

·辐射损伤·

镁离子对放射性脑损伤的脑保护作用

杨美玉 王利利 涂彧

【摘要】 放射性脑损伤是脑部肿瘤放射治疗的严重并发症之一,近几年对 Mg^{2+} 的研究证明了其在脑损伤中的保护作用,是目前综合性评价前景较好的神经保护剂。该文综述了放射性脑损伤后脑组织中的 Mg^{2+} 变化情况及其产生原因,并从减轻炎症反应、减轻脑水肿,抑制脂质过氧化、抗细胞凋亡,改善神经功能等方面分析了 Mg^{2+} 对放射性脑损伤的保护机制。

【关键词】 脑损伤;硫酸镁;辐射防护

Brain protection by magnesium ion against radioaction brain injury

YANG Mei-yu, WANG Li-li, TU Yu.

(Academy of Radiation Medicine and Public Health, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China)

【Abstract】 Radiation brain injury is a serious complication among the radiotherapy of brain tumors. It is demonstrated that the protective action of magnesium ion in the brain injury from some experimental studies recent years, which is the prospective neuroprotective agents overall merits. This article is summarized the causes and the variance of magnesium ion in the brain tissue afterwards the radioactive brain injury, additionally the defense mechanism of magnesium ion from the aspects of inflammation reduction, encephaledema alleviation, anti-apoptosis and improvement of nerve function.

【Key words】 Brain injury; Magnesium sulfate; Radiation protection

镁是人体内必需的微量元素之一,它除了具有维持细胞膜完整性的功能外,还是许多酶反应所必需的元素。近年来的研究证明, Mg^{2+} 是目前综合性评价前景较好的神经保护剂,及时补充镁剂不仅能减轻创伤引起的脑组织损伤,而且对急性缺血缺氧性脑病、急性代谢性脑功能障碍及一些锥体外系疾病如 Wilson 病等,均起到明显的神经保护作用,并可明显改善其预后,对放射性脑损伤同样可起到显著的脑保护作用^[1-2]。

1 放射性脑损伤后脑内 Mg^{2+} 的变化及作用机制1.1 Mg^{2+} 的变化

研究表明,大鼠大脑接受 20 Gy 照射后,脑组织内 Ca^{2+} 含量明显升高, Mg^{2+} 含量明显下降,证明电离辐射可以引起脑组织及神经细胞内 Mg^{2+} 含量的下降^[3]。目前的理论认为,神经元损害的分子机制

包括:① Ca^{2+} 超载——大量的 Ca^{2+} 内流;② 兴奋性氨基酸的大量释放;③ 自由基对神经的直接作用;④ 细胞内酸中毒。上述 4 个方面相互影响。其中, Ca^{2+} 的作用最为重要。1988 年 Vink 等^[4]用 ³¹P-磁共振光谱技术观察到实验性颅脑损伤后细胞内游离 Mg^{2+} 和组织总 Mg^{2+} 含量均有不同程度的下降,其中损伤区 Mg^{2+} 含量下降最显著,而且下降的幅度和组织损伤的程度呈正相关,即伤情越严重, Mg^{2+} 含量降低越显著,创伤后及时补充 $MgSO_4$ 可防止损伤后细胞内游离 Mg^{2+} 含量的下降,减轻脑水肿和血脑屏障破坏的程度,改善细胞的能量代谢,提高细胞的活性,并显著改善创伤后的神经功能。 $MgSO_4$ 作为一种脑保护剂引起了人们的重视。

1.2 Mg^{2+} 的作用机制

脑组织受到损伤后,细胞内外原有的离子平衡被打破,造成细胞外的 Ca^{2+} 大量内流。为了维持细胞内外的离子梯度,血液、脑脊液中的 Ca^{2+} 进入脑内,导致脑组织总 Ca^{2+} 含量升高。研究表明,电离辐射可引起 Ca^{2+} 大量内流,造成细胞内 Ca^{2+} 超载,而细胞内 Ca^{2+} 超载正是目前公认的导致脑损伤后细

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2010.06.012

作者单位: 215123, 苏州大学医学部放射医学与公共卫生学院(杨美玉,涂彧); 215123, 苏州大学附属第一医院放疗科(王利利)

通信作者: 涂彧(E-mail: tuyu@suda.edu.cn)

