

·基础研究·

颈交感干离断对局灶性脑缺血大鼠血浆中降钙素基因相关肽的影响

李兴志¹ 张鉴栩¹ 卢晓维¹ 董莹²

摘要 目的:探讨颈交感干离断(TCST)对局灶性脑缺血大鼠血浆中降钙素基因相关肽(CGRP)的影响,为应用星状神经节阻滞治疗脑缺血提供实验依据。方法:采用改良的Zea Longa方法制备大鼠大脑中动脉栓塞(MCAO)模型。雄性Wistar大鼠随机分为3组:假手术组(S组);大脑中动脉栓塞模型组(M组)和颈交感干离断组(T组,在造成MCAO模型的同时行TCST),后两组动物均按栓塞时间又分为4个亚组:6h、24h、48h及72h。计算并比较S组、M组及T组在上述各时间点血浆中CGRP含量的区别。结果:M组各时间点CGRP含量较S组显著降低($P<0.05$),T组CGRP含量较M组在各时间点均显著增加($P<0.05$)。结论:TCST能够有效地提高局灶性脑缺血大鼠的血浆中CGRP的含量,并可能对局灶性脑缺血有治疗作用。

关键词 大脑中动脉栓塞;星状神经节阻滞;颈交感干离断;降钙素基因相关肽

中图分类号:R743,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2008)-03-0216-03

Effect of transection of cervical sympathetic trunk on calcitonin gene-related peptide of plasma in rats with focal cerebral ischemia/LI Xingzhi,ZHANG Jianxu,LU Xiaowei,et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2008, 23(3): 216—218

Abstract Objective: To study the effects of transection of cervical sympathetic trunk (TCST) on calcitonin gene-related peptide (CGRP) of plasma in rats with focal cerebral ischemia, to supply the informations of experiment for stellate ganglion block (SGB) to treat the brain ischemia. **Method:** The middle cerebral artery (MCA) was occluded with thread according to modified Zea-Longa's method. Male Wistar rats were randomly divided into three groups: sham operated group (S group), middle cerebral artery occlusion model group (M group), transection of cervical sympathetic trunk group (T group, rats underwent TCST while MCAO). M group and T group were respectively divided into four groups according to occlusion time: 6h, 24h, 48h and 72h, then to compute and compare the difference of calcitonin gene-related peptide of plasma among S group, M group and T group on above time. **Result:** CGRP of T group were higher than that of M group on the 6th, 24th, 48th and 72nd h ($P<0.05$), CGRP of M group were lower than that of S group of CGRP on the 6th, 24th, 48th and 72nd h ($P<0.05$). **Conclusion:** The transection of cervical sympathetic trunk could increase calcitonin gene-related peptide of plasma of rats with middle cerebral artery occlusion, it could have therapeutic effect for focal cerebral ischemia.

Author's address Department of Rehabilitation, The First Hospital of Jilin University, Changchun, 130021

Key words middle cerebral artery occlusion; stellate ganglion block; transection of cervical sympathetic trunk; calcitonin gene-related peptide

缺血性脑血管疾病现已成为一个严峻的社会-医学-经济问题,以高发病率、高复发率、高致残率和高死亡率严重危害人类的生命和健康,所以早期治疗至关重要。星状神经节又称颈胸交感神经节,具有交感神经的功能,星状神经节阻滞(stellate ganglion block, SGB)可治疗其所支配组织器官因交感神经过度兴奋引起的各种疾病,使其支配区域内血流增加,循环改善,并可调节中枢神经系统、免疫系统、内分泌系统功能。随着研究的深入,星状神经节阻滞已成为一种适应证广泛、疗效确切的疼痛及其他疾病的治疗方法。实验证明大鼠TCST可以模拟人的SGB,大鼠TCST后出现的持续眼裂狭小与人的SGB后

眼睑下垂相一致,长期反复的SGB可产生与颈交感干离断(transection of cervical sympathetic trunk, TCST)同样的效果^[1-2]。本实验应用改良的Zea Longa方法^[3]制备大鼠大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型后并给予大鼠TCST以模拟人的SGB,通过比较TCST组与MCAO模型组的血浆中降钙素基因相关肽含量的差异,以

