

重组人红细胞生成素改善小鼠颅脑创伤后认知功能的机制探讨

陈通恒 周子伟 李盛杰 田野 杨国巍 王世召 魏铭 雷平 张建宁

【摘要】 研究背景 颅脑创伤后的炎症反应可导致继发性脑损伤,引起神经元凋亡和神经功能缺损。重组人红细胞生成素(rhEPO)具有神经保护作用,我们采用液压打击动物模型,观察经rhEPO治疗后脑组织中中性粒细胞变化和神经元凋亡情况,以探讨该药对颅脑创伤后神经功能保护的潜在作用机制。**方法** 采用液压打击模型模拟颅脑创伤,分别于创伤后第1、3和7天观察不同处理组小鼠海马区髓过氧化物酶阳性中性粒细胞和Caspase-3阳性神经元表达变化;并于创伤后第7~11天进行Morris水迷宫实验,记录小鼠逃避潜伏期。**结果** 与假手术组相比,伤后第1天小鼠海马区髓过氧化物酶阳性中性粒细胞数目即开始增加(均 $P=0.000$),并于第3天达峰值水平(均 $P=0.000$),至第7天时减少(均 $P=0.000$);Caspase-3阳性神经元数目于伤后第1天开始逐渐增多(均 $P=0.000$),至第7天达峰值水平(均 $P=0.000$)。与生理盐水组相比,rhEPO组小鼠伤后第1~7天海马区髓过氧化物酶阳性中性粒细胞和Caspase-3阳性神经元数目呈逐渐减少趋势,不同观察时间点差异具有统计学意义(均 $P=0.000$)。与生理盐水组相比,rhEPO组小鼠于Morris水迷宫实验训练第3天逃避潜伏期开始缩短($P=0.013$),随着训练时间的延长,组间差异具有统计学意义($P=0.011,0.000$)。**结论** 液压打击后给予rhEPO可促进小鼠颅脑创伤后认知功能的恢复。其可能机制与抑制创伤后局部炎症反应、减少神经元凋亡、促进神经功能恢复有关。

【关键词】 脑损伤; 红细胞生成素,重组; 过氧化物酶类; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3; 细胞凋亡; 认知障碍; 疾病模型,动物

The potential mechanism of recombinant human erythropoietin treatment in vivo promoting the cognitive function recovery after traumatic brain injury in mice

CHEN Tong-heng, ZHOU Zi-wei, LI Sheng-jie, TIAN Ye, YANG Guo-wei, WANG Shi-zhao, WEI Ming, LEI Ping, ZHANG Jian-ning

Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin Neurological Institute, Tianjin 300052, China

Corresponding author: ZHANG Jian-ning (Email: jianningzhang@hotmail.com)

【Abstract】 **Background** Inflammation after traumatic brain injury (TBI) could exacerbate secondary brain injury, resulting in neuronal apoptosis and neurological deficit. It is confirmed that recombinant human erythropoietin (rhEPO) plays an important role in neuroprotection after brain injury. This article discusses the potential mechanism of rhEPO therapy that promotes the neurological function recovery after TBI by observing the changes of neutrophils and neuronal apoptosis in the brain tissue of mice after fluid percussion injury (FPI). **Methods** Adult male C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups: Sham group, TBI group, rhEPO group and normal saline (NS) group. On the first, third and seventh days after FPI, 3 mice were randomly taken from each group, the brain tissue of which was obtained. Then, immunohistochemistry was adopted to observe the expression of myeloperoxidase (MPO) positive neutrophils and Caspase-3 positive neuronal cells in the hippocampal area. During seventh to eleventh day after FPI,

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2013.02.011

基金项目:教育部科学技术研究重点项目(项目编号:211011);天津市卫生局科技基金资助项目(项目编号:2011KZ96)

作者单位:300052 天津医科大学总医院神经外科,天津市神经病学研究所[魏铭(现在天津医科大学第二医院神经外科,邮政编码:300211)]

通讯作者:张建宁(Email:jianningzhang@hotmail.com)

10 mice of each group were subjected to Morris Water Maze Test and escaping latencies were recorded. **Results** Compared to Sham group, the number of MPO positive neutrophils began increasing from the first day after FPI ($P=0.000$, for all) and reached the peak on the third day ($P=0.000$, for all) in the TBI group, NS group and rhEPO group, but reduced on the seventh day ($P=0.000$, for all); whereas Caspase-3 positive neurons increased significantly 1 d after FPI, peaking on the seventh day. However, the increase of MPO positive cells and Caspase-3 positive neurons in rhEPO group was not obvious. Compared to NS group, MPO positive neutrophils and Caspase-3 positive cells reduced significantly in rhEPO group ($P=0.000$, for all) 1 to 7 d after FPI in the observed time points. In the Morris Water Maze (MWM), the latency of mice in rhEPO group reduced as compared to the NS group from the third day after FPI ($P=0.013$). The differences were statistically significant as time went on ($P=0.011, 0.000$). **Conclusion** The cognition recovery of mice after FPI can be promoted by rhEPO treatment, the potential mechanism of which is related to reducing inflammation and neuron apoptosis and promoting neural function recovery.

