

## · 研究论文 ·

## 巴曲酶对实验性脑出血大鼠的神经保护作用

祁 丽, 董 志\*, 马 婕

(重庆医科大学药学院药理学教研室 生物化学与分子药理学重点实验室, 重庆 400016)

**摘要:** 本文旨在观察巴曲酶对大鼠脑出血后神经损伤是否具有保护作用及其可能作用机制。将大鼠分为假手术组、模型组、巴曲酶 (4、8 及 16 BU·kg<sup>-1</sup>) 组及尼莫地平阳性对照组, 在脑立体定向仪上, 根据大鼠脑立体定位图谱定位脑部尾状核后, 用微量注射器向尾状核注射 VII 型胶原酶, 建立大鼠脑出血模型。术后进行大鼠神经行为学评分及电镜下观察脑组织病理形态学改变; 干湿重法测定脑含水量; 试剂盒测定超氧化物歧化酶 (SOD) 活力和丙二醛 (MDA) 含量; 荧光分光光度计测定神经细胞内游离钙离子浓度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)。结果表明, 巴曲酶可改善脑出血大鼠的神经行为学评分, 减轻其脑组织细胞水肿和出血程度; 使脑含水量、MDA 含量及 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 下降, SOD 活力升高, 提示巴曲酶对脑出血后神经损伤可能存在保护作用, 其作用机制可能与减轻脑水肿、提高 SOD 活力和降低 MDA 含量及抑制钙超载有关。

**关键词:** 巴曲酶; 脑出血; 脑水肿; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 钙超载

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 04-0338-06

## Neuroprotective effect of batroxobin on experimental intracerebral hemorrhage in rats

QI Li, DONG Zhi\*, MA Jie

(Department of Pharmacology, Pharmacy College, Chongqing Medical University,  
Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, Chongqing 400016, China)

**Abstract:** This study is to investigate if batroxobin has the protective effect against nerve injury caused by cerebral hemorrhage in rats and its possible mechanism. Animals were divided into sham group, model group, batroxobin 4, 8, and 16 BU·kg<sup>-1</sup> groups and nimodipine positive control group. On the brain stereotaxic apparatus, the rat intracerebral hemorrhage model was established by injecting collagenase with microinjector into the brain caudate nucleus which was located according to the brain stereotaxic atlas. Neuroethology of the rats was estimated. The brain tissue pathomorphology was observed with electron microscope. The water content of the brain tissue was quantitated with wet/dry weight measurement. SOD and MDA were determined according to the kit procedure, and free Ca<sup>2+</sup> concentration in neurocyte was measured by fluorospectrophotometer. As shown in results, batroxobin could improve neuroethology scale of the rats, relieve histiocyte edema and bleeding degree. The water content of the brain tissue, MDA and free Ca<sup>2+</sup> concentration were reduced and SOD activity was raised in batroxobin treatment groups. Therefore, it is possible that batroxobin has some protective effect against nerve injury caused by cerebral hemorrhage in rats, and its mechanism maybe relate to lessening brain edema, reducing MDA content, raising SOD activity, and inhibiting calcium overload.

**Key words:** batroxobin; intracerebral hemorrhage; brain edema; SOD; MDA; calcium overload

巴曲酶是一种单组分降纤酶制剂, 能有效抑制

血栓形成并溶解血栓, 溶栓后出血危险性小, 在急性脑梗死的临床治疗中已取得良好疗效<sup>[1]</sup>。近来研究表明, 巴曲酶还具有神经保护作用, 其机制研究涉及

收稿日期: 2008-09-12.

