维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)08-0963-04

长托宁预先给药对大鼠感染性脑水肿的影响

涂真真,高 进,陈 萍

(重庆医科大学附属第一医院麻醉科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨长托宁(Penehyclidinehydrochloride,PHCD)对感染性脑水肿保护作用。方法:雄性 S-D 大鼠 105 只,200~220g,随机分为 5 组(n=21 只):对照组(C 组)、水肿组(L 组)、长托宁低、中、高剂量组(DL 组 0.05mg/kg、DM 组 0.15mg/kg 和 DH 组 0.45mg/kg)。向颈内动脉注射脂多糖(Lipopolysaccharide,LPS)150μg(0.15ml) 建立大鼠感染性脑水肿模型。C 组和 L 组腹腔注射生理盐水 1ml,10min 后向左颈内动脉注入无菌生理盐水 0.15ml 或 LPS0.15ml;DL 组、DM 组 DH 组在注射 LPS10min 前分别腹腔给予 0.05mg/kg、0.15mg/kg、0.45mg/kg 长托宁。每组分别在手术后 4h、6h 和 12h 随机处死 7 只大鼠,每个时间点的 5 只用于测定脑组织含水量变化和光镜观察,其余 2 只电镜观察脑组织病理形态改变。结果:与 C 组相比,L 组、DL 组、DM 组和 DH 组各时间点脑含水量增加(P<0.05);与 L 组比较,DL 组脑含水量改变不明显(P>0.05),DM 组和 DH 组脑含水量明显减少(P<0.05)。DM 组和 DH 组病理学损伤较 L 组轻。结论:中高剂量长托宁预先给药可明显减轻脑水肿,改善血管内皮和神经元的损伤,对感染性脑水肿有治疗作用。

【关键词】长托宁;感染;脑水肿

【中国图书分类法分类号】R614 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-11-15

Effects of penehyclidine pretreatmeat on endotoxin-induced cerebral edema in rats

TU Zhen-zhen, et al

(*Department of anesthesiology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of Penehyclidinehydrochloride(PHCD) on endotoxin-induced cerebral edema. *Methods*: one handred and five S-D male rats(200~220g)were randomly divided into 5 groups(n=21): groupC control; groupL LPS; group DL, DM and DH received intraperitoneal PHCD 0.05, 0.15 or 0.45mg/kg 10min before lipopolysaccharide (LPS) administration. Cerebral edema was induced by internal carotid arterial LPS 150μg. Seven animals each group were decapitated at 4、6 and 12h after operation and their brains were immediately removed for determination of water content of brain and microscopic examination. *Results*: Administration of LPS caused severe brain damage and significantly increased water content of the brain. The LPS-induced changes were mitigated by pretreatment with different doses of PHCD in groupDM and DH, but there was no significant difference between the two groups. *Conclusion*: Pretreatment with PHCD can attenuate LPS-induced cerebral edema.

【Key words】 Penehyclidinehydrochloride; Infection; Cerebral edema

感染性脑水肿是感染引起的,血管源性为主的急性弥漫性混合性脑水肿。目前治疗感染性脑水肿的手段有限,相关研究不多,制约了治疗感染性脑水肿深层次研究的开展。在前人研究基础上,本实验采用有选择性能通过血脑屏障新型抗胆碱药 PHCD,拟观察不同剂量长托宁预先给药对感染大鼠脑组织含水量和病理形态学的影响,探讨长托宁对大鼠感染性脑水肿治疗作用。

作者介绍: 涂真真(1980-),女,硕士,研究方向:心脑保护。

通讯作者: 陈 萍,女,教授,E-mail:pingping620814@sina.com。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

脂多糖(LPS,E.Coli O55:B5,Sigma 公司,美国);长托宁(PHCD 批号:051104-1,成都力思特制药股份有限公司提供)。

1.2 实验动物和分组

105 只健康雄性 S-D 大鼠,200~220g(由重庆医科大学

维普资讯 http://www.cqvip.com

动物实验中心提供),随机分为 5 组(n=21):对照组(C 组)、水肿组(L 组)、长托宁低、中、高剂量组(DL 组 0.05mg/kg、DM 组 0.15mg/kg 和 DH 组 0.45mg/kg)。C 组和 L 组腹腔注射生理盐水 1ml,10min 后向左颈内动脉注入无菌生理盐水 0.15ml 或 LPS 150μg(0.15ml);DL 组、DM 组 DH 组分别腹腔给予 0.05mg/kg、0.15mg/kg、0.45 mg/kg 长托宁,10min 后向左颈内动脉注入 LPS150μg(0.15ml)。各组动物手术后观察至 4h、6h 和 12h 分别处死,根据观察时间不同分为 3 个亚组,每个亚组 7 只。

