论著

文章编号:1000-5404(2008)23-2172-04

# 铁离子在大鼠实验性慢性脑积水发生中的作用

宫国旗,孟 辉,冯 华 (第三军医大学西南医院神经外科,全军神经系统疾病微创诊治专科中心,重庆 400038)

**摘 要:目的** 研究铁离子在大鼠实验性慢性脑积水发生中的作用。**方法** SD雌性大鼠75只,采用随机数字表法分为3组:铁离子组、半量铁离子组及人工脑脊液组。分别将浓度为6.67、3.33 g/L的三氯化铁溶液及人工脑脊液各5 μl注入大鼠右侧侧脑室,于术后1、14 d及28 d处死大鼠,评价脑积水发生情况并测量侧脑室侧室指数(侧脑室面积/脑片面积×100),观察脑组织病理变化。**结果** 术后28 d($n=10$)铁离子组9只大鼠发生脑积水,半量铁离子组($n=5$)1只大鼠发生脑积水,两组相比差异显著($P<0.01$),人工脑脊液组($n=10$)未出现脑积水;铁离子组侧室指数(6.87±2.19)大于半量铁离子组(3.32±0.95)及人工脑脊液组(1.09±0.45)($P<0.01$)。铁离子组室周脑组织细胞增生,出现大量泡沫状细胞,脉络丛水肿,含铁血黄素的脑室壁沉积,后期出现脉络丛萎缩,室管膜细胞数量减少,纤毛脱落;半量铁离子组相对较轻;人工脑脊液组无明显变化。**结论** 侧脑室注入高浓度铁离子可诱发脑积水。

**关键词:** 铁;脑积水;大鼠

**中图法分类号:** R363.13; R741.02; R742.7 **文献标识码:** A

# Role of iron ion in development of hydrocephalus in rats

GONG Guo-qi, MENG Hui, FENG Hua (Department of Neurosurgery, Southwest Hospital, Third Military Medicine University, Chongqing 400038, China)

**Abstract:** Objective To investigate the roles of iron ion in the development of experimental hydrocephalus in rats. Methods Seventy-five Sprague-Dawley female rats were divided into 3 groups randomly, that is, the iron group, the semi-iron group and the artificial cerebrospinal fluid (CSF) control group. $FeCl_3$ of 5 μl dissolved in artificial CSF with the concentration of 6.67 g/L and 3.33 g/L were slowly infused into the right lateral cerebral ventricle of the rats in the iron group and in the semis-iron group respectively. The rats in the artificial CSF control group were infused 5 μl artificial CSF. The rats were sacrificed 1, 14 and 28 d later to measure the transverse diameter of the lateral ventricle for the evaluation of hydrocephalus and the index of ventricle, and pathology of brain was also observed. Results There were significant difference of hydrocephalus between the iron group (9/10) and the semis-iron group(1/5) at 28 d ($P<0.01$). The index of ventricle in iron group were higher than the semis-iron group and the artificial CSF control group ($P<0.01$). Cellular proliferation surrounding ventricle, edema of choroid plexus, deposit of haemosiderin, absence of ciliums and microvillares of the ependymal cells were observed in rats of the iron group. The pathological changes in the semis-iron group were milder than in the iron group. The artificial CSF control group showed no hydrocephalus. Conclusion Injecting higher concentration of iron into the lateral cerebral ventricle can produce hydrocephalus.

**Key words:** iron; hydrocephalus; rats

脑积水是脑出血后的常见并发症。据统计,50%的自发性脑出血合并脑室出血,其中35%会发展为脑出血后脑积水。目前虽然有脑脊液分流手术和三脑室底造瘘手术,但总体治疗效果仍然不佳[1,2]。由于对出血后慢性脑积水的发生机制尚不清楚,难以在出血后做到早期防治。但有关脑出血的研究证实:血液的分解代谢产物-铁离子在脑出血后继发性脑组织损害中具有重要作用[3],然而铁离子与脑室出血后脑积水的发生是否有关尚不清楚。为此,本实验将不同浓度铁离子及人工脑脊液注入大鼠侧脑室,模拟脑室出血后慢性脑积水的形成情况,成功诱发了大鼠脑积水。

基金项目:"十一五"国家科技支撑计划资助(2006BAI01A12)
Supported by the Supporting Plan of "Eleventh Five-year Plan" for Sci & Tech Research of China (2006BAI01A12)

