

不同程度缺氧缺血对新生大鼠脑损伤的影响及机制探讨

辛颖 孟淑珍

(中国医科大学附属盛京医院儿科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] 目的 比较不同程度的缺氧缺血(hypoxia-ischemia, HI)对新生大鼠脑损伤的影响,探讨胶质细胞活化和细胞因子所起的作用。方法 120只7日龄Wistar大鼠随机分为对照组、轻度HI组和重度HI组。两组HI大鼠行右颈总动脉结扎,分别置于含8%氧的密闭氧舱内34.5℃, 40 min和35.5℃, 65 min。用MRI、微管相关蛋白(MAP2)和TUNEL染色评估脑损伤;免疫组化法检测巨噬细胞激活抗原(ED1)、TNF-α和硝基酪氨酸(NT)表达的变化。结果 轻度HI组大鼠MRI显示缺血侧皮质T2强度轻度下降,皮层下白质T2值增加,皮质MAP2染色中度下降,皮层下白质TUNEL阳性细胞数量明显增多;重度HI组大鼠缺血侧半球的大部分T2值均增加,皮质与白质MAP2染色均明显减少,TUNEL阳性细胞数量均明显增加。轻度HI后ED1、TNF-α与NT表达仅在急性期增加,且多局限于皮层下白质;而重度HI后其增加出现得较晚且持久,见于整个缺血侧半球。结论 轻度HI可引起相对选择性的白质损伤,重度HI则引起缺血侧半球的广泛损伤,胶质细胞活化和细胞因子异常表达可能起了一定作用。

[中国当代儿科杂志,2010,12(6):468-473]

[关键词] 缺氧缺血;脑损伤;胶质细胞活化;细胞因子;新生大鼠

[中图分类号] R-33 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)06-0468-06

Effects of different severities of hypoxia-ischemia on brain injury in neonatal rats

XIN Ying, MENG Shu-Zhen. Department of Pediatrics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004 China (Email: xin.ying168@live.cn)

**Abstract: Objective** To compare the features of brain injury in neonatal rats with different severities of hypoxia-ischemia (HI), and explore the role of microglial activation and cytokines. **Methods** One hundred and twenty 7-day-old rats were randomized to three groups: sham control, mild HI, and severe HI. The rats in the HI groups were subjected to right carotid artery occlusion and 8% oxygen hypoxia exposure (40 minutes, 34.5℃ in the mild HI group; 65 minutes, 35.5℃ in the severe HI group). MRI, microtubule associated protein (MAP2) and TUNEL staining were used to confirm the severity of brain injury. Changes in expression of activated microglia (ED1) and signs of cytokine involvement or oxidative stress (TNF-α, nitrotyrosine) were assessed immunohistochemically. **Results** In the mild HI group, MRI scans demonstrated increased T2 values in the ipsilateral subcortical white matter and a slight loss of T2 values in the cortex, corresponding to a medium loss of MAP2 in the ipsilateral cortex. There was an increase in the number of TUNEL positive cells compared to the control group within the subcortical white matter. In the severe HI group, the T2 value increased in the majority of the hemisphere, corresponding to a severe loss of staining for MAP2 in the ipsilateral hemisphere. The number of TUNEL positive cells significantly increased in the ipsilateral cortex and white matter. In the mild HI group, ED1, TNF-α and nitrotyrosine expression increased only in the acute stage and was only observed in subcortical white matter. In contrast, after severe HI, the increase in ED1, TNF-α and nitrotyrosine expression was observed in the whole ipsilateral hemisphere and prolonged for weeks. **Conclusions** Following a mild HI a relatively selective white matter injury compares to the pannecrosis in the cortex and white matter following a severe HI. Microglial activation and over-expression of cytokines might contribute to the development of hypoxic-ischemic brain damage.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (6):468-473]

**Key words:** Hypoxia-ischemia; Brain injury; Microglial activation; Cytokine; Neonatal rats

围产期缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是严重危害新生儿生命的常见原因之一,发病机制仍不是很清楚,临床表现存在很大差异,预后也不尽相同。目前的治疗方法尚缺少针对性。影响脑损伤严重程度的因素有很多,如脑内胶质细胞和神经元的成熟度、缺氧缺血的严重度

[收稿日期]2009-11-25;[修回日期]2010-01-31  
[基金项目]辽宁省教育厅重大基础 Research 计划(2004C046)。  
[作者简介]辛颖,女,博士,副教授。

