

## 论著

文章编号:1000-5404(2012)12-1218-05

### 增殖型糖尿病性视网膜病变动物模型的建立

董白霞<sup>1</sup>, 马景学<sup>1</sup>, 叶存喜<sup>1</sup>, 包永琴<sup>1</sup>, 杨爱琴<sup>1</sup>, 休贺明<sup>2</sup> (050000 石家庄, 河北医科大学第二医院眼科<sup>1</sup>; 050082 石家庄, 白求恩国际和平医院中心实验科<sup>2</sup>)

**[摘要]** **目的** 建立模拟人类增殖型糖尿病性视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 的动物模型, 并确证其价值。**方法** 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 60 mg/kg 腹腔注射造成 SD 大鼠糖尿病模型 1 个月后行 VEGF 玻璃体注射制造增殖型糖尿病眼底病变模型 (C 组), 观察造模后不同时间荧光素眼底血管造影 (fluorescence fundus angiography, FFA) 改变及有无 CD105 标记阳性的视网膜毛细血管内皮细胞, 并与传统的非增殖型糖尿病眼底病变大鼠模型 (B 组) 作比较。**结果** FFA 结果显示: 正常组无 1 例观察到异常荧光; B 组大鼠仅观察到背景荧光的增强; C 组大鼠不仅出现了背景荧光增强、大血管扭曲和毛细血管扩张、视网膜血管荧光素渗漏、视网膜内出血等临床中常见的非增殖期病变, 还观察到了视网膜新生血管这种增殖期糖尿病性视网膜病变特有的体征。光镜观察视网膜血管渗漏情况及免疫组化 CD105 标记视网膜内增殖的新生血管内皮细胞情况显示: 正常组及 B 组大鼠无 1 例视网膜微血管碳素颗粒渗漏, CD105 均为阴性; C<sub>1</sub> 组 (VEGF 玻璃体注射后 2 周): 仅观察到神经节细胞层大血管有碳素颗粒的渗漏, CD105 阴性; C<sub>2</sub> 组 (VEGF 玻璃体注射后 4 周): 除 C<sub>1</sub> 组病变外, 还可观察到外核层有渗漏至血管外的碳素颗粒, CD105 阳性; C<sub>3</sub> 组 (VEGF 玻璃体注射后 8 周): 除 C<sub>2</sub> 组病变外, 还可观察到黄斑区水肿、渗出等病理改变、广泛的微血管渗漏, CD105 阳性。**结论** 该动物模型成功地观察到视网膜新生血管, 并与出现增殖内皮细胞的病程一致, 经 FFA 及免疫组化 CD105 标记验证有很好的应用价值, 并且周期短、更经济, 为临床筛选药物研究提供了理想动物模型。

**[关键词]** 增殖性糖尿病性视网膜病变; 动物模型; 荧光血管造影

**[中图分类号]** R-332; R587.2; R774.1

**[文献标志码]** A

### Establishment of rat model of proliferative diabetic retinopathy

Dong Baixia<sup>1</sup>, Ma Jingxue<sup>1</sup>, Ye Cunxi<sup>1</sup>, Bao Yongqin<sup>1</sup>, Yang Aiqin<sup>1</sup>, Xiu Heming<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Second Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei Province, 050000; <sup>2</sup>Department of Central Laboratory Medicine, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang, Hebei Province, 050082, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish a rat model of human proliferative diabetic retinopathy (PDR), and to assess its value in order to provide an ideal animal model for clinical neotype drug research. **Methods** Diabetic Sprague-Dawley (SD) rats were intravitreally injected with VEGF at 1 month after receiving intraperitoneal injection of 60 mg/kg body weight of streptozotocin (STZ) (C group). The fluorescence fundus angiographic (FFA) changes and CD105-positive retinal vascular endothelial cells were observed by light microscopy at different time points after VEGF injection. The results were compared with the SD rats only received intraperitoneal injection of 60 mg/kg body weight of STZ (B group). **Results** The FFA results showed that no abnormal fluorescence was observed in the normal rats and only enhanced background fluorescence was observed in the B group. However, not only the non-proliferative pathological changes such as enhanced background fluorescence, retinal great vessel buckling, angiotelectasis, retinal vascular leakages and hemorrhage, but also the proliferative pathological changes of diabetic retinopathy such as intraretinal new vessels were observed in the C group. Retinal vascular leakage of carbon granules and CD105-positive retinal vascular endothelial cells were not observed in the normal rats and the B group. In the C<sub>1</sub> group (two weeks after VEGF injection), carbon granules leakage was only observed in the great vessels of ganglion cell layer, but there were no CD105-positive retinal vascular endothelial cells observed. In the C<sub>2</sub> group (four weeks after VEGF injection), carbon granules leakage was observed in outer nuclear layer, and CD105-positive retinal vascular endothelial cells were also observed besides the pathological changes of the C<sub>1</sub> group. In the C<sub>3</sub> group (eight weeks after VEGF injection),

