

· 基础研究 ·

亚低温对创伤性脑水肿大鼠一氧化氮及脑含水量的影响

简志宏 朱珊珊 刘仁忠

【摘要】目的 观察亚低温治疗对创伤性脑水肿大鼠颈内静脉血一氧化氮(NO)及脑含水量的影响,并探讨亚低温的脑保护效应。**方法** 共选取 54 只 Wistar 大鼠,将其随机分为对照组(6 只)、常温损伤组(24 只)及亚低温损伤组(24 只),后 2 组大鼠又根据观察时间点不同细分为伤后 30 min 亚组、伤后 2 h 亚组、伤后 4 h 亚组及伤后 8 h 亚组。参照袁绍纪等介绍的方法将常温损伤组及亚低温损伤组大鼠制成创伤性脑水肿动物模型。采用化学发光法检测大鼠伤侧颈内静脉血 NO 含量,并运用 Elliot 公式计算伤侧脑组织含水量。**结果** 常温损伤组大鼠于脑损伤后 30 min 内即出现脑水肿,其脑含水量[(78.12 ± 0.18)%]明显大于对照组[(77.63 ± 0.21)%],差异有统计学意义($P < 0.05$);伤侧颈内静脉血 NO 含量[(3.561 ± 0.251) μmol/L]也较对照组[(2.438 ± 0.134) μmol/L]明显增高,差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。常温损伤组大鼠脑含水量及 NO 含量于伤后 8 h 达到峰值[此时脑含水量为(79.83 ± 0.41)%,NO 含量为(7.831 ± 0.272) μmol/L]。亚低温治疗能明显降低脑水肿大鼠伤侧颈内静脉血 NO 含量,而且还能显著减轻其脑水肿程度。**结论** NO 在创伤性脑水肿的发生及发展中具有重要作用,并且还与脑含水量具有同步变化的特点;亚低温治疗能明显减轻脑水肿程度,降低颈内静脉血 NO 含量,从而缓解继发性脑损伤,促进神经组织功能的早日康复,降低残死率。

【关键词】 脑水肿; 创伤性; 一氧化氮; 亚低温; 康复

Effects of mild hypothermia on the nitric oxide and water content of brain tissue in rats with traumatic brain edema JIAN Zhi-hong*, ZHU Shan-shan, LIU Ren-zhong. * Department of Neurosurgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

【Abstract】 Objective To explore the effects of mild hypothermia (MH) on the nitric oxide (NO) and water content of brain tissues (WBT) in rats with traumatic brain edema (TBE). **Methods** Fifty-four Wistar rats were divided into a control group (group C), a normothermal traumatic group (NT group) and a mild hypothermia traumatic group (MHT group). The NT and MHT groups were then divided into 4 subgroups for study at 30 min, 2 h, 4 h and 8 h post-trauma. TBE models were established according to Yuan Shaoji's method. The concentration of NO in the jugular vein was measured using chemical luminescence, and water in the brain tissues was calculated with Elliot's formula. **Results** Compared with those in the group C, the concentrations of WBT and NO were significantly increased 30 min post-trauma in the NT group, and reached a peak 8h after trauma. These levels were markedly decreased in the MHT group in comparison with the NT group. **Conclusions** NO levels might play an important role in the development of TBE, and change synchronously with WBT. TBE could be mitigated by MH, which might promote early rehabilitation of TBE by reducing NO.

【Key words】 Brain edema; Trauma; Nitric oxide; Mild hypothermia; Rehabilitation

创伤性脑水肿是脑创伤后继发性损伤的主要类型之一,如临床早期给予积极、有效的治疗可以促进患者神经功能尽快康复,这也是脑残疾二级预防中的主要工作内容^[1]。有研究资料表明,创伤性脑水肿与众多内源性有害因子的释放及累积有关^[2-7];而亚低温治疗可以通过多种途径减轻脑水肿程度。一氧化氮(nitric oxide, NO)是一种具有多种生物活性的小分子物质,它广泛参与、调节中枢神经系统的生理及病理过程,如抑制血小板聚集、参与神经内分泌调节、血管舒张、信

