

- [6] Wang P, Zweier J L. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart. Evidence for peroxynitrite-mediated reperfusion injury [J]. J Biol Chem, 1996, 271(46): 29223-29230.
- [7] Spark J I, Chetter I C, Gallavin L, *et al.* Reduced total an-

tioxidant capacity predicts ischemia-reperfusion injury after femorodistal bypass [J]. Br J Surg, 1998, 85(2): 221-225.

- [8] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays [J]. J Immunol Methods, 1983, 65: 55-63.

银杏内酯 A 对胆碱能神经功能 损伤引起的 SD 大鼠学习记忆的促进作用

高向东^{1,2}, 陈 鹏², 刘俊彦¹, 谭仁祥^{1*}

(1. 南京大学生命科学学院, 江苏 南京 210093; 2. 中国药科大学生物制药学院, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 研究银杏内酯 A 对 Meynert 基底核 (NBM) 损伤引起的 SD 大鼠学习记忆的改善作用。方法 通过 *N*-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 单侧损伤 SD 大鼠 NBM 以破坏胆碱能神经功能, 采用 Y 型迷宫法检测动物空间辨别学习记忆能力, 利用放射化学法检测皮层胆碱乙酰转移酶 (ChAT) 活力, 观察银杏内酯 A 对胆碱能损伤记忆功能的恢复, 脑内 ChAT 的变化。结果 银杏内酯 A 对胆碱能损伤记忆功能具有恢复作用, 且能防止 ChAT 活力降低。结论 银杏内酯 A 能改善 NBM 损伤引起的大鼠学习记忆能力。

关键词: 银杏内酯 A; Meynert 基底核; 胆碱乙酰转移酶

中图分类号: R282.71; R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)04-0346-03

Improving effects of ginkgolide A on nucleus basalis of Meynert lesion-induced learning and memory deficits in SD rats

GAO Xiang-dong^{1,2}, CHEN Peng², LIU Jun-yan¹, TAN Ren-xiang¹

(1. College of Life Science, Nanjing University, Nanjing Jiangsu 210093, China;

2. College of Biopharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu 210009, China)

Key words ginkgolide A; nucleus basalis of Meynert; choline acetyltransferase

银杏内酯是银杏有效成分之一, 已从银杏的种皮及银杏叶中分离出 5 种银杏内酯 (A、B、C、M、J)。近年来, 国内外对银杏内酯的药理作用进行了大量的研究, 其药理作用广泛^[1], 对脑缺氧、局部缺血等有较好的改善效果, 银杏提取物用于治疗脑功能障碍和多种类型的痴呆, 使病人的反应加快, 记忆改善, 症状好转。这些研究多数是以银杏内酯和银杏提取物为研究对象。为了进一步研究该作用的活性成分, 本研究通过 *N*-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 单侧损伤 SD 大鼠 Meynert 基底核 (NBM) 以破坏胆碱能神经功能, 观察银杏内酯 A 对胆碱能损伤记忆功能的恢复, 脑内乙酰胆碱转移酶 (ChAT) 的变化, 探讨了银杏内酯对中枢神经系统保护作用的机制。

1 材料与方法

1.1 试药: 银杏内酯 A, 由刘俊彦博士分离获得,

经核磁共振等光谱法分析与文献^[2]数据一致, 其纯度为 93%。

1.2 动物: 雄性 SD 大鼠, 体重 250~300 g, 购于南京医科大学实验动物中心。

1.3 试剂: *N*-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA), Sigma 公司; 水合氯醛, 上海试剂一厂; 牙科磷酸锌水泥, 上海齿科材料厂; 青霉素钠, 哈尔滨制药总厂; 硫酸链霉素钠, 山东鲁抗; [³H] 乙酰辅酶 A, Am-pharmacia 公司; 乙酰辅酶 A, Sigma 公司; 毒扁豆碱, Fluka 公司; 氯化胆碱, 上海试剂三厂; 四苯硼钠, 上海试剂一厂; 2, 5-二苯基噁唑 (闪烁纯), 上海试剂一厂; 1, 4-双-(5-苯基噁唑基-2) 苯 (闪烁纯), 上海试剂一厂; 其余试剂皆为国产分析纯。

