

• 专题 •

神经生长因子对急性脑梗死大鼠神经功能和一氧化氮合酶含量的影响

王益光 李志坚 王玉良 唐可欣

[摘要] 目的 观察神经生长因子(NGF)对实验性急性脑梗死大鼠的疗效,初步探讨可能的机制。方法 将 24 只制备成的脑梗死模型大鼠随机分为 3 组,分别用神经生长因子(NGF)、胞磷胆碱钠(CS)和生理盐水(NS)治疗,于治疗前后检查动物的神经病学评分改变;再将 55 只大鼠随机分为实验组(25 只)、对照组(25 只)和正常组(5 只),实验组急性脑梗死后即刻肌肉注射 NGF,对照组注射等量 NS。对照组和实验组大鼠分别在脑梗死后 1 h、3 h、6 h、12 h、24 h 断头取脑,检测脑组织中一氧化氮合酶(NOS)含量。结果 与治疗前比较,NGF 组和 CS 组大鼠治疗后神经病学评分均低于 NS 组($P < 0.05$);脑梗死大鼠梗死区脑组织中 NOS 活性在梗死后 1 h、3 h 较正常组明显升高($P < 0.01$);实验组大鼠 NOS 含量在脑梗死后 1 h、3 h、6 h 较对照组明显下降($P < 0.01$)。结论 NGF 可明显促进急性脑梗死大鼠神经功能的恢复,机制之一可能是通过抑制急性脑梗死后 NOS 的活性起到保护损伤脑神经元的作用。

[关键词] 急性脑梗死;神经生长因子;神经病学评分;一氧化氮合酶;大鼠

Effects of nerve growth factor on the nerve function and nitric oxide synthase to acute cerebral embolism in rats WANG Yi-guang, LI Zhi-jian, WANG Yu-liang, et al. The Department of Physiology, Wei fang Medical College, Wei fang 261042, Shandong, China

[Abstract] Objective To observe the curative effects of nerve growth factor (NGF) on experimental acute cerebral thromboembolia rats and study the mechanisms preliminarily. Methods 24 model rats were randomly divided into three groups treated respectively with NGF, citicoline sodium (CS) and normal saline (NS) for 20 days, and the neurological grades of animals were observed before and after treatment. Then, 55 rats were randomly divided into three groups: the treated group (25 model rats, treated with NGF), control group (25 model rats, treated with NS) and normal group (5 normal rats, without treatment), the levels of nitric oxide synthase (NOS) of all animals were measured at 1 h, 3 h, 6 h, 12 h and 24 h after acute cerebral thromboembolia established. Results The neurological grades of both NGF and CS treated groups were significantly lowered after treatment compared with NS control group ($P < 0.05$). NOS levels of cerebral thromboembolia areas were higher than that in the control group 1 hour, 3 hours after acute cerebral thromboembolia, the levels of NOS in NGF treatment group were obviously lower than that in the control group post-traumatic 1 hour, 3 hours and 6 hours. Conclusion NGF can accelerate the nervous function recovery of the rat with acute cerebral thromboembolia, the mechanisms is that NGF prohibits neurotoxicity of NOS.

[Key words] acute cerebral infarction; nerve growth factor (NGF); neurological grades; nitric oxide synthase (NOS); rats

中图分类号: R743.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2005)08-0597-02

[本文著录格式] 王益光,李志坚,王玉良,等.神经生长因子对急性脑梗死大鼠神经功能和一氧化氮合酶含量的影响[J].中国康复理论与实践,2005,11(8):597-598.

脑梗死是中老年人的多发病,常见病,该病所造成的运动功能后遗症较为严重。脑梗死后受损伤的中枢神经元虽不能再生,但随着时间变化却常出现有意义的功能恢复,而大量研究表明,神经生长因子(nerve growth factor, NGF)与之有关^[1]。本研究通过观察大鼠急性脑梗死后神经病学评分和一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)含量的变化以及 NGF 对其的影响,探讨 NGF 对急性脑梗死的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料 雄性 Wistar 大鼠 79 只,体重 250 ~ 300 g,山东大学实验动物中心提供;NGF 由解放军军事医学科学院提纯;胞磷胆碱钠(citicoline sodium, CS)由山东新华制药股份有限公司生产,批号: H19993062; NOS 测定试剂盒由南京建成生物工程所提供。

