

羟丁酸钠对沙土鼠脑缺血损伤的保护作用

谷淑玲^{1*}, 郭继东^{1,3}, 张 晶¹, 戴体俊²

(徐州医学院 1. 药理学教研室, 2. 江苏省麻醉学重点实验室, 江苏 徐州 221002)

摘要: 目的 探讨羟丁酸钠(SO)对沙土鼠全脑缺血有无保护作用,为其新的临床应用提供理论依据。

方法 采用双侧颈总动脉结扎法制作全脑缺血(10 min)再灌注损伤模型,观察 SO(50, 100, 200 mg·kg⁻¹, ip, 每日1次,连续7 d)对脑缺血后神经功能和海马组织损伤的影响。缺血后 d 3, d 7 用开场行为测试法检测自发活动, d 4, d 5, d 6 用 T 迷宫测试学习记忆能力, d 7 进行海马 CA1 区神经元病理学检查。**结果** SO 能降低脑缺血沙土鼠的自发活动,提高其学习记忆能力,并且显著减轻海马 CA1 区锥体神经元的损伤,其作用呈剂量依赖性。**结论** SO 对脑缺血损伤有一定的保护作用。

关键词: 羟丁酸钠; 脑缺血; 再灌注损伤

中图分类号: R971

文献标识码: A

文章编码: 1001-3002(2002)05-0328-03

羟丁酸钠(sodium oxybate, SO)是 γ -羟基丁酸的钠盐,一直作为静脉麻醉药用于临床麻醉。近年来研究发现 SO 具有较强的抗脂质过氧化和氧自由基清除作用,并且对心肌缺血再灌注损伤有保护作用^[1,2],但有关 SO 对脑缺血损伤影响的研究甚少。本实验用 1/8 左右临床麻醉剂量从行为学和病理学两方面研究 SO 对脑缺血损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 药品与动物

SO,上海旭东海普制药有限公司生产。蒙古种

收稿日期: 2002-04-28 接受日期: 2002-07-18

基金项目: 江苏省麻醉学重点实验室开放课题资助项目(K2092)

作者简介: 谷淑玲(1956-),女,山东省威海人,药理学副教授,主要从事基础药理学研究。

* 联系作者 Tel: (0516)5748484, Fax: (0516)5748429, E-mail: gushuling@etang.com

沙土鼠,3月龄,体重 50~70 g,♀ ♂兼用,由徐州医学院实验动物中心提供。

1.2 脑缺血模型的建立

50 只沙土鼠随机分为假手术组、缺血再灌注组及 SO 50, 100 和 200 mg·kg⁻¹组。SO 组于缺血前 40 min 腹腔给药一次,缺血再灌注组给予生理盐水(NS) 10 mL·kg⁻¹,以后每日给药一次,共计给药 7 d。采用双侧颈总动脉阻断法制备全脑缺血再灌注损伤模型^[3]。沙土鼠用戊巴比妥钠(45 mg·kg⁻¹, ip)麻醉,颈部正中切口,分离两侧颈总动脉,微动脉夹夹闭。以脑电图变为基线为缺血模型成功的标志。缺血 10 min 后松开微动脉夹,恢复血液灌流。实验中用 100 W 灯泡将动物肛温控制在 37~38℃,直至苏醒。

1.3 开场行为及 T 迷宫测试

于术后 d 3 和 d 7 进行开场行为测试^[4]。开场行为装置为一 72 cm×76 cm×57 cm 的木箱,底部均分为 25 个小格。将沙土鼠放入木箱中央,记录 10 min 内沙土鼠爬行经过的格子数。

于术后 d 4, 5, 6 进行 T 迷宫测试^[5]。T 迷宫由一个主干和两个选择臂构成。测试前一天将沙土鼠放在 T 迷宫内适应 5 min,到达任一臂均可获得食物。24 h 后进行测试。先将一个臂挡住,沙土鼠到达另一个臂可得到食物奖励;第二步将两个臂都开放,但只有原来被挡住的臂内有食物,选择进入该臂才能得到食物奖励,记为一次正确,否则记作一次错误。如此两步为一组,每天进行 10 组实验,记录其正确选择的次数。

1.4 海马组织形态学观察

术后 d 7 行为学实验结束后,用戊巴比妥钠麻醉沙土鼠,开胸,经左心室灌注 NS 50 mL,4%多聚甲醛溶液 50 mL。取出全脑浸泡于同一溶液中进行后固定,24 h 后用石蜡包埋,自前囟后 1.7 mm 处进行冠状切片,厚度 5 μ m,用苏木精-伊红染色,于光镜(10×40 倍)下观察海马 CA1 区锥体神经元的改变,核皱缩、核溶解者视为坏死神经元。将 CA1 区平均分为 3 份,各选取一个相同部位,计数每视野下正常

