

氧化苦参碱抗大鼠脑外伤后神经细胞凋亡及机制研究

王刚^a, 董晓巧^b, 杜权^b, 俞文华^b, 张祖勇^b, 朱强^{b*}, 车志豪^b, 陈锋^b, 王昊^b, 陈军^b(杭州市第一人民医院, a.药剂科, b.神经外科, 杭州 310006)

摘要: 目的 观察氧化苦参碱对大鼠脑外伤后神经细胞凋亡、氧化损伤和炎症反应的影响, 探讨氧化苦参碱抗神经细胞凋亡的机制。方法 选用健康 Wistar 大鼠 140 只, ♂, 随机分成假手术组、脑外伤组、氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹ 组和氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组, 每组 35 只, 利用改进的 Feeney 自由落体损伤装置制作脑外伤动物模型, 分别于脑外伤模型形成后给予 1 mL 0.9% 氯化钠注射液及不同剂量氧化苦参碱(60 和 120 mg·kg⁻¹) 腹腔注射, 每日 1 次, 共 5 d, 在脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d 断头取血和获取脑组织, 利用黄嘌呤氧化酶法检测血清超氧化物歧化酶活性, 利用硫代巴比妥酸法测定血清丙二醛浓度, 利用酶联免疫吸附试验测定血清白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度, 利用原位末端转移酶标记技术检测脑组织中凋亡神经细胞, 同时进行统计分析。结果 脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹ 组大鼠凋亡神经细胞数量、血清超氧化物歧化酶活性及丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$); 脑外伤后 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组大鼠凋亡神经细胞数量、血清超氧化物歧化酶活性及丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度较脑外伤组显著减少($P<0.05$), 脑外伤后 2 h 和 6 h, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组大鼠凋亡神经细胞数量、血清超氧化物歧化酶活性及丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)。结论 氧化苦参碱可能通过降低体内自由基和炎症反应, 从而抑制脑外伤后神经细胞凋亡, 达到神经保护作用。

关键词: 脑外伤; 氧化苦参碱; 细胞凋亡; 自由基; 炎症反应

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)04-0289-06

Effect of Oxymatrine on Neuronal Cell Apoptosis and Its Mechanisms after Traumatic Brain Injury

WANG Gang^a, DONG Xiaoqiao^b, DU Quan^b, YU Wenhua^b, ZHANG Zuyong^b, ZHU Qiang^{b*}, CHE Zhihao^b, CHEN Feng^b, WANG Hao^b, CHEN Jun^b(The First Hangzhou Municipal People's Hospital, a.Department of Pharmacy, b.Department of Neurosurgery, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of oxymatrine on neuronal cell apoptosis, oxidative injury and inflammatory reaction and furthermore discuss possible mechanism of oxymatrine suppressing neuronal cell apoptosis. **METHODS** All of 140 male Wistar rats were randomly divided into sham operation group, brain trauma group, as well as oxymatrine of 60 mg·kg⁻¹ and 120 mg·kg⁻¹ treatment group. The rat model of traumatic brain injury was induced by a modification of Feeney's weight-drop model. Oxymatrine was given to rats in the oxymatrine of 60 mg·kg⁻¹ and 120 mg·kg⁻¹ treatment groups via intraperitoneal injection (60 and 120 mg·kg⁻¹) after trauma, and then once a day till day 5. The rats in the brain trauma and sham operation groups received an intraperitoneal administration of 1 mL of saline after trauma or procedures. Animals were sacrificed by decapitation at hour 2, 6 and 12, as well as day 1, 2, 3, and 5 after trauma. Brains were removed and blood was collected. Neuronal cell apoptosis was measured using terminal deoxynucleotidyl transferase biotin-dUTP nick end labeling; superoxide dismutase activity in serum, was determined by xanthine oxidase method; serum malondialdehyde level, was analyzed by thiobarbituric acid reactive substance assay; interleukin-1beta, tumor necrosis factor-beta, and interleukin-6 levels in serum, were measured by enzyme linked immunosorbent assay. Statistical analysis was performed. **RESULTS** At hour 2, 6 and 12, as well as day 1, 2, 3, and 5 after trauma, the differences between the number of apoptotic neuronal cell, superoxide dismutase activity in serum, as well as serum malondialdehyde, interleukin-1beta, tumor necrosis factor-beta and interleukin-6 levels in the oxymatrine of 60 mg·kg⁻¹ treatment group and brain trauma group were not significant statistically ($P>0.05$). At hour 12, as well as day 1, 2, 3, and 5 after trauma, the number of apoptotic neuronal cell, superoxide dismutase activity in serum, as well as serum malondialdehyde, interleukin-1beta, tumor necrosis factor-beta and interleukin-6 levels in the oxymatrine of 120 mg·kg⁻¹ treatment group were significantly lower than those in the brain trauma group ($P<0.05$), but at hour 2 and 6, these differences were not significant ($P>0.05$). **CONCLUSION** Oxymatrine may suppress neuronal cell apoptosis via inhibition of