1 吉林大学第一医院康复医学科. 吉林省长春市新民大街 71 号, 130021

2 吉林省肿瘤医院

作者简介:李兴志,男,博士,主任医师

收稿日期:2007-11-05

初步了解 SGB 对大鼠 MCAO 的作用。

1 对象与方法

1.1 材料及研究对象

健康雄性 Wistar 大鼠 80 只, 鼠龄 3—4 月, 重 280—300g, 清洁级, 由长春市高新医学动物实验研究中心提供。实验动物随机分为三组: 假手术组(S 组)(n=8), MCAO 模型组(M 组)及 TCST 组(T 组); 其中 M 组及 T 组又按栓塞的时间随机分为 6h、24h、48h 及 72h 4 个亚组(每亚组 n=9); T 组是在 MCAO 的同时行 TCST。大鼠术前 12h 禁食不禁水。实验试剂采用降钙素基因相关肽放免试剂盒(购于解放军总医院科技开发中心放免所)。

1.2 方法

1.2.1 MCAO 模型的制备及模型成功判定标准:采用 Zea Longa 方法并予改良的 MCAO 法制备大鼠持续性局灶性脑缺血模型。手术过程中保持环境在 20℃ 以上, 且用热垫维持大鼠体温 37.0—37.5℃, 并一直保持至动物麻醉苏醒。待动物清醒后 M 组及 T 组参照 Zea Longa^[3]的评分标准进行评分: 0 分, 无神经功能缺损症状; 1 分, 不能完全伸展左侧前爪; 2 分, 向左侧转圈; 3 分, 向左侧倾倒; 4 分, 不能自发行走, 意识水平下降。评分 1 分以上即为模型成功。

假手术组大鼠在同样被麻醉后, 切开皮肤、暴露血管及神经节, 其步骤与 M 组和 T 组大鼠完全相同, 但不栓塞任何血管, 也不离断交感神经, 然后缝合皮肤。后期其他步骤仍同 M 组和 T 组。

1.2.2 TCST 模型的制备及模型成功判定标准:颈交感干离断的过程是在 MCAO 模型制作过程中, 当栓子插入颅内时, 于右侧颈总动脉分叉处的背侧面找到颈上神经节, 距其下 3mm 离断右侧颈交感神经干。假手术组大鼠在麻醉后只切开皮肤, 暴露血管及神经结, 但不栓塞不离断。T 组动物在麻醉清醒后若出现同侧眼睑下垂, 眼裂变窄, 瞳孔缩小等典型的霍纳综合征(Horner's syndrome)则证明颈交感干离断成功。

1.2.3 降钙素基因相关肽的测定: 降钙素基因相关肽的测定是在各组大鼠在进行行为学观察后(假手术组在术后 6h), 届时以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血 5ml, 放入装有 EDTA 和抑肽酶的试管中, 混匀, 3000r/min 离心 10min, 分离血浆, 取上清液待测。降钙素基因相关肽的测定应用放免法, 全部操作严格按照说明书进行。

1.3 统计学分析

实验数据应用统计学 SPSS11.0 软件包计算, 结

果均以均数±标准差表示, 各时间窗不同组之间做 t 检验, P<0.05 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 一般情况

M 组及 T 组大鼠在麻醉清醒后均出现神经功能缺失的体征, T 组同时出现同侧眼睑下垂, 眼裂变窄, 瞳孔缩小等典型的霍纳综合征; S 组未见神经功能缺失及霍纳综合征体征。S 组一般状态良好, 活动正常, 食欲良好, 皮毛光泽; M 组一般状态较差, 活动较少, 食欲差, 皮毛不光泽, 随着脑缺血时间的延长, 上述情况逐渐加重; T 组一般状态良好, 右眼裂变小, 较 M 组明显活跃, 食欲较好, 皮毛较 M 组光泽。