1.3 模型制作

按照参考文献[1]方法,大鼠以 10%水合醛(350mg/kg)腹腔注射麻醉,仰卧位固定。取颈正中切口,依次分离出左颈总动脉、左颈外动脉、左颈内动脉。先结扎左颈外动脉,而后用微动脉钳夹闭左颈总动脉近心端,在左颈总动脉远心端穿刺,按实验组别向颈内动脉注入 LPS 150μg(0.15ml)或无菌生理盐水,15s 内注射完毕,松开动脉夹,拔出穿刺针,压迫止血缝合伤口。

1.4 标本的制备

每组各取 5 只动物,经腹腔注射 10%水合氯醛(350mg/kg)麻醉后,快速断头取脑。在脑组织中后 1/3 处经冠状面切取约 2mm 厚脑片置于 4%多聚甲醛中固定,石蜡包块切片后用于光镜检查,其余脑组织用于测含水量。各组取剩下 2 只大鼠,腹腔注射 10%水合氯醛(350mg/kg)麻醉后,以 2.5%戊二醛固定液从左心室灌注固定 30min,断头取脑,约取脑组织 1mm^3 置于上述固定液中,4℃冰箱保存过夜,常规脱水包埋制片,用于电镜检测。

1.5 脑组织含水量的测定

采用干湿法测定脑组织含水量。测重用电子天平,测湿重后将脑组织放入(100±5)℃烤箱内烘干 24h,称量干重,计算,脑组织含水量 = [(脑组织湿重−脑组织干重)/湿重]×100%。

1.6 光镜和电镜检测

脑组织经 4%多聚甲醛液固定,石蜡包块切片后,HE 染色,光镜下观察脑组织细胞受损情况;脑组织经 2.5%戊二醛固定,4℃冰箱保存过夜,常规脱水包埋制片,在 Hiachi-7500 型电镜下观察。

1.7 统计学处理

采用 SAS8.2 软件分析,计量资料均用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用析因分析的方差分析,P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 脑组织含水量

与对照组比,水肿组和长托宁各剂量组在各时间点脑水肿程度明显增高(P<0.05)。与 L 组比较,DL 组在各时间点脑组织含水量相对稳定(P>0.05);DM 组和 DH 组脑组织含水量明显减少(P<0.05),且脑水肿在 6h 达高峰,12h 仍维持在较高水平。见表 1。

2.2 HE 染色光镜观察

各时间点 L 组肉眼可见脑组织明显水肿,呈暗

表 1 各组大鼠脑组织含水量%(n=5,$\bar{x}\pm s$)

	C	L	DL	DM	DH
4h	78.37±0.44	81.86±0.96*	81.55±0.94	80.30±0.47*#	79.45±0.89*#
6h	78.29±0.90	83.14±0.75*	82.71±0.65	81.09±0.58*#	80.88±0.34*#
12h	78.63±0.81	82.13±1.31*	81.95±0.70	80.02±0.64*#	79.94±0.76*#

注:与 C 组比:*P<0.05;与 L 组比:#P<0.05;

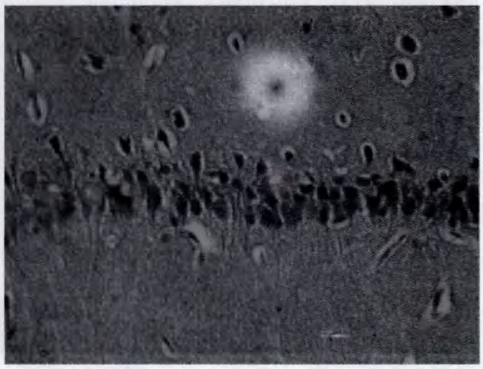


图 1 L 组光镜下脑组织海马区的病理学结果(HE 染色,×400)



图 2 DH 组光镜下脑组织海马区的病理学结果(HE 染色,×400)