作者简介:宫国旗,男,河北省东光县人,硕士研究生,主治医师,主要从事脑出血和脑外伤方面的研究。E-mail:gongguoqi2000@yahoo.com.cn

通信作者:冯 华,E-mail:fenghua8888@yahoo.com.cn

收稿日期:2008-01-23;修回日期:2008-02-28

## 1　材料与方法

### 1.1　实验动物及分组

健康成年雌性 SD 大鼠 75 只,体质量(210 ± 10)g(第三军医大学实验动物中心)。采用随机数字表法分为 3 组:铁离子组、半量铁离子组及人工脑脊液组,每组分为术后 1、14 d 及 28 d 3 个时相点,铁离子组及人工脑脊液组时相点各 10 只,半量铁离子组各 5 只。

### 1.2　试剂及设备

1.2.1　试剂　　4% 多聚甲醛(4 ℃,pH 7.4),Gill 改良苏木精,1% 伊红染色液,1% 甲苯胺蓝染色液,人工脑脊液溶液[4],浓度为 6.67 g/L 及 3.33 g/L 的三氯化铁-人工脑脊液溶液(用前需临时配制)。

1.2.2　设备　　小型动物实验专用脑立体定向仪配 ST-Ⅲ型手动推进器(西光医疗器械公司),微量注射器(宁波市三爱仪器厂),光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

### 1.3　实验方法

1.3.1　动物处理　　参照 Li 等[5]方法,5% 水合氯醛(250 mg/kg)腹腔注射麻醉成功后将大鼠固定于脑立体定向仪上,按照大鼠解剖图谱定位右侧侧脑室,进针点坐标:前囟后 0.8 mm,中线右侧 1.6 mm,深度硬膜下 3.2 mm。以微量进样器吸取 5 μl 浓度为 6.67 g/L 的三氯化铁-人工脑脊液溶液,以 1 μl/min 匀速注入,留针 5 min 后退针作为铁离子组;半量铁离子组给予 3.33 g/L 的三氯化铁-人工脑脊液溶液;人工脑脊液组给予人工脑脊液溶液,操作同铁离子组。各组大鼠于同一环境下喂养。

1.3.2　一般情况观察　　各组大鼠自由进食水,观察大鼠在各时相点饮食、呼吸、心率、体温变化及活动、死亡等情况。

1.3.3　取材及病理观察　　大鼠于各时相点,以水合氯醛按 400 mg/kg 腹腔注射深麻醉,以生理盐水及多聚甲醛固定液灌洗后断头取脑,取少量侧脑室顶壁组织于 2 % 戊二醛中固定制备电镜标本,余标本于多聚甲醛溶液中固定后制备冠状切面连续 4 μm 石蜡切片,行 HE 染色、尼氏染色观察病理变化。

1.3.4　脑室扩张程度评价及侧室指数计算　　标本取材后参照 Kim 等[6]的方法,以大鼠前囟后 0.4 mm 冠状面的侧脑室宽度大于 1.0 mm 做为标准评价大鼠脑积水,并计算出该平面侧脑室的侧室指数(侧室面积/脑片面积 × 100)。

### 1.4　统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件,铁离子组与半量铁离子组脑积水发生情况的比较采用 $\chi^2$ 检验;各组大鼠侧室指数以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 $t$ 检验。

## 2　结果

### 2.1　一般情况

各组大鼠术后麻醉苏醒即表现精神萎靡、竖毛,24 h 后恢复正常;饮食情况,呼吸、心率、体温变化无明显区别,无死亡大鼠。

### 2.2　大体观察

铁离子组及半量铁离子组术后 14、28 d 时可见脑积水大鼠有双侧侧脑室扩张并有脑室壁黄染表现(图 1),未发生脑积水大鼠程度较轻,人工脑脊液组未出现脑积水。

### 2.3　脑积水情况

术后 28 d 人工脑脊液组无脑积水形成,铁离子组 10 只大鼠中 9 只出现脑积水,半量铁离子组 5 只大鼠中 1 只出现脑积水,经 $\chi^2$ 检验,差异有统计学意义($\chi^2 = 7.35$, $P < 0.01$)。

### 2.4　侧室指数比较

人工脑脊液组侧室指数在各时相点变化较小,而铁离子组及半量铁离子组侧室指数随时间延长逐渐增加,呈上升趋势,3 组侧室指数相比差异显著($P < 0.05$)(表 1)。

