

论著 · 实验研究

UDP-糖、GDNF 和美金胺改善新生大鼠缺血性脑白质病变的光电镜病理评估

李文娟 毛凤霞 陈惠金 钱龙华

(上海交通大学医学院附属新华医院,上海市儿科医学研究所,上海 200092)

[摘要] 目的 通过光镜和电镜下脑病理研究,评估单用或联用 UDP-糖、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)和美金胺对缺血型脑室周围白质软化(PVL)新生大鼠脑白质病变的改善效果。方法 一侧颈总动脉结扎伴缺氧2 h,建立5日龄新生大鼠PVL模型,随机分为假手术(Sham)组、PVL组、UDP-糖组(PVL后即刻腹腔注射UDP-糖2000 mg/kg)、GDNF组(PVL后即刻脑内注射GDNF 100 μg/kg)、美金胺组(PVL后即刻腹腔注射美金胺20 mg/kg)以及三联药组(PVL后即刻联用UDP-糖、GDNF和美金胺),每组各30只。每组大鼠分别于造模后7 d及21 d断头取脑,电镜下观察髓鞘形成情况,计算髓鞘数目及厚度;光镜下对脑白质病变进行病理分级及评分。结果 造模后7 d及21 d电镜结果显示,PVL组大鼠罕见髓鞘形成,排列松散,髓鞘壁明显变薄,髓鞘数量及厚度均明显少于Sham组、UDP-糖组、GDNF组、美金胺组及三联药组($P < 0.01$)。光镜下脑白质病理分级结果显示,PVL组大鼠在造模后7 d和21 d,其脑白质均呈轻度病变(38%~50%)或重度病变(50%~62%)。4个用药组大鼠在造模后7 d和21 d有50%~88%呈正常脑白质,呈重度病变的比例为13%~25%。病理评分显示,PVL组在造模后7 d及21 d的病理评分最高,显著高于其他5组($P < 0.05$)。结论 单用或联用UDP-糖、GDNF和美金胺可明显改善PVL大鼠脑白质病变。推测良好的改善作用与这些药物能促进脑内源性的神经再生及改善脑微环境密切相关。

[中国当代儿科杂志,2012,14(12):964-970]

[关键词] 脑室周围白质软化;UDP-糖;胶质细胞源性神经营养因子;美金胺;大鼠

[中图分类号] R-33 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2012)12-0964-07

Effect of single or combined application of UDP-glucose, GDNF and memantine on improvement of white matter injury in neonatal rats assessed with light and electron microscopy pathologically

LI Wen-Juan, MAO Feng-Xia, CHEN Hui-Jin, QIAN Long-Hua. Shanghai Institute for Pediatric Research, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China (Chen H-J, Email: hjchen@163.com)

Abstract: Objective To evaluate pathologically the effect of the single or combined application of UDP-glucose, GDNF and memantine on the improvement of white matter injury in neonatal rats with periventricular leukomalacia (PVL) under light and electron microscopy. **Methods** A five-day-old neonatal rat model for PVL was established by ligation of the lateral common carotid artery following 120-minute hypoxia. Rats were randomly divided into six groups (30 rats in each group): sham-operated, PVL, UDP-glucose (UDP-glucose 2000 mg/kg intraperitoneally after PVL), GDNF (GDNF 100 μg/kg intracerebrally after PVL), memantine (memantine 20 mg/kg intraperitoneally after PVL), and a combination administration of three drugs (UDP-glucose, GDNF and memantine). The rats were sacrificed 7 or 21 days after PVL for assessment of pathological changes in the white matter under both light and electron microscopy. The number and thickness of the myelin sheath in the white matter were measured under electron microscopy, and both of pathological grading and scoring were undertaken under light microscopy. **Results** There was rare and sparse myelinogenesis with a loose arrangement of nerve fibers in the white matter under electron microscopy in the PVL group at 7 and 21 days after PVL. The number and thickness of the myelin sheath in the PVL group were significantly less than in the sham-operated, UDP-glucose, GDNF, memantine and combination administration groups ($P < 0.01$). The results of pathological grading of white matter under light microscopy showed that all rats in the PVL group manifested either mild injury (38%-50%) or

[收稿日期]2012-05-10;[修回日期]2012-06-23
[基金项目]国家自然科学基金(No.81070989)。
[作者简介]李文娟,硕士研究生。
[通信作者]陈惠金,教授。

severe injury (50% -62%) at 7 and 21 days after PVL. The majority of rats (50% -88%) in the four drug administration groups had normal white matter at 7 and 21 days after PVL. The pathological scores at 7 and 21 days after PVL in the PVL group were the highest, and they were significantly higher than in the other five groups ($P < 0.05$). **Conclusions** The single or combined application of UDP-glucose, GDNF and memantine may significantly improve pathological changes in the white matter of rats with PVL. The favorable effect is inferred to be closely correlated with the improvement of brain microenvironment and the enhancement of nerve regeneration promoted by the three drugs.

[Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(12):964-970]

Key words: Periventricular leukomalacia; UDP-glucose; Glial cell line derived neurotrophic factor; Memantine; Rats

脑室周围白质软化(periventricular leukomalacia, PVL)是早产儿发生脑瘫、智力和视听障碍的主要原因,迄今尚无有效防治方法。近年来大量研究证实,哺乳动物脑内具有内源性修复潜能,缺氧缺血损伤可诱导脑内静止的祖细胞出现增殖并可分化为神经元、星型胶质细胞和少突胶质细胞,并沿着一定的途径向损伤部位迁移^[1]。神经再生与祖细胞实施修复功能的脑微环境以及神经营养因子的调控密切相关。近年来发现P2Y受体—G蛋白耦联受体17(GPR17)对脑白质内在修复功能的启动有枢纽作用,UDP-糖可通过诱导GPR17激活,从而促进白质神经祖细胞增殖和分化为成熟少突胶质细胞(oligodendrocyte, OL),对损伤脑白质实施修复^[2]。胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line derived neurotrophic factor, GDNF)是一种与神经细胞生长、存活相关的神经营养细胞因子,能明显促进外源性神经干细胞分化为少突胶质细胞前体,增加髓鞘的形成^[3]。美金胺(memantine, MEM)作为一种非竞争性NMDA受体拮抗剂,可有效阻断缺血诱导未成熟脑白质的谷氨酸异常信号传输路径,改善脑内不良微环境,对脑缺血性损伤具有良好的神经保护作用^[4]。本课题组前期通过Morris水迷宫测试和Rivlin斜板测试等方法,证实单用或联用UDP-糖、GDNF和MEM均能明显改善脑白质损伤大鼠的长期预后^[5]。本研究拟进一步通过电镜和光镜观察,评估单用或联用上述三药对新生大鼠缺血缺氧性脑白质损伤的改善情况。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

5日龄Sprague-Dawley新生大鼠购自上海西普尔必凯实验动物有限公司[动物生产许可证号:SCXK(沪)2008-0016,动物使用许可证号:SYXK(沪)2008-0052],雌雄不限。将新生大鼠随机分为假手术(Sham)组、PVL组、PVL+UDP-糖组(简称UDP-糖组)、PVL+GDNF组(简称GDNF组)、PVL+MEM组

(简称MEM组)以及PVL+UDP-糖+GDNF+MEM组(简称三联药组),每组各30只。建模前后所有新生大鼠均置于室温 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度60%~70%、光照时间白天:黑夜=12 h:12 h的环境中,母乳自由喂养。

1.2 制备缺血型PVL新生大鼠模型

参照本课题组已建立的PVL模型制备方法^[6-7]:5日龄新生大鼠乙醚麻醉后,仰卧位固定,颈部正中切口,分离并结扎右侧颈总动脉,术中避免损伤迷走神经,术毕缝合切口,火棉胶涂抹伤口。术后半小时将新生大鼠送入恒温缺氧箱内缺氧2 h,箱温 37°C ,湿度 $(70 \pm 5)\%$,以 1.5 L/min 的流量恒定输入8% O_2 和92% N_2 混合气体。Sham组新生大鼠仅予游离右侧颈总动脉,不予结扎和缺氧。术毕各组大鼠送回母鼠身边继续喂养。

1.3 给药方法

GDNF组于建模后即刻在脑立体定位仪下经右侧脑室注入GDNF $100\text{ }\mu\text{g/kg}$ (Perotech公司),进针点位于前囟右侧5 mm、后侧2 mm、深度2 mm,经微量注射泵以 $0.5\text{ }\mu\text{L/min}$ 的速度缓慢注入脑室内。MEM组和UDP-糖组分别于建模后即刻经腹腔注入MEM 20 mg/kg (Sigma公司)或UDP-糖 2000 mg/kg (Sigma公司)。三联药组于建模后即刻分别经腹腔一次性注射MEM 20 mg/kg 和UDP-糖 2000 mg/kg ,同时在脑立体定位仪下经微量注射泵向脑内注入GDNF $100\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。PVL组和Sham组则不予用药。

1.4 脑病理评估方法

1.4.1 电镜脑标本制备和病理评估 乙醚麻醉下,对各组新生大鼠分别于建模后7 d和21 d随机各取3只大鼠,用2%戊二醛心脏灌注,断头取脑,选取右侧胼胝体部位脑组织 1 mm^3 ,置于2%戊二醛 4°C 固定保存。1%锇酸 4°C 下固定2 h后,用30%~100%浓度丙酮梯度脱水。将脱水后组织置环氧树脂包埋剂中浸泡、包埋,再行加温聚合。修整组织包埋块,用超薄切片机制备髓鞘横断面切片,片厚约50 nm,载网收集切片,并对切片用蜡酸铀染色。在透射电镜下观察白质髓鞘形成情况,拍照分析电镜结果。

应用 ITEM 图像分析软件,每个脑组织随机选取 2 ~ 3 张超薄切片,分别于 7400 倍和 13500 倍透射电镜下,对各切片随机选取 4 个视野,分别测算横断面的髓鞘数目及髓鞘厚度,其中髓鞘厚度均值的测算公式为:髓鞘厚度 = (最薄内径 + 最厚内径)/2。