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2010ZA101)

作者简介: 王刚, 男, 副主任药师 Tel: (0571)87065701-10180 E-mail: dxqhyy@163.com *通信作者: 朱强, 男, 主任医师 Tel: (0571) 87065701-21481 E-mail: hzqiangzhu@163.com

脑外伤后, 自由基反应和炎症反应加剧, 体内丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 含量明显升高, 超氧化物歧化酶活性显著降低, 自由基、炎性因子和多种伤害性因素作用叠加, 可以导致“细胞钙超载”, 引起神经细胞凋亡^[1-6]。氧化苦参碱是从豆科植物苦参、苦豆子等中分离出来的生物碱, 属于四环的喹啉啉类, 具有抗氧化、抗炎、抗凋亡作用, 对脑缺血具有神经保护作用^[7-9]。本研究观察氧化苦参碱对实验性脑外伤大鼠神经细胞凋亡、自由基和炎症反应的影响, 探讨氧化苦参碱抗脑外伤后神经细胞凋亡的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 材料

氧化苦参碱(陕西慧科植物开发有限公司, 批号: SF20061215, 纯度: 98%)临用时以蒸馏水制成混悬液; 健康 Wistar 大鼠(中国医学科学院上海实验动物中心), δ , 清洁级, 实验动物许可证号: SCXK(沪)2007-0005; 细胞凋亡检测试剂盒(北京中山生物技术有限公司); 超氧化物歧化酶活性检测试剂盒、丙二醛检测试剂盒(南京建成生物工程研究所); ELISA 检测试剂盒(美国 R&D systems 公司)。

1.2 动物及分组

选用体质量相当(250~300 g)健康 Wistar 大鼠 140 只, δ , 随机分成假手术组、脑外伤组、氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹ 组和氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组, 每组均为 35 只, 再按 2, 6, 12 h, 1, 2, 3, 5 d 7 个时间点分设 7 个亚组, 每亚组均为 5 只。

1.3 模型制作

大鼠均予戊巴比妥钠腹腔麻醉(50 mg·kg⁻¹)。在右侧冠状缝后 1 mm、中线旁开 2 mm 处切开头皮, 钻一直径 5 mm 骨孔。采用改进的 Feeney 自由落体损伤装置, 用 40 g 重的击锤从 25 cm 处自由坠落冲击撞杆, 打击深度 5 mm, 缝合头皮。假手术组大鼠切开头皮钻孔后缝合头皮, 不作击锤打击。

1.4 动物处理

假手术组及脑外伤组大鼠操作完成或脑外伤模型形成后立即予 0.9%氯化钠注射液 1 mL 腹腔注射, 连续 5 d; 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹ 组和氧化

苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组大鼠脑外伤模型形成后按 60 和 120 mg·kg⁻¹ 剂量予氧化苦参碱腹腔注射, 连续用药 5 d。大鼠均于脑外伤模型形成后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3, 5 d 予戊巴比妥钠腹腔注射深度麻醉(80 mg·kg⁻¹)^[10], 断头取血, 快速取出全脑, 分离脑挫伤灶周边脑组织。

1.5 凋亡细胞检测

采用原位末端转移酶标记技术检测脑组织中凋亡神经细胞, 细胞核染色呈棕黄色或棕红色定义为细胞染色阳性, 在 Olympus-CH 光学显微镜下计算 10 个高倍镜视野, 每个视野计数 100 个细胞, 总计 1 000 个细胞, 计算平均阳性率(%)。

1.6 血清学指标检测

利用黄嘌呤氧化酶法检测血清超氧化物歧化酶活性; 利用硫代巴比妥酸法测定血清丙二醛浓度; 利用 ELISA 法测定血清白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度。

1.7 统计学处理

使用 SPSS/11.0 软件进行统计分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组比较采用方差分析, 两组间比较采用 LSD 法。

2 结果

2.1 大鼠脑外伤建模

大鼠脑外伤后, 血清超氧化物歧化酶活性显著下降, 血清丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度显著增高, 脑组织凋亡神经细胞数量显著增加。结果见表 1 至表 6。

2.2 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清丙二醛浓度的影响

脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹ 组大鼠血清丙二醛浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$); 脑外伤后 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组大鼠血清丙二醛浓度较脑外伤组显著减少($P<0.05$), 脑外伤后 2 h 和 6 h, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组大鼠血清丙二醛浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)。结果见表 1。

2.3 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清超氧化物歧化酶活性的影响

脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化

苦参碱 60 mg·kg⁻¹组大鼠血清超氧化物歧化酶活性与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$); 脑外伤后 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清超氧化物歧化酶活性较脑

外伤组显著提高($P<0.05$), 脑外伤后 2 h 和 6 h, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清超氧化物歧化酶活性与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)。结果见表 2。

表 1 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清丙二醛浓度的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 1 Effects of oxymatrine on serum malondialdehyde concentrations in the rats with traumatic brain injury($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	丙二醛/nmol·mL ⁻¹						
	2 h	6 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d
假手术组	7.1±0.6	7.1±0.8	7.0±0.6	7.1±0.9	7.1±0.8	7.1±0.9	7.0±0.5
脑外伤组	9.4±1.4	10.5±1.2	12.8±1.4	15.6±1.4	16.1±1.2	14.0±1.2	11.4±1.4
氧化苦参碱 60 mg·kg ⁻¹ 组	9.1±1.1	10.2±1.3	12.2±1.5	15.3±1.3	15.2±1.5	13.1±1.3	10.7±1.2
氧化苦参碱 120 mg·kg ⁻¹ 组	8.5±0.9	9.1±0.9	10.2±1.0 ¹⁾	13.2±1.0 ¹⁾	13.0±1.2 ¹⁾	11.6±1.0 ¹⁾	9.2±1.1 ¹⁾

注: 与脑外伤组比较, ¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with brain trauma group, ¹⁾ $P<0.05$

表 2 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清超氧化物歧化酶活性的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 2 Effects of oxymatrine on serum superoxide dismutase activity in the rats with traumatic brain injury ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	血清超氧化物歧化酶活性/U·L ⁻¹						
	2 h	6 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d
假手术组	241.6±4.9	240.5±6.3	240.8±5.5	237.1±5.1	239.4±5.4	241.4±6.6	238.9±4.9
脑外伤组	211.0±13.6	189.2±11.3	172.4±13.3	149.8±9.7	149.4±10.3	161.5±12.3	178.9±14.6
氧化苦参碱 60 mg·kg ⁻¹ 组	214.0±9.7	193.5±13.6	179.1±12.8	153.2±11.9	154.6±13.5	167.0±12.6	184.0±11.2
氧化苦参碱 120 mg·kg ⁻¹ 组	223.7±6.3	214.3±13.8	205.6±11.4 ¹⁾	189.4±9.6 ¹⁾	192.1±10.8 ¹⁾	212.6±12.4 ¹⁾	218.5±10.0 ¹⁾

