维普资讯 http://www.cqvip.com

依达拉奉对脑外伤后大鼠的神经保护作用

刘 亮[1],廖达光[2],曾志诚[3] (1.宁乡人民医院神经外科,湖南 宁乡 410600;2.中南大学湘雅三医院神经外科,湖南 长沙 410000;3.中南大学湘雅医学院基础医学院,湖南 长沙 410078)

[摘 要] **目的** 研究自由基清除剂依达拉奉对大鼠颅脑外伤的保护作用。**方法** 将SD大鼠分为依达拉奉组(n=32)和对照组(n=32)。利用自制自由落体撞击装置,制作脑外伤模型。撞击前30 min及伤后3 h尾静脉给药。分4个时间点于外伤后6 h、24 h、3 d、7 d分别处死实验组和对照组。TUNEL法检测凋亡,免疫组化法分析8-羟基-脱氧鸟苷。**结果** 外伤后初期依达拉奉对大鼠生理指标没有明显的影响($P>0.05$);但依达拉奉治疗后的脑外伤大鼠相对对照组神经功能评分明显减少($P<0.05$);神经元的凋亡情况也有显著的减少($P<0.05$),同时显著减少外伤后脑组织中8-羟基-脱氧鸟苷含量($P<0.05$)。**结论** 依达拉奉对脑外伤大鼠有很好的神经保护作用,其作用机制可能与清除氧自由基,减轻脑水肿有关。

[关键词] 依达拉奉;氧自由基;TUNEL;8-羟基-脱氧鸟苷;脑外伤
[中图分类号] R651.15 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2006)06-0378-03

Neuroprotective effect of edaravone on cerebral trauma rats

LIU Liang, LIAO Da-guang, ZENG Zhi-cheng (Department of Neurosurgery, Ningxiang People's Hospital, Changsha 410600, China)

Abstract: Objective To investigate the neuroprotective effect of edaravone, a kind of free radical scavenger on cerebral trauma rats. **Methods** To separate SD rats into group experimental (n=32) and group control (n=32). Knock-on device was used to create cerebral trauma model. Both groups were administered with edaravone by caudal vein 30 minutes before and 3 hours after knocking. To execute the two groups of rats after injured 6 hours, 24 hours, 3 days and 7 days, detected cerebral cell apoptosis by TUNEL, and analyzing 8-hydroxy-deoxyguanosine levels by immunohistochemistry. **Results** Edaravone seemed to put no significant influence on physiological index of rats during the early period of injury ($P>0.05$). But it obviously reduced neurologic function score of group experimental compared to group control ($P<0.05$). Meanwhile, the neuron apoptosis of group experimental significantly decreased as well. Edaravone markedly suppressed the 8-hydroxy-deoxyguanosine in injury tissue ($P<0.05$). **Conclusion** Edaravone exerted neuroprotective effect on cerebral trauma rats. And the mechanism is possibly related to scavenging the free radicals and reducing brain edema.

Keywords: edaravone; oxygen free radical; TUNEL; 8-OhdG; cerebral trauma

脑外伤占全身创伤发生率的第二位,但其死残率则是第一位。外伤后脑组织的病理变化是一个复杂的过程,其中核心环节之一是外伤后脑组织自身清除氧自由基的能力减弱。依达拉奉是日本开发的一种具有捕获羟自由基(·OH)的活性抗氧剂。它有清除自由基抑制脂质过氧化作用,可抑制脑细胞的过氧化作用,从而减轻脑缺血和脑缺血引起的脑水肿及组织损伤[1]。临床上依达拉奉已广泛应用于急性脑梗死。而对于脑外伤的报道尚少。本文采用动物实验方法,评价依达拉奉对脑外伤疗效。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

