文章编号:1000-5404(2009)23-2397-02

短篇论著

右丙亚胺对颅脑损伤大鼠脑组织水和离子含量的影响

陈大庆,赵洪洋 (华中科技大学同济医学院附属协和医院神经外科,武汉 430022)

摘 要:目的 探讨右丙亚胺(Dexrazoxane, DEX)对颅脑损伤(traumatic brain injury,TBI)的大鼠脑组织水和离子含量的影响。**方法** 选择SD大鼠36只,计算机编号随机抽取方法分成正常对照组($n=6$)、假手术组($n=10$)、损伤组($n=10$)和DEX治疗组($n=10$),应用液压冲击方法制作TBI模型。DEX组在制作模型后即刻给予DEX,3 d后将大鼠处死观察脑组织基底节区域的铁染色情况,以及该区域的水及钠钾离子的变化情况。**结果** 损伤组大鼠脑基底节区域在TBI后3 d铁染色明显增强,铁染色阳性细胞比例明显上升,水及钠离子含量也明显上升,而钾离子则没有明显变化。应用DEX治疗后的TBI大鼠铁阳性细胞比例,水及钠离子含量都有明显的下降,显著低于损伤组($P<0.05$)。**结论** DEX可以降低TBI后的水及钠离子含量,这直接影响到脑组织的水肿,其机制可能与降低脑组织的铁沉积有关。

关键词: 右丙亚胺;颅脑损伤;铁沉积;脑水肿
中图法分类号: R651.15; R965; R977.7 **文献标识码:** A

已经证实颅脑损伤(traumatic brain injury ,TBI)后脑组织内存在铁离子的局部蓄积,虽然这种蓄积作用的机制并不清楚,但铁离子蓄积会触发由铁离子引起的自由基生成从而导致进一步的损伤[1]。针对铁离子蓄积,很多研究试图应用铁螯合剂去除脑组织中铁离子蓄积,从而治疗TBI引起的相关功能障碍[2]。另有研究表明,脑出血后脑组织水和钠钾离子的变化与继发性脑损伤密切相关[3]。有学者应用乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid,EDTA)进行干预,发现其保护脑组织效果并不明显,分析原因可能是EDTA为水溶性铁螯合剂,进入细胞膜能力较差[2]。右丙亚胺(Dexrazoxane, DEX)为EDTA的衍生物,具有强的脂溶性和螯合铁离子能力。故本研究通过探讨在活体大鼠颅脑损伤模型上应用DEX,观察脑组织水和钠钾铁离子的含量变化,以期求证DEX是否能够降低脑组织内铁的蓄积,以及为深入了解去除铁蓄积能发挥保护脑组织作用的机制奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

雄性SD大鼠36只,年龄3~4个月,体质量300~350 g,由温州医学院实验动物中心提供。计算机编号随机抽取方法分为正常对照组6只,假手术组10只,损伤组10只和DEX治疗组10只。假手术组仅进行麻醉和颅骨钻孔,损伤组应用液压冲击法制作颅脑损伤模型[4],脑组织承受力量为冲击压200 kPa,该压力可造成大鼠中度程度的颅脑损伤。对所有的颅脑损伤大鼠按Longa等[5]评分法进行行为学评分:0分,没有神经功能缺损;1分,左前爪不能完全伸展;2分,行走时,大鼠向左侧转圈;3分,行走时,大鼠向左侧倾倒;4分,不能自发行走,有意识丧失(打击右侧)。选择评分在2~3分的大鼠进行实验。DEX治疗组大鼠在颅脑损伤后即刻给予DEX,每24小时给予专用溶媒配制的10 mg/kg的DEX(DEX为江苏奥赛康药业提供,DEX为冻干粉针剂,并配备0.167 mmol/L的乳酸钠溶液25 ml),通过尾静脉输入,连续3 d,所有组别均在实验开始3 d后处死大鼠进行后续实验。