注: 与脑外伤组比较, ¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with brain trauma group, ¹⁾ $P<0.05$

2.4 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清白介素-6 浓度的影响

脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹组大鼠血清白介素-6 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$); 脑外伤

后 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清白介素-6 浓度较脑外伤组显著减少($P<0.05$), 脑外伤后 2 h 和 6 h, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清白介素-6 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)。结果见表 3。

表 3 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清白介素-6 浓度的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 3 Effects of oxymatrine on serum interleukin-6 concentrations in the rats with traumatic brain injury ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	白介素-6/pg·mL ⁻¹						
	2 h	6 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d
假手术组	9.9±1.0	9.9±1.3	9.8±1.4	9.7±1.0	9.8±0.9	9.8±1.1	9.7±1.1
脑外伤组	14.4±2.3	16.2±2.4	22.1±2.7	26.0±3.4	25.9±3.7	22.3±3.5	20.1±3.5
氧化苦参碱 60 mg·kg ⁻¹ 组	14.1±2.2	16.0±2.0	21.3±2.5	24.1±3.5	24.8±3.2	21.4±2.6	18.8±2.9
氧化苦参碱 120 mg·kg ⁻¹ 组	13.1±3.0	13.4±2.9	14.1±2.3 ¹⁾	18.1±3.1 ¹⁾	18.0±2.9 ¹⁾	14.9±1.1 ¹⁾	13.2±2.2 ¹⁾

注: 与脑外伤组比较, ¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with brain trauma group, ¹⁾ $P<0.05$

2.5 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清白介素-1β 浓度的影响

脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹组大鼠血清白介素-1β 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$); 脑外伤后

12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清白介素-1β 浓度较脑外伤组显著减少($P<0.05$), 脑外伤后 2 h 和 6 h, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清白介素-1β 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义($P>0.05$)。结果见表 4。

表 4 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清白介素-1 β 浓度的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 4 Effects of oxymatrine on serum interleukin-1 β concentrations in the rats with traumatic brain injury ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	白介素 1 β /pg·mL ⁻¹						
	2 h	6 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d
假手术组	284.5 \pm 31.6	299.8 \pm 37.2	303.7 \pm 34.6	301.8 \pm 32.1	304.0 \pm 37.4	296.0 \pm 30.0	298.9 \pm 35.3
脑外伤组	445.8 \pm 61.6	542.4 \pm 75.8	672.3 \pm 81.4	870.1 \pm 113.2	872.0 \pm 129.3	728.0 \pm 142.0	599.0 \pm 79.7
氧化苦参碱 60 mg·kg ⁻¹ 组	424.0 \pm 69.6	511.0 \pm 68.6	664.0 \pm 124.9	829.1 \pm 129.7	838.1 \pm 113.7	686.4 \pm 93.2	541.8 \pm 75.4
氧化苦参碱 120 mg·kg ⁻¹ 组	377.3 \pm 69.1	451.8 \pm 88.6	493.4 \pm 79.0 ¹⁾	648.6 \pm 83.7 ¹⁾	624.0 \pm 110.8 ¹⁾	537.3 \pm 102.8 ¹⁾	463.4 \pm 114.9 ¹⁾

注: 与脑外伤组比较, ¹⁾P<0.05

Note: Compared with brain trauma group, ¹⁾P<0.05

2.6 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清肿瘤坏死因子- α 浓度的影响

脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹组大鼠血清肿瘤坏死因子- α 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义(P>0.05); 脑外伤后 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清肿瘤坏死因子- α 浓度较脑外伤组显著减少(P<0.05), 脑外伤后 2 h 和 6 h, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠血清肿瘤坏死因子- α 浓度与脑外伤组比较差异没有统计学意义