far-reaching carbon granules leakage was observed as well as macular edema and exudation, and CD105-positive retinal vascular endothelial cells were also observed besides the pathological changes of the C<sub>2</sub> group.

**Conclusion** The PDR rat model is successfully established, which is proved to have good application value by FFA and CD105 immunohistochemistry. The CD105-positive vascular endothelial cells observed by light microscopy coincide with the intraretinal new vessels observed by FFA at the same time. Therefore, we provide an ideal animal model for clinical studies on drug screening.

[ **Key words** ] proliferative diabetic retinopathy; animal model; fluorescence fundus angiography

Corresponding author: Ma Jingxue, E-mail: Majingxue2003@yahoo.com.cn

近年来,糖尿病发病率日益升高,其并发症糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)严重威胁患者生存质量。如何早期治疗 DR,提高 DR 患者的生存质量成为当前亟待解决的问题。以往研究热点主要集中于治疗药物筛选方面<sup>[1]</sup>,但所用糖尿病动物模型均为非增殖期病变,而临床就诊患者绝大多数是增殖期患者,目前国内尚少有报道能够模拟人类增殖型 DR 的动物模型用于筛选药物研究来指导临床治疗。

近年来已达成共识,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在 DR 的发生、发展过程中起了主导作用<sup>[2]</sup>。我们推测:是否可以在糖尿病动物模型的基础上玻璃体注射 VEGF,寻求一种可模拟人类增殖期眼底病变、周期短的理想动物模型,以满足临床药物研究需要。因此,我们设计了如下实验:链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)腹腔注射联合 VEGF 玻璃体注射制造的 DR 模型(C 组),并与既往非增殖期 DR 模型(B 组)进行比较,试图建立增殖型糖尿病性视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)模型用于药物研究,以增强临床药物试验对临床治疗的指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物的来源、选择及分组

选取 8 周龄健康 SD 大鼠 44 只,雌雄各半,体质量 180 ~ 250 g。购自河北医科大学实验动物中心。

44 只鼠分为 2 组:①糖尿病组:腹腔注射 STZ(60 mg/kg, 用 0.01 mol/L 的枸橼酸盐缓冲液溶解、浓度为 10 g/L),32 只;1 周后测血糖(美国强生血糖仪)≥13.9 mmol/L 确定为糖尿病鼠<sup>[3]</sup>,之后每周测血糖 1 次,低于 13.9 mmol/L 的大鼠淘汰出糖尿病组,成模 24 只,成模率为 75%。②正常组:腹腔注射等量的生理盐水,12 只。

糖尿病组 24 只鼠采用随机配伍组方法分为 2 组:①C 组:腹腔注射 STZ 后 1 个月时 846 复合麻醉剂(0.4 ml/kg)肌肉注射全麻后 0.05 μg VEGF(美国 Sigma 公司)双眼玻璃体注射,12 只。②B 组:腹腔注射 STZ 后 1 个月时等量生理盐水双眼玻璃体注射,12 只。