神经元,以双侧各份的存活神经元数总和占假手术组成活神经元的百分数来表示海马损伤的程度。

1.5 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 F 检验和 t 检验。

2 结果

2.1 对脑缺血再灌注沙土鼠自发活动的影响

缺血再灌注后 d 3 和 d 7 缺血再灌注组沙土鼠经过的格子数均较假手术组显著增高。脑缺血再灌注后 d 3, SO 组沙土鼠经过的格子数均低于缺血再灌注组, 200 mg·kg⁻¹ 组的降低有显著性差异。脑缺血再灌注后 d 7, 各组沙土鼠的自发活动均较 d 3 低, 但 SO 组的自发活动仍显著低于缺血再灌注组, 100 和 200 mg·kg⁻¹ 组均有显著性差异。说明 SO 能够剂量依赖性降低脑缺血沙土鼠的自发活动性(表 1)。

Tab 1. Effect of sodium oxybate (SO) on locomotor activity of ischemia-reperfusion (I-R) injured Mongolian gerbils in open field test

| Group | Checks crossed in 10 min | |
|--------------|--------------------------|---------------|
| | d 3 | d 7 |
| Sham | 200 ± 82 | 183 ± 61 |
| I-R | 403 ± 180 * * | 362 ± 155 * * |
| I-R + SO 50 | 307 ± 122 * | 252 ± 79 * |
| I-R + SO 100 | 298 ± 144 | 222 ± 59 # |
| I-R + SO 200 | 245 ± 93 # | 195 ± 42 # # |

NS 10 mL·kg⁻¹ or SO 50, 100 and 200 mg·kg⁻¹ was given ip 40 min before 10 min ischemia induced by bilateral common carotid artery occlusion, followed by NS or SO ip once daily for the following 6 d. Locomotor activity was measured at d 3 and d 7 after I-R. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with sham group; # $P < 0.05$, # # $P < 0.01$, compared with I-R group.

2.2 对脑缺血再灌注沙土鼠学习记忆能力的影响

在 T 迷宫实验中, 缺血再灌注组沙土鼠的正确选择次数均较假手术组显著降低, 表明其学习及记忆能力显著降低。SO 组沙土鼠的正确选择次数均高于缺血再灌注组, 100 和 200 mg·kg⁻¹ 组与缺血再灌注组之间的差异均有统计学意义(表 2)。说明 SO 能够提高脑缺血沙土鼠的学习和记忆能力。

2.3 对脑缺血再灌注沙土鼠海马 CA1 区组织形态学的影响

脑缺血再灌注损伤造成沙土鼠海马 CA1 区锥体神经元肿胀、变形, 乃至核固缩、核溶解, 大部分神

Tab 2. Effect of sodium oxybate on memory ability of ischemia-reperfusion injured gerbils in T maze test

| Group | Number of correct choices in 10 times | | |
|--------------|---------------------------------------|---------------|---------------|
| | d 4 | d 5 | d 6 |
| Sham | 8.2 ± 2.0 | 8.5 ± 1.1 | 8.9 ± 1.4 |
| I-R | 5.3 ± 2.1 * * | 5.6 ± 1.8 * * | 6.4 ± 1.6 * * |
| I-R + SO 50 | 6.6 ± 1.6 | 7.6 ± 1.9 # | 7.8 ± 1.8 * |
| I-R + SO 100 | 7.6 ± 1.0 # # | 7.8 ± 1.2 # # | 8.0 ± 1.4 # |
| I-R + SO 200 | 7.8 ± 1.2 # # | 8.0 ± 1.4 # # | 8.2 ± 1.0 # # |

See legend of Tab 1 for treatments. T maze test was carried out at d 4, 5 and 6 after I-R. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with sham group; # $P < 0.05$, # # $P < 0.01$, compared with I-R group.

经元变性坏死, 细胞存活数目为假手术组的 (7 ± 6) %。SO 能不同程度地减轻海马 CA1 区锥体神经元的损伤, 50, 100 和 200 mg·kg⁻¹ 组细胞存活数目分别为假手术组的 (28 ± 9) %, (53 ± 13) % 和 (65 ± 14) %, 与缺血再灌注组相比均有显著性差异(均 $n = 10$, $P < 0.01$, 图略)。