【Key words】 Brain injuries; Erythropoietin, recombinant; Peroxidases; Caspase 3; Apoptosis; Cognition disorders; Disease models, animal

This study was supported by Key Project of Science and Technology Research of Ministry of Education, China (No. 211011) and Technology Funding of Health Bureau of Tianjin (No. 2011KZ96).

颅脑创伤(TBI)具有高病死率和病残率之特点,尤其对青少年影响更甚^[1],而且呈不断上升趋势^[2-3]。初始创伤后幸存患者,病死率或病残率在很大程度上取决于继发性脑损伤进展程度^[4]。而加重继发性脑损伤的因素包括炎症、氧化应激反应、机体离子失衡、血管通透性增加、线粒体功能障碍及兴奋性细胞毒作用等^[4-5]。其中颅脑创伤后的局部炎症反应被认为是继发性脑损伤病理过程中最为重要的影响因素之一^[6],而中性粒细胞浸润是颅脑创伤后早期炎症反应的特征^[7]。对小鼠颅脑创伤模型的观察显示,中性粒细胞透过损伤的血-脑脊液屏障进入脑实质,促进神经元凋亡,造成脑组织损伤,进一步加重脑水肿^[8],由于这些影响因素的干扰使得有效的颅脑创伤治疗变得更加棘手。红细胞生成素(EPO)作为造血生长因子家族成员,主要是在缺氧条件下由肾脏刺激红细胞生成。以往研究显示,红细胞生成素除具有造血功能外,还具有重要的脑保护作用^[9-10]。在本实验中,我们通过动物模型观察颅脑创伤小鼠经重组人红细胞生成素(rhEPO)治疗后脑组织中中性粒细胞变化和神经元凋亡情况,以探讨rhEPO对颅脑创伤后神经功能保护的潜在作用机制。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验动物 清洁级 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠共 184 只,体质量 23~25 g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供。所有实验动物均于实验室饲养 1 周后用于实验,饲养条件为 12 h 白昼-12 h 夜

晚,常温、避免异常声光刺激,单笼饲养。采用完全随机化分组方法分为假手术组、单纯颅脑创伤组(TBI组)、创伤后重组人红细胞生成素治疗组(rhEPO组)和创伤后生理盐水治疗组(生理盐水组),每组各 46 只小鼠。

2. 主要试剂 rhEPO 注射液(3000 U/ml)购自华北制药金坦生物技术股份有限公司,应用时以生理盐水稀释至 1000 U/ml。免疫试剂中 I 抗[含兔抗小鼠 Caspase-3 单克隆抗体(1:200)、兔抗小鼠髓过氧化物酶(MPO)单克隆抗体(1:100)]分别购自美国 Cell Signaling Technology 公司和英国 Abcam 公司,PowerVision 二步法免疫组织化学检测试剂盒(含山羊抗兔 IgG II 抗、Triton X-100,工作浓度均为 1:20),以及二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

3. 主要仪器 TKR200C 型小动物呼吸机为江西特力麻醉呼吸设备公司产品。Morris 水迷宫实验仪由荷兰 NOLDUS 公司生产,直径为 122 cm、高为 40 cm,可见平台直径为 8 cm、高为 15 cm。MODEL01-B 型颅脑创伤模型制造仪由美国 NewSun 公司提供。

二、实验方法

1. 小鼠液压打击模型制备 (1)制备方法^[11]: TBI组、rhEPO组和生理盐水组小鼠经简单随机抽样编号后称体质量,经腹腔注射质量分数为 10%水合氯醛(3 ml/kg)行全身麻醉。小鼠俯卧位、头部固定于立体定向架上,剔除颅骨顶部皮毛,碘伏、酒精消毒皮肤,质量分数为 2%利多卡因行头皮局部浸润麻醉。沿头部正中中线切开头皮、筋膜,分离骨膜直

至显露颅骨,致伤部位以前囟后 2 mm、矢状线向右旁开 2 mm 处为中心,磨钻钻孔(直径 1.50 mm)形成圆形骨窗,保持硬脑膜完整,将自制打击管(5 ml 注射器乳头)与口腔科增强型磷酸锌水门汀结合,打击管紧密固定于骨窗周围颅骨;采用自制打击套管与 MODEL01-B 型颅脑创伤模型制造仪紧密连接,确定打击管与打击套管严密无渗漏,调整液压打击仪摆锤高度(摆锤与打击活塞夹角 9.50°),使打击力度稳定于 2.05 atm (1 atm = 101.325 kPa),小鼠清醒后进行液压冲击致伤。然后即刻以小动物呼吸机进行抢救,待小鼠生命体征平稳后消毒头皮、缝合,并记录打击后液压创伤仪波形峰值。假手术组小鼠不接受液压打击,其余处理措施与 TBI 组小鼠相同;rhEPO 组小鼠液压打击后即刻予以 rhEPO,经腹腔连续注射 6 d,前 3 d 剂量为 5000 U/kg、后 3 d 剂量为 1000 U/kg;生理盐水组小鼠液压打击后立即给予与 rhEPO 等量的生理盐水进行腹腔注射。(2)结果判断:经液压打击后即刻出现呼吸暂停,随后逐渐清醒,至创伤后 24 h 时改良神经功能缺损评分(mNSS)为 7~12 分,即中度颅脑创伤者,视为动物模型制备成功^[12]。