等,其中缺氧缺血的严重程度是决定损伤程度及受累通路的关键因素<sup>[1-3]</sup>。目前有人认为 HIBD 发病与炎症反应有关,表现为胶质细胞活化和细胞因子的变化,体外实验发现依照损伤程度不同胶质细胞活化可表现出促炎或神经营养的效应<sup>[3]</sup>。但尚无不同程度缺氧缺血对细胞损伤直接影响的体内研究。为此,本研究分别建立 7 日龄大鼠轻度和重度 HIBD 动物模型,比较不同程度缺氧缺血(hypoxia-ischemia, HI)对新生动物脑损伤的影响,探讨胶质细胞活化、细胞因子及氧自由基的异常表达在其发病过程中所发挥的作用,旨在为临床选择治疗方案提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

7 日龄 Wistar 鼠共 120 只,体重 11~12 g,随机分为 3 组:假手术对照组( $n=24$ ),轻度 HI 组( $n=48$ )和重度 HI 组( $n=48$ ),后两组又分为 HI 后 1 h、4 h、24 h、48 h、1 周和 4 周组,每组 8 只。

### 1.2 动物模型的制作

按照国外文献报告的方法<sup>[4]</sup>。将鼠乙醚吸入麻醉,取颈部正中切口,分离并结扎右颈总动脉,术后恢复 2 h。重度 HI 组置于含 8% 氧气、92% 氮气的密闭舱内 65 min,温度控制在 35.5℃。轻度 HI 组置于上述低氧舱内 40 min,温度为 34.5℃。假手术对照组只分离右颈总动脉而不结扎。

### 1.3 磁共振(MR)扫描

轻度与重度 HI 组于 HI 后 24~48 h 行头部 MR 扫描<sup>[5]</sup>,以判定脑损伤的严重程度。应用 9.4 T 超导 MR 扫描仪,动物麻醉后,将其固定在一小箱内,放入磁场中行 T2 加权成像,层厚 1 mm。

### 1.4 脑标本的处理

HI 后 1 h、4 h、24 h、48 h、1 周和 4 周于苯巴比妥麻醉下将鼠断头处死(每组 8 只),迅速取脑置-80℃冻存。于后丘脑水平将脑制成 20 μm 厚的冰冻切片用于组织学染色。

### 1.5 组织学染色

1.5.1 微管相关蛋白(microtubule associated protein, MAP2)染色 切片于室温下干燥 30 min,置于丙酮中于 4℃固定 10 min,10% 的山羊血清孵育 30 min,小鼠抗大鼠 MAP2(1:500, Sigma)4℃孵育过夜。0.01 M PBS 冲洗净,生物素结合的山羊抗小鼠 IgG(1:400, Jackson-ImmunoResearch Lab.)孵育 1 h,过氧化物酶结合的 Streptavidin(1:400, Dako)孵

育 30 min, DAB 显色。在切片上于后丘脑水平对 MAP2 减少的面积进行测量,其值以占全脑面积的百分比表示。

1.5.2 TUNEL 染色 切片干燥,用 0.01 M PBS 冲洗 10 min。然后切片用红色凋亡标签原位凋亡检测试剂盒(ApopTag Red In Situ Apoptosis Detection Kit, Chemicon, Temecula, CA, USA)标记,操作按说明书进行。TUNEL 染色的定量估计:应用 MCID 成像系统于 200 倍光镜下分别计数缺血侧皮质和白质各 3 个视野中的 TUNEL 染色阳性细胞数,取其平均值作为统计学指标。

### 1.5.3 巨噬细胞激活抗原(ED1)和 TNF-α 染色

切片干燥 30 min,4% 多聚甲醛室温下固定 10 min,0.01 M PBS 冲洗,10% 的山羊血清孵育 30 min,小鼠抗大鼠 ED1(1:100, SEROTEC)或山羊抗大鼠 TNF-α(1:100, R&D Systems)4℃孵育过夜。冲洗后用 FITC 山羊抗小鼠 IgG(1:100, Chemicon International)或 Cy3 驴抗山羊 IgG(1:400, Jackson-ImmunoResearch Lab. INC)孵育 1 h。

1.5.4 硝基酪氨酸染色 4% 多聚甲醛固定,10% 的山羊血清孵育 30 min,小鼠抗硝基酪氨酸(nitrotyrosin, NT)单克隆抗体(1:100, UPSTATE, Serological Company)4℃过夜。Cy3 山羊抗鼠 IgG(1:400, Jackson-ImmunoResearch Lab. INC)孵育 1 h。于显微镜下检查缺血侧及对侧皮质、皮层下白质 NT 染色强度。

