

[文章编号] 1000-2200(2006)06-0582-02

· 基础医学 ·

盐酸丁咯地尔对 SD 大鼠坐骨神经损害后神经元的保护作用

陈玉芳¹, 苏建华², 唐金荣³, 肖杭⁴

[摘要]目的: 观察盐酸丁咯地尔对坐骨神经损害后神经元病理形态的改变。方法: 以 SD 大鼠坐骨神经建立周围神经损害动物模型, 观察背根神经节病理切片(光镜、电镜)中的神经元变化情况, 考察盐酸丁咯地尔对坐骨神经损害后神经元的影响。结果: 盐酸丁咯地尔给药 4 周后能显著地减轻背根神经节内神经元细胞坏死。结论: 盐酸丁咯地尔对坐骨神经损害后神经元有确切的保护作用。

[关键词] 创伤和损伤; 坐骨神经; 神经元; 盐酸丁咯地尔; 大鼠

[中国图书资料分类法分类号] R 644 R 322.85 [文献标识码] A

Protective effect of bufomedil hydrochloride on the neuron of damaged sciatic nerve in rats

CHEN Yufang¹, SU Jianhua², TANG Jinrong³, XIAO Hang⁴

(1. Department of Pathology, Changzhou Fourth People's Hospital, Changzhou 213004;

2. Department of Neurology, The People's Hospital of Jintan, Jintan 213200;

3. Department of Neurology, The First Hospital Affiliated to Nanjing University of Medical Science, Nanjing 210029;

4. Institute of Toxicology and Neurology, Nanjing University of Medical Science, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective** To observe protective effect of bufomedil hydrochloride on the neuron of damaged sciatic nerve in rats. **Methods** Sciatic nerve lesion model was established in rats and the morphological changes of neuron cells of DRG treated with bufomedil hydrochloride were observed by light and electron microscope. **Results** At the end of 4 weeks, bufomedil hydrochloride significantly decreased the damage of neuron of DRG. **Conclusions** Bufomedil hydrochloride shows protective effect on neuron damaged sciatic nerve.

[Key words] wounds and injuries; sciatic nerve; neuron; bufomedil hydrochloride; rats

周围神经损伤后可引起相应节段神经元的死亡, 严重影响周围神经的再生及其功能的恢复。因此, 如何保护神经损伤后神经元、减少其损害或死亡, 使其能最大限度地恢复功能, 已引起人们的广泛关注。本实验对成年 SD 大鼠坐骨神经损伤后用盐酸丁咯地尔治疗, 从病理形态学研究盐酸丁咯地尔对神经元的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与分组 盐酸丁咯地尔由南京金陵药业有限公司提供(批号: 021104)。常规神经分离设备一套、D95 Super Lab 神经干动作电位传导速度测定仪均由江苏生物医学工程学会医电研究所提供。试剂为国产分析纯。SD 大鼠 30 只, SPF 级, 体重 180~220 g(由无锡市江南实验动物有限责任公司提

供)。禁食 12 h 按体重随机分层分组, 分为正常对照组、模型组、盐酸丁咯地尔组(40 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 每组 10 只, 雌雄各半。

1.2 方法

1.2.1 大鼠周围神经损害动物模型的建立^[1] 大鼠用 3% 硫喷妥钠(10 ml/kg)麻醉, 固定于鼠板上, 于右后肢腹股沟处切开皮肤 1 cm, 钝性分离肌肉组织, 显露坐骨神经。正常组坐骨神经显露后即关闭切口, 其余各组大鼠用压力为体重一半的重量夹住, 持续 30 s, 然后松开, 关闭切口。常规注射抗生素以防感染。模型成功后(以传导速度和病理切片为指标), 各组开始给药: 正常组不给药; 盐酸丁咯地尔组按人与动物体表面积折算的等效计量比值表计算法予盐酸丁咯地尔 40 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 腹腔注射, 每天 1 次; 模型组按 0.8 ml·kg⁻¹·d⁻¹ 腹腔注射生理盐水, 每天 1 次, 常规饲养。

1.2.2 背根神经节的分离 参照文献方法^[2], 给药 4 周后处死大鼠并立即切开背部皮肤, 沿脊柱两侧剪断与之相连的肋骨, 取出胸腰段脊柱, 由脊柱正中剖开成两半, 从剖开的椎管内侧小心分离背根神经节, 放入 40% 甲醛溶液和 0.4% 戊二醛溶液中, 分别作普通病理切片和电镜检查。每组样本随机抽取 5 张切片, 在光镜下每张切片任意选取 5 个视野计

