

孟鲁司特对大鼠一氧化碳中毒迟发性脑病的防治作用

徐家男 粟蕾 燕宪亮 许铁

【摘要】目的 研究半胱氨酰白三烯受体-1 (cysteinyl leukotriene receptor-1, CysLT1R) 拮抗剂孟鲁司特 (montelukast) 对一氧化碳 (carbon monoxide, CO) 中毒大鼠迟发性脑病 (delayed neuropsychological sequelae, DNS) 的防治作用, 探讨其发挥可能的机制。**方法** 将 90 只大鼠适应性饲养一周, 行 Morris 水迷宫淘汰不合格大鼠, 随机 (随机数字法) 抽取 10 只作为对照组 (Con 组), 剩余大鼠采用改良腹腔注射 CO 气体法建立急性 CO 中毒模型, 将染毒后存活大鼠随机 (随机数字法) 分为 CO 中毒组 (Mod 组)、孟鲁司特低剂量组 (ML 组)、孟鲁司特中剂量组 (MM 组)、孟鲁司特高剂量组 (MH 组), 每组 10 只。各组采用灌胃法给药, 染毒后 30 min、4 h、12 h 各给药 1 次, 后每隔 12 h 给药 1 次, 连续给药 7 d。同期对照组给予等容积的生理盐水。染毒后第 21 天行 Morris 水迷宫测定平均逃避潜伏期, 筛选 DNS 大鼠, 采用 HE 染色观察皮层及海马 CA1 区病理学变化, TUNEL 法观察皮层及海马 CA1 区神经细胞凋亡。**结果** CO 染毒各组大鼠出现认知功能下降, 逃避潜伏期 (s) 在 Mod 组 (43.3 ± 15.5)、ML 组 (31.5 ± 13.2) 和 MH 组 (30.1 ± 12.2) 较 Con 组 (12.1 ± 3.0) 明显延长 ($P < 0.05$), 但 MM 组 (15.0 ± 6.6) 与 Con 组相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 Mod 组相比, 孟鲁司特各组较 Mod 组逃避潜伏期缩短, 但仅 MM 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Con 组大鼠未发生 DNS, 染毒各组大鼠均有发生 DNS, 其中 Mod 组、ML 组、MM 组、MH 组分别有 8 只、5 只、1 只、4 只大鼠发生 DNS, 其中 Mod、ML、MH 组与 Con 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$); MM 组大鼠 DNS 发生率低于 Mod 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Mod 组脑组织病理损害严重、神经细胞凋亡增多, 而孟鲁司特各组脑组织病理损伤减轻、神经细胞凋亡减少, 均以 MM 组病理损伤及细胞凋亡减轻最明显。**结论** 孟鲁司特可改善大鼠认知功能, 降低 DNS 发病率, 减少神经细胞凋亡, 减轻神经细胞病理损伤, 对 CO 中毒 DNS 大鼠有一定保护作用。

【关键词】 孟鲁司特; 半胱氨酰白三烯受体-1; 大鼠; 一氧化碳中毒; 迟发性脑病; Morris 水迷宫; 逃避潜伏期; 神经细胞凋亡

The prophylactic and therapeutic effects of montelukast on delayed neuropsychologic sequelae after acute carbon monoxide poisoning in rat model Xu Jianan, Su Lei, Yan Xianliang, Xu Tie

Emergency and Rescue Medicine Department of Xuzhou Medical University, Emergency Center of the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China (Xu JN, Su L, Yan XL, Xu T); Emergency Medicine Department of Ninghai First Hospital, Ninghai 315600, China (Xu JN); Emergency Medicine Department of Changde First People's Hospital, Changde 415003, China (Su L) Corresponding author: Yan Xianliang, Email: docyx1@163.com

【Abstract】Objective To investigate the prophylactic and therapeutic effects of montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 (CysLT1R) antagonist, on the delayed neuropsychological sequelae (DNS) in rat model of carbon monoxide (CO) poisoning and to explore the possible underlying mechanism.

