维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2003年第12卷第1期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2003, Vol.12, No.1

·论 著·

硫酸镁和低分子肝素联合应用对海马迟发性神经元坏死的保护作用

谷新医* 乔香兰** 王复新**

【摘 要】 目的 研究硫酸镁和低分子肝素在短暂局灶性脑缺血再灌注后海马迟发性神经元坏死中的保护作用。方法 新西兰大白兔夹闭单侧颈总动脉制成模型，缺血30 min再灌注72 h后通过HE染色进行组织观察，同时检测血清中IL-8的含量，探讨硫酸镁和低分子肝素对保护脑的作用机制。结果 硫酸镁联合低分子肝素治疗组迟发性神经元坏死程度显著低于盐水治疗组，低分子肝素能降低缺血再灌注后血清中的IL-8含量。结论 IL-8做为一种急性炎症的趋化因子，在脑缺血时升高，可作为脑缺血炎症期或再灌注损伤重要的观察指标之一。硫酸镁没有抗炎作用，单用硫酸镁或低分子肝素的治疗效果，没有联合应用的治疗效果显著。

【关键词】 肝素；硫酸镁；缺血再灌注；迟发性神经元坏死

Protective effects of magnesium sulfate and low molecule heparin on ischemic reperfusion-induced hippocampal delayed neuronal death *Gu Xinyi, Qiao Xianglan, Wang Fuxin. Department of Neurology, The United and Friendship Hospital of China and Japan, Jilin University, Changchun* 130031

【**Abstract**】 **Objective** To study the role of magnesium sulfate and low molecular heparin (LMH) in hippocampal delayed neuronal death (DND) after transient local ischemic-reperfusion. **Methods** Ischemic-reperfusion model was made by clamping the common carotid artery of one side for 30 min and then reperfused for 72 h. Sections of hippocampus were staind by HE and studied. Serum IL-8 was determined by ELISA. **Results** The severity of neuronal damage in magnesium sulfate and LMH treated groups was significantly lower than that of saline treated group. LMH could decrese the serum content of IL-8 after ischemic reperfusion. **Conclusion** IL-8 can be an inflammatory factor during the ischemic and reperfusion injury. Magnesium sulfate has no anti-inflammation function. Administration of magnesium sulfate and LMH may exert protective effect on DND.

【**Key words**】 Low molecular heparin; Magnesium sulfate; Ischemic-reperfusion; Delayed neuronal death (DND)

缺血性脑血管疾病的治疗，以溶栓、降纤、抗凝和脑保护措施为主，以达到重建血流，缩小梗塞面积的治疗作用。镁制剂可以阻滞兴奋性氨基酸介导的钙离子内流、血管舒张、抗氧化、抗内皮素等作用进行脑保护，低分子肝素具有抗凝、抗动脉硬化、抗炎、抗过敏、抗白细胞聚集等作用。本研究以新西兰大白兔为短暂局灶性脑缺血再灌注的动物模型，探讨了硫酸镁与低分子肝素联合应用对脑缺血再灌注后海马区迟发性神经元坏死的保护作用。

材料和方法

一、材料

1.动物：新西兰大白兔40只，2.5～3.5 kg/只，由本校动物室提供。

2.IL-8试剂盒购自GENZYME公司特许分装的深圳晶美生物工程有限公司，按试剂盒内说明操作。

二、方法

1.动物缺血再灌注模型建立：200 g/kg乌拉坦耳缘静脉缓慢麻醉，沿正中线纵向切开皮肤。右手用蚊式止血钳或玻璃针顺血管神经束内神经和血管行走方向分离出颈总动脉，用无损伤血管夹夹闭一侧颈总动脉30 min后，放开血管夹，使颈动脉再灌流。

2.再灌注24 h后兔神经病学体征评分：0分：无神经损伤体征；1分：病灶对侧前爪不能完全伸展；2分：除上述征象外并有瘫痪侧阻力下降；3分：除上述征象外，活动时有向瘫痪侧倾倒；4分：不能自发行走，意识丧失。

3.模型成功的兔在72 h后深度麻醉，开胸暴露心脏，自右心房取血2 ml，37.4 ℃孵育3 h，然后2 000 r/min离心，分离血清，封存，置-20℃冰箱中待测。

4.病理检查：经左心室灌注4 ℃低分子肝素生理盐水150 ml后，迅速断头取脑，冰盘分离海马，4 %福尔马林浸泡，石蜡包埋，连续冠状切片，厚度5～6 μm。分别做HE染色、尼氏小体染色。

* 作者单位：130031 长春市吉林大学中日联谊医院神经内科
** 黑龙江省佳木斯大学第一附属医院神经内科

维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2003年第12卷第1期
Chin J Regional Anat & Operative Surg,2003,Vol.12,No.1

三、统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示，用 t 检验判断进行统计学分析。锥体细胞记数组间采用 χ^2 检验。