维普资讯 http://www.cqvip.com

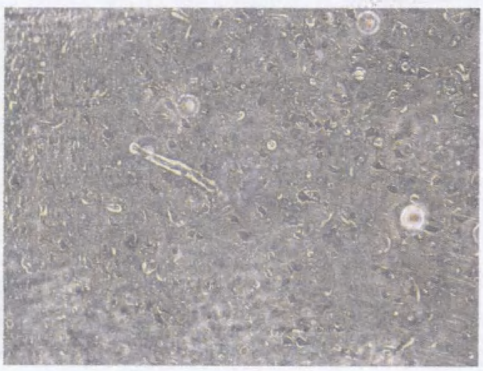


图 3 L 组光镜下脑组织皮层的病理学结果（HE 染色，×200）



图 4 DH 组光镜下脑组织皮层的病理学结果（HE 染色，×200）

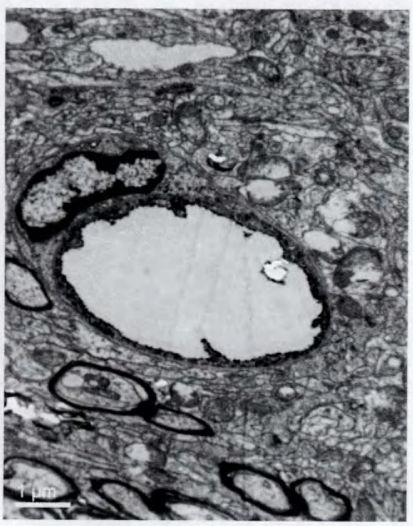


图 5 6h L 组电镜下脑血管内皮细胞的病理结果（醋酸钠-枸橼酸铅双重染色，×12 000）

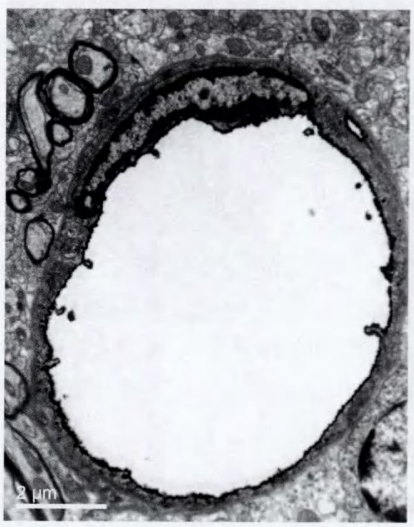


图 6 6h DH 组电镜下脑血管内皮细胞的病理结果（醋酸钠-枸橼酸铅双重染色，×10 000）



图 7 6h L 组电镜下脑神经元的病理结果（醋酸钠-枸橼酸铅双重染色，×8 000）

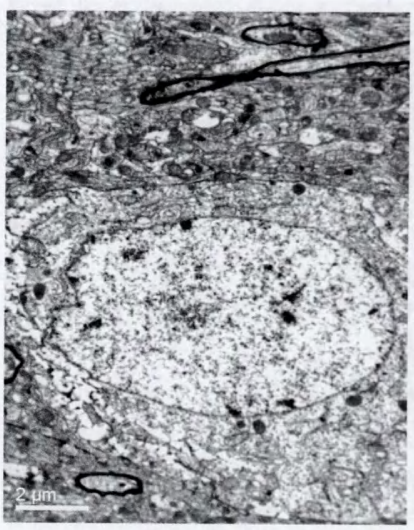


图 8 6h DH 组电镜下脑神经元的病理结果（醋酸钠-枸橼酸铅双重染色，×8 000）

维普资讯 http://www.cqvip.com

红色。光镜下,大脑皮层、海马等可见弥漫性水肿区,血管周围间隙扩大,部分神经元水肿、固缩,如图 1、3;与 L 组相比,DL 组改变不明显,DM、DH 组水肿程度、血管周围间隙增宽减轻,神经元水肿、固缩减少。见图 2、4。

2.3 电镜检查结果表明

C 组血管、神经元、胶质细胞及细胞器结构正常。L 组 4h 时内皮细胞明显肿胀,脑血管周围间隙增宽;胶质细胞足突明显肿胀;线粒体、内质网等细胞器肿胀;6h 时上述表现更加明显,同时有神经元核溶解;12h 上述表现仍存在;如图 5、7。与 L 组相比,DL 组改善不明显;DM、DH 组在各时间点内皮细胞肿胀明显减少,血管周围间隙增宽不明显,神经元核溶解减轻,胶质细胞足突、线粒体、内质网等细胞器肿胀较轻。如图 6、8。

3 讨 论

LPS 诱导的感染性脑水肿模型,主要表现为神经元、血管、胶质细胞及细胞器等的损伤,它们的保护则是防止感染性脑水肿的关键。本研究采用 LPS 诱导大鼠感染性脑水肿模型是最常用、最有效的感染性脑水肿的动物模型[1]。脑感染后,脑组织含水量增加、形态学结构损伤,本研究结果表明,预先给予长托宁能有效减少脑组织含水量,减轻脑组织超微结构的破坏。