### 1.2 实验方法

1.2.1 眼底荧光血管造影(FFA)检查 玻璃体注射 VEGF

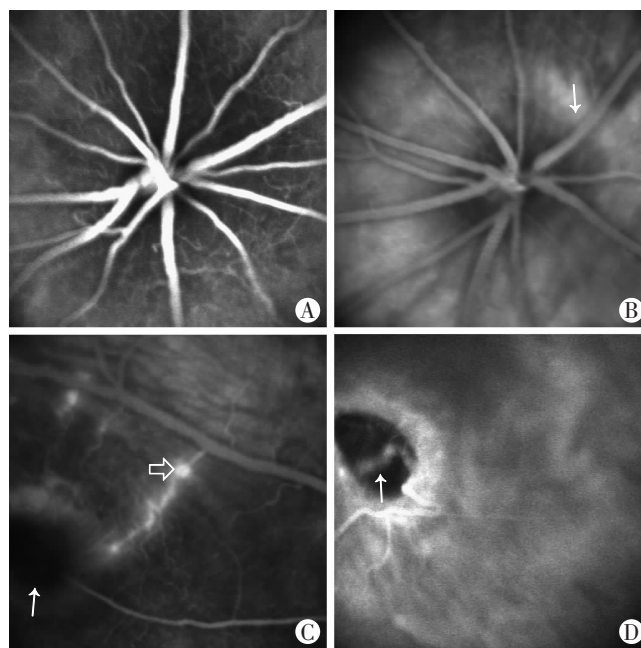
后第 2、4、7 天,2 周(C<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>组),4 周(C<sub>2</sub>、B<sub>2</sub>组),8 周(C<sub>3</sub>、B<sub>3</sub>组)各选 3 只鼠 846 复合麻醉剂(0.4 ml/kg)肌肉注射全麻后 20% 荧光素钠 0.1ml 腹腔注射,行双眼 FFA 检查,观察眼底病变程度。

1.2.2 视网膜组织病理学观察 玻璃体注射 VEGF 后 2、4、8 周 846 复合麻醉剂(0.4 ml/kg)肌肉注射全麻后每组各取 3 只动物(其余 1 只留做电镜标本),左侧颈动脉注射碳素墨汁后处死、摘除左眼球做组织切片,观察其视网膜微血管对碳素颗粒的渗漏程度;摘除右眼球做组织切片,行 CD105 免疫组织化学染色,观察有无增殖的新生血管内皮细胞。

## 2 结果

### 2.1 FFA 造影结果

正常组:无 1 例观察到异常荧光(图 1A)。B 组:2 只鼠于注射 VEGF 后 4 周才观察到背景荧光的增强(图 1B)。C 组:2 只鼠于注射 VEGF 后 2 d FFA 可见背景荧光增强;1 只鼠 4 d、另 2 只鼠 2 周可见视网膜内出血;2 只鼠 2 d、另 1 只鼠 2 周发生了大血管扭曲和毛细血管扩张;1 只鼠 2 周观察到血管荧光素渗漏、1 只鼠 4 周观察到了视网膜新生血管(图 1C~D)。



A: 正常 SD 大鼠 FFA 结果; B: B 组大鼠 STZ 注射后 4 周背景荧光增强(↑); C: C<sub>1</sub> 组大鼠视网膜血管荧光素渗漏(↑)和出血(↑); D: C<sub>2</sub> 组大鼠视网膜新生血管形成(↑)