**表 1　各时相点 3 组大鼠侧室指数比较($\bar{x} \pm s$)**

| 组别 | $n$ | 1 d | 14 d | 28 d |
|---|---|---|---|---|
| 人工脑脊液组 | 30 | 1.17 ± 0.50 | 1.14 ± 0.28 | 1.09 ± 0.45 |
| 铁离子组 | 30 | 2.47 ± 0.27[a] | 6.22 ± 1.89[a] | 6.87 ± 2.19[a] |
| 半量铁离子组 | 15 | 2.20 ± 0.24[a] | 3.08 ± 1.38[bc] | 3.32 ± 0.95[bc] |

a:$P < 0.01$,b:$P < 0.05$,与人工脑脊液组比较;c:$P < 0.01$,与铁离子组比较

### 2.5　病理组织学观察

铁离子组 1 d 出现胼胝体肿胀、扭曲,脉络丛水肿,室周脑组织细胞增生;14 d 时出现部分胼胝体断裂,脉络丛萎缩、室管膜点片状缺失,脑室壁含铁血黄素沉积,大量脑组织细胞增生;28 d 可见以上病变进一步加重,含铁血黄素沉积处大量泡沫状细胞(图 2),室管膜细胞数量减少,纤毛脱落。半量铁离子组各时相点变化同铁离子组,但程度明显减轻,而人工脑脊液组各时相点无明显变化。各组各时相点尼氏染色未见明显变化。

### 2.6　电镜观察

铁离子组 14 d 可见室管膜细胞数目减少,细胞内线粒体、高尔基体、核糖体、粗面内质网等细胞器数量减少,肿胀,纤毛数量明显减少;28 d 时可见损害较 14 d 时进一步发展,线粒体嵴明显肿胀,纤毛脱落缺失。半量铁离子组各时相点变化同铁离子组,但程度明显减轻,而人工脑脊液组各时相点侧脑室顶壁室管膜细胞排列紧密,纤毛无缺失。

## 3　讨论

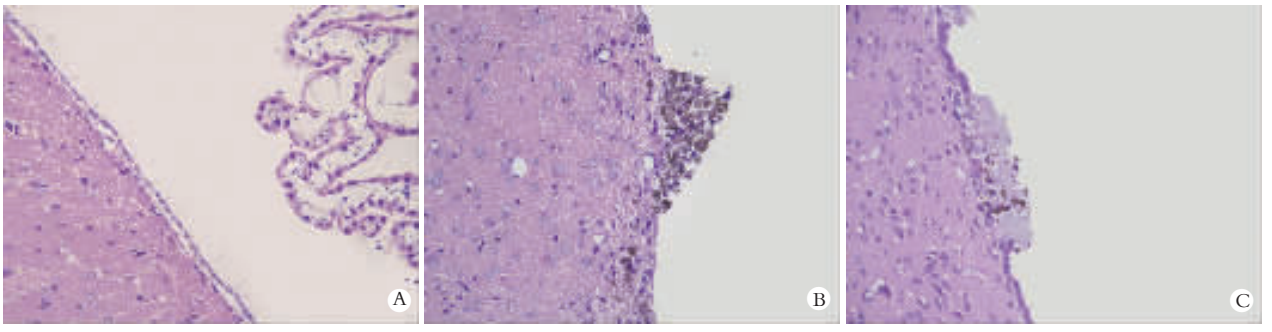
脑内铁有着重要的生理功能:传递电子,参与三羧酸循环、线粒体氧化反应和氧运输,并参与 DNA、RNA、蛋白质、脂质和胆固醇的合成,以及神经髓鞘的发生。但铁离子容易通过接受或失去 1 个电子改变氧化状态,促进氧化应激,病理情况下容易引发并加剧脂质、蛋白质和 DNA 的损伤,最终导致细胞死亡[7]。目前国内外多采用三氯化铁来作有关铁离子作用的实验研究:包括经纹状体微量注射后研究 Parkinson's 病机制,经杏仁体注射后研究癫痫等,但少见有经侧脑室注射后研究脑积水的报道。

通常,脑室出血后会有大量红细胞进入脑脊液,分解后可产生铁离子[8],脑出血后脑脊液中铁离子含量




A:人工脑脊液组;B:铁离子组;C:半量铁离子组

**图1 术后28 d各组大鼠脑组织大体标本观察**




A:人工脑脊液组;B:铁离子组;C:半量铁离子组

**图2 术后28 d大鼠侧脑室染色光镜观察** (HE×400)

可在28 d时仍然高于正常6倍[9],而蛛网膜下腔出血后脑脊液中铁离子含量更可高达10倍以上[(27.9±3.9) μg/dl与(2.3±0.7) μg/dl][10],而脑脊液中铁离子浓度升高与脑积水的形成之间是否存在关联值得研究。