2. 免疫组织化学染色检测髓过氧化物酶和 Caspase-3 表达变化 (1)检测方法:小鼠经液压打击后,分别于伤后第 1、3 和 7 天切取脑组织进行观察。经质量分数为 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉小鼠,打开胸腔、显露心脏,以质量分数为 0.9% 氯化钠和 4% 多聚甲醛溶液进行心脏灌注并固定,立即断头切取全脑组织并浸泡于 4% 多聚甲醛溶液中,24 h 后切取前囟后 2 mm、矢状线向右旁开 2 mm 处创伤灶组织(厚度约为 6 mm)进行石蜡包埋,切片连续切取层厚为 6 μm 的创伤灶组织冠状切片,贴于含有 100 g/L 多聚赖氨酸的清洁玻片上,风干烤片后梯度脱蜡至水,98 $^\circ\text{C}$ 柠檬酸盐溶液修复抗原 20 min,质量分数为 5% TritonX-100 破膜,质量分数为 3% 胎牛血清白蛋白非特异性封闭抗原,然后滴加兔抗小鼠髓过氧化物酶单克隆抗体(I 抗)和兔抗小鼠 Caspase-3 单克隆抗体(I 抗);4 $^\circ\text{C}$ 冰箱过夜、37 $^\circ\text{C}$ 温箱孵育 40 min,磷酸盐缓冲液冲洗 5 min($\times 3$ 次),滴加山羊抗兔 IgG II 抗,DAB 显色、苏木素复染;盐酸乙醇酸化、自来水返蓝,脱水、脱蜡、封片,光学显微镜下观察。(2)阳性结果判断:于光学显微镜低倍视野下观察受损海马区,随机选择 5 个视野进行阳性细胞计数,取平均值即为该张脑组织切片阳性细胞

数目;高倍镜下可见坏死区域及周围脑组织神经元胞质呈棕褐色,而且与周围正常神经元分界清晰即为阳性细胞。图像分析采用日本 Olympus IX2-UCB 倒置显微镜、Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件。以上操作过程均由天津医科大学总医院病理科医师完成。

3. 认知功能评价 不同处理组小鼠均于伤后第 7 天进行 Morris 水迷宫实验^[13]。Morris 水迷宫平台置于水下 0.50 cm,水温 19~22 $^\circ\text{C}$,位于一黑色屏风内,屏风内四面有不同图案,小鼠可以根据屏风内图形线索进行定位,实验过程中图形位置、大小保持不变。训练 4 次/d,每次从不同象限入水,连续训练 5 d。小鼠从不同象限出发点至寻找到平台的时间,即为逃避潜伏期(EL);小鼠若在 60 s 内仍未发现平台,则引导其游上平台并停留 10 s,逃避潜伏期计为 60 s。

三、统计分析方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据计算与分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,髓过氧化物酶阳性中性粒细胞和 Caspase-3 阳性神经元数目多个样本均数间的比较采用单因素方差分析,两两比较行 LSD-*t* 检验;Morris 水迷宫实验数据采用重复测量设计的方差分析,不同测量时间点之间的两两比较行 LSD-*t* 检验。统计推断的检验水准均为 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

一、创伤后髓过氧化物酶阳性中性粒细胞表达变化

免疫组织化学染色显示,与假手术组相比,其余各组小鼠创伤侧海马区髓过氧化物酶阳性中性粒细胞数目于伤后第 1 天开始增加(均 $P = 0.000$),并于第 3 天达到高峰(均 $P = 0.000$),至第 7 天时减少(均 $P = 0.000$);与生理盐水组比较, rhEPO 组小鼠创伤侧海马区髓过氧化物酶阳性中性粒细胞数目于伤后第 1、3 和 7 天均减少($P = 0.000$),至伤后第 7 天减少最明显(图 1;表 1,2)。不同处理组小鼠健侧海马区髓过氧化物酶阳性中性粒细胞数目比较,差异无统计学意义($P = 0.115$)。

二、创伤后 Caspase-3 阳性神经元表达变化

免疫组织化学染色显示,与假手术组比较,其余各组小鼠创伤侧海马区 Caspase-3 阳性神经元数目于伤后第 1 天开始增加(均 $P = 0.000$),于第 3 天时