图 1 各组大鼠 FFA 造影结果观察

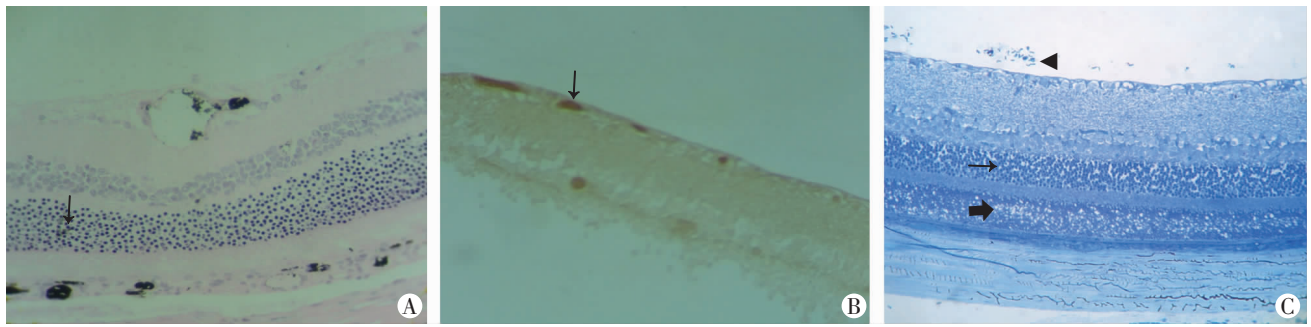


图2 C<sub>2</sub>组大鼠光镜观察视网膜微血管碳素颗粒渗漏情况及CD105免疫组化染色结果和电镜观察视网膜超微结构

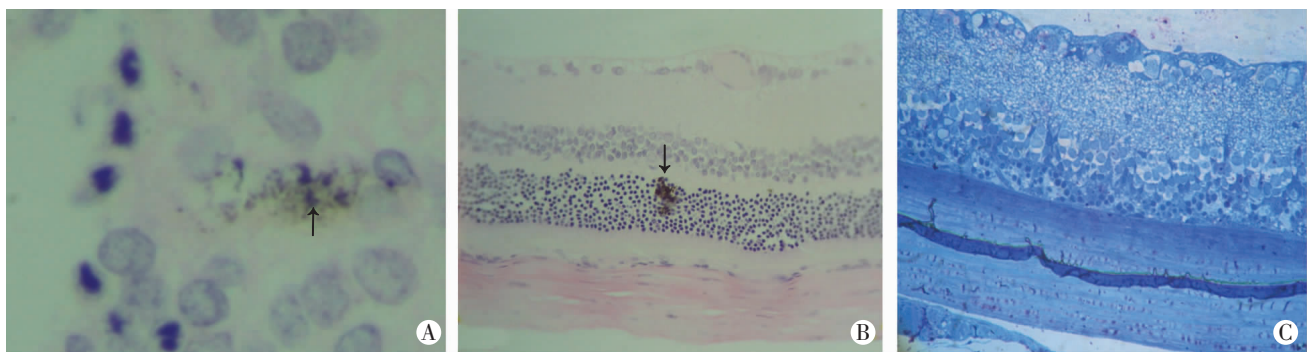


图3 C<sub>3</sub>组大鼠光镜观察视网膜微血管碳素颗粒渗漏情况及电镜观察视网膜超微结构结果

### 2.2 视网膜组织病理学观察

光镜观察视网膜血管渗漏情况及免疫组化CD105标记视网膜新生血管。B组:均未观察到典型的微血管碳素颗粒渗漏,CD105均为阴性;C<sub>1</sub>组:仅观察到神经节细胞层大血管有碳素颗粒的渗漏,CD105阴性;C<sub>2</sub>组:除C<sub>1</sub>组病变外,还可观察到外核层有渗漏至血管外的碳素颗粒(图2A),CD105阳性(图2B),半薄切片示视杆视锥层出现大量空泡、锥、杆结构紊乱;玻璃体腔内可见红细胞(图2C);C<sub>3</sub>组:除C<sub>2</sub>组病变外,还可观察到黄斑区水肿、渗出等病理改变、广泛的微血管渗漏(图3A~B),CD105阳性,半薄切片示视网膜各层结构紊乱(图3C)。

### 3 讨论

目前,常用的DR动物模型包括以下几种:自发性遗传性糖尿病动物模型、化学物质诱导糖尿病动物模型、胰腺切除糖尿病动物模型、半乳糖喂养诱导的DR动物模型、VEGF局部注射造成的DR动物模型<sup>[4]</sup>。上述模型有猴、狗、猪、大鼠、小鼠、兔等<sup>[5-6]</sup>,造成的模型绝大部分可模拟背景期DR,做有关病因、病机方面的研究。