3 讨论

Vergoni 等^[6]在大鼠四动脉结扎模型中发现 SO 可减轻脑缺血再灌注大鼠的行为学和组织学损伤。本研究在沙土鼠上证明了 SO 对脑缺血损伤具有保护作用, 可明显减少脑缺血再灌注所致的自发活动增多, 增强记忆, 并减轻海马 CA1 区锥体细胞的损伤, 作用呈剂量依赖性。SO 对脑缺血再灌注损伤保护作用的机理目前还不清楚。研究发现 SO 可减少脑组织中能量底物的消耗以减轻缺氧损伤, 对缺氧神经元的代谢也有直接的保护作用^[7]。该药还具有较强的氧自由基清除及抗脂质过氧化作用^[1]。Boyd 等^[8]研究表明 SO 通过清除氧自由基及减少组织耗氧量对仓鼠肠缺血再灌注损伤产生保护作用。另外, SO 是 γ -氨基丁酸 (GABA) 的同类物, 研究发现 SO 能增强 GABA 的抑制效应。潘永惠等^[9]在大鼠局灶性脑缺血模型中发现 SO 能抑制兴奋性氨基酸的释放。SO 可能通过上述作用保护脑细胞免受缺血再灌注损伤, 其确切机理有待深入研究。

4 参考文献:

- [1] Plotnikov MB, Kobzeva EA, Plotnikova TM. Antioxidant

- effects of antihypoxic drugs in cerebral ischemia[J]. *Biull Eksp Biol Med*, 1992, **113**(5):504–506.
- [2] Tsorin IB, Kazanova GV, Chichkanov GG. The long-term use of antihypoxants in myocardial infarct in rats; their effect on the hemodynamics and contractile function of the heart[J]. *Eksp Klin Farmakol*, 1993, **56**(3):25–27.
- [3] Shuaib A, Mahmood RH, Wishart T, Kanthan R, Murabit MA, Ijaz S, *et al*. Neuroprotective effects of lamotrigine in global ischemia in gerbils. A histological, *in vivo* microdialysis and behavioral study[J]. *Brain Res*, 1995, **702**(1–2):199–206.
- [4] Wang D, Corbett D. Cerebral ischemia, locomotor activity and spatial mapping[J]. *Brain Res*, 1990, **533**(1):78–82.
- [5] Andersen MB, Sams-Dodd F. Impairment of working memory in the T-maze after transient global cerebral ischemia in the Mongolian gerbil[J]. *Behav Brain Res*, 1998, **91**(1–2):15–22.
- [6] Vergoni AV, Ottani A, Botticelli AR, Zaffe D, Guano L, Loche A, *et al*. Neuroprotective effect of gamma-hydroxybutyrate in transient global cerebral ischemia in the rat[J]. *Eur J Pharmacol*, 2000, **397**(1):75–84.
- [7] Yang BX, Min LQ. Advances in the study of central actions of gamma-hydroxybutyrate[J]. *Foreign Med Sci: Sect Anesthesiol Resuscitat* (国外医学-麻醉学与复苏分册), 1994, **15**(6):345–347.
- [8] Boyd AJ, Sherman IA, Saibil FG, Mamelak M. The protective effect of gamma-hydroxybutyrate in regional intestinal ischemia in the hamster[J]. *Gastroenterology*, 1990, **99**(3):860–862.
- [9] Pan YH, Zhao QJ, Wang DSh, Sheng YCh, Ma GY. Protection of GABA on the ischemic insult of focal cerebral ischemia reperfusion[J]. *Chin J Clin Neurosci* (中国临床神经科学), 2000, **8**(3):172–174.

Neuroprotective effect of sodium oxybate on cerebral ischemia injury in gerbils

GU Shu-Ling¹, GUO Ji-Dong^{1,3}, ZHANG Jing¹, DAI Ti-Jun²

(1. Department of Pharmacology, Xuzhou Medical College, 2. Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou 221002, China; 3. Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: **AIM** To investigate whether sodium oxybate (SO) can protect from the global cerebral ischemia injury in gerbils, in order to offer theoretic proof on the new application of this drug. **METHODS** The bilateral common carotid arteries were occluded for 10 min in gerbils. SO 50, 100 and 200 mg·kg⁻¹ were administrated ip 40 min prior to the onset of ischemia in different groups, followed by the same doses of SO ip once daily for the subsequent 6 d. Locomotor activity was measured using the open field test at d 3 and d 7 after the ischemic episode. T-maze test was carried out d 4, 5 and 6 after the ischemia to assess working memory. Neuronal damage in CA1 pyramidal layer of hippocampus was evaluated at d

7 post ischemia. **RESULTS** SO reversed the increases of locomotor activity induced by cerebral ischemia and ameliorated learning and memory deficit, as well as reduced the extent of CA1 hippocampal pyramidal cells injury induced by transient global cerebral ischemia-reperfusion injury in the Mongolian gerbil. **CONCLUSION** SO provide significant protective effect on brain ischemia injury.

Key words: sodium oxybate; cerebral ischemia; reperfusion injury

Foundation item: The project supported by Open Fund of Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology (K2092)

(本文编辑 董立春)