胞死亡的“共同通道”。因此,要实现有效的脑保护,阻止 Ca^{2+} 内流、防止细胞内 Ca^{2+} 超载是关键^[9]。

正常情况下,细胞内外的 Mg^{2+} 浓度没有跨膜梯度,细胞内 Mg^{2+} 大部分以 ATP-Mg^{2+} 复合物的形式存在。生理浓度的 Mg^{2+} 对于维持细胞内外的离子稳态至关重要,其可能通过以下 3 个方面发挥作用:①在神经系统中,谷氨酸受体包括 *N*-甲基-*D*-天门冬氨酸(*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA)受体和非 NMDA 受体两大类,其中以 NMDA 受体的作用为重要。 Mg^{2+} 被认为是一种内源性的 NMDA 受体非竞争性拮抗剂,在生理条件下, Mg^{2+} 以电压依赖方式通过阻断 NMDA 受体偶联的离子通道,防止 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流, K^+ 外流;②细胞外的 Mg^{2+} 被认为是“天然的生理性钙拮抗剂”,它通过与 Ca^{2+} 竞争结合位点而抑制 Ca^{2+} 内流。此外,它还通过 Mg^{2+} - Ca^{2+} 交换促使细胞内过多的 Ca^{2+} 外流,防止细胞内 Ca^{2+} 超载^[9];③维持细胞膜上 Na^+ - K^+ -ATP 酶的活性,保持正常的 Na^+ - K^+ 交换,防止细胞水肿。

除此之外, Mg^{2+} 治疗脑损伤的作用机制还有以下几方面:①改善神经细胞的能量代谢,维持细胞膜的稳定,维持和调节细胞内外 Na^+ 、 K^+ 的浓度梯度以及 Ca^{2+} 的运输和积聚等;②通过抗血管介质的抗血管痉挛、舒张脑循环等作用,增加脑血流,达到神经保护作用;③通过竞争磷脂连接位点,抑制脂质过氧化^[6];④通过抑制去极化,起到重要的神经保护作用。

2 Mg^{2+} 对放射性脑损伤的保护作用

2.1 减轻炎症反应

放射性损伤是一个动态进展的过程,通过引起细胞的直接死亡和反应性的神经炎症,最终导致选择性的细胞丢失、组织损伤和功能障碍^[7-9]。与其他的炎症反应相似,正常组织(如肺、皮肤、结肠等)受到射线照射后将发生明显的炎症反应,脑组织受照后,血管内细胞间的黏附明显增加,引起血脑屏障通透性增加,从而引发早期的放射性炎症反应。在这个过程中,细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 参与介导炎症细胞浸润的病理过程^[9-11]。ICAM-1 属于免疫球蛋白超家族成员,主要是通过诱导白细胞浸润来发挥作用^[12]。ICAM-1 表达量的增加使白细胞与血管内皮细胞间黏附力增加,白细胞跨过内皮细胞间隙进入周围组

织,释放大量炎症介质和细胞因子、自由基、水解酶等,损害局部血管,导致血管通透性增加,造成组织水肿,破坏幸存的神经元和胶质细胞,最终导致神经细胞缺血、缺氧,甚至死亡,并吸引更多的白细胞进入组织,形成恶性循环。脑损伤级联反应中,白细胞的聚集和浸润是非常关键的步骤。而 ICAM-1 的表达是白细胞发挥毒性作用的重要条件,是炎症形成的基础^[13],因此,抑制其表达可作为减轻辐射诱导的组织损伤的治疗靶点。

髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)是包括中性粒细胞和单核细胞在内的白细胞所特有的细胞内酶,其含量一定,利用其可使过氧化氢还原的原理分析该酶的活力,即可定量测定白细胞的数目,反映白细胞的浸润情况,从而定量反映炎症损伤的程度。

张炜等^[14]用 5 MeV 电子束对 Sprague-Dawley 大鼠进行全脑单次 20 Gy 照射,在照射后 1、7 和 14 d,分别用酶联免疫吸附法测定脑组织 ICAM-1 含量,分光光度法测定 MPO 活性,苏木精-伊红染色法进行病理形态学观察。结果显示,放射性脑损伤大鼠脑组织中 ICAM-1 含量及 MPO 活性明显增加,引起放射性脑损伤继发性炎症反应,并且 MPO 活性高峰时间点与 ICAM-1 表达的高峰时间点相同,说明两者具有相关性,这也证实了 ICAM-1 的大量表达介导了放射性脑损伤炎症反应。给予 MgSO_4 能显著降低放射性脑损伤大鼠的 ICAM-1 含量及 MPO 的活性,减少炎症细胞浸润,改善受损伤的血脑屏障,减轻脑组织损伤。因此,早期给予 MgSO_4 可减轻放射性脑损伤大鼠脑组织的炎症效应,发挥细胞保护作用。 MgSO_4 作用于 ICAM-1 的机制尚不清楚,有研究提示,辐射诱导的 ICAM-1 表达可能与活性氧自由基的作用有关。 MgSO_4 能减少由辐射产生的自由基,同时伴随 ICAM-1 表达的减少^[15]。Rochelson 等^[16]发现, MgSO_4 可通过干扰核因子 κB 的核易位及其抑制蛋白 α 的降解来降低 ICAM-1 和白细胞介素 8 的表达水平,从而发挥抑制血管内皮炎症反应的作用。可见, MgSO_4 可能通过多种途径抑制放射引起的 ICAM-1 表达,其具体作用途径还有待进一步研究。