2.2 三组降钙素基因相关肽含量的比较

各组降钙素基因相关肽含量的比较结果为, M 组各时间点 CGRP 含量较 S 组明显降低(P<0.05); T 组 CGRP 含量较 M 组各时间点均明显增加 (P<0.05), 见表 1。

表 1 三组降钙素基因相关肽的含量的比较 ($\bar{x}\pm s, \text{pg/ml}$)

时间点	S 组	MCAO 组	TCST 组
第 6 小时	137.684±13.859	122.904±12.103 ^①	134.826±11.592 ^③
第 24 小时		108.267±12.067 ^②	123.484±16.272 ^③
第 48 小时		98.400±11.950 ^②	112.588±11.907 ^{②③}
第 72 小时		81.193±9.253 ^②	106.228±10.061 ^{②④}

与假手术组比较: ①P<0.05, ②P<0.01; 与 MCAO 组比较: ③P<0.05, ④P<0.01

3 讨论

脑卒中患者以局部脑缺血为多见, 而临幊上缺血性脑卒中的好发部位以大脑中动脉最为常见, 故常用 MCAO 法建立局灶性脑缺血模型。大鼠的大脑中动脉的解剖分布及基底核的血流供应与人类接近, 且实验条件容易标准化, 是研究脑缺血的理想动物, 采用尼龙线栓法建立的大鼠 MCAO 模型, 具有操作简便, 缺血效果可靠, 梗死部位恒定, 与临幊脑血栓形成的特点更接近等优点, 是研究缺血性脑血管疾病的病理生理及治疗效果最为常用的实验模型之一。大鼠 TCST 常用来研究长期、反复的星状神经节阻滞对机体的影响, 有实验证明, 离断节前纤维而保留颈交感神经节, 节后纤维可以保证不变性, 并故此认为 TCST 是模拟人 SGB 较理想的动物模型。本实验采用插线法阻断大脑中动脉造成脑缺血损伤模型, 研究 TCST 对局灶性脑缺血大鼠血浆中降钙素基因相关肽的影响。

CGRP 是一种由 37 个氨基酸组成的生物活性多肽, 广泛分布于中枢和外周神经及脑血管系统, 可产生强烈的舒血管效应, 是体内最强的舒血管多肽。

CGRP 因具有扩张脑血管、改善缺血大脑的脑血流, 减少脑组织缺血缺氧性损伤等而对脑具有保护作用。CGRP 通过扩张脑血管, 降低血黏度改善脑血流, 并通过减少细胞内钙浓度, 对缺氧神经细胞起保护作用, 又可以减轻由于缺血损伤而造成的脑水肿及血浆和脑组织脂质过氧化物的升高。在颅脑外伤、出血和脑血管疾病时 CGRP 往往明显降低^[4], 而 CGRP 血浆含量的降低不利于神经细胞功能的恢复。正常情况下 CGRP 激活腺苷酸环化酶, 使细胞内 cAMP 水平升高, 细胞内 Ca²⁺减少, 血管扩张; 同时降低细胞膜 Ca²⁺通透性。当 CGRP 含量降低时不能维持细胞内 Ca²⁺稳态, 不能阻止细胞外 Ca²⁺内流, 使细胞内 Ca²⁺超载, 导致神经元和突触发生不可逆的损伤, 造成脑细胞坏死。本实验结果显示, M 组大鼠血浆中 CGRP 的含量在缺血 6h 已有所降低, 且随着缺血时间的延长而进一步降低, 这与 Edvinsson L^[4] 及李义召^[5]等报道结果相一致。

Umeyama 等^[6] 报道, 星状神经节阻滞可增加颈内动脉区域的脑血流, 颈上交感神经干受刺激后大脑中动脉血流速度增快。Okuda 等^[7] 实验发现 SGB 可以产生与静注 PGEI 一样的扩张血管, 增加血流的作用; 头部供血由颈总动脉和椎动脉共同完成, 而颈总动脉是颅脑的主要供血动脉。SGB 对交感-肾上腺系统的兴奋具有抑制作用, 可以减弱应激性刺激产生的交感神经紧张, 阻断或改善由此引发的一系列病理改变, 可以达到终止恶性循环、治疗疾病的目的。本次试验我们发现 MCAO 大鼠行 TCST 后一般状态较 M 组明显活跃, 血浆中 CGRP 的含量较