\*通讯作者 Tel: 86-23-68486678, E-mail: zhidong073@hotmail.com

调节凋亡相关因子的表达<sup>[2]</sup> (如 Bcl-2、Bax、eNOS、VEGF、Akt 蛋白及立早基因 c-fos、c-Jun)、调节炎症反应的发生<sup>[3]</sup> (如影响炎症细胞因子 PAF、TNF- $\alpha$  的表达、降低血清高敏 C 反应蛋白的水平及对补体的影响)、减轻卒中后脑水肿、降低精氨酸加压素含量、抑制脑梗死患者血清中的脂质过氧化物产生及提高超氧化物歧化酶活性等。脑出血是一种高发病率和死亡率的脑血管疾病, 约 1/3 患者伴有神经损伤, 并直接影响患者预后, 因而目前脑出血的治疗重点在于减轻出血周围脑神经损伤, 尤其是缓减脑水肿<sup>[4]</sup>。但脑出血后继发性脑神经损伤不仅因血肿周围脑水肿所致, 还与血肿面积继续扩大有关<sup>[5]</sup>。此外, 大量自由基的产生及自由基清除系统酶活性的降低也可引发脑出血后血肿周围神经组织的氧化性损伤; 而神经细胞内钙超载被认为是引起细胞死亡及脑神经损伤的中心环节。因此本研究从这些方面探讨了巴曲酶对脑出血大鼠的神经保护作用, 以期在脑出血中的临床应用提供依据。

## 材料与方法

**实验动物、药品与试剂** 成年清洁级 SD (Sprague Dawley) 大鼠 60 只, (250  $\pm$  50) g, 雌雄各半, 重庆医科大学实验动物中心提供。巴曲酶 (5BU: 0.5 mL, 北京托毕西制药有限公司), 胶原酶 VII (Sigma), SOD、MDA 试剂盒 (南京建成生物工程研究所), Fura-2/AM 荧光指示剂 (Biotium)。

**制备模型** 参照文献[6]方法, 采用脑部尾状核内注射胶原酶建立大鼠脑出血模型。将大鼠以 10% 水合氯醛按 0.3 mL/100 g 腹腔注射麻醉, 俯卧固定于脑立体定向仪上。局部消毒, 正中切开头皮, 剥离骨膜, 暴露前囟点。按照大鼠脑立体定位图谱<sup>[7]</sup>进行左侧尾状核定位。以前囟点为原点, 向左 3.0 mm, 向前 0.24 mm, 深度 5.8 mm 为注射点 (尾状核), 骨钻钻开颅骨, 进针后用微量注射器缓慢注射 VII 型胶原酶 0.5  $\mu$ L (用生理盐水按 1 U· $\mu$ L<sup>-1</sup> 溶解后), 注射时间大约为 3 min, 留针 5 min, 缓慢退针, 缝合皮肤。整个实验过程中保持大鼠肛温 (37.5  $\pm$  0.5)  $^{\circ}$ C, 避免低温对损伤性脑神经元的保护作用。假手术组仅于尾状核注射等量生理盐水, 不做出血处理。

**动物分组及取材** 动物随机分为假手术组、模型组、巴曲酶 4、8 及 16 BU·kg<sup>-1</sup> 组及尼莫地平阳性对照组, 每组 10 只。各用药组于尾状核注射胶原酶同时, 给予相应剂量的巴曲酶 (用生理盐水溶解至 1 mL) 和尼莫地平 (规格为 20 mL:4 mg) 5 mL·kg<sup>-1</sup>, 腹

腔注射; 模型组及假手术组仅注射生理盐水 1 mL。行末次评分后, 将大鼠麻醉, 断头处死, 冰盘上取出全脑, 用冷生理盐水 (4  $^{\circ}$ C) 冲洗 3 遍, 除去积血, 用滤纸吸去表面水分, 去除嗅脑、小脑和低位脑干。于冰盘上迅速分离大脑半球, 取左侧半球, 进针孔则标志着尾状核的所在位置。以进针孔为界冠状切开, 前半部分出血灶及血肿周围脑组织损伤区待测脑组织含水量, 后半部分出血灶及血肿周围脑组织损伤区匀浆后待测生化指标。

**神经症状评分** 根据 Petullo 等<sup>[8]</sup>的行为学评价标准改制, 于出血后 4 及 24 h 进行神经肌肉功能缺损体征评分: 根据屈曲损伤对侧前肢、全身扭曲头朝向损伤侧、向损伤对侧抵抗力减弱或消失、向损伤对侧转圈、后肢收回延迟或不收回及活动能力的改变, 分别按 0、0.5、1 分等 3 个等级记分。