1.4.2 光镜脑标本制备和病理评估 乙醚麻醉下,对各组新生大鼠分别于建模后 7 d 和 21 d 随机各取 8 只大鼠快速断头取脑,4% 多聚甲醛固定保存。经常规脱水、石蜡包埋后,以右侧脑室周围平面行冠状切片,常规苏木精 - 伊红染色。光镜下观察脑室周围及皮层下白质的病理变化。每个脑组织取非连续层面的 3 张切片,根据 Uehara 等^[8] 的病理分级标准,将各组大鼠的脑白质进行病理分级如下:0 级为正常;1 级(轻度异常)为白质轻度疏松,神经纤维排列不齐;2 级(重度异常)为白质严重疏松,神经纤维排列紊乱,有凝固性坏死和囊腔形成;其中,死亡动物均计为 2 级脑白质病变。同时将上述脑白质的病理分级改良为病理评分,即 0 级、1 级和 2 级分别被评为 0 分、1 分和 2 分。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 11.0 软件进行数据处理和统计学分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,等级资料用百分率表示,病理分级采用 R × C 卡方检验,病理评分和髓鞘数目以及厚度的比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 电镜下脑白质髓鞘形成情况

2.1.1 电镜下髓鞘形成形态学评估 建模后 7 d,电镜下观察到 Sham 组大鼠的脑白质内可见髓鞘;至建模后 21 d,白质内髓鞘基本形成,有髓神经纤维形态规则,边界清晰,髓鞘厚度一致,密度均匀。PVL 组大鼠在建模后 7 d 和 21 d 均罕见髓鞘形成,神经纤维形态不规则,排列松散,髓鞘壁明显变薄。UDP-糖组、GDNF 组、MEM 组以及三联药组大鼠在建模后 7 d 和 21 d 的髓鞘形成情况则与 Sham 组基本相似,髓鞘数量较 PVL 组明显增多,厚度均匀(图 1)。提示 UDP-糖、GDNF 以及 MEM 均明显有助于改善 PVL 大鼠脑白质髓鞘形成不良的状况。

2.1.2 髓鞘形成数目及其厚度评估 应用 ITEM 图像分析软件,在 7400 倍透射电镜下计数各组脑白质切片中的髓鞘数目,显示 PVL 组在建模后 7 d 和 21 d 的髓鞘数目(0.7 ± 0.6 ; 6.7 ± 3.5)均明显低于 Sham 组(24.0 ± 2.8 ; 112.0 ± 2.8) ($P < 0.01$),而 UDP-

糖组(31.7 ± 2.5 ; 114.0 ± 1.4)、GDNF 组(18.3 ± 3.4 ; 105.0 ± 3.6)、MEM 组(19.0 ± 2.6 ; 110.0 ± 4.2)以及三联药组(29.0 ± 3.6 ; 102.5 ± 3.5)的髓鞘数目均高于 PVL 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。4 个用药组间以及各用药组分别与 Sham 组在建模后 7 d 和 21 d 的髓鞘数目之间的差异则均无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。

进一步在 13500 倍透射电镜下测算各组脑白质切片中髓鞘的平均厚度,显示 PVL 组在建模后 7 d 和 21 d 的髓鞘厚度(32 ± 14 nm; 58 ± 12 nm)明显薄于 Sham 组(84 ± 11 nm; 155 ± 20 nm) ($P < 0.01$),而 UDP-糖组(75 ± 13 nm; 100 ± 25 nm)、GDNF 组(78 ± 12 nm; 159 ± 18 nm)、MEM 组(72 ± 9 nm; 152 ± 23 nm)以及三联药组(81 ± 14 nm; 147 ± 38 nm)的髓鞘厚度均大于 PVL 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。除了建模后 21 d 时的 UDP-糖组外($P < 0.01$),其他用药组间以及各用药组分别与 Sham 组在建模后 7 d 和 21 d 的髓鞘厚度之间的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。提示 3 种药物对改善缺血性脑白质病变所导致的髓鞘形成不良有明显的促进作用。见图 3。

2.2 光镜下脑白质病理评估

2.2.1 光镜下脑白质病理形态学评估 建模后 7 d 和 21 d 的光镜下脑组织病理结果显示 Sham 组大鼠皮层下脑白质的细胞结构清晰,排列有序,神经纤维致密,走向一致,未发现病理改变。PVL 组大鼠皮层下脑白质的细胞层次及结构欠清晰、呈疏松模糊状,神经纤维走向紊乱,呈网状或条索状,部分出现囊腔病变。4 个用药组的脑白质病理改变与 PVL 组相比有明显改善,神经纤维排列较致密,走向较整齐,尤其建模后 21 d 的脑白质病理改变呈进一步改善。提示单用或联用 UDP-糖、GDNF 和 MEM 均有助于明显改善 PVL 大鼠的脑白质病变。见图 4。

