

· 论 著 ·

硫酸镁对大鼠脑缺血及再灌注时细胞外液谷氨酸、葡萄糖和乳酸的影响

赵玉武, 丁素菊, 郑惠民*

(第二军医大学长海医院神经内科, 上海 200433)

[摘要] 目的: 探讨 Mg^{2+} 对大鼠脑缺血和再灌注时细胞外液中谷氨酸、葡萄糖和乳酸的影响。方法: 雄性 Wistar 大鼠 12 只, 随机分为硫酸镁组和生理盐水组, 每组 6 只, 线栓法制备局灶性脑缺血再灌注模型, 脑缺血前 30 min 分别给予硫酸镁 100 mg/kg 或生理盐水 2 ml 腹腔注射; 微透析技术每 15 min 取缺血侧皮层细胞外液 1 次, 观察缺血 1 h 及再灌注 1 h 期间脑细胞外液谷氨酸、葡萄糖及乳酸动态变化。结果: 硫酸镁组缺血期葡萄糖降低的幅度显著低于生理盐水组 ($P < 0.05, P < 0.01$), 再灌注后即恢复正常; 缺血早期 (0~15 min) 及再灌注期乳酸水平也明显低于生理盐水组 ($P < 0.05, P < 0.01$); 各时间点谷氨酸浓度均显著低于生理盐水组, 硫酸镁组再灌注 30 min 时恢复正常。结论: Mg^{2+} 可能通过改善能量代谢, 减少乳酸堆积以及降低谷氨酸浓度来实现对脑缺血及再灌注损害的保护作用。

[关键词] 脑缺血; 再灌注; 硫酸镁; 谷氨酸; 葡萄糖; 乳酸

[中图分类号] R 743.31

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X (2004) 10-1108-03

Effects of magnesium sulfate on glutamate and energy metabolites during focal cerebral ischemia and reperfusion in rats

ZHAO Yu-Wu, DING Su-Ju, ZHENG Hui-Min* (Department of Neurology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To study the effect of Mg^{2+} on glutamate and energy metabolites during focal cerebral ischemia and reperfusion in rats. **Methods:** Twelve male Wistar rats were divided into 2 groups ($n = 6$): magnesium sulfate (100 mg/kg, i.p.) group and saline group. Cerebral ischemia was produced by occlusion of middle cerebral artery with a nylon thread for 60 min and followed by 60 min reperfusion. Microdialysis probes were stereotaxically implanted into the cortex; dialysates were collected every 15 min to determine the concentrations of glucose, lactic acid and glutamate. **Results:** There was a dynamic decrease of glucose and an increase of lactic acid and glutamate during ischemia and reperfusion in saline group. Glucose decreased slightly in magnesium sulfate group during ischemia and recovered to normal rapidly during reperfusion. The lactic acid levels in magnesium sulfate group were lower than that in saline group during early stage of ischemia (0-15 min) and reperfusion. There were significant attenuation in the elevation of glutamate during ischemia and reperfusion when magnesium sulfate was administered and recovered to normal after 30 min of reperfusion. **Conclusion:** The preservation of cellular energy metabolism, the decrease of lactacidosis and attenuation of glutamate level during ischemia and reperfusion may contribute to the neuroprotective effects of Mg^{2+} .

[KEY WORDS] cerebral ischemia; reperfusion; magnesium sulfate; glutamate; glucose; lactic acid

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(10): 1108-1110]

* 近年来的研究^[1,2]发现, 在各种不同类型的脑缺血动物模型中, Mg^{2+} 对缺血后神经元均有保护作用, 但其机制尚不十分清楚。微透析技术是目前研究脑组织微环境的最佳方法, 具有活体、动态、定位准确等优点。本研究采用微透析技术, 观察了硫酸镁对大鼠脑缺血及再灌注时脑组织细胞外液中葡萄糖、乳酸及谷氨酸的影响, 拟探讨 Mg^{2+} 对脑缺血性损害的保护作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物及脑缺血模型 雄性 Wistar 大鼠 12 只, 体质量 230~280 g (山东省医科院实验动物