1.2 动物模型建立

SD大鼠全麻后置于脑立体定位仪上,沿头皮矢状缝正中切开,暴露颅骨。在正中矢状钱左侧4.0 mm,人字缝后2.0 mm处钻一直径为3 mm的小孔,保护硬脑膜完整,将液压冲击接头用牙托树脂固定在颅骨小孔,孔周围密闭,待树脂凝固后将其连接至液压打击装置。以200 kPa压力冲击左侧顶叶皮质造成液压冲击脑损伤。

1.3 铁染色

正常对照组大鼠3只,假手术组,损伤组及治疗组大鼠各5只进行铁染色实验。伤后3 d,采用漂浮染色法,在距额极4 mm处作冠状位切片,厚约3 mm,沿中线分为左右两侧大脑半球,再将每一侧半球分成皮层和基底节两部分。切取大脑的基底节区并放置在4%的多聚甲醛溶液中12 h,然后浸泡在4 ℃ 25%蔗糖溶液中3~4 d,将基底节区沿冠状切面切成10 μm厚度的组织切片,用双蒸水洗切片后孵育在Perl溶液[6]中45 min,应用双蒸水洗6次,每次5 min,进行DAB染色。染色完成后将脑组织片贴于明矾铬包膜的玻片上,置室温干燥后部分以苏木精复染以便确定脑组织平面结构,观察铁阳性反应细胞占所有视野中细胞的比例。铁染色阳性细胞为细胞质中的深蓝色或黑褐色的块状沉积。

1.4 脑组织水和钠钾离子含量的测定

正常对照组大鼠3只,假手术组、损伤组及治疗组大鼠各5

作者简介:陈大庆,男,浙江省温州市人,主任医师,主要从事颅脑创伤方面的研究,发表论文20余篇。现在温州医学院附属第二医院急救中心。电话:(0577)88879132, E-mail:cdq@wzhealth.com
通信作者:赵洪洋,E-mail:hyzhao750@sina.com
收稿日期:2009-01-24;修回日期:2009-02-25

只进行该项实验。TBI 模型制作成功后 3 d 将大鼠麻醉后断头处死取出脑基底节区组织后立刻进行称量湿质量,然后将标本在 100 ℃下烘干 24 h 再进行称量干质量。脑组织水含量的计算公式为(湿质量 - 干质量)/湿质量。脱水后的标本应用 1 ml 的 1 mol/L 的硝酸消化 1 周,应用火焰光度仪测定钠和钾的含量,离子含量以每千克干质量中的离子毫克当量(mmol/kg)来表示。

1.5 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,两组均数比较用 t 检验,多组均数比较在确定方差齐性后进行 q 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠脑基底节区的铁染色情况

对照组铁阳性细胞的比例为(7.8 ± 2.2)%,假手术组铁阳性细胞的比例为(8.0 ± 1.9)%,损伤组铁阳性细胞的比例为(55.5 ± 12.6)%,与对照组和假手术组相比差异显著($P < 0.01$)。苏木精染色发现基底节区有较多铁染色强阳性细胞群傍血管现象,并夹有散在的红细胞。经过 DEX 治疗后铁阳性细胞的比例下降到(20.5 ± 4.4)%,与损伤组相比差异显著($P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠脑组织中水及钠钾离子的变化

损伤组的水、钠含量与对照组和假手术组相比均明显升高($P < 0.01$)。经过 DEX 治疗后有所下降,与损伤组相比差异显著($P < 0.01$)。而钾离子的含量在 4 组大鼠中无差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 伤后 3 d 各组大鼠脑基底节区脑组织水及钠钾离子含量($\bar{x} \pm s$)