M 组显著增高, 且在缺血的早期(6h)即有明显的改变, 且随着时间的延长而增加, 说明 TCST 使 CGRP 含量上调, 使脑缺血症状明显改善。其可能机制是: ①TCST 直接通过改善脑血流及对交感-肾上腺系统兴奋的抑制作用而对 MCAO 产生保护作用; ②通过改善的脑血流量而增加了 CGRP 的含量, 使 CGRP 脑保护作用增强; ③TCST 可能直接作用于 CGRP。

TCST 可使 MCAO 后大鼠血浆中 CGRP 的含量增多, 对局灶性脑缺血有脑保护作用。这为临床应用 SGB 治疗缺血性脑血管病提供了实验依据。

参考文献

- [1] Shiraishi K, Otsuki M, Tase C, et al. The effect of cervical sympathectomy on the pituitary and pineal endocrine system [J]. Masui, 1998, 47:1187—1192.
- [2] Okada M, Guo SY, Hisamitsu T. Denervation of the cervical sympathetic nerve inhibited the splenic natural killer cell activity in rats [J]. Masui, 1996, 45:582—585.
- [3] Zea Longa E, Weinstein PR, Carson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1):84—89.
- [4] Edvinsson L, Ekman R, Jansen I, et al. Reduced levels of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in human blood vessels after subarachnoid haemorrhage [J]. Neurosci Lett, 1991, 121:151—154.
- [5] 李义召, 曹秀玲, 宋成忠, 等. 老年脑梗死患者血浆神经肽 Y、降钙素基因相关肽水平的动态变化 [J]. 中国临床康复, 2004, 8(31):6939—6941.
- [6] Umeyama T, Kuginiya T, Ogawa T, et al. Changes in cerebral blood flow estimated after stellate ganglion block by single photon emission computed tomography [J]. Auton Nerv Syst, 1995, 50(3):339—346.
- [7] Okuda Y, Kitajima T. Influence of stellate ganglion block and electrical stimulation of the stellate ganglion on bilateral brachial arterial blood flow—is stellate ganglion block effective either unilaterally or bilaterally [J]? Anesth Analg, 2000, 90(7): 1630—1635.

中国康复医学会第六届全国康复治疗学术会议征文及第一轮通知

中国康复医学会第六届全国康复治疗学术会议拟于 2008 年 9 月 19—21 日在云南省昆明市召开。会议的主题“康复治疗——从实践到研究”。会议期间将重点组织国内外著名专家就当前国内外康复治疗发展中的前沿技术、热点、焦点问题进行高水平的专题报告, 并组织大会学术交流和以实用技术为主的 WORKSHOP。欢迎全国广大康复医学工作者及内外科、烧伤科和其他相关学科踊跃投稿并参加此次盛会。

征文内容: 国内外康复评价及治疗技术进展; 物理治疗实践与研究; 作业治疗实践与研究; 语言治疗实践与研究; 假肢矫形器实践与研究; 传统康复治疗实践与研究; 康复基本理论研究与探讨; 康复治疗管理; 康复治疗人才培养; 早期康复介入; 康复护理; 脊柱和骨关节创伤康复; 神经康复、烧伤康复等。

征文截止日期: 2008 年 8 月 10 日, 只接受电邮投稿, 邮箱: submit2008@126.com。征文要求: 论文必须具有科学性、先进性和实用性, 未在其他学术刊物公开发表过。稿件形式为中文摘要格式: 题目、作者、单位、邮编; 目的、方法、结果、结论、关键词。字数 500—1000 字。若参加优秀论文评选请发全文。

联系人及联系方式: 赵荣; 15808813260; 李晓刚; 13987128534; 会议时间及地点另行通知, 请关注大会相关网页: www.carm.org.cn; www.yarm.org.cn。