中心提供), 随机分为两组, 每组各 6 只。硫酸镁组脑缺血前 30 min 腹腔注射硫酸镁 (100 mg/kg); 生理盐水组脑缺血前 30 min 腹腔注射生理盐水 2 ml。脑缺血模型采用我们以往报道的线栓法大脑中动脉缺血再灌注模型^[3]。

1.2 微透析方法 动物经戊巴比妥钠 (30~40 mg/kg) 麻醉, 暴露及分离左侧颈总动脉以备线栓。然后立体定向将透析探针 (自制, 透析膜长 4 mm, 直径

* [作者简介] 赵玉武 (1964-), 男 (汉族), 博士生, 副主任医师。现在上海交通大学附属第六人民医院神经内科, 200233

* Corresponding author. E-mail: 6htu@snnu.edu.cn

0.5 mm, 专利号 TL 96228271.5) 插入左侧额叶皮层, 人工脑脊液 (Na^+ 156 mmol/L, K^+ 3.0 mmol/L, Ca^{2+} 2.5 mmol/L, pH 7.0) 持续性灌注, 速度为 4 $\mu\text{l}/\text{min}$ 。稳定 1 h 后取 15 min 内微透析液测定脑组织细胞外液葡萄糖、乳酸及谷氨酸基础值, 随即进行左侧大脑中动脉线栓。每 15 min 收集微透析液 1 次, 观察时间为缺血 1 h, 再灌注 1 h。葡萄糖、乳酸及谷氨酸浓度测定采用 CMA/60 型生化分析仪 (瑞典 CMA 公司生产)。24 h 后将动物断头取脑, 2 mm 厚冠状切片, TTC 染色, 图像分析脑梗死体积。

1.3 数据处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验进行组间显著性检测, 统计软件由第二军医大学卫生勤务学系统学教研室提供。

2 结果

2.1 脑梗死体积 生理盐水组脑梗死体积为 $(184.1 \pm 42.3) \text{ mm}^3$, 硫酸镁组为 (127.0 ± 33.0)

mm^3 , 后者较前者减小 31%, 两组比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。

2.2 脑组织细胞外液中葡萄糖、乳酸及谷氨酸浓度 见表 1。表中显示, 在缺血期, 两组不同时间点的葡萄糖水平较其缺血前均有显著下降, 再灌注期间, 硫酸镁组迅速恢复正常, 而生理盐水组仍明显低于缺血前及硫酸镁组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。在缺血早期 (0~15 min), 两组乳酸水平有显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 但硫酸镁组明显低于生理盐水组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 再灌注期间, 各时间点乳酸水平较缺血前期均有明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 但硫酸镁组显著低于生理盐水组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。无论缺血期或再灌注期, 生理盐水组各时间点谷氨酸水平均明显高于缺血前及硫酸镁组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 硫酸镁组缺血期及再灌注 30 min 内谷氨酸水平显著高于缺血前 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 再灌注 30 min 后恢复至正常水平。

表 1 两组不同时间脑组织细胞外液葡萄糖、乳酸及谷氨酸浓度

Tab 1 Concentrations of glucose, lactic acid and glutamate at different periods in 2 groups

($n = 6$, $\bar{x} \pm s$, $\text{CB}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Index	Pre-operation	Cerebral ischemia period				Reperfusion period			
		0-15 min	16-30 min	31-45 min	46-60 min	0-15 min	16-30 min	31-45 min	46-60 min
Glucose ($\text{CB}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)									
Magnesium sulfate	1.74 ± 0.35	1.13 ± 0.35**	0.87 ± 0.26**	0.95 ± 0.26**	1.10 ± 0.34**	1.42 ± 0.70	1.63 ± 0.51	1.79 ± 0.47	2.24 ± 0.27**
Saline	1.71 ± 0.37	0.84 ± 0.23**	0.34 ± 0.08**	0.37 ± 0.10**	0.33 ± 0.10**	0.73 ± 0.22**	0.73 ± 0.19**	0.98 ± 0.35**	1.21 ± 0.34*
Lactic acid ($\text{CB}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)									
Magnesium sulfate	2.69 ± 0.62	3.53 ± 1.00*	3.12 ± 0.84	2.71 ± 0.78	3.32 ± 0.89	3.36 ± 1.08*	3.52 ± 1.02*	3.74 ± 1.05**	3.50 ± 1.08*
Saline	2.69 ± 0.75	4.54 ± 1.23**	3.90 ± 1.01**	3.36 ± 0.94*	3.25 ± 0.88	4.55 ± 1.22**	5.43 ± 1.4**	5.04 ± 1.32**	4.67 ± 1.19**
Glutamate ($\text{CB}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)									
Magnesium sulfate	5.81 ± 1.40	11.11 ± 6.68**	10.52 ± 6.12**	20.37 ± 9.15**	19.45 ± 7.73**	10.89 ± 6.69**	8.36 ± 3.93*	6.17 ± 2.36	6.31 ± 1.81
Saline	5.77 ± 1.11	26.34 ± 9.74**	31.64 ± 10.51**	34.78 ± 9.96**	41.72 ± 8.28**	23.35 ± 9.43**	20.19 ± 8.76**	9.45 ± 3.32**	7.88 ± 2.19*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs pre-operation; $P < 0.05$, $P < 0.01$ vs saline group

