

15 Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the

principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-54.

257-258

BIBLID: ISSN 0253-9756 Acta Pharmacologica Sinica 中国药理学报 1994 May; 15 (3); 257-258

17

卡马西平对小鼠缺氧及脑缺血损害的影响

董丽萍, 王天佑, 朱杰 (北京市神经外科研究所, 北京100050, 中国)

R971.6

Effects of carbamazepine on hypoxic and ischemic brain damage in mice

DONG Li-Ping, WANG Tian-You, ZHU Jie¹ (Beijing Neurosurgical Institute, Beijing 100050, China)

ABSTRACT When carbamazepine (Car) was injected ip 13.0-50.0 mg·kg⁻¹ 30 min before inhaling 96% N₂+4% O₂, the survival time of mice was prolonged (from 54±8 s in control group to 119±35 s). The survival time of mice subjected to bilateral carotid artery ligation was markedly prolonged by Car (25.0-50.0 mg·kg⁻¹), medians were 4, 6, and 15 min, respectively. Car (25.5-70.0 mg·kg⁻¹) alleviated the reduction of ATP (from 1.0±0.3 μmol·g⁻¹ in control group to 1.9±0.5 μmol·g⁻¹) and phosphocreatine (PC) contents (from 0.8±0.2 μmol·g⁻¹ in control group to 1.2±0.3 μmol·g⁻¹) and the accumulation of lactic acid (LA) (from 9.6±1.3 μmol·g⁻¹ in control group to 6.7±0.7 μmol·g⁻¹) in mouse brain 30 s after decapitation. These results indicated that Car was effective against hypoxia and brain ischemia in mice.

KEY WORDS carbamazepine; anoxia; cerebral ischemia; adenosine triphosphate; phosphocreatine; lactates

Received 1992-08-03 Accepted 1993-06-08
¹ Undergraduate of Beijing Normal University.

摘要 实验前30 min ip 卡马西平(Car, 13.0-50.0 mg·kg⁻¹), 能明显延长吸入 96% N₂+4% O₂小鼠的存活时间; Car 25.0 和 50.0 mg·kg⁻¹能明显延长双侧颈动脉结扎引起脑缺血小鼠的存活时间. 25.0-70.0 mg·kg⁻¹能减轻小鼠断头缺血30 s后脑 ATP, 磷酸肌酸(PC)的减少和乳酸(LA)的增高. 结果表明, Car 可对抗小鼠缺氧和缺血性脑损害.

关键词 卡马西平; 缺氧症; 脑缺血; 腺苷三磷酸; 磷酸肌酸; 乳酸盐类

抗惊厥药苯妥英钠、美西律对缺氧缺血性脑损害有保护作用, 能延长缺氧小鼠的存活时间和改善缺血小鼠脑能量代谢^(1,2). 苯妥英钠还能减少大鼠缺血脑游离脂肪酸含量⁽³⁾和减轻兔缺氧缺血引起的脑损害⁽⁴⁾. 苯妥英钠、美西律均能阻滞兴奋性细胞钠、钙内流, 稳定细胞膜. 卡马西平(carbamazepine, Car)是另一种常用抗惊厥药, 其作用机制与上述两药相似. 但未见 Car 对脑缺血、缺氧作用的报道. 本文观察 Car 对缺氧、缺血小鼠生存时间和缺血时脑能量代谢的影响.

MATERIALS AND METHODS

Car上海第二制药厂赠送, 批号: S890037. 用 10%吐温-80研磨溶解. 小鼠♂, 昆明种属, 体重20±1 g. 实验前0.5 h ip Car 20 ml·kg⁻¹. 缺氧、缺血对照组同上法给等量 10%吐温-80.

缺氧实验 将小鼠置通入96% N₂+4% O₂的1.5 L 缺氧罐中, 流量5 L·min⁻¹. 每罐中放入对照和不同剂量组小鼠3只, 用秒表记录小鼠的存活时间⁽⁵⁾.

脑缺血实验

1 双侧颈动脉结扎法 小鼠用乙醚吸入麻醉, 分离双侧颈动脉, 游离迷走神经, 用5-0手术缝线结扎颈动脉, 缝合皮肤, 用秒表记录小鼠存活时间.