依达拉奉(江苏先声药业集团),TUNEL检测试剂盒(武汉博士德公司),其他试剂均为市售分析纯产品。

1.2 动物模型制备

2月龄至3月龄健康SD大鼠64只(250~300 g),雌雄各半。将大鼠随机分为实验组和对照组。每个组按处死时间点的不同分为4个亚组,分别为6 h(n=8)、24 h(n=8)、3 d(n=8)、7 d(n=8)。用10%水合氯醛300 mg/kg腹腔注射,动物麻醉后实验组经尾静脉注射依达拉奉3 mg/kg,对照组注射生理盐水2 ml/kg。30 min后使用经典的自由落体撞击法致大鼠脑外伤。

1.3 生理指标的监测

麻醉大鼠行左侧股动脉插管,监测记录外伤后30 min和1.5 h的平均动脉压(MABP),并抽血分析动脉血气和血糖水平。整个实验操作过程大鼠的体温在恒温垫的调节下维持在(37.0±0.3)℃。

1.4 神经症状评分

脑外伤后30 min及1.5 h采用Longa[2]和Katsumata[3]的方法分别观察并记录大鼠神经功能缺失症状。

1.5 TUNEL法检测凋亡细胞

[作者简介] 刘 亮(1971-),男,湖南省宁乡县人,副主任医师,硕士,主要从事神经外科临床和基础方面的研究。电话:(0731)7872511-6007
[收稿日期] 2006-06-20 [修回日期] 2006-08-30

维普资讯 http://www.cqvip.com

大鼠经过生理盐水和4%多聚甲醛快速灌注后，完整取出脑组织，置于4%多聚甲醛浸泡3~4 d后，移入30%蔗糖溶液4℃下浸泡沉底2 d。固定后的脑组织作20 μm厚的冰冻切片，再经TUNEL试剂盒处理后苏木素染色，400倍光镜下记数凋亡阳性细胞数。

1.6 免疫组化染色测8-羟基-脱氧鸟苷

取上一步处理好的冰冻切片，PBS清洗后，在PBS配置的0.3%的双氧水孵育30 min，然后在4℃用含鼠单克隆抗体抗8-羟基-脱氧鸟苷(100∶1, Sigma公司)的液体中孵育过夜，检测氧化的DNA损害。

1.7 统计学处理

数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，采用SPSS11.5统计软件，以单因素方差分析 t 检验作差异的显著性分析。

2 结果

2.1 外伤后两组大鼠生理指标

两组大鼠在外伤后30 min和1.5 h，依达拉奉对大鼠的血气、平均动脉压以及血糖没有明显的影响($P>0.05$)，见表1。

表1 依达拉奉对脑外伤后大鼠生理指标的影响($\bar{x}\pm s$, $n=32$)

指标	实验组		对照组	
	30 min	1.5 h	30 min	1.5 h
pH	7.361±0.026	7.851±0.028	7.375±0.040	7.366±0.020
PO_2(mmHg)	104.4±12.7	109.0±20.1	108.8±12.3	110.5±16.5
PCO_2(mmHg)	49.1±5.1	52.3±6.0	49.5±4.6	51.2±3.1
MAIBP(mmHg)	97.8±16.2	101.0±12.3	98.3±10.9	104±3.5
血糖(mmol/L)	7.81±0.63	8.23±0.46	8.45±0.34	8.48±0.51

2.2 两组大鼠神经症状评分

脑外伤后，大鼠均出现明显的神经症状。静脉注射依达拉奉组能减轻神经症状，但在外伤后不同的时间点，神经症状的改善有所不同。伤后的3 d实验组和对照组神经症状评分没有统计学差异；而在伤后6 h、24 h以及7 d实验组神经症状与对照组则有明显差异($P<0.05$)，见表2。

表2 依达拉奉对脑外伤后神经症状的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	6 h	24 h	3 d	7 d
实验组	1.9±0.4*	1.7±0.2*	1.8±0.3	1.7±0.5*
对照组	2.4±0.5	2.1±0.3	2.0±0.4	2.3±0.4

