论著

文章编号:1000-5404(2005)11-1100-03

胞二磷胆碱对大鼠脑缺血后脑内水分子弥散与氢谱的影响

周仁兰[1],谢 鹏[1],罗天友[2],吕发金[2],牟 君[1],魏有东[1],李 勇[1],邹德智[1] (重庆医科大学附属第一医院:[1]神经内科,[2]放射科,重庆 400016)

提 要:目的 观察大鼠脑缺血后脑内组织水分子表观弥散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)及乳酸(lactate, Lac)和N-乙酰基天门冬氨酸(N-acetyl-aspartate, NAA)的改变,以及胞二磷胆碱对它们的影响。**方法** Wistar大鼠右侧大脑中动脉栓塞制作永久性脑缺血模型,将磁共振弥散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)异常的区域为^{1}H磁共振波谱分析(proton magnetic resonance spectroscopy, ^{1}H MRS)定位。**结果** 脑缺血组脑缺血6 h后患侧Lac升高,24 h达高峰,3 d时开始降低;而NAA于脑缺血6 h即有降低,24 h降到最低,3 d后开始升高,7 d时接近正常水平,各时间点Lac值和NAA值与对照组相比有显著性差异($P<0.05$)。对照组和假手术胞二磷胆碱组无Lac产生,胞二磷胆碱对NAA及ADC值无明显影响。胞二磷胆碱组患侧与健侧的表观弥散系数比率[apparent diffusion coefficient ratio, ADCR (ADCR = 患侧表观弥散系数/健侧表观弥散系数)]及患侧ADC值较脑缺血组明显增加($P<0.05$),胞二磷胆碱治疗后患侧Lac逐渐降低($P<0.05$)以及NAA逐渐升高($P<0.05$)。**结论** ^{1}H MRS能够反映动物脑缺血后脑内代谢物的改变。胞二磷胆碱能够改善脑缺血后代谢物的变化并减轻脑水肿形成。

关键词:脑缺血;磁共振波谱;磁共振弥散加权成像;胞二磷胆碱
中图法分类号:R445.2; R743.31; R977 **文献标识码**:A

Effects of citicoline on apparent diffusion coefficient of water molecules in brain tissue and changes of lactate and N-acetyl aspartate after cerebral ischemia in rats

ZHOU Ren-lan[1], XIE Peng[1], LUO Tian-you[2], LU Fa-jin[2], MOU Jun[1], WEI You-dong[1], LI Yong[1], ZOU De-zhi[1] ([1]Department of Neurology, [2]Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To study the effects of citicoline on the apparent diffusion coefficient (ADC) of the water molecules in the brain tissue and changes of lactate (Lac) and N-acetyl aspartate (NAA) after cerebral ischemia in rats. **Methods** The cerebral ischemic model was established in Wistar rats with the occlusion of the right middle cerebral artery. The abnormal region in diffusion weighted imaging (WDI) was analyzed with proton magnetic resonance spectroscopy (^{1}H-MRS). **Results** The increase of Lac began in the 6th hour after cerebral ischemia and came up to the highest level in the 24th hour. Lac content was gradually decreased on the 3rd day after ischemia. The decrease of NAA began in the 6th hour after the occlusion of the artery, maximal decrease was found in the 24th hour and it began to increase on the 3rd day and came to nearly normal level on the 7th day. Significant difference of Lac and NAA levels was found between the cerebral ischemia group and the control at all the time points ($P<0.05$). In the control and the sham-operation + citicoline groups, no production of Lac was seen. Citicoline exerted no effects on the level of NAA and ADC. The ADC ratio (ADC of the ischemic hemisphere/ADC of the normal hemisphere) and the level of ADC were significantly higher in the citicoline group than in the ischemic group ($P<0.05$). The level of Lac was decreased gradually and that of NAA gradually increased after intraperitoneal injection of citicoline at all the time points ($P<0.05$). **Conclusion** Diffusion weighted imaging and proton magnetic resonance spectroscopy can determine the changes of ADC and metabolites after cerebral ischemia. The administration of citicoline is able to ameliorate the metabolic abnormality and the occurrence of cerebral edema.