[收稿日期] 2005-12-26

[基金项目] 江苏省常州市卫生局资助项目(编号: 200417)

[作者单位] 1 江苏省常州市第四人民医院 病理科, 213004; 2 江苏省金坛市人民医院 神经内科, 213200; 3 南京医科大学第一附属医院 神经内科, 江苏南京 210029; 4 南京医科大学 应用神经毒理研究所, 江苏南京 210029

[作者简介] 陈玉芳(1970-), 女, 主治医师。

数坏死神经元与总神经元数的比例,取其平均值,比较各组差异。

1.2.3 背根神经节染色方法 苏木精-伊红(HE)染色方法。步骤:二甲苯 I脱蜡 10 min,二甲苯 II脱蜡 5 min,无水乙醇洗去二甲苯 1 min×2次;95%乙醇 1 min;90%乙醇 1 min;85%乙醇 1 min;自来水洗 2 min;HE染色 1~5 min;自来水洗 1 min;1%盐酸乙醇分化 20 s;自来水洗 1 min;稀氨水蓝化 30 s;自来水洗 1 min;伊红染色 20 s~5 min;自来水洗 30 s;85%乙醇脱水 20 s;90%乙醇 30 s;95% I乙醇 1 min;95% II乙醇 1 min;无水乙醇 I 2 min;无水乙醇 II 2 min;二甲苯 I 2 min;二甲苯 II 2 min;二甲苯 III 2 min;中性树胶封片。显示细胞核呈蓝色,细胞质、肌肉、结缔组织和嗜伊红颗粒呈不同程度的红色,钙盐或各种微生物也可染成蓝色或紫蓝色。

1.3 统计学方法 采用 Poisson 分布资料的 u 检验。

2 结果

2.1 光镜下背根神经元 HE 染色 4周时,正常组可见大小二类神经元细胞,细胞膜、核膜完整,核仁界清,染色质分布均匀,细胞质密度均匀,虎斑清晰,间质中无明显胶质增生(见图 1)。模型组:可见多量坏死神经元细胞,表现为核仁深染呈固缩状,染色质分布不均,细胞质中大量空泡(见图 2),间质中胶质增生。盐酸丁咯地尔组:神经元虎斑清晰,染色质分布均匀,基本同正常神经元细胞(见图 3)。

2.2 背根神经元细胞计数 从 4周时的神经节切片每组随机抽取 5张切片,每张切片任意选取 5个视野($\times 400$ 倍光镜)计数坏死神经元与总神经元数的比例。正常组未见坏死神经元,模型组的坏死神经元占总数的(60.28±3.56)%,而丁咯地尔组的坏死神经元占总数的(10.33±0.55)%,丁咯地尔组与模型组差异有统计学意义($u=6.36 P<0.01$),说明盐酸丁咯地尔对大鼠周围神经损害模型神经元细胞有确切的保护作用。

2.3 4周时电镜下背根神经元的表现 (1)正常组:低倍镜下胞膜、核膜完整,染色质、细胞器分布均匀,粗面内质网无肿胀。高倍镜下(见图 4)基本同低倍镜所见。(2)模型组:低倍镜下可见染色质分布不均,聚集成块,胞质、胞核可见大量空泡变性。高倍镜下观:早期,胞核、胞质空泡变性,粗面内质网水肿;中期,染色质分布不均,聚集成块,核仁模糊,胞质中可见空泡;晚期,胞核中可见凋亡小体(见图 5)。(3)盐酸丁咯地尔组:高倍镜下观核膜基本完整,染色质、细胞器分布均匀,内质网无明显肿胀,沿

胞膜、核见少量空泡,基本与正常组接近(见图 6)。

3 讨论

盐酸丁咯地尔是一种血管活性药物,能阻滞血管平滑肌肾上腺素能受体,导致血管舒张,改善缺血部位的血流和氧供,并具有降低血黏度和血小板聚集,增加红细胞变形能力而改善血液流变学及钙离子拮抗作用。临床已广泛用于治疗缺血性脑血管病、血管性痴呆和周围血管病^[3-5],但对用盐酸丁咯地尔治疗周围神经损害的实验,国内外却未见报道。本实验目的在于从病理形态学的角度研究盐酸丁咯地尔对大鼠周围神经损害神经元保护作用,以期为临床治疗周围神经损害提供参考。