Methods A total of 90 rats were acclimated for one week prior to screening rat by Morris water maze test. Ten rats were randomly assigned to control group (Con group), and the remaining 80 rats were subjected to modified method of intraperitoneal injection of CO gas to establish animal model of acute CO poisoning. Thereafter, the survival rats randomized into CO poisoning group (Mod group), low-dose montelukast group

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2017.08.012

基金项目: 江苏省第十三批“六大人才高峰”高层次人才 (WSN-137)

作者单位: 221002 江苏省徐州, 徐州医科大学急救与救援医学系 (徐家男、粟蕾、燕宪亮、许铁); 221002 江苏省徐州, 徐州医科大学附属医院急救中心 (燕宪亮、许铁); 315600 浙江省宁海, 宁海县第一医院急诊科 (徐家男); 415003 湖南省常德, 常德市第一人民医院急诊科 (粟蕾)

通信作者: 燕宪亮, Email: docyx1@163.com

(ML group), medium-dose montelukast group (MM group), high-dose montelukast group (MH group) ($n = 10$ each). Montelukast was accordingly administered via intragastric tube at different intervals (30 min, 4 h and 12 h) after CO poisoning, and then montelukast was administered every 12 hours for 7 consecutive days. The rats of control group and Mod group received equal volume of normal saline instead at given intervals. Twenty-one days after CO exposure, the average escape latency was measured by Morris water maze test to screen DNS rats followed by H-E staining to observe the pathological changes of cortex and hippocampal CA1 region and TUNEL was used to assess the apoptosis of neurons in cortex and hippocampal CA1 region after rats sacrificed. **Results** All CO-exposed rats exhibited cognition function lowered, and the escape latency (seconds) in Mod group (43.3 ± 15.5), ML group (31.5 ± 13.2) and MH groups (30.1 ± 12.2) was significantly prolonged compared with Con group (12.1 ± 3.0) ($P < 0.05$), whereas the difference between MM group (15.0 ± 6.6) and Con group was statistically insignificant ($P > 0.05$). Compared with Mod group, the escape latency in montelukast treatment groups was shortened, whereas the significant difference in escape latency only found between Mod group and MM group ($P < 0.05$). Except for Con group, DNS was evident in CO-exposed groups, and the numbers of DNS rats in Mod, ML, MM and MH groups were 8, 5, 1, 4, respectively, which made statistically significant differences to Con group ($P < 0.05$) except MM group. The DNS incidence in MM group was lower than that in Mod group ($P < 0.05$). Mod group exhibited severe histopathological injury to the brain, with evident apoptosis of neural cells, whereas in the groups with montelukast treatment, histopathological damage to the brain was mitigated and the number of apoptotic neuronal cells was diminished noticeably in MM group. **Conclusion** Montelukast can ameliorate the cognitive function of rats, decrease the incidence of DNS and reduce the apoptosis of neural cells as well as attenuate neuronal cell injury, thus exerting neuroprotection against DNS in rats with CO poisoning.

【Key words】 Montelukast; Cysteinyl leukotriene receptor-1; Rat; Carbon monoxide poisoning; Delayed neuropsychological sequelae; Morris water maze; Escape latency; Neuronal apoptosis

急性一氧化碳中毒 (acute carbon monoxide, CO) 是全球致死率极高的“隐形杀手”之一^[1], CO 中毒导致的脑损伤一般认为是脑缺氧引起, CO 进入血液后, CO 分子强力结合血红蛋白、细胞色素氧化酶、血红素蛋白,可直接导致组织缺氧,氧化应激以及神经元凋亡^[2], 约有 10% ~ 30% 患者在经历一定的“假愈期”后可出现 CO 中毒迟发性脑病 (delayed neuropsychological sequelae, DNS)^[3]。DNS 的发病率较高, 国内为 10% ~ 30%, 国外为 3% ~ 40%^[4]。

CysLT1R 弱表达于脑组织, 但在脑外伤、脑肿瘤、脑缺氧等病理过程后其表达可增加, 期结果已证实急性 CO 中毒后 CysLT1R 的表达增高, 证实了 CysLT1R 参与了 DNS 的发病过程, 孟鲁司特为 CysLT1R 的特效拮抗剂, 对大鼠缺血缺氧后损伤有保护作用, 并且能减少神经细胞凋亡, 减轻炎症损伤^[5-7], 本研究通过应用孟鲁司特对 CO 中毒大鼠的行为学、病理组织学、神经细胞凋亡等方面的影响, 来研究其对 CO 中毒 DNS 的作用、发挥作用的机制, 为临床治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康清洁级雄性 SD 大鼠 90 只, 鼠龄 6 ~ 8 周,