Key words: cerebral; ischemia; magnetic diffusion-weighted imaging; magnetic resonance spectroscopy; citicoline

目前临床上逐渐将磁共振弥散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)和^{1}H磁共振波谱分析(proton magnetic resonance spectroscopy, ^{1}H-MRS)作为诊断急性脑缺血的常规方法。为评价药物的疗效,^{1}H磁共振

作者简介:周仁兰(1969-),女,重庆市人,博士研究生,主治医师,主要从事脑血管疾病方面的研究。电话:(023)68898321
通讯作者:谢 鹏,电话:(023)68485490,E-mail:xiepeng58@21cn.com
收稿日期:2005-03-01;修回日期:2005-03-28

波谱分析是定量监测乳酸升高和神经元损害最好的非侵入性手段之一;在磁共振弥散加权成像基础上监测水分子表观弥散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)可超早期揭示脑水肿的形成。因此我们将磁共振弥散加权成像和 ^{1}H 磁共振波谱分析结合起来分析胞二磷胆碱对大鼠脑缺血后脑组织水分子表观弥散系数 ADC 及 Lac 和 NAA 的影响,为临床治疗提供客观依据。

1　材料与方法

1.1　实验动物分组

成年清洁级 Wistar 大鼠 24 只(由重庆医科大学动物实验中心提供),体质量 180 ~ 210 g,雌雄不限,完全随机分为对照组,假手术胞二磷胆碱(由山西晋新双鹤药业有限责任公司提供)组,脑缺血组和胞二磷胆碱组,每组 6 只。对照组仅腹腔注射生理盐水,假手术胞二磷胆碱组和胞二磷胆碱组均于术后 1 h 开始腹腔注射胞二磷胆碱 200 mg/kg,1 次/d,持续注射 7 d。

1.2　脑缺血动物模型的制备

采用右侧颈内动脉插线法栓塞右侧大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA)起始部。术前禁食 12 h,10% 水合氯醛(3.0 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,颈部正中切开皮肤逐层分离,暴露并结扎右侧颈总动脉和颈外动脉,栓塞线由距颈总动脉分叉约 5 cm 插入到大脑中动脉的起始处,结扎颈内动脉固定栓塞线,实验中维持大鼠正常体温。假手术栓塞线仅插入颈内动脉未深及大脑中动脉的起始处。

1.3　^{1}H MRS 检查

采用 GE signa Highspeed MRI 1.5T 超导磁共振波谱仪,3 Inch 表面线圈。检测过程中维持动物体温。所有大鼠均于术后 6 h、1、3 d 和 7 d 做 DWI 和 ^{1}H MRS 检查。先后行磁共振扫描(MRI)快速自旋回波(Fast spin echo, FSE) T2WI (TR 3 600 ms,TE 115.2 ms,层厚 3 mm,间隔 1 mm, FOV 8 × 8, 矩阵 320 × 224),DWI 采用单次激发平面回波成像(single-shot echo planar imaging, SE-EPI) 序列(TR = 5 000 ms;TE = 100 ms,层厚 3 mm,间隔 1 mm,FOV 24 × 24, 矩阵 128 × 128,扫描时间 40 s)。MRS 采用 PRESS(point resolved spectroscopic sequence)序列(TR = 3 600 ms,TE = 144 ms,层厚 3 mm,间隔 1 mm, FOV 12 cm × 12 cm, 矩阵 24 × 24,扫描时间 9.4 min)。将兴趣区放在梗死区及其对侧镜像区进行 MRS 测定。获取数据转入工作平台,经 Functool 2000 软件包处理,得到大鼠化学位移为 1.33×10^{-6} 的乳酸(Lac)及 2.02×10^{-6} 的 N-乙酰天门冬氨酸(NAA)代谢图及代谢峰值。在工作平台进行脑组织表观弥散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)图像重建,并测出梗死区及其对侧镜像区的 ADC 值,计算表观弥散系数比率(apparent diffusion coefficient ratio, ADCR)值(ADCR = 患侧 ADC 值/对侧 ADC 值)。

1.4　统计学分析

各时间点的数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS12.0 统计软件处理,行方差分析。

2　结果

2.1　各组 ADC 值及 ADCR 值的变化

假手术胞二磷胆碱组与对照组相比 ADC 值没有显著性变化。胞二磷胆碱组患侧各时间点 ADC 值较相应的脑缺血组明显增加($P < 0.05$),各时间点患侧与健侧的表观弥散系数比率(ADCR)较脑缺血组高,二者差别有显著性意义($P < 0.05$)(表 1)。