(P>0.05)。结果见表 5。

2.7 氧化苦参碱对脑外伤大鼠神经细胞凋亡的影响

脑外伤后 2, 6, 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹组大鼠凋亡神经细胞数量与脑外伤组比较差异没有统计学意义(P>0.05); 脑外伤后 12 h, 1, 2, 3 和 5 d, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠凋亡神经细胞数量较脑外伤组显著减少(P<0.05), 脑外伤后 2 h 和 6 h, 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组大鼠凋亡神经细胞数量与脑外伤组比较差异没有统计学意义(P>0.05)。结果见表 6。

表 5 氧化苦参碱对脑外伤大鼠血清肿瘤坏死因子- α 浓度的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 5 Effects of oxymatrine on serum tumor necrosis factor - α concentrations in the rats with traumatic brain injury ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	肿瘤坏死因子- α /pg·mL ⁻¹						
	2 h	6 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d
假手术组	839.3 \pm 114.1	844.3 \pm 91.7	856.0 \pm 93.8	842.6 \pm 105.6	827.6 \pm 104.3	867.7 \pm 120.0	846.0 \pm 94.1
脑外伤组	1 223.1 \pm 133.5	1 583.6 \pm 135.9	2 035.8 \pm 180.7	2 503.1 \pm 294.3	2 423.0 \pm 272.6	1 947.4 \pm 246.6	1 510.1 \pm 152.7
氧化苦参碱 60 mg·kg ⁻¹ 组	1 146.4 \pm 138.6	1 513.5 \pm 174.8	1 885.6 \pm 186.2	2 329.5 \pm 222.3	2 316.2 \pm 246.4	1 823.9 \pm 188.0	1 463.4 \pm 149.7
氧化苦参碱 120 mg·kg ⁻¹ 组	1 049.6 \pm 123.5	1 406.7 \pm 177.9	1 528.5 \pm 192.0 ¹⁾	1 802.2 \pm 204.6 ¹⁾	1 808.9 \pm 217.1 ¹⁾	1 281.5 \pm 148.3 ¹⁾	1 214.8 \pm 132.9 ¹⁾

注: 与脑外伤组比较, ¹⁾P<0.05

Note: Compared with brain trauma group, ¹⁾P<0.05

表 6 氧化苦参碱对脑外伤大鼠神经细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 6 Effects of oxymatrine on neuronal cell apoptosis in the rats with traumatic brain injury ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	神经细胞凋亡/%						
	2 h	6 h	12 h	1 d	2 d	3 d	5 d
假手术组	9.1 \pm 1.4	9.1 \pm 1.4	9.2 \pm 1.4	9.3 \pm 1.5	9.3 \pm 1.7	9.2 \pm 1.5	9.2 \pm 1.5
脑外伤组	18.6 \pm 3.0	21.8 \pm 2.7	29.5 \pm 3.7	40.7 \pm 5.0	40.6 \pm 4.8	34.7 \pm 4.7	27.6 \pm 3.9
氧化苦参碱 60 mg·kg ⁻¹ 组	17.4 \pm 4.2	21.5 \pm 4.6	28.4 \pm 4.0	38.9 \pm 4.2	37.6 \pm 4.2	33.2 \pm 3.4	26.5 \pm 3.7
氧化苦参碱 120 mg·kg ⁻¹ 组	14.7 \pm 3.2	18.1 \pm 2.6	22.4 \pm 2.8 ¹⁾	29.4 \pm 3.3 ¹⁾	28.3 \pm 3.8 ¹⁾	25.1 \pm 3.2 ¹⁾	20.5 \pm 3.1 ¹⁾