息传递、学习、记忆及介导神经兴奋性等。过量的 NO 在缺血性脑损伤中发挥神经毒性作用;而 NO 是否在创伤性脑水肿中发挥同样的神经毒性作用目前则鲜见报道。本研究通过观察亚低温对实验创伤性脑水肿大鼠颈内静脉血 NO 和脑含水量的影响,从而探讨亚低温对其脑组织的保护效应。现报道如下。

材料与方法

一、实验动物

共选取 Wistar 大白鼠 54 只,均由湖北省医学科学院实验动物中心提供(实验动物编号为 96085),雌雄

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(简志宏、刘仁忠),康复医学科(朱珊珊)

不限,体重约 250 ~ 500 g。将上述实验动物随机分成对照组(6 只)、常温损伤组(24 只)及亚低温损伤组(24 只),各组大鼠体重及一般情况经统计学分析,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

二、实验处理方法

将对照组大鼠头皮切开形成骨窗并暴露其硬脑膜,随后缝合头皮;常温损伤组及亚低温损伤组大鼠均按照袁绍纪等^[2]介绍的方法制成急性创伤性脑水肿模型。在整个实验过程中,常温损伤组大鼠脑温维持在 36 ~ 37℃,亚低温损伤组大鼠脑温维持在 32 ~ 33℃,这 2 组大鼠又根据术后观察时间不同,将其分别细分为伤后 30 min 亚组、伤后 2 h 亚组、伤后 4 h 亚组及伤后 8 h 亚组,每组各 6 只。

急性创伤性脑水肿造模方法:取新鲜配制的 3% 戊巴比妥钠液按 45 mg/kg 体重行大鼠腹腔注射,待麻醉剂生效后沿其矢状线切开头皮,暴露右顶骨,于人字缝前方 2 mm、中线右侧旁 2 mm 处钻孔,并最终形成 5 mm × 5 mm 的骨窗;然后取 20 g 的钢柱沿垂直玻璃管从 30 cm 高度自由落下,撞击大鼠右顶骨窗区硬脑膜,从而造成右侧大脑半球局部脑挫伤,打击力量约为 20 × 30 g · cm,止血后用骨蜡封闭骨窗并缝合头皮。在整个实验过程中,亚低温损伤组动物用自制冰槽降温,使用 Minimon 7137B 型监护仪监测大鼠脑温,将脑温探头置于大鼠硬脑膜外间隙,同时监测肛温,维持其脑温在 32 ~ 33℃。亚低温损伤组大鼠维持该温度(即 32 ~ 33℃)30 min 后再制成脑水肿模型,以后保持该低温恒定不变直至实验全过程结束。

三、大鼠颈内静脉血 NO 测定

各组大鼠于相应时间点处死并抽取伤侧颈内静脉血 0.1 ml 测定 NO 含量,实验步骤严格按照军事医学科学院放免所提供的 NO 测试盒说明书进行,选用化学发光法,采用 Secoman SP5000 型半自动分光光度计于 545 nm 处比色,记录 OD 值,随后按标准曲线求得 NO 含量。

四、大脑含水量测定

各组大鼠于相应时间点断头处死后,迅速于脑挫伤灶边缘处切取 0.3 cm × 0.3 cm × 0.3 cm 脑组织块,在精度为万分之一克的分析天平上称取湿重,然后置入 110℃ 烘箱内烘至恒重(烘烤时间约为 24 h,恒重标准为连续 2 次称重差别小于 0.2 mg),采用湘仪 TG328A 型光学读数分析天平称取脑组织干重。选用 Elliot 公式计算脑含水量