2.2.2 脑白质病理的分级和评分 死亡大鼠均归为重度病变。光镜下对各组成活大鼠的脑白质病变进行病理分级显示,PVL 组大鼠的脑白质在建模后 7 d 和 21 d 均呈现轻度病变(38% ~ 50%)或重度病变(50% ~ 62%)。4 个用药组大鼠在建模后 7 d 则有 50% ~ 75% 呈现正常脑白质,呈重度病变的比例为 25% 或以下。至建模后 21 d,4 个用药组大鼠呈现正常脑白质的比例上升至 63% ~ 88%,呈重度病变的比例则为 13% ~ 25%。其中 GDNF 组和三联药组的改善效果较另 2 个用药组更趋明显。见表 1。

进一步进行病理评分,显示 PVL 组在建模后 7 d 及 21 d 的病理评分(1.6 ± 0.5 ; 1.5 ± 0.5)明显大于

Sham 组(0; 0)、UDP-糖组(0.7 ± 0.8 ; 0.6 ± 0.9)、GDNF 组(0.2 ± 0.4 ; 0.3 ± 0.7)、MEM 组(0.8 ± 0.9 ; 0.4 ± 0.7)以及三联药组(0.3 ± 0.7 ; 0.3 ± 0.7) ($P < 0.05$)。GDNF 组及三联药组的病理评分均低于 UDP-糖组及 MEM 组 ($P < 0.05$),而 GDNF 组及三

联药组间的病理评分差异无统计学意义。见表 1。
上述结果提示,单用或联用 UDP-糖、GDNF 和 MEM 均可明显改善 PVL 大鼠的脑白质病变,其中以应用 GDNF 以及联合应用三药的效果更趋明显。

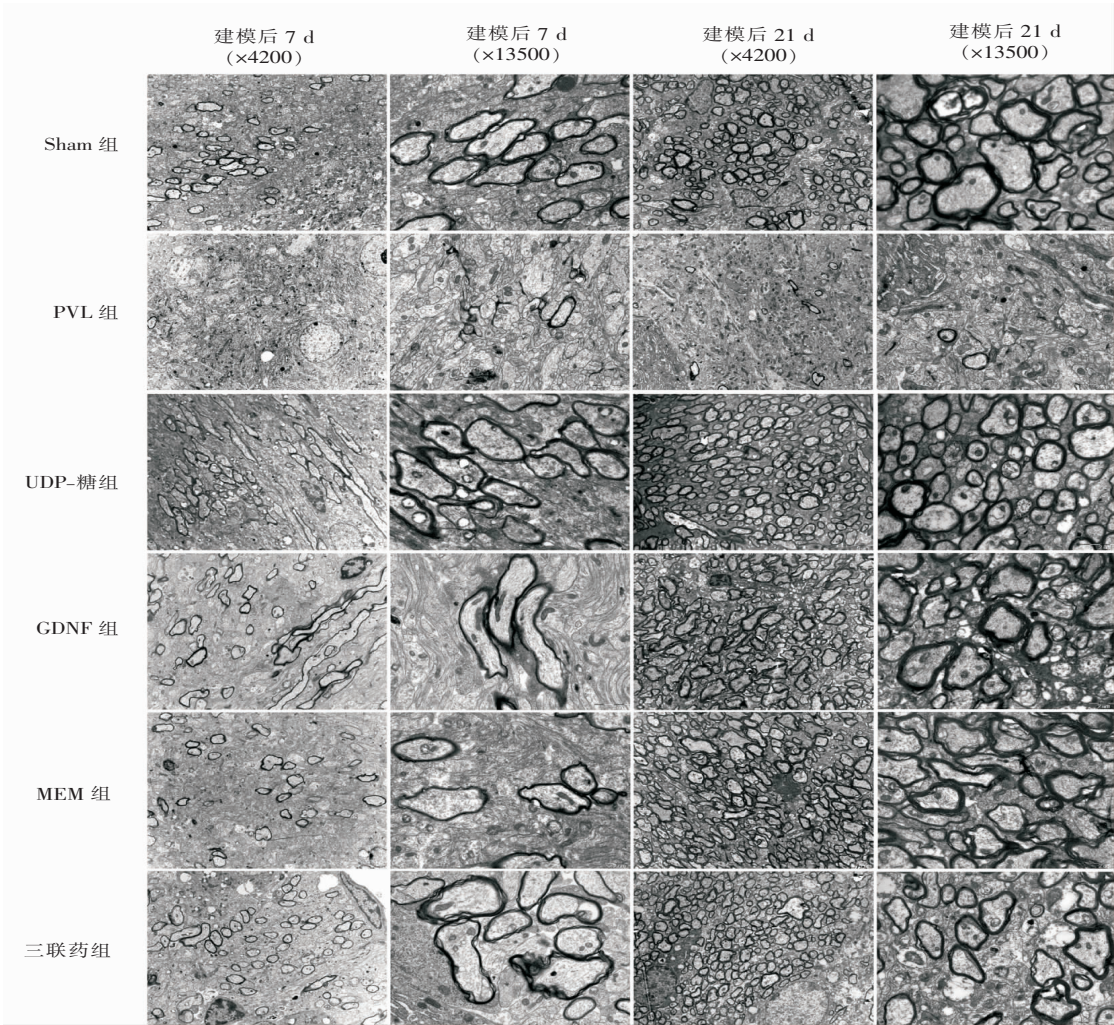


图1 建模后 7 d 和 21 d 电镜下脑白质髓鞘形成情况观察 建模后 7 d 至 21 d,Sham 组大鼠的脑白质髓鞘逐渐形成,有髓神经纤维形态规则,髓鞘厚度一致;PVL 组在建模后 7 d 和 21 d 均罕见髓鞘形成,神经纤维形态不规则,排列松散,髓鞘壁明显变薄;各用药组的髓鞘形成情况则与 Sham 组相似,髓鞘数目较 PVL 组增多,厚度均匀。