2 断头法 自小鼠耳后部断头, 在室温(23±1 C)停30 s 后投入液氮.

不缺血组 分正常对照组和给药组. 小鼠不断头即整体投入液氮.

ATP, 磷酸肌酸(PC)和乳酸(LA)的提取和测定

1 ATP, PC 和 LA 的提取 取单侧大脑半球, 用过氯酸提取⁽⁶⁾.

2 ATP 和 PC 含量的测定 用生物发光法测定 ATP 和 PC 的含量⁽²⁾.

3 LA 含量的测定 用 uv 分光光度法测 LA 的含量⁽¹⁾.

急性 LD₅₀测定 观察单次 ip 后24 h 小鼠的死亡数, 用 weighted probit analysis 法测定.

统计学处理 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示. 能量代谢实验和缺氧、缺血存活时间实验均作 *t* 检验.

RESULTS

Car 对小鼠缺氧及颈动脉结扎缺血后存活时间的影响 对照组小鼠缺氧时的存活时间为54±8 s. ip Car 13.0, 18.2, 25.5, 35.7, 50.0 mg·kg⁻¹的各组小鼠缺氧时的存活时间明显延长(*P*<0.01). 在此剂量范围内, 存活时间与 Car lg 剂量值呈直线关系(Tab 1). 对照组小鼠缺血时的存活时间为3±2 min. ip Car 25.0和50.0 mg·kg⁻¹的小鼠缺血时的存活时间明显延长(*P*<0.01, Tab 1).

Car 对小鼠缺血后 ATP, PC 和 LA 含量的影响 缺血对照组小鼠在脑缺血30 s 后脑组织 ATP, PC 含量下降, LA 含量升高. 与正常对照组比, 均有显著差异(*P*<0.01, *P*<0.05, *P*<0.01). ip Car 25.5, 35.7, 50.0, 70.0 mg·kg⁻¹的各组小鼠与缺血对照组比 ATP 含量明显升高, LA 含量明显降低, 在此

Tab 1. Effects of ip carbamazepine 30 min before anoxia and ischemia on survival time of mice. $\bar{x} \pm s$. **P*>0.05, **P*<0.01 vs control.

Carbamazepine/ mg·kg ⁻¹	n	Survival time
Inhaling 96 % N₂ + 4 % O₂		
	35	54±8 s
13.0	10	62±4 s ^c
18.2	12	69±9 s ^c
25.5	18	73±14 s ^c
35.7	12	87±19 s ^c
50.0	11	119±35 s ^c
Bilateral carotid artery ligation		
	17	3±2 min
12.5	15	4±3 min ^a
25.0	13	6±4 min ^a
50.0	10	15±6 min ^a

剂量范围内 ATP 和 LA 与 Car 剂量的 lg 值呈直线关系. ip Car 35.7, 50.0, 70.0 mg·kg⁻¹ 各组小鼠缺血后 PC 含量与缺血对照组比显著升高, 在25.5—50.0 mg·kg⁻¹时 PC 与 Car 剂量的 lg 值呈直线关系(Tab 2).

Car 对不缺血小鼠脑 ATP, PC 和 LA 含量的影响 当给小鼠 ip Car 70.0 mg·kg⁻¹和 98.0 mg·kg⁻¹时, 动物表现较明显的嗜睡. 我们观察了这两个剂量对不缺血小鼠脑 ATP, PC 和 LA 含量的影响, 结果表明, 70.0 mg·kg⁻¹的 Car 对 ATP, PC 和 LA 含量的影响与正常对照组比无明显差异. 不缺血小鼠 Car ip 98.0 mg·kg⁻¹, 脑 ATP 明显增加, 由对照组的1.8±0.4增至2.3±0.5 μmol·g⁻¹, 而 PC 和 LA 与正常对照组比无明显差异.

Car 的急性 LD₅₀ Car 对小鼠 ip 的 LD₅₀ 为 244 mg·kg⁻¹, 95% 可信限是 222—269 mg·kg⁻¹.

DISCUSSION

本研究结果表明, Car 能延长缺氧、缺血小鼠的存活时间, 降低缺血小鼠脑组织耗能.