量,即脑含水量 = (湿重 - 干重) / 湿重 × 100%。

五、统计学分析

本研究所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠脑含水量比较

对照组大鼠的脑含水量为(77.63 ± 0.21)%,常温损伤组 30 min 亚组的脑含水量为(78.12 ± 0.18)%,两组间差异有统计学意义($P < 0.05$);且常温损伤组大鼠脑含水量在伤后 8 h 内呈进行性增加趋势,说明在脑损伤后早期(约脑损伤 30 min 后)病灶周围即可出现水肿。亚低温损伤组伤后 30 min 亚组的脑含水量为(77.91 ± 0.18)%,虽然较对照组有所增加但差异无统计学意义($P > 0.05$),与常温损伤组伤后 30 min 亚组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。亚低温损伤组伤后 4 h 亚组与伤后 8 h 亚组的脑含水量分别为(79.03 ± 0.13)%和(79.56 ± 0.27)%,两者间差异无统计学意义,提示亚低温抑制了脑水肿的进行性发展,具有显著的脑保护效应。

二、各组大鼠颈内静脉血 NO 含量比较

常温损伤组 30 min 亚组大鼠的静脉血 NO 含量为(3.561 ± 0.251) μmol/L,与对照组[(2.438 ± 0.134) μmol/L]比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);亚低温损伤组 30 min 亚组大鼠的静脉血 NO 含量为(2.873 ± 0.137) μmol/L,与常温损伤组相应时间点比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而且亚低温治疗还抑制了脑损伤后 NO 含量的进行性增高,进而缓解了过量 NO 造成的脑损伤。2 个实验组大鼠颈内静脉血 NO 含量及脑含水量结果详见表 1。

讨 论

脑创伤后继发性损伤是影响患者预后的关键因素之一,如何尽可能降低继发性脑损伤对患者神经功能恢复具有重要意义^[1]。脑水肿在继发性脑损伤中具有重要作用,脑水肿的发生、发展是多种因素综合作用的结果,其中内源性脑损害因子的过多释放与累积是近年来备受重视的研究热点内容之一。NO 作为机体的基本内在因子具有神经毒性与神经保护的“双刃剑”作用。本研究通过建立创伤性脑水肿动物模型,以探讨 NO 在创伤性脑水肿早期发生、发展中的作用。

表 1 常温损伤组及亚低温损伤组大鼠颈内静脉 NO 含量及脑含水量比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	静脉血 NO 含量(μmol/L)				脑含水量(%)			
		伤后 30 min	伤后 2 h	伤后 4 h	伤后 8 h	伤后 30 min	伤后 2 h	伤后 4 h	伤后 8 h
常温损伤组	24	3.561 ± 0.251	5.327 ± 0.134	6.128 ± 0.473	7.831 ± 0.272*	78.12 ± 0.18	78.94 ± 0.42	79.35 ± 0.37	79.83 ± 0.41*
亚低温损伤组	24	2.873 ± 0.137*	4.467 ± 0.254*	5.763 ± 0.436*	6.835 ± 0.368*	77.91 ± 0.18*	78.34 ± 0.27*	79.03 ± 0.13*	79.56 ± 0.27*

注:与常温损伤组比较,* $P < 0.05$;与组内前一时间段比较,* $P < 0.05$

本研究采用袁绍纪等^[2]介绍的方法建立急性创伤性脑水肿动物模型,通过测定水肿脑组织的脑含水量来评价脑水肿程度,并同步检测大鼠损伤侧颈内静脉血 NO 的含量。常温损伤组大鼠在伤后 30 min 时的脑水肿组织含水量为 $(78.12 \pm 0.18)\%$,而对照组相应脑组织的水含量为 $(77.63 \pm 0.21)\%$,两者间差异有统计学意义 ($P < 0.05$),这说明在脑损伤早期(即损伤后 30 min)即有脑水肿发生,而且随着时间的延长呈进行性加重。创伤性脑水肿一般由细胞毒性脑水肿和血管源性脑水肿共同作用引起,水肿脑组织可进一步增高颅内压并促使脑组织移位,从而加重脑组织的继发性损伤。本研究同期测定了常温损伤组大鼠在伤后 30 min 时静脉血 NO 的含量为 $(3.561 \pm 0.251) \mu\text{mol/L}$,对照组为 $(2.438 \pm 0.134) \mu\text{mol/L}$,组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$),即常温损伤组大鼠静脉血 NO 含量呈显著性增高,与脑水肿的发生具有同步特点。NO 是一种不稳定的高度弥散性自由基,脑组织中的 NO 作为一种脂溶性的小分子化合物,可迅速透过生物膜进入细胞内,过量的 NO 可产生神经毒性作用。NO 的神经毒性作用主要是通过以下三种途径实现:①NO 介导兴奋性氨基酸的神经毒性过程;②NO 参与对线粒体呼吸作用的抑制;③NO 与细胞内过量的超氧阴离子 O_2^- 结合后生成过氧化亚硝酸根 ONOO^- 并发挥强烈的神经毒性作用,从而导致细胞死亡,另外 ONOO^- 还可影响线粒体蛋白合成及 ATP 水平,并损伤线粒体的氧化、还原功能^[3-5]。上述效应均可损伤神经细胞和血管内皮细胞膜系统的通透性,导致细胞内水肿及间质水肿。由此可见,NO 作为血管内皮活性因子可扩张血管,增强局部静水压及加重间质性脑水肿。