1.2 急性脑梗死大鼠模型制备和分组 栓子制备:在

无菌条件下心内取血 2 ml,于冰箱内放置 24 h 后将无菌干燥的血凝块研碎筛滤,用等量生理盐水(normal saline, NS)制成栓子混悬液,待用。急性脑梗死模型制备:将大鼠以 20%氨基甲酸乙酯 0.6 ml/kg 腹腔麻醉后固定于手术台上,在无菌条件下做颈部正中切口,分离颈外动脉和颈内动脉,从颈外动脉注入栓子混悬液 0.1 ml 后将其结扎并开放颈总动脉,栓子被冲入颈内动脉后进入颈总动脉。分组方法:①先将 79 只大鼠中的 24 只制备成急性脑梗死动物模型,随即分为 3 组:a. NGF 实验组:8 只,后肢肌肉注射 2.5 s NGF,每次肌注 1000 BU,1 次/d,连续 20 d;b. CS 对照组:8 只,后肢肌肉注射 CS 0.1 g,1 次/d,连续 20 d;c. NS 对照组:肌注 2 ml NS,1 次/d,连续 20 d;以上 3 组首次用药均在术后 24 h 之内进行;②再将剩余的 55 只大鼠随机分为 3 组,即正常组 5 只,NGF 实验组和 NS 对照组各 25 只(两组均制备成急性脑梗死模型,并且又分为脑梗死后 1 h、3 h、6 h、12 h 和 24 h 5 个小组,每组 5 只)。NGF 实验组大鼠梗死后即刻肌肉注 NGF 1000 BU(2 ml NS 溶解),NS 对照组则注射等量 NS。

1.3 检测指标

作者单位:261042 山东潍坊市,潍坊医学院生理学教研室。作者简介:王益光(1964-),男,山东潍坊市人,硕士,副教授,主要研究方向:脑损伤修复和心血管中枢机制的研究。

1.3.1 神经病学评分 分别于治疗前、后参照 Longa 的 5 分评分标准^[2]:0 分,无神经症状;1 分,不能完全伸展对侧前或后爪;2 分,向外侧转圈;3 分,向手术对侧倾倒;4 分,不能自发行走,意识丧失。

1.3.2 NOS 测定 NS 对照组和 NGF 实验组大鼠分别在脑梗死后 1 h、3 h、6 h、12 h 和 24 h 断头取脑,取梗死区脑组织约 1.0~2.0 cm³,立即称重,用玻璃匀浆器制成 10%匀浆,4000 r/min 离心 15 min,提取上清液,按 NOS 测定试剂盒说明书方法检测 NOS 水平。

1.4 统计学处理 实验所得数据以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS 8.0 软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 NGF 对脑梗死大鼠神经病学评分的影响 治疗后,除 NS 对照组外,其余两组评分均低于治疗前($P<0.05$),也低于 NS 对照组($P<0.05$),见表 1。

表 1 NGF 对脑梗死大鼠神经病学评分的影响

组别	n	治疗前	治疗后
NS 对照组	8	2.56±0.53	2.41±0.68
CS 组	8	2.34±0.36	1.44±0.34 ^{a,b}
NGF 实验组	8	2.53±0.52	1.23±0.47 ^{a,b}

注:a:与治疗前比较, $P<0.05$;b:与 NS 对照组比较, P

表 2 NS 对照组和 NGF 实验组大鼠脑梗死后 NOS 水平($\bar{x}\pm s$)

组别	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
NS 对照组	59.56±15.62	55.26±13.71	53.67±12.39	42.14±13.87	40.89±12.32
NGF 实验组	50.76±14.74 ^a	48.67±13.21 ^a	45.23±11.83 ^a	41.23±13.89	40.34±11.37