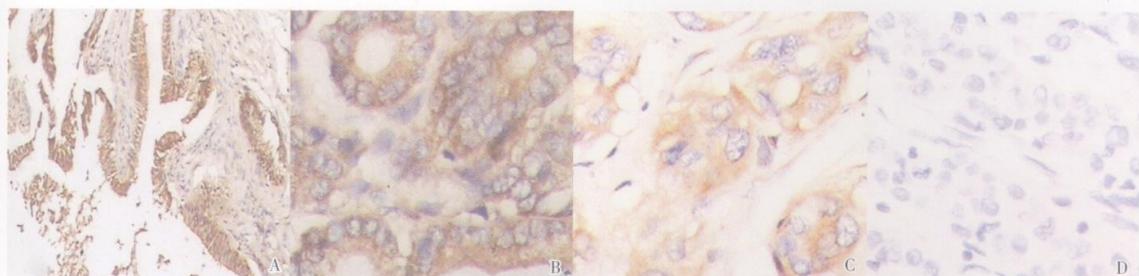
周围神经损伤与神经元胞体坏死密切相关^[6],神经元胞体依赖轴浆逆向运输提供神经营养因子,而轴索则依赖胞体通过轴浆正向运输提供合成细胞器的蛋白质大分子,两者相互依存,故周围神经损伤后恢复的关键是保护神经元胞体,防止不可逆坏死。我们对模型背根神经节进行分离、固定、切片、HE染色, $\times 400$ 倍光镜下观察各组 4周时坏死神经元与总神经元数比例变化。结果:模型组 4周时神经元坏死率为(60.28±3.56)%,而丁咯地尔组为(10.33±0.55)%,与同期模型组差异有统计学意义($P<0.01$)。从电镜的超微结构观察,模型组 4周时可见胞质、胞核大量空泡变性,内质网水肿明显,染色质聚集成块,分布不均,而丁咯地尔组电镜观胞膜、核膜比较完整,细胞器分布均匀,内质网无明显肿胀,总体观与正常组相似。说明丁咯地尔能极其有效地减轻背根神经节内细胞坏死,起到明显的保护作用。

(本文图 1~6 见封三)

[参 考 文 献]

- [1] Patro K, Chattopadhyay M, Patro N. Flunarizine enhances functional recovery following sciatic nerve crush lesion in rats [J]. *Neurosci Lett* 1999; 26(2-3): 97-100
- [2] 谭振军,魏劲波,李之望,等.催产素对大鼠背根神经节分离细胞 GABA 激活电流的调制作用 [J]. *生理学报*, 2000; 52(5): 381-384
- [3] 李 坚,王丽华,谢汝萍.赛莱乐治疗急性脑梗死临床研究 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2001; 18(3): 177-178
- [4] 刘赛男,李义召,韩丹春,等.丁咯地尔与尼莫地平治疗血管性痴呆的双盲对照研究 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2002; 21(2): 74-76
- [5] 黄晓钟,张柏根,符伟国,等.丁咯地尔治疗下肢动脉缺血症多中心临床研究 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2001; 20(1): 39-41
- [6] Duberley RM, Johnson IP. Increased expression of the alpha subunit of the ciliary neurotrophic factor (CNTF) receptor by rat facial motoneurons after neonatal axotomy and CNTF treatment [J]. *Neurosci Lett* 1996; 218(3): 188-192

脆性组氨酸三联体基因在胆囊癌的表达(正文见 579 页)



A 慢性胆囊炎, FHT 强阳性表达 $\times 100$ B 胆囊腺瘤, FHT 强阳性表达 $\times 400$
C 胆囊腺癌 II 级, FHT 阳性表达 $\times 400$ D 胆囊腺癌 III 级, FHT 阴性表达 $\times 400$

图 1 FHT 在胆囊良恶性病变组织中的表达

盐酸丁咯地尔对 SD 大鼠坐骨神经损伤后神经元的保护作用(正文见 582 页)