Busto 等^[6]在 1987 年首次提出了全身亚低温 ($32 \sim 35^\circ\text{C}$) 治疗具有保护脑功能的观点,由于正常脑温动物在缺血 60 min 后其海马锥体细胞及纹状体背外侧神经元均全部发生病理形态学异常,而体温维持在 34°C 的亚低温实验动物仅有 20% 的神经元发生异常,而且将实验动物体温控制在 $30 \sim 33^\circ\text{C}$ 时亦未见有明显病理学损伤。有资料表明,亚低温治疗具有多种脑保护效应,其中最重要的一点是亚低温能抑制机体内源性有害因子(如兴奋性氨基酸、神经肽、自由基及单胺类物质等)的生成与释放^[7,8],从而阻断了脑损伤后内源性有害因子所产生的一系列级联反应。本研究结果发现,亚低温损伤组大鼠在伤后 30 min 时其静脉血 NO 含量为 $(2.873 \pm 0.137) \mu\text{mol/L}$,常温组大鼠在伤后 30 min 时的 NO 含量为 $(3.561 \pm 0.251) \mu\text{mol/L}$,可见亚低温损伤组 NO 含量较常温损伤组明显减少 ($P < 0.05$);而且同期亚低温损伤组伤后 30 min 时的脑含水量为 $(77.91 \pm 0.18)\%$,亦明显少于常温损伤组,并

且与对照组的脑含水量比较接近,提示亚低温治疗可明显减轻创伤后的脑水肿程度。

有相关研究指出,亚低温能减少脑损伤后兴奋性氨基酸的生成与释放,降低一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)的活性,从而抑制过量 NO 的产生^[8,9]。由于兴奋性氨基酸(如谷氨酸等)释放增加可过度激活 NMDA 受体依赖型钙通道,引发电压依赖性钙离子 NM-DA 受体通道的阻断或减弱,导致神经元型一氧化氮合酶(neurol nitric oxide synthase, nNOS)大量激活,并合成、分泌过量的 NO。亚低温可降低机体脑组织氧耗量,使脑组织氧代谢在较低水平时达到平衡,从而减轻 NO 抑制线粒体酶系统所造成的损伤。胡波等^[9]的研究表明,亚低温能增加大鼠缺血脑皮质内超氧化物歧化酶及谷胱甘肽过氧化物酶的含量,降低丙二醛的浓度,增强机体清除氧自由基的能力,从而缓解神经元损伤。

针对颅脑损伤的亚低温治疗应越早越好。有研究表明,如伤后 15 min 开始亚低温治疗能明显降低颅脑损伤动物的运动神经功能障碍程度,但伤后 30 min 开始亚低温治疗则对颅脑损伤动物的运动神经功能无明显治疗作用^[10-12]。方瑗等^[10]研究发现,脑缺血后 60 min 内开始亚低温治疗,可明显减少脑缺血组织中 SOD、GSH2Px、GSH 及 ATP 含量;如在脑缺血后 90 min 时开始亚低温治疗,则脑组织中上述指标与常温脑缺血组比较, $P > 0.05$,差异无统计学意义。本研究发现,创伤性脑水肿在颅脑损伤后 30 min 内即可出现,此时 NO 含量也呈显著性增高,两者在继发性脑损伤中具有同步特点,而亚低温治疗在伤后 30 min 内即能减少伤侧静脉血 NO 的含量及减轻脑水肿程度。