我们曾给予大鼠侧脑室二次穿刺注射130 μl自体不抗凝血成功制备大鼠脑积水模型,本实验采用浓度为6.67 g/L的三氯化铁-人工脑脊液溶液5 μl侧脑室注入,其含铁量约$11.49\times10^{-6}$ g,正常SD大鼠全血铁含量为(460±67.57) mg/L[11],5 μl浓度为6.67 g/L的三氯化铁-人工脑脊液溶液中铁含量相当于25 μl大鼠血的铁含量,半量铁离子组则相当于12.5 μl,我们以此量来模拟大鼠脑室出血后形成脑积水的情况,主要观察铁离子对大鼠脑积水形成的影响。

侧室指数反映了侧脑室扩张程度。实验中观察到侧脑室注入高浓度的铁离子后侧室指数不断增加,但14、28 d铁离子组均大于半量铁离子组及人工脑脊液组($P<0.01$),28 d铁离子组与半量铁离子组脑积水发生情况经$\chi^2$检验,差异有统计学意义($P<0.01$),而人工脑脊液组无脑积水形成,可排除注入少量溶媒(人工脑脊液)后对大鼠形成脑积水的影响。本实验发现,虽然注入铁离子的量只相当于少量的血液完全分解后产生的含铁量,但注入两种不同浓度的铁离子对大鼠实验性脑积水的形成存在显著的差异,说明铁离子诱发的脑积水与脑脊液中铁离子的含量、浓度密切相关。事实上,在临床脑室出血后慢性脑积水的发生情况与脑室出血量有关,出血多者将更有可能发生脑积水,从这一点上讲,铁离子诱发的脑积水与注入的铁离子量呈现密切相关性,与脑室出血后脑积水的产生相类似。

本实验观察到铁离子组1 d出现胼胝体肿胀,室周脑组织细胞增生;14 d时可见部分胼胝体出现断裂,室周有大量脑组织细胞及大量泡沫状细胞,并有多量的含铁血黄素在脑室壁沉积,脉络丛萎缩,室管膜点片状缺失,脑室壁含铁血黄素沉积处大量脑组织细胞增生。胼胝体等部位轴索损伤是各型脑积水白质病理改变的一个共同特征,在慢性脑积水的发生发展过程中具有重要意义。28 d可见以上病变进一步加重,室管膜细胞数量减少,纤毛脱落。可见侧脑室注入高浓度的铁离子后可导致脑室周围白质损害[3],并随观察时间的延长呈进行性发展趋势。

脑脊液中铁离子浓度升高是否与脑积水的形成有关尚不清楚。本实验给大鼠侧脑室注入高于生理浓度的铁离子证实铁离子处理组大鼠的确发生了脑积水。

我们认为脑脊液铁离子含量的升高,在脑室出血后慢性脑积水的发生过程中具有重要意义。而 Wan 等[9]在脑出血大鼠的实验研究中发现脑出血后脑脊液中铁离子含量升高,使用铁离子螯合剂可降低脑脊液中铁离子浓度,这提示对于脑室出血后出现慢性脑积水的患者,用铁离子螯合剂对其治疗可能会有一定作用。

## 参考文献:


[1] Huttner H B. Kohrmann M, Berger C, *et al*. Influence of intraventricular hemorrhage and occlusive hydrocephalus on the long-term outcome of treated patients with basal ganglia hemorrhage: a case - control study [J]. J Neurosurg, 2006, 105(3): 412 - 417.

[2] 孟　辉,张礼均,卢佳友,等. 脑出血后慢性脑积水脑脊液中 PⅠCP、PⅢNP、HA、LN 的水平及意义[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2007, 12(2): 82 - 84.

[3] Hua Y, Nakamura T, Keep R F, *et al*. Long-term effects of experimental intracerebral hemorrhage: the role of iron [J]. J Neurosurg, 2006, 104(2): 305 - 312.

[4] Cadetti L, Tranchina D, Thoreson W B. A comparison of release kinetics and glutamate receptor properties in shaping rod-cone differences in EPSC kinetics in the salamander retina[J]. J Physiol, 2005, 569(Pt 3): 773 - 788.