**脑组织病理观察** 末次评分后, 各组另取 4 只大鼠麻醉, 开胸暴露大鼠心脏, 在升主动脉处插管, 先以生理盐水冲洗直到流出液清亮, 再灌以 4% 多聚甲醛, 取出大脑, 以进针孔为界向前、向后各冠状切取脑组织 (片厚 2~4 mm), 并将脑片放入 4% 多聚甲醛中固定, 常规梯度脱水、透明、浸蜡、包埋、切片, 苏木精和伊红 (HE) 染色, 显微镜下观察脑组织病理形态的改变。

**脑含水量测定** 称取脑组织湿重  $G_1$  (精确度 0.1 mg), 置 110  $^{\circ}$ C 烤箱中烤干, 24 h 后称取干重 ( $G_2$ ), 计算干湿比: 脑含水量 (%) =  $(G_1 - G_2) / G_1 \times 100\%$ 。

**SOD 及 MDA 水平测定** 分别采用黄嘌呤氧化酶法和硫代巴比妥酸法, 按试剂盒说明操作。

**[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 的测定** 将 Fura-2/AM 作为荧光指示剂, 游离的 Fura-2 在激发光波长为 380 nm 时, 可以产生 500 nm 波长的荧光; Fura-2 与钙结合后形成的复合物, 只有在激发光波长为 340 nm 时, 才能产生 500 nm 波长的荧光。根据两者荧光强度的比值, 就可以算出钙离子的结合量, 也可以算出钙离子浓度; 参照 Du 等<sup>[9]</sup>的悬浮细胞的双波长荧光分光光度计法进行测定。首先将待测脑组织用蔗糖分离液匀浆制备神经突触体悬液, 再将悬液负载 Fura-2/AM 荧光指示剂后, 测定激发光 340 和 380 nm 时的荧光值, 并分别测定加入 Triton X-100 (破坏细胞膜, 使细胞外钙离子充分与荧光指示剂结合) 和加入 EGTA (充分络合溶液中的 Ca<sup>2+</sup>, 使溶液中的荧光指示剂处于游离状态) 后激发光 340 和 380 nm 时的荧光值, 最后按照下式计算细胞内钙浓度:  $[Ca^{2+}]_i = K_d (R - R_{min}) / (R_{max} - R) \times (sf2 / sb2)$ 。式中  $K_d$  为 Fura-2 与钙反应的解离常数, 在 37  $^{\circ}$ C

时为  $224 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $R$  为 340 和 380 nm 波长激发, 500 nm 波长发射, 测得的荧光信号的比值;  $R_{\max}$  为最大荧光比值, 是加入 Triton X-100 后所得的比值;  $R_{\min}$  为最小荧光比值, 是使用 EGTA 后所得的比值。sf2 和 sb2 则分别表示在钙饱和 (Triton X-100 破膜后) 和零钙 (EGTA 络合后) 情况下 380 nm 激发光产生的荧光强度。

**统计学处理** 所有数据结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS10.0 统计软件进行单因素方差分析。

## 结果

### 1 大鼠神经行为学变化

如表 1 所示, 模型组大鼠出血后 4 和 24 h 的行为学评分均大于 4 分, 有明显神经功能损伤。阳性对照组和巴曲酶各用药组, 除巴曲酶  $4 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组 4 h 评分无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) 外, 均可显著降低评分, 改善神经行为学功能 ( $P < 0.05$ )。

**Table 1** Influence of batroxobin on neuromuscular function scale in rats subjected to experimental intracerebral hemorrhage