1.5.5 TNF-α 与 ED1 或 GFAP 的双染色 4% 多聚甲醛固定,10% 的驴血清孵育 30 min,山羊抗鼠 TNF 抗体(1:100)孵育 1 h。冲洗后用 Cy3 驴抗山羊 IgG(1:400)孵育 1 h。10% 的山羊血清孵育 30 min,山羊抗鼠 ED1(1:100)或 GFAP 抗体(1:1000, Chemicon International)4℃过夜。Alexa Fluor 488 山羊抗鼠(1:100, Invitrogen)孵育 1 h。

### 1.6 统计学处理

用 SPSS 13.0 软件进行数据处理。数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。多组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用  $q$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MRI 结果

假手术组两侧半球均未见异常信号。轻度 HI 组的 32 只鼠中(1 h 和 4 h 组除外),有 3 只行 MRI 扫描时皮质与白质均未见病变,其余 MRI 显示缺血侧皮

质 T2 强度轻度下降, 皮质下白质 T2 值增加, 提示存在相对选择性的白质损伤。重度 HI 组缺血侧半球的大部分, 包括皮质、皮质下白质、海马和丘脑 T2 值均增加, 提示皮质及白质均造成损伤。见图 1。

2.2 MAP2 表达的变化

MAP2 染色可用于观察神经元的改变。假手术组左右侧染色对称, 轻度 HI 组鼠皮质 MAP2 染色中度下降, 重度 HI 组鼠皮质与白质 MAP2 染色均明显下降。MAP2 表达的变化与 MRI 结果一致(图 1)。与假手术组相比, HI 后 48 h 轻度 HI 组与重度 HI 组 MAP2 染色减少的面积占全脑面积的百分比分别为  $(1.4 \pm 0.5)\%$ 、 $(40.7 \pm 5.4)\%$ , 方差分析显示 3 组间差异有统计学意义 ( $F = 439.2, P < 0.01$ )。两两比较显示重度 HI 组 MAP2 染色减少的面积占全脑面积的百分比显著高于假手术组和轻度 HI 组 ( $P < 0.01$ )。

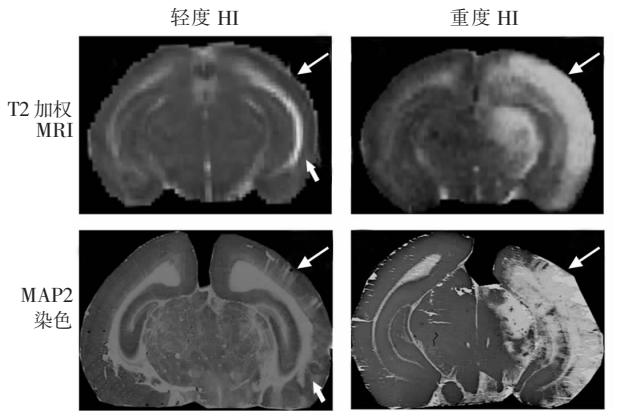


图 1 大鼠 HI 后 48 h 头部 T2 加权 MRI 和 MAP2 染色切片 轻度 HI 鼠皮质 T2 强度轻度下降, 皮质 MAP2 染色(白箭头)中度下降, 皮质下白质 T2 强度增加且伴有水肿(粗白箭头); 重度 HI 鼠缺血侧半球 T2 强度明显增加, 皮质与白质 MAP2 染色均明显下降(白箭头)。

2.3 各组大鼠脑细胞凋亡情况

与假手术组相比, 轻度 HI 后 48 h, 缺血侧皮质下白质 TUNEL 阳性细胞数量明显增加 ( $P < 0.05$ ), 而缺血侧皮质阳性细胞仅轻度增加 ( $P > 0.05$ )。轻

度 HI 后 1 周和 4 周, 缺血侧半球皮质下白质 TUNEL 阳性细胞仍较对照组增多 ( $P < 0.05$ ), 而这些时间点缺血侧皮质阳性细胞数量未见增加(表 1)。重度 HI 后 48 h 缺血侧皮质与白质 TUNEL 阳性细胞数量均明显多于假手术组和轻度 HI 组(分别  $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ ), 包括皮质、海马、丘脑和皮质下白质。与假手术组和轻度 HI 组相比, 重度 HI 后 1 周, 梗死核心区与梗死周边区仍可见 TUNEL 阳性细胞数量显著增加 ( $P < 0.01$ )。4 周时尽管缺血侧半球发生萎缩和空洞形成, 梗死周边区 TUNEL 阳性细胞数量仍增加 ( $P < 0.05$ , 表 1)。