注: 与脑外伤组比较, ¹⁾P<0.05

Note: Compared with brain trauma group, ¹⁾P<0.05

3 讨论

脑外伤的病理生理机制复杂, 自由基反应、炎症反应及细胞凋亡等均是脑外伤后继发性脑损伤的重要组成部分。脑外伤后, 自由基大量产生,

炎症反应加剧, 导致神经细胞凋亡, 从而进一步加重外伤性脑损伤, 影响预后^[1-3]。目前研究逐渐发现, 外周血超氧化物歧化酶、丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 与神经细胞凋亡有着

直接关系, 它们的水平变化可显著影响神经细胞凋亡的进程^[4-6]。

氧化苦参碱是从豆科植物苦参、苦豆子等中分离出来的生物碱, 属于四环的喹啉啶类, 其化学分子式是 $C_{15}H_{24}N_2O$, 为白色针形棱柱形晶体或白色结晶性粉末, 无臭、味苦, 具有抗肝炎病毒、抗心律失常、抗癫痫、抗肝、肾和心脏纤维化、抗肿瘤等作用^[11-16]。氧化苦参碱静脉用药目前在临床上已经用于抗肝炎病毒治疗, 在大鼠动物实验方面, 药物静脉注射比较困难, 因此目前较多实验采用腹腔注射研究药物对各种疾病的治疗作用及相关机制。60 和 120 $mg \cdot kg^{-1}$ 剂量的氧化苦参碱是大鼠动物实验的常用剂量, 既往多个脑缺血实验采用了这两个剂量腹腔注射来证实该药对脑缺血的保护作用^[7-9], 说明这两种剂量具有较好的实用性, 因此本研究采用了 60 和 120 $mg \cdot kg^{-1}$ 剂量的氧化苦参碱来研究该药对脑外伤大鼠神经细胞凋亡的影响及相关机制。

本研究通过检测脑外伤大鼠脑神经细胞凋亡及外周血超氧化物歧化酶活性及丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度, 发现大鼠脑外伤后, 血清超氧化物歧化酶活性显著下降, 血清丙二醛、白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 浓度显著增高, 脑组织凋亡神经细胞数量显著增加, 说明脑外伤后自由基大量产生, 炎症反应加剧, 神经细胞凋亡加重, 进一步研究发现大剂量(120 $mg \cdot kg^{-1}$)氧化苦参碱腹腔注射可明显降低脑外伤大鼠神经细胞凋亡及炎症和自由基反应。既往研究发现, 氧化苦参碱对局灶性脑缺血大鼠的脑损伤具有明显的保护作用, 可降低脑组织核因子- κB 水平^[7-8]。同时, 氧化苦参碱具有重要的抗氧化活性, 可通过抑制 12/15-脂氧合酶介导的丝裂原活化蛋白激酶信号通路, 降低急性肺损伤、缺血性心肌损伤及缺血再灌注肠损伤的脂质过氧化作用, 从而达到组织保护的作用^[17-19]。又有研究发现, 氧化苦参碱也可通过抑制 12/15-脂氧合酶介导的丝裂原活化蛋白激酶信号通路减少脑氧化损伤, 从而降低大鼠缺血性脑损伤^[9]。因此, 氧化苦参碱对脑外伤大鼠具有明显的神经保护作用, 推测氧化苦参碱可通过降低体内自由基及炎症反应从而达到减低神经细胞凋亡的作用。

本研究实验操作过程为减轻动物的疼痛及紧迫, 避免动物承受非必要的痛苦, 从而不影响实

验结果, 予 80 $mg \cdot kg^{-1}$ 戊巴比妥钠腹腔注射对大鼠进行深度麻醉^[10], 操作过程中未见大鼠有痛苦的表现, 因此保证了检验数据的稳定性。