体质量 (200 ± 20) g, 由徐州医学院实验动物中心提供。

1.2 实验试剂

99.9% CO 气体 (济宁协力气体厂), 孟鲁司特 (杭州默沙东制药有限公司), TUNEL 试剂盒 (德国 ROCHE 公司), 多聚甲醛 (北京化工厂)。

1.3 仪器设备

Morris 水迷宫及分析软件 (Stoeling 公司), 显微镜 (德国 Leica 公司), 石蜡切片机 (德国 Leica 公司)。

1.4 方法

1.4.1 急性 CO 中毒大鼠模型制备 参照文献 [8] 大鼠经 Morris 水迷宫训练 7 d, 每日依次从 4 个不同象限面向池壁放入水中, 记录大鼠巡游轨迹及逃避潜伏期。7 d 后, 巡游轨迹为直线式或趋向式, 逃避潜伏期小于 1 min 为合格大鼠, 大于 1 min 者淘汰。参考文献 [9] 制备急性 CO 中毒大鼠模型。将 CO 气体按照 120 mL/kg 快速注入大鼠腹腔, 后每间隔 4 h 以首剂的 2/3 腹腔注射 1 次, 共追加注射 3 次。对照组大鼠注射等量空气。

1.4.2 实验分组 CO 末次染毒结束后 2 h 迅速将存活大鼠随机 (随机数字法) 分为: CO 中毒组 (Mod 组), 孟鲁司特低剂量组 (ML 组) (0.25 mg/kg)、孟鲁司特中剂量组 (MM 组) (0.5 mg/

kg)、孟鲁司特高剂量组 (MH 组) (1.0 mg/kg), 每组 10 只。孟鲁司特溶于 0.9% 生理盐水经灌胃给药 (3 mL/kg), Con 组和 Mod 组予等量 0.9% 生理盐水, 分别于染毒后 30 min、4 h、12 h 各给药一次, 后每 12 h 给药一次, 连续给药 7d。

1.4.3 碳氧血红蛋白 (carboxy-hemoglobin, COHb) 浓度测定 采用改良的双波长 COHb 定量法测定, 取大鼠尾静脉血 0.1 mL 加 0.4 mol/L 氢氧化铵 20 mL 混匀, 10 min 内于 535 nm 及 578 nm 波长下测定吸光度, $COHb (\%) = (2144 \times A_{535} / A_{578} - 2168) \times 100\%$ 。分别于染毒后第 0.5 h、4.5 h、8.5 h 以及 12.5 h 进行 COHb 测定, 连续监测 12 h 内各组 COHb 浓度变化。

1.5 DNS 大鼠的判定

CO 染毒后第 21d 行水迷宫试验, 通过逃避潜伏期及穿台次数筛选 DNS 大鼠, 若大鼠穿台次数低于 3 次, 逃避潜伏期较染毒前明显延长, 提示存在智力障碍, 判定大鼠发生 DNS^[9]。

1.6 标本采集及处理

染毒后第 21 d, 以 10% 水合氯醛按 4mL/kg 腹腔注射麻醉, 经左心室升主动脉插管灌注, 先快速灌注生理盐水, 后用 4% 多聚甲醛灌注, 肝脏变硬, 四肢僵硬灌注结束, 后断头取脑以 4% 多聚甲醛固定 48h 后行石蜡包埋, 组织切片, 行 HE 染色及 TUNEL 染色。

1.7 观察指标

HE 染色观察皮质、海马 CA1 区神经细胞病理变化, TUNEL 法检测海马 CA1 区及大脑皮层细胞

凋亡情况。TUNEL 染色的阳性细胞 (凋亡细胞) 表现为细胞核呈棕黄色或棕褐色。

1.8 统计学方法

用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组均数比较采用单因素方差分析, 方差齐采用 LSD-*t* 法, 方差不齐采用 Dunnett's T3 法, DNS 发生率比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模后大鼠行为表现