Group	Dose / $\text{BU}\cdot\text{kg}^{-1}$	Neuromuscular function scale	
		4 h after hemorrhage	24 h after hemorrhage
Sham		$0 \pm 0$	$0 \pm 0$
Model		$4.2 \pm 0.7$	$4.3 \pm 0.9$
Nimodipine	$5 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$	$3.0 \pm 0.7^{\Delta}$	$2.2 \pm 0.8^{\Delta}$
Batroxobin	4	$3.6 \pm 0.6$	$2.4 \pm 1.0^{\Delta}$
	8	$2.8 \pm 0.5^{\Delta}$	$1.8 \pm 0.5^{\Delta}$
	16	$2.6 \pm 0.8^{\Delta}$	$1.4 \pm 0.6^{\Delta}$

$n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ .  $^{\Delta}P < 0.05$  vs model group

### 2 大鼠脑组织病理形态学观察

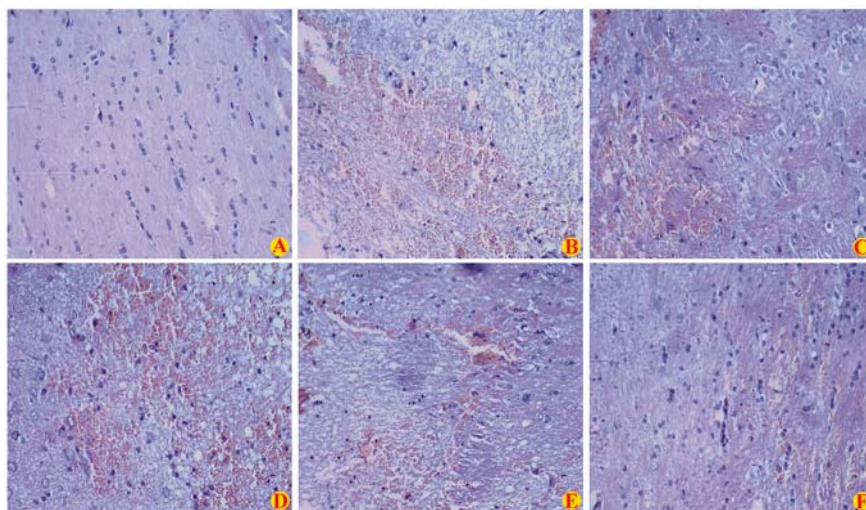
假手术组手术部位神经细胞形态正常, 胞膜完整, 核仁明显, 间质均匀、清晰 (图 1A)。模型组出血区及周围神经细胞明显肿胀、变形, 自溶及坏死成空泡状, 细胞核固缩, 核仁消失; 间质内大量红细胞渗出, 可见水肿及片状坏死, 组织结构疏松 (图 1B)。阳性对照组和各巴曲酶用药组的出血情况均较模型组轻, 并随药物剂量的增加, 细胞水肿及变形逐渐减轻, 胞膜及核逐渐清晰; 红细胞渗出逐渐减少, 坏死程度逐渐减轻, 组织结构逐渐均匀化; 其中, 巴曲酶  $16 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组已较接近正常 (图 1C-F)。

### 3 巴曲酶对脑出血大鼠脑组织含水量的影响

如表 2 所示, 脑出血模型组与假手术组比较, 脑含水量显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 阳性对照组和巴曲酶各用药组的脑含水量均明显下降, 其中, 巴曲酶  $4 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组与 8 及  $16 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组间的差异显著 ( $P < 0.05$ ), 8  $\text{BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组与  $16 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组间的差异无显著性。

### 4 巴曲酶对脑出血大鼠 SOD、MDA 水平的影响

如表 3 所示, 脑出血模型组大鼠脑组织中 SOD 活性明显降低、MDA 含量显著增高, 与假手术组比较差异有显著性 ( $P < 0.05$ ); 阳性对照组和巴曲酶各用药组与模型组比较, SOD 活性均明显升高、MDA 含量明显下降。且出血大鼠脑组织 SOD、MDA 水平随巴曲酶用药剂量的增加分别表现出逐渐的升高和下降趋势。其中, 巴曲酶  $4 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组与 8 及  $16 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组间的差异显著 ( $P < 0.05$ ), 而 8  $\text{BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组与  $16 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组间的差异无显著性。