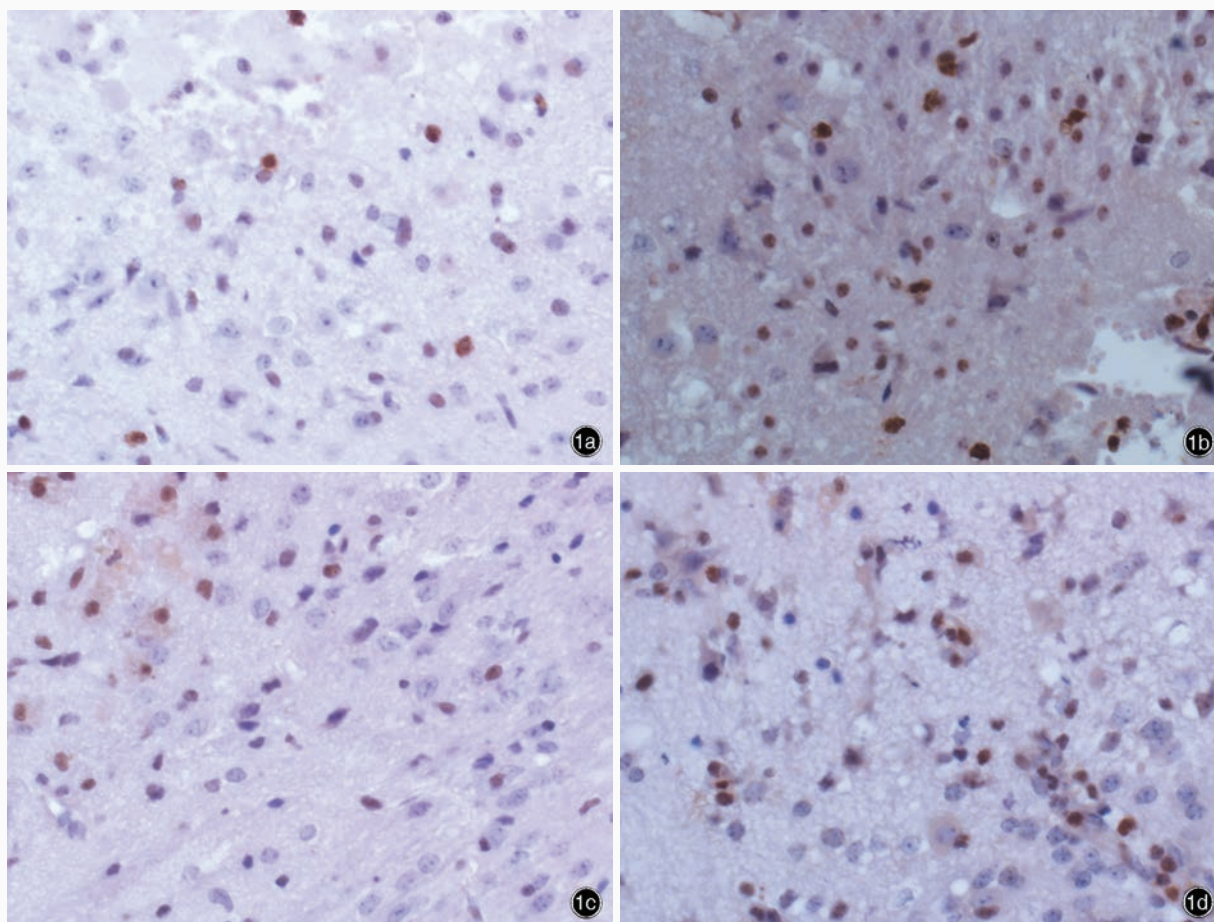


图 1 光学显微镜观察显示,创伤后不同处理组小鼠创伤侧海马区髓过氧化物酶阳性中性粒细胞胞质呈棕褐色。免疫组织化学染色(PowerVision 二步法) ×400。1a 假手术组 1b TBI 组 1c rhEPO 组 1d 生理盐水组

Figure 1 Optical microscopy found brown MPO positive cells in the hippocampus after FPI in each group. Immunohistochemical staining (PowerVision) ×400. Sham group (Panel 1a). TBI group (Panel 1b). rhEPO group (Panel 1c). NS group (Panel 1d)

表 1 创伤后各组小鼠不同观察时间点创伤侧海马区髓过氧化物酶阳性细胞数目的比较($\bar{x} \pm s$, 个/HPF)

Table 1. Comparison of MPO positive cell numbers in each group at different time points after FPI ($\bar{x} \pm s$, /HPF)

Group	N	Time points		
		1 d	3 d	7 d
Sham group (A)	6	1.83 ± 0.75	1.83 ± 0.75	1.67 ± 0.82
TBI group (B)	6	12.00 ± 1.26	18.83 ± 1.17	6.00 ± 0.89
rhEPO group (C)	6	5.00 ± 0.89	9.33 ± 1.97	2.83 ± 0.75
NS group (D)	6	12.17 ± 1.17	19.00 ± 1.41	5.83 ± 0.98
F value		147.949	211.197	37.704
P value		0.000	0.000	0.000