3 讨论

以往研究发现, 硫酸镁对脑缺血有保护作用, 且其血药浓度与疗效呈正相关, 但 Mg^{2+} 在 4~6 mmol/L 时有神经传导阻滞作用, 故本研究采用硫酸镁 100 mg/kg 为治疗剂量^[4]。研究发现, 缺血前予以硫酸镁腹腔注射能够显著减小脑梗死体积, 进一步证实 Mg^{2+} 对脑缺血的保护作用, 也为本研究探讨其机制奠定了基础。

众所周知, 脑缺血的本质是葡萄糖及氧供的减少, 细胞能量代谢衰竭。正常状态下, Mg^{2+} 在调节细胞能量代谢、糖及蛋白质代谢中具有重要作用; 但高浓度的 Mg^{2+} 对脑缺血及再灌注时的能量代谢是否有益尚需进一步观察。本研究发现, 在大鼠脑缺血前给予硫酸镁治疗, 缺血期脑组织细胞外液中葡萄糖下降的程度远低于生理盐水组, 且再灌注早期即恢复至正常水平; 而生理盐水组再灌注 1 h 仍未达到其缺血前水平。这一结果提示, Mg^{2+} 能够改善脑缺

血状态时的能量代谢,减少葡萄糖的消耗,增加能量的储备,从而减轻缺血期能量衰竭的严重程度,并使再灌注后的能量代谢迅速恢复;这可能是Mg²⁺对脑缺血性保护作用的重要机制之一^[5]。关于Mg²⁺改善脑缺血时的能量代谢的机制,推测可能与Mg²⁺是多种酶参与ATP反应所必需的底物有关,缺Mg²⁺时可致糖的氧化磷酸化脱偶联,使糖代谢的中间产物不能在线粒体内正常氧化,影响神经组织能量供应^[6],另外,本文还观察了乳酸的动态变化,发现硫酸镁能够明显降低脑缺血早期以及再灌注期间的乳酸水平,说明Mg²⁺也通过减少乳酸的堆积而减轻了脑缺血性及再灌注损害。Mg²⁺的这种保护作用一方面可能由于能量代谢的改善,减少了乳酸的产生;另一方面,也与Mg²⁺能够增加脑血流^[7],加速了乳酸的清除有关。

微透析技术被认为是神经生化研究方法的一次革命。该技术的应用,使兴奋性氨基酸于脑缺血性损害的关系得以阐明。现已公认,兴奋性氨基酸的过量释放是导致脑缺血性损害的关键因素之一,且细胞外液中谷氨酸的浓度与损害程度有关^[2]。本研究观察到,在硫酸镁组,脑缺血及再灌注期各时点的谷氨酸浓度均较生理盐水组为低,提示降低谷氨酸水平也是镁缺血性保护作用的重要机制。根据目前的资料推测,Mg²⁺可能通过以下几个环节减少了谷氨酸的释放,促进了再摄取及清除:(1)非竞争性地与N-甲基天冬氨酸(NMDA)受体结合,抑制Ca²⁺通道的开放^[1];(2)与Ca²⁺生理性竞争结合位点,减少Ca²⁺细胞内流^[8];(3)改善能量代谢,维持细胞内外正常离子梯度,降低去极化程度^[9];另外,能量代谢的改善、细胞膜功能的稳定,以及Mg²⁺增加脑血流的作用,