染毒后约 5~10 min 大鼠出现呼吸急促, 呼吸幅度增大, 烦躁、多动、乱窜, 肢端及尾部皮肤呈樱桃红色。染毒 15 min 左右逐渐出现四肢抽搐, 部分大鼠发生角弓反张, 另有部分大鼠出现四肢肌力下降, 运动不能, 瞳孔对光发射消失, 甚至昏迷、死亡。对死亡大鼠解剖发现其脑组织充血水肿, 心、肝脏及肠等胸腹腔脏器充血明显, 特别是肝脏充血甚为明显, 符合急性 CO 中毒表现。本实验水迷宫淘汰 8 只大鼠, 剩余 72 只染毒, 其中有 32 只大鼠死亡, 病死率达 44%。

2.2 大鼠静脉 COHb 浓度检测结果

染毒前各组大鼠血碳氧血红蛋白浓度始终低于 5%, 染毒后 0.5h 后血碳氧血红蛋白浓度明显升高, 达 60% 以上, 连续监测 12h, 碳氧血红蛋白浓度始终 $> 50\%$, 符合中重度中毒标准, 有利于迟发性脑病模型建立的成功, 见表 1。

表 1 各组大鼠尾血 COHb 浓度监测 ($\bar{x} \pm s, \%$, $n = 10$)

Table1 COHb concentration among different groups ($\bar{x} \pm s, \%$, $n = 10$)

组别	染毒前	0.5 h	4.5 h	8.5 h	12.5 h
Con 组	1.2 \pm 0.4	1.2 \pm 0.3	1.2 \pm 0.4	1.2 \pm 0.4	1.2 \pm 0.3
Mod 组	1.2 \pm 0.5	60.8 \pm 5.4	57.6 \pm 3.5	55.3 \pm 3.1	53.7 \pm 3.7
ML 组	1.2 \pm 0.4	60.4 \pm 3.3	57.4 \pm 4.1	55.8 \pm 3.0	54.5 \pm 2.7
MM 组	1.2 \pm 0.6	60.1 \pm 2.6	58.8 \pm 4.2	55.9 \pm 2.7	54.2 \pm 3.3
MH 组	1.2 \pm 0.4	61.0 \pm 2.4	57.5 \pm 3.8	56.3 \pm 3.8	54.7 \pm 3.8

2.3 Morris 水迷宫检测结果

染毒前各组的逃避潜伏期差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 染毒后, 与 Con 组相比, Mod 组、ML 组、MH 组大鼠逃避潜伏期显著延长 ($P < 0.05$), MM 组大鼠 Morris 水迷宫逃避潜伏期有所延长, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 Mod

组相比, 孟鲁司特干预组大鼠逃避潜伏期均缩短, 但仅 MM 组的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 DNS 发生率

Con 组大鼠未发生 DNS, CO 染毒各组均有大鼠发生 DNS, CO 染毒各组较 Con 组 DNS 发生率

升高 ($P < 0.05$); MM 组大鼠 DNS 发生率低于 Mod 组 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 不同组大鼠水迷宫成绩比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 The comparison of escaping time among different groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

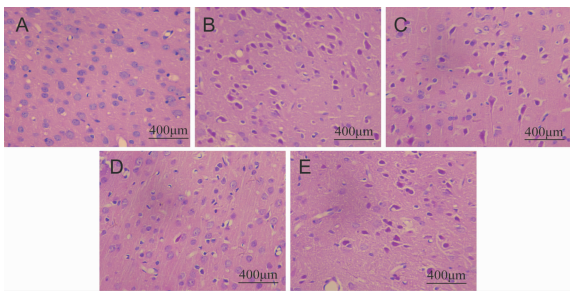
组别	逃避潜伏期 (s)		DNS 例数 (%)
	染毒前	染毒 21 d 后	
Con 组	11.4 ± 4.0	12.1 ± 3.0	0 (0)
Mod 组	11.9 ± 2.3	43.3 ± 15.5 ^{ab}	8 (80) ^b
ML 组	11.5 ± 2.8	31.5 ± 13.2 ^{ab}	5 (50) ^b
MM 组	11.8 ± 3.0	15.0 ± 6.6 ^c	1 (10) ^c
MH 组	11.0 ± 3.8	30.1 ± 12.2 ^{ab}	4 (40) ^b