近年来,文献[7-8]报道可观察到PDR病变的有半乳糖喂养的狗和SDT大鼠、转基因小鼠,前者需3~5年;SDT大鼠需50~60周龄,且仅观察到1例;该模型的建立可更好地模拟临床PDR的发生过程,可望对

PDR的防治提供突破点,但因周期太长、造模成功率低,难以满足研究需要。而转基因小鼠在高水平表达VEGF的情况下,可发生视网膜血管渗漏和视网膜内血管内皮细胞增殖,随后,很快即发展为严重的增殖性视网膜病变,导致视网膜脱离。但Rakoczy等<sup>[9]</sup>2003年在重组VEGF腺病毒载体蛋白(rAAV.VEGF.GFP)玻璃体注射后2~4周FFA仅观察到90%小鼠发生了视网膜微血管的渗漏或微血管瘤,与以往报道有严重分歧。该类模型是否具有可重复性值得商榷,需要大量的实验进行重复性验证。

Leberherz等<sup>[10]</sup>于2005年用灵长类动物成功地建立了视网膜新生血管模型:将携带编码VEGF<sub>c</sub>DNA的腺病毒质粒玻璃体注射后,出现了虹膜新生血管;视网膜下注射后,出现了视网膜下新生血管和黄斑囊样水肿。而Tolentino等<sup>[11]</sup>2002年的研究结果则显示VEGF玻璃体注射后新生血管发生在视网膜内核层。但其病因病机与DR未必相似,且动物模型费用昂贵;也有在荷兰兔眼玻璃体腔注射VEGF和bFGF造成视网膜血管异常的模型<sup>[12]</sup>,但兔眼视网膜为无血管型视网膜,所造模型的新生血管主要出现在视网膜前,视网膜本身不出现新生血管;亦有在正常SD大鼠或Wistar大鼠玻璃体注射VEGF造成视网膜病变的报道<sup>[3]</sup>;更



有在 C<sub>57</sub>BL 小鼠视网膜下腔注射重组 VEGF 腺病毒载体蛋白释放 VEGF 造成视网膜病变的报道<sup>[9]</sup>。但上述方法均忽略了糖尿病血糖升高这一过程,没有事先造成糖尿病模型,无法正确地模拟 DR 的发生、发展过程,因为众多研究表明,早期视网膜的缺血缺氧与高血糖时糖化终产物的作用密不可分。更为重要的是,上述文献报道视网膜病变的时间较短,不能排除 VEGF 高剂量或高浓度局部应用对视网膜血管组织造成的毒性反应。

迄今为止,尚无一种能出现 PDR 病变的理想动物模型用于临床药物筛选研究。基于上述研究背景,我们设计了本实验研究,企图探索眼底荧光血管造影可见的增殖性糖尿病性视网膜病变。我们研究发现,在 60 mg/kg STZ 腹腔注射造成 SD 大鼠糖尿病的基础上,1 个月后 0.05 μg VEGF 玻璃体注射可以出现 FFA 可见的眼底病变,如荧光素血管渗漏、视网膜出血、新生血管等类似于临床上糖尿病患者 FFA 所见的 DR,尤其是 FFA 观察到视网膜新生血管的形成具有重要的意义,这表明此种模型可以发生临床上常见的 PDR 病变。改变了以往 STZ 诱导的糖尿病大鼠模型仅能模拟背景期 DR 的历史<sup>[13-14]</sup>。为了确定这种模型的价值,我们从以下各个方面进行了分析和比较。