[5] Li L, Wu J L, Jin Z, *et al*. High concentration of iron in cerebrospinal fluid of rats induces alzheimer-like behavioral and pathological changes [J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2005, 21(3): 252 - 258.

[6] Kim D S, Oi S, Hidaka M, *et al*. A new experimental model of obstructive hydrocephalus in the rat: the micro-balloon technique[J]. Childs Nerv Syst, 1999, 15(5): 250 - 255.

[7] Mancuso C, Scapagini G, Curro D, *et al*. Mitochondrial dysfunction, free radical generation and cellular stress response in neurodegenerative disorders[J]. Front Biosci, 2007, 12: 1107 - 1123.

[8] Wu J, Hua Y, Keep R F, *et al*. Iron and iron-handling proteins in the brain after intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 2003, 34(12): 2964 - 2969.

[9] Wan S, Hua Y, Keep R F, *et al*. Deferoxamine reduces CSF free iron levels following intracerebral hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2006, 96: 199 - 202.

[10] Suzuki H, Muramatsu M, Kojima T, *et al*. Intracranial heme metabolism and cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Stroke, 2003, 34(12): 2796 - 2800.

[11] 宫国旗,孟　辉,夏永智,等. 大鼠实验性脑室出血后慢性脑积水动物模型的建立及病理学观察[J]. 第三军医大学学报,2008,30(10):969 - 972.


(编辑　龙　亮)

(上接 2171 页)

堵塞管口及管腔。

### 2.3　冲洗速度的调节

冲洗时根据引流液颜色调节冲洗速度。若引流液浑浊或有血凝块,可将滴速调至 100 ~ 140 滴/min;若引流液为浅红色,则滴速调至 80 ~ 100 滴/min。

### 2.4　冲洗液温度的控制

冲洗液温度应保持在 20 ~ 30℃,若冲洗液温度过低,可引起血管痉挛导致血管危象发生;冲洗液温度过高,则增强局部代谢增加乳房皮瓣的负荷。

### 2.5　引流液的观察

冲洗过程中,应严密观察冲洗液量、颜色和性质,并作好记录。正常情况下应入出平衡,引流液颜色由暗红色,逐渐变成洗肉水样直至清亮。

### 2.6　切口的护理

在冲洗过程中,术区敷料开始有少许淡红色液体渗出,随着不断冲洗变为少许无色液体渗出,考虑与体位变化有关,应及时通知医生给予换药处理。

### 2.7　心理护理

患者由于对整形知识的缺乏和对美与健康的渴望,往往对手术风险估计不足,甚至有不切实际的幻想[2],结果美容不成而导致受挫折心理反应强烈而复杂,求治心理迫切。针对这一特点,我们首先以平等的态度尊重其隐私权,通过聊天、倾听、解答及鼓励等方法,取得患者最大程度的信任。

## 3　讨论

本组 22 例注射性隆乳剂取出术后的患者,其中 20 例持续冲洗后 5 ~ 7 d 拔管,最短 8 d,最长 10 d 后出院;有 2 例患者冲洗后 7 d 带管出院,按时回院换药、观察,于出院后 4 ~ 5 d 拔管。22 例患者均拆线后切口愈合良好,电话随访 2 个月,无复发,切口无明显瘢痕增生。

对于注射性隆乳术后的乳腺炎,传统的治疗方法是脓肿切开引流,切口损伤大,必要时做数个切口或先后行数次手术;疗程长,平均 20 d 出院,而且术后易复发[3]。如今我科采取腔镜下的小切口置入硅胶管(直径 0.4 cm)及血浆管,并采用了改进后的持续冲洗引流方法,切口小、损伤少、出血少、疗程短,平均 10 d 即完全愈合,既达到了治疗的目的,又可使体表外形基本无改变,疤痕增生小,符合整形外科要求,患者易于接受。

**关键词**: 持续冲洗;隆乳剂;护理

**中图法分类号**: R743.6　　**文献标识码**: B

## 参考文献:


[1] 孙宝东,乔　群,岳　颖,等. 聚丙烯酰胺水凝胶注射隆乳术后并发症的处理[J]. 中华整形外科杂志,2004,20(3):200 - 202.

[2] 王　瑶,仇树林. 整形美容外科患者的心理护理[J]. 中国美容医学,2003,12(3):321 - 322.

[3] 姜　军, 杨新华, 范林军,等. 腔镜手术在乳腺疾病外科治疗中的应用[J]. 中华医学杂志,2005,85(3):181 - 183.


(编辑　龙　亮)