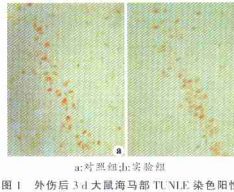
*:与对照组比较，$P<0.05$

2.3 依达拉奉对外伤后神经元凋亡的影响

在两组大鼠的海马部可以见到一定数量的TUNEL染色阳性的凋亡细胞(图1)。注射依达拉奉后的TUNEL阳性细胞相对于对照组在4个时间点均有减少(图2)。但与伤后6 h(54.2±5.58)、伤后3 d(33.5±6.21)和7 d(31.5±6.01)比较，有显著的差异($P<0.05$)，而与24 h(40.1±5.41)比较没有统计学差异($P>0.05$)。

2.4 依达拉奉对DNA氧化损害的抑制作用

本文确定DNA的氧化损伤是通过检测8-羟基-脱氧鸟苷。对照组中外伤6 h后8-羟基-脱氧鸟苷就可以在缺血区的神经元胞核明显检测到，8-羟基-脱氧鸟苷阳性细胞可以在缺血区域的任何位置检测到，同时其数量呈一定的时间依赖性。而实验组的阳性细胞在外伤后早期却很少，免疫组化表达较弱。在各时间点对照组与实验组有显著差异($P<0.05$)，8-羟基-脱氧鸟苷在伤后6 h开始即被依达拉奉很好的抑制，一直持续到伤后7 d(图3)。



a:对照组;b:实验组

图1 外伤后3 d大鼠海马部TUNLE染色阳性凋亡细胞胞核呈褐色(×400)

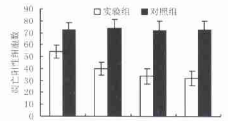


图2 依达拉奉对外伤后神经元凋亡的影响

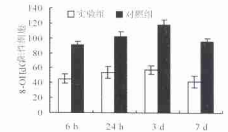


图3 依达拉奉对外伤后DNA的保护作用

3 讨论

依达拉奉是一种羟自由基清除剂及抗氧化剂，外伤后病灶可产生一种稳定的自由基1,1-二苯基-2-间硝基苯骼腙(DPPH)，研究表明DPPH与缺血后脑损伤有密切的联系，而本品对其却有明显的消除作用[4]；其次它也能防止由15-HPETE(AA代谢系统的脂质过氧化中间产物之一)引起的细胞过氧化损伤[5]，抑制迟发性神经元死亡，新的研究表明依达拉奉同时通过抑制DNA的氧化损伤而发挥其抗氧化作用；它

维普资讯 http://www.cqvip.com

还能防止血管内皮细胞损伤，发挥有益的抗缺血作用，增加血流，改善血供，对抗损伤所致的血管痉挛和血流下降，从而对损伤组织起保护作用。

有研究显示依达拉奉的使用能够显著的减少TUNEL凋亡细胞，这一减少与Bax/Bcl-2有一定的相关性，依达拉奉能减少胞核中Bax的表达，而增加Bcl-2的表达[6]。早期的研究证实Bcl-2家族蛋白能调节早期凋亡，而且凋亡蛋白Bax和抗凋亡蛋白Bcl-2的相互作用在凋亡中起到重要的作用[7]。由此推测，依达拉奉抗凋亡的作用很可能是通过Bax/Bcl-2途径，但具体的通路目前还不明确。

本研究在自由落体脑外伤模型的基础上，观察自由基清除剂对创伤后大鼠脑组织的保护作用。结果显示，在外伤后初期1.5 h内依达拉奉对大鼠的生理指标没有明显的影响。但使用依达拉奉治疗后的脑外伤大鼠神经功能评分明显减少，神经元的凋亡情况也比对照组有显著的减少，同时对外伤后脑组织DNA的氧化损害有很好的保护作用。由此充分说明依达拉奉对脑创伤后大鼠有很好的神经保护作用。

[参考文献]

[1] 杨 政，吴玉林. 治疗急性脑梗死的新型脑保护药依达拉奉[J]. 中国新药杂志, 2002,11(12):911-913.