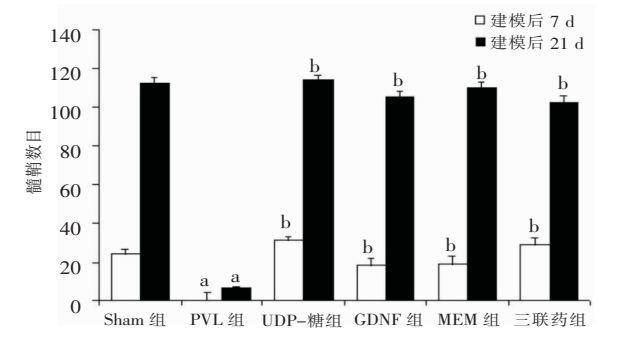


图2 建模后 7 d 和 21 d 电镜下各组脑白质髓鞘形成数目比较($n = 3$) a:与 Sham 组比较, $P < 0.05$; b:与 PVL 组比较, $P < 0.01$ 。

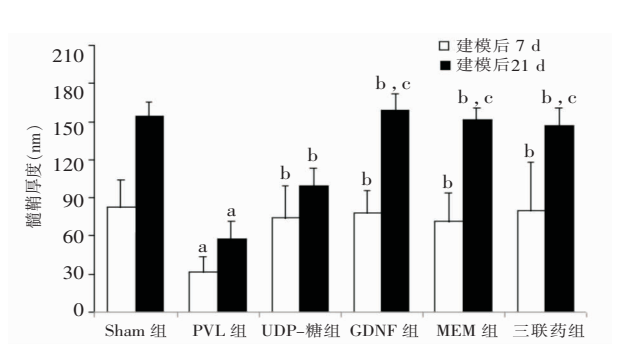


图3 建模后 7 d 和 21 d 电镜下各组脑白质髓鞘厚度比较($n = 3$) a:与 Sham 组比较, $P < 0.05$; b:与 PVL 组比较, $P < 0.01$; c:与 UDP-糖组比较, $P < 0.05$ 。

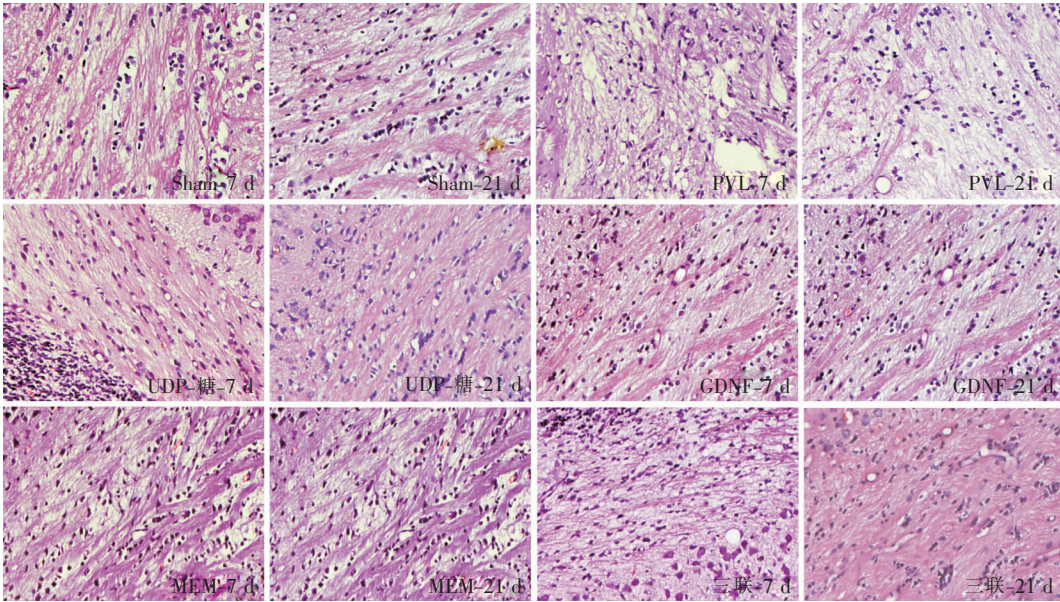


图4 建模后7 d和21 d光镜下各组脑白质病理评估(×200) Sham组大鼠皮层下脑白质的细胞结构清晰,排列有序,神经纤维致密,走向一致;PVL组大鼠皮层下脑白质的细胞层次及结构欠清晰,呈疏松模糊状,神经纤维走向紊乱;4个用药组与PVL组相比脑白质病理有明显改善,神经纤维排列较致密,走向较整齐。