2.2 减轻脑水肿,抑制脂质过氧化

脑损伤可引起细胞毒性水肿,研究发现,颅脑损伤后 24 h,脑皮质中 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 H_2O 的含量明

显上升, K^+ 、 Mg^{2+} 含量显著下降;在脑损伤的同时由腹腔注射 $MgSO_4$, 可以减轻脑组织水肿程度, 降低脑组织 Na^+ 、 Ca^{2+} 含量, 提高 Mg^{2+} 含量, 减轻脑细胞水肿^[7]。

钙作为人体内含量最高的无机元素之一, 在细胞内起着重要的第二信使作用。神经细胞内适当浓度的游离 Ca^{2+} 对维持正常的生理生化过程起着十分重要的作用。而脑损伤后引起的脑细胞中 Ca^{2+} 超载已被公认为引起细胞死亡的“共同通道”。

一氧化氮(nitric oxide, NO)是由左旋精氨酸和分子氧在一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化下生成的, 为较小的生物活性分子, 是一种气体自由基。在中枢神经系统内 NOS 不仅存在于血管内皮细胞、血管周围神经, 也分布于神经细胞^[8]。内源性 NO 是内皮细胞和神经细胞中的信息物质。正常情况下, NO 可起到维持脑血流、抑制血小板聚集和黏附、抑制 NMDA 受体而减少 Ca^{2+} 内流的作用^[9]。由于脑损伤中神经元受损等因素, 导致 NOS 产生增加, 进而引起 NO 合成增多。过量的 NO 超过了机体的清除能力, 在体内可与超氧阴离子极快地反应生成超氧亚硝基阴离子, 该离子质子化后生成过氧亚硝酸, 并在酸性环境中进一步分解成具有很强毒的羟自由基和二氧化氮自由基, 它们直接攻击细胞核内的 DNA 及细胞膜, 造成 DNA 单链和双链断裂等损伤;引发不饱和脂肪酸脂质过氧化, 进而产生细胞毒效应;导致脑细胞的损害和丢失等。研究表明, Mg^{2+} 能够通过减轻电离辐射引起的脑水肿和抑制脂质过氧化, 降低放射性脑损伤的程度。袁文佳等^[10]用 6 MeV 的电子束对大鼠进行 20 Gy 全脑单次垂直照射, 分别于照射前 1 d、照射后即刻和照射后连续 5 d 从腹腔注射 10%的 $MgSO_4$, 并分别于照射后第 3、10、17 和 24 d 解剖大鼠, 取其脑组织, 用激光扫描共聚焦显微镜测定脑细胞内 Ca^{2+} 的含量, 用硝酸还原酶法测定脑组织 NO 含量。结果表明, 早期使用 $MgSO_4$ 可抑制辐射引起的脑细胞内 Ca^{2+} 超载及脑组织中 NO 含量的升高, 对放射性脑损伤起到保护作用。分析认为, 及时补充 $MgSO_4$ 可能通过有效抑制辐射引起的自由基含量升高及脂质过氧化反应, 稳定细胞膜, 从而抑制细胞外的 Ca^{2+} 大量内流。另外, $MgSO_4$ 也可通过非竞争性抑制 NMDA 受体, 防止钙超载, 抑制兴奋性氨基酸释放, 保护血脑屏障, 减少 Ca^{2+} 内流, 从而阻