结　果

除2只兔死于麻醉意外，其余兔全部存活。

一、录像结果

模型成功的兔子：1.翻正反射消失；2.屈肌力弱，前肢重于后肢，蹲卧时易左右倾斜，方向不定，行走动作缓慢，有或左或右前栽倾倒现象，而不是血管夹闭对侧的偏瘫体征。

二、神经病学体征评分

假手术组与生理盐水组麻醉苏醒时间及神经病学体征评分见表1。生理盐水组与假手术组有显著性差异($P<0.05$)。硫酸镁组，低分子肝素 组，硫酸镁与低分子肝素联合应用组与生理盐水组均有显著差异($P<0.05$)。硫酸镁组、低分子肝素组和硫酸镁与低分子肝素联合应用组均有显著性差异($P<0.05$)。

表1　各组麻醉苏醒时间比较及24 h神经病学体征评分

组别	例数	麻醉苏醒时间(min)	神经病学体征评分
假手术组	8	68±46	0
生理盐水组	8	234±70	2.9±0.50
硫酸镁组	8	150±50*△	1.5±0.45*△
低分子肝素组	8	152±52*△	1.8±0.50*△
联合组	8	112±46*	0.9±0.40*

注：与生理盐水组比较，*$P<0.05$，与联合组比较，△$P<0.05$

三、病理检查

缺血再灌注后海马区 CA1 区锥体细胞大部分死亡，硫酸镁和低分子肝素联合应用可减少 CA1 区锥体细胞死亡的数目($P<0.05$)，见表2。硫酸镁组，低分子肝素组，硫酸镁联合低分子肝素组与生理盐水组均有显著性差异($P<0.05$)。硫酸镁联合低分子肝素组与生理盐水组、硫酸镁组、低分子肝素组均有显著性差异($p<0.05$)。硫酸镁组与低分子肝素组无显著性差异。

表2　各组病理定量分析CA1区破坏的锥体细胞数(%)

组别	N	锥体细胞死亡数/锥体细胞百分数($\bar{x} \pm s$)
假手术组	8	0±0
生理发盐水组	8	71.4±6.2
硫酸镁组	8	49.9±5.7△*
低分子肝素组	8	50.1±3.4△*
联合组	8	34.3±2.3*

注：与生理盐水组比较，*$P<0.05$；与联合组比较，△$P<0.05$

四、IL-8的血清含量

硫酸镁对 IL-8 无影响，低分子肝素可降低局部含量。由表3看出，硫酸镁组与生理盐水组比较无显著性差异($P>0.05$)；生理盐水组与低分子肝素组、硫酸镁加低分子肝素组均有显著性差异($p<0.05$)。

表3　各组血清中的IL-8含量(PG/ML)

组　别	N	含　量
假手术组	8	1.84±0.48
生理盐水组	8	5.86±0.56
硫酸镁组	8	5.80±0.45△
低分子肝素组	8	3.96± 0.50*△
联合组	8	3.80±0.52*

注：与生理盐水组比较，*$P<0.05$；与联合组比较，△$P<0.05$

讨　论

缺血性脑血管疾病的治疗，以溶栓、降纤、抗凝和脑保护措施为主，以达到重建血流缩小梗塞面积的治疗效果。镁制剂可以阻滞兴奋性氨基酸介导的钙离子内流、血管舒张、抗氧化、抗内皮素等，低分子肝素又具有抗凝、抗动脉硬化、抗炎、抗过敏抗白细胞聚集等作用，实现其对缺血再灌注后迟发性神经元坏死的脑保护。

一、脑缺血再灌注损伤与白细胞介素-8的关系

短暂脑缺血后再灌注能引起人类啮齿类动物海马CA1区锥体神经元的细胞死亡，表现为CA1区锥体细胞数的减少和海马结构的部分破坏，而其他神经元却不易受破坏，这种现象常在再缺血后3～4 d出现，故常称其为迟发性神经元坏死[3]。脑缺血后主要是海马CA1区神经细胞出现迟发性坏死，而附近的神经元却对缺血有耐受性。其机制主要是[1]：1.兴奋性氨基酸毒性；2.脂质过氧化和自由基产生；3.钙超载；4.过度炎性反应。在炎性反应中，中性粒细胞通过黏附分子黏附于血管内壁并浸入组织，引起脑缺血再灌注后的低灌注，其浸润程度与趋化因子的浓度有关，IL-8是主要的趋化因子之一。IL-8主要来源于单核细胞和血管内皮细胞，具有广泛的生物学活性，对嗜中性粒细胞、T淋巴细胞和碱性粒细胞具有强烈的趋化作用，对嗜酸性粒细胞也有趋化活 性。IL-8可促进内皮细胞释放一氧化氮，扩张血管平滑肌。由动脉闭塞产生的缺血性脑损伤，以局部急性炎症反应为特征。因此，IL-8可能参与了缺血性脑损伤的发病过程。本实验缺血组IL-8含量均增高，与对照组比较具有

