤为显著，称迟发性神经元坏死，此时该区腐胺含量亦明显增高，推断腐胺与再灌流期缺血性神经元损伤密切相关。Paschen[4]认为缺血后腐胺含量增高在神经元坏死之前，治疗可逆转其病理改变。我们观察到腐胺增高与神经元坏死的高峰均在再灌流数天后，及早治疗，可能保护神经元或减轻损伤。

我们探索了三种药物对神经元的保护作用以及对多胺的影响，多胺促使缺血性神经元损伤的机理较为复杂，可能与 NMDA 受体兴奋及 Ca^{2+} 内流有关[2]，脑缺血时，兴奋性氨基酸大量释放，促使 NMDA 受体病理性兴奋，再灌流时多胺代谢限速酶 ODC 活性增高，使腐胺合成增加，腐胺又能使 NMDA 受体激活。该受体启动的 Ca^{2+} 通道开放，Ca^{2+} 内流，造成神经元损伤。Nimodipine 通过阻止 Ca^{2+} 内流的作用保护神经元，还可减少 Ca^{2+} 触发的突触末梢谷氨酸等兴奋性氨基酸递质的释放，减少突触后膜 NMDA 受体的激活；由于脑的腐胺积聚是由 NMDA 受体激活介导的，非竞争性 NMDA 受体拮抗剂 MK-801可阻滞缺血后 ODC 活力增高所致的腐胺合成增高；Baclofen 通过抑制兴奋性氨基酸的释放而起到神经元保护作用，实验动物脑缺血前腹腔注射25 mg/kkg，能保护78%的动物海马 CA_1 区完全不受损伤[5]。本实验证实上述三种药物均对神经元有保护作用，而且都使腐胺含量降低，其影响的程度，两者趋于一致，由此推断腐胺含量可作为缺血性神经元损伤的一个生化标志，三种药物通过不同途

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

径阻止NMDA受体激活、兴奋性氨基酸的释放与Ca^{2+}内流。如联合使用，可能更有效地保护神经元，免遭损害或减轻损害。

参考文献

1 Siesjo BK. Calcium fluxes, calcium antagonists, and calcium－related pathology in brain ischemia, Hypoglycemia, and spreading depression: A unifying hypothesis. J of cereb Blood Flow and Metab, 1989; 9: 127

2 kOENIG H, Goldstone AD, Chung et al. Brain Polyamine Are controlled by N－Methyl－D－Asparate Receptors during ischemia and recirculation. Stroke, 1990; 3(suppl): 98

3 郑彩梅，刘冬梅，梁志坚. 完全性脑缺血实验动物脑匀浆中脂质过氧化物、6－酮 $PGF_{1\alpha}$和血检烷 B_2的变化。中风与神经疾病杂志，1989; 6(1): I

4 Paschen W, Hallmayer J and Rphn G. Relationship between putrescine content and density of ischemic cell damage in the brain of mongolian gerbils: Effect of Nimodipine and Barbiturate. Acta Neuropathol, 1988; 76: 388

5 Sterneu LL, Lust WD, Ricci AJ et al. Role for r-Aminobutyric Acid in selective vulnerability in gerbils. Stroke, 1989; 20: 281

（收稿：1994-08-30；修回：1995-03-24）

Relationship between polyamine and ischemic neuronal damages: Protective effects of nomodipine, MK-801 and baclofen

Zhen Caimei, Li Honghua, Lu Zhiyong (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The relationship between polymaine and ischemic neuronal damages was studied in rats during ischemia and periods with different reperfusion. Meanwhile, the protectie effects of nimodipine, MK-801 and baclofen on the neurons were obsered. It was found that polymaine played an important role in the delopment of reperfusion damages of neurons and all the 3 agents could protect the neurons to alleiate their ischemic damages and to decrease their putresceine level. The mechanism of their therapeutic effects was discussed.

Key words polymaine; ischemic damage/neuronal; nimodipine; MK-801 bacolfen

硬膜外麻醉辅用哌替啶引起精神症状一例

Report of one case of psychologic symptom induced by pethidine injection during epidural anesthesia

孟维忠 （第三军医大学附属西南医院麻醉科）重庆，630038

患者，男，民工，21岁，53 kg。因急性阑尾炎伴穿孔行阑尾切除术。术前常规用鲁米那钠0.1 g肌注。以往身体健康，无精神病史。入手术室麻醉前测血压14/10 kPa，心率110次/min，呼吸18次/min，神志正常，体位合作。硬膜外穿刺点选T_{12}－L_1间隙，右侧卧位穿刺、置管均顺利。平卧后，建立静脉通道，硬膜外腔注入2%利多卡因5 ml（含1∶20万肾上腺素）做为试验剂量观察5 min后，血压、心率均无变化，追加注入2%利多卡因10 ml；注药后10 min，测试麻醉平面达T_8－L_2。手术开始后20 min牵拉阑尾时病人自述不适、胃部痛，呈痛苦面容，并呻吟，即静脉滴注哌替啶80 mg，5 min后，病人渐入睡，但呼之能应。心率、血压均正常。手术历时1.5 h。中途追加注入2%利多卡因6 ml至手术结束。术中血压、呼吸平稳，心率90次/min。手术结束后，喊醒病人时，病人睁开双眼凝视天棚、无影灯约30 s无任何反应，随即突然从手术台上坐起，双手挥动、破口大骂，胡言乱语，抓被子、打人，医生无法制止其行为，并被抓破了脸，而后病人翻身下了手术台。因医生及时将病人抱住未致摔伤。术中建立的静脉通道已脱落，麻醉师立即肌注氟哌啶醇10 mg，由3人强行将病人平卧于手术台上给予固定肢体。10 min后病人能自制，与医生对话正常。送回病房后，观察30 min无异常。当时又追问病史，否认曾有类似症状发生，并对手术室内所发生的事情无记忆。住院一周后痊愈出院。

本例患者使用哌替啶前语言思维正常，使用后也未立即发

（下转 222 页）

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