2.4 各组大鼠脑 ED1 的表达

小胶质细胞/巨噬细胞活化是脑内炎症反应的重要组成部分。ED1 是活化的小胶质细胞/巨噬细胞标记物, 本研究 ED1 免疫组化结果显示: 对照组脑内仅在皮质下白质见到几个散在的、分枝样的 ED1 阳性细胞, 皮质中无 ED1 阳性细胞(图 2)。

轻度 HI 后 1 h, 缺血侧与非缺血侧半球 ED1 阳性细胞均未增加; 4 h 仅在缺血侧皮质下白质 ED1 阳性细胞数量增加, 24 h 缺血侧白质 ED1 阳性染色明显增加, 皮质内也可以观察到一些阳性染色; 48 h 缺血侧皮质阳性细胞数进一步增多(图 2)。这些 ED1 阳性细胞看起来更圆, 突起缩回到胞体, 与文献所描述的阿米巴样小胶质细胞一致。在轻度 HI 后 1 周或 4 周, 双侧半球内均未见到皮质下白质或皮质内阳性 ED1 染色的增加。

重度 HI 后急性时间点(1~4 h)双侧半球皮质下白质和皮质内 ED1 阳性细胞均无明显增加。24 h 和 48 h 于缺血梗死区可见 ED1 阳性染色中度增加。重度 HI 后 1 周, 缺血侧白质和皮质内均可见 ED1 阳性细胞明显增加(图 2)。在梗死区, 特别是在梗死周边区, 这种增加的反应可持续存在至损伤后 4 周。在梗死区和梗死周边区, ED1 阳性细胞在形态上有所不同: 在梗死区, ED1 阳性细胞外观上呈阿米巴样, 有一个大的胞体; 而在梗死周边区, 它们呈高度分枝样, 胞体小。

表 1 各组大鼠不同时间点皮质及白质 TUNEL 阳性细胞数比较 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

|         | 皮质                      |                         |                      | 白质                     |                        |                 |
|---------|-------------------------|-------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|-----------------|
|         | 48 h                    | 1 周                     | 4 周                  | 48 h                   | 1 周                    | 4 周             |
| 假手术组    | $3.0 \pm 0.8$           | $2.7 \pm 1.1$           | $2.1 \pm 0.9$        | $2.8 \pm 1.6$          | $3.2 \pm 1.4$          | $2.0 \pm 1.1$   |
| 轻度 HI 组 | $12.7 \pm 3.5$          | $4.6 \pm 1.9$           | $2.7 \pm 1.5$        | $24.0 \pm 10.2^b$      | $8.2 \pm 2.9^b$        | $7.1 \pm 2.2^b$ |
| 重度 HI 组 | $103.7 \pm 37.8^{a, c}$ | $179.4 \pm 74.4^{a, c}$ | $7.0 \pm 4.2^{b, d}$ | $57.3 \pm 13.9^{a, d}$ | $51.4 \pm 18.2^{a, c}$ | $8.4 \pm 4.3^b$ |
| F 值     | 51.2                    | 44.6                    | 8.4                  | 60.2                   | 49.3                   | 11.7            |
| P 值     | <0.01                   | <0.01                   | <0.01                | <0.01                  | <0.01                  | <0.01           |

a: 与假手术组比较,  $P < 0.01$ ; b: 与假手术组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与轻度 HI 组比较,  $P < 0.01$ ; d: 与轻度 HI 组比较,  $P < 0.05$