表1 建模后7 d和21 d光镜下各组大鼠脑白质的病理分级和评分比较

组别	例数	PVL后7 d				PVL后21 d			
		0级(正常) [例(%)]	1级(轻度) [例(%)]	2级(重度) [例(%)]	病理评分 ($\bar{x} \pm s$)	0级(正常) [例(%)]	1级(轻度) [例(%)]	2级(重度) [例(%)]	病理评分 ($\bar{x} \pm s$)
Sham组	8	8(100)	0(0)	0(0)	0	8(100)	0(0)	0(0)	0
PVL组	8	0(0)	3(38)	5(62)	1.6 ± 0.5 ^a	0(0)	4(50)	4(50)	1.5 ± 0.5 ^a
UDP-糖组	8	4(50)	2(25)	2(25)	0.7 ± 0.8 ^{a,b}	5(62)	1(13)	2(25)	0.6 ± 0.9 ^{a,b}
GDNF组	8	6(75)	2(25)	0(0)	0.2 ± 0.4 ^{b,c}	7(88)	0(0)	1(12)	0.3 ± 0.7 ^{b,c}
MEM组	8	4(50)	2(25)	2(25)	0.8 ± 0.9 ^{a,b,d}	5(62)	2(25)	1(12)	0.4 ± 0.7 ^{a,b,d}
三联药组	8	6(75)	1(12)	1(12)	0.3 ± 0.7 ^{b,c,e}	7(88)	0(0)	1(12)	0.3 ± 0.7 ^{b,c,e}
$\chi^2/(F)$ 值			243.409		(15.097)		196.022		(13.308)
<i>P</i> 值			<0.001		<0.001		<0.001		<0.001

a:与Sham组比较, $P<0.05$;b:与PVL组比较, $P<0.05$;c:与UDP-糖组比较, $P<0.05$;d:与GDNF组比较, $P<0.05$;e:与MEM组比较, $P<0.05$ 。除Sham组外,各组分别在建模后7 d和21 d内的死亡大鼠例数如下:PVL组各有1只、UDP-糖组各有1只和2只,GDNF组各有1只和0只,MEM组各有2只和1只,三联药组各有1只。死亡大鼠均计为2级脑白质重度病变。

3 讨论

以OL前体的损伤和丢失为特征的脑室周围未成熟白质的缺血性病变,是早产儿常见脑损伤,严重影响早产儿的存活率和生存质量,已成为早产儿医学中最为棘手的问题之一,目前尚无有效防治方法^[9]。脑室周围白质由髓鞘化的神经轴索构成,由OL的突起包绕轴索而形成髓鞘^[10]。髓鞘化轴索的数量以及髓鞘壁的厚度将直接影响轴索的动作电位传导,缺乏髓鞘包裹的轴索以及包裹髓鞘的壁太薄,其动作电位的传递速度将明显下降,从而影响脑内信息的处理及传递,临床上导致严重残疾^[11]。

脑内所具有的内源性修复功能正日益被引起关注,也为早产儿PVL的治疗提供了新思路。以往的研究重点大多探讨神经元源性的再生潜力,室管膜下区(SVZ)及海马齿状回颗粒下层均被证实具有神经元的再生功能^[12-13]。近年来对脑白质的内源性修复潜力也开始引起关注,研究已证实SVZ细胞在损伤脑白质部位可分化为胶质源性神经细胞^[14],而脑白质本身也存在具有神经干细胞功能的胶质源性祖细胞,其激活与一种新发现的P2Y受体GPR17密切相关^[2]。来自SVZ的祖细胞以及白质本身存在的祖细胞,均可为脑白质损伤的内源性修复提供OL前体的再生资源^[2]。

本课题组前期通过Morris水迷宫测试和Rivlin

斜板测试等行为学研究,证实单用或联用 UDP-糖、GDNF 和 MEM 均能明显改善脑白质损伤大鼠的长期预后^[5]。本研究拟进一步通过光镜和电镜病理研究,评估上述药物对 PVL 大鼠脑白质损伤的改善情况。

近年研究表明,脑白质内在修复功能的启动与一种新发现的 P2Y 受体 GPR17 密切相关,缺血缺氧的刺激可诱导 GPR17 阳性祖细胞渗入损伤区域,增殖和分化为成熟髓鞘化细胞^[2]。UDP-糖是激活 GPR17 的内源性协同剂。研究证实,体外应用 UDP-糖可促进 GPR17 激活,促使 GPR17 阳性神经祖细胞进一步增殖并分化为成熟 OL,从而有利于脑修复^[15]。本研究在电镜下观察到,UDP-糖可明显增加 PVL 大鼠脑白质的髓鞘形成,髓鞘数目明显增加。光镜病理研究证实,应用 UDP-糖可明显改善 PVL 大鼠的脑白质病变,大部分 PVL 大鼠呈现正常脑白质,其病理评分亦明显低于未用药 PVL 大鼠。提示 UDP-糖有可能通过激活 GPR17,促进白质内静止的胶质细胞源性的祖细胞激活、增殖、分化为 OL 系细胞,迁移至白质损伤部位实施修复,从而有利于促进轴索的髓鞘化和修复脑白质损伤。