注: 与染毒前成绩比较^a $P < 0.05$; 染毒后与 Con 组比较;^b $P < 0.05$; 与 Mod 组比较^c $P < 0.05$

2.5 HE 染色结果

2.5.1 皮层病理学变化 Con 组神经细胞形态基本正常, 核仁明显, 胞核呈淡蓝色, Mod 组可见神经细胞形态改变, 呈三角形或圆形, 空泡变性, 细胞核碎裂, 甚至消失, 孟鲁司特各干预组大鼠神经细胞变性坏死较 Mod 组减轻, 以 MM 组减轻最明显图 1。

2.5.2 海马 CA1 区病理学变化 Con 组海马 CA1 区可见锥体细胞排列紧密, 约 3~4 层, 细胞形态基本正常。Mod 组可见锥体细胞排列紊乱, 可见较多坏死神经元, 呈三角形。孟鲁司特干预组锥体细胞排列较 Mod 组紧密, 变性坏死神经元减少, 以 MM 组减少最明显图 2。



A: Con 组; B: Mod 组; C: ML 组; D: MM 组; E: MH 组

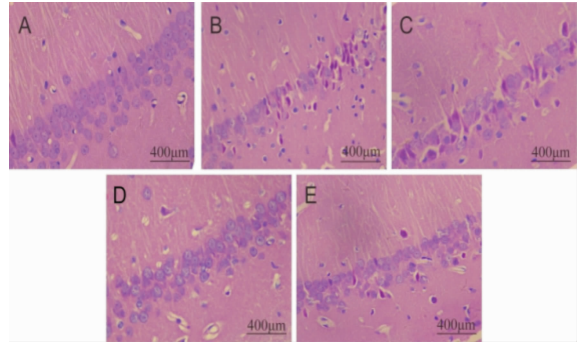
图 1 皮层 HE 染色形态学特征 ($\times 400$)

Fig 1 The pathologic change in cerebral cortex by HE ($\times 400$)

2.6 TUNEL 结果

2.6.1 皮层 TUNEL 阳性细胞的表达 与 Con 组相比, Mod 组、ML 组、MM 组和 MH 组大鼠皮层 TUNEL 阳性细胞明显增多, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 Mod 组相比, 孟鲁司特干预组大鼠皮质 TUNEL 阳性细胞减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 ML、MH 组相比, MM 组 TUNEL 阳

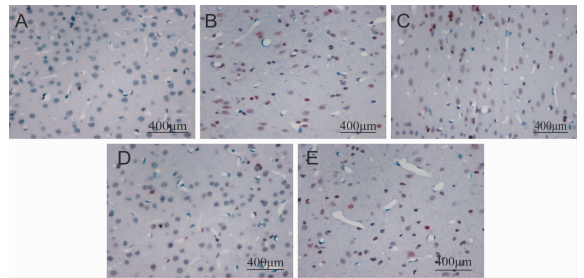
性细胞数减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3, 表 3。



A: Con 组; B: Mod 组; C: ML 组; D: MM 组; E: MH 组

图 2 海马 CA1 区 HE 染色形态学特征 ($\times 400$)

Fig 2 The pathologic change in hippocampus CA1 by HE ($\times 400$)



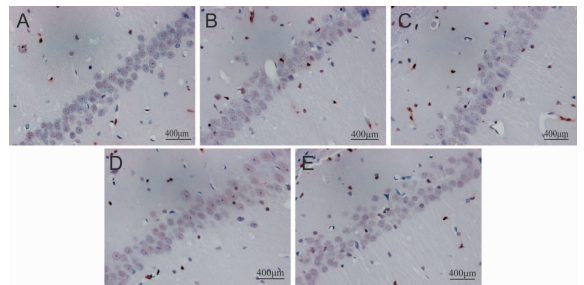
A: Con 组; B: Mod 组; C: ML 组; D: MM 组; E: MH 组

图 3 大鼠皮层 TUNEL 染色 ($\times 400$)