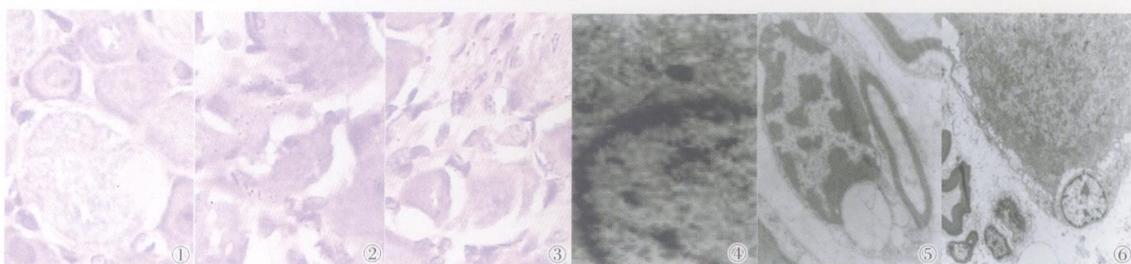


图 1 正常组 光镜下见大小二类神经元细胞, 胞膜、核膜完整, 核仁界清, 染色质分布均匀, 细胞质密度均匀, 虎斑清晰, 间质中无明显胶质增生 $\times 400$
图 2 模型组 光镜下见大量坏死神经元细胞, 核仁深染呈固缩状, 染色质分布不均, 细胞质中大量空泡 $\times 400$
图 3 盐酸丁咯地尔组 光镜下见神经元虎斑清晰, 染色质分布均匀, 细胞膜、核膜完整, 核仁界清 $\times 400$
图 4 正常组 电镜下见胞膜、核膜完整, 染色质、细胞器分布均匀, 粗面内质网无肿胀 $\times 15k$
图 5 模型组 电镜下见染色质分布不均, 聚集成块, 核仁模糊, 并可见凋亡小体 $\times 15k$
图 6 盐酸丁咯地尔组 电镜下见核膜基本完整, 染色质、细胞器分布均匀, 内质网无明显肿胀, 沿胞膜、核见少量空泡, 基本与正常组接近 $\times 15k$

子宫平滑肌和胎膜内皮素受体-1 表达与分娩发动的关系(正文见 612 页)

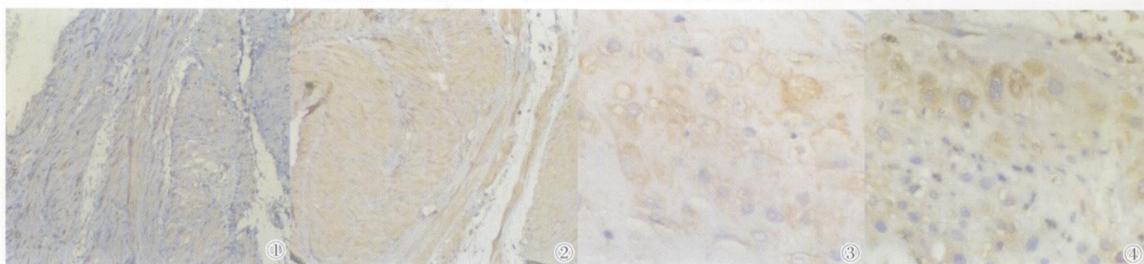


图 1 临产前子宫平滑肌 ETA-R 的表达, 胞膜、胞质中可见棕色颗粒 IIF $\times 200$
图 2 临产后子宫平滑肌 ETA-R 仍表达于子宫平滑肌的胞膜、胞质中, 可见棕褐色颗粒 IIF $\times 200$
图 3 临产前胎膜 ETA-R 的表达, 合体滋养细胞和细胞滋养细胞胞膜、胞质中可见棕色颗粒, 间质细胞仅有少量表达, IIF $\times 400$
图 4 临产后胎膜 ETA-R 的表达, 合体滋养细胞和细胞滋养细胞胞膜, 表达范围广, 胞质中偶见棕褐色颗粒 IIF $\times 200$

新辅助化疗对乳腺癌细胞凋亡和增殖的影响(正文见 624 页)

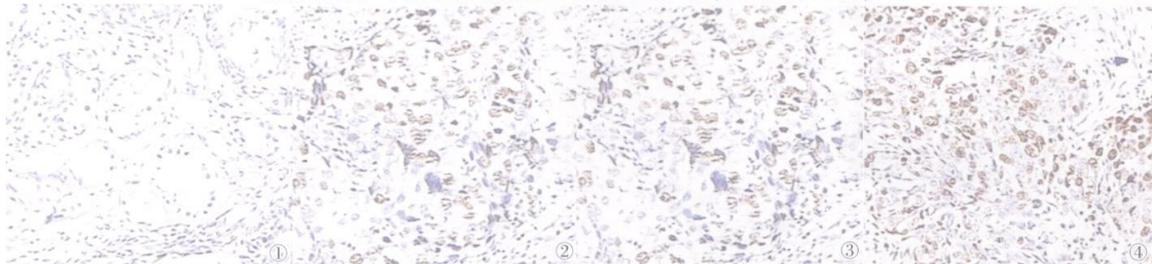


图 1 乳腺癌 Ki-67(-) $\times 100$ 图 2 乳腺癌 Ki-67(+) $\times 400$ 图 3 乳腺癌 Ki-67(++) $\times 400$ 图 4 乳腺癌 Ki-67(+++) $\times 400$