断 Ca^{2+} 对神经元的毒性作用。

2.3 抗细胞凋亡, 改善神经功能

临床中, 放射性脑损伤患者的学习记忆力损伤是最为常见且较早期的表现之一, 且放射引起的脑损伤在晚期放射损害的发病原理中起着重要的作用。通常认为海马结构是记忆之门, 其中与学习记忆有关的多种基因及其产物已相继被发现, 如糖皮质激素受体、盐皮质激素受体、神经细胞黏附分子、周期素依赖性蛋白激酶 5、c-fos (一种原癌基因)基因等^[21-22]。海马区神经细胞的丢失可能与神经功能障碍及学习记忆力下降有关。海马结构神经细胞对辐射高度敏感, 照射可引起海马神经元密度的下降, 且下降幅度与照射剂量呈正相关, 因此, 其可作为评价放射性脑损伤后治疗疗效的可靠指标^[9]。脑损伤中 c-fos 基因表达产物的分布与受损区域及其严重程度相关, 能较准确及时地反映实验动物神经细胞的病变。目前, c-fos 基因已被广泛应用于不同类型脑损伤中细胞功能的评价。它是即早基因家族中的一员, 其表达与神经细胞的凋亡在分布、时程和数量上具有一定的相关性, 且 c-fos 基因的表达在细胞凋亡发生形态及生化变化之前, 因此, c-fos 基因表达可作为细胞损伤进展的标志。目前认为, Fos 蛋白(c-fos 基因编码产生的一种蛋白质)的高表达与细胞的凋亡有关^[23]。 $MgSO_4$ 可能通过阻断 Ca^{2+} 内流和超载而抑制各种凋亡启动因子, 从而抑制凋亡基因的表达。

研究表明, 早期应用镁剂对多种类型的脑损伤引起的功能障碍都能起到改善预后的作用。王利利等^[23]在研究大鼠放射性脑损伤模型时, 用免疫荧光组织化学技术观察受照后海马结构中 c-fos 基因表达情况, 计数阳性细胞, 并行 Y-型迷宫测试, 观察学习和记忆能力, 另外, 还进行了相关病理形态学观察。研究发现, 半脑照射后 2 h 时, 海马结构中 Fos 蛋白阳性细胞数目已明显增加, 24 h 时却已明显下降, 这符合 c-fos 作为即早基因, 其表达迅速而短暂的特点。行为学结果表明, 大鼠在脑组织受照后, 其早期学习和记忆能力降低。另外, 细胞放射损伤的严重程度与海马结构中 c-fos 基因的表达在区域上呈较强的相似性, 结合神经功能方面的表现(学习记忆能力下降)考虑, 得出 Fos 蛋白的过度表达可能是引发海马结构中神经细胞病理性损伤, 并最终导致学习记忆障碍的启动环节之一。应

用 $MgSO_4$ 进行治疗后,放射性脑损伤大鼠海马结构中 Fos 蛋白阳性细胞数目明显降低,病理形态学上亦可观察到海马结构中神经细胞损伤程度明显减轻,这说明 $MgSO_4$ 可能通过降低 Fos 蛋白的表达量,减轻海马结构中神经细胞的继发性放射损伤。由此可见, $MgSO_4$ 对大鼠放射性脑损伤所致的早期学习和记忆功能降低有改善作用,对神经细胞有保护作用,其下调海马结构中神经细胞 Fos 蛋白的表达可能是其减轻细胞损伤的作用机制之一。