表 1　脑缺血组及胞二磷胆碱组 ADC 值及 ADCR 值的变化($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Changes of ADC and ADCR in cerebral ischemia group and citicoline group ($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

Group	ADC ($\times 10^{-3}$ mm^2/s)				ADCR			
	6 h	1 d	3 d	7 d	6 h	1 d	3 d	7 d
Citicoline	3.65 ± 0.04#	3.86 ± 0.11#	6.02 ± 0.01#	7.65 ± 0.03#	0.464 ± 0.070#	0.491 ± 0.140#	0.765 ± 0.050#	0.973 ± 0.010#
Cerebral ischemic	3.12 ± 0.01	3.18 ± 0.13	5.25 ± 0.01	7.03 ± 0.08	0.397 ± 0.120	0.405 ± 0.110	0.667 ± 0.090	0.894 ± 0.180

#: $P < 0.05$, *vs* cerebral ischemic group

2.2　各组乳酸(Lac)和 NAA 的变化

对照组和假手术胞二磷胆碱组无 Lac 产生,患侧与健侧 NAA 分布无显著性差异,胞二磷胆碱对 NAA 无明显影响($P > 0.05$)。脑缺血组脑缺血 6 h 后患侧 Lac 升高,24 h 达高峰,3 d 时开始降低;而 NAA 于脑缺血 6 h 即有降低,24 h 降到最低,3 d 后开始升高,7 d 时接近正常水平,各时间点患侧 Lac 与 NAA 值与对照组相比差异有显著性意义($P < 0.05$)。胞二磷胆碱治疗后 Lac 逐渐降低,各时间点 Lac 低于脑缺血组对应的 Lac($P < 0.05$)。与此相反,胞二磷胆碱治疗后 NAA 逐渐升高,与脑缺血组各时间点 NAA 相比有显著性差异($P < 0.05$),结果见表 2、图 1 和图 2。

表 2　脑缺血组及胞二磷胆碱组各时间点乳酸和 NAA 的变化($\times 10^{-6}$, $n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2　Changes of Lac and NAA in cerebral ischemia group and citicoline group of each time point ($\times 10^{-6}$, $n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

Group	Lac				NAA			
	6 h	1 d	3 d	7 d	6 h	1 d	3 d	7 d
Citicoline	60.75 ± 0.01▲	58.33 ± 0.37▲	46.31 ± 0.02▲	35.27 ± 0.01▲	113.00 ± 0.15▲	57.33 ± 0.23▲	78.95 ± 0.08▲	103.80 ± 0.22▲
Cerebral ischemia	65.28 ± 0.12	72.38 ± 0.31	55.00 ± 0.16	57.50 ± 0.25	109.35 ± 0.27▽	45.21 ± 0.01▽	69.33 ± 0.14▽	96.00 ± 0.28▽
Sham-operation plus citicoline	0	0	0	0	135.00 ± 0.03	135.00 ± 0.02	135.00 ± 0.04	135.00 ± 0.02

▲: $P < 0.05$, *vs* cerebral ischemia group; ▽: $P < 0.05$, *vs* sham-operation plus citicoline group

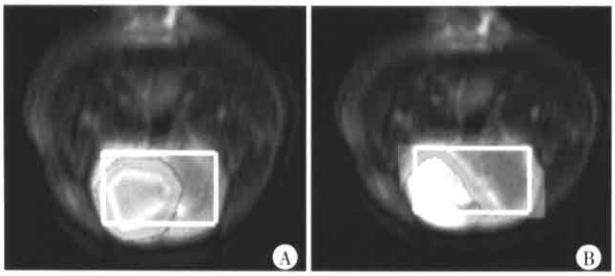


图1 Lac（A）和NAA（B）的代谢图

Fig 1 The Lac（A）and NAA（B）metabolic map

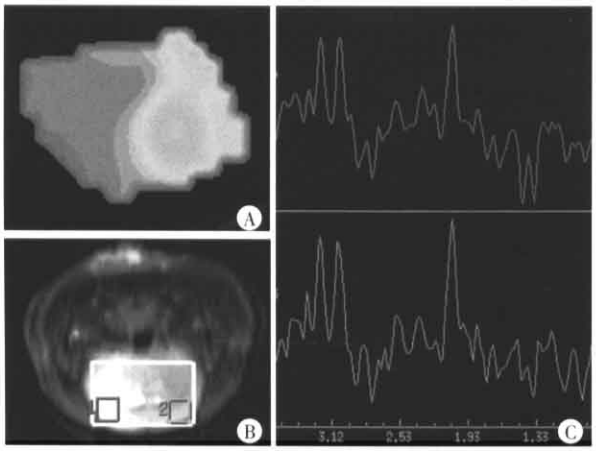


图2 大鼠脑缺血1 d的ADC图像(A)和波谱分析(C)及其定位区域(B)