综上所述,脑损伤患者急性期的康复治疗目标是尽快去除原发性脑损伤,防止或减轻继发性脑损伤,提高觉醒能力,促进神经功能恢复,防止并发症等^[11];采用亚低温治疗颅脑损伤早期即可减轻脑水肿程度,降低静脉血 NO 含量,促进神经组织功能的早日康复,但其确切的治疗机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 南登崑,主编. 康复医学. 北京:人民卫生出版社,2004. 21.
- 2 袁绍纪,朱诚,陈相林,等. 大鼠急性创伤性脑水肿模型的建立. 上海医学,1989,12:276-278.
- 3 Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a novel neuronal messenger. Neuron, 1992, 8:3-11.
- 4 Moncada S, Palmer MJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol Rev, 1991, 43:109-142.
- 5 Lipton SA, Stamler JS. Actions of redox-related congeners of nitric oxide at the NMDA receptor. Neuropharmacology, 1994, 33:1229-1233.
- 6 Busto R, Dietrich WD, Globus MY, et al. Small difference in intracerebral brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. J Cereb Blood Flow Metab, 1987, 7:729-738.
- 7 Dempsey RJ, Combs DJ, Maley MD, et al. Moderate hypothermia reduces

- postischemic edema development and leukotriene production. Neurosurgery, 1987, 21: 177-181.
- 8 Busto R, Globus MY, Dalton DW, et al. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. Stroke, 1990, 20: 904-910.
 - 9 胡波, 孙圣刚, 梅元武, 等. 亚低温在大鼠脑缺血再灌注中对氨基酸和自由基系统动态平衡的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25: 195-198.
 - 10 方媛, 张洪, 梅元武, 等. 不同时间开始亚低温对脑缺血损伤保护作用

用的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2004, 26: 206-208.

- 11 黄晓琳. 神经系统常见病损的康复. 见: 南登崑, 主编. 康复医学. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 214-215.
- 12 江基尧, 朱诚, 张光雯, 等. 亚低温对实验性颅脑损伤中神经功能的保护作用. 中华神经外科杂志, 1994, 10: 263-265.

(修回日期: 2006-03-15)

(本文编辑: 易 浩)

· 短篇论著 ·

窄频中波紫外线辅助治疗玫瑰糠疹的疗效观察

方惠君

玫瑰糠疹是常见的皮肤病, 好发于躯干长轴, 呈与皮纹一致的圆形、椭圆形或环形黄红色鳞屑斑, 春秋季节多发。笔者于 2003 年 10 月至 2005 年 6 月采用窄频中波紫外线治疗玫瑰糠疹患者 60 例, 取得了较好疗效, 报道如下。

一、资料与方法

1. 病例资料: 116 例患者均来源于我院皮肤科门诊, 符合玫瑰糠疹诊断标准^[1], 其中男 51 例, 女 65 例, 年龄为 5 ~ 63 岁, 病程为 1 ~ 7 d, 随机分为紫外线治疗组 60 例和对照组 56 例。2 组性别、年龄、病程等比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性 (表 1)。

表 1 紫外线治疗组与对照组一般情况比较

组 别	例数	性别 (例, 男/女)	年龄(岁)	病程(d)
紫外线治疗组	60	26/34	26.2 ± 2.7	2.5 ± 2.2
对照组	56	25/31	28.9 ± 2.1	2.6 ± 2.2