**Figure 1** Effect of batroxobin on the pathological morphology of rat brain after experimental intracerebral hemorrhage. A: Sham; B: Model; C: Nimodipine  $5 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; D: Batroxobin ( $4 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$ ); E: Batroxobin ( $8 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$ ); F: Batroxobin ( $16 \text{ BU}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). (HE  $\times 400$ , height  $\times$  width:  $4.7 \text{ cm} \times 5.38 \text{ cm}$ )

**Table 2** Effect of batroxobin on the size of brain edema in rats subjected to experimental intracerebral hemorrhage

Group	Dose /BU·kg <sup>-1</sup>	Brain edema / %
Sham		46.3 ± 1.3
Model		49.5 ± 1.0*
Nimodipine	5 mL·kg <sup>-1</sup>	47.1 ± 1.9 <sup>△</sup>
Batroxobin	4	48.9 ± 1.2
	8	47.4 ± 1.2 <sup>△</sup>
	16	46.8 ± 1.4 <sup>△</sup>

$n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P < 0.05$  vs sham group;  $\Delta P < 0.05$  vs model group

**Table 3** Effect of batroxobin on the level of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in rats subjected to experimental intracerebral hemorrhage

Group	Dose /BU·kg <sup>-1</sup>	SOD/U·mg <sup>-1</sup> (protein)	MDA/nmol·mg <sup>-1</sup> (protein)
Sham		187.5 ± 31.3	0.81 ± 0.24
Model		57.4 ± 29.5*	1.4 ± 0.39*
Nimodipine	5 mL·kg <sup>-1</sup>	95.9 ± 13.8 <sup>△</sup>	0.96 ± 0.12 <sup>△</sup>
Batroxobin	4	90.0 ± 4.5	1.3 ± 0.3
	8	116.8 ± 19.6 <sup>△</sup>	1.0 ± 0.3 <sup>△</sup>
	16	126.2 ± 31.4 <sup>△</sup>	0.83 ± 0.2 <sup>△</sup>

$n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P < 0.05$  vs sham group;  $\Delta P < 0.05$  vs model group

## 5 巴曲酶对脑出血大鼠神经细胞内游离钙离子浓度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)的影响

如表4所示,脑出血模型组大鼠神经细胞内[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>与假手术组相比显著升高,有统计学意义( $P < 0.05$ );而阳性对照组和巴曲酶各用药组[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>均比模型组小,且差异均有显著性( $P < 0.05$ )。巴曲酶16 BU·kg<sup>-1</sup>组与4及8 BU·kg<sup>-1</sup>组间差异显著( $P < 0.05$ );而4 BU·kg<sup>-1</sup>组与8 BU·kg<sup>-1</sup>组间差异无显著性。各巴曲酶用药组与阳性对照组(尼莫地平)之间比较,4和8 BU·kg<sup>-1</sup>组的[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>分别高于和低于阳性对照组,但均无统计学意义;而16 BU·kg<sup>-1</sup>组的[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>显著低于阳性对照组,且差异有显著性( $P < 0.05$ )。

**Table 4** Effect of batroxobin on the free Ca<sup>2+</sup> concentration of neurocyte in rats subjected to experimental intracerebral hemorrhage

Group	Dose /BU·kg <sup>-1</sup>	[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>
Sham		146.9 ± 21.0
Model		257.4 ± 35.3*
Nimodipine	5 mL·kg <sup>-1</sup>	184.5 ± 29.9 <sup>△</sup>
Batroxobin	4	196.0 ± 15.1 <sup>△</sup>
	8	182.7 ± 21.2 <sup>△</sup>
	16	152.3 ± 12.1 <sup>△#</sup>

$n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P < 0.05$  vs sham group;  $\Delta P < 0.05$  vs model group; # $P < 0.05$  vs nimodipine group