表 2 创伤后各组小鼠不同观察时间点创伤侧海马区髓过氧化物酶阳性细胞数目的两两比较

Table 2. Paired comparison of MPO positive cell numbers in each group at different time points after FPI

Paired dcomparison	P value		
	1 d	3 d	7 d
A : B	0.000	0.000	0.000
A : C	0.000	0.000	0.000
A : D	0.000	0.000	0.000
C : D	0.000	0.000	0.000

明显增加(均 $P = 0.000$),并持续至第 7 天(均 $P = 0.000$);与生理盐水组相比,rhEPO 组小鼠创伤侧海马区 Caspase-3 阳性神经元数目于伤后第 1、3 和 7 天均减少,组间差异有统计学意义(均 $P = 0.000$;图 2,表 3,4)。不同处理组小鼠健侧海马区 Caspase-3 阳

性神经元数目比较,差异无统计学意义($P = 0.085$)。

三、认知功能评价

Morris 水迷宫实验结果显示,随着观察时间的延长不同处理组小鼠认知功能逐渐恢复,不同处理组之间、不同测量时间点之间比较,总体差异均具

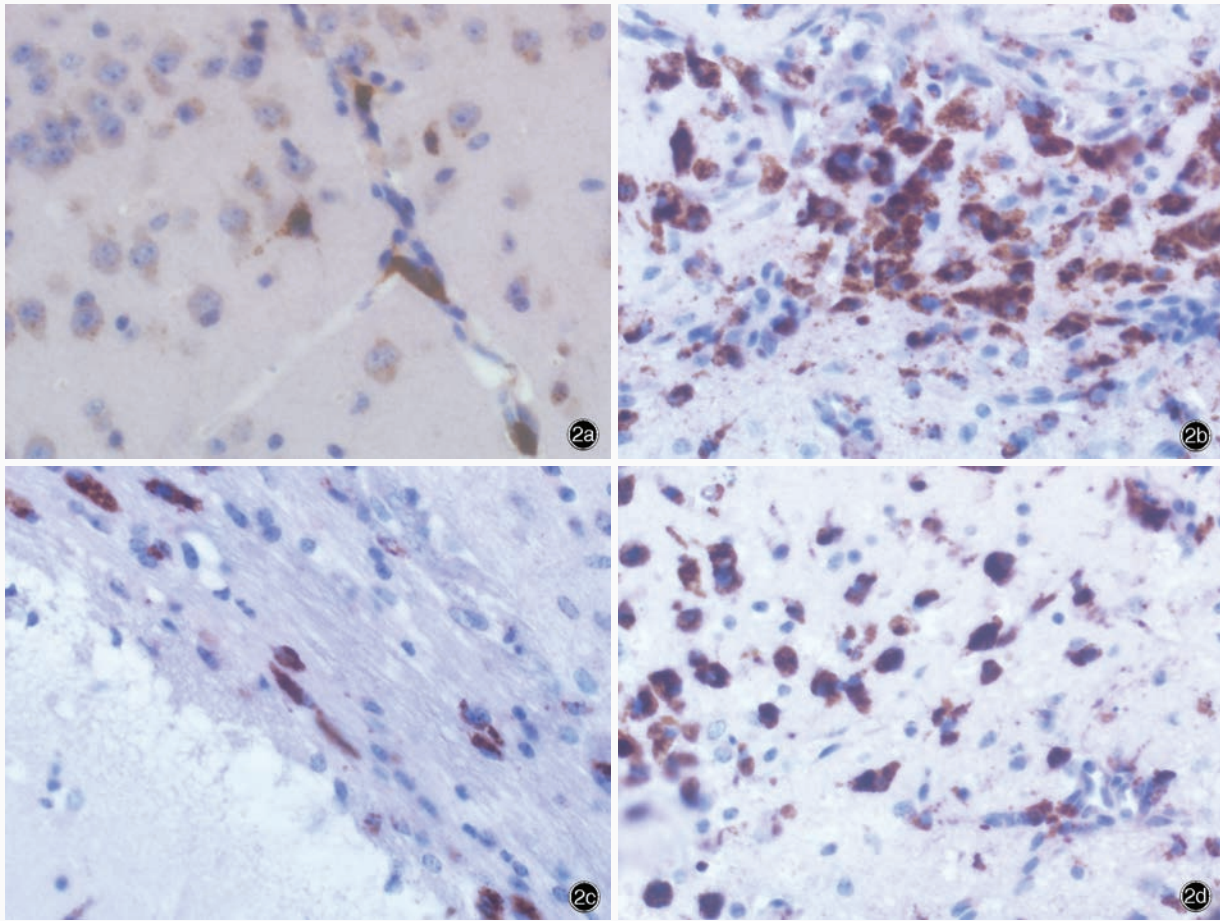


图 2 光学显微镜观察显示, 创伤后不同处理组小鼠创伤侧海马区 Caspase-3 阳性神经元胞质呈棕褐色 免疫组织化学染色 (PowerVision 二步法) ×400 2a 假手术组 2b TBI 组 2c rhEPO 组 2d 生理盐水组