1.4 仪器: 江湾 I 型立体定向仪, 上海医用仪器厂; 307-6 台式牙钻车, 上海齿科器械厂; MG-3 迷宫刺激器, 张家港市教学实验器械厂; LS5000TD 液体闪

* 收稿日期: 2001-09-11

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK99096); 教育部高等学校骨干教师资助计划项目资助

作者简介: 高向东 (1963-), 女, 现任中国药科大学生物制药学院教授, 博士, 主要从事衰老的分子生物学和生物新药的研究

Tel: 025-3271298 E-mail: xiangdong-gao@hotmail.com

烁仪, Beckman 公司; YJ-875 型医用净化工作台, 苏州净化设备公司

1.5 方法

1.5.1 给药方案: 雄性 SD 大鼠 (250~300 g) 随机分为 4 组, 每组 8 只。分别为: 假损伤组 (2 mL 1% CMC-Na), 模型组 (2 mL 1% CMC-Na), 银杏内酯 A 高剂量组 (40 mg/kg), 银杏内酯 A 低剂量组 (10 mg/kg)。每日 ig 1 次, 直至断头处死。

1.5.2 手术: 连续给药 2 周后进行手术^[3]。大鼠 ip 10% 水合氯醛生理盐水溶液 (3 mL/kg), 10 min 后进入麻醉状态, 剪去颅顶切口区毛, 水平固定于立体定向仪上。颅顶正中纵向切开, 暴露颅骨, 选择前囟后 0.9 mm, 中缝右侧 2.6 mm, 垂直钻孔直至大脑皮层, 以微量进样器垂直进针, 深度为硬膜下 6.8 mm, 停针 2 min 后注入 100 nmol NMDA (pH 7.4 PBS, 1 μ L), 注入时间为 5 min, 停针 5 min 后出针。创口以 75% 乙醇消毒, 牙科水泥封孔, 缝合皮肤, 肌注双抗预防感染。损伤组和给药组注射 1 μ L 100 nmol/L NMDA (用 pH 7.4 PBS 配制), 假损伤组注射 1 μ L pH 7.4 PBS。术后数日动物出现吞咽不能, 需每日 ig 奶粉溶液。

1.5.3 空间辨别学习记忆实验: SD 大鼠手术后 15 d, 以 Y 迷宫法观察动物空间辨别学习记忆能力^[4]。将大鼠放入迷宫箱内适应环境 5 min, 然后驱赶至 I 臂 (起始区), 停留 2 min 后给予电击 (50~70 V), 大鼠遭电击后直接逃至 II 臂 (安全区) 为正确反应, 停留于 I 臂及逃入 III 臂 (电击区) 皆为错误反应。大鼠在安全区停留 1 min 后, 再以此区作为起始区给予电击, 连续循环电击训练 (安全区转换方向为 I $\rightarrow$ II $\rightarrow$ III $\rightarrow$ I)。以大鼠连续 10 次电击训练均为正确反应或 10 次中有 9 次正确反应作为达到训练标准。每日连续学习的电击次数不超过 20 次, 每日训练一回。记录每回训练中正确反应的次数及每日训练中各组达到标准的个体的比率。

1.5.4 大鼠皮层胆碱乙酰转移酶 (ChAT) 活力测定: 将大鼠断头处死, 立即取出全脑, 冰上分离前脑皮层按文献^[5]方法, 测定皮层内 ChAT 活力。

2 结果

2.1 对空间辨别学习记忆行为的影响: 实验结果 (表 1) 可见, NBM 损伤大鼠在每回 (除第 3 次) 训练中正确反应次数皆低于同回训练的假损伤大鼠, 其达标率也低于假损伤组。表明 NBM 损伤造成了躲避电击条件反射获得障碍。各给药组大鼠每回训练正确反应次数高于 NBM 损伤大鼠, 其达标率也

高于同回 NBM 损伤组, 表明躲避电击条件反射获得早于 NBM 损伤组 (见表 2)。

表 1 Y-迷宫训练中每回作出正确反应的平均次数 ($n=8$)