综上所述, 氧化苦参碱可显著降低大鼠脑外伤后炎症反应及自由基反应, 从而抑制神经细胞凋亡, 具有显著的神经保护作用。

REFERENCES

- [1] RAMLACKHANSINGH A F, BROOKS D J, GREENWOOD R J, et al. Inflammation after trauma: Microglial activation and traumatic brain injury [J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(3): 374-383.
- [2] KUNZ A, DIRNAGL U, MERGENTHALER P. Acute pathophysiological processes after ischaemic and traumatic brain injury [J]. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2010, 24(4): 495-509.
- [3] SHOJO H, KANEKO Y, MABUCHI T, et al. Genetic and histologic evidence implicates role of inflammation in traumatic brain injury-induced apoptosis in the rat cerebral cortex following moderate fluid percussion injury [J]. *Neuroscience*, 2010, 171(4): 1273-1282.
- [4] DAS M, LEONARDO C C, RANGOONI S, et al. Lateral fluid percussion injury of the brain induces CCL20 inflammatory chemokine expression in rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8(2): 148.
- [5] NAYAK C, NAYAK D, BHAT S, et al. Relationship between neurological outcome and early oxidative changes in erythrocytes in head injury patients [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2007, 45(5): 629-633.
- [6] HAN N, DING S J, WU T, et al. Correlation of free radical level and apoptosis after intracerebral hemorrhage in rats [J]. *Neurosci Bull*, 2008, 24(6): 351-358.
- [7] FAN H, LI L, ZHANG X, et al. Oxymatrine downregulates TLR4, TLR2, MyD88, and NF-kappaB and protects rat brains against focal ischemia [J]. *Mediators Inflamm*, 2009, doi:10.1155/2009/704706.
- [8] LIU Y, ZHANG X J, YANG C H, et al. Oxymatrine protects rat brains against permanent focal ischemia and downregulates NF-kappaB expression [J]. *Brain Res*, 2009, 1268(2): 174-180.
- [9] CUI L, ZHANG X, YANG R, et al. Neuroprotection and underlying mechanisms of oxymatrine in cerebral ischemia of rats [J]. *Neurol Res*, 2011, 33(3): 319-324.
- [10] HU Y Y, HUANG M, DONG X Q, et al. Ginkgolide B reduces neuronal cell apoptosis in the hemorrhagic rat brain: possible involvement of Toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(3): 1462-1468.
- [11] HU S T, TANG Y, SHEN Y F, et al. Protective effect of oxymatrine on chronic rat heart failure [J]. *J Physiol Sci*, 2001, 61(5): 363-372.
- [12] SHEN X C, YANG Y P, XIAO T T, et al. Protective effect of oxymatrine on myocardial fibrosis induced by acute myocardial infarction in rats involved in TGF- β_1 -Smads signal pathway [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(3): 215-224.
- [13] WANG Y P, ZHAO W, XUE R, et al. Oxymatrine inhibits hepatitis B infection with an advantage of overcoming drug-resistance [J]. *Antiviral Res*, 2011, 89(3): 227-231.
- [14] RUNTAO G, GUO D, JIANGBO Y, et al. Oxymatrine, the main alkaloid component of Sophora roots, protects heart against arrhythmias in rats [J]. *Planta Med*, 2011, 77(3): 226-230.
- [15] CAO Y G, JING S, LI L, et al. Antiarrhythmic effects and ionic mechanisms of oxymatrine from *Sophora flavescens* [J].

- Phytother Res, 2010, 24(12): 1844-1849.
- [16] XU W S, ZHAO K K, MIAO X H, et al. Effect of oxymatrine on the replication cycle of hepatitis B virus *in vitro* [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(16): 2028-2037.
- [17] ZHAO J, YU S, TONG L, et al. Oxymatrine attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Surg Today, 2008, 38(10): 931-937.
- [18] HONG L S, LEI L, LEI S, et al. Cardioprotective effects and underlying mechanisms of oxymatrine against ischemic myocardial injuries of rats [J]. Phytother Res, 2008, 22(7): 985-989.
- [19] XU G L, YAO L, RAO S Y, et al. Attenuation of acute lung injury in mice by oxymatrine is associated with inhibition of phosphorylated p38 mitogen activated protein kinase [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 98(1/2): 177-183.

收稿日期: 2011-09-20