Figure 2 Optical microscopy found brown Caspase-3 positive cells in the hippocampus in each group Immunohistochemical staining (PowerVision) ×400. Sham group (Panel 2a). TBI group (Panel 2b). rhEPO group (Panel 2c). NS group (Panel 2d)

表 3 创伤后各组小鼠不同观察时间点创伤侧海马区 Caspase-3 阳性神经元数目的比较 ($\bar{x} \pm s$, 个/HPF)

Table 3. Comparison of Caspase-3 neuron numbers at different time points in each group after FPI ($\bar{x} \pm s$, /HPF)

Group	N	Time points		
		1 d	3 d	7 d
Sham group (A)	6	2.00 ± 0.63	1.83 ± 0.75	1.67 ± 0.82
TBI group (B)	6	11.00 ± 1.26	19.00 ± 1.41	28.33 ± 1.21
rhEPO group (C)	6	4.67 ± 0.82	9.67 ± 1.63	13.83 ± 1.47
NS group (D)	6	9.83 ± 1.17	18.00 ± 1.41	29.50 ± 1.05
F value		107.920	214.278	774.403
P value		0.000	0.000	0.000

表 4 创伤后各组小鼠不同观察时间点创伤侧海马区 Caspase-3 阳性神经元数目的两两比较

Table 4. Paired comparison of Caspase-3 neuron numbers in each group at different time points after FPI

Paired comparison	P value		
	1 d	3 d	7 d
A : B	0.000	0.000	0.000
A : C	0.000	0.000	0.000
A : D	0.000	0.000	0.000
C : D	0.000	0.000	0.000

有统计学意义 ($P = 0.000$, 表 5 ~ 7)。与生理盐水组相比, rhEPO 组小鼠训练第 1 和 2 天时认知功能无明显改善 ($P = 0.335, 0.252$); 但训练第 3 天起, rhEPO 组小鼠逃避潜伏期缩短 ($P = 0.013$), 并维持至训练结束 ($P = 0.011, 0.000$)。

讨 论

继发性脑损伤被认为是颅脑创伤后预后不良的重要原因, 而炎症反应和神经元凋亡是创伤后引起继发性脑损伤的重要病理学机制^[14]。在本研究

表 5 创伤后各组小鼠不同观察时间点 Morris 水迷宫实验逃避潜伏期的比较($\bar{x} \pm s, s$)

Table 5. Comparison of latency of mice in MWM in each group at different time points ($\bar{x} \pm s, s$)

Group	N	Latency at different time points				
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
Sham group (A)	10	57.13 ± 2.49	53.25 ± 2.22	35.12 ± 8.91	25.25 ± 5.08	19.84 ± 5.70
TBI group (B)	10	59.05 ± 1.19	56.13 ± 3.37	48.34 ± 4.99	40.58 ± 8.75	35.18 ± 8.03
rhEPO group (C)	10	57.02 ± 2.27	53.36 ± 3.58	38.15 ± 9.79	30.59 ± 10.70	23.26 ± 5.90
NS group (D)	10	58.05 ± 3.05	56.13 ± 3.37	49.50 ± 1.05	40.12 ± 6.15	34.25 ± 4.66

表 6 创伤后各组小鼠不同观察时间点 Morris 水迷宫实验逃避潜伏期重复测量设计的方差分析表

Table 6. ANOVA for repeated measurement of escaping latency in different groups in MWM at different time points

Source	SS	df	MS	F value	P value
Method	3 496.509	3	1165.503	18.153	0.000
Time	25 995.752	4	6498.938	208.019	0.000
Method × time	1 446.688	12	120.556	3.859	0.000
Intra-group error	4 498.860	144	31.242		
Among group error	2 311.339	36	64.204		

表 7 创伤后各组小鼠不同观察时间点 Morris 水迷宫实验逃避潜伏期的两两比较

Table 7. Paired comparison of escaping latency in different groups in MWM at different time points

Paired comparison	P value				
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
A : B	0.076	0.059	0.001	0.000	0.000
A : C	0.389	0.223	0.002	0.000	0.000
A : D	0.917	0.939	0.426	0.144	0.225
C : D	0.335	0.252	0.013	0.011	0.000

中,我们采用国际公认的液压打击动物模型模拟颅脑创伤,观察小鼠创伤后不同观察时间点脑组织病理变化过程,并评价重组人红细胞生成素对小鼠颅脑创伤的治疗效果。结果显示,创伤后小鼠外周血中性粒细胞浸润脑组织,且伴随神经元凋亡;而重组人红细胞生成素则具有阻止中性粒细胞浸润、减少神经元凋亡之功效。