Fig 2 ADC map（A）and spectroscopic analysis(C) and its positioned region（B）1 d after MCAO in rats

3 讨论

由于ADC降低是脑水肿形成的一个极好的指标[1]，因此我们选用ADC来评价脑水肿。脑缺血后梗塞区能源耗竭，Na^+/K^+-ATP酶功能失调，水钠转移到去极化的细胞导致细胞肿胀，细胞外净容积降低，这在很大程度上造成急性脑缺血时ADC降低，急性缺血时ADC降低与脑血流的显著减少有关[2]。胞二磷胆碱可降低大脑血管的阻力，扩张脑组织血管，改善缺血脑组织的血供，增加脑血流量，我们的研究结果证实大鼠脑缺血后早期给予胞二磷胆碱治疗，缺血脑组织的ADC值逐渐升高，这可能与胞二磷胆碱增加缺血脑组织的血供有关。缺血性卒中超早期所见到的ADC均值非常低的区域包括各种明显损伤的组织，细胞性水肿程度不同，因而病灶区ADC值不同，这种信号强度上具有特征性的组织损伤强度与不同阶段细胞代谢损伤有关[3]，而梗塞早期乳酸的水平与缺血的范围，神经损伤程度和持续时间有关[4,5]，反应了神经元和胶质细胞厌氧代谢的状况。同样NAA降低可能为早期神经元死亡的标志，预示脑组织坏死而存活的神经元数量减少[6]。我们的实验显示脑梗死的早期乳酸首先出现，它可能反应了脑组织处于缺血状态，随着缺血时间延长，可出现神经元的损害，MRS可检测到NAA的下降，若早期给予胞二磷胆碱治疗可以发现梗死区域乳酸水平降低，NAA升高，这有可能是由于脑梗死时脑中磷脂酶被激活，磷脂酶分解磷脂成游离的脂肪酸，细胞膜出现缺损，影响细胞内外物质交换，能量代谢，信息传递等[7]，而胞二磷胆碱是一种脑代谢激活剂，为磷脂类磷脂酰胆碱的前体物质，它进入体内可提供胆碱，促进脑中磷脂酰胆碱合成，减少脑中磷脂含量。因此，胞二磷胆碱能够有效地减轻脑组织的损害，逆转神经元的功能失调，减少神经元的死亡，进一步支持胞二磷胆碱对急性缺血的脑组织具有保护作用。

参考文献：

[1] Takeuchi M, Harada M, Matsuzaki K, *et al*. Magnetic resonance imaging and spectroscopy in a patient with treated methylmalonic acidemia[J]. J Comput Assiat Tomogr, 2003, 27(4): 547－551.

[2] Veldhuis W B, van der Stelt M, Delmas F, *et al*. *In Vivo* excitotoxicity iInduced by ouabain, a Na^+/K^+-ATPase inhibitor[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(1): 62－74.

[3] Rana A K, Wardlaw J M, Armitage P A, *et al*. Apparent diffusion coefficient (ADC) measurements may be more reliable and reproducible than lesion volume on diffusion-weighted images from patients with acute ischaemic stroke-implications for study design[J]. Magn Reson Imaging, 2003, 21(6): 617－624.

[4] Federico F, Simone I L, Lucivero V, *et al*. Prognostic value of proton magnetic resonance spectroscopy in ischemic stroke[J]. Arch Neurol, 2000, 55(4): 489－494.

[5] Wei J, Cohen D M, Quast M J, *et al*. Effects of 2-deoxy-d-glucose on focal cerebral ischemia in hyperglycemic rats[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(5): 556－564.

[6] Demougeot C, Bertrand N, Prigent Tessier A, *et al*. Reversible Loss of N-acetyl-aspartate in rats subjected to long-term focal cerebral ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(4): 482－489.

[7] 石富成，周景春，孟冬娅，等. 大豆磷脂对脑梗死治疗作用的研究[J]. 中华医学杂志，2001，81(21)：1301－1303.

（编辑 刘洪娥）