## 讨论

胶原酶是一种金属蛋白酶,能够分解细胞间基质和血管基底膜上的胶原蛋白,损伤脑血管基底膜上的胶原蛋白,破坏血脑屏障。血管壁受损引起渗血,血液逐渐积聚,在出血区融合形成片状出血。胶原酶诱导法脑出血模型操作简单、快捷、重复性好,其产生的血肿大小基本一致且神经功能障碍比较明显,较适用于脑出血后神经功能恢复的研究和治疗方法的评价<sup>[10]</sup>。因此本实验采用脑内注射胶原酶制备大鼠脑出血模型来研究巴曲酶对实验性脑出血大鼠的神经保护作用。

对术后大鼠进行神经行为学评价,不仅标志着模型的成功与否,还反映了大鼠脑出血后药物对神经损伤引起的行为学变化的干预作用。脑卒中的运动障碍以四肢远端精细运动和运动协调功能损害为主,本实验中脑出血后4及24 h观察大鼠,提尾可见其右前肢屈曲,肌张力下降,右肩阻力明显下降,行走时向右转圈,自主活动减少,个别大鼠移其后肢回收减慢等现象,主要以四肢远端的功能障碍为主。巴曲酶可明显改善大鼠的神经行为学功能,且出血后24 h较出血后4 h症状有所减轻,这可能与脑卒中的运动功能障碍随时间会有一定的减轻有关。此外,巴曲酶对脑出血病理形态学改变也有所改善,使细胞水肿、变形减轻,胞膜及核仁清晰,坏死程度减轻,组织结构均匀化。因此,作者从行为学和形态学方面观察到了巴曲酶对实验性脑出血大鼠的神经保护作用,并且对其作用机制作了部分研究。

脑水肿程度在脑出血继发性脑神经损伤的机制中占有非常重要的地位,但脑出血后脑水肿产生的机制比较复杂,出血后的凝血过程、红细胞破坏分解的成分血红蛋白及其降解产物、补体系统的激活等均与其有关<sup>[11]</sup>。本实验在出血同时给予巴曲酶治疗后,大鼠的脑含水量可见明显下降,表明巴曲酶具有抗脑出血后脑水肿的作用,这可能与其降纤作用有关,不仅能够拮抗血液凝固,减轻凝血过程中脑水肿的形成;而且能够抑制补体激活的级联反应,减轻补体依赖的神经元破坏作用造成的脑水肿<sup>[12]</sup>。

脑出血后,大量自由基的产生及自由基清除系统酶活性的降低所致的氧化性损伤也参与了血肿周围脑组织的损伤过程。一方面,自由基能够直接导致细胞脂质、蛋白质及核酸发生过氧化反应,同时激活中性粒细胞信号通路,严重损伤血脑屏障;并启动与细胞膜离子转运蛋白功能失调、血管通透性升高相关的

分子通路,引起脑水肿。另一方面,出血后红细胞的降解产物血红素及亚铁离子也参与了自由基的氧化应激反应<sup>[13]</sup>。相关研究表明,自由基捕获剂 NXY-059 可减少脑出血大鼠中性粒细胞的渗出及细胞凋亡阳性数目,起到神经保护作用<sup>[14]</sup>。而 SOD 是自由基清除系统的主要组成成分,MDA 是氧自由基脂质过氧化反应的终产物,两者是反映氧自由基损害程度的主要指标。因此,本实验通过观察巴曲酶对实验性脑出血大鼠 SOD 和 MDA 的影响,了解巴曲酶能否通过抗氧化作用机制发挥神经保护作用。结果表明,巴曲酶用药组的确能够显著提高大鼠脑组织 SOD 活性和降低 MDA 含量,且 SOD 及 MDA 水平的变化与脑组织含水量变化呈相关性。