GDNF 是一种在体内有广泛表达且作用复杂的多效能神经营养因子,对中枢和周围神经系统神经细胞的存活及突触生长有明显的促进作用。本研究组以往曾证实在外源性神经干细胞内加入 GDNF,可明显增强神经干细胞的移植疗效,改善 PVL 新生大鼠的脑白质病变^[3]。本研究的电镜病理显示,GDNF 组大鼠脑白质的髓鞘数目明显增加,髓鞘厚度相似于正常大鼠。光镜病理显示,GDNF 明显改善了 PVL 大鼠的脑白质病变,75% 的 PVL 大鼠在建模后 7 d 已呈现正常脑白质,至 PVL 后 21 d,呈现正常脑白质的比例上升至 88%。在单独应用 UDP-糖、GDNF 以及 MEM 三种药物中,效果最为显著者将首推 GDNF。推测 GDNF 对新生及受损神经细胞的成活及生长起了颇为关键的作用。

近来证实脑白质内也存在大量的功能性 NMDA 受体^[16],在脑白质的缺血性损伤中起了关键作用,这对重新诠释早产儿缺血性 PVL 的发病机理有着重要意义。MEM 作为一种 NMDA 受体的拮抗剂,可有效阻断 NMDA 受体激活及由之引起的缺血性兴奋毒损伤,抑制神经细胞的凋亡和坏死^[4],从而可为脑的内源性修复提供良好的脑微环境,有利于增强脑的内源性修复功能。本研究显示,MEM 组大鼠的脑白质髓鞘数目及厚度较 PVL 大鼠明显增加,脑白质病理亦呈明显改善,62% 的 PVL 大鼠在建模

后 21 d 呈现正常脑白质。提示 MEM 通过阻断由缺血所诱导的 NMDA 受体的激活,从而抑制白质 OL 以及髓鞘的兴奋毒损伤,有效改善脑微环境和促进脑的内在修复功能,改善 PVL 大鼠的脑白质损伤。

在 4 个用药组中,三联用药组对缺血性脑白质病变的改善效果似更明显。电镜研究显示,三联药组和 Sham 组在脑白质的髓鞘形成数目以及髓鞘厚度之间的差异均无统计学意义,光镜研究显示,75% 的 PVL 大鼠在建模后 7 d 即呈现正常脑白质,至建模后 21 d,88% 的 PVL 大鼠均呈现正常脑白质。由此证实,缺血性脑白质损伤的病理机制是一个复杂的过程,促进内源性修复机制和改善脑白质病变,应从多方面入手,仅凭单一疗法并不能真正奏效。如 UDP-糖可有助于促进脑的内源性修复机制,但不良的脑微环境并不利于再生细胞的长期成活和发挥功能,已有多项研究证实,新生神经细胞常在 1~3 周内死亡,这也是临床上神经功能未能完全恢复的根本原因。虽然 GDNF 有助于神经细胞的生长,NMDA 受体抑制剂有助于改善脑微环境,如果没有内源性修复机制的启动和参与,也很难达到良好修复的效果。因而宜根据脑白质损伤的病因和病理机制,从多方面入手,联合治疗,以达到事半功倍的互补治疗效果,这也将是今后治疗早产儿脑白质损伤的努力方向。

综上所述,通过电镜和光镜的脑病理评估,本研究证实单用或联用 UDP-糖、GDNF 和 MEM 可有效改善 PVL 大鼠的脑白质病变。推测这种良好的改善作用与这些药物能促进脑内源性的神经再生及改善脑微环境密切相关,具体机制本研究组正在进一步研究中。

[参 考 文 献]

- [1] Fagel DM, Ganat Y, Silbereis J, Ebbitt T, Stewart W, Zhang H, et al. Cortical neurogenesis enhanced by chronic perinatal hypoxia [J]. *Exp Neurol*, 2006, 199(1): 77-91.
- [2] Lecca D, Trincavelli ML, Gelosa D, Sironi L, Ciana P, Fumagalli M, et al. The recently identified P2Y-like receptor GPR17 is a sensor of brain damage and a new target for brain repair [J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(10): 3579-3593.
- [3] 贺月秋,陈惠金,钱龙华,陈冠仪. GDNF 能增强神经干细胞经脑室移植治疗脑室周围白质软化新生大鼠的疗效 [J]. *临床儿科杂志*, 2009, 27(10): 963-970.
- [4] Manning SM, Talos DM, Zhou C, Selip DB, Park HK, Park CJ, et al. NMDA receptor blockade with memantine attenuates white matter injury in a rat model of periventricular leukomalacia [J]. *Neurosci*, 2008, 28(26): 6670-6678.
- [5] 李文娟,陈惠金,钱龙华,何亚芳,陈冠仪. GDNF、美金刚对脑室周围白质软化新生大鼠长期预后的影响研究 [J]. *中国*

当代儿科杂志, 2011, 13(9): 743-746.

[6] 贺月秋, 陈惠金, 钱龙华, 陈冠仪. 脑室周围白质软化新生大鼠模型的创建及所伴随的白内障病变[J]. 中国当代儿科杂志, 2007, 9(3): 220-224.