注:a:与 NS 对照组比较, $P<0.05$ 。

许多研究表明,一氧化氮(nitric oxide, NO)既是一种特殊的神经递质,又是一种自由基和神经细胞毒性物质,参与缺血性脑损伤的病理生理过程。脑损伤后,神经毒性作用突出,即脑损伤后激活 NOS,产生大量 NO,而且作用时间较长^[5]。NO 在体内必须通过 NOS 的作用才能生成,所以它在体内的生物作用完全取决于 NOS 的变化。苏志达等研究发现,大鼠脑损伤后海马和皮层等脑组织中的 NO 和 NOS 含量明显增加,并呈现动态变化过程^[6]。本实验显示,脑梗死后 1 h NOS 的含量较正常组明显升高,提示 NO 和 NOS 参与了脑梗死后脑细胞损伤的病理过程,且与病情发展密切相关。NGF 实验组大鼠梗死后 1 h、3 h、6 h 脑组织的 NOS 活性较 NS 对照组降低($P<0.05$),表明 NGF 能拮抗脑梗死后所致的 NOS 活性升高效应。NGF 对脑缺血的保护和治疗作用可能有以下途径:①增加自由基清除剂的活性;②拮抗兴奋性氨基酸的神经毒性作用:如防止鹅膏氨酸(ibotenic acid)对脑组织的不可逆损伤^[7];③稳定细胞内 Ca²⁺ 的浓度:自由基与兴奋性氨基酸对脑组织的损伤均可引起 Ca²⁺ 超载,而 Ca²⁺ 超载预示着细胞破坏和死亡,NGF 稳定细胞内 Ca²⁺ 的浓度是通过影响 Ca²⁺ 通道与 Ca²⁺ 排出系统的

<0.05。

2.2 各组大鼠脑组织 NOS 含量变化 大鼠脑皮质中的 NOS 活性正常组为(40.16±9.36),脑梗死后 1 h 时升高($P<0.05$),6 h 开始下降,12 h 后渐降至基础水平。NGF 实验组大鼠脑梗死后 1 h、3 h、6 h NOS 活性较 NS 对照组降低($P<0.05$),表明 NGF 能拮抗脑梗死后所致的 NOS 活性升高效应(见表 2)。

3 讨论

近年来,诸多研究表明,脑缺血后 NGF 家族中的大多数成员在脑内表达发生改变,且对脑缺血损伤有一定的保护和治疗作用^[3]。本实验中,由于血栓栓塞了大脑中动脉,造成大鼠脑组织缺血、缺氧,从而导致脑细胞水肿、软化、变性,甚至坏死,神经病学评分增高。经过 NGF 治疗后,神经病学评分降低,与治疗前比较有显著性差异;NS 对照组神经病学评分与治疗前比较无显著性差异,表明 NGF 对大鼠的神经功能恢复有促进作用。治疗后,NGF 实验组大鼠的神经病学评分均低于 NS 对照组,神经功能恢复好于后者,表明 NGF 对脑缺血的保护和治疗作用是确切的,这与有关报道是一致的^[4]。

表达与活化实现的。脑缺血损伤后引起的 NGF 表达增加的时程较短,因此脑梗死后及时、足量应用 NGF 将有助于损伤脑细胞的恢复。

[参考文献]

[1] Grundy PL, Patel N, Harbus MS, et al. Glucocorticoids modulate the NGF mRNA response in the rat hippocampus after traumatic brain injury[J]. Brain Res, 2001, 892(2): 386—390.

[2] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84—91.

[3] Ishida A, Kawakami H, Yasuzumi F, et al. Gene therapy for cerebral infarction (cerebral ischemia) [J]. No To Shinkei, 2002, 54(3): 213—219.

[4] Guegan C, Ceballos-Picot I, Chevalier E, et al. Reduction of ischemic damage in NGF-transgenic mice: correlation with enhancement of antioxidant enzyme activities[J]. Neurobiol Dis, 1999, 6(3): 180—189.

[5] Wada K, Chatzipanteli K, Busto R, et al. Role of nitric oxide in traumatic brain injury in the rat[J]. J Neurosurg, 1998, 89(5): 807—818.

[6] 苏志达, 刘平, 张留宝, 等. 实验性颅脑伤大鼠脑组织 NO 及 NOS 含量的动态研究[J]. 南京军医学院学报, 2001, 23(3): 151—153.

[6] 贺双腾. 脑缺血损伤对神经生长因子的表达[J]. 国外医学脑血管疾病分册, 1998, 6(1): 13—17. (收稿日期: 2005-04-13)