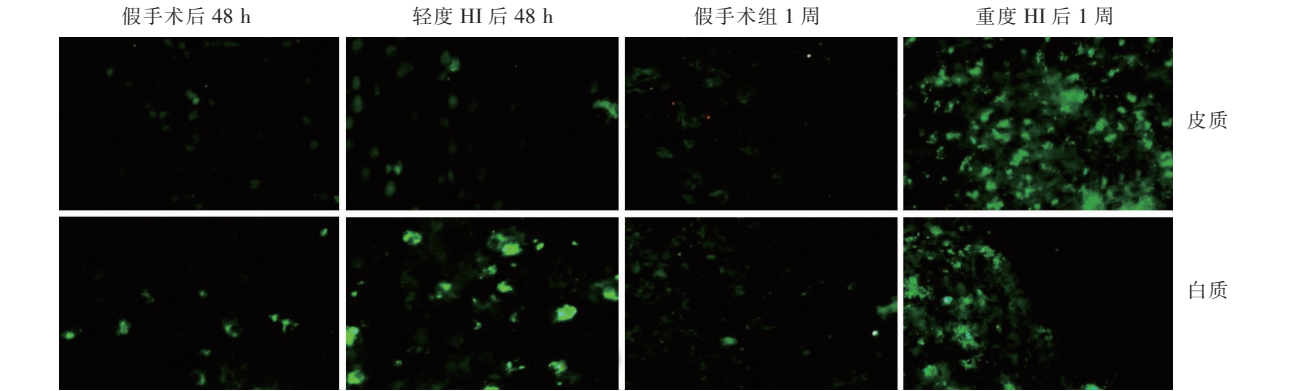


图2 脑ED1的表达(免疫组化,×200) 与假手术组比较,轻度HI后48 h,缺血侧皮质和皮层下白质ED1阳性细胞数量中度和重度增加;重度HI后1周缺血侧皮质和皮层下白质均可见ED1阳性细胞较假手术组明显增加。

2.5 各组大鼠脑TNF-α和NT的表达

HI后各时间点TNF-α和NT阳性染色呈相似的改变。对照组动物脑白质和皮质内缺少TNF-α阳性染色,仅在软脑膜表面或小血管周围见到几个散在的NT阳性细胞。轻度HI后24 h,一些大鼠缺血侧皮质和皮层下白质可见暂时增加的TNF-α或NT阳性细胞;48 h缺血侧皮质TNF-α阳性细胞较24 h略有增加;轻度HI后1~4周末见增加的阳性染色。

重度HI后48 h缺血侧皮层下白质内可见明显的TNF-α和NT阳性细胞,缺血侧皮质内TNF-α和NT阳性细胞也明显增加,见图3。与轻度HI组相比,重度HI组梗死区或梗死周边区阳性染色可持续至损伤后4周。TNF-α与GFAP或ED1双重染色显示重度HI后48 h TNF-α主要在GFAP阳性细胞表达;而1周时TNF-α主要在ED1阳性细胞表达,见图4。