脑组织含水量增加是脑水肿的重要表现,本研究表明,长托宁可减轻脑感染后脑含水量。水肿组,脑含水量在 4h 明显增加,6h 达高峰,12h 仍处于高水平。长托宁治疗 4h 组,脑含水量从水肿组的 81.86% 降到低剂量组的 81.55%、中剂量组的 80.30% 及高剂量组的 79.45%,6h 组效果更加明显,12h 组仍有作用,但低剂量组各时间点含水量下降无统计学意义,而中高剂量组含水量下降有统计学意义。研究表明,长托宁能减轻 LPS 诱导急性肺损伤时肺水肿[2];抗胆碱药东莨菪碱可减轻大鼠癫痫持续状态后脑水肿[3]。本实验结果表明,预先给予中高剂量长托宁能减少脑感染时脑组织含水量的增加,减轻脑水肿。

本研究病理学结果表明,长托宁能减轻感染性脑水肿时血管、神经元及细胞器等结构破坏。电镜下,水肿组 4h 时内皮细胞明显肿胀,血管周围间隙增宽;胶质细胞足突、线粒体、内质网等细胞器肿胀;6h 时上述表现更加明显,同时发现神经元核溶解;12h 上述表现仍存在;较水肿组,低剂量组改善不明显;中高剂量组内皮细胞肿胀明显减轻,血管周围间隙增宽不明显,神经元核溶解减轻,胶质细胞足突、线粒体、内质网等细胞器肿胀较轻。光镜下亦发现,长托宁中高剂量组大脑皮层和海马区变性固缩细胞较水肿组明显减少,而低剂量组改变不明显。本研究证明预先给予中高剂量的长托宁能有效减轻血管周围水肿,减少神经元损伤,保护脑组织形态学结构。有研究发现,LPS 诱导急性肺损伤时,长托宁能减轻肺泡Ⅱ型上皮细胞、线粒体等多种细胞结构的破坏[2,4];脑缺血再灌时,长托宁能通过抑制凋亡相关 bcl-2/bax 和 caspase-3 表达[5,6]减少神经元凋亡。

长托宁是一种有选择性能通过血脑屏障的新型抗胆碱类药,对感染引起的脑水肿有保护作用,其机制尚不十分清楚,可能如下:一方面抗胆碱药可阻断 LPS 与细胞膜结合,降低组织对内毒素的敏感性从而达到脑保护的作用;另一方面抗胆碱药能阻断 LPS 引起的细胞内激活,抑制 NF-κB 活化[7],阻断 NF-κB 介导的细胞因子和炎性介质失控性释放;同时,抗胆碱药还可通过抑制 LPS 诱导血管内皮细胞钙离子增加和 Gq 蛋白下降的作用而保护其内皮屏障功能。另外,抗胆碱药还能清除自由基、拮抗钙超载、保护线粒体、稳定细胞膜等。

综上所述,预先给予中高剂量的长托宁能有效减轻感染引起的脑水肿,保护血管内皮、神经元等多种结构,起到脑保护作用。

参 考 文 献

[1] 王怀立,金润铭,禚志红,等.白介素 18 在脂多糖致大鼠脑水肿中的表达[J]. 免疫学杂志,2006;22(5):535-541.

[2] 李 娟,李 俊,潘建辉.盐酸戊乙奎醚预先给药对大鼠内毒素性急性肺损伤的影响[J]. 中华麻醉学杂志,2007;27(1):70-74.

[3] 霍红梅,张志琳,包仕尧.东莨菪碱对大鼠癫痫持续状态后脑水肿的影响[J]. 中国临床神经科学,2002;10(3):253-254.

[4] 雷利荣,王焱林,贾宝辉,等.盐酸戊乙奎醚对腹腔感染脓毒症小鼠肺 iNOS 表达的影响[J].中华急诊医学杂志,2006;15(8):735-737.

[5] 许 铁,庞 涛,纵雪梅.盐酸戊乙奎醚对大鼠脑缺血-再灌流损伤的保护作用[J]. 中华急诊医学杂志,2007;16(9):925-928.

[6] 蒋 玲,王俊科,李恩有.盐酸戊乙奎醚预处理对大鼠局灶脑缺血再灌注损伤及凋亡相关基因 Caspase-3 的影响[J]. 吉林大学学报(医学版),2007;33(4):626-629.

[7] 曹锋生,韩继媛,田兆兴.长托宁对大鼠急性全脑缺血再灌注后 NF-KB 的影响[J]. 岭南急诊医学杂志,2006;11(1):7-9.

(责任编辑:关蕴良)