此外,细胞内外钙离子浓度梯度的破坏是引起细胞死亡的中心环节,而脑出血后神经细胞内也存在严重的钙超载现象。出血后由于细胞受压、变形,胞膜不完整,Ca<sup>2+</sup>从膜的缺损处顺浓度梯度进入细胞内;产生的大量自由基可通过增加内皮细胞通透性,影响 Ca<sup>2+</sup>通道及钠-钙阳离子交换泵,增加神经细胞内游离钙离子浓度<sup>[13]</sup>;出血早期脑内大量谷氨酸积聚,也可通过激活 NMDA 受体引起大量 Ca<sup>2+</sup>内流,导致细胞内钙超载<sup>[15]</sup>。大量 Ca<sup>2+</sup>可激活磷脂酶类,使膜磷脂分解,释放大花生四稀酸,促进自由基大量产生;同时,脑血管平滑肌及内皮细胞内 Ca<sup>2+</sup>增多,可使血管收缩,痉挛,内皮细胞收缩,间隙扩大,血脑屏障开放,产生血管源性水肿等,最终导致神经细胞死亡。有报道,巴曲酶可抑制细胞内 Ca<sup>2+</sup>的释放和细胞外 Ca<sup>2+</sup>的摄取,有效抑制血管平滑肌细胞的增殖,因此认为它能够降低细胞内游离钙离子的浓度<sup>[16]</sup>。本实验采用荧光法测定了巴曲酶用药前后[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的变化,并与阳性对照药尼莫地平对[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的影响作了比较,可见巴曲酶能够显著降低出血后脑组织内[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>,且 16 BU·kg<sup>-1</sup>组对[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的抑制作用强于尼莫地平,表明它对细胞内钙超载具有抑制作用,对钙超载引起的脑组织损伤有保护作用。

另外,在实验中设立了巴曲酶 4、8 和 16 BU·kg<sup>-1</sup>剂量组,从各项检测指标的测定结果中可以看到,8 和 16 BU·kg<sup>-1</sup>为有效剂量,与模型组比较具有统计学意义,但两者之间无显著差异;而 4 BU·kg<sup>-1</sup>组与模型组比较,除个别指标外,并无统计学意义。

本实验仅研究了巴曲酶对大鼠脑出血后神经损伤的保护作用,并对其作用机制作了简单探讨,认为其神经保护作用可能与减轻脑水肿、抵抗自由基氧化

性损伤及抑制钙超载有关,脑组织水肿、自由基的氧化应激反应及神经细胞内钙超载均参与了脑出血后继发性脑神经的损伤,且各因素间相互联系,互为因果。而巴曲酶在临床上主要用于缺血性脑血管病的治疗,脑出血是其使用的禁忌症之一,但巴曲酶既能溶解血肿,又能对脑出血后继发性脑损伤起到保护作用,在脑出血的临床应用中确实具有很大的潜力。因此,能否通过改变巴曲酶的给药剂量、途径和给药时间来降低其使用的禁忌症状,还需更深入的探讨和研究。

## References

- [1] Wang SA. Batroxobin peacefully treats the curative effect observation which the acute brain stem dies [J]. World Health Digest (中外健康文摘(临床医师)), 2007, 12: 48–49.
- [2] Yin WB, Ding XS, Feng MJ, et al. Protective effects of batroxobin on neurons at hippocampal CA1 area in ischemia-reperfusion gerbils [J]. Chin J Rehabil (中国康复), 2006, 21: 302–304.
- [3] Bai WT, Chen LJ. Effects of batroxobin on expression of PAF and PAF receptor mRNA in focal ischemia-reperfusion rats [J]. Chin J Clin Rehabil (中国临床康复), 2005, 9: 239–241.
- [4] Thiex R, Tsirka SE. Brain edema after intracerebral hemorrhage: mechanisms, treatment options, management strategies, and operative indications [J]. Neurosurg Focus, 2007, 22: E6.
- [5] Manno EM, Atkinson JL, Fulgham JR, et al. Emerging medical and surgical management strategies in the evaluation and treatment of intracerebral hemorrhage [J]. Mayo Clin Proc, 2005, 80: 420–433.
- [6] Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, et al. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats [J]. Stroke, 1990, 21: 801–807.
- [7] Bao XM, Shu SY. The Stereotaxic Atlas of the Rat Brain (大鼠脑立体定位图谱) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991: 28–46.
- [8] Petullo D, Masonic K, Lincoln C, et al. Model development and behavioral assessment of focal cerebral ischemia in rats [J]. Life Sci, 1999, 64: 1099–1108.
- [9] Du GH. Experimental Pharmacology (实验药理学) [M]. Beijing: Peking Union Medical College and Beijing Medical University Press, 2004: 324–325.
- [10] He G. Research advancement about animal model of experimental cerebral hemorrhage [J]. Foreign Med: Neurology, Neurosurgery (国外医学 神经病学神经外科学分册), 2001, 28: 80–83.