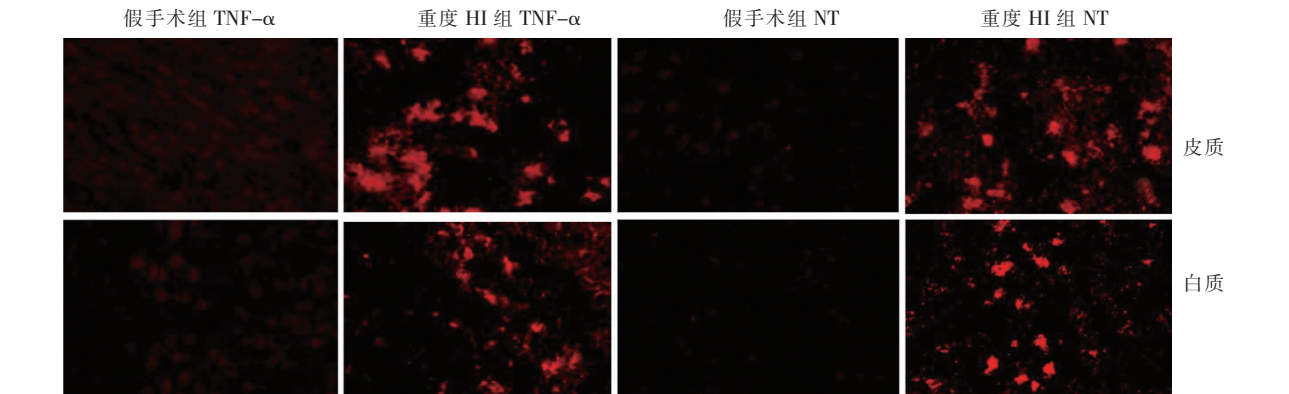


图3 重度HI后48 h及假手术组TNF-α和NT的表达(免疫组化,×200) 重度HI后48 h缺血侧皮质与白质TNF-α和NT表达均较对照组增加。

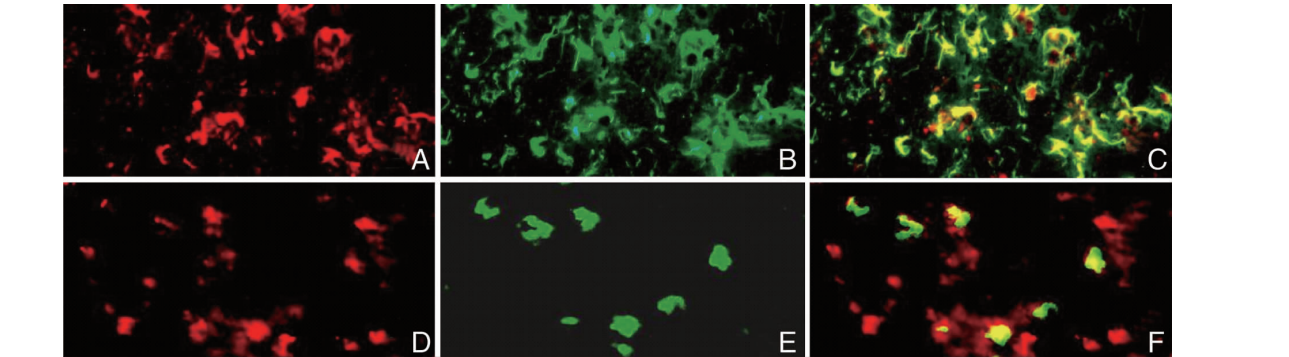


图4 重度HI后顶叶皮质TNF-α与GFAP或ED1双标染色(免疫组化,×800) 上排为重度HI后48 hTNF-α与GFAP双标染色。A:TNF-α阳性呈红色;B:GFAP阳性呈绿色;C:二者双重染色显示TNF-α与GFAP阳性的反应性星形胶质细胞共存。下排为重度HI后1周TNF-α和ED1双标染色。D:TNF-α阳性呈红色;E:ED1阳性呈绿色;F:二者双重染色显示TNF-α阳性细胞与ED1免疫反应性共存。

### 3 讨论

本研究首次将不成熟脑对两种不同程度的 HI 产生的反应进行直接对比,并且还比较了白质与皮质的不同反应。实验结果显示不同程度 HI 所导致的脑损伤的程度和部位不同,脑内炎症反应的时程也不同。轻度 HI 可引起相对选择性的白质损伤,而重度 HI 可引起包括皮质白质在内的广泛的脑损伤。轻度 HI 可引起缺氧后头两天短暂的小胶质细胞活化,且白质比皮质更明显;重度 HI 后可迅速出现组织坏死,梗死区与梗死周边区小胶质细胞/巨噬细胞聚集出现的较晚,1 周时达高峰,可持续数周。轻度 HI 组仅在缺氧后 24~48 h 皮质内出现短暂的 TNF- $\alpha$  和 NT 表达增加,而重度 HI 组其表达增加至少可持续 4 周,且皮层下白质和皮质内均可见到。结果提示 HIBD 治疗的目标和时间的选择应当根据损伤的程度做出适时调整,已确保取得更好的疗效。

建立 HIBD 模型的方法较多,其中以 Rice-Vannucci 法<sup>[6]</sup>最为经典。本研究的主要目的是比较不同程度 HI 致脑内炎症因子表达的变化,故需要制备轻度与重度两种 HIBD 模型。本研究采用的是 Qiao<sup>[4]</sup>等报告的方法,用此方法制备出的轻度 HIBD 模型主要表现为选择性的皮层下白质损伤,而重度 HIBD 模型可出现整个缺血侧半球的损伤。评价脑损伤的方法有多种,MAP2 属于结构性微管相关蛋白家族,主要在神经元胞体和树突表达,参与神经元发育、结构稳定、突起形成和突触可塑性调节,是神经元受损与再生的标志之一。本研究用 MR 成像、MAP2 染色及 TUNEL 染色对 HIBD 的严重程度进行评估,发现轻度 HI 鼠 MRI 显示缺血侧皮质 T2 强度轻度下降,皮层下白质 T2 值增加,皮质 MAP2 染色中度下降,皮层下白质 TUNEL 阳性细胞数量明显增多且持续时间较长;重度 HI 鼠缺血侧半球的大部分 T2 值均增加,缺血侧皮质与白质 MAP2 染色均明显减少, TUNEL 阳性细胞数量均明显增加,4 周时发生萎缩和空洞形成,提示脑损伤的程度与 HI 的严重程度密切相关。