Tab 2. Effects of carbamazepine (ip 30 min before ischemia) on mouse brain ATP, PC, and LA contents ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ vs normal control. ^d $P > 0.05$, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ vs ischemia control.

Carbamazepine/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Ischemia 30 s	Adenosine triphosphate		Phosphocreatine		Lactic acid	
		n	$\bar{x}\pm s$	n	$\bar{x}\pm s$	n	$\bar{x}\pm s$
	—	9	1.8 ± 0.4	8	1.1 ± 0.3	9	5.3 ± 1.6
	+	10	1.0 ± 0.3^c	9	0.8 ± 0.2^b	9	9.6 ± 1.3^c
25.5	+	7	1.6 ± 0.2^f	7	0.8 ± 0.2^e	8	8.0 ± 2.3^c
35.7	+	8	1.7 ± 0.2^f	9	1.1 ± 0.3^e	7	7.7 ± 1.2^f
50.0	+	7	1.8 ± 0.2^f	7	1.3 ± 0.3^e	7	7.2 ± 1.8^f
70.0	+	8	1.9 ± 0.5^f	7	1.2 ± 0.3^e	8	6.7 ± 0.7^f

提示其对动物缺氧、缺血有一定的保护作用。本实验中 Car 有效剂量(13.0—50.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)与文献报道^[7]的抗惊厥作用有效剂量(12.5—50.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)相符。

缺血缺氧时神经细胞 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流增加, 细胞膜兴奋性增高; 神经元去极化初期放电增多, 甚至有癫痫样发作。这种高兴奋状态虽然短暂, 却加重能量耗竭, 加速神经元死亡^[8]。Car 对神经细胞电压依赖性 Na^+ 通道^[9] 和 Ca^{2+} 通道^[10] 有阻滞作用, 这可能是 Car 抗缺血、缺氧的主要机制。作者曾发现抗心律失常药美西律巴有脑保护作用, 可能是通过相似的作用机制^[2]。Car 对局部脑缺血的保护及治疗作用尚有待证实。

REFERENCES

- Dong LP, Wang TY, Xu LX, Zhang L. The protective effect of mexiletine and phenytoin against hypoxia and cerebral ischemia in mice. *Chin J Neurosurg* 1990; 4 Suppl: 26—8.
- Dong LP, Wang TY, Zhang L. Effect of mexiletine on energy metabolism of ischemic brain in mice. *Acta Pharmacol Sin* 1992; 13: 354—6.
- Shiu GK, Nemoto EM, Nemmer J. Dose of thiopental, pentobarbital, and phenytoin for maximal therapeutic effects in cerebral ischemic anoxia. *Crit Care Med* 1983; 11: 452—9.
- Aldrete JA, Romo-Salas F, Jankovsky L, Franatovic Y. Effect of pretreatment with thiopental and phenytoin on postischemic brain damage in rabbits. *Crit Care Med* 1979; 7: 466—70.
- Yamamoto M, Shimizu M, Kawabata S. Cerebral vasodilators potentiate the anti-anoxic activity of indeloxazine hydrochloride, a new cerebral activator. *Neuropharmacology* 1989; 28: 313—7.
- Feng YP, Sun YD, Chen BT, Ye G, Zeng GY. Brain energy metabolism of cerebral ischemic mice and the effects of some drugs. *Acta Pharm Sin* 1989; 24: 89—94.
- Albright PS, Bruni J. Effects of carbamazepine and its epoxide metabolite on amygdala-kindled seizures in rats. *Neurology (Cleveland)* 1984; 34: 1383—6.
- Fujiwara N, Higashi H, Shimoji K, Yoshimura M. Effects of hypoxia on rat hippocampal neurones *in vitro*. *J Physiol (Lond)* 1987; 384: 131—51.
- Courtney KR, Etter EF. Modulated anticonvulsant block of sodium channels in nerve and muscle. *Eur J Pharmacol* 1983; 88: 1—9.
- Crowder JM, Bradford HF. Common anticonvulsants inhibit Ca^{2+} uptake and amino acid neurotransmitter release *in vitro*. *Epilepsia* 1987; 28: 378—82.