首先,从 FFA 结果来看,正常组无 1 例观察到异常荧光;B 组 2 只鼠于注射 VEGF 后 4 周才可以观察到背景荧光的增强,说明 B 组糖尿病大鼠只能模拟背景期的改变,可能在此阶段已有蛋白质及分子水平的变化,但由于患病时间短,FFA 尚不能观察到其他的阳性体征。C 组部分大鼠在 VEGF 注射后 2 d 至 4 周的时间内出现了背景荧光增强、大血管扭曲和毛细血管扩张、视网膜血管荧光素渗漏、视网膜内出血、视网膜新生血管的改变,说明在相同的患病阶段,C 组大鼠较 B 组大鼠 DR 程度重;另外,C<sub>2</sub>组有 1 只大鼠 FFA 观察到了视网膜新生血管,说明注射 VEGF 后 4 周即进入了增殖期,可以此时间点作为药物研究中给药时间的界定点。这是以往任何一种 STZ 诱导的糖尿病动物模型都无法观察到的现象<sup>[13-14]</sup>。由此可见,STZ 腹腔注射联合 VEGF 玻璃体注射造成 PDR 大鼠模型是成功的,为药物研究提供了高效、经济的动物模型。

其次,为了明确在正常动物玻璃体内直接注射 VEGF 短期内造成 DR 的以往研究<sup>[11]</sup>报道是否具有可重复性,我们曾经在预实验中设立了正常鼠 VEGF 玻璃体注射组,发现 0.1 μg VEGF 注射即可出现严重的视网膜内出血,而 0.05 μg VEGF 注射与同时间点联合注药鼠比较则不会出现类似病变。这说明:①大剂量 VEGF 正常玻璃体腔注射后完全可以因局部高

VEGF 浓度发生类似于人类 DR 背景期的改变<sup>[12]</sup>;②本实验建立的 DR 模型已消除了上述因素的干扰,更具有说服力。

最后,从光镜观察视网膜血管渗漏情况及免疫组化 CD105 标记视网膜增殖血管内皮细胞的情况来看,B 组均未观察到典型的微血管碳素颗粒渗漏、CD105 均为阴性,与以往研究<sup>[13-14]</sup>报道的 STZ 腹腔注射造成的糖尿病大鼠模型只能代表和模拟人类背景型 DR 的结论一致。C<sub>1</sub>组仅观察到神经节细胞层大血管有碳素颗粒的渗漏、CD105 阴性;说明注射 VEGF 后 2 周只出现类似于人类 DR 的背景期改变,与 Rakoczy 等<sup>[9]</sup>2003 年的研究结果一致。C<sub>2</sub>组除 C<sub>1</sub>组病变外,还可观察到外核层有渗漏至血管外的碳素颗粒、CD105 阳性;半薄切片示视杆视锥层出现大量空泡,锥、杆结构紊乱,玻璃体腔内可见红细胞,说明除了在 C<sub>1</sub>组背景期 DR 基础上病变进一步加重外,还出现了新生血管,与 FFA 造影结果相吻合,进一步证明 C<sub>2</sub>组大鼠出现视网膜新生血管的可信性。C<sub>2</sub>组大鼠 FFA 有 1 只(1/3)出现新生血管,而 CD105 标记 3 只(3/3)均为阳性的原因是:CD105 标记的是处于增殖状态的内皮细胞<sup>[15]</sup>发生早于新生血管形成,故出现了上述结果。C<sub>3</sub>组除 C<sub>2</sub>组病变外,还可观察到黄斑区水肿、渗出等病理改变、广泛的微血管渗漏,与 Leberher 等<sup>[10]</sup>的研究结果一致;CD105 亦为阳性;半薄切片示视网膜各层结构紊乱,病变明显重于其他组。这再次证明了此种 PDR 动物模型的可靠性。

综上所述,单纯腹腔注射链脲佐菌素制造的糖尿病大鼠模型只能模拟背景期的改变,与以往研究结果一致。联合注药法制造的部分糖尿病大鼠模型在 VEGF 注射后 2 d 至 4 周的时间内出现了背景荧光增强、大血管扭曲和毛细血管扩张、视网膜血管荧光素渗漏、视网膜内出血、视网膜新生血管的改变,说明在相同的患病阶段,联合注药组大鼠较单纯注药组大鼠 DR 程度重;VEGF 注射后 4 周即进入了增殖期,可以此时间点作为药物研究中给药时间的界定点。联合注药的造模方法不仅可以出现 PDR,还可以缩短研究周期,是一种适合于临床药物筛选的理想动物模型。