- [11] Xi G, Keep RF, Hoff JT. Pathophysiology of brain edema formation [J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2002, 13: 371-383.
- [12] Wu G, Huang FP, Ren HM. Effects of DF-521 batroxobin on brain edema and expression of the complement induced by intracerebral hemorrhage in rat [J]. *Chin J Clin Neurosci (中国临床神经科学杂志)*, 2004, 12: 349-353.
- [13] Heo JH, Han SW, Lee SK. Free radicals as triggers of brain edema formation after stroke [J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 39: 51-70.
- [14] Peeling J, Del Bigio MR, Corbett D, et al. Efficacy of disodium 4-[(*tert*-butylimino) methyl] benzene-1, 3-disulfonate *N*-oxide (NXY-059), a free radical trapping agent, in a rat model of hemorrhagic stroke [J]. *Neuropharmacology*, 2001, 40: 433-439.
- [15] Lee ST, Chu K, Jung KH, et al. Memantine reduces hematoma expansion in experimental intracerebral hemorrhage, resulting in functional improvement [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26: 536-544.
- [16] Song QB, Wei MJ, Duan ZQ, et al. Batroxobin reduces intracellular calcium concentration and inhibits proliferation of vascular smooth muscle cells [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2004, 117: 917-921.

### 《中国中药杂志》第九届编委会暨中药新药研发理论与技术创新论坛征文通知

由中国中医科学院中药研究所、《中国中药杂志》社主办，合肥立方药业集团、安徽中医学院协办的“《中国中药杂志》第九届编委会暨中药新药研发理论与技术创新研讨会(二)”定于2009年8月3~6日在安徽省黄山市举行。

征文方向：① 中药新药研究领域新理论、新模式介绍；② 中药新药研发理论与模式的探讨与争鸣；③ 国家对中药产业自主创新提供的制度环境、鼓励政策、科研立项及资金支持等最新政策的解读和介绍；④ 全球金融危机形势下我国中药行业发展机遇与挑战：包括中药（种质）资源开发研究，技术标准，创新体系，医疗体制改革等方面；⑤ 中药新药研究的各项关键技术前沿介绍：包括制剂新工艺的研究；新的分析检测技术和方法的研究；新的中药质量稳定性评价方法的研究；⑥ 民族药物新药研发方面的研究现状；⑦ 2010版药典的新技术与新方法介绍。

征文要求未公开发表的论文，格式见本刊网站（[www.cjmm.com.cn](http://www.cjmm.com.cn)）约稿须知。初选合格的征文将汇编至“中药新药研发理论与技术创新论坛(二)”论文集；经专家评选为优秀征文的文章将发表于《中国中药杂志》正式刊物中；从会议优秀征文中将选拔部分文章推荐至大会发言。论文征集与会议报名时间为即日起至2009年7月15日止。

学术报告：学术报告将由大会组稿和专家选拔推荐的优秀征文两部分组成，会议将邀请中国工程院院士，国家食品药品监督管理局、国家自然科学基金委员会、国家药典委员会等相关部门领导及著名专家学者就以上内容做精彩报告。

时间安排和其他事项：详见本刊网站 [www.cjmm.com.cn](http://www.cjmm.com.cn)。

会务咨询：北京市东直门内南小街16号中国中药杂志社（100700）

联系人：鲍雷

电话：13683362408，010-64030625

邮箱：[baolei1978@126.com](mailto:baolei1978@126.com)