HIBD 发病机制复杂,是多种因素共同作用的结果,本研究从小胶质细胞活化和细胞因子表达异常的角度探讨其发病机制。小胶质细胞活化是 HI 后脑内炎症反应的重要组成部分,活化后是发挥有益作用还是有害作用取决于刺激力量的强弱,这点已在体外实验中得到证实<sup>[3, 7]</sup>。此外,新生儿与成

人 HI 后缺血核心区与周边区胶质细胞活化是不同的<sup>[8]</sup>。本实验采用 ED1 抗体标记激活的小胶质细胞,ED1 阳性信号的强弱可以反映小胶质细胞活化程度。结果显示轻度 HI 后,胶质细胞活化主要局限于损伤侧白质,并且是短暂的;而重度 HI 后,胶质细胞活化为迟发的和持久的,并且遍布缺血损伤区。本研究中的新生动物 HI 后头几天胶质细胞活化的时程与先前的报告结果一致<sup>[9-10]</sup>,尽管他们所用的小胶质细胞标志不同,制备模型的动物年龄以及 HI 的严重程度也不同。为什么轻度损伤后白质区早期而短暂的小胶质细胞活化是有益的,而重度损伤后梗死区及梗死周边区迟发且持久的小胶质细胞活化是有害的? 尚需今后进一步研究。

TNF- $\alpha$  被认为是一种主要的前炎症细胞因子,它的过度表达通常是有害的。尽管在某些情况下或低浓度时它也可发挥神经保护作用。多数中风研究显示 TNF- $\alpha$  可加速缺血性脑损伤,而它的抑制剂可以减小梗死的体积<sup>[3]</sup>。新生动物于生后 4 d 或 7 d 遭受 HI,损伤后数小时即可见 TNF- $\alpha$  mRNA 表达增加<sup>[11]</sup>。但少见关于蛋白变化的研究。在本研究的轻度 HI 模型中,TNF- $\alpha$  在 24~48 h 增加,主要在皮质,持续时间较短。重度 HI 后,TNF- $\alpha$  增加明显而持久,1 周达高峰,可持续至损伤后 4 周,皮质和白质内均可见。无论轻度或重度缺氧 TNF- $\alpha$  表达增加与脑损伤程度相平行,提示 HI 后 TNF- $\alpha$  可能起了有害的作用。尽管小胶质细胞/巨噬细胞被认为是缺血性损伤后急性期某些细胞因子如 TNF- $\alpha$  的来源,本研究双标染色显示重度 HI 后 48 h TNF- $\alpha$  主要来源于星型胶质细胞,而 1 周时则来源于小胶质细胞/巨噬细胞。有研究报告反应性星形胶质细胞可产生有害的自由基和炎症介质<sup>[12]</sup>,因此,除小胶质细胞外,星形胶质细胞在中风康复中的作用值得进一步研究。本研究所采用的 TNF- $\alpha$  与 ED1 免疫双标的方法,为明确炎症因子的来源,以进一步探讨它们与小胶质细胞的关系提供了较好的依据,国外这方面的研究较少<sup>[13]</sup>,国内未见类似报道。

NT 是一氧化氮自由基与细胞内蛋白的反应产物,本研究显示新生动物 HI 后其表达增加,与其他学者采用不同动物模型和不同损伤程度的结果一致<sup>[14]</sup>。轻度 HI 后皮质 NT 短暂增加,而重度 HI 后皮质和白质内均可见 NT 更持久的增加。尽管 HI 后一氧化氮的增加是多效的,其主要作用包括介导线粒体损伤和激活小胶质细胞<sup>[15]</sup>。本研究中,TNF- $\alpha$  与 NT 表达增强十分一致,提示其产生可能存在

共同的机制。因为 TNF- $\alpha$  与 NT 表达增加均早于 ED1 阳性细胞蓄积,提示他们可能对 HI 后小胶质细胞/巨噬细胞活化起一定作用。国外有人报告抑制小胶质细胞活化,拮抗 TNF- $\alpha$  表达,可减轻脑损伤<sup>[16]</sup>;但也有研究得出相反的结果,认为上述做法不利于脑损伤的修复,因为某些神经营养因子的表达可能被抑制<sup>[17]</sup>。

总之,本研究结果显示皮层下白质和皮质不同的炎症反应与缺氧缺血性损伤的严重程度密切相关。为了获得最佳治疗效果,治疗方案需要根据损伤的程度适时调整。阻断小胶质细胞的过度活化和细胞因子的异常表达可能为 HIBD 治疗带来新的契机。

[参 考 文 献]

[1] Scafidi J, Gallo V. New concepts in perinatal hypoxia ischemia encephalopathy [J]. *Curr Neurol and Neurosci Rep*, 2008, 8 (2):130-138.