总之,本研究建立的 DR 动物模型,对于准确认识 DR,探讨其发生、发展规律,及研究其防治措施具有重要意义,同时对于筛选及开发治疗糖尿病性视网膜病的新药及药物安全性评价将会具有广阔的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] Zhang S X, Sima J, Shao C, et al. Plasminogen kringle 5 reduces vascular leakage in the retina in rat models of oxygen-induced retinopathy and diabetes[J]. *Diabetologia*, 2004, 47(1): 124-131.

[2] 徐寒松, 孔德明, 向慧. 通脉糖眼明胶囊对糖尿病视网膜病变患者血管内皮生长因子水平的影响[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(13): 1327-1332.

[3] Barber A J, Antonetti D A. Mapping the blood vessels with paracellular permeability in the retinas of diabetic rats[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(12): 5410-5416.

[4] 陈小凤, 樊映川. 视网膜新生血管动物模型的建立及病理研究进展[J]. 眼科新进展, 2010, 30(9): 897-900.

[5] 江志坚, 董健鸿, 王惠英, 等. 链脲佐菌素诱导建立 Sprague-Dawley 大鼠糖尿病视网膜病变模型的评价[J]. 上海医学, 2010, 33(1): 85-86.

[6] 罗大卫, 邹海东, 富名水, 等. 大鼠类糖尿病性视网膜病变模型的构建及对比较研究[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2008, 28(6): 626-629.

[7] Matsuoka M, Ogata N, Minamoto K, et al. High levels of pigment epithelium-derived factor in the retina of a rat model of type 2 diabetes[J]. Exp Eye Res, 2006, 82(1): 172-178.

[8] Kakehashi A, Saito Y, Mori K, et al. Characteristics of diabetic retinopathy in SDT rats[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2006, 22(6): 455-461.

[9] Rakoczy P E, Brankov M, Fonceca A, et al. Enhanced recombinant adeno-associated virus-mediated vascular endothelial growth factor ex-

pression in the adult mouse retina: a potential model for diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2003, 52(3): 857-863.

[10] Leberherz C, Maguire A M, Auricchio A, et al. Nonhuman primate models for diabetic ocular neovascularization using AAV2-mediated overexpression of vascular endothelial growth factor[J]. Diabetes, 2005, 54(4): 1141-1149.

[11] Tolentino M J, McLeod D S, Taomoto M, et al. Pathologic features of vascular endothelial growth factor-induced retinopathy in the nonhuman primate[J]. Am J Ophthalmol, 2002, 133(3): 373-385.

[12] Wong C G, Rich K A, Liaw L H, et al. Intravitreal VEGF and bFGF produce florid retinal neovascularization and hemorrhage in the rabbit[J]. Curr Eye Res, 2001, 22(2): 140-147.

[13] Troger J, Neyer S, Heufler C, et al. Substance P and vasoactive intestinal polypeptide in the streptozotocin-induced diabetic rat retina[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(5): 1045-1050.

[14] 宋鄂, 吕成芳, 齐晓同, 等. 糖尿病大鼠视网膜病理模型的建立[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2003, 29(3): 286-288.

[15] Fonsatti E, Sigalotti L, Arslan P, et al. Emerging role of endoglin (CD105) as a marker of angiogenesis with clinical potential in human malignancies[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2003, 3(6): 427-432.