Fig 3 Apoptosis of cerebral cortex by TUNEL ($\times 400$)

2.6.2 各组大鼠海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞表达

与 Con 组相比, Mod 组、ML 组、MM 组和 MH 组大鼠海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞明显增多, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 Mod 组相比, 孟鲁司特干预组大鼠皮质 TUNEL 阳性细胞减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与 ML、MH 组相比, MM 组 TUNEL 阳性细胞数减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4, 表 3。



A: Con 组; B: Mod 组; C: ML 组; D: MM 组; E: MH 组

图 4 海马 CA1 区 TUNEL 染色 ($\times 400$)

Fig 4 Apoptosis of hippocampus CA1 by TUNEL ($\times 400$)

表 3 不同组皮质与海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Comparison of TUNEL positive cells in cortex and hippocampus of CA1 in different groups ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	皮质	海马 CA1 区
Con 组	6.2 ± 2.4	3.6 ± 2.0
Mod 组	42.8 ± 6.6 ^a	27.2 ± 4.3 ^a
ML 组	32.8 ± 6.8 ^{ab}	20.8 ± 3.9 ^{ab}
MM 组	25.6 ± 5.2 ^{abc}	15.7 ± 3.5 ^{abc}
MH 组	31.9 ± 7.5 ^{ab}	19.4 ± 4.5 ^{ab}

注: 与 Con 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 Mod 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 ML 组比较, ^c $P < 0.05$

3 讨论

DNS 主要是指急性 CO 中毒症状减轻后, 经历 2 ~ 60 d 的“假愈期”后出现的以痴呆、锥体系和锥体外系症状以及精神症状为主的一系列神经精神异常, 主要表现为记忆丧失, 大小便失禁, 共济失调, 定向障碍, 震颤麻痹, 幻觉, 以及其他运动障碍^[10-11]。成功建立 CO 中毒模型是本实验的关键。本实验通过腹腔注射法制备 CO 中毒模型, 连续间隔腹腔注射 CO, 较传统的吸入法具有操作简便, 可行性好, 安全性高等特点, 连续监测 12 h COHb 浓度, 结果可见 12 h 内 COHb 始终维持在 50% 以上, 达重度中毒标准, 符合临床过程, 因此认定模型成功。

Morris 水迷宫是一种研究空间学习记忆能力的标准模式, 可评估大鼠学习与记忆能力, 能客观的反映大鼠中毒后的认知功能改变。本实验发现, CO 染毒后平均逃避潜伏期明显延长, DNS 发生率增加, 应用孟鲁司特后, 大鼠平均逃避潜伏期均有缩短且 DNS 发生率降低, 说明孟鲁司特可改善 CO 中毒大鼠认知功能, 减少 DNS 的发生。病理学结果可见染毒各组皮质及海马 CA1 区病理损伤广泛, 孟鲁司特干预各组皮质及海马 CA1 区病理损伤减轻, 说明孟鲁司特可减轻神经细胞损伤。神经细胞凋亡在 DNS 发病过程中起重要作用, CO 可作为信使分子激活可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC), 催化三磷酸鸟苷 (GTP) 生成环鸟苷酸 (cGMP), cGMP 是细胞信号转导重要的第二信使, 可激活 cGMP 依赖性蛋白激酶 (PKG) 调节离子通道 Ca^{2+} 通道的变化, 促进神经细胞凋亡, 此外, CO 中毒后兴奋性氨基酸谷氨酸释放增加, 促使促凋亡基因 Bax 表

达增加导致细胞凋亡^[12-13]。本实验结果发现染毒各组大鼠大脑皮层及海马 CA1 区神经细胞凋亡数较 Con 组明显增多, 进一步说明了细胞凋亡参与了 DNS 的发病过程, 可能是 DNS 的发病机制之一。