许多研究结果业已证实,小鼠颅脑创伤后中枢神经系统分泌的炎症因子参与炎症反应^[15-16],导致 IL-1 β 、6 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子水平显著升高,继而诱导外周血中性粒细胞侵入脑组织。中性粒细胞内的髓过氧化物酶、弹性蛋白酶、基质金属蛋白酶(MMPs)和活性氧(ROS)等物质可导致细胞膜结构和功能发生改变,使细胞通透性增加,细胞外钙离子进入细胞内,激活磷脂,进而破坏 DNA 和蛋白质的结构和功能^[17]。对脊髓损伤动物模型的观察显示,创伤后予以红细胞生成素治疗可显著抑制外周血 TNF- α 和 IL-1 β 等炎症因子的表达水平,通过改善由 TNF- α 诱导的微环境障碍^[18]和降低 IL-6 表达而抑制诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和星型胶质细胞活性,促进脊髓损伤的修复^[19]。因此,红细胞生成素被认为是 TNF- α 等炎症因子的天然抑制剂^[20]。由此可推测,红细胞生成素治疗颅脑创伤减少中性粒细胞浸润的机制,可能是通过抑制

外周血 TNF- α 和 IL-6 的表达水平而发挥功效。同时,创伤后发生的小鼠神经元凋亡还伴随 Caspase-3 的激活,后者是诱导神经元凋亡的重要原因^[21]。在本研究中,创伤后第 7 天小鼠患侧海马区仍可见大量凋亡神经元,而且其数目呈逐渐增多之趋势。造成这一现象的原因,除了中性粒细胞浸润外,可能还与创伤后伴随外周血其他炎性细胞浸润(如 T 细胞)和脑组织小胶质细胞激活等进一步造成神经元凋亡有关^[22]。动物实验表明,脊髓损伤后外周血 TNF- α 和 IL-6 表达水平升高可诱导少突胶质细胞凋亡^[23]和一氧化氮合酶(NOS)表达,而一氧化氮合酶过表达则导致线粒体功能障碍,促进 Caspase-3 激活,进而导致神经元凋亡^[19]。本研究结果显示,颅脑创伤小鼠经重组人红细胞生成素治疗后其脑组织中 Caspase-3 阳性神经元数目减少。提示重组人红细胞生成素具有抑制颅脑创伤后神经元凋亡的作用,其机制可能与抑制外周血 IL-6 和 TNF- α 表达有关。重组人红细胞生成素的这一特性已在小鼠脑缺血模型研究中获得证实^[24-25]。

综上所述,小鼠颅脑创伤后经重组人红细胞生成素治疗可减少外周血中性粒细胞浸润,抑制局部脑组织炎症反应,减少神经元凋亡,但其确切的脑保护作用机制仍待进一步研究加以证实。而且,重组人红细胞生成素对小鼠颅脑创伤后的远期疗效