(收稿:2011-11-13;修回:2012-01-17)

(编辑 张 维)

(上接 1217 页)

表 1 3 组患者疗效比较 [n=32, 例数(%)]

组别	良好	中重残率	植物生存	病死率	总有效率
亚低温治疗组	13(40.6)	7(21.9)	4(12.5)	8(25.0) <sup>a</sup>	20(62.5) <sup>a</sup>
神经节苷脂治疗组	12(37.5)	6(18.8)	5(15.6)	9(28.1) <sup>a</sup>	18(56.25) <sup>a</sup>
联合组	16(50.0)	5(15.6)	0(0)	1(3.12)	31(96.88)

a: P < 0.05, 与联合组比较

### 2.2 并发症比较

3 组患者并发症比较经  $\chi^2$  检验无统计学差异 (P > 0.05, 表 2)。

表 2 3 组患者并发症比较 (n=32)

组别	电解质紊乱	肺部感染	泌尿系感染	心律不齐	合计	并发症发生率 (%)
亚低温治疗组	9	5	2	3	19	59.38
神经节苷脂治疗组	7	6	4	5	22	68.75
联合组	8	6	3	4	21	65.62

### 3 讨论

亚低温脑综合治疗能迅速减缓机体重要脏器尤其是脑细胞的代谢, 减少脑组织细胞耗氧量, 保护血脑屏障, 降低颅内压, 改善缺血后低灌注及防止过度灌注损伤<sup>[2]</sup>。近年来, 大量的实验研究和临床应用均证明亚低温对重症颅脑损伤具有肯定的治疗效果<sup>[3]</sup>。有关研究表明, 颅脑损伤后脑组织的病理生理变化快, 伤后 6 h 神经元和轴索即已发生如水肿、明显缺血和普遍性组织学的改变<sup>[4]</sup>。因此宜尽早施行亚低温治疗。一般伤后 24 h 内开始均有效, 时间越早疗效越好, 颅脑损伤后 3 h 为最佳治疗时间<sup>[5]</sup>。治疗的时程随损伤程度而定, 重者时间适当延长, 可避免过早复温引起颅内压反跳; 反之, 脑损伤程度轻者时程宜短。

神经节苷脂能够促进由各种原因导致的中枢神经损伤的功能恢复, 同时对损伤后继发性神经退化有保护作用<sup>[6]</sup>, 对血

流动力及损伤后脑水肿也有积极作用, 可通过改善细胞膜酶活性来减轻神经细胞水肿, 进而减少自由基的生成。神经节苷脂能够直接嵌入受损的神经元细胞膜中, 填补膜缺损, 还可以通过其信息传递的作用, 促使受损神经元增强自身修复能力, 起到打断自由基-细胞膜过氧化脂质-自由基这一恶性循环的作用, 因而减少了自由基的生成。由此我们尝试联合应用神经节苷脂和亚低温冬眠疗法用于治疗重型颅脑损伤。本组资料表明, 应用联合组治疗重型颅脑损伤, 较单纯应用亚低温和神经节苷脂治疗重型颅脑损伤能够明显提高治疗效果, 改善生存质量, 降低死亡率, 提高预后, 值得临床推广应用。

### 参考文献:

[1] 裴云龙, 王宏利, 宇珂. 申捷治疗重症颅脑外伤的体会[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2010, 31(10): 1547-1548.

[2] 梁成, 晏红, 施鑫鹤, 等. 缺血再灌注期实施亚低温与再建血运治疗时间窗的影响[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(18): 1956-1959.

[3] Lee H C, Chuang H C, Cho D Y, et al. Applying cerebral hypothermia and brain oxygen monitoring in treating severe traumatic brain injury[J]. World Neurosurg, 2010, 74(6): 654-660.

[4] Clifton G L, Valadka A, Zygun D, et al. Very early hypothermia induction in patients with severe brain injury (the National Acute Brain Injury Study: Hypothermia II): a randomised trial[J]. Lancet Neurol, 2011, 10(2): 131-139.

[5] Thompson H J, Kirkness C J, Mitchell P H. Hypothermia and rapid rewarming is associated with worse outcome following traumatic brain injury[J]. J Trauma Nurs, 2010, 17(4): 173-177.

[6] Helmy A, De-Simoni M G, Guilfoyle M R, et al. Cytokines and innate inflammation in the pathogenesis of human traumatic brain injury[J]. Prog Neurobiol, 2011, 95(3): 352-372.

(收稿:2012-02-05;修回:2012-05-04)

(编辑 王小寒)