孟鲁司特是 CysLT1R 的特效拮抗剂, 它能竞争性拮抗 LTD4 与 CysLT1R 的结合, 作为非甾体类抗喘药临床疗效确切^[14], 近年来孟鲁司特的脑保护方面的作用引起重视。全脑缺血损伤是继发于颅脑损伤、休克、缺氧等病理过程引起的炎症损伤性病变^[15], 缺血缺氧是造成 DNS 的始动因素, DNS 的发病机制之一类似于全脑缺血缺氧损伤过程, 近期研究表明孟鲁司特可减轻全脑缺血后的炎症反应及神经元损伤^[15], 减少神经细胞凋亡^[5]。在大鼠局灶性脑缺血损伤模型中, CysLT1R 在急性期 (24 h 内) 主要表达在缺血损伤的中心区, 而后期 (7 d ~ 14 d) 则表达在增殖的星形胶质细胞, 说明 CysLT1R 参与调节急性神经元损伤和后期胶质瘢痕形成^[16]。而胶质疤痕的形成可阻碍神经纤维向缺血区的生长, 影响脑缺血后的神经功能恢复^[17-18]。

较多研究已证实 CysLT1R 拮抗剂的受体非依赖作用, 其中一种可能是拮抗其他 CysLT1R 亚型, 例如, 孟鲁司特减轻局灶性脑缺血损伤的作用, 可能与抑制尿嘧啶核苷酸/CysLT 双重调节受体 GPR17 的效应有关^[19], 还可协同调节其他受体的效应, 如肥大细胞的 P2Y6 受体^[20]以及单核细胞的 P2Y 受体^[21]。因此我们推测孟鲁司特可能是通过其本身的抗氧化应激, 减少炎症浸润以及细胞凋亡而发挥对大鼠 DNS 的保护作用, 而是否依赖其受体, 还需进一步研究。

孟鲁司特对小鼠急性局灶性脑缺血呈浓度依赖性保护作用^[22], 其有效剂量为 0.1 mg/kg, 治疗时间窗为 30 min^[22]。本实验为得到孟鲁司特发挥保护作用的最佳剂量, 根据相关文献^[15]将药物分为 3 个不同剂量, 通过比较各组神经细胞凋亡来判断其发挥作用的剂量。本实验结果发现用药各组大鼠神经细胞凋亡较 Mod 组减少, MM 组大鼠神经细胞凋亡较 Mod 组减少最明显, MH 组大鼠神经细胞凋亡介于 ML 组与 MM 组之间, 说明孟鲁司特对 DNS 的保护作用具有剂量依赖性, 且根据目前实验结果可见 0.5 mg/kg 对 DNS 的保护作用最强。