尚有待进一步观察。

参 考 文 献

- [1] Yatsiv I, Grigoriadis N, Simeonidou C, Stahel PF, Schmidt OI, Alexandrovitch AG, Tsenter J, Shohami E. Erythropoietin is neuroprotective, improves functional recovery, and reduces neuronal apoptosis and inflammation in a rodent model of experimental closed head injury. *FASEB J*, 2005, 19:1701-1703.
- [2] Chen X, Zhang KL, Yang SY, Dong JF, Zhang JN. Glucocorticoids aggravate retrograde memory deficiency associated with traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*, 2009, 26:253-260.
- [3] Zhi DS, Zhang GB, Yan H. A review of fundamental and clinical study on traumatic brain injury in last 10 years. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2010, 10:83-91. [只达石, 张国斌, 闫华. 颅脑创伤基础与临床研究十年回顾. 中国现代神经疾病杂志, 2010, 10:83-91.]
- [4] Sande A, West C. Traumatic brain injury: a review of pathophysiology and management. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*, 2010, 20:177-190.
- [5] Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, 24:133-150.
- [6] Liu R, Suzuki A, Guo Z, Mizuno Y, Urabe T. Intrinsic and extrinsic erythropoietin enhances neuroprotection against ischemia and reperfusion injury in vitro. *J Neurochem*, 2006, 96:1101-1110.
- [7] Holmin S, Söderlund J, Biberfeld P, Mathiesen T. Intracerebral inflammation after human brain contusion. *Neurosurgery*, 1998, 42:291-298.
- [8] Kenne E, Erlandsson A, Lindbom L, Hillered L, Clausen F. Neutrophil depletion reduces edema formation and tissue loss following traumatic brain injury in mice. *J Neuroinflammation*, 2012, 9:17.
- [9] Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, Itri LM, Cerami A. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:10526-10531.
- [10] Villa P, van Beek J, Larsen AK, Gerwien J, Christensen S, Cerami A, Brines M, Leist M, Ghezzi P, Torup L. Reduced functional deficits, neuroinflammation, and secondary tissue damage after treatment of stroke by nonerythropoietic erythropoietin derivatives. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27: 552-563.
- [11] Zhou ZW, Han ZY, Shan Y, Tian Y, Chen TH, Li SJ, Liu L, Lei P, Jiang RC, Zhang JN. The experimental research on cognitive function recovery of electrical stimulation pre-conditioned rats after brain trauma. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2011, 11:607-613. [周子伟, 韩振营, 单阳, 田野, 陈通恒, 李盛杰, 刘丽, 雷平, 江荣才, 张建宁. 电刺激预处理对大鼠颅脑创伤后认知功能的影响. 中国现代神经疾病杂志, 2011, 11:607-613.]
- [12] Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, Chopp M. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke*, 2001, 32:1005-1011.
- [13] Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc*, 2006, 1:848-858.
- [14] Yang SY. Neuroprotection of progesterone after traumatic brain injury. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2010, 10: 671-673. [杨树源. 孕酮对颅脑创伤后的脑保护作用. 中国现代神经疾病杂志, 2010, 10:671-673.]
- [15] Kadhim HJ, Duchateau J, Sébire G. Cytokines and brain injury: invited review. *J Intensive Care Med*, 2008, 23:236-249.
- [16] Ziebell JM, Morganti-Kossmann MC. Involvement of pro- and anti-inflammatory cytokines and chemokines in the pathophysiology of traumatic brain injury. *Neurotherapeutics*, 2010, 7:22-30.
- [17] Ramilo O, Sáez-Llorens X, Mertsola J, Jafari H, Olsen KD, Hansen EJ, Yoshinaga M, Ohkawara S, Nariuchi H, McCracken GH Jr. Tumor necrosis factor alpha/cachectin and interleukin 1 beta initiate meningeal inflammation. *J Exp Med*, 1990, 172:497-507.
- [18] Contaldo C, Lindenblatt N, Elsherbiny A, Högger DC, Borzadi MK, Vetter ST, Lang KS, Handschin AE, Giovanoli P. Erythropoietin requires endothelial nitric oxide synthase to counteract TNF- α -induced microcirculatory dysfunction in murine striated muscle. *Shock*, 2011, 35:315-321.
- [19] Okutan O, Solaroglu I, Beskonakli E, Taskin Y. Recombinant human erythropoietin decreases myeloperoxidase and caspase-3 activity and improves early functional results after spinal cord injury in rats. *J Clin Neurosci*, 2007, 14:364-368.
- [20] Cerami A. TNF and EPO: major players in the innate immune response. Their discovery. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71 Suppl 2: i55-59.
- [21] Yakovlev AG, Faden AI. Caspase-dependent apoptotic pathways in CNS injury. *Mol Neurobiol*, 2001, 24:131-144.
- [22] Rhodes J. Peripheral immune cells in the pathology of traumatic brain injury? *Curr Opin Crit Care*, 2011, 17:122-130.
- [23] Scurlock B, Dawson G. Differential responses of oligodendrocytes to tumor necrosis factor and other pro-apoptotic agents: role of ceramide in apoptosis. *J Neurosci Res*, 1999, 55:514-522.
- [24] Kim MS, Seo YK, Park HJ, Lee KH, Lee KH, Choi EJ, Kim JK, Chung HL, Kim WT. The neuroprotective effect of recombinant human erythropoietin via an antiapoptotic mechanism on hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Korean J Pediatr*, 2010, 53:898-908.
- [25] Wen X, Huang Y, Wang J. Erythropoietin preconditioning on hippocampus neuronal apoptosis following status epilepticus induced by Li-pilocarpine in rats through anti-caspase-3 expression. *Neurol India*, 2006, 54:58-63.

(收稿日期:2012-12-14)

下期内容预告 本刊2013年第3和第4期报道专题为血管内治疗,重点内容包括:解析支架植入与强化药物治疗预防颅内动脉狭窄再发脑卒中对照试验;颈内动脉床突旁动脉瘤影像学分类探讨;颈静脉孔区脑静脉窦脑血管造影及临床意义分析;缺血性脑血管病的血管内治疗;颅内动脉粥样硬化性狭窄支架血管成形术治疗相关并发症;血管内支架植入术治疗症状性锁骨下动脉起始段狭窄的临床研究;压力导丝在颈动脉支架成形术中的应用;颈动脉扭曲的血管内治疗;青年颅内动脉瘤流行病学和影像学临床研究;破裂小脑前下动脉动脉瘤的外科治疗;颅内动-静脉畸形的外科治疗评价;Onyx胶结合弹簧圈经静脉入路治疗硬脑膜动-静脉瘘;颅内静脉窦血栓形成临床研究;颅内静脉窦血栓形成的临床治疗