2. 治疗方法: 所有患者均给予常规治疗, 如口服抗组胺药及维生素, 外用尿素软膏及炉甘石洗剂。紫外线治疗组在此基础上应用德国 Waldmann UV801 (TL01) 光疗仪进行治疗, 波长为 310 ~ 315 nm, 峰值为 311 nm。治疗时按使用说明操作, 初始剂量给予 0.3 mJ/cm², 照射时佩戴专用防护眼镜, 裸露照射部位, 距离为 21 cm, 隔日 1 次, 5 次为 1 个疗程。每次照射后如无红斑反应, 下次照射剂量按 20% ~ 30% 的增幅增加, 最大剂量为 3.2 J/cm²。治疗期间注意观察患者局部皮肤反应情况。

3. 疗效评定标准: 治疗 1 个疗程后评定疗效。痊愈为皮疹减少面积 > 95%, 瘙痒消失; 显效为皮疹减少面积为 95% ~ 60%, 瘙痒有明显改善; 有效为皮疹减少面积为 59% ~ 20%, 瘙痒有改善; 无效为皮疹减少面积 < 20%, 瘙痒无改善。皮疹减少面积 = (治疗前皮疹面积 - 治疗后皮疹面积) / 治疗前皮疹面积 × 100%。

4. 统计学分析: 采用 t 检验与 χ^2 检验。

二、结果

2 组患者治疗后红斑鳞屑消退和瘙痒消失时间的比较见表 2, 疗效对比见表 3。紫外线治疗组患者红斑鳞屑消退和瘙痒消失时间均明显短于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 紫外线治疗组痊愈显效率为 93.3%, 明显高于对照组的 60.7%, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。紫外线治疗过程中, 有 3 例患者

临床症状加重, 调整紫外线照射剂量后红斑消退、瘙痒减轻, 未影响进一步治疗; 2 组中各有 7 例患者出现轻微嗜睡的症状, 停药后消失。

表 2 紫外线治疗组与对照组治疗情况比较 (d, $\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	红斑鳞屑 消退时间	瘙痒消失 时间
紫外线治疗组	60	8.0 ± 2.7 *	2.7 ± 1.0 *
对照组	56	9.8 ± 3.1	3.3 ± 1.2

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$

表 3 紫外线治疗组与对照组疗效比较 (例)

组 别	例数	痊愈	显效	有效	无效	痊愈显效率 (%)
紫外线治疗组	60	49	7	3	1	93.3 *
对照组	56	29	5	18	4	60.7

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$

三、讨论

玫瑰糠疹的病因和发病机制尚未完全明确, 多倾向于病毒感染。近年有关玫瑰糠疹的免疫学研究证实, 患者皮损内浸润细胞主要为辅助/诱导 T 淋巴细胞; 表皮、真皮乳头内朗格汉斯细胞明显增多, 角质形成细胞出现 HLA-DR 抗原的表达^[2]。窄频中波紫外线照射能明显影响机体的多种免疫功能, 使免疫蛋白形成增多, 激活补体, 增强吞噬细胞的功能, 从而阻止表皮细胞增生; 还能改善皮肤的血液循环, 提高人体的应激能力^[3]。传统的紫外光疗法需内服或外用光敏药物后再进行照射, 存在如胃肠道反应、皮肤过敏等副作用, 皮肤色素沉着明显, 而且照射时间长、疗程长。本研究在常规药物治疗的基础上直接应用窄频中波紫外线照射, 结果显示紫外线治疗组红斑鳞屑消退及瘙痒消失时间均明显短于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 紫外线治疗组总有效率为 93.33%, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。说明窄频中波紫外线辅助治疗玫瑰糠疹疗效好, 值得临床推广。

参 考 文 献

- 1 廖康煌, 闫春林, 王漪. 日光反应性皮肤型的测定及其意义. 中华皮肤科杂志, 1995, 28: 287.
- 2 张学军. 皮肤性病学. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 741-742.
- 3 魏明辉, 胡跃, 廖康煌. UVB 照射治疗 72 例玫瑰糠疹的疗效观察. 临床皮肤科杂志, 1998, 27: 376-377.

(修回日期: 2005-12-29)

(本文编辑: 吴 倩)