3 小结

综上所述, Mg^{2+} 作为一种有效的神经保护剂的作用已被广泛证实,其在放射性脑损伤发生后的降低炎症反应、减轻脑水肿、改善神经功能等方面均起到重要作用,但具体保护机制尚未完全阐明。目前, Mg^{2+} 对脑组织血流量的影响和对自身免疫反应及各种凋亡基因的影响等方面的研究还较少,如何将其从动物实验应用到临床还有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Maulik D, Qayyum I, Powell SR, et al. Post-hypoxic magnesium decreases nuclear oxidative damage in the fetal guinea pig brain. *Brain Res*, 2001, 890(1): 130-136.
- [2] Esen F, Erdem T, Aktan D, et al. Effects of magnesium administration on brain edema and blood-brain barrier breakdown after experimental traumatic brain injury in rats. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2003, 15(2): 119-125.
- [3] 涂或,周菊英,王利利. $MgSO_4$ 对大鼠急性放射性脑损伤后钙超载的抑制作用. *中华放射医学与防护杂志*, 2005, 25(4): 339-341.
- [4] Vink R, Cernak I. Regulation of intracellular free magnesium in central nervous system injury. *Front Biosci*, 2000, 5: D656-D665.
- [5] Spielberg H, June CH, Blair OC, et al. UV irradiation of lymphocytes triggers an increase in intracellular Ca^{2+} and prevents lectin-stimulated Ca^{2+} mobilization: evidence for UV- and nifedipine-sensitive Ca^{2+} channels. *Exp Hematol*, 1991, 19(8): 742-748.
- [6] Regan RF, Jasper E, Guo Y, et al. The effect of magnesium on oxidative neuronal injury in vitro. *J Neurochem*, 1998, 70(1): 77-85.
- [7] Kim JH, Brown SL, Jenrow KA, et al. Mechanisms of radiation-induced brain toxicity and implications for future clinical trials. *J Neurooncol*, 2008, 87(3): 279-286.
- [8] Wong CS, Van der Kogel AJ. Mechanisms of radiation injury to the central nervous system: implications for neuroprotection. *Mol Interv*, 2004, 4(5): 273-284.
- [9] Tsujino K, Kodama A, Kanaoka N, et al. Expression of pulmonary mRNA encoding ICAM-1, VCAM-1, and P-selectin following thoracic irradiation in mice. *Radiat Med*, 1999, 17(4): 283-287.
- [10] Ikeda Y, Ito M, Matsuo M, et al. Expression of ICAM-1 and acute inflammatory cell infiltration in the early phase of radiation colitis in rats. *J Radiat Res(Tokyo)*, 2000, 41(3): 279-291.
- [11] Chung KY, Chang NS, Park YK, et al. Effect of ultraviolet light on the expression of adhesion molecules and T lymphocyte adhesion to human dermal microvascular endothelial cells. *Yonsei Med J*, 2002, 43(2): 165-174.
- [12] 朱刚,王正国,朱佩芳,等. 脑创伤早期大鼠肺组织细胞间黏附分子-1 mRNA 的表达及其意义. *中华创伤杂志*, 2001, 17(7): 392-394.
- [13] Epperly MW, Sikora CA, DeFilippi SJ, et al. Pulmonary irradiation-induced expression of VCAM-1 and ICAM-1 is decreased by manganese superoxide dismutase-plasmid / liposome (MnSOD-PL) gene therapy. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002, 8(4): 175-187.
- [14] 张玮,涂或,王利利,等. $MgSO_4$ 对放射性脑损伤大鼠脑组织早期炎症反应的影响. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2009, 27(4): 234-238.
- [15] Baeuml H, Behrends U, Peter RU, et al. Ionizing radiation induces, via generation of reactive oxygen intermediates, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene transcription and NF Kappa B-like binding activity in the ICAM-1 transcriptional regulatory region. *Free Radic Res*, 1997, 27(2): 127-142.
- [16] Rochelson B, Dowling O, Schwartz N, et al. Magnesium sulfate suppresses inflammatory responses by human umbilical vein endothelial cells (HuVECs) through the NFKappaB pathway. *J Reprod Immunol*, 2007, 73(2): 101-107.
- [17] 邱建华,冯东福,朱志安,等. 硫酸镁对大鼠创伤性脑水肿的影响. *中华急诊医学杂志*, 2002, 11(4): 89-91.
- [18] Dawson TM, Snyder SH. Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J Neurosci*, 1994, 14(9): 5147-5159.
- [19] Salzman AL, Menconi MJ, Unno N, et al. Nitric oxide dilates tight junctions and depletes ATP in cultured Caco-2BBE intestinal epithelial monolayers. *Am J Physiol*, 1995, 268(2 Pt 1): G361-G373.
- [20] 袁文佳,崔凤梅,王利利,等. $MgSO_4$ 对大鼠急性放射性脑损伤后脑细胞内 Ca^{2+} 及脑组织 NO 含量的影响. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2009, 27(1): 53-56.
- [21] Josephy PD, Taylor PL, Vervaeet G, et al. Screening and characterization of variant Theta-class glutathione transferases catalyzing the activation of ethylene dibromide to amutagen. *Environ Mol Mutagen*, 2006, 47(9): 657-665.
- [22] 刘鹤凌,孙爱民,韩永清,等. 放射性脑损伤大鼠海马神经元 P35 及 P25 的表达. *山东医药*, 2008, 48(45): 19-21.
- [23] 赵康仁,李学忠,田野,等. 半脑照射后早期海马神经元密度的研究. *中国临床神经科学*, 2003, 11(3): 263-265.
- [24] Akins PT, Liu PK, Hsu CY, et al. Immediate early gene expression in response to cerebral ischemia, Friend or foe?. *Stroke*, 1996, 27(9): 1682-1687.
- [25] 张玮,王利利,周菊英,等. 硫酸镁对放射性脑损伤大鼠 c-fos 基因表达及学习记忆功能的影响. *中国辐射卫生*, 2009, 18(3): 257-259.

(收稿日期: 2010-05-11)