组别	剂量 (mg/kg)	每回作出正确反应的平均次数				
		1	2	3	4	5
假损伤	-	3.1 $\pm$ 1.3	6.4 $\pm$ 1.1	8.6 $\pm$ 3.0	14.3 $\pm$ 4.1	
NBM 损伤	-	1.8 $\pm$ 1.0 [#]	2.7 $\pm$ 0.8 [#]	6.7 $\pm$ 2.0	9.5 $\pm$ 3.3 [#]	14 $\pm$ 3.9
银杏内酯 A	40	1.6 $\pm$ 1.3	5.0 $\pm$ 2.0 [#]	7.6 $\pm$ 3.3	12.3 $\pm$ 4.6 [#]	14 $\pm$ 3.6
	10	1.4 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 1.1	8.1 $\pm$ 5.3 [#]	10.3 $\pm$ 3.6	15 $\pm$ 4.6

与假损伤组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$;

与 NBM 损伤组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表 2 每回达标大鼠比例 ($n=8$)

组别	剂量 (mg/kg)	达标大鼠比例 (%)					
		1	2	3	4	5	6
假损伤	-	0	0	14.3	71.4	100	
NBM 损伤	-	0	0	16.7	33.3	83.3	100
银杏内酯 A	40	0	0	33.3	50.0	100	
	10	0	0	40.0	40.0	80.0	100

2.2 对皮层 ChAT 活力的影响: 以皮层组织匀浆中每 mg 蛋白所产生的 [H^3] Ach 的 d.p.m. 值代表 ChAT 活力, 测定结果见表 3。结果表明: SD 大鼠注射 NMDA 损伤 NBM 后, 皮层 ChAT 活力显著降低, 而各给药组与损伤组相比, 活力明显增高。

表 3 对皮层 ChAT 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量 (mg/kg)	数目	10 ⁶ d.p.m./mg 蛋白
假损伤	-	6	2.68 $\pm$ 1.41
NBM 损伤	-	6	0.59 $\pm$ 0.16 [#]
银杏内酯 A	40	6	1.55 $\pm$ 0.37 [*]
	10	6	1.04 $\pm$ 0.17

与假损伤组比较: ^{##} $P < 0.01$

与 NBM 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3 讨论

药理学、生物化学和行为学研究表明中枢胆碱能神经系统在学习和记忆功能中起主要作用^[4]。抗胆碱药如东莨菪碱和阿托品能损害人和动物的学习记忆能力, 而拟胆碱药如毒扁豆碱能促进记忆发生并拮抗东莨菪碱的记忆损害作用^[6]。研究证明红藻氨酸鹅膏蕈氨酸, NMDA 和喹啉酸等脑内注射损伤 NBM 可制作胆碱能损伤的动物模型模拟 AD^[7]。在以上所述的一些兴奋性氨基酸中, NMDA 不会产生较大范围的损伤和惊厥作用, 且性质稳定, 因此在本课题中, 选用 NMDA 向大鼠 NBM 注射制作 AD 动物模型。

在实验过程中观察到, 手术后数日内大鼠表现出吞咽不能, 渴感缺乏和过度活跃, 与文献报道相符^[7]; 使用 Y 迷宫对各组大鼠进行空间辨别学习记忆实验, 发现模型组大鼠每回训练正确反应次数显

著低于相应假损伤组,且达到训练标准所需总电击训练次数显著多于假损伤组大鼠,即表现出躲避电击条件反射获得障碍,同时皮层中胆碱能标志 ChAT 活性显著降低。以上现象说明动物模型成立。银杏内酯 A 对 NMDA 损伤记忆功能具有恢复作用,且能防止 ChAT 活力降低,表明银杏内酯 A 能改善 NMDA 损伤引起的大鼠学习记忆能力。

参考文献:

- [1] 管孝鞠. 银杏内酯药理作用研究进展 [J]. 国外医学 药学分册, 1995, 22: 138-142.
- [2] 游松, 姚新生, 崔承彬, 等. 银杏内酯的分离与结构测定 [J]. 中国药物化学杂志, 1995, 5(4): 258-264.
- [3] Wenk G L, Cribbs B, Melall L. Nucleus basalis magnocellu-

laris: optimal coordinates for selective reduction of choline acetyltransferase in frontal neocortex by ibotenic acid injection [J]. Exp Brain res, 1984, 56: 335-340.

- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [5] Fonnum F. A rapid radiochemical method of the determination of choline acetyltransferase [J]. J Neurochem, 1975, 24: 407-409.
- [6] masao mi M. Characteristics of memory impairment following lesioning of the basal forebrain and medial septal nucleus in rats [J]. Brain Res, 1987, 419: 19-31.
- [7] Anthony C S. Infusion of NMDA into the nucleus basalis of Meynert, frontal cortex or lateral ventricle in rats: effect on memory and cholinergic brain neurochemistry [J]. Pharmacobiochem & Behavior, 1989, 33: 485-488.

异位杀胚汤为主保守治疗异位妊娠 37例

章勤*

(杭州市中医院 中医妇科, 浙江 杭州 310007)

我科于 2000年 3月-2001年 7月采用异位杀胚汤联合氨甲喋呤 (MTX) 息隐 (米非司酮) 保守治疗异位妊娠 37例, 取得满意疗效, 现将结果报道如下:

1 临床材料

1.1 研究对象: 均为本科住院病人, 年龄 20~ 39岁, 平均年龄 31岁; 停经 38~ 76 d, 平均 53 d; 血 HCG 167~ 5 000 U/L (本院参考值 < 10 U/L), 有 2例超过 3 000 U/L, 其中 1例血 HCG 为 3 769 U/L, 另 1例血 HCG > 5 000 U/L, 平均 680 U/L; B超均在宫外探及不均质块, 其中 11例包块中见到类孕囊回声, 29例有直肠窝积液。

1.2 诊断标准: a. 根据病史及妇科检查; b. 血 HCG 值 > 10 U/L; c. B超示宫内无妊娠囊, 宫外探及不均质块, 周边见环状血流, 甚至其中可见妊娠囊, 子宫直肠窝内积液有或无; d. 诊断性刮宫未见绒毛组织。

1.3 药物保守治疗适应症^[1,2]: 患者一般情况好, 生命体征平稳, 无内出血或贫血征象, B超示输卵管直径一般小于 40 mm, 子宫直肠窝积液少或无, 一般最大深度少于 35 mm, 血 HCG 值控制在 3 000

U/L 以内, 一般不超过 5 000 U/L。肝肾功能及血常规正常。

2 治疗方法

异位杀胚汤基本方: 紫草 20 g 当归 15 g 炒赤白芍各 10 g 制军 9 g 丹皮 6 g 丹参 15 g 失笑散 10 g 水蛭 6 g 血竭 5 g 红藤 30 g 生草 5 g 每日一剂, 病情稳定后可加皂角刺 10 g 穿山甲 10 g 三棱 10 g 莪术 10 g 配合单次 im MTX 50 mg, 口服息隐 (米非司酮) 100 mg, 每日 2次, 共 5 d。

3 疗效观察

3.1 监测指标: 治疗期间观察血压、脉搏及腹痛、阴道出血情况, 以及药物的副反应。每周 2次血 HCG 测定及 B超复查 1次。治疗失败中转手术指征: 出现剧烈腹痛及内出血征象, 或治疗过程中血 HCG 持续上升。

3.2 药物治疗成功指标: 近期成功指标包括血 HCG 水平下降至正常, B超检查包块缩小、消失或包块内无明显血流。远期成功指标包括治疗后输卵管是否通畅, 宫内受孕率及异位妊娠再发率等。本文仅统计近期成功率。

4 疗效结果

* 收稿日期: 2001-12-03

作者简介: 章勤 (1965-), 女, 浙江上虞人, 医学学士, 副主任医师, 1986年毕业于浙江中医学院中医专业, 一直在杭州市中医院妇科从事临床、教学、科研工作。本院中妇科为国家级重点专科、省级重点学科。本人系本科著名中医妇科专家、国家级名老中医何少山的学术继承人, 医院跨世纪人才。至今已发表学术论文近 20篇, 主持省级课题 1项, 目前以妇科内分泌疾病、不孕不育为主要研究方向。Tel 0571-85157591 转 2315 E-mail Zhang Qin T@ Hotmail.com