也有助于谷氨酸的再摄取及清除。

[参考文献]

[1] Paoletti P, Neyton J, A scher P. Glycine-independent and sub-unit-specific potentiation of NMDA responses by extracellular Mg²⁺ [J]. *N euron*, 1995, 15(5): 1109-1120

[2] Kristian T, Siesj  BK. Calcium in ischemic cell death [J]. *S troke*, 1998, 29(3): 705-718

[3] 曹 霞,曹秉振,赵玉武,等. 线栓法复制局灶性脑缺血模型影响因素探讨[J]. *中国病理生理杂志*, 2000, 16(2): 157-159

[4] Muir KW. New experimental and clinical data on the efficacy of pharmacological magnesium infusion in cerebral infarcts[J]. *M agnes Res*, 1998, 11(1): 43-56

[5] Lin JY, Chung SY, Lin MC, et al. Effects of magnesium sulfate on energy metabolites and glutamate in the cortex during focal cerebral ischemic and reperfusion in the gerbil monitored by a dual probe microdialysis technique [J]. *L ife Sci*, 2002, 71(7): 803-811

[6] Altura BT, Altura BM. Interactions of Mg and K on cerebral vessels-aspects in view of stroke Review of present status and new findings[J]. *M agnesium*, 1984, 3(4-6): 195-211

[7] Chi OZ, Pollak P, Weiss HR. Effects of magnesium sulfate and nifedipine on regional cerebral blood flow during middle cerebral artery ligation in the rat [J]. *Arch Int Pharm acodyn Ther*, 1990, 304: 196-205

[8] Saris NE, Mervaala E, Karppanen H, et al. Magnesium. An update on physiological, clinical and analytical aspects [J]. *Clin Chim Acta*, 2000, 294(1-2): 1-26

[9] van den Bergh WM, Zuur JK, Kamerling NA, et al. Role of magnesium in the reduction of ischemic depolarization and lesion volume after experimental subarachnoid hemorrhage [J]. *J Neurosurg*, 2002, 97(2): 416-422

[收稿日期] 2004-02-23

[修回日期] 2004-06-20

[本文编辑] 曹 静

(上接第 1107 页)

性下降,左房增大,左室收缩功能正常。入院后予美西律、普罗帕酮控制室早,效果差,改胺碘酮 200 mg 口服,每日 3 次,5 d 后改为 200 mg,每日 1 次。第 6 天复查血生化正常,心电图测 QTc 为 0.46 s。期间同时服用螺内酯 20 mg、氢氯噻嗪 25 mg 每日 2 次。第 8 天时心电图监护示非持续性尖端扭转性室速,急查血钾为 2.8 mmol/L,心电图测 QTc 为 0.68 s,立即补钾并停用胺碘酮对症治疗,未再发室速。

2 讨论 胺碘酮是临床常用的广谱抗心律失常药物,口服胺碘酮能延长 QT 间期,剂量过大时偶可引起尖端扭转性室速,所以服用胺碘酮应定期行心电图检查,测 QTc。当 QTc 0.50 s 应及时停药。这两例患者按常规剂量服用胺碘酮,服药 1 周后均发生了 QT 间期明显延长,室速发生前心电图

监护室早 RonT 现象,符合获得性长 QT 间期综合征诱发的尖端扭转性室速。例 1 因持续性室速而室颤,经心脏按压、药物和电复律抢救成功。例 2 因及时发现非持续性尖端扭转性室速,经补钾、停用胺碘酮,未再发室速。胺碘酮导致尖端扭转性室速,其作用机制是阻断多个离子通道,包括 I_{Kr}、I_{Ks} 及三相末期的 I_{K1},此外尚有阻滞、抑制磷酸酯酶等作用,使心肌复极延迟,复极离散度增加,引起触发活动或折返机制。低血钾可以使心肌应激性增强,出现多源性期前收缩或房、室性心动过速,心室扑动、颤动,心脏骤停。所以,低血钾可诱发胺碘酮所致的尖端扭转性室速。因此,应用胺碘酮时一定要定期密切监测血钾及 QT 间期。

[收稿日期] 2004-03-13

[修回日期] 2004-07-15

[本文编辑] 李丹阳