组别	n	脑组织水含量(%)	基底节区钠离子含量(mmol/kg)	基底节区钾离子含量(mmol/kg)
对照组	3	39.0 ± 3.2	198.0 ± 22.7	400.8 ± 38.1
假手术组	5	42.1 ± 4.0	176.9 ± 20.3	418.0 ± 36.8
损伤组	5	90.2 ± 11.8[ab]	375.6 ± 47.1[ab]	420.1 ± 34.6
DEX 治疗组	5	62.4 ± 7.1[c]	292.3 ± 42.5[c]	438.5 ± 37.2

a: $P < 0.01$,与对照组比较; b: $P < 0.01$, 与假手术组比较; c: $P < 0.01$,与损伤组比较

3 讨论

研究发现在实验性缺氧缺血模型中铁离子的沉积明显增加[1]。本研究表明 TBI 后 3 d 发生了铁离子的沉积,具体表现在铁染色阳性细胞比例明显升高,这与上述的研究相一致。以往研究认为 TBI 后 3 d 铁的沉积达到高峰,同时以基底节区沉积最明显,因此本研究只检测了 TBI 后 3 d 的基底节区的铁沉积情况。但进一步的实验应该检测更密集的时间点及更确切的检测部位。另外本研究表明,TBI 后 3 d 脑基底节区水含量以及钠含量均有所增高。有关 TBI 后的水及离子变化的研究中,Nakamura 等[3]研究发现颅内出血大鼠大脑损伤 3 d 后损伤侧的大脑皮质和基底节区均发生了水含量以及钠离子含量的升高,而同侧的钾离子含量丢失,本研究结果与上述研究相同,但并没有发现钾离子的丢失现象,分析原因可能是颅脑损伤模型与 Nakamura 等[3]的脑出血模型在生理及生化的改变上不同所造成。

DEX 最初作为一种抗白血病药物应用于临床,后来发现其具有螯合铁离子,从而切断重金属离子触发的自由基反应的作用,大规模应用在蒽环药物心脏毒性的预防上[7]。近几年有关 DEX 的研究多集中在对心脑血管内皮细胞的保护上。已有大量实验证明,去铁敏可以降低颅脑出血引起的脑水肿的发生,提高 TBI 后动物运动功能的恢复,保持损伤的大脑的能量代谢等。DEX 与去铁敏相比,DEX 进入细胞膜的能力更强,具有更强的细胞内螯合铁的能力[3]。因此本实验选择应用 DEX 观察是否能够更好地治疗 TBI 所带来的相关并发症。本实验结果显示,应用 DEX 可以有效的降低 TBI 后的脑水和钠离子的含量,也降低 TBI 后的铁的沉积,这与先前的去铁敏的功能是类似的。但本实验并没有比较 DEX 与去铁敏在保护 TBI 方面谁的功能更强,有关进一步的实验还需要详细探讨这方面的问题。

综上所述,TBI 后基底节区水和钠离子含量明显上升,其原因可能与铁的沉积相关,DEX 可以通过螯合铁离子而降低脑组织水及钠离子的含量,从而起到对 TBI 的保护作用。

参考文献:

[1] Rouault T A, Cooperman S. Brain iron metabolism[J]. Semin Pediatr Neurol, 2006, 13(3): 142 - 148.

[2] Hasinoff B B. The use of dexrazoxane for the prevention of anthracycline extravasation injury[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2008, 17(2): 217 - 223.

[3] Nakamura T, Keep R F, Hua Y, *et al*. Deferoxamine-induced attenuation of brain edema and neurological deficits in a rat model of intracerebral hemorrhage[J]. Neurosurg Focus, 2003, 15 (4): ECP4.

[4] 李力仙,王天佑,钟震宇. 自由落体和液压致大鼠脑损伤的对比研究[J]. 中华实验外科杂志, 1999, 16(5): 447 - 448.

[5] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al*. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20 (1): 84 - 91.

[6] Ikonomidou C, Stefovska V, Turski L. Neuronal death enhanced by N-methyl-D-aspartate antagonists[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(23): 12885 - 12890.

[7] Lyu Y L, Kerrigan J E, Lin C P, *et al*. Topoisomerase IIbeta mediated DNA double-strand breaks: implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane[J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8839 - 8846.

(编辑 王小寒)