[2] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989,20(1):84-91.

[3] Katsumata T, Muramatsu H, Nakamura H, et al. Neuroprotective effect of NS-7, a novel Na^+ and Ca^{2+} channel blocker, in a focal ischemic model in the rat[J]. Brain Res, 2003,969(1-2):168-174.

[4] 渡边俊明，幸敏志，齐藤健一，他. 新规脑保护药MCI2186药理学的检讨[J]. 药理と治疗, 1997,25(Suppl 7):S181-S18.

[5] Mizuno A, Umemura K, Nakashima M. Inhibitory effect of MCI-186, a free radical scavenger, on cerebral ischemia following rat middle cerebral artery occlusion[J]. Gen Pharmacol, 1998,30(4):575-578.

[6] Amemiya S, Kamiya T, Nito C, et al. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of edaravone following transient focal ischemia in rats[J]. Eur J Pharmacol, 2005,516(2):125-130.

[7] Merry DE, Korsmeyer SJ. Bcl-2 gene family in the nervous system[J]. Annu Rev Neurosci, 1997,20:245 - 267.

(编辑：余汇洋)

·个案与短篇·

及时应用气管切开术拯救急重患者的体会

王 红，张 军 (牡丹江林业中心医院五官科，黑龙江 牡丹江 157011)

[关键词] 急救；气管切开术；重症患者
[中图分类号] R459.7 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2006)06-0380-02

气管切开术在重症急救中应用，能救治呼吸衰竭，改善呼吸道通畅，减轻机体各组织器官的乏氧状态等起着关键的作用。我院1995年至2005年间共实施了408例气管切开术，现报告如下。

1 资料与方法

本组408例患者，男272例，女136例，年龄18~78岁，平均36.2岁。均属危重患者，其中森林脑炎145例，高血压脑出血78例，大面积脑梗塞52例，颅脑外伤48例，颈胸脊柱外伤及病变33例，胸外伤伴血气胸18例，急性喉梗阻16例，肺感染致呼吸窘迫综合症12例，格林巴利综合征(GBS)4例，药物中毒及一氧化碳中毒2例。408例患者全部采用正规的气管切开，颈前正中纵行切口397例，环状软骨下缘1 cm沿皮肤横纹弧形切口11例，切开后放入带气囊的气管套管，从气管套管处清理呼吸道分泌物，给氧，保持呼吸道通畅。必要时使用呼吸机协助呼吸。

2 结果

气管切开并给氧或连接呼吸机后，血氧饱和度立即上升至98%~100%。408例气管切开患者中除82例死于原发病或全身衰竭，1例因气管切口处大血管破裂窒息死亡外，其余326例均抢救成功，成功率79.9%。患者原发病恢复后拔除气管套管，切口大部分一期愈合，个别患者因病后体质差致使切口二期愈合。

3 讨论

森脑病人呼吸衰竭的因素是约半数以上的病人起病急，症状重，高热头痛，恶心呕吐，很快进入惊厥抽搐，意识障碍，重度昏迷状态。由于吞咽，咳嗽反射的消失，分泌物和呕吐物大量滞留在咽喉，气管或大气管内，严重影响气体的交换。因此早期不失时机的气管切开就成为救治森脑引起的呼吸衰竭的重要方法，为森脑的进一步治疗赢得时间，从而降低森脑病死率。高血压脑病、大面积脑梗塞、严重颅脑损伤患者，由于颅内高压，脑干损伤，严重并发伤及休克时，血流动力学改变，呼吸道不通畅，伤后并发神经源性肺水肿(NPE)，使机体氧供需矛盾增大，其结果会加重脑水肿，增加颅内压，肺内血管收缩，使肺动脉压增加，外周血管收缩使肺动脉楔压增高，中心静脉压增加，有发生肺水肿

[收稿日期] 2006-09-02 [修回日期] 2006-11-10

(下转404页)