维普资讯 http://www.cqvip.com

显著性差异，证实 IL－8 确实为脑缺血再灌注损伤的重要标志之一。

二、硫酸镁与低分子肝素脑缺血再灌注损伤的保护作用

急性缺血性脑卒中的神经元死亡一般按时间可分为两个过程，即直接缺血所致的神经元死亡和迟发性神经元损伤。前者发生在卒中后 24 h 内，后者主要为缺血再灌注所引起的神经元损伤，其发病机制与钙超载—缺血瀑布、自由基的大量产生、兴奋性氨基酸的毒性及酸中毒损害有关。而治疗的主要目的是阻止迟发性神经元损害，保护半暗带内神经细胞，最重要的是尽早恢复血液供应，防止钙超载，清除自由基，减少兴奋性氨基酸的毒性和减轻酸中毒。而镁离子作为一种天然的钙离子通道阻滞剂在神经元的保护中起着重要作用。低分子肝素具有较弱抗凝作用而较强抗血栓作用的特点，被普遍认为是一种较有前途的抗血栓新药。低分子肝素通过抗凝血因子－3 从而抑制血栓形成，通过调整血脂和脂蛋白、保护血管内皮细胞、抑制血管平滑肌细胞增生，实现抗动脉粥样硬化的病理过程。低分子肝素能抑制补体系统及白细胞的趋化性，中和许多致炎因子，降低白细胞的通透性，因此具有一定的抗炎作用。本实验结果表明：LI－8 的血清含量在硫酸镁组与生理盐水组比较中无显著性差异（$P > 0.05$），生理盐水组与低分子肝素组、硫酸镁加低分子肝素组均有显著性差异（$p < 0.05$），表明硫酸镁对 IL－8 无影响，低分子肝素可降低血清 IL－8 含量。说明硫酸镁的保护作用不是通过降低血清中 IL－8 的含量来实现的，低分子肝素对缺血再灌注损伤的神经元坏死（即锥体细胞的死亡）的保护作用，是通过降低血清中 IL－8、进而抗白细胞聚集来实现的。根据本实验在麻醉苏醒时间及神经病学体征评分，硫酸镁组、低分子肝素组与硫酸镁和低分子肝素联合应用组均有显著性差异（$P < 0.05$）。病理检查缺血再灌注后海马区 CA1 区锥体细胞的存亡情况，硫酸镁组、低分子肝素组与硫酸镁和低分子肝素联合应用组均有显著性差异。因为硫酸镁没有抗炎作用，而缺血再灌注最主要的病理改变是中性粒细胞聚集的炎症反应，低分子肝素具有抗炎抗白细胞聚集的作用，所以单一采用硫酸镁或低分子肝素的效果，没有联合应用的治疗效果显著。

参 考 文 献

1. 李惠勉，李建章，姚淑芬，等. 兔脑缺血模型的建立. 河南医科大学学报，1998，33：148.
2. Haseldonck XM，Jos VR，Mies VV，et al. Protection with lubeluzole against delayed ischemic brain damage in rat，a quantitative histopathologic study. Stroke，1997，28(2)：428－432.
3. Yang GY，Pak HC，Chen J，et al. Human copper-zinc superoxide dismutase transgenic mice are highly resistant to reperfusion injury after focal cerebral ischemia. Stroke，1994，25：165－170.

（收稿日期：2002－06－10）

第七届全国局解手术学学术年会征文通知（第一轮）

第七届全国局解手术学学术年会经学组研究决定，并报中华医学会外科学会批准，将于 2003 年 7 月 26～30 日在云南大理召开。会期四天。为了充实学术内容，促进全国局解手术学事业的发展，本次学术会议研讨主要课题如下：

1. 局部解剖与手术学实验及临床科学研究。
2. 各学科手术技术改进，新技术的应用。
3. 临床手术经验报告（含围手术期的处理）。
4. 局部解剖与手术学发展设想与展望。
5. 局部解剖与手术学教学研究、教学经验、教学模式与课程设置探讨。
6. 局解手术标本制作技术革新，教具及多媒体软件的开发应用，手术实验室的建设改进。
7. 特邀有关外科及解剖学界专家做专题讲座。

特邀本专业的国内外学者和医护人员参加学术交流。我们将以丰富详实的会议内容和良好周到的服务竭诚欢迎您的到来。来稿请在信封上注明会议征文字样。

投稿地址：沈阳市中国医科大学第一临床医院局解手术学教研室 凌光烈 教授（收），邮编：110001

截稿日期：2003 年 5 月 30 日

稿件要求：摘要（1000 字以内）及全文各一份。

中华外科学会局解手术学学组
中国局解手术学杂志
2003 年 2 月 20 日