[7] 贺月秋, 陈惠金, 钱龙华, 陈冠仪. 不同缺血方式制作脑室周围白质软化大鼠模型的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2010, 30(3): 153-157.

[8] Uehara H, Yoshioka H, Kawase S, Naqai H, Ohmae T, Hasegawa K, et al. A new model of white matter injury in neonatal rats with bilateral carotid artery occlusion[J]. Brain Res, 1999, 837(1-2): 213-220.

[9] Khwaja O, Volpe JJ. Pathogenesis of cerebral white injury of prematurity[J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2008, 93(2): F153-F161.

[10] Bakiri Y, Burzomato V, Frugier G, Hamilton NB, Karadottir R, Attwell D. Glutamatergic signaling in the brain's white matter[J]. Neuroscience, 2009, 158(1): 266-274.

[11] K rad ttir R, Attwell D. Neurotransmitter receptors in the life and death of oligodendrocytes[J]. Neuroscience, 2007, 145(4): 1426-1438.

[12] Decressac M, Prestoz L, Veran J, Cantereau A, Jaber M, Gaillard A. Neuropeptide Y stimulates proliferation, migration and differentiation of neural precursors from the subventricular zone in adult mice[J]. Neurobiol Dis, 2009, 34(3): 441-449.

[13] Curtis MA, Kam M, Nannmark U, Anderson MF, Wikkels  C, Holtas S, et al. Human neuroblasts migrate to the olfactorybulb via a lateral ventricular extension[J]. Science, 2007, 315(5816): 1243-1249.

[14] Chandran S, Hunt D, Joannides A, Zhao C, Compston A, Franklin RJ, et al. Myelin repair: the role of stem and precursor cells in multiple sclerosis[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2007, 2019: 1-13.

[15] Ciana P, Fumagalli M, Trincavelli ML, Verderio C, Rosa P, Lecca D, et al. The orphan receptor GPR17 identified as a new dual uracil nucleotides/cysteinyl-leukotrienes receptor[J]. EMBO J, 2006, 25(19): 4615-4627.

[16] K rad ttir R, Cavelier P, Bergersen LH, Attwell D. NMDA receptors are expressed in oligodendrocytes and activated in ischaemia[J]. Nature, 2005, 438(7071): 1162-1166.

(本文编辑: 万静)

· 消息 ·

“国际儿科肾脏病学会(中国)培训中心”招募学员通知

2010 年 4 月北京大学第一医院儿(肾)科联合香港玛嘉烈医院青少年部被国际儿科肾脏病学会(International Pediatric Nephrology Association, IPNA)正式批准为中国首家国际儿科肾脏病学会培训中心(IPNA Training Center);该中心主任为丁洁教授,副主任为赵孟准教授(香港)、肖慧捷主任医师、姚勇主任医师,主要专家还有钟旭辉、赖伟明(香港)、谢纪超(香港)等医师,中心秘书为钟旭辉副主任医师。我国拥有国际性儿科肾脏病培训中心可以避免在其他国家受训时的语言障碍,非常有利于我国儿肾医师队伍的培养和壮大。按照 IPNA 规定,学员在培训中心经过系统培训期满后,经中心评估、IPNA 审查后可以获得“IPNA Fellow”的称号,并享有 IPNA 给予的如下待遇:

(1)获得 IPNA 颁发的“IPNA Fellow”证书;(2)获得 IPNA 赠送的一部 Pediatric Nephrology 专著;(3)由 IPNA 资助(免会议注册费,提供交通费和食宿费)参加一次亚洲或国内学术会议、或继续医学教育(CME)课程。

IPNA(中国)中心将于 2013 年继续招收培训学员,预计招收 2~4 名学员,培训时间约 9 个月(其中 2 个月在香港玛嘉烈医院青少年部接受培训);IPNA 将资助学员在培训期间的食宿费用、学员所在地至北京及北京至香港的往返机票。

申请者条件:医学本科以上学历、有儿内科执业医师证书并有三年以上儿科临床工作经验、有一定英语基础的儿科医生。

申请程序:(1)申请者将个人简历(包括学历、职称、英语水平以及肾脏领域的医、教、研经历等)、所在单位(科室)负责人和一位正高级职称医师的书面推荐信寄往北京大学第一医院儿(肾)科,可在上述文件中表明申请目的,如本人或本单位的(儿肾)专业发展规划,希望通过参加培训达到的目标;(2)IPNA(中国)培训中心将对申请者材料进行审核;(3)获准学员的资料将被报送 IPNA 备案;(4)由 IPNA(中国)培训中心通知被批准学员具体事宜。

申请材料邮寄地址:北京市西城区西安门大街 1 号,北京大学第一医院儿科(信封外面标注“IPNA 培训中心”字样);邮编 100034;收件人钟旭辉医师。

申请截止日期为 2013 年 1 月 15 日。

联系人:钟旭辉医师;**联系电话:**010-83572168;**Email:** xuhui7876@yahoo.com.cn。

北京大学第一医院儿(肾)科
2012 年 8 月 15 日