综上所述, 本研究表明孟鲁司特可以减轻 CO 中毒后神经细胞损伤, 改善认知功能下降, 降低

DNS 发生率, 其发挥作用的可能机制是通过其自身的抑制炎症反应、减轻炎症损伤, 减少细胞凋亡, 是否通过拮抗 CysLT1R 还需进一步研究。

参考文献

- [1] Hampson NB, Piantadosi CA, Thom SR, et al. Practice recommendations in the diagnosis, management, and prevention of carbon monoxide poisoning [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186 (11): 1095-1101. DOI: 10.1164/rccm.201207-1284CI.
- [2] Weaver LK, Clinical practice. Carbon monoxide poisoning [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360 (12): 1217-1225. DOI: 10.1056/NEJMcp0808891.
- [3] 王维展, 李敬, 马国营, 等. 金纳多对一氧化碳中毒迟发性脑病的临床价值 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25 (2): 205-209. DOI: 10.3760/cmz.j.issn.1671-0282.2016.02.012.
- [4] Pepe G, Castelli M, Nazerian P, et al. Delayed neuropsychological sequelae after carbon monoxide poisoning: predictive risk factors in the Emergency Department. A retrospective study [J]. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2011, 19: 16. DOI: 10.1186/1757-7241-19-16.
- [5] Zhao R, Shi WZ, Zhang YM, et al. Montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist, attenuates chronic brain injury after focal cerebral ischaemia in mice and rats [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 63 (4): 550-557. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2010.01238.x.
- [6] Yu GL, Wei EQ, Zhang SH, et al. Montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist, dose- and time-dependently protects against focal cerebral ischemia in mice [J]. *Pharmacology*, 2005, 73 (1): 31-40. DOI: 10.1159/000081072.
- [7] Saad MA, Abdelsalam RM, Kenawy SA, et al. Montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist protects against hippocampal injury induced by transient global cerebral ischemia and reperfusion in rats [J]. *Neurochem Res*, 2015, 40 (1): 139-150. DOI: 10.1007/s11064-014-1478-9.
- [8] 燕宪亮, 邹建娇, 姜磊, 等. TDZD-8 对大鼠一氧化碳中毒迟发性脑病防治作用的实验研究 [J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2015, 36 (3): 234-238. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2015.03.009.
- [9] 王耀宏, 赵金垣, 崔书杰, 等. 急性一氧化碳中毒迟发性脑病的动物模型制备研究 [J]. *中国职业医学*, 2004, 31 (1): 5-10. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6486.2004.01.002.
- [10] Han ST, Bhopale VM, Thom SR. Xanthine oxidoreductase and neurological sequelae of carbon monoxide poisoning [J]. *Toxicol Lett*, 2007, 170 (2): 111-115. DOI: 10.1016/j.toxlet.2007.02.006.
- [11] 刘勇, 白皎, 王传秀, 等. 自制便携式氩气吸入装置防治一氧化碳中毒迟发性脑病 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2013, 22 (8): 866-870. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.08.014.
- [12] 刘福佳, 高春锦, 夏成青, 等. 急性一氧化碳中毒小鼠脑海马细胞凋亡及 bcl-2、Bax 和 caspase-3 蛋白表达 [J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2005, 12 (2): 66-68. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-6906.2005.02.002.
- [13] Bacigaluppi M, Comi G, Hermann DM. Animal models of ischemic stroke. Part two: modeling cerebral ischemia [J]. *Open Neurol J*, 2010, 4 (11): 34-38. DOI: 10.2174/1874205X01004020034.
- [14] Peters-Golden M, Henderson WR Jr. Leukotrienes [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357 (18): 1841-1854. DOI: 10.1056/NEJMra071371.
- [15] 赵建波, 林晓霞, 陈文健, 等. CysLT1 受体拮抗剂 montelukast 对全脑缺血海马神经元损伤的保护作用 [J]. *健康研究*, 2012, 32 (2): 85-88. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6449.2012.02.002.
- [16] Fang SH, Wei EQ, Zhou Y, et al. Increased expression of cysteinyl leukotriene receptor-1 in the brain mediates neuronal damage and astrogliosis after focal cerebral ischemia in rats [J]. *Neuroscience*, 2006, 140 (3): 969-979. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2006.02.051.
- [17] Shen LH, Li Y, Gao Q, et al. Down-regulation of neurocan expression in reactive astrocytes promotes axonal regeneration and facilitates the neurorestorative effects of bone marrow stromal cells in the ischemic rat brain [J]. *Glia*, 2008, 56 (16): 1747-1754. DOI: 10.1002/glia.20722.
- [18] Badan I, Buchhold B, Hamm A, et al. Accelerated glial reactivity to stroke in aged rats correlates with reduced functional recovery [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23 (7): 845-854. DOI: 10.1097/01.WCB.0000071883.63724.A7.
- [19] Ciana P, Fumagalli M, Trincavelli ML, et al. The orphan receptor GPR17 identified as a new dual uracil nucleotides/cysteinyl-leukotrienes receptor [J]. *EMBO J*, 2006, 25 (19): 4615-4627. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601341.
- [20] Jiang Y, Borrelli L, Bacskai BJ, et al. P2Y6 receptors require an intact cysteinyl leukotriene synthetic and signaling system to induce survival and activation of mast cells [J]. *J Immunol*. 2009, 182 (2): 1129-1137.
- [21] Mamedova L, Capra V, Accomazzo MR, et al. CysLT1 leukotriene receptor antagonists inhibit the effects of nucleotides acting at P2Y receptors [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 71 (1/2): 115-125. DOI: 10.1016/j.bcp.2005.10.003.
- [22] Yu GL, Wei EQ, Wang ML, et al. Pranlukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist, protects against chronic ischemic brain injury and inhibits the glial scar formation in mice [J]. *Brain Res*, 2005, 1053 (1/2): 116-125. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.06.046.

(收稿日期: 2017-03-04)

(本文编辑: 何小军)