[2] Chew LJ, Takanohashi A, Bell M. Microglia and inflammation; impact on developmental brain injuries [J]. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 2006, 12(2): 105-112.

[3] Lai AY, Todd KG. Differential regulation of trophic and proinflammatory microglial effectors is dependent on severity of neuronal injury [J]. *Glia*, 2008, 56(3): 259-270.

[4] Qiao M, Meng S, Scobie K, Foniok T, Tuor UI. Magnetic resonance imaging of differential gray versus white matter injury following a mild or moderate hypoxic-ischemic insult in neonatal rats [J]. *Neurosci Lett*, 2004; 368(3): 332-336.

[5] Meng S, Qiao M, Scobie K, Tomanek B, Tuor UI. Evolution of magnetic resonance imaging changes associated with cerebral hypoxia-ischemia and a relatively selective white matter injury in neonatal rats [J]. *Pediatr Res*, 2006, 59(4 Pt 1):554-559.

[6] Rice JE 3rd, Vannucci RC, Brierley JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat [J]. *Ann Neurol*, 1981,9(2): 131-141.

[7] Schwartz M, Butovsky O, Bruck W, Hanisch UK. Microglial phe-

notype: is the commitment reversible? [J]. *Trends Neurosci*, 2006, 29(2): 68-74.

[8] Edwards AD, Yue X, Cox P, Hope PL, Azzopardi DV, Squier MV, et al. Apoptosis in the brains of infants suffering intrauterine cerebral injury [J]. *Pediatr Res*, 1997, 42(5): 684-689.

[9] Benjelloun N, Renolleau S, Represa A, Ben-Ari Y, Charriaud-Marlangue C. Inflammatory responses in the cerebral cortex after ischemia in the P7 neonatal Rat [J]. *Stroke*, 1999, 30(9): 1916-1923.

[10] Derugin N, Wendland M, Muramatsu K, Roberts TP, Gregory G, Ferriero DM, et al. Evolution of brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in neonatal rats [J]. *Stroke*, 2000, 31 (7): 1752-1761.

[11] Bona E, Andersson AL, Blomgren K, Gilland E, Puka SM, Gustafson K, et al. Chemokine and inflammatory cell response to hypoxia-ischemia in immature rats [J]. *Pediatr Res*, 1999, 45(4 Pt 1): 500-509.

[12] Alvarez-Diaz A, Hilario E, de Cerio FG, Soler A, varez-Diaz FJ. Hypoxic-ischemic injury in the immature brain – key vascular and cellular players [J]. *Neonatology*, 2007, 92(4): 227-235.

[13] Al-Shatti T, Barr AE, Safadi FF, Amin M, Barbe MF. Increase in inflammatory cytokines in median nerves in a rat model of repetitive motion injury [J]. *J Neuroimmunol*, 2005, 167(1-2):13-22.

[14] van den Tweel ER, Nijboer C, Kavelaars A, Heijnen CJ, Groenendaal F, Van BF. Expression of nitric oxide synthase isoforms and nitrotyrosine formation after hypoxia-ischemia in the neonatal rat brain [J]. *J Neuroimmunol*, 2005, 167(1-2): 64-71.

[15] Haynes RL, Baud O, Li J, Kinney HC, Volpe JJ, Folkerth DR. Oxidative and nitrative injury in periventricular leukomalacia: a review [J]. *Brain Pathol*, 2005, 15(3): 225-233.

[16] Lin S, Cox HJ, Rhodes PG, Cai Z. Neuroprotection of alpha-phenyl-n-tert-butyl-nitrone on the neonatal white matter is associated with anti-inflammation [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 405(1-2): 52-56.

[17] Lambertsen KL, Clausen BH, Babcock AA, Gregersen R, Fenger C, Nielsen HH, et al. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis of tumor necrosis factor [J]. *J Neurosci*, 2009, 29 (5):1319-1330.

(本文编辑:王庆红)